

Z Katedry Fizjologii Roślin Wydz. Biol. i Nauk o Ziemi UMCS

Kierownik: prof. dr Adam Paszewski

i z Katedry Biochemii Wydz. Biol. i Nauk o Ziemi UMCS

Kurator: prof. dr Adam Paszewski

Jerzy TROJANOWSKI

Analiza konduktometryczna i potencjometryczna niektórych frakcji humusu

**Кондуктометрический и потенциометрический анализ
некоторых фракций гумуса**

**Konduktometrische und potentiometrische Analyse einiger
Humusfraktionen**

W poprzednich pracach autora (24, 25, 26) wyrażono pogląd, że wartość wyników badań biologicznych i chemicznych nad humusem zależy od sposobu przygotowania preparatów humusowych do doświadczeń.

Obecny stan badań nad humusem nie pozwala jeszcze na uzyskanie w stanie ściśle określonym pod względem chemicznym wszystkich grup substancji humusowych spotykanych w naturze. Jak dotąd udało się rozdzielić tylko składniki grupy kwasów fulwonowych (4) oraz grupy kwasów hymatomelanowych (24, 26) na drodze chromatograficznej i uzyskać oczyszczone frakcje w ilościach niezbędnych do analizy chemicznej i doświadczeń biologicznych (25).

Przedmiotem obecnej pracy jest analiza konduktometryczna i potencjometryczna niektórych frakcji kwasów hymatomelanowych, wydzielonych chromatograficzną metodą własną.

DOTYCHCZASOWE BADANIA CHEMICZNE NAD KWASEM HYMATOMELANOWYM

Grupę substancji humusowych rozpuszczalnych w alkoholu nazwał w r. 1889 Hoppe-Seyler (7) „kwasem hymatomelanowym”.

Na podstawie wyników nowszych badań przypuszcza się, że jest to szereg homologiczny związków (17), stanowiących być może produkty

wstępne (11, 22) w biosyntezie kwasów huminowych. Niektórzy uważają kwasy hymatomelanowe za niskocząsteczkowe kwasy huminowe (22). Ta grupa substancji humusowych jest stosunkowo mało zbadana z powodu trudności, jakie następuje wyodrębnienie tych związków w stanie czystym z naturalnych materiałów próchnicznych (14, 19a, 20, 22). W dotychczasowych badaniach starano się ustalić przede wszystkim skład elementarny oraz ciężar równoważnikowy kwasów hymatomelanowych. W tab. 1 podano uzyskane przez różnych autorów wyniki analiz konduktometrycznych i potencjometrycznych, a w tab. 2 wyniki analiz elementarnych tych substancji. Przedmiotem przytoczonych badań były kompleksowe, niefrakcjonowane preparaty kwasów hymatomelanowych i huminowych różnego pochodzenia, otrzymane konwencjonalnymi metodami (ekstrakcja roztworem NaOH bądź $(\text{NaOOC})_2$). W doświadczeniach cytowanych w tab. 1 używano do konduktometrycznego bądź potencjometrycznego miareczkowania związków humusowych następujących odczynników:

- 1) dwumetyloamina (16)
- 2) pirydyna (16)
- 3) roztwór BaCl_2 (16)
- 4) „ $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (12)
- 5) „ CuCl_2 (16)
- 6) „ KOH (12)
- 7) „ NaOH (14, 16)
- 8) „ NaOH wobec nadmiaru BaCl_2 (16).

BADANIA WŁASNE

Jako materiały wyjściowe do wydzielenia kwasów hymatomelanowych posłużyły:

- 1) kompost sześcioletni z Plantacji Miejskich w Lublinie, przygotowany głównie z liści drzew różnych gatunków,
- 2) torf niski z łąk nad Bystrzycą z okolic Lublina.

Z tych materiałów przygotowano preparaty do analizy w następujący sposób:

Z rozdrobnionego, powietrznie suchego materiału usuwano bitumy przez ekstrakcję eterem naftowym. Następnie przemywano materiał 0,2 N kwasem solnym aż do usunięcia jonów Ca i Fe. Zaadsorbowany w materiale kwas solny wypłukiwano potem wodą. Przepłukany wodą materiał ekstrahowano bezpośrednio 95% etanolem w temp. pokojowej. Ekstrakcję powtórzono kilkakrotnie aż do uzyskania jasno żółtej barwy ekstraktu (pierwsze ekstrakty są czerwono-brunatne). Z roztworu etanoleowego wytrącono kwasy hymatomelanowe przy pomocy octanu wapnia

Tab. 1. Ciężary równoważnikowe substancji humusowych
Äquivalentgewichte der Humussubstanzen

A u t o r	Przedmiot badań Untersuchungsobjekt	Metoda Methode	Ciężar równoważnikowy Äquivalentgewicht
Oden, 1919, (14)	Kwasy humusowe z torfów wysokich Humussäuren aus Hochmooren	konduktometryczna konduktometrisch	339
" "	" "	potencjometryczna potentiometrisch	330—345
" "	Kwasy hymatomelanowe z torfów wysokich Hymatomelansäuren aus Hochmooren	konduktometryczna konduktometrisch	200
" "	Kwas humusowy Mercka Merck's Humussäure	potencjometryczna potentiometrisch	285—320
Hissink, 1928, (6)	Kwasy humusowe z gleb Humussäuren aus Boden	konduktometryczna konduktometrisch	180
Kotzmann, 1933, (9)	" " "	"	191
" "	" " "	"	265
Scheele, 1937, (16)	Kwasy humusowe z „Kasselerbraun” Humussäuren aus Kasselerbraun	"	157—205
" "	" "	potencjometryczna potentiometrisch	159—172
" "	Kwasy humusowe z torfów niskich Humussäuren aus Flachmooren	konduktometryczna konduktometrisch	178—203
" "	Kwasy hymatomelanowe z „Kasselerbraun” Hymatomelansäuren aus Kasselerbraun	"	175—199
" "	Kwasy hymatomelanowe z „acidum huminicum” Hymatomelansäuren aus „acidum huminicum”	"	153
Baver i Hall, 1937, (2)	Kwas humusowy Humussäure	"	260—242
Marshall i Patnaik, 1953, (12)	Kwasy humusowe z torfu i czarnoziemiu Humussäuren aus Torf und Schwarzerde	potencjometryczna potentiometrisch	ca 320
" "	Kwasy hymatomelanowe Hymatomelansäuren	"	ca 200

Tab. 2. Wyniki analiz elementarnych substancji humusowych
 Ergebnisse der Elementaranalyse der Humussubstanzen

Autor	Przedmiot analizy Untersuchungsobjekt	% C	% H	% N	Popiół Asche
Bottomley (3)	Kwasy humusowe z torfu Humussäuren aus Torf	60,37	5,39		
Oden (14)	" "	58,2	4,27	0,7	
"	Kwasy hymatomelanowe Hymatomelansäuren	62,2	5,28		
Tiszczenko i Ry- dalewskaja (23)	Kwasy huminowe z gleb Huminsäuren aus Böden	52,39	4,82	3,74	
"	" " "	54,90	4,36	4,07	
Waksman (4)	Kwasy humusowe z węgla Humussäuren aus Kohle	59,6—60,2	3,2—3,4	1,7—2	1,4—2,4
Scheele (16)	Kwasy humusowe z „Kasselerbraun” Humussäuren aus Kas- selerbraun	58,55	3,44	1,17	
"	Kwasy humusowe z tor- fu niskiego Humussäuren aus Flach- moortorf	54,37	4,77	2,83	
"	Kwasy hymatomelanowe z „Kasselerbraun” Hymatomelansäuren aus Kasselerbraun	59,93	4,25	0,86	
"	Kwasy hymatomelanowe II z „Kasselerbraun” Hymatomelansäuren II aus Kasselerbraun	66,18	6,24	0,82	
"	Kwasy hymatomelanowe III z „Kasselerbraun” Hymatomelansäuren III aus Kasselerbraun	59,49	3,88	1,09	
"	Rozpuszczalna w aceto- nie frakcja kwasów hy- matomelanowych III Azetonlösliche Frak- tion d. Hymatomelan- säuren III	60,54	3,93	0,90	
"	Nierozpuszczalna w ace- tonie frakcja kwasów hymatomelanowych III In Azeton nichtlösliche Fraktion d. Hymatome- lansäuren III	59,04	3,41	1,37	
Natkina (13)	Kwasy huminowe z gleb Huminsäuren aus Böden	62,55	2,78	3,32	
Kononowa (8)	" " "	59,21	3,83	4,28	

(c. d. tab. 2)

Autor	Przedmiot analizy Untersuchungsobjekt	% C	% H	% N	Popiół Asche
Kucharenko (10)	Kwasy hymatomelanowe z torfu niskiego Hymatomelansäuren aus Flachmoortorf	65,38	6,98		
„	Kwasy hymatomelanowe z torfu wysokiego Hymatomelansäuren aus Hochmoortorf	66,07	6,92		
Marshall i Patnaik (12)	Kwasy humusowe z torfu Humussäuren aus Torf	55		4,25	1,32
„	Kwasy hymatomelanowe z torfu Hymatomelansäuren aus Torf	59		2,23	0,71
„	Kwasy humusowe z czarnoziemu Humussäuren aus Schwarzerde	50		3,61	3,22
„	Kwasy hymatomelanowe z czarnoziemu Hymatomelansäuren aus Schwarzerde	52		2,67	1,01
Puustjärvi (15)	Kwasy hymatomelanowe z gleb torfowych Hymatomelansäuren aus Torfböden	58,59		1,7	
„	Kwasy huminowe z gleb torfowych Huminsäuren aus Torf- böden	49,64		3,4	
Aleksandrowa (1)	Kwasy humusowe Humussäuren	60,12	4,42	3,21	1,79

przy pH 6,8—6,9. Wytrącony brunatny osad hymatomelanianów wapniowych oddzielano przez dekantację i wirowanie od słabo zabarwionego na żółto płynu, w którym pozostały niestrącalne z wapniem związki niehumusowe. W ten sposób uzyskano wstępnie oczyszczony osad kwasów hymatomelanowych w postaci soli wapniowych. Z osadu tego usuwano niezwłocznie po odwirowaniu wapń przez wielokrotne przemywanie 0,5 N roztworem kwasu solnego na wirówce. Przemyty kwasem solnym osad zmienił barwę z brunatnej (sól wapniowa) na jasnobrązową (wolne kwasy hymatomelanowe). Natychmiast po przemyciu osad rozpuszczano w bezwodnym acetonie i w tej postaci przechowywano kwasy hymatomelanowe

do czasu analizy. Nieznaczny żółtawy osad pozostający po rozpuszczeniu kwasów hymatomelanowych w acetonie usuwano przez odwirowanie.

Tak przygotowany acetonowy roztwór kwasów hymatomelanowych rozdzielano na kolumnach z celulozy sproszkowanej Whatmana.

W kolumnie umieszczano 30 g celulozy zawieszzonej w 200 ml acetonu z dodatkiem 10 ml wody. Ciecz odsysano celem uformowania słupa celulozy. Na kolumnę wlewano 10 ml roztworu kwasów hymatomelanowych w acetonie, zawierającego 4 mg suchej masy w 1 ml. Chromatogram kolumnowy rozwijano przy pomocy układu:

n-butanol nasycony H_2O — aceton — 0,1 N HCl (12 : 12 : 0,5 obj.).

Tab. 3. Wyniki oznaczeń ciężarów równoważnikowych oczyszczono
Die Ergebnisse der Äquivalentgewichtbestimmung der chro

L. p. L. Nr.	Materiał wyjściowy Ausgangsmaterial	Barwa plamy na bibule w ultrafioletcie Farbleck auf d. Papier im Ultraviolett	R_f frakcji R_f d. Fraktion	
			układ I Lösungsmittelgemisch I	układ II Lösungsmittelgemisch II
1	Torf niski kw. β -hymatomel. Flachmoortorf β -Hymatomel. Säure	brązowa braun	—	0,93
2	Torf niski kw. α -hymatomel. Flachmoortorf α -Hymatomel. Säure	brąz.-żółta braungelb	—	0,57
3	Torf niski Flachmoortorf	żółto-brązowa gelbbraun	—	0,33
4	Ziemia kompost. kw. β -hymatomel. Komposterde β -Hymatomel. Säure	żółta gelb	0,95	—
5	Ziemia kompost. Komposterde	oliwkowa olivenbraun	0,48	—
6	Ziemia kompost. kw. α -hymatomel. Komposterde α -Hymatomel. Säure	brązowo-oliwkowa braun-olivenbraun	0,45	—

Objaśnienie: w celu oznaczenia współczynnika R_f frakcji z ziemi kompo (12 : 12 : 1,5), natomiast współczynnik R_f frakcji z torfu niskiego oznaczono

Um den Koeffizient R_f der Fraktion aus der Komposterde zu bestimmen n-Butanol — Azeton — 0,5 n HCl (12 : 12 : 1,5 Vol.); bei der Bestimmung des mittelgemisch II angewandt: n-Butanol — Azeton — 0,1 n HCl (12 : 12 : 1,5 Vol.).

W świetle ultrafioletowym obserwowano na chromatogramie fluoryzujące warstwy, które eluowano acetonem, a potem wodą. Wygląd chromatogramu oraz kolejnych stadiów elucji podaje poprzednia publikacja autora (26). Frakcje eluowane z kolumny poddano rechromatografii na bibule Whatmana nr 1. Chromatogram bibułowy rozwijano w układzie: n-butanol nasycony wodą — aceton — 0,1 N HCl (12 : 12 : 1,5 obj.).

Przy pomocy chromatografii bibułowej stwierdzono jednorodność chromatograficzną wymienionych w tab. 3 frakcji kwasów hymatomelanowych.

nach chromatograficznie frakcji kwasów hymatomelanowych
matographisch gereinigten Fraktionen der Hymatomelansäuren

Ilość suchej masy pobranej do oznaczenia Mg zur Bestimmung verwendeter Trocken-substanz		Ilość ml zużytego 0,1 n Ba(OH) ₂ Ml von benötigter 0,1 N Ba(OH) ₂		Ciężar równoważnikowy Äquivalentgewicht		Krzywe miareczkowania podane na rys.
Konduktometria Konduktometrie	Potencjometria Potentiometrie	Konduktometria Konduktometrie	Potencjometria Potentiometrie	Konduktometria Konduktometrie	Potencjometria Potentiometrie	Titrationkurven angegeben an Abb.
68	68	1,58	1,6	430	425	Nr 1a, 2a
40	63,8	1,6	2,52	250	253	Nr 1c, 2c
45	25,2	2,1	0,8	214	315	Nr 4, 5
77,5	77,5	1,56	1,14	500	680	Nr 1 b, 2b
25,9	97,4	0,64	2,6	405	374	Nr 6
55	55	2,1	2,2	262	250	Nr 1d, 2d

stowej używano do rechromatografii układu I: n-butanol — aceton — 0,5 n HCl w układzie II: n-butanol — aceton — 0,1 n HCl (12 : 12 : 1,5 obj.).

wurde bei der Rechromatographie das Lösungsmittelgemisch I angewandt: Koeffizienten R_f der Fraktion aus dem Flachmoortorf dagegen wurde das Lösungs-

Pomiary

Chromatograficznie jednorodne frakcje kwasów hymatomelanowych (wymienione w tab. 3) poddano analizie konduktometrycznej i potencjometrycznej w następujących warunkach:

Do naczynka pomiarowego wlewano 5 do 10 ml acetonowego roztworu każdej z frakcji, co odpowiadało 40—80 mg suchej masy danego preparatu. Zawartość suchej masy w 1 ml analizowanego roztworu oznaczano przedtem przez wysuszenie próbki pod zmniejszonym ciśnieniem 10 mm słupa Hg i w temp. 55°C. Następnie do naczynka pomiarowego z analizowanym roztworem wlewano 60 ml wody redestylowanej uwolnionej od CO₂, po czym naczynko szczelnie zamykano i wypierano z niego powietrze oczyszczonym azotem. W cieczy zanurzano elektrody do konduktometrii (czerniona platyna), bądź elektrodę szklaną i klucz agarowy łączący się z nasyconą elektrodą kalomelową. Miareczkowano roztworem 0,1 N Ba(OH)₂ z mikrobiurety z automatycznym nalewem, z wyłączeniem dostępu tlenu i dwutlenku węgla. Podczas miareczkowania ciecz nieustannie mieszano mieszadłem magnetycznym oraz wypuszczano do niej przez kapilarę strumień azotu uwolnionego od tlenu i CO₂. Odczytu dokonywano po upływie 30 minut od chwili dodania porcji Ba(OH)₂, ponieważ dopiero wtedy ustalało się przewodnictwo bądź potencjał miareczkowanego roztworu. Płyn z biurety wkraplano w porcjach po 0,1 bądź 0,2 ml. Pomiaru oporności dokonywano przy pomocy lampowego przyrządu produkcji ČSR marki „Conductoscop” ze wskaźnikiem elektro-nowym. Do pomiaru wartości pH używano potencjometru lampowego „Moskip” typ ŁP 5, o dokładności 0,1 pH. Przed miareczkowaniem roztwory słabo zakwaszano przez dodanie do naczynka 0,5 ml 0,1 N HCl. Dla porównania wykonano również kilka oznaczeń bez wstępnego zakwaszania; otrzymuje się wtedy krzywą jak na rys. 3.

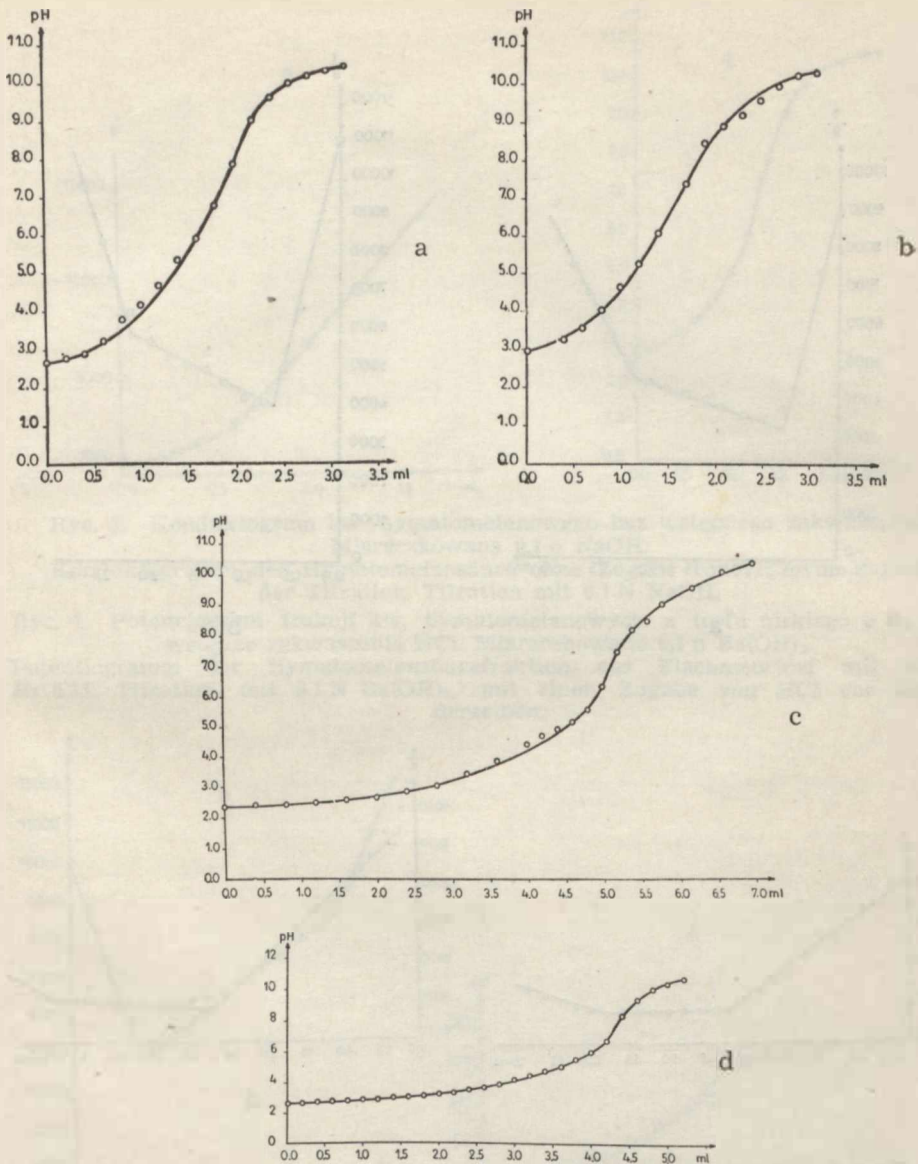
W miarę wkraplania roztworu Ba(OH)₂ obserwowano stopniowe wytrącanie się osadów hymatomelanianów baru, których barwa zależna była od rodzaju badanej frakcji (żółto-brązowa, brązowa lub ciemno-brązowa).

Dla porównania użyto w kilku pomiarach roztworu 0,1 N NaOH zamiast Ba(OH)₂. Uzyskano podobne rezultaty jak z zasadą barową (p. rys. 3).

Wyniki oznaczeń konduktometrycznych i potencjometrycznych analizowanych frakcji przeliczono na wartość ciężaru równoważnikowego i zebrano w tab. 3.

Odpowiednie krzywe z tych oznaczeń przedstawiają rys. 1, 2, 3, 4, 5, 6.

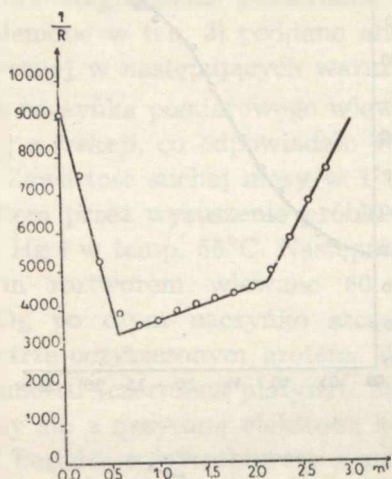
Rozrzut przy powtarzaniu oznaczeń nie przekraczał 2% wielkości wyniku.



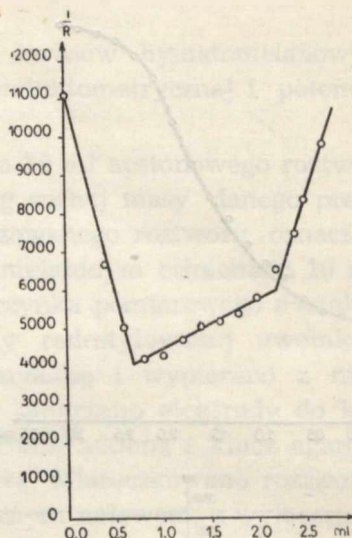
Ryc. 1. Porównanie potencjogramów frakcji kwasów hymatomelanowych z torfu niskiego i ziemi kompostowej. Miareczkowano 0,1n Ba(OH)₂. Wstępne zakwaszenie HCl.

Vergleichende Übersicht der Potentiogramme der Hymatomelansäurefraktionen aus Flachmoortorf und Komposterde. Titration mit 0,1N Ba(OH)₂, mit einer Zugabe von HCl vor Beginn derselben.

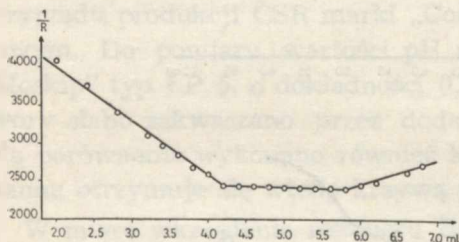
- a) Torf, R_f 0,93 (Kwas β-hymatomelanowy, β-Hymatomelansäure);
- b) Kompost, R_f 0,95 (Kwas β-hymatomelanowy, β-Hymatomelansäure);
- c) Torf, R_f 0,57 (Kwas α-hymatomelanowy, α-Hymatomelansäure);
- d) Kompost, R_f 0,45 (Kwas α-hymatomelanowy, α-Hymatomelansäure).



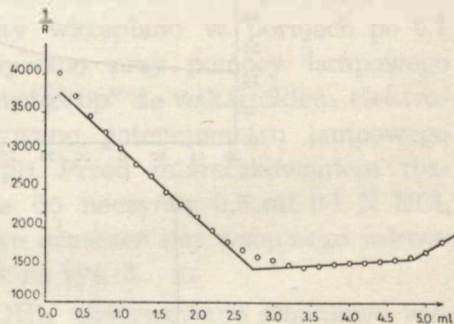
a



b



c

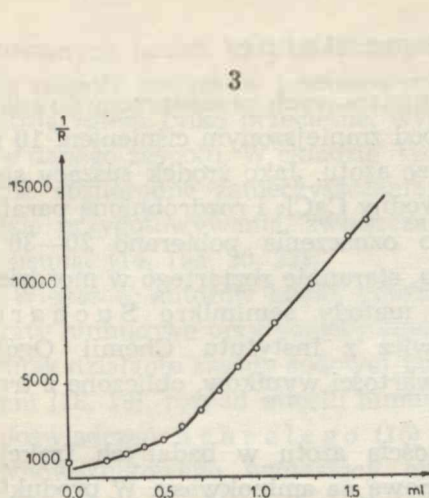


d

Ryc. 2. Porównanie konduktogramów frakcji kw. hymatomelanowych z torfu niskiego i ziemi kompostowej. Miareczkowano 0,1 n $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Wstępne zakwaszenie HCl.

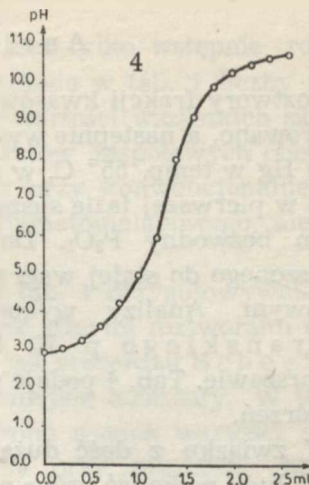
Vergleichende Übersicht der Konduktogramme der Hymatomelansäurefraktionen aus Flachmoortorf und Komposterde. Titration mit 0,1 N $\text{Ba}(\text{OH})_2$, mit einer Zugabe von HCl vor Beginn derselben.

- a) Torf, R_f 0,93 (Kwas β -hymatomelanowy), β -Hymatomelansäure);
- b) Kompost, R_f 0,95 (Kwas β -hymatomelanowy, β -Hymatomelansäure);
- c) Torf, R_f 0,57 (Kwas α -hymatomelanowy, α -Hymatomelansäure);
- d) Kompost, R_f 0,45 (Kwas α -hymatomelanowy, α -Hymatomelansäure).



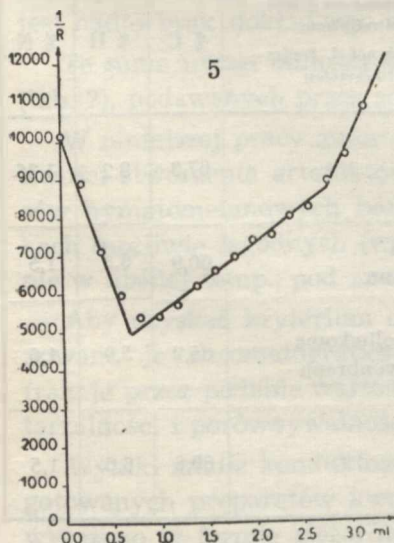
Ryc. 3. Konduktogram kw. hymatomelanowego bez wstępnego zakwaszenia. Miareczkowana 0,1 n NaOH.

Konduktogramm der Hymatomelansäure ohne Zugabe von HCl vor Beginn der Titration. Titration mit 0,1 N NaOH.



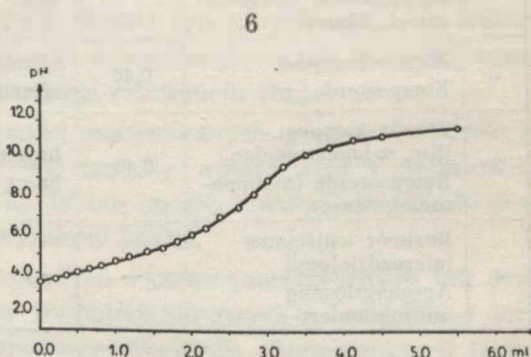
Ryc. 4. Potencjogram frakcji kw. hymatomelanowych z torfu niskiego o R_f 0,33, wstępne zakwaszenie HCl. Miareczkowano 0,1 n $Ba(OH)_2$.

Potentiogramm der Hymatomelansäurefraktion aus Flachmoortorf mit einem R_f 0,33. Titration mit 0,1 N $Ba(OH)_2$, mit einer Zugabe von HCl vor Beginn derselben.



Ryc. 5. Konduktogram frakcji kw. hymatomelanowych o R_f 0,33 z torfu. Miareczkowanano 0,1 n $Ba(OH)_2$ wstępne zakwaszenie HCl.

Konduktogramm der Hymatomelansäurefraktion mit einem R_f 0,33 aus Torf. Titration mit 0,1 N $Ba(OH)_2$, mit einer Zugabe von HCl vor Beginn derselben.



Ryc. 6. Potencjogram frakcji kw. hymatomelanowych z ziemi kompostowej, R_f 0,48. Miareczkowana 0,1 n $Ba(OH)_2$. Wstępne zakwaszenie HCl.

Potentiogramm der Hymatomelansäurefraktion aus Komposterde, R_f 0,48. Titration mit 0,1 N $Ba(OH)_2$, mit einer Zugabe von HCl vor Beginn derselben.

Analizy elementarne

Roztwory frakcji kwasów hymatomelanowych przeznaczone do analizy odparowano, a następnie wysuszono pod zmniejszonym ciśnieniem 10 mm słupa Hg w temp. 55° C, w atmosferze azotu. Jako środek suszący stosowano w pierwszej fazie suszenia bezwodny CaCl₂ i rozdrobnioną parafinę, potem bezwodny P₂O₅. Do jednego oznaczenia pobierano 20—30 mg wysuszonego do stałej wagi preparatu, starannie rozartego w moździerzu agatowym. Analizy wykonała wg metody semimikro Suchardya-Bobrańskiego p. K. Usiekiewicz z Instytutu Chemii Ogólnej w Warszawie. Tab. 4 podaje średnie wartości wyników, obliczone z trzech powtórzeń.

W związku z dość dużą zawartością azotu w badanych frakcjach można było wykonać próbę ninhydrynową na aminokwasy. W produktach hydrolizy stężonym HCl stwierdzono obecność aminokwasów.

Tab 4. Wyniki analizy elementarnych niektórych oczyszczonych chromatograficznie frakcji kwasów hymatomelanowych z ziemi kompostowej.
Ergebnisse der Elementaranalyse einiger chromatographisch gereinigter Fraktionen der Hymatomelansäuren der Komposterde

L. p. L. Nr.	Materiał wyjściowy Ausgangsmaterial	R _f frakcji (układ I) R _f d. Fraktion (Lösungsmittelgemisch I)	Barwa plamy na bibule w ultrafiolecie Farb'leck auf d. Papier im Ultraviolett	% C	% H	% N
1	Ziemia kompostowa (Kw. β-hymatomelan.) Komposterde (β-Hymatomel. Säure)	0,95	żółta gelb	67,3	8,2	1,35
2	Ziemia kompost. Komposterde	0,48	oliwkowa olivengrün	60,9	6,3	1,5
3	Ziemia kompost. (Kw. α-hymatomelan.) Komposterde (α-Hymatomel. Säure)	0,45	brązowo-oliwkowa braun-olivengrün	65,2	5,0	1,6
4	Roztwór wyjściowy (nierozdzielony) Ausgangslösung (unfraktioniert)	—	—	60,6	6,6	1,5

DYSKUSJA

Uzyskiwane przez różnych autorów (p. tab. 1) wyniki analizy konduktometrycznej i potencjometrycznej kwasów hymatomelanowych odpowiadają ciężarowi równoważnikowemu w granicach od 153 do 200; dla kwasów huminowych otrzymano wielkości od 157 do 339. Przedmiotem

cytowanych badań były niefrakcjonowane, lecz tylko wstępnie rozdzielone zespoły związków humusowych. Przytoczone w tab. 1 liczby reprezentują zatem tylko przeciętne, wypadkowe wartości wszystkich składników danego zespołu. W składzie tych preparatów zespołowych obecne są nadto różnorodne zanieczyszczenia, których przy konwencjonalnej metodzie przygotowywania, zwłaszcza kwasu hymatomelanowego, nie można usunąć (14, 19a, 20, 22).

Większość autorów badań cytowanych w tab. 1 przygotowywała preparaty humusowe przy pomocy ekstrakcji dość silnymi roztworami NaOH. Jednak działanie zasady sodowej powoduje, jak stwierdził S c h e e l e (16) i inni (18, 19), rozpad micelli humianu na mniejsze elementy. W jednym z doświadczeń S c h e e l e g o (16) stwierdzono spadek wartości ciężaru równoważnikowego, wynoszący około 100% przy dłuższym działaniu NaOH. W innym doświadczeniu tegoż autora zaobserwowano interesujący fakt nagłego rozpadu micelli humianu natychmiast po dodaniu nadmiaru zasady sodowej. Rozpad ten wyraził się w zmniejszeniu ciężaru molowego badanego preparatu z 8000 na 4000.

Na podstawie wyżej przytoczonych doświadczeń można przypuszczać, że przynajmniej część cytowanych w tab. 1 wartości ciężarów równoważnikowych dotyczy artefaktów. Dużą trudnością w ocenie tych wyników jest nadto brak dokładnego kryterium stopnia czystości tych preparatów.

Te same uwagi odnoszą się także do wyników analiz elementarnych (tab. 2), podawanych przez różnych autorów.

W niniejszej pracy autor starał się uniknąć wymienionych wyżej możliwości stworzenia artefaktów. Dlatego przygotowywano preparaty kwasów hymatomelanowych bez użycia NaOH lub innych zasad, w warunkach możliwie łagodnych (wyłączenie działania stężonych kwasów, suszenie w niskiej temp., pod zmniejszonym ciśnieniem itd.).

Aby uzyskać kryterium czystości analizowanych preparatów, frakcjonowano je chromatograficznie wg metody autora (16) i definiowano frakcje przez podanie wartości R_f . W ten sposób stworzono warunki powtarzalności i porównywalności wyników analiz.

Wyniki analiz konduktometrycznych i potencjometrycznych tak przygotowanych preparatów kwasów hymatomelanowych z kompostu i torfu wyrażono w formie ciężarów równoważnikowych poszczególnych frakcji i podano w tab. 3. Wyniki te są na ogół wyższe niż podawane w literaturze (por. tab. 1). Szczególnie wysokie ciężary równoważnikowe (od 425 do 680) mają frakcje o wartościach R_f 0,93 i 0,95. Frakcje o wartościach R_f 0,33, 0,57 i 0,45 (p. tab. 3) posiadają ciężary równoważnikowe od 214 do 262, a więc zbliżone do przeciętnych wyników, znanych z piśmienictwa (tab. 1). Frakcja o wartości R_f 0,48 wykazuje pośrednią wartość

ciężaru równoważnikowego (ok. 400), jednak przewyższającą przeciętne wyniki, podawane w piśmiennictwie.

Z tab. 3 widać, że metoda konduktometryczna daje na ogół wyniki zgodne z wynikami analizy potencjometrycznej. Jednak dla niektórych frakcji uzyskano wartości rozbieżne. W przypadku frakcji o R_f 0,33 wyższy wynik potencjometryczny można by wyjaśnić błędem doświadczenia, spowodowanym zbyt małą ilością preparatu, pobraną do analizy. Wyższy wynik potencjometryczny w porównaniu z konduktometrią otrzymano także dla frakcji o R_f 0,95. Podobne rozbieżności w wynikach obu tych metod napotkał w swych badaniach S c h e e l e (16).

Na podkreślenie zasługuje podobieństwo niektórych frakcji z kompostu i z torfu. Frakcja o R_f 0,57 z torfu ma bardzo zbliżony ciężar równoważnikowy do frakcji o R_f 0,45 z kompostu, wynoszący ok. 250 (p. tab. 3). Również przebiegi krzywych potencjometrycznych i konduktometrycznych są dla tych frakcji bardzo podobne (rys. 1c, 1d, 2c i 2d). Z biologicznego punktu widzenia jest to wynik dość nieoczekiwany z uwagi na ogromne różnice między biotypem torfu, a kompostu. Proponuję nazwać frakcję o ciężarze równoważnikowym ok. 250 — k w a s e m α -h y m a t o m e l a n o w y m.

Również bardzo podobny przebieg krzywych widać na rys. 1a, 1b oraz rys. 2a, 2b dla frakcji o wartości R_f 0,93 z torfu i 0,95 z kompostu. Kształt krzywych jest jednak inny niż w poprzednio omówionym przypadku; również ciężar równoważnikowy jest wyższy, wynosi około 430—500. Proponuję nazwać tę frakcję k w a s e m β -h y m a t o m e l a n o w y m.

Być może, że te podobne frakcje α i β kwasu hymatomelanowego zawarte w różnych materiałach humusowych są stale powtarzającymi się ogniwami pośrednimi w złożonym procesie biosyntezy próchnicy.

Pozostałe krzywe (na rys. 4, 5 i 6) nie wykazują takiego bliskiego podobieństwa między sobą, a odpowiednie wartości ciężaru równoważnikowego różnią się od siebie w zależności od materiału wyjściowego.

Na podstawie przebiegu krzywych konduktometrycznych i potencjometrycznych na rys. 1—6 wydaje się, że wszystkie badane frakcje kwasów hymatomelanowych mają charakter kwasu organicznego. Nie wykluczone jest jednak zjawisko adsorpcji w końcowym stadium miareczkowania.

Przebieg środkowej części konduktogramów na rys. 2a i 2b jest podobny do krzywych uzyskanych przez H a l l a (5) dla preparatów z węgla kamiennego (widoczne minimum przewodnictwa). W tego rodzaju substancjach istnieje wg H a l l a możliwość przewodnictwa wewnątrz siatki micelarnej, podobnie jak w micelli białka.

W dotychczasowych badaniach chemicznych nad kwasem hymatomelanowym brak było danych co do składu elementarnego tych związków pochodzenia kompostowego (p. tab. 2). Podane w tab. 4 wyniki analiz elementarnych oczyszczonych chromatograficznie frakcji, jak też i preparatu kompleksowego niefrakcjonowanego, uzupełniają ten brak w piśmiennictwie. Wyniki te zbliżają się do przeciętnych wartości uzyskiwanych przez innych autorów dla preparatów pochodzących z torfu, węgla i gleb (tab. 2). Dobrą zgodność wykazują zwłaszcza dane co do zawartości węgla w preparacie niefrakcjonowanym (60,6%) i preparacie otrzymanym przez Scheelego (60,54%). Natomiast zawartość wodoru i azotu w badanych preparatach była na ogół wyższa niż podaje Scheele (tab. 2).

Wysoka zawartość azotu w badanych frakcjach zasługuje na bliższe zbadanie tak pod względem chemicznym, jak i użyteczności biologicznej, zwłaszcza, że azot jest tam związany częściowo w postaci grup aminowych.

Wyniki analiz elementarnych badanych frakcji przemawiają na korzyść tezy o pokrewieństwie chemicznym pewnych frakcji humusu bez względu na materiał wyjściowy i stanowią potwierdzenie tego przypuszczenia, wysuniętego na podstawie analizy elektrometrycznej.

WNIOSKI

1. Wydzielono w warunkach możliwie łagodnych i bez użycia NaOH kwasy hymatomelanowe z torfu niskiego i kompostu, rozdzielono je na frakcje przy pomocy chromatografii na celulozie (26) i oznaczono ich wartości R_f na bibule Whatmana.

2. Oznaczono ciężary równoważnikowe tych frakcji metodą potencjometryczną i konduktometryczną, używając do miareczkowania 0,1 N roztworu $Ba(OH)_2$.

3. Ciężary równoważnikowe frakcji kwasów hymatomelanowych wahają się w granicach od 214 do 680, są zatem wyższe od przeciętnych wartości podanych w literaturze (tab. 1). Przyczyną tej różnicy może być dokładniejsze oczyszczenie i rozfrakcjonowanie preparatów na drodze chromatograficznej oraz zachowanie łagodnych warunków preparacji (bez użycia NaOH).

4. Stwierdzono bardzo zbliżone ciężary równoważnikowe oraz identyczne przebiegi krzywych dla niektórych frakcji, różniących się pochodzeniem (torf lub ziemia kompostowa). Są to:

a) frakcja o wartości R_f 0,57 z torfu i frakcja o R_f 0,45 z kompostu, których ciężary równoważnikowe wynoszą ok. 250. Proponuję nazwać te frakcje kwasem α -hymatomelanowym (rys. 1c, 1d, 2c i 2d).

b) frakcja o wartości R_f 0,93 z torfu i frakcja o wartości R_f 0,95 z kompostu, których ciężary równoważnikowe zawarte są w granicach 430—500, a krzywe miareczkowania mają przebieg przedstawiony na rys. 1a, 1b, 2a i 2b. Proponuję nazwać te frakcje kwasem β -hymatomelanowym.

5. Skład elementarny badanych frakcji kwasów hymatomelanowych z kompostu jest zbliżony do składu analogicznych preparatów wydzielonych przez innych autorów z gleb, torfu i węgla.

6. W kwasach hymatomelanowych wykryto po hydrolizie kwasem solnym aminokwasy.

* * *

Pani Mgr Bożenie Chmielewskiej serdecznie dziękuje za cenną pomoc przy wykonywaniu analiz elektrometrycznych.

PIŚMIENICTWO

1. Aleksandrowa L. N.: Poczwowiedienije, 1, 14, 1954.
2. Baver L. D., Hall N.: Missouri Agr. Exp. Sta. Res. Bul., 267, 1937; cytowane wg Marshall C. E., Patnaik N., Soil Sci., 75, 153, 1953.
3. Bottomley W. B., Biochem. J., 9, 260, 1915.
4. Forsyth W. G. C.: Biochem. J., 41, 176, 1947.
5. Halla F., Ruston W. R.: Ztschr. f. Elektrochemie, 59, 525, 1955.
6. Hissink D. J.: Verh. 2. Komm. intern. bodenkundl. Ges., Abt. A., 198—204, 1928, cytowane wg Scheele W., Kolloid-Beih., 46, 368, 1937.
7. Hoppe-Seyler F.: Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiol. Chem. 13, 66, 1889; cytowane wg Oden S., Die Huminsäuren, Dresden u. Leipzig, 1922.
8. Kononowa M. M.: Problema poczwinnogo gumusa, Moskwa 1951.
9. Kotzmann L.: Verh. 2. Komm. Intern. bodenkundl. Ges., Abt. A, 79—92, 1933; cytowane wg Scheele W., Kolloid-Beih., 46, 368, 1937.
10. Kucharenko T. A.: Žurn. priklad. chimii, 21, nr 2, 1948
11. Laatsch W., Bauer L., Bieneck O.: Landw. Forsch., 2, 38, 1950.
12. Marshall C. E., Patnaik N.: Soil Sci., 75, 153, 1953.
13. Natkina A. J.: Trudy Poczwiennogo Inst. im. Dokuczajewa Akad. Nauk SSSR, 23, 1940.
14. Oden S.: Kolloid-Beih., 11, 1919.
15. Puustjärvi V.: Acta Agr. Scand., 5, 257, 1955.
16. Scheele W.: Kolloid-Beih., 46, 368, 1937.
17. Scheffer F., Plotho O., Welte E.: Landw. Forsch. 1, 86, 1950.
18. Scheffer F., Welte E.: Landw. Forsch., 1, 81, 1950.
19. Springer U.: Bodenkunde u. Pflanzenernähr., 6, 312, 1938.
- 19a. Springer U.: Ztschr. Pfl. Ernähr. Düng., 69, 66, 1955.
20. Stadnikow G. L.: Chimia torfa, Moskwa 1930.
21. Waksman S. A.: Humus, Londyn 1936.
22. Welte E.: Ztschr. Pfl. Ernähr. Düng., 56, 105, 1952.
23. Tiszczenko W., Rydalewskaja M.: Dokł. Akad. Nauk SSSR, 4, 1936.

24. Trojanowski J.: Ann. Univ. Marie Curie-Skłodowska, Lublin, sectio C, vol. 6, 298, 1952.
25. Trojanowski J.: Acta Soc. Bot. Pol., 23, 144, 1954.
26. Trojanowski J.: Ann. Univ. Marie Curie-Skłodowska, Lublin, sectio C, vol. X, 275, 1957.

Р Е З Ю М Е

В настоящей работе автор пытается более подробно охарактеризовать некоторые химические свойства гиматомелановых кислот, которые представляют собой сравнительно наименее изученную группу гумусовых соединений.

Конвенциональные способы заготовки препаратов гиматомелановых кислот при применении NaOH обладают двумя основными недостатками:

1) получают препараты загрязненные негумусовыми веществами (14, 19а, 20, 22),

2) действие избытка NaOH вызывает распад натуральных мицелл гумусовых соединений на меньшие элементы (16), а также способствует их окислению (18, 19).

Таким образом могут образовываться артефакты — вещества сильно отличающиеся от натуральных.

В настоящей работе автор старался исключить выше указанную возможность возникновения артефактов. В течение приготовления препаратов автор избегал применения сильно действующих средств, а также им были очищены препараты путем использования хроматографии. В особенности автор исключил употребление NaOH.

Исходными материалами были: 6-и летний компост из листьев деревьев и низинный торф. С размельченного воздушно сухого материала устранялись битумы при помощи легкого бензина, а также вымывались кальций и железо при помощи раствора 0,2 N хлористоводородной кислоты. Затем материал прополаскивался водой и непосредственно экстрагировался 95%—ым этанолом при комнатной температуре. Из этанолового экстракта осаждались гиматомелановые кислоты в виде соли кальция, по добавлении ацетата кальция, при pH 6,8. Затем из осадка после седиментации устранялся кальций путем промывания раствором 0,5 N HCl и водой на центрифуге. Полученные таким образом свободные гиматомелановые кислоты (предварительно очищенные) растворялись в обезвоженном ацетоне.

Ацетоновый раствор гиматомелановых кислот подвергался хроматографическому анализу на колонках из порошкообразной целлю-

лозы Whatman'a. Колонка наполнялась взвесью 30 г. целлюлозы в 200 мл ацетона и 10 мл воды. В сформированную таким образом колонку вливалось 10 мл ацетонового раствора гиматомелановых кислот с концентрацией 4 мг/мл. Хроматограмма колонки проявлялась смесью: n-бутанол насыщенный водой — ацетон — 0,1 N HCl (12:12:0,5). В ультрафиолетовом свете на хроматограмме можно было наблюдать флуоресцирующие зоны, которые элюировались сперва ацетоном а затем водой. Элюаты подвергались повторной хроматографии на бумаге Whatman'a № 1 в смеси: n-бутанол насыщенный водой — ацетон — 0,1 N HCl (12:12:1,5). Бумага ничем не пропитывалась. Подробное описание и рисунки хроматограммы изложены в предыдущей работе автора (26).

Таким образом полученные фракции подвергались дальнейшему исследованию кондуктометрическим и потенциометрическим методом при соблюдении нижеследующих условий:

В измерительный сосудик вливалось 5—10 мл ацетонового раствора исследуемой фракции (40—80 мг сухого вещества), 60 мл редестиллированной воды и 0,5 мл 0,1 N HCl. Титрование производилось раствором 0,1 N Ba(OH)₂ в атмосфере азота, отмечая результаты каждые 30 минут. Жидкость непрерывно перемешивалась магнитической мешалкой. Полученные таким образом кондуктометрические и потенциометрические кривые иллюстрируют рис. 1, 2, 4, 5, 6. Вычисленный на основании этих кривых эквивалентный вес представлен на табл. 3.

Полученные в настоящей работе результаты в общем выше встречаемых в соответственной литературе (см. табл. 1). Характер средней части кондуктограмм на рис. 2а и 2б сходен с кривыми подученными Галлем (5) (видно минимум проводимости). Галль предполагает возможность существования в таких веществах проводимости внутри мицеллярной сети.

В табл. 4 представлены результаты элементарного состава фракций гиматомелановых кислот из компоста, которые весьма близки к средним результатам, подаваемым в соответственной литературе (см. табл. 2). Содержание Н и N в этих препаратах выше, чем в препаратах других авторов. Азот выступает преимущественно в виде аминокислот.

В ы в о д ы

1. Выделено, применяя по возможности слабые мероприятия и не употребляя NaOH гиматомелановые кислоты из низинного торфа и из компоста, затем разделено выделенные кислоты на фра-

кции при помощи хроматографии на целлюлозе и вычислено величины их R_f на бумаге Whatman'a.

2. Эквивалентные веса чистых хроматографически фракций определялись кондуктометрическим и потенциометрическим методами титрованием применяя 0,1 N Ba(OH)₂.

3. Эквивалентные веса фракций гиматомелановых кислот колеблются в границах от 214 до 680, следовательно они выше от средних величин, опубликованных в соответственной литературе. Причиной этих разниц могут быть тщательное очищение и разфракционирование препаратов путем хроматографии, а также применение более слабых мероприятий при заготовке препаратов. NaOH при этом было совсем исключено.

4. Установлено очень сближенный эквивалентный вес, а также идентичный характер кривых или некоторых фракций, отличающихся происхождением (торф или компост).

Это следующие:

а) фракция с величиной R_f 0,57 из торфа и фракция с величиной R_f 0,45 из компоста, которых эквивалентный вес равняется около 250. Автор предлагает назвать эти фракции альфа-гиматомелановой кислотой (кривые на рисунках 1с, 1d, 2с, 2d).

б) фракция с величиной R_f 0,93 из торфа и фракция с величиной R_f 0,95 из компоста, которых эквивалентный вес колеблется в границах от 430 до 500. Автор предлагает эти фракции назвать бета-гиматомелановой кислотой. (кривые на рисунках 1а, 1b, 2а и 2b).

5. Элементарный состав исследуемых фракций гиматомелановых кислот из компоста весьма близок к составу препаратов, выделенных другими авторами из иных исходных материалов (почвы, торфы).

6. В гиматомелановых кислотах содержатся химически связанные аминокислоты, которые можно обнаружить только путем гидролиза соляной кислотой.

ОБЪЯСНЕНИЕ К ТАБЛИЦАМ

Табл. 1. — Эквивалентные веса гумусовых субстанций.

Табл. 2. — Результаты элементарных анализов гумусовых веществ.

Табл. 3. — Результаты определения эквивалентных весов хроматографически очищенных фракций гиматомелановых кислот.

Объяснение: Для вычисления коэффициента R_f фракции из компоста для рехроматографии употреблялась смесь I: п — бутанол — ацетон — 0,5 н HCl (12:12:1,5 объем), коэффициент R_f фракции из лизинного торфа определялся при использовании смеси II: п — бутанол — ацетон — 0,1 н HCl (12:12:1,5 объем).

Табл. 4. — Результаты элементарного анализа некоторых хроматографически очищенных фракций гиматомелановых кислот из компоста.

ОБЪЯСНЕНИЯ К РИСУНКАМ

- Рис. 1. — Сопоставление потенциограмм фракции гиматомелановых кислот из низинного торфа и компоста. Титрование при помощи $0,1 \text{ n Ba(OH)}_2$. Предварительное заквашение посредством HCl .
- Рис. 2. — Сопоставление кондуктограмм фракций гиматомелановых кислот из низинного торфа и компоста.
- Рис. 3. — Кондуктограмма гиматомелановой кислоты предварительно незаквашенной.
- Рис. 4. — Потенциограмма фракций гиматомелановых кислот из низинного торфа с величиной $R_f = 0,33$.
- Рис. 5. — Кондуктограмма фракций гиматомелановых кислот с величиной $R_f = 0,33$.
- Рис. 6. — Потенциограмма фракций гиматомелановых кислот из компоста.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Verfasser beabsichtigt in der vorliegenden Arbeit gewisse chemische Eigenschaften der Hymatomelansäuren zu charakterisieren, welche eine bisher sehr wenig bekannte Gruppe der Humusstoffe bilden.

Die konventionellen Methoden der Präparation der Hymatomelansäuren mit Anwendung von NaOH sind mit zwei kardinalen Fehlern belastet:

1) Sie geben uns Präparate, die mit Stoffen verunreinigt sind, welche grundsätzlich nicht zu den Bestandteilen der Humusstoffe gehören (14, 19a, 20, 22);

2) Durch Einwirkung von NaOH im Überfluss kommt es zum Zerfall der natürlichen Mizellen der Humusverbindungen in Elemente einfacherer Struktur (16), weiterhin wird auch dadurch ihre Oxydation begünstigt. Es dürften also auf diese Weise Artefakten entstehen — Stoffe, die den Naturprodukten nicht entsprechen.

Der Verfasser strebte in seiner Arbeit danach Möglichkeiten einer Artefaktenbildung zu vermeiden. In der Bearbeitung des Materials wurde von einer Verwendung stark wirkender Reagentien abgesehen und die Reinigung der Präparate auf chromatographischem Wege vorgenommen. Insbesondere wurde von einer Verwendung von NaOH Abstand genommen.

Ausgangsmaterial für die Arbeit waren: sechsjähriger Kompost aus Laubblättern und Flachmoortorf. Aus dem zerkleinerten, lufttrockenen Material wurden die Bitumenstoffe durch Petroläther entfernt, Ca und Fe mit einer Lösung von $0,2 \text{ N}$ Salzsäure ausgewaschen. Das so vorbereitete Material wurde mit H_2O gespült und alsdann in Zimmertemperatur mit Anwendung von 95% Etanol direkt der Extraktion unterworfen.

Aus dem Etanolextrakt wurden die Hymatomelansäuren als Kalksalze bei Anwendung von Calciumazetat bei pH 6,8 herausgefällt. Nach der Dekantation wurde weiter aus der Fällung Ca mit einer 0,5 N HCl-Lösung und H₂O in einer Zentrifuge herausgespült. Die so im Vorbereitungsstadium gereinigten, freien Hymatomelansäuren wurden nun in reinem Azeton gelöst.

Die im Azeton gelösten Hymatomelansäuren wurden in Adsorptionsröhren aus Zellulosepulver nach Whatman chromatographiert. Das Adsorptionsrohr wurde mit einer Zellulose-Azeton-Suspension angefüllt (30 gr Zellulose in 200 ml Azeton und 10 ml H₂O). In das vorbereitete Adsorptionsrohr wurde 10 ml der in Azeton gelösten Hymatomelansäuren von einer Konzentration von 4 mg/ml eingeführt. Das so erhaltene Chromatogramm wurde in folgendem Lösungsmittelgemisch entwickelt: wassergesättigtes n-Butanol — Azeton — 0,1 N HCl (12 : 12 : 0,5 Vol.). In ultraviolettem Licht wurden auf dem Chromatogramm fluorisierende Zonen sichtbar, welche der Reihe nach mit Azeton und Wasser eluiert wurden. Die Eluate wurden auf Whatman-Papier Nr. 1 mit Anwendung folgenden Lösungsmittels rechromatographiert: wassergesättigtes n-Butanol — Azeton — 0,1 N HCl (12 : 12 : 1,5 Vol.). Das Papier wurde nicht imprägniert. (Eine genaue Beschreibung sowie die Abbildungen der Chromatogramme enthält eine frühere Arbeit des Verfassers (26).

Die so bearbeiteten Fraktionen wurden mit der konduktometrischen und potentiometrischen Methode bei Einhaltung folgender Bedingungen untersucht.

In ein Messgefäß wurden 5—10 ml Azetonlösung der untersuchten Fraktion (40—80 mg Trockensubstanz), 60 ml redestilliertes Wasser und 0,5 ml 0,1 N HCl eingeführt. Titriert wurde mit 0,1 N Ba(OH)₂-Lösung in Stickstoffatmosphäre, wobei je 30 Minuten die Ablesungen gemacht wurden; die Lösung wurde fortwährend mit einem magnetischen Mischapparat gemischt. Die auf diese Weise erhaltenen konduktometrischen und potentiometrischen Kurven zeigen die Abbildungen 1, 2, 4, 5, 6. Die aus den Kurven berechneten Äquivalentgewichte sind in Tabelle 3 angegeben. Die vom Verfasser errechneten Werte sind im allgemeinen höher, als man sie in der Literatur angibt (s. Tab. 1). Der Verlauf des mittleren Kurvenabschnittes der Konduktogramme auf Abb. 2-a und 2-b hat einen ähnlichen Verlauf, wie bei Halla (5) (sichtliches Leitfähigkeitsminimum). Halla setzt voraus, dass in solchen Substanzen eine Leitfähigkeit innerhalb des Mizellengerüsts möglich ist.

Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse der Elementaranalyse der Hymatomelansäurefraktionen aus dem Kompost, welche sich ähnlich verhalten, wie sie die Literatur angibt (s. Tab. 2). Der Prozentanteil von H und N ist in

diesen Präparaten grösser, als in solchen anderer Autoren. Stickstoff ist vorzugsweise in Aminosäuren enthalten.

Endzusammenstellung und Schlüsse

1. Es wurden aus Flachmoortorf und Kompost Hymatomelansäuren unter möglichst günstigen Bedingungen, mit Ausschluss grober Methoden, ohne Verwendung von NaOH abgesondert; diese Säuren wurden mit Hilfe der Chromatographie auf Zellulose in Fraktionen aufgeteilt, ihre R_f -Werte auf Whatman-Papier bestimmt.

2. Es wurden die Äquivalentgewichte der chromatographisch reinen Fraktionen sowohl konduktometrisch, wie auch potentiometrisch durch Titration mit 0,1 N Ba(OH)₂ bestimmt.

3. Die Äquivalentgewichte der Hymatomelansäurefraktionen schwanken in den Grenzen von 214 bis 680; sie sind höher als die in der Literatur angegebenen Durchschnittswerte. Die Differenzen dürften möglicherweise ihre Begründung in einer genaueren Reinigung und Fraktionierung der Präparate dank der Anwendung der Chromatographie, der Anwendung geeigneter, weniger grober Methoden bei Ausschluss von NaOH haben.

4. Es wurden stark angenäherte Äquivalentgewichte und Verlauf der Kurven für gewisse Fraktionen unterschiedlicher Ausgangsprodukte (Torf, Kompost) festgestellt. Es sind dies:

a) die Fraktion mit einem R_f -Wert von 0,57 aus dem Torf, sowie die Fraktion mit einem R_f -Wert 0,45 aus dem Kompost, deren Äquivalentgewichte ca. 250 betragen. Ich schlage vor, diese Fraktionen als α -Hymatomelansäure zu bezeichnen (Kurvenverlauf auf Abb. 1c, 1d, 2c, 2d).

b) die Fraktion mit einem R_f -Wert — 0,93 beim Torf, sowie 0,95 beim Kompost, deren Äquivalentgewichte zwischen 430—500 liegen. Ich schlage vor, diese Fraktionen als β -Hymatomelansäure zu bezeichnen (Kurvenverlauf auf Abb. 1a, 1b, 2a, 2b).

5. Die chemische Zusammensetzung der untersuchten Fraktionen der Hymatomelansäuren aus dem Kompost ähnelt der Zusammensetzung entsprechender Präparate, welche andere Forscher aus anderweitigem Ausgangsmaterial (Boden, Torf) abgesondert haben.

6. In den Hymatomelansäuren befinden sich chemisch gebunden Aminosäuren, welche erst nach Hydrolyse mit Salzsäure nachgewiesen werden können.