



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

LYZIMETRY – SLOŽENÍ PŮDNÍHO ROZTOKU V NATIVNÍ PODOBĚ

LYSIMETERS - COMPOSITION OF SOIL SOLUTION IN ITS NATIVE FORM

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Jiří Zikmund

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. Vojtěch Enev, Ph.D.

BRNO 2024

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK2006/2023 Akademický rok: 2023/24
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Student: **Jiří Zikmund**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Chemie a analýza přírodních látek
Vedoucí práce: **doc. Ing. Vojtěch Enev, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Lyzimetry – složení půdního roztoku v nativní podobě

Zadání bakalářské práce:

Cílem této BP je sepsat literární rešerši týkající se představení, studia a podrobné fyzikálně–chemické charakterizace půdního roztoku (PR). Experimentální část bude zaměřena na studium organické a anorganické části PR za použití titrací, spektrometrických metod ICP–EOS a technické normy ČSN.

Termín odevzdání bakalářské práce: 20.5.2024:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Jiří Zikmund
student

doc. Ing. Vojtěch Enev, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2024

prof. Ing. Michal Veselý, CSc.
děkan

ABSTRAKT

Tato bakalářská práce se zabývá problematikou půdního roztoku s důrazem na vodorozpustné frakce huminových látek. Huminové látky jsou organické sloučeniny, které se přirozeně vyskytují v půdě i v půdním roztoku, a sehrávají významnou roli ve fyzikálních, chemických i biologických procesech probíhajících v půdě. V experimentální části byly vyhodnocovány vzorky půdního roztoku pocházející z pokusné stanice Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského v Hradci nad Svitavou. Jednalo se o vzorky pocházející z kontrolní varianty a z variant hnojených kejdou a digestátem. U vzorků byla zjištěna hodnota pH a vodivosti půdního roztoku. Dále byly analyzovány huminové látky obsažené v půdním roztoku pomocí metod infračervené, fluorescenční a UV/Vis spektrometrie.

ABSTRACT

This bachelor's thesis deals with the issue of soil solution with an emphasis on water-soluble fractions of humic substances. Humic substances are organic compounds that occur naturally in the soil and in the soil solution, and they play an important role in the physical, chemical and biological processes taking place in the soil. In the experimental part, samples of the soil solution originating from the experimental station of the Central Institute for Supervising and Testing in Agriculture in Hradec nad Svitavou were evaluated. These were samples coming from the control variant and from the variants fertilized with slurry and digestate. The pH and conductivity values of the soil solution were determined for the samples. Furthermore, the humic substances contained in the soil solution were analyzed using infrared, fluorescence and UV/Vis spectrometry methods.

KLÍČOVÁ SLOVA

půda, půdní roztok, kejda, digestát, huminové látky, infračervená spektrometrie, fluorescenční spektrometrie, UV/Vis spektrometrie

KEY WORDS

soil, soil solution, slurry, digestate, humic substances, infrared spectroscopy, fluorescence spectroscopy, UV/Vis spectroscopy

ZIKMUND, Jiří. *Lyzimetry – složení půdního roztoku v nativní podobě*. Brno, 2024. Dostupné také z: <https://www.vut.cz/studenti/zav-prace/detail/156792>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Vojtěch Enev.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
Jiří Zikmund

PODĚKOVÁNÍ

Na tomto místě bych chtěl poděkovat vedoucímu této bakalářské práce doc. Ing. Vojtěchu Enevovi, PhD. za odborné vedení, cenné rady a připomínky k mé bakalářské práci. Moje poděkování náleží rovněž mé rodině za podporu během studia i při psaní této bakalářské práce.

OBSAH

ÚVOD	7
1 TEORETICKÁ ČÁST	9
1.1 Půda	9
1.2 Vznik půdy.....	9
1.3 Složení půdy.....	9
1.3.1 Plyná fáze.....	9
1.3.2 Kapalná fáze.....	10
1.3.3 Pevná fáze	10
1.4 Huminové látky.....	14
1.4.1 Vznik	14
1.4.2 Rozdělení.....	16
1.4.3 Význam.....	17
1.5 Půdní roztok.....	17
1.5.1 Složení.....	18
1.5.2 Environmentální význam.....	18
1.6 Metody analýzy půdního roztoku.....	19
1.6.1 Stanovení obsahu rozpuštěných látek	19
1.6.2 Stanovení půdní reakce.....	20
1.6.3 Stanovení huminových látek.....	22
2 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	27
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	29
3.1 Použité chemikálie	29
3.2 Použité přístroje	29
3.3 Použité vzorky půdního roztoku	29
3.4 Postup	30
3.4.1 Měření pH a vodivosti roztoku	30
3.4.2 FTIR spektrometrie.....	30
3.4.3 Fluorescenční spektrometrie	30
3.4.4 Extrakce huminových látek	30
3.4.5 UV/Vis spektrometrie.....	31
4 VÝSLEDKY A DISKUZE	32

4.1	Půdní reakce a vodivost.....	32
4.2	FTIR spektrometrie	32
4.3	Fluorescenční spektrometrie	35
4.4	UV/Vis spektrometrie.....	35
5	ZÁVĚR	37
6	REFERENCE	38
7	PŘÍLOHY	41

ÚVOD

Souš zabírá 29,8 % zemského povrchu. To odpovídá téměř 150 milionům km². Toto území je místem pro život a růst mnoha organismů – bakterií, hub, rostlin, živočichů, člověka nevyjímaje. Nalezení organismu, který by nebyl ať už přímo nebo nepřímo (byť často i hodně vzdáleně) závislý na půdě, by bylo značně obtížné.

Povrch souše není jednotvárný. V průběhu geologického vývoje planety Země se v závislosti na globálních i lokálních podmínkách prostředí formovaly různé útvary pokrývající povrch naší planety. Mnohé jsou téměř nehostinné pro život, jiné z nich nabízejí životu mnohem přívětivější tvář. V průběhu časů působením půdotvorných činitelů vznikala v mnoha oblastech napříč zeměpisnými šířkami půda.

I přes fakt, že život vznikl v moři, je to nyní právě půda, která postupně převzala otěže v diverzitě života. Pedosféra, neboli „půdní“ obal Země, pokrývá značnou část zemského povrchu. Žádné jiné prostředí není tak rozmanité co do počtu druhů, které ho obývají. Půda rovněž umožňuje růst kořenů rostlin. Po vyklíčení vzhází rostliny nad povrch půdy, kde vytváří další vhodné prostředí pro živočichy. Vzájemná provázanost těchto složek ekosystému je nezbytná pro jeho udržení. Pro člověka, potažmo pro zemědělství, představuje půda základní výrobní prostředek nejen pro získání potravy a krmiv pro hospodářská zvířata, ale rovněž pro mnohá odvětví průmyslu.

Středobodem každé půdy je půdní roztok. Ten vytváří důležitý komunikační kanál mezi všemi ostatními složkami půdy. Skrze něj prochází největší tok minerálních látek z pevné složky půdy ke kořenům rostlin. Zároveň hraje důležitou roli coby zdroj vody pro rostliny. Spojení těchto dvou složek vytváří transpirační proud. Ten začíná nasátím vody kořeny, pokračuje vodivými cévními svazky celou rostlinou tak, aby v závěru opustil rostlinu skrze průduchy v podobě vodní páry. Během této cesty unáší vodorozpustné minerální látky a transportuje je do těla rostliny.

Humínové látky jsou esenciální složkou půdy. V půdě se nalézají nejčastěji jako součást pevného podílu půdy. Část z nich je nicméně díky své rozpustnosti součástí půdního roztoku. Ještě počátkem devatenáctého století lidé díky Thaerově humusové teorii věřili, že zdrojem veškerých látek pro růst rostlin je vedle vody pouze humus. Tuto teorii vyvrátil až v roce 1840 Justus von Liebig svou minerální teorií. Tento objev současně znamenal pokles zájmu o udržování půdní úrodnosti organickými hnojivy a vyvrcholil Zelenou revolucí ve druhé polovině dvacátého století.

V současnosti se ukazuje, že i přes zajištěnou minerální výživu, dochází často spíše ke stagnaci kvantity i kvality produkce. Nedostatečným přísunem kvalitních organických látek do půdy v kombinaci s probíhající změnou klimatu dochází k nedozírným škodám na zemědělské produkci. V obdobích bez dešťových srážek dochází vlivem nedostatečné vododržnosti půdy k problémům se zásobováním rostlin vodou. Období sucha jsou obvykle přerušena prudkými srážkami, které způsobují erozi půdy. Jejich vznik jen dále prohlubuje problémy s degradací půdy.

Nedozírný význam půdy v rámci ekosystému poukazuje na nutnost zabývat se její problematikou. Zejména je nutná důkladná analýza a zhodnocení jejího stavu. Na jeho základě je třeba vypracovat nápravná opatření ke zlepšení stavu půdy. Cílem je udržet půdu ve funkčním stavu tak, aby byly zachovány všechny její funkce i pro příští generace.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Půda

Dle Encyclopædia Britannica je půda definována jako biologicky aktivní porézní médium, které vzniklo jako nejsvrchnější vrstva zemské kůry. Půda je významným prostředím pro život, slouží jako zásobárna vody a živin, filtrační a dekontaminační médium a účastník koloběhu uhlíku a dalších prvků. Vzniká procesem zvětrávání, který je podmíněn působením geologických, klimatických a biologických činitelů [1].

Z uvedeného vyplývá, že půda je nesmírně komplexní systém tvořený rozmanitými složkami, které se vzájemně prolínají. Ke správné funkci celého půdního ekosystému je nezbytná harmonie všech působících složek [2].

1.2 Vznik půdy

Vznik půdy neboli pedogeneze je dlouhotrvající proces. Uvádí se, že se 1 cm půdy vytváří 100 let [3]. Celý proces započiná působením fyzikálních činitelů (voda, led, střídání teplot...) na tzv. matečnou horninu. Postupně dochází k jejímu rozrušování a rozpadu na menší fragmenty. V důsledku fragmentace má vznikající systém mnohem větší povrch než původní matečná hornina. Vznikající povrch urychluje působení chemických činitelů (roztoky solí, kyselin a zásad). Chemické činitele přeměňují substrát zejména po kvalitativní stránce (mění jeho chemické složení) a sekundárně spolupůsobí na další fragmentaci částic.

Takovéto prostředí obsahuje živiny v přístupnějších formách. Přítomnost přístupných živin umožňuje rozvoj organismů. Organismy svým životem dále zrychlují a podporují proces pedogeneze. Synergickým působením všech jmenovaných činitelů dochází ke vzniku půdy. V průběhu času se v půdě vyvíjí jednotlivé horizontální vrstvy (tzv. horizonty). Dle přítomnosti a mocnosti jednotlivých horizontů se definují jednotlivé půdní typy [4].

1.3 Složení půdy

Rostislav Ledvina popisuje elementární složení půdy: „Půda je tříložkový polydisperzní systém, je složen z pevné, kapalné a plynné fáze“ [5]. Objemový podíl pevné fáze dosahuje kolem 50 %. Zbýlá část objemu je tvořena půdními póry. Půdní póry jsou vyplněny půdním vzduchem nebo půdním roztokem. Optimální podmínky v půdě nastávají tehdy, je-li přibližně polovina pórů zaplněna vodou a druhá polovina vzduchem. Podíl půdního roztoku by měl činit 20–30 objemových % půdy, taktéž i půdní vzduch by měl být v půdě zastoupen přibližně 20–30 objemovými % [6].

1.3.1 Plynná fáze

Plynnou fázi půdy tvoří půdní vzduch. Oproti atmosféře obsahuje půdní vzduch přibližně desetinásobnou koncentraci oxidu uhličitého [7]. Naopak je zde nižší podíl kyslíku. Oba tyto fenomény jsou dány probíhajícím půdním životem. Půdní organismy spotřebovávají kyslík k respiraci a vydechují oxid uhličitý. Na rozdíl od atmosféry je v půdě významně omezena difúze, což zapříčiňuje nahromadění oxidu uhličitého na úkor kyslíku [4].

1.3.2 Kapalná fáze

Kapalná fáze půdy je tvořena půdním roztokem. V půdním roztoku jsou obsaženy minerální, organické a organominerální látky. Jedná se o fázi půdy, která hraje zásadní roli ve výživě rostlin. Značný podíl živin přijatých rostlinou pochází právě z půdního roztoku. Koncentrace rozpuštěných látek kolísá nejčastěji v rozmezí 0,05–0,10 % v závislosti na relativní vlhkosti půdy. Čím je relativní vlhkost půdy vyšší, tím je koncentrace solí nižší a opačně [7].

1.3.3 Pevná fáze

Pevná fáze půdy se člení na minerální a organickou složku. Obě skupiny se dále rozdělují do dalších podskupin. Z hlediska objemu zabírá pevná fáze kolem 50 % celkového objemu půdy. Hmotnostní podíl této fáze je však mnohem vyšší [6].

1.3.3.1 Minerální podíl

V minerálním podílu půdy jsou zastoupeny primární a sekundární hlinitokřemičitany a ostatní minerály. Podíl, respektive velikost, jednotlivých frakcí minerálního podílu předurčuje mnohé vlastnosti konkrétní půdy – sorpční schopnost, tepelnou vodivost, obtížnost obdělávání, vododržnost. Dle podílu jílnatých částic (částic <0,01 mm) určujeme půdní druh dané půdy [6].

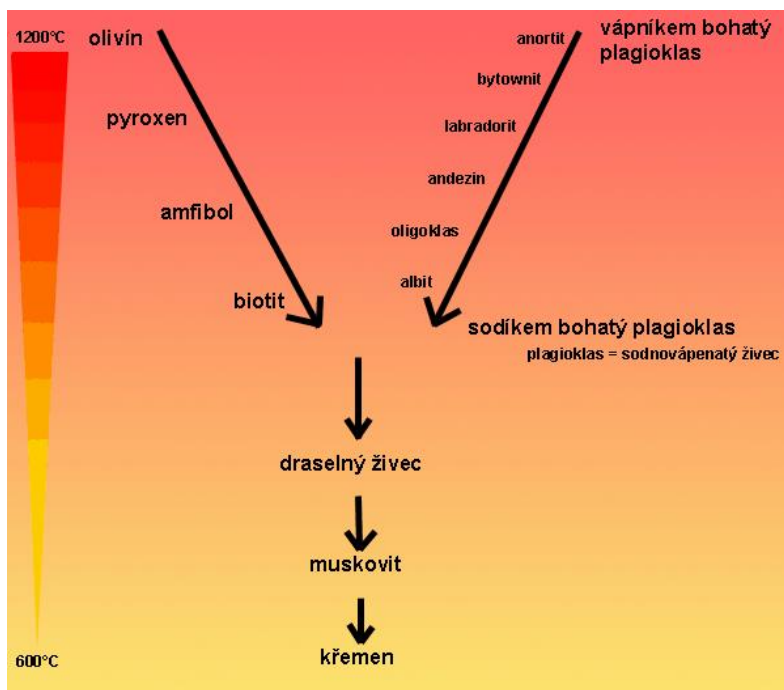
Tabulka 1: Klasifikace půdního druhu dle prof. Nováka [6]

podíl jílnatých částic [%]	půdní druh	typ půdy
0–10	písčítá	lehká
10–20	hlinitopísčítá	
20–30	písčitohlinitá	středně těžká
30–45	hlinitá	
45–60	jílovitohlinitá	těžká
60–75	jílovitá	
>75	jíl	

Primární hlinitokřemičitany

Primární hlinitokřemičitany jsou typickou součástí vyvřelých a přeměněných hornin. V půdě se nachází převážně ve formě velkých zrn, protože se jedná o obtížně erodovatelnou skupinu minerálů. Vlivem malého měrného povrchu na ni téměř nepůsobí chemická eroze, ale dominantně eroze fyzikální. K nejznámějším zástupcům této skupiny náleží draselné (ortoklas, sanidin, mikroklin) a sodnovápenaté (směsi albitu a anortitu) živce, dále olivíny, pyroxeny, amfiboly a slídy [3].

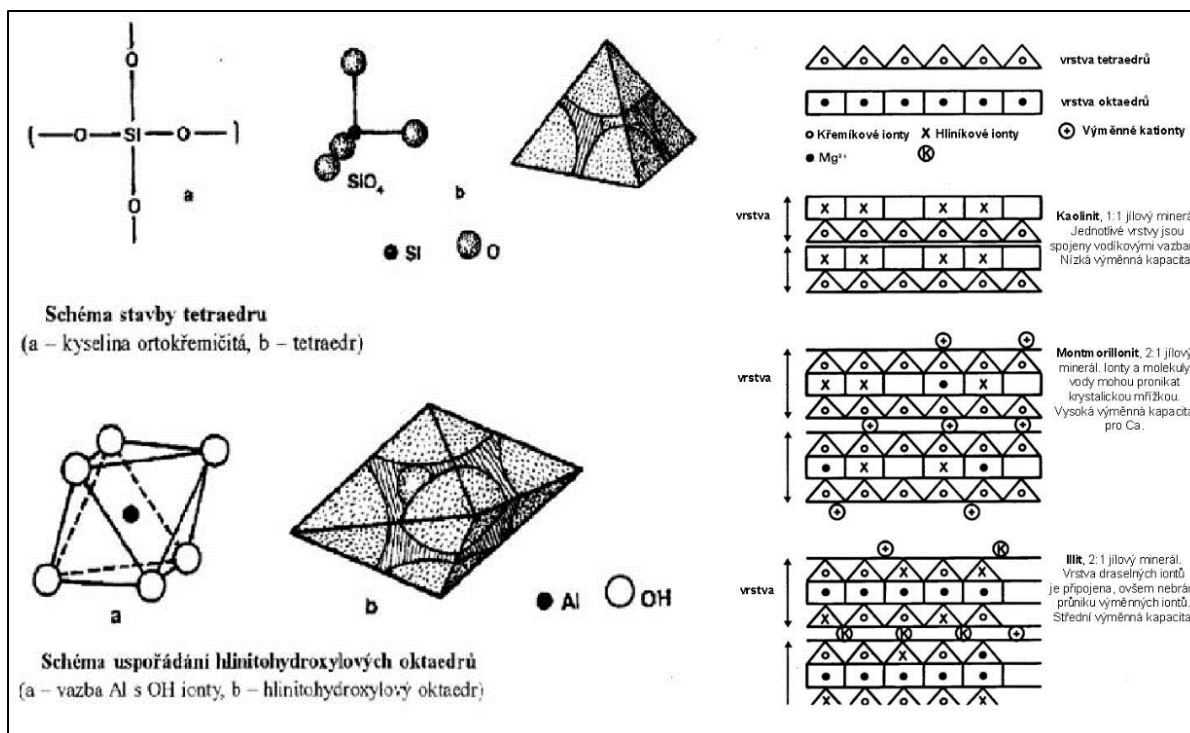
Jednotlivé hlinitokřemičitany krystalizují za různé teploty. S klesající teplotou krystalizace roste kyselost horniny, její odolnost vůči zvětrávání a podíl vápníku a hořčíku na úkor draslíku. Pořadí hlinitokřemičitanů dle klesající teploty krystalizace ukazuje Bowenovo krystalizační schéma [8].



Obrázek 1: Bowenovo krystalizační schéma [9]

Sekundární hlinitokřemičitany (jílové minerály)

Sekundární hlinitokřemičitany vznikají zvětráváním primárních hlinitokřemičitanů. V průběhu zvětrávání se mění jejich struktura a chemické složení. Na rozdíl od primárních hlinitokřemičitanů vykazují ty sekundární mnohonásobně vyšší povrch. S rostoucím povrchem pozitivně koreluje schopnost sorpce. Jejich struktura je tvořena tetraedry SiO_4^{2-} a oktaedry $\text{Al}(\text{OH})_6^{3-}$. Vlivem substituce jiných prvků (zejména kovů s nižší valencí) v krystalové mřížce dochází ke vzniku záporného náboje na povrchu jílového minerálu. Význam tohoto fenoménu je nedocenitelný pro sorpci kationtů v půdě, kdy na povrchu záporně nabitého jílového minerálu se fyzikálně-chemickou sorpcí vážou kationty z půdního roztoku [3].



Obrázek 2: Struktura jílových minerálů [10]

Tabulka 2: Rozdělení hlinitokřemičitanů dle složení [3]

podílu zastoupení tetraedrů a oktaedrů	název	bobtnavost	povrch [m ² .g ⁻¹]	sorpční schopnost [mmol.100 g ⁻¹]	
				kationty	anionty
1:1	skupina kaolínu	ne	<15	3–15	-
2:1	skupina montmorillonitu	ano	až 800	80–150	-
	skupina illitu	omezená	50–90	10–40	-
proměnlivé složení	skupina allofánu	ne	-	135	až 30

Ostatní minerály

Mezi nehlinitokřemičitanové minerály náležejí oxidy, uhličitany, sírany, fosforečnany, sulfidy a mnohé další. Tyto minerály jsou významné z hlediska vlivu na pH půdy (uhličitany, hydrogenuhličitany) nebo slouží jako rezervoár živin (sírany, fosforečnany, některé oxidy). Jejich zastoupení je až na pár výjimek (např. oxidy železa) značně rozdílné v jednotlivých půdách [3].

1.3.3.2 Organický podíl

Organický podíl půdy zaujímá přibližně 5 % hm. pevného podílu půdy. To odpovídá cca 2,5 % obj. půdy. Spadá pod něj živá a neživá (odumřelá) část. Právě podíl organické hmoty v půdě je jedním z podstatných rozdílů mezi půdou a půdotvorným substrátem [6].

Živá složka

Živá složka organického podílu půdy zahrnuje kořeny rostlin (případně další rostlinné orgány) a půdní edafon (pojem zahrnující živočichy a mikroorganismy). Na kořeny rostlin připadá 5–10 % hmotnostních živé složky, živočichové zaujímají 15–30 % hm. a mikroorganismy 60–80 % hm. I když půdní edafon představuje přibližně jen 0,1 % celkové hmotnosti půdy, je nezbytný pro její správné fungování. Naprostá většina edafonu je soustředěna ve svrchní vrstvě do hloubky 10 cm [11].

Edafon dle jeho velikosti rozdělujeme na mikroflóru, mikrofaunu, mezofaunu, makrofaunu a megafaunu. Mezi mikroflóru řadíme bakterie, houby a řasy. Jedná se o nejbohatší skupinu, co do pestrosti jednotlivých druhů i co do počtu jedinců v jednotce objemu. Se zvětšující se velikostí živočichů klesá jejich rodová i druhová rozmanitost i absolutní počty jedinců v jednotce objemu, ale vzhledem k jejich rostoucí hmotnosti jednotlivců roste suma hmotnosti dané frakce. Mezi jednotlivými skupinami organismů vyskytujících se v půdě existují komplexní vztahy potravní. Na pomyslném vrcholu půdního potravního řetězce stojí obratlovci [11].

Tabulka 3: Rozdělení půdního edafonu [11]

skupina	velikost	příklady zástupců	počet jedinců [ks.m ⁻²]	hmotnost [g.m ⁻²]
mikrofauna	<0,1 mm	bičíkovci, kořenonožci, nálevníci	6 x 10 ⁸	10
mezofauna	0,1–2,0 mm	vířníci, hlístice, roztoči, chvostoskoci	10 ⁶	2,6
makrofauna	> 2,0 mm	roupice, měkkýši, pavouci, stejnonožci, mnohonožky, stonožky, brouci, dvoukřídlí	10 ⁴	11
megafauna		žížaly, obratlovci	80	40

Neživá složka

Primární neživá organická hmota vzniká odumíráním těl rostlin a živočichů. Uvádí se, že pro zachování půdní úrodnosti je nezbytné dodávat v průměru 4 t sušiny organických látek na hektar a rok. Právě takové množství využije půdní edafon. V případě nedostatečného externího přísunu organických látek začíná edafon spotřebovávat organickou hmotu, jež se nachází v určité fázi její přeměny na stabilní složky organické hmoty. Jeho rozkladem sice půdní edafon získá energii, ale ochudí o něj půdu [7].

Posklizňové zbytky (tj. kořeny rostlin a ponechané strniště) dodávají do půdy organickou hmotu v množství 0,5–5,0 t.ha⁻¹.rok⁻¹ (nejčastěji 1,5–2,0 t.ha⁻¹.rok⁻¹). Ponechání slámy na poli poskytuje 4,0–5,0 t.ha⁻¹.rok⁻¹. Hnojení organickými hnojivy v průměru poskytuje 1,18–1,45 t.ha⁻¹.rok⁻¹. Zásadou správné zemědělské praxe by měla být vyrovnaná bilance organických látek v půdě vedoucí k trvale udržitelné půdní úrodnosti [7].

V půdě dochází působením mikroorganismů k přeměnám primární organické hmoty. Nejdůležitější způsoby přeměny jsou mineralizace, humifikace, ulmifikace a karbonizace. Mineralizace a humifikace probíhají současně na všech typech půd. Při mineralizaci dochází převážně k oxidaci organických sloučenin primární organické hmoty. Během mineralizačního procesu se uvolňuje energie, kterou využívají mikroorganismy. Současně dochází k uvolňování jednoduchých anorganických látek – oxid uhličitý, voda, amoniak, fosfor v minerální formě... Výsledkem je, že dodaný uhlík primární organickou hmotou se uvolňuje ve formě oxidu uhličitého do atmosféry. Jednak se nezvyšuje množství uhlíku v půdě, ba dokonce roste množství skleníkově aktivních plynů (oxid uhličitý, amoniak) v atmosféře. Při mineralizaci se rovněž uvolňují živiny ve snadno přístupných formách pro rostliny a podporují jejich růst [2].

Ulmifikace (neboli rašelinění) a karbonizace (neboli uhelnatění) jsou z hlediska významnosti okrajové procesy. Probíhají v extrémních půdních podmínkách zejména za nepřístupu vzduchu. Výsledkem je substrát velmi bohatý na uhlík, který je však z hlediska biologické přístupnosti (rozložitelnosti) poměrně stabilní, a tudíž obtížněji rozložitelný (metabolizovatelný) půdními organismy [3].

Nejvýznamnějším procesem z hlediska udržení půdní úrodnosti je humifikace. Celý proces probíhá za fakultativně anaerobních podmínek. Jedná se především o redukční pochody, při kterých vznikají značně komplikované organické látky s vyšší molární hmotností, než měl výchozí substrát. Vznikající stabilní složky organické hmoty zvyšují úrodnost půd [3, 6].

1.4 Huminové látky

1.4.1 Vznik

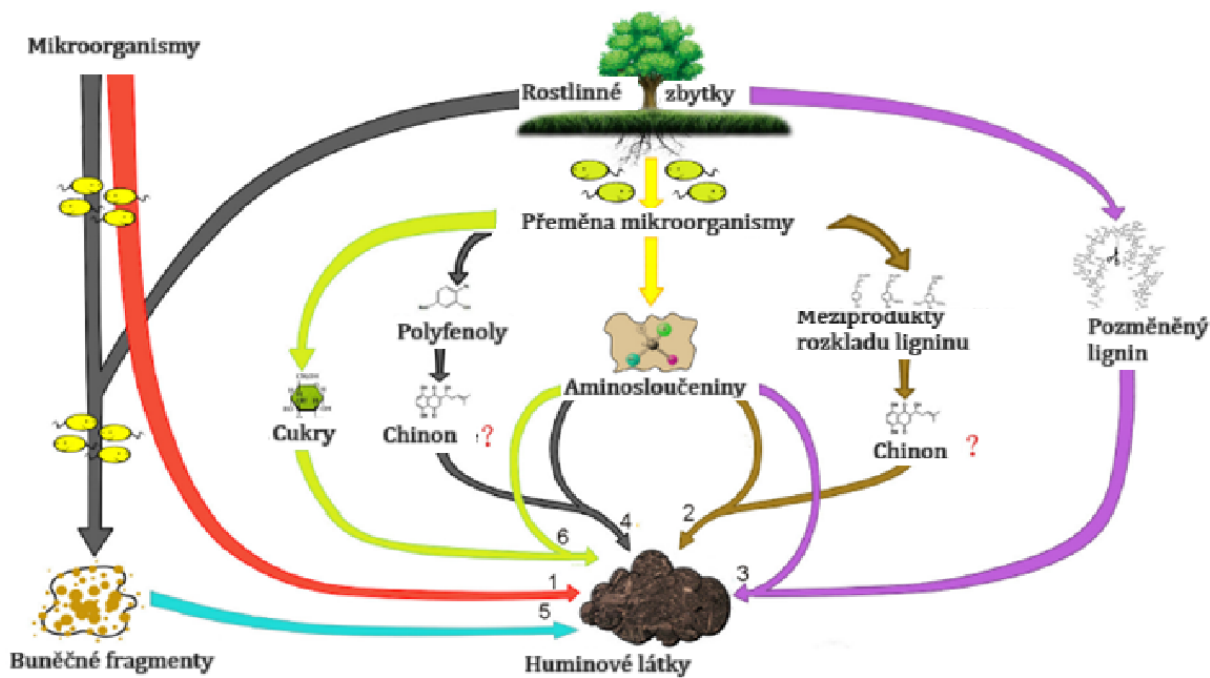
Existuje několik teorií popisujících vznik humusu [12]:

- Nejstarší teorii vzniku huminových látek formuloval Tpycov, který se domníval, že struktura huminových látek je odvozena od struktury celulózy. Právě transformací struktury celulózy měly dle jeho teorie vznikat huminové látky. Tato teorie je dnes nazývána ligninovou (dráha 1 v Obr. 4).
- Polyfenolové teorie tvrdí, že lignin je nejprve oxidován na chinony. Chinony následně polymerují spolu s aminokyselinami za vzniku huminových látek (dráha 2 v Obr. 4).
- Dle Waksmana nepředstavují sloučeniny (např. zmíněné chinony), které jsou snadno metabolizovány mikroorganismy, významný zdroj prekurzorů huminových látek. Navrhl teorii, v níž tvrdil, že kostra huminových látek je tvořena komplexem ligninu s proteiny (dráha 3 v Obr. 4).

- Kononova uvádí, že huminové látky mohou vznikat i bez zapojení ligninu přímo působením mikroorganismů (dráha 4 v Obr. 4).
- Dle Schnutzer a Khana vznikají huminové látky přímou autolýzou buněk (dráha 5 v Obr. 4).
- Podle teorie kondenzace cukrů s aminy dochází k polymeraci redukujících cukrů s aminokyselinami. Jedná se o reakci založenou na Maillardově reakci. Vznikající produkty vykazují hnědou barvu podobnou huminovým látkám. Této teorii však oponuje fakt, že je za běžných podmínek panujících v půdě tato reakce značně pomalá (dráha 6 v Obr. 4).

V současné době se nejeví žádná z výše uvedených teorií jako úplně přesná. S největší pravděpodobností vznikají huminové látky kombinací těchto teorií. Konkrétní významnost dané dráhy je ovlivněna charakteristikami konkrétní lokality – půdním druhem a typem, klimatickými podmínkami, vegetačním pokryvem anebo způsobem obdělávání.

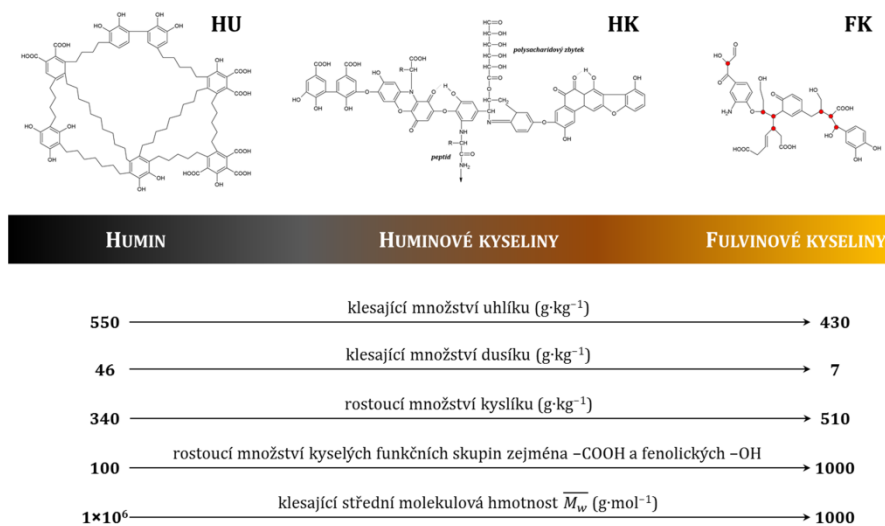
Zcela revoluční teorii formuloval v roce 2002 Alessandro Piccolo. Jeho teorie vyvrací chápání huminových látek jako složitých polymerních struktur. Místo toho definuje huminové látky jako supramolekulární asociace heterogenních a relativně malých molekul, které vznikají jako produkty degradace biologického materiálu. Tyto malé molekuly jsou vzájemně asociovány kovalentními vazbami a slabými ne vazebnými interakcemi – van der Waalsovou vazbou, interakcemi π - π a vodíkovými můstky [13].



Obrázek 3: Schéma možných cest vzniku huminových látek [12]

1.4.2 Rozdělení

Mezi huminové látky spadají fulvinové kyseliny, huminové kyseliny a huminy. Od fulvinových kyselin k huminům se zvyšuje intenzita zbarvení, v důsledku zvyšujícího se stupně polymerace se zvyšuje molární hmotnost a klesá rozpustnost ve vodě [3].



Obrázek 4: Rozdělení huminových látek [3]

Fulvinové kyseliny jsou dobře rozpustné ve vodních roztocích při jakémkoliv pH. Huminové kyseliny jsou rozpustné pouze v roztocích o $\text{pH} > 1$, v roztocích s nižším pH se srážejí, čehož se využívá při jejich izolaci. Huminy jsou ve vodných roztocích nerozpustné při jakémkoliv pH [14].

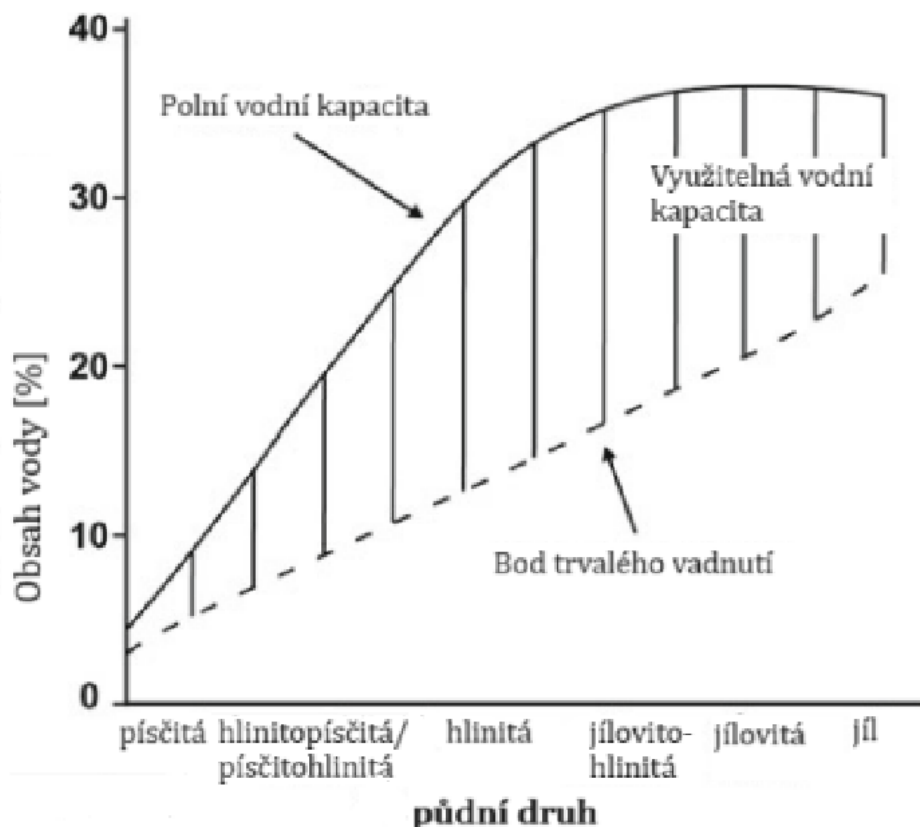
1.4.3 Význam

Přítomnost huminových látek v půdě z fyzikálního hlediska podmiňuje tvorbu půdní struktury. Vznik půdní struktury je spjat s účinkem pojivých látek. Optimálním typem půdní struktury je drobtovitá. Právě ta je schopna zajistit vhodné podmínky pro kořeny rostlin a půdní edafon. Půda s drobtovitou strukturou také lépe zasakuje srážky a následně je zadržuje v kapilárních pórech pro potřeby rostlin [15, 7].

Z chemicko-biologického hlediska tkví význam huminových látek v podpoře výměnné (neboli fyzikálně-chemické) sorpce živin. Sorpční komplex půd je tvořen ze tří složek: minerální, organické a organominerální. Organická složka sorpčního komplexu je způsobena huminovými látkami, v případě organominerální složky jde o kombinaci působení huminových látek a jílových minerálů. Z pohledu huminových látek je sorpce umožněna díky disociaci vodíkového kationtu z karboxylových funkčních skupin. Huminová kyselina tím získá záporný náboj a účelně sorbuje kationty z půdního roztoku. Pořadí ochoty sorpce jednotlivých kationtů vzrůstá v řadě $\text{Li}^+ < \text{Na}^+ < \text{NH}_4^+ < \text{K}^+ < \text{Mg}^{2+} < \text{Ca}^{2+} < \text{Al}^{3+} < \text{Fe}^{3+}$. Z uvedeného je zřejmé, že míra ochoty kationtů sorbovat se zvyšuje s jejich velikostí a zejména nábojem. Uvedený jev je důležitý i z hlediska sorpce těžkých kovů, které jsou silně poutány na půdní sorpční komplex a dochází ke snížení jejich přístupnosti a tím i toxicity [7].

1.5 Půdní roztok

Půdní roztok vytváří kapalný podíl půdy. Přístupnost vody pro potřeby rostlin je ovlivněna zrnitostním složením půdy. Půdy těžké obsahují více kapilárních a semikapilárních pórů. Tím pádem jsou schopny pojmout více vody oproti písčitém půdám. Množství vody, které je půda schopna dlouhodoběji zadržet (tj. tu v kapilárních a semikapilárních pórech) se nazývá polní vodní kapacita. Půdní vlhkost, při níž již půda neobsahuje žádnou vodu dostupnou pro rostliny, se nazývá bod trvalého vadnutí. Oblast mezi těmito hranicemi je nazývá využitelná vodní kapacita a odpovídá vodě, která je dostupná pro potřeby rostlin [16, 3].



Obrázek 5: Závislost vodních charakteristik půdy na půdním druhu [16]

1.5.1 Složení

Půdní roztok je dominantně tvořen vodou a v ní rozpuštěnými látkami. Z minerálních látek se jedná především o ionty solí – kationty a anionty. Z kationtů jsou nejběžnější vápenaté (Ca^{2+}), hořečnaté (Mg^{2+}), draselné (K^+), sodné (Na^+) a amonné (NH_4^+). Mezi anionty převládají chloridové (Cl^-), dusičnanové (NO_3^-), fosforečnanové (PO_4^{3-}), uhličitanové (CO_3^{2-}) a síranové (SO_4^{2-}) [16]. Obsah jednotlivých iontů v půdním roztoku je závislý na půdním druhu a typu, agrotechnice, pěstované plodině, ročním období, a především na úrovni hnojení daného pozemku [17].

Tabulka 4: Průměrná roční koncentrace iontů v půdním roztoku orné půdy (luvisol; pH 7,7; 0–20 cm) [17]

Ion	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	NH_4^+	NO_3^-	SO_4^{2-}	PO_4^{3-}	Zn^{2+}	Mn^{2+}
Koncentrace [μM]	510	1 650	490	48	3 100	590	1,5	0,48	0,002

1.5.2 Environmentální význam

Z hlediska životního prostředí hraje půdní roztok, respektive půda, významnou úlohu. Antropogenní působení člověka v zemědělské krajině je nepopíratelné. Během pěstování plodin na orné půdě se z půdy vyplavují hnojiva (zejména dusičnany a fosforečnany), které se následně dostávají do podzemních vod, které častou slouží jako vody pitné. Stejně tak se může jednat

i o pesticidy (a jejich rezidua) aplikované na zemědělské půdě. Současně se do půdy dostávají také látky, které nemají s využitím půdy žádnou spojitost. Jedná se zejména o těžké kovy, perzistentní organické sloučeniny nebo ropné produkty [18].

Zvláště znečištění těžkými kovy představuje velká rizika. Hlavními problémy představují vysoká toxicita, dlouhá perzistence v půdě a poměrně nezanedbatelné riziko jejich vstupu do potravního řetězce. Největší pozornost je věnována zejména chromu, kadmiu, olovu, rtuti, arsenu, mědi, zinku a niklu [19]. Do půdy se dostávají zejména používáním fosforečných hnojiv, čistírenských kalů, pesticidů a spalováním fosilních paliv. Nelze pominout lokální zdroje jako jsou fotovoltaické elektrárny nebo hutní a těžební průmysl. S využitím rostlin lze zmírnit nebo úplně odstranit nebezpečí těžkých kovů. Tyto metody jsou souhrnně označovány jako fyto-remediační [20]:

- Fytostabilizace je fyto-remediační metoda, při níž se využívá schopnost některých rostlin vylučovat látky, které stabilizují těžké kovy v půdě – sníží jejich rozpustnost, čímž omezí jejich biologickou dostupnost a mobilitu v půdním profilu.
- Při fytoextrakci jsou rostliny využívány jako přirozené akumulátory těžkých kovů. Po naakumulování polutantů v rostlinách jsou sklizeny jejich nadzemní části, které jsou následně odvezeny k dalšímu zpracování.
- Těkavé organické sloučeniny a některé těžké kovy (selen, rtuť nebo arsen) lze v procesu fytovolatilizace převést do těkavých forem, které se transpiračním tokem dostávají přes průduchy rostlin do ovzduší a snižuje se jejich koncentrace v místě akumulace.
- K čištění vod lze využít fytofiltraci. Při ní jsou kořeny některých rostlin ponořeny do vody a odčerpávají z ní polutanty.

1.6 Metody analýzy půdního roztoku

1.6.1 Stanovení obsahu rozpuštěných látek

Základní metodou analýzy půdního roztoku je stanovení obsahu rozpuštěných látek. Využít lze dva způsoby. Prvním z nich je konduktometrické stanovení na základě měření odporu (resp. vodivosti půdního výluhu). Destilovaná voda vykazuje velký elektrický odpor a velmi nízkou vodivost. S rostoucím obsahem rozpuštěných látek výrazně klesá její odpor a zvyšuje se vodivost [21]. Obsah rozpuštěných látek se hodnotí na výluhu 1:5 (půda ku vodě). Tento výluh se podrobuje měření vodivosti konduktometrem a na základě výsledné hodnoty vodivosti vyjádřené v jednotce $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ se určuje zasolení půdy [22].

Tabulka 5: Hodnocení zasolení půd dle vodivosti půdního výluhu [22]

hodnocení zasolení půdy	stupeň citlivosti rostlin k zasolení	vodivost půdního roztoku [mS.cm ⁻¹]
nezasolená	velmi citlivé rostliny	0–2
mírně zasolená	citlivé rostliny	2–4
středně zasolená	středně citlivé rostliny	4–8
silně zasolená	středně odolné rostliny	8–16
velmi silně zasolená	odolné rostliny	>16

Druhou metodou je biologická zkouška klíčivosti. Ta vyjadřuje přímý dopad obsahu rozpuštěných látek na rostliny, ale zároveň může vykazovat jistou nepřesnost kvůli vlivu specifických látek půdního roztoku (zejména inhibičních látek nebo herbicidů). Principem zkoušky je porovnávání vzorku testované půdy s kontrolním vzorem, kterým je nejčastěji písek. Do obou substrátů je vyset odpovídající počet semen testovací rostliny a po vzejití rostlin je porovnána jejich klíčivost. Důležitým parametrem je volba vhodné testovací rostliny. Některé druhy, např. slunečnice roční (*Helianthus annuus* L.), vykazují pouze mírnou ztrátu klíčivosti. Jiné druhy, např. locika salátová (*Lactuca sativa* L.), jsou na zasolení půdy velmi citlivé a s rostoucím obsahem solí v půdě významně klesá jejich klíčivost [7].

Tabulka 6: Vliv klíčivosti semen na koncentraci solí (upraveno dle [7])

koncentrace KCl [mmol.l ⁻¹]	klíčivost [% kontroly]	
	slunečnice	salát
0	100	100
10	96	84
30	93	46
50	91	21
100	80	2

1.6.2 Stanovení půdní reakce

Půdní reakce neboli pH (z lat. *pondus hydrogenii*) je dána aktivitou vodíkových (H⁺) respektive oxoniových (H₃O⁺) a hydroxidových (OH⁻) iontů. Vyjadřuje acidobazické vlastnosti půdy. Půdní reakce ovlivňuje řadu dalších vlastností půdy jako je přístupnost jednotlivých živin a těžkých kovů, aktivitu mikroorganismů a tvorbu huminových látek [23, 7].

Rozlišují se dva typy půdní reakce – aktivní a potenciální. Aktivní půdní reakce (označovaná jako pH/H₂O) vyjadřuje pH čistého půdního výluhu a je dána ionty aktuálně

obsaženými v půdním roztoku. Tato hodnota je v průběhu roku velmi nestálá a v praxi se příliš nepoužívá. Mnohem výhodnější je využití potenciální půdní reakce (označení pH/CaCl₂ nebo dříve pH/KCl). Ta je dána sumou iontů v půdním roztoku a iontů navázaných na půdní koloidy, které se uvolní do roztoku působením chloridu vápenatého nebo draselného. Potenciální půdní reakce je mnohem stálejší v čase a umožňuje lépe monitorovat kvalitu hospodaření na zemědělské půdě [3, 7]. Z § 10 Zákona o hnojivech (č. 156/1998 Sb.) vyplývá povinnost ÚKZÚZ v šestiletých intervalech monitorovat některé půdní vlastnosti (mj. i půdní reakci) zemědělských půd [24].

Tabulka 7: Hodnocení výměnné půdní reakce půd [23]

hodnota pH/CaCl ₂ [-]	hodnocení půdy
< 4,5	extrémně kyselá
4,6–5,0	silně kyselá
5,1–5,5	kyselá
5,6–6,5	slabě kyselá
6,6–7,2	neutrální
7,3–7,7	alkalická
> 7,7	silně alkalická

Tabulka 8: Optimální pH půdy dle její půdního druhu [23]

půdní druh	optimální pH/CaCl ₂ [-]
písčítá	5,5 (+/- 0,2)
hlinitopísčítá	6,0 (+/- 0,2)
písčitohlinitá	6,5 (+/- 0,2)
hlinitá, jíl	7,0 (+/- 0,2)

Při samotném stanovení výměnné půdní reakce se nechá působit 0,01M CaCl₂ v destilované vodě na vzorek půdy (poměr 5:1). Následně je vzniklá suspenze zfiltrována a samotná hodnota pH výluhu (filtrátu) je zjištěna pomocí pH metru [25].

V podmínkách ČR je častým jevem příliš nízká půdní reakce. Tento problém se v praxi řeší vápněním. Vápněním se rozumí aplikace vápenatých hmot na pozemek za účelem zvýšení výměnné půdní reakce. Provádí se zpravidla tří- až čtyřletých cyklech v dávce dle výměnné půdní reakce a půdního druhu. Maximální doporučená dávka je 2,5 t.ha⁻¹ Ca za rok. Vyšší dávku je nutno rozdělit na více aplikací. K úpravě pH se využívá nejčastěji mletý vápenec nebo dolomit. Možné je také využít pálené vápno, slíny nebo cukrovarnickou šámu [7].

1.6.3 Stanovení huminových látek

1.6.3.1 Fluorescenční spektrometrie

Metodu fluorescenční spektroskopie lze díky přítomnosti konjugovaných dvojných vazeb využít k analýze organických látek. K analýze huminových látek fluorescenční spektrometrií lze využít několik indexů. Prvním z nich je BIX (z angl. *biological/autochthonous index*). Dle indexu BIX je možné rozlišit přirozenou organickou hmotu půdy. Hodnoty od 0,8 do 1,0 vykazuje organická hmota vyprodukovaná biologickou činností půdy, zatímco hodnoty BIX pod 0,6 poukazují na její odlišný původ [26].

Dalším indexem sloužícím k popisu humusových látek je FI (z angl. *fluorescence index*). Tento index vyjadřuje kvalitu zkoumané organické hmoty. Organická hmota rostlinného a živočišného původu vykazuje hodnotu FI menší než 1,4. Naopak hodnoty FI větší než 1,9 svědčí o organické hmotě pozměněné mikrobiální činností [26].

Stupeň humifikace organické hmoty popisuje HIX (z ang. *humification index*). HIX čerstvé organické hmoty (rostlinný nebo živočišný materiál) dosahuje hodnot menších než 5. S rostoucím stupněm humifikace se zvyšuje i HIX. Pro vodorozpustnou frakci huminových látek byl stanoven v rozmezí 10 až 30. Pro nerozpustnou (více humifikovanou) je potom ještě vyšší [26].

Tabulka 9: Přehled indexů sloužících k popisu fluorescenční spektrometrie huminových látek [26]

Index	Excitační vlnová délka [nm]	Emisní vlnová délka [nm]	
		čítatel	jmenovatel
BIX	310	380	430
FI	370	450	500
HIX	254	integrál 435–480	integrál 300–345

1.6.3.2 FTIR spektrometrie

K analýze půdní organické hmoty se mj. využívá NIR a MIR spektrometrie. K přípravě vzorku zkoumané látky je připravena tableta z 200–300 mg bromidu draselného a 1 mg vzorku, slisována do disku a vložena do spektrometru. Využívána je celá škála vlnových délek v blízké (NIR) a střední infračervené oblasti (MIR). Celá oblast spadá do vlnových délek v rozsahu 2,5 – 25 μm . Principiálně je rozdělena do dvou podoblastí – oblasti charakteristických vibrací funkčních skupin (group frequency region) a oblasti otisku prstu (fingerprint region). Hranicí je v tomto případě vlnová délka přibližně 7,7 μm , která odpovídá vlnočtu 1 300 cm^{-1} . Vlnové délky s vyšším vlnočtem než 1 300 cm^{-1} spadají do oblasti charakteristických vibrací skupin a vlnové délky menší naopak do oblasti otisku prstu [27, 28].

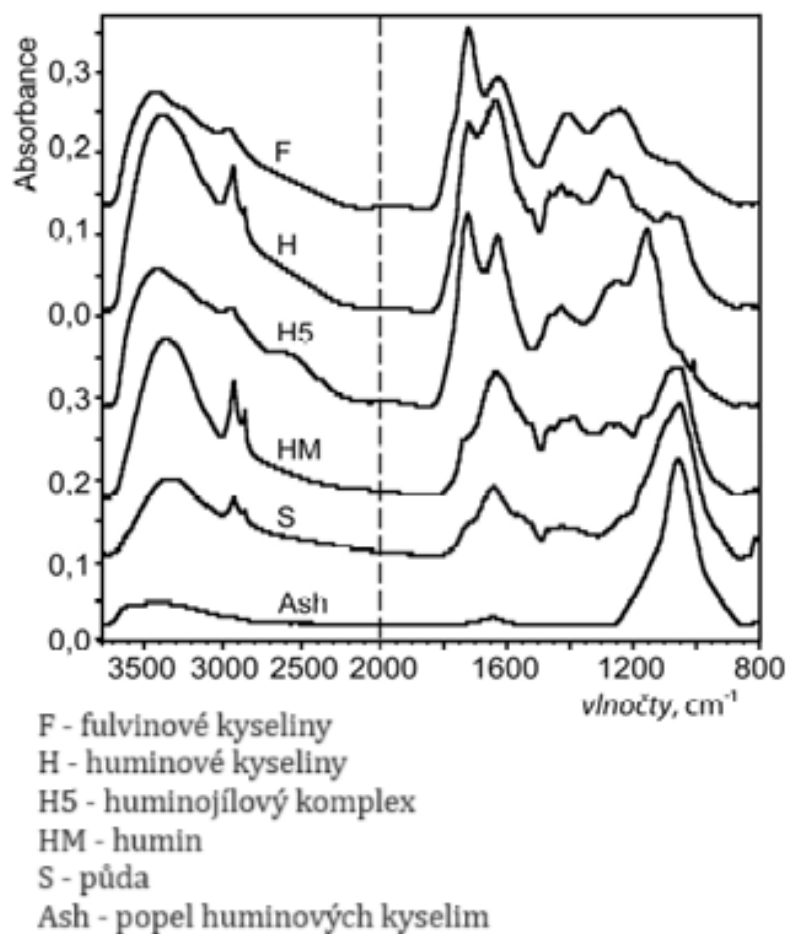
Tabulka 10: Přehled charakteristických vlnových délek v NIR a MIR [28]

vlnočet [cm⁻¹]	přiřazení
3 400–3 300	valenční vibrace O–H ve fenolických –OH skupinách (s příspěvkem alifatických skupin –OH a případně N–H)
3 030	valenční vibrace aromatických vazeb C–H
2 940–2 900	valenční vibrace alifatických vazeb C–H
2 840	symetrické valenční vibrace C–H ve skupinách –CH ₂ –
2 600	valenční vibrace O–H karboxylových skupin vázaných vodíkovým můstkem
1 725–1 720 (1 710)	valenční vibrace C=O ve skupině –COOH s malým příspěvkem ketonů
1 717	valenční vibrace C=O v karbonylech, aldehydech a alifatických ketonech
1 690–1 660	valenční vibrace C=O v aromatických ketonech
1 660–1 630	valenční vibrace C=O v amidické skupině (amid I); C=O chinonů; valenční vibrace C=O v konjugovaných ketonech vázané vodíkovou vazbou ke skupině –OH
1 620–1 600	aromatické valenční vibrace C=C; C=O v konjugovaných ketonech vázané vodíkovou vazbou ke skupině –OH; případně antisymetrické valenční vibrace –COO ⁻ (1 610 cm ⁻¹)
1 590–1 517	symetrická vibrace –COO ⁻ ; deformační vibrace N–H; valenční vibrace C=N amidu II
1 580	valenční vibrace aromatických C=C; případně antisymetrické vibrace –COO ⁻ (1 621–1 580 cm ⁻¹)
1 575	antisymetrické vibrace aniontu –COO ⁻
1 540	valenční vibrace N–H v amidické skupině (amid II)
1 525	valenční vibrace aromatických C=C
1 515	valenční vibrace aromatických C=C a amidu II (deformační N–H vibrace polypeptidů)
(1 460–) 1 440	antisymetrické –C–H deformační vibrace alifatických skupin –CH ₃ – a –CH ₂ –
1 400–1 390	deformační OH a valenční vibrace C–O fenolických –OH; deformační vibrace C–H skupin –CH ₃ a –CH ₂ ;

	antisymetrické valenční vibrace karboxylového aniontu COO^- (1 412–1 390 cm^{-1})
1 350	symetrické valenční vibrace $-\text{COO}^-$; případně symetrické deformační vibrace $\text{C}-\text{CH}_3$ v alifatických skupinách
1 280–1 200	valenční vibrace $\text{C}-\text{O}$ a deformační vibrace $\text{O}-\text{H}$ ve skupině $-\text{COOH}$; valenční vibrace $\text{C}-\text{O}$ aryletherů
1 270	valenční vibrace $\text{C}-\text{OH}$ fenolických $-\text{OH}$ skupin
1 225	valenční vibrace $-\text{C}-\text{O}$ a deformační vibrace $-\text{OH}$ ve skupinách $-\text{COOH}$
1 220	valenční vibrace $\text{C}-\text{N}$ (amid III)
1 170	valenční vibrace $-\text{C}-\text{OH}$ alifatických $-\text{OH}$ skupin
1 070 (–950)	valenční vibrace $\text{C}-\text{O}$ polysacharidů nebo polysacharidům podobných látek; $\text{Si}-\text{O}$ příměsi
1 070	valenční vibrace $\text{C}-\text{C}$ alifatických skupin
830, 775	mimorovinné deformační vibrace aromatické vazby $\text{C}-\text{H}$

Různé frakce půdních huminových látek obsahují rozdílné charakteristické funkční skupiny. To následně ovlivňuje tvar jejich absorpčních křivek. V pásmu 3 400–3 300 cm^{-1} vykazují všechny huminové látky silnou absorpční sílu díky vibracím fenolických hydroxylových skupin. Dle absorpčního maxima toho pásu je možné identifikovat, zda se jedná o huminovou či fulvinovou kyselinu. U huminových kyselin je toto maximum při 3 400 cm^{-1} , naopak u fulvinových kyselin nastává vlivem interakcí vodíkovými můstky při 3 300 cm^{-1} . U všech typů huminových látek je významná absorpce při 3 030 cm^{-1} způsobená valenčními vibracemi aromatické $\text{C}-\text{H}$ vazby. Případná absence absorpce v tomto pásmu je způsobena úplnou substitucí aromatického kruhu nebo překryvem silných vibrací $\text{O}-\text{H}$ v karboxylových kyselinách. Nejvýraznější absorpce dosahují huminové látky v oblasti 1 610–1 625 cm^{-1} . Ta je zapříčiněna vibracemi vazby $\text{C}=\text{C}$ v aromatických cyklech [28].

Přítomnost kyslíkatých funkčních skupin výrazně ovlivňuje absorpční sílu v oblasti 1 900–1 500 cm^{-1} . V tomto rozsahu vlnočtů absorbují cyklické a smíšené anhydridy (1 815 a 1 780 cm^{-1}), karboxylové kyseliny (1 720 a 1 690 cm^{-1}), estery (1 760 a 1 740 cm^{-1}), aromatické ketony (1 660 cm^{-1}) a soli karboxylových kyselin (1 575 cm^{-1}) [28].



Obrázek 6: FTIR spektra huminových látek a půdy [28]

1.6.3.3 Analýza v UV/VIS oblasti

K analýze stabilních složek půdní organické hmoty lze rovněž využít analýzu v UV/VIS oblasti. Vychází se ze schopnosti huminových látek absorbovat záření v této oblasti. Analyticky lze využít celá řada vlnových délek, respektive jejich poměrů [27, 29].

Tabulka 11: Přehled některých využívaných spekter v UV/VIS detekci

označení	využívané vlnové délky [nm]		reference
	čítatel	jmenovatel	
E_{ET}/E_{Bz}	253	203	[30]
E_{253}/E_{220}	253	220	[30, 31]
E_{253}/E_{230}	253	230	[30, 31]
E_4/E_6	465	665	[31, 32]
označení	vlnová délka [nm]		reference
A_{280}	280		[31, 33]

Poměr E_{ET}/E_{Bz} vychází z absorbance huminových látek při 253 nm (substituenty přenosu náboje) a při 203 nm (benzoidní struktury). Absorbance při 203 nm je však interferována přítomností dusičnanů, proto Korshin definoval i další vlnové délky 220 a 230 nm, které nejsou přítomností dusičnanů ovlivněny a mohou sloužit jako ekvivalentní náhrada koeficientu E_{ET}/E_{Bz} [30, 31].

Koeficient označovaný E_4/E_6 je ovlivněn velikostí částic, respektive molekulovou hmotností, pH, koncentrací huminových látek a obsahu volných radikálů [32]. Měření absorbance při 280 nm lze využít k přímé detekci huminových látek. Využívá se významné absorbance aromatických struktur při této vlnové délce [33].

2 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Na území České republiky se problematikou sledování půdních vlastností a z nich vyplývající půdní úrodnosti zabývá Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský (zkráceně ÚKZÚZ). Ten za základě zákona č. 156/1998 Sb. (zákon o hnojivech) provádí Agrochemické zkoušení zemědělských půd (AZZP). V pravidelných šestiletých cyklech provádí rozborů půd napříč všemi zemědělsky využívanými pozemky v České republice. Součástí rozboru půd je stanovení výměnné půdní reakce, potřeby vápnění a obsahu přístupných živin (P, K, Ca, Mg). Součástí AZZP však není rozbor kvality ani kvantity půdní organické hmoty [23, 24].

Novák a kol. [28] využili ke kvantitativnímu stanovení huminových látek metodu FTIR. V jejich práci nebyla použita klasická metoda s využitím lisování tablet z KBr, protože během přípravy tablety dochází k částečné deprotonaci huminových látek. Zároveň je nežádoucí sušení tablety při zvýšených teplotách za účelem odstranění adsorbované vody. Nežádoucím efektem tohoto úkonu je možná změna struktury huminových látek. Na místo toho je možné využít metodu difuzně-reflektančních spekter huminových látek (DRIFT). Převedením DRIFT spekter pomocí Kubelkovy-Munkovy funkce vznikají spektra analogická absorpčním spektrům. K nevýhodám této metody patří zesílení některých absorpčních pásů oproti transmittančním FTIR spektrům. Výhodně se jeví využití měření na ATR nástavci. Paprsek z přístroje dopadá na rozhraní krystal/okolní prostředí pod takovým úhlem, aby bylo dosaženo totálního odrazu. Při dosažení úplného kontaktu analytu s krystalem dochází k interferenci záření vzorkem. Zjištěné změny v charakteru záření jsou zaznamenány a na jejich základě je provedena charakterizace vzorku.

Analýzou huminových látek rozpuštěných ve vodě v UV/Vis oblasti se zabývali Korshin et al. [30]. Při analýze látek v této oblasti se využívá schopnosti elektronů absorbovat energii světelného záření a tím se přesunout do excitovaného stavu. Funkční skupiny mající schopnost absorbovat záření určité vlnové délky jsou nazývány chromofory (z řec. *chroma*). Velké množství známých chromoforů, jejichž vlivy se vzájemně ovlivňují, způsobuje nejednoznačnost jejich přesné determinace. Z hlediska charakterizace jsou významné absorbance v pásmech ET a Bz. Absorbance v oblasti ET (electron-transfer) je dána absorbancí polárními funkčními skupinami (–OH, –CHO, –COOH, –COC–). Samotné benzenové jádro vykazuje silnou absorbanci v oblasti označené jako Bz (benzenoid band). Nesubstituovaný benzen vykazuje nízký poměr absorbance v oblasti ET a absorbance v oblasti BZ. S rostoucí mírou substituování benzenu roste vlivem zvyšující se absorbance v oblasti ET i poměr ET/Bz.

Využití fluorescenčních technik k charakterizaci huminových látek v půdě se věnují například Birdwell a Engel [26]. Ti popisují existenci dvou typů fluoroforů. Prvním z nich jsou proteiono-fluorofory, které emitují záření v UV oblasti (300–380 nm). Naproti tomu látky huminové povahy emitují záření ve viditelné oblasti spektra (400–500 nm). Jako hlavního původce fluorescence v této oblasti uvádí chinon vznikající jakožto meziprodukt degradace ligninu. K charakterizaci huminových látek využívají koeficienty BIX, FI a HIX. Metodu fluorescenční spektroskopie lze díky přítomnosti konjugovaných dvojných vazeb využít k analýze organických látek. K analýze huminových látek fluorescenční spektrometrií lze využít několik indexů. Index BIX popisuje původ zkoumaných huminových látek. Na jeho

základě lze rozhodnout o jejich autochtonním původu. Fluorescenční index FI poukazuje na míru kvality zkoumané organické hmoty. Dle něj lze určit, zda se jedná o organickou hmotu vzniklou odumřením rostlinných nebo živočišných těl, či již byla tato hmota pozměněna mikrobiálně. Míru polymerace huminových látek vyjadřuje humifikační index HIX. Současně z rostoucí polymerací klesá její rozpustnost a roste její kvalita.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

- Destilovaná voda;
- Kyselina sírová 96 % p.a. (Sigma Aldrich s.r.o.);
- Hydroxid sodný (Sigma Aldrich s.r.o.);
- n-amylalkohol (Sigma Aldrich s.r.o.).

3.2 Použité přístroje

- váhy, d=0,01 g, MERCI s.r.o.;
- digitální pH metr;
- digitální konduktometr;
- UV/Vis spektrometr Hitachi U3900H;
- Fluorescenční spektrometr HORIBA Jobin Yvon Fluorolog;
- FTIR spektrometr Nicolet iS50, Thermo Fisher Scientific, Inc.

3.3 Použité vzorky půdního roztoku

Analyzované půdní vzorky pocházely z polních pokusů Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského (zkráceně ÚKZÚZ). ÚKZÚZ provozuje 16 zkušebních stanic napříč celou Českou republikou. Dodané vzorky pocházely z pokusné stanice v Hradci nad Svitavou (okres Svitavy). Převládajícím půdním typem je hnědozem luvická (HNI), půdní druh dané půdy je jílovitohlinitý.

Lyzimetrické měření probíhá na lokalitě od roku 2013. Na pozemcích nad lyzimetrem je využíván devítihonný osevní postup. Vzorky pro vyhodnocení v rámci této bakalářské práce byly odebrány v roce 2023. Všechny zkoumané vzorky pocházely ze záchyty v hloubce 40 cm.

Tabulka 12: Osevní postup na pokusné lokalitě

rok	plodina
2013–2015	jetel luční
2016	pšenice ozimá
2017	brambory
2018	pšenice jarní
2019	ječmen jarní
2020	brambory
2021	ječmen jarní
2022–2023	jetel luční

3.4 Postup

3.4.1 Měření pH a vodivosti roztoku

Stanovení pH i vodivosti roztoku probíhalo přímým měřením digitálním pH metrem, respektive konduktometrem. Po omytí měřicích elektrod destilovanou vodou a osušení byly elektrody ponořeny do měřeného roztoku. Odečtení hodnot z displeje přístroje proběhlo po jejich ustálení.

3.4.2 FTIR spektrometrie

Půdní roztok v nativní podobě byl analyzován na FTIR spektrometru Nicolet iS50. Vzorky byly měřeny v rozsahu vlnočtů $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ s krokem 4 cm^{-1} . Cílem bylo získání informací o struktuře huminových látek v roztoku. Při měření byla nanesa kapka analyzovaného půdního roztoku na krystal FTIR spektrometru. Měření probíhalo po odpaření veškeré vody z krystalu.

3.4.3 Fluorescenční spektrometrie

Vzorky byly za účelem charakterizace struktury huminových látek v nich obsažených analyzovány fluorescenčním spektrometrem HORIBA Jobin Yvon Fluorolog. Pro stanovení indexu BIX bylo použito excitační záření o vlnové délce 310 nm. Změřena byla emise v rozsahu 330–600 nm. Za účelem zjištění fluorescenčního indexu (FI) bylo použito excitační záření vlnové délky 370 nm. V tomto případě byla měřena emise v rozmezí 390–600 nm.

Index BIX byl vypočítán jako poměr intenzity fluorescence při 380 a 430 nm excitačním zářením 310 nm. Index FI byl zjištěn podělením intenzity fluorescenčního záření vlnové délky 450 a 500 nm excitačním zářením 370 nm.

3.4.4 Extrakce huminových látek

Do dělicí nálevky bylo odměřeno 50 ml vzorku půdního roztoku. Roztok byl okyselen přidávkem 1 ml koncentrované kyseliny sírové. K okyselenému půdnímu roztoku bylo přidáno 5 ml n-amyalkoholu. Vzniklá emulze byla protřepána v dělicí nálevce. Dělicí nálevka byla uložena svislým směrem po dobu dvou hodin do oddělení fází. Po odpuštění vodné fáze bylo do dělicí nálevky přidáno 5 ml 0,5% vodného roztoku NaOH. Suspenze byla protřepána a umístěna ve svislé poloze 10 minut do oddělení fází. Oddělená vodná fáze byla oddělena do vialky pro následnou UV/Vis spektrometrii. Obdobným způsobem, avšak s využitím destilované vody místo vzorku půdního roztoku, byl připraven blank.



Obrázek 7: Extrakce huminových látek (foto: Autor)

3.4.5 UV/Vis spektrometrie

K analýze huminových látek z kvantitativního i kvalitativního hlediska byla využita metoda spektrometrie v ultrafialové a viditelné oblasti elektromagnetického záření (UV/Vis). Konkrétně byly využity koeficienty E_{ET}/E_{Bz} ($A_{254\text{ nm}}/A_{230\text{ nm}}$), E_2/E_4 ($A_{265\text{ nm}}/A_{465\text{ nm}}$) a E_2/E_3 ($A_{250\text{ nm}}/A_{364\text{ nm}}$). Současně byla využita absorbance při vlnové délce 420 nm k přímému kvantitativnímu stanovení huminových látek.

Půdní roztoky byly měřeny v křemenné kyvetě SUPRASIL s optickou dráhou 1 cm na UV/Vis spektrometru Hitachi U3900H v rozsahu vlnových délek 200–700 nm s krokem 1 nm.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Půdní reakce a vodivost

Vzorky půdního roztoku vykazovaly neutrální až mírně alkalickou půdní reakci. Konkrétně byly naměřeny hodnoty pH 7,45 u kontrolní varianty; 7,17 u varianty s kejdou a 7,22 u varianty s digestátem. Z výsledků je zřejmé, že aplikací kejdy i digestátu došlo k mírnému okyselení půdního roztoku oproti kontrolní variantě. Tento jev je z dlouhodobého hlediska nežádoucí a při jeho dlouhodobějším účinku by bylo vhodné aplikovat vápenaté hmoty za účelem navrácení alkalické půdní reakce.

Zjištěná elektrická vodivost půdního roztoku byla $381 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ u kontrolní varianty; $435 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ u varianty s kejdou a $942 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ u varianty s digestátem. U kontrolní varianty a u varianty s kejdou lze hodnotit vzorek jako mírně, respektive zasolený. Vzorek z varianty s digestátem jako silně zasolený. Ze zjištěných výsledků vyplývá, že aplikace kejdy i digestátu dochází k významnému nárůstu vodivosti půdního roztoku v důsledku zvýšení množství iontů v půdním roztoku. Příčinou tohoto zvýšení jsou živiny obsažené v těchto organických hnojivech a zároveň zmíněná acidifikace půdy, která může způsobit vyplavení některých iontů z půdního sorpčního komplexu do půdního roztoku. Nadměrná koncentrace solí v půdním roztoku je nežádoucí z hlediska negativního vlivu na růst a vývoj rostlin.

4.2 FTIR spektrometrie

Graf 1 ukazuje absorpční spektra analyzovaných vzorků v infračervené oblasti. Všechny analyzované vzorky vykazují silnou absorpenci v oblasti $3\ 600\text{--}3\ 100 \text{ cm}^{-1}$. Ta je způsobena valenčními vibracemi O–H vazeb ve fenolických a alifatických skupinách a valenčními vibracemi aromatických a C–H vazeb. Absorpční maximum vzorků v této oblasti bylo dosaženo při $3\ 394 \text{ cm}^{-1}$ u kontroly, při $3\ 382 \text{ cm}^{-1}$ u kejdy a při $3\ 386 \text{ cm}^{-1}$ u digestátu.

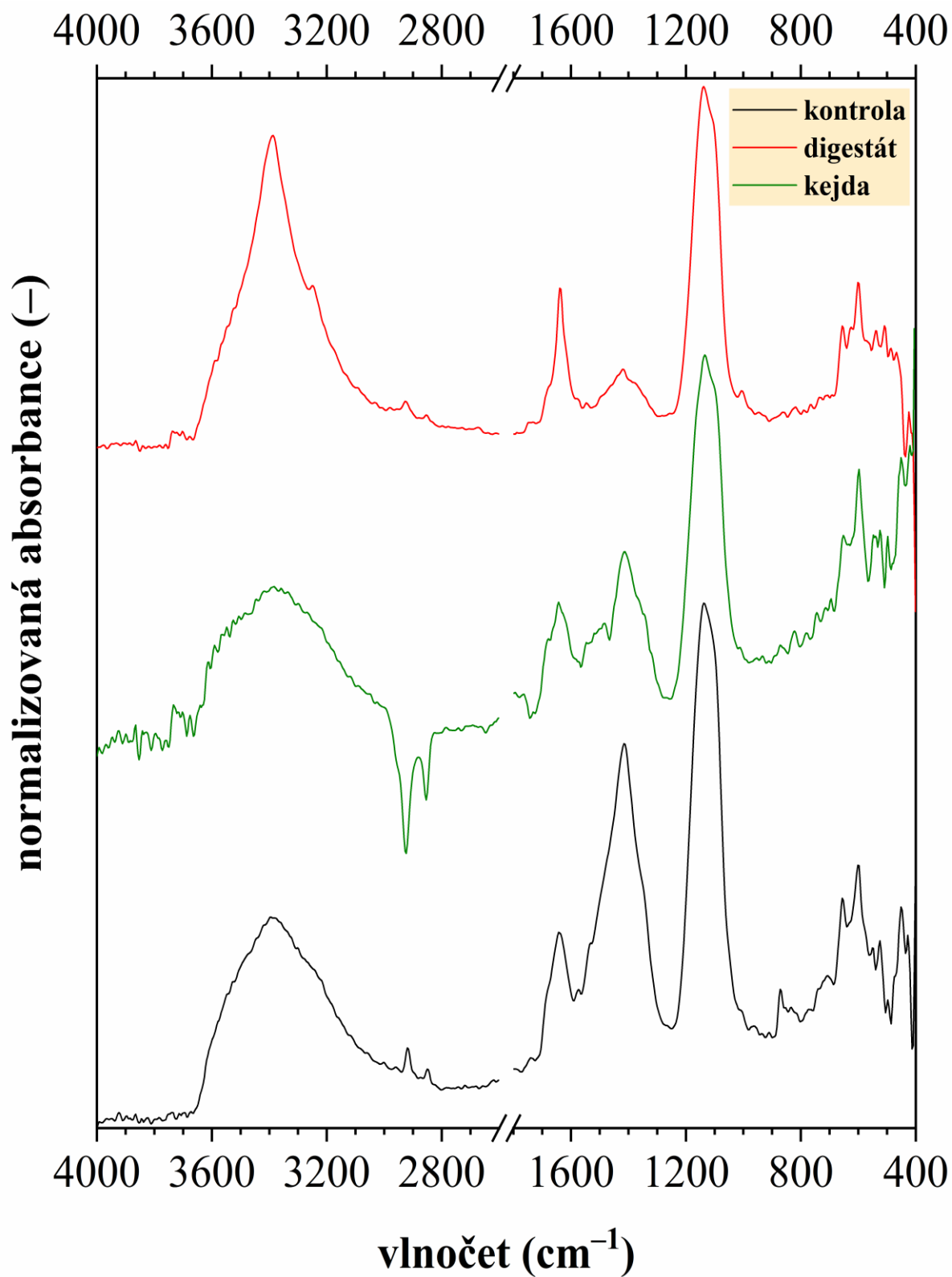
U kontrolního vzorku (při $2\ 920$ a $2\ 850 \text{ cm}^{-1}$) a u vzorku pocházejícího z parcely hnojené digestátem (při $2\ 927$ a $2\ 854 \text{ cm}^{-1}$) bylo dosaženo lokálních maxim absorpce. Jsou zapříčiněny symetrickými valenčními vibracemi vazeb C–H v $-\text{CH}_2-$ skupinách. U vzorku pocházející z pozemku hnojeného kejdou bylo naopak zjištěno silné absorpční minimum v této oblasti (při $2\ 924$ a $2\ 815 \text{ cm}^{-1}$).

U všech vzorků byl zaznamenána zvýšená absorpce v pásmu $1\ 690$ až $1\ 600 \text{ cm}^{-1}$. U kontrolní varianty a u varianty s kejdou se jednalo konkrétně o maximum při $1\ 643 \text{ cm}^{-1}$ a u digestátu při $1\ 639 \text{ cm}^{-1}$. Absorpce v této oblasti je způsobena celou řadou funkčních skupin a stavebních jednotek vytvářejících složitou strukturu půdní organické hmoty. Konkrétně se jedná o valenční vibrace vazby C=O v karbonylových a karboxylových skupinách, vazby C=O chinonů a aromatické valenční vibrace vazby C=C. Další možnou funkční skupinou, která v této oblasti přichází do úvahy je karboxylová funkční skupina. Nenachází se zde však v naprotonované formě, ale ve formě soli karboxylové funkční skupiny. Je nutné si uvědomit, že v této oblasti vlnočtu rovněž vzniká symetrická valenční vibrace O–H v molekulách vody. Tato pevně vázaná a semikrystalická voda je vázaná na organickou hmotu prostřednictvím vodíkových vazeb polárních funkčních skupin organické hmoty.

Bylo zjištěno lokální absorpční maximum při $1\,531\text{ cm}^{-1}$ u kontrolní varianty, při $1\,546\text{ cm}^{-1}$ u kejdy a při $1\,535\text{ cm}^{-1}$ u digestátu. Toto lokální maximum je způsobeno valenčními vibracemi vazby N–H v amidické skupině sekundárního amidu. Jinými slovy tento absorpční pás je přímým důkazem přítomnosti organické hmoty odvozené z bílkovin, jako vstupního materiálu procesu humifikace. Nicméně, pokud se podíváme na výsledky pořízené pomocí fluorescenční spektrometrie (hodnoty koeficientu BIX), rovněž přichází do úvahy i možnost, že bílkovinná rezidua organické hmoty jsou mikrobiálního původu. To odráží vysokou aktivitu půdního edafonu na pokusné ploše.

Všechny vzorky vykazují absorpční maximum v oblastech $1\,460\text{--}1\,390\text{ cm}^{-1}$. U kontrolní varianty bylo maxima absorpce dosaženo při $1\,416\text{ cm}^{-1}$, u kejdy při $1\,411\text{ cm}^{-1}$ a u digestátu při $1\,419\text{ cm}^{-1}$. Absorpce záření v těchto oblastech je způsobena antisymetrickými deformačními vibracemi vazby –C–H skupin –CH₂– a –CH₃ (maximum v oblasti $1\,460$ až $1\,440\text{ cm}^{-1}$) a deformačními vibracemi OH a valenčními vibracemi C–O fenolických OH skupin a deformačními vibracemi skupin CH₂ a CH₃ (maximum v oblasti $1\,400\text{--}1\,390\text{ cm}^{-1}$).

Hlavní absorpční maximum bylo dosaženo při $1\,138\text{ cm}^{-1}$ u kontrolní varianty a u varianty s digestátem a při $1\,134\text{ cm}^{-1}$ u varianty s kejdou. V této oblasti je absorpce způsobena valenčními vibracemi vazby C–OH alifatických hydroxylových skupin (maximum $1\,170\text{ cm}^{-1}$) a valenčními vibracemi vazby C–O polysacharidů nebo polysacharidům podobných látek. Rovněž přichází do úvahy i valenční symetrické vibrace C–O–C vazeb v etherech, které jsou přítomny v jednotkách polysacharidů ve formě glykosidických vazeb.



Graf 1: FTIR spektrum analyzovaných vzorků

4.3 Fluorescenční spektrometrie

Metodou fluorescenční spektrometrie byly zjištěny hodnoty fluorescence při požadovaných vlnových délkách. Z nich byly stanoveny hodnoty FI a BIX. Hodnota FI byla stanovena 1,36 pro kontrolní vzorek; 1,35 pro vzorek s kejdou a 1,39 pro vzorek s digestátem. Přičemž hodnoty FI menší než 1,40 poukazují na terestriální původ (vzniklých v místě činností rostlin a půdy) huminových látek v roztoku. Hodnota BIX byla stanovena na 0,91 u kontrolní varianty; na 0,92 u varianty s kejdou a 1,02 u varianty s digestátem. Hodnoty BIX mezi 0,80 a 1,00 prokazují vznik huminových látek v důsledku mikrobiální činnosti.

Tabulka 13: Přehled zjištěných indexů FI a BIX

Vzorek	Zjištěný index	
	FI	BIX
kontrola	1,36	0,91
kejda	1,35	0,92
digestát	1,39	1,02

Vyšší hodnota fluorescenčního indexu (FI) u digestátu poukazuje na částečnou degradaci (mineralizaci) huminových látek činností půdního edafonu. Vyšší hodnota biologického indexu (BIX) u digestátu znamená vyšší mineralizaci organické hmoty v půdě v důsledku činnosti bakterií.

Přítomnost píků s maximy při 346 nm (v případě excitačního záření vlnové délky 310 nm), respektive při 426 nm (v případě excitačního záření vlnové délky 370 nm) je způsobena Ramanovým jevem v důsledku přítomnosti vody. Jejich existence nijak nesouvisí se studovanou organickou hmotou a při vyhodnocování výsledků nebyly tyto hodnoty brány v potaz.

4.4 UV/Vis spektrometrie

Pomocí dat získaných spektrometrií v oblasti UV/Vis byly vypočítány koeficienty E_{ET}/E_{BZ} , E_2/E_4 a E_2/E_3 . Na základě absorbance při 420 nm byla zjištěna koncentrace huminových látek v roztoku. Koeficient E_{ET}/E_{BZ} dosáhl hodnot 0,68 u kontrolní varianty; 0,67 u varianty s kejdou a 0,56 u varianty s digestátem. Hodnota koeficientu E_2/E_4 byla 8,83 u kontrolní varianty; 12,22 u varianty s kejdou a 45,89 u varianty s digestátem. Byla zjištěna hodnota koeficientu E_2/E_3 4,60 u kontrolní varianty; 4,42 u varianty s kejdou a 6,43 u varianty s digestátem.

Hodnoty koeficientu E_{ET}/E_{BZ} vykazují obdobné hodnoty u všech měřených vzorků a ze zjištěných nepatrných rozdílů nelze činit žádné závěry. Vyšší hodnoty koeficientu E_2/E_4 u kejdy a zejména koeficientů E_2/E_4 a E_2/E_3 u digestátu poukazují na nižší stupeň aromaticity huminových látek oproti kontrole. Příčinnou může být popsána intenzivní mikrobiální činnost

v půdě hnojené digestátem, v jejímž důsledku dochází snáze k mineralizaci fulvinových kyselin na úkor huminových kyselin, případně huminů.

Tabulka 14: Přehled vypočítaných koeficientů díky UV/Vis spektrometrii

Vzorek	Zjištěný koeficient		
	E_{ET}/E_{Bz}	E_2/E_4	E_2/E_3
kontrola	0,68	8,83	4,60
kejda	0,67	12,22	4,42
digestát	0,56	45,89	6,43

Dle hodnoty absorbance při vlnové délce 420 nm byla zjištěna koncentrace huminových látek $8,2 \text{ mg.L}^{-1}$ v půdním roztoku u kontrolní varianty; $5,3 \text{ mg.L}^{-1}$ u varianty s kejdou a $1,6 \text{ mg.L}^{-1}$ u varianty s digestátem. U obou hnojených variant byl oproti kontrole zaznamenán významný pokles koncentrace huminových látek v půdním roztoku. To je naprosto v rozporu s očekáváním, že aplikace organických hnojiv (tj. kejdy i digestátu) na orné půdě zvýší obsah huminových látek v půdním roztoku, resp. po její adsorpci na jílových částicích v podobě tzv. organominerálního komplexu.

Hnojení organickými hnojivy sice dodá organickou hmotu do půdy. Jedná se však o látky nehumifikované. Ty slouží jako potrava pro půdní edafon. V první fázi, kdy je potravy dostatek, dojde ke značnému rozvoji života v půdě včetně nárůstu počtu jedinců. Vyšší počet jedinců urychlí rozklad (mineralizaci) organické hmoty dodané kejdou nebo digestátem. Po vyčerpání veškeré dodané organické hmoty přechází namnožený půdní edafon na již humifikovanou organickou hmotu, která se v půdě vyskytovala přirozeně. Ta ve druhé fázi poslouží edafonu jako zdroj potravy (dojde k její mineralizaci), čímž se obsah huminových látek v půdě ve výsledku sníží.

5 ZÁVĚR

Byla provedena analýza vzorků půdního roztoku z pokusných parcel ÚKZÚZ v Hradci nad Svitavou. U dodaných vzorků byla zjištěna hodnota pH a elektrické vodivosti. Pomocí spektrometrických metod (infračervené, fluorescenční a UV/Vis) byly analyzovány vodorozpustné frakce huminových látek.

Aplikací kejdy i digestátu došlo ke snížení hodnoty pH a elektrické vodivosti půdního roztoku. Pomocí absorpčních koeficientů fluorescenční a UV/Vis spektrometrie a absorpčních spekter infračervené spektrometrie bylo zjištěno, že aplikace organických hnojiv (kejdy a zejména digestátu) negativně ovlivnila kvalitu organické hmoty půdního roztoku. Vodorozpustná frakce huminových látek na hnojených variantách dosahovala nižšího stupně humifikace (tj. obsahovala labilnější složky huminových látek půdního roztoku) s nižší substitucí na aromatickém jádře reaktivními funkčními skupinami (karboxylové $-\text{COOH}$ a fenolické $-\text{OH}$ skupiny).

Dle učiněných závěrů je zřejmé, že management organických hnojiv, který je uskutečňován zemědělskou praxí, je nevhodný a potřebuje doznat změn. Nárazová (byť pravidelná) aplikace organických hnojiv (kejdy a zejména digestátu) není vhodná z hlediska udržení kvality i kvantity huminových látek v půdním roztoku. Vhodnější cestou je ponechání co největšího množství posklizňových zbytků a vedlejších produktů pěstovaných plodin (sláma, chrást) v kombinaci nepřetržitým přísunem organických látek pomocí kořenových exsudátů v průběhu celého roku.

Použité metody analýzy se ukázaly jako vhodné pro rychlý a poměrně přesný monitoring huminových látek v půdním roztoku.

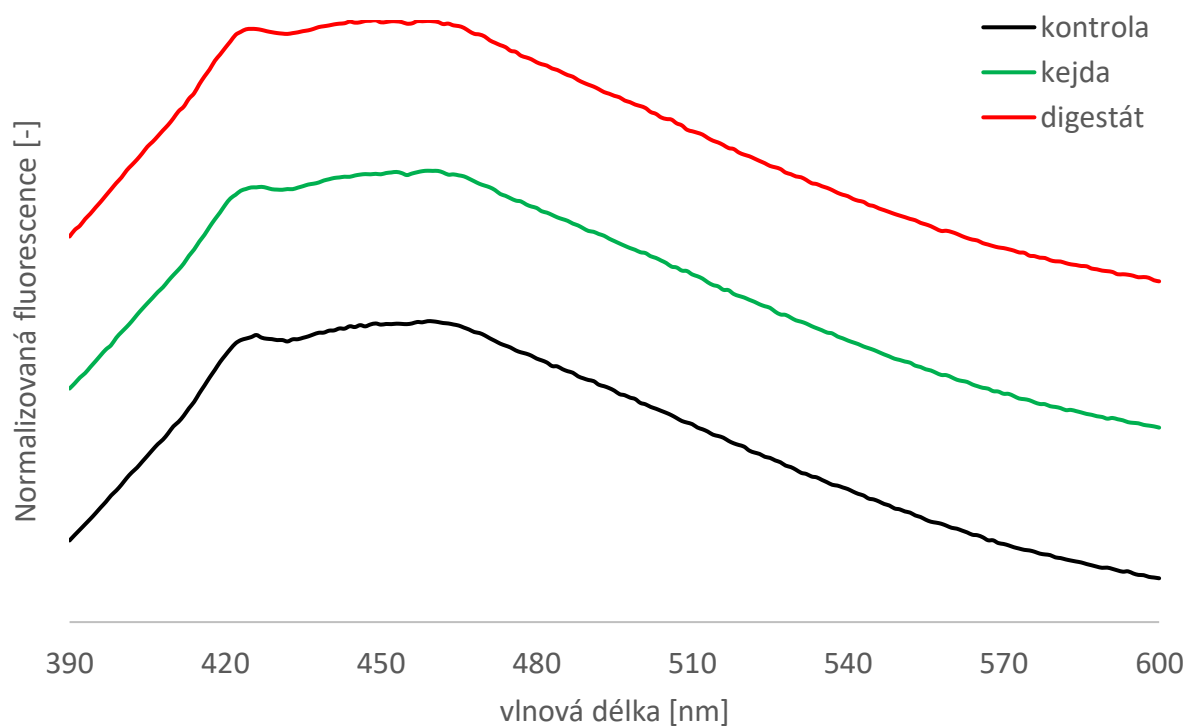
6 REFERENCE

- [1] SPOSITO, „Soil,“ 2024. [Online]. Available: <https://www.britannica.com/science/soil>. [Přístup získán 26 únor 2024].
- [2] ŠIMEK, Živá půda (2) - Ekologie, využívání a degradace půdy, Praha: Nakladatelství Academia, 2019.
- [3] VLČEK a kol., Půdoznalství, Brno: Vydavatelství Mendelovy univerzity v Brně, 2020.
- [4] ŠANTRŮČKOVÁ a kol., Ekologie půdy, České Budějovice: Nakladatelství Jihočeské univerzity, 2018.
- [5] LEDVINA a kol., Geologie a půdoznalství, České Budějovice: Zemědělská fakulta Jihočeské univerzity, 2000.
- [6] ŠIMEK a kol., Živá půda - praktický manuál, Praha: Nakladatelství Academia, 2021.
- [7] VANĚK a kol., Výživa a hnojení polních plodin, Praha: Profi Press, 2016.
- [8] ZIMÁK, „Petrografie minerálů,“ Katedra geologie PřF UP, 2005. [Online]. Available: https://www.geology.upol.cz/upload/studijni_materialy/plne_texty_skript/2005_Zimak_Jiri_Petrografie_magmatitu.pdf. [Přístup získán 30 říjen 2023].
- [9] BOKR, „Bowenovo krystalizační schéma,“ [Online]. Available: http://www.gweb.cz/soubory/nakresy/bowenovo_schema.gif. [Přístup získán 30 říjen 2023].
- [10] RICHTER, „Jílové minerály,“ Ústav agrochemie a výživy rostlin Mendelovy univerzity v Brně, 2004. [Online]. Available: https://web2.mendelu.cz/af_221_multitext/vyziva_rostlin/html/agrochemie_pudy/jilove_mineraly.htm. [Přístup získán 30 říjen 2023].
- [11] ŠIMEK, Živá půda (1) - Biologie půdy, Praha: Nakladatelství Academia, 2019.
- [12] ZHANG et al., „Effect of continuous extraction times on the content and characteristic of soil humus fractions,“ *Pedosphere*, č. January, pp. 159-167, 2020.

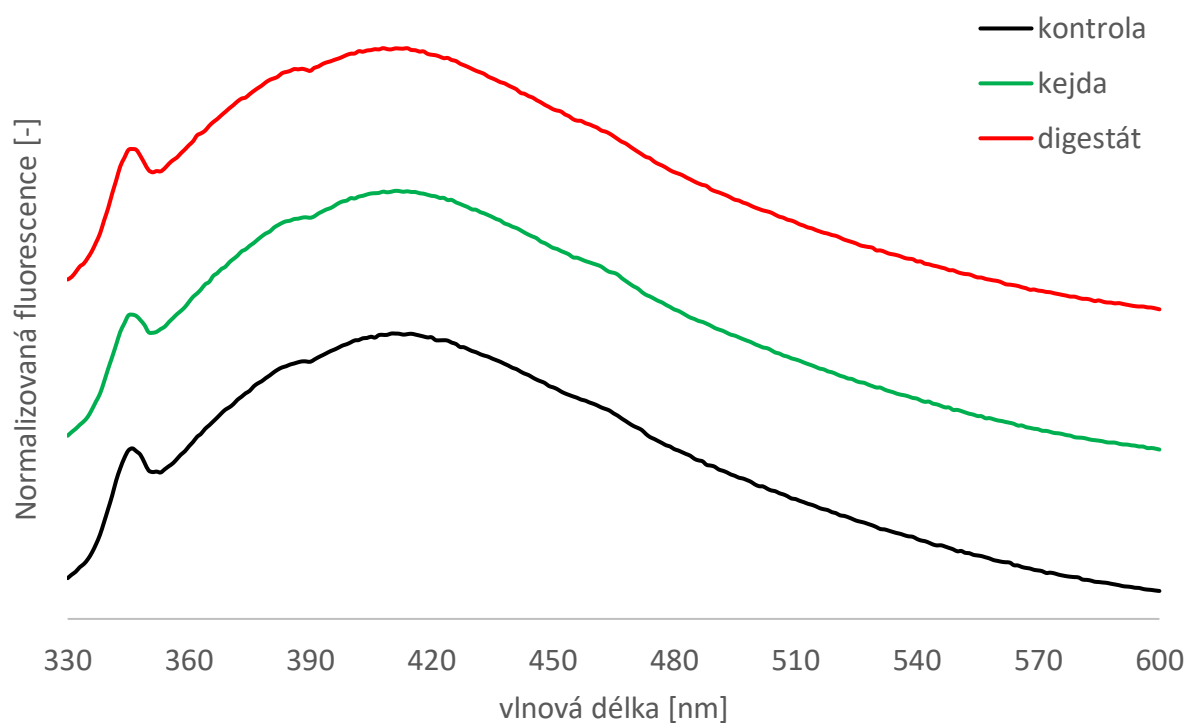
- [13] PICCOLO, „The supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science,“ *Advances in Agronomy*, č. December, p. 57–134, 2002.
- [14] RISO et al., „Distribution, speciation and composition of humic substances in a macro-tidal temperate estuary,“ *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, pp. 255-264, April 2021.
- [15] KLEM, *Konference živá krajina*, Praha: ČZU v Praze, 2024.
- [16] HUNTLEY, *Ecology of Angola*, Porto: Springer, 2023.
- [17] MARSCHNER, *Mineral Nutrition of Higher Plants*, Cambridge: Academic Press, 1995.
- [18] GAIKWAD et al., *Soil Pollution and Environmental Health*, Delhi: Bright Sky Publications, 2023, p. 270–307.
- [19] CHANG et al., „Heavy Metal Contaminated Soil Imitation Biological Treatment Overview,“ *IOP Conference Series-Materials Science and Engineering*, 2018.
- [20] YAN et al., „Phytoremediation: A Promising Approach for Revegetation of Heavy Metal-Polluted Land,“ *Plant Science*, č. November, p. 214–229, 2020.
- [21] CORRAL et al., „Lysimetry methods for monitoring soil solution electrical conductivity and nutrient concentration in greenhouse tomato crops,“ *Agriculture Water Management*, pp. 171-179, December 2016.
- [22] SHIROKOVA et al., „Use of Electrical Conductivity Instead of Soluble Salts for Soil Salinity Monitoring in Central Asia,“ *Irrigation and Drainage Systems*, č. August, p. 199–206, 2000.
- [23] ÚKZUZ b, „Metodický pokyn č. 01/AZZP,“ 2022. [Online]. Available: https://eagri.cz/public/web/file/714897/MP_c._01_AZZP_3vyd_fin.pdf.
- [24] ČESKÁ REPUBLIKA, *Zákon o hnojivech, pomocných půdních látkách, rostlinných biostimulantech a substrátech a o agrochemickém zkoušení zemědělských půd (zákon o hnojivech)*, 1998.
- [25] ÚKZUZ a, „Bazální monitoring zemědělských půd,“ 2022. [Online]. Available: https://eagri.cz/public/web/file/700094/BMP_ZIVINY2019_text_FINAL_logo.pdf.

- [26] BIRDWELL a ENGEL, „Characterization of dissolved organic matter in cave and spring waters using UV–Vis absorbance and fluorescence spectroscopy,“ *Organic Geochemistry*, č. November, p. 270–280, 2009.
- [27] TAN, *Humic Matter in Soil - Principles and Controversies*, Athens: MARCEL DEKKER, INC., 2003.
- [28] NOVÁK a kol., „Kvantitativní FTIR spektrometrie huminových látek,“ *Chemické listy*, č. Červen, p. 363–373, 2017.
- [29] UKALSKA-JARUGA et al., „Characterization of Soil Organic Matter Individual Fractions (Fulvic Acids, Humic Acids, and Humins) by Spectroscopic and Electrochemical Techniques in Agricultural Soils,“ *Agronomy*, č. Juny, 2021.
- [30] KORSHIN et al., „Monitoring the properties of natural organic matter through UV spectroscopy: A consistent theory,“ *Water research*, č. July, p. 1 787–1 795, 1997.
- [31] FUENTES et al., „The usefulness of UV–visible and fluorescence spectroscopies,“ *Organic Geochemistry*, č. September, p. 1 949–1 959, 2006.
- [32] CHEN et al., „Information Provided on Humic Substances by E4/E6 Ratios,“ *Soil Microbiology and Biochemistry*, č. March, p. 352–358, 1977.
- [33] PEURAVUORI et al., „Molecular size distribution spectroscopic properties of aquatic humic substances,“ *Analytica chimica acta*, č. August, p. 133–149, 1997.

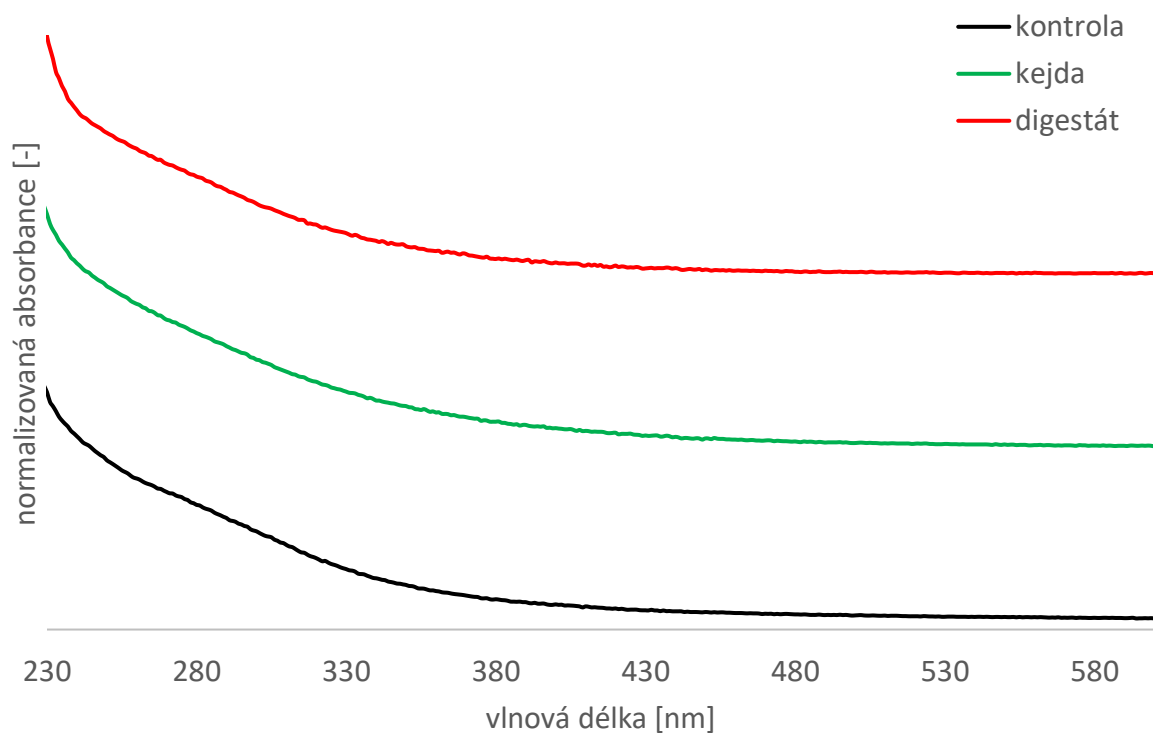
7 PŘÍLOHY



Graf 2: Fluorescenční spektrum vzorků při budícím záření 370 nm



Graf 3: Fluorescenční spektrum vzorků při budícím záření 310 nm



Graf 4: Absorpční spektrum vzorků v oblasti UV/Vis