

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

HUMINOVÉ LÁTKY JAKO KOLOIDNÍ TRANSPORTNÍ SYSTÉM
ROSTLINNÝCH ŽIVIN

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

IVA HUDLÍKOVÁ

BRNO 2008



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

HUMINOVÉ LÁTKY JAKO KOLOIDNÍ TRANSPORTNÍ SYSTÉM ROSTLINNÝCH ŽIVIN

HUMIC SUBSTANCES - COLLOIDAL TRANSPORT SYSTEM OF PLANT NUTRIENTS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

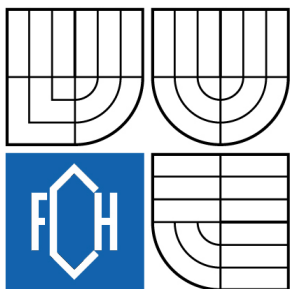
IVA HUDLÍKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

doc. Ing. MARTINA KLUČÁKOVÁ,
Ph.D.

BRNO 2008



Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce	FCH-BAK0022/2006	Akademický rok: 2007/2008
Ústav	Ústav fyzikální a spotřební chemie	
Student(ka)	Hudlíková Iva	
Studijní program	Chemie a chemické technologie (B2801)	
Studijní obor	Spotřební chemie (2806R002)	
Vedoucí bakalářské práce	doc. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.	
Konzultanti bakalářské práce		

Název bakalářské práce:

Huminové látky jako koloidní transportní systém rostlinných živin

Zadání bakalářské práce:

Hlavní náplň práce bude tvořit internetová a literární rešerše zaměřená na dosud známé poznatky o úloze huminových látek jako majoritní části organického uhlíku v půdě při transportu živin ke kořenovému systému rostlin.

Doplňkovou experimentální činností bude:

- izolace a charakterizace huminových kyselin,
- interakce huminových kyselin s látkami významnými pro výživu rostlin.

Termín odevzdání bakalářské práce: 31.7.2007

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

Iva Hudlíková
student(ka)

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

Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.9.2006

doc. Ing. Jaromír Havlica, CSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Bakalářská práce shrnuje poznatky o huminových látkách jako majoritní části organického uhlíku v půdě při transportu živin ke kořenovému systému rostlin. Literární rešerže je zaměřena na huminové látky, sorpční schopnost půdy a transport látek z půdy k rostlinám.

Experimentální část práce je zaměřena na interakce huminových kyselin s dusičnany. Součástí práce je charakterizace huminových kyselin, byla stanovena hodnota celkové kyselosti a kyselosti COOH.

ABSTRACT

The thesis deals with humic substances as major components of soil organic carbon during nutrients transport to plants root system. Literature research is focused on humic substances, adsorbing complex and transport of soil substances to plants.

The experimental part of the work concentrates on interaction of humic acid with nitrates. A part of the work was humic acid characterization, and determination of titratable acidity and acidity COOH values.

Klíčová slova

huminové látky, sorpce, dusičnany

Keywords

humic acid, sorption, nitrates

HUDLÍKOVÁ, I. *Huminové látky jako koloidní transportní systém rostlinných živin*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2008. 39 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 bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis

Poděkování:

Děkuji tímto vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Martině Klučákové, Ph.D. za poskytnuté rady při vypracování bakalářské práce.

OBSAH

1. ÚVOD.....	6
2. TEORETICKÁ ČÁST.....	7
2.1. Organická složka půdy.....	7
2.1.1. Tvorba humusu a jeho význam.....	7
2.1.2. Koloběh minerálních živin mezi rostlinou a půdou.....	8
2.2. Huminové látky.....	8
2.2.1. Huminové kyseliny.....	9
2.2.2. Fulvokyseliny.....	11
2.2.3. Humíny a humusové uhlí.....	11
2.3. Mechanismus příjmu a transportu látek v rostlině.....	11
2.3.1. Transport na krátké vzdálenosti.....	12
2.3.2. Transport na střední vzdálenosti a dálkový transport.....	13
2.4. Koloběh živin v půdě.....	13
2.4.1. Redox potenciál.....	14
2.4.2. Výměna iontů vázaných na negativně nabitě půdní koloidy.....	14
2.4.3. Koloběh uhlíku.....	14
2.4.4. Koloběh fosforu.....	15
2.4.5. Funkce a význam dusíku.....	16
2.5. Sorpční komplex půdy.....	17
2.6. Zpracování adsorpčních dat.....	19
2.6.1. Freundlichova izoterma.....	19
2.6.2. Langmuirova izoterma.....	20
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	21
3.1. Použité chemikálie.....	21
3.1.1. Příprava huminových kyselin.....	21
3.2. Použité přístroje.....	21
3.3. Postup měření.....	21
3.3.1. Charakterizace huminových kyselin.....	21
3.3.2. Sorpce.....	21
4. VÝSLEDKY A DISKUSE.....	23
4.1. Charakterizace huminových kyselin.....	23
4.1.1. Elementární analýza.....	23
4.1.2. FT-IR spektrum huminových kyselin.....	23
4.1.3. Stanovení kyselosti huminových kyselin.....	24
4.2. EcaFlow.....	26
4.3. Srovnání EcaFlow/UV-VIS.....	28
5. ZÁVĚR.....	31
6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....	32
7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	34
8. PŘÍLOHY.....	35

1. ÚVOD

Organické látky podléhají v půdě buď mineralizaci, tedy jejich úplnému rozkladu na jednoduché složky jako CO_2 , H_2O , NH_3 a další. Nebo se z organických látek vytváří humifikací humus, huminové látky. Tyto přeměněné organické látky vytváří s minerální složkou půdy organominerální sloučeniny. Humusové složky uvolňují ionty pomalu, tudíž jsou rostlinám zpřístupněny postupně, proto jsou zásobárnou živin v půdě [1].

Vysoký obsah humusových látek zajišťuje dobrou sorpční schopnost půdy, tedy schopnost půdních složek organických i minerálních poutat látky z disperzního prostředí. Látky z vnějšího prostředí, aby byly využity rostlinou, musí překonat rozhraní mezi vnějším a vnitřním prostředím. Základní bariérou je plazmalema, přes ni vede primární vstup do buněčného prostředí. Transport je procesem přemístění látek a energie. Transport může probíhat pasivně (difúzí) nebo aktivně za využití speciálních iontově selektivních přenašečů za spotřeby makroergické vazby [2, 3].

Experimentální část práce byla zaměřena na studium interakce huminových kyselin s dusičnany, látkami významnými pro výživu rostlin. Další částí byla charakterizace huminových kyselin, kdy byla stanovena celková kyselost a kyselost COOH , FT-IR spektrum huminových kyselin pro sorpci.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Organická složka půdy

Organická hmota je definována jako směs obsahující uhlík, která pochází z živočichů a je uložena na povrchu i uvnitř části zemské struktury. Půdní organická hmota obsahuje pozůstatky rostlinných a zvířecích těl [4].

Organická složka v půdě je zastoupena:

- a) Mrtvou biomasou – odumřelé části rostlin (větve, plody, květy, listí, kořeny aj.), mrtví živočichové a jejich exkrementy, odumřelé mikroorganismy, společný název detritus. Odumřelé zbytky rostlin ve formě kořenů a nadzemních částí jsou nejvydatnějšími zdroji organické hmoty v půdě.
- b) Živými organismy zastoupenými půdní flórou a faunou, společný název edafon.

Edafon obývá půdní prostředí a tvoří ho:

Bakteriální edafon (hlízkové a choroboplodné bakterie).

Rostlinný edafon – fytoedafon (plísně, houby, aktinomycety, kořenové systémy).

Živočišný edafon – zooedafon (prvoci a další taxonomické skupiny) [1].

2.1.1 Tvorba humusu a jeho význam

Rozkladná činnost dekompozitorů vede nejen k mineralizaci půdy, ale i k vytváření humusu. Obsah minerálních látek v půdě je úzce spjat s rozkladem organických látek v půdě [1].

Rostlinné zbytky jsou průběžně přidávány do půdy a nejsou jen přeměňovány, ale také přemísťovány v půdě. Velká část reakčních produktů z půdy unikne. Jestli termín humifikace zahrnuje či nezahrnuje všechny tyto procesy, je ale sporné. V tomto spojení autoři práce [5] uvedli, že syntéza a degradace humusu je dynamický proces, který docílí rovnováhy v jednotlivých půdách prostředí. Bylo by lepší říct, že některé složky humusu jsou nestabilní a docílí dynamické rovnováhy s půdou prostředí a jiné složky jsou stabilizovány formováním komplexů s určitými druhy anorganických složek [5].

Organické látky (zbytky rostlin, živočichů, hnůj, aj.) podléhají v půdě jejich úplnému rozkladu – mineralizaci. Tento proces vede k přeměně organické hmoty až na jednoduché složky (CO_2 , H_2O , NH_3 , oxidy různých prvků atd.). Probíhá za příznivých teplotních (tj. vyšších teplot) a vlhkostních (tj. nižšího obsahu vody) podmínek, zejména v půdách lehčího charakteru, silně provzdušněných. Za těchto podmínek se silně rozvíjí činnost aerobních bakterií, které rozkládají organickou hmotu. Humus se v těchto podmínkách netvoří, pokud jsou dočasné podmínky pro jeho tvorbu, je rychle rozkládán [6].

Druhým extrémem procesu přeměn organické hmoty v půdě je její rašelinění a uhelnatění. Tento proces probíhá za výrazně omezeného přístupu vzduchu, případně za výhradně anaerobních podmínek, při nedostatečné oxidaci. Při tomto procesu se také uplatňuje nedostatek asimilovaných živin, kyselá reakce prostředí, nízká teplota, vysoká vlhkost aj. Rašelinění a uhelnatění organické hmoty je procesem převážně enzymatickým a biochemickým. Uplatňují se anaerobní bakterie. Výsledkem jsou huminové a ulminové látky tmavohnědých až černých barev s vysokým obsahem uhlíku [6].

Vlastní humifikace, při níž se tvoří “pravý” nebo také “vlastní” humus, je převážně procesem anaerobním. Je to soubor pochodů mikrobiologických, převážně enzymatických a biochemických, při nichž se z meziproduktů rozkladu organické hmoty tvoří nové látky, označované souborně jako látky huminové. Tyto jsou charakterizovány vyšším obsahem

uhlíku k obsahu dusíku (10:1). Jsou většinou barvy hnědé až černohnědé, mají vlastnosti koloidů [6].

Je nutné aby humifikace alespoň slabě převyšovala mineralizaci. Humifikace však není jen "pouhým" rozkladem. Odumřelé a přeměněné organické látky jsou "promíchávány" s minerální složkou půdy a tak se vytvářejí složité organominerální sloučeniny, komplexy (cheláty), které v sobě "uzavírají" živiny. Produktem humifikace je i CO₂, který se hromadí v půdních pórech. Jeho difúzní transport v půdě závisí na pórovitosti a vlhkosti půdy, i na gradientu koncentrace CO₂ [1].

Mineralizací se za postupné činnosti různých mikroorganismů uvolní určité množství látek pro rychlou spotřebu. Humusové složky uvolňují ionty jen pomalu (= pozvolná mineralizace), takže jsou rostlinám zpřístupňovány postupně a jsou proto zásobárnou živin v půdě. Humus rostlinám poskytuje živiny i fyziologicky aktivní látky (vitamíny, fytohormony aj.). Především ovlivňuje růst kořenů, jejich větvení a tvorbu kořenových vlásků a v rostlině zvláště aktivitu řady enzymů [1].

Humus má silný účinek na strukturu mnoha půd. Zhoršení struktury, kterou doprovází intenzivní orba, je obvykle méně zlá v půdě přiměřeně zásobené humusem. Když humus chybí, půda se stává tvrdá, kompaktní a hrudkovitá [7].

2.1.2 Koloběh minerálních živin mezi rostlinou a půdou

Minerální látky a jednoduché výchozí sloučeniny, případně konečné iontové produkty se stávají znovu hlavním zdrojem minerálních živin pro rostliny, které jsou jejich primárními producenty. Kruh se uzavírá. Uvnitř každého ekosystému dochází ke koloběhu jednotlivých látek, nejčastěji prvků. Jeho podstata spočívá v tom, že rostliny přejímají minerální živiny z půdy a navracejí je znovu do půdy buď přímo reakcí nebo nepřímo začleněné v odpadu v organických látkách, aby je odtud po mineralizaci dendritu znovu přijali [1].

Látky, mineralizované od mikrobů a půdních živočichů, se dostávají k půdním koloidům a odtud k rostlinám. V půdním roztoku je rozpuštěno jen velmi malé množství živin (< 0,2 %), což činí malý zlomek jejich zásoby. Zbývající živiny (98 %) jsou vázány v půdě v těžko rozpustných organických sloučeninách a v organických zbytcích, nebo jsou zabudovány ve vlastních minerálech. Necelá 2 % jsou vázána na půdní koloidy. Nerozpustné živiny tvoří pomalu se uvolňující se rezervu. Do rostlin se živiny dostávají z půdního roztoku jako ionty solí difúzí spolu s vodou přes parenchym kořenové kůry savých kořenů [1].

Dobrý humus (neutrální humus) se v půdách projevuje:

- a) Umožněním biologické činnosti půdy jako energetický materiál pro mikroorganismy.
- b) Zásobováním rostlin živinami. Spolu s minerálními koloidy tvoří koloidní komplex, který je nositelem sorpce, při níž dochází k vazbě a uvolňování živin.
- c) Fyzikálním vlivem, který spočívá v tmelivém působení humusu, podporujícím tvorbu drobtovité struktury. Velká schopnost humusu poutat vodu zvyšuje vododržnost, což je důležité zvláště u lehkých půd. Naopak u těžkých půd působí humus vylehčování a kypření tím, že pórovitější humusová hmota se stěsňuje mezi hutné minerální částice.
- d) Stimulační účinky na rostliny, zvláště na růst a metabolické pochody v rostlině [2].

2.2 Huminové látky

Huminové látky jsou přírodní organické sloučeniny vzniklé chemickým a biologickým rozkladem organické hmoty (zbytků rostlin, živočichů apod.) a syntetickou činností mikroorganismů. Přirozeně se vyskytují zejména v sedimentech, zeminách, rašelině, hnědém

uhlí, lignitu a některých dalších materiálech. Obsah huminových látek v přírodních matricích kolísá od stopových množství (písky, jíly), přes jednotky procent (běžné zeminy) až k desítkám procent (hnědé uhlí, lignit). Mimořádně vysoký obsah – 80 % a více – potom vykazuje např. rašelina [8].

Významná část organické složky je tvořena huminovými látkami. Přírodní huminové látky jsou nalezeny ve fyziologicky inaktivní formě. V půdě jsou těmito organickým a anorganickým směsím vystaveny rostoucí kořeny. Tyto molekuly jsou charakterizovány odlišností v molekulové velikosti a rozpustnosti. Pravděpodobným faktorem pro činnost je malá molekulová hmotnost huminových frakcí nasátých kořeny. In vitro můžeme demonstrovat, že nízká molekulová hmotnost huminových látek může stimulovat H^+ -ATPasovou aktivitu plazmatické membrány (izolovány z ovesných kořenů). Tato stimulace plazmatické membrány H^+ -ATPasovou aktivitou by mohla aspoň z části vysvětlit pozitivní efekt těchto půdních molekul na živiny a růst rostlin [9, 10].

Huminové látky můžeme popsat jako kyselé a hydrofilní aromatické polymery, které obsahují karboxylové a fenolické hydroxylové skupiny. Díky přítomnosti těchto skupin v molekule mají huminové látky převážně kyselý charakter. Aromatická jádra bývají v molekule zasítována a drží pohromadě pomocí alifatických, kyslíkových, dusíkatých a sírných můstků. Na povrchu této sítě jsou alifatické, peptidické a lipidické řetězce a chemicky aktivní funkční skupiny [11].

Molekulová hmotnost huminových látek se pohybuje přibližně v rozmezí od 2000 do 200 000. Huminové látky jsou strukturně velmi složité a doposud ne zcela přesně popsány [8].

Huminové látky mohou být rozděleny do několika skupin podle různých faktorů. Jsou jimi především rozpustnost, molekulová váha, počet reagujících skupin, elementární složení a koloidní vlastnosti. Nejznámější je dělení podle rozpustnosti a to do těchto skupin:

- huminové kyseliny (rozpustné v alkalických roztocích)
- fulvínové kyseliny (rozpustné v alkalických i kyselých roztocích)
- huminy (nerozpustné při jakémkoli pH) [11].

Huminové látky jsou známé pro jejich vlastnosti:

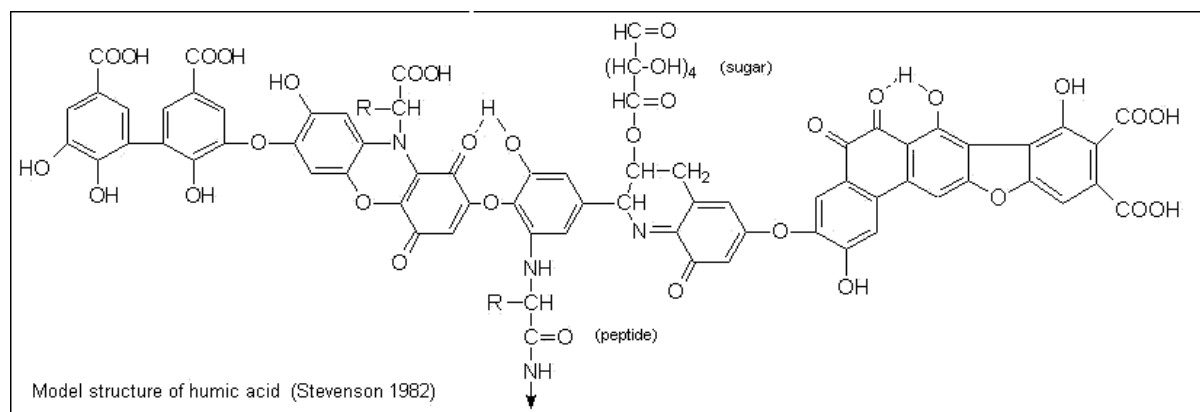
- cheláty půdních živin
- zlepšují příjem živin, hlavně fosforu, síry a dusíku
- odstraňují toxiny z půd
- stimulují půdní biologickou aktivitu
- rozpouští minerály
- zlepšují půdní strukturu [12].

2.2.1 Huminové kyseliny

Huminové kyseliny se v půdě nacházejí převážně v koloidním stavu, jsou odolné proti rozkladu a vyznačují se velkou sorpční schopností. Huminové kyseliny jsou tmavé barvy a hromadí se většinou na místě vzniku. Jsou charakteristické dobrou rozpustností v louhu a roztocích hydrolyticky zásaditých solí. Základní složkou je aromatické jádro fenolického nebo chinoidního typu s účastí cyklických i alifatických dusíkatých sloučenin [6, 8].

V rozpustném stavu se lehce srážejí vodíkem minerálních kyselin a dvoj a trojmocnými kationty (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+}). Huminové kyseliny jsou jen částečně nebo velmi slabě rozpustné ve vodě. Elementární složení huminových kyselin je závislé na půdním typu, chemickém složení rostlinných zbytků a podmínkách humifikace. Kolísá v následujícím

rozmezí: C 52-62 %, H 2,8-5,8 %, O 31-39 %, N 1,7-4,9 %. Huminové kyseliny černozemí jsou nejvíce obohacené uhlíkem. Huminové kyseliny obsahují 1-10 % popelovin (Si, Al, Fe, S, P, Ca, Mg, K, Na, aj.). Kyselinový charakter těchto sloučenin je daný přítomností kyselých funkčních skupin, ze kterých jsou nejdůležitější karboxylové a fenol hydroxylové. Vodíkové ionty těchto funkčních skupin mají schopnost vyměňovat se za jiné ionty. V neutrálním prostředí výměnný vodík karboxylových skupin představuje hodnotu 250-500 mmol/100 g huminové kyseliny. Huminové kyseliny mají porézní stavbu a vyznačují se vysokou sorpční schopností. Molekulová hmotnost dosahuje až 300 000 [6].



Obr.1 Hypotetický strukturální vzorec huminové kyseliny [8]

Huminové kyseliny jsou považovány za nejhodnotnější produkt humifikačních procesů v půdě, výrazně ovlivňují půdní vlastnosti podmiňující vysokou úrodnost. Ovlivňují zejména kationtovou výměnnou kapacitu, strukturu a vysokou pufrovací schopnost půd. V nasyceném stavu jsou stálé, vysoce odolné vůči mineralizaci [6].

Z fyziologického hlediska byl prokázán příznivý vliv humátů na růstové pochody rostlin, stimulačně působí na příjem živin a metabolismus kořenových buněk, zejména pokud jde o dýchací procesy. Působení humátů je však jiné povahy než působení látek typu auxinů. Fyziologicky pozitivní vliv humátů je zřejmý již v počátečních fázích vývoje rostlin. Prokázáno bylo například zvýšení intenzity dýchání bobtnajících obilok ozimě pšenice již po šesti hodinách bobtnání. Experimentálně byl zjištěn příjem draselné soli kyseliny huminové kořeny rostlin, dokonce i odřezanou lodyhou s postupem do vodných pletiv. Bylo dokázáno, že huminová kyselina a fulvokyseliny jsou po přijetí kořeny transportovány až do listů. Přitom se prokazatelně projevuje pozitivní vliv humátů zesílením a vyšší intenzitou fotosyntézy [13].

Z praktického hlediska humáty a huminové kyseliny vykazují vlastnosti stimulační, adsorpční a ochranné, pozitivně ovlivňují půdní vlastnosti zejména agregaci půdních koloidů a výživu rostlin a to bez toxických účinků. Stimulují tvorbu a podporují větvení kořenového systému rostlin, metabolismus kořenových buněk, zejména zvyšují intenzitu dýchání a přijímací kapacitu kořenů s následkem zvýšení příjmu živin a jejich efektivnějšího využití. Humáty příznivě ovlivňují půdní fyzikálně-chemické vlastnosti, pórovitost půdy, vodní a vzdušný režim, mikrobiální činnost, působí na vázání živin do přístupných forem [13].

Z huminových kyselin lze alkoholovou extrakcí oddělit hymatomelanové kyseliny. Jsou považovány za součást huminových kyselin, mají žluté až žlutohnědé zbarvení a oproti huminovým kyselinám mají menší molekulovou hmotnost [6].

2.2.2 Fulvokyseliny

Fulvokyseliny jsou žluté až hnědé barvy, velmi pohyblivé a lehce se přemísťující v půdním profilu. Jsou charakteristické dobrou rozpustností ve vodě, minerálních kyselinách, loužích i v roztocích hydrolyticky zásaditých solí. Od huminových kyselin se liší jednodušší stavbou makromolekuly i celkovým složením. Fulvokyseliny obsahují: C 40-52 %, H 4-6 %, O 40-48 %, N 2-6 % (tedy oproti huminovým kyselinám méně C a více O). Obsah popelovin je 2-8 %. Kyselinový charakter fulvokyselin je dán především karboxylovými skupinami, jejichž výměnný vodík představuje hodnotu 600-900 mmol/100 g fulvokyseliny [6].

Vodní roztoky fulvokyselin jsou silně kyselé (pH 2,6-2,8). Molekulová hmotnost kolísá od 200 do 50 000. Fulvokyseliny jsou v důsledku silně kyselé reakce a dobré rozpustnosti ve vodě velmi agresivní na minerální část půdy, kterou zároveň ochuzují o živiny a koloidní látky [6].

2.2.3 Humíny a humusové uhlí

Jedná se pravděpodobně o silně karbonizovanou organickou hmotu, pevně vázanou na minerální podíl půdy a proto se nedá získat ani mnohonásobnou extrakcí alkáliemi z dekalcinované půdy (zbavené vápníku). Humíny jsou často charakterizovány jako nerozpustné formy huminových kyselin. Humusové uhlí se vyskytuje v půdním humusu jako nejstarší, vývojově kulminující složka produktů humifikace. Podle Najmra je humusové uhlí tmavá, zuhelnatěná, na uhlík a dusík bohatá hmota, která nepeptizuje, nerozpouští se, nehydrolyzuje, nezúčastňuje se půdotvorného procesu a proto ztratila funkci pravého humusu [6].

Huminové komplexy jsou látky, jejich molekulová hmotnost má rozsah přibližně od 100 000 do 10 000 000. Hlavní funkce humínů v půdě jsou zlepšení půdní struktury, pracovat jako kation - výměnný systém a obecně zlepšují půdní úrodnost [4].

2.3 Mechanismus příjmu a transportu látek v rostlině

Látky z vnějšího prostředí, aby byly rostlinou metabolicky využity, musí překročit rozhraní mezi vnějším a vnitřním prostředím. Toto rozhraní není vždy totožné s morfologickým povrchem rostliny – jejich orgánů: základní bariérou a vnitřním systémem je plazmalema. Přes ni vede primární vstup do buněčného prostředí [3].

Příjem látek je spojen s transportem, který překonává prostorové vzdálenosti od místa zdroje látky k místu spotřeby. Podle toho rozlišujeme transport na krátké vzdálenosti (vstup do buňky), na střední a na dlouhé vzdálenosti [3].

Transport je vlastním procesem přemísťování látek a energie. Přejít látky přes jednotkovou plochu rozhraní, daný množstvím převedené látky za čas označujeme jako tok a platí pro něj vztah:

$$J = L \cdot X, \quad (1)$$

kde L je vodivost prostředí pro transportovanou látku a X je příslušná hnací síla.

Analyzujeme-li hnací sílu transportu, pak můžeme rozlišit děje:

- a) Kde se na její tvorbě podílí např. kinetická energie tepelného pohybu molekul, výpar, gravitační síly, síly vztlakovosti v kapilárních prostorách a ty formy pohybu prostředí, pro něž není hnací silou metabolický proces. V těchto případech mluvíme o dějích pasivních.
- b) Naproti tomu případy, kde X je produktem metabolických procesů, jsou děje považovány za aktivní.

Tyto procesy mají svůj původ v samotném buněčném metabolismu, který vytváří energetické i látkové nerovnováhy (gradienty koncentrací), a ty jsou pak vlastní hnací silou aktivních transportních procesů. Snížení metabolické aktivity (např. aplikací inhibitorů, snížení teploty aj.) vede k poruše transportních procesů – ať přímo na membráně nebo nepřímo porušením aktivního konvekčního toku [3].

Pasivní transport je především difúze, která je nejobecnější formou transportu. Zdrojem energie je tepelný pohyb molekul, při stejné energii odpovídá rychlost pohybu molekul (v) různé hmotnosti (m) vztahu:

$$v = k \cdot \frac{1}{m}, \quad (2)$$

směr pohybu má statický charakter a je určen rozdílem koncentrací látky na obou stranách rozhraní – koncentračním spádem. Koncentrační spád se postupně v čase difúzí ruší, pokud jiné síly (např. metabolismus) znovu nevytvářejí koncentrační nerovnováhy [3].

Aktivní transport původně označoval transmembránový transport látek, využívá speciálních iontově selektivních přenašečů za spotřeby makroergické vazby. Takový děj nabývá nutné povahy spřažené enzymatické reakce, jejíž kinetika vyhovuje enzymatické reakci prvního řádu, je-li adenosintrifosfát v nadbytku.

Na rostlinných membránách je možno rozlišit několik základních typů transportních systémů:

- uniport – samostatný (jednosměrný) tok; elektrická kompenzace může být zprostředkována třeba pasivním tokem dalších iontů;
- symport – spojený (jednosměrný) aktivní tok dvou iontů či iontů ve spojení s organickými látkami;
- antiport – spojený (protisměrný) aktivní tok dvou iontů souhlasného znaménka – obrácená obdoba symportu Na^+/K^+ -ATPáza, K^+/H^+ - ATPáza aj.);
- elektroneutrální tok – přemísťují se molekuly bez náboje např. sacharóza. Tím se dostávají neutrální látky do ionizovaného stavu, pokud se váží s elektricky nabitým iontem. Takto se mohou transportovat přes membránu.

Transport může být popisován jak z vnějšku dovnitř tak zevnitř ven. Transport protonů H^+ běží z vnitřního prostředí do vnějšího prostředí a proti němu jde transport ostatních kationtů (K^+ , Ca^{2+} aj.), dokud nedojde k rovnováze. Rovnováhy jsou dvojího typu: elektrické a koncentrační. Obě se vyrovnávají pasivním pohybem. Jsou však i nerovnováhy mezi vnějším a vnitřním prostředím, které se vyrovnávají aktivním procesem [3].

2.3.1 Transport na krátké vzdálenosti

Látky, které mají přejít z vnějšího prostředí do buněčného, musí nutně překonat rozhraní buňky reprezentované zpravidla plazmalemou. Přes plazmalemu se látky dostávají aktivně nebo pasivně. Existují i výjimky, zvláštní pozornost si zasluhují procesy pinocytózy. Tento transport je sice neselektivní, ale může být velmi výkonným. Dále sem patří i přechod látek ze sousedních buněk systémem plazmodezmů – přímých spojek mezi protoplasty [3].

Mezi látky, které sledujeme, patří především minerální složky rostlinného těla nebo ty, které v minerální formě do buňky vstupují (zpravidla v iontové formě). Řada látek do buňky difunduje – teda vstupuje pasivně. I v tomto případě může být v cestě difúzi nějaký filtrační systém (iontově selektivní kanály), který vede k určité “selektivitě” – ovšem dokud se neanuluje hnací síla pro všechny složky tohoto systému, pak musí být výsledkem vždy rovnováha. Pasivně vstupují i látky, které procházejí lipidní vrstvou membrány [3].

Transport na krátké vzdálenosti v sobě zahrnuje základní mechanismus sycení symplastu, tj. vnitřního cytoplazmatického systému z vnějšího prostoru, a proto celkový tok je závislý na povrchu protoplastu.

Další významnou složkou buňky je vakuola, kolem níž se vyvíjí tonoplast. Ten je sídlem aniontových transportních systémů a systémů pro transport organických látek. Tonoplast je dobře permeabilní pro kationty (zvláště K^+), proto se vyrovnává nadbytek organických kyselin ve vakuole právě pasivní distribucí K^+ iontu z cytoplazmatického prostoru.

Příjem a transport iontů v kořeni je selektivní proces. Kořeny rostlin se musí přizpůsobit různým exogenním koncentracím iontů tak, aby byla zabezpečena vhodná endogenní koncentrace i vzájemný poměr iontů v buňkách [3].

V kořeni rostlin tedy probíhá intenzivní metabolismus, který je nutný k resorpci iontů. Vzhledem k tomu, že ve vakuolách kořenových buněk je koncentrace iontů vyšší než koncentrace iontů v tekuté půdní fázi, musí probíhat příjem živin proti koncentračnímu spádu, což je spojeno se spotřebou energie. Kořenové buňky musí mít k dispozici selektivní mechanismus příjmu živin, neboť jsou odkázány u celé řady živin na jejich velmi nízké koncentrace v půdním roztoku a na druhé straně je jim nabízena i relativně vysoká koncentrace prvků, které rostlina nezbytně potřebuje. Pro každou živinu je zapotřebí, aby byla v půdním roztoku dosažena alespoň její mezní koncentrace, jinak by její příjem mohl být omezen tak, že by se na rostlině začaly objevovat příznaky jejího nedostatku. Mezní koncentrace jsou pro jednotlivé živiny rozdílné [3].

2.3.2 Transport na střední vzdálenosti a dálkový transport

Ion přijatý z vnějšího prostředí buňky může být okamžitě zapojen (utilizován) v metabolismu, uložen ve vakuole nebo transportován do dalších buněk. Transport na střední vzdálenosti u vícebuněčných rostlin zajišťuje transport přijatých iontů mezi vnitřním a vnějším prostorem dále dovnitř rostlinných pletiv.

Zde se uplatňují dva systémy – symplast a apoplast. Oba umožňují pohyb iontů spojitým prostorem, avšak současně to jsou systémy, které ionty vyvazují a různě přetvářejí jejich původní iontové formy. Situace se mění podle stáří rostliny a typu diferenciací jejich pletiv. Pohyblivost iontu v obou systémech je omezená a rychlost je velmi malá [3].

Ionty i soli se pohybují xylémem a transpirační proud je v rostlině rozvádí. Na konci cévních svazků difundují buněčnými stěnami k povrchům protoplastů ve svazkovém parenchymu a aktivním transportem přestupují do parenchymatických buněk. Transport živin mezi buňkami prochází tak opět symplastem a některé soli jsou přitom ukládány do vakuol. Vedle xylému je další významnou cestou floém. Obě dálkové translokační soustavy jsou na mnoha místech propojeny zejména v kořenech a stonkových nodech. Spolu s tokem metabolitů jsou anorganické látky dodávány tam, kde je jich nejvíce třeba. Sítkovicemi se zprostředkuje zejména přerozdělení těch látek, které již jednou rostlina přijala. Tato redistribuce je pro různé látky rozdílně obtížná. Tak živiny vázané v organických sloučeninách (např. N, P, S) se mohou translokovat jako ionty alkalických kovů, Cl^- a NO_3^- . Naopak obtížná je translokace těžkých kovů a iontů alkalických zemin, zejména vápníku. Proto se tyto prvky hromadí v listech, kde končí xylémová cesta pro translokaci živin [3].

2.4 Koloběh živin v půdě

Základní živiny (C, N, P a S) jsou rostlinami přijímány ve formě anorganických iontů a zabudovány do biomasy. Cykly C, N a S se liší od cyklu P tím, že do koloběhu mohou vstupovat plynné formy prvků z atmosféry a jsou přeměňovány na roztoky a pevné látky. Každá přeměna je vázána na obsah O₂ nebo redox podmínky prostředí. Z toho plyne, že koloběhy C, N a S jsou vázány na gradient O₂ (redox potenciálu). Vytvořená rostlinná biomasa je zdrojem potravy a živin pro heterotrofní organismy. Organismy po smrti podléhají dalším přeměnám a k tomu, aby se živiny vázané v organické hmotě uvolnily zpět do koloběhu a zpřístupnily pro rostliny, musí být organická hmota zmineralizována na anorganické látky v cyklu různě složitých přeměn. Většina přeměn probíhá v půdě a jejich rychlost je závislá na aktivitě rostlin, živočichů a mikroorganismů. V koloběžích všech prvků probíhají současně procesy mineralizace a imobilizace, jejich rychlost závisí na podmínkách prostředí, na teplotě, vlhkosti, aeraci, pH, vegetačnímu krytu [14].

2.4.1 Redox potenciál

Půdní organismy a kořeny rostlin získávají energii oxidací redukovaných látek. To znamená, že odnímají z organických látek elektron, který musí být přijat jinou látkou, akceptorem elektronů. Pokud je v prostředí přítomný kyslík, pak slouží jako akceptor elektronů, protože má nejvyšší oxidační stupeň (pravděpodobnost, že přijme elektron je vysoká). V zaplavených půdách, kde spotřeba kyslíku převyšuje jeho difúzi, může dojít k jeho vyčerpání. Kořeny rostlin začnou odumírat, půdní živočichové migrují do vyšších vrstev a půdní mikroorganismy vytvářejí klidová stádia, odumírají nebo místo kyslíku využívají jako akceptor elektronů jiné látky s nižším oxidačním stupněm (např. NO₃⁻, Fe³⁺). Obecné pravidlo je, že přítomnost akceptoru elektronů vyššího oxidačního stupně inhibuje respiraci zahrnující akceptor elektronů nižšího oxidačního stupně. Např. přítomnost kyslíku bude inhibovat využití nitrátů jako akceptorů elektronů [14].

2.4.2 Výměna iontů vázaných na negativně nabitě půdní koloidy

Jílové minerály a organické koloidy jsou velmi důležité pro dostupnost živin pro rostliny i půdní organismy díky velkému povrchu a schopnosti adsorbovat kationty. Jílové minerály jsou tvořeny vrstvami atomů kyslíku, křemíku, hliníku. Působením vnějších faktorů prostředí mohou být některé atomy křemíku (Si⁴⁺) nahrazeny atomy hliníku (Al³⁺) a některé atomy hliníku za atomy hořčíku (Mg²⁺) a železa (Fe²⁺). Jílová částice tak získává negativní náboj. Negativní náboj organické frakce souvisí s ionizací karboxylové skupiny (-COOH → -COO⁻ + H⁺) a hydroxylové skupiny (-OH → -O⁻ + H⁺) fenolických látek, které vznikají při rozkladu ligninu. Kationty přítomné v půdním roztoku se vážou na jílové materiály a organické koloidy s negativním nábojem a jsou také ochráněny před vyplavováním z půdy. Vazba kationtů je výměnná. To znamená, že vázané kationty mohou být zaměněny za kationty jiné, které jsou buď obsaženy v půdním roztoku nebo sorbovány na povrchu mikroorganismů nebo kořenů. Například NH⁴⁺ na povrchu jílového minerálu může být snadno zaměněn za H⁺, který je vázán na povrchu bakterie nebo kořene a je zpřístupněn jako živiny pro bakterii nebo rostlinu [14].

2.4.3 Koloběh uhlíku

Celkový reservoár uhlíku je ohromný, ale pouze jeho malá část je zapojena do aktivního koloběhu C. Většina C je uzavřena v sedimentech, oceánech, horninách a fosiliích. Pokud nebudeme uvažovat spalování fosilních zásob člověkem, aktivním přeměnám podléhá C, který je vázaný v živých organismech, organické hmotě, C v atmosféře a rozpuštěný ve vodě. Zásoba organického uhlíku v půdě je přibližně pětkrát větší než zásoba v atmosféře a v živých organismech. Vzhledem k tomu, že zásoba CO₂ v atmosféře je malá, došlo by k rychlému vyčerpání jeho zásob, pokud by nedocházelo k mineralizaci organické hmoty a navrácení CO₂ zpět do atmosféry. Pokud je ekosystém v ustáleném stavu, tak mineralizací musí být uvolněno stejné množství C, jaké je spotřebováno primárními producenty a zabudováno do biomasy. Podle odhadů se ale z terestrických ekosystémů uvolňuje dvakrát tolik CO₂ než je spotřebováno primární produkcí. To je způsobeno kácením lesů a přeměnou přirozených ekosystémů na intenzivně obhospodařované zemědělské ekosystémy. Tyto zásahy vedou k akceleraci rozkladu organické hmoty a snížení spotřeby CO₂ rostlinným krytem. V koloběhu uhlíku hrají nejvýznamnější roli bakterie a houby, které se podílejí 90-95 % na heterotrofní aktivitě půdních organismů [14].

Po vstupu organické hmoty do půdy začnou heterotrofní organismy rostlinné zbytky rychle rozkládat a dojde ke zvýšení dekompozice v půdě. To je způsobeno rychlým rozkladem lehce rozložitelných látek. Poté, co jsou tyto látky rozloženy, rozklad se zpomalí a postupně dochází k přeměně hůře rozložitelné celulózy a hemicelulózy. Nejpomaleji se rozkládají lignin a fenolické látky. Rozkladné rostlinné zbytky se částečně mineralizují na CO₂, částečně jsou zabudovány do mikrobiálních těl a metabolitů. Ty prochází rozkladem v dalších stupních dentritového potravního řetězce nebo podléhají polymerizaci a komplexaci za vzniku stabilní organické hmoty. Půdní organická hmota je na rozdíl od rostlinných zbytků tvořena převážně aromatickými látkami a alifatickými uhlovodíky s dlouhým řetězcem [14].

Koloběh uhlíku v půdě nelze sledovat odděleně od koloběhu ostatních prvků. Je úzce propojen s ostatními cykly živin v půdě. Propojenost koloběhu C a koloběhy ostatních prvků jasně vyplývá z následujících skutečností:

1. Rozklad organických C-H vazeb uvolňuje energii, která je nutná pro život dekompozitorů a tím i pro přeměny všech prvků v půdě.
2. Klíčovými procesy koloběhu C v půdě jsou procesy mikrobiálních přeměn rostlinného materiálu, který se skládá z C, ale i dalších molekul jako je O, H, N, P a S. Tyto prvky jsou ale v organických vazbách pro rostliny nedostupné a musí být přeměněny na minerální formy, aby mohly být opět využity primárními producenty. Protože obsah prvku vázaných v rostlinném materiálu není vždy dostačující, jsou půdní biota, ale i kořeny rostlin odkázány na využívání prvků z minerální složky půdy. Tím se provázanost koloběhu C a ostatních prvků ještě zvyšuje.
3. Pokud dekompozitoři nemají dostatek živin potřebných k tvorbě biomasy, rozklad bude zpomalen, všechny uvolněné živiny budou vázány do těl dekompozitorů a v půdě bude docházet k imobilizaci živin. Živiny se v půdě budou mineralizovat a uvolňovat pro rostliny pouze v případě, když budou v nadbytku [14].

2.4.4 Koloběh fosforu

Primárním minerálním zdrojem P ve většině půd je apatit. Během vývoje půd jsou apatity fyzikálním, chemickým a biologickým zvětráváním pomalu přeměňovány na labilní nebo rozpustné formy. Část uvolněného P je vysrážena jako sekundární minerály nebo přeměněna

na vázané formy. Současně s těmito procesy je fosfor z půdního roztoku spotřebováván kořeny rostlin nebo půdními mikroorganismy a zůstává delší či kratší dobu vázán v organické hmotě. Rostliny i mikroorganismy mohou čerpat P rozpuštěný v půdním roztoku, živočišné ho přijímají v konzumované potravě. Rozpustnost P závisí na pH půdy a na zastoupení jílových materiálů. Ve většině půd je fosfor nejvíce dostupný při slabě kyselé nebo neutrální reakci. Z kyselých půd přechází fosfor do formy nerozpustných fosfátů Fe a Al nebo jsou adsorbovány na povrchu amorfních hydroxy-oxidů. Naopak v zásaditých půdách P přechází na nerozpustné Ca fosfáty. Rostliny i mikroorganismy mohou zvyšovat rozpustnost fosfátů ve svém okolí vylučováním CO_2 a organických kyselin (např. jablečné, citrónové). P vázaný v organických látkách je uvolňován do půdního roztoku díky působení enzymů – fosfatáz, které jsou tvořeny většinou půdními mikroorganismy. Ale i kořeny některých rostlin mohou v podmínkách nízké dostupnosti P uvolňovat fosfatázy [14].

K imobilizaci P bude docházet, když poměr C/P bude vyšší než 300. Tedy pokud obsah P v rostlinných zbytcích přesáhne 0,2-0,3 %, pak může docházet k uvolňování P. Podobně jako u dusíku, v počátečních fázích rozkladu organické hmoty, bude převažovat imobilizace, v pozdějších fázích naopak mineralizace P. Obsah organického P závisí na obsahu C nebo N, ale tato závislost je mnohem méně těsná než mezi C a N. Obsah fosforu v organické hmotě kolísá mezi 1-3 %. Tato ohromná variabilita může být vysvětlena tím, že P se naváže do strukturních komponent huminových a fulvo-kyselin, a je poměrně snadno vyplavován s nízkomolekulárními fulvo-kyselinami z půdy [14].

Nedostatek fosforu se projevuje na habitu rostlin, které jsou slabé, málo odnožují. Listy jsou vzpřímené, tmavě zelené. Květní orgány jsou zakrnělé. Dlouhodobý deficit fosforu vede však k tomu, že se zvyšuje syntéza látek neobsahujících fosfor. Současně se snižuje tvorba molekul s obsahem fosforu a zvyšuje se aktivita fosfatáz. U řady rostlin působí nedostatek fosfátů tak, že vyvolává i silné zvýšení jejich transportu do buněk. Zaznamenalo se i zvýšení aktivity kyselých fosfatáz a jejich vylučování do vnějšího prostředí, což pravděpodobně zvyšuje dostupnost sloučenin fosforu z prostředí. Rostliny mohou využívat i organicky vázaný půdní fosfor po rozkladu sloučenin na povrchu kořenů enzymem fosfatázou [15].

2.4.5 Funkce a význam dusíku

Molekulární dusík, kterého je v 1 m^3 vzduchu asi 780 litrů, dovedou přímo vázat pouze sinice a některé bakterie žijící volně v půdě nebo ve vodě nebo jako symbionti. Půdní bakterie se podílejí na tzv. koloběhu dusíku v přírodě [1].

Během humifikace dusík z aminokyselin a jiných aminosloučenin je zabudován do struktury huminových a fulvinových kyselin, ve kterých není tato forma snadno dostupná pro rostliny. Zpřístupnění organického dusíku rostlinám z půdy mineralizací právě umožňují bakterie a houby rozložením bílkovin v procesu amonifikace [1, 4].

V půdě probíhají dva typy procesů přeměn N. Procesy mineralizace, během kterých se organický N přeměňuje na minerální formy a imobilizace, během které je minerální N spotřebováván rostlinami nebo organismy a zabudováván do biomasy. Na imobilizaci se podílí kořeny rostlin a půdní organismy, na mineralizaci pouze půdní organismy a půdní enzymy [14].

Rostlinám je dusík přístupný ve formě amonných solí a jako nitrátový dusík (NO_3^-) z procesu nitrifikace. Nitrifikace je vázána na provzdušňování půdy, ovlivňuje ji i pH půdy. Na kyselých půdách probíhá omezeně. Kořenem přijatý dusičnan (= nitrátový dusík) se v cytosolu buněk nejdříve redukuje na dusitan (= nitritový dusík NO_2^-). Nitritový dusík

vzniká přechodně a je pro rostlinu jedovatý. Proto je převeden do plastidů a tam se redukuje na amoniak. Částečně rozložený substrát, který nebyl mineralizován, se podílí na tvorbě humusu [1].

Dusík vázaný v organických sloučeninách se tedy stává přístupným pro rostliny až po jejich mineralizaci, tj. převedení na jednodušší složky minerální jako článek koloběhu látek. Anion NO^{3-} má záporný náboj a proto není vázán negativně nabitými půdními koloidy ani negativně nabitým půdním sorpčním komplexem. Proto se tento dusík nenávratně vyplavuje do spodních vod, zatím co amonný dusík se kationty NH^{4+} váže na negativně nabitý sorpční komplex. Mohou být uvolňovány výměnou za ionty z půdního roztoku, ale mohou být i pevně vázány na jílové koloidy [1].

Hlavním zdrojem dusíku pro většinu rostlin jsou nitrátové ionty (NO^{3-}). Konkurenčním zdrojem dusíku je zvláště na chladných a kyselých půdách amoniak (NH^{4+}). Mají-li rostliny na výběr, upřednostňují ion NH^{4+} , protože se na jeho asimilaci spotřebuje méně energie než při příjmu nitrátů (NO^{3-}) [1].

Organické sloučeniny dusíku jsou zastoupeny ve všech životních procesech rostlin a nedostatek dusíku omezuje růst rostliny, protože je důležitý pro tvorbu chlorofylu, je složkou pigment-proteinových komplexů, přenašečů elektronů i enzymů Calvinova cyklu a zejména enzymu ribulóza-1,5-bisfosfátcarboxylázy/oxigenázy, což následně ovlivňuje rychlost fotosyntézy a kvantitu asimilátů aj. Deficit dusíku vede u rostlin k tomu, že buňky mezofylu mají nižší počet menších chloroplastů s redukováným počtem tylakoidů.

Organické sloučeniny dusíku v rostlině mají funkci stavební, metabolickou, transportní i zásobní [1].

Nedostatek dusíku se projevuje slabším vzrůstem rostlin a sníženou tvorbou chlorofylu. Rostliny jsou světle zelené, postupně odumírají spodní listy, plody jsou drobné [15].

Nadbytek dusíku se v přirozených podmínkách projevuje sytějšími někdy až namodralým zbarvením listů, rostliny jsou vzrostlé, mají křehké listy i stonky. Vysoké dávky dusíku v amonné formě mohou způsobit sníženou vzházivost zejména drobnosemenných rostlin, zvláště na lehčích půdách. Je známo, že dávky dusíku mohou prodlužovat dobu vegetace, oddalovat kvetení a zrání [15].

Je známo, že pokud je půda vystavena intenzivní kultivaci, obsah dusíku ve většině půd klesá. Tato ztráta dusíku není stejná pro všechny dusíkové frakce. Dlouhodobé obdělávání ani přidávání organických dodatků do půdy neovlivní poměrné rozdělení forem dusíku jako NO^{3-} , NH^{4+} [7].

2.5 Sorpční komplex půdy

Jednou z nejdůležitějších schopností organických látek i jílových materiálů je schopnost vázat živiny. Tato schopnost vázat živiny přístupné pro rostliny se označuje pojmem sorpce [2].

Schopnost půd působit jako měnič iontů se týká především výměny kationtů. Ačkoli jsou půdní koloidy vhodné i k výměně aniontů, vyskytují se při půdní reakci, potřebné z hlediska pěstitelských opatření, jen nepříliš pozitivní přebytkové náboje, takže význam výměny aniontů zůstává z praktického hlediska daleko za významem výměny kationtů. Sorpční kapacita půdy závisí do značné míry právě na obsahu jílu a humusu. Vysoká sorpční kapacita půdy působí pozitivně především na dostatečný přísun kationtů ze sorpčního komplexu půdy k rostlinám. U půd s vysokou sorpční schopností jsou ztráty kationtů vlivem vyplavování a dynamika živin v porovnávání s půdami s nižší sorpční kapacitou výrazně nižší. Tím tak

vznikají podstatně příznivější předpoklady pro průběžné zásobení rostlin živinami. Zvýšením sorpční kapacity půdy je možné výrazně přispět ke stejnoměrnému zásobování rostlin živinami, které se vyskytují ve formě kationtů. U půd s vysokou sorpční kapacitou je možné i při přerušovaném přísunu živin dosáhnout potřebné rovnoměrnosti v zásobení rostlin živinami. Sama sorpční schopnost má značný význam pro výživu rostlin zadržovat ionty nebo celé molekuly látek z půdního roztoku a omezovat vyplavení živin do spodních vrstev a nežádoucí zvýšení koncentrace solí v půdním roztoku [2].

Podle druhu a intenzity různě pevné vazby živin na tuhou fázi půdy během vzniku zásoby lehce přístupných živin pro rostliny se sorpce člení:

a) sorpce mechanická

Spočívá v existenci kapilárních pórů v půdě, kde se zadržují pevné větší částice živných látek (filtrace). Pro přímou výživu rostlin má malý význam.

b) Sorpce fyzikální

Závisí na obsahu jemných disperzních částic (jílových částí), které zvětšují celkový povrch. Fyzikální sorpce je poutání živin ve formě celých molekul vlivem fyzikálních sil v půdě.

Rozlišují se dva typy:

- Kladná fyzikální sorpce – molekuly živin z rozpuštěné látky jsou přitahovány k pevným půdním částicím větším i fyzikálními silami než molekuly vody.
- Záporná fyzikální sorpce – k rozhraní půdní roztok – půda jsou silněji přitahované molekuly vody než molekuly rozpuštěné látky (Cl^- , NO_3^-). Tento druh sorpce vede k vyplavování živin do spodních vrstev půdy [2].

c) Sorpce chemická

Schopnost půdy zadržovat některé živiny vzájemnými chemickými reakcemi živin (iontů i molekul) tvorbou nerozpustných sraženin. Chemickou sorpcí tak mohou být některé živiny (především vápník a fosfor) různou pevností vazeb fixovány. V kyselých nebo zásaditých půdách jsou tak poutány fosforečnany. Nitráty (NO_3^-) ani chloridy naproti tomu chemické sorpci nepodléhají, a proto se vyplavují [2].

d) Sorpce fyzikálně chemická – výměnná sorpce

Založeny na vlivu elektrostatických sil (kladné a záporné náboje), resp. vzájemná neutralizace opačně nabitých částic nacházejících se na pevné koloidní částici půdy (jílový materiál nebo organický koloid) a v půdním roztoku. Vlastní sorpce živin je složitým procesem. Na něm se podílejí koloidní organominerální micely. Ve středu micely je jádro, které svým povrchem vytváří koloidní granulí. Na jejím povrchu je nabíjecí vrstva (záporně nabitá), která určuje náboj. K zachování neutrality micely musí mít k dispozici opačně nabité ionty (kationty), které tvoří vrstvu kompenzujících iontů. Obě vrstvy tak tvoří elektrickou dvojvrstvu, která určuje povahu elektrokinetického potenciálu. Vrstva kompenzujících iontů se dělí na dvě části: na nepohyblivou vrstvu, která těsně přiléhá k nabíjecí vrstvě, a na difuzní vrstvu, nacházející se směrem k vnějšímu roztoku [2].

Difuzní vrstva se vyznačuje výměnnou sorpcí. Výměnná sorpce se vyznačuje tím, že za určitých podmínek v kapalné fázi půdy se mohou uvolňovat kladné náboje (H^+) a přijímat (kompenzovat) je jinými kladnými náboji. Tak je možné na sebe podle charakteru náboje přitahovat kationty (K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , H^+ aj.) nebo anionty (fosforečnany, sírany a další). Záporně nabitá koloidní částice přitahuje kladně nabitou a tvoří spolu s ní sorpční komplex půdy. Obdobně tomu je tak, když kladně nabitá částice přitahuje záporně nabitou z půdního roztoku [2].

Velikost sorpce závisí na množství koloidních částic v půdě. V našich půdách vysoce převažuje sorpce kationtů (95 %) nad sorpcí aniontů. Proto bývá většina aniontů, pokud není vázána chemickou nebo biologickou sorpcí, vyplavena do podpovrchových vod a není vyloučena kontaminace i zdrojů pitné vody.

Intenzita poutání není u všech iontů stejná. Některé ionty mohou z půdního roztoku vytlačovat jiné ionty poutané v sorpčním komplexu a zaujímat jejich místo. Tímto způsobem dochází k výměně iontů – zvláště kationtů. Jednotlivé kationty jsou různě silně poutány v sorpčním komplexu a jsou podle toho dobře nebo špatně vyměnitelné:

dobré	vytěšňování	špatné
Na ⁺	NH ₄ ⁺	H ⁺
<	<	<
K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺
<	<	<

V půdě se udržuje rovnováha mezi kationty poutanými sorpčním komplexem a kationty obsaženými v půdním roztoku. Rovnováha je narušována odčerpáním živin rostlinou, která pak musí být vyrovnávána uvolněním iontů ze sorpčního komplexu. Naopak během mineralizace organických látek v půdě nebo při hnojení se zvýší obsah živin v půdním roztoku a tím se může sorpční komplex dosytit [2].

Dobrou sorpční schopnost půd zajišťuje vysoký obsah humusových látek. K zajištění dobré sorpční schopnosti je třeba pravidelně hnojit organickými hnojivy, dodávat jílové minerály nebo zeminy do lehkých písčitých půd a pravidelně vápnit [2].

e) Sorpce biologická

Biologickou sorpcí jsou poutány živiny v živých a odumřelých tělech půdních mikroorganismů a vyšších i nižších rostlin (řas, hub aj.). Jejich hmotnost na 1 hektar může dosáhnout 5 i více tun. Během svého života půdní mikroorganismy spotřebovávají také značná množství živin z půdy. Proto nelze počítat se 100 % využitím živin pěstovanými rostlinami [2].

2.6 Zpracování adsorpčních dat

Na fázovém rozhraní se může působením mezipovrchových sil zachycovat určitá látka ve vyšší koncentraci, než jakou má uvnitř fáze. Tento jev se nazývá adsorpce. Nejčastějšími případy adsorpce jsou adsorpce na mezifázi tuhá látka – plyn a tuhá látka – kapalina. Tuhou fází nazýváme adsorbent a látku zachycovanou na jeho povrchu z plynné nebo kapalné fáze adsorbát [16].

Adsorpce je charakterizována vzájemnou závislostí adsorbovaného množství, teploty, koncentrace adsorbující se látky:

$$f(a, T, c) = 0 \tag{3}$$

Nejčastěji jsou měřeny adsorpční izotermy. Adsorpční izotermy popisují závislost naadsorbovaného množství na tlaku (adsorpce plynu) nebo na koncentraci (adsorpce látky z roztoku) při stálé teplotě. Účinnější je adsorpce při nižších teplotách. To ukazuje na skutečnost, že adsorpce je exotermický děj. Je tomu tak proto, že se na teplo mění kinetická energie částic zachycovaných na povrchu adsorbentu a energie uvolňovaná při vysycování zbývajících vazebných sil v povrchu tuhé fáze [16, 17].

2.6.1 Freundlichova izoterma

Je nejstarším, dosud používaným analytickým vyjádřením závislosti adsorbovaného množství na rovnovážném tlaku za konstantní teploty. Protože adsorpční izoterma mnohdy svým tvarem připomíná parabolu, byla na základě experimentálních dat formulována rovnice:

$$a = k \cdot c^n \quad (4)$$

kde c je koncentrace, a adsorbované množství, k a n jsou konstanty. Hodnota konstanty k klesá s rostoucí teplotou, konstanta n je vždy větší než jedna a s rostoucí teplotou se blíží jedné [17].

2.6.2 Langmuirova izoterma

Byla formulována na základě kinetických představ za těchto předpokladů: vytváří se jen jedna vrstva molekul, pravděpodobnost adsorpce je stejná na všech místech povrchu, adsorbované molekuly se vzájemně neovlivňují. Používaný tvar Langmuirovy izotermy:

$$a = a_m \cdot \frac{b \cdot c}{1 + b \cdot c} \quad (5)$$

V oblasti velmi nízkých tlaků, kdy $b \cdot c < 1$, je závislost $a = a(c)$ lineární, $a = a_m \cdot b \cdot c$, při vysokých tlacích, kdy $b \cdot c > 1$, se adsorbované množství blíží limitní hodnotě, $a = a_m$. Při zpracování experimentálních dat se používá linearizovaný tvar:

$$\frac{c}{a} = \frac{1}{a_m \cdot b} + \frac{c}{a_m} \quad (6)$$

Langmuirova rovnice je zvlášť vhodná pro chemisorpci, při níž se na povrchu vytváří jediná vrstva molekul. Jestliže se nepředpokládá tvorba více vrstev molekul, používá se Langmuirova izoterma i pro popis fyzikální adsorpce. Případné odchylky Langmuirovy rovnice od skutečného průběhu izotermy mohou být způsobeny vzájemným ovlivňováním adsorbovaných molekul a nestejnorodostí povrchu adsorbentu [17].

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

R003 (0,1 M H₂SO₄ + 0,001 M HCl) od Istran c.r.o. Bratislava

KNO₃ p. a., Mercí, s. r. o., Brno, CZ

NaOH p. a., Fluka, s. r. o., Brno, CZ

Huminové kyseliny

3.1.1 Příprava huminových kyselin

60 g lignitu bylo zalito 2 dm³ extrakčního roztoku (0,1 M NaOH + 0,084 M Na₄P₂O₇ · 10 H₂O). Za stálého protřepávání, v inertní dusíkové atmosféře, extrakce probíhala přes noc. Další den byl roztok zfiltrován přes hustou tkaninu. Po filtraci byla tuhá část znovu extrahována 60 minut. Poté byla opět provedena filtrace. Oba filtráty byly spojeny a okyseleny 20% HCl do pH = 1. Roztok byl ponechán přes noc v lednici. Druhého dne byla odsáta kapalina nad usazeninou, zbytek byl 10 minut odstředován v centrifuze při 4000 otáčkách za minutu a termostatu nastaveném na 10 °C. Usazenina byla třikrát promyta kyselinou chlorovodíkovou o koncentraci 0,1 – 0,2 M a pH ≤ 1 a jednou promyta destilovanou vodou. Nakonec byly získané huminové kyseliny vysušeny při 50 °C.

3.2 Použité přístroje

CHNSO Mikro-analyzátor FLASH 1112 (Carloerba) od ÚSMH AVČR Praha

pH – metr HANNA instruments, HI 9017

UV/VIS spektrometr HITACHI U3300

průtokový analyzátor EcaFlow 150 GLP

3.3 Postup měření

3.3.1 Charakterizace huminových kyselin

Stanovení celkové kyselosti

Byla připravena suspenze smícháním 1 g huminových kyselin ve 25 ml vody. Připravené vzorky byly ponechány 24 hodin třepat a poté byly titrovány standardizovaným roztokem 1 M NaOH do konstantního pH. Během titrace bylo sledováno pH, vodivost a z naměřených výsledků sestrojeny titrační křivky pro stanovení celkové kyselosti [18].

Stanovení obsahu COOH skupin

50 mg huminové kyseliny bylo naváženo do kádinky o objemu 100 ml a zalito 25 ml vody a 25 ml 0,81 M roztoku octanu vápenatého. Kádinky byly uzavřeny parafilmem a ponechány 24 hodin třepat. Druhý den byl roztok zfiltrován a filtrát doplněn destilovanou vodou v odměrné baňce na objem 100 ml. Tento roztok byl titrován 1,0 M NaOH do pH 9,8, které je považováno za bod ekvivalence [7, 19].

3.3.2 Sorpce

Pro kalibraci byly použity roztoky KNO₃ v ROO3/2 (R003 zředěn vodou v poměru 1:1) o koncentracích 10, 20 a 50 mg.dm⁻³.

Pro sorpci byly použity roztoky KNO_3 ve vodě o koncentraci 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 a $100 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$. Vždy byly odpipetovány dané ml ze zásobního roztoku do odměrné baňky 100 ml a baňka byla doplněna po rysku vodou. Z každého roztoku bylo odebráno 25 ml do baňky, přidáno 0,5 g huminových kyselin a to vždy třikrát. Roztoky se nechaly 24 hodin třepat, byly přefiltrovány přes membránové filtry (PTFE $0,2 \mu\text{m}$), poté byly zředěny s R003 v poměru 1:1 a změřeny na EcaFlow.

4. VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1 Charakterizace HK

4.1.1 Elementární analýza

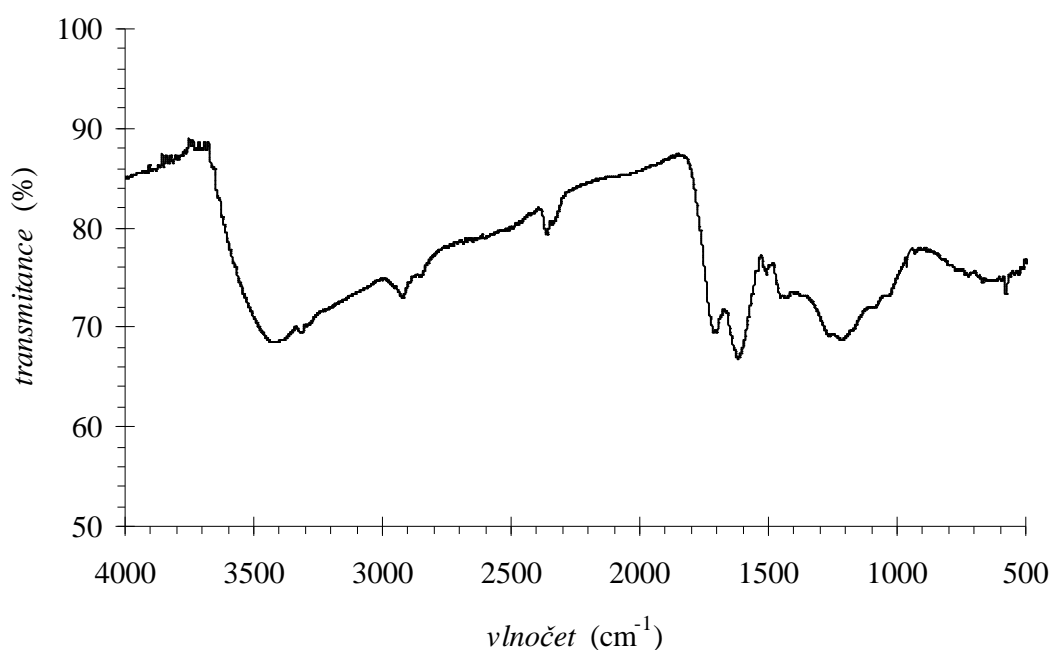
Elementární analýzou bylo určeno:

Tab.1 Atomová procenta prvků a kyselost

C	42,75 at %
H	41,83 at %
O	14,35 at %
N	0,85 at %
S	0,22 at %
Celková kyselost	11,104 mmol.g ⁻¹
Kyselost COOH	5,392 mmol.g ⁻¹
Obsah popela	28,92 hm % [18]

Atomová % zastoupených prvků, celková kyselost a kyselost COOH jsou vztažena na suchý vzorek bez popela.

4.1.2 FT-IR spektrum huminových kyselin



Obr. 2 FT-IR spektrum huminových kyselin

Na Obr. 2 je FT-IR spektrum huminových kyselin použitých pro sorpci.

V oblasti $3600 - 3000 \text{ cm}^{-1}$ se nachází široký pás, který přísluší valenčním vibracím OH^- skupin svázaných vodíkovými vazbami. Tento difuzní pás je natolik významný, že překrývá některé diagnosticky významné prvky spektra.

Dále můžeme vidět absorpční pásy při $3000 - 2800 \text{ cm}^{-1}$, které přísluší symetrickým a antisymetrickým valenčním vibracím CH_3 a CH_2 skupin. Jednotlivé pásy nelze přesně přiřadit jednak v důsledku částečného překrytí širokým pásem OH^- vibrací a jednak v důsledku polymorfního zastoupení uvedených skupin v různých molekulárních formách.

Soubor pásů mezi $1800 - 1600 \text{ cm}^{-1}$ patří skupinám C=O ze skupiny karboxylové kyseliny COOH a deformačním vibracím NH_3^+ ve strukturách aminokyselin. Jejich valenční vibrace v oblasti $3130 - 3030 \text{ cm}^{-1}$ jsou opět překryty širokým pásem hydroxylové skupiny.

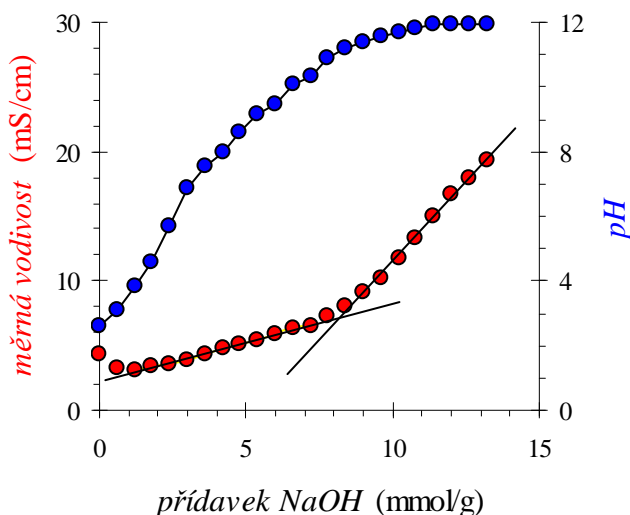
Pík v oblasti $1600 - 1650 \text{ cm}^{-1}$, s hodnotou maxima 1630 cm^{-1} můžeme přiřadit skupinám C=C z aromatických cyklů benzenových jader, ale i ketonickým C=O skupinám. Pík v oblasti $1400 - 1450 \text{ cm}^{-1}$ náleží alifatickým C-H vazbám ze skupin CH_2 a CH_3 .

V oblasti pásů mezi $1200 - 1300 \text{ cm}^{-1}$ se nachází ketonické a esterové struktury a k tomu se ještě při 1200 cm^{-1} projevuje deformační vibrace fenolických OH^- skupin.

Pík s maximem v oblasti 1020 cm^{-1} indikuje přítomnost C-O-C vazeb. Bývá připisován vazbě Si-O a jeho přítomnost bývá indikací nečistotám přítomným ve vzorku (popelu).

4.1.3 Stanovení kyselosti huminových kyselin

Celková kyselost huminových kyselin byla zjištěna titrací suspenze 1 g huminových kyselin ve 25 ml vody. Suspenze byla titrována odměrným roztokem 1 M NaOH do konstantního pH, vyššího než 12. Po přidavku odměrného roztoku byla sledována vodivost a pH.

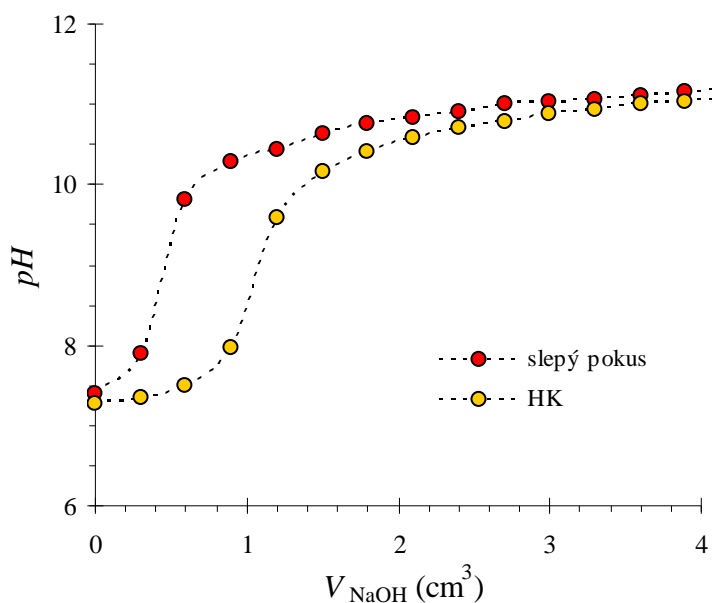


Obr. 3 Titrační křivka pro stanovení celkové kyselosti

Byla určena celková kyselost $7,4586 \text{ mmol.g}^{-1}$ na celý vzorek, kde je zahrnut popel a vlhkost. Tato hodnota byla následně přepočítána na suchý vzorek bez popela (viz. Tab. 1).

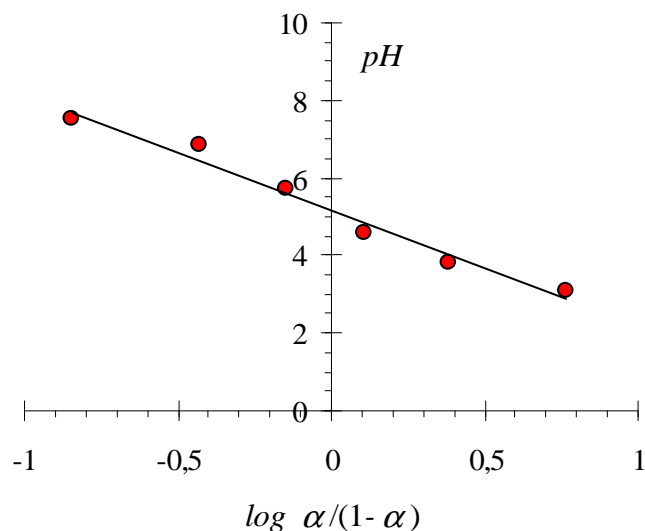
Kyselost karboxylové skupiny byla určena titrací roztoku připraveného z 50 g huminových kyselin, 25 ml 0,81 M roztoku octanu vápenatého zalité 25 ml vody. Roztoky byly ponechány

24 hodin třepat. Další den byl roztok zfiltrován, filtrát doplněn destilovanou vodou v odměrné baňce na objem 100 ml. Suspenze byla titrována odměrným roztokem 0,1 M NaOH do pH 9,8, které je považováno za bod ekvivalence.



Obr. 4 Titrační křivka pro stanovení kyselosti COOH

Byla zjištěna kyselost karboxylové skupiny $1,6307 \text{ mmol.g}^{-1}$, kde je zahrnut popel a vlhkost. Tato hodnota byla následně přepočítána na suchý vzorek bez popela (viz. Tab. 1).



Obr. 5 Stanovení pK_{app} a K_{app}

Henderson-Hasselbachova závislost

Z mnoha modifikací této závislosti používaných pro popis konduktometrických a potenciometrických titrací huminových kyselin, byl v této práci použit tento její tvar:

$$pH = pK_{app} - n \log \frac{\alpha}{(1 - \alpha)}, \quad (7)$$

kde pK_{app} představuje záporný logaritmus zdánlivé disociační konstanty a α je stupeň disociace. Ten byl vypočten z rovnice:

$$\alpha = \frac{c_{NaOH} \cdot V_{NaOH} + [H^+] \cdot (V_{susp} + V_{NaOH})}{b_c \cdot g_{HK}}, \quad (8)$$

kde g_{HK} představuje navážku huminové kyseliny v titrované suspenzi, b_c celkovou kyselost dané huminové kyseliny, V_{susp} je objem suspenze před titrací. Hodnoty c_{NaOH} , V_{NaOH} a $[H^+]$ jsou známy z potenciometrické titrace.

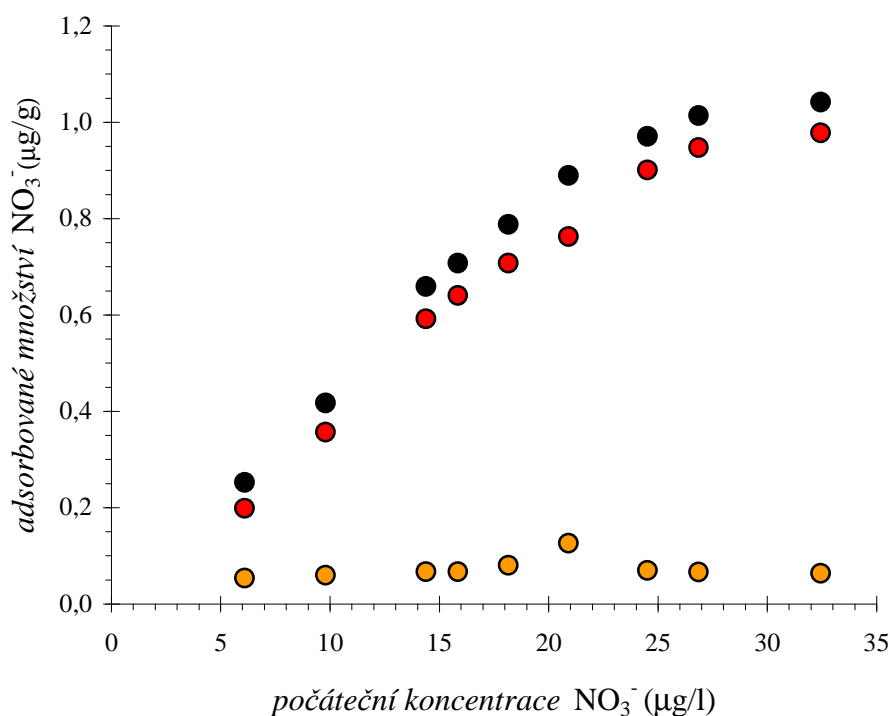
Za Henderson-Hasselbachovu závislost je tedy považována závislost pH na $-\log\left[\frac{\alpha}{(1-\alpha)}\right]$.

Měla by mít podobu přímky se sklonem n a úsekem na ose y odpovídající pK_{app} . Reálná křivka má esovitý průběh, ovšem střední část se dá považovat za lineární. Podle autora [5] průměrné hodnotě pK_{app} odpovídá pK při $\alpha = 0,5$, tedy regresivní přímkou byla prokládána část křivky v oblasti nulových hodnot logaritmu.

Hodnoty pK_{app} byly získány z regresivních rovnic přímek, kterými byly proloženy lineární oblasti Henderson-Hasselbachovy závislosti. Byla získána hodnota $pK_{app} = 5,5272$ a $K_{app} = 2,9703 \cdot 10^{-6}$.

4.2 EcaFlow

Pro sorpci byly použity roztoky KNO_3 ve vodě o koncentraci 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 a 100 $mg \cdot dm^{-3}$. Vždy byly odpipetovány dané ml ze zásobního roztoku do odměrné baňky 100 ml a baňka byla doplněna po rysku vodou. Z každého roztoku bylo odebráno 25 ml do baňky, přidáno 0,5 g huminových kyselin a to vždy třikrát. Roztoky se nechaly 24 hodin třepat, byly přefiltrovány přes membránové filtry, poté byly zředěny s R003 v poměru 1:1 a změřeny na EcaFlow.

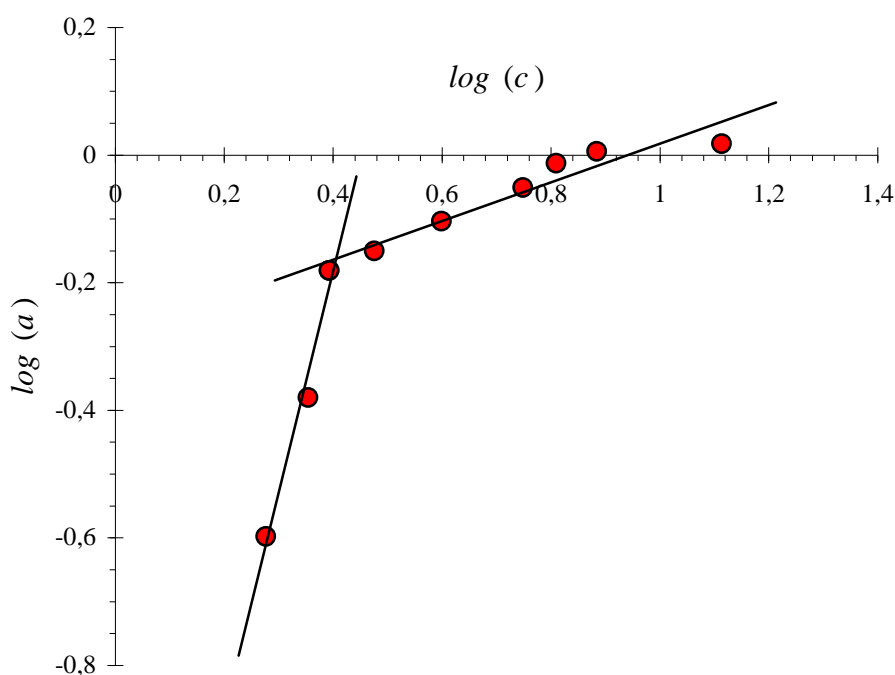


Obr. 6 Závislost adsorbovaného množství NO_3^- na počáteční koncentraci NO_3^-

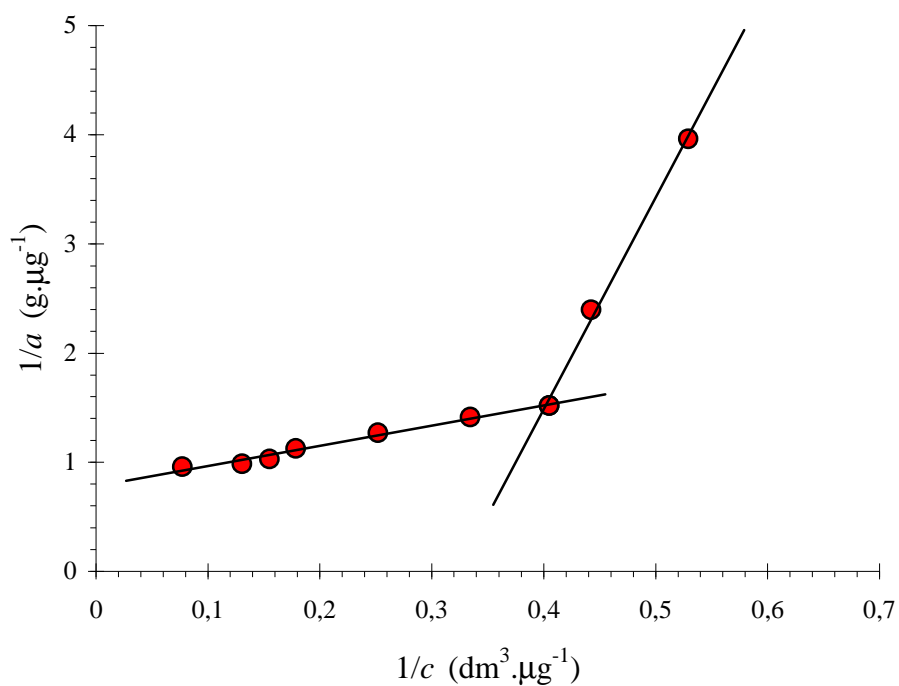
Na obr. 6 jsou naměřené hodnoty na Ecaflow.

Hodnoty vyznačené v grafu žlutými body odpovídají 2. píku na EcaFlow (viz. Příloha 4). Jedná se o huminové kyseliny, které se rozpustily ve vodě a navázaly se na NO_3^- . Při zvyšující se koncentraci NO_3^- zůstává adsorbované množství NO_3^- na huminové kyseliny stejné. To je způsobeno malým množstvím huminových kyselin rozpuštěných ve vodě. Vlastností huminových kyselin je velmi slabá rozpustnost ve vodě. Červené body vyznačují hlavní pík na EcaFlow (viz. Příloha 3). Odpovídá to dusičnanům navázaným na tuhé nerozpuštěné huminové kyseliny v roztoku. Při zvyšující se koncentraci NO_3^- se adsorbované množství NO_3^- na huminové kyseliny zvyšovalo. Hodnoty vyznačené černě náleží dusičnanům navázaným na rozpuštěné i tuhé huminové kyseliny v roztoku, tedy se rovná součtu červených a žlutých hodnot.

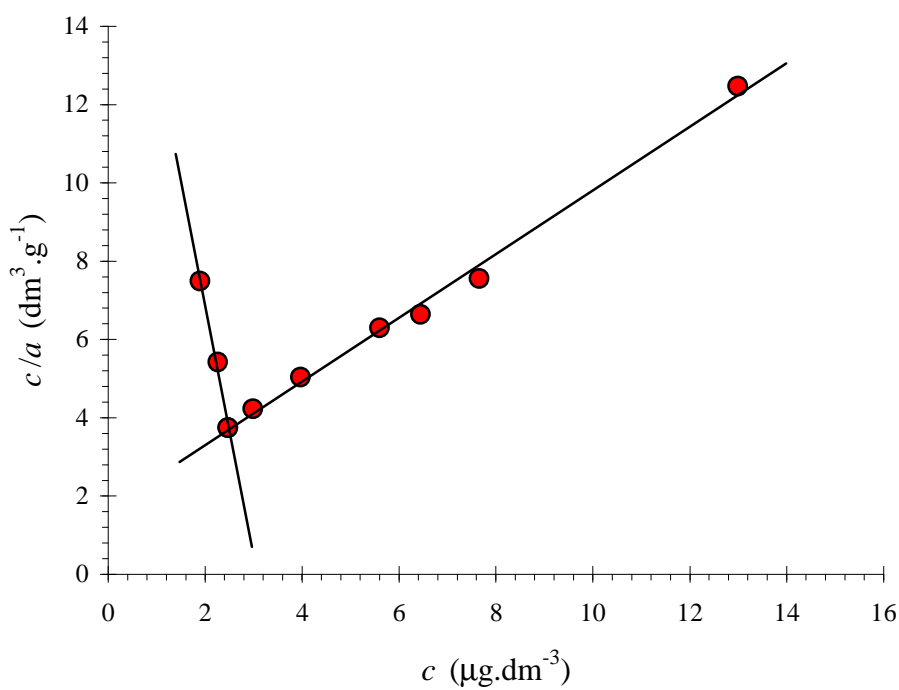
Adsorpční izotermy v lineární formě popisují závislost naadsorbovaného množství na koncentraci. Freundlichova izoterma je více vhodná pro fyzikální adsorpci, která vzniká na základě Van der Waalsových přitažlivých sil. Langmuirova izoterma je vhodná spíše pro chemisorpci, která je pevnější než fyzikální adsorpce, je tvořena chemickými vazbami. V lineární přímce u obou izoterem nastává vždy v jistém bodě zlom, který značí změnu mechanismu vázání NO_3^- na huminové kyseliny. V lineárních formách izoterem nastává zlom i u adsorpce fluoridů z roztoku NaF na lignit získaný z Mikulčič v publikaci [20]. Rozsah měření je omezený. Je třeba ještě další zkoumání. Vyšší koncentrace by šly měřit pouze tak, že by se vzorky před analýzou ředily.



Obr. 7 Adsorpční izoterma pro adsorpci NO_3^- na huminové kyseliny v linearizované Freundlichově izotermě



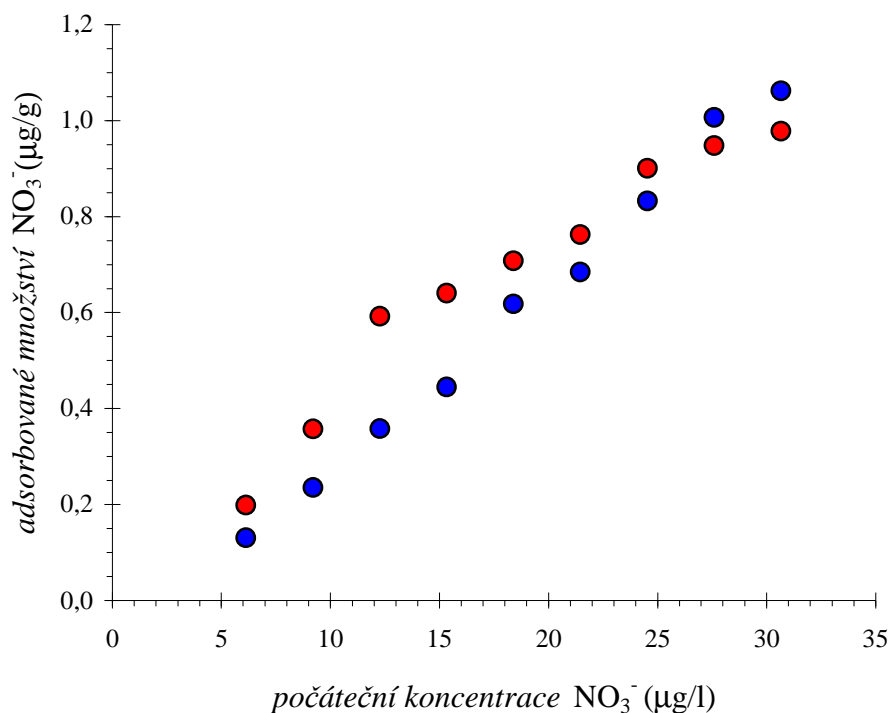
Obr. 8 *Linearizovaná Freundlichova izoterma*



Obr. 9 *Adsorpční izoterma pro adsorpci NO_3^- na huminové kyseliny v linearizované Langmuírově izotermě*

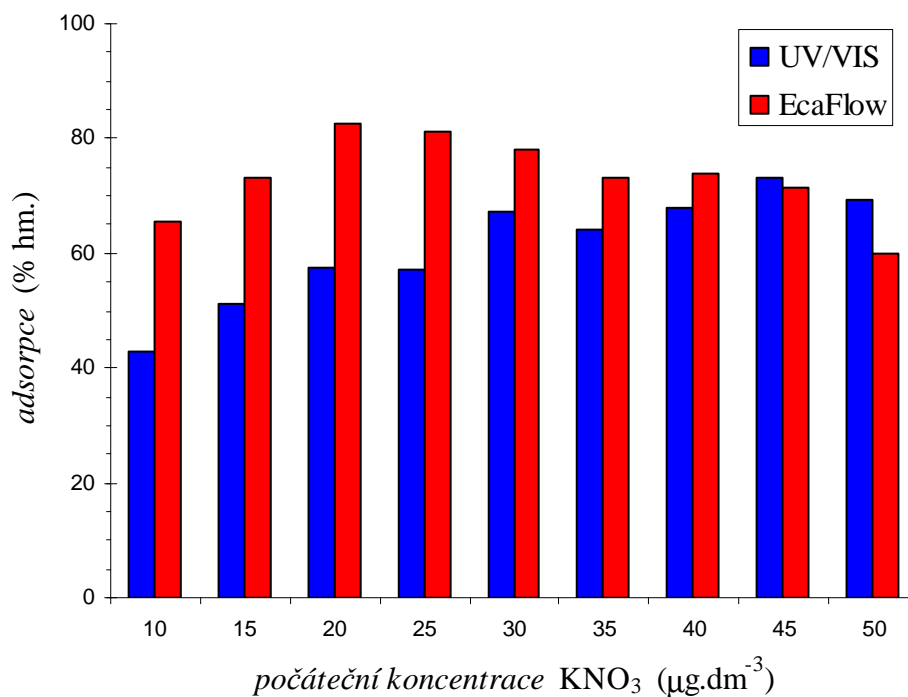
4.3 Srovnání EcaFlow/UV-VIS

Podstatou ultrafialové a viditelné spektrometrie je absorpce ultrafialového a viditelného záření (200 až 800 nm) zředěnými roztoky molekul. Při absorpci dochází k excitaci valenčních elektronů, které jsou součástí molekulových orbitalů. Proto molekulová absorpční spektra v ultrafialové a viditelné oblasti jsou svou podstatou elektronová spektra [21]. Měření adsorbovaného množství NO_3^- na huminové kyseliny se provádí hlavně pomocí UV-VIS, je to klasická, hodně využívaná metoda. Měření UV-VIS v publikacích [22, 23, 24, 25].

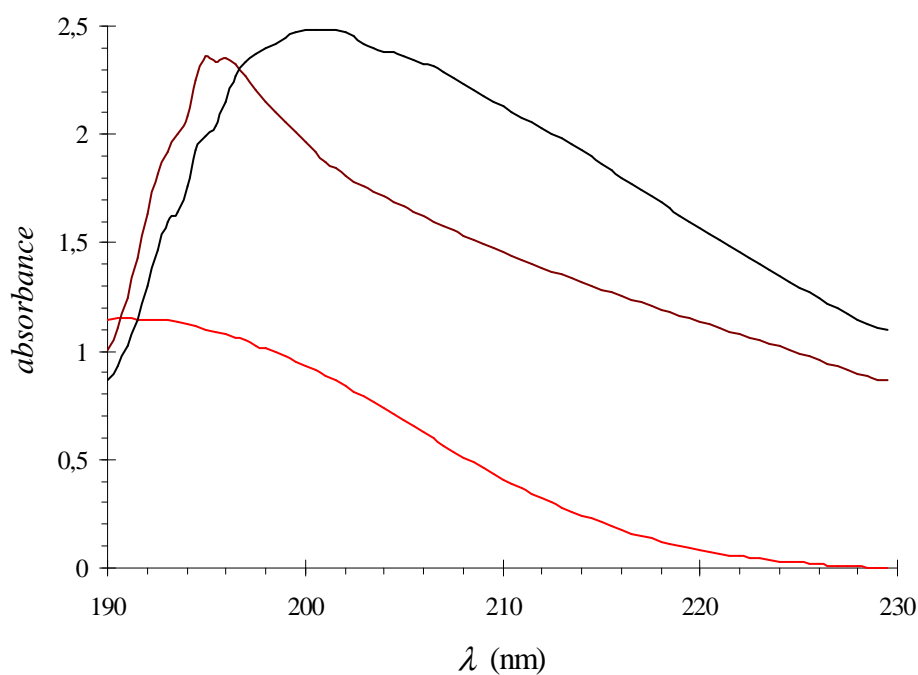


Obr.10 Srovnání zjištěných hodnot na Ecaflow a UV-VIS

Hodnoty vyznačené v grafu červeně odpovídají hlavnímu píku na EcaFlow (viz. Příloha 3), tedy dusičnanům navázaným na nerozpuštěné tuhé huminové kyseliny. Hodnoty značené modře jsou naměřené na UV-VIS, také se jedná o dusičnany navázané na tuhé huminové kyseliny. Na grafu je vidět, že hodnoty získané z UV-VIS jsou v přímce, naopak u EcaFlow se ohýbají. Problémem UV-VIS je, že huminové kyseliny absorbují záření stejně jako NO_3^- . Také u UV-VIS došlo k posunu maxima při vyhodnocení závislosti absorpce na vlnové délce (viz. Obr. 12), což vede k zneřádnění metody. Rozdíly se odráží i v procentech, kdy huminové kyseliny adsorbovaly až 80 % NO_3^- (viz. obr. 11) při měření na EcaFlow. O využití EcaFlow pojednávají autoři publikace [26].



Obr.11 Srovnání naměřených hodnot na EcaFlow a UV-VIS



Obr. 12 Příklad naměřených spekter pro $c = 20 \text{ mg/l}$

Na Obr. 12 je červeně vyznačen KNO₃, hnědě huminové kyseliny jako slepý pokus a černě huminové kyseliny s KNO₃

V Obr. 12 roztok KNO₃ o $c = 20 \text{ mg/l}$ smíchaný s huminovými kyselinami při měření na UV-VIS dosahují maxima absorbance 2,5 při vlnové délce 200 nm.

5. ZÁVĚR

Bakalářská práce se zabývá huminovými kyselinami, které adsorbují minerální látky a transportují tak živiny k rostlinám. Byla vypracována literární rešerže na základě dostupných informací a experimentální část zabývající se především interakcí huminových kyselin s dusičnany. Byla doplněna charakterizací huminových kyselin.

Pro sorpci byly použity roztoky KNO_3 ve vodě smíchané s huminovými kyselinami. Měření adsorbovaného množství NO_3^- na huminové kyseliny bylo prováděno na průtokovém analyzátoru EcaFlow, což je nová metoda měření. Klasickou, hodně využívanou metodou měření je UV-VIS. Srovnala jsem tyto dvě metody. Problémem UV-VIS je, že huminové kyseliny absorbují záření stejně jako NO_3^- . Také u UV-VIS došlo k posunu maxima při vyhodnocení závislosti absorpce na vlnové délce (viz. Obr. 12), což vede k zneřádnění metody. Rozdíly se odrážejí i v procentech, kdy huminové kyseliny adsorbovaly až 80 % NO_3^- a s postupným zvyšováním koncentrace KNO_3 se snižovalo množství NO_3^- , které se vázaly na huminové kyseliny. Ty byly čím dál více syceny NO_3^- a tím se snižovalo množství NO_3^- , které se mohly navázat při měření na EcaFlow (viz. obr. 11). Výhodou tenkovrstvé coulometrické titrace – metody pomocí EcaFlow je rychlost a jeho přesnost.

Vzhledem k těmto výsledkům lze na závěr říci, že nová metoda měření adsorpce pomocí EcaFlow je vhodnější.

6. SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] Krpeš V.: *Ekologie rostlin*. Přírodovědecká fakulta, Ostravská universita, Ostrava, 2005
- [2] Vrba V., Huleš L.: *Humus - půda - rostlina* (2) Humus a půda. Biom.cz [online]. 14. 11. 2006 [cit. 5. 3. 2008], Dostupné z: <<http://biom.cz/index.shtml?x=1933368>>, ISSN: 1801-2655
- [3] Richter R.: *Příjem živin kořeny* [online]. poslední revize 24. 1. 2004 [cit. 5. 3. 2008]. Dostupné z: <http://www.af.mendelu.cz/ustav/221/multitextz/html/prijem_zivin/transport_stredni.htm>
- [4] Pettit R. E.: *Organic matter, humus, humate, humic acid, fulvic acid and humin: Their importance in soil fertility and plant health*. Texas A&M University, 1995, 21. 10. 1998
- [5] Kumada K.: *Chemistry of soil organic matter*. Japan scientific societies press Tokyo, 1987, ISBN 0-444-98936-6
- [6] Jandák J., Prax A., Pokorný E.: *Půdoznalství*. Mendelova zemědělská a Lesnická univerzita v Brně, 2004, ISBN 80-7157-559-3
- [7] Stevenson, F. J.; Cole, M. A.: *Humus chemistry: Genesis, Composition, Reaction*. USA, University of Illinois, John Wiley and Sons, second edition, 1994, ISBN 0-471-59474-1
- [8] Veselá L., Kubal M., Kozler J. a Innemanová P.: *Struktura a vlastnosti přírodních huminových látek typu oxihumolitu*. Chemické Listy 99, 711 – 717, 2005
- [9] Pinton R., Cesto S., Iacoletting G., Astolfi S., Varanini Z.: *Modulation of NO₃⁻ uptake by water-extractable humic substance: involvement of root plasma membráně H⁺* Atlase. Plant and Soil 215: 155 – 161, 1999
- [10] Nardi S., Concheri G., Dell Agnola G. and Scrimin P.: *Nitrate uptake and Atpase Activity in oat seedlings in the presence of two humic fractions*. Soil Biol. Biochem. Vol. 23, No. 9, pp. 833-836, 1991
- [11] Kutilek M.: *Vodohospodářská pedologie*. Praha SNTL, 1978
- [12] Mayhew L.: *Humic substances in biological agriculture* [online]. 2004, Vol. 2004 [cit. 5. 3. 2008], Dostupné z: <http://www.acresusa.com/toolbox/reprints/Jan04_Humic%20Substances.pdf>
- [13] Novák J., Cibulka J.: *Humáty působí na rostliny příznivě* [online]. 2004 [cit. 5. 3. 2008], Dostupné z: <<http://www.humatex.cz/download/priloha%20opp%2013.zip>>
- [14] Šantrůčková H.: *Základy ekologie půdy* [online]. [cit. 5. 3. 2008], Dostupné z: <http://www.keh.bf.jcu.cz/files/texty_prednasek/zaklady_ekologie_pudy.pdf>
- [15] Felková M., Kocourková B.: *Pěstování léčivých rostlin*. Veterinární a Farmaceutická universita Brno, 2003. ISBN 80-7305-458-2
- [16] Klouda P.: *Fyzikální chemie*. Ostrava, 2002. ISBN 80-86369-06-4

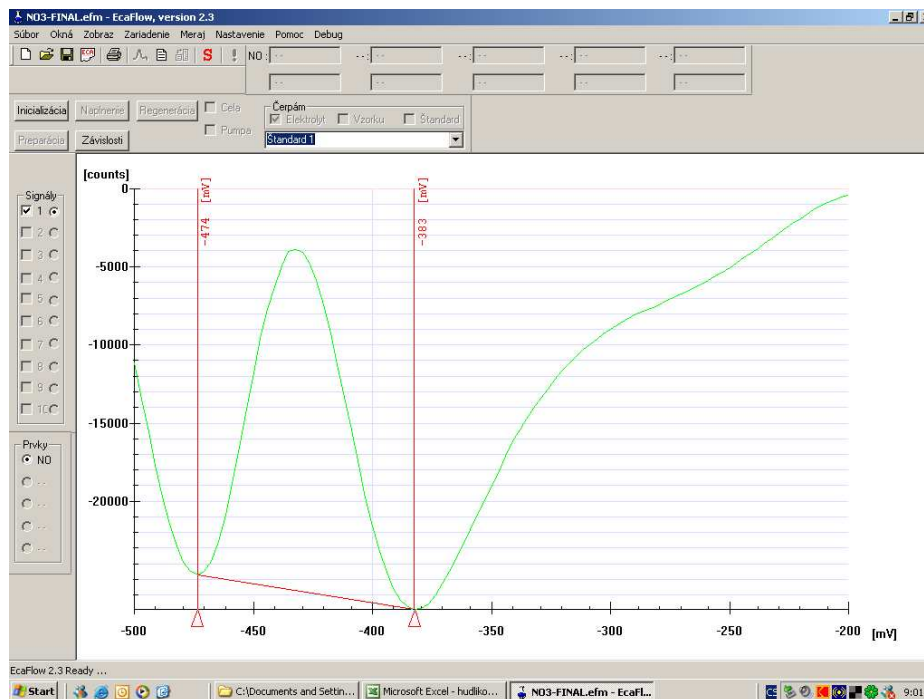
- [17] Novák J. P.: *Fyzikální chemie II*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2001, ISBN 80-7080-436-X
- [18] Klučáková M., Kotková L. *Acid – base properties of humic acid in various dispersion forms*. IN: 11th Conference on Environment and mineral processing. Part II. Ostrava 31 . 5. – 3. 6. 2007, P. 91-95. ISBN 978-80-248-1278-6.
- [19] Aiken, G. R., McKnight D. M., Wershaw R. L., Maccarthy, P.: *Humic Substances in soil, sediment, and water*. New York: J. Wiley, 1985. ISBN 0-471-88274-7
- [20] Pekař M.: *Affinity of the south moravian lignite for fluoride anion*. Institute of Physical and Applied Chemistry, Faculty of Chemistry, Brno University of Technology, Czech Republic, 24. 11. 2006, ISSN 1335-3055
- [21] Klouda P.: *Moderní analytické metody*. 2003, ISBN 80-86369-07-2
- [22] Cacco G., Attina E., Gelsomino A., Sidari M.: *Effect of nitrate and humic substances of different molecular size on kinetic parameters of nitrate uptake in wheat seedlings*. Dipartimento di Agrochimica ed Agrobiologia, Università di Reggio Calabria, Piazza San Francesco, Italy, 14. 3. 2000, Vol. 163, 313-320
- [23] Goldsmith J., Livoni J. P., Norberg C. L., Segel I. H.: *Regulation of Nitrate Uptake in Penicillium chrysogenum by Ammonium Ion*. Department of Biochemistry and Biophysics, University of California, Davis, California 95616, Plant Physiol. 17. 4. 1973, Vol. 52, 362-367
- [24] Collos Y., Mornet F., Sciandra A., Waser N., Larson A., Harrison P. J.: *An optical method for the rapid measurement of micromolar concentration of nitrate in marine phytoplankton cultures*. Journal of Applied Phycology 11: 179-184, 1999
- [25] Cawse P. A.: *Determination of Nitrate in Soil Solution by Ultraviolet Spectrophotometry*. 1967, Vol. 92, pp. 311-315
- [26] Hlúbiková S., Hanková Z., Beinrohr E.: *Využitie tenkovrstvovej coulometrickej titrácie na stanovenie dusičnanov vo vodách*. Slovenská Technická Univerzita, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Ústav analytickej chémie, Bratislava, 3. 1. 2007, ISSN 1336-7242

7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

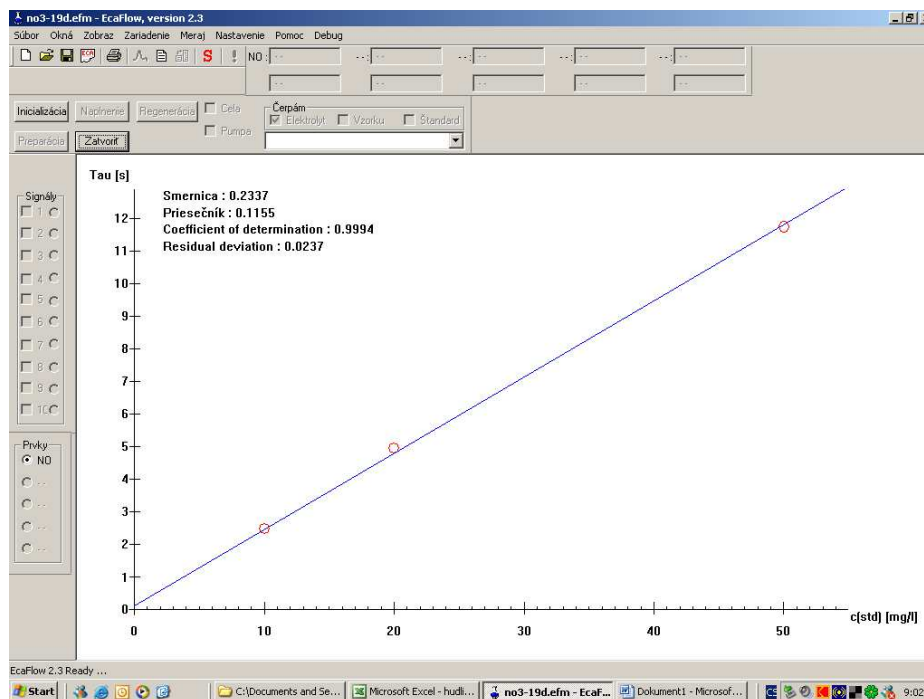
a	adsorbované množství
c	koncentrace
K_{app}	disociační konstanta
pK_{app}	záporný logaritmus zdánlivé disociační konstanty
α	stupeň disociace
V	objem

8. PŘÍLOHY

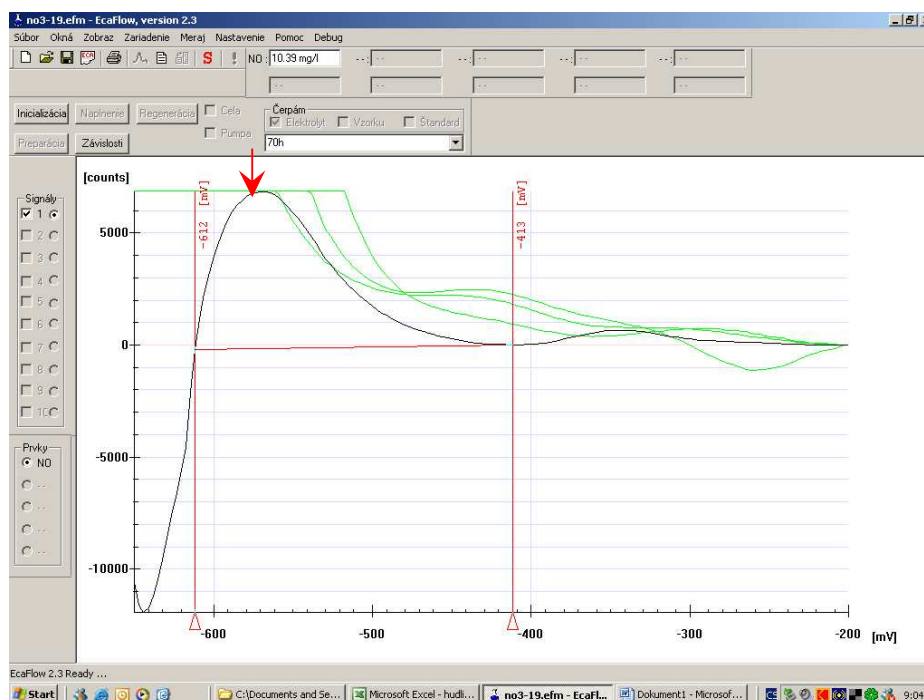
Příloha 1 Příklad experimentálních dat při měření standardu



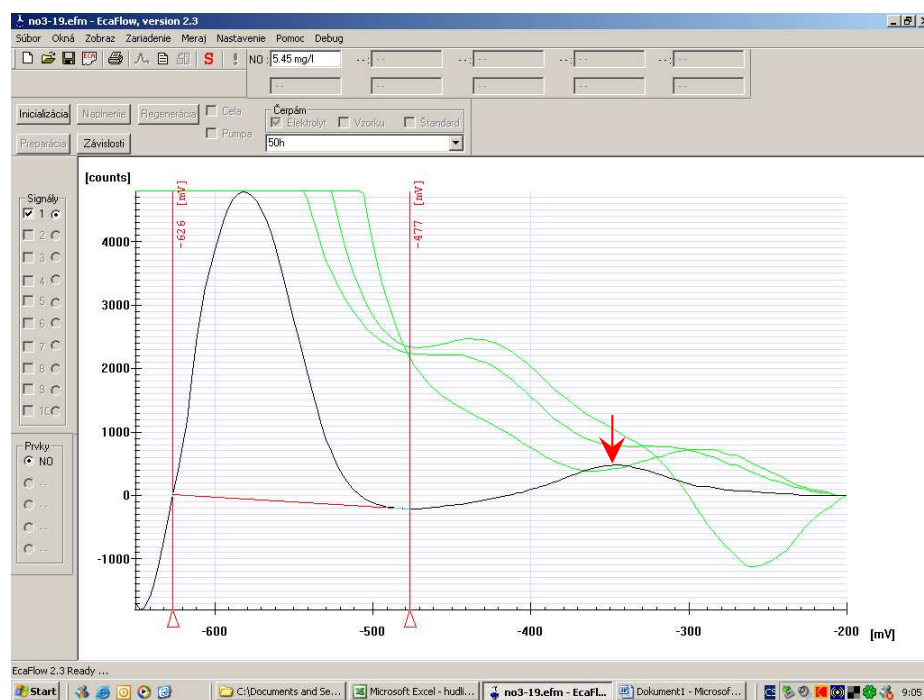
Příloha 2 Kalibrační přímka



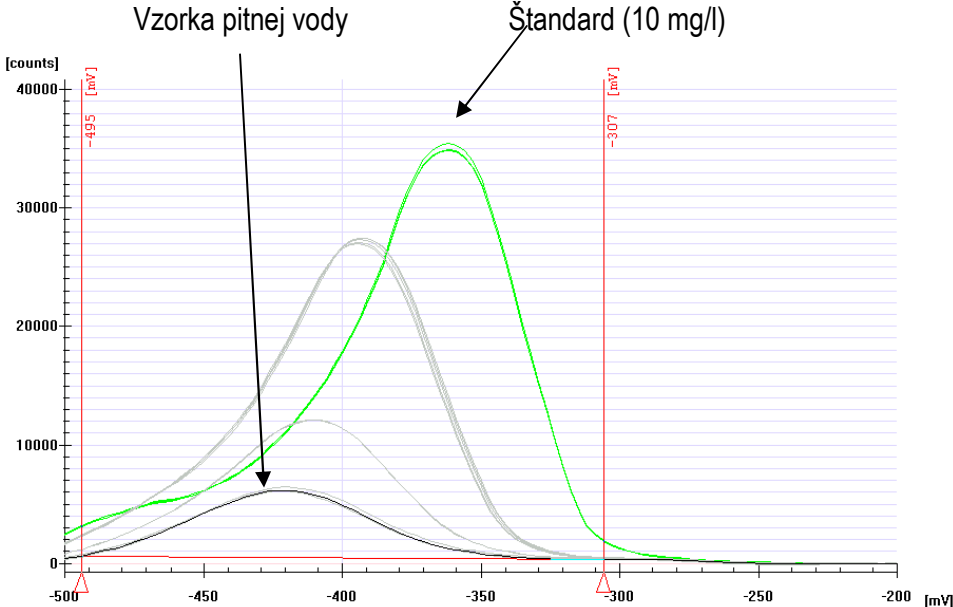
Příloha 3 Ukázka signálu vzorku



Příloha 4 Ukázka signálu vzorku



Aplikačný list č.	35
Názov	Stanovenie dusičnanov vo vodách
Typy vzoriek	Všetky typy vôd (pitná voda, spodné, povrchové vody)
Princíp metódy	<p>Na stanovenie sa používa tzv. vnútroelektrodová coulometrická titrácia: Porézná pracovná elektróda s medeným povlakom sa naplní so vzorkou a prítomné ióny NO_3^- sa konštantným prúdom zredukujú až na amoniak:</p> $\text{NO}_3^- + 10 \text{H}^+ = \text{NH}_4^+ + 6 \text{H}_2\text{O} - 8 \text{e}^-$ <p>Pri tomto kroku sa zaregistruje signál - rozpúšťací chronopotenciogram, z ktorého sa vypočíta množstvo a koncentrácia dusičnanov vo vzorke.</p>
Použité chemikálie	<p>Ag_2SO_4 Kyselina askorbová Certifikovaný referenčný materiál na NO_3^-, napr. roztok KNO_3</p>
Použité roztoky	<p>Základný (nosný) elektrolyt: R-003 Roztok R-003/2 : Roztok R-003 riedený vodou v objemovom pomere 1:1</p>
Štandardné roztoky pre zostrojenie kalibračnej krivky	<p>Štandardné roztoky sú pripravené v roztoku R-003/2 z certifikovaného referenčného materiálu NO_3^- :</p> <p>Štandard č. 1: 10 mg/dm³ NO_3^- Štandard č. 2: 20 mg/dm³ NO_3^- Štandard č. 3: 50 mg/dm³ NO_3^-</p> <p><i>Poznámky: Koncentráciu štandardov treba prispôbiť predpokladanému koncentračnému rozsahu NO_3^- v analyzovaných vzorkách.</i></p>
Úprava vzoriek	<p><i>Vzorky s nízkym obsahom chloridov (pod 100 mg/l):</i> K 50 ml vzorky sa pridá 50 ml roztoku R-003 a po premiešaní sa roztok analyzuje. Riedenie vzorky: 50 ml na výsledných 100 ml</p> <p><i>Vzorky s vyšším obsahom chloridov (nad 100 mg/l):</i> K 50 ml vzorky sa pridá 50 ml roztoku R-003, ďalej 0,1 až 0,5 g Ag_2SO_4 (podľa obsahu chloridov) a roztok sa krátko povarí. Po ochladení sa roztok prefiltruje a k filtrátu sa pridá 0,1 až 0,2 g kyseliny askorbovej. Vzniknuté koloidné striebro sa po 5 min odfiltruje a filtrát sa analyzuje. Riedenie vzorky: 50 ml na výsledných 100 ml</p>

Elektróda	E-53 Cu
Experimentálne parametre	<div data-bbox="477 286 1457 539" style="border: 1px solid gray; padding: 5px;"> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 30%;"> <p>Calibration</p> <input type="radio"/> Calibrationless <input checked="" type="radio"/> Calibration curve <input type="radio"/> Standard addition </div> <div style="width: 30%;"> <p>Deposition</p> <input type="radio"/> GST <input checked="" type="radio"/> PST </div> <div style="width: 30%;"> <p>Background reading</p> <input type="radio"/> With the first measurement only <input type="radio"/> With each measurement <input checked="" type="radio"/> With each new sample or standard <input type="radio"/> With each <input type="text" value="0"/> th sample or standard </div> </div> <div style="margin-top: 5px;"> <p>Autosampler</p> <input checked="" type="radio"/> Off <input type="radio"/> On </div> </div> <p>Poznámka: Pre koncentrácie dusičnanov pod 10 mg/dm³ treba nastaviť merací režim "With each measurement" (s každým meraním) !</p> <div data-bbox="635 645 1457 1131" style="border: 1px solid gray; padding: 5px;"> <p>Setup Parameters</p> <p>General Preparation Regeneration Measure Calibration Calculation Samples</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 30%;"> <p>Deposition</p> <p>Edepos: <input type="text" value="-200"/> mV</p> <p>Idepos: <input type="text" value="0"/> uA</p> </div> <div style="width: 30%;"> <p>Pause (s)</p> <p>Quiesc1: <input type="text" value="5"/></p> <p>Quiesc2: <input type="text" value="10"/></p> <p>Regen: <input type="text" value="5"/></p> </div> <div style="width: 30%;"> <p>Flow (ml)</p> <p>Sample: <input type="text" value="3"/></p> <p>Back: <input type="text" value="3"/></p> <p>Rinse: <input type="text" value="0"/></p> </div> </div> <div style="margin-top: 5px;"> <p>Potencial (mV)</p> <p>Estart1: <input type="text" value="400"/></p> <p>Estart2: <input type="text" value="-200"/></p> <p>Estop: <input type="text" value="-500"/></p> <p>Eregen: <input type="text" value="-200"/></p> <p>Estandby: <input type="text" value="-200"/></p> </div> <div style="margin-top: 5px;"> <p>Stripping:</p> <p>Istrip: <input type="text" value="-200"/> uA</p> <p>Timeout: <input type="text" value="240"/> s</p> <p>Pump: <input checked="" type="radio"/> Off <input type="radio"/> On</p> </div> <div style="margin-top: 5px;"> <p>Flow: <input type="text" value="3"/> ml/min</p> </div> <div style="margin-top: 5px;"> <p>Sample segmentation</p> <input checked="" type="radio"/> No <input type="radio"/> Yes </div> </div>
Záznam	
Vyhodnotenie výsledkov	Technika kalibračnej krivky
Metrologické parametre	Koncentračný rozsah: 0,5 - 100 mg/dm ³ NO ₃ ⁻ Reprodukovateľnosť: 7,1 % pri 10 mg/dm ³ NO ₃ ⁻ v meranom roztoku

	4,1 % pri 50 mg/dm ³ NO ₃ ⁻ v meranom roztoku
<i>Rušivé vplyvy</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tuhé častice vo vzorkách môžu upchať prietokový systém. Takéto vzorky treba pred meraním prefiltrovať – vhodný je nylónový filter s veľkosťou pórov 0,45 μm. ▪ Vysoký obsah rozpustených plynov, napr. CO₂ môže spôsobiť zhoršenie správnosti a reprodukovateľnosti výsledkov v dôsledku tvorby bublín v prietokovom systéme. Rozpustené plyny možno odstrániť krátkym povarením a ochladením roztoku, prípadne ultrazvukom alebo evakuovaním meraného roztoku. ▪ Zvýšený obsah chloridov posunie signál dusičnanov doľava – k zápornejším potenciálom.
<i>Poznámky</i>	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Vzorky s vyššími obsahmi dusičnanov ako 100 mg/dm³ treba vhodne zriediť vodou. ▪ Pre koncentrácie dusičnanov pod 10 mg/dm³ možno nastaviť ukončovací potenciál (Estop) na hodnotu –520 mV namiesto –500 mV. ▪ Trvanie merania možno skrátiť zvýšením rýchlosti prietoku analyzátoru z 3 ml/min na 6 ml/min výmenou hadičky peristaltického čerpadla. Pre takúto hadičku nastavte objem vzorky a blanku na 5 alebo 6 ml ! ▪ Na zníženie koncentrácie chloridov možno použiť aj "striebornú" kolónu používanú v kvapalinovej chromatografii na odstránenie chloridov.