

A humuszsavak a talajban legnagyobb mennyiségben előforduló szerves anyagok. Funkciós csoportjaik révén nagyon reakcióképes vegyületek, szerkezetük vázát a fenol és származékaik alkotják, a vázhoz szénhidrátok, alifás vegyületek és aminosavak kapcsolódnak. A kémia sajátosságokért a vázhoz és az oldalláncokhoz kapcsolódó funkciós csoportok a felelősek, amelyek elsősorban a karboxil-, a fenolos hidroxil- és egyéb hidroxil- csoportok. A humuszanyagok a talajban sokféle ioncsere, szorpciós, komplexképződési és oldódási folyamatokban vesznek részt. A talajoldatban és a hátfelületeken lejátszódó reakciókban egyaránt fontos szerepet játszanak.

A humusz minőségét nagymértékben befolyásolja a humuszképződés alapanyaga és az átalakulási körülmények. A különböző genetikai típusba tartozó talajok esetében a talajfelszínre jutó növényi maradványok mennyisége és minősége, valamint az átalakulási körülmények (pl. pH, nedvességtartalom, levegőztetés stb) jelentős különbségeket mutatnak. Ebből következik, hogy a különböző típusú talajokon képződő humuszanyagok kémia tulajdonságai is eltérőek lesznek.

A talajban betöltött jelentős és összetett szerepük ellenére kémiai összetételük és szerkezetük kevésbé ismert. Ennek alapvető oka, hogy ezek a természetes huminsavak bonyolult szerkezetű óriásmolekulák keverékének tekinthetők, amely keverékben a kémiai tulajdonságokat illetően folytonos az átmenet, ami a vegyületcsoportok szétválasztását és azonosítását nagyon körülményessé teszi.

A pályázatban célul tűztük ki, hogy különböző genetikai adottságú talajokból nyert természetes humuszsavak tulajdonságainak alaposabb megismerését, valamint a humuszminőség és a talaj biológia aktivitása közötti esetleges összefüggések feltárását.

Különböző genetikai főtípusba tartozó és eltérő termőhelyi adottságokkal rendelkező talajokból izoláltunk huminsavat. A lehetséges extrakciós eljárások közül Maie et al. (Soil Science and Plant Nutrition 44 (33) 331-345, 1998) Na-pirofoszfátos frakcionált extrakciós módszerét alkalmaztuk, amely során a kioldás két lépcsőben valósult meg, először a semleges (pH=7) kémhatású pirofoszfát oldattal az erősebben savi karakterű és feltehetően kisebb molekulatömegű huminsavak, míg a lúgos kémhatású (pH=10,0) pirofoszfát oldattal a gyengébb savi karakterű és nagyobb molekulatömegű huminsavak kinyerése volt lehetséges.

A preparátumokból első lépésként meghatároztuk a minták elemösszetételét és fémiontartalmát. Az analízisekhez királyvízzel, mikrohullámú roncsolóban elroncsolt minták oldatát használtuk és az oldatokat induktív csatolású plazma optikai emissziós spektrometriával (ICP-AES) elemeztük.

1. táblázat A huminsavak elemtartalma

		C%	N%	H%
<i>Humuszos homok</i>	1. frakció	57,10	5,30	8,60
Pallag (szántó)	2. frakció	62,20	6,20	5,60
<i>Humuszos homok</i>	1. frakció	66,80	9,20	7,00
Pallag (erdő)	2. frakció	61,60	10,7	5,70
<i>Típusos réti</i>	1. frakció	70,60	9,60	6,90
Görbeháza	2. frakció	75,30	9,20	5,50
<i>Réti csernozjom</i>	1. frakció	79,95	6,30	5,37
Látókép	2. frakció	83,42	5,11	5,45
<i>Mészlepedékes csernozjom</i>	1. frakció	67,06	8,27	7,65
Látókép	2. frakció	68,42	7,86	6,71

Az elemanalízis eredményeit értelmezve láthatjuk, hogy azokban a humuszsavakban, amelyeket víz hatása alatt álló talajokból nyertünk a C-tartalom magasabb, a C:N arány pedig különösen a nehezebben mobilizálható frakcióban (2. frakció) nagyobb, mint a többi huminsavban.

2. táblázat A huminsavak összes fém és egyéb elemtartalma

	<i>Pallag szántó</i>	<i>humuszos homok</i>		<i>Pallag erdő</i>	<i>humuszos homok</i>
	1. frakció	2. frakció		1. frakció	2. frakció
	mg/kg	mg/kg		mg/kg	mg/kg
B	278	324	B	194	188
Na	19458	20622	Na	30552	40792
Al	48381	52932	Al	53640	49781
P	29551	23265	P	28402	31869
K	13764	17000	K	13066	12153
Ca	2472	1579	Ca	2012	1120
Mg	7475	8706	Mg	5908	4942
Ba	190	151	Ba	82	99
Mn	1089	424	Mn	0	30
Fe	66029	77204	Fe	43942	38713
Cu	59	73	Cu	86	82
V	36	38	V	43	45

A huminsavak összes fém és egyéb elemtartalmát vizsgálva az eredményekből valószínűsíthető, hogy a huminsavakat agyagásvány komplexeik formájában lehet kivonni. Ezt a tényt igazolta az elemanalízis során mért magas Fe-, Al-, K- P- és Mg tartalom is. Megfigyeltük hogy pl. a minták réztartalmában nem mutatkozott lényeges különbség. A típusos réti és a réti csernozjom talajból nyert huminsavak egyáltalán nem tartalmaztak mangánt. Az erdő alatt képződött humuszos homoktalaj 1. frakciójában egyáltalán nem tudtunk mangánt mérni, míg a szántóföldi művelés alatt álló talaj humuszsavai jelentős mennyiségű mangánt tartalmaztak. Megfigyeltük továbbá, hogy a vízhatás alatt álló talajokból nyert humusz kétféle frakciójában a

kalcium tartalom jelentősen eltér. Az 1. frakció kalcium tartalma jóval magasabb, mint a 2. frakcióé.

3.a táblázat A huminsavak összes fém és egyéb elemtartalma

	<i>Görbeháza típusos réti</i>	
	1. frakció	2. frakció
	mg/kg	mg/kg
Li	61	107
B	189	200
Na	21243	31445
Al	48619	51619
P	13943	9490
K	11593	11741
Ca	11753	224
Mg	7782	5846
Ba	152	33
Mn	0	0
Fe	43010	46150
Cu	56	75
V	47	42

3.b táblázat A huminsavak összes fém és egyéb elemtartalma

	<i>Látókép réti csernozjom</i>			<i>Látókép mészlepedék es csernozjom</i>	
	1. frakció	2. frakció		1. frakció	2. frakció
	mg/kg	mg/kg		mg/kg	mg/kg
B	170	168	B	265	243
Na	33660	47685	Na	17300	21995
Al	52402	56392	Al	52893	49535
P	34747	30641	P	18345	14178
K	10781	11005	K	16223	14650
Ca	2225	869	Ca	3935	4745
Mg	6253	6327	Mg	9089	8936
Ba	68	102	Ba	156	158
Mn	0	0	Mn	331	455
Fe	35216	35398	Fe	59582	55990
Cu	85	131	Cu	42	37
V	49	52	V	53	49

A huminsavak nagy szerkezeti komplexitása, molekulatömegük széles tartománya és polielektrolit jellege következtében a kapilláris elektroforézis (CE) kínálkozott alkalmas módszernek a huminsavak frakcionálására. Az eljárás azon alapul, hogy elektromos térben az oldott anyagok különböző sebességgel vándorolnak, amit a részecskék tömeg/töltés aránya határoz meg.

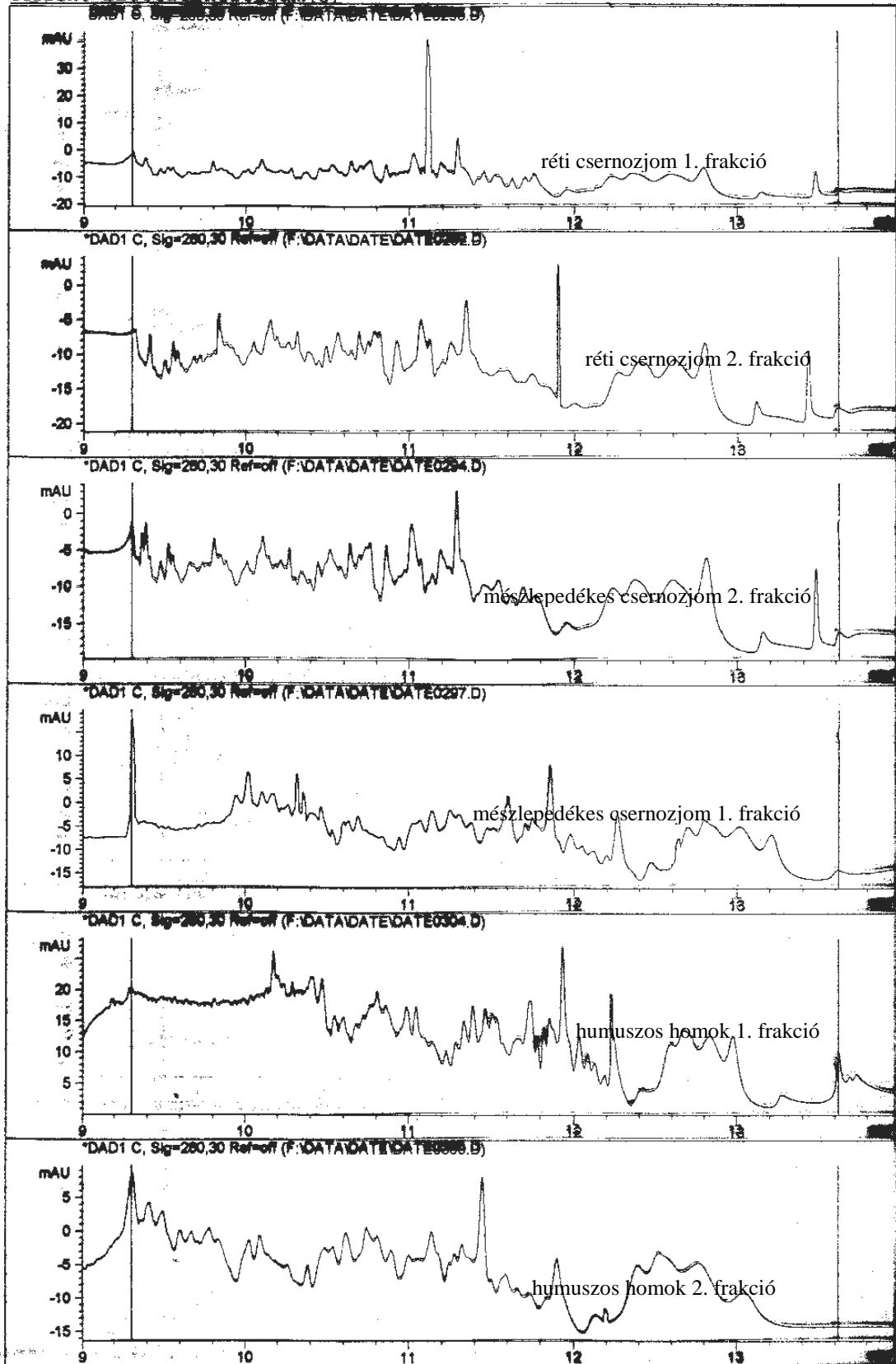
Az elválasztás olyan közegben történik, melyben pH gradiens van, melyet amfolit oldat biztosít. A mintakomponensek az izoelektromos pontjuknak megfelelő pH sávba koncentrálnak. Az eljárás nagy előnye, hogy kis oldatmennyiséget igényel (ami ezeknél a nehezen preparálható természetes anyagoknál fontos szempont) és az elválasztás során az anyag nem szenved változást. Segítségével néhány milligramm anyagból megoldható a komponensek szétválasztása. A különböző eredetű talajhumuszsavak elektroferogramjai eltérnek egymástól és ezek az elektroferogramok a különböző eredetű humuszsavakat ujjlenyomatszerűen jellemezik. Az elektroferogramok csúcsaihoz tartozó migrációs idő egy-egy adott kémiai összetételű vegyületre jellemző. míg a csúcs magassága, illetve területe az adott vegyület mennyiségével arányos.

Megfelelő "jelzőanyag" (marker) segítségével a kapilláriscső mentén a pH változás követhető, így a különböző csúcsokhoz tartozó vegyületek izoelektromos pH-ját is meg tudjuk adni.

Mellékelten bemutatjuk néhány talajhuminsav elektroferogramját. A CE segítségével tulajdonképpen annyi frakcióra lehet a huminsavat bontani, ahány csúcsa van az elektroferogramnak. A mészlepedékes csernozjom és az erdő alatt képződött humuszos homoktalajokból származó huminsavak két frakciójának elektroferogramja eltérő képet mutat, ami eltérő kémiai összetételükre utal. A görbéket elemezve látható, hogy a kétféle huminsavfrakcióban nemcsak a csúcsokhoz tartozó retenciós idők térnek el de a görbe alatti területek, vagyis az adott vegyületcsoport mennyiségében is eltérés mutatkozik. A kisebb retenciós időkhöz alacsonyabb, a nagyobb retenciós időkhöz nagyobb pH tartozik.

A CE vizsgálatokkal kapcsolatban meg kell említeni, hogy rendkívül magas az anyagköltsége. Drága a kapilláris, az amfolitoldat és a pH azonosítására szolgáló marker. Mindezek a lehetőségeinket beszűkítették.

CAPTURE ELECTROFEROGRAM (8)



1. ábra A huminsav preparátumok elektroferogramjai

A humuszsavak szerkezeti jellegzetességének vizsgálata valamilyen funkciós csoport specifikus spektroszkópai módszerrel lehetséges. A kémiai tulajdonságok szempontjából meghatározó szereppel bíró funkciós csoportok mindegyike tartalmaz OH csoportot. A különböző OH csoportok könnyen átalakulnak az oxidációs és a hidrolízises folyamatokban.

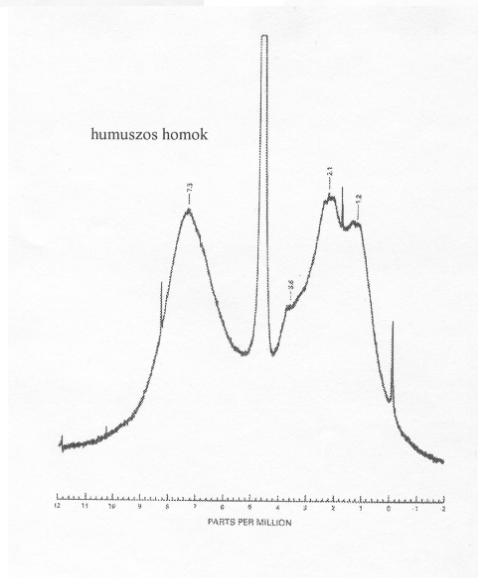
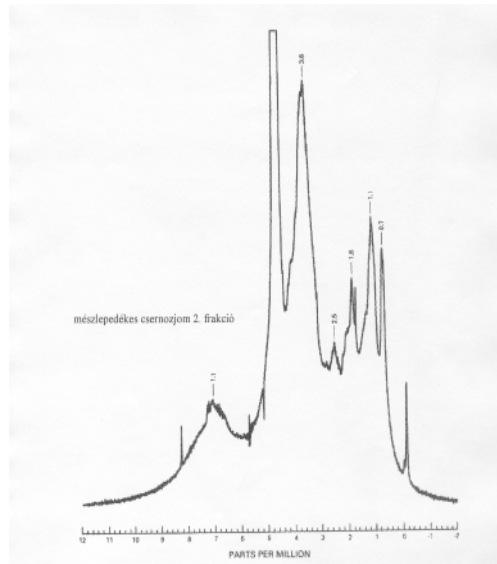
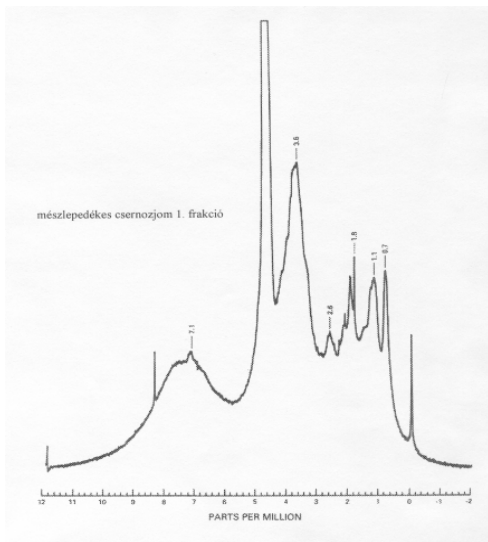
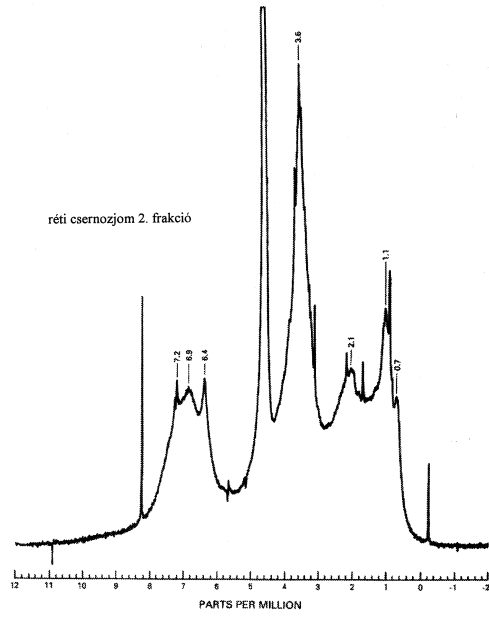
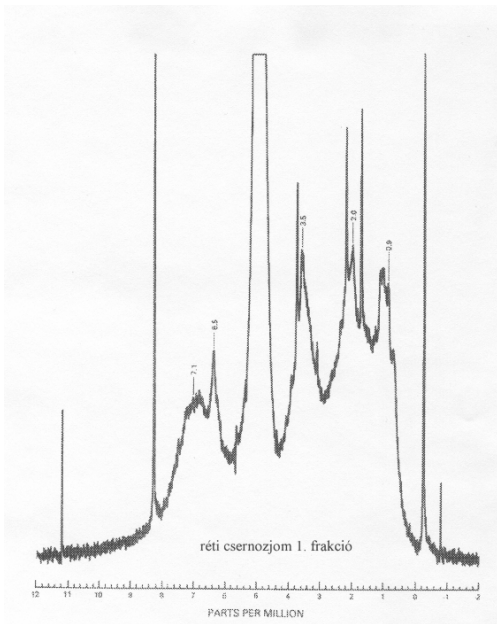
Az oldatban végzett NMR spektroszkópia különösen alkalmas módszernek ígérkezik a humuszsavak szerkezeti sajátosságainak, vagyis a meghatározó funkciós csoportok feltárására. ^1H -NMR spektroszkópai méréseket volt módunk végezni. A proton NMR spektrumok a H-kötés módjáról, így a funkciós csoport típusáról nyújtanak információt.

4. táblázat Funkciós csoport és kémiai eltolódás tartomány ^1H NMR spektrumokban
(Kevin et als. U.S. Geological Survey, Denver, Colorado 1989. 76p)

funkciós csoport jellege	kémiai eltolódás (ppm)
$\text{CH}_3\text{-R}$ metil	1,9-0,75
$\text{R-CH}_2\text{-R}'$ metilén	2,25-1,25
$\text{C=C-CH}_2\text{-R}$ metilén	2,75-1,75
C=C-CH-R_2 metin	3,75-1,75
$\text{CH}_3\text{-NR}_2$ metil	2,5-2,0
$\text{CH}_3\text{-X}$ metil	4,25-2,25
$\text{R-CH}_2\text{-X}$ metilén	4,5-3,2
$\text{R}_2\text{-CH-X}$ metin	5,0-3,5
C=C-CH olefin	8,0-3,8
Ph-H aromás	9,0-6,5
RCHO aldehid	11,0-9,0
RCOOH karboxil	12,0-9,75

A minták előkészítését és a vizsgálati körülmények megválasztását az IHSS standard szerint végeztük (Thorn et als, 1989, Interaction, properties and proposed structures: U.S. Geological Survey Open-File Report 87-557, 377p). A spektrumokat D_2O -ban és a humuszsavak Na-sóival készítettük. A módszer adaptálását IHSS standardokkal végeztük, majd a különböző talajtípusból nyert természetes huminsavakkal végeztünk méréseket a szerkezeti sajátágaik alaposabb megismerése céljából.

Az általunk készített NMR spektrumok elemzése alapján megállapítottuk, hogy



2. ábra ^1H -NMR spektrumok

A talajban a különböző humuszformák kialakulása mindig intenzív biológiai dinamika eredménye. Ha egy talaj biológiai aktivitását kívánjuk megismerni, akkor elengedhetetlen az uralkodó humuszforma meghatározása, minthogy a humusz minőségi paraméterei biztosan utalnak a degradációs és humifikációs folyamatok intenzitására. Ugyanakkor a humusz és a humuszsavak kémiai vizsgálata során is kaphatunk olyan eredményeket, melyek korrelálnak a biológiai aktivitás egyes paramétereivel.

A kutatás során a 2002-es és 2005 között négy talajfőtypusba tartozó hat termőhelyről származó talajok biológiai aktivitását mértük tavasszal és ősszel.

A biológiai aktivitás mérésének számos módszere közül három módszert alkalmaztunk a talajtípusok biológiai aktivitásának pontosabb megközelítésére, így a baktériumok számának közvetlen mérése, a fontosabb fiziológiai csoportba tartozó baktériumszám meghatározás, a különböző enzimek aktivitásának mérése, valamint a CO₂-termelés meghatározása.

Ezen három, különböző típusú mérés összegzéséből próbálunk következtetni a hat termőhelyről származó, különböző művelési ágba vont, eltérő fizikai, kémiai tulajdonságokkal és humusztartalommal rendelkező talajok biológiai aktivitására. A mintavétel a talaj művelt rétegéből, tavasszal és ősszel történt, közel hasonló időpontban, 0-20 cm mélységből.

A négy év talajvizsgálati eredményeiből megállapíthatjuk, hogy:

- A különböző termőhelyről származó és eltérő művelési ágakba vont talajok biológiai aktivitása évszakos ingadozást mutat, mely a kis humusz és kolloidtartalmú, homok és homokos vályog textúra csoportba sorolható talajok esetében erőteljesebben érvényesül, mint a magasabb humusztartalmú, kötöttebb talajok esetében. Általában magasabb biológiai aktivitást tavasszal mértünk, kivételt képez egyes talajok esetében a cellulózbontók, valamint a mikroszkópikus gombák számának őszi magas eredménye, ami a talajok magasabb, bontható cellulóztartalma miatt volt mérhető. Ez az évszakos eltérés mind a baktériumszámokban, mind pedig az enzimaktivitás mérésekben megmutatkozik, azonban nem minden talaj esetében vonatkozik a CO₂-produkcióra.
- A különböző talajok mikrobiológiai vizsgálati eredményei között lényeges eltérés tapasztalható, a baktériumszámokra vonatkozóan nagyobb a szórás, mint az enzimaktivitások esetében. Magas összes csiraszámot a mészlepedékes és réti csernozjom, valamint a lápos réti talaj esetében mértünk.
- A négy vizsgálati év különböző mikrobiológiai paramétereit összegezve megállapítható, hogy a talajok között az enzimaktivitásokra vonatkozóan minden esetben szignifikáns differenciát mutattunk ki, dehidrogenáz enzim aktivitás és CO₂ termelés esetében általában 1%-os szinten, ureáz aktivitás esetében 1%-os, némely esetben 5%-os szinten.

Legmagasabb dehidrogenáz aktivitást, valamint CO₂-produkciót a bolygatatlan lápos réti talaj esetében mértünk

- Megállapíthatjuk, hogy a közvetlen baktériumszám meghatározás mellett fontos az enzimek aktivitásának, valamint a CO₂ termelés mérésének az elvégzése, hogy nyomon tudjuk követni a különböző típusú, eltérő művelési ágakba vont talajok biológiai aktivitását.

A dehidrogenáz aktivitás vizsgálata során megállapítottuk, hogy a mészlepedékes csernozjom talajnál szezonális ingadozás mutatkozott az aktivitásban. A hasonló humusztartalmú réti csernozjom, típusos réti- és lápos réti talajok dehidrogenáz aktivitásában jelentős eltéréseket tapasztaltunk. A legmagasabb aktivitást a lápos réti talaj mutatta és a legalacsonyabb aktivitás a típusos réti talajnál mutatkozott. A vizsgált kétféle alacsony humusztartalmú humuszos homoktalajon a szántóföldi művelés alá vont területről származó minta aktivitása alacsonyabb volt, mint az erdős területről származó mintáé. A hasonló textúrájú, szántóföldi művelés alatt nem álló humuszos homoktalaj és lápos réti talaj dehidrogenáz aktivitását vizsgálva a nagyobb humusztartalmú lápos réti talaj enzimaktivitása magasabb értékeket adott.

A biológiai vizsgálatok eredményéből kiderült, hogy a kis humusztartalommal rendelkező talajok esetében a biológiai aktivitás időszakos ingadozása erőteljesebben érvényesül, mint a kötöttebb talajok esetében. Ez az ingadozás mind a baktérium számokban, mind pedig az enzimaktivitásokban megmutatkozik.

5. táblázat A vizsgált talajok mikrobiológiai eredményei (2002-2005)

(négy éves átlageredmények)

Talajtípus	Összes bakt. szám $10^6/1g$ talaj	Aerob N_2 - kötők $10^5/1g$ talaj	Nitrifikáló bakt. szám $10^3/1g$ talaj	Aerob cellulóz bontó bakt. $10^3/1g$ talaj	Összes mikroszkopikus gomba $10^3/1g$ talaj	Dehidrogenáz aktivitás INTF $\mu g/g/2^h$	Ureáz aktivitás NH_4 $mg/100g/24^h$	CO_2 -termelés $mg/7nap$
1.Mészlepedékes csernozjom	10,76	18,61	4,89	51,13	46,01	171,04	44,44	13,45
2.Réti csernozjom	17,20	19,79	8,16	20,32	37,41	156,06	50,96	15,15
3. Humuszos homok	5,74	12,67	6,23	12,35	28,54	78,81	29,92	12,58
4. Barna erdőtálat	2,37	2,66	2,48	4,49	52,76	158,44	61,60	15,42
5. Lápos réti talaj	15,43	5,86	9,72	29,98	51,32	317,47	85,75	16,40
6. Típusos réti talaj	9,72	6,38	2,29	14,82	22,80	83,00	69,34	11,34

Ezúton is szeretnénk megköszönni az OTKA-nak a kutatáshoz nyújtott támogatását. A kutatási eredményekből további publikációkat kívánunk készíteni.