



Doctoral Thesis

Fraktionierung von organischen Substanzen aus dem B-Horizont eines Podsols

Author(s):

Ruchti, Jürg

Publication Date:

1962

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000088738> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Prom. Nr. 3235

**Fraktionierung
von organischen Substanzen
aus dem
B-Horizont eines Podsoles**

Von der
EIDGENÖSSISCHEN TECHNISCHEN
HOCHSCHULE IN ZÜRICH

zur Erlangung
der Würde eines Doktors der technischen Wissenschaften
genehmigte

PROMOTIONSARBEIT

vorgelegt von

JÜRIG RUCHTI

dipl. ing. agr. ETH
von Rapperswil (Kt. Bern)

Referent: Herr Prof. Dr. H. Deuel

Korreferent: Herr Prof. Dr. R. Koblet

Juris-Verlag Zürich

1962

5. Zusammenfassung

Auf Grund der heutigen Vorstellungen über die Huminstoffbildung ist zu erwarten, dass die Huminstoffe im Boden durch zufällige Kombination verschiedener Bausteine entstehen; selbstverständlich spielen neben Kondensationen auch andere Reaktionen, wie z.B. Oxydationen, eine wichtige Rolle. Aus der Zufälligkeit dieser Kombinationen folgt, dass die Anzahl verschiedener Verbindungen mit dem Kondensationsgrad der Huminstoffe zunimmt. Dieses Wachsen der Zahl verschiedener Verbindungen bedingt zugleich eine Abnahme der Konzentrationen einzelner Verbindungen: hochkondensierte identische Huminstoffmolekeln sind in relativ geringen Konzentrationen zu erwarten; umgekehrt muss man annehmen, dass am wenigsten kondensierte, bzw. niederstmolekulare identische Huminstoffmolekeln im Boden in den relativ grössten Konzentrationen zu finden sind. Die Aussichten, durch Fraktionierung zur Isolierung einzelner Huminstoffverbindungen zu gelangen, dürften somit mit sinkendem durchschnittlichem Molekulargewicht des Untersuchungsmaterials zunehmen. Die Kenntnis niedermolekularer Verbindungen wäre bei der Untersuchung künstlicher Abbauprodukte hochkondensierter Huminstoffe und auch zum Verständnis der Huminstoffbildung von grosser Bedeutung.

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit bestand darin, einen Weg zur Fraktionierung niedermolekularer Huminstoffe zu suchen.

Der B_h -Horizont eines Podsolis wurde mit Salzsäure extrahiert. Der salzsaure Extrakt wurde in einem Kutscher-Steudel-Apparat mit Aether extrahiert. Die Ueberführung der ätherlöslichen Stoffe in Wasser und Perkolation der wässrigen Lösung durch einen Kationenaustauscher erlaubte die Gewinnung einer stickstoff- und aschefreien Fraktion mit Huminstoffcharakter. Verschiedene Indizien sprachen für den niedermolekularen Charakter dieser ätherlöslichen Stoffe: das relativ niedrige Säure-Aequivalentgewicht von 100; die ausserordentliche Reaktivität, bzw. die grosse Kondensationsbereitschaft dieser Fraktion; die Tatsache, dass es später gelang, aus diesem Gemisch einzelne sich chromatographisch einheitlich verhaltende Komponenten zu gewinnen.

Die Fraktionierung dieser stickstofffreien wässrigen Lösung erwies sich mit verschiedenen Methoden als unmöglich (Fällung mit Blei; Fraktionierung an Anionenaustauschern; Papierchromatographie; Papierelektrophorese). Verschiedene Beobachtungen sprachen dafür, dass sich in wässriger Lösung unter den extrahierten Huminstoffen Kondensationen abspielen: wässrige Lösungen der N-freien Fraktion nahmen beim Stehenlassen eine dunklere Farbe an; niedermolekulare Dialysate konnten nach Aufbewahren in wässriger Lösung erneut durch Dialyse in eine nieder- und

eine hochmolekulare Fraktion getrennt werden; lyophilisiertes, ursprünglich ätherlösliches Material war sehr hygroskopisch und zerfloss bei Luftzutritt zu einer braunen, grösstenteils ätherunlöslichen Masse; umgekehrt zeigte sich in einem mit Natriumsulfat getrockneten Aetherextrakt erst nach Monaten ein geringer Niederschlag. Um diese Kondensationen zu verhüten, wurde der Aetherextrakt mit Natriumsulfat getrocknet und an einer Kieselsäuresäule chromatographiert. Dünnschichtchromatographisch konnte nachgewiesen werden, dass über 50 chromatographisch einheitliche Komponenten (farblose, braune und eine blaue) von der Kolonne eluiert worden waren. Mehrere Komponenten ergaben mit diazotierter Sulfanilsäure eine positive Reaktion, mehrere der braunen Komponenten veränderten mit der Zeit ihre R_f -Werte (Kondensationen); nach Rechromatographieren und Umfällen wurde die blaue Komponente durch UV- und IR-Spektren sowie durch eine Elementaranalyse charakterisiert; es dürfte sich um ein wasserunlösliches, stickstoffhaltiges Magnesiumchelat handeln. Von den 2,5 g ätherlöslichen auf die Kieselsäure-Kolonne aufgetragenen Substanzen (aus 3,5 kg Boden) konnten über 90% nicht eluiert werden; die mengenmässigen bedeutendsten der eluierten Komponenten wogen 5-20 mg.

Bei den nach Elution sich verändernden Komponenten sowie bei den nicht eluierbaren Stoffen dürfte es sich um reaktionsfreudige Huminstoffe gehandelt haben. Ihre Trennung und Charakterisierung sollte nach vorhergehender Stabilisierung und unter Verwendung eines schwächeren Adsorbens möglich werden.

2,4-Dinitrophenylhydrazone erwiesen sich als zu instabil, als dass sie erfolgreich fraktioniert werden konnten. Bei der Reduktion mit Natriumborhydrid gemachte Beobachtungen deuteten auf die Anwesenheit von Redoxsystemen (Chinone?). Die Herstellung von Derivaten der ätherlöslichen Huminstoffe und deren Fraktionierung gelang schliesslich durch Acetylierung, Fraktionierung an Bariumsulfat und darauffolgende Dünnschichtchromatographie. Obwohl ein Teil der Acetate sehr leicht hydrolysierte und anschliessend kondensierte, dürfte die gestellte Aufgabe - die Fraktionierung niedermolekularer Huminstoffe - als gelöst betrachtet werden.

Zwecks präparativer Fraktionierung wurden Versuche zur Stabilisierung der Huminstoffe mit starken Reduktionsmitteln, wie Lithiumaluminiumhydrid und Diboran, vorgeschlagen.

Summary

On the basis of the present concept of the formation of humic substances, it may be assumed that humic substances are formed in the soil due to chance combinations (condensations) of various building units; naturally this process also involves other important reactions, such as oxidation. Due to these chance combinations, it may be deduced that the number of different compounds implies simultaneously a decrease in the concentration of the individual compounds: highly condensed identical humic substance molecules are to be expected in relatively low concentrations; corollarily, it may be expected, that the least condensed, probably lowest molecular, identical humic substance molecules are present in the soil in relatively highest concentrations. The chances of isolating individual humic compounds through fractionation should increase with decreasing average molecular weight of the material under investigation. The knowledge of low molecular compounds would be of importance in investigations on the degradation of more highly condensed humic substances and for the understanding of their formation.

The task of this thesis was to find a method for the fractionation of low molecular humic substances.

The B_h -horizon of a podzol was extracted with hydrochloric acid. The hydrochloric acid extract was extracted with ether in a Kutscher-Steudel apparatus. The transfer of the ether soluble material in water and percolation of the aqueous solution through a cation exchanger yielded a fraction, free of nitrogen and ash, possessing characteristics of humic substances. Various observations indicated the low molecular character of this ether soluble material: the relatively low equivalent weight of 100 for acidic groups; the extraordinary reactivity - the strong tendency to condense; the fact that it was possible to obtain individual, chromatographically homogeneous, components out of this mixture.

Various methods (precipitation with lead; fractionation on anion exchangers; paper chromatography; paper electrophoresis) were unsuccessfully tried in fractionating an aqueous solution of this material. Many observations indicated that in aqueous solution condensations took place between the extracted humic substances: aqueous solutions of the material became darker on standing; after storage in aqueous medium, low molecular dialysates could be refractionated into low and high molecular fractions by dialysis; the lyophilized, originally ether soluble, material was very hygroscopic and on contact with air became a brown, to a large extent ether insoluble, mass; on the other hand, an ether extract which had been dried with sodium sulfate gave a slight precipitate only after months of storage. To avoid these condensations the ether extract was dried with sodium sulfate and chromatographed on a

silicic acid column. It was shown by thin-layer chromatography that over 50 chromatographically homogeneous components (colourless, brown and one blue) could be eluted from the column. Many compounds gave a positive reaction with diazotized sulfanilic acid; the R_f -values of some of the brown components changed with time (condensations). After rechromatography and reprecipitations the blue component was characterized by UV- and IR-spectra and elementary analysis; the substance may be a water insoluble nitrogen containing magnesium chelate. From the 2.5 g of ether soluble material (from 3.5 kg of soil) which were put on the silicic acid column, over 90 % could not be eluted. The quantitatively most important of the eluted components weighed 5-20 mg.

The high reactivity of the humic substances must have been responsible for the changes in R_f -values of some components and for the irreversible adsorption of the large part of the material. These highly reactive substances may be fractionated and characterized after prior stabilisation, and by use of a weaker adsorbent.

2,4-dinitrophenylhydrazones proved to be too unstable for successful fractionation. Observations made during reduction with sodium borohydride indicated the presence of redox systems (quinones?). The preparation of derivatives of the ether soluble humic substances and their subsequent fractionation was finally successful through acetylation, fractionation on barium sulfate, and thin-layer chromatography of the fractions. Although a part of the acetates were hydrolyzed very easily and immediately condensed, the previously mentioned task - the fractionation of low molecular humic substances - may be considered to have been fulfilled.

For the purpose of preparative fractionation of humic substances, stabilisation experiments with strong reduction agents such as lithium aluminum hydride and diboran are suggested.