

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

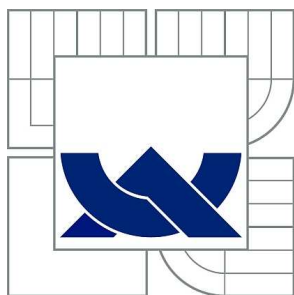
STANOVENÍ OBSAHU KYSELÝCH SKUPIN V HUMINOVÝCH LÁTKÁCH

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

KATEŘINA PETROVÁ

BRNO 2010



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

STANOVENÍ OBSAHU KYSELÝCH SKUPIN V HUMINOVÝCH LÁTKÁCH

DETERMINATION OF ACIDIC GROUPS IN HUMIC SUBSTANCES.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

KATEŘINA PETROVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

RNDr. JIŘÍ JANEČEK, Ph.D.

BRNO 2010



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce: **FCH-BAK0460/2009** Akademický rok: **2009/2010**
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Student(ka): **Kateřina Petrová**
Studijní program: Chemie a chemické technologie (B2801)
Studijní obor: Spotřební chemie (2806R002)
Vedoucí práce **RNDr. Jiří Janeček, Ph.D.**
Konzultanti:

Název bakalářské práce:

Stanovení obsahu kyselých skupin v huminových látkách

Zadání bakalářské práce:

Srovnat vybrané titrační metody ke stanovení kyselých skupin v huminových látkách.

Termín odevzdání bakalářské práce: 28.5.2010

Bakalářská práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

Kateřina Petrová
Student(ka)

RNDr. Jiří Janeček, Ph.D.
Vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.12.2009

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá srovnáním tří metod určených pro stanovení kyselosti huminových látek. Srovnávali jsme barytovou metodu, navrženou ke stanovení celkové míry kyselosti, acetátovou metodu, určenou k zjištění obsahu karboxylových skupin, a von Wandruszkovu metodu využívající konduktometrickou indikaci. Poslední z metod by měla vést ke stanovení všech skupin, které disociují při $\text{pH} > 12$. Srovnání bylo prováděno na celkem 4 vzorcích huminových kyselin izolovaných pomocí dvou různých postupů z rašeliny a lignitu. Zatímco rozdíly v hodnotách kyselosti získaných pomocí barytové a acetátové metody jsou snadno vysvětlitelné, hodnoty získané pomocí von Wandruszkovy metody vycházejí cca. poloviční v porovnání s výsledky acetátové metody a téměř desetinné v porovnání s výsledky barytové metody. V případě barytové i von Wandruszkovy metody jsme navíc pozorovali citlivost výsledků k délce stanovení. Teoretická část je věnována huminovým látkám, jejich charakteristice, rozdělení, vzniku, struktuře a využití. Poslední část teoretické části je věnována použitým metodám.

ABSTRACT

Within this bachelor thesis we compared three methods to determine the acidity of humic substances. We employed the baryta-method (which determines the total acidity), the Ca-acetate method (determines the content of carboxylic groups only) and the technique of Ray von Wandruszka. This method should provide the content of groups dissociable at $\text{pH} > 12$. We used four different samples of humic acids isolated from two sources (lignite and peat). While the differences between results of baryta and Ca-acetate methods were expected and can be easily explained, the values of acidity obtained by the von Wandruszka method represent roughly one half of the results of Ca-acetate method and almost only ten percent of the baryta results. In the cases of baryta as well as von Wandruszka methods we observed a dependency of the results on the time-length of the analysis. In the theoretical part the characterisation, divided, creation, structure and properties of humic substances are summarized. In the end of theoretical part are described using method for analysis of humic acids.

KLÍČOVÁ SLOVA

Lignit, huminová látka, huminová kyselina, Wandruszkova metoda

KEYWORDS

Lignite, humic substance, humic acid, Wandruszkova methods

PETROVÁ, K. *Stanovení obsahu kyselých skupin v huminových látkách*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 40 s. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Jiří Janeček, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych chtěla poděkovat svému vedoucímu bakalářské práce RNDr. Jiřímu Janečkovi Ph.D. za jeho pomoc jak v teoretické tak i v praktické části, za jeho ochotu, odborné rady a připomínky. Potom bych chtěla poděkovat Ing. Jiřímu Kislíngrovi za pomoc při praktické části. Další, komu bych chtěla poděkovat, by byly laborantky Leona Kubíková a Marie Dvořáková za pomoc a možnost pracovat v laboratoři.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	Huminové látky	8
2.1.1	Charakteristika	8
2.1.2	Rozdělení huminových látek	8
2.1.3	Vznik huminových látek	9
2.1.3.1	Ligninová teorie	9
2.1.3.2	Polyfenolová teorie	10
2.1.4	Struktura huminových látek	11
2.1.5	Využití huminových látek	12
2.2	Zdroje huminových látek	12
2.2.1	Lignit	12
2.2.1.1	Definice lignitu jako materiálového systému	13
2.2.2	Rašelina	14
2.3	Huminové kyseliny	14
2.3.1	Charakteristika	14
2.3.2	Struktura	14
2.4	Analýza funkčních skupin	16
2.4.1	Potenciometrie	16
2.4.2	Stanovení celkové kyselosti v huminových látkách	18
2.4.2.1	Metylační procedura	18
2.4.2.2	Reakce s diboranem	19
2.4.2.3	Reakce s hybridem hlinito-litným	19
2.4.2.4	Barytová metoda	19
2.4.3	Stanovení karboxylových skupin v huminových látkách	20
2.4.3.1	Metylační procedura	20
2.4.3.2	Jodometrická metoda	20
2.4.3.3	Chinolinová dekarboxylace	20
2.4.3.4	Acetátová metoda	21
2.4.4	Konduktometrie	21
2.4.4.1	Wandruszkova titrace	22
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	24

3.1	Použité chemikálie a přístroje	24
3.2	Extrakce huminových látek	24
3.3	Barytová metoda	25
3.4	Acetátová metoda	26
3.5	R. von Wandruszkova metoda	27
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	29
4.1	Barytová metoda	29
4.2	Acetátová metoda	30
4.3	R. von Wandruszkova metoda	34
5	ZÁVĚR.....	37
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	38

1 ÚVOD

Huminové látky jsou v přírodě nejrozšířenější organické látky vzniklé chemickým a biologickým rozkladem hmoty a případnou syntetickou činností mikroorganismů. Huminové látky jsou důležitým zdrojem organického uhlíku. Celkový obsah uhlíku v huminových látkách je odhadován na $60 \cdot 10^{11}$ tun, což převyšuje množství uhlíku přítomného v živých organismech téměř desetkrát ($7 \cdot 10^{11}$ tun). Navzdory svému rozšíření je struktura huminových látek a proces jejich vzniku dosud nepochopen.

Huminové látky můžeme nalézt ve vodě, kalech, půdách, kompostech, mořských a jezerních sedimentech, rašelině, lignitu a hnědém i černém uhlí. Obsah huminových látek v půdách kolísá, jen malé množství je v jílovitých půdách, v běžných půdách jsou to řády jednotek procent, v matricích tvořených hnědým uhlíkem či lignitem jde až do desítek procent. Vysoký obsah (okolo 80 % a více) je v rašelině.

Důležitou frakcí huminových látek jsou huminové kyseliny. Huminové kyseliny jsou hlavní složkou organické hmoty vyskytující se v půdách nebo vodách. Huminové kyseliny ve své struktuře obsahují hydrofilní i hydrofobní oblasti, a proto mohou být absorbovány na povrchu mnohých částic. Huminové kyseliny na sebe dokáží navázat různé kovy např. hliník, vápník, železo.

Jak název napovídá, v huminových kyselinách převažuje obsah kyselých reagujících skupin nad zásaditými, což je ostatně patrné i z nízkého zastoupení dusíku a vysokého obsahu kyslíku. Pro stanovení obsahu kyselých skupin byla navržena řada metod. My v této práci porovnáváme tři vybrané metody, a to acetátovou metodu, barytovou metodu a metodu navrženou Rigglem a von Wandruszkou. V této práci byl obsah kyselosti stanovován na vzorcích huminových látek izolovaných z lignitu a rašeliny a to z důvodu poměrně snadné separace a vysokého přirozeného obsahu.

Lignit je považován za geologicky nejmladší typ uhlí. Jeho stupeň prouhelnatění se nachází mezi rašelinou a hnědým uhlím. Lignit se současné době těží v České republice na jižní Moravě v okolí Mikulčic. Používá se jako palivo stejně jako uhlí i když jihomoravský lignit je málo kvalitní.

Cílem této práce je srovnat vybrané titrační metody ke stanovení obsahu kyselých skupin v huminových látkách. Naše vybrané titrační metody byly acetátová titrace, barytová metoda a metoda Wandruszkova.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Huminové látky

2.1.1 Charakteristika

Huminové látky jsou v přírodě nejrozšířenější organické látky vzniklé chemickým a biologickým rozkladem organické hmoty a případnou syntetickou činností mikroorganismů. Přirozeně se nacházejí ve vodě, kalech, půdách, kompostech, mořských a jezerních sedimentech, rašelině, lignitu a hnědém i černém uhlí a mnoha dalších přírodních depozitech. Jsou složkou všech typů půd. Obsah huminových látek v půdách závisí především na klimatických podmínkách, ale také na způsobu obdělávání a přítomnosti rostlinných společenstev. Nepatrný obsah je v jílovitých půdách, v řádu jednotek procent je v běžných půdách, v matricích tvořených hnědým uhlím či lignitem jde až do desítek procent. Vysoký obsah (okolo 80% a více) je např. v rašelině [1].

Huminové látky jsou důležitým zdrojem organického uhlíku ve vodním i půdním prostředí. Celkový obsah uhlíku v huminových látkách je odhadován na $60 \cdot 10^{11}$ tun, což převyšuje množství uhlíku přítomného v živých organismech téměř desetkrát ($7 \cdot 10^{11}$ tun) [2, 3]. Huminové látky představují směs mnoha látek, které vznikají v procesu humifikace (jako jsou např. aminokyseliny, ligniny, pektiny a polysacharidy). Tyto látky tvoří asociáty prostřednictvím intermolekulárních sil, které mohou být donor-akceptorové, iontové, hydrofilní či hydrofobní povahy [4].

Huminové látky hrají klíčovou úlohu v přírodě, protože přispívají k růstu rostlin, jsou zodpovědné za strukturu a fyzikálně-chemické vlastnosti půdy a taktéž jsou spojeny s většinou povrchových jevů, které nastávají v půdě [5].

Obecná definice je popisuje jako směs mnoha tisíců složek, přičemž žádná ze zastoupených látek se nevyskytuje jako majoritní. Tato směs je žluté až černé barvy. V dřívějších dobách převládal názor, že se jedná o směs látek makromolekulárního charakteru, ačkoliv nedávné studie ukazují, že jejich molekulární hmotnost může být mnohem menší [6].

2.1.2 Rozdělení huminových látek

Huminové látky se dělí do tří základních skupin. Při tomto dělení vycházíme z jejich různé rozpustnosti ve vodném prostředí při různých hodnotách pH. Fulvinové kyseliny jsou rozpustné v celém rozsahu pH, huminové kyseliny jsou rozpustné pouze v zásaditém pH a huminy jsou nerozpustné v celém rozsahu. Těchto rozdílů v rozpustnosti se využívá při izolaci huminových kyselin.

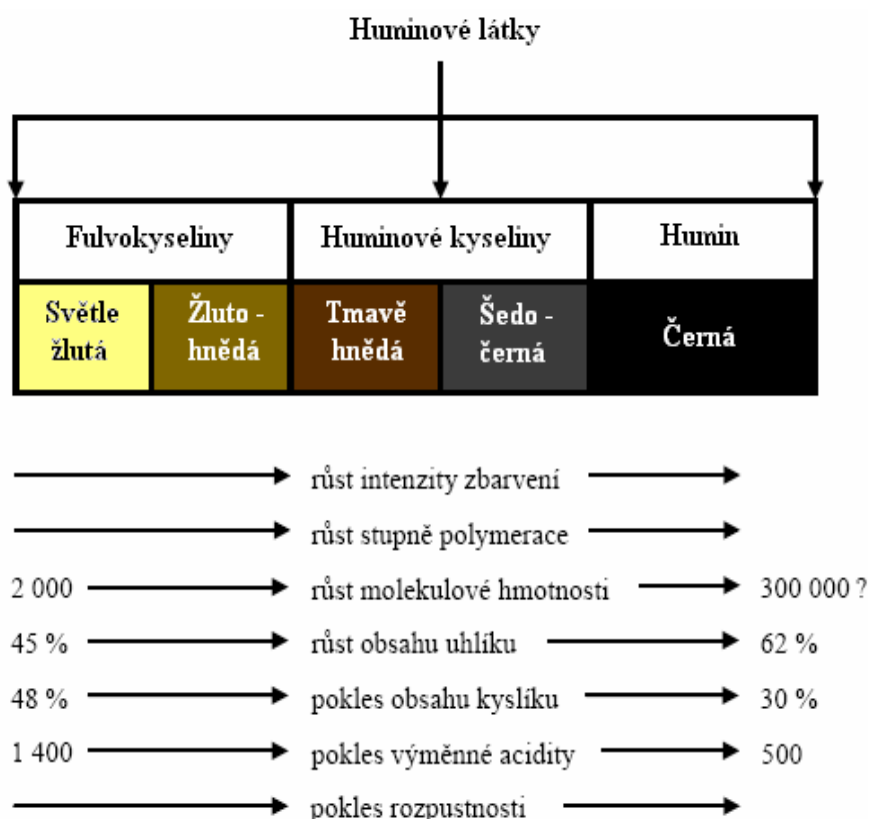
Fulvinové kyseliny jsou látky, které mají nejnižší molekulovou hmotnost (2000 až $8000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$). Dobře se rozpouštějí v celém rozsahu pH na rozdíl od ostatních druhů huminových látek, protože mají vyšší obsah karboxylových, karbonylových, fenolických skupin a menší obsah aromatických jader oproti huminovým kyselinám a huminům. Odlišují se také zbarvením, které je nejsvětější (žluté až oranžové).

O huminových kyselinách se předpokládalo, že mají podstatně vyšší molekulovou hmotnost ($10\,000$ až $200\,000 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$), ovšem v dnešní době jsou tyto názory revidovány. Jsou rozpustné při vysokých hodnotách pH a špatně rozpustné v kyselé oblasti pH. V oblasti $\text{pH} < 2$ jsou prakticky nerozpustné. Důvodem jejich špatné rozpustnosti v kyselých roztocích

je jejich méně polární charakter, který po protonaci přítomných karboxylových skupin vede k jejich srážení. Jejich zbarvení je hnědé až šedočerné.

Huminy představují látky, které mají nejvyšší molekulovou hmotnost. Jsou nerozpustné v kyselých i v zásaditých roztocích. Jejich nerozpustnost vychází z pevné vazby s anorganickou složkou půdy a z jejich více zachovalého makromolekulárního charakteru. Huminy mají černou barvu.

Důležitou vlastností, kterou mají všechny huminové látky společnou, je odolnost vůči mikrobiální degradaci a schopnost tvorby stabilních, ve vodě rozpustných či nerozpustných solí a komplexů s kovovými ionty a hydroxidy [7, 8, 9].



Obrázek 1 Rozdělení huminových látek a jejich vlastnosti (převzato z [10])

2.1.3 Vznik huminových látek

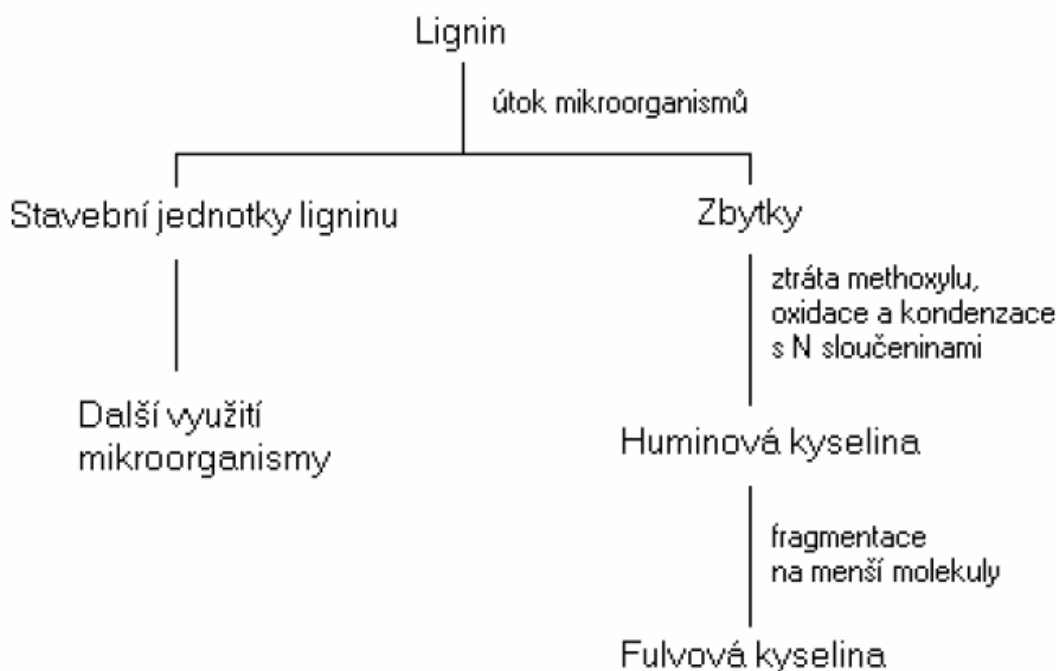
Proces tvorby huminových látek byl sice studován po dlouhou dobu, ale jejich tvorba je stále předmětem pokračujícího výzkumu. Některé teorie geneze huminových látek přetrvávaly po několik let, například teorie ligninová a polyfenolová. Tyto teorie, které vysvětlují jejich vznik, vycházejí hlavně z rozkladu organických látek. V následujících částech si stručně popíšeme tyto dvě hlavní teorie vzniku huminových látek.

2.1.3.1 Ligninová teorie

Sledování rozpadu rostlinných složek ukazuje, že nejdříve podléhají degradaci látky rozpustné ve vodě (nízkomolekulární sloučeniny, bílkoviny...), poté pentosany (hemicelulózy) a nakonec celulóza. Rezistentní součásti rostlinných těl, z nichž nejvýznamnějším zástupcem je lignin, se hromadí ve zbytcích rostlinného materiálu za postupné ztráty methoxylových skupin ($-OCH_3$) a dále dochází k produkování

o-hydroxyfenolů a oxidaci alifatických postranních řetězců za tvorby karboxylových skupin (–COOH). Dále se předpokládá, že lignin při oxidaci reaguje s amoniakem za vzniku kondenzačních produktů, ve kterých se dusík stává součástí cyklických forem.

Tyto skutečnosti vedly Fischera a Schradera k představě, že matečnou substancí při vzniku huminových kyselin je lignin a tuto teorii podepřeli i experimentálně. Ovlhčovali lignin alkáliemi za současného působení vzdušného kyslíku, čímž získali látky, které svým složením odpovídaly přirozeným huminovým kyselinám. V případě celulózy, zpracované stejným postupem, žádné produkty podobného charakteru nevznikaly [11]. Schéma vzniku huminových látek můžeme vidět na obrázku 2.

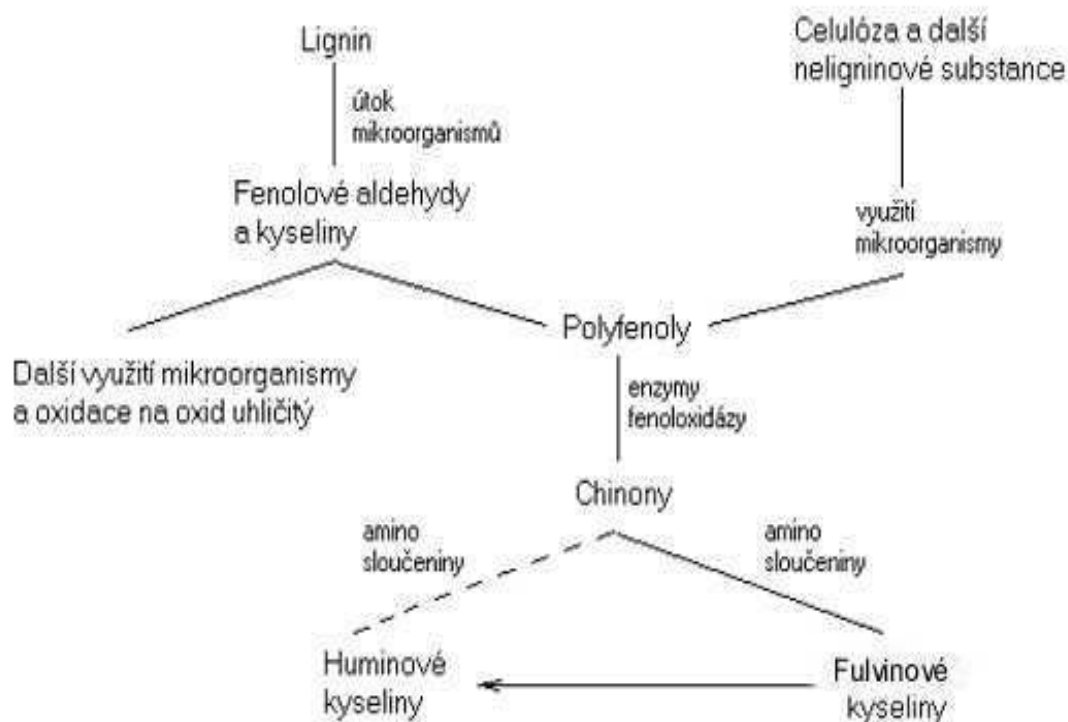


Obrázek 2 Ligninová teorie (převzato z [12])

2.1.3.2 Polyfenolová teorie

V polovině 20. století byla navržena tzv. polyfenolová teorie. Podobně jako v ligninové teorii i v rámci této teorie je jako jeden z nejdůležitějších prekurzorů huminových látek lignin, nicméně nepředstavuje jediný možný zdroj.

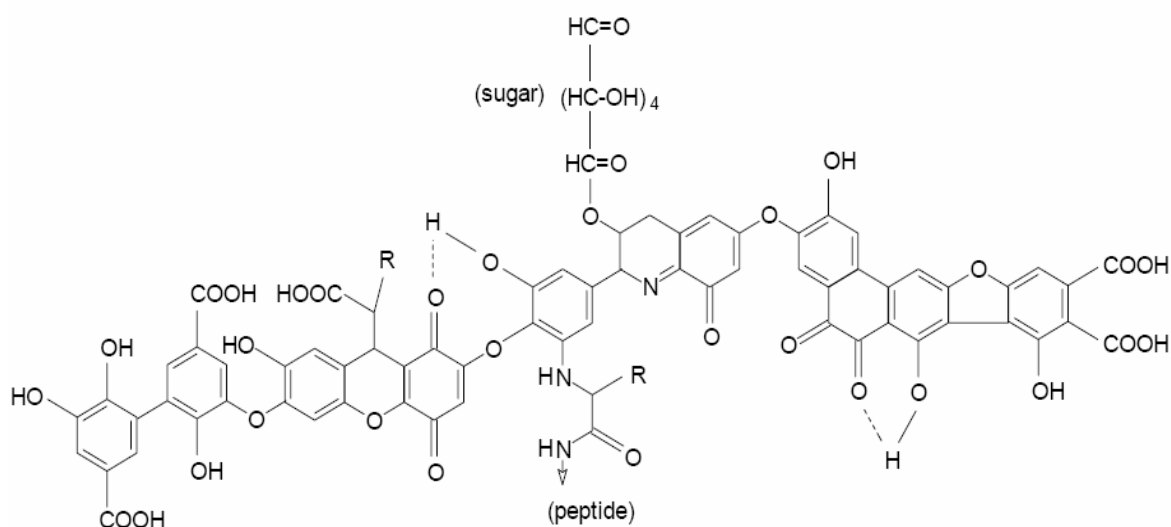
V tomto případě fenolové aldehydy a kyseliny, které jsou uvolněné z ligninu působením mikroorganismů, projdou enzymatickou změnou a přemění se na chinony. Chinony kondenzují v přítomnosti aminosloučenin (případně i bez nich) za tvorby huminových makromolekul. Polyfenoly mohou být syntetizovány mikroorganismy, např. z celulózy. Polyfenoly jsou potom enzymaticky oxidovány na chinony a ty jsou přeměněny na huminové látky. Schematicky je tento způsob vzniku huminových látek znázorněn na obrázku 3.



Obrázek 3 Polyfenolová teorie (převzato z [13])

2.1.4 Struktura huminových látek

I když jsou huminové látky známé již několik století, o jejich struktuře toho stále moc nevíme. Huminové látky jsou heterogenní směs látek a proto je nejde popsat jedním strukturním vzorcem. První návrhy struktury huminových látek byly předloženy Stevensonem [14] v roce 1972 a Harworthem v roce 1973 (v referenci [1] je uveden odkaz na práci v Soil Science z roku 1973, která však námi nebyla nalezena). Na obrázku 4 je znázorněna hypotetická struktura huminové kyseliny podle Stevensona [1].



Obrázek 4 Předpokládaná struktura huminové kyseliny podle Stevensona (1982) (převzato z [1])

Huminové látky jsou amorfní sloučeniny, které při karbonizaci produkují oxid uhličitý. Huminové látky jsou schopny vázat velké množství vody a v roztoku se chovají jako lyofobní koloidy, které mají velkou sorpční schopnost. Ve své struktuře mají mnoho funkčních skupin, např. alkoholové, karboxylové, éterové, fenolové, laktonové skupiny a hydrochinonové či chinonové motivy [15].

Nepolární část molekul huminových látek je tvořena nejčastěji pětičlennými případně šestičlennými cykly, na nichž jsou navázány reaktivní skupiny, které určují povahu huminových látek. Jak bylo uvedeno výše, pro huminové látky nelze napsat jeden strukturní vzorec, protože představují směs mnoha látek. Složení huminových látek je navíc závislé na jejich původu, stáří, roční době... [16].

2.1.5 Využití huminových látek

Huminové látky jsou nejdůležitějším zdrojem organického uhlíku v životním prostředí. Jejich koloidní charakter a vysoká povrchová funkčnost činí huminové látky výbornými adsorbenty, které vykazují vysokou kapacitu pro zachycení iontových a molekulárních polutantů. Přispívají k rostlinnému růstu, jsou zodpovědné za strukturu a fyzikálně-chemické chování vody v půdách [9]. V současné době nacházejí huminové látky poměrně rozsáhlé využití v zemědělství i v průmyslu, v oblasti ochrany životního prostředí, farmakologii a v neposlední řadě i jako palivo [1].

2.2 Zdroje huminových látek

2.2.1 Lignit

Lignit představuje geologicky nejmladší typ uhlí. Patří mezi hmoty s různým stupněm prouhelnění, tzv. kaustobiolity. Prouhelnatění vzrůstá v pořadí dřevo, rašelina, lignit, hnědé uhlí, černé uhlí a antracit. Stupněm prouhelnění leží mezi rašelinou a hnědým uhlím, přičemž se vyznačuje místy ještě zachovanou strukturou dřeva [17].

Lignit se v dnešní době těží v České republice na jižní Moravě v okolí obce Mikulčice. Jihomoravské ložisko obsahuje vysoký podíl vody a má také relativně vysoký podíl popela. Složení lignitu uvádí tabulka 1. Stejně jako uhlí se jihomoravský lignit využívá téměř výhradně jako palivo, ale je málo kvalitní. Spalování lignitu stejně jako spalování uhlí představuje plýtvání cennou chemickou surovinou [17].

Tabulka 1 Složení jihomoravského lignitu [18]

<u>Látka</u>	<u>[hm. %]</u>
Voda	48,0-50,0
Popel	11,6-13,2
Hořlavina	39,1-40,3
Vodík	~2,15
Uhlík	25,91
Kyslík	10,92
Síra	0,81
Dusík	~0,32



Obrázek 5 Lignit – vzorek z jihomoravského revíru (převzato z [19])

2.2.1.1 Definice lignitu jako materiálového systému

Lignit se dá definovat jako přechodný organicko-minerální substrát na cestě přeměny od rostlinné fytohmoty do vysokého stupně dehydrogenovaného/dehydratovaného a současně deoxidovaného uhlí. Jedná se o morfologicky a molekulárně polydisperzní systém obsahující komplex aromatických sloučenin s významným podílem reaktivních funkčních skupin, dále velké množství vody situované jednak ve volném objemu lignitových partikulí, jednak vody fyzikálně vázané na oxidované uhlíkaté struktury. Obsahuje také partikulární minerální útvary na bázi sloučenin křemíku, hliníku, železa a dalších prvků a dále makroskopické složky náhodného původu a výskytu.

Fyzikální model struktury lignitu zahrnuje vláknité, destičkové a různě prostorově symetrické i nesymetrické složky o různém stupni prouhelnění, mikro- a makro- disipace příměsí. Volný a vnitřní objem může být tvořen kapilárami, mikrotrhlinami či vakuolami.

Z chemického hlediska představuje lignit složitý makromolekulární komplex, obsahující především polyelektrolyty (humínové kyseliny), částečně degradované polysacharidy, polyaromáty s navázanými uhlíkatými řetězci, případně popropojované sirnými či dusíkatými můstky.

Lignit jako složitý makromolekulární systém získal v procesu transformace původní rostlinné hmoty specifické vlastnosti dané:

- chemickým složením
- volným objemem orientovanými složkami materiálu v podobě kapilár nebo mikrotrhlin
- členitým povrchem se situovanými defekty (paramagnetické radikály, ionizované skupiny, volná valence)
- nerovnovážnou a nerovnoměrnou disipací napětí
- přítomnost orientovaných molekul vody jako základního peptizačního činidla

Povrchové vlastnosti uvedené výše předurčují lignit jako sorbent samostatný nebo po vhodné úpravě, protože v podobě v jaké se dostává povrch je přímo aplikovatelný jen

v omezeném počtu případů. Lignit je z fyzikálně-chemického hlediska disperzní systém, který je tvořen průnikem několika strukturních prvků, navzájem propojených především prostřednictvím vody. Vzájemná adheze jednotlivých složek má původ jednak ve struktuře výchozí fytoplazmy, a jednak v kompresi hmot při geologickém tvarování prouhelňujících se vrstev [18, 20].

2.2.2 Rašelina

Rašelina je nahromaděný částečně rozložený rostlinný materiál. Obsahuje převážně organické látky (celulózu) a organické kyseliny. Rašelina vzniká v rašeliníštích, která se často lidově nazývají močály, bažiny nebo slatě. V ČR se nejvýznamnější ložiska rašeliny nacházejí na Šumavě a v oblasti Slavkovského lesa. Při správných geologických podmínkách se během geologického období z rašeliny stane lignitové uhlí.

Rašelina se vrství z rostlinného materiálu, obvykle v bažinatých oblastech, kde je omezen úplný rozklad rostlin díky anaerobním podmínkám a kyselosti prostředí. Rašelina roste vrstvu po vrstvě, tak jak se materiál ukládá na sebe a stupeň rozkladu závisí hlavně na složení a na míře nasycení vodou. Za správných podmínek je rašelina nejranější etapou v tvorbě uhlí. Rašelina se používá jako fosilní palivo, přidává se do půdy ke zvýšení schopnosti půdy uchovávat vlhkost a jako stelivo pro dobytek [21].

2.3 Huminové kyseliny

2.3.1 Charakteristika

Huminové kyseliny reprezentují společně s fulvinovými kyselinami a huminy tři základní frakce humusu. Huminové kyseliny jsou hlavní a stabilní složkou organické hmoty vyskytující se v půdách nebo vodách. Vyskytují se jednak volné a jednak vázané na různé kovy, např. vápník, hliník, železo [17].

Huminové kyseliny pomáhají rozbíjet jílu a kompaktní půdy, pomáhají v přenosu mikronutrientů z půdy k rostlině a zvyšují zadržování vody. V důsledku toho rovněž zvyšují rychlosti klíčení semen a stimulují rozvoj mikroflóry v půdách. Huminové kyseliny zpomalují vypařování vody z půd [4].

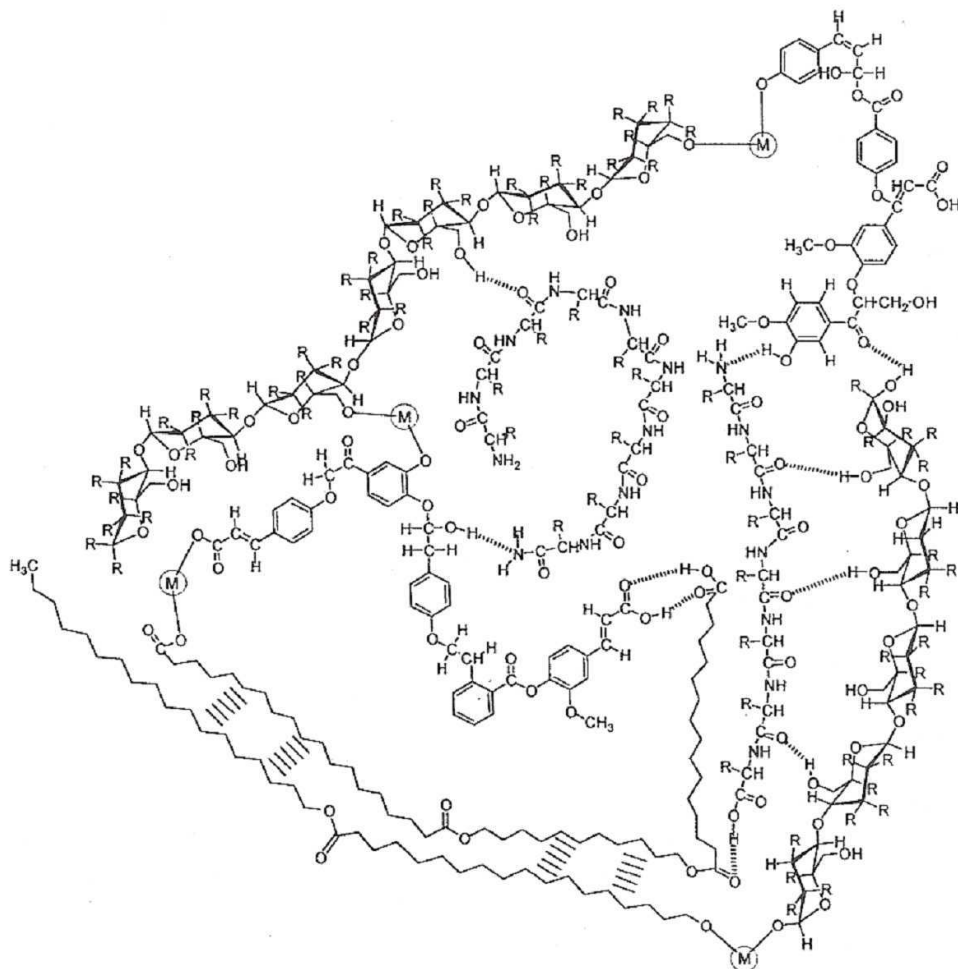
Základní vlastnosti huminových kyselin a tedy i jejich případná aplikace silně závisí na jejich původu a také na procesu jejich izolace. Proces extrakce z výchozí matrice a použití různých extrakčních činidel může výrazně ovlivnit vlastnosti získaného materiálu [22].

2.3.2 Struktura

Huminové kyseliny se dají charakterizovat jako látky, které se skládají z různých aromatických látek s alifatickými, kyslíkovými, dusíkovými a sirnými můstky, mající alifatické peptidické a lipidické povrchové řetězce a chemicky aktivní funkční skupiny. Mohou být také popsány jako heterogenní směs organických látek, přičemž z funkčních skupin jsou dominantně zastoupeny převážně karboxylové a fenolické skupiny. Společným znakem je velká stabilita vůči degradaci a koloidní charakter [17].

Ve struktuře huminových kyselin můžeme nalézt aromatické a hydroaromatické di-, tri- a tetrakyseliny. Huminové kyseliny jsou obecně považovány za komplexní aromatické (makro)molekuly. Spojení mezi aromatickými skupinami zajišťují aminokyseliny, aminocukry, peptidy a alifatické sloučeniny. Huminové kyseliny vykazují polyaniontový charakter a mohou vázat kationty různými mechanismy (jak chemickými, tak fyzikálními) [1].

Obsah huminových kyselin bývá největší v přírodně oxidovaných derivátech lignitu vzniklých zvětráním. Kvůli zvýšení obsahu kyslíkatých funkčních skupin jsou prováděny procesy směřující k syntetickému okysličování dalších běžných typů geologicky mladšího uhlí [23].



Obrázek 6 Hypotetický strukturální vzorec huminové kyseliny, *M* značí kation kovu, krátce čárkované spoje mezi skupinami představují vodíkové vazby, dlouze čárkované hydrofobní interakce (převzato z [24])

Látky s podobnou strukturou jakou mají huminové kyseliny se nazývají fulvinové kyseliny, též fulvokyseliny. Fulvokyseliny jsou více hydrofilní a méně polydisperzní než huminové kyseliny. Tyto vlastnosti způsobují vyšší chemickou a fyzikálně-chemickou aktivitu fulvokyselin [17]. Fulvokyseliny mohou být považovány za asociáty malých hydrofilních molekul, ve kterých je dost funkčních skupin k udržení fulvinových shluků případně i jednotlivých molekul rozptýlených v roztoku při jakémkoliv pH [25]. Zabarvení fulvokyselin se pohybuje od světle žluté do žlutohnědé [1].

Další látkou, kterou můžeme srovnat s huminovými kyselinami je humin. Humin představuje látku, která se nerozpouští v žádném pH. Barevně je ze všech tří složek nejtmaší. Jeho barva je černá [1]. Z analytických dat, která můžeme o huminu nalézt v publikacích, lze vidět že huminy jsou podobné huminovým kyselinám, až na to, že huminy jsou silně vázané na jíly a chelátované na kovy a proto se stávají nerozpustnými [26].

Protože je humin prakticky nerozpustný, dá se říct, že chemická povaha huminu je pochopena ze všech známých frakcí nejméně. V huminu můžeme nalézt nezměněné nebo málo změněné biopolymery jako lignin a polysacharidy, látky podobné huminovým kyselinám, minerálně vázané lipidy a vysoce aromatický uhlík. Dále obsahuje sacharidy, proteiny a estery, které se mohou odstranit a odseparovat pomocí hydrolyzy při nízkém pH [27].

2.4 Analýza funkčních skupin

Ke studiu huminových látek lze použít řadu různých metod. Uplatnění nacházejí zejména UV/VIS spektroskopie, IR spektrometrie, chromatografie, potenciometrie a konduktometrie. V naší práci se zabýváme stanovením kyselých funkčních skupin pomocí potenciometrických a konduktometrických titrací.

2.4.1 Potenciometrie

Potenciometrie se používá k měření pH. Principem potenciometrického stanovení pH je měření rovnovážného napětí článku sestaveného z jedné elektrody s konstantním potenciálem (elektroda referenční neboli srovnávací, např. nasycená kalomelová elektroda) a jedné elektrody indikační (měrné, např. skleněné), jejíž potenciál je funkcí pH.

Měrný článek je ponořen do roztoku, jehož pH má být změřeno. Určení pH má obvykle charakter kalibračního měření, kdy se měrný systém (měrný článek a měřicí přístroj) okalibruje pomocí standardních tlumivých roztoků (pufrů) o známém pH. Poté se změří pH zkoumaného roztoku [28].

Při **potenciometrických titracích** se ze závislosti napětí článku na množství přidaného odměrného roztoku zjišťuje konečný bod titrace a analyt je stanoven ze spotřeby odměrného roztoku.

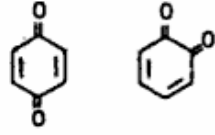
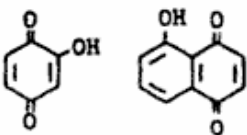
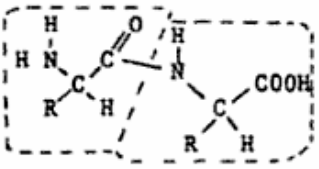
Při *manuálních titracích* se do titrovaného roztoku postupně přidává odměrný roztok manuálně z byrety a po každém přidavku se zaznamenává potenciál. Zpravidla se zaznamenává celá titrační křivka, na níž se zjistí inflexní bod a odtud odpovídající spotřeba odměrného roztoku.

Při *automatických titracích* jsou přidavky odměrného roztoku řízeny elektronicky (v dnešní době externím nebo přímo do titrátoru zabudovaným počítačem). Zpravidla se titruje pouze k předem nastavené hodnotě potenciálu konečného bodu. Podle rozdílu aktuálního potenciálu a potenciálu konečného může titrátor řídit i rychlost a množství přidávaného odměrného roztoku, čímž se snižuje nebezpečí přetitrování roztoku. Ze změřené spotřeby odměrného roztoku, jeho koncentrace a navážky vzorku se dá vypočítat požadovaná veličina [29]. Mezi potenciometrické titrace patří např. barytová a acetátová metoda, které jsou dále popsány.

Reakce funkčních skupin

Chemie organických koloidních komplexů obsažených v půdě je bezpochybně nejméně srozumitelné a nejvíce matoucí místo v půdních vědách. Mnohé ze zajímavých funkcí humusu nelze uspokojivě vysvětlit bez hlubší znalosti o chemických strukturách huminových a fulvinových kyselin (např. efekt huminových látek na půdní strukturu, mechanismus chelatace těžkých kovů a adsorpce pesticidů a dalšího toxického odpadu).

Rozmanitost funkčních skupin a strukturních motivů vyskytujících se nejčastěji v huminových látkách lze demonstrovat pomocí obrázku 7.

Amino	$-NH_2$	Anhydride	$\begin{array}{c} O \quad O \\ \quad \\ R-C-O-C-R' \end{array}$
Amine	$\begin{array}{c} H \\ \\ R-C-NH_2 \\ \\ H \end{array}$	Imine	$\begin{array}{c} H \\ \\ R-C=NH, R-CHNH \end{array}$
Amide	$\begin{array}{c} O \\ \\ R-C-NH_2 \end{array}$	Imino	$=NH$
Alcohol	$R-CH_2OH$	Ether	$R-CH_2-O-CH_2-R'$
Aldehyde	$\begin{array}{c} H \\ \\ R-C=O, R-CHO \end{array}$	Ester	$\begin{array}{c} O \\ \\ R-C-O-R', R-COOR' \end{array}$
Carboxyl	$\begin{array}{c} O \\ \\ R-C-OH, R-COOH \end{array}$	Quinone	
Carboxylate ion	$\begin{array}{c} O \\ \\ R-C \left. \begin{array}{l} \ominus \\ \diagup \quad \diagdown \\ O \quad O \end{array} \right\} R-COO^- \end{array}$	Hydroxyquinone	
Enol	$R-CH=CH-OH$	Peptide	
Ketone	$\begin{array}{c} O \\ \\ R-C-R', R-CO-R' \end{array}$		
Keto acid	$\begin{array}{c} O \\ \\ R-C-COOH \end{array}$		
Unsaturated carbonyl	$\begin{array}{c} H \quad H \quad H \\ \quad \quad \\ -C=C-C=O \end{array}$		

Obrázek 7 Některé zajímavé strukturní skupiny v organických molekulách(převzato z [30])

Elementární složení

Jak je ukázáno v tabulce 2, hlavními prvky obsaženými v huminových a fulvinových kyselinách jsou uhlík (C) a kyslík (O). Obsah C v huminových kyselinách je většinou v rozsahu od 53,8 do 58,7 %; obsah O se mění od 32,8 do 38,3 %. Fulvinové kyseliny mají menší obsah uhlíku (obvyklý rozsah hodnot 40,7-50,6 %), ale obsahují více kyslíku (39,7-49,8 %). Procentuální zastoupení vodíku (H), dusíku (N) a síry (S) se mění od 3,2 do 7,0 % (H), od 0,8 do 4,3 % (N), resp. od 0,1 do 3,6 % (S). Pokud bychom ignorovali obsah síry, pak „průměrný“ chemický vzorec pro huminovou kyselinu můžeme psát $C_{10}H_{12}O_5N$ a pro fulvinovou kyselinu vzorec může vypadat $C_{12}H_{12}O_9N$.

Jak bude poznamenáno později, fulvinové kyseliny mají o něco vyšší obsah karboxylových skupin než huminové kyseliny a vyšší procento obsahu kyslíku. Na druhou stranu obsah uhlíku je vyšší u huminových kyselin. Vypočtené hodnoty Varadacharim a Ghoshem [31] pro 10 huminových kyselin dalo hodnoty obsahu C od 59,0 do 64,6 % a pro 6 fulvinových kyselin, kde rozsah byl od 57,6 do 63,5 %.

Základní obsah huminových látek může být ovlivněn takovými faktory jako je pH, struktura materiálu, vegetace a stáří půdy. Pro jezerní sedimenty najdeme souvislost, že s rostoucí hloubkou roste obsah C huminových kyselin [30].

Tabulka 2 Hlavní složení huminových látek

Látka	humínová kyselina	fulvíková kyselina
Uhlík	53,8-58,7 %	40,7-50,6 %
Kyslík	32,8-38,3 %	39,7-49,8 %
Vodík	3,2-6,2 %	3,8-7,0 %
Dusík	0,8-4,3 %	0,9-3,3 %
Síra	0,1-1,5 %	0,1-3,6 %

Metody analýzy kyselých funkčních skupin

Význam této kapitoly je ten, že udává možnosti stanovení běžných kyslík-obsahujících funkčních skupiny za použití mokřých chemických metod. Některé z technik umožňují přímé a snadné stanovení funkčních skupin, jiné vyžadují tvorbu derivátů, jako např. metylace nebo acetylace. Byla popsána i řada velmi sofistikovaných metod využívajících tvorby derivátů pomocí isotopických značených činidel a následné analýzy pomocí nukleární magnetické rezonance. Tyto jsou podrobně popsány Leenheerem a Noyesem v Kapitole 11 [32].

Většina metod pro stanovení obsahu kyselých skupin v huminových materiálech je založena na kyselých vlastnostech těchto skupin. S ohledem na komplexní charakter huminových látek může být kyselost různých skupin různá a její hodnoty se mohou vzájemně překrývat. Z tohoto důvodu je třeba výsledky obdržené pomocí metod závislých na výměně iontů nebo měření pK hodnot interpretovat s opatrností. Například, v případě polykarboxylových kyselin je následná protonová disociace snížena, zatímco u substituovaných fenolů může docházet ke snazší disociaci dalších kyselých skupin. Některé skupiny mohou být nereaktivní v důsledku tvorby silné vodíkové vazby nebo kvůli prostorovému bránění.

Další problémy v kvantitativním stanovení funkčních skupin zahrnují [30]:

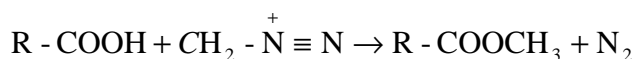
- 1) omezenou rozpustnost materiálu ve vodě a většině organických rozpouštědel
- 2) oxidace a redukce
- 3) interakce s činidly užívanými pro vytvoření derivátů
- 4) nestechiometrická povaha reakcí.

2.4.2 Stanovení celkové kyselosti v huminových látkách

Pro stanovení celkové kyselosti v huminových látkách můžeme použít více různých metod.

2.4.2.1 Metylační procedura

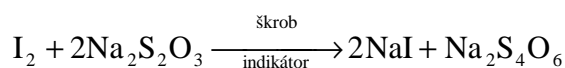
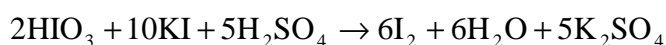
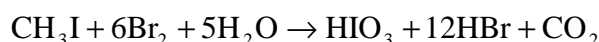
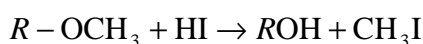
Jedna z metod je založena na určení obsahu skupin OCH_3 vytvořených ve vzorku po metylaci s diazometanem (CH_2N_2), který reaguje s kyselými skupinami podle schématu:



Tato reakce probíhá s kyselým (kyselinotvorným) vodíkem v širokém spektru struktur, zahrnujícím COOH , fenolické OH , enolické sloučeniny a zřejmě také mastné (alifatické)

alkoholy. Na druhé straně, fenolické OH skupiny účastní se tvorby vodíkových vazeb nemusí reagovat. Doprovodné reakce zahrnují tvorbu polyethylenu po katalytickém působení těžkých kovů, jak bylo pozorováno Farmer a Morisson [33].

Po metylaci je možné přítomnost OCH₃ stanovit pomocí Zeiselovy metodou [34]. V této technice jsou CH₃ skupiny odtrhávány pomocí jodovodíku ve fenolu jako rozpouštědla a vzniklý metyljodid (CH₃I) je odstraněn proudem CO₂ a sbírán ve vodném roztoku bromu, kde je zoxidován na kyselinu jodistou (HIO₃). HIO₃ pak podstoupí reakci s jodidem draselným (KI) v kyselém roztoku a vznikne I₂, který je titrován standardizovaným roztokem thiosíranu sodného (Na₂S₂O₃) za použití škrobu jako indikátoru. Probíhající reakce můžeme zapsat sérií rovnic:

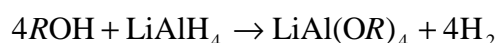


2.4.2.2 *Reakce s diboranem*

Dubach et al. [35] a Martin et al. [36] použili jiný přístup pro stanovení aktivního (kyselého) vodíku (H) v huminových látkách. Používají reakci s diboranem, u něhož předpokládají, že reaguje i s prostorově bráněnými skupinami a věří, že hodnota reakce probíhá se všemi aktivními atomy vodíku bez ohledu na hodnotu pK. Pro půdní fulvinové kyseliny našli dobrý soulad mezi celkovou kyselostí určenou touto metodou a barytovou metodou.

2.4.2.3 *Reakce s hybridem hlinito-litným*

Hydrid hlinito-litný reaguje s kyselými vodíkovými atomy za vzniku plynného vodíku.



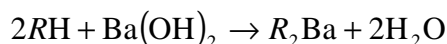
Tato metoda se užívá pro stanovení aktivního vodíku v uhlí a může být také využita pro analýzu huminových látek.

2.4.2.4 *Barytová metoda*

Používá se pro zjištění celkové kyselosti ve vzorku. Stanovuje celkový obsah karboxylových skupin (COOH), fenolických skupin a hydroxylů s enolickým charakterem. Je to jedna z metod přímo použitých v rámci této práce, proto si ji popíšeme podrobněji.

Reakce s hydroxidem barnatým [Ba(OH)₂] se používá jako nepřímá potenciometrická metoda, která je založena na odtrhávání iontů H⁺ ze skupin, ionizujících při pH stanovení (0,1 M roztok Ba(OH)₂ má hodnotu pH vyšší než 13). Díky své jednoduchosti je barytová metoda nejvyužívanější metodou pro stanovení kyselosti huminových látek.

Provedení spočívá v reakci vzorku s nadbytkem Ba(OH)₂ a nevyužitý reaktant je poté titrován jako standardní báze. Obecně lze první krok reakce zapsat následovně:



kde R značí huminovou látku a H je proton ze skupiny COOH nebo OH. Celková kyselost (v cmol/kg) se vypočte podle vztahu:

$$\text{Celková kyselost} = \frac{(V_b - V_s) \cdot N \cdot 10^6}{\text{mg vzorku}} \cdot 100$$

Kde V_b a V_s představují objemy standardní kyseliny, která byla použita pro titraci vzorku se stanovovanou huminovou látkou a pro titraci slepého vzorku $\text{Ba}(\text{OH})_2$ a N je molární koncentrace kyseliny v mol/l.

Hlavní výhoda této metody je její jednoduchost. Předpokládá se, že veškerý huminový materiál se vyloučí ve formě sraženiny nerozpustné barnaté soli a ten se potom odstraní filtrací (což není vždy potřeba). Jednou z nevýhod při stanovování huminových kyselin je skutečnost, že vzorky mohou obsahovat zbytky kyselin použitých při izolaci. Stanovení prováděná za přítomnosti kyslíku vedou k vyšším výsledkům. V případě vysokého obsahu fenolických skupin jsou však hodnoty kyselosti systematicky podhodnocovány [30].

2.4.3 Stanovení karboxylových skupin v huminových látkách

Výše popsané metody stanovují tzv. celkovou kyselost huminových látek. Mimoto bylo navrženo několik metod, kterými lze stanovit specificky pouze karboxylové skupiny. Některé z nich si popíšeme níže.

2.4.3.1 Metylační procedura

Metylační procedura ke stanovení obsahu COOH skupin spočívá v metylaci a následné hydrolýze (saponifikaci) vzniklého metylesteru. Metylací je možné provést několika způsoby, např. pomocí CH_2N_2 či CH_3OH v suchém HCl . Farmer a Morrison [33] zjistili, že druhý ze způsobů dává nekompletní esterifikaci (což vede k systematickému podhodnocování obsahu COOH skupin).

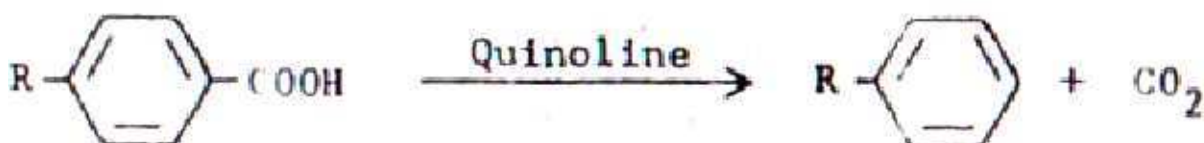
Některé saponifikační postupy mají využití v analýze metylových esterů, zahrnující destilaci uvolněného metanolu a stanovení změny v obsahu OCH_3 , která doprovází saponifikaci (hydrolýza esterů). Nevýhodou druhé procedury je náročnost kvantitativního obnovení materiálu, který podstoupí saponifikaci. V prvním případě, se OCH_3 odštěpí jako CH_3OH zahřátím s alkálií, následovaným izolací CH_3OH destilací a poté oxidací na formaldehyd reakcí s KMnO_4 . Formaldehyd je pak stanoven senzitivní kolorimetrickou procedurou.

2.4.3.2 Jodometrická metoda

Wright a Schnitzer [37] použili jodometrickou metodu pro stanovení COOH skupin v některých huminových vzorcích. Tato technika, která je založena na výměně iontů, dává vyšší hodnoty než acetátová metoda.

2.4.3.3 Chinolinová dekarboxylace

Aromatické kyseliny jsou dekarboxylovány, když se zahřejí s chinolinem za přítomnosti patřičných katalyzátorů.

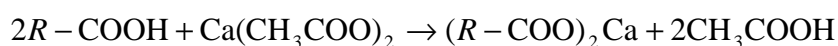


Aplikace této metody na půdní huminové látky poskytla výsledky srovnatelné s acetátovou metodou, což naznačuje, že většina COOH skupin v huminových látkách je navázána na aromatický kruh. Nicméně, CO₂ se může také uvolňovat z α-hydroxy alifatických kyselin.

2.4.3.4 Acetátová metoda

A jako hlavní metoda kterou si popíšeme podrobněji je acetátová metoda. Metoda, která se používá pro zjištění karboxylových skupin.

Stejně jako barytová procedura pro získání celkové kyselosti, je i acetátová metoda založena na výměně iontů a může být pokládána za nepřímou potenciometrickou titraci. Metoda je používána pro určení obsahu COOH skupin. Reakce:



V průběhu reakce se uvolňuje kyselina etanová neboli octová (CH₃COOH) a ta je poté titrována se standardním roztokem NaOH do pH=9,8. Podíl skupin karboxylových (v cmol/kg) je dán vztahem:

$$\text{COOH} = \frac{(V_s - V_b) \cdot N \cdot 10^6}{\text{mg vzorku}} \cdot 100$$

Kde V_s a V_b představují použité objemy zásady, která byla použita na titraci slepého vzorku a vzorku, a N je molární hmotnost zásady v mol/l.

Protože procedura zahrnuje výměnu iontů, a protože huminové sloučeniny mohou obsahovat kyselé OH skupiny, které se ionizují pod úrovní pH použitého roztoku Ca(CH₃COOH)₂, výsledky nemusí vždy odpovídat kvantitativním hodnotám. Pro řadu huminových preparátů lze nalézt odchylky mezi hodnotami obsahu COOH skupin získanými z chemické adsorpce a vypočtenými z počtu aktivních vodíků (diboran), které vzrůstají s celkovým počtem OH skupin.

Další komplikace spočívá v nekompletním odstranění huminových vzorků během filtrace. Modifikace procedury zahrnutím obnovy CH₃COOH parní destilací byla přidána Holtzclawem a Spositem [38]. Další práce ukázala, že CH₃COOH může být selektivně separována ze zreagovaného roztoku použitím ultrafiltrace.

Nakonec můžeme zaznamenat vazbu Ca²⁺ na huminové nebo fulvinové kyseliny, které mohou vést k uvolnění protonu z jiného místa než z COOH skupiny. Byla objevena vazba Ca²⁺ na huminovou látku následkem odtržení protonů neuvolněnými tam, kde byl použit acetát sodný jako záměnná báze [30].

2.4.4 Konduktometrie

Konduktometrie je analytická metoda založená na měření impedance. Patří mezi tzv. elektroanalytické metody, při nichž se analyt stanovuje na základě měření určité elektrické vlastnosti analyzovaného roztoku jako celku. Při konduktometrii se měří elektrická vodivost, která charakterizuje schopnost roztoku vést elektrický proud. Konduktometrie je neselektivní analytická metoda, poskytující informace o celkovém obsahu látek v analyzovaném roztoku.

Principiální rozdíl oproti ostatním elektroanalytickým metodám spočívá v tom, že stanovení analytu v elektrochemickém článku není založeno na elektrochemické reakci (oxidaci či redukci) na rozhraní elektroda/roztok (naopak, elektrodové reakce jsou při těchto

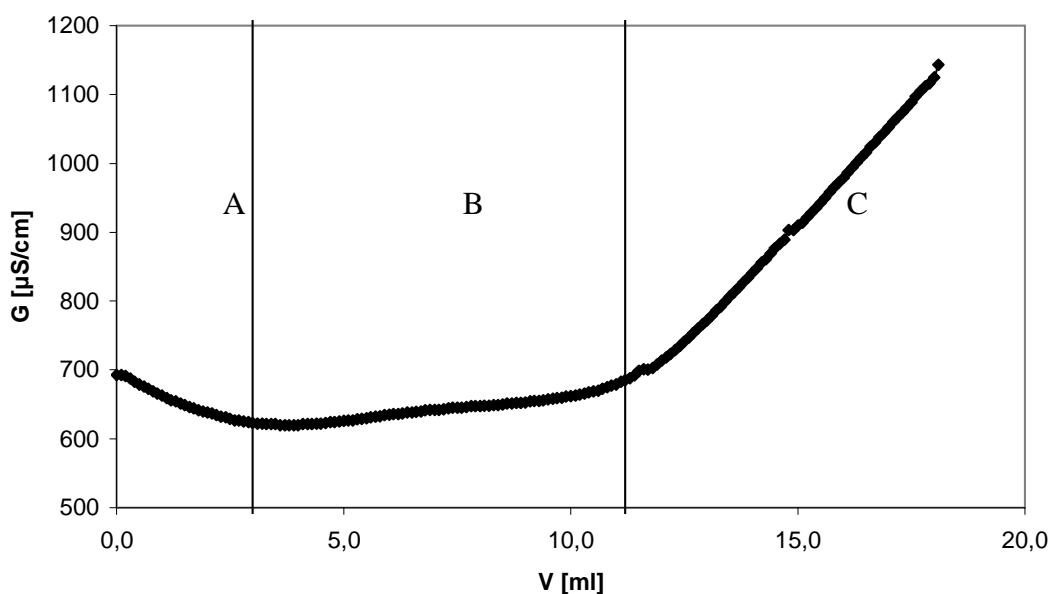
měřeních nežádoucí), ale na měření elektrických vlastností celého objemu roztoku mezi elektrodami.

Konduktometrické titrace. Pokud se v průběhu titrace mění v roztoku ionty s vyšší iontovou vodivostí za ionty s iontovou vodivostí nižší, či naopak, lze použít konduktometrie jako objektivní metody zjišťování konečného bodu titrace.

Konduktometrické titrace se provádějí v titračních nádobkách (kádinkách), v nichž jsou v titrovaném roztoku ponořeny vodivostní elektrody. Roztok je v průběhu titrace míchán, titrační činidlo se používá dostatečně koncentrované, aby objem přidávaný v průběhu titrace z byrety byl zanedbatelný ve srovnání s objemem roztoku [29]. Z konduktometrických titrací se budeme zabývat Wandruszkovou metodou.

2.4.4.1 Wandruszkova titrace

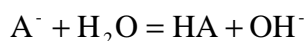
Vodivostní titrační křivka uvedená ve studii a zobrazená na obrázku 8 s daty pro huminové kyseliny izolované z lignitu. Před provedením titrace, huminová kyselina byla rozpuštěna v nadbytku NaOH, čímž se vytvořily humátové aniony (A^-) a v roztoku byly přítomny i sodné kationty a nezreagované hydroxidové anionty. Když tento roztok titrujeme standardem HCl, vodivost nejdříve prudce klesá, v důsledku nahrazení hydroxidového iontu chloridovým; tomuto odpovídá oblast A na obrázku 8. Po vytitrování veškerého nadbytečného hydroxidu, humáty byly postupně protonizovány a výsledkem je náhrada A^- za Cl^- . V závislosti na poměru vodivostí přidávaného aniontu Cl^- a zanikajícího A^- může docházet ke zvýšení či snížení vodivosti roztoku. V našem případě pozorujeme, že hodnota parametru vodivosti pozvolna roste, což naznačuje, že iontová vodivost Cl^- byla vždy vyšší než u A^- (obrázek 8 oblast B). Směrnice této části křivky odpovídala rozdílu vodivosti mezi Cl^- a A^- , nebo nabitému segmentu huminového polyaniontu. Průběh křivky může být silně ovlivněn možností tvorby iontových párů, které také mohou hrát roli, ale předpoklad je takový, že se uvažuje vliv pouze humátu. Po úplné protonizaci humátu následuje přidání HCl, který dodá oba (nosiče náboje) H^+ a Cl^- do roztoku, což vede k rychlému vzrůstu vodivosti (obrázek 8 oblast C).



Obrázek 8 Vodivostní titrační křivka huminových kyselin izolovaných z lignitu

Získané křivky tímto způsobem poskytují nejen průměrnou hodnotu vodivosti huminových iontů v roztoku, ale extrapolací těchto 3 lineárních částí (obrázek 8 oblast A, B a C) také dovolí jednoduché stanovení kyselosti obsahu v huminovém materiálu. Můžeme také poznamenat, že nahrazení titrace za výhodnější standardní kyselinu vede k silně zásadité vodivosti titrační složky HA, jako rozpouštědlo je použit roztok NaOH, který huminový materiál vždy zcela rozpustí v každé části procedury.

Interpretace vodivostní křivky byla komplikovaná kvůli hydrolyze A^- a rozkladu HA.



Kvůli variabilitě a neznámé struktuře huminu, přesný vliv této reakce není možné přesně stanovit. Bylo jasné, že hydrolyza bude mít největší vliv na tvar křivky na hranici mezi oblastmi A a B. V této oblasti je největší nadbytek OH^- k titraci, kde je velký nedostatek A^- zbytků. Při daném načasování báze slabé kyseliny se A^- bude významně účastnit hydrolyzy. HA rozklad se postupně stane zajímavým při titraci v oblasti B, což se projeví maximální distorzí křivky v oblasti C.

Distorze (zaoblení) vodivostní křivky v místech přechodu A/B a B/C jsou snad ovlivněny silnou kyselinou HA. Kvůli hydrolyze humátu, hojnost OH^- na A/B přechodu se zvýší s přidáním slabé kyseliny a pak i silné. To vede k různému zvyšování vodivosti (a proto se křivka více zakulatí) v závislosti na původci. Silnější HA produkuje více A^- na přechodu B/C a zapříčiní větší zahnutí křivky. Pokud by celý průběh podstupoval silnější kyselině v HA roztoku, mělo by to průměrkující efekt na celém kyselinovém chování částí materiálu.

Pro ilustraci, účinek huminové hydrolyzy, HA odloučení (pK_a), a iontová vodivost A^- na tvar vodivostní křivky byl simulován, aby se našel vztah k množství různých vodivých prvků (OH^- , H^+ , A^- , Cl^- , Na^+) na různá místa titrační křivky. Hodnoty iontové vodivosti byly použity jako limitující hodnoty vodivosti iontů, zahrnující různé odhady průměrné hodnoty huminových iontů, A^- . Jako patřičnou hodnotu iontů v nekonečně zředěném roztoku, toto určitě neprodukuje správné hodnoty vodivosti pro daný roztok, ale může se použít pro srovnání tvaru křivek jako ukazatel množství a vodivosti iontů, které přísluší daným mezím [39].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie a přístroje

K experimentům byly použity následující chemikálie a materiály:

- jihomoravský lignit – Mikulčice
- rašelina Soběslav
- hydroxid sodný Lach-Ner, s.r.o., Neratovice, ČR
- fosforečnan sodný sekundární dekahydrát Lachema a.s., Neratovice, ČR
- kyselina chlorovodíková 35% Lach-Ner, s.r.o. Neratovice, ČR
- hydroxid barnatý Lachema a.s., Neratovice, ČR
- octan vápenatý Riedel-de Haën, Sigma-Aldrich
- uhličitan sodný Lachema a.s., Brno, ČR

Vedle běžného laboratorního nádobí byly použity následující přístroje:

- titrátor SCHOTT Titroline alpha plus
- konduktometr Inolab WTW Cond 730 – elektroda grafitová WTW Tetra Con 325
- pH metr Mettler Toledo Seven Multi – elektroda skleněná M. T. Inlay 410
- míchačka (Heidolsk MR, Heis-Standard; Varionag, Poly)
- centrifuga Hettich rotina 46R
- třepačka Heidolph Vibramax 100
- pH metr Mettler Toledo

3.2 Extrakce huminových látek

Izolace huminových kyselin ze zdrojových materiálů (lignit, rašelina) byla prováděna jejich rozpouštěním ve vodném roztoku hydroxidu sodného a pyrofosforečnanu sodného a následným sražením roztokem HCl. Izolované huminové kyseliny byly poté opakovaně promyty destilovanou vodou.

První způsob izolace byl prováděn při laboratorní teplotě. Extrakční roztok obsahoval 0,5 M NaOH a 0,1 M Na₄P₂O₇. Navážka 60 g lignitu či rašeliny byla 24 hodin promíchána se 2 l extrakčního roztoku.

Druhý den byla suspenze rychle přefiltrována přes hustou tkaninu na sítu do pětilitrové polypropylenové kádinky a pomocí pomalého přidávání ca 20% HCl bylo upraveno pH filtrátu na hodnotu 1 (bylo kontrolováno pH-metrem). Tuhý zbytek byl ještě jednou znovu extrahován opět 2 l čerstvého extrakčního roztoku o stejném složení, avšak pouze po dobu jedné hodiny. Po odfiltrování pevného zbytku byl filtrát okyselen, oba extrakty byly spojeny a ponechány přes noc v ledničce v kádince zakryté alobalem. Sedimentovaná suspenze byla další den rozdělena odsátím kapaliny nad usazeninou pomocí vodní vývěvy.

Vysrážené huminové kyseliny z kádinky byly odděleny od kapalné fáze odstředěním v PP kyvetách o objemu 250 ml při teplotě 15 °C a otáčkách 4000 min⁻¹ po dobu 10 minut a v nich byly postupně pomocí odstředování třikrát promyty 0,1 M HCl (roztok o pH ne vyšším než 1), na závěr 1x vodou. Získaný produkt byl vysušen v sušárně při 50 °C. Tímto postupem bylo získáno 19,7 g z lignitového materiálu a 16,0 g z rašeliny.

Druhý postup (B)

Alternativní postup používá pouze 600 ml extrakčního roztoku (stejně složení jako v předcházejícím případě) na 60 g materiálu. Roztok byl míchán při teplotě 50 – 80 °C.

Odvážené množství lignitu (rašeliny) bylo přelito v kádince příslušným množstvím extrakčního roztoku a nechalo se dvě hodiny zahřívát při uvedené teplotě.

Suspenze byla potom přefiltrována přes hustou tkaninu na sítu do uzavíratelné nádoby a okyselena 20% HCl na $\text{pH} < 2$. Hodnota byla kontrolována pH-metrem. Okyselený extrakt byl ponechán přes noc v ledničce.

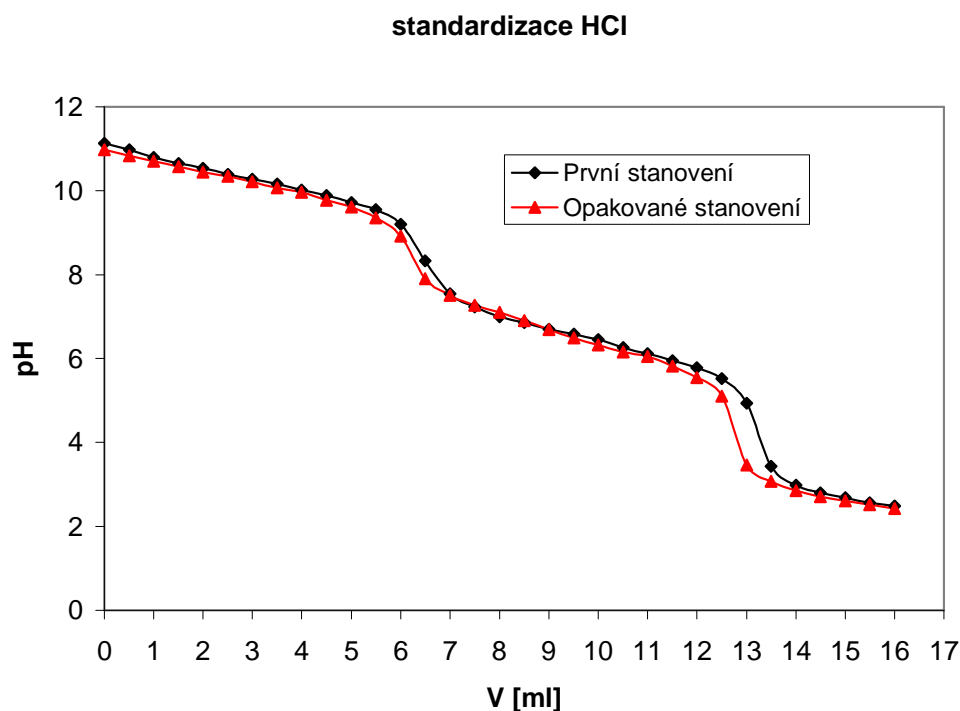
Vysrážené huminové kyseliny z kádinky byly odděleny od kapalné fáze odstředěním v PP kyvetách o objemu 250 ml při teplotě 15°C a otáčkách 4000 min^{-1} po dobu 10 minut a v nich byly postupně pomocí odstředování třikrát promyté 0,1 M HCl (roztok o pH ne vyšším než 1), na závěr 1x vodou. Získaný produkt byl vysušen v sušárně při 50°C . Tímto způsobem bylo získáno 50,4 g z lignitového zdroje a 15,2 g z rašeliny.

Získané množství z obou frakcí u rašeliny bylo přibližně stejné. U lignitu bylo izolováno druhým způsobem skoro trojnásobné množství.

3.3 Barytová metoda

Navážka přibližně 100 mg huminových látek byla převedena do 125 ml Erlenmayerovy baňky a bylo přidáno 20 ml 0,1 M $\text{Ba}(\text{OH})_2$. Roztoky byly zazátkovány a 24 hodin míchány při pokojové teplotě a poté přefiltrovány přes filtrační nálevku a promyty destilovanou vodou. V průběhu míchání dochází k neutralizaci kyselých skupin huminových kyselin, přičemž barnaté humáty se vylučují ve formě sraženiny. Nadbytečný hydroxid barnatý ve filtrátu byl titrován 0,1 M roztokem HCl na indikátor fenoftalein. Z rozdílu spotřeb mezi filtrátem a slepým vzorkem lze poté určit obsah kyselých skupin; slepý vzorek představovalo 20 ml 0,1 M $\text{Ba}(\text{OH})_2$, který byl 24 hodin míchán a poté přefiltrován.

Roztok HCl byl standardizován pomocí uhličitanu sodného s potenciometrickou indikací. Graf potenciometrické křivky z této standardizace můžeme vidět na obrázku 9 a spotřeby a koncentrace jsou v tabulce 3.



Obrázek 9 Standardizace HCl

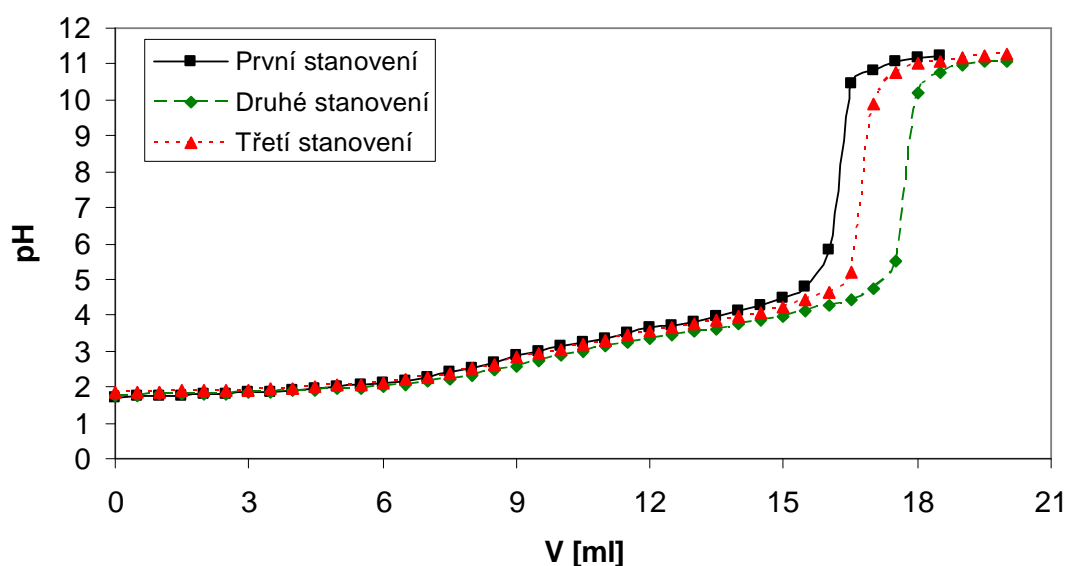
Tabulka 3 Standardizace HCl pro barytovou metodu

$m_{Na_2CO_3}$ [mg]	V_{HCl} [ml]	c_{HCl} [mol/l]
80,5	13,5	0,125 1
79,2	12,6	0,119 1
		0,122 1

3.4 Acetátová metoda

Navážka přibližně 100 mg vzorku huminových látek byla převedena do 125 ml Erlenmayerovy baňky, bylo přidáno 10 ml 0,5M $Ca(CH_3COO)_2$ a 40 ml vody. Slepý vzorek představovalo 10 ml 0,5 M $Ca(CH_3COO)_2$ a 40 ml vody. Roztoky byly zazátkovány a 24 hodin míchány při pokojové teplotě a poté přefiltrovány přes filtrační nálevku a byly promyty destilovanou vodou. Uvolněná kyselina octová ve filtrátu byla stanovena titrací 0,1 M roztokem NaOH s potenciometrickou indikací (skleněná-kalomelová elektroda) do $pH = 9,8$. Roztok NaOH byl standardizován na dihydrát kyseliny šťavelové. Graf standardizace je vidět na obrázku 10 a spotřeby a koncentrace jsou popsány v tabulce 4.

Standardizace NaOH

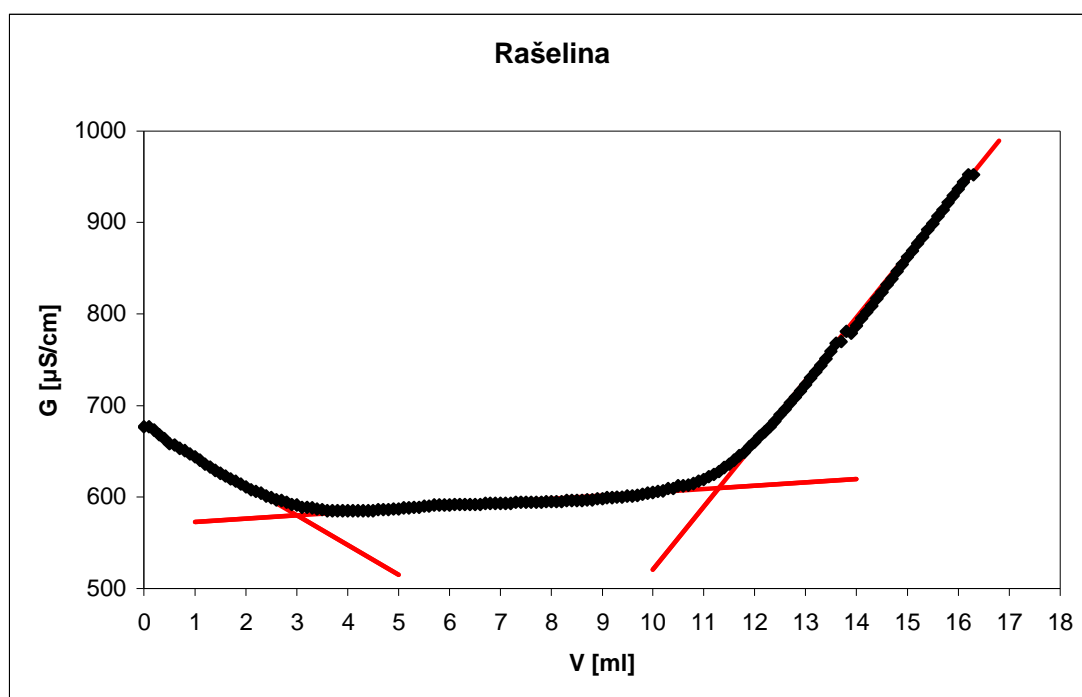
**Obrázek 10** Standardizace NaOH na dihydrát kyseliny šťavelové**Tabulka 4** Standardizace NaOH

$m_{C_2H_2O_4}$ [mg]	V_{NaOH} [ml]	c_{NaOH} [mol/l]
104,9	16,3	0,102 4
114,8	17,8	0,102 6
108,9	16,8	0,103 1
		0,102 7

3.5 R. von Wandruszkova metoda

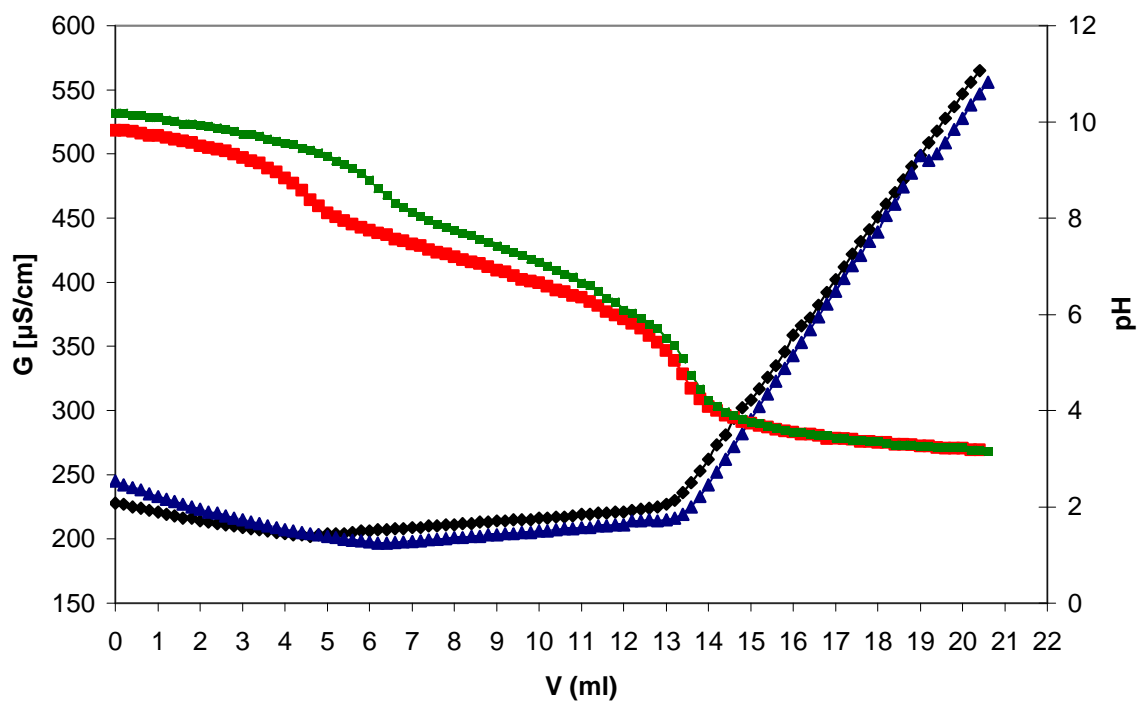
Navážka přibližně 80 mg vzorku huminových látek byla smíchána se 40 ml 0,01 M NaOH. Vzorek byl míchán po dobu asi 30 minut. Po promíchání bylo přidáno 50 ml H₂O. Roztok byl titrován 0,012 5 M HCl do doby, kdy byl pozorován systematický růst měrné vodivosti. U každého vzorku bylo měření provedeno třikrát. Získaný graf byl proložen třemi přímkami, které nejlépe vystihovaly jednotlivé větve daného grafu. Protnutím přímek byla odečtena spotřeba. Ukázka proložení je vidět na obrázku 11.

Roztok kyseliny chlorovodíkové použitý pro stanovení von Wandruszkovou metodou byl o přibližné koncentraci $c = 0,012\ 5\ \text{M}$ a standardizace byla prováděna opět pomocí navážky uhličitanu sodného. Na obrázku 12 je ukázán graf ze standardizace roztoku HCl, v němž lze vidět jak potenciometrickou tak i vodivostní křivku. V tabulce 5 jsou shrnuty jednotlivé spotřeby a koncentrace roztoků HCl.



Obrázek 11 Konduktometrické stanovení vzorku rašeliny

Standardizace HCl



Obrázek 12 *Standardizace HCl*

Tabulka 5 *Standardizace HCl pro Wandruszkovu metodu*

$m_{Na_2CO_3}$ [mg]	V_{HCl} [ml]	c_{HCl} [mol/l]
258,43	13,0	0,015 0
258,43	13,2	0,014 8
		0,014 9

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Barytová metoda

V tabulkách 6 – 8 jsou uvedeny výsledky stanovení celkové kyselosti pomocí barytové metody. Hodnoty, které jsou uvedeny v tabulce 6 byly získány bezprostředně po odfiltrování sraženiny barnatých humátů. Výsledky z tabulky 7 pocházejí z měření, kdy byl poslední krok (titrace zbytkového $\text{Ba}(\text{OH})_2$ provedena s 14-ti denním odstupem. Výsledky z tabulky 8 pocházejí z měření, kdy předposlední krok (filtrace sraženiny barnatých humátů) byla provedena s 14-ti denním odstupem. Vzhledem k tomu, že $\text{Ba}(\text{OH})_2$ reaguje s atmosférickým CO_2 , mohli bychom předpokládat, že měření, které mělo dvoutýdenní časový odstup není spolehlivé a tyto výsledky nebudeme brát v úvahu. Toto by také mohlo vysvětlovat velké rozdíly mezi jednotlivými sadami. Na druhou stranu, vzorky byly po celých 14 dní umístěny v Erlenmayerových baňkách opatřených zábrusovou zátkou a vliv atmosférického CO_2 by měl být snížen. Navíc spotřeby HCl na slepé vzorky jsou u všech tří sad totožné.

Přestože hodnoty kyselosti z tabulek 6 – 8 vzájemně příliš nekorelují, je vidět, že roztoky, které dva týdny stály, mají vyšší hodnotu kyselosti v porovnání se vzorky stanovenými ihned. Kdyby $\text{Ba}(\text{OH})_2$ reagovalo s CO_2 vedlo by to k poklesu $\text{Ba}(\text{OH})_2$ v roztocích a naměřené hodnoty kyselosti by měly být nižší v roztocích, které déle stály. Pozorovaný trend je však opačný. Zřejmě tedy dochází k nějakým reakcím mezi $\text{Ba}(\text{OH})_2$ a huminovými kyselinami rozpuštěnými ve filtrátu. Tyto reakce však probíhají pomaleji než neutralizace kyselých skupin a jejich vliv se projeví až v řádu dní či týdnů. Může se jednat např. o hydrolyzu esterových a laktonových vazeb, při nichž se tvoří další karboxylové skupiny.

Rozdíly mezi výsledky uvedenými v tabulkách 7 a 8 rovněž ukazují omezenou reprodukovatelnost barytové metody. Hodnoty celkové kyselosti vychází v okolí hodnoty 1 000 cmol/kg a neukazují nám žádné rozdíly mezi našimi různými vzorky huminových kyselin.

x – množství kyselých skupin

Tabulka 6 Množství kyselých skupin (titrace ihned)

vzorek	m_{vzorku} [mg]	c_{HCl} [$\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$]	$V_{\text{slepý vzorek}}$ [ml]	V_{vzorek} [ml]	ΔV [ml]	x [$\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$]
Lignit (A)	100,0	0,122 1	34,2	26,5	7,8	940
Lignit (B)	100,7	0,122 1	34,2	27,0	7,2	875
Rašelina (A)	102,9	0,122 1	34,2	26,0	8,2	975
Rašelina (B)	104,7	0,122 1	34,2	25,4	8,8	1 030

Tabulka 7 Množství kyselých skupin (filtrát byl ponechán 14 dní v Erlenmayerové baňce a poté byl titrován)

vzorek	m_{vzorku} [mg]	c_{HCl} [$\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$]	$V_{\text{slepý vzorek}}$ [ml]	V_{vzorek} [ml]	ΔV [ml]	x [$\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$]
Lignit (A)	101,7	0,122 1	34,3	20,9	13,4	1 610
Lignit (B)	108,4	0,122 1	34,3	23,6	10,7	1 210
Rašelina (A)	111,3	0,122 1	34,3	22,4	11,9	1 310
Rašelina (B)	112,7	0,122 1	34,3	22,2	12,1	1 311

Tabulka 8 Množství kyselých skupin (vzorek byl ponechán 14 dní v Erlenmayerové baňce potom byl přefiltrován a titrován)

vzorek	m_{vzorku} [mg]	c_{HCl} [mol·l ⁻¹]	$V_{\text{slepý vzorek}}$ [ml]	V_{vzorek} [ml]	ΔV [ml]	x [cmol·kg ⁻¹]
Lignit (A)	130,0	0,122 1	34,3	21,6	12,7	1 190
Lignit (B)	107,2	0,122 1	34,3	22,5	11,8	1 350
Rašelina (A)	130,2	0,122 1	34,3	21,2	13,1	1 230
Rašelina (B)	99,99	0,122 1	34,3	24,4	9,9	1 220

4.2 Acetátová metoda

Při této metodě se stanují jako kyselé skupiny jenom karboxylové skupiny. Proto je obsah nižší než při stanovování v barytové metodě. V tabulce 9 vidíme vypočítané množství kyselých skupin pro jednotlivé huminové látky. Z výsledků je patrné, že větší množství karboxylových skupin je obsaženo v rašelinových látkách. To souvisí se skutečností, že rašelina představuje mladší materiál s nižším stupněm prouhelnatění.

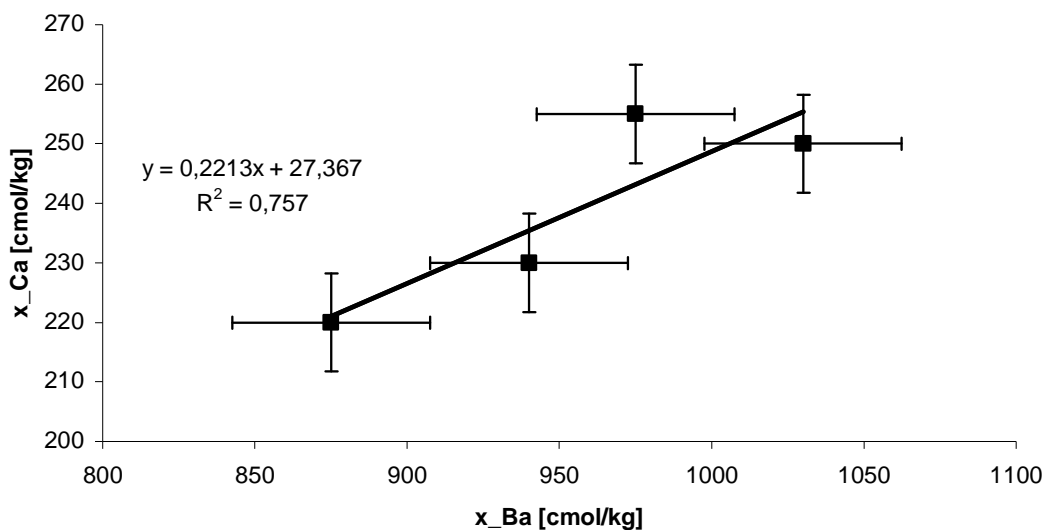
Vzhledem k tomu, že stanovení acetátovou metodou jsme byli schopni provést opakovaně podle standardního předpisu, můžeme vidět, že rozpětí v obsahu COOH skupin mezi dvěma stanoveními stejného vzorku se pohybuje v řádu desítek cmol/kg.

Obsah COOH skupin je zhruba čtvrtinový v porovnání s celkovou kyselostí. V rámci skupiny našich 4 vzorků dokonce vykazují mírnou pozitivní korelaci, nicméně s ohledem na velikost chybových úseček a poměrně velkou podobnost našich vzorků je předčasné činit jakékoli závěry. Podobně jako u barytové metody mohou být výsledky acetátové metody ovlivněny přítomností zbytků HCl používané při izolaci huminových kyselin. Toto ovlivnění by bylo možné odstranit pomocí gravimetrického stanovení Ba či Ca iontů ve filtrátu ve formě síranů, respektive štavelanu. S ohledem na technické problémy jsme toto stanovení však neprováděli.

Tabulka 9 Množství karboxylových skupin

vzorek	m_{vzorku} [mg]	c_{NaOH} [mol·l ⁻¹]	V_{vzorek} [ml]	$V_{\text{slepý vzorek}}$ [ml]	ΔV [ml]	x [cmol·kg ⁻¹]	$x_{\text{prům.}}$ [cmol·kg ⁻¹]
Lignit (A)	105,8	0,102 7	2,6	0,2	2,4	228	230
Lignit (B)	102,6	0,102 7	2,5	0,2	2,3	225	
Rašelina (A)	108,9	0,102 7	2,5	0,2	2,3	214	255
	104,2	0,102 7	2,7	0,2	2,5	241	
Rašelina (B)	104,9	0,102 7	2,9	0,2	2,7	266	250
	103,1	0,102 7	2,5	0,2	2,3	224	
	103,5	0,102 7	2,9	0,2	2,7	267	

Porovnání acetátové a barytové metody

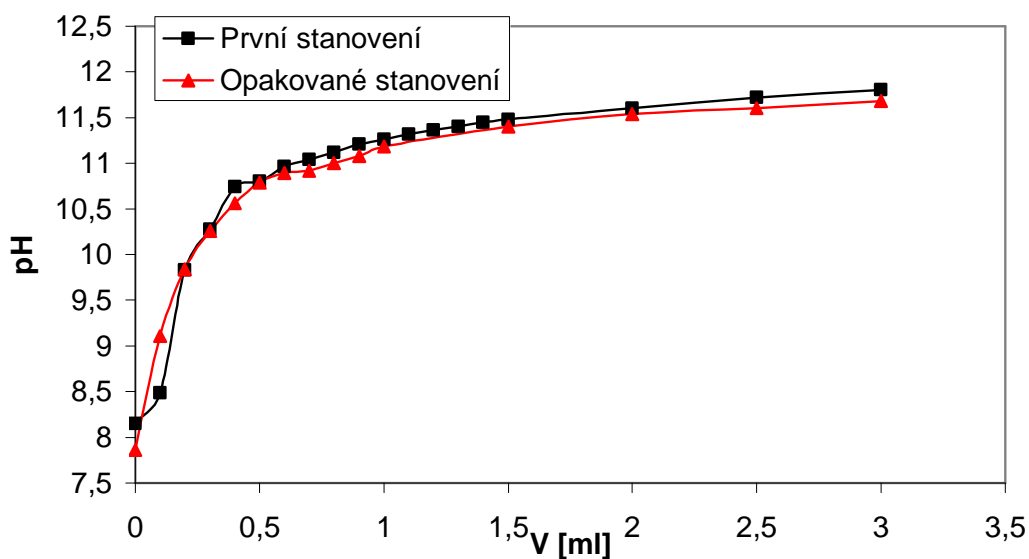


Obrázek 13 Porovnání výsledků barytové a acetátové metody

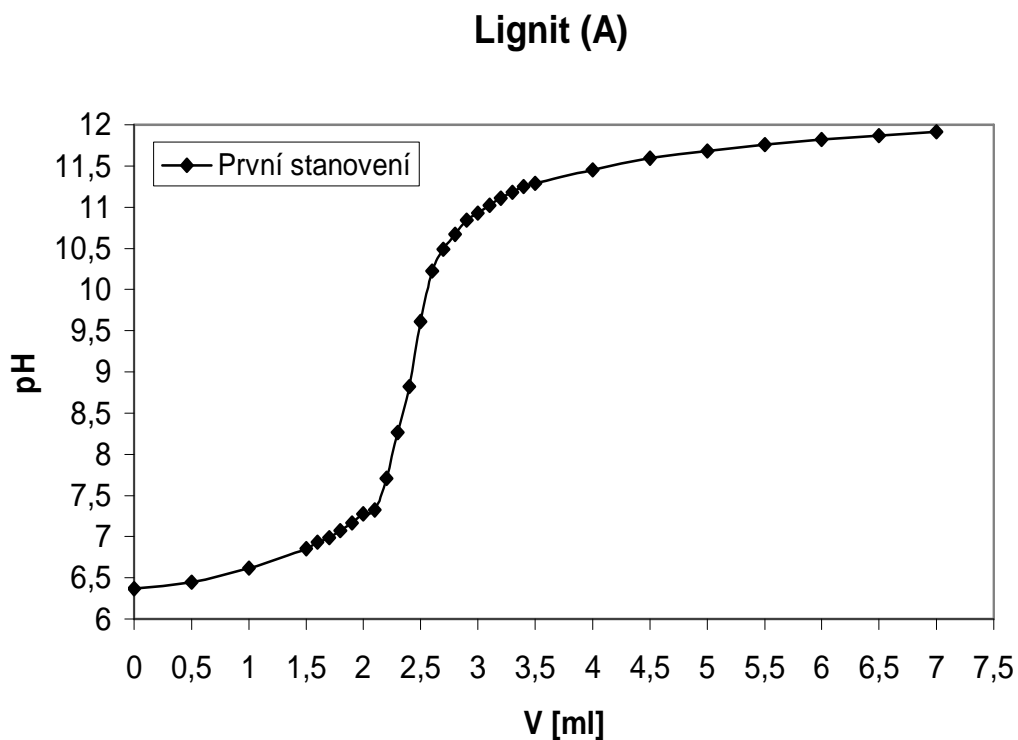
Na obrázku 13 můžeme pozorovat trend, který nám ukazuje že se zvyšujícím se množstvím kyselých skupin u barytové metody se zvyšuje i množství karboxylových skupin u acetátové metody. Ale nic víc z toho usoudit nemůžeme.

Na obrázku 14 můžeme vidět potenciometrické stanovení slepého vzorku. Obrázek 15 obsahuje jenom jednu potenciometrickou křivku, protože z důvodů nevhodného nastavení pH-metru při prvním stanovení jsme nezískali spolehlivá data. A u obrázku 16, 17, 18 jsou potenciometrické křivky jednotlivých vzorků. Rozdíl ve křivkách je způsoben manuální titrací, rozdílnosti navážek a nepřesným odečítáním jak pH tak objemu, který byl přidáván.

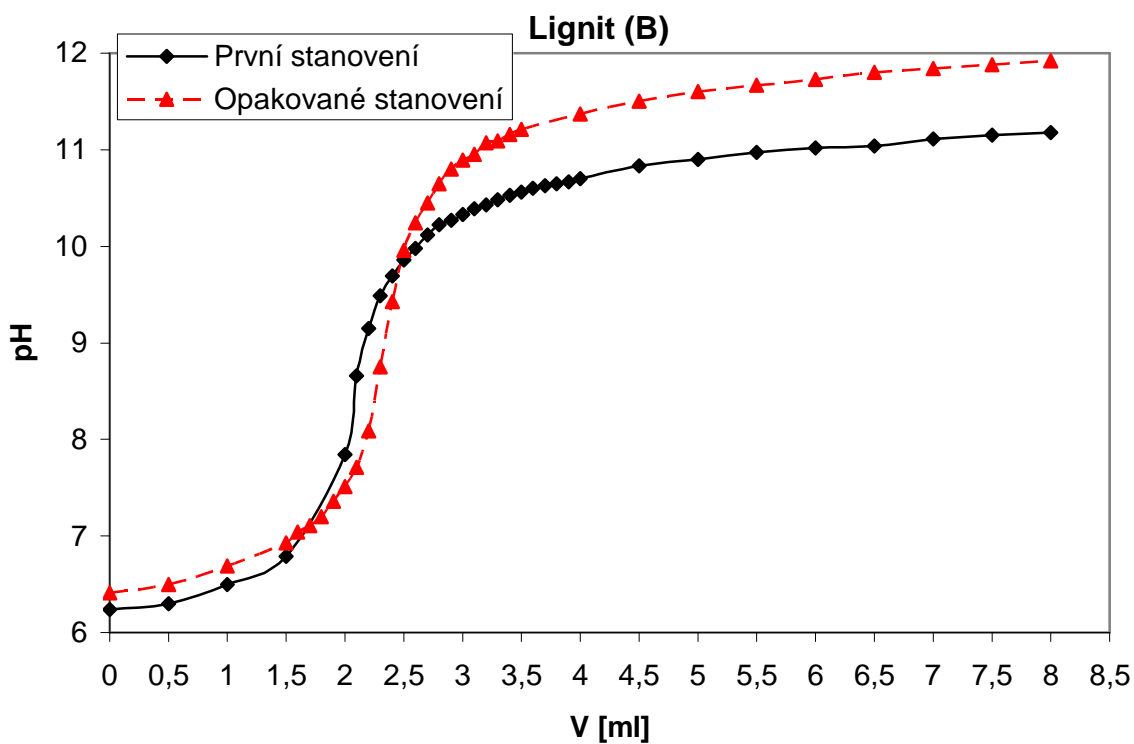
Slepý vzorek



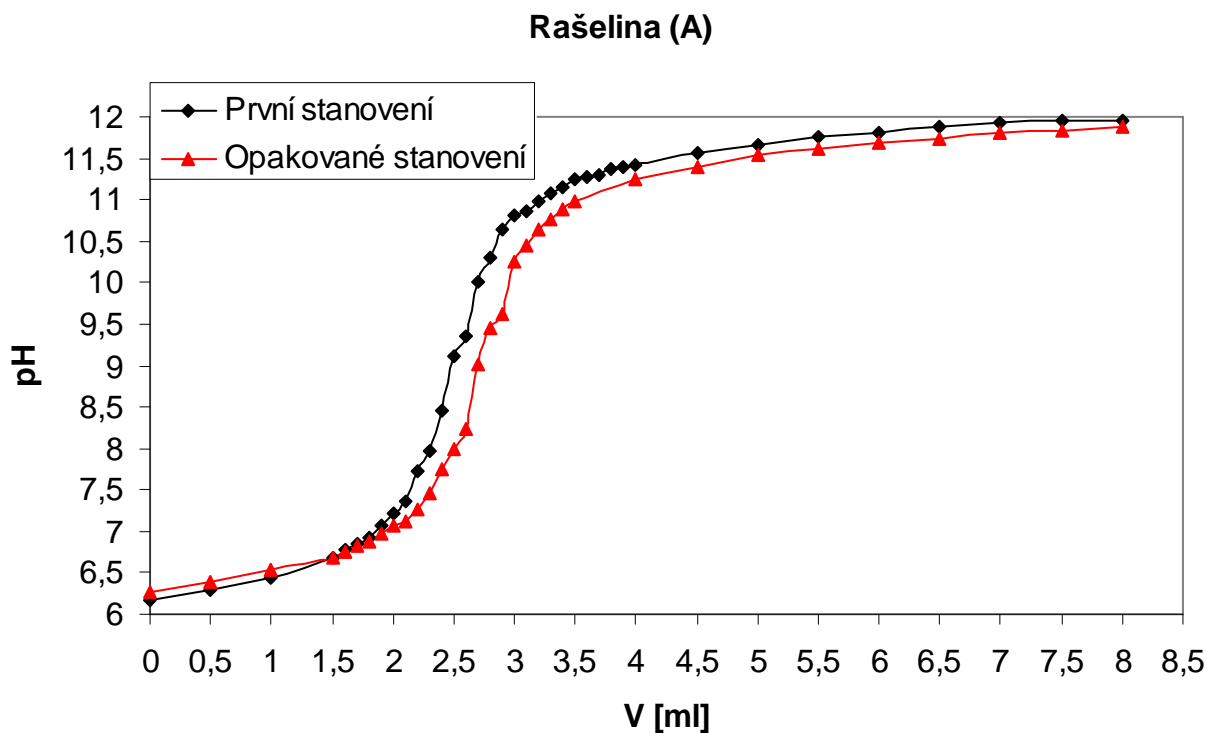
Obrázek 14 Titrace slepého vzorku



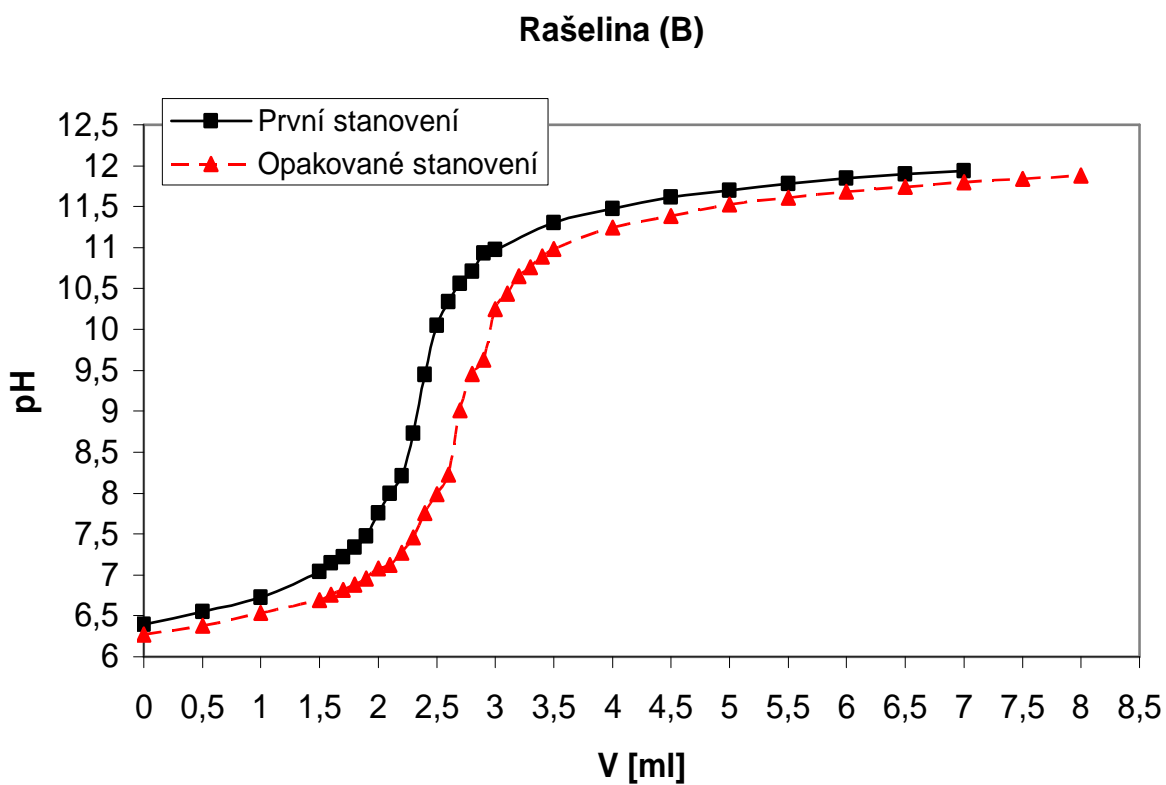
Obrázek 15 Potenciometrické stanovení množství huminových látek izolovaných z lignitu první metodou (extrakce za laboratorní teploty po dobu 24 h)



Obrázek 16 Potenciometrické stanovení množství huminových látek izolovaných z lignitu druhou metodou (extrakce při teplotě 50 – 80 °C po dobu dvou hodin)



Obrázek 17 Potenciometrické stanovení množství huminových látek izolovaných z rašeliny první metodou



Obrázek 18 Potenciometrické stanovení množství huminových látek izolovaných z rašeliny druhou metodou

4.3 R. von Wandruszkova metoda

Při této metodě se stavuje obsah COOH skupin ve vzorku. Množství karboxylových skupin je uvedeno v tabulce 10. Vypočtené množství při von Wandruszkově metodě je značně nižší od hodnot získaných pomocí acetátové či barytové metody. V tabulce 10 vidíme, že podle této metody je obsah kyselých skupin větší v lignitu než v rašelině.

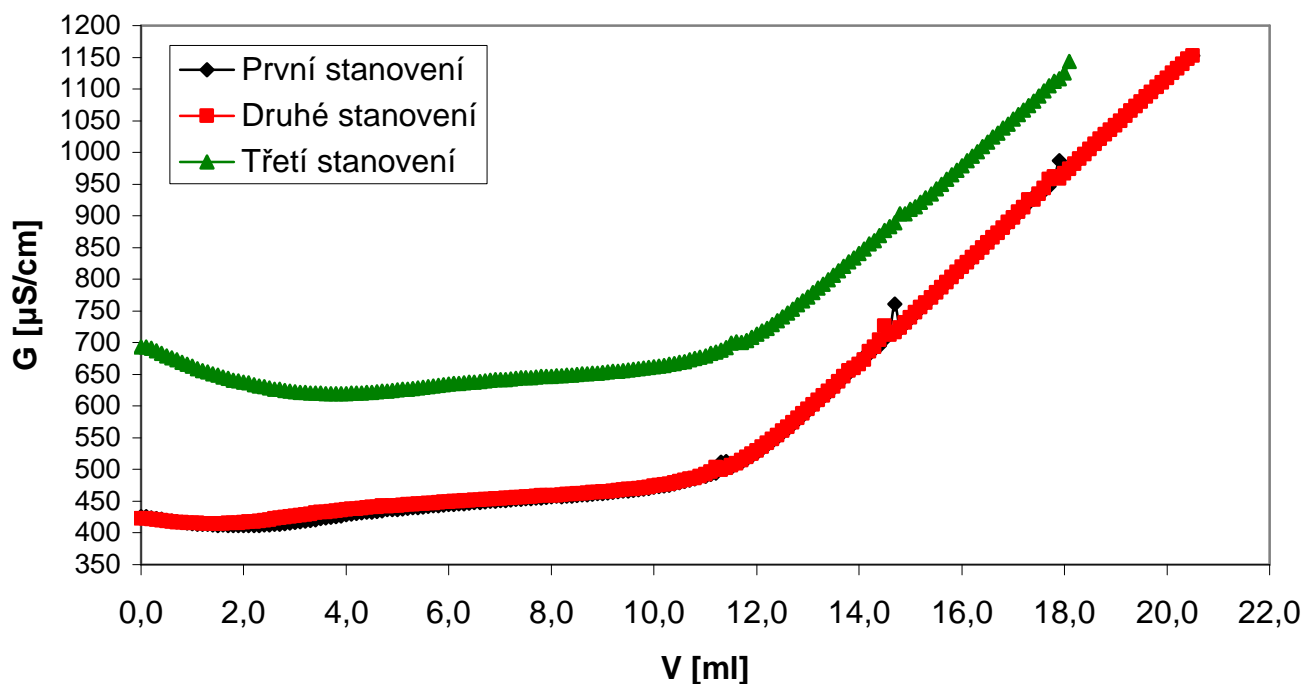
Tabulka 10 Množství karboxylových skupin

vzorek	m vzorku [mg]	c_{HCl} [mol/l]	V slepý vzorek [ml]	V vzorek [ml]	ΔV [ml]	x [cmol·kg ⁻¹]	$x_{\text{prům.}}$ [cmol·kg ⁻¹]
Lignit (A)	84,9	0,014 9	2,4	10,0	7,6	133	136
	87,32	0,014 9	1,9	10,2	8,3	141	
	87,47	0,014 9	3,1	11,0	7,9	134	
Lignit (B)	80,86	0,014 9	4,5	12,8	8,3	153	150
	84,69	0,014 9	4,7	12,7	8	141	
	84,88	0,014 9	3,9	12,9	9	158	
Rašelina (A)	80,14	0,014 9	3,8	11,4	7,6	141	126
	90,67	0,014 9	3,6	10,4	6,8	112	
Rašelina (B)	82,17	0,014 9	3,4	10,0	6,6	120	122
	84,30	0,014 9	3,6	10,1	6,5	115	
	83,45	0,014 9	3,0	10,4	7,4	132	

U obrázků 20 a 22 vidíme, že křivky ze všech tří titrací mají téměř totožný průběh. U obrázku 19 je jedna křivka výrazně posunuta k vyšším hodnotám vodivosti. Nicméně šířka plata rozhodující pro výpočet obsahu kyselých skupin je obdobná jako u zbývajících dvou stanovení a i vypočtená kyselost se příliš neliší. Pravděpodobným zdůvodněním této odchylky může být nepřesnost při práci (např. místo destilované vody mohl být vzorek omylem rozpuštěn v roztoku NaCl). U obrázku 21 se odchyluje titrace druhého vzorku. To je zřejmě způsobeno tím, že tento vzorek byl míchán přes noc a titrace provedena až druhý den. Je možné, že podobně jako u barytové metody i v tomto případě dochází k postupné změně vzorku. Hodnota obsahu kyselých skupin z tohoto stanovení nebyla do tabulky zahrnuta.

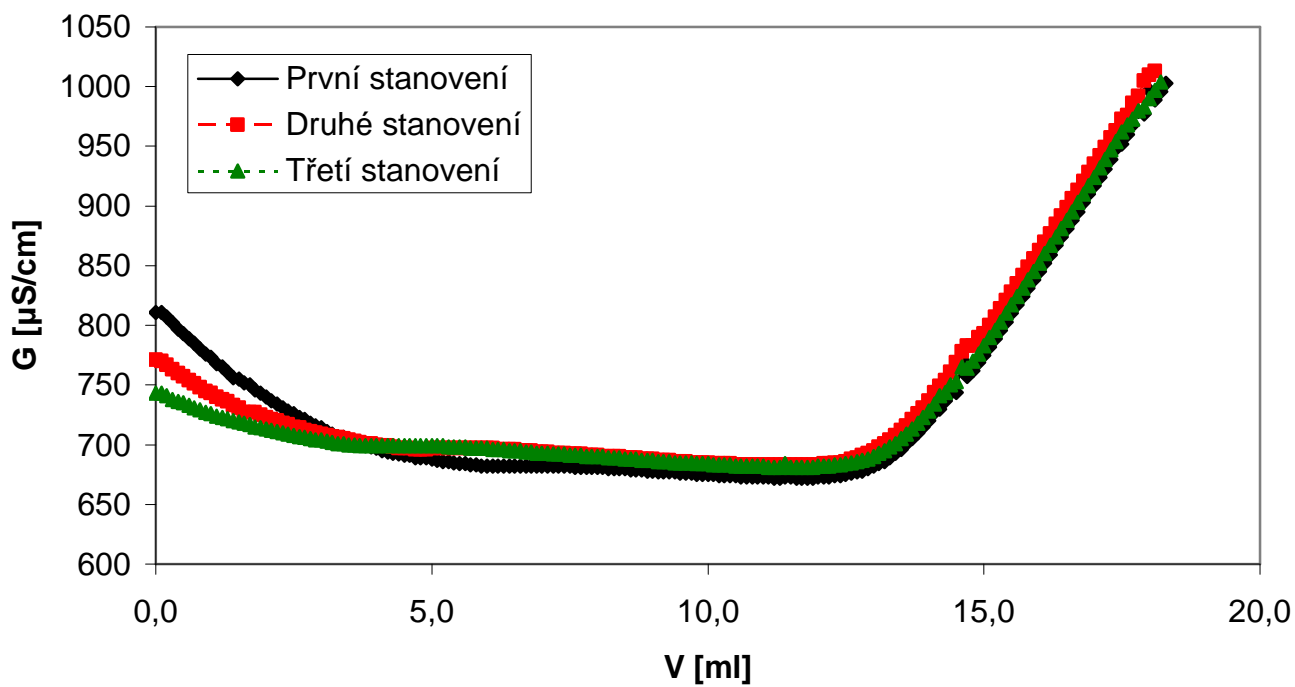
Rozdíl mezi jednotlivými metodami mohl být způsoben různými aspekty. Důležitým aspektem mohla být koncentrace. U Wandruszkovy metody jsme používali koncentraci látky, která byla nižší než koncentrace u dalších dvou stanovení. Taky na tom mohl mít vliv čas. U barytové a acetátové metody byly vzorky ponechány přes noc a pak se titrovaly, zatímco u Wandruszkovy metody byl vzorek míchán asi 90 minut. I když jak můžeme vidět na obrázku 21, kdy byl vzorek míchán přes noc, nemůžeme určit množství kyselých skupin.

Lignit (A)



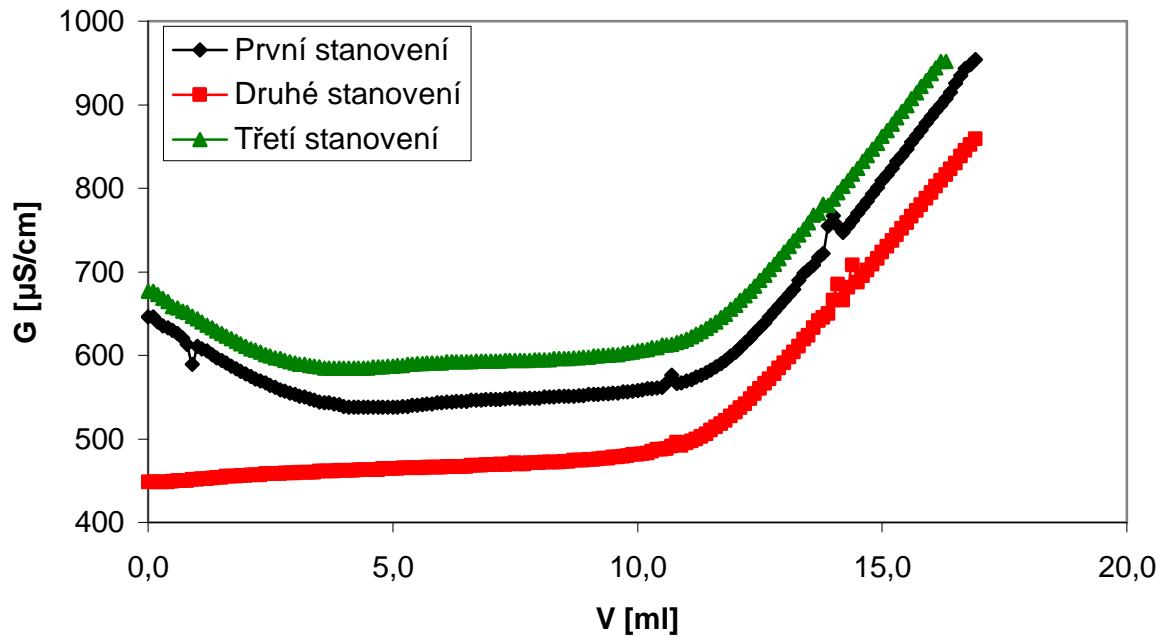
Obrázek 19 *Konduktometrické stanovení množství huminových látek izolovaných z lignitu první metodou*

Lignit (B)



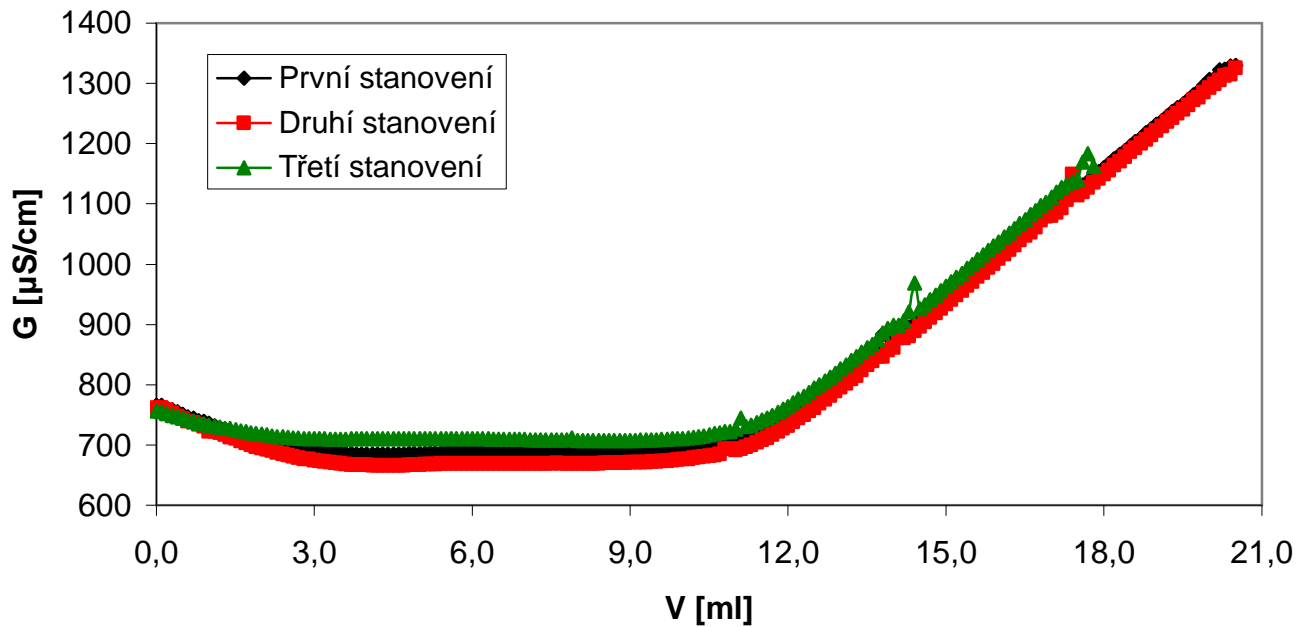
Obrázek 20 *Konduktometrické stanovení množství huminových látek izolovaných z lignitu druhou metodou*

Rašelina (A)



Obrázek 21 *Konduktometrické stanovení množství huminových látek izolovaných z rašeliny první metodou*

Rašelina (B)



Obrázek 22 *Konduktometrické stanovení množství huminových látek izolovaných z rašeliny druhou metodou*

5 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo stanovit obsah kyselých skupin v huminových látkách, které byly izolovány z lignitu a rašeliny extrakcí při laboratorní teplotě po dobu 24 hodin a při teplotě 50 - 80 °C po dobu dvou hodin. Porovnávaly jsme tři metody, kterými lze stanovit obsah kyselých skupin v huminových látkách. Byla to metoda barytová, acetátová a von Wandruszkova. Při barytové metodě jsme stanovili celkový obsah kyselých skupin (zejména karboxylů a enolických hydroxylů) v huminových látkách. Obsah kyselých skupin nám vyšel okolo 1 000 cmol/kg. Hodnoty kyselých skupin mezi látkami izolovanými z lignitu a rašeliny a hodnoty mezi našimi dvěma postupy se příliš nelišily. Při stanovování karboxylových skupin pomocí acetátové metody nám množství karboxylových vyšlo okolo 250 cmol/kg. Vyšší hodnoty nám vycházely u huminových látek izolovaných z rašeliny, i když rozdíly ani tady nejsou moc velké. Při použití von Wandruszkovy metody nám hodnoty vyšly desetinné oproti barytové metodě a poloviční oproti acetátové metodě. Tato metoda stanovuje vyšší obsah karboxylových skupin v huminových látkách izolovaných z lignitu, což je v nesouladu s výsledky získanými pomocí barytové či acetátové metody.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] Veselá, L., Kubal, M., Kozler, J., Innemanová, P.: Struktura a vlastnosti přírodních huminových látek typu oxihumolitu. *Chemické listy*, 2005, roč. 99, s. 711-717
- [2] Senesi, N., Loffredo, E.: The Chemistry of Soil organic Matter, Spárka, Soil physical Chemistry. *CRC Press, Boca Raton*, 1999, s. 242-345.
- [3] Kučeřík, J.: *Study on lignite humic acids* Ph.D. thesis. Brno: VUT, FCH, 2003.
- [4] Pena-Mendez, E. M., Havel, J., Patočka, J.: Humic substance – compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine, *Journal of chemical education*, 2001, roč. 78, č. 12, s. 1609-1613
- [5] Skybová, M., *Humínové kyseliny – přínos pro environmentální výzkum*, Acta Montanistica Slovaca, 2006, vol. 11, s. 362-366
- [6] Avis, G., Ghabbour, E.A.: *Humic Substance, Structures, Properties and Uses*. Cambridge: The Royal Society of Chemistry, 1999
- [7] Gaffney, J. S., Marley, N. A., Clark, S. B.: *Humic and Fulvic Acids. Isolation Structure and Environmental Role. Development from a symposium sponsored by the Division of Industrial and Engineering Chemistry*, Inc. 1st ed. Washington, DC: American Society, 1996
- [8] Šarapatka B.: *Pedologie*, Vydavatelství Univerzity Palackého, Olomouc 1996
- [9] Alvarez-Puebla, R. A., Goulet, P. J. G., Garrido, J. J.: Charakterization of the porous structure of different humic fractions, *Colloids and surfaces*, 2005, roč. 256, s. 129-135
- [10] Mlčoch, T.: *Fluorescence huminových kyselin 3D excitační emisní metodou*, Diplomová práce, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Brno 2008
- [11] Cooper, W. J., Zika, R. G., Pastane, R. G., Fischer, A. M., *Aquatic Humic Substance: Influence on Fate and Treatment of Pollutants*; P. MacCarthy, I.H. Suffet Eds.; Advanced in Chemistry Series 219, American Chemical Society: Washington, DC, 1989, s. 333-362
- [12] Ertel J. R., Hedges J. I., *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1985, s. 48
- [13] Kovář, J.: *Využití termoanalytických metod při studii lignitických huminových látek*, Diplomová práce, Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Brno 2003
- [14] Stevenson, F. J.: Role and functional of humus in soil with emphasis in adsorption of herbicides and chelation of micronutrients, *Bioscience*, 1972, vol. 22, s. 643
- [15] Wilson, M. A., Vassallo, M. A., Purdie, E. M., Reuter, J. H.: *Analytical Chem.* 59.551 (1987)
- [16] Andreu, F.: *Humic Substance in Terrestrial Ecosystems*, 1996, s. 45-100
- [17] Pekař, M., Klučáková, M.: Alternativní, neenergetické aplikace lignitu. *CHEMagazín*, 2003, roč. 13, č. 1, s. 8-10
- [18] Mikulášková, B., Lapčík, B., Mašek, I.: Lignit – struktura, vlastnosti a použití. *Chemické listy*, 1997, roč. 91, s. 160-168

- [19] Jirásek, J., Sivek, M. Ložiska nerostů:multimediální učební text. Dostupný z z www:
<http://geologie.vsb.cz/loziska/loziska/energysur/lignit.html>, citováno 22. 2. 2009.
- [20] Kapřík L., Mašek I., Havlova J., Beran Z., Matoušek J., Veselý M., Šimek Z., Kapřík L. Jr., Mikulášková B., Komanová R., Hrabovská J., Voznica P., Pekař M.: *Souhrnná zpráva o vývoji nekonvenčních aplikací jihomoravských lignitů*. VUT, Brno 1994
- [21] Spirhanzl, J.:*Rašelina:Její vznik, těžba a využití*, Přírodovědecké nakladatelství, 1951, str. 355
- [22] Zaccone, C., Coccozza, C., D’Orazio, V., Plaza, C., Cheburkin, A., Milano, T. M.: Influence of extractant on duality and trace elements kontent of peat hubic acids. *Chemisphere*, 2007, vol. 73, s. 820-830
- [23] Peuravuori, J., Žbáňková, P., Pihlajam K.: Aspects of structural features in lignite and lignite hubic acids, *Fuel Processing Technology*, 2006, vol 87, s. 829-839
- [24] Clapp, C.E., Gates, M. H. B.,Simpson, A.J, Kingery, W.J.: *Chemistry of soil organic matter. V: Chemical processes in soils*, Soil Science Society of America, 2005, SSSA Book Series, č. 8
- [25] Piccolo, A.: The supramolecular structure of hubic substance, *Soil Science*, 2001, roč. 166, č.11, s. 810-832
- [26] Chulte, H. R., Schnitzer, M.: Tree-dimensional models for hmbic acids and soil organic matter, *Naturwissenschaften*, 1995, roč 82, s. 487-498
- [27] Calace, N., Petronio, B.M., Persia, S., Pietriletti, M., Pacioni, D.: A new analytical approach for humin determination in sediments and soil, *Talanta*, 2007, roč. 71, s. 1444-1448
- [28] Bartoš, M., Šrámková, J., Staněk, V., Renger, F., Kalous, J.:*Analytická chemie I*, Pardubice:FCHT, 2004, s. 9 – 65
- [29] Barek, J., Opekar, F., Štulík, K.:*Elektroanalytická chemie*, Praha: Univerzita Karlova, 2005 s. 47 – 69
- [30] Stevenson, J. F.: *Humus chemistry*, Canada, 1994 str.212 - 219
- [31] C. Varadachari and K. Host, *Plant Soil*, 1984, 305, 77
- [32] J. A. Leenheer and T. I. Noyes,“Derivatization of Humic Substances for Structural studies“, in M. H. B. Hayes, P. MacCarthy, R. L. Malcolm, and R. S. Swift, Eds., *Humic Substance II:In Search of Structure*, John Willey, New York, 1989, str. 257-289
- [33] V. C. Farmer and R. I. Kortison, *Sci. Proc. Roy. Dublin Soc., Ser. A.*, 1960, 1, 85
- [34] Association of Offical Agricultural Chemists (AOAC), *Methods of Analysis*, Banta, Menasha, Wisconsin, 1955
- [35] P Dubach, N. C. Mehta, T. Jakab, F. Martin and N. Roulet, *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1964, 28, 1567
- [36] F. Martin, P. Dubach, N. C. Mehta and H. Deuel, *Z. Pfl. Dung. Bodenk*, 1963, 183, 27
- [37] J. R. Wright and M. Schnitzer, *Trans. 7th Intern. Congr. Soil Sci.*, 1960, 2, 120

- [38] K. M. Holtzclaw and G. Sposito, *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, 1979, 43, 318
- [39] Rigole, J., Wandruszka R.: Conductometric Characterization of dissolved humic materials, *Talanta*, 2002, roč. 57, s. 519-526