



**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**

## **VYUŽITÍ DIFÚZNÍCH TECHNIK PŘI STUDIU REAKTIVITY BIOKOLOIDŮ**

**UTILIZATION OF DIFFUSIVE TECHNIQUES IN STUDY ON REACTIVITY OF BIOCOLLOIDS**

**AUTOREFERÁT DIZERTAČNÍ PRÁCE**

**AUTOR PRÁCE**  
**VEDOUCÍ PRÁCE**

**Ing. MICHAL KALINA**  
**doc. Ing. MARTINA KLUČÁKOVÁ, Ph.D.**

**BRNO 2015**

## **ABSTRAKT**

Hlavní náplní této dizertační práce je využití jednoduchých difúzních technik pro studium transportu měďnatých iontů v systémech obsahujících huminové kyseliny s ohledem na další vlivy, které mohou na tento děj působit (struktura difúzního prostředí, interakce mezi transportovanou látkou a difúzním prostředím, selektivní blokáce vazebných míst huminových kyselin). V experimentální části práce byly nejprve charakterizovány použité materiály (huminové kyseliny, huminový sol a huminový gel). Klíčovou oblast experimentální části práce představuje výběr a optimalizace jednoduchých laboratorních technik vhodných pro studium problematiky transportu kovových iontů v prostředí obsahující huminové kyseliny, s přihlédnutím na vzájemnou interakci komponent v systému. Získané difúzní charakteristiky byly v práci rovněž srovnány s daty stanovenými jednoduchými sorpčními experimenty. Dílčím úkolem experimentální části práce bylo rovněž posouzení působení základních fyzikálně-chemických parametrů studovaných materiálů na transportní jevy.

## **ABSTRACT**

The main aim of this thesis is the utilization of simple diffusion techniques for the study on transport properties of copper ions in the systems containing humic acids with respect to the other parameters, which can affect the process (the structure of diffusion environment, the interactions between transported specie and diffusion matrices, selective blocking of binding sites of humic acids). The first part of experimental works was focused on characterization of studied materials (humic acids, humic sol and humic hydrogel). The main part of the thesis was dealing with the optimization of simple diffusion techniques, which were suitable for the study on transport of copper ions in matrices containing humic acids, taking into account the mutual interactions between studied components in the system. The obtained diffusion characteristics were compared to the data determined using sorption experiments. Consequently, the minor goal of the experimental works of this thesis was also the assessment of the influence of basic physico-chemical parameters of studied materials on transport phenomenon.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

difúze, efektivní difúzní koeficient, extrakce, frakcionace, huminové kyseliny, hydrogel, methylace, síla vazby

## **KEYWORDS**

diffusion, effective diffusion coefficient, extraction, fractionation, humic acids, hydrogel, methylation, bond strength

## **MÍSTO ULOŽENÍ PRÁCE**

Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie, Purkyňova 464/118, 612 00 Brno

# OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY</b> .....	<b>5</b>
2.1	Huminové látky .....	5
2.2	Struktura a modifikace struktury huminových kyselin .....	5
2.2.1	Velikost částic huminových kyselin .....	5
2.2.2	Modifikace huminových kyselin.....	6
2.3	Studium reaktivity huminových kyselin.....	7
2.3.1	Interakce huminových kyselin s kovy.....	7
2.3.2	Difúze v huminových gelech .....	7
2.3.3	Frakční extrakce .....	9
<b>3</b>	<b>CÍLE DIZERTAČNÍ PRÁCE</b> .....	<b>10</b>
<b>4</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
4.1	Huminové kyseliny.....	11
4.2	Modifikace huminových kyselin .....	11
4.3	Huminový gel .....	11
4.4	Charakterizace huminových kyselin a huminového gelu .....	11
4.5	Studium reaktivity huminových kyselin.....	11
4.5.1	Vybraná laboratorní uspořádání experimentů .....	12
4.5.2	Vliv obsahu funkčních skupin huminových kyselin .....	13
4.5.3	Studium síly vazby mezi kovy a huminovými kyselinami .....	13
4.6	Studium transportu organické hmoty .....	13
<b>5</b>	<b>DISKUZE NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH VÝSLEDKŮ</b> .....	<b>14</b>
5.1	Studium reaktivity huminových kyselin.....	14
5.1.1	Sorpční experimenty .....	14
5.1.2	Vybrané jednoduché difúzní experimenty .....	15
5.1.3	Vliv obsahu funkčních skupin huminových kyselin .....	22
5.1.4	Studium síly vazby mezi kovy a huminovými kyselinami .....	23
5.2	Studium transportu organické hmoty .....	26
<b>6</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>28</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURA</b> .....	<b>30</b>
<b>8</b>	<b>ŽIVOTOPIS</b> .....	<b>34</b>

# 1 ÚVOD

Huminové látky (HL) jsou přírodní látky vyskytující se v půdách, kaustobiolitech (rašelina, hnědé uhlí, lignit, leonardit...), vodách a sedimentech. Jde o nejvíce rozšířené organické látky na zemském povrchu. Vznikají chemickou a biologickou přeměnou organické hmoty a činností mikroorganismů. Zajímavé vlastnosti humusu a potažmo tedy i huminových látek, jakožto jeho hlavní složky, byly známy hlavně zemědělcům už dávno v historii. Přestože jsou tyto pozoruhodné přírodní látky předmětem soustavného výzkumu již po mnoho desetiletí, stále nejsou informace ve všech oblastech dostačující. Právě jejich výhodně využitelné chemické a fyzikální vlastnosti a bohaté zásoby předurčují vysoký aplikační potenciál těchto látek v celé řadě oborů.

Huminové kyseliny mají přirozenou schopnost vázat různorodé látky. Mohou interagovat s hydrofobními polutanty, vodou, tenzidy, kationaktivními barvivy i kovy. Právě oblast interakcí huminových kyselin s kovy spolu se studiem struktury těchto pozoruhodných přírodních látek představují zřejmě dvě nejrozsáhlejší části huminového výzkumu.

Lepší pochopení funkcí huminových kyselin v přírodě i jejich potenciálních aplikací je limitováno nedostatečnou znalostí reaktivity a s ní související struktury těchto látek. Jeden z možných způsobů studia této problematiky je spojen s využitím transportních experimentů, z nichž nejvýhodněji se jeví aplikace jednoduchých difúzních metod. Difúzní experimenty zvolených aktivních látek v huminových maticích nám poskytují základní porovnávací parametry charakterizující mobilitu těchto látek. Získané výsledky charakterizují difuzivitu studovaných látek ve vztahu s jejich reaktivitou. Je tedy možné simulovat přírodní děje a studovat reaktivitu látek v jejich přirozené formě, a zároveň sledovat jak látky migrují a vzájemně reagují v časovém souběhu. Jako velmi výhodné se pro transportní experimenty jeví využití gelové formy huminových kyselin, kterou lze jednoduše připravit, charakterizovat a rovněž představuje jednu z koloidních forem, ve které se huminové kyseliny v přírodě vyskytují. Gelová forma huminových kyselin také nabízí zajímavý materiál z hlediska aplikačního. Využití reaktivních biopolymerů v oblasti nosičů s řízeným uvolňováním látek je v posledních letech těžištěm zájmu především ve farmacii a biomedicině. Hydrogelová forma huminových kyselin navíc nabízí své uplatnění v oblasti agrochemie a v environmentální sféře.

## 2 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

### 2.1 Huminové látky

Huminové látky (HL) jsou amorfni, koloidni, kyselé, polydisperzni látky [1]. Na základě acidobazické rozpustnosti se HL dělí na *fulvinové kyseliny* (FK), které jsou rozpustné v kyselých i zásaditých vodných roztocích. Druhou frakci představují *humínové kyseliny* (HK), které jsou rozpustné v zásaditých roztocích, po jejich okyselení na pH nižší než 2 se z roztoku vysráží. *Huminy* (HU) představují poslední frakci, která je nerozpustná ani v kyselých ani v zásaditých roztocích [2]. Jednotlivé základní frakce HL se od sebe liší na první pohled jednak barvou, dále molekulovou hmotností, rozpustností, elementárním složením a sorpční schopností pro další látky [3, 4]. Nízkomolekulární FK obsahují více kyslíku vázaného ve funkčních skupinách, což způsobuje rovněž i jejich vyšší reaktivitu. Naopak s rostoucí molekulovou hmotností, klesá množství kyslíkatých funkčních skupin a roste aromatický charakter. [2, 3].

S reaktivitou HL souvisí rovněž i jejich vazebné schopnosti. V přírodě často dochází k tvorbě interakcí organické hmoty (humínových kyselin) s dalšími zejména anorganickými konstituenty jako jsou jíly, oxidy a oxohydroxidy kovů, vápence a jiné horniny, ale také s živinami a toxickými látkami [5]. Huminové kyseliny jakožto hlavní reaktivní část organické hmoty tak jsou zodpovědné za transformaci, reaktivitu a transportní jevy probíhající v těchto přírodních matricích. Právě vysoká vazebná schopnost pro různorodé látky (kovy, hydrofobní látky, surfaktanty, voda...) spolu s výhodně využitelnými fyzikálními a chemickými vlastnostmi a bohatými zásobami předurčuje vysoký aplikační potenciál HK v celé řadě oborů.

### 2.2 Struktura a modifikace struktury huminových kyselin

Molekulová hmotnost, velikost a tvar částic představují stěžejní parametry umožňující hlubší studium a popis průměrných molekulových struktur HK a jejich propojení s daty ze základních elementárních analýz a stanovení obsahu funkčních skupin. Tyto parametry rovněž slouží k převodu hmotnostní koncentrace na molární, což je esenciální zejména pro užití ve stechiometrických výpočtech, nebo také umožňují vzájemné porovnání HK získaných z různých zdrojů. Mohou být rovněž nápomocné při důkladnějším popisu a pochopení interakcí mezi organickými složkami v přírodních matricích s dalšími látkami jako jsou jíly, kovové ionty, organické a anorganické nečistoty a mikroorganismy [3]. V těchto oblastech studia huminových kyselin představuje největší překážku koloidní, polyelektrolytová, polydisperzní a fyzikálně a chemicky heterogenní povaha huminového materiálu.

#### 2.2.1 Velikost částic huminových kyselin

Velikost molekul nebo agregátů molekul huminových kyselin představuje první významný parametr, na který je třeba se zaměřit. K určení velikosti částic v disperzních systémech lze využít různé experimentální metodiky jako je např. SEC (velikostně vylučovací chromatografie) [6, 7], TEM (transmisní elektronová mikroskopie) [8, 9], ultrafiltrace [10, 11] techniky rozptylu světla [7, 12–14], voltametrie [15] nebo viskozimetrie [16]. Aplikace dynamického rozptylu světla v problematice studia huminových kyselin představuje poměrně nové spojení. Hlavním principem metody dynamického rozptylu světla je měření difúzního koeficientu částic ( $D$ ) v měřeném vzorku prostřednictvím sledování časového vývoje fluktuací intenzity rozptýleného světla, částicemi ozářenými laserem. Následně pak je možné stanovit hydrodynamickou velikost částic (správně hydrodynamický průměr částic  $d_H$ ) pomocí Stokes–Einsteinovy rovnice:

$$d_H = \frac{k_B T}{3 \pi \eta_0 D}, \quad (1)$$

kde  $k_B$  je Boltzmannova konstanta,  $T$  je termodynamická teplota,  $\eta_0$  je dynamická viskozita použitého rozpouštědla vzorku.

Palmer a von Wandruszka [14] zkoumali pomocí dynamického rozptylu světla vliv pH, teploty a přítomnosti kationtů na velikost agregátů v roztocích huminových kyselin. S poklesem pH dochází postupně ke snižování naměřené hydrodynamické velikosti agregátů. To je v souladu s výsledky studie Piccola [17], která popisuje destabilizaci supramolekulární struktury huminových kyselin a vznik agregátů o menší velikosti s poklesem pH. González-Gaitano a García-Míña [18] navíc poukazují na reverzibilitu změny velikosti částic s pH. Obdobné výsledky při studiu pH a přítomnosti kationtů kovů prezentoval i Baalousha a kol. [19]. S rostoucí koncentrací kationtu kovu v roztoku HK dochází rovněž k růstu velikosti agregátu. Tento efekt je ještě zvýrazněn v případě vícevazných kovů. Spojení statického rozptylu světla s dynamickým rozptylem světla využil Jones a Bryan ve své práci [20] ke studiu velikosti a molekulové hmotnosti vzorků HK. Vzorky vodních huminových kyselin (Suwannee stream humate) o poměrně vysoké koncentraci  $2 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$  vykazovaly průměrné velikosti částic okolo  $81\pm 2 \text{ nm}$ . Obdobné stanovení bylo provedeno i s lignitickými huminovými kyselinami a bylo dosaženo průměrné velikosti agregátů  $448\pm 31 \text{ nm}$ . Autoři práce poznamenávají, že velikost částic je ovlivněna původem a způsobem izolace. Zásadní je také vliv pH a iontové síly prostředí.

### 2.2.2 Modifikace huminových kyselin

Jednou z možností, jak studovat vliv obsahu funkčních skupin a jejich působení na celkovou reaktivitu HK představuje jejich selektivní derivatizace [24, 25]. V literatuře lze nalézt několik navrhovaných cest využitelných pro alkylaci kyselých OH skupin. Obecně lze tyto reakce rozdělit na dvě kategorie. První tvoří totální alkylace pomocí termochemolýzy [5, 26] Methylačním činidlem je tetramethylamonium hydroxid (TMAH). Picollo sumarizuje v práci [5] celou řadu studií, zabývajících se derivatizací HK pomocí TMAH při různých reakčních podmínkách. Obecně tato metoda probíhá za vysoké teploty. Při těchto drastických podmínkách dochází jednak k tvorbě methyl esterů polárních OH skupin huminových kyselin (karboxylové, fenolické) a rovněž štěpení esterových, amidických a etherických vazeb ve struktuře HK. Alternativu představuje druhá skupina O-alkylací huminových kyselin, která probíhá při mírnějších podmínkách. Nedochází při ní k totální destrukci základní struktury huminových kyselin. Pro tyto účely lze nalézt širokou škálu testovaných činidel, jako jsou dimethylsulfáty [27, 28], alkyl halidy [29], trimethoxymethan [25] a rovněž i nejčastěji používaný diazomethan [1, 27, 30]. Nevýhodou tohoto činidla je jeho výbušnost a toxicita. Jednou z alternativ představuje použití trimethylsilyldiazomethanu (TMS-DM) [31]. V porovnání s diazometanem není TMS-DM toxický ani výbušný, jeho použití je výhodnější i z ekonomického hlediska.

Významnou vlastností HK je jejich vysoká afinita vůči kovům. Do interakce s kovy se nejvíce zapojují nejreaktivnější karboxylové a fenolické skupiny, účinek ostatních skupin lze zanedbat [32]. Pokud jsou tyto funkční skupiny blokovány (např. methylací) lze takto modifikovaný materiál využít při studiu zapojení a vlivu těchto skupin na reaktivitu a transportní vlastnosti HL [33]. Této problematice se věnuje jen velmi málo publikací. Gardea-Torresdey [25] porovnával interakce měďnatých iontů s několika různými huminovými vzorky (jednalo se o nemodifikované HK získané z rašeliny, methylované HK a methylované HK, které byly podrobeny zásadité hydrolýze). Z výsledků vyplývá, že methylací došlo ke snížení vazebné kapacity HK. Následnou zásaditou hydrolýzou došlo k opětovnému obnovení vazebné kapacity HK. Úspěšnost methylace a následné hydrolýzy byla ověřena pomocí FT-IR. Tyto výsledky potvrzují význam karboxylových (a případně i fenolických) skupin v problematice komplexace těžkých kovů.

Methylací kyselých OH skupin HK lze využít i při GC nebo NMR analýze, dochází při ní ke zvýšení rozpustnosti HK v organických rozpouštědlech. Tím lze dosáhnout lepší frakcionace při GC respektive vyššího rozlišení ve spektru NMR. Methylované HK netvoří vodíkové můstky, to je

výhodné například při určování distribuce molekulových hmotností [29]. Charakterizaci methylovaných huminových kyselin se věnují publikace [27, 29].

## 2.3 Studium reaktivity huminových kyselin

### 2.3.1 Interakce huminových kyselin s kovy

Kovy představují přirozeně se vyskytující látky, které mohou být v přírodě vázány na odlišné matrice různě silnými vazbami. S touto jejich schopností vázat se na různé látky souvisí rovněž i to, jestli jsou tyto kovy v přírodě mobilní – biologicky dostupné nebo jsou imobilizovány. Tento fakt může být stěžejní, zvláště pokud se jedná o živiny respektive polutanty. V současné době je soustavnou lidskou činností uměle rozptýleno v přírodě velké množství toxických kovů, které mohou představovat poměrně velké riziko pro žijící organismy. Příroda ovšem nabízí mnoho pozoruhodných látek, které mohou tento problém pomoci řešit. Jedním z příkladů jsou i huminové kyseliny, které hrají významnou roli v globálních problémech jako je uhlíkový cyklus nebo samočistící schopnosti půd. Vysoká afinita a schopnost imobilizovat těžké kovy ve své struktuře jsou jedny z klíčových oblastí výzkumu huminových kyselin [1, 34, 35].

Jednu z nejvíce používaných metod pro studium interakcí huminových kyselin s kovy představují sorpční experimenty. V literatuře lze nalézt mnoho studií zabývajících se mechanismem vzniku komplexů, popisem struktury vytvořených komplexů a rovněž působením různých vlivů na sorbovaná množství. Tipping a Hurley v práci [35] předkládají jeden z prvních modelů sorpce kovových iontů na HL. Autoři v práci kromě komplexace kovových iontů brali v úvahu také elektrostatické interakce. Studie Martyniuka a Wieckowské [36] se zabývala sorpcí řady kovových iontů na různé koloidní formy huminových kyselin (suspenze, gel). Z výsledků vyplývá, že gelová forma huminových kyselin oproti suspenzi vykazovala vyšší afinitu vůči všem studovaným kovovým iontům. Markantní byl rozdíl zvláště v případě chromu. Práce dále také popisuje, že s rostoucí hodnotou pH dochází ke zvyšování nasorbovaných množství iontů. Na základě výsledků z FT–IR bylo zjištěno, že při  $\text{pH} < 5$  interaguje s kovy pouze část s celkového množství karboxylových funkčních skupin. Při  $\text{pH} > 5$  se do interakce zapojují karboxylové i fenolické funkční skupiny. Výjimku tvořilo Pb, Ag, Hg a Cu do jejichž interakce byly zapojeny fenolické skupiny dokonce i při nižší hodnotě pH. Tyto kovy rovněž tvořily s HK smíšené karboxylát-fenolické komplexy. Autoři práce [37] seřadili studované kovové ionty podle afinity k HK do řady:  $\text{Cu} > \text{Pb} > \text{Mn} \gg \text{Cd}$ . První tři studované kovy navíc při interakci využívají karboxylové i fenolické skupiny HK, Cd pouze skupinu karboxylovou. Ghabbour et al. v práci [38] pohlížela na interakce s kovy z hlediska termodynamiky. Studované kovy seřadila podle klesající afinity k HL  $\text{Fe}^{3+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Cu}^{2+}$ . Vysoká afinita  $\text{Fe}^{3+}$  iontů k HL je způsobena nejvyšším kladným nábojem kovu.

### 2.3.2 Difúze v huminových gelech

Huminové kyseliny lze nalézt v přírodě v pevné formě, ve formě koloidních roztoků ale i nabobtnalých gelů. Gelová forma představuje zajímavý materiál s velkým experimentálním potenciálem. Podstatná část objemu gelu je tvořena vodou, která je uzavřena v trojrozměrné síti disperzního prostředí. Transportní proces v gelu probíhá téměř stejně rychle jako v kapalném prostředí a navíc není ovlivňován prouděním ani tepelnými konvekcemi. Výhodou je rozhodně i jednoduchá manipulace s gelovými vzorky a jejich striktní matematická a fyzikální charakterizace. Gelová forma huminových kyselin (detaily o přípravě lze nalézt v pracích [36, 39–42]) představuje homogenní materiál, ve kterém je pevný podíl gelu a potažmo tedy celý huminový skelet včetně funkčních skupin pravidelně rozptýlen v trojrozměrné síti. Nespornou výhodou je rovněž i vyšší afinita huminového gelu ke kovovým iontům oproti pevné formě HK, což bylo dokázáno v práci Martyniuk a Wieckowské [36]. Výše zmíněné výhody dělají z gelové formy huminových kyselin ideální prostředí pro studium transportních procesů. Jeden z možných

přístupů je aplikace jednoduchých difúzních experimentů. Matematický aparát používaný k popisu difúzních experimentů vychází většinou z analytického řešení obecných diferenciálních rovnic difúze (viz. Fickovy zákony [43, 44]) pro konkrétní počáteční a okrajové podmínky experimentu. Detailní popis odvození rovnic lze nalézt v publikacích [43–46].

Většina metod prezentovaných v literatuře pro studium difuzivity různých látek v gelech využívá metodu vertikálních nebo horizontálních difúzních cel [44, 47, 48]. Jiný přístup lze nalézt v práci Climenta a kol. [49], kteří pro studium difúzních experimentů zvolili metodu nekonečného plošného zdroje. Využití tzv. trubičkové metody studia difúze aktivní látky z roztoku o konstantní koncentraci této látky do cylindrického prostředí naplněného agarózovým gelem prezentoval Lauffer v práci [50]. Difúzní koeficient transportované látky pak lze vypočítat buď z celkového nadifundovaného množství látky v gelu v daném čase nebo pomocí naplátkování gelu na dílčí válečky o dané tloušťce a následném vyhodnocení koncentrace sledované látky v gelu jako funkce vzdálenosti od rozmezí gel – roztok. Tuto tzv. trubičkovou metodu difúze aplikovala Klučáková v práci [51] pro případ difúze kovových iontů do huminových gelů. Připraveným huminovým gelem byla v této práci naplněná válcovitá trubička, která sloužila jako systém pro studium difúze. Tato trubička s huminovým gelem byla ponořena do roztoku difundujícího kovu ( $\text{Co}^{2+}$  ionty). Po ukončení difúze bylo studováno nadifundované množství  $\text{Co}^{2+}$  iontů v huminovém gelu v závislosti na čase a na vzdálenosti od rozhraní. Jako srovnávací parametr sloužil difúzní koeficient. Následující práce [52, 53] se zabývají studiem interakcí mezi huminovými kyselinami a vybranými kationaktivními barvivy prostřednictvím jednoduchých difúzních experimentů. V prvním případě byla využita metoda difúzních cel, kdy transportní proces probíhal ze zdrojové cely obsahující kationaktivní barvivo do přijímací cely přes vzorek hydrogelu na bázi agarózy, který obsahuje rozdílný obsah HK. V druhé publikaci těchto autorů byla studována nestacionární difúze barviva z roztoku do květ naplněných agarózovým gelem s rozdílným obsahem HK. V obou případech přítomnost reaktivních huminových kyselin výrazně ovlivnila transport barviva a také získané difúzní charakteristiky. V práci [39] jsou uvedeny příklady jednoduchých experimentálních technik využitelných ke studiu reaktivity a transportních procesů v huminových maticích. V prvním případě se jedná o difúzi  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z roztoku, ve kterém dochází ke změně koncentrace látky, do huminového gelu. V druhém případě jde o obdobné uspořádání, pouze nedochází ke změně koncentrace Cu ve zdrojovém roztoku. Výstupem z experimentů je pak opět difúzní koeficient, který slouží k charakterizaci příslušného studovaného systému. Autoři v práci rovněž porovnávají naměřené výsledky s teoretickými modely [43, 44] sloužícími pro matematický popis daných difúzních uspořádání. Z výsledků vyplývá dobrá shoda teoretických modelů s experimentálními daty. Další metoda studia difúze kovových iontů v huminových gelech byla využita autory práce [54]. V tomto případě šlo o metodu tzv. difúzního páru, kde byla studována difúze  $\text{Cu}^{2+}$  iontů mezi dvěma huminovými gely. První gel na počátku experimentu obsahoval konstantní koncentraci zdrojové látky difúze ( $\text{Cu}^{2+}$  ionty), v druhém gelu byla nulová koncentrace této látky. Autoři v práci připravili zdrojový gel s nenulovou počáteční koncentrací  $\text{Cu}^{2+}$  iontů dvojnásobkem. V prvním případě byly  $\text{Cu}^{2+}$  ionty do gelu nadifundovány z roztoku  $\text{CuCl}_2$ , v druhém případě byly  $\text{Cu}^{2+}$  ionty inkorporovány do huminového gelu již během jeho přípravy (huminový sol byl zesíťován roztokem  $\text{CuCl}_2$ ). Pro difúzní pár tvořený z obou takto připravených gelů bylo po ukončení difúze stanoveno množství nadifundovaných kovových iontů v závislosti na čase a vzdálenosti od rozhraní. Získané difúzní koeficienty  $\text{Cu}^{2+}$  iontů pro případ gelu s inkorporovanými  $\text{Cu}^{2+}$  ionty byly výrazně nižší v porovnání s druhým studovaným gelem, což bylo dle autorů práce způsobeno inkorporací  $\text{Cu}^{2+}$  iontů ve struktuře zdrojového gelu. Takto imobilizované  $\text{Cu}^{2+}$  ionty byly následně prakticky nedostupné pro difúzní proces. Difúzní koeficienty stanovené pro difúzi z obou připravených gelů byly ovšem nižší v porovnání s difúzí  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z roztoku do huminového gelu respektive výrazně nižší v porovnání s difúzním koeficientem  $\text{Cu}^{2+}$  iontů ve vodě. Struktura a zejména způsob interakce  $\text{Cu}^{2+}$  iontů s huminovými kyselinami autoři práce popisují jako hlavní příčiny způsobující zpomalení transportního procesu.

### 2.3.3 Frakční extrakce

Kovové ionty se mohou vyskytovat v přírodě v různých formách. Mohou být volné, ale také mohou být vázány na různé matrice odlišnými vazbami. Určení způsobu vázání kovů nám může poskytnout informaci a jejich mobilitě stejně jako o dostupnosti a toxicitě. Obecně rozšířená metoda určování míry mobility a potažmo tedy síly vazby k různým matricím je aplikace loužení vzorku v různých extrakčních činidlech [55]. První experimenty byly navrženy Tessierem a kol. [56]. Tessier studoval sílu vazby vybrané řady kovů (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Fe a Mn) ve vzorku říčního sedimentu. Kovy ze sedimentů získával sekvenčním loužením v chemických extrakčních činidlech, které mají vůči kovům různou afinitu. Kovy poté autor ve své práci rozdělil do několika skupin podle síly vazby v sedimentech. První skupinu tvoří frakce iontově-výměnná, kterou získával pomocí 1 M  $MgCl_2$ . Druhou skupinu tvoří kovy vázané na uhličitany (extrakce pomocí 1 M  $NaOAc$ ). Následuje skupina kovů vázaná přes oxidy železa a manganu, která je extrahovatelná pomocí směsi 0,1 M  $Na_2S_2O_3$  a 0,175 M citrátu sodného. Čtvrtou frakci tvoří kovy vázané na organickou hmotu (extrahovatelné pomocí  $HNO_3$ ). Poslední reziduální frakci je možné získat pomocí extrakce směsí  $HF$  a  $HClO_4$ . Toto extrakční schéma samozřejmě nepopisuje striktní dělení kovů do určitých skupin, ale slouží spíše k popisu jednotlivých dějů a podmínek, kterým jsou kovy v sedimentech vystavovány a k predikci možného chování v přírodních systémech.

Tessierova řada extrakčních činidel byla později několikrát modifikována. Zein a Bruemer [57] přišli s ještě více selektivní extrakční technikou pro získávání kovů vázaných na jednotlivé frakce v půdě. Podle jejich procedury lze kovy, které jsou vázány v půdě rozdělit do sedmi různých frakcí. Souhrnné review všech metod a činidel využitelných pro extrakci kovových iontů z půd a sedimentů nabízí Rauet v práci [58]. V této publikaci lze rovněž nalézt porovnání metod extrakcí jednotlivých frakcí kovů, které byly publikovány různými autory. Kombinací jednotlivých technik předkládá Rauet modifikované schéma. Kovy dělí na frakci volnou nebo též mobilní (extrakce vodou), iontově-výměnnou ( $NaNO_3$ ,  $KNO_3$ ,  $MgCl_2$ ,  $CaCl_2$ ,  $NH_4OAc$ ), vázanou na uhličitany ( $HOAc$ , octanový pufr), frakci vázanou na oxidy železa a manganu (citrát sodný,  $Na_2CO_3$ ) a na reziduální frakci vázanou na organiku ( $H_2O_2$ ,  $NaOCl$ ). V práci autor také popisuje dvojí techniku nastavení experimentu pro využití těchto činidel. Je to jednak sekvenční extrakce, kdy jsou na jeden vzorek činidla aplikována postupně a pak také druhý způsob, kdy je vždy na jeden vzorek aplikováno pouze jedno extrakční činidlo. V [59] jsou kovy (Ca, Mg, Mn, Cu, Zn, Pb) ze vzorků lesních půd extrahovány pomocí čtyř různě silných extrakčních činidel ( $HCl$ ,  $EDTA$ ,  $NH_4NO_3$ ,  $NH_4OAc$ ). První dvě použitá činidla patří do skupiny kyselých resp. komplexotvorných činidel, která jsou schopná vyextrahovat téměř 100 % navázaných iontů.  $NH_4NO_3$  a  $NH_4OAc$  patří do skupiny roztoků solí resp. pufrů, které slouží pro extrakci iontově-výměnné frakce. Autoři práce [41] studovali interakce kovových iontů ( $Cu^{2+}$  iontů) s huminovými kyselinami sphažením jednoduchých difúzních experimentů se studiem síly vazby na základě aplikace frakční extrakce nadifundovaných  $Cu^{2+}$  iontů. Použitím selektivních extrakčních činidel (voda,  $MgCl_2$  a  $HCl$ ) došlo k rozdělení (frakcionaci) navázaných kovových iontů na základě síly vazby k huminovým kyselinám do jednotlivých frakcí, které, jak ukazují výsledky, jsou ve vzájemné dynamické rovnováze.

V dalších studiích se autoři [56, 60, 61] zabývali různými modifikacemi extrakčního schématu. Shrňme-li výsledky z těchto i předchozích prací v této kapitole dostáváme následující schéma. Komplexotvorná činidla ( $EDTA$ ,  $DTPA$  a jejich soli) a kyseliny ( $HCl$ ,  $HNO_3$ ,  $HAc$ ) se ukazují jako nejefektivnější činidla, která jsou schopná vyextrahovat největší množství navázaných kovů. Výťažky extrakcí se dále snižují v následujícím pořadí: pufrů ( $NH_4OAc$ ,  $NaOAc$ ), roztoky solí ( $MgCl_2$ ,  $CaCl_2$ ,  $NaNO_3$ ,  $BaCl_2$ ,  $AlCl_3$ ,  $NH_4NO_3$ ) a poslední řadě voda.

### 3 CÍLE DIZERTAČNÍ PRÁCE

Dizertační práce je zaměřena na difúzi kovových iontů v biokoloidních systémech zejména v souvislosti s reaktivitou těchto systémů a jejím vlivem na transportní vlastnosti iontů. Pro studium byly vybrány huminové kyseliny jako zástupce přírodních biokoloidů. Tyto látky jsou spoluzodpovědné za úrodnost půd, podílí se na transportu živin k rostlinám a také jsou schopny imobilizovat některé nežádoucí polutanty. Jako modelový kov byla vybrána měď pro její vysokou afinitu k huminovým látkám a komplexačním schopnostem, díky nimž se snižuje její biologická dostupnost a toxicita.

Cílem práce je navrhnout a otestovat metody studia difúze v různém experimentálním uspořádání tak, aby získaná data poskytla komplexní informace o transportu a imobilizaci měďnatých iontů v přítomnosti huminových kyselin. Pro tento účel se jako vhodný systém jeví huminový hydrogel, jehož mechanické vlastnosti jej umožňují připravit v přesně definovaných tvarech a velikostech, což je nutnou podmínkou pro matematické modelování transportu a výpočet difúzních charakteristik. Experimentální uspořádání budou navržena tak, aby bylo možné jednak zmapovat případnou koncentrační závislost získaných charakteristik a také využít tyto postupy pro studium transportu kovových iontů v dalších biokoloidních matricích. Pro studium reaktivity a jejího vlivu na transport kovových iontů v huminovém gelu bylo zvoleno několik metod. Poprvé je zde použita frakční extrakce, založená na použití rozpouštědel selektivních pro kovové ionty vázané k huminovým kyselinám různou silou. Dále je v práci využito blokování reaktivních funkčních skupin, zejména karboxylových a fenolických, jejich methyloací a modifikace huminových gelů dalšími postupy. Z analytických metod budou v práci použity zejména UV–VIS spektrometrie a chronopotenciometrická titrace pro stanovení difúzních toků a koncentračních profilů v hydrogelech; elementární analýza a FT–IR spektrometrie pro charakterizaci huminových kyselin, jejich modifikací a vzniklých komplexů a v neposlední řadě DLS a zeta potenciál pro stanovení velikosti částic a stability použitých systémů zejména v souvislosti s bariérovými vlastnostmi huminových látek a jejich různými modifikacemi.

## 4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 4.1 Huminové kyseliny

Modelovým biokoloidem, jehož reaktivita byla v této dizertační práci studována, byly zvoleny huminové kyseliny. Ve většině experimentů byly používány huminové kyseliny (LHK) izolované metodou alkalické extrakce z jihomoravského lignitu (důl Mír, Mikulčice) podle postupu blíže popsaného v pracích [39, 40].

Jako srovnávací vzorek byl v dizertační práci rovněž použit huminový standard (IHK) izolovaný z leonarditu z Bowman County v Severní Dakotě (USA). Tento vzorek byl zakoupen od Mezinárodní huminové společnosti (International Humic Substances Society – IHSS) již ve formě vyizolovaných huminových kyselin (katalogové číslo: 1S104H). Blížší postup přípravy lze nalézt v pracích [62].

### 4.2 Modifikace huminových kyselin

Jedním ze způsobů jak studovat vliv obsahu funkčních skupin huminových kyselin (zejména karboxylových a fenolických) na jejich reaktivitu je využití selektivní methylace (kapitola 2.2.2). Tímto postupem je možné zablokovat funkční skupiny HK a následně možné studovat reaktivitu a chování takto upravených HK ve vodných roztocích. Pro tyto účely bylo využito činidlo trimethylsilyldiazometan (TMS-DM). Blížší postup modifikace lze nalézt v práci [26].

### 4.3 Huminový gel

Huminové gely v různých formách byly v této dizertační práci využívány jako hlavní médium pro studium difúze kovových iontů. Výhody této formy huminových kyselin byly již popsány v kapitole 2.3.2. Pro přípravu huminového gelu byly vzorky huminových kyselin rozpuštěny v NaOH (koncentrace  $0,5 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) v poměru 8 g HK na  $1 \text{ dm}^3$  roztoku NaOH. Vzniklý sol byl následně okyselen 35% HCl na pH v rozmezí 1–1,1. Následně byl připravený gel separován od supernatantu centrifugací a uložen v exsikátoru s vodou.

### 4.4 Charakterizace huminových kyselin a huminového gelu

Vzorky použitých huminové kyselin i jejich methylovaných ekvivalentů byly před přípravou huminového gelu pro difúzní experimenty charakterizovány. Byl u nich určen obsah popela, sušiny, celková vlhkost, elementární složení, celková a karboxylová kyselost. Pro charakterizaci byla rovněž využita metoda infračervené spektrometrie s Fourierovou transformací. Dále u vodných roztoků studovaných huminových kyselin byla určena distribuce velikosti částic, zeta potenciál, základní fyzikálně-chemické parametry (hustota, pH, konduktivita).

Připravené huminové gely byly před aplikací v difúzních experimentech rovněž charakterizovány měřením vnitřního pH, obsahu sušiny, objemové hmotnosti, viskoelastických vlastností a vybrané vzorky byly charakterizovány pomocí infračervené spektrometrie s Fourierovou transformací.

### 4.5 Studium reaktivity huminových kyselin

Pro studium reaktivity huminových kyselin jakožto vybraného biokoloidu byly použity nejprve jednoduché sorpční experimenty. Hlavní část experimentálních prací se ovšem zabývala návrhem a optimalizací jednoduchých difúzních experimentů. V obou případech byl jako vhodná koloidní forma huminových kyselin zvolen huminový hydrogel. V případě sorpčních experimentů bylo hlavním cílem posoudit afinitu daného materiálu (huminových kyselin) pro danou sorbovanou látku ( $\text{Cu}^{2+}$  ionty). Difúzní experimenty navíc oproti sorpcím dokáží mnohem lépe popsat problematiku probíhajících vnitřních dějů a povahy interakcí vznikajících v huminovém gelu během transportního procesu. K těmto účelům se jeví jako velmi výhodné využití efektivního difúzního koeficientu  $D_{\text{ef}}$ , který v sobě mimo jiné zahrnuje také informaci o vnitřním transportu

sledované látky uvnitř difúzního prostředí (tortuozita  $\tau$ , porozita  $\varepsilon$ , rovnovážná konstanta imobilizační reakce  $K$ ) a rovněž partičního koeficientu  $\varepsilon$ , který naopak dokáže poskytnout informaci o afinitě daného prostředí k transportované látce. Z vypočítané hodnoty  $\varepsilon$  lze určit, jestli transportovaná látka na daném místě tzv. zakoncentrovává ( $\varepsilon > 1$ ), či naopak ( $\varepsilon < 1$ ).

#### 4.5.1 Vybraná laboratorní uspořádání experimentů

První z řady experimentů využívaných pro studium reaktivity huminových kyselin představovaly *sorpční experimenty*. Navážka huminového gelu byla přelita sorpčním roztokem  $\text{CuCl}_2$  o koncentraci 0,01; 0,05; 0,1; 1; 2 a 4  $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Vzniklá směs byla protřepávána za konstantní teploty do ustanovení rovnováhy (5 hodin). Množství sorbovaných  $\text{Cu}^{2+}$  iontů na gelové formě huminových kyselin bylo experimentálně určováno jednak z rozdílu koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v roztoku před a po ukončení sorpčních experimentů a rovněž také na základě desorpce  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z gelů po sorpčních experimentech pomocí  $\text{HCl}$  o koncentraci 1  $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ . V obou případech byly koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů stanovovány spektrometricky (Hitachi U3900H) metodou kalibrační křivky na základě absorbance vzorků při vlnové délce 810 nm.

Pro studium *difúze metodou okamžitého plošného zdroje* byl jako zdroj měďnatých iontů využit tenký proužek filtračního papíru, který byl ponořen do roztoku  $\text{CuCl}_2$  o koncentraci 1  $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Takto připravený zdroj měďnatých iontů byl uveden do těsného kontaktu s jednou stranou skleněné trubičky naplněné huminovým gelem. Po ukončení zvolené doby difúzních experimentů (5, 24, 48 a 120 hodin) byl huminový gel tvořící difúzní prostředí naplátkován strunou. Jednotlivé plátky byly separátně extrahovány pomocí  $\text{HCl}$  respektive  $\text{MgCl}_2$  (obě činidla o koncentraci 1  $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ). Koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v extraktech v závislosti na vzdálenosti od rozhraní zdroj difúze – difúzní prostředí byla stanovena spektrometricky.

Další použitou metodou byl *nekonečný difúzní pár*. Difúzní proces v tomto uspořádání probíhá mezi dvěma difúzními prostředími (trubičkami) obsahujícími huminový gel. První tzv. zdrojový gel obsahoval na počátku experimentu konstantní nenulové množství měďnatých iontů. Naopak druhý tzv. přijímací gel neobsahoval na počátku experimentu měďnaté ionty. Obě difúzní prostředí byly propojeny na dobu (5, 24, 48 a 120 hodin). Následně byly huminové gely z obou difúzních prostředí naplátkovány, extrahovány pomocí  $\text{HCl}$  respektive  $\text{MgCl}_2$ . Zbylý postup je obdobný jako v případě okamžitého plošného zdroje.

*Konstantní zdroj difúze* byl v práci realizován dvěma experimentálními uspořádáními. V prvním difúzní experiment probíhal z nasyceného roztoku  $\text{CuCl}_2$ . Konstantní koncentrace  $\text{CuCl}_2$  byla zaručena přidavkem krystalického  $\text{CuCl}_2$  na počátku experimentu. Případný úbytek měďnatých iontů ve zdrojovém roztoku v důsledku difúzního procesu tak byl dorovnán rozpuštěním krystalického  $\text{CuCl}_2$ . Při druhém uspořádání docházelo k difúzi z roztoku o dostatečně velkém objemu, ve kterém je úbytek koncentrace  $\text{CuCl}_2$  v důsledku difúzního procesu zanedbatelný vzhledem k celkové koncentraci této látky ve zdroji difúze. Pro obě nastavení konstantního zdroje byly po ukončení difúzních experimentů (5, 24, 48 a 120 hodin) gely z trubiček naplátkovány, extrahovány pomocí  $\text{HCl}$  respektive  $\text{MgCl}_2$  a koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů ve vzorcích byla stanovena spektrometricky obdobně jako v metodě okamžitého plošného zdroje.

V případě *časově proměnlivého zdroje difúze* je nastavení obdobné jako v případě konstantního zdroje. Oproti předchozímu případu ovšem dochází v důsledku difúzního procesu k postupnému poklesu koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů ve zdrojovém roztoku. Po uplynutí doby difúzních experimentů byly vzorky jako v případě okamžitého plošného zdroje naplátkovány, extrahovány pomocí  $\text{HCl}$  respektive  $\text{MgCl}_2$  a koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů ve vzorcích byly stanovena spektrometricky.

Posledním použitým modelem je difúze v *horizontálních difúzních celách*. V tomto uspořádání dochází k ustálené difúzi mezi zdrojovou a přijímací částí cely přes vzorek hydrogelu tvaru válce. Vzorek hydrogelu byl připraven z inertního termoreversibilního biopolymeru – agarózy.

Koncentrace agarózy v hydrogelu byla 1 hm. % a množství HK v hydrogelu bylo zvoleno 0; 0,002; 0,005; 0,01 a 0,1 hm. %. Ve zvolených intervalech (1, 2, 3, 5, 8, 24, 30; 48 a 54 hodin) byla stanovena koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v přijímací cele spektrometricky.

#### **4.5.2 Vliv obsahu funkčních skupin huminových kyselin**

Pro studium vlivu obsahu funkčních skupin na reaktivitu huminových kyselin byly HK selektivně modifikovány pomocí TMS-DM. Bližší detaily k postupu methylace jsou uvedeny v kapitole 4.2. Methylované huminové kyseliny (mLHK) byly smíchány s nemetylovanými HK v poměrech 0–0,375 g mLHK na 1 g směsi HK. Následně byl připraven huminový gel pomocí postupu v kapitole 4.3. Pro studium transportních charakteristik v těchto gelech připravených z modifikovaných HK byla využita metoda okamžitého plošného zdroje difúze. Zvolená doba difúzních experimentů byla 5, 24 a 48 hodin. Zbylý postup je totožný s postupem v kapitole 4.5.1 pro okamžitý plošný zdroj.

#### **4.5.3 Studium síly vazby mezi kovy a huminovými kyselinami**

Síla vazby mezi huminovými kyselinami a kovovými ionty (v dizertační práci reprezentovány  $\text{Cu}^{2+}$  ionty) byla studována pomocí frakční extrakce nadifundovaných  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z huminových gelů. Nejprve bylo využito jednoduchých difúzních experimentů z roztoku  $\text{CuCl}_2$  o koncentraci  $0,05 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  pro vytvoření koncentračních profilů  $\text{Cu}^{2+}$  iontů podél huminových gelů. Zvolená doba difúzních experimentů byla 1, 3, 5, 7, 9, 11, 14 a 20 dní. Pro každou dobu trvání difúzního experimentu byl gel z trubiček naplátkován strunou. Vždy plátky tří trubiček byly extrahovány pomocí destilované vody milli-Q, plátky tří následujících trubiček byly extrahovány roztoku  $\text{MgCl}_2$  o koncentraci  $1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  a plátky posledních tří trubiček byly separátně extrahovány roztokem  $\text{HCl}$  ( $1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ). Koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů ve vzorcích byly stanoveny elektrochemicky pomocí galvanostatické rozpouštěcí chronopotenciometrie (EcaFlow 150 GLP, Istran).

#### **4.6 Studium transportu organické hmoty**

Pro studium transportu organické hmoty během difúzních experimentů byl nejprve pomocí difúzních experimentů vytvořen podél huminových gelů koncentrační gradient  $\text{Cu}^{2+}$  iontů. Zvolená doba difúzních experimentů z roztoku  $\text{CuCl}_2$  o koncentraci  $0,1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$  byla 24, 48 a 120 hodin.

Po ukončení difúzních experimentů byl gel z trubiček separován na jednotlivé plátky, které byly vysušeny při  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  v sušárně. Vždy 30 mg z takto připraveného vzorku bylo rozpuštěno v  $\text{NaOH}$  (koncentraci  $0,5 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) a následně derivatizováno pomocí tetramethylamonium hydroxidu (TMAH) respektive tetraethylamonium acetátu (TEAAc). V prvním případě probíhala reakce při  $300 \text{ }^\circ\text{C}$ , ve druhém při  $400 \text{ }^\circ\text{C}$ . Vzniklé produkty termochemolýzy, jímány do chloroformu, byly podrobeny analýze pomocí GC–MS (spojení Trace GC Thermo Finnigan a kvadrupólového hmotnostního detektoru Thermo Finnigan Automass).

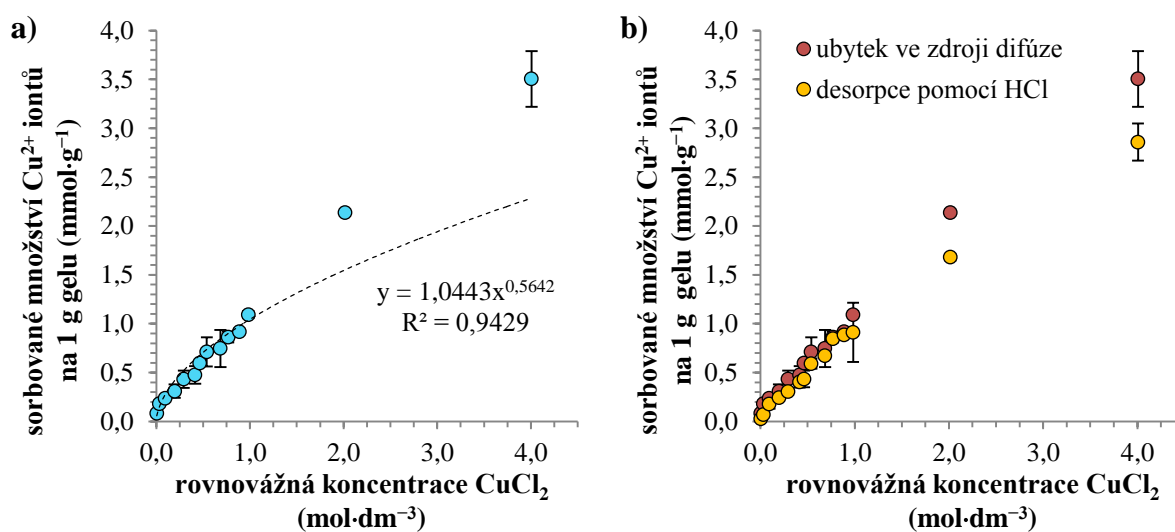
## 5 DISKUZE NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH VÝSLEDKŮ

### 5.1 Studium reaktivity huminových kyselin

Huminové kyseliny jsou obecně definovány jako vysoce reaktivní přírodní látky se schopností interagovat se širokou škálou cizorodých látek jako jsou kovy [36, 40, 41, 63], tenzidy [64], hydrofobní látky [65], barviva [52, 53] a rovněž s vysokou schopností zadržovat vodu [66]. Hlavním cílem této kapitoly dizertační práce bylo otestovat a ověřit využití jednoduchých transportních experimentů pro studium reaktivity huminových kyselin. Jako modelová aktivní látka, jejíž transport byl sledován, byly zvoleny  $\text{Cu}^{2+}$  ionty, které s HK tvoří stabilní komplexy. Další nespornou výhodou využití  $\text{Cu}^{2+}$  iontů patří fakt, že je možné je jednoduše detekovat již při nízkých koncentracích např. pomocí UV–VIS spektrometrie. Reaktivita huminových kyselin byla studována ve formě huminového gelu. Tato koloidní forma dobře simuluje chování huminových kyselin v přírodě. Gelová forma přináší také experimentální výhody, zejména ji lze jednoduše charakterizovat (obsah sušiny, hustota, rozměry), což je výhodné pro matematický popis transportního děje.

#### 5.1.1 Sorpční experimenty

Sorpční experimenty představují první metodu použitou pro studium reaktivity huminových kyselin. Sorpce obecně poskytuje informaci o afinitě daného materiálu (huminových kyselin) pro danou sorbovanou látku ( $\text{Cu}^{2+}$  ionty). Příklad experimentálně stanovených nasorbovaných množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v závislosti na rovnovážné koncentraci  $\text{CuCl}_2$  v rozsahu koncentrací sorpčních roztoků  $\text{CuCl}_2$  0,01–4 mol·dm<sup>-3</sup> je zobrazen na Obr. 1a.



**Obr. 1:** a) Koncentrační závislost sorbovaného množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů na huminový gel pro různé rovnovážné koncentrace  $\text{CuCl}_2$  v sorpčním roztoku; b) Adsorpční izotermy stanovené z úbytku koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů ve zdrojovém roztoku a z desorbovaného množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z gelu pomocí HCl (koncentrace 1 mol·dm<sup>-3</sup>)

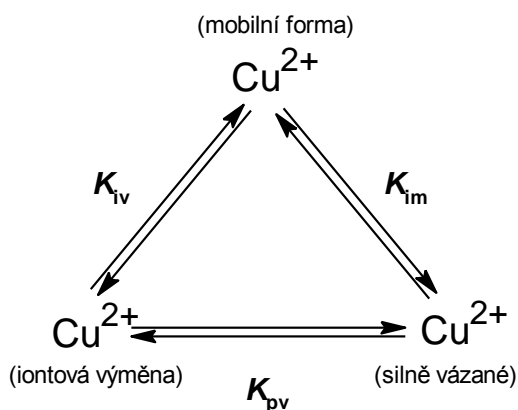
Tato data byla následně proložena teoretickými sorpčními izotermami. Obr. 1a nabízí srovnání experimentálních dat s teoretickou Freundlichovou izotermou. Je zřejmá dobrá shoda experimentálních dat s teoretickým modelem v případě nižších rovnovážných koncentrací  $\text{CuCl}_2$ . Od hodnoty koncentrace 1 mol·dm<sup>-3</sup> nastává mírný odklon experimentálních dat od izotermu. Tato odchylka od teoretického modelu je patrně způsobena jednak množstvím dostupných vazebných míst huminových kyselin. K dalším příčinám rovněž může patřit fakt, že sorpce probíhá na hydrogel. Vazebná místa tvořená funkčními skupinami huminových kyselin jsou dostupnější než v případě sorpce na pevný vzorek. Dochází tak k navázání většího množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů. Toto

pozorování je v souladu s výsledky práce [36], ve které autoři pozorovali rovněž výrazně vyšší množství kovů nasorbovaných na huminový gel v porovnání s pevným vzorkem. Získaná experimentální data byla rovněž porovnána s hodnotami stanovenými z celkových množství vyextrahovaných  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z huminových gelů po sorpčních experimentech užitím HCl o koncentraci  $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Uvedená experimentální data (Obr. 1b) potvrdila správnost adsorpční izotermy stanovené na základě úbytku koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů ve zdrojovém sorpčním roztoku  $\text{CuCl}_2$ . Z výsledků je patrné, že oběma postupy byla stanovena při nižších koncentracích obdobná sorbovaná množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů. Mírný pokles sorpční izotermy získané z hodnot stanovených z vyextrahovaných množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z huminových gelů při vyšších koncentracích sorpčních roztoků  $\text{CuCl}_2$  souvisí s klesající extrakční účinností HCl. Jednoduché sorpční experimenty kovových iontů na huminové kyseliny se tedy ukázaly jako výhodné pro prvotní náhled na studovaný systém sorbent – sorbovaná látka. Studovaný koncentrační rozsah leží v oblasti lineárního růstu rovnovážného adsorbovaného množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů na huminový gel, nedošlo tedy k nasycení vazebných míst huminových kyselin. Výsledky této kapitoly potvrzují, že sorpční experimenty dokáží rychle a jednoduše odpovědět na otázku, jestli dochází k transportnímu ději při daném nastavení experimentu a rovněž poskytují základní informaci o studovaném systému např. maximální množství, které je možné na daný materiálem adsorbovat apod.

### 5.1.2 Vybrané jednoduché difúzní experimenty

Difúzní experimenty byly zvoleny jako další a z hlediska obsahu hlavní a stěžejní metoda použitá v dizertační práci pro studium reaktivity modelového biokoloidu – huminových kyselin. Ze získaných experimentálních dat pro všechny základní difúzní modely byly vždy vypočítány koncentrační profily  $\text{Cu}^{2+}$  iontů podél huminových gelů, dále celkové difúzní toky  $\text{Cu}^{2+}$  iontů do huminových gelů ( $m_{\text{total}}$ ), efektivní difúzní koeficienty ( $D_{\text{ef}}$ ) a ve vybraných případech také partiční koeficienty ( $\varepsilon$ ) a rovnovážné konstanty imobilizační reakce ( $K_{\text{im}}$ ).

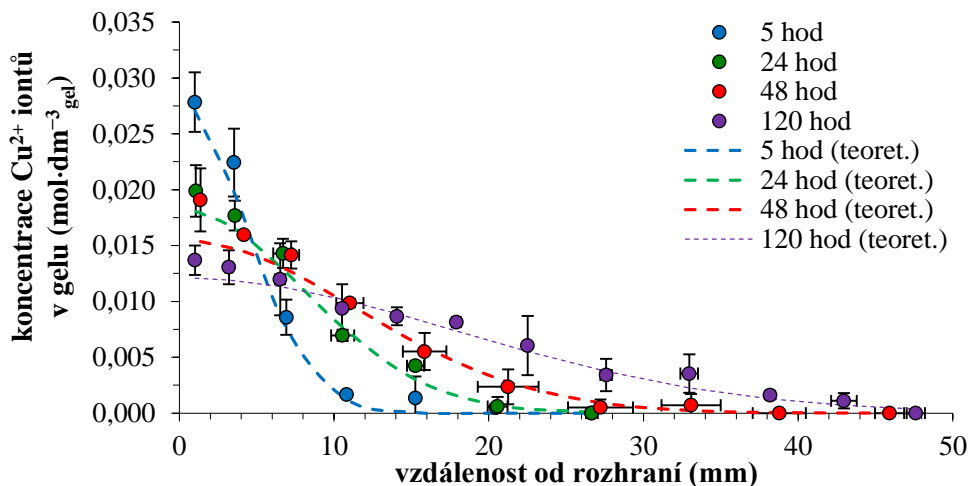
$\text{Cu}^{2+}$  ionty byly v rámci dizertační práce vybrány jako hlavní látka, jejíž difúzivita v prostředích obsahujících huminové kyseliny byla sledovaná. V těchto systémech se mohou kovy vyskytovat v různých formách (volné, imobilizované tvorbou pevné vazby resp. imobilizované iontovou výměnou), tak jak je sumarizováno na Obr. 2.



**Obr. 2:** Sumarizace výskytu všech forem  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v prostředí huminových kyselin

Difúzní experimenty byly ve všech případech diskutovány zejména z hlediska síly vazby  $\text{Cu}^{2+}$  iontů na huminové kyseliny. Pro tyto účely byly pro extrakci použity dvě různě silná extrakční činidla –  $\text{MgCl}_2$  a HCl. Následně tedy bylo možné porovnat jaká množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů se v prostředí obsahujících huminové kyseliny vyskytuje ve slabě respektive silně vázané formě. Podrobněji se pak této problematice věnuje kapitola 5.1.4.

*Okamžitý plošný zdroj* představuje první využitý jednoduchý model difúzního experimentu. Při tomto uspořádání je zdroj difundující látky tvořen nekonečně malým koncentračním pulzem, který je následně rozptylován difúzním procesem do difúzního prostředí. Díky nízkým transportovaným koncentracím  $\text{Cu}^{2+}$  iontů je tato metoda vhodná zejména k simulaci transportu iontů tak, jak probíhají v přírodních podmínkách. Laboratorně lze tento experiment realizovat filtračním papírem, který je namočen do roztoku zdrojové látky, a následně těsně přiložen k difúznímu prostředí. Ze získaných experimentálních dat byly stanoveny koncentrační profily  $\text{Cu}^{2+}$  iontů podél huminových gelů (Obr. 3).



**Obr. 3:** Naměřené koncentrační profily  $\text{Cu}^{2+}$  iontů podél gelů získané extrakcí HCl o koncentraci  $1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ; přerušovanou čarou jsou vyznačeny teoretické profily vypočítané užitím experimentálně stanoveného  $D_{\text{ef}}$

V koncentračních profilech dochází s rostoucí dobou difúzních experimentů k vyčerpání okamžitého zdroje difúze, což se promítne na klesající koncentraci  $\text{Cu}^{2+}$  iontů na rozhraní zdroj difúze–gel (pro  $x \rightarrow 0$ ). Naopak s rostoucí dobou experimentu  $\text{Cu}^{2+}$  ionty difundují od rozhraní dále do gelu. Matematický aparát [43, 44] tohoto difúzního modelu bere v potaz ve výpočtech pouze volné množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů. V případě využití HCl respektive  $\text{MgCl}_2$  jako extrakčního činidla dojde k extrakci rovněž slabě a silně vázaných  $\text{Cu}^{2+}$  iontů. Matematický aparát je tedy nutné modifikovat pro tento případ:

$$\ln c_{\text{HCl}} = \ln(c_{\text{cu}} \cdot (1 + K_{\text{im}})) = \ln \frac{n_{\text{total}} \cdot (1 + K_{\text{im}})}{S_t \cdot \sqrt{\pi D_{\text{ef}} t}} - \frac{x^2}{4D_{\text{ef}} t}, \quad (2)$$

kde  $c_{\text{HCl}}$  je koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů získaná na základě extrakce pomocí HCl,  $K_{\text{im}}$  je rovnovážná konstanta imobilizace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů,  $n_{\text{total}}$  je celkové látkové množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů, které prošlo přes rozhraní zdroj difúze – difúzní prostředí,  $S_t$  je průřez difúzního prostředí,  $t$  je doba experimentu a  $x$  je vzdálenost od rozhraní. Obdobně lze získat rovněž rovnici pro extrakci pomocí  $\text{MgCl}_2$ . V obou případech byly následně ze směrnice závislosti  $\ln c_{\text{HCl}}$  (respektive  $\ln c_{\text{MgCl}_2}$ ) na  $x^2$  stanoveny  $D_{\text{ef}}$ . Získané hodnoty jsou sumarizovány v Tab. 1.

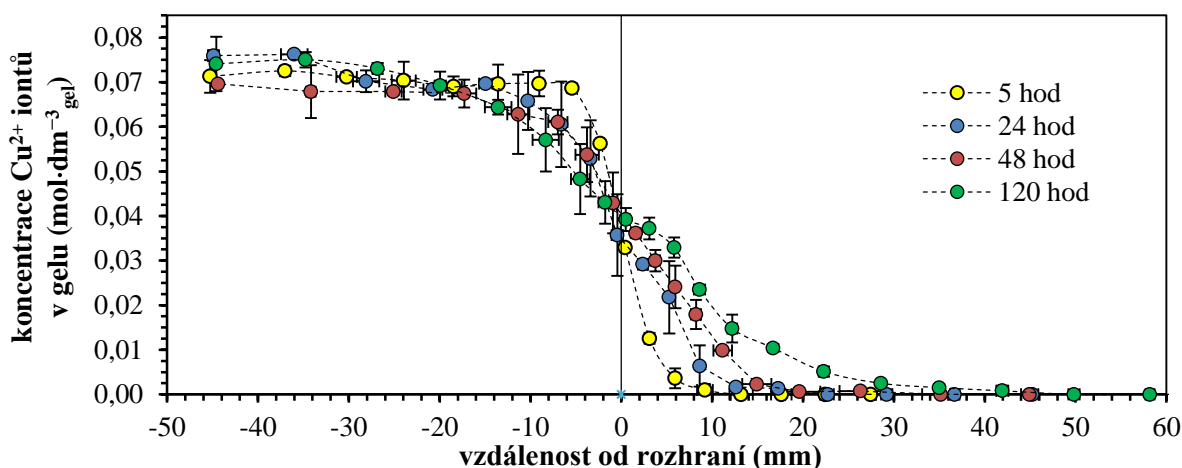
Aplikací této úpravy (rovnice (2)) je možné stanovit  $D_{\text{ef}}$ . Ten je pouze v případě okamžitého plošného zdroje stanovován z tvaru koncentračního profilu. V případě dalších jednoduchých laboratorních metod (konstantní zdroj, difúzní pár), diskutovaných v této kapitole, je difúzní koeficient určován z časové závislosti celkového difúzního toku.

Metoda *difúzního páru* byla v rámci dizertační práce využita jako další metoda pro studium difuzivity  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v huminových gelech. Na počátku experimentu ( $t = 0 \text{ s}$ ) jsou navzájem spojena dvě difúzní prostředí, první obsahuje konstantní nenulovou koncentraci difundující látky,

druhé obsahuje nulovou koncentraci difundující látky. Postupně s rostoucí dobou trvání experimentu dochází k transportu sledované látky ve směru poklesu koncentračního gradientu. Experimentálně byla tato metoda realizována jako difúzní proces mezi dvěma trubičkami naplněnými huminovým gelem. První tzv. zdrojový gel obsahuje na počátku experimentu konstantní koncentrační profil  $\text{Cu}^{2+}$  iontů podél celého vzorku gelu, druhý tzv. přijímací je gel s nulovou koncentrací  $\text{Cu}^{2+}$  iontů. Po vzájemném propojení postupně dochází k transportu  $\text{Cu}^{2+}$  iontů ze zdrojového do přijímacího gelu. Matematický aparát odvozený pro tento difúzní model předpokládá platnost polonekonečnosti obou částí difúzního páru. Tedy ve zdrojovém gelu od rozhraní musí stoupat koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů až na hodnotu počáteční koncentrace a naopak v přijímacím gelu musí klesat až na nulovou hodnotu. Obě tyto podmínky, jak je zřejmé z příkladu na Obr. 4, jsou při daném nastavení experimentů platné. Opět obdobně jako v případě okamžitého plošného zdroje matematický aparát uvažuje pouze volné nevázané  $\text{Cu}^{2+}$  ionty. Je tedy nutné obdobně jako v předchozí části kapitoly zavést úpravu na tvar:

$$m_{\text{total}} = c_{\text{gel-z}_0} \sqrt{\frac{D_{\text{ef}} t}{x}}, \quad (3)$$

kde  $c_{\text{gel-z}_0}$  je počáteční koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů ve zdrojovém gelu určená extrakcí pomocí HCl o koncentraci  $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  ( $\text{Cu}^{2+}$  ionty nacházející se ve všech formách, nejenom těch mobilních).

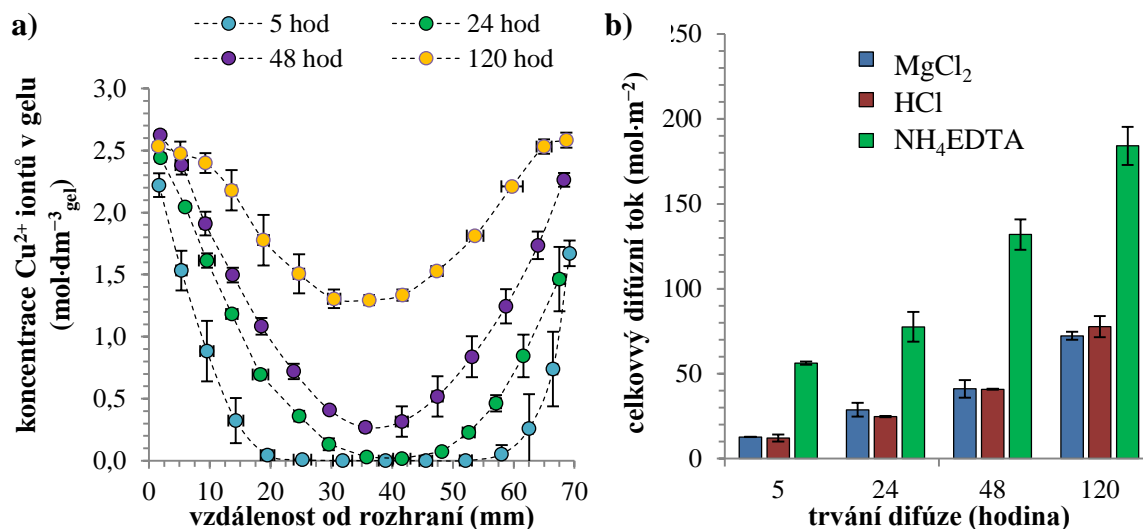


**Obr. 4:** Koncentrační profily  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v huminových gelech pro jednotlivé doby trvání difúzních experimentů data pro extrakci pomocí HCl

Následně byly stanoveny hodnoty efektivní difúzní koeficientů, celkových difúzních toků a koncentrace na rozhraní mezi zdrojovým a přijímacím gelem pro obě použítá extrakční činidla. Výsledky jsou sumarizovány v Tab. 1.

*Konstantní zdroj* difúze představuje třetí významný difúzní model, který byl použit ke studiu reaktivity huminových kyselin. Dle matematického aparátu odvozeného pro tento model musí použitý systém splňovat dvě podmínky. Koncentrace difundující látky, jak již název napovídá, musí zůstat na rozhraní během celé doby experimentu konstantní. Druhá podmínka vychází z faktu, že matematický aparát je odvozen pro difúzi do polonekonečného prostředí. Tedy, koncentrace difundující látky v difúzním prostředí směrem od rozhraní klesá až k nule. Z příkladu koncentračních profilů extrakci pomocí HCl (Obr. 5a) je zřejmé, že koncentrační profily mají vždy obdobný symetrický tvar s minimem uprostřed profilu. S rostoucí dobou trvání experimentu dochází k transportu většího množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů do trubiček s huminovým gelem a koncentrační profily se postupně vyrovnávají. První podmínka o konstantní koncentraci difundující látky na rozhraní je při tomto uspořádání splněna. Druhá podmínka je splněna jen v případě 5 a 24 hodinových difúzních experimentů. S rostoucí dobou experimentu postupně dochází

k vzájemnému ovlivňování transportních procesů probíhajících z opačných stran trubiček, koncentrační profily se postupně začínají navzájem prolínat a dochází k lokálním změnám koncentračního gradientu podél gelu.



**Obr. 5:** a) Časový vývoj koncentračních profilů  $\text{Cu}^{2+}$  iontů pro extrakci pomocí HCl; b) Celkové stanovené difúzní toky při použití  $\text{MgCl}_2$ , HCl a  $\text{NH}_4\text{EDTA}$  pro extrakci  $\text{Cu}^{2+}$  iontů

Obě použitá extrakční činidla mají různou afinitu vůči  $\text{Cu}^{2+}$  iontům.  $\text{MgCl}_2$  by mělo sloužit pouze pro extrakce mobilních  $\text{Cu}^{2+}$  iontů a iontů vázaných iontovou výměnou, naopak HCl, jakožto člen skupiny kyselých extrakčních činidel, by měla být schopna extrahovat mobilní, iontově-výměnné a silně vázané frakce  $\text{Cu}^{2+}$  iontů. Vyextrahovaná množství by tedy měla být odlišná. V našem případě ovšem došlo k vyluhování obdobných množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů oběma použitými činidly. Toto zjištění patrně souvisí s tím, že jako zdroj difúzního procesu byl využit nasycený roztok  $\text{CuCl}_2$  (dle práce [67] je koncentrace nasyceného roztoku  $\text{CuCl}_2$  je  $6,75 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ). Při takto vysokých koncentracích klesá extrakční účinnost HCl [68]. Vysoká koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů zdroje difúzního procesu, způsobuje vznik velkého koncentračního rozdílu mezi zdrojovým roztokem a gelem na počátku experimentu. Následně dochází k transportu  $\text{Cu}^{2+}$  iontů do gelu dle obecné termodynamické snahy systémů dostat se do rovnovážného stavu. Na základě této tendence obsahují huminové gely po difúzních experimentech výrazně vyšší množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v porovnání s experimenty diskutovanými v předchozích modelech diskutovaných v této kapitole. Poměrně rychle dojde k obsazení vazebných míst huminových kyselin  $\text{Cu}^{2+}$  ionty. Následující  $\text{Cu}^{2+}$  ionty, které na základě koncentračního gradientu difundují, se nachází v huminovém gelu ve formě mobilní frakce. Při aplikaci extrakčního činidla dochází přednostně k vyluhování mobilních  $\text{Cu}^{2+}$  iontů na základě vysokého koncentračního gradientu mezi množstvím iontů obsažených v gelu a v extrakčním roztoku. Při takto vysokých koncentracích je tak potlačena extrakční schopnost samotných použitých činidel (HCl,  $\text{MgCl}_2$ ). Činidla se extrakcí mobilní frakce nasatí a nedokáží již extrahovat vázané frakce iontů. Proces extrakce je pak řízen termodynamicky na základě snahy o dosažení rovnovážné koncentrace v systému. Z těchto důvodů jsou pak množství vyextrahovaná činidly, která by měla mít různou afinitu, ve skutečnosti stejná. Pro dosažení extrakce celkového množství nadifundovaných  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z gelů po difúzních procesech, bylo rovněž využito silnější komplexotvorné extrakční činidlo  $\text{NH}_4\text{EDTA}$  o koncentraci  $0,025 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ . Porovnání celkových difúzních toků získaných extrakcí jednotlivými činidly je uvedeno na Obr. 5b. Navzdory obrovskému koncentračnímu gradientu, který vzniká mezi množstvím  $\text{Cu}^{2+}$  navázaným v huminovém gelu a extrakčním roztokem, dokáže na rozdíl od předchozích diskutovaných činidel komplexotvorné  $\text{NH}_4\text{EDTA}$  vyextrahovat vyšší množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z huminového gelu. Vyextrahované množství  $\text{Cu}^{2+}$  v případě  $\text{MgCl}_2$  dosahuje  $32\pm 8 \%$

a v případě HCl 31±9 % množství vyextrahovaného pomocí NH<sub>4</sub>EDTA. NH<sub>4</sub>EDTA tedy dokáže kromě vysokého množství volných Cu<sup>2+</sup> iontů vyluhovaných na základě koncentračního gradientu vyextrahovat také silně vázané frakce nadifundovaných Cu<sup>2+</sup> iontů z huminových gelů.

Matematický aparát nezbytný pro stanovení efektivního difúzního koeficientu obdobně jako v předchozích dvou difúzních modelech bylo třeba modifikovat pro případ využití HCl resp. MgCl<sub>2</sub> jako extrakčního činidla, tedy pro případ, kdy dojde k extrakci rovněž Cu<sup>2+</sup> iontů, které byly navázány na huminové kyseliny. Závislost celkového difúzního toku  $m_{\text{total}}$  na  $\sqrt{t}$  bude mít tvar (uveden pouze příklad pro extrakci s HCl)

$$m_{\text{total}} = 2c_0 \sqrt{\frac{D_{\text{ef}} t}{x}} = 2 \frac{c_{\text{HCl}_0}}{1 + K_{\text{im}}} \sqrt{\frac{D_{\text{ef}} t}{x}}. \quad (4)$$

kde  $c_{\text{HCl}_0}$  je koncentrace Cu<sup>2+</sup> iontů na rozhraní v gelu získaná extrakcí pomocí HCl. Pomocí rovnice (4) byly stanoveny efektivní difúzní koeficienty pro jednotlivá použitá extrakční činidla. Při použití nastavení experimentu nelze v tomto matematickém modelu odseparovat efektivní difúzní koeficient ( $D_{\text{ef}}$ ) od výrazu  $(1 + K_{\text{im}})$ . Zavádíme proto veličinu  $D_{\text{ef}}^*$ , která skrývá rovněž příspěvek rovnovážné konstanty imobilizace  $(1 + K_{\text{im}})$ . Stanovené hodnoty  $D_{\text{ef}}^*$  spolu s dalšími parametry jsou sumarizovány v Tab. 1.

### **Sumarizace stanovených difúzních koeficientů**

Hlavním předmětem této kapitoly je sumarizace a srovnání hodnot efektivních difúzních koeficientů a dalších vybraných parametrů jednotlivých difúzních modelů uvedených v kapitole 5.1.2. Při diskuzi difúzivity Cu<sup>2+</sup> iontů v prostředí obsahující huminové kyseliny je třeba brát v úvahu tři základní faktory, které děj ovlivňují. Prvním parametrem je *koncentrace* a s ní spojený *koncentrační gradient* sledované látky. Vzájemný vztah mezi koncentračním gradientem a difúzním koeficientem vychází z prvního Fickova zákona [43, 44]. Velikost koncentračního gradientu souvisí se základní termodynamickou snahou dosáhnout rovnovážného stavu, tedy v případě difúzního procesu, dosáhnout homogenního rozložení koncentrace sledované látky v systému. Další dva neméně významné parametry, které je nutné mít na paměti při diskuzi stanovených hodnot  $D_{\text{ef}}$  souvisí jednak se *sterickým ovlivněním transportu* komplexní povahou gelové formy huminových kyselin a rovněž také s probíhajícími *interakcemi transportovaných iontů s difúzním prostředím* ( $K_{\text{im}}$ ). Tyto vlivy lze sumarizovat do rovnice

$$D_{\text{ef}} = \frac{\varepsilon_t}{\tau_f} \cdot \frac{D_0}{(1 + K_{\text{im}})} = \mu_t \cdot \frac{D_0}{(1 + K_{\text{im}})}, \quad (5)$$

kde první člen  $\varepsilon_t/\tau_f$  udává poměr pórovitosti a tortuosity a vyjadřuje souhrnné působení trojrozměrné sítě hydrogelu na difúzní proces. Příspěvky těchto dvou veličin nelze pomocí klasických difúzních experimentů separovat, proto se určují společně pod souhrnnou veličinou tzv. strukturním faktorem  $\mu_t$  [40, 183]. Předpokládáme-li, že reakce mezi Cu<sup>2+</sup> ionty a huminovými kyselinami je mnohem rychlejší než difúzní proces, můžeme uvažovat vznik lokální rovnováhy mezi volnými a vázanými Cu<sup>2+</sup> ionty. V rovnici (5) zavádíme rovnovážnou konstantu reakce Cu<sup>2+</sup> iontů s huminovými kyselinami ( $K_{\text{im}}$ ), která vyjadřuje působení imobilizační reakce na transportní proces. V rovnici (5) se tak vyskytují dvě neznámé, které výrazně ovlivňují problematiku difúzivity Cu<sup>2+</sup> iontů v huminových gelech a rovněž stanovené hodnoty  $D_{\text{ef}}$ .

Matematický aparát difúzních experimentů bere v potaz pro výpočty téměř ve všech případech pouze mobilní ionty, které neinteragují s difúzním prostředím. Zejména v případě využití koncentračních veličin (např. ve výpočtech koncentračních profilů apod.) je nutné matematický model modifikovat pro použité nastavení experimentu. Naopak pro stanovení celkového difúzního toku ( $m_{\text{total}}$ ) či nadifundovaných množství ( $n_{\text{total}}$ ) jsou potřebné údaje o celkovém množství transportovaných iontů. V případě, že dojde k interakci a následné imobilizaci transportovaných

iontů v difúzním prostředí (v huminovém gelu), tyto ionty jsou pro difúzní proces „neviditelné“ a nemají vliv na koncentrační gradient. Je tedy zřejmé, že tento proces způsobí transport dalších iontů na základě koncentračního gradientu. Aplikací běžně používaných extrakčních činidel (HCl, MgCl<sub>2</sub>) dojde kromě mobilních frakcí k vyextrahování rovněž slabě a silně vázaných Cu<sup>2+</sup> iontů. Tento fakt se samozřejmě projeví ve stanovených difúzních charakteristikách (zejména  $D_{ef}$  a  $\varepsilon$ ). Z těchto důvodů byly koncentrace volných Cu<sup>2+</sup> iontů ( $c_{Cu}$ ) v matematickém aparátu pro jednotlivá použitá uspořádání difúzních experimentů převedeny pomocí rovnovážných konstant imobilizace ( $K_{im}$ ) respektive iontově-výměnné interakce ( $K_{iv}$ ) na celková množství v případě extrakce pomocí HCl respektive na množství volné a iontově-výměnné frakce v případě extrakce pomocí MgCl<sub>2</sub>. V případě modelů okamžitého plošného zdroje a difúzního páru použitá substituce umožnila přímé vyjádření a separaci  $D_{ef}$  od ostatních veličin. V případě konstantního zdroje difúze a časově proměnlivého zdroje difúze nebylo možné separovat efektivní difúzní koeficient ( $D_{ef}$ ) od rovnovážné konstanty imobilizace ( $K_{im}$ ) respektive iontové výměny ( $K_{iv}$ ), proto se v těchto případech zavedla souhrnná veličina  $D_{ef}^*$ , která skrývá kromě efektivní difúzivity rovněž příspěvek výše zmíněného parametru. Souhrnné výsledky stanovených efektivních difúzních koeficientů ( $D_{ef}$  respektive  $D_{ef}^*$ ) získaných experimentálními metodami diskutovanými v kapitole 5.1.2 jsou uvedeny v následujících Tab. 1.

**Tab. 1:** Hodnoty efektivních difúzních koeficientů ( $D_{ef}$ ) stanovené jednotlivými experimentálními metodami (extrakce pomocí HCl o koncentraci 1 mol·dm<sup>-3</sup>) a hodnoty partičních koeficientu ( $\varepsilon$ ) udávající poměr koncentrací na rozhraní v gelu a ve zdrojovém difúzním roztoku

experimentální metoda	$D_{ef}(\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}) \cdot 10^{-10}$	$\varepsilon(-)$
okamžitý plošný zdroj	4,88±0,43	–
difúzní pár	3,07±0,15 <sup>a</sup>	2,14±0,13
difúzní pár (II. metoda)	3,32–4,56 <sup>b</sup>	2,14–0,89
konstantní zdroj *	8,57±1,24 <sup>c</sup>	0,44±0,06 <sup>•</sup>
konstantní zdroj (II. metoda) *	2,80±0,36 <sup>d</sup>	2,40±0,41 <sup>•</sup>
časově proměnlivý zdroj *	12,91±0,14	1,91±0,14 <sup>•</sup>
difúzní cely	2,64–0,84 <sup>e</sup>	3,23–11,92
Cu <sup>2+</sup> ve vodě [69]	14,30	–

\* stanovené hodnoty odpovídají  $D_{ef}^*$

<sup>a</sup> počáteční koncentrace zdroje difúze (koncentrace 0,05 mol·dm<sup>-3</sup>)

<sup>b</sup> počáteční koncentrace zdroje difúze (koncentrace 0,05–0,5 mol·dm<sup>-3</sup>)

<sup>c</sup> difúze z nasyceného roztoku CuCl<sub>2</sub>

<sup>d</sup> počáteční koncentrace zdroje difúze (0,05 mol·dm<sup>-3</sup>)

<sup>e</sup> obsah HK v agarosovém gelu v rozmezí 0–0,1 hm.

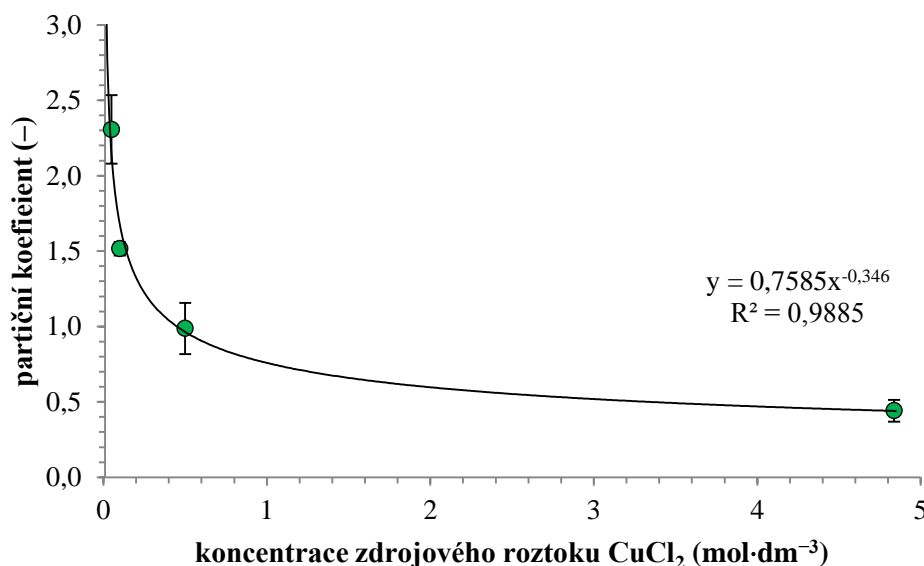
<sup>•</sup> stanovené hodnoty odpovídají  $\varepsilon^*$

Stanovené hodnoty difúzivity Cu<sup>2+</sup> iontů v huminových gelech získané extrakcí pomocí HCl řádově odpovídají hodnotám difúzních koeficientů v gelových maticích, ve kterých dochází k interakci s difundující látkou. Z porovnání s hodnotou difúzního koeficientu Cu<sup>2+</sup> iontů ve vodě 14,30·10<sup>-10</sup> m<sup>2</sup>·s<sup>-1</sup> [69] je zřejmé, že ve všech případech jsou stanovené hodnoty výrazně nižší. Tento pokles  $D_{ef}$  souvisí s výše diskutovanými parametry působícími na difúzní proces. První z těchto parametrů je koncentrace zdroje difúze. Její hodnota souvisí s nastavením experimentů. Nejnižší koncentrace byly v systému obsaženy v případě okamžitého plošného zdroje. Výrazně vyšší koncentrace Cu<sup>2+</sup> iontů pak byly transportovány metodou difúzního páru, časově

proměnlivého zdroje a konstantního zdroje difúze z nekonečně velkého objemu. Efektivní difúzní koeficienty  $D_{ef}$  stanovené těmito technikami (kromě časově proměnlivého zdroje) jsou jen nepatrně nižší, než tomu bylo v případě metody okamžitého plošného zdroje. Opačným extrémem oproti okamžitému plošnému zdroji je technika konstantního zdroje, při které dochází zejména v prvním popsaném uspořádání k transportu  $\text{Cu}^{2+}$  iontů do huminových gelů z nasyceného roztoku  $\text{CuCl}_2$ . Touto technikou vzniká mnohonásobně vyšší koncentrační gradient na počátku experimentu, čemuž odpovídají také výrazně vyšší transportovaná množství během difúzních experimentů. Dochází tak k významnému nárůstu určeného efektivního difúzního koeficientu. Je třeba rovněž brát v potaz, že stanovené hodnoty efektivního difúzního koeficientu pro konstantní zdroj a časově proměnlivý zdroj difúze v sobě skrývají rovněž příspěvek konstantní imobilizace. Pro účely separace vlivu imobilizace a efektivní difuzivity by ovšem bylo nezbytné stanovit pro dané uspořádání difúzních experimentů poměr volných a imobilizovaných  $\text{Cu}^{2+}$  iontů. Jedním z přístupů je využití frakční extrakce obdobně jako v kapitole 5.1.4 nebo také v práci [41].

V případě základních použitých metod (okamžitý plošný zdroj, difúzní pár, konstantní zdroj) byl pro extrakci  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z huminových gelů využit rovněž  $\text{MgCl}_2$  o koncentraci  $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ . Aplikace tohoto činidla, jak již bylo diskutováno v kapitole 3.2.3, umožní získat informace o difuzivitě pouze mobilních a iontově-výměnných frakcí  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z matic obsahujících huminové kyseliny. Nelze jím tedy extrahovat silně vázané a residuální frakce. Z porovnání stanovených hodnot pro jednotlivé metody je zřejmé, že ve všech případech jsou stanovené efektivní difúzní koeficienty nižší než v případě extrakce  $\text{Cu}^{2+}$  iontů pomocí  $\text{HCl}$  (v rozmezí 47–63 %  $D_{ef}$  celkového množství nadifundovaných iontů). Je tedy zřejmé, že nehlédě na použitou metodu difúzních experimentů a s tím související koncentrační vliv, dochází mezi jednotlivými frakcemi k vytvoření jisté rovnováhy, která je udržována během transportního procesu.

Dalším sledovaným parametrem charakterizujícím zejména afinitu daného prostředí k difundující látce je partiční koeficient  $\varepsilon$  (Tab. 1). Hodnota  $\varepsilon$  souvisí jednak s obsahem dostupných vazebných míst pro transportovanou látku ale hlavně s její koncentrací a koncentračním gradientem mezi zdrojem difúze a difúzním prostředím.



**Obr. 6:** Závislost partičního koeficientu na koncentraci zdrojového roztoku  $\text{CuCl}_2$

S rostoucí koncentrací zdroje difúze a s tím spojeným zvyšováním difúzního toku  $\text{Cu}^{2+}$  iontů do huminového gelu dochází k postupnému nasycení vazebných míst HK. Množství imobilizovaných  $\text{Cu}^{2+}$  iontů, které souvisí s vazebnou kapacitou HK tak dosáhne maxima a dále již zůstává konstantní a neroste se zvyšujícím se difúzním tokem  $\text{Cu}^{2+}$  iontů. S rostoucí koncentrací

zdrojového roztoku  $\text{CuCl}_2$  ovšem roste podíl mobilních frakcí  $\text{Cu}^{2+}$  iontů. Tyto dva výše diskutované efekty se odráží v klesající hodnotě partičního koeficientu ( $\varepsilon$ ). Obr. 6 názorně zobrazuje pokles tohoto parametru v závislosti na koncentraci zdrojového roztoku (data odpovídají difúznímu uspořádání konstantní zdroj difúze). V tomto případě a rovněž v případě časově proměnlivého zdroje nelze separovat hodnotu partičního koeficientu od působení členu  $(1+K_{\text{im}})$ . V těchto difúzních uspořádáních jsou stanovené hodnoty označené jako „efektivní“ ( $\varepsilon^*$ ).

Závislost efektivního partičního koeficientu na koncentraci zdroje difúze poukazuje na významný vliv huminových kyselin na transportní jevy zejména v oblasti nízkých koncentrací difundující látky. Se zvyšující se koncentrací se účinek imobilizace transportovaných iontů snižuje. Tato závislost zvýrazňuje vliv huminových kyselin na přírodní transportní jevy, které obvykle probíhají při velmi nízkých koncentracích transportovaných látek. Ilustračním příkladem může být případ lokálního znečištění kovy, které při aplikaci určitých zjednodušení lze považovat za konstantní zdroj difúze. V přítomnosti HK pak dochází k významné podpoře transportních jevu a k zakoncentrování kovů v matici obsahující HK.

### 5.1.3 Vliv obsahu funkčních skupin huminových kyselin

Selektivní modifikace huminových kyselin je často využívanou metodou vhodnou pro studium reaktivity a rovněž k určení vlivu funkčních skupin huminových kyselin na celkovou reaktivitu materiálu. V rámci této práce byly huminové kyseliny modifikovány použitím TMS–DM, kterým došlo k selektivní modifikaci karboxylových skupin HK. Takto byly modifikovány vzorky LHK i huminového standardu IHK. Z Tab. 2 je zřejmé, že u obou studovaných huminových kyselin (mLHK i mIHK) došlo methylací ke snížení kyselosti. Lze tedy usuzovat, že oba vzorky byly úspěšně namethylovány. Nicméně ani v jednom případě nedošlo k poklesu stanovené kyselosti po methylaci huminových kyselin na nulovou hodnotu. Může to souviset jednak s tím, že methylace nebyla kompletní, ale rovněž také s tím, že během titrace dochází k působení NaOH na methylované huminové kyseliny a může docházet k částečné hydrolýze a tedy k demethylaci. Úspěšnost methylace byla rovněž ověřena pomocí FT–IR spektrometrie. V získaných spektrech byly rozdíly zejména v oblasti vibrace  $3400\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$ , související s poklesem tvorby vodíkových můstků u methylovaných HK. Dále byly mezi vzorky rozdíly ve vibraci alifatických C–H vazeb ( $2920\text{--}2900\text{ cm}^{-1}$ ), související se zavedením  $\text{CH}_3$  skupin na karboxylovou skupinu během modifikace huminových kyselin. Poslední rozdíly byly nalezeny v oblasti okolo  $1760\text{ cm}^{-1}$ , kdy došlo k zintenzivnění a posunu píku vibrace C–O na alifatických COOH v důsledku tvorby methylesterů modifikací COOH skupin HK.

Modifikované huminové kyseliny byly využity v jednoduchých difúzních experimentech, jejichž prostřednictvím byl posuzován vliv obsahu funkčních skupin huminových kyselin na mobilitu kovových iontů v prostředí obsahujícím HK. Pro tyto účely bylo využito difúzního modelu okamžitého plošného zdroje (blíže popsáno v kapitole 4.5.1).

**Tab. 2:** Porovnání methylované a nemodifikované formy LHK a IHK

vzorek HK	COOH ( $\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}_{\text{gel}}$ )	$D_{\text{ef}}$ ( $\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ ) $\cdot 10^{-10}$	$K_{\text{im}}$ (–)	$\mu_{(-)}$	$D_{\text{ef}}^0$ ( $\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$ ) $\cdot 10^{-10}$
LHK	0,383±0,005	5,35±0,62		0,80±0,20	11,480±0,344
mLHK	0,174±0,003	3,36±0,11	1,15±0,02	0,50±0,07	7,203±0,144
IHK	0,400±0,004	4,79±0,59		0,67±0,02	9,003±0,288
mIHK	0,317±0,004	4,00±0,23	1,00±0,03	0,56±0,01	8,008±0,241

Jako prostředí pro studium difúzního procesu byl využit huminový gel, připravený ze směsi LHK a mLHK (podíl mLHK v 1 g směsi byl 0–0,375). Koncentrační profily byly vyhodnoceny obdobně jako v kapitole 5.1.2. Sumarizace základních stanovených parametrů všech vzorků je uvedena v Tab. 2. Methylaci dochází k poklesu obsahu karboxylových funkčních skupin HK, které jsou významnou měrou zodpovědné za tvorbu interakcí a imobilizaci kovů v maticích obsahujících HK [45, 63]. S rostoucím obsahem mLHK ve směsi s LHK tedy dochází ke snižování obsahu nemodifikovaných karboxylových skupin huminových kyselin. Následkem toho klesá vazebná kapacita HK pro  $\text{Cu}^{2+}$  ionty a tím pádem klesá i celkový difúzní tok  $\text{Cu}^{2+}$  iontů do huminových gelů. Z uvedených výsledků je zřejmé, že množství volných nemodifikovaných funkčních skupin významně ovlivňuje nejenom reaktivitu huminových kyselin, ale i samotný transport  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v matici obsahující huminové kyseliny.

Následně byly u hydrogelu určeny dva parametry  $K_{im}$  a  $\mu_t$ , na jejichž základě lze oddělit působení reakce a struktury gelu na difuzivitu  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v huminových gelech. První parametr  $K_{im}$  je rovnovážná konstanta imobilizace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů na funkčních skupinách huminových kyselin.  $\mu_t$  pak představuje strukturní faktor vyjadřující společné působení tortuosity a porovitosti gelu na difúzní proces. Při předpokladu, že imobilizace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v HK probíhá rychle a dojde k ustanovení rovnováhy mezi volnými a imobilizovanými ionty v huminových gelech, je možné při výpočtu množství volných a imobilizovaných iontů vycházet z dat získaných pomocí tzv. frakční extrakce  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z huminových gelů (bližší detaily lze nalézt v kapitole 5.1.4). Množství volných iontů pak lze ztotožnit s tzv. mobilní frakcí  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v huminových gelech získanou na základě vyluhování gelů po difúzních experimentech v destilované vodě. Množství imobilizovaných iontů pak odpovídá ostatním frakcím (iontově-výměnná, silně vázaná a residuální), které jsou různým způsobem navázány na HK v gelech. Následně lze určit rovnovážné konstanty imobilizace  $K_{im}$ . Aplikací rovnice (6) lze stanovit tzv. strukturní faktor  $\mu_t$  charakterizující ovlivnění difúzního procesu studovaným gelovým prostředím

$$\mu_t = \frac{\varepsilon_t}{\tau_f} = \frac{D_{ef}}{D_0} (1 + K_{im}), \quad (6)$$

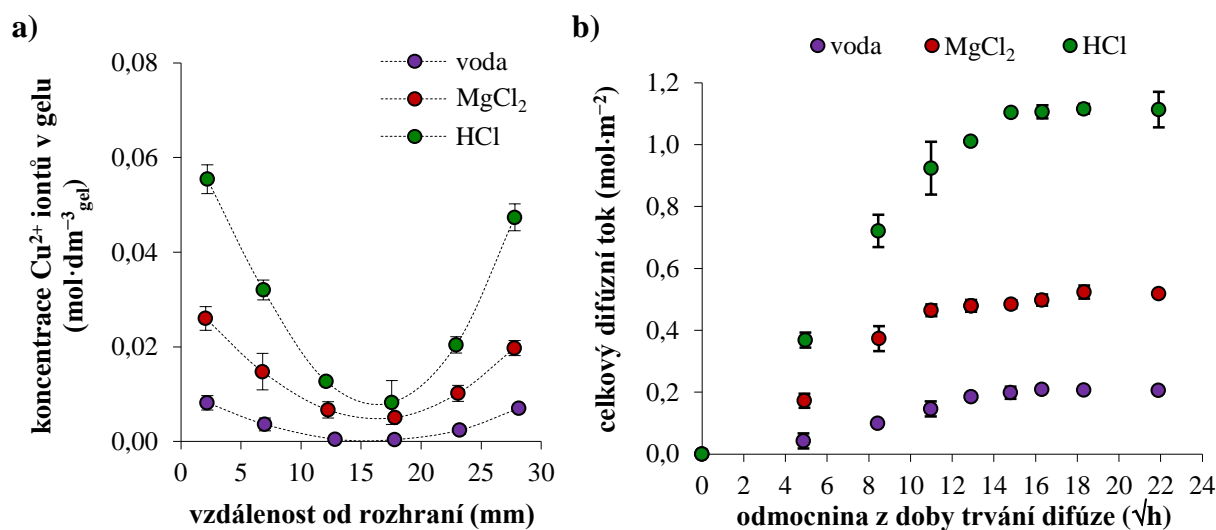
Pomocí výše určených parametrů byl rovněž vypočítán hypotetický efektivní difúzní koeficient  $D_{ef}^0$  charakterizující případ, kdy by během difúzního procesu nedocházelo k interakci mezi  $\text{Cu}^{2+}$  ionty a funkčními skupinami HK. V rovnici (6) je tedy dosazena hodnota  $K_{im} = 0$ . V takovém případě by difúzní proces byl ovlivňován pouze gelovým charakterem studovaného vzorku, tedy volným objemem jeho póru  $\varepsilon_t$  a jejich křivolakostí  $\tau_f$ . Z uvedených výsledků je zřejmé, že při přípravě huminových gelů z modifikovaných huminových kyselin dochází rovněž ke změnám v struktuře hydrogelu. Snižováním obsahu volných funkčních skupin dojde ke vzniku kompaktnější struktury hydrogelu, což snižuje permeabilitu gelu pro  $\text{Cu}^{2+}$  ionty (obdobně byly pozorovány rovněž změny chování huminových kyselin ve vodných roztocích po methylaci).

Výsledky tedy jasně deklarují, že modifikací huminových kyselin dochází k selektivní blokaci funkčních skupin huminových kyselin. Takto modifikované huminové kyseliny vykazují nižší vazebnou schopnost pro kovové ionty, což rovněž výrazně ovlivňuje jejich mobilitu v maticích obsahujících huminové kyseliny. Methylaci rovněž dochází k ovlivnění chování huminových kyselin ve vodných roztocích, což se rovněž promítne i na struktuře připraveného gelu. Získaná data rovněž indikují, že je třeba na tento proces vždy pohlížet komplexně.

#### 5.1.4 Studium síly vazby mezi kovy a huminovými kyselinami

Hlavním cílem této kapitoly bylo rozšířit klasické difúzní experimenty o hlubší studium interakcí mezi komponentou, jejíž transport je během difúze sledován –  $\text{Cu}^{2+}$  ionty a huminovými kyselinami. Difúzní experimenty (metoda časově proměnlivého zdroje) zde sloužily jako doplněk k extrakčním experimentům zabývajícím se hlubším studiem interakcí, které během transportního

procesu vznikají a, jak již bylo důkladněji diskutováno v kapitole 5.1.3, mají na samotný transportní proces významný vliv. Metoda frakční extrakce je často využívána pro studium interakcí kovů s půdními vzorky [55, 56]. Hlavní ideou v této kapitole tedy bylo aplikovat tuto metodu pro studium interakcí mezi kovy a huminovými látkami. V dizertační práci byla zvolena následující řada činidel (seřazeno podle rostoucí afinity vůči kovovým iontům): voda,  $\text{MgCl}_2$  (koncentrace  $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ),  $\text{HCl}$  (koncentrace  $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ). Příklad porovnání koncentračních profilů získaných aplikací jednotlivých extrakčních činidel pro 1 denní difúzi je uveden na Obr. 7a. Potvrzuje se, že použitím činidel s rozdílnou afinitou vůči  $\text{Cu}^{2+}$  iontů došlo k extrakci různých frakcí  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z huminového gelu. Nejmenší množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů extrahované pomocí destilované vody odpovídá pouze volným mobilním  $\text{Cu}^{2+}$  iontům. Větší množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů bylo získáno extrakcí pomocí  $\text{MgCl}_2$  o koncentraci  $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ , což odpovídá obdobně jako v případě extrakce pomocí destilované vody mobilní frakci a navíc jsou získány slabě vázané  $\text{Cu}^{2+}$  ionty, které interagují s funkčními skupinami HK iontovou výměnou. Množství získaná pomocí  $\text{HCl}$  odpovídají předchozím dvěma frakcím plus navíc silně vázaným a residuálním  $\text{Cu}^{2+}$  iontům.



**Obr. 7:** a) Koncentračních profilů  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v trubičkách pro všechna použitá činidla po 1 denní difúzi; b) Závislosti celkových difúzních toků  $\text{Cu}^{2+}$  iontů na  $\sqrt{t}$  difúzních experimentů pro jednotlivá použitá extrakční činidla

Získané koncentrační profily pro jednotlivá extrakční činidla mají stejný tvar s minimem uprostřed. S rostoucí dobou trvání difúzních experimentů postupně došlo k vyrovnávání koncentračních profilů. Od doby trvání difúzních experimentů 11 dní je koncentrace  $\text{Cu}^{2+}$  iontů podél gelu již konstantní. V použitém matematickém modelu difúzních experimentů, v naměřených koncentračních profilech dochází s časem jednak k poklesu počáteční koncentrace difúzního roztoku  $\text{CuCl}_2$  v důsledku transportu  $\text{Cu}^{2+}$  iontů do gelu, a také u tohoto uspořádání difúzního experimentu není splněna podmínka polonekonečného difúzního prostředí. Je třeba podotknout, že v této kapitole není hlavní prioritou difúzní proces, ale diskuze interakcí  $\text{Cu}$ – $\text{HK}$ , které během difúzních experimentů vznikají.

Ze získaných látkových množství nadifundovaných  $\text{Cu}^{2+}$  iontů byly následně vypočítány celkové difúzní toky  $\text{Cu}^{2+}$  iontů z roztoku přes rozhraní do gelů. V matematickém aparátu pro případ difúze z roztoku, ve kterém dochází k časové změně koncentrace difundující látky je difúzní tok závislý na odmocnině z doby trvání difúze [39]. Získané závislosti celkového difúzního toku  $\text{Cu}^{2+}$  iontů do huminových gelů na odmocnině z doby trvání pro jednotlivá použitá extrakční činidla jsou uvedeny na Obr. 7b. Z naměřených dat pro použitá extrakční činidla byly stanoveny efektivní difúzní koeficienty ( $D_{\text{ef}}$ ) a partiční koeficienty  $\varepsilon$ . Stanovené hodnoty jsou sumarizovány v Tab. 3.

**Tab. 3:** Partiční koeficienty pro použitá extrakční činidla a pro jednotlivé frakce iontů

extrakční činidlo/frakce iontů	$\varepsilon$ (-)	$D_{ef}$ ( $m^2 \cdot s^{-1}$ ) $10^{-10}$
voda	0,32±0,02 <sup>•</sup>	2,110±0,019 <sup>*</sup>
MgCl <sub>2</sub>	0,87±0,07 <sup>•</sup>	5,371±0,021 <sup>*</sup>
HCl	1,89±0,08 <sup>•</sup>	14,012±0,019 <sup>*</sup>
mobilní frakce	0,32±0,02	2,110±0,019
iontově-výměnná frakce	0,55±0,04	5,032±0,033
silně vázaná a residuální frakce	1,02±0,08	3,750±0,024

<sup>•</sup> stanovené hodnoty odpovídají  $\varepsilon^*$

<sup>\*</sup> stanovené hodnoty odpovídají  $D_{ef}^*$

Množství  $Cu^{2+}$  iontů získaná na základě extrakce pomocí  $MgCl_2$  a destilované vody byly navzájem odečteny. Takto bylo určeno množství  $Cu^{2+}$  iontů, které odpovídá iontově-výměnné frakci. Obdobně byly odečteny hodnoty získané na základě extrakce pomocí HCl a  $MgCl_2$ , čímž byla získána množství odpovídající silně vázané frakci  $Cu^{2+}$  iontů v HK gelu. Z takto stanovených látkových množství  $Cu^{2+}$  iontů jednotlivých frakcí byly vypočítány celkové difúzní toky pro jednotlivé frakce  $Cu^{2+}$  iontů a vyneseny v závislosti na odmocnině z doby trvání difúzí. Poté byly určeny  $D_{ef}$  a partiční koeficienty pro jednotlivé frakce iontů, které jsou opět uvedeny v Tab. 3.

V případě efektivních difúzních koeficientů a partičních koeficientů stanovených na základě množství  $Cu^{2+}$  vyextrahovaných pomocí  $MgCl_2$  respektive HCl je nutné obdobně jako v kapitole 5.1.2 korigovat matematický aparát, jelikož tato činidla dokáží extrahovat kromě volných  $Cu^{2+}$  iontů také iontově-výměnné respektive silně vázané frakce. Při daném nastavení experimentu nelze odseparovat hodnoty  $D_{ef}$  od rovnovážných konstant imobilizace ( $K_{im}$ ) respektive iontové výměny ( $K_{iv}$ ). Uvedené veličiny získané na základě dat z extrakce pomocí  $MgCl_2$  resp. HCl jsou tedy dále označeny jako  $D_{ef}^*$  respektive  $\varepsilon^*$ . Získané hodnoty  $D_{ef}^*$  jsou výrazně vyšší v porovnání s  $D_{ef}$  stanovenými ostatními metodami v kapitole 5.1.2. Hlavní příčiny takto vysokých hodnot, jak již bylo diskutováno na začátku této kapitoly, souvisí jednak s nedodržením podmínek volné difúze při daném nastavení experimentu a rovněž také s výše zmíněným skrytým působením rovnovážných konstant imobilizace resp. iontové výměny, které stanovené hodnoty zvyšují. Z porovnání stanovených hodnot partičních koeficientů je zřejmé, že většina  $Cu^{2+}$  iontů v gelu interaguje nějakým způsobem s huminovými kyselinami, což naznačuje vysoká hodnota partičního koeficientu pro silně vázanou (1,02±0,08), respektive iontově-výměnnou frakci (0,55±0,04). Naopak partiční koeficient pro mobilní frakce  $Cu^{2+}$  iontů v gelu představuje pouze 1/3 koncentrace  $CuCl_2$  v difúzním zdrojovém roztoku. Z těchto stanovených hodnot je zřejmé, že dochází k jistému „zakoncentrovávání“  $Cu^{2+}$  iontů v gelech. Tento fakt lze zdůvodnit interakcí mezi HK a  $Cu^{2+}$  ionty. Navázané  $Cu^{2+}$  ionty pak jsou v imobilní formě, jsou tedy „neviditelné“ pro difúzní proces a nepočítají se do koncentračního gradientu. Následně dojde k zvýšení difúzního toku  $Cu^{2+}$  iontů do huminového gelu, na základě koncentračního gradientu mezi zdrojem a difúzním prostředím.

Za předpokladu, že reakce mezi  $Cu^{2+}$  ionty a huminovými kyselinami je mnohem rychlejší než difúzní proces, můžeme uvažovat vznik lokální rovnováhy mezi volnými a vázanými  $Cu^{2+}$  ionty. Koncentrace obou forem  $Cu^{2+}$  iontů lze dát do poměru a dostáváme rovnovážnou konstantu imobilizace  $Cu^{2+}$  iontů na huminových kyselinách  $K_{im} = 4,79 \pm 0,36$  (obdobně také lze vyjádřit  $K_{iv} = 1,77 \pm 0,29$ ). Obě hodnoty obdobně jako v případě diskuze hodnot partičních koeficientů naznačují, že většina  $Cu^{2+}$  iontů, která je transportována do huminových gelů interaguje nějakou formou s funkčními skupinami HK.

Aplikací extrakčního činidla voda je možné získat z huminových gelů po difúzních experimentech pouze mobilní frakce. Využitím stanoveného efektivního difúzního koeficientu pro extrakci vodou a úpravou rovnice (6) lze určit strukturní faktor huminového gelu  $\mu_t = 0,148 \pm 0,013$  (v tomto případě platí, že  $K_{im} = 0$ ). Hodnoty stanovených rovnovážných konstant  $K_{im}$  respektive  $K_{iv}$  byly dále využity pro přepočítání  $D_{ef}^*$  na  $D_{ef}$ . V případě extrakce pomocí HCl (koncentrace  $1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ ) byla stanovena hodnota  $D_{ef} = (2,41 \pm 0,18) \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , pro  $\text{MgCl}_2$  pak hodnota  $D_{ef} = (1,94 \pm 0,32) \cdot 10^{-10} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . V obou případech v porovnání s hodnotami stanovených  $D_{ef}$  v kapitole 5.1.2 jde o nižší hodnoty, řádově se tyto hodnoty ovšem shodují a sedí mnohem lépe než stanovené  $D_{ef}^*$ .

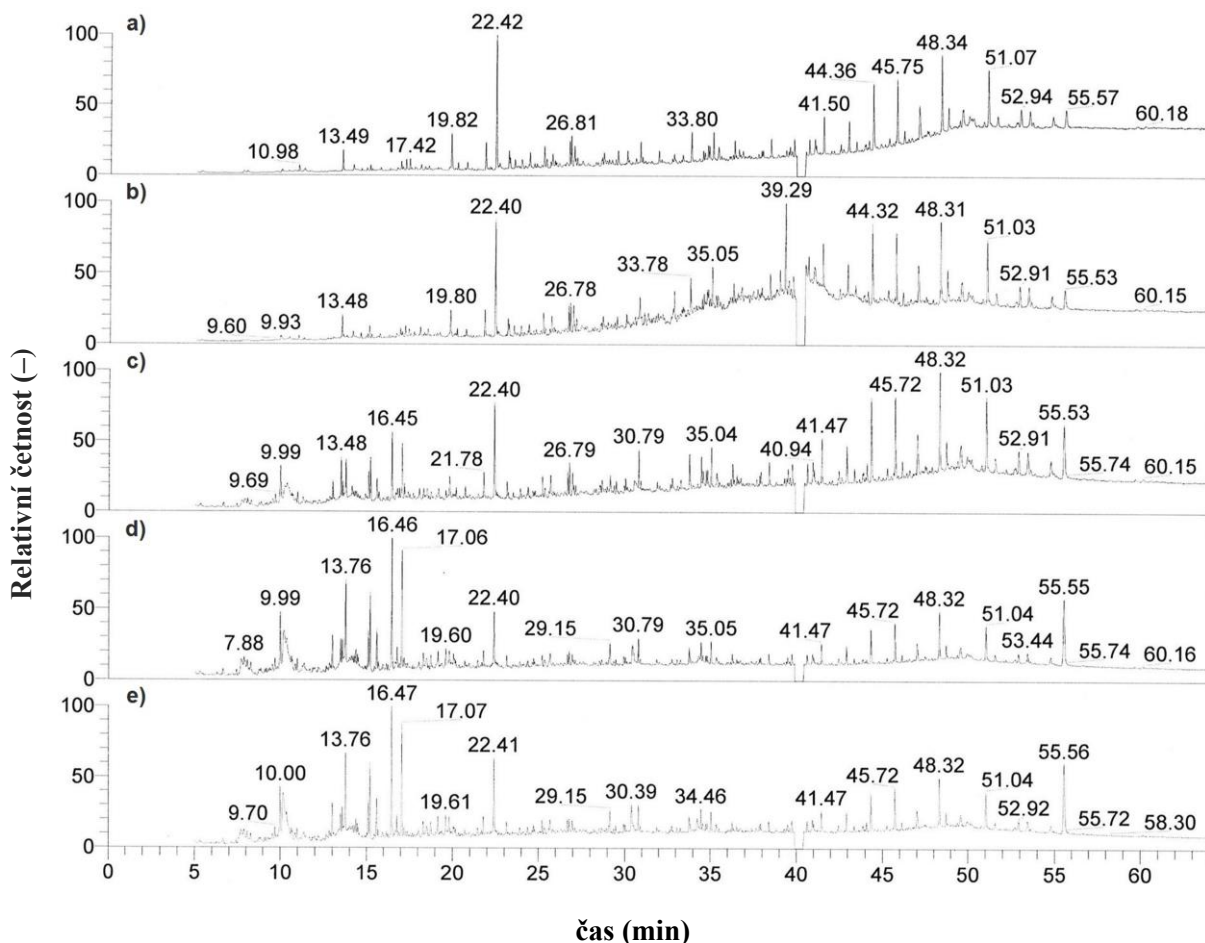
Výsledky této kapitoly potvrdily, že frakční extrakce může být vhodnou metodou pro hlubší studium síly vazby mezi  $\text{Cu}^{2+}$  ionty a huminovými kyselinami. Za předpokladu zvolení správného difúzního modelu a dodržení jeho základních počátečních a okrajových podmínek by bylo možné celkem přesně popsat distribuci  $\text{Cu}^{2+}$  iontů mezi jednotlivými frakcemi na základě síly jejich interakce s huminovými kyselinami. Zvolená kombinace difúzní experimentů se tedy jeví jako velmi výhodná pro studium vzájemných interakcí výše popsaných komponent při transportních procesech.

## 5.2 Studium tranportu organické hmoty

Hlavní myšlenkou této kapitoly bylo studium difúzních procesů z hlediska transportované organické hmoty. Pro tyto účely byly nejprve připraveny dle popisu v kapitole 4.6 jednoduché difúzní experimenty, jejichž prostřednictvím byly transportovány do huminových gelů  $\text{Cu}^{2+}$  ionty a byly tak připraveny vzorky s variabilním koncentračním gradientem  $\text{Cu}^{2+}$  iontů podél gelu. Obdobně jako v kapitole 5.1.2 byly pro jednotlivé doby trvání difúzních experimentů určeny množství  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v závislosti na vzdálenosti od rozhraní zdroj difúze – difúzní prostředí. Po vysušení byly jednotlivé vzorky modifikovány pomocí TMAH respektive TEAAc a podrobeny pyrolýze ( $300$  respektive  $400$  °C). Tato část práce probíhala ve Francii na Universitě de Poitiers pod vedením Assoc. Prof. Laurenta Grassetta. Bližší informace k nastavení experimentů lze nalézt v kapitole 4.6 respektive v práci [26]. Takto připravené vzorky byly analyzovány pomocí GC–MS. Získané chromatografické signály pro příklad difúze probíhající 48 hodin lze nalézt na Obr. 8.

V získaných chromatogramech lze jednotlivé fragmenty molekul rozdělit na dvě základní oblasti. První odpovídá části spektra mezi elučním časem 5 a 20 min. V této oblasti se nachází píky molekul o nízkých molekulových hmotnostech, které byly patrně do huminových gelů transportovány během difúzního procesu. Druhá část připadá na oblast elučních časů vyšších než 20 min. Zde se nachází fragmenty, které odpovídají dobře známým a identifikovaným produktům pyrolýzy lignitu a huminových kyselin extrahovaných z lignitu (viz výše zmíněné aromatické sloučeniny, estery karboxylových kyselin a mastných kyselin, methylethery a fragmenty lineárních uhlovodíků). K nejvýznamnějším fragmentům molekul v chromatogramech patří například skupina esterů mastných kyselin s řetězcí délky  $\text{C}_{20}$ – $\text{C}_{28}$  nacházející se v oblasti elučních časů 40–55 min. [30]. Přítomnost těchto fragmentů mastných kyselin o vysoké molekulové hmotnosti značí částečný původ organické hmoty ve vyšších rostlinách [70]. Dále lze zmínit fragmenty molekul mastných kyselin o uhlíkatých řetězcích  $\text{C}_{15}$ – $\text{C}_{17}$ , které indikují zapojení gram pozitivních bakterií při procesu humifikace HK [71].

Ze získaných výsledků vyplývá, že největší rozdíly mezi vzorky lišícími se v obsahu  $\text{Cu}^{2+}$  iontů se nachází v oblasti eluce malých molekul při časech do 30 minut a dále pak v oblasti eluce fragmentů mastných kyselin (40–50 min).



**Obr. 8:** GC–MS spektra pro extrakty z plátek gelu po difúzních experimentech z roztoku  $\text{CuCl}_2$  o koncentraci  $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$  probíhajících 48 hodin připravené derivatizací pomocí TMAH a) plátek KHG\_a; b) plátek KHG\_b; c) plátek KHG\_c; d) plátek gelu KHG\_d; e) plátek KHG\_e.

Výsledky výše popsané kombinace metod modifikace materiálu pomocí TMAH resp. šetrnějšího TEAAc spolu s následující pyrolýzou, separací vzniklých produktů pomocí GC a detekci pomocí MS se jeví jako velmi výhodné pro potřeby studia transportu organické hmoty během difúzních experimentů. Obecně lze říci, že pro důkladnější identifikaci jednotlivých látek transportovaných během difúzních experimentů spolu s  $\text{Cu}^{2+}$  iontů na základě chemopyrolyzních produktů by bylo zapotřebí důkladnějšího studia zejména oblasti krátkých elučních časů. Tato problematika již ovšem přesahuje rámec tématu této dizertační práce. Výsledky této kapitoly naznačují, že by mohlo jít o zajímavou oblast navazujícího výzkumu.

## 6 ZÁVĚR

Předkládaná dizertační práce se zaměřuje na studium transportu kovových iontů v prostředí obsahujících huminové kyseliny. Huminové kyseliny představují pozoruhodný přírodní materiál, který je předmětem soustavného výzkumu již po mnoho desetiletí. Jsou spoluzodpovědné za úrodnost půd, podílí se na transportu živin k rostlinám a také jsou schopny imobilizovat některé nežádoucí polutanty. Právě vysoká vazebná schopnost pro různorodé látky spolu s výhodně využitelnými fyzikálními a chemickými vlastnostmi a bohatými zásobami předurčuje vysoký aplikační potenciál huminových kyselin v celé řadě oborů. V rámci této dizertační práce byl jako modelový kov, jehož transport byl studován, zvoleny  $\text{Cu}^{2+}$  ionty zejména pro jejich vysokou afinitu k huminovým látkám a komplexačním schopnostem, díky nimž se snižuje jejich biologická dostupnost a toxicita. Jako vhodné medium, ve kterém byl transport  $\text{Cu}^{2+}$  iontů zkoumán, byl zvolen huminový hydrogel. Tato forma huminových kyselin přináší několik výhod. Jednak mechanické vlastnosti huminového gelu umožňují připravit vzorek v přesně definovaných tvarech a velikostech, což je nezbytné pro matematické modelování transportu a výpočet difúzních charakteristik. Další nespornou výhodou je fakt, že se huminové kyseliny v přírodě vyskytují rovněž ve formě nabobtnalých gelů. Studované hydrogelové formy huminových kyselin obsahují ve své struktuře v rozmezí 70–90 % vody. Tedy transport iontů v tomto prostředí je blízký transportu v kapalinách, přesto není díky trojrozměrné struktuře řetězců huminových kyselin tolik ovlivňován prouděním a tepelnými konvekcemi.

Experimentální část dizertační práce se zaměřuje na studium transportu  $\text{Cu}^{2+}$  iontů v huminových gelech s ohledem na další působící parametry (struktura hydrogelu, interakce mezi transportovanou látkou a difúzním prostředím, posouzením vlivu blokace vazebných míst pro  $\text{Cu}^{2+}$  ionty v difúzním prostředí). Inovativní částí je především spojení jednoduchých difúzních experimentů se studiem reaktivity mezi difundující látkou a difúzním prostředím (huminovým gelem). Pro tyto účely byly difúzní experimenty rozšířeny o studium síly vazby mezi  $\text{Cu}^{2+}$  ionty a huminovými kyselinami pomocí frakční extrakce. Aplikací činidel s různou selektivitou vůči  $\text{Cu}^{2+}$  iontům došlo k jejich rozdělení na určité skupiny – frakce. V práci byly definovány a diskutovány tři základní frakce: mobilní, slabě (iontově-výměnná) a silně vázaná. Difúzní experimenty byly posuzovány prostřednictvím jednoduchých difúzních charakteristik (efektivní difúzní koeficient, difúzní tok, partiční koeficient...), které poskytují cenné informace o probíhajících transportních procesech s ohledem na jednotlivé diskutované frakce. Výsledky jasně poukazují na to, že se studovaný systém  $\text{Cu}^{2+}$  ionty – huminový gel projevuje jako vysoce dynamický. Kromě koncentračního gradientu, jakožto hlavní hybné síly difúze, byly v práci diskutovány i další parametry, které ovlivňují jednak transportní proces a rovněž také rozdělení  $\text{Cu}^{2+}$  iontů mezi jednotlivými frakcemi dle způsobu jejich interakce s huminovým gelem. V první řadě byla zkoumána samotná struktura hydrogelu (typ vazeb v hydrogelu, jeho soudržnost, obsah jiných látek...). K dalším významným parametrům, které byly v práci diskutovány, a které je třeba brát v potaz, patří množství vazebných míst. Výsledky jasně poukázaly na naprosto esenciální roli funkčních skupin (zejména karboxylových) na tvorbu interakcí s kovy. Z této dílčí části dizertační práce vyplývá, že selektivní derivatizací karboxylových funkčních skupin huminových kyselin dojde k výraznému ovlivnění transportních dějů v gelech tvořených z modifikovaných huminových kyselin v porovnání s nemodifikovanou obdobou. Z práce rovněž vyplývá, že výrazný vliv na transportní procesy v huminových gelech mají rovněž základní fyzikálně-chemické parametry difúzního prostředí i zdroje difúze (pH, přítomnost nízkomolekulárních iontů, objemová hmotnost hydrogelu, kyselost hydrogelu...).

Během závěrečné diskuze výsledků práce bylo nalezeno několik oblastí, které mohou představovat startovní body dalších navazujících výzkumů. V první řadě jde o podrobnější studium transportu organické hmoty během difúzních experimentů. Zejména vzhledem k faktu, že v této práci se

podařilo prokázat, že během difúzních experimentů dochází k přesunu organické hmoty spolu s transportovanými ionty kovů. Získané výsledky již ovšem neposkytly přesnou odpověď na otázku, jaké molekuly jsou transportovány a v jakém množství. Další oblast, kterou by mohl dále rozvést navazující výzkum je studium probíhajících agregačních procesů v huminových kyselinách. Spojení separačních technik s rozptylem světla a nukleární magnetickou resonancí by jistě poskytlo potřebné informace. Zajímavou oblastí výzkumu by rovněž představovala aplikace diskutovaných difúzních experimentů pro studium transportních pochodů v přírodních neizolovaných maticích (půda, jíly). Toto propojení by poskytlo jistě zajímavé informace, které by přímo napomohly v praktických aplikacích huminových kyselin zejména v oblasti zemědělství a ochrany životního prostředí.

Výsledky této dizertační práce jasně poukazují, že transport kovových iontů v maticích obsahujících huminové kyseliny představuje vysoce komplexní proces, který je ovlivňován mnoha vlivy. Ty je nutno brát v potaz při modelování interakcí huminových kyselin s živinami, polutanty, při studiu jejich chování ve vodných roztocích i vzhledem k jejich aplikačnímu potenciálu.

## 7 LITERATURA

- [1] SCHNITZER, M a KHAN S. U. *Humic substances in the environment*. New York: M. Dekker, 1972, 327 s. ISBN 08-247-1614-0.
- [2] STEVENSON, F. *Humus chemistry: genesis, composition, reactions*. 2nd ed. New York: John Wiley and Sons, c1994, 496 s. ISBN 04-715-9474-1.
- [3] HOFRICHTER, M., STEINBÜCHEL, A.: *Biopolymers – Lignin, Humic substances and Coal*, 1st ed. Wiley-VCH, 2001, ISBN 978-3-527-30290-1.
- [4] VESELÁ, L., KUBAL, M., KOZLER, J., Innemanová, P.: Struktura a vlastnosti přírodních huminových látek typu oxihumolitu. *Chemické listy*. 2005, vol. 99, s. 711–717.
- [5] PICCOLO, A. *Humic substances in terrestrial ecosystems*. New York: Elsevier, 1996, 675 s. ISBN 0444815163.
- [6] CHIN, Y-P., AIKEN, G., O'LOUGHLIN, E. Molecular Weight, Polydispersity, and Spectroscopic Properties of Aquatic Humic Substances. *Environ. Sci. Technol.* 1994, no. 11, vol. 28, s. 1853–1858.
- [7] PODZIMEK, Š. *Light scattering, size exclusion chromatography, and asymmetric flow field flow fractionation: powerful tools for the characterization of polymers, proteins, and nanoparticles*. Hoboken: Wiley, c2011, xii, 359 s. ISBN 978-0-470-38617-0.
- [8] AVENA, M. J., WILKINSON, K. Disaggregation Kinetics of a Peat Humic Acid: Mechanism and pH Effects. *J. Environ. Sci. Technol.* 2002, no. 23, vol. 36, s. 5100–5105.
- [9] LEPPARD, G. G., BURNISON, B. K., BUFFLE, J. Transmission electron microscopy of the natural organic matter of surface waters. *Anal. Chim. Acta.* 1990, vol. 232, s. 107–121.
- [10] LEPPARD, G. G., BUFFLE, J., BAUDAT, R. A description of the aggregation properties of aquatic pedogenic fulvic acids: Combining physico-chemical data and microscopical observations. *Water Res.* 1986, no. 2, vol. 20, s. 185–196.
- [11] REID, P. M., WILKINSON, A., TIPPING, E., JONES, M. N. Determination of molecular weights of humic substances by analytical (UV scanning) ultracentrifugation. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 1990, no. 1, vol. 54, s. 131–138.
- [12] BROWN, W. *Dynamic light scattering: The Method and Some Applications*. Kluwer Clarendon press, Oxford, 2011. ISBN 978-0-19-853942-1.
- [13] HOLOUBEK, J. Some application of light scattering in materials science. *J. Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer.* 2007, vol. 106, s. 104–121.
- [14] PALMER, N. E.; VON WANDRUSZKA, R.: Dynamic Light Scattering Measurements of Particle Size Development in Aqueous Humic Materials. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry.* 2001, vol. 371, s. 951–954.
- [15] PINHEIRO, J. P., MOTA, A. M., GONÇALVES, M. L. S. Complexation study of humic acids with cadmium (II) and lead (II). *Anal. Chim. Acta.* 1994, no. 3, vol. 284, s. 525–537.
- [16] CHEN, Y., SCHNITZER, M. Viscosity Measurements on Soil Humic Substances. *Soil Sci. Soc. Am. J.* no. 6, vol. 40, s. 866–872.
- [17] PICCOLO, A. The supramolecular structure of humic substances. *Soil Science.* 2001, no. 11, vol. 166, s. 810–832.
- [18] GONZÁLES-GAITANO, M., GARCÍA-MÍNA, J. M. In *Humic substances: molecular details and applications in land and water conservation*. Ed. GHABBOUR, E. A., DAVIES,

- G. New York: Taylor and Francis, 2005, 268 s. Powder technology series, v.13. ISBN 15-916-9031-5.
- [19] BAALOUSHA, M., MOTELICA-HEINO, M., LE COSTUMER, P.: Conformation and size of humic substances: Effects of major cation concentration and type, pH, salinity, and residence time. *Colloid and surface A: Physicochem. Eng. Aspects*. 2006, vol. 272, s. 48–55.
- [20] JONES, M. N., BRYAN, N. D., Colloidal properties of humic substances. *Advances in colloid and interface science*. 1998, vol. 78, s. 1–47.
- [21] STEVENSON, I.L., SCHNITZER, M. Transmission electron microscopy of extracted fulvic and humic acids. *Soil Science*, 1982, vol. 133, issue 3, s. 255–262
- [22] MANNING, T.J, Tony BENNETT, T., MILTON, D. Aggregation studies of humic acid using multiangle laser light scattering. *Science of The Total Environment*. 2000, vol. 257, 2-3, s. 171–176.
- [23] TIPPING, E., DAVIES, G. Cation binding by humic substances: molecular details and applications in land and water conservation. 1st ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2002, 268 s. *Powder technology series*, v. 13. ISBN 05-216-2146-1.
- [24] MORITA, H. Facile methylation of humic acids from organic soils, *Canadian journal of chemistry*. 1996, vol. 44, s. 1593–1594.
- [25] GARDEA-TORRESDEY, J. L, TANG, L., SALVADOR, J. M. Copper adsorption by esterified and unesterified fractions of Sphagnum peat moss and its different humic substances. *J Hazard Matter*. 1996, vol. 48, s. 191–206.
- [26] GRASSET, L., GUIGNARD, C., AMBLES, A. Free and esterified aliphatic carboxylic acids in humin and humic acids from a peat sample as revealed by pyrolysis with tetramethylammonium hydroxide or tetraethylammonium acetate. *Org. Geochem*. 2002, vol. 33, s. 181–188.
- [27] SACHS, S., BUBNER, M., SCHMEIDE, K., CHOPPIN, G. R., HEISE, K.H, BERNHARD, G. Carbon-13 NMR spectroscopic studies on chemically modified and unmodified synthetic and natural humic acids. *Talanta*. 2002, vol. 57, s. 999–1009.
- [28] OPEIDA, L. I. The kinetics of oxidation of humic coals in dimethyl sulfoxide. *Solid fuel chemistry*. 2010, no. 2, vol. 44, s. 103–108.
- [29] RICCA, G., SEVERINI, F., SILVESTRO, G. D., YUAN, C. M., ADANI, F. Derivatization and structural studies by spectroscopic methods of humic acids from Leonardite. *Geoderma*. 2000, vol. 98, s. 115–125.
- [30] LAMOUREX, G., AQUERO, C. A comparison of several modern alkylating agents. *Arkivoc*. 2009, vol. 1, s. 251–264.
- [31] PARK, Y., ALBRIGHT, K. J., CAI, Z. Y., Pariza, M. W. Comparison of methylation procedures for conjugated linoleic acid and artifact formation by commercial (trimethylsilyl)diazomethane. *J Agr Food Chem*. 2001, vol. 49, s. 1158–1164.
- [32] LIESER, K. H., HILL, R., MUHLENWEG, U., SINGH, R. N, TU S. D. STEINKOPFF, T. Actinides in the environment. *J Radioanal Nucl Ch*. 1991, vol. 147, s. 117–13.
- [33] CLEWOW, L. M., FAVAS, G., JACKSON, W. R., MARSHALL, M., PATTI, A. F., REDLICH, P. J. Humic acids and methylated humic acids as models for reactions of brown coal with CO/H<sub>2</sub>O and with H<sub>2</sub>. *Fuel*. 1999, vol. 78, s. 567–572.
- [34] TIPPING, E. Modelling ion binding by humic acids. *Colloids and surfaces A: physicochemical and engineering aspects*. 1993, vol. 73, s. 117–131.
- [35] TIPPING, E., HURLEY, M. A. A unifying model of cation binding by humic substances. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1992, no. 18, vol. 56, s. 3627–3641.

- [36] MARTYNIUK, H., WIECKOVSKA, J. Adsorption of metal ions on humic acids extracted from brown coals. *Fuel Process. Technol.* 2003, no. 1–3, vol. 84, s. 23–36.
- [37] MANUNZA, B., DEIANA, S., MADDAU, V., GESSA, C., SEEBER, R. Stability Constants of Metal-Humate Complexes: Titration Data Analyzed by Bimodal Gaussian Distribution. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 1995, vol. 59, s. 1570–1574.
- [38] GHABBOUR, E. A., SHAKER, M., EL-TOUKHY, A., ABID, I. M., DAVIES, G. Thermodynamics of metal cation binding by a solid soil-derived humic acids: Binding of Fe(III), Pb(II), and Cu(II). *Chemosphere*, 2006, vol. 63, s. 477–483.
- [39] KLUČÁKOVÁ, M., PEKAŘ, M. Physical and chemical kinetics in humic dispersions. In *Humic substances: molecular details and applications in land and water conservation*. Ed. GHABBOUR, E. A., DAVIES, G. New York: Taylor and Francis, 2005. ISBN 1–59169–031–5. p. 167–188.
- [40] SEDLÁČEK, P., KLUČÁKOVÁ, M. Simple diffusion method applied in evaluation of metal transport in model humic matrices. *Geoderma*. 2009, no. 1–2, vol. 153, s. 286–292.
- [41] KALINA, M., KLUČÁKOVÁ, M., SEDLÁČEK, P. Utilization of fractional extraction for characterization of the interactions between humic acids and metals. *Geoderma*. 2013, 207–208, s. 92–98.
- [42] KLUČÁKOVÁ, M., KALINA, M., SEDLÁČEK, P., GRASSET, L. Reactivity and transport mapping of Cu(II) ions in humic hydrogels. *Journal of Soils and Sediments*. 2014, vol. 14, issue 2, s. 368–376.
- [43] CUSSLER, E. *Diffusion: mass transfer in fluid systems*. 3rd ed. New York: Cambridge University Press, 2009, 631 s. ISBN 05-218-7121-2.
- [44] CRANK, J.: *The mathematics of Diffusion*, Oxford University Press, 1970. 414 s
- [45] GARCÍA-GUTIÉRREZ, M. a kol.: Overview of laboratory methods employed for obtaining diffusion coefficients in FEBEX compacted bentonite. *J. Iberian Geol.*, 2006, vol. 32, no. 1, s. 37–53.
- [46] HLAVÁČ, Jan. *Základy technologie silikátů*. 2. uprav.vyd. Praha: SNTL, 1981, 516 s.
- [47] SCALLY, S., DAVISON, W., ZHANG, H. Diffusion coefficients of metals and metal complexes in hydrogels used in diffusive gradients in thin films. *Analytica Chimica Acta*. 2006, vol. 558, 1-2, s. 222–229.
- [48] FALK, B., GARRAMONE, S., SHIVKUMAR, S. Diffusion coefficient of paracetamol in a chitosan hydrogel, *Materials Letters*, 2004, no. 26, vol. 58, s. 3261–3265.
- [49] CLIMENT, M. A., DE VERA, G., LÓPEZ, J. F., VIQUEIRA, E., ANDRADE, C. A test method for measuring chloride diffusion coefficients through nonsaturated concrete – Part I. The instantaneous plane source diffusion case. *Cement and Concrete Research*. 2002, no. 7, vol. 32, s. 1113–1123.
- [50] LAUFFER, M. A. Theory of diffusion in gels. *Biophysical Journal*. 1961, no. 3, vol. 1, s. 205–213.
- [51] KLUČÁKOVÁ, M. Huminový gel jako model pro studium transportu těžkých kovů v přírodních systémech. *CHEMagazín*. 2004, no. 3, vol. 14, s. 8–9.
- [52] SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. How the interactions with humic acids affect the mobility of ionic dyes in hydrogels – Results from diffusion cells. *Reactive and Functional Polymers*. 2013, vol. 73, issue 11, s. 1500–1509.
- [53] SEDLÁČEK, P., SMILEK, J., KLUČÁKOVÁ, M. How the interactions with humic acids affect the mobility of ionic dyes in hydrogels – 2. Non-stationary diffusion experiments. *Reactive and Functional Polymers*. 2014, vol. 75, s. 41–50.

- [54] KLUČÁKOVÁ, M., PEKAŘ, M. Transport of copper(II) ions in humic gel - New results from diffusion couple. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2009, no. 1–3, vol. 349, s. 96–101.
- [55] MAIN, I., ARAMBARRI, I., GARCIA, R., MILLÁN, E. Evaluation of heavy metal availability in polluted soils by two sequential extraction procedures using factor analysis. *Environmental pollution*. 2000, vol. 110, s. 3–9.
- [56] TESSIER, A., CAMPBELL, P. G. C., BISSON, M. Sequential Extraction Procedure for the Speciation of Particulate Trace Metals. *Analytical Chemistry*. 1979, vol. 51, s. 844–851.
- [57] ZEIEN, H., BRUEMER, G. W. Chemische Extraktionen zur Bestimmung von Schwermetallbindungsformen in Böden. *Berichte aus der Oekologischen Forschung*. 1991, vol. 6, s. 62–91.
- [58] RAURET, G. Extraction procedures for the determination of heavy metals in contaminated soil and sediment. *Talanta*. 1998, vol. 46, s. 449–455.
- [59] GROENFLATEN, L. K., STEINNES, E., Comparison of Four Different Extraction Methods to Assess Plant Availability of Some Metals in Organic Forest Soil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 2005, vol. 36, s. 2699–2718.
- [60] URE, A. M. Single extraction schemes for soil analysis and related applications. *The science of the total environment*. 1996, vol. 178, s. 3–10.
- [61] SLAVEK, J., WOLD, J., PICKERING, W. F. Selective extraction of metal ions associated with humic acids. *Talanta*. 1982, no. 9, vol. 29, s. 743–749.
- [62] SWIFT, R.S. IHSS: Isolation of IHSS Soil Fulvic and Humic Acids. In: *IHSS: Natural Organic Matter Research* [online]. 2013 [cit. 2014-07-31]. Available from: <http://www.humicsubstances.org/soilhafa.html>
- [63] TIPPING, E. *Cation binding by humic substances*. 1st ed. Cambridge: Cambridge University Press, 2005. ISBN 978-052-1675-659.
- [64] KOOPAL, L. K., GOLOUB, T. P., DAVIS, T. A. Binding of ionic surfactants to purified humic acid. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2004, vol. 275, issue 2, pp. 360-367.
- [65] CARTER, Ch. W., SUFFET, I. H. Binding of DDT to dissolved humic materials. *Environmental Science*. 1982, vol. 16, issue 11, s. 735–740.
- [66] CIHLÁŘ, Z., VOJTOVÁ, L., CONTE, P., NASIR, S., KUČERÍK, J.. Hydration and water holding properties of cross-linked lignite humic acids. *Geoderma*. 2014, vol. 230-231, s. 151–160.
- [67] ChemicalBook: Copper(II) chloride dihydrate [online]. 2010. vyd. 2008, 2008 [cit. 2014-08-20]. Dostupné z: [http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty\\_EN\\_CB1397116.htm](http://www.chemicalbook.com/ChemicalProductProperty_EN_CB1397116.htm)
- [68] SEDLÁČEK, P. *Hydrogely huminových kyselin – experimentální model i aplikační forma*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2009. 139 s. Vedoucí dizertační práce: doc. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.
- [69] LIDE, D. R. *Handbook of chemistry and physics*. 76 ed. New York: CRC Press, 1995. ISBN 08-493-0476-8.
- [70] KOLATTUKUDY, P. *Chemistry and biochemistry of natural waxes*. New York: Elsevier Scientific Pub. Co., 1976, xx, 459 p. ISBN 04-444-1470-3.
- [71] ZELLES, L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biology and Fertility of Soils*. 1999-5-5, vol. 29, issue 2, s. 111-129.

## 8 ŽIVOTOPIS

### Osobní informace

Jméno a příjmení Michal Kalina  
Adresa U Stadionu 6, Oslavany, 664 12, Czech Republic  
Datum narození 10. 11. 1985  
Národnost česká  
E-mail xckalina@fch.vutbr.cz

### Vzdělání

2010 – nyní Ph.D. VUT v Brně, Fakulta chemická  
Obor: Fyzikální chemie  
2005 – 2010 Ing. VUT v Brně, Fakulta chemická  
Obor: Spotřební chemie  
Téma diplomové práce: Využití průtokové coulometrie ve studiu transportu kovových iontů v huminových gelech.  
1997–2005 Gymnázium Jana Blahoslava, Ivančice  
Obor: všeobecné gymnázium

### Pracovní zkušenosti

2011 – nyní Centrum materiálového výzkumu, Fakulta chemická, VUT v Brně,  
pozice: výzkumný pracovník/Ph.D. student

### Stáž

2013 (2 týdny) Université de Poitiers – Poitiers, Francie

### Články v impaktovaných časopisech

KALINA, M.; KLUČÁKOVÁ, M.; SEDLÁČEK, P. Utilization of fractional extraction for characterization of the interactions between humic acids and metals. *Geoderma*. 2013. 207-208(10). p. 92 - 98. ISSN 0016-7061.

KLUČÁKOVÁ, M.; KALINA, M.; SEDLÁČEK, P. Reactivity and transport mapping of Cu(II) ions in humic hydrogels. *Journal of Soils and Sediments*. 2014. 14(2). p. 368 - 376. ISSN 1439-0108.

BOJNANSKA, E.; KALINA, M.; PARIZEK, L.; BARTONICKOVA, E.; OPRAVIL, T.; VESELY, M.; PEKAR, M.; JAMPILEK, J. Determination of Critical Parameters of Drug Substance Influencing Dissolution: A Case Study. *BioMed Research International*. 2014, vol. 2014, p. 1-9. ISSN 2314-6133.

SIMULESCU, V.; MONDEK, J.; KALINA, M.; PEKAŘ, P. Kinetics of long-term degradation of different molar mass hyaluronan solutions studied by SEC-MALLS. *Polymer Degradation and Stability*. 2015, vol. 111, p. 257-262. ISSN 0141-3910.

### Konferenční příspěvky

SMILEK, J.; KLUČÁKOVÁ, M.; SEDLÁČEK, P.; KALINA, M. The Impact of Methylation of IHSS Humic Acids on the Reactivity Studied by Diffusion Techniques. *Natural Organic Matter: Structure- Dynamics Innovative Applications*. Ioannina: 2014. s. 152-153.

- SMILEK, J.; SEDLÁČEK, P.; KLUČÁKOVÁ, M.; KALINA, M.; ENEV, V. Methylation of humic acids - the impact on the reactivity studied by diffusion techniques. In XIV. pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků - Sborník příspěvků. Brno: Masarykova univerzita, 2014. s. 137-141. ISBN: 978-80-210-6842-1.
- KLUČÁKOVÁ, M.; KALINA, M.; SEDLÁČEK, P. Reactivity and transport mapping of Cu(II) ions in humic hydrogels. *J. of Soils and Sed.*, 2014, roč. 14, č. 2, s. 368-376. ISSN: 1439-0108.
- KALINA, M.; SMILEK, J.; KLUČÁKOVÁ, M. Light Scattering Techniques Applied for the Study of Aging of Biopolymers and Biocolloids. CEITEC Annual Conference - "Frontiers in Materials and Life Sciences". Brno: Masaryk Un., 2014. s. 143-143. ISBN: 978-80-210-7159-9.
- KALINA, M.; KLUČÁKOVÁ, M.; ENEV, V. Influence of Different Sources of Humic Acids, Applied Pre- treatment and Modifications on Their Behaviour in Aqueous Solutions. *Natural Organic Matter: Structure- Dynamics Inovative Application*. Ioannina, Greece: 2014. s. 275-276.
- KALINA, M.; CHYTILOVÁ, A.; KLUČÁKOVÁ, M. Studium Agregace Huminových Kyselin Pomocí Technik Rozptylu Světla. In *Studentská vědecká konference 2014 Přírodovědecké fakulty Ostravské univerzity v Ostravě*. Ostrava: Ostravská Univerzita v Ostravě, 2014. s. 1-4. ISBN: 978-80-7464-359-0.
- KALINA, M.; CHYTILOVÁ, A.; KLUČÁKOVÁ, M. Deeper Research of Structural Changes of Humic Acids Using Light Scattering Techniques. In XIV. Pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků - sborník příspěvků. Brno: Masarykova univerzita v Brně, 2014. s. 59-63. ISBN: 978-80-210-6842-1.
- KLUČÁKOVÁ, M.; KALINA, M. Transport of Cu(II) ions in humic gels - influence of reactive functional groups of humic acids. *ECIS 2014 28 th Conference of The European Colloid and Interface Society*. Haifa: Technion Israel Institute of Technology, 2014. s. 70-70.
- KALINA, M.; KLUČÁKOVÁ, M.; VĚŽNÍKOVÁ, K. Development of Size of Humic Particles in Aqueous Solutions. *Organic Geochemistry: Trends for the 21st.* Tenerife: 2013. s. 533-534.
- KALINA, M.; KLUČÁKOVÁ, M. Využití velikosti částic a zeta potenciálu jako parametrů pro charakterizaci huminových kyselin ve vodných roztocích. Časové změny půdních vlastností a jejich predikce. 1. Brno: Mendlova univerzita v Brně, 2013. s. 53-53. ISBN: 978-80-7375-796.
- CHYTILOVÁ, A.; KALINA, M.; KLUČÁKOVÁ, M. Konformace huminových kyselin ve vodných roztocích. In *Studentská konference Chemie je život - Sborník příspěvků*. Brno: VUT v Brně, 2013. s. 63-68. ISBN: 978-80-214-4823-0.
- KALINA, M.; SMILEK, J.; KLUČÁKOVÁ, M. Aging of biopolymers and biocolloids studied by light scattering techniques. In *Studentská konference Chemie je život - Sborník příspěvků*. Brno: VUT v Brně, 2013. s. 300-305. ISBN: 978-80-214-4823-0.
- KOVÁŘ, D.; FOHLEROVÁ, Z.; MALÁ, A.; JIŘÍK, R.; STARČUK, Z.; KALINA, M.; SKLÁDAL, P. The Synthesis, Surface Modification and Stability of SPIO Nanoparticles for MRI Application. *Nanocon 2013 - Conference proceedings*. 1. Brno: TANGER Ltd., 2013. s. 113-113. ISBN: 978-80-87294-44-4.
- KALINA, M.; KLUČÁKOVÁ, M.; MAYET, N.; SMILEK, J. Behaviour of Humic Acids in Aqueous Solutions. In XIII. Pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků - sborník příspěvků. Brno: Mendlova univerzita v Brně, 2013. s. 171-172. ISBN: 978-80-7375-757-1.
- KALINA, M.; KLUČÁKOVÁ, M.; VĚŽNÍKOVÁ, K. Utilization of DLS for the study of behavior of humic acids in aqueous solutions. In *Studentská konference Chemie je život - Sborník příspěvků*. Brno: FCH VUT v Brně, 2012. s. 310-315. ISBN: 978-80-214-4425-6.
- KALINA, M.; KLUČÁKOVÁ, M.; SEDLÁČEK, P. Influence of Reactivity of Humic Acids on Transport Behavior of Copper(II) Ions. In *Function of Natural Organic Matter in Changing*

Environment. Springer. Zhejiang: Springer- Verlag GmbH, 2012. s. 324-326. ISBN: 978-94-007-5633-5. ISSN: 1432-0681.

KALINA, M.; KLUČÁKOVÁ, M.; LANG, D.; GRUNT, J.; SEDLÁČEK, P. Reactivity and mobility of Cu(II) ions in humic gels. In XI. pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků - sborník. Brno: Mendelova Univerzita v Brně, 2012. s. 87-89. ISBN: 978-80-7375-618-5.

KALINA, M.; KLUČÁKOVÁ, M.; VĚŽNÍKOVÁ, K. Dynamic light scattering study of particle size development of humic acids. In 16th Conference on Environment and Mineral Processing. Ostrava: VŠB- TU Ostrava, 2012. s. 97-102. ISBN: 978-80-248-2688-2.

KALINA, M.; KLUČÁKOVÁ, M.; SEDLÁČEK, P. Utilization of Fractional Extraction for Characterization of the Interactions Between Humic Acids and Metals. In XI pracovní setkání fyzikálních chemiků a elektrochemiků. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2011. s. 158-161. ISBN: 978-80-7375-514-0.

KALINA, M.; KLUČÁKOVÁ, M.; SMITALOVÁ, M. Influence of the modification of humic acids on their reactivity. Chemické listy. Brno: Czech Chemical Society, 2011. s. 895-895. ISSN: 0009-2770.

KALINA, M.; KLUČÁKOVÁ, M.; POTOČKOVÁ, J. Application of fractional and sequential extraction for the study of the interactions between humic acids and metals. 13th European Student Colloid Conference. Göteborg: Chalmers Reproservice Göteborg, 2011. s. 57-57.

KALINA, M.; SEDLÁČEK, P.; KLUČÁKOVÁ, M. Non- stationary fractionation of diffusing metal ions in reactive humic matrices. In X. Workshop of Physical Chemists and Electrochemists 2010. Brno: Masarykova univerzita, Mendelova univerzita, 2010. s. 111-112. ISBN: 978-80-7375-396-2.

SEDLÁČEK, P.; KALINA, M.; KLUČÁKOVÁ, M.; ESTOURNEL, C.; GRASSET, L. Interconnection between reactivity and permeability of model humic environments. In 14th Conference on Environment and Mineral Processing. Part I.150. Ostrava: Publishing services department, VŠB-TU Ostrava, 2010. s. 199-204. ISBN: 978-80-248-2208-2.

### **Další vybrané aktivity a ocenění**

vedení bakalářských prací studentů (5 studentů)

konzultace bakalářských a diplomových prací studentů

výuka: Chemická informatika I a II (2012–nyní)

výuka: Praktika z fyzikální chemie I (2013)

pracovní stáž Université de Poitiers – 2 týdny, Poitiers, Francie (2013)

kurz kapalinová chromatografie – teorie, údržba, měření; Praha (2014)

školení MALS – Dernbach, Německo (2013)

kurz měření a interpretace infračervených spekter – Praha (2012)

optimalizace technik rozptylu světla pro charakterizaci biopolymerů (2012–2014)

nové experimentální techniky pro stanovení difuzivity v huminových gelech (2012–2013)

aplikace metody průtokové coulometrie pro studium difúze kovů v huminových gelech (2010)

IHSS travel award na konferenci v Hangzhou, Čína (2013)

Cena Rektora VUT v Brně za diplomovou práci (2010)