



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

STABILITA PŮDNÍ ORGANICKÉ HMOTY A
HUMINOVÝCH LÁTEK
STABILITY OF SOIL ORGANIC MATTER AND HUMIC SUBSTANCES

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Bc. Šárka Nováková

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.

BRNO 2018

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1149/2017
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Bc. Šárka Nováková**
Studijní program: Chemie pro medicínské aplikace
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.**
Akademický rok: 2017/18

Název diplomové práce:

Stabilita půdní organické hmoty a huminových látek

Zadání diplomové práce:

1. Seznámit se se strukturou a vlastnostmi půdní organické hmoty.
2. Prozkoumat možnosti studia stability.
3. Navrhnout a provést experimenty pro posouzení stability půdní organické hmoty a huminových látek s ohledem na jejich fungování v přírodních systémech.
4. Zhodnocení výsledků a závěr.

Termín odevzdání diplomové práce: 7.5.2018

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

Bc. Šárka Nováková
student(ka)

prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2018

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá změnou stability půdní organické hmoty vlivem extrakce v různých činidlech. Pro posouzení stability byly použity dvě půdy odlišného typu a z nich izolované huminové kyseliny. Na extrakci byla zvolena činidla, která se běžně používají pro extrakci kovů z půdy, a byla pozorována změna struktury organické hmoty. Pro charakterizaci byly zvoleny techniky infračervené spektrometrie s Fourierovou transformací a elementární analýza, výluhy byly proměřeny na UV-VIS spektrometru z jehož výsledků byly určeny absorpční poměry E_2/E_3 , E_4/E_6 a dynamickém rozptylu světla, kde byla zjištěna distribuce velikosti částic. Další částí práce bylo posouzení změny tepelné stability pomocí metod termogravimetrické analýzy a diferenční skenovací kalorimetrie, kde byly sledovány posuny degradačních teplot u extrahovaných vzorků a byly porovnány s původními vzorky.

ABSTRACT

This diploma thesis is focused on changes of stability in organic matter by extraction in different agents. Two soils of a different type and isolated humic acids were used for stability determination. Extraction agents were selected usually used for soil metal extraction, and a changes in the structure of the organic matter was observed. Samples were characterized using FTIR analysis and elemental analysis, the extracts were measured by UV-VIS spectroscopy, absorption ratios E_2/E_3 , E_4/E_6 were discovered, dynamic light scattering were determined for particle size distributions. Next part of the thesis was the assessment of the change of thermal stability using thermogravimetric analysis and differential scanning calorimetry, degradation temperatures of the extracted samples were discovered and compared with the original samples.

KLÍČOVÁ SLOVA

půdní organická hmota, huminová kyselina, tepelná stabilita, extrakční činidla

KEYWORDS

soil organic matter, humic acid, thermal stability, extraction agents

NOVÁKOVÁ, Š. *Stabilita půdní organické hmoty a huminových látek*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 81s. Vedoucí diplomové práce prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D..

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

Ráda bych poděkovala vedoucí diplomové práce prof. Ing. Martině Klučákové, Ph.D., která mi během vypracování diplomové práce poskytla odborné rady, připomínky a věnovala mi svůj čas. Dále bych chtěla poděkovat za pomoc všem, kteří se podíleli na řešení experimentální části této práce.

OBSAH

1	ÚVOD.....	7
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	8
2.1	Půda a její vznik.....	8
2.2	Fyzikální charakteristiky půdy.....	10
2.2.1	Měrná hmotnost půdy	10
2.2.2	Objemová hmotnost půdy	10
2.2.3	Pórovitost.....	10
2.2.4	Struktura půdy	11
2.2.5	Vlhkost půdy.....	11
2.2.6	Vzdušná kapacita půdy	12
2.3	Půdní organická hmota	12
2.4	Huminové látky.....	16
2.4.1	Huminové kyseliny	18
2.4.2	Fulvinové kyseliny.....	21
2.4.3	Huminy	22
2.5	Stabilita půdní organické hmoty	24
2.5.1	Stabilita huminových látek	27
2.6	Metody studia stability.....	28
2.6.1	Termogravimetrická analýza	28
2.6.2	Diferenční skenovací kalorimetrie.....	29
2.6.3	Infračervená spektrometrie	30
2.6.4	UV-VIS spektrometrie.....	31
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	33
3.1	Použité chemikálie	33
3.2	Použité přístroje	33
3.3	Extrakce huminové kyseliny z půdy	33
3.4	Příprava extrakčních činidel	34
3.5	Příprava půd a huminových kyselin pro analýzu	34
3.6	Charakterizace vzorků půd a huminových kyselin	34
3.6.1	Infračervená spektrometrie	34
3.6.2	UV-VIS spektrometrie.....	34
3.6.3	pH a vodivost.....	35
3.6.4	Dynamický rozptyl světla a zeta potenciál	35
3.7	Termická analýza	35
3.7.1	Termogravimetrická analýza	35
3.7.2	Diferenční kompenzační kalorimetrie	35
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	36
4.1	Charakterizace půd a z nich izolovaných huminových kyselin	36
4.1.1	Elementární analýza.....	36
4.1.2	pH a vodivost.....	37
4.1.3	Infračervená spektrometrie	38

4.1.4	UV-VIS spektrometrie.....	41
4.1.5	Dynamický rozptyl světla a zeta potenciál	45
4.2	Termická analýza	57
4.2.1	Termogravimetrická analýza	57
4.2.2	Diferenční kompenzační kalorimetrie	64
5	ZÁVĚR	69
6	LITERATURA.....	71
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	81

1 ÚVOD

Huminové látky jsou nejrozšířenější organické látky na zemském povrchu a jsou tedy velice důležitým zdrojem organického uhlíku. Vznikají postupnou přeměnou živočišných a rostlinných zbytků v procesu zvaném humifikace. Huminové látky můžeme najít v různém stupni rozkladu díky činnosti mikroorganismů.

Přírozně se vyskytují zejména v sedimentech, zeminách, rašelině, hnědém uhlí, lignitu a některých dalších materiálech. Mají velký vliv na životní prostředí a to především díky jejich schopnosti vázat na sebe těžké kovy a vytvářet s nimi komplexy. Dále jsou přínosné pro úrodnost půdy, díky jejich schopnosti postupně uvolňovat do okolí minerály, dokáží sami sebe degradovat a uvolňovat tak organický uhlík.

Podle fyzikálně-chemických vlastností je dále můžeme rozdělovat na humusové kyseliny, huminy a humusové uhlí. Všechny uvedené skupiny jsou si strukturně podobné, liší se pouze molekulovou hmotností, obsahem funkčních skupin, kyselostí, kompletačními schopnostmi a rozpustností v některých rozpouštědlech.

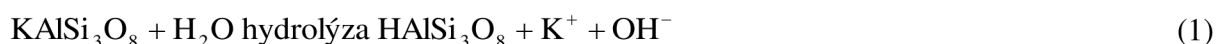
V této diplomové práci je diskutována změna struktury a s ní související stabilita půdní organické hmoty a huminových látek vlivem přidavku extrakčního činidla. Pro pozorování případných změn ve struktuře půd a huminových kyselin, byly vybrány techniky, jako infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací a prvková analýza, pomocí níž byla stanovena změna v zastoupení jednotlivých prvků. Výluhy z půd a huminových kyselin byly měřeny pomocí UV-VIS spektrometrie a dynamického rozptylu světla, pro posouzení stability částic byl změřen zeta potenciál. Druhou částí práce bylo posouzení tepelné stability látek v nastaveném teplotním programu, pomocí termogravimetrické analýzy, kde jsme sledovali úbytek hmotnosti v závislosti na teplotě a pomocí diferenční kompenzační kalorimetrie, kde bylo měřeno množství uvolněného tepla.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Půda a její vznik

Přírodovědecká definice půdy je podle V. Nováka: Půda je ve smyslu přírodovědeckém přírodní útvar, který se vyvinul z povrchových zvětralin kůry zemské a jehož stavba i složení jsou výsledkem působení podnebí a živých organismů v půdě i na půdě žijících [1]. Půdy vznikají postupnou přeměnou původních látek, kterými jsou valnou většinou kompaktní horniny, jejich zvětralin a sedimenty zanesené na místo vodou při povodních nebo větrem po prашných bouřích po dobu celých tisíciletí. Důležitá je i spoluúčast organických látek, které rovněž podléhají změnám. Hornina, ze které vzniká půda, se nazývá mateční (*Obrázek 1*). Najdeme několik typů zvětrávání, fyzikální zvětrávání kdy na mateční horninu působí sluneční záření, které způsobí zvětšení objemu minerálů, při západu slunce dojde opět ke smrštění objemu. Opakováním tohoto jevu dojde k narušení minerálů a hornina popraská.

K rozrušení krystalových mřížek minerálu hornin dochází při chemickém zvětrávání. Rozděluje se na jednotlivé chemické procesy, které mohou probíhat zároveň. **Hydrataci** se buď mění minerály na hydráty, nebo molekuly vody vstupují přímo do krystalické struktury minerálů. **Hydrolyza** probíhá také za přítomnosti vody. Jejimi hlavními aktéry jsou kationty H^+ a hydroxylové anionty OH^- vzniklé disociací určitého počtu molekul vody. Tato dvojice iontů způsobuje rozklad složitější sloučeniny na jednodušší složky. Největší význam má při zvětrávání hydrolyza křemičitanů. Křemičitany jsou nerozpustné soli slabé kyseliny křemičité a silných zásad. Silné báze mají tendenci se vyměňovat s iontem H^+ disociované vodní molekuly. Protože krystalická mřížka křemičitanů je nerozpustná ve vodě, probíhá hydrolytická reakce pouze u kationtů blízkých povrchu, a čím je povrch minerálů více narušen, např. fyzikálním zvětráváním, tím intenzivnější je hydrolytická reakce. Nejsnáze probíhá hydrolytická výměna kationtů Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} a Mn^{2+} . Příklad hydrolyzy a hydratace je znázorněn na následujících rovnicích (*Rovnice 1, 2 a 3*).



Oxidaci rozumíme příjem kyslíku a obecně ztrátu obalových elektronů. Dojde k přeměně dvojmocných Fe^{2+} a Mn^{2+} na trojmocné Fe^{3+} a Mn^{3+} . Změna mocnosti je doprovázena ztrátou elektronu z vnější vrstvy a tím dojde ke zmenšení efektivního poloměru kationtu. Ten je u křemičitanů umístěn v dutině mezi kyslíky a hydroxidy oktaedru. Protože se kationt smrskne, tak se už nedotýká těchto velkých vnějších iontů a mřížka je jako nakypřená. To způsobí určité ztráty na Coulombových silách a konfigurace bude méně stabilní. Opačným procesem oxidace je **redukce**, neboli pozbývání O_2 a příjem H^+ .

Biologické zvětrávání se významně podílí hlavně na chemickém zvětrávání. Biologickou činností je v prostředí pórů produkován oxid uhličitý. Když ho je mnohem více než v atmosféře nad zemí, rozpouští se ho také mnohem víc v pórové vodě a tím se urychlují procesy hydrolyzy [2].

Půdní funkce jsou základním prvkem ekosystémových služeb a pokrývají složité procesy, jako je dodávka vody a živin pro rostlinnou výrobu, čištění vody a ovzduší a regulaci globálního klimatu prostřednictvím sekvestrace uhlíku. Půdní architektura, trojrozměrné prostorové uspořádání nerostných a organických složek půdy a pórů. Tato architektura určuje reakční prostor pro všechny základní fyzikální, chemické a biologické procesy, které jsou páteří funkcí půdy. Až dosud byly funkce půdy odvozeny ze studií buď vlastností izolovaných minerálních a organických půdních složek, nebo pórového systému s agregáty jako klíčové jednotky struktury půdy. Půdní mikrostruktury jsou popsány jako heterogenní směsi minerálních a organických složek v náhodném uspořádání [3].

Na kvalitě půdy se podílí všelijaké faktory, jako jsou biologické, fyzikální a chemické procesy a také obsah půdní organické hmoty. Hlavním zdrojem organické hmoty, která vstupuje do půdy, jsou rostliny, zvláště jejich kořeny. Organická hmota je zde rozkládána půdními mikroorganismy. Víceleté trávy se vyznačují velmi bohatým systémem jemných, silně rozvětvených kořinek. V povrchové půdní vrstvě do 20 cm se nachází kolem 65–90 % všech kořenů trav. Rostlinná hmota, často nazývaná fytomasa je dílčí součástí biomasy. Podzemní biomasa tvoří součást hospodářského výnosu, ale je stabilizační složkou porostu. Struktura i produkce přispívá k udržení, popř. regeneraci půdní úrodnosti [4].

Analýzou fytomasy se určí spalitelný podíl – organická hmota a popeloviny. Ze spalitelného podílu, který při žihání uniká ve formě plynů, tvoří převážnou část sušiny rostlin uhlík (C) – asi 45 %, kyslík (O) – asi 42 %, vodík (H) – asi 6 % a dusík (N) – okolo 1,5 % (VANĚK a kol., 2010). Obsah organického uhlíku v půdě je jedním z ukazatelů kvality půdy [4].



- 1. Nadložní organický horizont**
- 2. Humusový horizont**
- 3. Minerální horizont**
- 4. Půdotvorný substrát**
- 5. Mateční hornina**

Obrázek 1: Půdní profil

2.2 Fyzikální charakteristiky půdy

Fyzikální charakteristiky půdy představují soubor vlastností, které jsou podmíněné vzájemnými vztahy mezi pevnou fází půdy, půdním roztokem a vzduchem v půdě [5].

Dělíme je na:

- základní fyzikální vlastnosti (zrnitost půdy, měrná a objemová hmotnost, pórovitost a struktura půdy),
- hydrofyzikální a aerační vlastnosti (vlhkost, vodní kapacita, propustnost, vzlínavost, vzdušná kapacita),
- teplotní vlastnosti (tepelná a teplotní vodivost, teplota),
- fyzikálně mechanické vlastnosti (soudržnost, přilnavost, konzistence, uléhavost, hutnost, hrudkovatění).

2.2.1 Měrná hmotnost půdy

Měrná hmotnost půdy odráží mineralogické složení půdy a obsah organických látek. Představujeme poměr hmotnosti pevné části půdy bez pórů k objemu. Její hodnoty jsou závislé na měrné hmotnosti jak minerální, tak organické frakce půdy, a nejsou závislé na pórovitosti půd. Při orientačních výpočtech se počítá s hodnotou $2,65 \cdot 10^3 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$, což odpovídá půdám s obsahem cca 3–5 % organických látek [5].

Měrná hmotnost půdy může být ovlivněna obsahem organických látek v půdě, pro něž se udává hmotnost $1,1\text{--}1,4 \cdot 10^3 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$. Minerální půdy s vyšším obsahem organických látek v povrchových horizontech mají pak nižší hodnotu měrné hmotnosti a to $2,4 \cdot 10^3 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ ale i méně [5].

2.2.2 Objemová hmotnost půdy

Objemová hmotnost půdy indukuje pórovitost půdy a může být ovlivňována mimo jiné i zpracováním půdy v zemědělství a lesnictví. Hodnoty objemové hmotnosti v sobě odrážejí poměr pevných částic půdy a pórovitost. Půdy s vysokým podílem pórů k pevné fázi půdy mají nižší objemovou hmotnost ve srovnání s půdami majícími pórů méně. Půdy s vyšším podílem jemnější zrnitostní frakce mívají nižší objemovou hmotnost než půdy písčité. Vyšší objemová hmotnost hlouběji ležících horizontů je obvykle dána nižším obsahem organických látek, menší tvorbou agregátů a utužeností těchto vrstev. Ve velmi utužených podpovrchových horizontech se mohou tyto hodnoty blížit $2 \cdot 10^3 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$. Naopak u rašelin je tato hmotnost mezi $0,2\text{--}0,4 \cdot 10^3 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$ [5].

2.2.3 Pórovitost

Půda není kompaktní hmotou, neboť mezi pevnými půdními částicemi jsou póry, kterými vniká do půdy voda a vzduch, a které ovlivňují zvětrávací a půdotvorné pochody. Pórovitost půdy vyjadřuje celkový objem pórů, jejich tvar, velikost a rozmístění. V půdách, kde částice leží blízko sebe, bude celková pórovitost nízká. Naopak u středně texturních půd, bohatých na obsah organických látek bude pórovitost vyšší [5].

Procento pórovitosti vypočítáme z měrné hmotnosti (H_m) a objemové hmotnosti (H_o) podle následujících vzorců (Rovnice 4):

$$\text{Pórovitost}_{[\%]} = Hm - \frac{Ho}{Hm} \cdot 100, \text{ nebo } \text{pórovitost}_{[\%]} = 100 - \frac{Ho}{Hm} \cdot 100 \quad (4)$$

Procento pórovitosti závisí na půdním druhu. U písčitých povrchových horizontů se její hodnoty pohybují mezi 35–45 obj. %, u jemně texturovaných bývá mezi 40–60 obj. % [5].

Vedle druhu půd je pórovitost ovlivněna i obsahem organických látek. U silně humózních půd a rašelin může být mezi 70–80 obj. %. Utužení podpovrchových horizontů snižuje pórovitost až na 25–30 obj. %, čímž je omezeno pronikání kořenů rostlin [5].

2.2.4 Struktura půdy

Termín struktura vyjadřuje seskupování elementárních půdních částic v strukturní elementy, tzv. agregáty. Seskupování půdních částic ovlivňuje tvar a velikost pórů. Půdní agregáty se tvoří prostřednictvím tmelivých látek (koloidní částice jílových minerálů, huminové kyseliny, hydroxid železitý apod.) Vzniklé půdní agregáty mají různý tvar a velikost. Podle velikosti rozlišujeme mikroagregáty, které jsou menší než 0,25 mm a větší než 0,25 mm jsou makroagregáty [5].

Podle procesů, které se podílejí na vzniku agregátů, třídíme strukturu na:

1. *elementární* – primární půdní částice stmeleny v agregáty. Za sucha je tato zemina sypká, jako například písky,
2. *koherentní* – primární částice jsou stmeleny do souvislých, relativně pevných útvarů. K stmelení dochází např. kyselinou křemičitou, jíly, hydroxidy Al, Fe,
3. *agregátová* – ke stmelení struktury dochází vlivem humusových látek, jílu a organominerálních sloučenin.

Podle tvaru a velikosti strukturních elementů se rozlišuje struktura: *kulovitá, polyedrická, prismatická, sloupkovitá, deskovitá*.

Na tvorbě struktury se podílejí fyzikální, fyzikálně chemické a biologické procesy.

Mezi fyzikální procesy patří například tlak kořenů, mechanická činnost edafonu, vliv teplotních změn půdy, ale i vliv zpracování půdy člověkem.

K fyzikálně chemickým vlivům patří procesy, při kterých dochází ke koagulaci půdních koloidů. Vysrážené koloidy v půdách stmelují prachové a písčité částice.

Z biologických procesů to je vznik agregátů v trávící soustavě půdních živočichů, kdy dochází k promíchání organických a minerálních částic různého rozměru. K tomu je nutné přičíst produkci tmelících látek, slizů. Na tvorbě struktury se mohou podílet i houby, které svým myceliem spojují půdní částice. V neposlední řadě vznik agregátů podporují i kořeny vyšších rostlin [5].

2.2.5 Vlhkost půdy

Základní kvantitativní charakteristikou ve vztahu půda a voda je vlhkost půdy, a to buď hmotnostní, nebo objemová. *Hmotnostní vlhkost*, vyjádřená v procentech, je poměrem hmotnosti vody v půdním vzorku k hmotnosti vysušeného vzorku. *Objemová vlhkost*, vyjádřená v objemových procentech, je poměrem hmotnosti vody známo objemu půdy k objemu neporušeného půdního vzorku. Dalším typem vlhkosti půdy je *relativní vlhkost*, která je poměrem objemové vlhkosti k pórovitosti [5].

2.2.6 Vzdušná kapacita půdy

Je to schopnost půdy jímat vzduch do půdních pórů. Momentální obsah vzduchu v pórech představuje provzdušněnost půdy.

Vzdušná kapacita absolutní představuje objem pórů, které zůstávají zaplněné vzduchem při maximálním nasycení kapilárních pórů vodou. Hodnoty vzdušné kapacity se pohybují u zemědělsky využívaných půd mezi 10–20 % u orných půd pod 5 %.

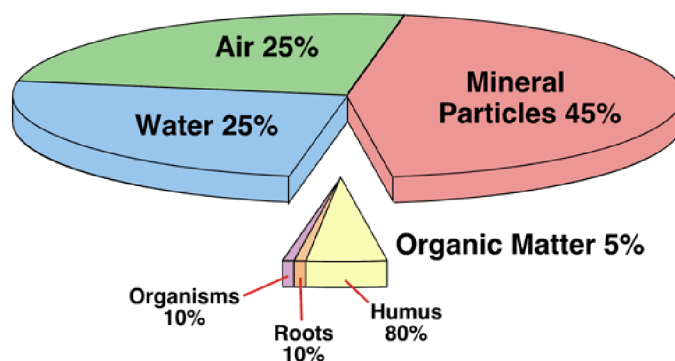
Optimální a minimální vzdušná kapacita je nejvhodnější a nejmenší množství vzduchu v půdních pórech pro dýchání kořenů rostlin a půdní mikroorganismy.

Maximální vzdušná kapacita se prakticky rovná pórovitosti a nacházíme ji v absolutně suché půdě [5].

2.3 Půdní organická hmota

Přírodní organická hmota (*NOM – natural organic matter*) je přítomna v podzemních vodách, povrchových vodách, odpadních vodách, půdách a sedimentech. Její zastoupení a charakteristika závisí na geologii, biologii, klimatu a topografii regionu. NOM je heterogenní směs molekulárních struktur se širokou distribucí velikosti molekul a elementárním zastoupením [6].

Půdní organická hmota (*SOM – soil organic matter*) je základní složkou všech úrodných půd. Tvoří pouhý zlomek půdy a to přibližně 3–6 hm. % (Obrázek 2) [7]. Je nezbytná pro většinu půdních organismů a je přirozeným zdrojem dusíku v půdě pro vyšší rostliny. Slovo půdní organická hmota zahrnuje všechnen neživý materiál v půdě, ať už rostlinného nebo živočišného původu, humus vzniklý z jejich organických zbytků, žijící mikroorganismy, které jsou zodpovědné za rozklad a kořeny [8, 9].



Obrázek 2: Procentuální zastoupení složek půdy

Mikroorganismy a odumřelé rostlinné a živočišné zbytky přispívají k úrodnosti půdy, protože jejich rozpad má za následek uvolňování živin pro rostliny, jako je dusík, fosfor, draslík, atd. Naopak tomu je u humusu, který je konečným produktem rozkladu, avšak jeho příspěvkem k úrodnosti půdy je vliv na půdní strukturu a výměnnou kapacitu kationtů [7].

Organická hmota se dělí na nehumifikované a humifikované organické látky. Nehumifikované organické látky tvoří 10–15 % z celkového organického podílu půdy

a představují je nerozložené nebo částečně rozložené zbytky rostlin, organických hnojiv, živočichů včetně mikroorganismů, které se v půdě za účasti mikroorganismů přeměňují, tomuto procesu říkáme mineralizace. Konečnými produkty jsou voda, oxid uhličitý, čpavek, ionty K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , SO_4^{2-} , $H_2PO_4^-$. Jelikož tyto konečné produkty slouží k výživě rostlin, říkáme jim živný humus [10].

Humifikované organické látky vznikají za omezeného přístupu vzduchu během procesu zvaného humifikace. Dochází k tvorbě nových, velmi složitých organických nebo organominerálních látek, říkáme jim látky humusové, tzv. trvalý humus. Tyto látky jsou vysokomolekulární organické sloučeniny s významnými vlastnostmi pro úrodnost půdy. Z celkového obsahu organických látek v půdě připadá na humifikované látky 85–90 % [10].

Humus je směs vysoce heterogenních a složitých polymerů, vytvořených mikroorganismy prostřednictvím degradace rostlin, mikrobů a zbytků zvířat [11]. Je rozdělen na tři frakce, kterými jsou huminové kyseliny, fulvokyseliny a huminy. Z nichž huminové kyseliny patří mezi nejdůležitější frakci humifikované půdní organické hmoty a to z toho důvodu, že na rozdíl od fulvokyselin a huminů, které se podílejí asi na 8 % celkového koloběhu uhlíku, tak podíl huminových kyselin je 16 % [12].

Makromolekulární vlastnosti organické hmoty jsou důležité pro sorpci a transport organických sloučenin v půdě [13]. Půdní organická hmota je společně s pH půdy nejdůležitější parametr kontrolující chování těžkých kovů v půdě. Těžké kovy vázané na nerozpustných huminových látkách jsou relativně nepohyblivé. Naopak vazba na menších organických molekulách může zvýšit pohyblivost a biologickou dostupnost kovů. Sorpční místa na organických látkách mohou být velmi specifická. Angehrn-Bettinazzi a kol. (1989) oznámili vysokou schopnost tvorby komplexů Pb s nerozpustnými huminovými látkami, zatímco Cd a Zn tvořily komplexy s mobilními organickými látkami s nízkou molekulovou hmotností. Na tvorbě komplexů kov-huminová látka se hlavně podílejí karboxylové $-COOH$ a fenolové $-OH$ skupiny (Spark et al., 1997, Datta et al., 2001). Komplexy Pb a Cu s huminovými kyselinami byly shledány za více stabilní než komplexy Cd a Zn (Waller a Pickering 1993, Pinheiro a kol. 1994, Gao a kol. 1999). Ladonin a Margolina (1997) přisuzují tento efekt tvorbě koordinačních komplexů v případě Pb a Cu, zatímco Zn a Cd byly charakterizovány spíše iontově výměnnou reakcí. Nicméně Basta a kol. (1993) ukázali, že Cd a Pb komplexy s organickou hmotou byly důležitější, než jejich adsorpce prostřednictvím výměny kationtů. Síla vazby komplexů byla ovlivněna pH půdy a iontovou silou (Ladonin a Margolina 1997, Adriano 2001, Evangelou a Marsi 2001). Vazba na huminovou kyselinu může zvýšit sorpci kovu na minerálech (Arias a kol. 2002). Podrobné znalosti o interakci těžkých kovů s huminovými látkami v půdě by mohly být použity ve vývoji metod rekultivace znečištěných půd (Kolář a Ledvina 1998, Halim a kol. 2003) [14].

Organické látky humusového původu hrají zásadní roli v globálních cyklech prvků. Mechanismus interakce huminových látek s dalšími složkami systému závisí na zónovém přírodním podnebí podmíněném oblastí. Vystupují jedinečné funkce umožňující udržet chemickou a energetickou rovnováhu v komplexním přirozeném otevřeném systému (Tyurin, 1965; Kononova, 1963; Orlov, 1970, 1974; Aleksandrova, 1980; Perminov a kol., 1994; Milanovskii, 2009). Dokuchaev (1948) potvrdil existenci rozdílů ve složení a vlastnostech huminových látek, které vznikaly v půdách s různými přírodními podmínkami [15].

Podle tohoto modelu je zřejmé, že složení počátečního rostlinného materiálu neovlivňuje povahu huminových látek. V takovém případě je pouze důležitým parametrem bioaktivita materiálu působící rozdílné funkce. Výsledkem procesu je pouze množství huminových látek než informace o kvalitě struktury (Orlov, 1974, 1977; Purygin a kol., 2008) [15].

Teorie humifikace podle Flaiga (1971) je lépe přizpůsobena problémům předpovědi složení a vlastností huminových organických látek. Je založena na skutečnosti, že fenolové sloučeniny a proteiny nebo produkty degradace proteinů mohou interagovat s tvorbou huminových látek. Na druhou stranu fenolové sloučeniny mohou být tvořeny v půdních systémech v důsledku rozkladu ligninových struktur a nezávisle na aktivitě mikroorganismů (Orlov, 1977). Nízkomolekulární struktury vytvořené polymerizací vysokomolekulárních sloučenin podobných lignitu se mohou vázat na proteiny nebo produkty jejich rozkladu s tvorbou dusíkatých polymerů. Mezi nimi jsou huminové kyseliny, heteropoly sloučeniny a složky humusu [15].

Rozklad ligninu je doprovázen snížením obsahu methoxylových skupin a zvýšením obsahu kyslíku a dusíku. Obsah karboxylových skupin se zvyšuje na úkor otevření benzenového kruhu, methylované fenolové kyseliny jsou polymerizovány oxidačními enzymy a vznikají polymerní struktury žluté barvy tzv. fulvinové kyseliny [15].

Další teorie je oxidační tvorba podle Aleksandrova (1980), která předpokládá, že humifikace je komplexní biofyzikální proces oxidační přeměny přechodných vysokomolekulárních produktů rozkladu organických zbytků na specifické třídy organických látek, huminové kyseliny. Argumentoval, že humifikace je prodloužený proces, který je rozdělen na následující tři fáze:

1. Tvorba humusových kyselin; tzn. vytvoření systému humusových kyselin pod řídicím vlivem oxidáz mikroorganismů. Tvorba humusových kyselin začíná frakcionací na huminové a fulvinové kyseliny. Výsledný systém humusových látek interaguje s minerálními složkami půd a složkami popela uvolněnými z rostlinných zbytků a je rozdělen do následujících skupin. Nejméně pohyblivá část je rozdělena do skupiny huminových kyselin a část rozpustných solí tvoří skupinu fulvinových kyselin.
2. Následná přeměna látek v huminové kyseliny vede k postupnému zvyšování aromaticity na úkor částečného rozkladu alifatických složek a intramolekulárních skupin.
3. Postupná mineralizace humusových látek nastává pod vlivem systému různých mikroorganismů. Hydrolyza a oxidačně-redukční reakce jsou hlavními reakcemi této fáze. Výsledek hydrolytického rozkladu molekul humusových látek, rozkladu heterocyklických a aromatických skupin a nakonec kompletní oxidace produktů rozkladu, vede k tvorbě amoniaku, vody a oxidu uhličitého. Fragments aromatických molekul humusových látek nepodléhají úplné mineralizaci, reagují s nově vytvořenými sloučeninami a jsou znovu zařazeny do humifikačního procesu (Orlov, 1992) [15].

2.4 Huminové látky

Huminové látky (HL) jsou přírodní organické sloučeniny vzniklé chemickým a biologickým rozkladem organické hmoty a syntetickou činností mikroorganismů. Jsou hlavními složkami organického uhlíku a vykazují velkou odolnost vůči rozkladu [16]. Hrají důležitou roli v chemii znečišťujících látek a v chemii přírodních vod a půd. Je známo, že huminové látky významně ovlivňují chování některých látek, které znečišťují životní prostředí, jako je specifikace a toxicita kovů, rozpustnost a adsorpce hydrofobních polutantů, vodní fotochemie, tvorba vedlejších produktů, růst a rozpouštění minerálů a redoxní chování v půdách [17].

Přírozeně se vyskytují zejména v sedimentech, zeminách, rašelině, hnědém uhlí, lignitu a některých dalších materiálech. Ve vodě se vyskytují jako jednotlivé molekuly nebo jsou vzájemně spojené slabými vazebnými interakcemi do supramolekulárních struktur. Ve vodě se mohou vyskytovat i jako micelární koloidy s hydrofobní částí molekuly umístěnou uvnitř a hydrofilní vně molekuly [18]. Obsah huminových látek v přírodních matricích se mění a to výrazně od stopových množství přes jednotky procent až k desítkám procent. Mimořádně vysoký obsah vykazuje rašelina a to až 80 % a více. Bylo odhadnuto, že koncentrace huminových látek v půdním roztoku může dosáhnout $250 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (Gerke, 1993) [17, 19].

V současnosti mají huminové látky poměrně rozsáhlé využití, které je možné rozdělit na následující oblasti: aplikace v zemědělství, průmyslové použití, využití v oblasti ochrany životního prostředí, farmakologické použití a využití jako palivo. V zemědělství jsou tyto látky využívány zejména jako hnojivo v podobě humátů. Využití huminových látek v oblasti ochrany životního prostředí je cílem poměrně intenzivního vědeckého výzkumu [18, 19].

Huminové látky jsou složité vysokomolekulární polycyklické sloučeniny s relativní molekulovou hmotností, která se pohybuje přibližně v rozmezí od 2 do 200 kDa. Obvykle se považují za nejreaktivnější frakci organického uhlíku, protože obsahují mnoho funkčních skupin. Mají převážně aromatický charakter, kdy aromatická jádra bývají vzájemně spojena alifatickými často cyklickými řetězci a svou povahou se řadí do skupiny polyfenolů a polykarboxylových kyselin. Typickými funkčními skupinami přítomnými ve struktuře huminových látek jsou především karboxylové a hydroxylové, ale i methoxylové a karbonylové skupiny. Huminové látky jsou tvořeny převážně uhlíkem, kyslíkem, vodíkem, dusíkem, ale také sírou [16, 18].

Huminové látky lze rozdělit podle chemických a fyzikálně-chemických vlastností na huminové kyseliny, fulvinové kyseliny a huminy (*Obrázek 4*). Všechny uvedené skupiny jsou si strukturně podobné, liší se molekulovou hmotností, obsahem funkčních skupin, kyselostí, kompletačními schopnostmi a rozpustností v některých rozpouštědlech. Huminové kyseliny se nerozpouštějí v pH menším než 2 vodného roztoku, ale mohou se rozpouštět při vyšších hodnotách pH, fulvinové kyseliny se mohou rozpouštět za jakýchkoli podmínek pH a huminy se nerozpouštějí. Tyto vlastnosti huminových látek jako je rozpustnost ve vodě, schopnost agregace a disociace, nábojové poměry či schopnost vytvářet komplexy, úzce souvisejí s jejich složením, které je ovlivněno humifikačními procesy [18, 20].

Ve většině přírodních vod se při běžných hodnotách pH huminové látky vyskytují jako negativně nabitě, povrchově aktivní makromolekuly. Jejich záporný náboj je dán přítomností funkčních skupin, zejména karboxylových a hydroxylových. Přítomnost těchto skupin

vázaných na huminovém skeletu je i jednou z příčin kyselosti vod s vysokou koncentrací huminových látek [18].

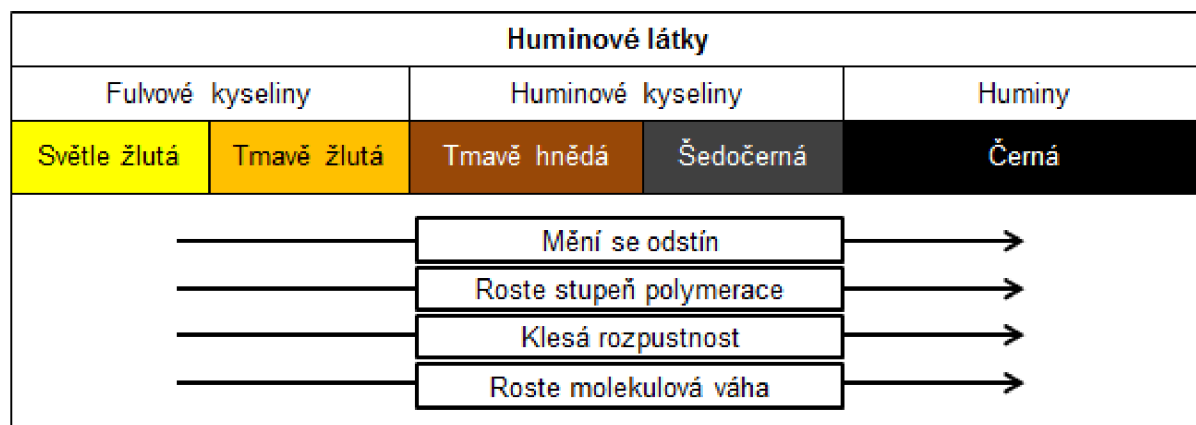
Půda huminových látek provádí několik ekologických úkolů jak v přírodních, tak v agroekosystémech: dodávají živiny chelátováním minerálů a svou vlastní degradací a jsou hlavním zdrojem dostupného organického uhlíku. Tedy určují zdraví půdy a její úrodnost. Kromě toho huminové látky ovlivňují metabolismus rostlin vyvoláním morfologických změn, modifikací příjmu mikro a makro živin a ovlivněním biochemických drah [16]. Byly doloženy důkazy, které prokázaly, že huminové molekuly jsou schopné stimulovat absorpci dusičnanů a aktivitu plazmatické membrány H^+ -ATPasy v kořenech, která katalyzuje transmembránový pohyb látek, a následně spouští změny v rozložení koncentrace dusičnanů a cytokininů mezi kořeny (Mora a kol., 2010) [21].

V důsledku chemického složení jsou huminové látky schopny vázat polární i nepolární sloučeniny [12]. Mezi významné vlastnosti patří schopnost tvorby nejrůznějších komplexů především s vícemocnými kationty. Tato vlastnost je ovlivněna přítomností karboxylových a fenolových skupin, a také aromaticitou molekuly. Schopnost tvorby komplexů se zvyšuje se vzrůstající hodnotou pH a jejich rozpustnost závisí na hmotnostním poměru obou složek, čím je poměrné zastoupení kationtů větší, tím je rozpustnost komplexů menší [18,19].

Zatímco obsah a zásoby půdní organické hmoty jsou velmi důležité, stabilita humusu v měnících se podmínkách je také velmi informativní index, zejména pro půdy chladného prostředí. Je stanoveno několik indexů pro posouzení stability humusu: poměr huminových a fulvinových kyselin, stupeň aromaticity, obsah volných radikálů v molekulách a elementární složení obou skupin huminových látek [22].

Elementární složení huminových látek je důležitou a informativní charakteristikou, která označuje humifikační a oxidační stupeň huminových kyselin a fulvinových kyselin a nepřímo stanovuje jejich stupeň kondenzace. Je také možné odhadnout úroveň stabilizace půdní organické hmoty stanovením atomových poměrů a stupněm oxidace huminových kyselin. Elementární složení je základní charakteristikou huminových látek, které ukazuje stupeň stabilizace a humifikace půdní organické hmoty.

Elementární složení huminových látek se odráží hlavně environmentálními podmínkami, podnebím, texturou půdy a složením humifikačních prekurzorů [22].



Obrázek 4: Rozdělení huminových látek

2.4.1 Huminové kyseliny

Huminové kyseliny (HK) jsou polydisperzní, přirozeně se vyskytující, biogenní a heterogenní organické látky. Nově jsou definovány jako žlutohnědé až černohnědé látky neznámého složení [20, 23]. Chemické složení huminových kyselin se může lišit podle geografického původu, věku, klimatu a biologických podmínek, což znamená, že přesná charakterizace těchto látek je velice obtížná. Existuje několik tvrzení, které se týkají jejich povahy a složení, podle některých názorů lze huminové kyseliny chápat jako systém micel polymerního charakteru s vysokou průměrnou molekulovou hmotností od 20 000 až do 50 000 Da. Obrovská struktura molekuly se skládá z hydrofilních částí, které tvoří –OH skupiny a hydrofobních částí, které jsou složeny z alifatických řetězců a aromatických kruhů (Obrázek 6). Izolované huminové kyseliny mohou obsahovat až 10% polysacharidů a bílkovin, s převládajícími aminokyselinami a sacharidy [24]. V literatuře existuje dohoda o průměrném elementárním složení huminových kyselin extrahovaných z různých zdrojů, včetně komerčních huminových kyselin. Toto složení je přibližně 50 hm. % C, 35 hm. % O a 5 hm. % H, přičemž zbývající procento je rozděleno mezi N a S [25, 26].

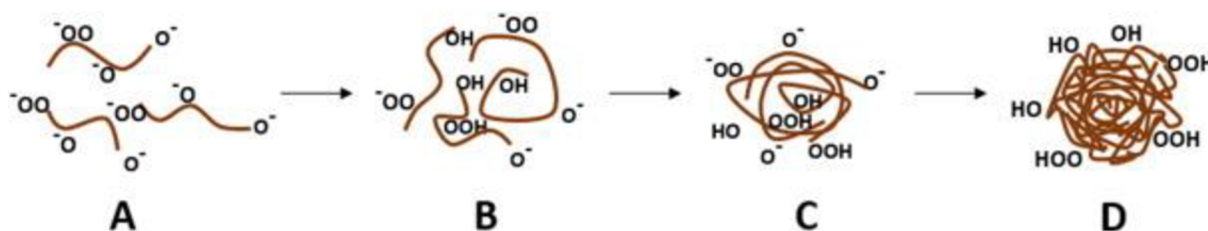
Huminové kyseliny jsou nerozpustné v kyselých podmínkách (pH 1–2), ale jsou rozpustné a extrahovatelné v alkalických roztocích. Aktivní a pozitivní úloha huminových kyselin v půdě souvisí s jejich pomalým uvolňováním rostlinných živin, kationovou kapacitou, pH-pufrovací alkalitou, schopností zadržovat vodu a interakcí s kovovými ionty a xenobiotickými organickými molekulami [27]. Hlavní vlastnosti huminových kyselin, jako je rozpustnost, závislost na pH, interakce s hydrofobními skupinami souvisí s jejich strukturou. V tabulce 1 jsou uvedeny funkční účinky huminových kyselin používaných v různých technologických aplikacích [26].

Tabulka 1: Aplikace huminových kyselin a jejich funkční účinky související s jejich strukturou [26]

Technologická aplikace HK	Funkční účinky	Strukturní vlastnosti
Náprava znečištění	Chelatace těžkých kovů	OH/OOH deprotonace
	Rozpuštění hydrofobních znečišťujících látek	Amfifilní charakter
Zemědělství	Růst a výživa rostlin	OH/OOH deprotonace
	Růst a výživa rostlin	Produkce aktivního kyslíku
	Bakteriocidní	Produkce aktivního kyslíku
	Fungicidní	Produkce aktivního kyslíku
Medicína	Antivirový	OH/OOH deprotonace
	Protizánětlivý	OH/OOH deprotonace
	Antimutagenní	Přítomnost –OOH skupin
	Hojení ran	Produkce aktivního kyslíku
	Rakovinová terapie	Produkce aktivního kyslíku
	Prionová onemocnění	OH/OOH deprotonace
Farmacie a kosmetika	Ochrana proti UV záření	UV-VIS absorpce
	Antioxidant	Přítomnost –OH skupin
	Rozpuštění a doprava léčiv	Amfifilní charakter

Huminové kyseliny vykazují vysokou sorpční kapacitu pro některé kationty, což je významné především v zemědělství a životním prostředí. Patří tedy mezi hlavní faktory zodpovědné za koncentraci, mobilitu a toxicitu kovových kationtů v půdách. Avšak tato sorpční kapacita je omezená, nadměrná dávka kovu sorbovaná na huminovou kyselinu může způsobit saturaci negativních povrchových nábojů na její struktuře a může dojít ke koagulaci. Důsledkem toho vzniká riziko nahromadění kovu v půdě ve formě nerozpustné soli huminové kyseliny, které může vést k znečištění půdy nebo k nedostatku živin pro rostliny. Jako například měď, která je jednou z mikroživin nezbytných pro růst rostlin, ale v příliš vysokém množství se stává toxická [28].

Huminové kyseliny mohou odštěpovat vodíkové ionty a vytvářet typické soli se silnými bázemi. Obvykle jsou huminové kyseliny nerozpustné ve vodě, jsou však rozpustné v hydroxidech a opětovně vysrážené kyselinami. Rozpustnost v alkalickém prostředí je způsobena karboxylovými a fenolovými skupinami, které tvoří přibližně 22 % hmotnosti molekuly. Tyto skupiny jsou deprotonovány a odpuzování těchto záporně nabitých skupin způsobuje, že molekula zaujme nataženou konfiguraci. Po snížení hodnoty pH jsou funkční skupiny protonovány a efekt odpuzování je snížen, což způsobí, že molekula přijme svinutou a pevnou strukturu (Obrázek 5). V této fázi jsou hydrofobní části uvnitř struktury a hydrofilní části jsou v kontaktu s vodným médiem.



Obrázek 5: Chování molekul HK v různých hodnotách pH. Alkalické pH: odpuzování náboje (A); snížení pH: intramolekulární agregace (B); snížení pH: intermolekulární agregace (C); kyselé pH: srážení (D).

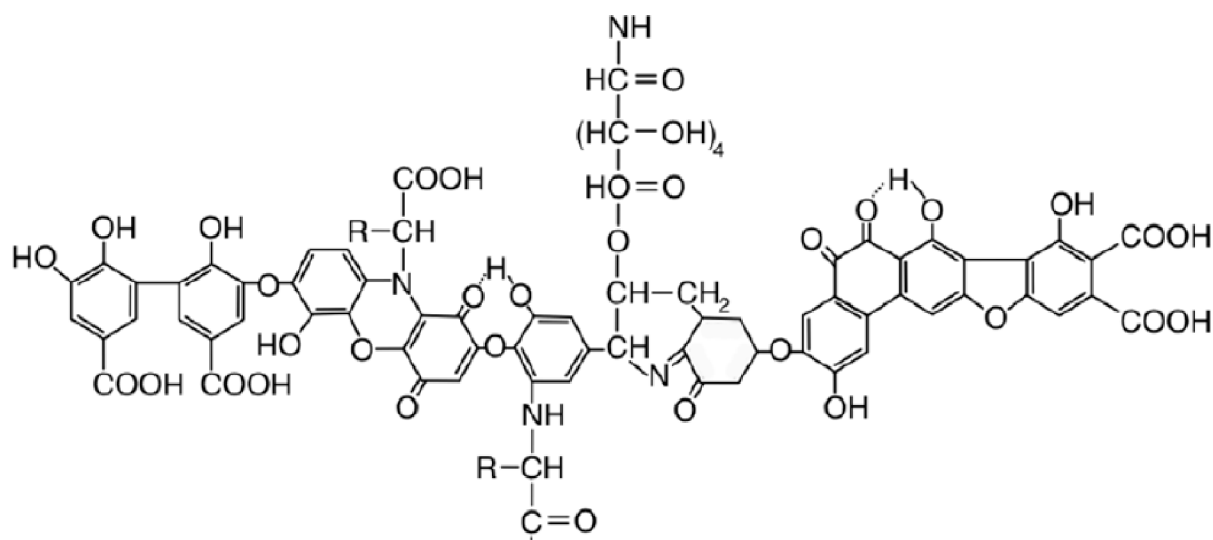
Prado a kol. poznamenali, že pH nesouvisí jen s rozpustností, ale také stabilitou vodných suspenzí huminových kyselin. Rozptýlená elektrická dvojvrstva je vytvořena kolem nabitých částic, chrání je a dovoluje systému stát se nenabíтым. Koncentrace iontů určuje ochranu náboje částic, která je větší pro systém s nižší iontovou silou, protože iontové druhy budou mít silnější interakci s elektrickou vrstvou než s molekulou rozpouštědla.

Mnoho studií v literatuře uvádí použití huminových kyselin, jako alternativa pro rozpouštění nepolárních látek ve vodném prostředí, s větším důrazem na jejich interakci s polycyklickými aromatickými uhlovodíky, které jsou relativně nerozpustné ve vodě a vykazují toxicitu a karcinogenitu. Interakce, mezi huminovými kyselinami a těmito nepolárními kontaminanty, jsou nekovalentní a tyto sloučeniny jsou rozpuštěny v hydrofobním jádru huminových kyselin, pseudo-micelu [29].

Huminové kyseliny byly extrahovány nejen z půdy, ale také z rašeliny, hnědého uhlí, oxidovaného černého uhlí a dokonce z uměle vytvořených materiálů získaných v laboratoři [30]. Přírodní vody mohou mít koncentraci huminových kyselin nižší než $10\text{--}15\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ [20].

Studie ukázaly, že huminové kyseliny extrahované z úrodných půd obsahují více alifatických a fenolových skupin než huminové kyseliny extrahované z neúrodných půd [31].

Huminové kyseliny mají ve své struktuře bohaté povrchové funkční skupiny jako např. karboxylové, hydroxylové, aminové a fenolové, které jsou převážně koordinačními místy pro jílové minerály a kovové ionty. Studium interakce mezi huminovými kyselinami a jílovými minerály má velký význam pro modelování chemického chování jílových minerálů v přírodním prostředí. Zatím však takovýchto studií není příliš mnoho. Předchozí studie (Ghabbour a kol., 2004; Shaker a kol., 2012) zkoumaly kinetiku a termodynamiku interakcí huminových kyselin s kaolinitem v roztoku a výsledky naznačily, že všechny sorpční izotermy projevují následné kroky připisované k tvorbě monovrstvy a dvojvrstvy huminových kyselin na povrchu jílovitých minerálů. Chen a kol. (2014) studoval interakce mezi nanočásticemi huminových kyselin a TiO_2 a navrhl, že vazby $\text{C}=\text{O}$ a $\text{C}-\text{O}$ hrály důležitou roli ve své interakci s nanočásticemi TiO_2 . Pochopení interakce mezi huminovými kyselinami a jílovými minerály je užitečné pro lepší objasnění chování radionuklidů ve vodném prostředí [23].



Obrázek 6: Model huminové kyseliny podle Stevensona

Elementární analýza a spektrometrické metody zahrnující ultrafialovou a viditelnou oblast (UV-Vis) a Fourierovu infračervenou (FTIR) spektrometrii se často používají při charakterizaci huminových kyselin. Pokročilé techniky, jako je fluorescenční spektrometrie a rentgenová fotoelektronová spektroskopie (XPS), se používají v menším rozsahu, přestože mohou poskytnout koherentnější obraz tohoto molekulárního systému. Kromě toho má nedostatek dostupných experimentálních dat v literatuře, takže je obtížné srovnání hnědých lignitových kyselin a huminových kyselin z různého původů. Jaderná magnetická rezonance (NMR) a pyrolýzní plynová chromatografie kombinovaná s hmotnostní spektroskopií (pyr-GC-MS) jsou velmi užitečné techniky při zkoumání struktury huminových kyselin a jejich aromaticity. Nevýhodou těchto metod je, že je nedostatečná dostupnost takového zařízení [27].

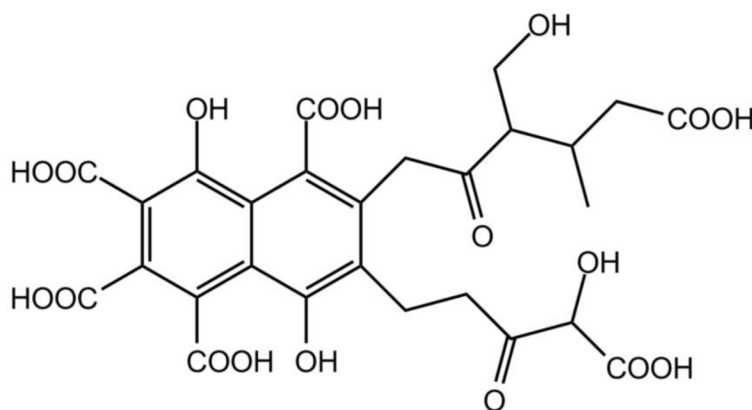
2.4.2 Fulvinové kyseliny

Fulvinové kyseliny jsou důležitou složkou půdní organické hmoty, jsou důležitou částí rozpuštěného uhlíku v půdách a obvykle vykazují vyšší chemickou a fyzikální aktivitu ve srovnání s huminovými kyselinami (Stevenson, 1994) [32].

Fulvinové kyseliny jsou pohyblivější částí hydrofobní kyselé frakce rozpuštěné organické hmoty. Jsou všudypřítomné, nacházejí se jak ve vodném, tak i v půdním prostředí. Je o nich známo, že ovlivňují mobilizaci, biologickou dostupnost nebo reaktivitu kontaminantů životního prostředí, jako jsou kovové ionty, polycyklické aromatické uhlovodíky a další chemické struktury [33, 34]. Fulvinové kyseliny hrají zásadní roli v cyklu mnoha prvků v životním prostředí a půdní ekologii, kvůli jejich vysoké rozpustnosti ve vodě a kvůli jejich amfifilitě a amorfní povaze [35]. Zatímco huminové kyseliny jsou rozpustné pouze v pH větším než 2, fulvinové kyseliny jsou rozpustné za jakýchkoli podmínek pH [36]. Rozmanitost zdrojů fulvinových kyselin má za následek vysoce komplexní přírodní fulvinovou kyselinu s různou molekulovou hmotností, konformací, protonovou afinitou a spoustou karboxylových, fenolových a dalších funkčních skupin vázající kovové kationty. V různých vodných systémech mohou jednotlivé faktory ovlivnit fyzikální i chemické chování, zahrnuje se sem např. pH, teplota a slanost vody. Byl zjištěn vliv zvýšeného nebo sníženého pH na molekulární strukturu, funkčnost, konformaci a intermolekulární interakce fulvinových kyselin s kovovými ionty [37].

Obecně platí, že huminové a fulvinové kyseliny mají podobnou strukturu, ale liší se molekulovou hmotností a obsahem elementárních a funkčních skupin (Evangelou, 1998, Yong, 2001). Huminové kyseliny mají vyšší molekulovou hmotnost a obsahují méně funkčních skupin s kyslíkem v porovnání s fulvinovými kyselinami. Je tedy známo, že fulvinové kyseliny vytvářejí více rozpustných kovových komplexů než huminové kyseliny vzhledem k jejich vyššímu obsahu kyselých funkčních skupin, menší molekulové hmotnosti a rozpustnosti v širším rozmezí pH [38].

Fulvinové kyseliny obsahují jak hydrofobní, tak hydrofilní část stejně jako mnoho funkčních skupin, jako jsou karboxylové, fenolové a karbonylové skupiny spojené s alifatickými nebo aromatickými uhlíky v makromolekulách (Obrázek 7). Předchozí studie ukazuje, že existují různé druhy a části funkčních skupin mezi frakcemi fulvinových kyselin, které vedou ke změnám v afinitě ke kovovým iontům (Christl a kol., 2001) [34].



Obrázek 7: Model fulvinové kyseliny

Fulvinové kyseliny tvoří 46–55 hm. % uhlík, 37–50 hm. % kyslík, 4–5 hm. % vodík a nízký obsah dusíku a síry. Fulvinové kyseliny obsahují až dvakrát více karboxylových skupin než huminové kyseliny, ale názory na obsah fenolových a hydroxylových skupin se v literatuře rozcházejí. Žáček uvádí, že fulvinové kyseliny obsahují více fenolových a hydroxylových skupin ve srovnání s huminovými kyselinami, naopak Watt a Peuravuori uvádějí poměr opačný [18].

Bylo navrženo, že množství huminových látek a jeho frakcí, jako jsou huminy, fulvinové a huminové kyseliny, může být použito jako index pro stanovení zralosti kompostu. Kvalita organické hmoty v kompostu může být stanovena pomocí poměrů HK/FK a E_4/E_6 (Stevenson, 1994). Tento poměr získáme pomocí absorbance zjištěné při 465 nm a 665 nm. Poměr E_4/E_6 se používá k charakterizaci huminových a fulvinových kyselin. Hodnota poměru E_4/E_6 nám označuje molekulovou velikost nebo stupeň chemické složitosti huminové i fulvinové kyseliny. Poměr E_4/E_6 vysvětluje heterogenitu huminové kyseliny, protože souvisí se stupněm kondenzace aromatického uhlíku. Takže nízký poměr E_4/E_6 nám značí poměrně vysoký stupeň kondenzace a vysoká hodnota poměru E_4/E_6 odráží přítomnost poměrně vysokého počtu alifatických sloučenin (Campitelli a kol., 2003). Přítomnost malých, vysoce alifatických organických molekul je spojena s frakcí více reaktivní půdní organické hmoty, která zůstává rozpustná v širších hodnotách pH, což naznačuje, že tyto molekuly souvisí s fulvinovými kyselinami. Na druhou stranu huminové kyseliny jsou více aromatické a mají větší sklon se srážet při pH nižším než 7, a proto jsou ve většině půd méně mobilní. Změny v půdě, zejména změna aktivních půdotvorných faktorů, vyvolá modifikace vlastností půdy, které ovlivňují množství a kvalitu organické hmoty v půdním systému [39, 40].

2.4.3 Huminy

Huminy jsou nerozpustnou frakcí huminových látek. Jsou obecně definovány jako první třída usazené huminové hmoty, která zůstává nerozpuštěná při extrakci rozpustných huminových a fulvinových kyselin zředěnou zásadou. Protože jsou huminy nerozpustné přírodní makromolekuly, jsou nejméně prozkoumány ze všech huminových frakcí [41].

Humín je vysoce odolný vůči mikrobiální degradaci a je považován za poslední produkt humifikačního procesu. Tato frakce huminových látek představuje různé funkční skupiny, jako jsou estery, methoxyalkany a polární aromatické skupiny. Kromě toho je humín vysoce pórovitý s velkým povrchem, což z něj dělá potenciální absorbent [42].

Huminová frakce představuje největší podíl humusu. Huminy jsou vysoce kondenzované, obsahují více než 60 hm. % uhlíku. Ukázalo se, že huminy mají téměř totožné funkční skupiny a elementární složení jako huminové kyseliny. Jedna z hlavních výhod huminových materiálů, jako přirozeně se vyskytujících polymerů, je jejich schopnost tvořit komplexy s několika kovovými ionty včetně radionuklidů. Migrace radionuklidů v prostředí může být tedy ovlivněna interakcí s těmito materiály [39, 41].

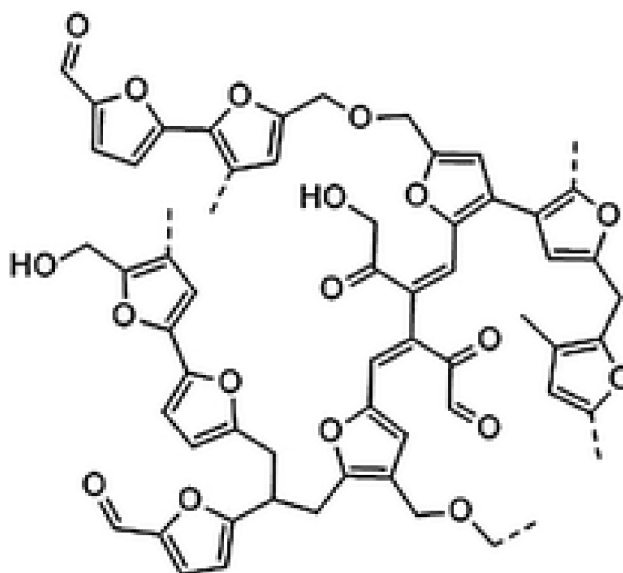
Předešlé studie ukázaly, že hlavní složky huminů jsou odvozeny z rostlin a mikroorganismů a jejich zbytků jako jsou kutikuly a mikrobiální peptidy. Když jsou původní organické materiály začleněny do procesu humifikace, může mít humín složité a odlišné strukturní charakteristiky, proto se využívá různých metod pro určení této struktury. Po první studii (Hatcher et al., 1980) o rozložení uhlíkových funkčních skupin v huminech

pomocí ^{13}C nukleární magnetické rezonance navazovaly další studie (Lichtfouse et al., 1998; Rice, 2001; Chang et al., 2014; Nakahara et al., 2016), které potvrdily prominentní alifatickou povahu huminů. Nebbioso a kol. (2015) ukázaly, že humin měl podobné molekulární složení jako huminová kyselina po chromatografické a chemické separaci, a tyto dvě huminové frakce se hlavně lišily v trojrozměrném uspořádání [43].

Četné charakterizace a mechanické studie huminů byly provedeny pomocí ^{13}C NMR a pyrolýzy-GC-MS. Byla zjištěna bohatá furanová struktura spojená krátkými alifatickými řetězci a acetylovými nebo etherovými funkčními skupinami, což vede k vysoce konjugované struktuře s bohatým obsahem kyslíku (*Obrázek 8*). Konjugovaná struktura huminů naznačuje, možnou fluorescenční aktivitu [43]. Sumerskii a kol. (2010) charakterizovali několik huminů, vytvořených kyselé katalyzovanou dehydratací různých cukrů, pomocí elementární analýzy, infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) a ^{13}C -NMR a zjistili, že jejich struktury obsahovaly asi 60 % furanových kruhů a asi 20 % alifatických fragmentů [44].

Několik vědců zdokumentovalo silnější sorpci organických kontaminantů na huminy než na jinou půdní organickou frakci. V práci Chiou a kol. (2000) je uvedeno, že sorpce diuronu a 3,5-dichlorfenolu na huminy z rašelinné půdy je třikrát silnější, než na celkovou rašelinovou půdu nebo huminovou kyselinu z ní izolovanou. To by vysvětlilo mnohem větší povrchovou plochu huminů ($4,5 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) než celkové rašelinové půdy ($1,4 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) nebo huminové kyseliny ($0,16 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$). Drori a kol. (2008) zjistili, že huminy vykazují vyšší sorpci pro fenantren, atrazin a chlorotoluron než objemné půdy [45].

Nedávné studie ukázaly, že stabilita huminů v půdě není způsobena nízkou huminovou reaktivitou, ale aglomerací huminových materiálů odpovědných za mechanismus agregace částic v půdě, které mohou zastupovat většinu uhlíku přítomného v humifikované půdě (Benites a kol., 2003, Lombardi a kol., 2006) [46].



Obrázek 8: Model huminu

2.5 Stabilita půdní organické hmoty

Půdní organická hmota (SOM) je klíčovým parametrem, který určuje kvalitu, produktivitu a ekologické fungování půd. Obsahuje velkou část globálního zemského uhlíku, a z tohoto důvodu se v současné době diskutuje o kapacitě půdy vyrovnat zvyšující se hladinu atmosférického CO₂ (Schmidt a kol., 2011). Proto pochopení chemického složení SOM poskytne důležité informace o tom, jak nejlépe tento důležitý zdroj organického uhlíku spravovat [47].

Organický uhlík je stabilizován na povrchu minerálu přes různé organo-minerální vazebné reakce, jako je výměna ligandů, přemostění kationtů, vodíkové vazby a Van der Waalsovy síly, v závislosti na složení vstupujících organických molekul, mineralogii půdy a faktorech životního prostředí [48].

Dusík hraje důležitou roli při rozkladu rostlinných zbytků a obratu SOM (Gallo a kol., 2005, Grandy a kol. 2008), ale posouzení toho, jak přidání specifické formy doplňkového dusíku ovlivňuje chemické složení stabilizované SOM, je nejasné. Přidání dusíku podporuje mikrobiální rozklad SOM omezením celkového poměru C:N v půdě a zvýšením rostlinných zbytků s obsahem dusíku (Galloway a kol. 2004; Smil 2001). Mikrobiální populace mohou být změněny zvýšením množství dostupného dusíku, protože houby jsou obvykle více konkurenceschopný než bakterie na zpracování zbytků s vyšším C:N (Van Der Heijden a kol. 2008). Je důkaz o přímém začlenění anorganického dusíku do aromatické struktury SOM. Chemické formy přidaného dusíku jsou rozdílné, jak v syntetických hnojivech (anorganické), tak v hnoji od farmářských zvířat (organická a anorganický s přídavkem uhlíku) a zbytků luštěnin (organický). Odlišný mechanismus a kinetika rozkladu jsou pravděpodobně podporovány zavedením různých zdrojů dusíku na zemědělské půdy. Proto různé typy sloučenin mohou být přednostně degradovány a obohaceny, měnícím se chemickým složením zbývající stabilizované SOM [49].

Stabilita půdní organické hmoty je definována jako odolnost vůči mikrobiálnímu rozkladu a z toho plynoucí dlouhá střední doba pobytu (MRT), je velmi zajímavá, kvůli nejistotě osudu půdní organické hmoty v zpětnovazebné reakci na změny klimatu (Pelter kol., 2013). Nový model navrhuje, aby stabilita půdní organické hmoty vyplývala z její fyzikálně-chemické a biologické interakce s jejím nejbližším prostředím (Schmidt a kol., 2011) [50].

Stabilita půdních agregátů je rozhodující vlastností půdy ovlivňující úrodnost půdy a rostlinou produkci a úzce souvisí s mnoha zemědělskými a environmentálními problémy jako je eroze půdy a eutrofizace vody (Tejada a Gonzalez, 2008) [51]. Stabilita SOM, co se týče odolnosti vůči mikrobiální degradaci, má důležitý dopad na ekosystémové procesy související s cyklem živin, emisí skleníkových plynů z půdy a sekvestrací uhlíku. Z tohoto důvodu je velký zájem o vývoj nových způsobů, jak přesně kvantifikovat a posoudit labilní a stabilní formy půdního organického uhlíku. Odolnost SOM před biologickým rozkladem je funkcí jeho lokalizace v půdní matici a sdružením s minerály nebo jinými limitujícími faktory, jako je dostupnost živin nebo podmínky prostředí (Marschner a kol., 2008) [52].

Amorfní oxidy železa a hliníku jsou známy pro stabilizaci organického materiálu v půdě. Takový efekt může být pozorován zvyšováním minerální organické hmoty, která je odolná vůči mikrobiálnímu rozkladu. V jedné práci (Pronk a kol., 2011) bylo uvedeno, že oxidy železa mohou také přispět ke stabilizaci mikroagregátů. Kvůli průmyslovým zdrojům

odpadních vod a procesům čištění biosolidy, organické odpadní vody obsahují 2–5 % železa a 1–2 % hliníku, z nichž většina je v amorfni formě. Předpokládá se, že aplikace biosolidů může zvýšit odolnost SOM před rozkladem pomocí amorfni oxidů Fe a Al [53].

Pro zkoumání stability SOM byla použita řada fyzikálních a chemických přístupů. Radioizotop ^{14}C má poločas rozpadu 5 730 let a jeho obsah v půdách může poskytnout odhadovaný SOM MRT, který se týká její stability (Trumbore a kol., 1989). Metaanalýza 122 půdních radiouhlikových profilů zjistila klesající hodnoty $\Delta^{14}\text{C}$, které naznačují vyšší průměrný věk SOM se zvyšující se hloubkou půdy u téměř všech profilů (Mathieu a kol., 2015). Statistická analýza 122 profilů ukázala, že model s klimatem, lokalitou, vegetací a půdním typem může předpovědět $\Delta^{14}\text{C}$ SOM s přesností 85 % [50].

Metody tepelné analýzy postupně získávají zájem v půdní vědě. Obvykle patří do skupiny technik, které využívají teplo k měření vlastností půdy vystavené teplotnímu programu. Jednou z nejčastěji používaných technik je kalorimetrie, která je založena na měření teploty, která po kalibraci přístroje dává výsledky entalpie. V půdní vědě se kalorimetrické techniky využívají pro hodnocení kvality organické hmoty, pochopení uhlíkového cyklu, půdní mikrobiální aktivity, stability vodíkových můstků, vlastností půdy, roli kationtů ve stabilitě půdní organické hmoty. Tento přístup propojuje vstup a výtěžek energie z rozpadu intramolekulárních vazeb SOM během spalování a také z rozpadu vazeb mezi SOM a minerálními povrchy (Peltre a kol., 2013) [47, 52].

Lopez-Capel a kol. (2005) použili TG-DS k vyhodnocení aktivních a stabilních složek ve frakcích SOM izolované pomocí hustoty. Dospěli k závěru, že fyzikální frakcionace půdy byla užitečná pro identifikaci efektu dlouhodobě využívané SOM s větší přesností, než je možné s nefrakcionovanou půdou [54].

Analytická pyrolýza poskytuje informace o tepelné stabilitě a chemickém složení organické hmoty přítomné ve vzorku. Nedávné výsledky od Albrechta a kol. (2015) ukázaly, že hlavní třídy organických složek charakterizovaných analytickou Rock-Evalovou pyrolýzou souvisely s chemickými strukturami identifikovanými ^{13}C PMAS NMR [55]. Analytická pyrolýza je zásadně odlišná od jiných technik tepelné degradace v tom, že vyžaduje použití inertní atmosféry a prudké rychlosti ohřevu. Charakterizuje reakční produkty zahřívání než vlastnosti vzorku. Při pyrolýze se uvolňují uhlovodíky odpařováním labilní organické hmoty nebo termálním krakováním složitějších biomakromolekul. Proto z hlediska možného vztahu k biologické stabilitě se předpokládá, že pyrolýza může simulovat enzymatickou depolymeraci [52].

Další široce používanou termoanalytickou technikou je termogravimetrie (TGA), která je založena na stanovení změny hmotnosti půdy buď v izotermických, nebo neizotermických podmínkách. Pro analýzu půdy se používají většinou programy lineárního zahřívání. Zjišťuje se tepelná nebo termo-oxidační stabilita půdy. Tato analýza dává výsledky jak kvantitativní, což je hmotnostní ztráta, tak i kvalitativní (teplotní) informaci. Samotná nebo v kombinaci s dalšími detektory, TGA byla použita k určení poměru mezi tepelně labilní a stabilní půdní organickou hmotou, stabilitu složek půdní organické hmoty, posun ve stabilitě půdní organické hmoty supramolekulárních komplexů indukovaných malými organickými molekulami a kationty, obsah a přítomnost pyrogenního uhlíku, stabilita frakcí organické hmoty jako jsou huminové kyseliny nebo rozlišení organického a anorganického uhlíku [47].

S. Miao a kol. [56] se zabývali vlivem dlouhodobého pěstování plodin na biochemickou kvalitu půdní organické hmoty. Pro ověření tepelné stability SOM postižené dlouhodobým pěstováním, se studie zaměřila na 23 leté kukuřičné a sójové pozemky. Množství půdy bylo studováno v letech 1991 a 2014 pomocí termogravimetrické analýzy (TGA) a diferenční skenovací kalorimetrie (DSC). Výsledky ukázaly typické bimodální vrcholy v DSC křivce. Pík labilní frakce byl pozorován při 354–366 °C v nízkoteplotní zóně a frakce jedna při vysoké teplotě 430–438 °C. Uvolněné teplo bylo větší u sójových pozemků ve srovnání s pozemky s kukuřicí. Nepřetržité pěstování kukuřice zvýšilo uvolněné teplo naopak u pěstování sóji došle během 23 let ke snížení uvolněného tepla.

M. T. Dell'abate a kol. [57] použili termální analýzu pro rychlou charakterizaci chemických změn v organické hmotě kompostovaného materiálu. Devět vzorků bylo odebráno v postupných fázích ze stejného výkopu pomocí plně automatického zařízení. DSC a TGA byly současně provedeny ve statickém ovzduší na celém povrchu kompostů. Postupné fáze kompostovacího procesu, které poskytly vzorky, jejichž DSC výsledky odhalily značnou modifikaci v tepelném vzorku, souhlasily s kvantitativními údaji získanými z měření TGA. Celkový obsah N se v různých časech kompostování zvyšoval, avšak obsah organického C se naopak snižoval, změna poměru C:N ukázala celkový pokles o 30 %.

J. Salgado a kol. [58] posuzovali změnu organické hmoty během sezóny pomocí DSC. Vzorky půdy byly odebrány ve dvou lokalitách ve městě Viveiro (Galicia, Španělsko). Jedním ze vzorků byla orná půda a druhým vzorkem byla půda z borového lesa, vzorky byly shromažďovány během roku. Spalné teplo a teplota vznícení SOM byly vypočteny analýzou termogramů získaných DSC. Tvar a maximální a konečné teploty dvou exotermických pík pozorovaných v termogramech, poskytly informace o vztahu mezi seskupeními a tudíž informaci o stupni stabilizace uhlíku v obou půdách. Z výsledků bylo poznat, že roční období má vliv na poměr C:N, obsah organické hmoty, hodnotu pH i na termickou stabilitu u obou druhů půd.

V práci C. M. Armas-Herrera a kol. [59] se zabývali účinky plánovaného požáru na vlastnosti půdy. Cílem bylo stanovení okamžitých účinků požáru na kvalitu a biochemickou stabilitu půdní organické hmoty v oblasti s hojným výskytem křovin ve Středních Pyrenejích (Španělsko). Vzorky byly odebrány před a po požáru v hloubkách 0–1, 1–2 a 2–3 cm. Byly kvantifikovány změny, jako je vliv požáru na (1) obsah SOM, (2) obsah a mineralizační rychlost labilního a rekalcitrantního uhlíku, jak vyplývá z inkubačních zkoušek a (3) biologickou aktivitu půdy související s cyklizací uhlíku (aktivita mikrobiální biomasy C a aktivita β -D-glukosidázy). Obecně platí, že spalování organické hmoty je důležité při teplotách 200–250 °C, dokud nedojde téměř k úplnému vymizení SOM při přibližně 500 °C. V tomto případě teplota dosáhla téměř 400 °C a zůstala na 200 °C po dobu 25 minut. Výsledkem bylo, že téměř všechny studované půdní vlastnosti byly významně ovlivněny požárem v závislosti na rozsahu a hloubce půdy. Celkový půdní organický uhlík, poměr C:N, aktivita β -D-glukosidázy a odhadovaný obsah labilního organického uhlíku se významně snížil v průměru o 41 %. Celkový dusík a mikrobiální biomasa C byly významně ovlivněny pouze v horní části půdy (0–1 cm).

2.5.1 Stabilita huminových látek

Během posledních 130 let se celosvětová průměrná teplota povrchu zvýšila o 0,85 °C a odhaduje se, že globální oteplování by do konce 21. století mohlo dosáhnout zvýšení teploty až o 0,3–4,8 °C. V Číně se od roku 1951–2009 teplota povrchu zvýšila o 1,38 °C.

Obecně lze půdní organickou hmotu rozlišit na labilní a žáruvzdornou část. Labilní organické uhlíkové složky jako je organický uhlík ve vodě rozpustný a snadno oxidovatelný organický uhlík, byly považovány za citlivé indikátory pro změnu teploty. Většina půdního organického uhlíku se však vyskytuje jako žáruvzdorné huminové látky (HL) a to huminové kyseliny (HK), fulvinové kyseliny (FK) a huminy, které tvoří přibližně 60–80 % celkové půdní organické hmoty.

Vzhledem k jejich žáruvzdorným vlastnostem mají půdní huminové látky důležitou roli v sekvestraci CO₂ v atmosféře. Bylo odhadnuto, že půdní huminové látky mohou držet přibližně 1 500–2 500 · 1 012 kg uhlíku. Předpokládá se, že tvorba a transformace huminových látek jsou primárně způsobeny mikrobiálními procesy. Teplota společně s půdní vodou je jedním z hlavních faktorů, které kontrolují mikrobiální aktivitu v půdě. Můžeme tedy předpokládat, že změna teploty může ovlivnit množství a kvalitu huminových látek v půdě ovlivněním mikrobiální aktivity [60].

Tepelná degradace huminových kyselin probíhá ve dvou krocích, oba jsou exotermické a spojené s rychlým úbytkem hmotnosti. Chemická analýza ukázala, že první krok, ke kterému dochází zhruba při 200–450 °C, je spojen s rozkladovou reakcí alifatických částí a většiny funkčních skupin (biologicky odbouratelné složky), zatímco při vysokých teplotách v rozsahu 450–650 °C dochází k rozkladu aromatických struktur (humifikované složky). V oblasti nízkých teplot až do 200 °C dochází pouze k odpařování vlhkosti [61].

Nedávné výsledky naznačují, že huminové látky, spíše než makromolekulami, mohou být tvořeny menšími molekulami, které se samy shromažďují do supramolekulárních struktur pomocí slabých vodíkových vazeb a hydrofobních interakcí. Tyto studie ukazují, že protonizované huminové asociace ve vodných roztocích jsou reverzibilně narušeny za tvorby menších asociací, malými přísadkami metanolu a jiných organických kyselin, které změň konformační uspořádání mezi hydrofilními huminami a hydrofobními doménami. Lze tedy předpokládat, že přidáním organických kyselin se změň konformační vlastnosti huminových látek, a tudíž by se měla změnit i energie huminového uspořádání a tím i jeho tepelná stabilita. Změny tepelné stability by pravděpodobně ovlivnily i mikrobiální rozklad a tím i stabilitu humusu v půdním prostředí.

P. B. Buurman a kol. [62] se ve své studii zabývali stabilitou při tepelné oxidaci půdních huminových extraktů nasycených H, Na, Ca nebo Al, do kterých byla přidána poměrně polární organická sloučenina jako je metanol, kyselina mravenčí a kyselina octová. Zatímco tepelné vlastnosti H-humátů se po přidání polárních sloučenin nezměnily, tak teplený rozklad Na-humátů se posunul na vyšší hodnoty teplot (750–830 °C). Poměrně méně dramatický byl účinek na Ca-humáty a téměř žádný vliv přidání polárních organických sloučenin nemělo na Al-humáty. Tyto výsledky lze vysvětlit s ohledem na síly, které drží huminové molekuly pospolu. V H-humátech jsou složky vzájemně silně vázány vodíkovými vazbami a v Ca a Al-humátech působí elektrostatické interakce. Tyto vazebné síly nebyly překonány jednoduchým přidáním polárních organických molekul a jejich stabilita zůstala celkem nezměněna. V Na-

humátech jsou molekuly drženy pouze nesespecifickými hydrofobními interakcemi. Výsledky ukázaly, že přidání organických rozpouštědel, o něco méně polárních než voda, do Na-humátů způsobí výrazné zvýšení tepelné stability.

P. Boguta a kol. [63] zkoušeli novou metodu pro stanovení tepelné stability a chemických vlastností huminových a fulvinových kyselin a to pomocí termogravimetrie spojené s diferenční skenovací kalorimetrií, hmotnostní spektrometrií s kvadrupólovým analyzátozem a infračervenou spektroskopií s Fourierovou transformací (TG-DSC-QMS-FTIR). Byly určeny tři teplotní rozsahy z DSC dat, které souvisí s hlavními tepelnými procesy různých struktur: R1 40–220 °C, R2 220–430 °C, R3 430–650 °C. Úbytek hmotnosti (ΔM), určený z TG křivek ve výše uvedených teplotních intervalech, odhalil výrazné rozdíly uvnitř vzorků, v obsahu fyzicky adsorbované vody (u R1), těkavých a labilních funkčních skupin (u R2) tak i žáruvzdorných struktur (u R3). Moduly QMS a FTIR umožnily chemickou identifikaci plynů vyvíjejících se během tepelného rozkladu (R1, R2 a R3). Variabilita tvaru, plochy a teploty TG, DSC, QMS a FTIR píků odhalila rozdíly v tepelné stabilitě a chemické struktuře vzorků mezi frakcemi FK a HK různého původu. Statistická analýza ukázala, že parametry vypočítané z QMS, DSC a TG v R1, R2 a R3, korelují s vybranými chemickými vlastnostmi vzorků, jako je obsah N, O a COOH, stejně jako indexy E_2/E_6 a E_2/E_4 . To naznačuje vysoký potenciál pro spojenou metodu sledování chemických změn huminových látek. Výše uvedené poznatky ukázaly, že kombinovaná technika TG-DSC-QMS-FTIR může představovat užitečný nástroj pro komplexní hodnocení vlastností fulvinových a huminových kyselin z různých zdrojů.

2.6 Metody studia stability

Pro studium stability organické hmoty a huminových látek můžeme použít několik metod. Hlavními metodami jsou termické analýzy, které testují fyzikální a chemické vlastnosti materiálů, obecně se dá říci, že zkoumají chování vzorku v závislosti na teplotě. Dále je soubor metod, které fungují jako doplňující metody k termické analýze. První z nich je FTIR, díky které získáme informace ohledně struktury látky, o jejích funkčních skupinách, jednoduchých nebo násobných vazbách, aromatických sloučeninách. Obdobnou, ale přesnější metodou je nukleární magnetická rezonance nebo rentgenová fotoelektronová spektroskopie. Další metodu, kterou můžeme použít je UV-VIS spektrometrie, z jejích poměrů absorbancí můžeme získat důležité informace o molekulové hmotnosti nebo stupni chemické složitosti.

2.6.1 Termogravimetrická analýza

Termogravimetrie (TG) je základní metoda termické analýzy, studuje změny hmotnosti, které probíhají v měřeném systému v závislosti na teplotě. Změny hmotnosti jsou výsledkem odpařování, rozkladného procesu, nebo chemické reakce. Ke změně hmotnosti může dojít také v důsledku absorpce plynů (kyslík, vlhkost, a dalších). Výsledkem je termogravimetrická křivka, která znázorňuje závislost hmotnosti na teplotě nebo čase a lze z ní odečíst teploty hmotnostních změn. Na ose y mohou být jednotky hmotnosti nebo procenta úbytku hmotnosti, přičemž na ose x je teplota nebo čas. Na křivce se průběžně střídají vodorovné úseky, tzv. prodlevy a zlomy. Prodlevy odpovídají oblastem, kde nedochází k žádnému hmotnostnímu úbytku vzorku. Naopak zlomy naznačují, že se zkoušený vzorek začíná rozkládat a tedy mění

svoji hmotnost. Odvozenou metodou je derivační termogravimetrie (DTG), kde výsledná křivka uvádí rychlost hmotnostní změny na teplotě.

Přístroje pro TG se skládají z elektrické pece, analytických vah, nosičů vzorků, zařízení pro měření a řízení teploty a počítače. Mikrováhy musí být velmi citlivé a schopné tak detekovat i nejmenší možné změny v hmotnosti. Elektrická pícka musí být velmi výkonná, schopná ohřívat vzorek v celém potřebném teplotním intervalu definovanou rychlostí ohřevu. Nejčastěji se používá teplotní rozsah od teploty okolí až do 1 500 °C a rychlost ohřevu se pohybuje kolem 5–10 °C·min⁻¹. Celý vnitřní prostor pece je, z důvodu ochrany aparatury před korozivními plyny uvolňovanými ze vzorku, proplachován plynem.

Vlastní termogravimetrická analýza probíhá na termovahách. Měřený vzorek je v kovové misce nebo kelímku umístěném na termočlátku, který snímá aktuální teplotu. Materiálem nosiče je nejčastěji platina, která má výrazně vyšší tepelnou vodivost, ale je třeba brát v úvahu její katalytické vlastnosti pro řadu reakcí, dalšími materiály jsou korund, zlato, stříbro popř. oxidová keramika. Existují různé velikosti kelímků v závislosti na hmotnosti vzorku.

Používají se tři uspořádání resp. umístění termovah vůči peci: vertikální se vzorkem položeným na mechanismus termovach, vertikální se vzorkem zavěšeným na mechanismus termovach, horizontální. Termováhy jsou v současné době založené převážně na tzv. kompenzačním principu, který spočívá v automatickém elektromagnetickém vyrovnávání změny hmotnosti vzorku. Díky tomuto principu lze velmi jednoduše tyto změny převádět na elektrický signál.

Termogravimetrie jako taková může být prováděna v různých atmosférických podmínkách, od termogravimetrie za vysokého tlaku až po termogravimetrii za běžného tlaku, ale s přítomností různých přídavných plynů. Přídavné plyny používané na proplachování prostoru pece a okolí vzorku, můžeme rozdělit na plyny reagující a na plyny nereagující se vzorkem. Jako nereagující plyn se používá např. helium, které má funkci spíše pro standardizaci měřících podmínek. Reagující plyn je např. kyslík, který může hrát podstatnou roli při rozkladu vzorku. Podstatný vliv má použití víčka při měření, neboť v okolí vzorku je jiná atmosféra [64, 65, 66, 67].

2.6.2 Diferenční skenovací kalorimetrie

Diferenční skenovací kalorimetrie (DSC) lineárně ohřívá nebo ochlazuje vzorek a měří rozdíl teplot nebo energií, kterou je nutno dodat, aby vzorek a referenční látka měly stejnou teplotu. DSC se používá pro získání charakteristických teplot, jako jsou teplota tání a skleného přechodu, nebo specifického tepla tání, krystalinity, kontrola vyžhání nebo vytvrzení.

Výhodou DSC je potřeba malého množství vzorku okolo 3–10 mg. Podle druhu experimentu a předpokládaných vlastností měřené látky se volí různé druhy pánviček. Pánvičky se liší tvarem a způsobem uzavírání. Jsou vyrobeny buď z hliníku, zlata, stříbra, nereze nebo oceli.

Jako reference se při měření na DSC používá téměř vždy prázdná pánvička. Kalibrace teploty se provádí na standardu se známou teplotou tání. Pro teploty 0–300 °C to nejčastěji bývá indium, používá se i cín nebo olovo. Aby bylo zabráněno reakcím vzorku se vzduchem, měření probíhá nejčastěji v dusíkové atmosféře. Podle typu experimentu se volí i ohřívací rychlost, nejčastěji používaná rychlost ohřevu je 10 °C·min⁻¹. Přístroje pro DSC pokrývají

rozsah teplot experimentálních měření od $-150\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $1\ 500\text{ }^{\circ}\text{C}$, konkrétní rozsah přístroje se ale volí podle vlastností vzorků.

DSC s tepelným tokem měří rozdíl teplot mezi vzorkem a referencí, pomocí měření rozdílů termoelektrických napětí jednotlivých termočlánků. Reference i vzorek jsou umístěny na samostatných teplotních čidlech v jedné kalorimetrické cele a jsou spojeny tepelným mostem. Výsledkem měření je závislost tepelného toku na teplotě. Vzorek a reference jsou tedy kontinuálně ohřívány nebo ochlazovány podle nastaveného teplotního programu, pokud dojde k tání vzorku, začne teplota cely vzorku zaostávat oproti teplotě referenční cely, a proto musí být rozdílná energie dodána. V případě, že dojde ve vzorku k exotermickému ději (krystalizaci), je do jeho cely dodáváno méně energie, aby došlo k vyrovnání teplot s referencí. Základem konstrukce DSC s kompenzací příkonu jsou dvě samostatné kalorimetrické cely, jedna pro pánvičku se vzorkem a druhá pro referenci [68, 69].

2.6.3 Infračervená spektrometrie

Principem infračervené spektrometrie je absorpce infračerveného záření molekulami látek. Infračervené záření má větší vlnovou délku a nižší energii než záření ultrafialové a viditelné. Pokrývá část elektromagnetického spektra v intervalu mezi $0,78$ a $1\ 000\ \mu\text{m}$. V infračervené spektrometrii se běžně místo vlnové délky používá vlnčet. Nejdůležitější oblast pro infračervenou spektrometrii je $4000\text{--}670\ \text{cm}^{-1}$. Infračervenou oblast spektra rozdělujeme na tři části a to na blízkou infračervenou oblast tj. $12800\text{--}4000\ \text{cm}^{-1}$; střední infračervenou oblast tj. $4000\text{--}200\ \text{cm}^{-1}$ a vzdálenou infračervenou oblast tj. $200\text{--}10\ \text{cm}^{-1}$.

Energie infračerveného záření již nestačí na změny elektronových stavů, způsobuje pouze změny vibračních a rotačních stavů molekul. Proto infračervená absorpční spektra jsou spektra vibračně-rotační. Ve spektrech sledujeme závislost transmitance nebo absorpance na vlnočetu absorbovaného záření. Spektrum je pásové, kde pásy ve spektru odpovídají různým typům vibračních přechodů. Infračervená spektra se měří ve spektrometrech. Konstrukčně starší jsou disperzní spektrometry, které pracují na principu rozkladu použitého infračerveného záření v hranolovém nebo mřížkovém monochromátoru. Dnes jsou používány infračervené spektrometry s Fourierovou transformací (FTIR) [70].

FTIR spektrum huminových látek v pevné fázi se obvykle měří v tabletce, slisováním KBr se vzorkem huminové látky. KBr neabsorbuje IR záření, takže se získá kompletní IR spektrum ve střední spektrální oblasti vlnových délek. Závažným problémem při měření v KBr tabletách bývá adsorbovaná vlhkost, projevující se pásy v oblastech $3600\text{--}3000\ \text{cm}^{-1}$. Jiný způsob, jak se vyhnout potížím způsobeným stopami vody, nabízí technika difuzně-reflektančních spekter (DRIFT) huminových látek. Při jejich měření není nutné používat matrice, proto nejsou DRIFT spektra huminových látek komplikována absorpencí vody ani ionizací kyselých funkčních skupin.

Další technikou měření FTIR spekter bez použití matrice je oblíbené měření na jednorázovém ATR nástavci, založené na principu úplného odrazu záření na fázovém rozhraní vzorku a měřicího krystalu z materiálu o vysokém indexu lomu. Běžně se používají krystaly diamantové, křemíkové nebo germaniové.

V oblasti $3400\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$ IR spekter huminových látek se nachází výrazný široký absorpční pás, přiřazený valenčním vibracím fenolických --OH skupin. Huminové kyseliny mívají maximum tohoto pásu při 3400 cm^{-1} , u fulvinových kyselin bývá maximum kvůli výraznějšímu vlivu vodíkových můstků posunuto k nižším vlnočtům (3300 cm^{-1}). V této oblasti se na absorpci podílí širokým a výrazným pásem adsorbovaná voda, přispívat mohou také valenční vibrace O--H alifatických alkoholů.

Absorpční pás při vlnočtech okolo 3030 cm^{-1} přísluší valenčním vibracím aromatické vazby C--H a měl by být zřetelný ve spektrech huminových a fulvinových kyselin. Tento pás je však výraznější ve spektrech látek s nízkým počtem substitucí na benzenovém kruhu. Absence tohoto pásu ve spektrech huminových látek bývá vysvětlována úplnou substitucí na aromatickém kruhu nebo překrytím sousedním silným pásem vibrací O--H v karboxylových skupinách, který může být v důsledku vodíkových vazeb rozšířen až ke 2900 cm^{-1} . Pro studium kyslíkatých funkčních skupin je významná oblast mezi $1900\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$.

V IR spektrech řady huminových kyselin bývají pozorovány samostatné pásy s maximy při $1650\text{--}1640$ a $1550\text{--}1540\text{ cm}^{-1}$, typické pro valenční vibrace amidu. Pás při $1610\text{--}1625\text{ cm}^{-1}$ patří k nejsilnějším pásům v IR spektru HK. Přísluší vibracím vazby C=C v aromatických strukturách. Široký a intenzivní absorpční pás valenčních vibrací --C--OH alifatických alkoholů má maximum u vlnočtů $1150\text{--}1050\text{ cm}^{-1}$. Oblast vlnočtů pod 1000 cm^{-1} nemá pro studium struktury huminových kyselin velký význam [71, 72].

2.6.4 UV-VIS spektrometrie

Podstatou ultrafialové a viditelné spektrometrie je absorpce ultrafialového a viditelného záření, tj. $200\text{--}800\text{ nm}$, zředěnými roztoky molekul. Při absorpci dochází k excitaci valenčních elektronů, které jsou součástí molekulových orbitalů. Excitovaná molekula přechází zpět do základního stavu bez radiace, zářivá energie se mění v tepelnou energii, zvyšuje se kinetická energie molekul. Jen v některých případech je molekulou emitováno nové záření, zpravidla o nižší energii. Absorbované záření v UV-VIS může být také doprovázeno rozptylem záření na koloidních micelách, částechkách nebo makromolekulách.

Molekula se za běžných podmínek nachází na základní vibrační hladině a její elektrony nejsou excitovány. Absorpcí fotonu přijme energii, která vede k přechodu elektronu na excitovanou hladinu a molekula přejde na jednu z mnoha vibračních a rotačních hladin. Tak je možná absorpce fotonů jen o málo se lišících energií a vytváření velmi blízkých absorpčních čar ve spektru, které splývají v pás [70, 73].

V huminových látkách jsou obsaženy chromofory, které mohou absorbovat určitou část světla. Jsou to převážně funkční skupiny obsahující elektrony, hlavně aromatické kruhy substituované různými funkčními skupinami včetně fenolů, karboxylových kyselin a alifatických řetězců. Analogicky s absorpcí UV záření benzenu mohou být rozlišeny tři různé oblasti absorpce huminových látek: první pásmo je umístěno při vlnových délkách kolem 190 nm , je označováno jako lokálně-excitační pásmo (LE); druhý pás se nachází v rozmezí vlnových délek 190 a 240 nm a označuje se jako benzenoidní pás (Bz) a třetí pás odpovídá absorbancím při vlnových délkách vyšších než $240\text{--}250\text{ nm}$, označuje se jako pás přenosu elektronů (ET). Intenzita těchto pásem je výrazně ovlivněna stupněm substituce v aromatickém kruhu. V tomto smyslu může poměr mezi absorbancí odpovídající ET a Bz

(E_{ET}/E_{Bz}) indikovat stupeň a možnou povahu substituce. Nízké poměry budou spojeny s nedostatečnou substitucí na aromatických kruzích nebo se substitucí alifatickými funkčními skupinami, zatímco vyšší poměry budou naznačovat přítomnost funkčních skupin obsahujících kyslík (hydroxylové, karbonylové, karboxylové a esterové skupiny) na aromatickém kruhu [74].

Informace o huminových látkách získáme i z dalších absorpčních poměrů. Jako například poměr E_2/E_3 , který získáme z absorbancí při vlnových délkách 250 nm až 365 nm, se často používá jako ukazatel humifikace a molekulové hmotnosti huminových látek. Nižší hodnoty poměru E_2/E_3 naznačuje přítomnost struktur s vyšší molekulovou hmotností, aromaticitou a stupněm humifikace.

Poměr E_4/E_6 se určí pomocí absorbance při 465 nm až 665 nm. Hodnota tohoto poměru, tak zvaný index humifikace, koreluje také s průměrnou molekulovou hmotností a velikostí, a s obsahem kyslíku v huminových materiálech. Nízká hodnota humifikačního indexu pro huminové látky indikuje přítomnost látek s vyšší molekulovou hmotností a stupněm humifikace [75].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

- Destilovaná voda
- $\text{MgCl}_2 \cdot 6(\text{H}_2\text{O})$, SIGMA-ALDRICH
- Kyselina chlorovodíková, lach:ner
- Vzorky půd a huminových kyselin – dva druhy půd, které byly získány ve spolupráci s Přírodovědeckou fakultou RECETOX Masarykovy univerzity. První půda označená jako FB 17 (dále jako Půda 1) je typu lužní půda (černice) z oblasti Jablůnka okres Vsetín. Jako druhá půda byla zvolena půda s označením FB 37 (dále jako Půda 2), která je půdního typu fluvizemě z oblasti Černotín okres Přerov. Použité huminové kyseliny byly získány z těchto půd alkalickou extrakcí (z půdy 1 huminová kyselina 1, z půdy 2 huminová kyselina 2).

3.2 Použité přístroje

- EuroEA Elemental Analyser EA 3000
- UV-VIS spektrofotometr Hitachi U3900H
- FT-IR spektrofotometr Nicolet iS50, Thermo Scientific
- pH-metr a konduktometr METTLER TOLEDO
- Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments)
- Termogravimetrický analyzátor TGA Q50, TA Instruments
- Diferenční kompenzační kalorimetr DSC Q2000, TA Instruments

3.3 Extrakce huminové kyseliny z půdy

Huminové kyseliny použité v této práci byly získány metodou alkalické extrakce dle IHSS. V práci byly použity dva druhy půd a z každé z nich byla izolována huminová kyselina.

K 100 g půdy bylo přidáno 1 000 ml 0,1M roztoku HCl, takto připravená suspenze byla ponechána cca 1 hodinu na rotační třepačce. Dále byla suspenze zneutralizována 1M roztokem NaOH na hodnotu $\text{pH} \sim 7$ a ponechána přes noc na třepačce. Poté byla suspenze odstředěna při 4 000 RPM po dobu 20 min a dále přefiltrována za sníženého tlaku pomocí Büchnerovy nálevky. Roztok byl okyselen konc. HCl na hodnotu $\text{pH} \sim 1$, během noci docházelo k vysrážení huminových kyselin, které byly následně odstředěním při 4 000 RPM po dobu 20 min odděleny od supernatantu. Vysrážené huminové kyseliny byly znovu rozpuštěny přidavkem 200 ml 0,1M roztoku KOH, dále bylo přidáno 4,4 g KCl. Roztok by opět odstředěn při 4 000 RPM po dobu 30 min. Supernatant byl okyselen konc. HCl na hodnotu $\text{pH} \sim 1$ a k vysrážení huminových kyselin docházelo přes noc. Huminové kyseliny byly odděleny od supernatantu odstředěním při 4 000 RPM po dobu 20 min. K vysráženým huminovým kyselinám bylo přidáno 1 000 ml roztoku směsi 0,1M HCl a 0,3 M HF a takováto suspenze byla ponechána na třepačce dva dny. Poté byly huminové kyseliny odstředěny při 4 000 RPM po dobu 20 min a byly přeneseny do dialyzační membrány, kde docházelo k dialýze proti destilované vodě. Po čtyřech týdnech dialýzy byly huminové kyseliny vymrazeny a lyofilizovány.

3.4 Příprava extrakčních činidel

Pro extrakci půdy a huminových kyselin byla vybrána činidla, která se běžně používají na extrakci kovů a to 1M HCl, 1M MgCl₂ a destilovaná voda. Činidla byla připravena přesným odměřením a navážením určitého množství dané látky odpovídající požadované koncentraci. Toto množství látky bylo převedeno do odměrné baňky o objemu 250 ml a doplněno destilovanou vodou.

3.5 Příprava půd a huminových kyselin pro analýzu

Bylo naváženo 100 mg izolované huminové kyseliny a k ní přidáno 20 ml extrakčního činidla. Od každého činidla byla tři opakování, takže dohromady bylo 18 vzorků huminových kyselin. Takto připravená suspenze byla ponechána 48 hod na třepačce. Poté byla suspenze přefiltrována za normálního tlaku. Filtrát byl uschován na pozdější měření a pevný podíl byl ponechán v sušárně při teplotě 55 °C, poté byla huminová kyselina měřena.

Vzorek půdy byl přidán do extrakčního činidla v objemovém poměru 1:5 (4 ml půdy a 20 ml činidla). Opět byla od každého činidla tři opakování a dohromady bylo 18 vzorků půd. Suspenze byla ponechána 48 hod na třepačce a následovala filtrace za normálního tlaku. Filtrát byl uschován a pevný podíl byl vysušen.

3.6 Charakterizace vzorků půd a huminových kyselin

Všechny vzorky půd a huminových kyselin byly charakterizovány metodou elementární analýzy, pomocí níž bylo zjišťováno prvkové složení vzorků, které bylo následně mezi sebou porovnáváno. Měření bylo provedeno na Fakultě chemické, VUT v Brně pomocí přístroje EuroEA Elemental Analyser EA 3000.

3.6.1 Infračervená spektrometrie

Dále byly vzorky proměřeny metodou infračervené spektrometrie s Fourierovou transformací pomocí spektrofotometru Nicolet iS50. Byla použita technika zeslabeného úplného odrazu (ATR), kdy na ATR krystal je nanesen vzorek, který je s ním v dokonalém kontaktu. Do krystalu je přiveden svazek paprsků soustavou zrcadel, tak aby úhel dopadu na fázové rozhraní vyhověl podmínce úplného odrazu. Pro srovnání byly změřeny transmisní spektra i původních vzorků půd a huminových kyselin, které nebyly extrahovány. Analýza byla provedena v oblasti vlnočtů 400–4000 cm⁻¹.

3.6.2 UV-VIS spektrometrie

Výluhu všech vzorků byly proměřeny na UV-VIS spektrometrii, kde se zjišťovala absorbance jednotlivých vzorků. Na přístroji Hitachi U3900H byla zadána vlnová délka od 200 nm až do 900 nm, kvůli zvolené vlnové délce měření probíhalo v křemenných kyvetách. Dále byla provedena korekce na baselinu pomocí prostředí v nichž byly vzorky extrahovány. Z naměřených hodnot absorbancí byly stanoveny absorpční koeficienty.

3.6.3 pH a vodivost

Pomocí pH-metru a konduktometru firmy METTLER TOLEDO byly získány hodnoty pH a vodivosti výluhů půd a huminových kyselin, které byly porovnávány s hodnotami původních činidel.

3.6.4 Dynamický rozptyl světla a zeta potenciál

Výluhy byly také proměřeny na dynamickém rozptylu světla, pomocí přístroje Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments). Pomocí skleněných kyvet byla změřena distribuce velikosti částic, které byly pomocí činidla vyextrahovány ze vzorků půd a huminových kyselin. Jednotlivá měření byla třikrát opakována a z nich pak byla stanovena průměrná hodnota distribuce velikosti částic. Dále byl měřen zeta potenciál pomocí dip cely. Z výsledků zeta potenciálů se dále stanovila stabilita částic ve vzorcích.

3.7 Termická analýza

Při měření termické analýzy byly použity vzorky po vysušení.

3.7.1 Termogravimetrická analýza

Termogravimetrická analýza byla opět provedena pro všechny vzorky půd a huminových kyselin jak původních, tak i extrahovaných. Byl použit přístroj TA Instruments TGA Q50, jehož výsledky měření byly sbírány počítačovým softwarem. Měření probíhalo na platinových pánvičkách, na které bylo naváženo průměrně 2 mg vzorku. Jako reakční plyn byl zvolen kyslík, jehož průtok byl 60 ml/min, bilančním plynem byl dusík s průtokem 40 ml/min. Měření probíhalo od pokojové teploty, průměrně 27 °C až do 600 °C s krokem 10 °C/min. Naměřené výsledky byly následně zpracovány pomocí softwaru TA Instruments.

3.7.2 Diferenční kompenzační kalorimetrie

Všechny vzorky byly změřeny na přístroji DSC Q2000. Průměrná navážka činila kolem 2 mg vzorku, měření probíhalo na Tzero hliníkových pánvičkách. Při měření byla opět použita směsice plynů kyslíku a dusíku oba s průtokem 50 ml/min. Teplotní program byl nastaven od pokojové teploty až do 540 °C s krokem ohřevu 10 °C/min. Naměřené výsledky byly také zpracovávány pomocí softwaru TA Instruments.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Charakterizace půd a z nich izolovaných huminových kyselin

4.1.1 Elementární analýza

Vzorky původních půd a huminových kyselin a vzorky extrahovaných půd a huminových kyselin, byly charakterizovány pomocí elementární analýzy. Výsledky vzorků po extrakci byly porovnávány s výsledky původních vzorků a sledovalo se, zda se jednotlivé prvkové zastoupení s extrakcí mění. Dále byly z naměřených hodnot elementárního složení vypočteny atomové poměry H/C a O/C. Výsledné hodnoty jsou shrnuty v tabulce 2.

Tabulka 2: Zastoupení prvků v půdách a huminových kyselinách (vzorek bez popela)

Vzorek	Elementární analýza [atom. %]				Atomové poměry	
	N	C	H	O	H/C	O/C
HK 1	2,86	32,88	47,61	16,66	1,45	0,51
HK 1 v H ₂ O	2,62	32,97	49,26	15,15	1,49	0,46
HK 1 v MgCl ₂	1,95	26,29	45,29	26,46	1,72	1,01
HK 1 v HCl	2,64	34,32	44,43	18,61	1,29	0,54
Půda 1	0,21	2,51	10,73	86,56	4,27	34,49
Půda 1 v H ₂ O	0,22	2,26	9,58	87,94	4,24	38,91
Půda 1 v MgCl ₂	0,19	2,19	14,91	82,69	6,81	37,76
Půda 1 v HCl	0,22	2,46	10,33	86,99	4,19	35,36
HK 2	3,26	30,72	48,28	17,74	1,57	0,58
HK 2 v H ₂ O	3,17	31,92	47,67	17,24	1,49	0,54
HK 2 v MgCl ₂	2,16	22,45	48,61	26,78	2,17	1,19
HK 2 v HCl	3,09	32,66	43,27	21,97	1,32	0,67
Půda 2	0,18	2,23	12,15	85,45	5,45	38,32
Půda 2 v H ₂ O	0,18	2,09	11,79	85,94	5,64	41,12
Půda 2 v MgCl ₂	0,17	1,89	16,91	81,03	8,95	42,87
Půda 2 v HCl	0,18	1,89	12,18	85,74	6,44	45,37

Jak je z výsledků zřejmé, tak nejvyšší zastoupení ve vzorcích huminových kyselin má vodík a jako druhý nejvíce zastoupený je uhlík, za ním následuje kyslík a v menším zastoupení je i dusík. Když porovnáme původní vzorky HK 1 a HK 2 vidíme, že v HK 1 je obsaženo více uhlíku, ale méně vodíku než v HK 2. Stejný rozdíl je vidět i u Půdy 1 a Půdy 2, avšak v porovnání s huminovou kyselinou je obsah uhlíku v půdách velice nízký, naopak obsah kyslíku přesahuje 80 atom. %.

Porovnáním výsledků z extrakcí HK 1 a HK 2 vyplývá, že největší změna v obsahu uhlíku nastává při extrakci činidlem 1M MgCl₂, kdy dochází ke snížení obsahu uhlíku až o cca 1/3. U ostatních extrahovaných vzorků není tato změna tak výrazná. Ve vzorcích extrahovaných půd se porovnáním výsledků došlo k závěru, že největší změna v obsahu prvkového zastoupení je způsobena taktéž po extrakci činidlem 1M MgCl₂.

Hodnoty atomových poměrů nesou informaci o tom, zda jsou vzorky více aromatické, jestli obsahují více aromatického nebo alifatického uhlíku, jaký je jejich humifikační stupeň a informují nás o míře dehydrogenace a dekarboxylace sloučenin. Nižší hodnoty poměru H/C vykazují dehydrogenaci sloučenin, snížení poměru O/C znamená dekarboxylaci sloučenin. Čím nižší poměr H/C tím vyšší stupeň humifikace, vyšší aromaticita a kondenzace aromatického kruhu. Vysoký poměr O/C indikuje vysokou polaritu a tudíž vyšší rozpustnost ve vodě [76, 77].

Nejnižší hodnotu poměru H/C najdeme u huminových kyselin extrahovaných v 1M HCl naopak nejvyšší hodnota poměru je u huminových kyselin extrahovaných v 1M MgCl₂, extrakce ve vodě žádné výrazné změny nezpůsobila. Atomový poměr O/C zaznamenal největší změnu při extrakci 1M MgCl₂ a to téměř dvojnásobnou hodnotu poměru v porovnání s původní huminovou kyselinou. Hodnoty poměrů půd jsou několikrát vyšší než u huminových kyselin. Nejnižší hodnota poměru H/C je u Půdy 1 v HCl naopak nejvyšší hodnotu má Půda 2 v MgCl₂. Hodnoty poměrů O/C u půd se pohybují v rozmezí 30–40.

4.1.2 pH a vodivost

Výluhy z půd a huminových kyselin byly přefiltrovány a poté byla změřena jejich vodivost a pH. Pro porovnání byla změřena vodivost i pH samotných činidel. Výsledky jsou shrnuty v tabulce 3.

Při extrakci vodou došlo v porovnání s její vodivostí k nejvyššímu nárůstu vodivosti u půd, jejichž hodnota se zvedla až 10x. Extrakcí MgCl₂ se vodivost u všech vzorků snížila. Extrakce činidlem HCl taktéž způsobila výrazný pokles vodivosti u všech vzorků.

Největší změna pH nastala u vzorků huminových kyselin v 1M MgCl₂.

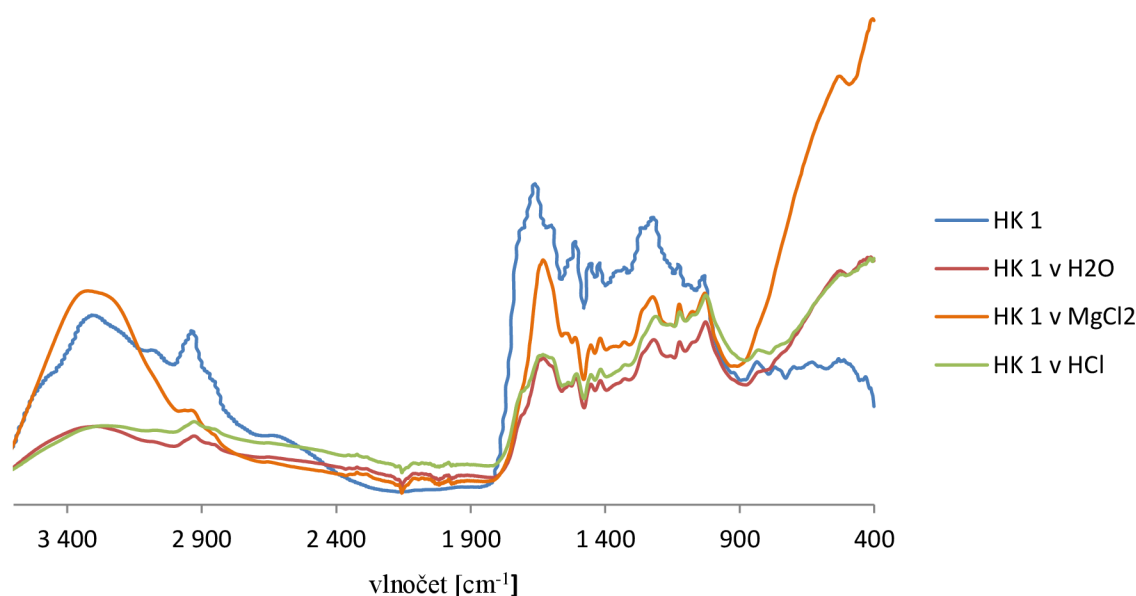
Tabulka 3: Hodnoty vodivosti a pH výluhů z půd a huminových kyselin

Vzorek	Vodivost [mS/cm]	pH
H ₂ O	0,04	5,1
1M MgCl ₂	81,40	4,4
1M HCl	236	0,4
HK 1 v H ₂ O	0,08 ± 0,01	4,27 ± 0,06
HK 1 v MgCl ₂	76,27 ± 1,35	1,95 ± 0,02
HK 1 v HCl	184,39 ± 1,45	0,61 ± 0,09
Půda 1 v H ₂ O	0,28 ± 0,02	6,78 ± 0,37
Půda 1 v MgCl ₂	75,87 ± 0,71	5,11 ± 0,07
Půda 1 v HCl	174,86 ± 1,09	0,44 ± 0,04
HK 2 v H ₂ O	0,07 ± 0,01	4,19 ± 0,01
HK 2 v MgCl ₂	75,85 ± 0,21	2,36 ± 0,25
HK 2 v HCl	186,23 ± 1,96	0,59 ± 0,09
Půda 2 v H ₂ O	0,42 ± 0,03	6,59 ± 0,28
Půda 2 v MgCl ₂	75,63 ± 1,65	6,34 ± 0,29
Půda 2 v HCl	162,31 ± 2,01	0,43 ± 0,03

4.1.3 Infračervená spektrometrie

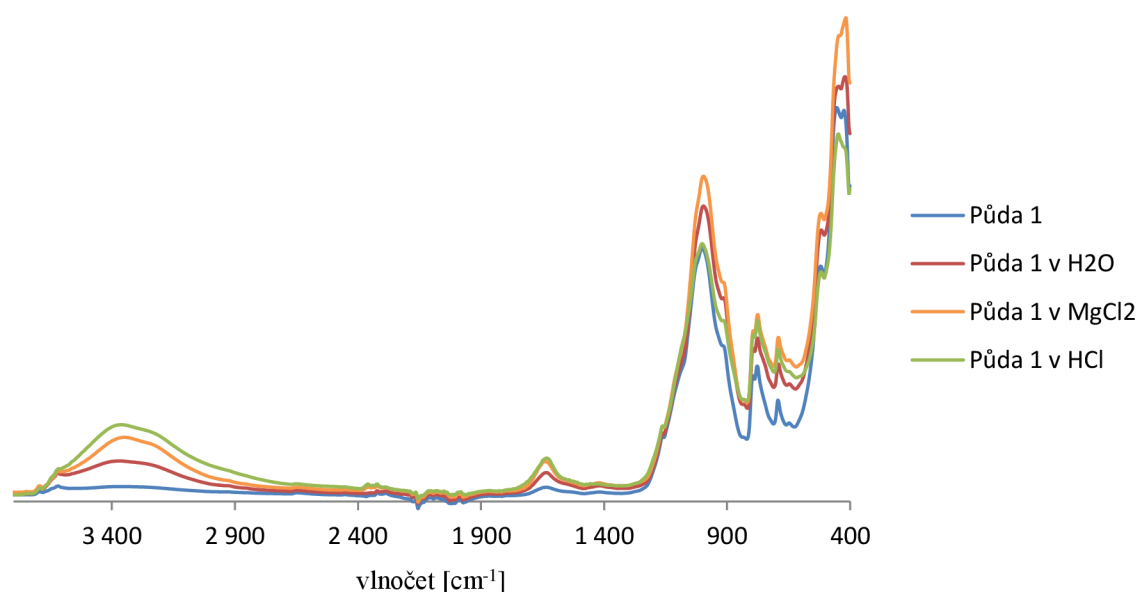
Vzorky půd a huminových kyselin byly charakterizovány pomocí infračervené spektrometrie. Cílem měření bylo posouzení vlivu extrakčních činidel na huminovou kyselinu nebo půdu.

Na obrázku 9 jsou vyobrazena FT-IR spektra vzorků huminové kyseliny 1. Vzorky od huminové kyseliny 1 mají hlavní absorpční pás v rozmezí $3400\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$, který odpovídá absorpci záření valenčních vibrací vodíkových vazeb v --OH skupinách. Huminové kyseliny mívají maximum tohoto pásu při 3400 cm^{-1} . V této oblasti se na absorpci podílí širokým a výrazným pásem adsorbovaná voda, přispívat mohou také valenční vibrace O--H alifatických alkoholů a skupin N--H . Zbytkový pás v této oblasti bývá zjištěn i u methylovaných nebo acetylovaných huminových kyselin, což se vysvětluje jednak absorpcí příslušející vibraci N--H , jednak rezistenci části --OH skupin vůči methylaci nebo acetylaci [71]. Tento pás je nejvíce výrazný u huminové kyseliny extrahované v MgCl_2 . Absorpční pás při vlnočtech 3030 cm^{-1} přísluší valenčním vibracím aromatické vazby C--H a měl by být zřetelný ve spektrech všech huminových kyselin, protože aromatické kruhy nebývají nikdy zcela substituovány. Tento pás je však výraznější jen ve spektrech látek s nízkým počtem substitucí na benzenovém jádře, při vyšším počtu substitucí je intenzita pásu velmi nízká. Další absorpční pás se nachází při rozmezí vlnočtu $2940\text{--}2900\text{ cm}^{-1}$ a připadá valenčním vibracím C--H vazeb alifatických řetězců. Další absorpční pás se nachází v rozmezí $1750\text{--}1720\text{ cm}^{-1}$, který odpovídá vibracím C=O vazeb v COOH skupinách, tento pás bývá nejvýraznějším ve FT-IR spektrech huminových kyselin. Další pás můžeme pozorovat při 1620 cm^{-1} , který může být přidělen vibracím C=C skupin v aromatických kruzích. Další méně výrazný absorpční pás se nachází při 1450 cm^{-1} připadající antisymetrické --C--H deformační vibraci alifatických skupin --CH_3 a $\text{--CH}_2\text{--}$. Rozmezí $1280\text{--}1230\text{ cm}^{-1}$ patří vibracím odpovídajícím C--O a deformační vibraci O--H v karboxylových a fenolických --OH skupinách. Pásky při vlnočtu menším než 700 cm^{-1} jsou připisovány minerální hmotě, nejvýraznější z nich jsou pásky při 522 cm^{-1} a 473 cm^{-1} .



Obrázek 9: FT-IR spektra vzorků huminových kyselin 1 před a po extrakci

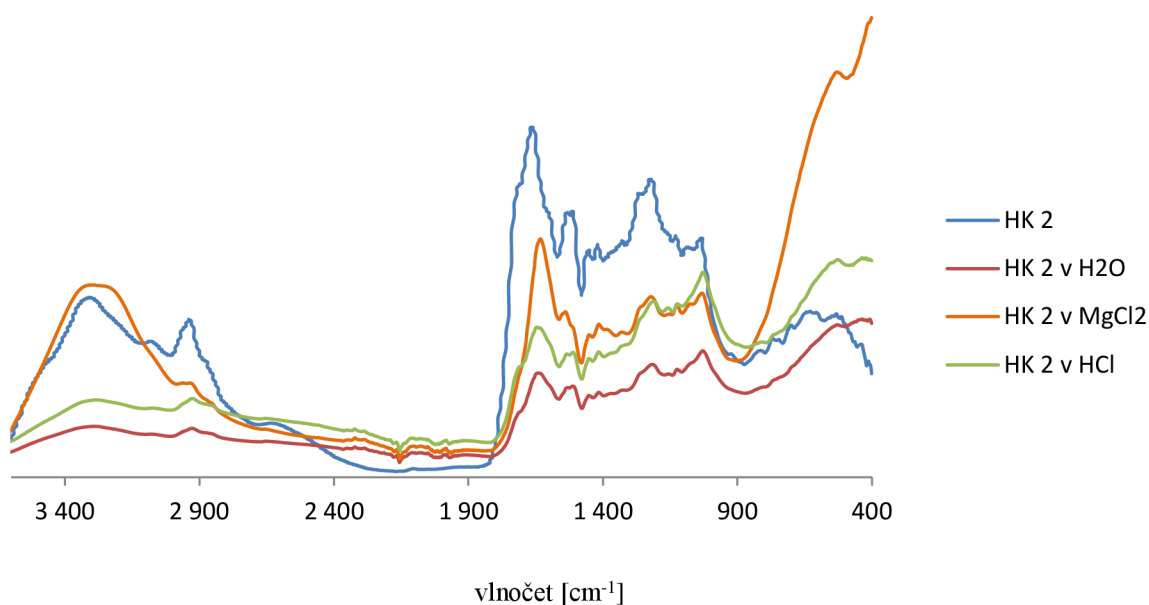
Srovnáním FT-IR spekter jednotlivých extrakcí na obrázku 9, nedochází k žádným výrazným změnám, hodnota absorpčního pásu $3400\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$ má vyšší intenzitu ve spektru huminové kyseliny extrahované v MgCl_2 než ve spektru původní huminové kyseliny, extrakce v HCl a ve vodě má naopak v tomto pásu intenzitu nižší. Intenzita pásma udává množství funkčních skupin odpovědných za absorpci infračerveného záření pro každou frekvenci. Pás v rozmezí $2940\text{--}2900\text{ cm}^{-1}$ není u žádné extrahované huminové kyseliny, tak výrazný jako u původní. Dále došlo k posunutí spektra extrahovaných huminových kyselin k nižším hodnotám vlnočtů v absorpčním pásu $1750\text{--}1720\text{ cm}^{-1}$. Další odlišností je i intenzita maxima v tomto rozmezí, kdy huminová kyselina v MgCl_2 má zřetelně výraznější pík než původní vzorek huminové kyseliny, další dva vzorky měly tento pík poloviční. Při vlnočtu 1620 cm^{-1} si můžeme všimnout, že tento pás není u extrahovaných vzorků příliš intenzivní, zejména po extrakci MgCl_2 , kdy tento pás téměř zaniká. Další rozmezí vlnočtů, ve kterém se liší intenzita píku je $1280\text{--}1230\text{ cm}^{-1}$, u původní huminové kyseliny je vidět velký intenzivní pík, u ostatních vzorků je tento pík poměrně menší. Absorpční pás při 1450 cm^{-1} je u extrahovaných huminových kyselin téměř nepatrný. Pásky připadající na minerální hmotu jsou nejvýraznější u vzorků huminových kyselin po extrakci, největší intenzita se zaznamenala u MgCl_2 u zbylých dvou extrakcí jsou tyto pásky poloviční.



Obrázek 10: FT-IR spektra vzorků půdy 1 před a po extrakci

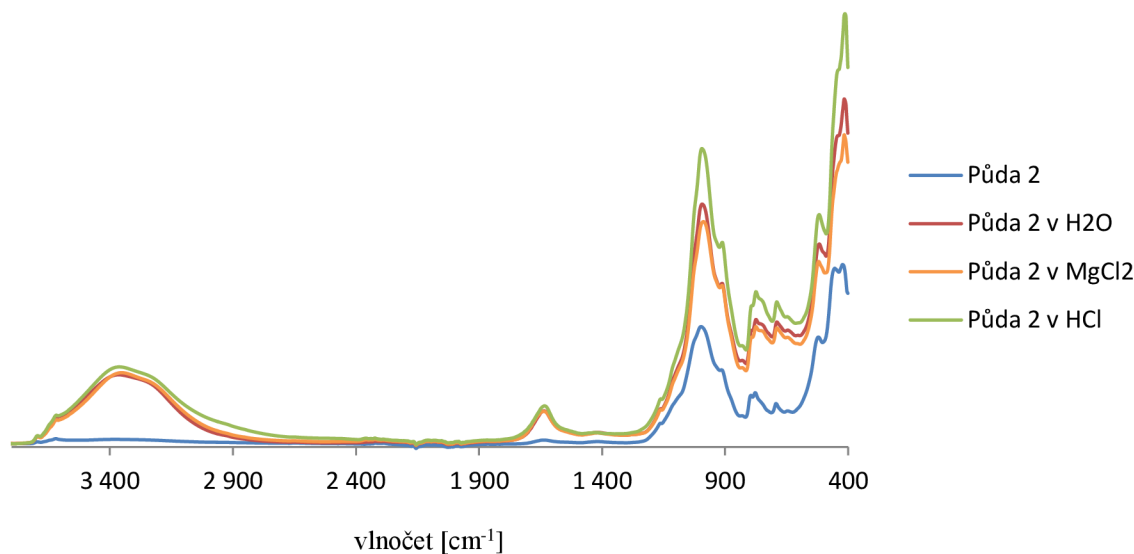
Spektra na obrázku 10 odpovídají vzorkům půdy 1. Na rozdíl od huminových kyselin nemají spektra půdy, tak výrazný pás v oblasti $3400\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$, který odpovídá vibraci vodíkových vazeb v $-\text{OH}$ skupinách jílových minerálních struktur. U původního vzorku není tento pás téměř zřetelný, objevuje se až u vzorků po extrakci a nejvíce u půdy v HCl . Pásky při $2947\text{--}2858\text{ cm}^{-1}$ odpovídají vibracím symetrických a asymetrických úseků alifatických C-H vazeb v $-\text{CH}_2-$ a $-\text{CH}_3$ skupinách, které přispívají k nepolární složce půdní organické hmoty. Absorpční pásky při $1647\text{--}1633\text{ cm}^{-1}$ jsou přiřazeny relativně polárním funkčním skupinám obsahující atomy dusíky nebo kyslíku. Další pás můžeme pozorovat až při 1620 cm^{-1} , který

bývá přidělen vibracím C=C dvojným vazbám v aromatických kruzích. I tady je pás nejintenzivnější u půdy v HCl a MgCl₂. Dále je ve spektru široký pás, který má rozmezí 1200–800 cm⁻¹ a jeho maximum je při 1000 cm⁻¹, tento pás může odpovídat valenční vibraci C–O polysacharidů nebo vibracím podobných látek. Intenzita absorbovaného záření je u tohoto pásu pro všechny vzorky téměř stejná, nejvyšší je u extrakce MgCl₂ a H₂O, vzorek původní půdy a huminové kyseliny v HCl je v tomto pásu totožný. Absorpční pásy dále vidíme při 830 cm⁻¹ a 775 cm⁻¹, které připadají mimorovinným deformačním vibracím aromatické vazby C–H. Jelikož je ve všech půdách přítomen křemen, je možné, že pásmo 798–779 cm⁻¹ a 1046–1025 cm⁻¹ připadá vibracím skupiny minerálních SiO.



Obrázek 11: FT-IR spektra vzorků huminových kyselin 2 před a po extrakci

Na obrázku 11 jsou FT-IR spektra vzorků huminové kyseliny 2. Porovnáním se spektrem huminové kyseliny 1, jsou spektra velmi podobná. Také se zde nachází široký pás v rozmezí 3400–3300 cm⁻¹, který není tolik intenzivní jako v předchozím spektru. Pás 2940–2900 cm⁻¹ je zřetelný u původní huminové kyseliny, ale po extrakci se intenzita tohoto pásu snížila. Absorpční pás 1750–1720 cm⁻¹ nám ukazuje, jak jednotlivé extrakce snižují intenzitu tohoto pásu, nejvyšší intenzitu vykazuje extrakce v MgCl₂ a nejnižší intenzita nastala po extrakci v H₂O. Další pás, ve kterém došlo ke změně intenzity vlivem extrakce je při 1620 cm⁻¹. Rozmezí 1280–1230 cm⁻¹, které odpovídá vibracím C–O a deformační vibraci O–H v karboxylových a fenolických skupinách, je nejintenzivnější u původní huminové kyseliny, extrakcí se tento výrazný pás snížil. A pásy při vlnočtu menším než 700 cm⁻¹ jsou stejně jak u huminové kyseliny 1 nejintenzivnější při extrakci MgCl₂.



Obrázek 12: FT-IR spektra vzorků půdy 2 před a po extrakci

Na obrázku 12 vidíme FT-IR spektra vzorků před a po extrakci půdy 2. Při porovnání s předchozím spektrem půdy 1 vidíme, že spektrum půdy 2 má mnohem intenzivnější pásy. Původní půda nevykazuje žádnou absorpční vlnu v oblasti $3400\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$ na rozdíl od půd po extrakci, jejich intenzita je v této oblasti vysoká. Ani při $1647\text{--}1633\text{ cm}^{-1}$ není pozorován u původní půdy žádný pás, který by odpovídal vibracím funkčních skupin s obsahem kyslíku a dusíku. U půd po extrakci je tento pás zřetelný. Oblast absorpčního pásu $1300\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$ může odpovídat vibraci C–H vazby v aromatickém kruhu, vibraci C–O vazby v kyslíkatých funkčních skupinách, vibrace v C–O vazbách polysacharidů nebo vibrace v alifatických a aromatických aminech. Tento pás je intenzivní pro všechny extrahované půdy, nejvíce u extrakce v HCl, u původní půdy je intenzita menší přibližně o 1/3. I v těchto spektrech je výrazný pás, který připadá minerálům především SiO, který se nachází při $798\text{--}779\text{ cm}^{-1}$ a $1046\text{--}1025\text{ cm}^{-1}$. Jak ze spektra vyplývá, tak nejvyšší intenzitu absorbovaného záření má půda v HCl, za ní následuje půda v H₂O a MgCl₂ a jako poslední s nejnižší intenzitou je původní půda.

4.1.4 UV-VIS spektrometrie

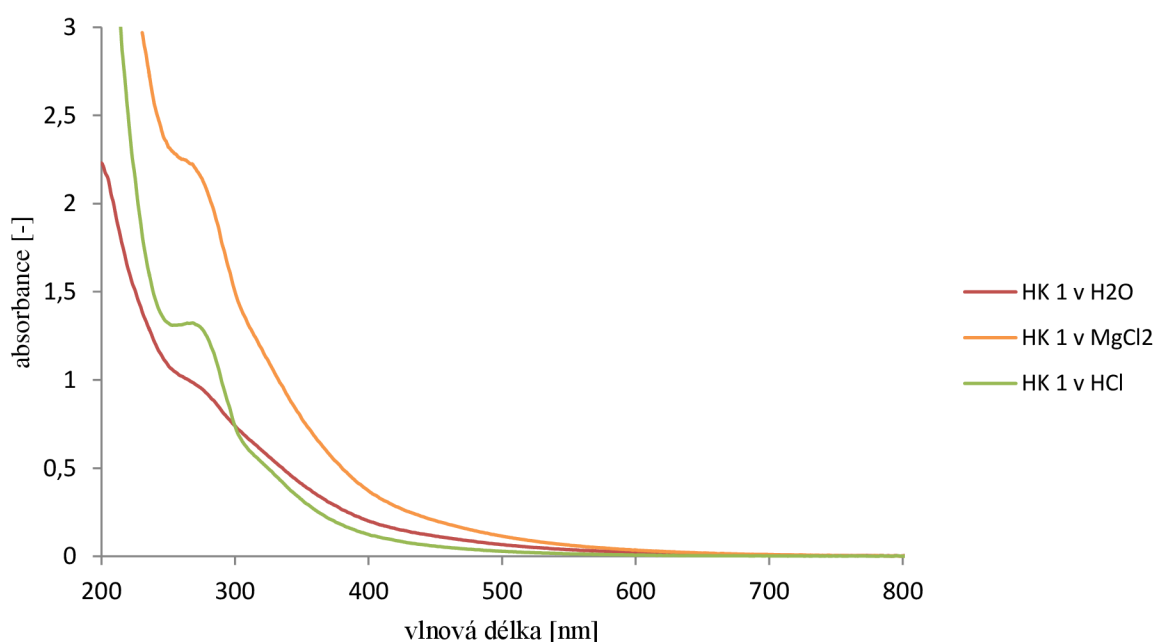
Z naměřených UV-VIS spekter byly odečteny hodnoty absorpčních A_{250} , A_{365} , A_{465} , A_{665} , A_{600} a A_{400} . Z těchto absorpčních pak byly určeny absorpční poměry E_2/E_3 , E_4/E_6 a $\Delta \log K$. Všechny tyto absorpční indexy poskytují informace o aromaticitě huminových látek. Poměr E_2/E_3 , který se získá z hodnot absorpce při 250 a 365 nm. Nižší hodnoty tohoto poměru mohou naznačovat přítomnost struktur s vyšší molekulovou hmotností aromaticitou a stupněm humifikace.

Poměr E_4/E_6 byl získán poměrem hodnot absorpce při 465 a 665 nm. Nízká hodnota tohoto indexu potvrzuje přítomnost látek s vyšší molekulovou hmotností a stupněm humifikace. Vyšší hodnoty mohou indikovat přítomnost funkčních skupin obsahujících

kyslík. Jako další parametr byl v této práci zvolen optický parametr $\Delta \log K$, který byl získán výpočtem pomocí absorbance při 600 a 400 nm [75]. Všechny naměřené hodnoty absorpčních koeficientů jsou shrnuty v tabulce 4.

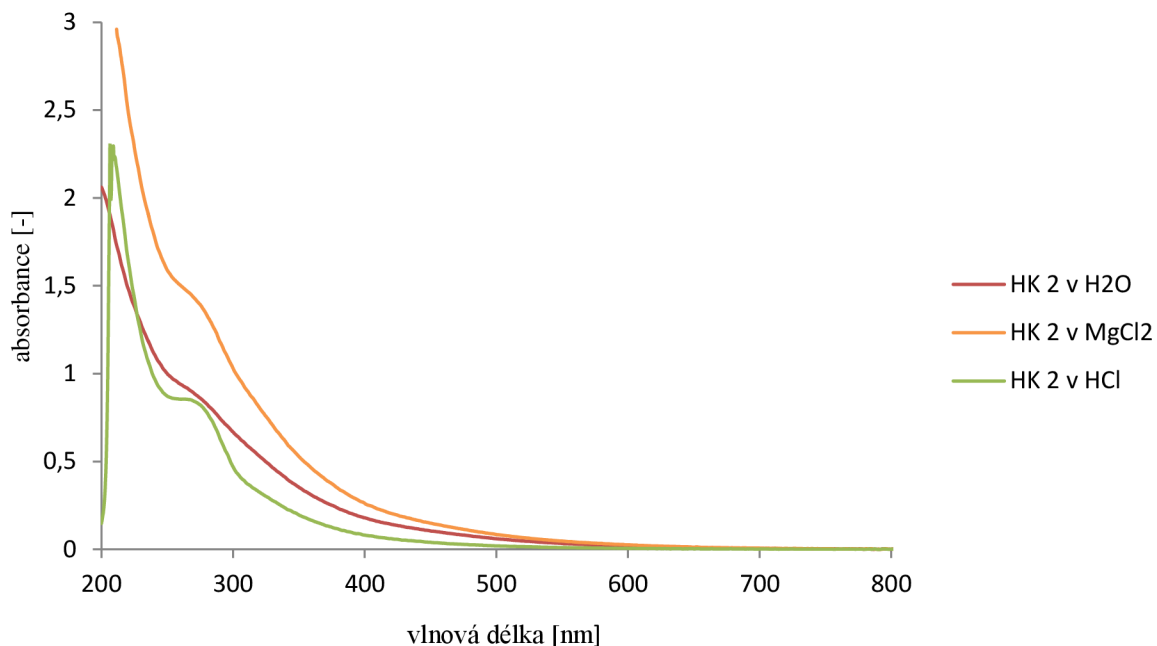
Kvůli vysoké absorbanci některých vzorků bylo nutné jejich ředění a to konkrétně u vzorků obou huminových kyselin extrahovaných v H_2O , kde se ředilo 10x, dále vzorek půdy 1 v HCl ředění 10x a vzorek půdy 2 v $MgCl_2$ ředění 2x.

Na obrázku 13 jsou zobrazena UV-VIS spektra výluhů huminové kyseliny 1. Můžeme pozorovat, že naměřená spektra mají typický průběh pro huminové kyseliny, kdy v oblasti nad 800 nm nedochází k žádné absorpci záření. K absorpci dochází až při nižších hodnotách počínajících od 600 nm. U křivky výluhu huminové kyseliny extrahované HCl si můžeme povšimnout maxima při 270 nm, které dosahuje hodnoty absorbance 1,32. Cílem měření bylo porovnat jednotlivé křivky a posoudit vliv extrakčního činidla. Ze spekter výluhů huminové kyseliny extrahované HCl a H_2O můžeme poznamenat, že struktura huminové kyseliny v obou činidlech je podobná, protože jejich absorpční spektra nejsou příliš odlišná. Spektrum výluhu huminové kyseliny extrahované $MgCl_2$ dosahuje vyšší absorbance, takže se předpokládá jistá změna ve struktuře.



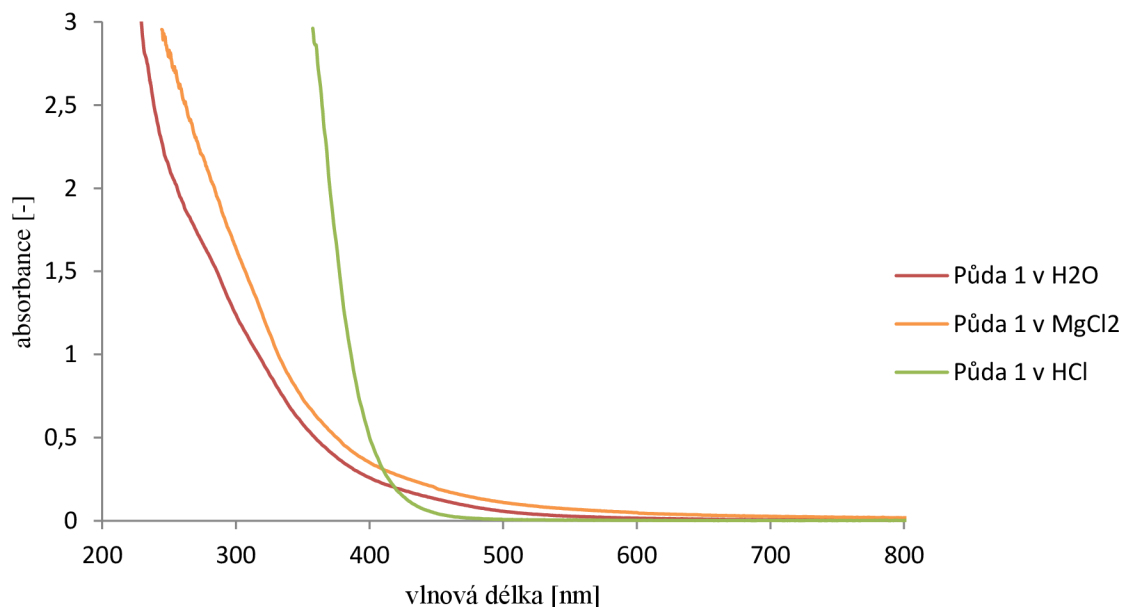
Obrázek 13: UV-VIS spektra výluhů huminové kyseliny 1

Stejně tak jako spektrum výluhů huminové kyseliny 1, tak i absorpční spektra výluhů huminové kyseliny 2, která jsou zobrazena na obrázku 14, mají podobný průběh. Začátek absorbance taktéž začíná kolem 600 nm a je zde vidět jedno maximum a to ve výluhu huminové kyseliny extrahované HCl. Toto maximum dosahuje hodnoty absorbance 0,85 při vlnové délce 260 nm. Tato křivka však nevykazuje, tak vysokou absorbanci jako výluh huminové kyseliny 1 extrahované HCl, tam byla absorbance mnohem vyšší. Všechny křivky opět vykazují podobný průběh, tím pádem i podobnou strukturu huminové kyseliny.

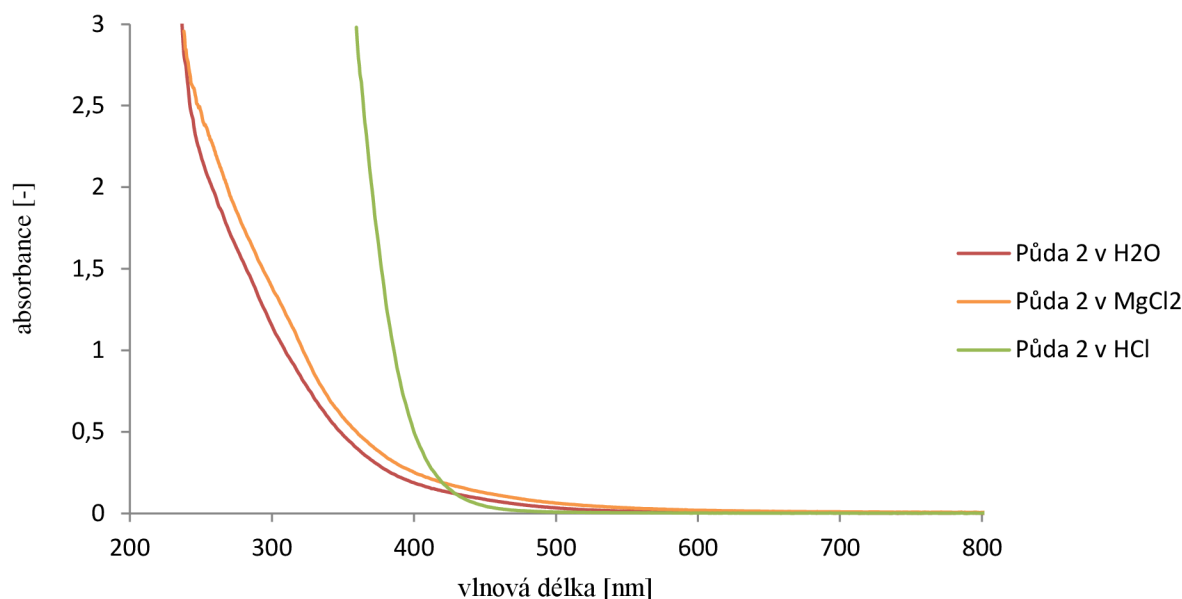


Obrázek 14: UV-VIS spektra výluhů huminové kyseliny 2

Další co bylo změřeno, jsou výluhy půd. Na obrázku 15 vidíme absorpční spektrum výluhu půdy 1 a na obrázku 16 zase spektrum výluhu půdy 2. Porovnáním těchto dvou spekter vidíme velmi podobný průběh, zvláště u extrakce HCl kde vidíme, že po překročení 500 nm, absorbance prudce stoupá. Nárůstu absorbance se nedalo zabránit ani ředěním vzorku. Vzorky půd extrahované H₂O a MgCl₂ mají téměř totožné absorpční spektrum, především u půdy 2, což nenaznačuje žádnou změnu způsobenou extrakcí.



Obrázek 15: UV-VIS spektra výluhů půdy 1



Obrázek 16: UV-VIS spektra výluhů půdy 2

V následující tabulce jsou uvedeny hodnoty absorpčních koeficientů. Hodnoty poměru E_2/E_3 byly vypočteny pro všechny výluhu kromě půdy extrahované HCl, kdy z naměřených absorpčních spekter, se nedala určit hodnota absorbance při potřebné vlnové délce. Poměr E_2/E_3 byl nejvyšší u výluhu půdy 2 extrahované H_2O a nejnižší u výluhu huminové kyseliny 1 extrahované H_2O . Výluhy půd a huminových kyselin extrahovaných HCl vykazují vysoké hodnoty tohoto poměru, dá se tedy předpokládat, že to jsou vzorky s nižší molekulovou hmotností a stupněm humifikace. Naopak výluhy huminových kyselin extrahovaných H_2O a $MgCl_2$ vykazují vysokou molekulovou hmotnost, vyšší stupeň humifikace a vyšší aromaticitu.

Dalším parametrem, který byl vypočten je poměr E_4/E_6 . Poměr je nejvyšší opět u výluhu půdy 1 tentokrát extrahované HCl, nejnižší hodnotu poměru má výluh půdy 1 extrahované $MgCl_2$. Vyšší poměry E_4/E_6 podle údajů z literatury naznačují nižší stupeň kondenzovaných aromatických systémů, menší velikosti částic nebo menší molekulovou hmotnost. Z výsledků se předpokládá, že výluhu huminových kyselin pravděpodobně mají nižší molekulovou hmotnost než některé výluhy půd, především pak výluhy půd extrahované H_2O a $MgCl_2$.

Výsledky $\Delta \log K$ ukazují, že stupeň humifikace výrazně klesá v pořadí výluhů: Půda 1 v $MgCl_2$ > HK 2 v H_2O a HK 1 v H_2O > HK 2 v $MgCl_2$ a HK 1 v $MgCl_2$ > Půda 1 v H_2O > HK 2 v HCl > Půda 2 v H_2O > Půda 2 v $MgCl_2$ > HK 1 v HCl > Půda 2 v HCl a Půda 1 v HCl. Z řady vyplývá, že extrakce 1M HCl výrazně snížila stupeň humifikace hlavně u vzorků půd, ale i huminových kyselin. Extrakce H_2O a 1M $MgCl_2$ působila na vzorky půd a huminových kyselin velmi podobně.

Tabulka 4: Hodnoty absorpčních poměrů výluhů huminových kyselin a půd

Vzorek	E_2/E_3	E_4/E_6	$\Delta \log K$	$A_{\max} [-]$
HK 1 v H ₂ O	3,29 ± 0,03	10,94 ± 1,01	0,99 ± 0,03	–
HK 1 v MgCl ₂	3,72 ± 0,05	10,65 ± 0,61	1,01 ± 0,02	–
HK 1 v HCl	5,55 ± 0,05	15,17 ± 0,24	1,26 ± 0,05	1,32
Půda 1 v H ₂ O	4,71 ± 0,13	8,81 ± 0,92	1,15 ± 0,08	–
Půda 1 v MgCl ₂	5,10 ± 0,23	5,71 ± 0,42	0,94 ± 0,07	–
Půda 1 v HCl	–	22	2,70	–
HK 2 v H ₂ O	3,51 ± 0,03	11,19 ± 0,27	0,99 ± 0,02	–
HK 2 v MgCl ₂	3,74 ± 0,06	11,52 ± 0,17	1,01 ± 0,01	–
HK 2 v HCl	5,71 ± 0,07	10,21 ± 0,65	1,19 ± 0,11	0,85
Půda 2 v H ₂ O	5,96 ± 0,14	6,89 ± 0,39	1,21 ± 0,25	–
Půda 2 v MgCl ₂	5,38 ± 0,06	11,71 ± 4,42	1,23 ± 0,11	–
Půda 2 v HCl	–	18,80 ± 7,36	2,70	–

4.1.5 Dynamický rozptyl světla a zeta potenciál

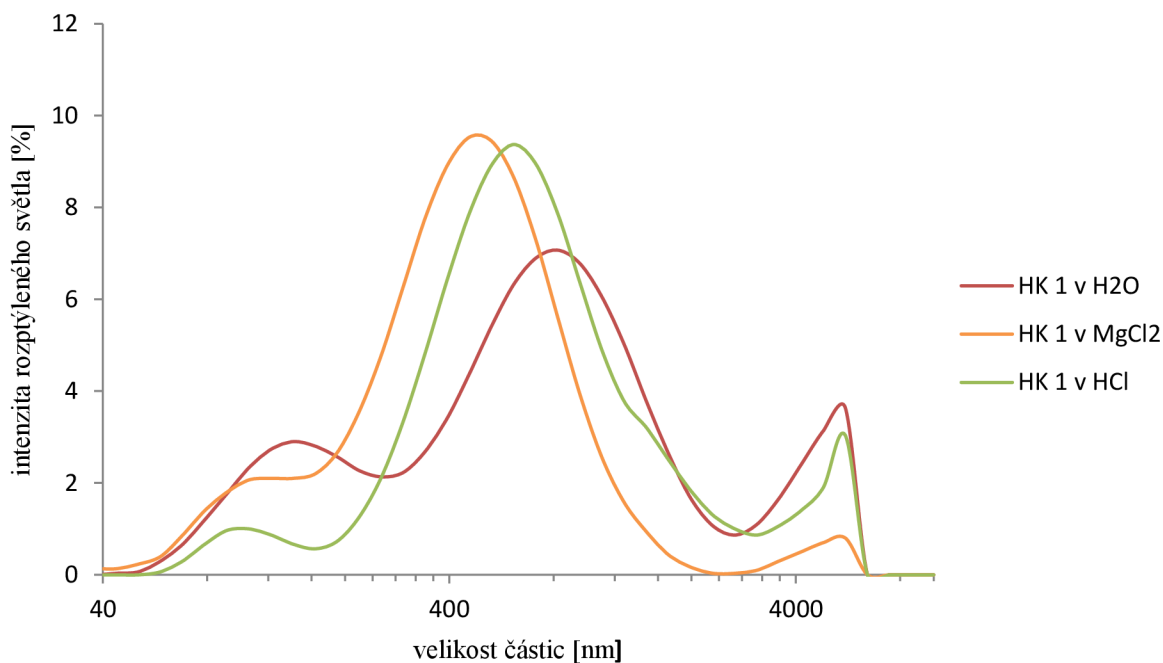
U všech studovaných vzorků huminových kyselin a půd byly proměřeny distribuce velikosti částic jejich výluhů. Byla využita technika dynamického rozptylu světla, jehož výstupem je intenzitní distribuce velikosti částic. Nutno připomenout, že tato distribuce není příliš věrohodná pro určení množství částic v jednotlivých frakcích, z důvodu že je vyhodnocována pomocí intenzity rozptylu světla, kde větší částice rozptylují více světla než částice malé. Proto při vyhodnocení byla použita ještě objemová a početní distribuce velikosti částic. Distribuce velikosti částic úzce souvisí s koloidní stabilitou huminových částic ve studovaných systémech. Pro stanovení stability částic byl u každého vzorku změřen jeho zeta potenciál, výsledky jsou shrnuty v tabulce 5.

Tabulka 5: Průměrné hodnoty zeta potenciálů a vodivosti výluhů huminových kyselin a půd

Vzorek	ζ [mV]	Vodivost [mS/cm]
HK 1 v H ₂ O	-16,98 ± 1,65	0,08 ± 0,01
HK 1 v MgCl ₂	-2,25 ± 2,15	76,27 ± 1,35
HK 1 v HCl	-0,81 ± 2,74	184,39 ± 1,45
Půda 1 v H ₂ O	-1,09 ± 0,93	0,28 ± 0,02
Půda 1 v MgCl ₂	1,05 ± 0,26	75,87 ± 0,71
Půda 1 v HCl	-2,54 ± 3,72	174,86 ± 1,09
HK 2 v H ₂ O	-17,60 ± 0,70	0,07 ± 0,01
HK 2 v MgCl ₂	-2,38 ± 0,96	75,85 ± 0,21
HK 2 v HCl	-1,33 ± 3,00	186,23 ± 1,96
Půda 2 v H ₂ O	0,14 ± 0,11	0,42 ± 0,03
Půda 2 v MgCl ₂	-4,31 ± 1,98	75,63 ± 1,65
Půda 2 v HCl	0,42 ± 3,32	162,31 ± 2,01

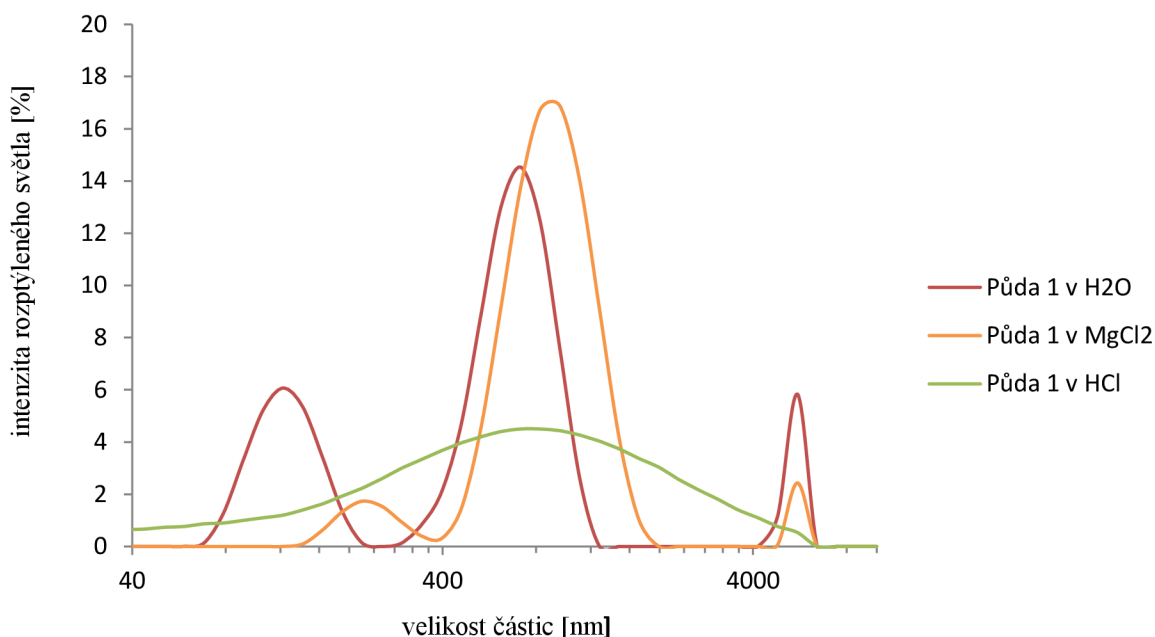
Hodnota zeta potenciálu pro nestabilní částice se pohybuje v rozmezí -30 až 30 mV. Částice, které mají zeta potenciál mimo toto rozhraní mají dostatečný náboj, aby se odpuzovaly a tudíž nevytvářely agregáty. Na hodnotu zeta potenciálu má nepřímo úměrný vliv i vodivost vzorku. Z naměřených hodnot vyplývá, že všechny částice, obsažené ve výluzích vykazují nestabilitu. Nejvyšší zeta potenciál najdeme u výluhů huminových kyselin extrahovaných H_2O , který má i nejnižší hodnoty vodivosti. I přesto spadá mezi nestabilní částice.

Na obrázku 17 můžeme vidět intenzitní distribuce pro studovanou huminovou kyselinu 1, která byla extrahována ve třech různých činidlech. Z obrázku je zřejmé, že v každé distribuci se nachází tři frakce částic o různé velikosti. V první frakci se velikost částic pohybuje kolem $70-200$ nm, v druhé frakci jsou částice v rozmezí $200-2000$ nm a třetí frakce obsahuje částice s velikostí nad 4000 nm. Když se zaměříme na první frakci malých částic, je patrné, že nejvyšší intenzitu má výluh huminové kyseliny extrahované H_2O , nejnižší intenzita je pak u výluhu huminové kyseliny extrahované HCl . Ve druhé frakci je intenzita rozptýleného světla nejvyšší a to hlavně u výluhu huminové kyseliny extrahované $MgCl_2$, nejnižší intenzitu vykazuje výluh huminové kyseliny extrahované H_2O . V poslední frakci, kde jsou zastoupeny největší částice, vykazují nejvyšší intenzitu rozptylu světla výluhy huminové kyseliny extrahované H_2O a HCl . Z výše uvedených hodnot zeta potenciálu je zřejmé, že částice jsou nestabilní a vytvářejí agregáty. V této oblasti jsou pravděpodobně zastoupeny také molekuly, které byly afinitní silou činidla vylouhovány ze vzorku huminové kyseliny nebo některé uhlíkaté řetězce, které se při extrakci kyselinou chlorovodíkovou podařilo odštěpit. Může to být i anorganický materiál, jako jsou křemičitany, které se nepodařilo při izolaci odstranit.



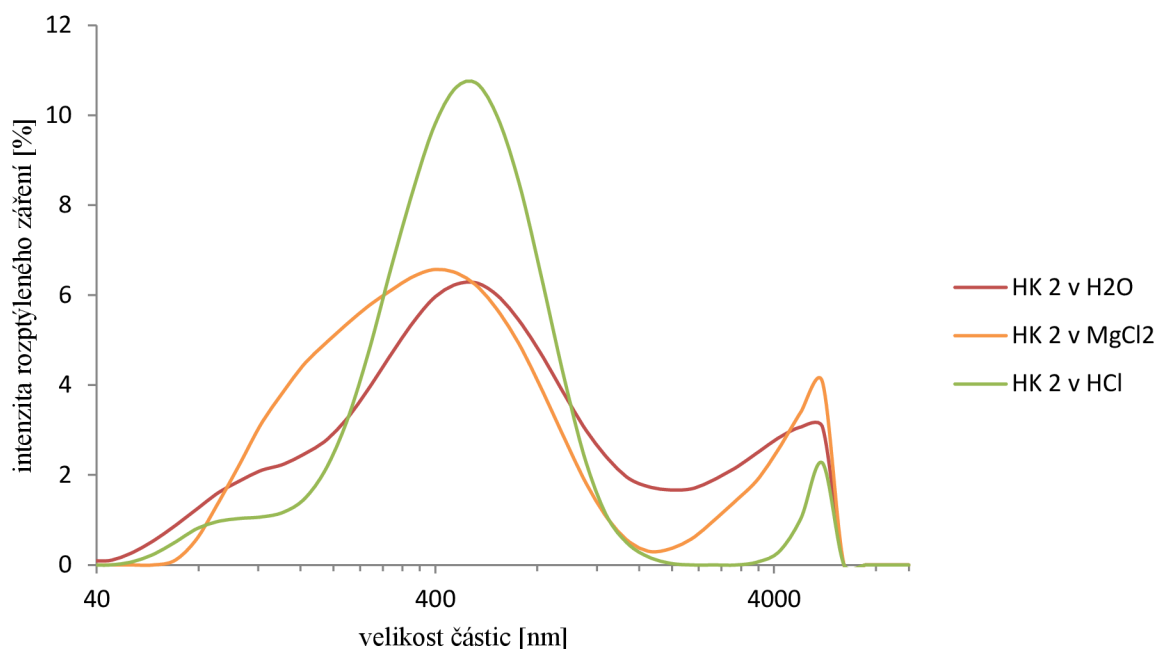
Obrázek 17: Intenzitní distribuce velikosti částic výluhů huminové kyseliny 1

Na obrázku 18 je znázorněna intenzitní distribuce velikosti částic výluhů půdy 1. Můžeme zde také pozorovat tři frakce, vyjma výluhu půdy extrahované HCl, kde vznikla jedna široká oblast s nízkou intenzitou. První pík patří výluhu půdy extrahované H₂O s velikostí částic 70–200 nm. I výluh půdy extrahované MgCl₂ má v této oblasti pík v rozmezí 100–400 nm, avšak jeho intenzita není tak výrazná. Ve střední oblasti, 400–2000 nm, se nachází píky s vysokou intenzitou, patřící výluhům půdy extrahované H₂O a MgCl₂. Což naznačuje, že podle supramolekulární teorie se ve vodném prostředí tvoří různé agregáty, které jsou spojené slabými ne vazebnými interakcemi. V distribuci se nachází i intenzivní pík velkých částic (nad 4000 nm).



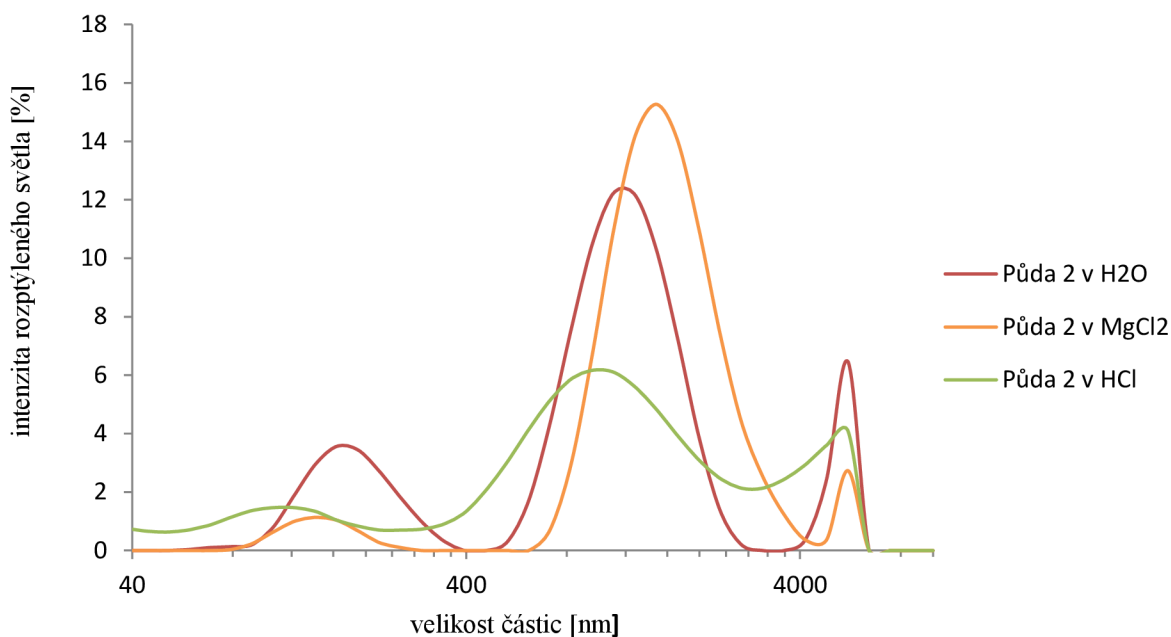
Obrázek 18: Intenzitní distribuce velikosti částic výluhů půdy 1

Na obrázku 19 jsou uvedeny intenzitní distribuce studované huminové kyseliny 2, která byla také extrahována ve třech různých činidlech. Zde můžeme vidět pouze dvě frakce, pík odpovídající molekulám do 100 nm není tak jasně zřetelný, což naznačuje, že částice jsou agregované oproti částicím ve výluhu huminové kyseliny 1. První frakce je v oblasti 100–1000 nm a druhá nad 4000 nm. Když se zaměříme na první oblast, všimneme si, že nejvyšší intenzitu má výluh huminové kyseliny extrahované HCl. Zbylé dvě extrakce mají intenzitu podobnou. Intenzita částic nad 4000 nm je nejvýraznější u výluhu huminové kyseliny extrahované MgCl₂, za ní následuje extrakce huminové kyseliny H₂O a nejnižší intenzitu má extrakce HCl.



Obrázek 19: Intenzitní distribuce velikosti částic výluhů huminové kyseliny 2

Na obrázku 20 je intenzitní distribuce výluhů půdy 2. Opět vidíme tři frakce, jejichž polohy se u každého vzorku mění. Nízká intenzita a rozsah velikostí 50–300 nm patří výluhu půdy extrahované HCl, což naznačuje, že extrakcí HCl došlo k odštěpení malých částí z původní částice. Výluh půdy extrahované H₂O má nejvyšší intenzitu a velikost částic 80–400 nm a výluh půdy extrahované MgCl₂ má nejnižší intenzitu a rozsah 80–300 nm. Ve střední části, je vysoké zastoupení částic s různou velikostí, která se pohybuje v rozmezí 400–4000 nm, oproti předchozím měřením, kde maximální velikost částic ve střední oblasti byla 2000 nm, se v těchto vzorcích nachází velká spousta agregátů. Nejvyšší intenzitu rozptýleného světla v této oblasti vykazuje výluh půdy extrahované MgCl₂. V poslední frakci se nachází agregáty větší než 4000 nm, nejsilnější intenzitu vykazuje výluh půdy extrahované H₂O, po ní pák extrakce HCl a nejnižší intenzitu najdeme u výluhu půdy extrahované MgCl₂.



Obrázek 20: Intenzitní distribuce velikosti částic výluhů půdy 2

V tabulce 6 jsou shrnuty výsledky DLS měření. Byl zjišťován index polydisperzity (Pdi) a Z-průměr. Hodnoty indexu polydisperzity jsou 0 až 1, kde 1 znamená, že systém je polydisperzní, za monodisperzní systém se považuje ten, který má hodnotu Pdi 0,1. Z výsledků plyne, že u všech výluhů půd i huminových kyselin existuje více než jedna velikost agregátů.

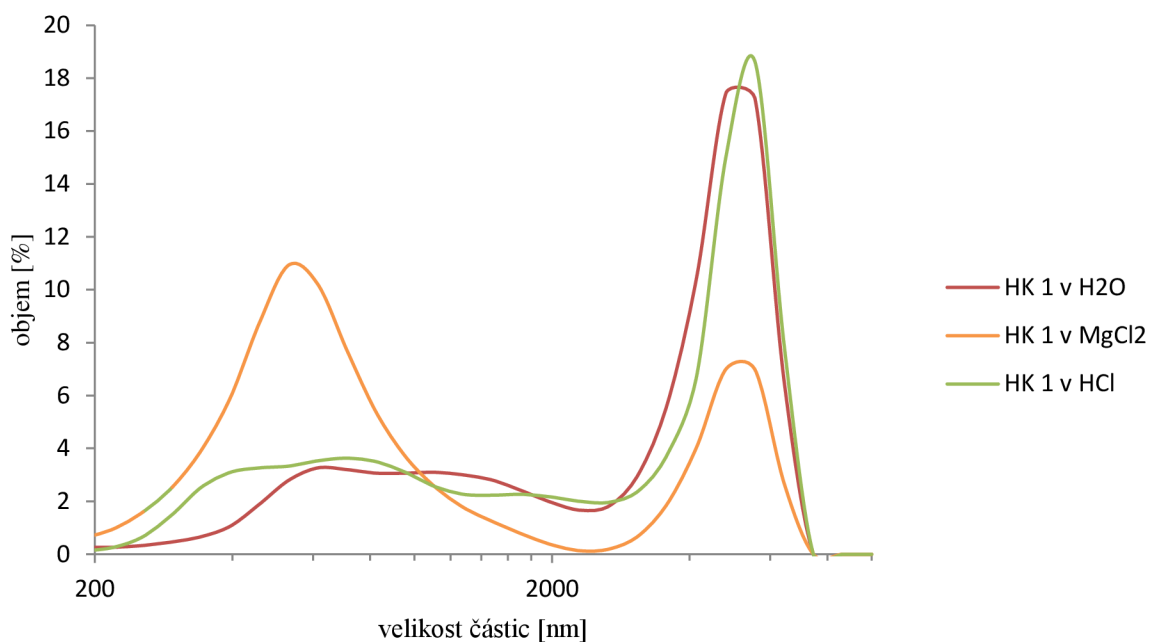
V literatuře je uvedeno, že při vyšších hodnotách pH (≥ 5) dochází k tomu, že proces degradace pravděpodobně převažuje nad disociací, což vede k poklesu Z-průměru. Při nižších hodnotách pH dochází naopak k výraznému nárůstu Z-průměru [78]. Nejnižší hodnotu pH mají výluhy extrahované HCl, které mají i nejvyšší hodnotu Z-průměru u výluhů huminových kyselin, u výluhů půd nabývají hodnot nejnižších. Nejvyšší hodnoty Z-průměrů u půd můžeme najít u výluhů extrahovaných MgCl₂ avšak u výluhů huminových kyselin je Z-průměr v tomto činidle nejnižší. Hodnoty Z-průměrů naměřených výluhů nejsou příliš vypovídající hodnotou, protože ve většině vzorků se najde více frakcí než jedna.

Tabulka 6: Výsledky z měření dynamického rozptylu světla výluhů půd a huminových kyselin

Vzorek	Z-průměr (d·nm)	Polydisperzita
HK 1 v H ₂ O	399,23 ± 5,64	0,92 ± 0,08
HK 1 v MgCl ₂	338,27 ± 6,31	0,44 ± 0,02
HK 1 v HCl	647,95 ± 2,76	0,56 ± 0,09
Půda 1 v H ₂ O	1 336,33 ± 175,99	1,00 ± 0
Půda 1 v MgCl ₂	1 119,00 ± 66,47	0,75 ± 0,07
Půda 1 v HCl	172,25 ± 13,22	0,88 ± 0,20
HK 2 v H ₂ O	409,15 ± 8,69	0,55 ± 0,01
HK 2 v MgCl ₂	336,85 ± 7,42	0,66 ± 0,03
HK 2 v HCl	417,85 ± 9,26	0,44 ± 0,01
Půda 2 v H ₂ O	971,37 ± 4,45	0,72 ± 0,07
Půda 2 v MgCl ₂	1 471,00 ± 18,38	0,67 ± 0,07
Půda 2 v HCl	461,97 ± 129,84	0,80 ± 0,01

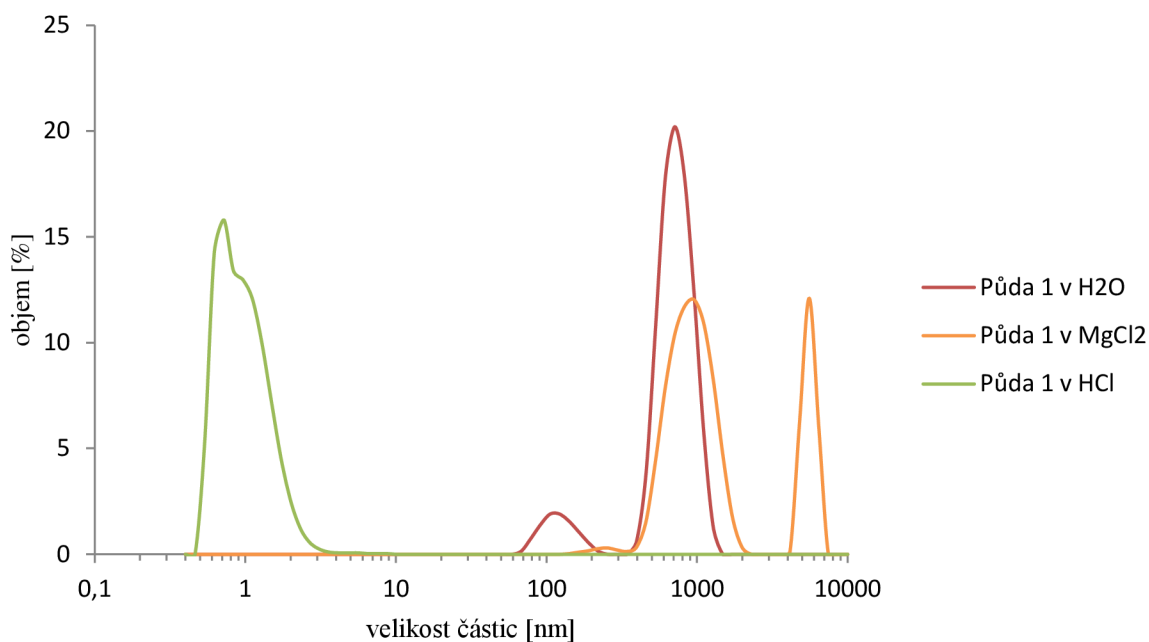
Objemová distribuce velikosti částic se od intenzitní distribuce liší v tom, že ukazuje, jaký objem různě velké molekuly zabírají. I když je intenzitní distribuce pro velké molekuly relativně malá, tak v objemové distribuci zabírají tyto molekuly největší část objemu vzorku.

Obrázek 21 představuje objemovou distribuci velikosti částic výluhů huminové kyseliny 1. Můžeme si všimnout, že ve výluhu huminové kyseliny extrahované MgCl₂ jsou nejvíce zastoupeny částice o velikosti 200–2000 nm, jejich objem ve vzorku činí 69 obj. %. Další skupina částic se pohybuje v rozmezí velikostí 2000–7000 nm, jejich objem je o více než polovinu nižší než u předchozí skupiny částic. Ve výluzích huminové kyseliny extrahované H₂O a HCl je zastoupení částic velice podobné. Největší objem zabírají částice v rozmezí 2000–7000 nm, ve výluhu extrahovaném HCl 56 obj. % a ve výluhu extrahovaném H₂O 62 obj. %. Dále tam jsou přítomny menší částice v širokém rozmezí velikostí od 200–2000 nm, jejichž objem je kolem 42 obj. % ve výluhu huminové kyseliny extrahované HCl a 35 obj. % ve výluhu huminové kyseliny extrahované H₂O.



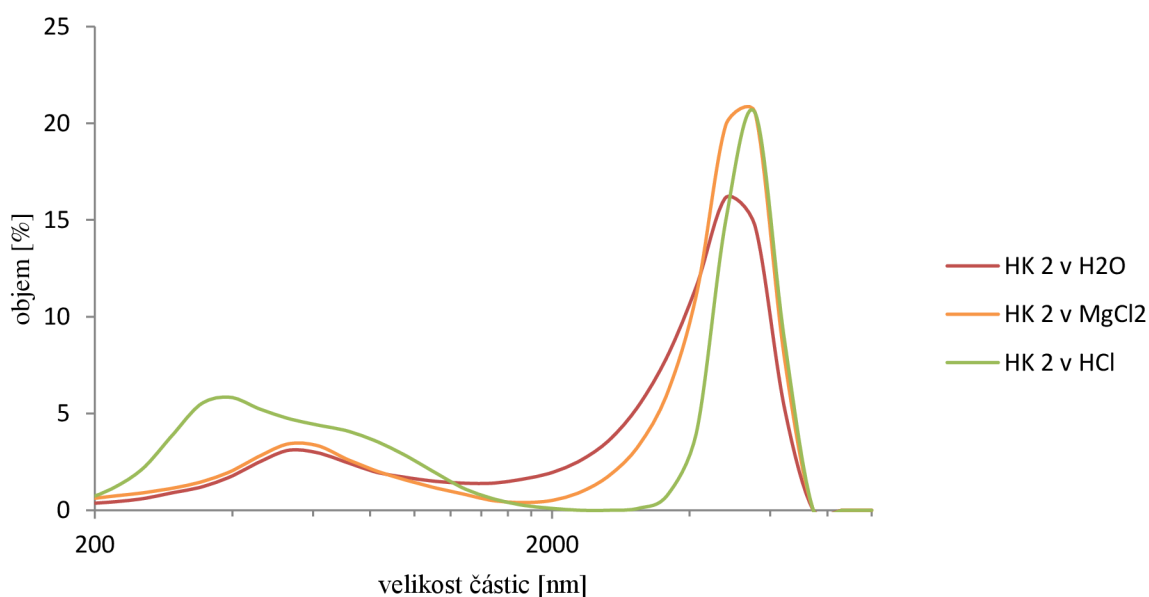
Obrázek 21: Objemová distribuce velikosti částic výluhů huminové kyseliny 1

Ve výluzích půdy 1 na obrázku 22 vidíme, že se objevuje frakce s částicemi ve velikosti kolem 1 nm. Tyto částice odpovídají výluhu půdy extrahované HCl, kdy kyselina odštěpila ze struktury půdy mnoho krátkých úseků. Další frakce se v tomto výluhu neobjevuje, takže zastoupení malých částic je ve vzorku skoro 100 obj. %. Ve výluhu extrahovaném H₂O se objevují dvě frakce, první je v rozmezí velikostí 50–200 nm a zaujímá ve vzorku 9 obj. % a druhá frakce, které odpovídá objem 90 obj. %, se nachází v rozmezí velikostí 200–2000 nm. Mohou to být částice, které jsou ve vodě rozpustné nebo frakce půdy v ní mobilizující. Ve výluhu extrahovaném MgCl₂ se nachází také dvě frakce, jedna má rozmezí 200–2000 nm a zaujímá objem 75 obj. % a ve druhé se nachází agregáty o velikosti 3000–7000 nm, kterých je ve vzorku podstatě méně



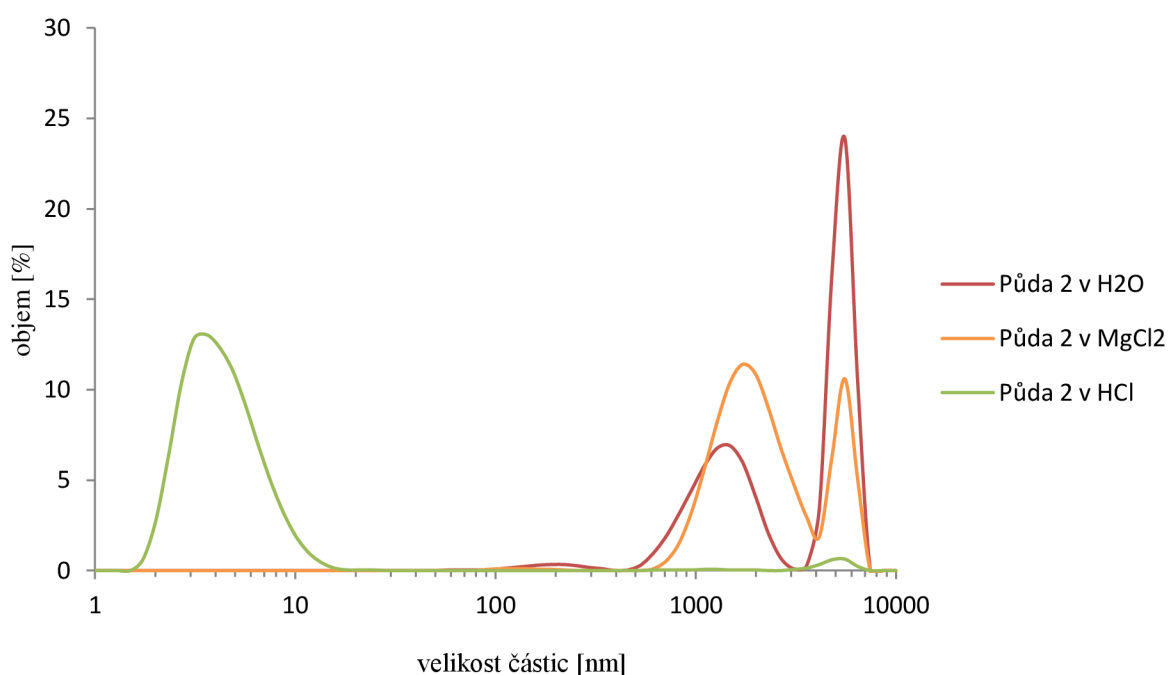
Obrázek 22: Objemová distribuce velikosti částic výluhů půdy 1

Na obrázku 23 je objemová distribuce výluhů huminové kyseliny 2. Částice v rozmezí 200–1000 nm jsou nejvíce obsaženy ve výluhu huminové kyseliny extrahované HCl a to v objemu 48 obj. %, ve vzorcích extrahovaných H₂O a MgCl₂ je zastoupení částic v tomto rozmezí podobné asi 25 obj. %. Další částice obsažené ve výluzích jsou ve velikosti 2000–7500 nm, vykazují nejvyšší intenzitu záření především ve výluzích huminových kyselin extrahovaných HCl a MgCl₂, která činí 49 obj. % v HCl a 72 obj. % v MgCl₂. Ve výluhu huminové kyseliny extrahované H₂O není intenzita těchto částic, vyplývající z grafu, tak vysoká ale i přesto objem částic této velikosti ve výluhu činí 55 obj. %.



Obrázek 23: Objemová distribuce velikosti částic výluhů huminové kyseliny 2

Na obrázku 24 je zobrazena objemová distribuce velikosti částic výluhů půdy 2. Stejně jako u předchozích výluhů půdy 1 i zde vidíme ve výluhu půdy extrahované HCl velký pík patřící částicím v rozmezí 1–10 nm, které ve vzorku zaujímají 97 obj. %, kolem 5000 nm se objevuje malý pík, který patří agregátům a zaujímá ve vzorku pouze 2 obj. %. Ve výluhu půdy extrahované H₂O se nachází opět dvě frakce, jedna v rozmezí částic 500–3000 nm jejich objem ve vzorku odpovídá 43 obj. % a pak agregáty ve velikosti 3000–6000 nm, které zaujímají ve vzorku 55 obj. %. Výluh půdy extrahované MgCl₂ má ve svém objemu 75% zastoupení částic 600–4000 nm a 24% zastoupení agregátů, jejichž velikost se pohybuje mezi 4000–7000 nm.



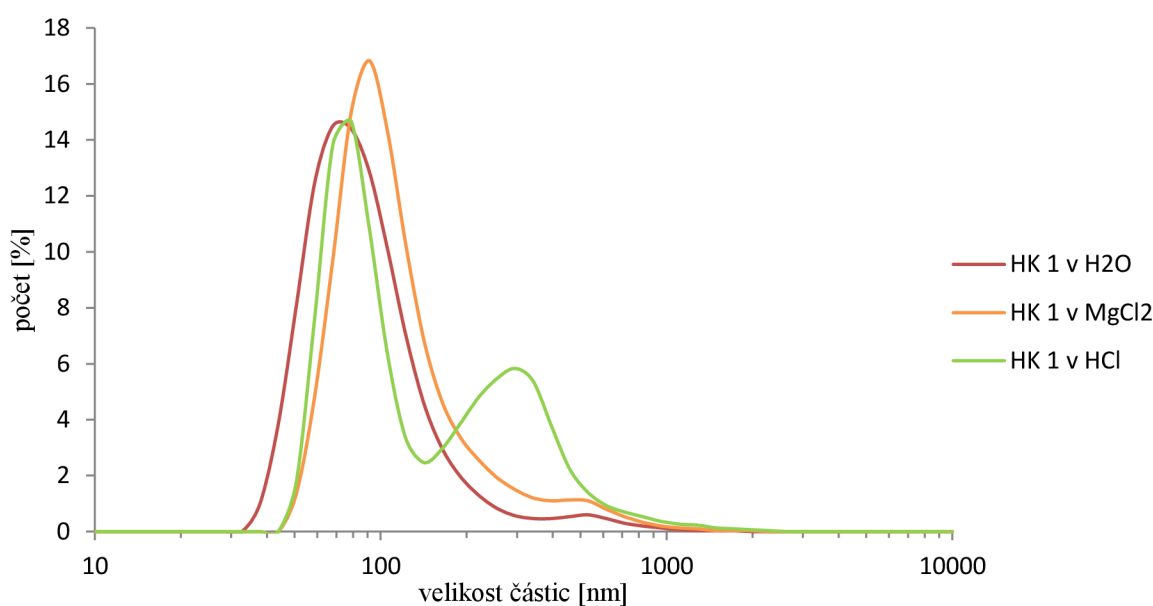
Obrázek 24: Objemová distribuce velikosti částic výluhů půdy 2

Počtení distribuce vyobrazuje početní zastoupení částic ve vzorku, je však méně přesná, neboť je vypočtena z údajů naměřené intenzity a optických vlastností materiálu, které nejsou často známé. V tabulce 7 jsou uvedeny hodnoty objemu částic a jejich počet v jednotlivých frakcích, získané z dat objemové a početní distribuce.

Tabulka 7: Objem a počet částic v jednotlivých frakcích výluhů půd a huminových kyselin

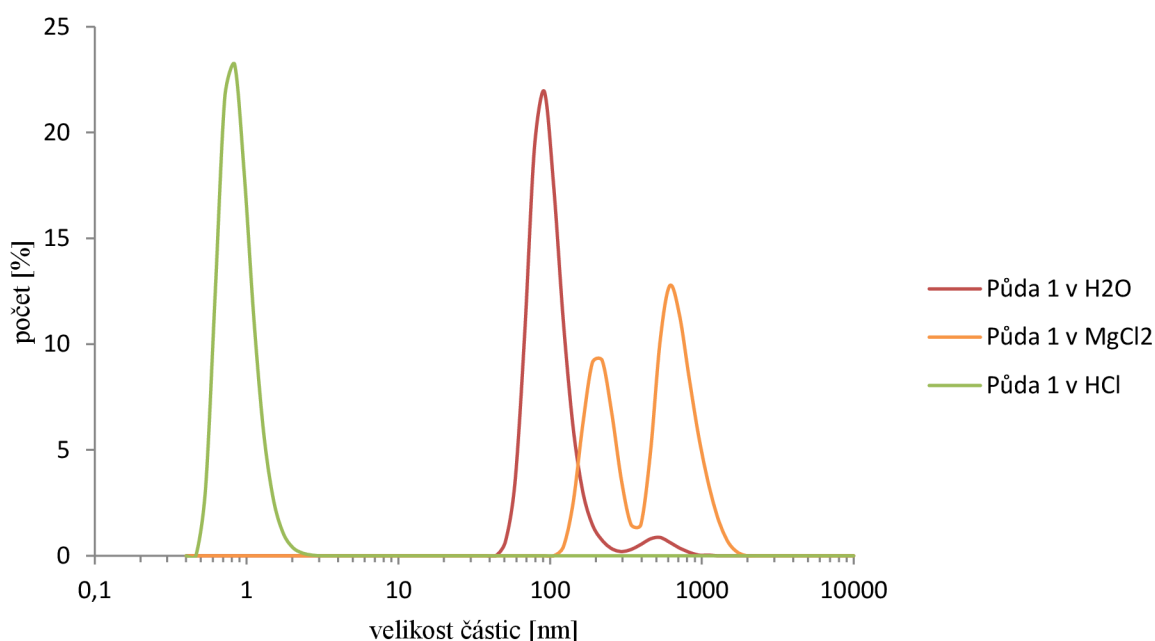
Vzorek	Objem [%]			Počet [%]		
	1. frakce	2. frakce	3. frakce	1. frakce	2. frakce	3. frakce
HK 1 v H ₂ O	2,47	35,30	62,23	96,97	2,87	–
HK 1 v MgCl ₂	7,40	69,10	23,53	95,43	4,43	–
HK 1 v HCl	1,37	42,06	56,43	60,90	39,07	–
Půda 1 v H ₂ O	9,40	90,55	–	96,23	3,73	–
Půda 1 v MgCl ₂	1,20	74,37	24,50	39,27	60,63	–
Půda 1 v HCl	99,97	–	–	100	–	–
HK 2 v H ₂ O	4,57	24,43	70,93	32,47	67,53	–
HK 2 v MgCl ₂	1,70	25,57	71,80	33,37	66,53	–
HK 2 v HCl	2,43	48,03	49,43	82,57	17,40	–
Půda 2 v H ₂ O	2,13	43,17	54,63	94,97	4,87	–
Půda 2 v MgCl ₂	0,53	75,40	23,87	62,77	37,23	–
Půda 2 v HCl	97,23	–	2,00	99,93	–	–

Na obrázku 25 jsou zobrazeny početní distribuce velikosti částic výluhů huminové kyseliny 1. Z předchozí objemové a intenzitní distribuce vyplývalo, že největší intenzitu vykazují částice, nacházející se v třetí frakci, která je definována částicemi s velikostí nad 4000 nm. Díky mnohonásobně větší velikosti těchto částic jsou pak plochy objemové distribuce 10^3 krát nadhodnoceny oproti menším částicím a intenzitní distribuční maxima jsou dokonce 10^6 krát nadhodnoceny oproti malým částicím. Všechny extrahované vzorky obsahují největší počet částic o velikosti 50–200 nm, konkrétně ve výluhu extrahovaném H₂O a MgCl₂ činí tento počet kolem 97 %. Ve vzorku extrahovaném HCl je tento počet nižší, kolem 60%, dále je ve vzorku obsažena další frakce, která je v rozmezí 200–1000 nm a její počet je 39 %. Ve zbylých vzorcích extrahované huminové kyseliny H₂O a MgCl₂ je počet částic ve druhé frakci poměrně malý, pohybuje se kolem 4 %.



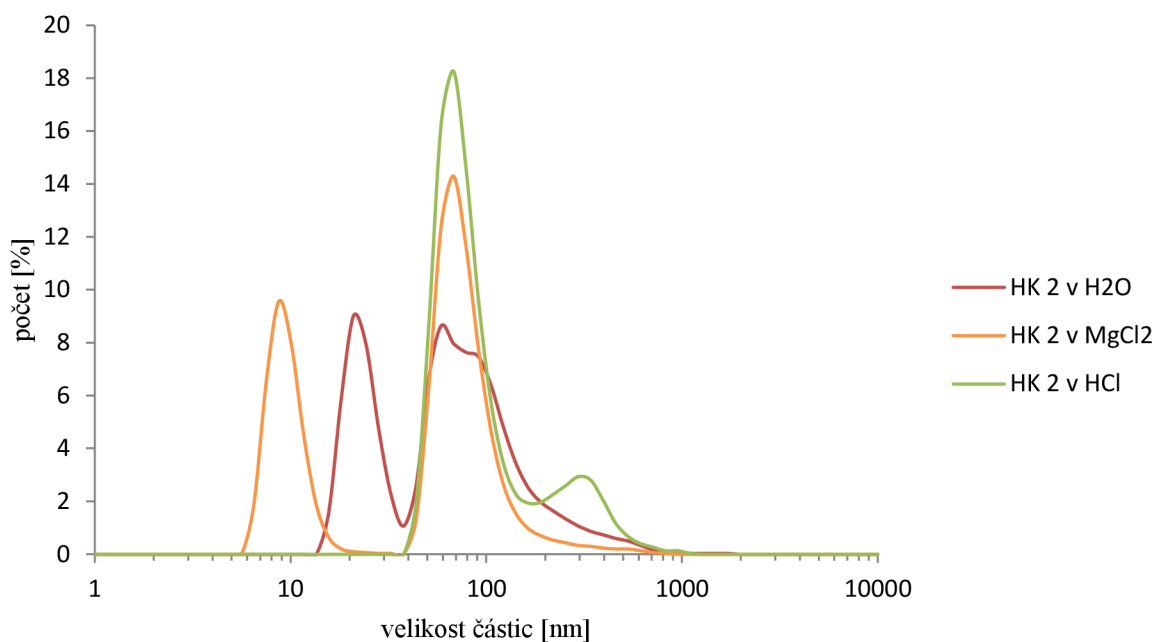
Obrázek 25: Početní distribuce velikosti částic výluhů huminové kyseliny 1

Obrázek 26 odpovídá početní distribuci výluhů půdy 1. První pík, který vidíme, patří půdě extrahované HCl. Stejně jako u předchozí objemové a intenzitní distribuce, tak i zde je to jediný pík, který obsahuje částice o velikosti 1 nm a představuje 100% zastoupení. Výluhu půdy extrahované H₂O a MgCl₂ obsahují dvě různé frakce. Ve výluhu půdy extrahované H₂O mají největší zastoupení částice v rozmezí velikostí 50–200 nm, jejich počet ve vzorku činí 96 %. V menším zastoupení jsou přítomny částice ve velikosti 200–1000 nm, jejich počet jsou zbylá 4 %. Ve výluhu půdy extrahované MgCl₂ je početní zastoupení částic rozdílné, počet 39 % patří částicím v rozmezí velikostí 100–300 nm, zbylých 61 % tvoří částice o velikosti 300–2000 nm.



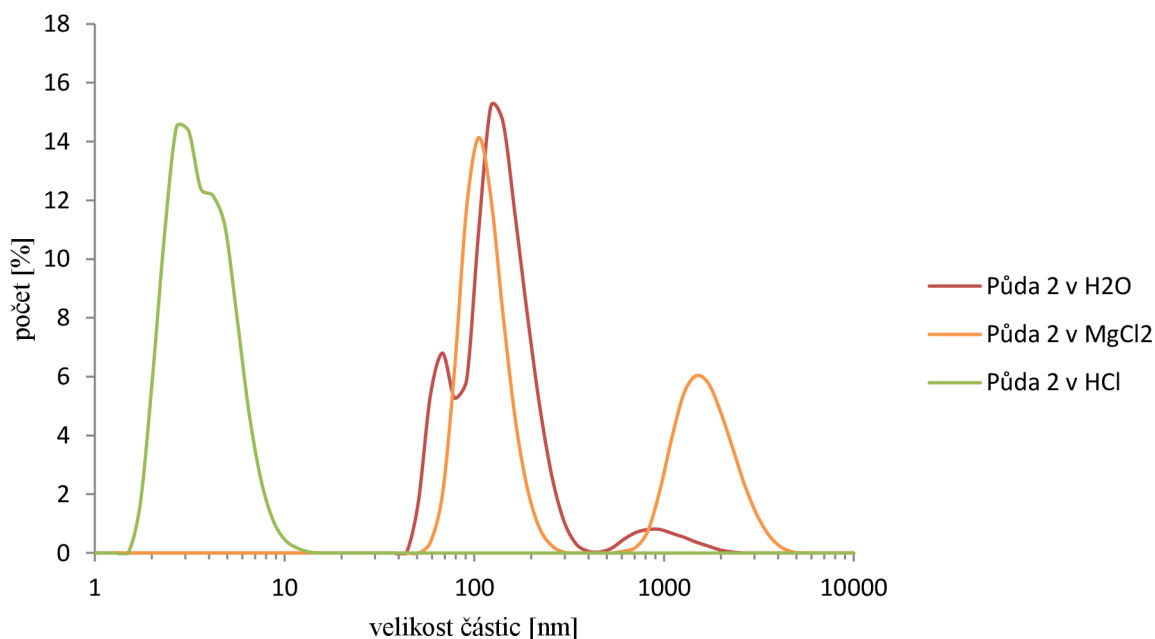
Obrázek 26: Početní distribuce velikosti částic výluhů půdy 1

Na obrázku 27 můžeme vidět početní distribuci výluhů huminové kyseliny 2. Porovnáním s distribucí výluhů huminové kyseliny 1, vidíme zde některé frakce, které obsahují částice o velikosti jednotek nanometrů. První z těchto frakcí patří extrahované huminové kyselině MgCl₂, kde počet částic v této frakci je 33 %. Následuje široký pík v rozmezí 30–1000 nm, těchto částic je ve vzorku přítomno nejvíce a to 67 %. Následuje vzorek extrahovaný H₂O, zde je rozložení částic podobné jak u předchozího výluhu půdy extrahovaného MgCl₂. Částice s velikostí od 10 do 50 nm jsou v počtu 32 %, převažují větší částice v rozmezí 50–1000 nm. Ve zorku extrahovaném HCl najdeme dvě frakce z nichž první odpovídá velikosti částic 50–200 nm, a zaujímá většinové zastoupení 83 %, zbylá procenta patří částicím o velikosti 200–1000 nm.



Obrázek 27: Početní distribuce velikosti částic výluhů huminové kyseliny 2

Obrázek 28 znázorňuje početní distribuci výluhů půdy 2. Vidíme zde podobné rozložení velikosti částic jako u výluhů půdy 1. První pík opět patří výluhu půdy extrahované HCl, který obsahuje částice velikosti 1–10 nm. Těchto částic je ve vzorku obsaženo v počtu téměř 100 %. Další výrazný pík patří částicím 50–400 nm, které ve výluhu půdy extrahované H₂O jsou v počtu 95 %. Zbývajících 5 % patří částicím o velikosti 400–2000 nm. Poslední výluh půdy extrahované MgCl₂ má také dvě frakce, v první frakci se nachází částice o velikosti 50–300 nm v počtu 63 % a ve druhé jsou částice od 500 do 4000 nm a jejich počet činí 37 %.



Obrázek 28: Početní distribuce velikosti částic výluhů půdy 2

4.2 Termická analýza

4.2.1 Termogravimetrická analýza

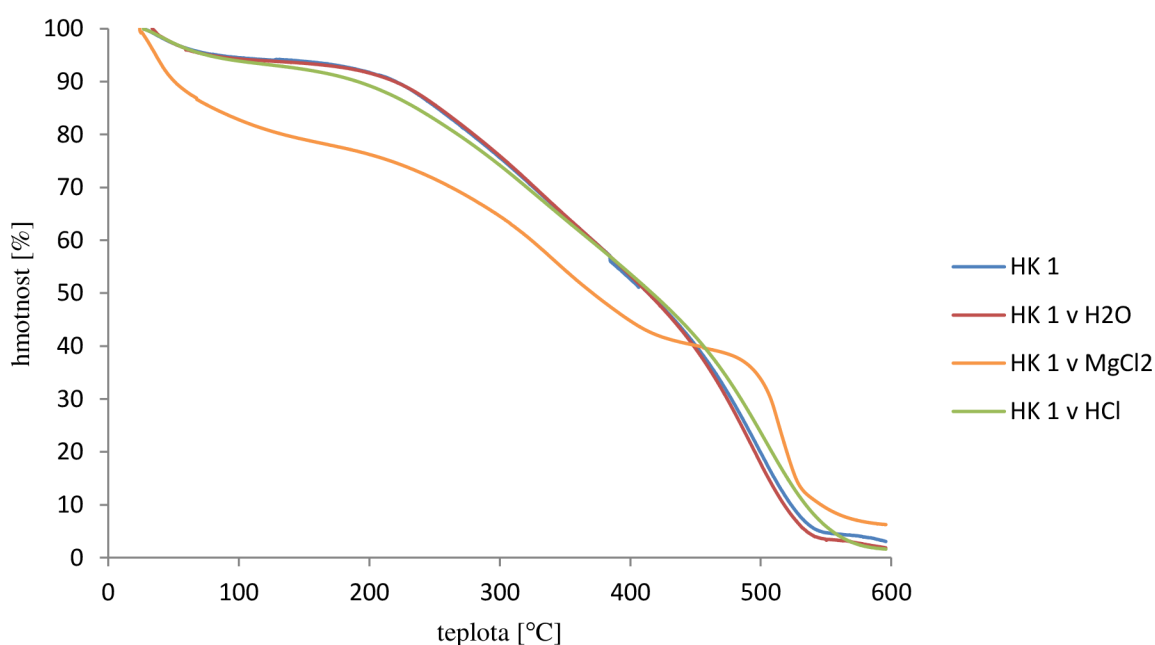
Všechny vzorky byly proměřeny termogravimetrickou analýzou, výsledná data byla následně vyhodnocena v programu TA Universal Analysis. Pro další vyhodnocení byla provedena první derivace TGA křivek. V grafech níže jsou shrnuty termogravimetrické křivky a derivační termogravimetrické křivky vzorků huminových kyselin a půd. V tabulce 8 jsou shrnuty informace o celkovém úbytku hmotnosti a obsahu popela všech vzorků.

Tabulka 8: Vlastnosti vzorků půd a huminových kyselin získané z TGA a DTG křivek

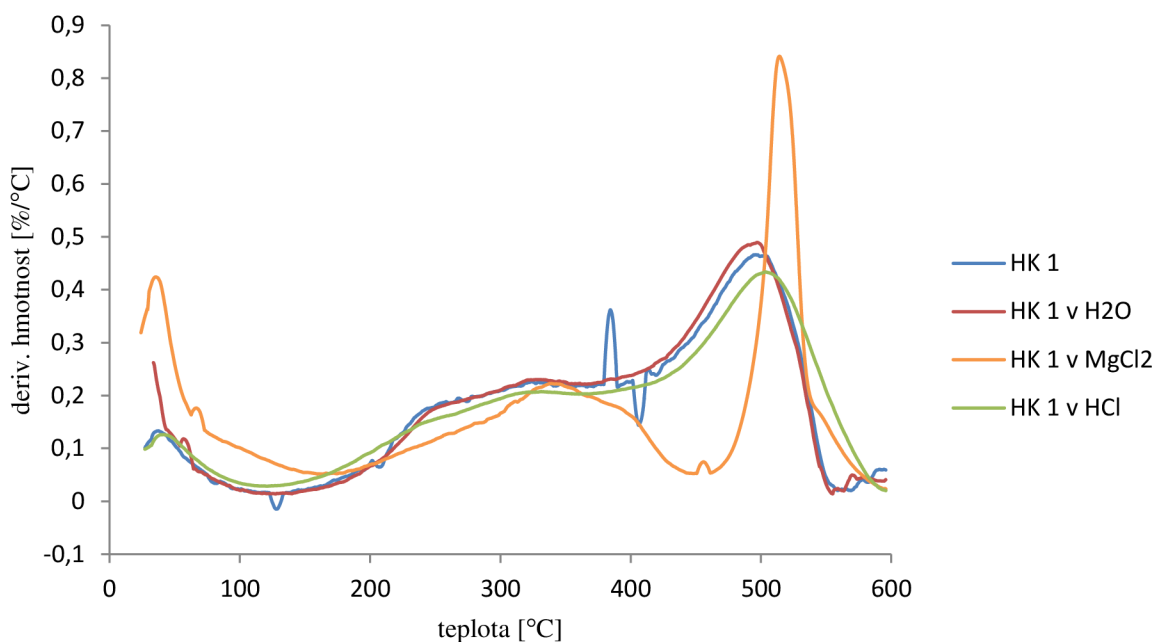
Vzorek	Celkový úbytek hmotnosti [hm. %]	Obsah popela [hm. %]
HK 1	95,98	4,02
HK 1 v H ₂ O	97,41	2,59
HK 1 v HCl	98,18	1,82
HK 1 v MgCl ₂	93,52	6,48
Půda 1	7,32	92,68
Půda 1 v H ₂ O	7,09	92,91
Půda 1 v HCl	10,15	89,85
Půda 1 v MgCl ₂	11,30	88,70
HK 2	98,50	1,50
HK 2 v H ₂ O	99,94	0,06
HK 2 v HCl	98,56	1,44
HK 2 v MgCl ₂	88,89	11,11
Půda 2	6,63	93,97
Půda 2 v H ₂ O	7,97	92,03
Půda 2 v HCl	8,55	91,45
Půda 2 v MgCl ₂	12,42	87,58

Jak vidíme na obrázku 29 a 30, tak první ztráta hmotnosti se objevila v rozsahu teplot 50–100 °C, tato ztráta bývá většinou kolem 10 % z celkové hmotnosti a je způsobena zejména odpařením adsorbované vody. První skupina degradačních vrcholů má začátek při 120 °C a konec kolem 400 °C, o těchto hmotnostních ztrátách se předpokládá, že představují těkavější a snadněji oxidovatelné organické struktury. U původní huminové kyseliny najdeme maximum vrcholu při teplotě 384 °C, tato degradace je doprovázena úbytkem 43 hm. %. U extrahovaných vzorků je maximum teplot posunuto spíše k nižším hodnotám a úbytek hmotnosti je také nižší v porovnání s původním vzorkem. Veškerá data jsou k nalezení v tabulce 9. Teplotní rozklad při teplotách nižších než 400 °C bývá často přiřazen eliminaci a rozkladu karboxylových, fenolových, karbonylových, alkoholových a methylenových skupin. V této oblasti teplot bývá také zaznamenána ztráta nenasycenosti a rozpadu C–O vazeb patřící polysacharidům. Se vzrůstajícími teplotami mají aromatické struktury nižší stupeň substituce a vyšší stupeň kondenzace díky odstranění funkčních skupin a alifatických

řetězců z aromatických jader [79]. Při teplotách vyšších než 400 °C jsou degradační píky v DTG křivkách lépe pozorovány, než píky degradace při nižších teplotách. Zóna nad 400 °C souvisí s disociací a rozkladem aromatických, mono- nebo polycyklických kruhů a rozkladem dlouhých uhlíkatých řetězců. Podle literatury mohou k menším tepelným reakcím přispět také některé cyklické skupiny obsahující dusíkaté a uhlíkaté atomy v rozmezí teplot 480–550 °C. Další skupina píků tepelné degradace se vyskytuje v oblasti mezi 400 °C až 600 °C a je spojena s nejvyšší hmotnostní ztrátou. Maxima těchto vrcholů jsou u původní huminové kyseliny při 497 °C a úbytek hmotnosti činí 47 hm. %. U huminové kyseliny extrahované H₂O k žádnému posunu teplot nedošlo, změnil se pouze úbytek hmotnosti, který činí 58 hm. %. Vzorek extrahovaný HCl vykazuje vyšší stabilitu vůči původní huminové kyselině, jeho maximum se posunulo na teplotu 504 °C a hmotnostní úbytek je 59 hm. %. Avšak k začátku degradace došlo ještě před teplotou 400 °C, příčinou může být změna struktury původní huminové kyseliny rozštěpením některých vazeb v této struktuře a tím zkrácení některých uhlíkatých řetězců nebo ztrátou určitých funkčních skupin. Huminová kyselina extrahovaná MgCl₂ vykazuje největší posun degradačních teplot, její maximum se nachází při teplotě 514 °C a má i nejnižší úbytek hmotnosti, který je 34 hm. %. Změna stability mohla být způsobena tím, že Mg v extrakčním činidle se mohl navázat na strukturu huminové kyseliny a vytvořit s ní stabilnější komplex.

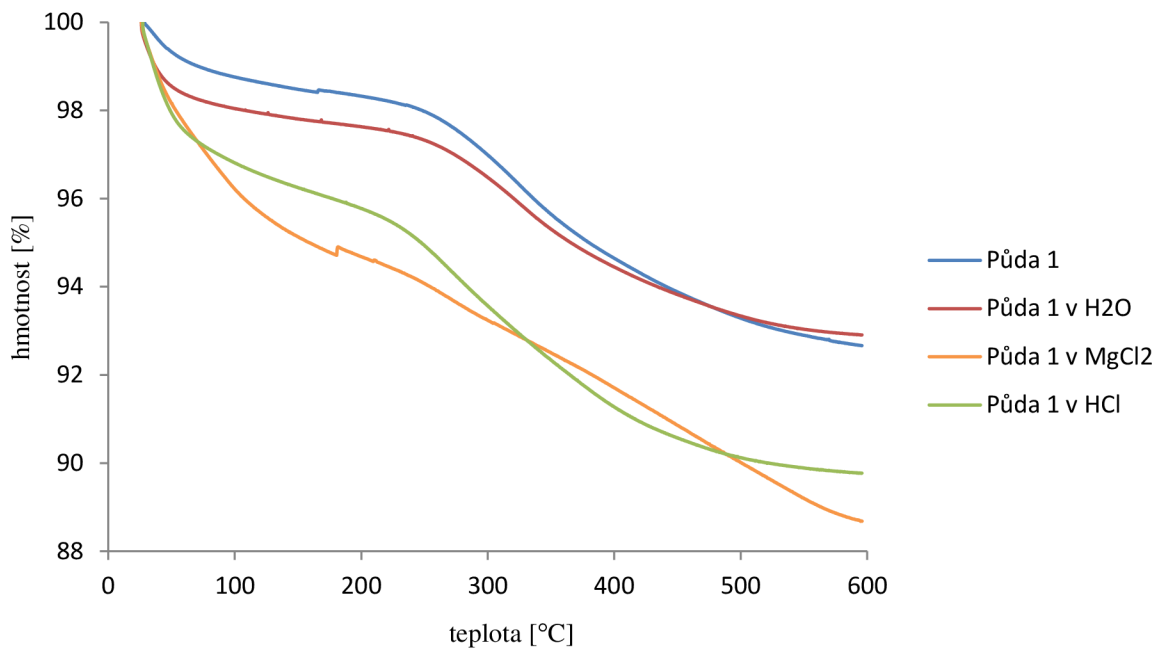


Obrázek 29: TGA křivky původní a extrahované huminové kyseliny 1

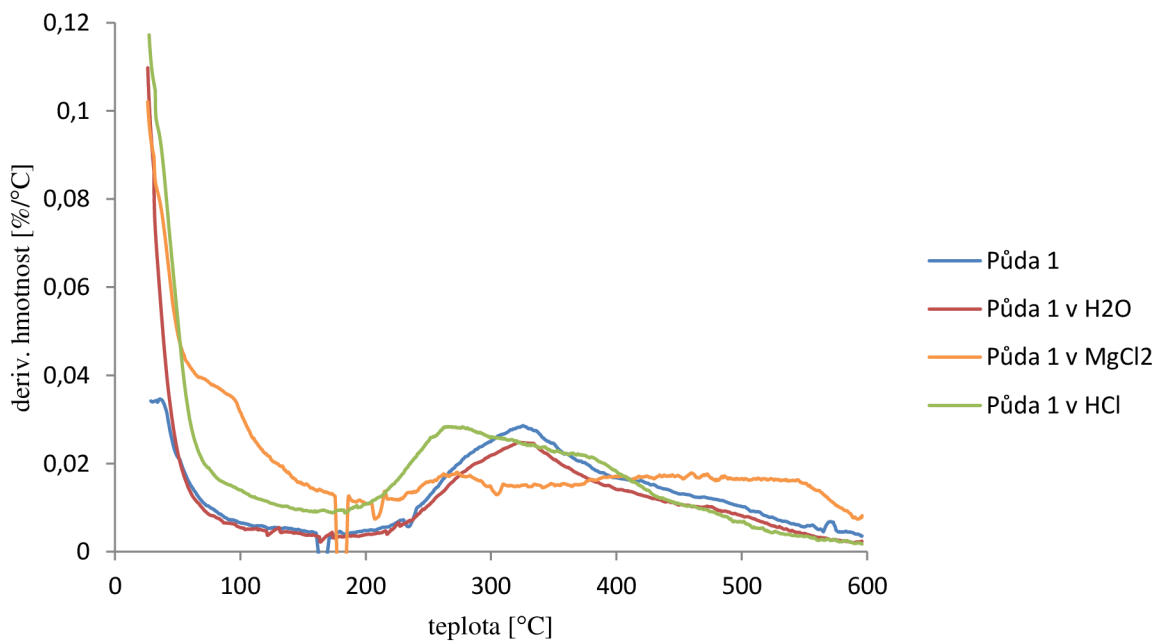


Obrázek 30: DTG křivky původní a extrahované huminové kyseliny 1

Na obrázku 31 a 32 vidíme křivky odpovídající degradaci půdy 1. Celkový úbytek hmotnosti byl pouhých 7 hm. %. Jak je známo, tak půda obsahuje poměrně malé množství organické hmoty, které se pohybuje kolem 6 hm. % zbytek tvoří minerální podíl, různé jílové minerály, oxidy a hydroxidy. Z degradačních křivek vidíme, že první hmotnostní ztráta nastala při teplotě do 100 °C, tento úbytek hmotnosti odpovídá množství vlhkosti ve vzorku. Další degradace, ke které došlo, začala při teplotě 185 °C u původního vzorku půdy, vlivem extrakce se tato teplota posunula. Maximum vrcholů se u jednotlivých vzorků také lišilo, u původního vzorku dosáhlo teploty 326 °C a úbytek hmotnosti činil téměř 6 hm. %. Zde mohlo dojít k degradaci huminových kyselin, k rozkladu kyslíkatých funkčních skupin nebo degradaci polysacharidů. Půda extrahovaná H₂O žádné výrazné změny nezaznamenala, změny nastaly až při extrakci HCl a MgCl₂, kde se teploty odpovídající maximu vrcholu posunuly k nižším hodnotám. U vzorku půdy extrahované MgCl₂ se zaznamenal nejnižší úbytek hmotnosti a to pouhá 2 hm. % a u vzorku půdy extrahované HCl došlo k nejvyššímu úbytku hmotnosti přes 6 hm. %, což mohlo být způsobeno již dříve zmíněným štěpením vazeb způsobené kyselinou chlorovodíkovou. Druhý degradační vrchol byl pozorován pouze u půdy extrahované MgCl₂, ve zbylých vzorcích k další degradaci nedocházelo. Maximum druhého degradačního pásu bylo určeno při teplotě 541 °C a neslo s sebou úbytek hmotnosti odpovídající 4 hm. %.

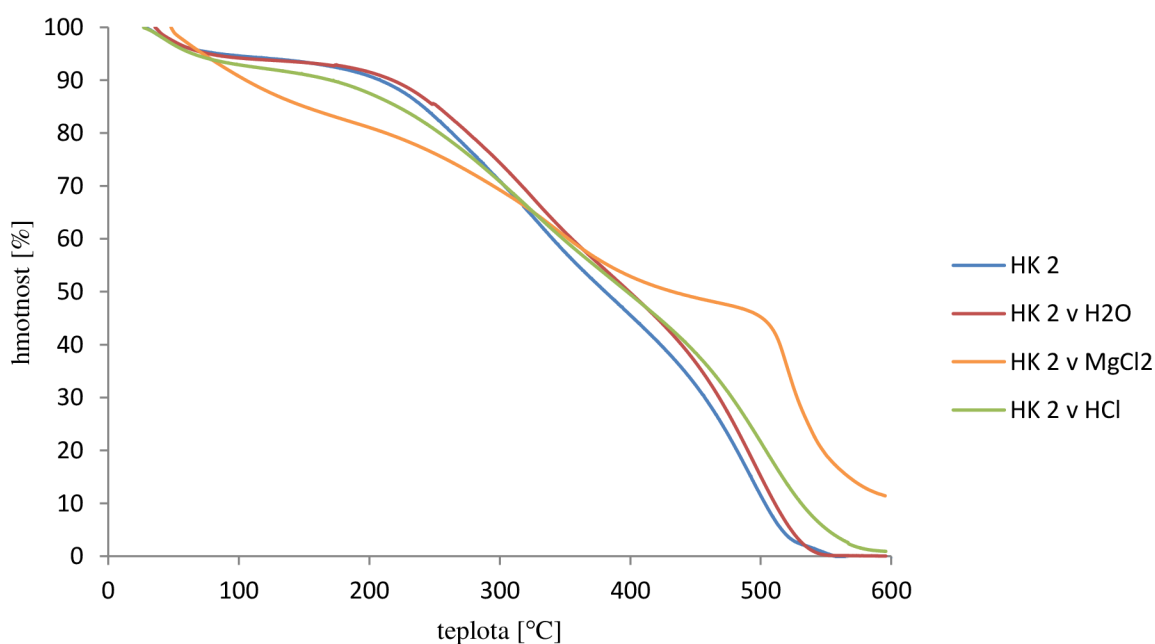


Obrázek 31: TGA křivky původní a extrahované půdy 1

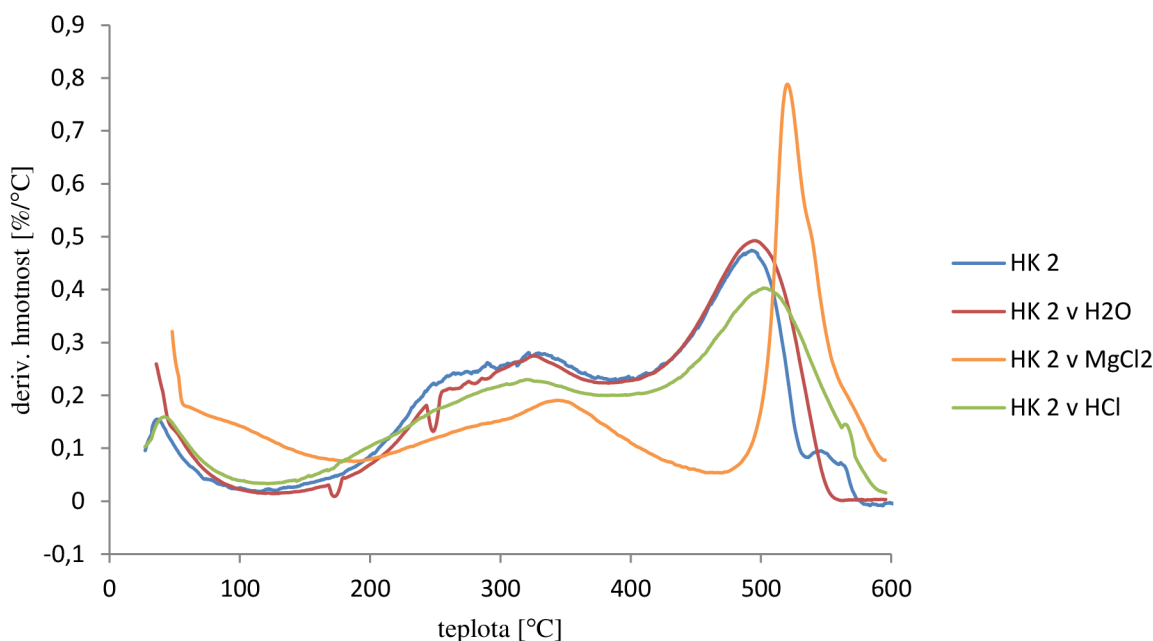


Obrázek 32: DTG křivky původní a extrahované půdy 1

Na obrázku 33 a 34 jsou TGA a DTG křivky huminové kyseliny 2. Jak je zřejmé, tak degradace prvních organických frakcí začala až za teplotou 100 °C, před ní docházelo pouze k odstranění přítomné vody ve vzorku. První maximum se objevilo při teplotě 320 °C, které odpovídá vzorku huminové kyseliny extrahované HCl, neslo s sebou úbytek hmotnosti téměř 40 hm. %. Za ním následovalo maximum při 324 °C, které patří huminové kyselině extrahované H₂O s úbytkem vzorku 40 hm. %. Další maximum při 331 °C patří původní huminové kyselině. U vzorku huminové kyseliny extrahované MgCl₂ došlo k posunu teplot maxima až na 344 °C. Degradace, ke které dochází při rozsahu teplot 180–250 °C, je představována jako rozklad těkavějších a lépe oxidovatelných organických struktur. Ztráta hmotnosti v rozmezí teplot může být přisuzována rozkladu a eliminaci funkčních skupin obsahujících kyslík. K další degradaci docházelo při překročení 400 °C s maximem u původní huminové kyseliny při 493 °C a s vysokým úbytkem hmotnosti téměř 49 hm. %. Všechny extrahované vzorky huminové kyseliny dosáhly posunu teplotního maxima k vyšším teplotám. Největší posun byl zaznamenán u vzorku huminové kyseliny extrahované MgCl₂, kde maximum druhé degradace dosáhlo až teploty 521 °C. Tato extrakce způsobila změnu tepelné stability huminové kyseliny, která může být přisuzována vzniku komplexu huminové kyseliny s Mg obsaženým v činidlu. Vzhledem k rozsahu teplot, při kterých k degradaci došlo, se předpokládá, že úbytek hmotnosti je způsoben rozkladem aromatických struktur přítomných ve struktuře huminové kyseliny.

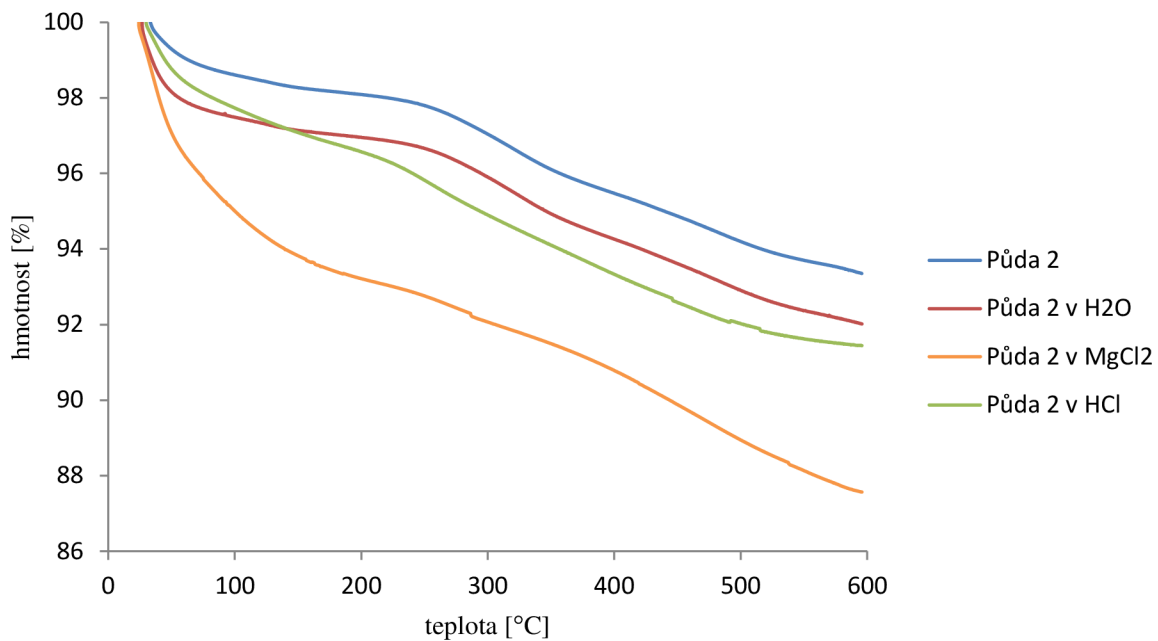


Obrázek 33: TGA křivky původní a extrahované huminové kyseliny 2

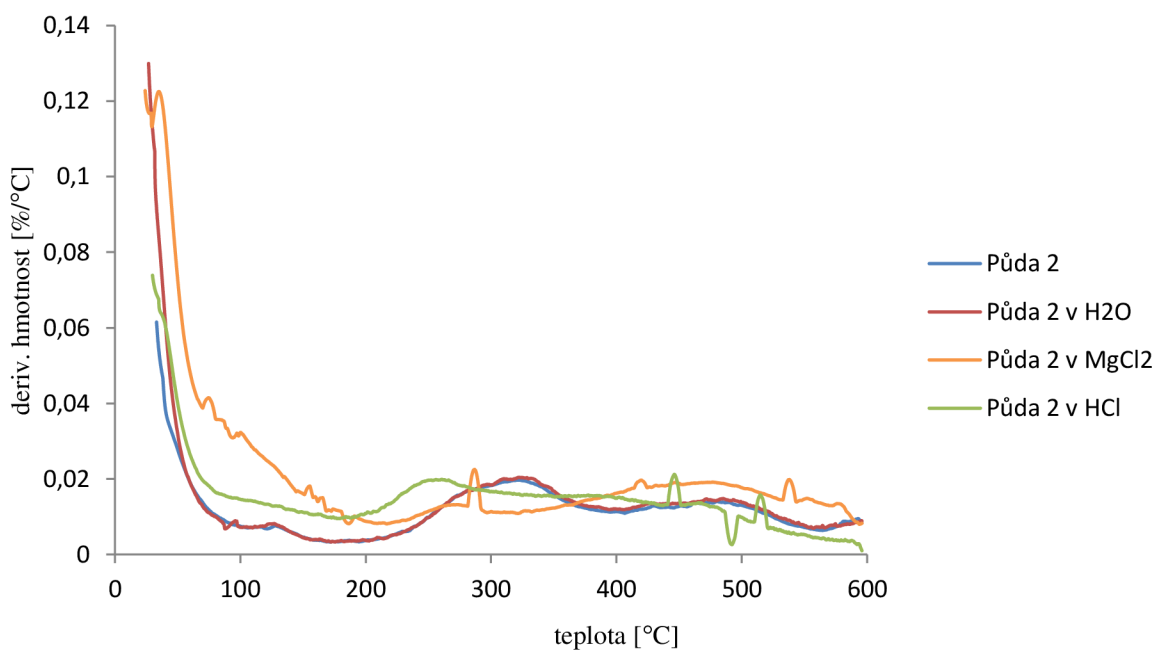


Obrázek 34: DTG křivky původní a extrahované huminové kyseliny 2

Na obrázku 35 a 36 najdeme teplotní křivky půdy 2 z TGA analýzy. Z obrázků odhalujeme, že do 100 °C dochází k odpařování vlhkosti. K začátku degradace dochází až kolem teploty 200 °C. Maximální teplota degradačních vrcholů se s extrakcí mění. Původní půda má toto maximum při teplotě 323 °C, extrakce HCl toto maximum posunula na nižší teplotu 255 °C. Tento posun o téměř 70 °C může být způsoben ztrátou některých funkčních skupin, které kyselina během extrakce odštěpila. Extrakce MgCl₂ také způsobila nižší stabilitu, maximum degradace je určeno na teplotu 288 °C. Snížení stability může být způsobeno ztrátou některých krátkých uhlíkatých řetězců, jak vyplývá z tabulky 2, kdy se obsah uhlíku a kyslíku ve vzorku půdy extrahované MgCl₂ snížil. Další degradace začala kolem teploty 400 °C, kdy v rozmezí 400–600 °C dochází k tepelné degradaci aromatických a heterocyklických struktur. U vzorku půdy extrahované HCl další výrazný degradační vrchol nebyl zaznamenán. Maximum se u původní půdy a půdy extrahované H₂O pohybovalo stejně kolem 489 °C. U vzorku půdy extrahované MgCl₂ se maximum posunulo na nižší hodnotu 469 °C, což může být způsobeno nižším obsahem aromatických a heterocyklických skupin vlivem úbytku dusíku a kyslíku, viz tabulka 2.



Obrázek 35: TGA křivky původní a extrahované půdy 2



Obrázek 36: DTG křivky původní a extrahované půdy 2

Tabulka 9: Souhrn teplotních maxim a hmot. úbytků při degradaci vzorků půd a huminových kyselin

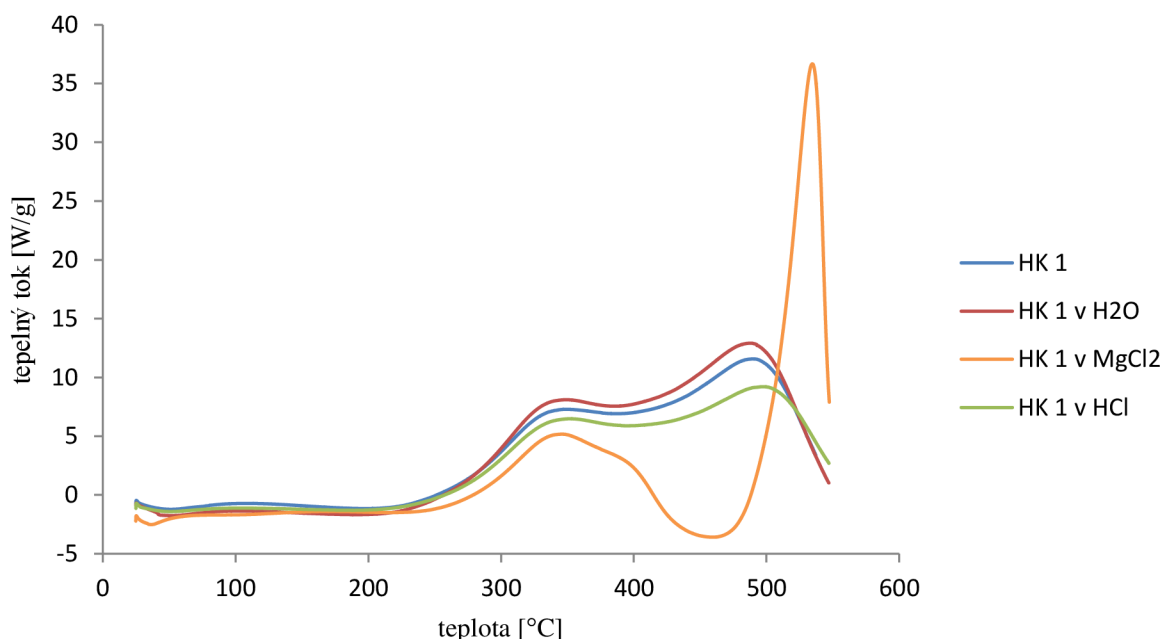
Vzorek	Maximum [°C]	Úbytek hmotnosti [hm. %]	Maximum [°C]	Úbytek hmotnosti [hm. %]
HK 1	384,90	42,80	497,15	46,86
HK 1 v H ₂ O	328,49	32,65	497,72	57,61
HK 1 v MgCl ₂	340,58	22,01	514,41	33,89
HK 1 v HCl	329,64	32,15	504,05	59,44
Půda 1	325,61	5,72	–	–
Půda 1 v H ₂ O	327,34	4,73	–	–
Půda 1 v MgCl ₂	272,08	1,98	540,89	3,79
Půda 1 v HCl	267,48	6,26	–	–
HK 2	330,54	45,6	493,25	48,68
HK 2 v H ₂ O	324,46	40,04	495,99	53,61
HK 2 v MgCl ₂	344,03	20,15	520,75	36,44
HK 2 v HCl	320,43	39,73	502,90	51,42
Půda 2	323,31	2,61	489,09	1,89
Půda 2 v H ₂ O	325,31	2,70	489,09	1,98
Půda 2 v MgCl ₂	287,62	1,26	468,94	4,23
Půda 2 v HCl	254,81	5,28	–	–

4.2.2 Diferenční kompenzační kalorimetrie

Všechny vzorky byly také podrobeny diferenční kompenzační kalorimetrii. Výsledkem jsou DSC křivky, ve kterých můžeme vidět závislost tepelného toku na teplotě.

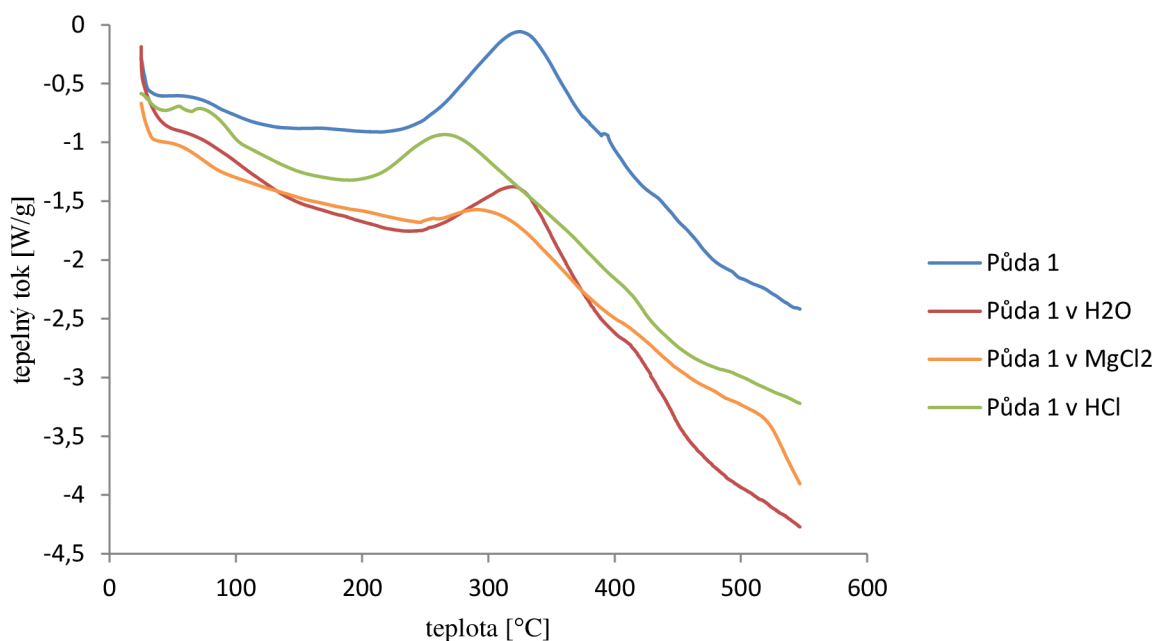
Na obrázku 37 je DSC křivka huminové kyseliny 1. Je vidět první pík původní huminové kyseliny, který má vrchol při teplotě 349 °C, tento pík nám naznačuje exotermickou reakci, při které se uvolnilo teplo v podobě 2 532 J·g⁻¹. Podle předchozích studií je tento pík přisuzován degradaci alifatických skupin, vazeb C–H a degradaci některých skupin obsahujících kyslík jako jsou karboxylové nebo fenolové skupiny, výskyt tohoto píku by měl být v rozmezí 260–350 °C [80]. Vzorek huminové kyseliny extrahované H₂O má velmi podobný průběh jako původní huminová kyselina, jeho maximum se nachází také při teplotě 349 °C, ale je doprovázen větším množstvím uvolněného tepla 3 015 J·g⁻¹. Extrakce HCl nezpůsobila žádné výrazné změny, posunula maximum na teplotu 351 °C a během exotermické reakce se uvolnilo 2 638 J·g⁻¹ tepla. Ani extrakcí MgCl₂ nedošlo k žádným výrazným změnám, viz tabulka 10. Další pík u původní huminové kyseliny se nachází při teplotě 490 °C a doprovází ho uvolnění 3 573 J·g⁻¹ tepla. Tento pík odpovídá oxidaci aromatických, monocyklických a polycyklických kruhů. Podle zdrojů z literatury dochází při této teplotě i k rozkladu COOH skupin. Při teplotách vyšších než 500 °C může docházet k degradaci nejstabilnějších cyklických skupin obsahující uhlík a dusík a produktů tepelné oxidace [80]. Když se podíváme na vzorky huminové kyseliny po extrakci, tak u vzorků huminových kyselin extrahovaných H₂O a HCl vidíme velmi podobný průběh DSC křivek jako má původní huminová kyselina. Maxima píků se nachází přibližně při stejné teplotě, liší se však množstvím uvolněného tepla, které u vzorku extrahovaného H₂O je 4 687 J·g⁻¹

a u vzorku extrahovaného HCl $2\,946\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$. Největší odlišnost je zřejmá u vzorku extrahovaného MgCl_2 , kde došlo k výraznému posunu píku k vyšším hodnotám. Maximum teploty se nachází při $534\text{ }^\circ\text{C}$ a uvolněné teplo činí $3\,506\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$. Můžeme tedy říci, že extrakce huminové kyseliny 1M MgCl_2 zvýšila její tepelnou stabilitu. Stejně jako termogravimetrická analýza i diferenční kompenzační kalorimetrie potvrdila, že nejstabilněji se jeví vzorek extrahovaný MgCl_2 .



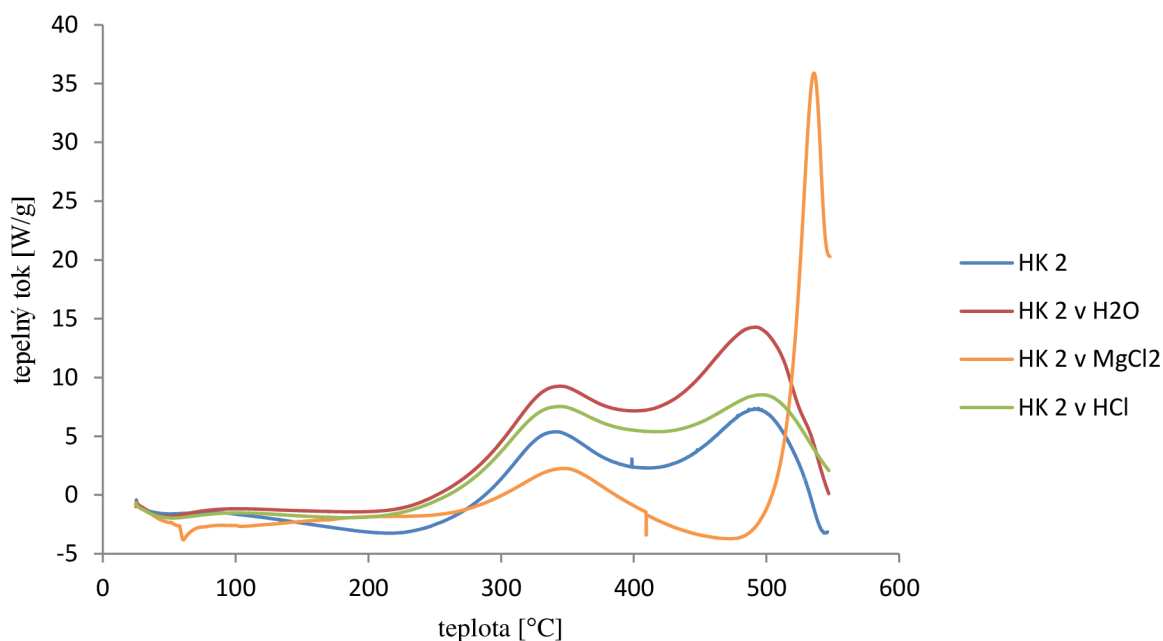
Obrázek 37: DSC křivky vzorků huminové kyseliny 1

Na obrázku 38 jsou DSC křivky vzorků půdy 1. Pokud se podíváme na DSC křivku původní půdy, vidíme jeden výrazný pík, který má maximum při teplotě $325\text{ }^\circ\text{C}$. Uvolněné teplo, které je při reakci doprovázeno, má hodnotu $231\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$. V porovnání s DSC křivkami huminových kyselin mají křivky půd pouze jeden pík. Uvolněné teplo je v porovnání se vzorky huminových kyselin velmi zanedbatelné. Je to způsobeno tím, že půda obsahuje mnoho stabilních částí, obsah organické hmoty je pouhých 6 hm. %, zbytek jsou půdní minerály, takže nepodléhá tak snadno teplotní degradaci. U vzorků půdy extrahované třemi různými činidly byly zaznamenány změny v posunu teplotních maxim. Nepatrná změna nastala extrakcí H_2O , maximum se posunulo pouze na teplotu $319\text{ }^\circ\text{C}$ a uvolnilo se množství tepla odpovídající hodnotě $216\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$. Posun k nižším hodnotám může být způsoben tím, že voda vylouhovala ze vzorku půdy část stabilních frakcí a tím došlo ke snížení teplotního maxima. Vzorek půdy extrahovaný MgCl_2 zaznamenal také posun teplotního maxima a to na hodnotu $291\text{ }^\circ\text{C}$, uvolněné teplo se porovnáním se vzorkem původní půdy výrazně snížilo a to na hodnotu $91\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$. Při této teplotě dochází k degradaci skupin obsahujících kyslík. Pokles uvolněného tepla může být způsoben sníženým obsahem kyslíku, který nastal extrakcí půdy MgCl_2 , viz tabulka 2. Půda extrahovaná HCl má maximum při teplotě $266\text{ }^\circ\text{C}$ a uvolněné teplo činí $98\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$. Během zahřívání dochází k degradaci alifatických skupin a vazeb C–H, nižší množství uvolněného tepla mohl způsobit úbytek vodíku ve vzorku.



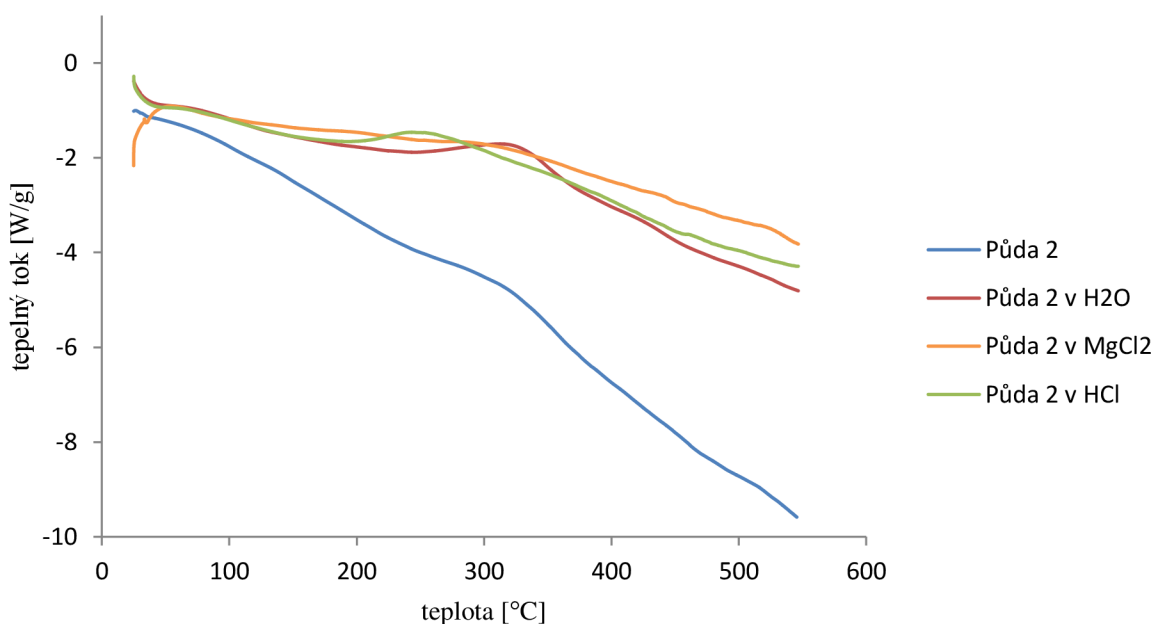
Obrázek 38: DSC křivky vzorků půdy 1

DSC křivky vzorků huminové kyseliny 2 mají velice podobný průběh jako DSC křivky huminové kyseliny 1, také jsou zde přítomny dva exotermické píky (*Obrázek 39*). Křivka původního vzorku huminové kyseliny má první maximum při 341 °C a doprovází ho 3 347 J·g⁻¹ uvolněného tepla. Extrakce činidly nezaznamenala žádný výrazný posun v teplotních maximech, u některých vzorků nastala pouze změna v množství tepla, které se během zahřívání uvolnilo. Vzorek extrahovaný H₂O má první maximum při teplotě 348 °C a množství uvolněného tepla se od původního vzorku nepatrně liší. Extrakce MgCl₂ nezpůsobila výraznou změnu teplotního maxima, ale množství uvolněného tepla je až 2x nižší oproti ostatním vzorkům. Už při termogravimetrické analýze byl zaznamenán u vzorku huminových kyselin extrahovaných MgCl₂ nejnižší hmotnostní úbytek. Příčinou může být již zmíněná komplexace Mg se strukturou huminové kyseliny a vytvoření tak, stabilní struktury odolné vůči tepelné degradaci. Vzorek huminové kyseliny extrahované HCl vykazuje podobný průběh jako huminová kyselina před extrakcí, maximum se nachází při teplotě 345 °C a množství uvolněného tepla je 3 290 J·g⁻¹. Další skupina píků s sebou nese degradaci stabilnější organické frakce, jako jsou aromatické struktury a karboxylové skupiny. Maximum druhého degradačního vrcholu u původní huminové kyseliny se nachází při teplotě 494 °C a připisuje se mu 3 175 J·g⁻¹ uvolněného tepla. Pík s největším množstvím uvolněného tepla patří vzorku huminové kyseliny extrahované H₂O jeho poloha je při teplotě 492 °C a odpovídá hodnotě 4 766 J·g⁻¹. Extrakce MgCl₂ přinesla posun teplotního maximu na hodnotu 536 °C, kdy při této teplotě může dojít k degradaci heterocyklických sloučenin. Množství uvolněného tepla je opět nejnižší, pouhých 1 677 J·g⁻¹. Vzorek extrahovaný HCl má své maximum při teplotě 497 °C a množství uvolněného tepla je v porovnání s původním vzorkem také nižší 2 261 J·g⁻¹.



Obrázek 39: DSC křivky vzorků huminové kyseliny 2

Obrázek 40 zobrazuje DSC křivky vzorků půdy 2. Oproti křivkám půdy 1, tady nevidíme téměř žádný výrazný pík. Pokud se podíváme na DSC křivku původního vzorku půdy, zaznameneáme nepatrný pík při teplotě 318 °C, tento pík s sebou nese uvolněné teplo, které je v množství $149 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$. Extrakce půdy H_2O má velmi podobný průběh jako původní vzorek. Změny nastaly při extrakci MgCl_2 , kdy při 327 °C se objevil pík, který zaznamenal pouhých $40 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$ uvolněného tepla. Teplotní maximum se nejvíce posunulo u vzorku extrahovaného HCl , posun byl na teplotu 244 °C a množství uvolněného tepla činilo $71 \text{ J} \cdot \text{g}^{-1}$.



Obrázek 40: DSC křivky vzorků půdy 2

Tabulka 10: Teplo uvolněné během degradace vzorků půd a huminových kyselin

Vzorek	Maximum [°C]	Uvolněné teplo [J·g⁻¹]	Maximum [°C]	Uvolněné teplo [J·g⁻¹]
HK 1	349,25	2 532	490,07	3 573
HK 1 v H ₂ O	348,99	3 015	488,26	4 687
HK 1 v MgCl ₂	346,05	2 918	534,42	3 506
HK 1 v HCl	351,89	2 638	497,58	2 946
Půda 1	324,79	231,30	–	–
Půda 1 v H ₂ O	318,50	215,60	–	–
Půda 1 v MgCl ₂	290,73	90,95	–	–
Půda 1 v HCl	265,52	97,56	–	–
HK 2	341,25	3 347	493,83	3 175
HK 2 v H ₂ O	345,02	3 562	491,92	4 766
HK 2 v MgCl ₂	347,04	1 885	535,72	1 677
HK 2 v HCl	344,56	3 290	496,62	2 261
Půda 2	317,53	149,40	–	–
Půda 2 v H ₂ O	312,54	149,50	–	–
Půda 2 v MgCl ₂	326,61	40,03	–	–
Půda 2 v HCl	243,61	70,84	–	–

**Množství uvolněného tepla, které je v tabulce 10 zaznamenáno, je nepřesné, většina piků je nedokončena příčinou omezeného teplotního rozsahu přístroje.*

5 ZÁVĚR

Cílem práce bylo zkoumání stability půdní organické hmoty a huminových látek. Pro studium byly použity dvě půdy rozdílného typu, lužní půda a fluvizemě a z nich izolované huminové kyseliny. Obě půdy jsou charakterizovány výskytem v blízkosti vodních toků. Lužní půdy se vyskytují v takové vzdálenosti od vodního toku, kde nejsou ovlivňovány záplavami a řadí se mezi nejúrodnější půdy střední Evropy. Fluvizemě jsou půdy, které jsou pod vlivem záplav, jejich matečním substrátem často bývají náplavové sedimenty, jejich využití je spíše jako louky, pastviny a pole. Již při izolaci bylo zjištěno, že v půdě typu fluvizemě je nižší obsah huminových kyselin než v lužní půdě.

Půdy a huminové kyseliny byly extrahovány ve třech různých činidlech, které se běžně používají na extrakci kovů a byly sledovány případné změny ve struktuře nebo stabilitě vzorků půd a huminových kyselin. Pro charakterizaci byla zvolena elementární analýza, která ukázala procentuální zastoupení jednotlivých prvků ve vzorku. Byly proměřeny jak vzorky po extrakci, tak i původní vzorky. Z výsledků jasně vyplývalo, že obsah jednotlivých prvků se s extrakcí změnil. Další metoda, která byla použita je FT-IR spektrometrie, z jejichž spekter, která byla porovnávána se spektry původních vzorků, nevyplývala žádná výrazná změna. Spektra půd zaznamenala nejvýraznější změnu u vibračního pásu odpovídajícímu vibraci vodíkových vazeb v $-OH$ skupinách. Spektra huminových kyselin se často lišila v intenzitě transmittance nežli v posunu vibračních pásů.

Další řada měření byla provedena z výluhů půd a huminových kyselin extrahovaných $1M HCl$, H_2O a $1M MgCl_2$. Výluhy byly charakterizovány prostřednictvím UV-VIS spektrometrie a dynamického rozptylu světla. V případě měření UV-VIS spekter, byly u výluhů stanoveny absorpční poměry E_2/E_3 a humifikační index E_4/E_6 . Z výsledků je patrné, že extrakcí došlo ke změně hodnot absorpčních poměrů. Nejvyšší hodnoty vykazovala extrakce $1M HCl$, což dokazuje nižší molekulovou hmotnost, menší velikosti částic a nižší stupeň kondenzovaných aromatických systémů. Dynamickým rozptylem světla byla určena intenzitní, objemová a početní distribuce velikosti částic, pomocí níž bylo zjištěno, že výluhy extrahované HCl obsahují největší počet částic ve velikosti $1-10$ nm. Dále byl určen zeta potenciál, jehož hodnoty odpovídaly nestabilním částicím. Největší zeta potenciál měly výluhy huminových kyselin extrahovaných H_2O a to díky jejich nízké vodivosti.

Dalším cílem práce bylo určení termické stability vzorků před a po extrakci. Byla zvolena metoda termogravimetrické analýzy, kde byl sledován úbytek hmotnosti v závislosti na teplotě. Byla zaznamenávána teplotní maxima jednotlivých degradací a úbytek hmotnosti je doprovázející. Úbytek hmotnosti vzorků huminových kyselin se pohyboval přes 90 hm. %, u vzorků půd činil průměrně 7 hm. %. Dále byla využita diferenční kompenzační kalorimetrie, kde výstupem byla závislost tepelného toku na teplotě. Jako tepelně nejstabilnější vzorky byly shledány ty, které byly extrahovány $1M MgCl_2$. Tyto vzorky dosahovaly maxima během druhé degradace nad teplotu 500 °C a jejich úbytek hmotnosti byl nejnižší, tato změna se přisuzuje možnému vytvoření stabilního komplexu huminové kyseliny s Mg obsaženým v činidle. Další posuny k vyšším teplotám zaznamenala i extrakce HCl . Extrakce H_2O neměla na vzorky výrazný vliv, což potvrdily i výsledky DSC.

Tato diplomová práce byla dělána na základě bakalářské práce, kde byla použita stejná extrakční činidla a huminová kyselina byla izolována z půdy typu černozem, která se řadí mezi nejúrodnější půdy. V bakalářské práci byl potvrzen vliv extrakčního činidla na tepelnou stabilitu huminové kyseliny. A jako nejstabilnější vzorek huminové kyseliny se jevil ten, který byl extrahován HCl. Porovnáním s výsledky z bakalářské práce, můžeme vidět, že huminová kyselina izolovaná z černozemě vykazuje mnohem vyšší stabilitu než huminové kyseliny izolované z půd použitých v této práci. První degradace huminové kyseliny z černozemě nastala až při teplotě 450 °C, přičemž u huminové kyseliny izolované z půdy lužního typu došlo k degradaci při 385 °C, u huminové kyseliny izolované z fluvizemě nastala degradace už při teplotě 330 °C. Teplotní maxima dalších degradací se u izolovaných huminových kyselin lišila podobně. Úbytek hmotnosti při druhé degradaci nastal u huminové kyseliny izolované z černozemě až při teplotě 548 °C, u huminové kyseliny izolované z půdy lužního typu při 497 °C a u huminové kyseliny izolované z fluvizemě při 493 °C.

6 LITERATURA

- [1] PELÍŠEK, Josef. *Lesnické půdoznalství: celostátní vysokoškolská učebnice*. Praha: SZN, 1957. Lesnická knihovna.
- [2] KUTÍLEK, Miroslav. *Půda planety Země*. Praha: Dokořán, 2012. Bod (Dokořán). ISBN 978-80-7363-212-0.
- [3] STEFFENS, Markus, Derek M. ROGGE, Carsten W. MUELLER, Carmen HÖSCHEN, Johann LUGMEIER, Angelika KÖLBL a Ingrid KÖGEL-KNABNER. *Identification of Distinct Functional Microstructural Domains Controlling C Storage in Soil*. 2017, 51(21), 12182-12189. DOI: 10.1021/acs.est.7b03715. ISSN 0013-936x. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.7b03715>
- [4] *VLIV OBHOSPODAŘOVÁNÍ TRVALÝCH TRAVNÍCH POROSTŮ NA OBSAH ORGANICKÉ HMOTY V PŮDĚ* [online]. (11) [cit. 2018-01-06]. Dostupné z: <http://svt.pi.gin.cz/vuzt/publ/P2011/014.PDF>
- [5] ŠARAPATKA, Bořivoj. *Pedologie a ochrana půdy*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2014. ISBN 978-80-244-3736-1
- [6] VINDEDAHL, Amanda M., Melissa S. STEMIG, William A. ARNOLD a R. Lee PENN. *Character of Humic Substances as a Predictor for Goethite Nanoparticle Reactivity and Aggregation*. 2016, 50(3), 1200-1208. DOI: 10.1021/acs.est.5b04136. ISSN 0013-936x. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.est.5b04136>
- [7] FENTON, Megan, Carl ALBERS a Quirine KETTERINGS. *Soil Organic Matter*. Cornell University Cooperative Extension, 2008. Dostupné také z: <http://nmsp.cals.cornell.edu/publications/factsheets/factsheet41.pdf>
- [8] GUSTAFSON, A. F. *Soils and soil management*. London: McGraw-Hill Book Company, 1941. McGraw-Hill publications in the agricultural sciences.
- [9] Pidwirny, M. (2006). "Introduction to Soils". *Fundamentals of Physical Geography, 2nd Edition*. Date Viewed. <http://www.physicalgeography.net/fundamentals/10t.html>
- [10] VRBA, Vladimír, HULEŠ, Ludvík: Humus - půda - rostlina (2) Humus a půda. *Biom.cz* [online]. 2006-11-14 [cit. 2018-01-05]. Dostupné z WWW: <<http://biom.cz/cz/odborne-clanky/humus-puda-rostlina-2-humus-a-puda>>. ISSN: 1801-2655.
- [11] WAN, Jiamin, Tetsu K. TOKUNAGA, Wenming DONG a Yongman KIM. *Extracting Natural Biosurfactants from Humus Deposits for Subsurface Engineering Applications*. 2017, 31(11), 11902-11910. DOI: 10.1021/acs.energyfuels.7b02203. ISSN 0887-0624. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.energyfuels.7b02203>
- [12] SKOKANOVÁ, Marianna a Katarína DERCOVÁ. HUMÍNOVÉ KYSELINY. POVOD A ŠTRUKTÚRA. *Chemické listy*. 2008, (102), 262-268. Dostupné také z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2008_04_262-268.pdf

- [13] HURRASS, Julia a Gabriele E. SCHAUMANN. *Is Glassiness a Common Characteristic of Soil Organic Matter?*. 2005, 39(24), 9534-9540. DOI: 10.1021/es051588i. ISSN 0013-936x. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es051588i>
- [14] BOŮRVKA, L. a O. DRÁBEK. *Heavy metal distribution between fractions of humic substances in heavily polluted soils*. 2004, 50(8), 339-345. Dostupné také z: <http://www.agriculturejournals.cz/publicFiles/52770.pdf>
- [15] DINU, M. I., Andrea ERTANI a Ornella FRANCIOSO. *Formation of organic substances of humus nature and their biospheric properties: The role of humic substances*. DOI: 10.1134/S0016702917100032. ISBN 10.1134/S0016702917100032. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1134/S0016702917100032>
- [16] NARDI, Serenella, Andrea ERTANI a Ornella FRANCIOSO. *Soil-root cross-talking: The role of humic substances*. DOI: 10.1002/jpln.201600348. ISBN 10.1002/jpln.201600348. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/jpln.201600348>
- [17] KANG, Ki-Hoon, Hyun Sang SHIN, Heekyung PARK, et al. Characterization of humic substances present in landfill leachates with different landfill ages and its implications: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Materials Science and Engineering: C*. 2016, 62, 967-974. DOI: 10.1016/S0043-1354(02)00114-8. ISBN 10.1016/S0043-1354(02)00114-8.
- [18] PIVOKONSKÝ, Martin, Lenka PIVOKONSKÁ, Petra BUBÁKOVÁ a Václav JANDA. Úprava vody s obsahem huminových látek. *Chemické listy*. 104, 1015-1022. Dostupné také z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2010_11_1015-1022.pdf
- [19] ABAKUMOV, Evgeny, Martin KUBAL, Josef KOZLER a Petra INNEMANOVÁ. STRUKTURA A VLASTNOSTI PŘÍRODNÍCH HUMINOVÝCH LÁTEK TYPU OXIHUMOLITU. *Chemické listy*. 2005, 99, 711-717. Dostupné také z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2005_10_711-717.pdf
- [20] MANZAK, Aynur, Cem KURŞUN a Yasemin YILDIZ. Characterization of humic acid extracted from aqueous solutions with polymer inclusion membranes. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*[online]. 2017, 81, 14-20 [cit. 2018-02-28]. DOI: 10.1016/j.jtice.2017.10.024. ISSN 18761070. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S187610701730562X>
- [21] ZANIN, Laura, Nicola TOMASI, Anita ZAMBONI, et al. Water-extractable humic substances speed up transcriptional response of maize roots to nitrate: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Environmental and Experimental Botany*. 2018, 147, 167-178. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2017.12.014. ISBN 10.1016/S0043-1354(02)00114-8. ISSN 00988472. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0098847217303337>

- [22] LODYGIN, Evgeny, Vasily BEZNOSIKOV a Evgeny ABAKUMOV. Humic substances elemental composition of selected taiga and tundra soils from Russian European North-East. *Polish polar research*. 2017, 38(2), 125-147. DOI: 10.1515/popore-2017-0007.
- [23] TAN, Liqiang, Xiangxue WANG, Xiaoli TAN, et al. Bonding properties of humic acid with attapulgite and its influence on U(VI) sorption. *Chemical Geology*. 2017, 464, 91-100. DOI: 10.1016/j.chemgeo.2017.01.024. ISBN 10.1007/s00374-014-0940-9. ISSN 00092541. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009254117300487>
- [24] DAVIES, Geoffrey, Elham A. GHABBOUR, Cornelius STEELINK, et al. Humic Acids: Marvelous Products of Soil Chemistry. *Chemical Geology*. 2017, 464, 91-100. DOI: 10.1021/ed078p1609. ISBN 10.1021/ed078p1609. ISSN 00092541. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ed078p1609>
- [25] RODRÍGUEZ-MURILLO, Juan Carlos, Gonzalo ALMENDROS a Heike KNICKER. Humic acid composition and humification processes in wetland soils of a Mediterranean semiarid wetland. *Journal of Soils and Sediments* [online]. 2017, 17(8), 2104-2115 [cit. 2018-02-21]. DOI: 10.1007/s11368-017-1663-y. ISSN 1439-0108. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11368-017-1663-y>
- [26] DE MELO, Bruna Alice Gomes, Fernanda Lopes MOTTA, Maria Helena Andrade SANTANA, et al. Humic acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Materials Science and Engineering: C*. 2016, 62, 967-974. DOI: 10.1016/j.msec.2015.12.001. ISBN 10.1021/ed078p1609. ISSN 09284931. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0928493115306123>
- [27] DOSKOČIL, Leoš, Jana BURDÍKOVÁ-SZEWIECZKOVÁ, Vojtěch ENEV, Lukáš KALINA a Jaromír WASSERBAUER. Spectral characterization and comparison of humic acids isolated from some European lignites. *Fuel* [online]. 2018, 213, 123-132 [cit. 2018-02-28]. DOI: 10.1016/j.fuel.2017.10.114. ISSN 00162361. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016236117313637>
- [28] BOGUTA, Patrycja, Valeria D'ORAZIO, Zofia SOKOŁOWSKA a Nicola SENESI. Effects of selected chemical and physicochemical properties of humic acids from peat soils on their interaction mechanisms with copper ions at various pHs. *Journal of Geochemical Exploration* [online]. 2016, 168, 119-126 [cit. 2018-02-28]. DOI: 10.1016/j.gexplo.2016.06.004. ISSN 03756742. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0375674216301327>
- [29] YATES, Leland M. a Ray VON WANDRUSZKA. Decontamination of Polluted Water by Treatment with a Crude Humic Acid Blend. *Environmental Science & Technology* [online]. 1999, 33(12), 2076-2080 [cit. 2018-02-27]. DOI: 10.1021/es980408k. ISSN 0013-936X. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es980408k>

- [30] ARAUJO, Joyce R., Braulio S. ARCHANJO, Katia R. DE SOUZA, Witold KWAPINSKI, Newton P. S. FALCÃO, Etelvino H. NOVOTNY a Carlos A. ACHETE. *Selective extraction of humic acids from an anthropogenic Amazonian dark earth and from a chemically oxidized charcoal*. DOI: 10.1007/s00374-014-0940-9. ISBN 10.1007/s00374-014-0940-9. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00374-014-0940-9>
- [31] CUI, Tingting, Zhihong LI a Shijie WANG. Effects of in-situ straw decomposition on composition of humus and structure of humic acid at different soil depths. *Journal of Soils and Sediments* [online]. 2017, 17(10), 2391-2399 [cit. 2018-02-21]. DOI: 10.1007/s11368-017-1704-6. ISSN 1439-0108. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11368-017-1704-6>
- [32] GARCÍA-GIL, J.C., C. PLAZA, J.M. FERNÁNDEZ, N. SENESI a A. POLO. Soil fulvic acid characteristics and proton binding behavior as affected by long-term municipal waste compost amendment under semi-arid environment. *Geoderma*. 2010, 159(1-2), 131-138. DOI: 10.1016/j.geoderma.2008.06.009. ISBN 10.1016/j.geoderma.2008.06.009. ISSN 00167061. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016706108001705>
- [33] SONG, Fanhao, Fengchang WU, Baoshan XING, et al. Protonation-dependent heterogeneity in fluorescent binding sites in sub-fractions of fulvic acid using principle component analysis and two-dimensional correlation spectroscopy: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Science of The Total Environment*. 2018, 616-617, 1279-1287. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.190. ISBN 10.1016/S0043-1354(02)00114-8. ISSN 00489697. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969717329017>
- [34] ZHANG, Zhenrui, Changwei LÜ, Jiang HE, et al. Nature differences of fulvic acid fractions induced by extracted sequence as explanatory factors for binding characteristics of Cu 2: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Chemosphere*. 2018, 191(2), 458-466. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.10.080. ISBN 10.1016/S0043-1354(02)00114-8. ISSN 00456535. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S004565351731665X>
- [35] IIMURA, Yasuo, Tomoya OHTANI, Silvia CHERSICH, Masayuki TANI a Nobuhide FUJITAKE. Characterization of DAX-8 adsorbed soil fulvic acid fractions by various types of analyses. *Soil Science and Plant Nutrition*. 2012, 58(4), 404-415. DOI: 10.1080/00380768.2012.708318. ISSN 0038-0768. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00380768.2012.708318>

- [36] ARCE, Valeria B., Carla R. MUCCI, Alejandra M. FERNÁNDEZ SOLARTE, et al. Application of Novel Fulvic Acid-Coated Magnetite Nanoparticles for CO₂-Mediated Photoreduction of Cr(VI): Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Science of The Total Environment*. 2018, 229(2), -. DOI: 10.1007/s11270-018-3693-5. ISBN 10.1016/S0043-1354(02)00114-8. ISSN 0049-6979. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11270-018-3693-5>
- [37] SONG, Fanhao, Fengchang WU, Fei GUO, et al. Interactions between stepwise-eluted sub-fractions of fulvic acids and protons revealed by fluorescence titration combined with EEM-PARAFAC: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Science of The Total Environment*. 2017, 605-606(2), 58-65. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.06.164. ISBN 10.1016/S0043-1354(02)00114-8. ISSN 00489697. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969717315838>
- [38] GÜNGÖR, E. Burcu Özkaraova, Miray BEKBÖLET, Silvia CHERSICH, Masayuki TANI a Nobuhide FUJITAKE. Zinc release by humic and fulvic acid as influenced by pH, complexation and DOC sorption. *Geoderma*. 2010, 159(1-2), 131-138. DOI: 10.1016/j.geoderma.2010.07.004. ISSN 00167061. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016706110002156>
- [39] FOURTI, Olfa, Naceur JEDIDI, Abdennaceur HASSEN, J. A. RODRÍGUEZ-AÑÓN a N. BARROS. Humic substances change during the co-composting process of municipal solid wastes and sewage sludge. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 1998, 237(1-2), 7-11. DOI: 10.1007/s11274-010-0411-x. ISBN 10.1007/s11274-010-0411-x. ISSN 0236-5731. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11274-010-0411-x>
- [40] ZALBA, Pablo, Nilda M. AMIOTTI, Juan A. GALANTINI, Silvia PISTOLA a N. BARROS. Soil Humic and Fulvic Acids from Different Land-Use Systems Evaluated By E4/E6 Ratios. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*. 2016, 47(13-14), 1675-1679. DOI: 10.1080/00103624.2016.1206558. ISBN 10.1007/s11274-010-0411-x. ISSN 0010-3624. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00103624.2016.1206558>
- [41] HELAL, A. A., D. M. IMAM, H. F. ALY, J. A. RODRÍGUEZ-AÑÓN a N. BARROS. Interaction of Cs , Sr² and Gd³ with humin. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 1998, 237(1-2), 7-11. DOI: 10.1007/BF02386653. ISBN 10.1007/s10973-009-0559-5. ISSN 0236-5731. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF02386653>
- [42] SOARES JACUNDINO, Jonas, Oseas SILVA SANTOS, Josué CARINHANHA CALDAS SANTOS, et al. Interactions between humin and potentially toxic metals: Prospects for its utilization as an environmental repair agent. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2016, 118(13-14), 259-266. DOI: 10.1016/j.jece.2015.03.032. ISBN 10.1016/j.jece.2015.03.032. ISSN 01652370. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213343715000809>

- [43] XU, Jisheng, Bingzi ZHAO, Wenyang CHU, Jingdong MAO, Dan C. OLK, Xiuli XIN a Jiabao ZHANG. Altered humin compositions under organic and inorganic fertilization on an intensively cultivated sandy loam soil. *Science of The Total Environment*. 2017, 601-602(13-14), 356-364. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.05.205. ISBN 10.1007/s11274-010-0411-x. ISSN 00489697. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969717313128>
- [44] WANG, Shurong, Haizhou LIN, Yuan ZHAO, et al. Structural characterization and pyrolysis behavior of humin by-products from the acid-catalyzed conversion of C6 and C5 carbohydrates. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2016, 118(13-14), 259-266. DOI: 10.1016/j.jaap.2016.02.009. ISBN 10.1007/s11274-010-0411-x. ISSN 01652370. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0165237015304149>
- [45] GUO, Xiaoying, Xiaofang SHEN, Meng ZHANG, et al. Sorption mechanisms of sulfamethazine to soil humin and its subfractions after sequential treatments. *Environmental Pollution*. 2017, 221(13-14), 266-275. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.11.073. ISBN 10.1007/s11274-010-0411-x. ISSN 02697491. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0269749116324095>
- [46] TADINI, Amanda Maria, Gustavo NICOLODELLI, Stephane MOUNIER, et al. The importance of humin in soil characterisation: A study on Amazonian soils using different fluorescence techniques. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2016, 118(13-14), 259-266. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2015.07.125. ISBN 10.1016/j.scitotenv.2015.07.125. ISSN 01652370. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0048969715304678>
- [47] KUČERÍK, Jiří, David TOKARSKI, Michael Scott DEMYAN, et al. Linking soil organic matter thermal stability with contents of clay, bound water, organic carbon and nitrogen: Prospects for its utilization as an environmental repair agent. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2016, 118(13-14), 259-266. DOI: 10.1016/j.geoderma.2017.12.001. ISBN 10.1016/j.geoderma.2017.12.001. ISSN 01652370. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016706117314416>
- [48] FENG, Wenting, Alain F. PLANTE, Anthony K. AUFDENKAMPE, et al. Soil organic matter stability in organo-mineral complexes as a function of increasing C loading: A case study of deciduous and coniferous forest types. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2016, 118(13-14), 259-266. DOI: 10.1016/j.soilbio.2013.11.024. ISBN 10.1016/j.soilbio.2013.11.024. ISSN 01652370. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0038071713004318>
- [49] GILLESPIE, A. W., A. DIOCHON, B. L. MA, et al. Nitrogen input quality changes the biochemical composition of soil organic matter stabilized in the fine fraction: a long-term study. *Biogeochemistry*. 2015, 122(1), 101-111. DOI: 10.1007/s10533-013-9871-z. ISBN 10.1007/s10533-013-9871-z. ISSN 0168-2563. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10533-013-9871-z>

- [50] OHNO, Tsutomu, Katherine A. HECKMAN, Alain F. PLANTE, et al. 14 C mean residence time and its relationship with thermal stability and molecular composition of soil organic matter: A case study of deciduous and coniferous forest types. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2016, 118(13-14), 259-266. DOI: 10.1016/j.geoderma.2017.08.023. ISBN 10.1016/j.geoderma.2017.08.023. ISSN 01652370. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016706117305797>
- [51] YU, Zhenghong, Jiabao ZHANG, Congzhi ZHANG, et al. The coupling effects of soil organic matter and particle interaction forces on soil aggregate stability: A case study of deciduous and coniferous forest types. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2016, 118(13-14), 259-266. DOI: 10.1016/j.still.2017.08.004. ISBN 10.1016/j.still.2017.08.004. ISSN 01652370. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167198717301460>
- [52] GREGORICH, E.G., A.W. GILLESPIE, M.H. BEARE, et al. Evaluating biodegradability of soil organic matter by its thermal stability and chemical composition: A case study of deciduous and coniferous forest types. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2016, 118(13-14), 259-266. DOI: 10.1016/j.soilbio.2015.08.032. ISBN 10.1016/j.soilbio.2015.08.032. ISSN 01652370. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0038071715003107>
- [53] TIAN, G., A.J. FRANZLUEBBERS, T.C. GRANATO, et al. Stability of soil organic matter under long-term biosolids application: A case study of deciduous and coniferous forest types. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 2016, 118(13-14), 259-266. DOI: 10.1016/j.apsoil.2012.12.001. ISBN 10.1016/j.apsoil.2012.12.001. ISSN 01652370. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092913931200279X>
- [54] LOPEZ-CAPEL, Elisa, Saran P. SOHI, John L. GAUNT a David A. C. MANNING. Use of Thermogravimetry–Differential Scanning Calorimetry to Characterize Modelable Soil Organic Matter Fractions. *Soil Science Society of America Journal*. 2005, 69(3), 930-. DOI: 10.2136/sssaj2005.0930. ISSN 1435-0661. Dostupné také z: <http://www.soils.org/publications/sssaj/abstracts/69/3/0930>
- [55] ALBRECHT, R., D. SEBAG a E. VERRECCHIA. Organic matter decomposition: bridging the gap between Rock–Eval pyrolysis and chemical characterization (CPMAS 13C NMR). *Biogeochemistry*. 2015, 122(1), 101-111. DOI: 10.1007/s10533-014-0033-8. ISSN 0168-2563. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10533-014-0033-8>
- [56] MIAO, Shu-jie, Yun-fa QIAO, Meng-yang YOU a Fu-tao ZHANG. *Thermal stability of soil organic matter was affected by 23-yr maize and soybean continuous cultivation in northeast of China*. DOI: 10.1007/s10973-015-4709-7. ISBN 10.1007/s10973-015-4709-7. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10973-015-4709-7>

- [57] DELL'ABATE, M. T., A. BENEDETTI, P. SEQUI a Fu-tao ZHANG. *Thermal stability of soil organic matter was affected by 23-yr maize and soybean continuous cultivation in northeast of China*. DOI: 10.1023/A:1010157115211. ISBN 10.1023/A:1010157115211. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1023/A:1010157115211>
- [58] SALGADO, J., J. PROUPÍN, M. VILLANUEVA, J. A. RODRÍGUEZ-AÑÓN a N. BARROS. Effect of the soil uses on their thermal stability. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2010, 99(3), 911-916. DOI: 10.1007/s10973-009-0559-5. ISBN 10.1007/s10973-009-0559-5. ISSN 1388-6150. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10973-009-0559-5>
- [59] ARMAS-HERRERA, Cecilia M., Clara MARTÍ, David BADÍA, Oriol ORTIZ-PERPIÑÁ, Antonio GIRONA-GARCÍA a Jaume PORTA. *Immediate effects of prescribed burning in the Central Pyrenees on the amount and stability of topsoil organic matter*. DOI: 10.1016/j.catena.2016.07.016. ISBN 10.1016/j.catena.2016.07.016. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0341816216302752>
- [60] WANG, Yong, Shuqing GAO, Cuilan LI, Jinjing ZHANG, Lichun WANG a Jaume PORTA. *Effects of temperature on soil organic carbon fractions contents, aggregate stability and structural characteristics of humic substances in a Mollisol*. DOI: 10.1007/s11368-016-1379-4. ISBN 10.1007/s11368-016-1379-4. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11368-016-1379-4>
- [61] KUČERÍK, Jiří, Jan KOVÁŘ, Miloslav PEKAŘ, Peter ŠIMON, Lichun WANG a Jaume PORTA. *Evaluation of oxidation stability of lignite humic substances by DSC induction period measurement*. DOI: 10.1007/s00114-005-0638-9. ISBN 10.1007/s00114-005-0638-9. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00114-005-0638-9>
- [62] BUURMAN, P., B. VAN LAGEN, A. PICCOLO, Peter ŠIMON, Lichun WANG a Jaume PORTA. *Increase in stability against thermal oxidation of soil humic substances as a result of self association*. DOI: 10.1016/S0146-6380(01)00167-X. ISBN 10.1016/S0146-6380(01)00167-X. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S014663800100167X>
- [63] BOGUTA, Patrycja, Zofia SOKOŁOWSKA, Kamil SKIC a Amitava MUKHERJEE. *Use of thermal analysis coupled with differential scanning calorimetry, quadrupole mass spectrometry and infrared spectroscopy (TG-DSC-QMS-FTIR) to monitor chemical properties and thermal stability of fulvic and humic acids*. DOI: 10.1371/journal.pone.0189653. ISBN 10.1371/journal.pone.0189653. Dostupné také z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0189653>
- [64] PATNAIK, Pradyot. *Dean's analytical chemistry handbook*. 2004. ISBN 00-714-1060-0.

- [65] WUNDERLICH, Bernhard. *Thermal analysis of polymeric materials*. 2005. ISBN 35-402-3629-5.
- [66] HATAKEYAMA, T. *Thermal Analysis: Fundamentals and Applications Polymer Science*. 1999. ISBN 04-719-8362-4.
- [67] POLANSKÝ, R. *Teorie a praxe termogravimetrické analýzy*. Katedra technologií a měření, Fakulta elektrotechnická, ZČU v Plzni, Univerzitní 26, Plzeň.
- [68] READING, Mike. *Thermal analysis of pharmaceuticals*. c2007. ISBN 08-247-5814-5.
- [69] SEILEROVÁ, Lenka a Hana BRUSOVÁ. VYUŽITÍ METOD TERMICKÉ ANALÝZY VE VÝZKUMU A VÝVOJI LÉČIV. *Chemické listy*. 2012, (106), 890-895.
- [70] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.
- [71] F. Novák, V. Machovič, H. Hrabalová and M. Novotná (University of Chemistry and Technology, Prague, Institute of Rock Structure and Mechanics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague): Quantitative FTIR Spectrometry of Humic Substances
- [72] HELAL, Aly A., G.A. MURAD a A.A. HELAL. *Characterization of different humic materials by various analytical techniques*. DOI: 10.1016/j.arabjc.2010.06.018. ISBN 10.1016/j.arabjc.2010.06.018. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1878535210000705>
- [73] SOMMER, Lumír. *Základy analytické chemie*. Brno: VUTIUM, 2000. ISBN 80-214-1742-0.
- [74] FUENTES, Marta, Gustavo GONZÁLEZ-GAITANO a José Ma GARCÍA-MINA. *The usefulness of UV-visible and fluorescence spectroscopies to study the chemical nature of humic substances from soils and composts*. DOI: 10.1016/j.orggeochem.2006.07.024. ISBN 10.1016/j.orggeochem.2006.07.024. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0146638006001896>
- [75] ENEV, V., L. POSPÍŠILOVÁ, M. KLUČÁKOVÁ, T. LIPTAJ a L. DOSKOČIL. Spectral characterization of selected humic substances. *Soil and Water Research*. 2018, 9(No. 1), 9-17. DOI: 10.17221/39/2013-SWR. ISBN 10.17221/39/2013-SWR. ISSN 18015395.
- [76] DE MELO BENITES, Vinicius, Eduardo DE SÁ MENDONÇA, Carlos Ernesto G.R. SCHAEFER, Etelvino HENRIQUE NOVOTNY, Efraim LÁZARO REIS a João CARLOS KER. *Properties of black soil humic acids from high altitude rocky complexes in Brazil*. DOI: 10.1016/j.geoderma.2004.11.020. ISBN 10.1016/j.geoderma.2004.11.020. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016706104003040>

- [77] MURPHY, Ellyn M., John M. ZACHARA, Steven C. SMITH, Etelvino HENRIQUE NOVOTNY, Efraim LÁZARO REIS a João CARLOS KER. *Influence of mineral-bound humic substances on the sorption of hydrophobic organic compounds*. DOI: 10.1021/es00080a009. ISBN 10.1021/es00080a009. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es00080a009>
- [78] SHEN, Junjie, Simona GAGLIARDI, Martin R.S. MCCOUSTRA a Valeria ARRIGHI. *Effect of humic substances aggregation on the determination of fluoride in water using an ion selective electrode*. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.05.069. ISBN 10.1016/j.chemosphere.2016.05.069. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653516307160>
- [79] DUARTE, Regina M.B.O. a Armando C. DUARTE. *Thermogravimetric characteristics of water-soluble organic matter from atmospheric aerosols collected in a rural-coastal area*. DOI: 10.1016/j.atmosenv.2008.04.019. ISBN 10.1016/j.atmosenv.2008.04.019. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1352231008004585>
- [80] BASKAKOV, S. A., A. S. LOBACH, S. G. VASIL'EV, et al. *High-temperature carbonization of humic acids and a composite of humic acids with graphene oxide*. DOI: 10.1134/S0018143916010021. ISBN 10.1134/S0018143916010021. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1134/S0018143916010021>

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

NOM	přírodní organická hmota (<i>Natural organic matter</i>)
SOM	půdní organická hmota (<i>Soil organic matter</i>)
HL	humínové látky
HK	humínová kyselina
FK	fulvíková kyselina
UV	ultrafialová oblast spektra elektromagnetického záření
VIS	viditelná oblast spektra elektromagnetického záření
IR	infračervená oblast elektromagnetického záření
FT	Fourierova transformace
DRIFT	difúzní reflektance
ATR	technika zeslabeného úplného odrazu
TGA	termogravimetrická analýza
DTG	Derivační termogravimetrie
DSC	diferenční kompenzační kalorimetrie
MRT	střední doba pobytu (<i>Mean residence times</i>)
LE	lokálně-excitační pásmo (<i>Local-excitation band</i>)
Bz	benzenoidní pás (<i>Benzenoid band</i>)
ET	pás přenosu elektronů (<i>electron-transfer band</i>)
DLS	dynamický rozptyl světla (<i>Dynamic light scattering</i>)