

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

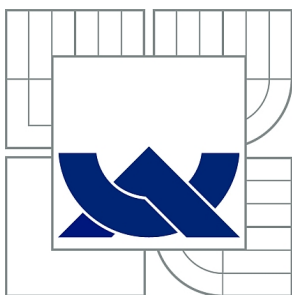
SÍLA VAZBY KOVOVÝCH IONTŮ V HUMINOVÝCH GELECH

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

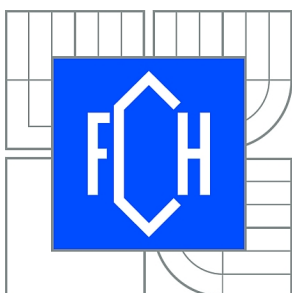
JANA POTOČKOVÁ

BRNO 2011



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

SÍLA VAZBY KOVOVÝCH IONTŮ V HUMINOVÝCH GELECH

BOND STRENGTH OF METAL IONS IN HUMIC GELS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

JANA POTOČKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. MARTINA KLUČÁKOVÁ,
Ph.D.

BRNO 2011



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

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0525/2010	Akademický rok: 2010/2011
Ústav:	Ústav fyzikální a spotřební chemie	
Student(ka):	Jana Potočková	
Studijní program:	Chemie a chemické technologie (B2801)	
Studijní obor:	Spotřební chemie (2806R002)	
Vedoucí práce	doc. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.	
Konzultanti:	Ing. Michal Kalina	

Název bakalářské práce:

Síla vazby kovových iontů v huminových gelech

Zadání bakalářské práce:

1. Shromáždit literární poznatky o metodách studia síly vazby kovových iontů v huminových látkách.
2. Seznámit se s experimentálními technikami studia síly vazby.
3. Navrhnout a provést základní experimenty.
4. Zhodnotit výsledky.

Termín odevzdání bakalářské práce: 6.5.2011

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

Jana Potočková
Student(ka)

doc. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.
Vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2011

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato práce se zabývá studiem síly vazby mědi v huminových gelech. Během studia byly použity dvě metody extrakce, kontinuální a frakční. Během frakční extrakce probíhá vyluhování mědi v jednotlivých činidlech, zatímco během kontinuální extrakce probíhá vyluhování postupně ve všech extrakčních činidlech. Jako extrakční činidla byly použity destilovaná voda, 1M MgCl₂, 1M HCl a 0,025M NH₄EDTA. UV-VIS spektrometrií byla měřena množství Cu²⁺ iontů ve výluzích po extrakci. Použitými extrakcemi bylo dosaženo frakcionace Cu²⁺ iontů podle síly vazby v huminovém gelu.

ABSTRACT

This thesis deals with the study of bond strength of Cu²⁺ ions in humic gels. Two methods of extraction were used during the study, sequential and fractional extractions. During the fractional extraction leaching of copper proceeds in single agents, whereas during the sequential extraction leaching proceeds gradually in all extraction agents. Distilled water, 1M MgCl₂, 1M HCl and 0,025M NH₄EDTA were applied like extraction reagents. Amounts of Cu²⁺ ions in leaches after extraction were measured by UV-VIS spectrometry. By using extractions was obtained the fractionation of Cu²⁺ ions according to bond strength in humic gel.

KLÍČOVÁ SLOVA

Huminové látky, extrakce mědi, gely, kontinuální extrakce, frakční extrakce

KEY WORDS

Humic substances, extraction of copper, gels, sequential extraction, fractional extraction

POTOČKOVÁ, J. *Síla vazby kovových iontů v huminových gelech*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 35 s. Vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Martina Klučáková, Ph.D..

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

Tato práce byla podpořena projektem "Centrum materiálového výzkumu na FCH VUT v Brně" č. CZ.1.05/2.1.00/01.0012 z ERDF. Tímto bych ráda poděkovala vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Martině Klučákové, Ph.D. a Ing. Michalu Kalinovi za cenné rady a čas, který mi věnovali.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1	Huminové látky	8
2.1.1	Úvod	8
2.1.2	Definice huminových látek	9
2.1.3	Vznik huminových látek	9
2.1.3.1	<i>Ligninová teorie</i>	9
2.1.3.2	<i>Polyfenolová teorie</i>	10
2.1.3.3	<i>Kondenzace cukrů s aminy</i>	10
2.1.4	Struktura huminových látek	11
2.1.4.1	<i>Prvkové složení huminových látek</i>	11
2.1.4.2	<i>Funkční skupiny</i>	11
2.1.5	Vazebné interakce	11
	<i>Iontová vazba</i>	12
	<i>Koordinační vazba</i>	12
	<i>Kovalentní vazba</i>	12
	<i>Vodíkové můstky</i>	12
	<i>Hydrofóbní interakce</i>	12
2.1.6	Interakce s minerálními složkami	12
	<i>Soli nízkomolekulárních organických kyselin</i>	12
	<i>Soli alkalických kovů a kovů alkalických zemin</i>	12
	<i>Komplexy s kovy</i>	12
	<i>Organické komplexy s jíly</i>	13
2.1.7	Využití	13
2.2	Gely	14
2.2.1	Disperzní soustavy	14
2.2.1.1	<i>Dělení disperzních soustav</i>	14
2.2.1.2	<i>Koloidně disperzní soustavy</i>	14
2.2.2	Gely	15
2.2.2.1	<i>Vznik gelů</i>	15
2.2.2.2	<i>Dělení gelů</i>	15
2.2.2.3	<i>Reverzibilní gely</i>	15
2.2.2.4	<i>Ireverzibilní gely</i>	17
2.2.2.5	<i>Vlastnosti gelů</i>	17
2.3	Extrakce	18
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	20
3.1	Chemikálie a použítá zařízení	20
3.1.1	Chemikálie	20
3.1.2	Přístroje a vybavení	20
3.1.3	Software	20
3.2	Příprava huminových kyselin	20
3.3	Příprava huminového gelu	20
3.4	Charakterizace huminových kyselin a huminového gelu	21
3.5	Příprava gelů s inkorporovanými měďnatými ionty	21

3.6	Metody analýzy.....	21
3.6.1	Ultrafialová a viditelná spektrometrie.....	21
3.6.2	Infračervená spektrometrie.....	22
3.6.3	Potenciometrie.....	22
3.6.4	Konduktometrie.....	22
3.7	Extrakční experimenty.....	23
3.7.1	Rozpouštění gelu.....	23
3.7.2	Vliv doby extrakce a objemu extrakčního činidla.....	23
3.7.3	Studium síly vazby mědi v huminových gelech	23
	<i>Síla vazby mědi</i>	23
	<i>Charakterizace huminových gelů</i>	23
4	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	24
4.1	Charakterizace huminových kyselin a huminového gelu	24
4.2	Extrakční experimenty	24
4.2.1	Rozpouštění gelu.....	24
4.2.2	Vliv doby extrakce a objemu extrakčního činidla.....	26
4.2.3	Studium síly vazby mědi v huminových gelech	28
	<i>Síla vazby mědi</i>	28
	<i>Charakterizace huminových gelů</i>	29
5	ZÁVĚR.....	33
6	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	34
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	35

1 ÚVOD

Huminové kyseliny jsou přírodní polymery hnědé až černé barvy, které vznikají rozkladem biologického materiálu. V přírodě se nejčastěji vyskytují v půdách, kde jsou nezbytnou složkou. HK je možné využít v mnoha oborech díky jejich pozitivnímu účinku na půdu. I přes neustálé studie těchto látek jsou znalosti o jejich chemické reaktivitě nedostačující. Vlastnosti, struktura a chemická reaktivita jsou důležité znalosti k pochopení funkce HK v půdě a jiných přírodních materiálech.

HK jsou různorodé směsi látek, proto je nelze popsat jedním obecným strukturním vzorcem. Právě znalost stavebních složek HL a vztahů mezi těmito složkami je důležitá, protože je jimi dána biologická funkce těchto látek. Hlavními funkčními skupinami obsaženými v těchto látkách jsou karboxylové a fenolické skupiny, které se podílejí na schopnosti HK tvořit komplexy s kovy a jinými toxickými látkami. Tato schopnost je využitelná v oblasti ochrany životního prostředí.

Proto hlavním úkolem této práce bylo zkoumání síly vazby měďnatých iontů v huminových gelech. Měď tvoří s HK velmi stabilní komplexy, proto byla vybrána pro studium síly vazby.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Huminové látky

2.1.1 Úvod

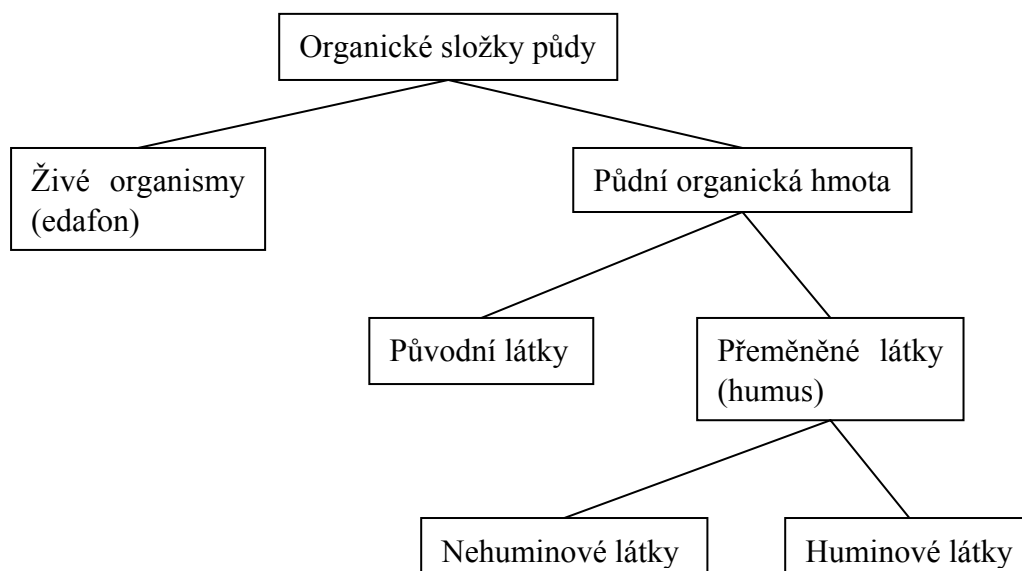
Už od dávných dob zemědělci rozpoznávali významné výhody působení organické hmoty na úrodnost půdy. Tyto výhody byly předmětem diskuze po staletí. Úrodnost půdy není podmíněna jenom organickou hmotou, ale i jinými půdními faktory. Ve skutečnosti je půda komplex, mnohosložkový systém navzájem se ovlivňujících látek, a vlastnosti půdy vyplývají ze síťového efektu těchto interakcí.¹

Jedním z hlavních problémů diskuze v oblasti huminových látek (HL) je nepřesná definice pro nejednoznačně specifikované složky půd. Velkou nevýhodou je, že neexistuje jednotná terminologie. Termín humus je užíván vědci, kteří se zabývají půdou, jako synonymum pro půdní organickou hmotu. Je tak označován veškerý organický materiál v půdě včetně HL. Současně je tento termín často užíván pro označení pouze HL.¹

Termín půdní organická hmota je obecně používán pro označení organických složek v půdě zahrnující nerozložené části rostlin a živočišné tkáně, produkty jejich částečného rozkladu a půdní biomasu. Tedy tento termín zahrnuje:¹

1. identifikovatelné organické látky s vysokou molekulovou hmotností, jako jsou polysacharidy a proteiny,
2. jednodušší látky, jako jsou cukry, aminové kyseliny a další malé molekuly,
3. huminové látky.

Půdní organická hmota se dělí na přeměněné látky (humus) a na ty, které zůstaly v nezměněné formě. Humus se skládá z huminových látek a nehuminových látek. Nehuminové látky jsou všechny ty látky, které mohou být zařazeny v jedné z kategorií jednodušších látek, jako jsou cukry, aminové kyseliny, tuky a další. Huminové látky jsou ostatní neidentifikovatelné složky. Rozdělení půdní organické hmoty je znázorněno na Obr. 1.



Obr. 1 Rozdělení organické složky půdy podle Webera¹

2.1.2 Definice huminových látek

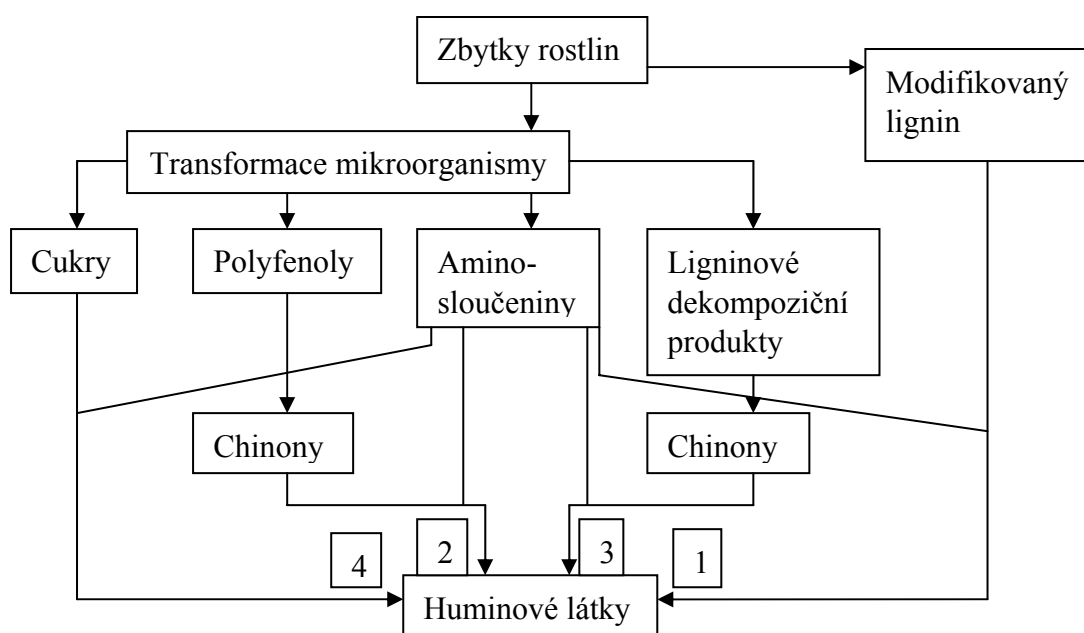
HL jsou přírodní organické sloučeniny o relativně vysoké molekulové hmotnosti, hnědé až černé barvy. Vznikají chemickým nebo biologickým rozkladem zbytků rostlin, živočichů a biologickou činností mikroorganismů. Mezi HL patří:¹

- *humínové kyseliny* (HK) – frakce, které nejsou rozpustné v kyselém vodném prostředí ($\text{pH} < 2$), ale jsou rozpustné při vyšších hodnotách pH
- *fulvínové kyseliny* (FK) – frakce, které jsou rozpustné ve vodě s jakoukoliv hodnotou pH
- *huminy* – frakce, které nejsou rozpustné při žádné hodnotě pH

V přírodě se nejčastěji vyskytují v půdách, rašelině, lignitu, hnědém uhlí a jiných přírodních hmotách. HL jsou aplikovatelné v celé řadě oborů, a to díky pozitivním fyzikálním, chemickým a biologickým účinkům v půdě. A proto jsou také v posledních letech předmětem mnoha výzkumů.²

2.1.3 Vznik huminových látek

Vznik HL je jedna z nejméně prostudovaných oblastí chemie huminových látek. Existuje několik způsobů vzniku během procesu rozkladu rostlinných a živočišných zbytků v půdě. Nejdůležitější z nich jsou znázorněny na Obr. 2.¹



Obr. 2 Mechanismus vzniku huminových látek v půdě podle Webera¹

Všechny tyto způsoby probíhají v půdě současně, ale v různém rozsahu a s různou důležitostí, podle místa výskytu a druhu sedimentu. Například ligninový způsob vzniku HL převládá ve vlhkých půdách, zatímco polyfenolový způsob zase převládá v půdách pralesů.¹

2.1.3.1 Ligninová teorie

Mnoho let se předpokládalo, že huminové látky byly odvozeny z ligninu. Podle této teorie je lignin částečně odbourán mikroorganismy a zbytek se stává součástí půdního humusu. Modifikace ligninu zahrnuje ztrátu methoxylových skupin ($-\text{OCH}_3$) s vytvořením

o-hydroxyfenolů a oxidací bočních alifatických řetězců vznikají karboxylové skupiny (–COOH).

Zastáncem ligninové teorie byl především Waksman, který formuloval následující skutečnosti:¹

- lignin i HK jsou hůře rozložitelné a obojí se rozkládají houbami a bakteriemi,
- lignin i HK jsou částečně rozpustné v alkoholu a pyridinu,
- lignin i HK jsou rozpustné v alkáliích a sráží se kyselinami,
- lignin i HK obsahují methoxylové skupiny (–OCH₃),
- lignin i HK mají kyselou povahu,
- při zahřívání ve vodných roztocích alkálií je lignin transformován na HK, které obsahují methoxylové skupiny,
- HK se svými vlastnostmi podobají oxidovaným ligninům.

V běžných aerobních půdách může být lignin přeměňován na huminové látky anebo odbourán na nízkomolekulární produkty. Houby, které degradují lignin, se nevyskytují v příliš vlhkých sedimentech. Tedy tento způsob vzniku HL probíhá z větší části v humusu rašelinišť, jezerních sedimentů a špatně odvodnitelných půd.¹

2.1.3.2 Polyfenolová teorie

Tento způsob vzniku HL má dvě cesty. V první z nich lignin hraje důležitou roli při syntéze HL, ale jiným způsobem než v předchozí teorii. V tomto případě fenolické aldehydy a kyseliny, uvolněné z ligninu během jeho mikrobiologického rozkladu, podléhají enzymatické přeměně na chinony, které polymerizují na makromolekuly podobné HL. Flaigův návrh vzniku humusu obsahuje oxidační štěpení ligninu za vzniku primárních strukturních jednotek (deriváty fenylypropanu), oxidaci bočních řetězců, demethylaci, katalyzovanou (polyfenoloxidáza) přeměnu polyfenolů na chinony a reakci chinonu se sloučeninami obsahujícími dusík za vzniku tmavě zbarvených polymerů.¹

Druhá cesta se liší způsobem, jakým jsou polyfenoly syntetizovány mikroorganismy z neligninových zdrojů uhlíku (např. z celulózy). Možnými zdroji fenolů pro vznik HL jsou lignin, mikroorganismy, nevázané fenoly v rostlinách a tanniny.¹

Vznik tmavě zbarvených sloučenin reakcemi, zahrnujícími chinony, není ojedinělým případem v přírodě. Například se podílejí na vzniku melaninu ve zralém ovoci a zelenině po mechanickém poškození a během vzniku osetení.¹

2.1.3.3 Kondenzace cukrů s aminy

Názor, že HL vznikají z cukrů, pochází už od počátku chemie huminových látek. Podle tohoto způsobu redukující cukry a aminokyseliny, vzniklé jako produkty mikrobiálního metabolismu, podléhají neenzymatické polymeraci, při které vznikají hnědé dusíkové polymery. Hlavní zápornou stránkou této teorie je, že při teplotách vyskytujících se v normálních půdách probíhá reakce poněkud pomaleji. Avšak drastické a časté změny podmínek v půdách, dohromady s přítomností minerálních látek majících katalytický účinek, mohou naopak reakci urychlit. Pozitivní stránkou této teorie je, že prostřednictvím mikrobiálního metabolismu vzniká velké množství reaktantů (např. cukrů, aminokyselin).¹

Počáteční reakce v této teorii je adice aminu na aldehydickou skupinu cukru za vzniku N-substituovaného glykosylaminu. Z něho postupně vznikají trojuhlíkové aldehydy a ketony, které potom vytvářejí reduktony a hydroxymethylfurfuryly. Všechny tyto sloučeniny jsou

vysoce reaktivní a v přítomnosti aminosloučenin snadno polymerují za vzniku hnědě zbarvených produktů.¹

2.1.4 Struktura huminových látek

I přestože se studiu HL věnuje velmi mnoho času, tak znalosti o struktuře těchto látek jsou stále nedostačující. HL není možné popsat jedním obecným strukturním vzorcem, protože jsou to různorodé směsi sloučenin.¹ Znalost stavebních složek HL a vztahů mezi těmito složkami je důležitá, protože je jimi dána biologická funkce těchto látek.³

2.1.4.1 Prvkové složení huminových látek

Obsah prvků v huminových látkách závisí na druhu půdy, ze které jsou tyto látky izolovány. Hlavními prvky obsaženými v HL jsou uhlík, kyslík. Obsah uhlíku se pohybuje v rozmezí 53,6 hmot. % až 58,7 hmot. %. V případě fulvinových kyselin se zvyšuje obsah kyslíku (39,7–49,8 hmot. %) za současného snižování obsahu uhlíku (40,7–50,6 hmot. %). V menším množství je potom obsažen vodík (3,2–7 hmot. %), dusík (0,8–5,5 hmot. %), síra (0,1–3,6 hmot. %) a fosfor. V praxi se prvkové složení často udává v poměrech H/C a O/C. Tyto poměry jsou považovány za nejlepší indikátor HL a také umožňují odhadnout zastoupení funkčních skupin v molekule. Nižší hodnoty poměru O/C a H/C mohou znamenat vyšší zastoupení kyslíkatých funkčních skupin (např. –COOH) a cukerných složek, dále naznačují vyšší příspěvek alifatických složek v molekule.⁴

Z hlediska funkčních skupin u HK připadá větší část kyslíku na chinon než na karboxylové, karbonylové a hydroxylové skupiny. U FK naopak připadá více kyslíku na ketonické skupiny. Významným rozdílem je, že téměř všechn vázaný kyslík ve FK je obsažen ve funkčních skupinách. Naproti tomu u HK je většina kyslíku součástí hlavního jádra molekuly.¹

2.1.4.2 Funkční skupiny

Hlavními kyselými skupinami v HK a FK jsou karboxylové a fenolické OH skupiny. Alkoholové OH a karbonylové (C=O) skupiny jsou také hojně obsaženy, kdežto methoxylové (OCH₃) skupiny se nacházejí v menších množstvích. Celková kyselost, zejména obsah skupiny COOH, a obsah alkoholové OH skupiny ve FK jsou znatelně vyšší než ty u HK. Jak HK tak i FK obsahují přibližně stejné koncentrace fenolických OH, všech C=O a OCH₃ skupin. Avšak obsah C=O skupin se mění poměrně hodně, zejména v případě HK. V podstatě všechn kyslík ve většině půdních FK je obsažen ve funkčních skupinách obsahujících kyslík, zatímco menší část byla obnovena v těchto skupinách ve většině HK. Schnitzer a Desjardins v roce 1966 zjistili, že během tvoření humusu se obsah COOH a C=O skupin zvyšuje, zatímco obsah fenolických, alkoholových OH a OCH₃ skupin klesá.⁴

2.1.5 Vazebné interakce

Z hlediska využitelnosti huminových látek v oblasti ochrany životního prostředí je důležitá znalost možných vazebných interakcí těchto látek s kontaminujícími látkami přítomnými v prostředí. Přibližnou představu o možných vazebných interakcích lze odvodit z dosud známých informací o struktuře a z ostatních vlastností huminových látek. Na základě dostupných informací můžeme předpokládat několik typů vazebných interakcí mezi huminovými látkami a cizorodými látkami (kontaminanty přítomné v půdě).⁵

Iontová vazba

Tento typ vazby vychází z působení elektrostatických sil mezi fixními náboji přítomných funkčních skupin a ionty vyskytujícími se v roztoku. Vznik elektrostatické vazby se může u HL vyskytovat v případě alkalických kovů a amoniaku.⁵

Koordinační vazba

Z hlediska imobilizace toxických kovů představuje nejdůležitější typ vazebné interakce koordinační vazba mezi makromolekulovými maticemi HL a ionty kovů schopnými tento typ vazby uskutečňovat. Potenciál vzniku těchto vazeb je dán značným zastoupením karboxylových, fenolických a dalších funkčních skupin ve struktuře HL.⁵

Kovalentní vazba

Interakce vedoucí ke vzniku kovalentních vazeb můžeme rozdělit do dvou skupin. Do první patří reakce probíhající bez využití aktivity enzymů a do druhé skupiny patří reakce s využitím biokatalýzy. Kovalentní vazba na HL je stabilní vazba na polymerní strukturu.⁵

Vodíkové můstky

I přes skutečnost, že přesná struktura HL zůstává stále nedořešená, je možné předpokládat na základě prokázané přítomnosti některých funkčních skupin (amidová, nitrilová, laktamová) možnost vzniku vodíkových můstků. Tyto vazby se i přes svůj nízký energetický obsah mohou významně podílet na vazebných schopnostech mezi HL a kontaminanty.⁵

Hydrofóbní interakce

Tento typ vazby vzniká při kontaktu nepolárních skupin (alkylových) nesených molekulami, které se nachází ve vodném roztoku, kde tyto interakce mohou vycházet z působení van der Waalsových sil nebo z přesunu π -elektronů.⁵

2.1.6 Interakce s minerálními složkami

Rozsáhlé studie ukazují, že pouze málo HL se vyskytuje v půdě ve volné formě, ale mnoho jich je vázaných na jíl nebo na jiné minerální složky půdy. Interakcí HL s jinými sloučeninami v půdě vznikají:¹

Soli nízkomolekulárních organických kyselin

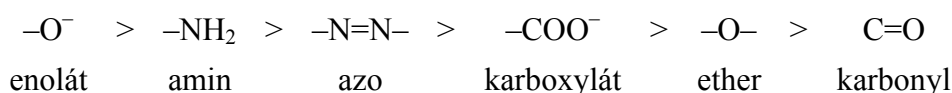
Vznikají reakcemi organických kyselin (octová, šťavelová, fumarová a mléčná kyselina) s minerály (magnezit, kalcit, siderit) nebo solemi minerálních kyselin s vápenatými, draselnými a jinými kationty.

Soli alkalických kovů a kovů alkalických zemin

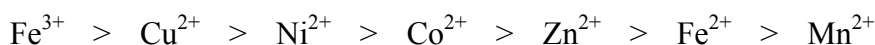
Tyto soli se dělí na humáty (soli HK) a fulváty (soli FK). Vznikají reakcí alkalických kationtů (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) s karboxylovými skupinami HL.

Komplexy s kovy

Komplexy s kovy vznikají, když dvě nebo více uspořádaných pozic okolo iontu kovu jsou obsazeny donorovými skupinami jednoduchých ligandů, čímž se potom vytvoří vnitřní kruhová struktura. V půdě roli ligandů plní jednoduché organické sloučeniny a funkční skupiny HL. Afinita funkčních skupin HL k tvorbě vazby s kovy klesá v následujícím pořadí:



Schopnost kovových iontů tvořit komplexy klesá v pořadí:



Schopnost HK a FK tvořit komplexy vyplývá hlavně z toho, že obsahují kyslíkaté funkční skupiny, např. karboxylové, fenolické a karbonylové.¹

Organické komplexy s jíly

Interakce organických látek s jílem má velké množství důsledků, díky kterým dochází ke změnám fyzikálních, chemických a biologických vlastností půdní matrice. Mezi mechanismy interakcí patří:¹

Van der Waalsovy síly – vznikají mezi atomy v důsledku kolísání elektronové hustoty

Kationtové můstky – kationty s vyšší valencí slouží jako můstky mezi dvěma stejně nabitými strukturami HL

Vodíkové můstky – vazby mezi polárními skupinami organických molekul a adsorbovanými molekulami vody s volným H^+ iontem

Adsorpce do pórů jílů – uplatňuje se pouze u nízkomolekulárních FK o $\text{pH} < 5,5$

2.1.7 Využití

Organická hmota prospívá růstu rostlin a to účinkem na fyzikální, chemické a biologické vlastnosti půdy. Kromě toho, že slouží jako zdroj dusíku, fosforu a síry během mineralizace půdními mikroorganismy, také ovlivňuje zásoby živin z dalších zdrojů. Humus v půdách rovněž působí na zvyšování obsahu mikroživin rostlinami a výkon herbicidů a jiných zemědělských chemikálií. Mělo by být zdůrazněno, že důležitost každého daného činitele se mění podle druhu půdy a je závislá na takových podmínkách životního prostředí jako je klima a historie úrody.¹

Nejdůležitějším rysem HK je jejich schopnost vázat nerozpustné kovové ionty, oxidy a hydroxidy a uvolňovat je pomalu a nepřetržitě do rostlin, když jsou potřebné. Této schopnosti by se mohlo využívat i v oblasti ochrany životního prostředí. HL jsou schopné vázat kovy a další toxické látky jak z půdy, tak i z vody.²

Humus má velký vliv na strukturu mnoha půd. Když chybí humus, půdy mají sklon stávat se těžšími a kompaktnějšími. Obsah snadno rozložitelných organických zbytků vede ke vzniku komplexních organických sloučenin, které vážou části půdy do strukturálních jednotek nazývaných agregáty. A ty potom pomáhají udržovat kyprý a zrnitý stav půdy. Voda je tak lépe schopna se vsakovat a prosakovat do spodnějších částí půdy.¹

Humus se používá ve velké míře ve stavebnictví a to jako přísada na regulování rychlosti tuhnutí betonu. HL se také používají na barvení různých výrobků (např. dřevěné dýhy, Nylonu 6 a PVC plastů). HL vyráběné v komerčním měřítku se používají ve veterinární a humánní medicíně. Bylo zjištěno, že HK můžou reagovat s bakterií *Micrococcus luteus*. V tomto případě HL chrání organismus před porušením stěny buňky enzymem lysozymem. Hlavní důvod pro vzrůstání zájmu o HK může být vysvětlen jejich antivirovým, profibrinolitickým, protizánětlivým a estrogenickým účinkem.⁶

2.2 Gely

2.2.1 Disperzní soustavy

Disperzní soustava je systém složený alespoň ze dvou druhů hmot. První hmotou je disperzní podíl, který je rozptýlen ve formě více či méně jemných částic ve druhé hmotě, nazývajícím se disperzním prostředím. Disperzní prostředí je spojitě.⁷ Až na výjimky představují disperzní podíl a disperzní prostředí dvě chemicky odlišné složky nebo směsi složek.⁸

2.2.1.1 Dělení disperzních soustav

Disperzní soustavy se dělí podle počtu fází:

- *homogenní* – disperzní podíl i disperzní prostředí tvoří jednu fázi (např. analytické a lyofilní koloidní roztoky)
- *heterogenní* – disperzní podíl je od disperzního prostředí oddělen fázovým rozhraním (např. lyofobní soly, emulze, pěny, mlhy)

podle velikosti částic:

- *hrubě disperzní* – rozměr disperzních částic je větší než 1000 nm (suspenze, emulze, pěny, prach, dým)
- *koloidně disperzní* – velikost dispergovaných částic je v rozmezí 1–1000 nm (lyofobní soly, micelární koloidní roztoky)
- *analyticky disperzní* – částice o velikosti menší než 1 nm (pravé roztoky nízkomolekulárních látek)

podle tvaru částic:⁹

- *globulárně disperzní* – obsahují izometrické částice, které mají ve všech směrech stejné rozměry
- *laminárně disperzní* – obsahují anizometrické částice, jejichž jeden rozměr je řádově menší než ostatní
- *fibrilárně disperzní* – obsahují anizometrické částice, jejichž rozměr v jednom směru řádově převyšuje ostatní

podle struktury disperzního podílu:

- systémy, jejichž disperzní podíly jsou seskupeny do částic
- systémy, jejichž disperzní podíly jsou tvořeny síťovitou strukturou, kterou prostupuje kapalně disperzní prostředí (gely)

2.2.1.2 Koloidně disperzní soustavy

Koloidně disperzní soustavy jsou heterogenní systémy, jejichž disperzní podíl tvoří částice koloidních rozměrů. Horní i dolní hranice velikosti koloidních částic nebývá uváděna všude stejně. Dolní hranici tvoří rozměr 1–5 nm, za horní hranici je považován rozměr částic 1000 nm (u některých autorů je udávána hodnota 500 nm).⁹ Podle způsobu vzniku a stálosti se dělí koloidní disperzní soustavy na lyofilní a lyofobní. Mezi lyofobní koloidy patří soly, jejichž disperzní podíl představuje samostatnou fázi oddělenou od disperzního prostředí fázovým rozhraním. Přípravují se buď dispergováním větších částic (ultrazvuk, peptizace), nebo z pravých roztoků kondenzací (spojováním jednotlivých molekul v částice koloidní velikosti – chemická nebo fyzikální kondenzace). Mezi lyofilní koloidy patří molekulové (roztoky polymerů) a micelární koloidy (roztoky nízkomolekulárních látek). Molekulové

vznikají rozpouštěním vysokomolekulární látky v rozpouštědle, micelární zase vznikají postupným zvyšováním koncentrace rozptýlení fáze v analyticky disperzní soustavě.⁷

2.2.2 Gely

Gely jsou koloidně disperzní systémy tvořené trojrozměrnou síťovou strukturou, která prostupuje celým disperzním prostředím. Spojité je nejen disperzní prostředí, ale i disperzní podíl. Disperzní částice nejsou schopné se pohybovat, vykonávají pouze vibrační pohyby.⁹ I když je disperzní prostředí v gelech kapalné, mají gely v důsledku svého uspořádání mechanické vlastnosti charakteristické pro tuhé látky. Gely vypadají jako rosolovité pevné látky. Vznikají buď z roztoků makromolekul, nebo z lyofobních solů.⁷

Gely a proces gelace se využívají v mnoha směrech lidské činnosti. Z hlediska výzkumu mají gely velký význam v lékařství a biologii, protože většina organismu živočichů a rostlin je tvořena z tohoto systému. V průmyslu se zase gelace využívá hlavně v technických procesech, jako je výroba vláken, aplikace lepidel a zpracování kůží. Na tvorbě gelů je dále založena řada pochodů v potravinářském a pekařském průmyslu.⁹

2.2.2.1 Vznik gelů

Pojem gelace je vytváření nekonečné trojrozměrné síťové struktury. Slovo „nekonečná“ musíme chápat v tom smyslu, že rozměry vzniklé makromolekuly jsou stejné s rozměry makroskopické gelové fáze.⁷

Gely můžeme připravit těmito třemi způsoby:

- *změnou fyzikálního stavu* – fyzikálně síťované gely
- *chemickou reakcí* – kovalentní gely
- *bobtnáním xerogelu* – přidáním rozpouštědla (v případě reverzibilních gelů)

2.2.2.2 Dělení gelů

Gely se dělí podle toho, zda obsahují či neobsahují rozpouštědlo:

- *lyogely* – obsahují ve své struktuře rozpouštědlo, vysušením tohoto gelu vznikne kompaktní xerogel, zvláštním druhem lyogelu je hydrogel (v tomto případě je rozpouštědlem voda)
- *xerogely* – neobsahují rozpouštědlo

Dále se dělí podle jejich chování ve vysušeném stavu:

- *reverzibilní gely* – jejich vysušováním vznikají kompaktní xerogely, které jsou schopné přecházet zpět do původního stavu, a to bobtnáním (přidáváním disperzního prostředí); takto se chovají makromolekulární gely
- *ireverzibilní gely* – vznikají gelatinizací lyofobních solů; ve vysušeném stavu jsou porézní a při přidání disperzního prostředí jsou schopné určité množství kapaliny sorbovat, ale nedokážou se vrátit do původního stavu

2.2.2.3 Reverzibilní gely

Reverzibilní gely mohou vznikat jak gelací roztoků vysokomolekulárních látek, tak i bobtnáním xerogelů. Při jejich vysušování ztrácí objem a vznikají kompaktní xerogely, které mohou přijímat kapalinu. Dochází ke zvětšování jejich objemu (bobtnání) a mohou se znovu dostat až do původního stavu před vysušením. Gelace je děj, v němž se spojováním molekulárních řetězců vytváří a dále zpevňuje prostorová síť. Místa, ve kterých vznikají

vazby, jsou nazývána uzly (styčné body). Ty se mohou tvořit působením sil chemické nebo fyzikální povahy.⁷

Chemické uzly

Gely vzniklé chemickou cestou představují nekonečnou trojrozměrnou síťovitou strukturu, tvořenou chemickými valencemi.⁸ Struktura gelu s chemickými vazbami je velmi pevná. Vysušením z nich lze připravit xerogely, které přidáním rozpouštědla bobtnají. Zpět na gel by bylo možno převést jediným způsobem, a to odbouráním chemických vazeb. Výsledný produkt by se však lišil od výchozího polymeru, protože může dojít ke zrušení i jiných vazeb, než těch, které vznikly při gelaci.⁷

Strukturu s chemickými uzly lze připravit různými způsoby, např.:

- *síťováním lineárního polymeru*
- *síťovací polymerizací*

Při síťování lineárního polymeru nejprve vznikají větvené makromolekuly, jejichž hmotnost a stupeň rozvětvení postupně rostou. Čím je struktura rozvětvenější (rozsáhlejší), tím je její spojení s jinou velkou makromolekulou pravděpodobnější. Nekonečné trojrozměrné sítě se dosáhne až při dosažení určitého stupně reakční přeměny. Tento okamžik se nazývá bod gelace. Nejznámějším případem tohoto způsobu síťování je vulkanizace kaučuků.⁸

Příkladem síťovací polymerizace je kondenzační polymerace a adiční polymerace. U tohoto způsobu síťování mohou vznikat spoje i mezi hotovými polymery. Základem je řetězová reakce, při které reaguje radikál s dvojnou vazbou.⁹

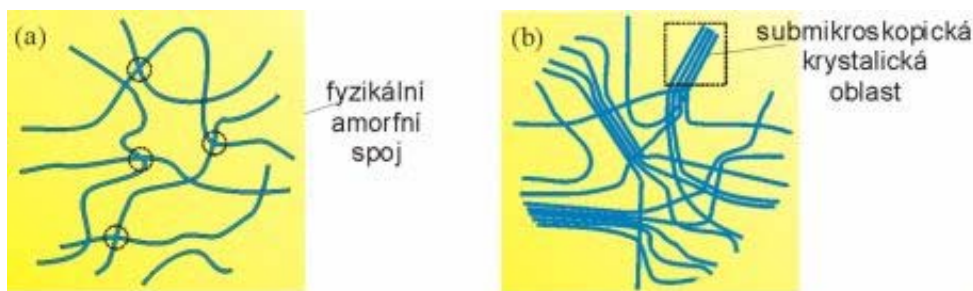
Fyzikální uzly

Fyzikálně síťované gely vznikají z roztoků polymerů. Části makromolekulárních řetězců se působením fyzikálních sil shlukují do útvarů, ty potom plní funkci uzlů. Takto vzniklé spoje bývají většinou v jednom nebo i ve třech rozměrech podstatně větší než chemické uzly.⁸ Počátek vzniku těchto uzlů (gelace) může být zapříčiněn snížením afinity vysokomolekulární látky k rozpouštědлу, např. snížením teploty nebo přidávkem špatného rozpouštědla.⁷

Uzlové oblasti fyzikálně síťovaných gelů se liší strukturou, velikostí, a hlavně pevností a dobou trvání, což má hlavní vliv na vlastnosti vzniklých gelů. Fyzikální uzly se tedy dělí na:⁹

- *gely s pevnými uzly* – chovají se podobně jako gely s kovalentními vazbami
- *gely se slabými uzly* – vlivem napětí se rozpadají a soustava se chová jako velmi viskózní kapalina; je-li systém ponechán v klidu, přechází samovolně zpět na gel

Při gelaci je často pozorováno rovnoběžné uspořádání jednotlivých částí molekul, které spolu interagují. Stupeň orientace závisí na povaze vysokomolekulární látky a na podmínkách, při nichž gel vzniká. Přejít od nejjednodušších bodových kontaktů makromolekul ke krystalitům je spojitý. Krystality jsou struktury spojené styčnými body, ve kterých jsou řetězce orientovány rovnoběžně.⁹



Obr. 3 Spoje fyzikální povahy: a) amorfní gel, b) gel s krystalickými oblastmi⁹

Faktory ovlivňující gelaci:

- *vliv teploty* – zvýšení teploty brání vzniku gelu, snížení teploty naopak podporuje gelaci; gely, které lze ohřátím převést na roztok a ochlazením roztoku zpět na gel, se nazývají termoreverzibilní
- *vliv koncentrace* – gelaci roztoků vysokomolekulárních látek vzrůst koncentrace napomáhá; roste tím četnost srážek makromolekul a zvětšuje se počet vazeb, které se tvoří v gelu
- *vliv pH* – pH roztoku má výrazný vliv na schopnost vodných roztoků amfoterních vysokomolekulárních elektrolytů (bílkoviny) gelatinizovat se; gelace nejlépe probíhá při hodnotě pH, která se rovná hodnotě pH izoelektrického bodu

2.2.2.4 Ireverzibilní gely

Ireverzibilní gely vznikají gelací lyofobních solů. Ke gelaci dochází při snížení agregátní stálosti soustavy. Při odstranění stabilizačního faktoru dochází ke spojování částic ve větší shluky (agregáty), tím nastává koagulace. Když nedojde k úplnému odstranění ochranné vrstvy soustavy, tak dochází ke ztrátě stability jen u některé části povrchu částic. Tím se částice vzájemně spojují jen těmito místy. Ve vzniklé prostorové síti je uzavřeno disperzní prostředí.⁷ Odstranění stabilizačního faktoru můžeme provést např. přidávkem elektrolytu. To je potřeba provádět tak, aby částice nekoagulovaly, ale vytvářely prostorovou síť. Velký význam pro vznik těchto gelů má tvar částic. Vytvořit gel je jednodušší, jsou-li částice anizometrické. Důvodem je, že na hranách a hrotech jsou nejméně vyvinuty elektrické dvojvrstvy nebo solvátové obaly, tím pádem dochází ke spojování částic právě v těchto místech. U těchto částic je také potřeba pro vznik struktury menší množství disperzního podílu a je snazší odlišit podmínky gelace od podmínek koagulace.⁹

Na rychlost vzniku gelu a vlastnosti gelu má velký vliv teplota a mechanické působení (např. míchání). Se zvýšením teploty se zvyšuje i rychlost gelace. Naopak mechanické působení brání tvorbě gelu.⁹

2.2.2.5 Vlastnosti gelů

Mechanické vlastnosti

Už dříve bylo zmíněno, že se gel chová jako tuhá látka, i když obsahuje kapalné disperzní prostředí. Je tedy schopen do určité hodnoty odolávat tečnému napětí. Hodnota tohoto kritického napětí závisí na koncentraci uzlů a na jejich pevnosti. Gely, které obsahují chemické spoje, jsou obvykle značně elastické.⁷

Některé reverzibilní i ireverzibilní gely s fyzikálními spoji mají tixotropní vlastnosti. Jestliže jsou síly poutající síťovou strukturu velmi slabé, lze gel pouhým protřepáním převést opět na sol. Těmito mechanickými účinky jsou rušeny slabé vazby mezi částicemi. Nechá-li se ztekucený sol stát v klidu, vazby jsou schopny se znovu obnovit a dojde ke gelaci.⁹

Elektrická vodivost a difuzivita

Protože disperzní prostředí gelu obsahuje disociované nízkomolekulární elektrolyty, které jsou obsažené i v původním solu, elektrická vodivost gelu je tedy stejná jako v původním solu.⁷

Také difuzivita nízkomolekulárních látek v gelu je o něco nižší než v původním solu, i když při gelaci prudce vzrůstá viskozita soustavy. Malé molekuly a ionty rozpuštěných látek se v disperzním prostředí pohybují skoro stejně rychle jako v solu. Díky síťovité struktuře gelu není difuzivita nízkomolekulárních iontů v gelech téměř ovlivňována prouděním ani tepelnými konvekce.⁹

Synereze

Synereze je proces stárnutí gelu, probíhá u reverzibilních i ireverzibilních gelů. Je to samovolný děj, při kterém roste počet styčných bodů, síťovitá struktura se tím smršťuje a s ní i celý gel. Část původní přítomné kapaliny je vytlačována ven, protože zde pro ni není místo. Tento děj je pozorovatelný hlavně u čerstvých gelů a je podporován zvýšením teploty a přidávkem elektrolytů.⁹

Bobtnání

Bobtnání je pohlcování nízkomolekulárního rozpouštědla vysokomolekulární látkou (xerogelem). Xerogel při tom zvyšuje svou hmotnost a nabývá na objemu, tím vzniká lyogel. Bobtnání je samovolný děj, k němuž může docházet pouze u gelů reverzibilních.⁷

Existují dva typy bobtnání:

- *omezené bobtnání* – probíhá, jestliže se bobtnání xerogelu zastaví ve stádiu lyogelu (není pohlcována další kapalina); může nastávat v případech omezené mísitelnosti polymeru a daného rozpouštědla; v soustavě vznikají dvě fáze
- *neomezené bobtnání* – v tomto případě se v systémech xerogel-rozpouštědlo bobtnání nezastavuje ve stavu lyogelu; při dostatečném množství rozpouštědla zanikají po dosažení určitého stupně nabobtnání styčné body a molekuly přecházejí do roztoku; probíhá v případě látek neomezeně mísitelných

O tom, jestli bude docházet k omezenému nebo neomezenému bobtnání, rozhoduje afinita polymeru k rozpouštědlu, struktura gelu a fyzikální podmínky (např. teplota, tlak, přítomnost jiných rozpuštěných látek). Při změně fyzikálních podmínek může také docházet k přechodu látky z omezeného bobtnání do neomezeného a naopak.⁹

2.3 Extrakce

Extrakce je proces oddělování jedné složky z kapalných a tuhých směsí pomocí kapalného rozpouštědla. Zvláštním případem je vyluhování neboli extrakce tuhých látek. Z tuhé fáze se kapalným rozpouštědlem (extrahovadlem) odstraňuje rozpustná složka. Struktura suroviny bývá různá a různá je i forma zadržování extrahované složky v ní. Extrahovaná látka může být prostoupená celou vrstvou tuhé fáze, jindy lpí jenom na jejím povrchu nebo může být součástí struktury tuhého materiálu.¹⁰

Autoři Tessier, Campbell a Bisson ve své práci popsali kontinuální extrakční metodu, která se používá pro dělení částic stopových kovů. Tato metoda byla rozvinuta pro dělení částic stopových kovů (Cd, Co, Cu, Ni, Pb, Zn, Fe a Mn) do 5 frakcí (iontově vyměnitelné, vázané na uhličitany, vázané na Fe-Mn oxidy, vázané na organickou hmotu a residuální). Navzdory její rychlosti a relativní jednoduchosti, je tato technika obtížná v hledání jediného efektivního činidla v kvantitativním rozpouštění neresiduálních forem kovu bez působení na nánosové formy. K uvolnění iontově vyměnitelných kovů bylo použito mnoho činidel, např. NH_4OAc , NaOAc a MgCl_2 . U kovů vázaných na organickou hmotu jejich absolutní koncentrace následují toto pořadí $\text{Fe} > \text{Mn} > \text{Cu} > \text{Zn} > \text{Pb} > \text{Ni}$.¹¹

Autoři Slavek, Wold a Pickering studovali ve své práci schopnost řady roztoků elektrolytů uvolňovat kovové ionty (Cu, Pb, Cd, Zn) nasorbované na 2 vzorky huminových kyselin. Ačkoli se působením minerálních kyselin nebo chelatačního činidla uvolňovalo velké množství nasorbovaného kovového iontu, výtěžky nikdy nebyly úplné. Koncentrované roztoky solí uvolnily okolo 80 % vázaného Zn a Cd a okolo 50 % Cu a Pb vázaných v organické hmotě. Každá ze zmíněných dvou HK uvolnily různá množství kovových iontů do většiny extrakčních činidel, tyto rozdíly byly způsobeny rozdílnými chemickými strukturami HK. Bylo zjištěno, že část těchto činidel (EDTA, $(\text{COOH})_2$) získala všechny absorbovaný kovový iont, ale ve většině zkoumaných systémů se extrakční výtěžek měnil s typem jílu, kovového iontu, se změnou pH a koncentrací činidla. Elektrolytická činidla (NH_4NO_3 , NaCl , CaCl_2 , MgCl_2) odstranila v případě Cu a Pb pouze okolo poloviny nasorbovaných iontů. Dále byla zkoumána schopnost různých extrakčních činidel uvolňujících kovové ionty nasorbované na jílovou suspenzi. Bylo zjištěno, že ve více než třech čtvrtinách studovaných systémů bylo vyextrahované množství podobné těm, kde chyběl jíl.¹²

Autoři Pérez-Cid, Lavilla a Bendicho ve své práci srovnávali schémata běžné a ultrazvukem urychlené Tessierovy kontinuální extrakce. Byly porovnávány v podmínkách extrakční schopnosti, přesnosti, času působení a rozdělovacích zákonitostí kovů. Extrahovatelné obsahy Cu, Cr, Ni, Pb a Zn byly měřeny plamenovou atomovou absorpční spektrometrií a analytické výsledky získané ze zmíněných dvou extrakcí byly statisticky porovnány. Žádné průkazné rozdíly nebyly nalezeny ve dvou prvních frakcích, avšak ve třetím a čtvrtém extraktu se extrakční schopnost obou metod lišila významně. Některé pokusy byly provedeny zkrácenou a zjednodušenou Tessierovou kontinuální extrakční metodou. Tudíž byl použit mikrovlnný ohřev místo tradičního zpracování (induktivní ohřev a magnetické míchání). Hlavním cílem této práce bylo najít podmínky ultrazvukové extrakce pro každý stupeň, které poskytnou stejnou extrakční účinnost jako původní Tessierova metoda s kratším časem působení. Běžná a ultrazvukem zrychlená Tessierova kontinuální extrakční metoda zajišťují podobná dělení pro Ni a Pb. Pro Zn, i přes význačné rozdíly v oxidovatelné frakci, použité dvě metody poskytují identické informace o pohybu prvku v prostředí. Pro Cu byla extrakční schopnost dosažená navrženou metodou blízko té, která byla dosažená v běžné metodě ve dvou prvních frakcích. Nejslabších výsledků bylo dosaženo v případě Cr, který nebyl vyextrahovaný z žádné oxidovatelné frakce při použití zrychlené metody.¹³

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Chemikálie a použítá zařízení

3.1.1 Chemikálie

- Huminové kyseliny
- Hydroxid sodný, Lach-Ner s.r.o. Neratovice
- Kyselina chlorovodíková 35%, Lach-Ner s.r.o. Neratovice
- Dihydrát chloridu měďnatého, PENTA Chrudim
- Chlorid hořečnatý, p.a., Fluka chemie
- Titriplex II, Merck
- Bromid draselný, Sigma-Aldrich

3.1.2 Přístroje a vybavení

- UV-VIS spektrofotometr Hitachi U3900H
- FT-IR spektrofotometr Nicolet Impact 400
- Centrifuga Rotina 46R, Hettich Zentrifugen
- pH metr WTW pH 330 a Mettler Toledo
- Konduktometr Mettler Toledo
- Třepačka Heidolph Vibramax 100

3.1.3 Software

- Microsoft Excel 2007
- Microsoft Word 2007
- OMNIC
- UV Solution

3.2 Příprava huminových kyselin

Huminové kyseliny použité v této práci byly připraveny alkalickou extrakcí z jihomoravského lignitu. Nejprve byl lignit extrahován směsí 0,5M NaOH a 0,1M Na₄P₂O₇ v poměru 20 g lignitu na 1 dm³ roztoku. Po 12 hodinovém extrahování byla vzniklá suspenze ponechána v lednici přes noc. Druhý den byl roztok nad pevnou fází slit do nádoby, ve které byl okyselen 20% HCl na pH = 1. Pevná fáze byla znovu extrahována 1 dm³ extrakčního roztoku. Po míchání, které trvalo 1 hodinu, byl roztok slit a okyselen 20% HCl na pH = 1. Okyselené roztoky byly ponechány přes noc v lednici. Vysrážené HK byly odděleny od roztoku odstředěním (4000 RPM), déle byly několikrát promyty vodou a znovu byly odstředěny, dokud nebyly vymyty všechny chloridové ionty. Vzniklá HK byla vysušena při 50 °C. Před přípravou gelu byly HK jednou promyty vodou, odstředěny a vysušeny.

3.3 Příprava huminového gelu

Nejprve byly huminové kyseliny pomalu rozpuštěny v roztoku hydroxidu draselného o koncentraci 0,5 mol·dm⁻³ v poměru 8 g práškových HK na 1 dm³ roztoku hydroxidu sodného. Vzniklý roztok byl po důkladném promíchání okyselen 35% kyselinou chlorovodíkovou na pH menší než 1. Nádoba se vzniklým gelem byla ponechána přes noc v lednici. Druhý den byl odsát čirý roztok nad gelem. Zbytek byl rozdělen do centrifugačních

zkumavek na stejné hmotnosti a byl v centrifuze odstředěn (4000 RPM, 15 °C, 15 minut). Supernatan nad gelem byl slit a gel byl promyt destilovanou vodou a znovu odstředěn. Po posledním (třetím) promytí byl gel odstředěn při 4000 RPM, 15 °C, po dobu 30 minut. Připravený gel byl umístěn do exsikátoru s vodou, aby nevysychal.

3.4 Charakterizace huminových kyselin a huminového gelu

Huminové kyseliny byly promyty destilovanou vodou a vysušeny v sušárně při 50 °C. Vzorek HK byl dále podroben elementární analýze na Ústavu struktury a mechaniky hornin Akademie věd České republiky na přístroji CHNSO Mikroanalyzátor Flash 1112 firmou Carlo Erba.

Všechny používané gely byly podrobeny testu na množství sušiny. Vzorky gelů z HK byly vysušeny v sušárně při 105 °C. Z rozdílů hmotností vzorků gelů před a po vysušení byl potom získán průměrný obsah sušiny.

3.5 Příprava gelů s inkorporovanými měďnatými ionty

Pro všechny experimenty v této práci probíhala difúze Cu^{2+} iontů stejným způsobem. Trubičky, které měly délku 1 cm a vnitřní průměr také 1 cm, byly vždy naplněny připraveným huminovým gelem a ponořeny do roztoku 0,1M CuCl_2 . Difúze probíhala ve skleněných dózách, které byly překryty parafilmem a skleněným víčkem, aby nedocházelo k vypařování roztoku. Doba trvání difúze byla 7 dní.

3.6 Metody analýzy

3.6.1 Ultrafialová a viditelná spektrometrie

V této práci byla pro stanovení vyextrahovaných množství měďnatých iontů z huminového gelu použita ultrafialová a viditelná spektrometrie (UV-VIS).

Podstatou této metody je absorpce ultrafialového a viditelného záření (200–800 nm) zředěnými roztoky molekul. Při této absorpci dochází k excitaci valenčních elektronů, které jsou součástí molekulových orbitalů. Podstatou přístrojů pro tuto metodu je měření zářivého toku.¹⁴

Na kyvetu obsahující roztok vzorku dopadá zářivý tok Φ_0 . Prošlý zářivý tok je ochuzen o odražené, rozptýlené a absorbované záření. Předpokládejme, že rozhodující část úbytku záření připadá na jeho absorpci. Odraz a rozptyl zanedbejme.

Transmitance T je relativní část prošlého záření. Často se uvádí v procentech.

$$T = \frac{\Phi}{\Phi_0} \quad (1)$$

Φ_0 dopadající zářivý tok

Φ prošlý zářivý tok

Absorbance je záporný dekadický logaritmus transmitance. Je-li absorpce záření nulová, je nulová i absorbance.

$$A = -\log T = \log \frac{\Phi_0}{\Phi} \quad (2)$$

Lambert-Beerův zákon – absorbance je přímo úměrná koncentraci absorbující látky a tloušťce absorbující vrstvy.

$$A = \varepsilon_\lambda \cdot c \cdot l \quad (3)$$

ϵ_λ molární absorpční koeficient [$\text{dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$]

c látková koncentrace [$\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$]

l tloušťka absorbující vrstvy [cm]

Ultrafialová a viditelná spektra se doplňkově využívají k identifikaci neznámé organické látky. Měření absorbance se často využívá k určení koncentrace sloučenin s chromofory. Obvykle se pracuje metodou kalibrační křivky. Měření je prováděno buď při vhodné vlnové délce, nebo jsou snímána celá spektra v krátkých časových intervalech.¹⁴

3.6.2 Infračervená spektrometrie

V této práci byla infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací (FT-IR) použita na charakterizaci vzorku huminového gelu, gelu s nedifundovanou mědí a gelů po kontinuální a frakční extrakci.

Principem této metody je absorpce infračerveného záření molekulami látek. Infračervené záření má větší vlnovou délku a nižší energii. V FT-IR se běžně místo vlnové délky používá vlnčet ($4000\text{--}670 \text{ cm}^{-1}$). Energie infračerveného záření již nestačí na změny elektronových stavů, způsobuje pouze změny vibračních a rotačních stavů molekul. V infračervených spektrech je sledována závislost transmitance nebo absorbance na vlnočtu absorbovaného záření.¹⁴

FT-IR se používá v kvalitativní i kvantitativní analýze. Nejdůležitější je použití ve strukturní analýze a identifikaci organických i anorganických sloučenin. U této metody s využitím počítačového zpracování dat lze kvantitativně analyzovat i vícesložkovou směs změřením jednoho spektra.¹⁴

3.6.3 Potenciometrie

Potenciometrie je elektrochemická metoda založená na měření rovnovážného napětí galvanického článku při prakticky nulovém proudu. Článek je sestaven z měrné (indikační) a srovnávací (referentní) elektrody. Potenciál měrné elektrody závisí na koncentraci sledované látky, zatímco potenciál srovnávací elektrody je konstantní. Rovnovážné napětí, které je rozdílem těchto dvou potenciálů, je mírou koncentrace sledované látky. Potenciometrie se využívá v analytické chemii na biochemické a klinické analýzy, výzkum, monitorování kvality odpadních vod.¹⁴

3.6.4 Konduktometrie

Konduktometrie se v této práci používala na měření vodivosti roztoků. Vodivost G vyjadřuje schopnost elektrolytu vést elektrický proud. Je definovaná jako převrácená hodnota elektrického odporu R . Její jednotkou je Siemens.

$$G = \frac{1}{R} \quad (4)$$

Vodivost určíme snadno z Ohmova zákona:

$$G = \frac{I}{U} \quad (5)$$

Protože je vodivost závislá na geometrických vlastnostech vodiče, zavádí se měrná vodivost κ , která je převrácenou hodnotou měrného odporu. Vodivostní měření se provádí pomocí vodivostní cely, která je ponořena v měřeném roztoku. Obvykle jde o skleněnou nebo plastovou trubici, kterou umístíme do měřeného roztoku tak hluboko, aby byly ponořeny elektrody (z platiny, titanu, grafitu).¹⁴

3.7 Extrakční experimenty

3.7.1 Rozpouštění gelu

Nejprve bylo v této práci studováno rozpouštění gelu. Připraveným huminovým gelem bylo naplněno 27 trubiček délky 1 cm a vnitřního průměru 1 cm. Dále byly trubičky po třech rozděleny do devíti nádobek a bylo vždy přidáno 30 ml destilované vody nebo roztoků CuCl_2 o koncentracích 0,025; 0,01; 0,009; 0,007; 0,005; 0,003; 0,001 a 0,0009 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. V různých časových intervalech pak bylo v nádobách měřeno pH a měrná vodivost a také byly popisovány měnící se vlastnosti gelu.

3.7.2 Vliv doby extrakce a objemu extrakčního činidla

Poté byl v této práci studován vliv doby extrakce a objemu extrakčního činidla na množství Cu^{2+} ve výlužích. Experiment probíhal tak, že nejdříve se nechaly do 15 trubiček naplněných gelem nadifundovat měďnaté ionty. Po difúzi byly z každé trubičky udělány 2 plátky. Vždy 2 plátky z jedné trubičky byly dány do 5, 10, 15, 20 a 50 ml extrakčního činidla, kterým byl 1M roztok HCl. Pro každý objem bylo použito 5 trubiček na 5 různých dob extrakce, a to 1 hodina, 5 hodin, 1 den, 2 dny a 5 dnů. Vždy po skončení doby extrakce byly výluhy proměřeny na UV-VIS spektrometru. Koncentrace Cu^{2+} iontů byly poté zjištěny metodou kalibrační křivky. V tomto experimentu byla použita kalibrační křivka CuCl_2 v 1M HCl.

3.7.3 Studium síly vazby mědi v huminových gelech

Síla vazby mědi

Do 12 trubiček naplněných gelem byly nadifundovány měďnaté ionty. Po difúzi byla každá trubička nařezána strunou na 2 plátky. Nadifundované měďnaté ionty byly extrahovány z plátek prvních 8 trubiček pomocí frakční extrakce a z plátek posledních 4 trubiček pomocí kontinuální extrakce.

Frakční extrakce spočívala v tom, že vždy plátky ze dvou trubiček byly extrahovány v různých extrakčních činidlech. U prvních 2 trubiček byla použita jako extrakční činidlo destilovaná voda, u dalších dvou 1M MgCl_2 , dále 1M HCl a u posledních 2 trubiček byl použit 0,025M NH_4EDTA . Objem extrakčního činidla byl vždy 10 ml a extrakce probíhala na vibrační třepačce 24 hodin.

Při kontinuální (následné) extrakci byly plátky všech 4 trubiček extrahovány nejprve v destilované vodě, následně v 1M MgCl_2 , poté v 1M HCl a nakonec byly extrahovány v 0,025M NH_4EDTA . Jako u předchozího druhu extrakce byl objem extrakčního činidla 10 ml a extrakce také probíhala na vibrační třepačce 24 hodin.

Po skončení extrakce byly ve všech případech gely odstředěny v centrifuze a roztoky nad gelem byly slity. Tyto výluhy byly nakonec proměřeny pomocí UV-VIS. Koncentrace Cu^{2+} iontů byly poté zjištěny metodou kalibrační křivky. V tomto případě byly použity kalibrační křivky CuCl_2 ve vodě, CuCl_2 v 1M MgCl_2 , CuCl_2 v 1M HCl a CuCl_2 v 0,025M NH_4EDTA .

Charakterizace huminových gelů

Vzorky HK gelu, gelu s nedifundovanou mědí a gelů po kontinuální a frakční extrakci byly charakterizovány pomocí infračervené spektrometrie s Fourierovou transformací. Vysušené vzorky byly smíchány s KBr. Z těchto směsí byly vylisovány tablety, u kterých byla proměřena spektra v oblasti 500–4000 cm^{-1} .

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Charakterizace huminových kyselin a huminového gelu

Výsledky elementární analýzy jsou uvedeny v Tabulka 1. Naměřené hodnoty jsou vztaženy na suchý vzorek HK bez popela. Z výsledků je patrné, že v těchto HK je nejvíce zastoupen uhlík (41,135 atom. %) a vodík (45,067 atom. %), v menším množství kyslík (12,848 atom. %) a pouze minimální zastoupení bylo naměřeno u dusíku (0,8108 atom. %) a síry (0,1395 atom. %). Analýzou bylo také zjištěno, že připravené HK obsahují 33,67 % popela.

Tabulka 1 Elementární složení HK v atom. % vztaženo na suchý vzorek HK bez popela

prvek	zastoupení (atom. %)
C	41,14
H	45,07
O	12,85
N	0,811
S	0,140

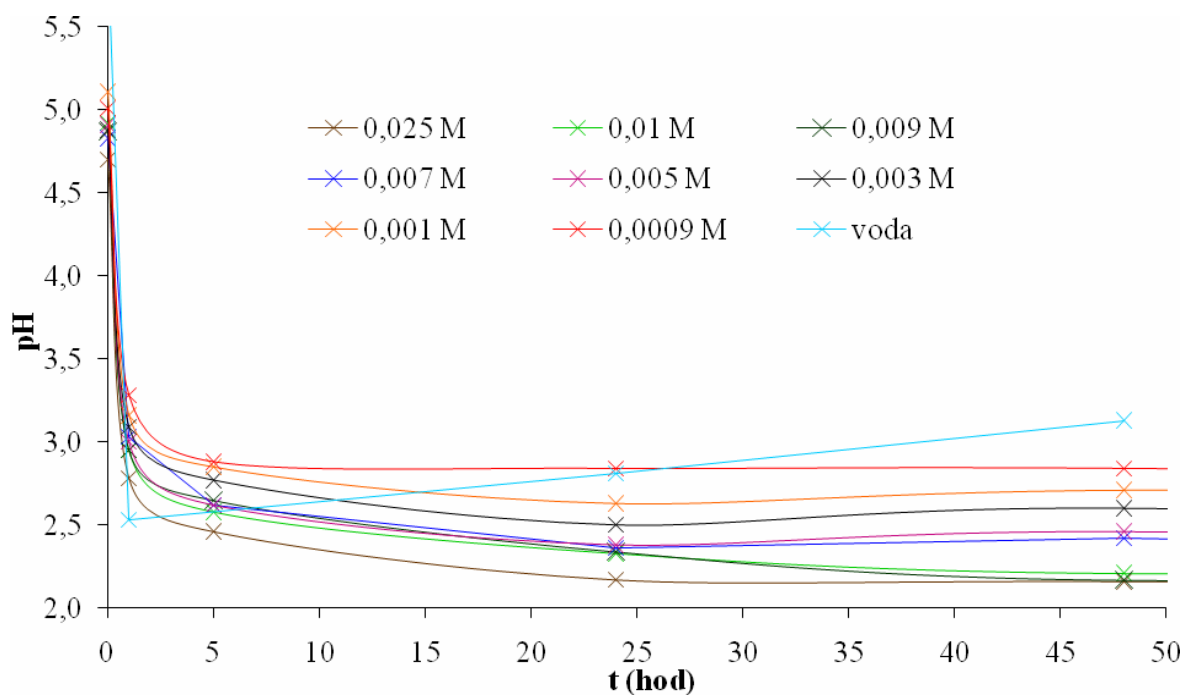
Připravené huminové gely byly vždy podrobeny testu na množství sušiny. Průměrná množství sušiny v používaných gelech se pohybovala v rozmezí od 13,64 % do 15,18 % hmotnosti gelu.

4.2 Extrakční experimenty

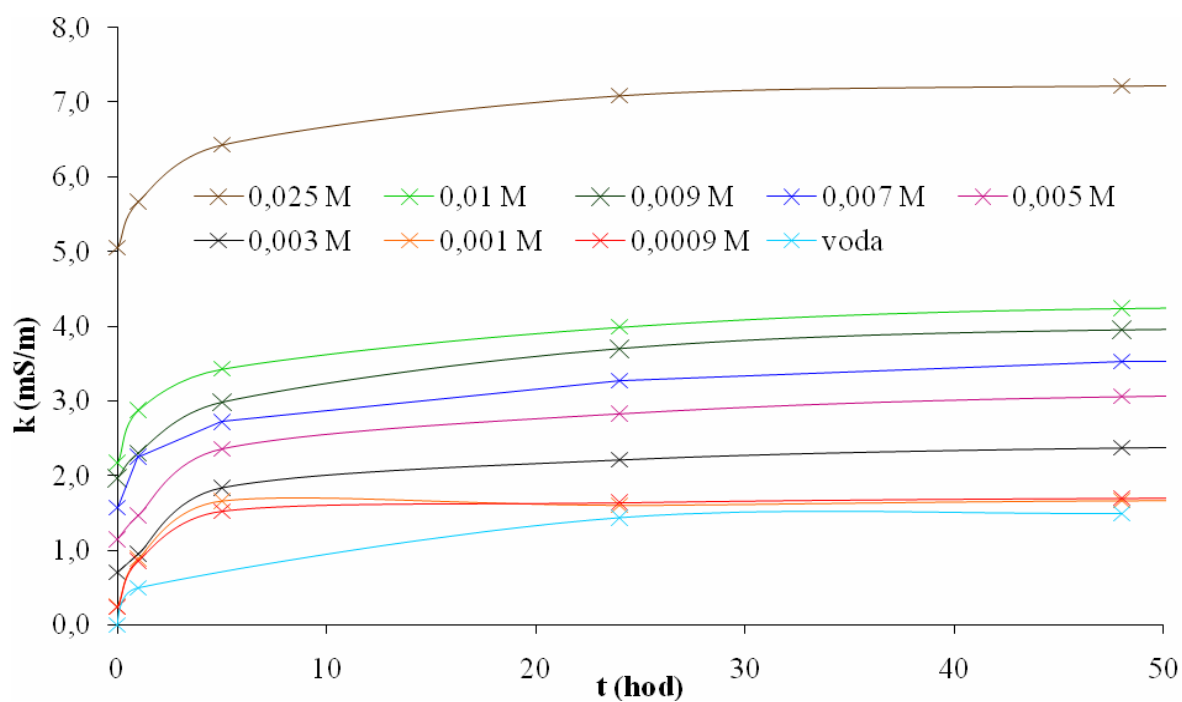
4.2.1 Rozpouštění gelu

Cílem této části bylo zjistit vyhovující koncentraci roztoku CuCl_2 , ve které by se při difúzi měďnatých iontů nerozpouštěl připravený gel. Rozpouštění gelu bylo pozorováno v destilované vodě a v roztocích CuCl_2 o 8 různých koncentracích (0,025; 0,01; 0,009; 0,007; 0,005; 0,003; 0,001 a $0,0009 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$). Nejprve bylo u těchto roztoků měřeno pH v různých časových intervalech (1 hodina, 5 hodin, 1 den, 2 dny a 5 dnů), jehož hodnoty jsou zobrazeny v Obr. 4. Dále byla u těchto roztoků měřena měrná vodivost κ , ve stejných časových intervalech jako měření pH. Hodnoty měrných vodivostí jsou znázorněny v grafu na Obr. 5. S rostoucím časem klesaly hodnoty pH roztoků CuCl_2 . Výjimkou je však voda, jejíž hodnoty pH nejprve klesaly, následně pak začaly naopak růst. Při vyšších časech už dosáhlo pH konstantních hodnot, z tohoto důvodu je rozsah osy x zmenšen na 50 hodin. Z grafu na Obr. 4 je zřejmé, že s rostoucí koncentrací roztoků klesají hodnoty pH. Hodnoty měrné vodivosti roztoků s časem rostly. Jak v případě pH, tak v případě měrné vodivosti bylo dosaženo při vyšších časech konstantních hodnot (rozsah osy x zmenšen na 50 hodin). Z Obr. 5 je patrné, že s rostoucí koncentrací roztoků rostou hodnoty měrné vodivosti.

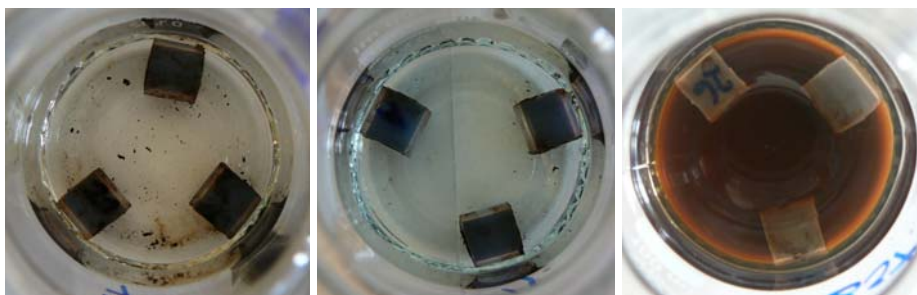
Na Obr. 6 jsou fotografie z průběhu experimentu. První fotografie zleva zobrazuje stav gelu po 5 dnech v roztoku CuCl_2 o koncentraci $0,001 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Na této fotografii lze pozorovat částečné rozpouštění gelu. Na druhé fotografii zleva je ukázán stav gelu po 5 dnech v roztoku o koncentraci $0,01 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Gel se nerozpouštěl. Třetí fotografii zleva pak vyobrazuje rozpouštění gelu ve vodě po 2 dnech.



Obr. 4 Závislost pH roztoků CuCl_2 na čase



Obr. 5 Závislost měrné vodivosti roztoků CuCl_2 na čase



Obr. 6 *Rozpouštění gelu: 1. fotografie zleva – v $0,001 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ roztoku CuCl_2 po 5 dnech, 2. fotografie zleva – v $0,01 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ roztoku CuCl_2 po 5 dnech, 3. fotografie zleva – ve vodě po 2 dnech*

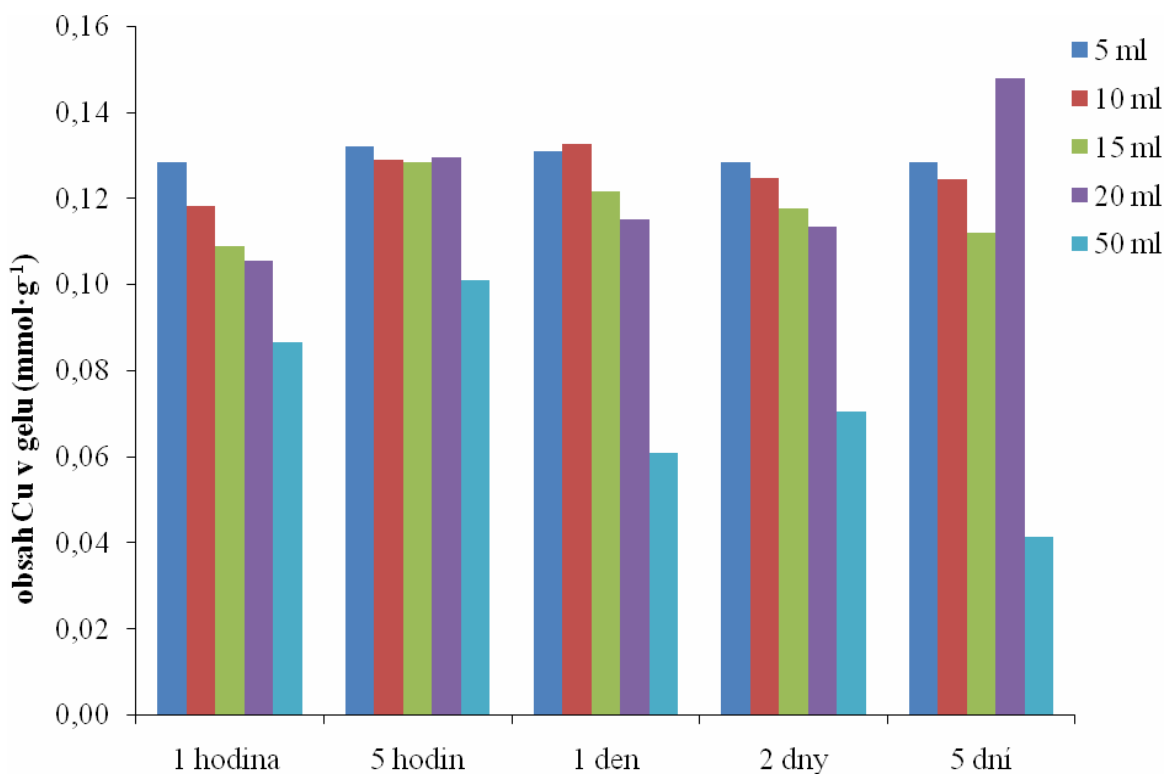
Z výsledků měření vyplývá, že se připravený gel nejvíce rozpouštěl ve vodě už v průběhu první hodiny. Dále se gel mírně rozpouštěl v roztocích o koncentracích $0,003$; $0,001$ a $0,0009 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ po 1 dni. V ostatních roztocích se gel nerozpouštěl vůbec.

Na základě zjištění, že se gel nerozpouštěl ve vyšších koncentracích, byl pro další měření použit roztok CuCl_2 o koncentraci $0,1 \text{ mol}\cdot\text{dm}^{-3}$.

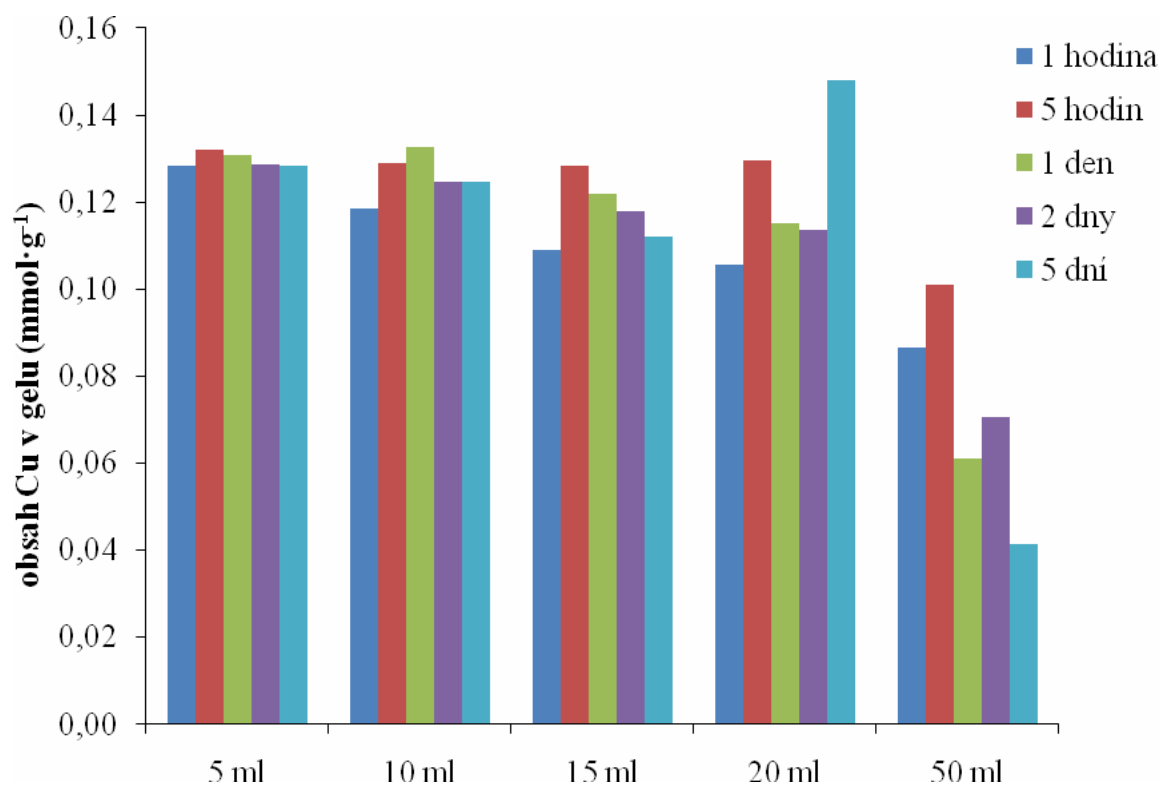
4.2.2 Vliv doby extrakce a objemu extrakčního činidla

Cílem tohoto experimentu bylo zjistit vyhovující dobu extrakce, za kterou by se vyextrahovalo veškeré množství nadifundovaných iontů, a objem extrakčního činidla. Plátky z každé trubičky byly extrahovány různou dobu a v odlišných objemech extrakčního činidla ($0,1 \text{ M HCl}$). Po ukončení extrakcí byly výluhy proměřeny na UV-VIS spektrometru. Výsledky měření jsou znázorněny na Obr. 7 a Obr. 8. Obr. 7 znázorňuje závislost obsahu Cu v gelu na době extrakce, Obr. 8 naopak znázorňuje závislost obsahu Cu v gelu na objemu extrakčního činidla.

Z dosažených výsledků je patrné, že při době extrakce 1 den dokazuje měření téměř při všech objemech optimálních hodnot. Při studiu vlivu doby extrakce bylo zjištěno, že se zvyšující se dobou extrakce nejprve obsah Cu stoupal a od určité doby extrakce klesal. Následně je patrné, že s rostoucím objemem extrakčního činidla klesá obsah Cu v gelu. Nejlepších výsledků bylo dosaženo při objemech 5 a 10 ml. Na základě zjištění byla do dalšího experimentu použita doba extrakce 1 den a objem extrakčního činidla 10 ml.



Obr. 7 Závislost obsahu Cu v gelu na době extrakce

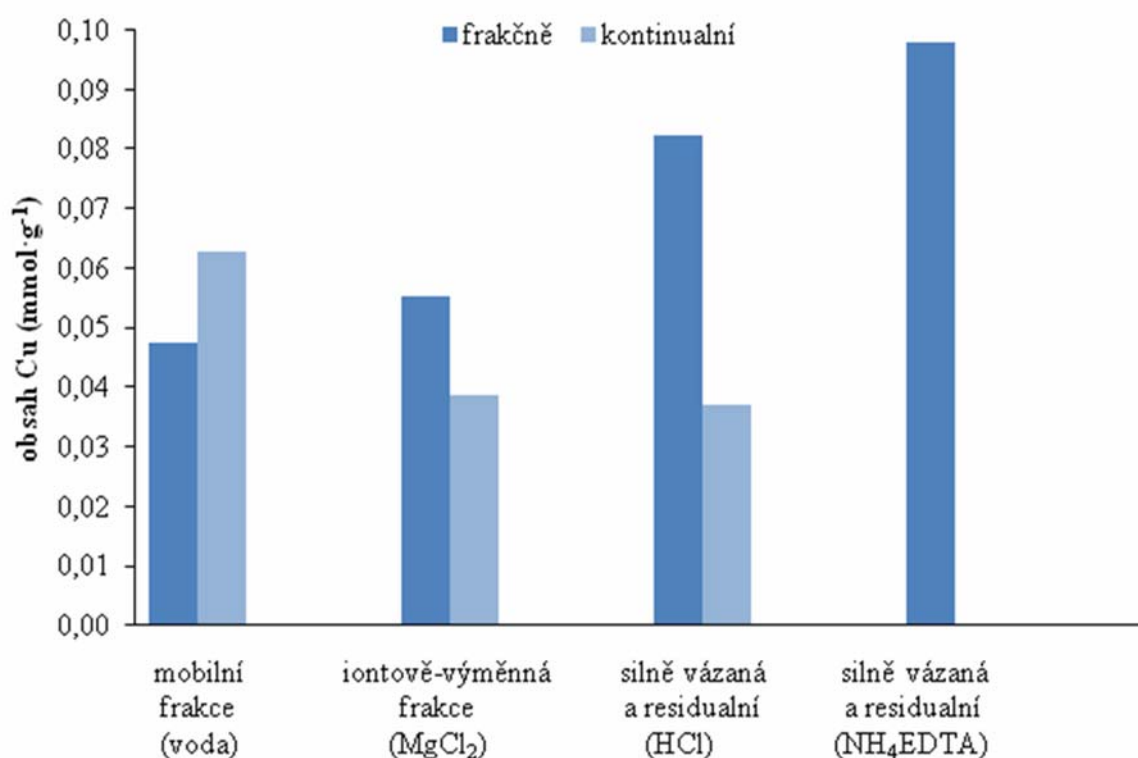


Obr. 8 Závislost obsahu Cu v gelu na objemu extrakčního činidla

4.2.3 Studium síly vazby mědi v huminových gelech

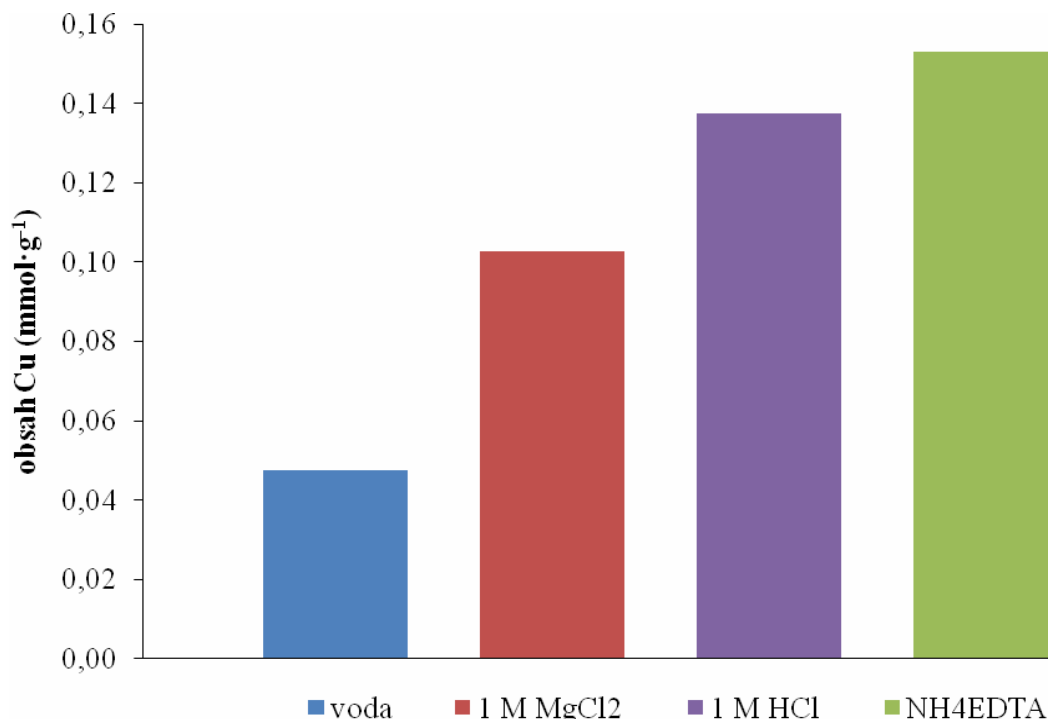
Síla vazby mědi

V tomto experimentu byly použity dvě extrakční metody. První byla frakční, ve které byly extrahovány gely v jednotlivých činidlech. A druhou byla kontinuální, ve které byly gely extrahovány postupně ve všech extrakčních činidlech. Použitím různých extrakčních činidel lze extrahovat z huminového gelu různě vázané Cu^{2+} ionty. Od volné mobilní frakce, kterou lze extrahovat vodou, přes iontově-výměnnou frakci (1M MgCl_2), až po silně vázané a reziduální frakce (1M HCl a 0,025M NH_4EDTA). Výsledky z obou extrakcí pro jednotlivé frakce jsou srovnány na Obr. 9. Výsledky vyextrahovaných množství Cu^{2+} při frakční extrakci jsou znázorněny na Obr. 10.



Obr. 9 Srovnání obsahu mědi v gelu mezi frakční a kontinuální extrakcí pro jednotlivé frakce

Při kontinuální extrakci bylo dosaženo frakcionace Cu^{2+} iontů podle síly vazby v huminovém gelu. Z Obr. 9 je zřejmé, že při kontinuální extrakci 1M HCl vyextrahovala celou silně vázanou a reziduální frakci, protože na UV-VIS spektrometru nebylo naměřeno žádné množství mědi ve výluzích po použití 0,025M NH_4EDTA . Bylo také zjištěno, že v huminovém gelu bylo obsaženo nejvíce volné mobilní frakce a potom stejně iontově-výměnné frakce a silně vázané a reziduální frakce.



Obr. 10 Obsah Cu ve vyluzích při frakční extrakci

Z Obr. 10 je patrné, že největší množství vyextrahovaných Cu^{2+} iontů bylo získáno pomocí NH_4EDTA a nejmenší množství pomocí vody. Důvodem je, že NH_4EDTA je silnější činidlo než voda. Tím pádem dokáže NH_4EDTA extrahovat všechny frakce, od volné mobilní až po silně vázanou a reziduální. Při frakční extrakci 0,025M NH_4EDTA vyextrahovalo veškeré nadifundované množství mědi, tím pádem byla jeho účinnost 100 %. Ostatní hodnoty účinností činidel při frakční extrakce jsou znázorněny v Tabulka 2.

Tabulka 2 Účinnosti jednotlivých činidel při frakční extrakce

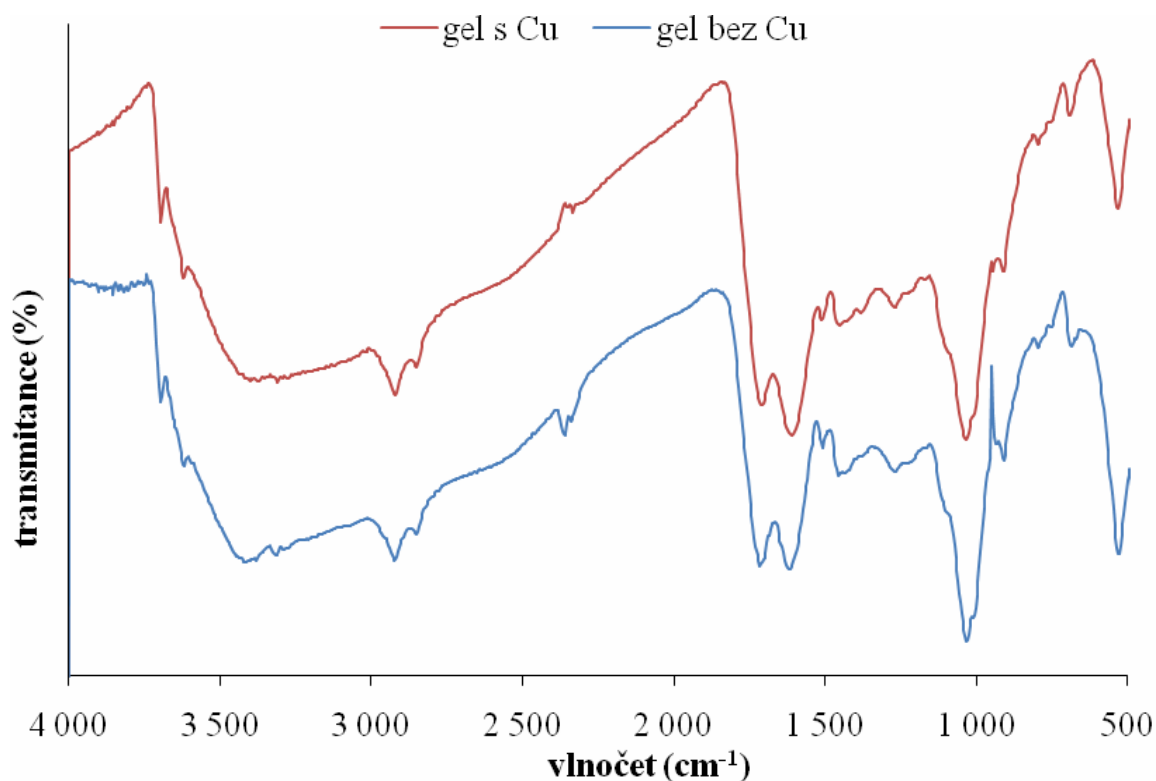
extrakční činidlo	účinnost (%)
voda	31,00
1M MgCl_2	67,16
1M HCl	89,88
0,025M NH_4EDTA	100,00

Z tohoto experimentu vyplývá, že síla vazby mědi v huminových gelech závisí na poměru jednotlivých frakcí Cu^{2+} iontů. Se zvyšujícím se obsahem volné mobilní frakce klesá síla vazby mědi v huminových gelech. Naopak se zvyšujícím se obsahem silně vázané a reziduální frakce roste síla vazby mědi v huminových gelech.

Charakterizace huminových gelů

K charakterizaci huminových gelů byla použita infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací. Nejprve byl změřen gel bez Cu a gel s Cu. Výsledky z tohoto měření jsou znázorněny na Obr. 11. Část spektra v rozmezí vlnočtů $3500\text{--}2900\text{ cm}^{-1}$ nelze prezentovat

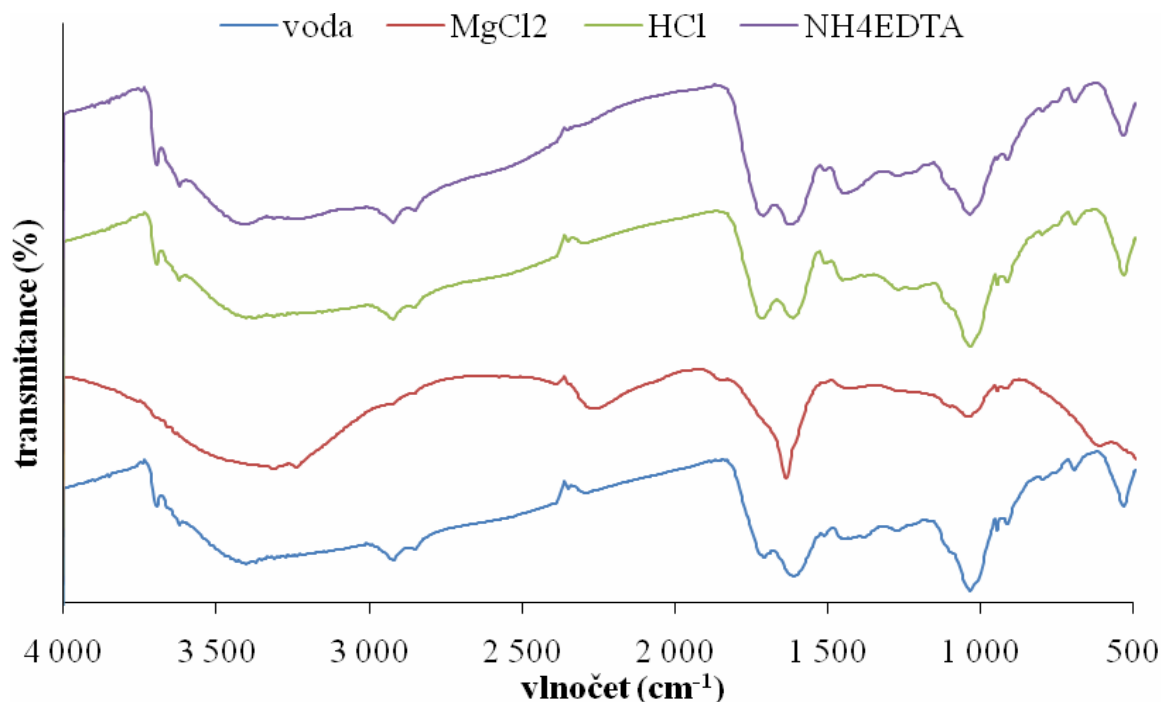
kvůli vzdušné vlhkosti. Oblast v rozmezí vlnočtu 2900–2800 cm^{-1} reprezentuje absorpci etherických ($-\text{O}-\text{CH}_3$) skupin. Okolo vlnočtu 2350 cm^{-1} se nachází oblast absorpce oxidu uhličitého ze vzduchu. Oblast okolo vlnočtu 1700 cm^{-1} odpovídá absorpci karboxylové ($\text{C}=\text{O}$) skupiny buď v karboxylových kyselinách, nebo v ketonech. Okolo vlnočtu 1630 cm^{-1} se nachází oblast absorpce karboxylátového aniontu ($-\text{COO}^-$). Dále oblast vlnočtu 1200–1000 cm^{-1} odpovídá absorpci fenolických a alifatických alkoholových ($-\text{OH}$) skupin. Z Obr. 11 je patrné, že u spektra pro gel s Cu nastávají jen nepatrné změny. V oblasti vlnočtu okolo 1700 cm^{-1} dochází k mírnému zmenšení píku oproti gelu bez Cu, který odpovídá absorpci karboxylové skupiny. Dále okolo vlnočtu 1200–1000 cm^{-1} dochází k poklesu pásu.



Obr. 11 Naměřená IČ spektra pro gel bez mědi a gel s mědí

Následně bylo provedeno měření zbytků gelů po frakční extrakci. Výsledky měření jsou znázorněny na Obr. 12. U spekter pro vodu, HCl a NH_4EDTA dochází ke třem významným změnám oproti původním gelům. Změny proběhly v oblasti vlnočtu okolo 1700 cm^{-1} , kde došlo k poklesu pásu. Dále okolo vlnočtu 1630 cm^{-1} také dochází ke zmenšení píku. Nakonec v rozmezí vlnočtu 1200–1000 cm^{-1} nastává výrazný pokles pásu. Naopak ve spektru pro MgCl_2 se oproti původním gelům významně zvýrazňuje pás ve vlnočtu okolo 1630 cm^{-1} , který odpovídá karboxylátovému iontu a tím se zmenšil pík okolo vlnočtu 1700 cm^{-1} . Jak u ostatních spekter dochází u MgCl_2 k poklesu pásu v oblasti vlnočtu 1200–1000 cm^{-1} .

Spektra gelů po frakční extrakci se vzájemně mezi sebou významně neliší s výjimkou MgCl_2 , kde došlo k zvýraznění pásu okolo vlnočtu 1630 cm^{-1} a tím ke zmenšení píku okolo vlnočtu 1700 cm^{-1} .

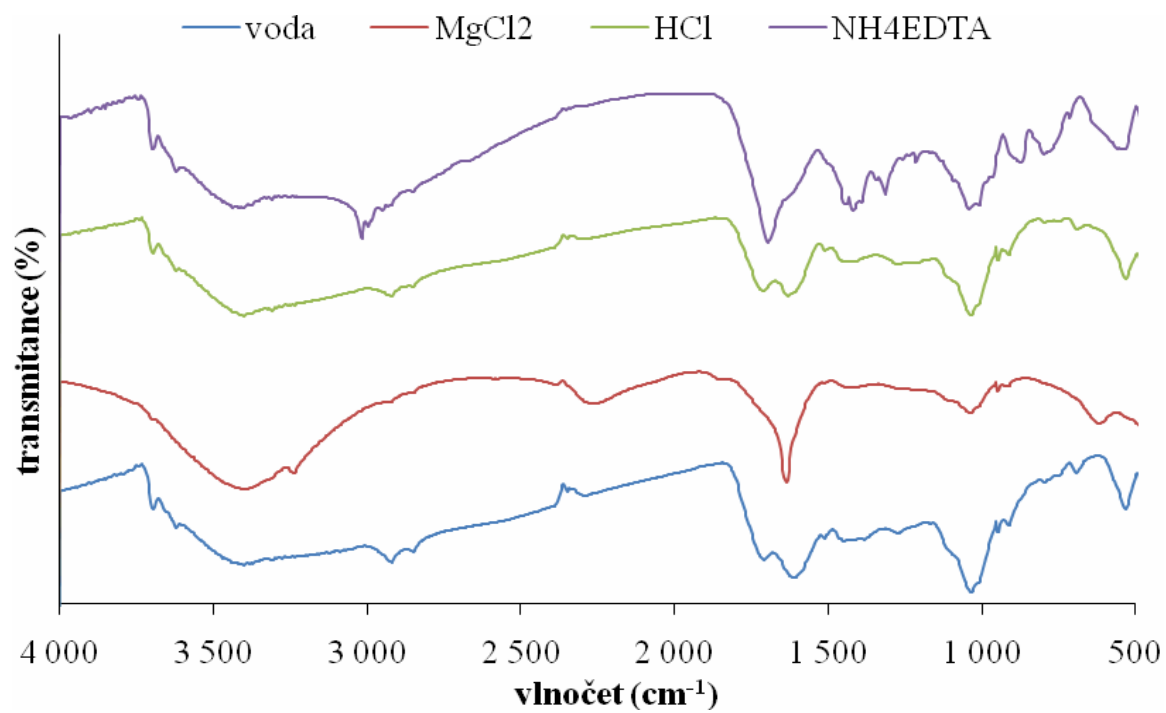


Obr. 12 Naměřená IČ spektra gelů po frakční extrakci

Nakonec byly změřeny zbytky gelů po kontinuální extrakci. Výsledky tohoto měření jsou znázorněny na Obr. 13. U spekter pro vodu a HCl došlo oproti původnímu gelu ke snížení pásů v okolí vlnočtu 1700 a 1630 cm^{-1} a dále ke zmenšení píku v oblasti okolo $1200\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$. Z Obr. 13 je zřejmé, že u spektra pro MgCl_2 došlo k významnému zvýraznění pásu okolo vlnočtu 1630 cm^{-1} a tím ke snížení pásu okolo vlnočtu 1700 cm^{-1} . Dále ke zmenšení píku v rozmezí vlnočtu $1200\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$. Spektrum pro NH_4EDTA se změnilo v oblasti vlnočtu 1700 , 1630 a $1200\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$. Okolo vlnočtu 1700 cm^{-1} došlo ke zvýšení intenzity v porovnání s 1630 cm^{-1} . Pík v rozmezí vlnočtu $1200\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ se naopak zmenšil.

Spektra gelů pro vodu a HCl se vzájemně významně neliší, ale je zřejmý rozdíl u spekter pro MgCl_2 a NH_4EDTA . Spektrum pro MgCl_2 se liší pouze v oblastech vlnočtů 1700 a 1630 cm^{-1} . A u spektra pro NH_4EDTA se snížil pás okolo vlnočtu 1630 cm^{-1} a zvětšil se pík okolo vlnočtu 1700 cm^{-1} .

Výsledky z tohoto měření dokazují, že při tvorbě komplexů s měďnatými ionty dochází k zapojení karboxylových a fenolických funkčních skupin HK.



Obr. 13 Naměřená IČ spektra gelů po kontinuální extrakci

5 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo prostudovat sílu vazby mědi v huminových gelech. Získané poznatky jsou shrnuty dále:

- Huminový gel byl připraven rozpuštěním huminových kyselin v 0,5M NaOH. Vzniklý humát sodný byl okyselen 35% HCl na pH menší než 1.
- Gel byl rozpouštěn v roztocích CuCl_2 o různé koncentraci. Na základě zjištění, že se gel nerozpouštěl ve vyšších koncentracích, byl pro další měření použit roztok CuCl_2 o koncentraci $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.
- Následně byl studován vliv doby extrakce a objemu extrakčního činidla. Při době extrakce 1 den dosahovalo měření téměř při všech objemech optimálních hodnot. Nejlepších výsledků bylo dosaženo při objemu 5 ml, ale z hlediska dalšího měření bylo výhodnější použít objem 10 ml. Na základě těchto zjištění byla do dalšího experimentu použita doba extrakce 1 den a objem extrakčního činidla 10 ml.
- K charakterizaci huminových gelů byla použita infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací. Spektra gelů po frakční extrakci se vzájemně mezi sebou významně nelišila s výjimkou MgCl_2 , kde došlo k zvýraznění pásu okolo vlnočtu 1630 cm^{-1} a tím ke zmenšení píku okolo vlnočtu 1700 cm^{-1} . Spektra gelů pro vodu a HCl se vzájemně významně nelišila, ale byl zřejmý rozdíl u spekter pro MgCl_2 a NH_4EDTA . Spektrum pro MgCl_2 se lišilo pouze v oblastech vlnočtů 1700 a 1630 cm^{-1} . A u spektra pro NH_4EDTA byl snížen pás okolo vlnočtu 1630 cm^{-1} a zvětšen pík okolo vlnočtu 1700 cm^{-1} . Výsledky z tohoto měření dokazují, že při tvorbě komplexů s měďnatými ionty dochází k zapojení karboxylových a fenolických funkčních skupin HK.
- Naposledy byla prostudována síla vazby Cu^{2+} iontů v huminových gelech. Použitím různých extrakčních činidel lze extrahovat z huminového gelu různě vázané Cu^{2+} ionty. Od volné mobilní frakce, kterou lze extrahovat vodou, přes iontově-výměnnou frakci (1M MgCl_2), až po silně vázané a reziduální frakce (1M HCl a 0,025M NH_4EDTA). Při frakční extrakci 0,025M NH_4EDTA vyextrahovalo veškeré nadifundované množství mědi, tím pádem byla jeho účinnost 100 %. NH_4EDTA je tedy nejsilnější extrakční činidlo. Při kontinuální extrakci bylo dosaženo frakcionace Cu^{2+} iontů podle síly vazby v huminovém gelu. Bylo také zjištěno, že v huminovém gelu bylo obsaženo nejvíce volné mobilní frakce a potom stejně iontově-výměnné frakce a silně vázané a reziduální frakce. Síla vazby mědi v huminových gelech závisí na poměru jednotlivých frakcí Cu^{2+} iontů. Se zvyšujícím se obsahem volné mobilní frakce klesá síla vazby mědi v huminových gelech. Naopak se zvyšujícím se obsahem silně vázané a reziduální frakce roste síla vazby mědi v huminových gelech.

6 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- ¹ WEBER, J. *Definition of soil organic matter*, Humintech. [online]. poslední úprava: 2008, [cit. 2011 – 04 – 08]. Dostupné z: <<http://www.humintech.com/001/>>.
- ² *Humintech* [online]. [cit. 2011 – 04 – 08]. Agricultural and Humic Acids Based Products. Dostupné z WWW: <<http://www.humintech.com/001/>>.
- ³ JANSEN, S. A., et al. Structural modeling in humic acids. *Materials Science and Engineering C*. 1996, vol. 4, s. 175–179.
- ⁴ HOFRICHTER, M., STEINBÜCHEL, A. *Biopolymers - Lignin, Humic substances and Coal*, 1st ed. Wiley-VCH, 2001. ISBN 978-3-527-30290-1.
- ⁵ SKOKANOVÁ M., DERCOVÁ K. Humínové kyseliny, původ a struktúra. *Chemické listy* 102. 2008, s. 338–345.
- ⁶ PENA-MÉNDEZ, E. M.; HAVEL, J.; PATOČKA, J. Humic substances - compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. *Journal of Applied Biomedicine*. 2005, vol. 3. s. 13–24. ISSN 1214-0287.
- ⁷ NOVÁK, J. P. *Fyzikální chemie II*. První vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2001. 316 s. ISBN 80-7080-436-X.
- ⁸ POUCHLÝ, J. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*. Druhé vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2001. 198 s. ISBN 80-7080-331-X.
- ⁹ BARTOVSKÁ, L., ŠIŠKOVÁ, M. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Čtvrté vydání. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2002. 192 s. ISBN 80-7080-475-0.
- ¹⁰ DOJČANSKÝ, J., LONGAUER, J. *Chemické inženýrstvo II*. 1. vydání. Bratislava: Malé centrum Bratislava, 2000. ISBN 80-967064-8-9.
- ¹¹ TESSIER, A.; CAMPBELL, P. G. C.; BISSON, M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*, 1979, vol. 51, no. 7, s. 844–850.
- ¹² SLAVEK, J.; WOLD, J.; PICKERING, W. F. Selective extraction of metal ions associated with humic acids. *Talanta*. 1982, vol. 29, s. 743–749.
- ¹³ PÉREZ-CID, B.; LAVILLA, I.; BENDICHO, C. Comparison between conventional and ultrasound accelerated Tessier sequential extraction schemes for metal fractionation in sewage sludge. *Fresenius J Anal Chem*, 1999, vol. 363, s. 667–672.
- ¹⁴ KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. 2. upravené a doplněné vyd. Ostrava : Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2. s. 132.

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

UV-VIS	ultrafialová a viditelná spektrometrie
HL	humínové látky
HK	humínové kyseliny
FK	fulvíkové kyseliny
FT-IR	infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací
RPM	otáčky za minutu (round per minute)