Chem. Listy *102*, 1100−1106 (2008) Referát

APLIKÁCIA NUKLEÁRNEJ MAGNETICKEJ REZONANCIE PRI ŠTÚDIU PÔDNEJ ORGANICKEJ HMOTY

GABRIELA BARANČÍKOVÁ

Výskumný ústav pôdoznalectva a ochrany pôdy, Bratislava, regionálne pracovisko Prešov, Raymannova 1, 080 01 Prešov
bar@vupop.sk

Došlo 11.6.07, prijaté 29.11.07.

Kľúčové slová: ^{13}C NMR, ^{31}P NMR, ^{15}N NMR, pôdna organická hmota, humusové látky

Obsah

1. Úvod
2. NMR
   2.1. ^{13}C NMR
      2.1.1. Aplikácia ^{13}C NMR pri štúdiu pôdnej organickej hmoty
   2.2. ^{31}P NMR
   2.3. ^{15}N NMR
3. Záver

1. Úvod

Pôdna organická hmota (POH) hraje hlavnú úlohu v cykle uhlíka v pôde, ovplyvňuje všetky chemické, fyzikálne a biologické pôdne vlastnosti a je kľúčovým indikátorom pôdnej kvality[1].

Termínom pôdna organická hmota sa často označuje mŕtva organická frakcia tvorená chemickým a biologickým rozkladom organických zvyškov a môže byť rozdelená na pôdnu organickú hmotu v rôznom stupni rozkladu a úplne rozloženú POH. Druhá skupina mŕtvej organickej hmoty sa nazýva humus. Humus je v súčasnosti definovaný ako zmes nehumifikovaného a humifikovaného organického materiálu[2]. Humifikovaná frakcia POH sa nazýva humusový materiál[3]. Humusový materiál je zmesou humusových látok (HL). Tan[2] charakterizuje tri základné skupiny HL: humínové kyseliny (HK), fulvo kyseliny (FK) a humín, ktoré sa vzájomne líšia rozpustnosťou v zásaditých a kyslých roztokoch. Z chemického hľadiska humusové látky sú zložené z aromatického jadra a alifatických reťazcov s mnohými špecifickými funkčnými skupinami. Ich vzájomný pomer závisí na humifikačných podmienkach. Nakoľko humusové látky majú veľmi komplikovanú štruktúru, ich detailná charakteristika je veľmi zložitá. Metódy, používané pri analýze HL, môžeme rozdeliť na:

- degradačné (oxidácia, hydrolýza, rádiochemický a biologický rozklad),
- nedegradačné (spektrofotometria v ultrafialovej, viditeľnej a infračervenej oblasti, elektrónová paramagnetická rezonancia, rentgenová analýza a nukleárna magnetická rezonancia).

V súčasnosti sa do popredia záujmu pri štúdiu štruktúry humusových látok stále častejšie dostáva metóda nukleárnej magnetickej rezonancie (NMR), ktorá okrem kvalitatívnej analýzy poskytuje aj pomerne presnú kvantitatívnu analýzu. Pri štúdiu štruktúry humusových kyselín je v súčasnosti jednou z najpoužívanejších spektrálnych techník nukleárna magnetická rezonancia uhlíka ^{13}C, ktorá umožňuje kvantitatívne stanovenie jednotlivých typov uhlíka v štruktúre pôdnej organickej hmoty[4].

Napriek tomu, že NMR bola objavená pred 60. rokmi (1946), až v 60. rokoch minulého storočia sa začala vo väčšom rozsahu využívať v organickej chémii a biochémii[5]. Prvá aplikácia NMR pri štúdiu pôdnej organickej hmoty je zrejme práca Bartona a Schnitzera[6], ktorí publikovali ^{1}H NMR metylovanej humínovej kyseliny. Aj ďalšie ranné práce ^{1}H NMR spektier HL spadajú do obdobia 60. rokov[7,8] . Vila a spol.[9] ako prvý uverejnil prácu o aplikácií ^{13}C NMR pri štúdiu humusových kyselín. Rutinné využívanie NMR pri takých komplikovaných štruktúrach ako sú humusové látky sa začalo využívať až v 80. rokoch 20. storočia a je plne uznávanou technikou pre štúdium HL[10].

Cieľom tohto príspevku je podať komplexný pohľad na pokrok vo využívaní ^{13}C, ^{31}P a ^{15}N NMR techník pri štúdiu POH.

2. NMR

Nukleárna magnetická rezonancia je spektroskopická metóda, ktorá využíva magnetické vlastnosti (spiny) jadier atómov a pridruženého momentu, takže výsledkom je charakteristická rezonančná frekvencia. Pretože každý jadrový spin v molekule je citlivý k magnetickým poliam najbližších susedných atómov, je možné rozdeliť signály odlišných atómových susedov a tieto individuálne signály môžu byť použité na stanovenie štruktúry molekuly. Pri aplikácií NMR na štúdium pôdnej organickej hmoty sú chemické posuny najčastejším a najjednoduchším meraným NMR parametrom, ktorý zároveň poskytuje dôležitú štruktúrnu informáciu[11]. Podrobné informácie o aplikáciách NMR v pôdoznalectve uvádza Wilson[12,13]. Stejskal a Memory[14] podávajú detailnú charakteristiku vysokorozlišovacej NMR v pevnom stave s dôrazom na CP/MAS (cross-polarization magic angle spinning).

V súčasnosti sa najčastejšie pri štúdiu štruktúry hu-

musových látok využíva ^{13}C NMR v kvapalnej ako aj v pevnej fáze, ale v poslednom období sa čoraz častejšie využívajú aj ^{31}P NMR, ^{15}N NMR, predovšetkým pri detailnej charakteristike týchto hlavných biogénnych prvkov v pôdnej organickej hmote. Okrem jednodimenzionálnej NMR sa v posledných rokov začína veľmi úspešne presadzovať dvojdimenzionálna NMR.

2.1. ^{13}C NMR

Atómy uhlíka, ktoré obsahuje komplikovaná štruktúra pôdnej organickej hmoty, sa navzájom líšia na základe hodnôt chemických posunov, nakoľko každý chemicky odlišný typ uhlíka má charakteristickú hodnotu chemického posunu[15]. Integrovaním intenzity signálu každej oblasti chemického posunu môže byť vypočítané percentuálne zastúpenie daného typu uhlíka a spektrá môžu byť rozdelené do oblastí, v ktorých sa nachádzajú štruktúrne podobné atómy uhlíka. Vo všeobecnosti rozoznávame 4 oblasti chemických posunov, v ktorých rezonujú jednotlivé štruktúrne rozdielne typy uhlíka:

- alkyly 0–50 ppm,
- O-alkyly 50–110 ppm,
- aromatický C 110–160 ppm,
- karbonylový C 160–200 ppm.

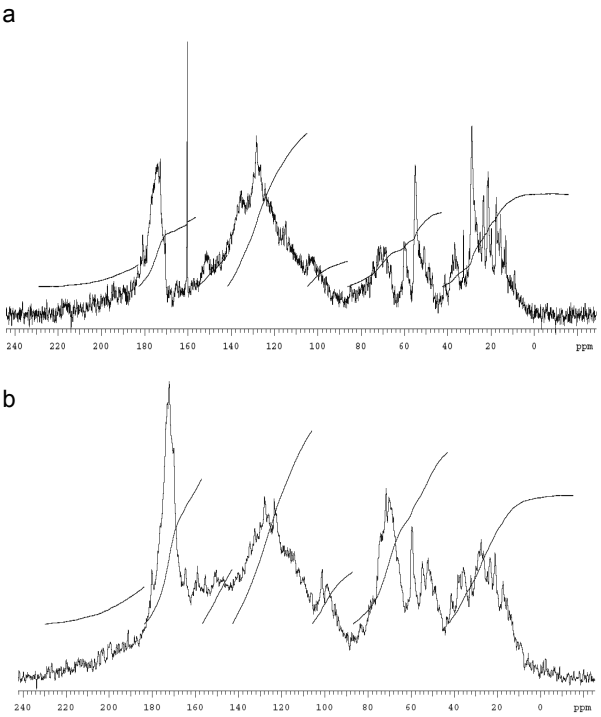
Detailnejšie rozdelenie jednotlivých integrálnych oblastí ^{13}C NMR spektier humusových látok uvádza Malcolm[16] (tab. I) a toto rozdelenie je použité aj v našich prácach[17–23].

Vo väčšine prípadov sa ^{13}C NMR spektrá merajú v roztoku a najrozšírenejším rozpúšťadlom je deuterovaný hydroxid sodný, ktorý v ^{13}C NMR spektre nemá žiaden signál. Od 80. rokov 20. storočia sa značne rozšírilo meranie ^{13}C NMR v pevnej fáze. Táto technika umožňuje meranie spektier v neporušenej pôde[5,24]. Príklady ^{13}C NMR spektier HK černozeme karbonátovej na ornej pôde a rankera podzolového na vysokohorskom pasienku sú uvedené na obr. 1a,b, na ktorých sú jasne viditeľné podstatné rozdiely vo veľkosti spektrálnych oblastí jednotlivých typov uhlíkov. Podrobné hodnotenie týchto spektier je uvedené v našich predchádzajúcich prácach[17,21].

2.1.1. Aplikácia ^{13}C NMR pri štúdiu pôdnej organickej hmoty

^{13}C NMR sa veľmi často využíva pri detailnom štúdiu štruktúry pôdnej organickej hmoty rôznych pôdnych typoch a pri rozkladných procesoch, ktoré v pôde pri mineralizácií/humifikácií pôdnej organickej hmoty prebiehajú[5,25–28]. Veľmi úspešne bola ^{13}C NMR technika využitá napr. pri dôkaze o podzolizačných procesoch tropických podzolov[30].

Vo všeobecnosti môžeme konštatovať, že v mladých, málo vyzretých frakciách POH dominujú alifatické štruktúry uhlíka, ktorých objem sa v priebehu humifikačného



Obr. 1. **^{13}C NMR spektrá HK a) černozeme karbonátovej s vyznačenými integrálnymi intenzitami jednotlivých oblastí, b) rankera podzolového s vyznačenými integrálnymi intenzitami jednotlivých oblastí**

Tabuľka I
Integrálne oblasti ^{13}C NMR spektier humínových kyselín

Číslo oblasti	Spektrálna oblasť (ppm)	Typ uhlíka
1.oblasť	230–184	karbonyly v keto a aldehydových skupinách
2. oblasť	184–157	karboxyly v kyselinách a esteroch
3. oblasť	157–143	aromatické uhlíky s väzbou C-O
4. oblasť	143–106	aromatické a olefinické uhlíky s väzbou C-C, C-H
5. oblasť	106–87	anomérne uhlíky
6. oblasť	87–43	sp^3 uhlíky s väzbou C-O, C-N
7. oblasť	43–15	sp^3 uhlíky s väzbou C-C

procesu znižuje a zvyšuje sa podiel aromatických štruktúr[30–33]. Uvedená skutočnosť bola zistená aj pri štúdiu detailnej chemickej štruktúry HK v našich pôdnych typoch[17,18]. Veľmi dôležitým parametrom, ktorý môžeme získať z ^{13}C NMR spektier, je stanovenie stupňa aromaticity[34], nakoľko na základe tohto parametra môžeme hodnotiť stupeň humifikácie HK[17].

^{13}C NMR spektrá môžeme tiež využiť pri sledovaní zmien v chemickej štruktúre POH pri intenzívnom obrábaní pôdy. Všeobecne môžeme konštatovať, že pri znížení množstva organického uhlíka sa zvyšuje stupeň aromaticity POH[5,35]. Zvyšovanie pôdnej vlhkosti naopak znižuje stupeň humifikácie POH[36]. Inkorporácia rastlinných zvyškov do pôdy tiež poukazuje na zníženie aromaticity POH[29] .

Na Slovensku sa ^{13}C NMR spektrá pri štúdiu štruktúry HK využívajú od roku 1990 (cit.[37]). Zmeny v parametroch ^{13}C NMR boli zistené pri sledovaní stavu a kvality POH pri rozdielnom hospodárení na pôde[19] a tiež pri dlhodobom monitorovaní POH na vybraných kľúčových lokalitách Slovenska[37,20,22,23], na ktorých v závislosti od ubúdania, resp. zvyšovania pôdneho organického uhlíka pozorujeme zvýšenie, resp. zníženie humifikácie POH. Na území dotknutom výstavbou vodného diela Gabčíkovo, hlavne na hydromorfných lokalitách, kde dochádza k zvýšeniu hladiny podzemnej vody, pozorujeme zníženie obsahu aromatických štruktúr a tým aj stupňa humifikácie HK[38,39].

^{13}C NMR spektrá sa úspešne využívajú aj pri porovnaní kvality HK izolovaných z rozdielnych pôdnych typov a lignitu[40]. Stupeň aromaticity vypočítaný na základe parametrov ^{13}C NMR spektier bol použitý aj pri pokuse kategorizovať kvalitu POH poľnohospodárskych pôd Slovenska[41].

V súčasnosti sa nukleárna magnetická rezonancia veľmi úspešne využíva aj pri interakciách POH s anorganickými a organickými kontaminantami[42–46].

V posledných pár rokoch sa pri komplexných štruktúrach POH do popredia dostávajú dvojdimenzionálne techniky NMR ako sú: COSY, TOCSY, NOESY, DOSY (cit.[27]). Na základe týchto meraní Simpson[47,48] ako prvý podal dôkaz o supramolekulovej štruktúre humusových látok. V súčasnosti sa dvojdimenzionálna technika veľmi úspešne využíva pri štúdiu humifikačných procesov[49].

2.2. ^{31}P NMR

Fosfor v pôde existuje v niekoľkých prístupných a neprístupných frakciách a jednu z nich tvoria aj organické zlúčeniny fosforu. Zastúpenie organických foriem fosforu v pôdach Slovenska predstavuje 23–45 %. V mnohých pôdach sa nachádza značné množstvo fosforu v organických formách, ktoré sú ťažko analyzovateľné chemickými technikami. Prvý krát bola ^{31}P NMR aplikovaná pri štúdiu jednotlivých foriem fosforu v pôdnom extrakte Newmanom a Tatom[50]. ^{31}P NMR je schopná kvantifikovať relatívne množstvá fosforu v rôznych chemických štruktúrach (ortofosfáty, mono a diestery fosfátov, fosfonáty a polyfosfáty)[5].

Tabuľka II
Integrálne oblasti ^{31}P NMR spektier humínových kyselín

Typ zlúčeniny		Spektrálna oblasť [ppm]
Fosfonáty	I	21–18
	II	18–17
P anorganický		7–5
Monoestery	I	5–4,2
	II	4,2–3,9
	III	3,9–3,2
Diestery	I	2,4–0,5
	II	0,5–(–0,5)
	III	(–0,5)–(–0,2)

Obsah fosforu v pôdnych HK je pomerne nízky, bežne sa pohybuje okolo 800–1500 mg kg^{-1}, avšak vďaka tomu, že prírodný fosfor je tvorený jediným izotopom ^{31}P, ktorého jadro je dostatočné citlivé, poskytuje ^{31}P NMR významné možnosti pre štúdium frakcií fosforu v HK[51]. Od konca 80. rokov 20. storočia je metóda ^{31}P NMR pomerne často využívaná pri štúdiu fosforu v HK a v rôznych alkalických pôdnych extraktoch, v ktorých HK tvoria podstatnú zložku.

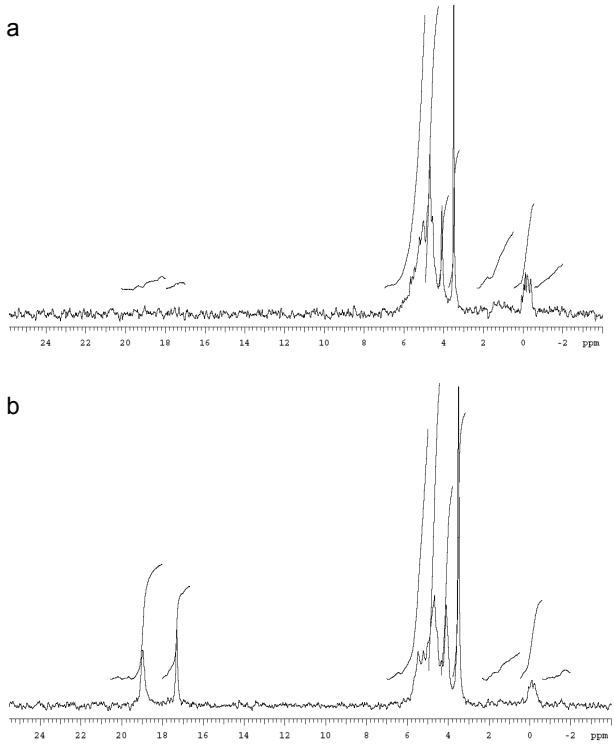
^{31}P NMR spektrá sa merajú v silne zásaditých roztokoch (pH 9–12), pričom pH zohráva veľmi dôležitú úlohu pri rozlišovaní jednotlivých integrálnych intenzít jednotlivých štruktúr fosforu[51]. Chemické posuny ^{31}P NMR sa spravidla vzťahujú k externému štandardu, ktorým je 85% kyselina fosforečná.

Na Slovensku boli prvý krát prezentované ^{31}P NMR spektrá humínových kyselín v roku 2005 (cit.[52]). Podrobnejšie porovnanie ^{31}P NMR spektier humínových kyselín horských a poľnohospodárskych pôd Slovenska bolo publikované v roku 2007 (cit.[53]). Priradenie jednotlivých signálov bolo uskutočnené na základe literárnych údajov[54,55,56]. Integrálne oblasti ^{31}P NMR spektier HK sú uvedené v tab. II.

Hlavnými frakciami fosforu v HK sú predovšetkým monoestery a diestery kyseliny fosforečnej a anorganické orthofosforečnany[57,58,51]. Uvedené štruktúry fosforu dominovali aj v nami nameraných ^{31}P NMR spektrách HK[52,53].

Príklady ^{31}P NMR spektier HK černozeme karbonátovej a rankera podzolového sú uvedené na obr. 2a,b. Humínové kyseliny daných pôdnych typov sa líšia predovšetkým zastúpením fosfonátov, ktoré rezonujú v oblasti 24 až 17 ppm, v obsahu anorganického fosforu (7–5 ppm) a v niektorých frakciách mono- a diesterov.

Anorganické ortofosfáty a monoestery rezonujú v oblasti 5 ppm a ich signály sú čiastočne prekryté. Ortofosfátové diestery rezonujú v oblasti 0 ppm, ktorú môžeme rozdeliť na niekoľko častí, ktoré zodpovedajú rozdielnym štruktúrnym typom. Sacharidové diestery rezonujú pri vyššej frekvencii (3,5–0,6 ppm), než ortofosfátové diestery (0,6 až –0,5 ppm)[24]. Uvažuje sa, že fosfátové diestery sú



Obr. 2. **^{31}P NMR spektrá HK a) černozeme karbonátovej s vyznačenými integrálnymi intenzitami jednotlivých oblastí, b) rankera podzolového s vyznačenými integrálnymi intenzitami jednotlivých oblastí**

mikrobiálneho pôvodu[59] a pomer diesterov a monoesterov je úmerný mikrobiálnej aktivite. Diestery sú chemicky labilnejšie ako monoestery a sú vysoko citlivé voči mikrobiálnym a enzymatickým atakom[57]. Monoestery sú chránené sorpciou na POH, ílové minerály, sesquioxidy a katióny[60,61].

Zastúpenie jednotlivých typov fosforu v organickej hmote sa vzájomne líši v závislosti od pôdneho typu, resp. pôdneho pokryvu. Amelung[62] uvádza značnú heterogenitu zloženia pôdneho organického fosforu v zrnitostných frakciách stepných pôd. Okolo 50–60 % extrahovaného P boli monoestery, s najväčším zastúpením v pieskových frakciách a diesterové štruktúry P boli lokalizované v ílovej frakcii, pričom sa nezistili podstatné rozdiely v distribúcií jednotlivých typov organického fosforu v ornici a podorničnom horizonte. Escudez[63] uvádza, že ^{31}P NMR spektrá v hrubozrnej aj ílovej frakcii potvrdili prítomnosť anorganického orthofosfátu, monoesterov a diesterov P a pyrofosfátu. Diestery P však dominovali hlavne v ílovej frakcii andozemí, ktorá je charakteristická vysokým obsahom POH. McDowell a Stewart[64] uvádzajú značné rozdiely v jednotlivých frakciách organického fosforu v závislosti od využitia pôdy (prirodzená pôda, pastvina, les). Uvedení autori zistili, že zastúpenie diesterov sa postupne znižovalo v rade prirodzená pôda > pastvina > les. Rozdiely medzi labilnými a stabilnými formami P v organickej hmote v závislosti od zdroja (pôda, rašelina) uvádza aj He[65].

Obsah rozdielnych foriem organického P v HK súvisí s ich stabilitou a stupňom humifikácie. Mathieu[24] uvádza signifikantnú koreláciu medzi stabilnejšími monoesterami P zistenými z ^{31}P NMR spektier a stupňom humifikácie podľa Kumadu (E_{465}) ako aj s aromatickými štruktúrami stanovenými ^{13}C NMR. Korelácie medzi monoestermi P a niektorými humifikačnými parametrami HK uvádzame aj v jednej z našich prác[53]. Uvedené korelácie poukazujú na potenciál využitia ^{31}P NMR pri detailnom štúdiu fosforu v humínových kyselinách a na možnosť priamej väzby medzi organickými formami P a C v rovnakých chemických štruktúrach z hľadiska ich stability.

2.3. ^{15}N NMR

Jedným z najdôležitejších prirodzených zdrojov dusíka je POH, nakoľko poskytuje viac ako 95 % N pre rastliny[66]. Aplikáciu ^{15}N NMR pri štúdiu štruktúry a reakcií dusíka v humusových látkach uvádza Steelink[67]. Nukleárna magnetická rezonancia dusíka je však značne limitovaná, nakoľko veľké množstvo stabilného izotopu ^{14}N má veľký kvadrupólny moment a je takmer nemožné získať vysoko rozlišovacie spektrá tohto jadra[68]. Náročnosť aplikácie ^{15}N NMR vyplýva aj z dôsledku extrémne nízkej prítomnosti ^{15}N v prírode. Knicker a Ludemann[69] uvádzajú, že citlivosť ^{15}N NMR experimentu bez obohatenia je 1/50 ^{13}C NMR, takže na získanie kvalitného spektra je potrebná akumulácia okolo milióna skenov, čo predstavuje niekoľkodňové meranie jednej vzorky. Ďalším problémom pri meraní ^{15}N NMR spektier je, že neexistuje žiaden univerzálny chemický posun štandardu a autori nie vždy uvádzajú, aký štandard bol použitý[5]. Jeden z priekopníkov a intenzívnych využívateľov ^{15}N NMR pri štúdiu štruktúry organického dusíka v POH Knicker uvádza chemické posuny vzťahované k nitrometánu[70]. Prekonanie všetkých týchto problémov by viedlo k obrovskému rozvoju využitia ^{15}N NMR, nakoľko uvedená metóda dokáže podať oveľa detailnejší pohľad na jednotlivé štruktúry dusíka nachádzajúceho sa v POH ako pyrolýza, hydrolýza, či inkubačné experimenty[25] .

Typické chemické posuny (spektrálne oblasti) a jednotlivé typy organického dusíka v organických materiáloch sú uvedené v tab. III.

Preston[5] na základe ^{15}N NMR uvádza, že organický dusík v pôdach, frakciách humusových látok a kompostov sa nachádza predovšetkým vo forme amidových štruktúr, s malými množstvami indolu, pyrolu a amínu, ale nepotvrdil heterocyklické formy dusíka. Knicker[70,71] tiež uvádza, že organický dusík sa predovšetkým nachádza vo forme peptidov a amidov s menším zastúpením indolov, purínových báz a chinónových iminov. Podobne ako Preston, nepotvrdil prítomnosť heterocyklického dusíka. Mathieu[72] okrem amidového dusíka a dusíka voľných amínov uvádza tiež prítomnosť heterocyklického dusíka predovšetkým vo vysoko humifikovaných vzorkách humínových kyselín.

Tabuľka III
Integrálne oblasti ^{15}N NMR spektier organických zlúčnín (Knicker[71], Steelink[70])

Chemický posun k NO_3^- = 0 ppm	Chemický posun k NH_4^+ = 0 ppm	Typ dusíka
30– 0	410–380	nitrózozlúčeniny
25–(–25)	405–355	nitráty, alebo nitrity
–20	360	nitrometán
–10–(–30)	350–330	oxímy
–25–(–90)	355–290	hydroxyimíny, fenazíny, pyridín, nitrily (Knicker)
–90–(–150)	290–240	N7 purínov
–120–(–140)	260–240	pyroxímy
–150–(–180)	230–200	nitrily (Steelink)
–220–(–270)	160–110	pyroly, karbamáty, amidy, laktámy
–230–(–240)	150–140	chitínové štruktúry, N-acetyl
–240–(–260)	140–120	maillardove produkty, melanoidiny
–280–(–300)	100–80	guanidíny, hydroxylamónium
cca –320	60	anilíny
–300–(–325)	80–50	amíny
–325–(–350)	45–10	terminálne amíny, napr. lyzín
–370	10	glycín
–350–(–380)	30–0	amoniak, amíny
–400	–20	kvapalný amoniak
–390–(–410)	–10–(–30)	hydroxyamíny

Medzi obsahom heterocyklického N získaného z ^{15}N NMR spektier a ďalších štruktúrnych charakteristík HK (optický parameter, obsah vodíka) zistil vysoko signifikantné korelácie, ktoré potvrdzujú, že heterocyklický dusík sa nachádza predovšetkým vo vysoko humifikovanej organickej hmote. Uvedená práca potvrdila, že ^{15}N NMR je schopná merať aj heterocyklický dusík, ktorý sa nachádza predovšetkým vo vysoko humifikovateľnej organickej hmote, čo potvrdili signifikantné korelácie s optickými vlastnosťami a parametrami ^{13}C a ^{31}P NMR spektier[24,72].

^{15}N NMR spektrá majú tiež veľkú budúcnosť pri štúdiu nebiologickej fixácie dusíka v pôdach[5]. Na základe ^{15}N NMR bolo tiež zistené, že heterocyklický dusík v pôdach má pyrogenický pôvod a nie je produktom mikrobiálnych resp. humifikačných procesov. ^{15}N NMR spektrá demonštrujú zvyšovanie koncentrácie heterocyklických N-foriem s pokračujúcou pyrogenézou[73] a potvrdzujú, že aromatické a novo vytvorené heterocyklické dusíkaté zlúčeniny sú dôležité produkty pyrogenézy[74].

3. Záver

Spektroskopická metóda nukleárnej magnetickej rezonancie dostatočne dokazuje, že je užitočným nástrojom pri štúdiu detailnej štruktúry pôdnej organickej hmoty, organického fosforu v pôde a tiež dynamiky pôdneho dusíka v pôde ako aj v jednotlivých frakciách humusových látok. NMR značne rozširuje naše vedomosti vo všetkých sférach štúdia POH, ktoré zahrňujú pochopenie povahy mineralizácie a humifikácie, účinok kultivácie, interakcie POH so xenobiotikami a ťažkými kovmi. Najdôležitejšiu úlohu pri štúdiu pôdnej organickej hmoty zatiaľ zohráva ^{13}C NMR, avšak v súčasnosti sa pri štúdiu organického fosforu úspešne využívajú tiež ^{31}P NMR spektrá. Okrem ^{13}C a ^{31}P spektier NMR v súčasnosti vzrastá tiež dôležitosť ^{15}N NMR pri štúdiu štruktúry dusíka v POH a v dynamike dusíka v pôde.

LITERATÚRA

1. Gregorich E. G., Carter M. R., Angers D. A., Monreal C. M., Ellert B. H.: J. Soil Sci. *74*, 367 (1994).
2. Tan K. H.: *Humic Substances in Soil and the Environment*. Marcel Dekker, New York 2003.
3. Christman R. F.,Gjessing E. T. (ed.): *Aquatic and Terrestrial Humic Materials*. Ann Arbor Sci., The Butterworth Group, Ann Arbor 1983.
4. Mathers N. J., Mao X. A., Xu Z. H., Saffigna P. G., Berners-Price S. J., Perera M. C. S.: Aust. J. Soil Res.

38, 769 (2000).
5. Preston C. M. : Soil Sci. *161*, 144 (1996).
6. Barton D. H. R., Schnitzer M.: Nature *198*, 217 (1963).
7. Schnitzer M., Skinner S. T. M., v knihe: *Isotopes and Radiation in Soil Organic Matter Studies,* str. 41. Int. Atomic Energy Agency, Viedeň 1968.
8. Ishiwatari R.: J. Geochem. *1969*, 172.
9. Vila F. J., Lentz G., Ludemann H. D.: Biochem. Res. Comm. *72*, 1063 (1976).
10. Pansu M., Gautheyrou J.: *Handbook of Soil Analysis*. Springer, Berlin 2006.
11. Wijmenga S. S., van Buuren B. N. M.: Prog. NMR Spectrosc. *32*, 287 (1998).
12. Wilson M. A.: *NMR Techniques and Applications in Geochemistry and Soil Chemistry*. Pergamon Press, Oxford 1987.
13. Wilson M. A., v knihe: *Soil Analysis: Modern Instrumental Techniques*, 2. vyd., (Smith K. A., ed.), str. 601. Marcel Dekker, New York 1991.
14. Stejskal E. O., Memory J. D. : *High Resolution NMR in the Solid State. Fundamentals of CP/MAS.* Oxford University, Oxford 1994.
15. Baldock J. A., Preston C. M.: *Carbon Forms and Functions in Forest Soils.* (McFee W. W., Kelly J. M., ed.). Soil Science Society of America, Madison 1995.
16. Malcolm M. L. : Anal. Chim. Acta *232*, 19 (1990).
17. Barančíková G., Senesi N., Brunetti G.: Geoderma *78*, 251 (1997).
18. Linkeš V., Kobza J., Švec M., Ilka P., Pavlenda P., Barančíková G., Matúšková L.: *Monitoring pôd Slovenskej republiky. Súčasný stav monitorovacích vlastností pôd 1992–1996.* VÚPÚ, Bratislava 1997.
19. Barančíková G., Kubicová Z.: Agrochémia *38*, 4 (1998).
20. Barančíková G.: Rostl. Výr. *48*, 40 (2002).
21. Barančíková G.: *Monitoring pôd Slovenskej republiky* (Kobza J., ed.). VÚPOP, Bratislava 2002.
22. Barančíková G.: Poľnohospodárstvo *50*, 124 (2004).
23. Barančíková G.: Agrochémia *45*,17 (2005).
24. Mathieu N., Olk D. C., Randall E. W. : Eur. J. Soil Sci. *51*, 379 (2000).
25. Dai X. Y., Ping C. L., Candler R., Haumaier L., Zech W. : Soil Sci. Soc. Am. J. *65*, 87 (2001).
26. Hertkorn N., Permin A., Perminova I., Kovalevskii D., Yudov M., Petrosyan V., Kettrup A.: J. Environ. Quality *31*, 375 (2002).
27. Chefetz B., Salloum M. J., Desmukh A. P., Hatcher P. G.: Soil Sci. Soc. Am. J. *66*, 1159 (2002).
28. Leifeld J., Kogel-Knabner I.: Geoderma *124*, 143 (2005).
29. Peréz G. M., Martin-Neto L., Saab S. C., Novotny E. H., Milori D. M. B. P., Bagnato V. S., Colnago L. A., Melo W. J., Knicker H.: Geoderma *118*, 181 (2004).
30. Preston C. M., Newman R. H., Rother P.: Soil Sci. *157*, 26 (1994).
31. Newman R. H., Tate K. R.: J. Soil Sci. *42*, 39 (1991).
32. Chen Z., Pawluk S.: Geoderma *75*, 173 (1995).
33. Olk D. C., Cassman K. G., Fan T. W. M.: Geoderma *65*, 195 (1995).
34. Hatcher P. G., Schnitzer M., Dennis L. W., Maciel G. E.: Soil Sci. Soc. Am. *45*, 1089 (1981).
35. Schnitzer M., McArthur D. F. E., Schulten H.-R., Kozak L. M., Huang P. M.: Geoderma *130*, 141 (2006).
36. Olk D. C., Brunetti G., Senesi N.: Soil Sci. Soc. Am. J. *64*, 1337 (2000).
37. Barančíková G.: Agrochémia *30*, 207 (1990).
38. Barančíková G.: Humic Subst. Environ. *1*, 3 (1998).
39. Barančíková G.: Humic Subst. Environ. *3*, 3 (2003).
40. Barančíková G., Klučáková M., Madaras M., Makovníková J., Pekař M.: Humic Subst. Environ. *3*, 3 (2003).
41. Barančíková G., v knihe: Rola materii organicznej w srodowisku (Gonet S. S., Markiewicz M., ed.), str. 47. Polskie Towarystwo Substancii Humusowych, Wroclaw 2007.
42. Schalscha E. B., Escudero P., Salgado P., Ahumada I.: Commun. Soil Sci. Pl. Anal. *30*, 497 (1999).
43. Barančíková G., Makovníková J.: Plant Soil Environ. *49*, 565 (2003).
44. Shih Y., Wu S.: J. Environ. Quality *31*, 970 (2002).
45. Wijnja H., Pignatello J. J., Malekani K.: J. Environ. Qual. *33*, 265 (2004).
46. Simpson M. J.: Soil Sci. Soc. Am. J. *70*, 995 (2006).
47. Simpson A.: Soil Sci. *166*, 795 (2001).
48. Simpson A. J., Kingery W. L., Hayes M. H. B., Spraul M., Humpfer E., Dvortsak P., Kerseebaum R., Godejohann M., Hoffman M.: Naturwissenschaften *89*, 84 (2002).
49. Šmejkalová D., Conte P., Piccolo A.: Biomacromolecules *8*, 737 (2007).
50. Newman R. H., Tate K. R., Barron P. F., Wilson M. A.: J. Soil Sci. *31*, 62 (1980).
51. Novák F., Hrabal R., Bartošová I., Kalčík J.: Chem. Listy *99*, 236 (2005).
52. Liptaj T., Barančíková G., Prónayová N.: Agriculture *51*, 423 (2005).
53. Barančíková G., Liptaj T., Prónayová N.: Soil Water Res. *2*, 141 (2007).
54. Ogner G.: Geoderma *29*, 215 (1983).
55. Adams M. A., Byrne L. T.: Soil Biol. Biochem. *21*, 523 (1989).
56. Zangh T. Q., Mackenzie A. F., Sauriol F.: Soil Sci. *164*, 662 (1999).
57. Cardoso I. M., Van der Meer P., Oenama O., Janssen B. H., Kuyper T. W.: Geoderma *112*, 51 (2003).
58. Briceno M., Escudey M., Galindo G., Borchard D., Chang A. C.: Commun. Soil Sci. Plant Anal. *35*, 1323 (2004).
59. Guggenberger G., Christensen B. T., Rubek G., Zech W.: Eur. J. Soil Sci. *47*, 605 (1996).
60. Tate K. R.: Plant Soil *76*, 245 (1984).
61. Stewart J. W. B., Tiessen H.: Biogeochemistry *4*, 41 (1987).
62. Amelung W., Rodionov A., Urusevskaja I. S., Hauma-

ier L., Zech W.: Geoderma *104*, 335 (2001).
63. Escudey M., Galindo G., Briceño M., Chang A. C.: J. Chil. Chem. Soc. *49*, 45 (2004).
64. McDowell R. W., Stewart I.: Geoderma *130*, 176 (2006).
65. He Z., Ohno T., Cade-Menun B. J., Erich M. S., Honeycutt C. W.: Soil Sci. Soc. Am. J.*70*, 1741 (2006).
66. Baldock J. A., Nelson P. N.: *Handbook of Soil Science*. (Sumner M. E., ed.). CRC Press, Boca Raton 1999.
67. Steelink C.: *Humic Substances in Global Environment and Implications on Human health.* (Senesi N., Miano T. M., ed.) str. 405. Elsevier Science, Amsterdam 1994.
68. Witanowski M., Webb G. A.*: Nitrogen NMR Spectroscopy. Annual Reports on NMR Spectroscopy.* Academic Press, London 1993.
69. Knicker H., Ludemann H.-D.: Org. Geochem. *23*, 329 (1995).
70. Knicker H., Almendros G., Gonzáles-Vila F. J., Ludemann H.-D., Martin F.: Org. Geochem. *23*, 1023 (1995).
71. Knicker H., Frund R., Ludemann H.-D.: Naturwissenschaften *80*, 219 (1993).
72. Mathieu N., Olk D. C., Randall E. W.: Eur. J. Soil Sci. *51*, 379 (2000).
73. Almendros G., Knicker H., Gonzales-Vila F. J.: Org. Geochem. *34*, 1559 (2003).
74. Knicker H., Gonzales-Vila F. J., Polvillo O., Gonzales J. A., Almendros G.: Soil Biol. Biochem. *37*, 701 (2005).

G. Barančíková *(Research Institute for Soil Science and Preservation, Bratislava, Slovak Republic):* **Application of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Studies of Organic Matter in Soil**

^{13}C, ^{15}N and ^{31}P NMR have proved to be useful tools for the examination of structures of organic materials in soil (SOM). The method has been used to study chemical changes of SOM and its components such as humic and fulvic acids. NMR greatly enhanced the understanding of all areas of SOM research, including the nature of decomposition, the effects of cultivation and interaction of SOM with xenobiotics and metals. ^{13}C NMR plays the most important role in SOM investigation. However, also ^{31}P NMR spectroscopy provides particular characteristics of P compounds in SOM. The importance of ^{15}N NMR in studies of SOM and dynamics of soil nitrogen is increasing.

VŠCHT Praha přijme pracovníka/pracovnici na pozici technika-laboranta/ laborantky pro Ústav biochemie a mikrobiologie.

Požadavky:
– středoškolské vzdělání v oboru, praxe není nutná

Nabízíme:
– zajímavou práci v moderně vybavené laboratoři
– pracoviště v blízkosti metra
– zaměstnanecké výhody (pružnou pracovní dobu, šest týdnů dovolené, příspěvek na stravování, rekreaci, penzijní připojištění, návštěvu kulturních zařízení)

Nástup: 1. ledna 2009
Kontakt: Ing. Pavla Vlčková, tel. 220 443 137, pavla.vlckova@vscht.cz