

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

CHEMICKÁ A TERMICKÁ STABILITA HUMINOVÝCH KOMPLEXŮ

DIPLOMOVÁ PRÁCE
MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

Bc. TEREZA NOVÁKOVÁ

BRNO 2014



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

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0809/2013	Akademický rok: 2013/2014
Ústav:	Ústav fyzikální a spotřební chemie	
Student(ka):	Bc. Tereza Nováková	
Studijní program:	Spotřební chemie (N2806)	
Studijní obor:	Spotřební chemie (2806T002)	
Vedoucí práce	doc. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.	
Konzultanti:		

Název diplomové práce:

Chemická a termická stabilita huminových komplexů

Zadání diplomové práce:

Cílem práce je posoudit vztah mezi chemickou a termickou stabilitou komplexů huminových látek s kovovými ionty.

Termín odevzdání diplomové práce: 19.5.2014

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Tereza Nováková
Student(ka)

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

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2014

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Předložená diplomová práce zkoumá vztah mezi chemickou a termickou stabilitou komplexů huminových kyselin s těžkými kovy, konkrétně komplexy niklu, kobaltu a mědi. Komplexy byly připraveny s roztoky kovů o třech odlišných počátečních koncentracích. Pomocí techniky UV-VIS byla stanovena množství inkorporovaných kovových iontů ve struktuře huminových kyselin; bylo potvrzeno, že množství kovových iontů vzrůstá s rostoucí počáteční koncentrací. Chemická stabilita byla stanovena jako množství uvolněných kovových iontů dvěma extrakčními činidly (roztoky $MgCl_2$ a HCl), byly získány frakce reziduální, silně vázaná a mobilní a iontově výměnná. Změny, ke kterým docházelo ve struktuře huminových kyselin po vzniku komplexů a po jejich extrakci, byly sledovány FT-IR spektrometrií. Termooxidační stabilita byla prověřena metodami termogravimetrické analýzy (TGA) a diferenční kompenzační kalorimetrie (DSC). Výsledky přinesly srovnání komplexů dvou huminových kyselin, potvrdily vliv kovových iontů na jejich termooxidační stabilitu. Vztah mezi chemickou a termickou stabilitou byl porovnán na základě korelace dat získaných těmito metodami.

ABSTRACT

The aim of this diploma thesis was the study of relation between chemical and thermal stability of complexes of humic acids with heavy metals, namely nickel, cobalt and copper. Complexes were prepared with metal solutions of three different initial concentrations. Through UV-VIS spectrophotometry were determined adsorbed amounts of incorporated metal ions in the structure of humic acid; it was affirmed that amount of bounded metal ions increases with increasing initial concentration. Chemical stability was determined as an amount of released metal ions, two of extraction agents were used (solution of $MgCl_2$ and HCl), total bounded amount was distribute into three different fractions; residual fraction, strongly bound fraction and mobile and ion-exchangeable fraction. Changes that occurred in the structure of humic acids after complexation and extraction were investigated by FT-IR spectrometry. Thermo-oxidative stability was tested through thermogravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetry. The results of this diploma thesis has showed comparison of complexes of two different humic acids. They have confirmed an impact of each metal ion on thermo-oxidative stability of humic acids. The relation between chemical and thermal stability was compared through correlation of data obtained by these methods.

KLÍČOVÁ SLOVA:

Huminové kyseliny, komplexy, těžké kovy, termická stabilita, chemická stabilita

KEY WORDS:

Humic acids, complexes, heavy metals, thermal stability, chemical stability

NOVÁKOVÁ, T. *Chemická a termická stabilita huminových komplexů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2014. 72 s. Vedoucí diplomové práce doc. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

Poděkování:

Na tomto místě bych velmi ráda vyjádřila upřímné poděkování vedoucí mé diplomové práce doc. Ing. Martině Klučákové, PhD., za vynikající vedení, cenné rady, energii a čas, který mi při řešení práce věnovala.

Dále děkuji svým nejbližším za podporu během celého studia.

OBSAH

1 ÚVOD	7
2 TEORETICKÁ ČÁST	8
2.1 Huminové látky	8
2.1.1 Geneze huminových látek	8
2.1.1.1 Ligninová teorie	8
2.1.1.2 Polyfenolová teorie	8
2.1.1.3 Kondenzace sacharidů s aminy.....	9
2.1.2 Vlastnosti huminových látek	10
2.1.3 Struktura huminových látek	10
2.1.4 Huminové látky a jejich role v přírodě.....	13
2.1.5 Dělení huminových látek.....	14
2.2 Huminové kyseliny	16
2.2.1 Struktura huminových kyselin.....	18
2.2.2 Huminové kyseliny a jejich role v přírodě	20
2.3 Reaktivita a vazebné možnosti huminových kyselin.....	21
2.3.1 Reaktivita huminových kyselin	21
2.3.2 Interakce huminových kyselin s kovy	25
2.4 Stabilita huminových kyselin a jejich komplexů.....	28
2.5 Metody studia stability huminových kyselin.....	34
2.5.1 Extrakce kovů z huminových látek	35
2.5.2 Termogravimetrická analýza (TGA)	36
2.5.3 Diferenční kompenzační kalorimetrie (DSC).....	37
2.5.4 FT-IR spektrometrie	37
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	39
3.1 Použité chemikálie.....	39
3.2 Použité přístroje.....	39
3.3 Extrakce huminové kyseliny z lignitu	39
3.4 Charakterizace izolované huminové kyseliny	39
3.5 Příprava odměrných roztoků	40
3.6 Příprava komplexů.....	40
3.7 UV-VIS.....	40
3.8 Termická analýza.....	40
3.8.1 Termogravimetrická analýza	40
3.8.2 Diferenční kompenzační kalorimetrie	40
3.9 Chemická stabilita	41
4 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	42
4.1 Charakterizace použité huminové kyseliny a IHSS	42
4.1.1 Prvková analýza.....	42
4.1.2 FT-IR spektrometrie	42
4.2 Charakterizace připravených komplexů	43
4.2.1. Charakterizace připravených komplexů pomocí metody FT-IR spektrometrie .	45
4.2.1.1 Vliv Ni^{2+} iontů.....	45

4.2.1.2 Vliv Co^{2+} iontů	46
4.2.1.3 Vliv Cu^{2+} iontů	47
4.3 Chemická stabilita připravených komplexů	48
4.3.1 FT-IR spektra komplexů kovů s huminovými kyselinami po extrakci	52
4.4 Termická stabilita	53
4.4.1 Termická stabilita připravených komplexů	54
4.4.1.1 Vliv kovových iontů na stabilitu HK a IHSS	59
4.4.2 Termická stabilita připravených komplexů po extrakci 1M HCl a 1M $MgCl_2$...	60
4.5 Souvislost mezi chemickou a termickou stabilitou	62
5 ZÁVĚR	64
6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	65
7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	70
8 SEZNAM PŘÍLOH	71

1 ÚVOD

Huminové látky (HL) jsou všudypřítomné sloučeniny s velkým potenciálem, patří mezi nejrozšířenější organický materiál na zemském povrchu. HL vznikají rozkladem rostlinných a živočišných zbytků nebo činností mikroorganismů. Celkový obsah organického uhlíku v huminových látkách mnohonásobně převyšuje jeho obsah v živých organismech. Jedná se o velice specifickou skupinu látek, které za vhodných podmínek jsou schopny změnit své vlastnosti. Jsou neustálým předmětem zkoumání. Jejich struktura doposud není zcela objasněná, a to i přes velký pokrok v metodách instrumentální analýzy. Huminové látky se rozdělují na tři frakce, a to na nerozpustné huminy, fulvokyseliny a huminové kyseliny. Jednotlivé frakce se liší fyzikálně-chemickými vlastnostmi. Ať už je to barva, molekulová hmotnost, prvkové složení, rozpustnost nebo poloha funkčních skupin, vše závisí na stáří materiálu, jeho původu i způsobu odběru.

Huminové látky zastávají v přírodě mnoho funkcí. V půdě plní funkci akumulární, zásobní, ochrannou, ovlivňují transport živin kořenovým systémem rostlin. HL se vyznačují vysokou adsorpční kapacitou, mohou vázat látky, jak hydrofilní, tak hydrofobní povahy. Jsou schopny interakcí s ionty těžkých kovů, jílovitými materiály, pesticidy, hnojivy a dalšími organickými látkami, které se vyskytují v přírodě. Vznik komplexů kovových iontů s huminovými látkami ovlivňuje retenci těžkých kovů v půdě, jejich mobilitu. Huminové látky mají ohromný význam pro ochranu životního prostředí, neboť jejich vliv na samočistící mechanismus půdy je značný. Zvyšující se množství toxických přechodných kovů, stejně tak jako organických polutantů je varovným signálem pro půdní ekosystém. Studium interakcí, stabilit vznikajících komplexů a jejich chování v půdách je předmětem zkoumání mnoha výzkumných týmů.

Předložená diplomová práce se věnuje studiu termické a chemické stability huminových kyselin a jejich komplexů s kovovými ionty. Pro studium termické stability huminových kyselin a jejich komplexů s přechodnými kovy byly zvoleny metody termické analýzy, a to termogravimetrická analýza a diferenční kompenzační kalorimetrie. Pro studium chemické stability byly připravené komplexy kovů s huminovými kyselinami extrahovány dvěma různě silnými činidly, a to $MgCl_2$ a HCl . K charakterizaci byla využita metoda FT-IR spektroskopie a metoda UV-VIS spektroskopie.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Huminové látky

Přírodní organickou hmotu vyskytující se v půdě dělíme na huminové a nehuminové látky. Nehuminové látky jsou látky s rozpoznanou chemickou strukturou a vlastnostmi, patří sem polysacharidy, nukleové kyseliny, proteiny a lipidy. Zatímco huminové látky jsou považovány za přeměněný materiál, jehož vlastnosti se liší podle charakteru jejich prekurzorů. Huminové látky (HL) jsou přírodní látky organického původu, které vznikají chemickým a biologickým rozkladem organické hmoty a syntetickou činností mikroorganismů. Kromě přírodního původu mohou být HL i původu antropogenního. Huminové látky patří mezi vysokomolekulární, převážně cyklické sloučeniny aromatického charakteru, které jsou hnědožlutě, tmavohnědě až šedočerně zbarvené. Patří do skupiny polyfenolů a aromatických karboxylových kyselin. Jedná se o látky složité a ne zcela objasněné struktury. Navzdory tomu, že přesný mechanismus vzniku huminových látek není dodnes detailně objasněn, byly zformovány tři hlavní teorie vzniku [1][2][3].

2.1.1 Geneze huminových látek

Téma vzniku huminových látek bylo a stále je tématem mnoha spekulací. Informace o tom, jak huminové látky vznikají, by nám poskytly další podněty pro objasnění jejich struktury. Za vznikem huminových látek stojí několik rozdílných procesů, které se odehrávají během procesu humifikace. Humifikací rozumíme proces přeměny organických látek v humus, neboli rozklad odumřelých organismů rostlin a živočichů. Mezi nejznámější hypotézy vzniku patří následující teorie. První teorie uvažuje, že HL byly odvozeny z lignifikovaných pletiv rostlinných zbytků, druhá upřednostňovala mechanismus zahrnující chinony a třetí podporovala vznik HL z jednoduchých cukrů. V poslední, třetí teorii se jedná o reakce mezi redukovacími cukry a aminokyselinami za vzniku hnědých, dusík obsahujících polymerů [2].

2.1.1.1 Ligninová teorie

Po mnoho let převládala domněnka, že HL jsou odvozeny od ligninu a ten je jejich hlavním prekurzorem. Teorie byla prosazována S. A. Waksmanem. Lignin (Obr. 1, dráha 1) je neúplně zpracován mikroorganismy a jeho zbytky se stávají součástí půdního humusu. Předpokladem tedy je, že huminové látky reprezentují modifikované ligniny. Za nejmarkantnější změny v molekule ligninu považujeme ztrátu methoxylových skupin ($-OCH_3$) za vzniku *o*-hydroxyfenolů. Současně probíhající oxidace koncových alifatických postranních řetězců vede k tvorbě karboxylových skupin ($-COOH$). Demethylací a oxidací postranních řetězců vznikají produkty obohacené o karboxylové a fenolické skupiny, z čehož vyplývá, že obsah uhlíku bude oproti původnímu ligninu nižší a obsah kyslíku naopak vyšší. *O*-dihydroxybenzenové jednotky vzniklé demethylací ligninu jsou subjektem enzymatické oxidace, při které vznikají chinony. Chinony dále kondenzují s dusíkatými sloučeninami, v nichž se kyslík začleňuje do cyklických molekul a tvoří se huminové látky [4].

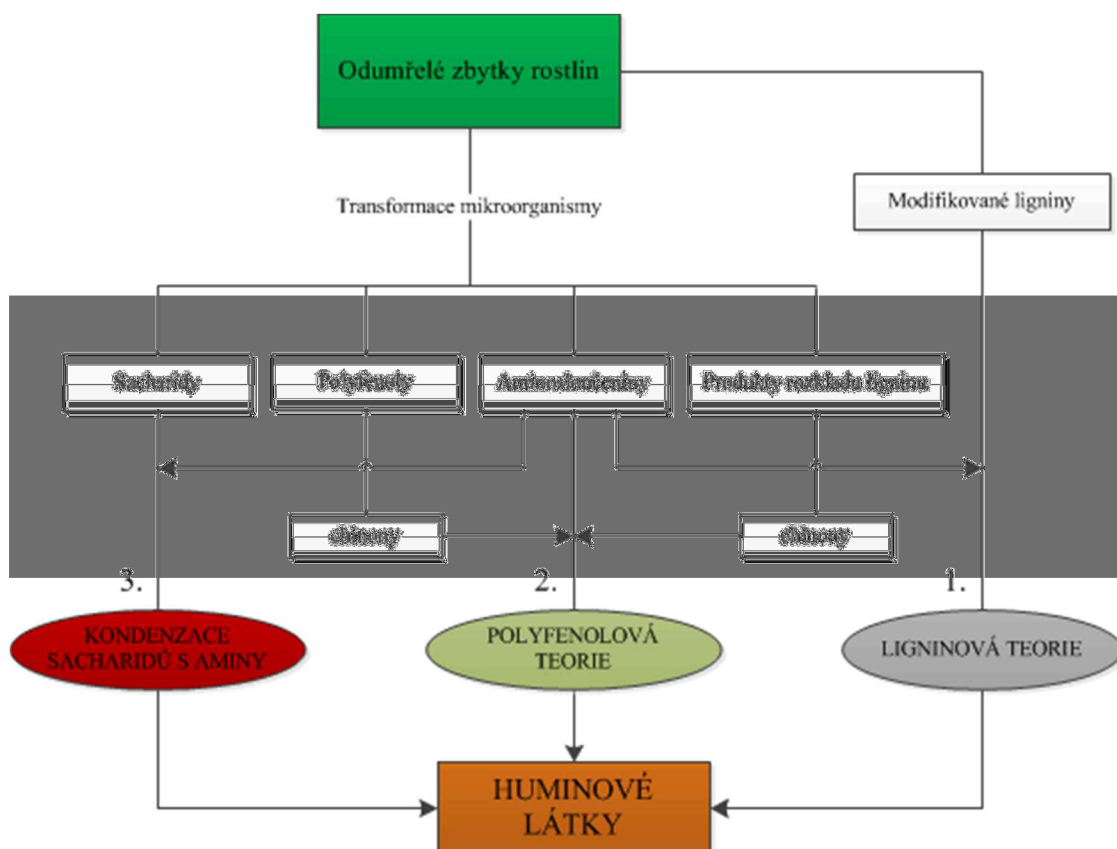
2.1.1.2 Polyfenolová teorie

Novější polyfenolová teorie (obr. 1, dráha 2) navazuje a vychází ze starší ligninové teorie. Hlavní stavební jednotky huminových látek vznikají z polyfenolů ligninového původu nebo jsou syntetizovány mikroorganismy. Předpokládá se tedy, že HL se v půdě tvoří převážně cestou rozkladu všech rostlinných biopolymerů na jejich monomerní strukturní jednotky. Možné zdroje fenolů, ze kterých vznikají HL, zahrnují lignin, glykosidy, třísloviny a produkty

mikrobiální syntézy. Během rozkladu rostlinných zbytků se rozpadá vazba ligninu a celulózy, postranní řetězce stavebních jednotek jsou oxidovány, probíhá demethylace. Vzniklé polyfenoly jsou přeměněny na chinony pomocí polyfenoloxidáz. Chinony dále reagují s dusíkatými sloučeninami a polymerizují na huminové látky. Množství jednotlivých prekurzorů a typů probíhajících reakcí je obrovské, stejně jako počet možných kombinací, zahrnujících na jedné straně nekonečnou pestrost jednotlivých huminových makromolekul, které mohou být získány, a na straně druhé strukturální podobnost jednotlivých stavebních částí.

2.1.1.3 Kondenzace sacharidů s aminy

Jedná se o neenzymatickou kondenzaci redukujících cukrů s aminy (obr. 1, dráha 3), které jsou vedlejšími produkty mikrobiálního metabolismu. Počáteční reakce zahrnuje adici aminoskupiny na karbonylovou skupinu sacharidu za vzniku *N*-substituovaných glykosylaminů. Postupné konformační změny a dehydratace vedou k rozkladu a vzniku tříuhlíkatých sloučenin (např. dihydroxyaceton, glycerinaldehyd). Všechny tyto sloučeniny jsou vysoce reaktivní. Ohotně polymerizují v přítomnosti aminů za vzniku hnědě zbarvených produktů podobných huminovým látkám. Podle této teorie jsou huminové látky tvořeny čistě chemickými reakcemi, kde mikroorganismy nezastávají přímou úlohu, avšak produkují sacharidy a aminokyseliny [5].



Obr. 1: Vznik HL, překresleno podle [4]

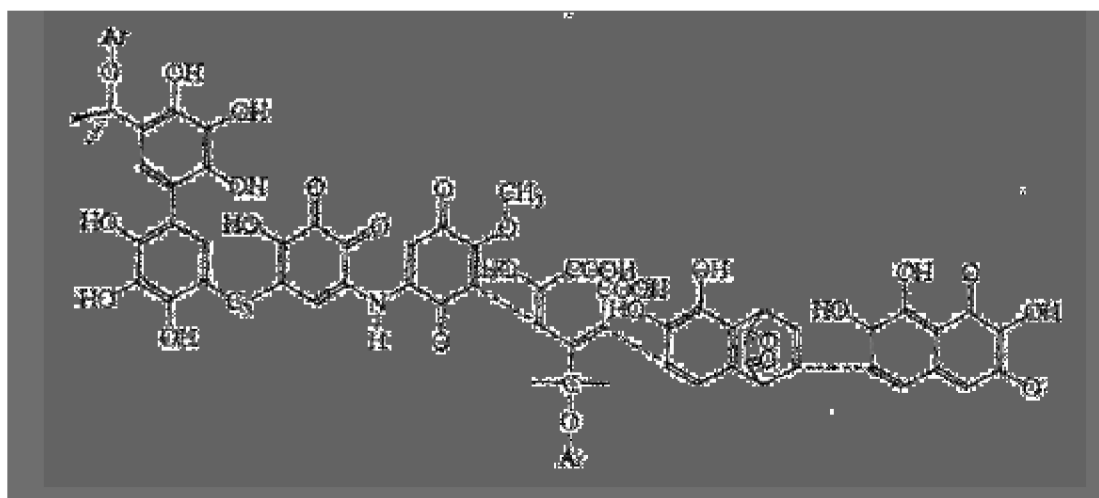
2.1.2 Vlastnosti huminových látek

Huminové látky jsou pravděpodobně nejrozšířenější organické sloučeniny na zemském povrchu, jsou považovány za nejdůležitější zdroj organického uhlíku v půdě i vodním prostředí a mají klíčovou úlohu v přírodě. HL se nachází nejen v půdě, ale i v rašelině, hnědém uhlí, říčních sedimentech, jsou zkrátka všudypřítomné. Přispívají k růstu rostlin, jsou zodpovědné za strukturu a fyzikálně-chemické vlastnosti půdy, obsahují až desetinásobné množství uhlíku oproti obsahu v tělech živých organismů. Nejedná se o chemická individua, nýbrž o směs několika látek s nestejným složením a odlišnou strukturou. K charakterizaci huminových látek slouží mimo jiné prvková analýza. HL tvoří hlavně uhlík, dusík, vodík, kyslík a mnohdy je zastoupena síra či fosfor. Procentuální zastoupení daných prvků se liší v závislosti na původu, pH, vegetaci a stáří daného materiálu. Složení je také ovlivněno metodou extrakce. Huminové látky reprezentují směs molekul odlišných velikostí, hmotností a struktur. HL jsou heterogenní povahy, což je způsobeno přítomností složek, které se nacházejí v různé fázi degradace. HL jsou značně chemicky reaktivní, v přírodě vystupují v rozmanitých reakcích a interakcích, což potvrzuje jejich zásadní roli v přírodě. Příkladem jsou redoxní reakce s ionty a organickými látkami, tvorba kovových komplexů, iontová výměna, disociace. HL mohou prostřednictvím volných radikálů vázat malé molekuly. Vazba je uskutečněna pomocí vodíkových můstků nebo nepolárních interakcí. HL se projevují jak hydrofilním, tak hydrofobním charakterem. Jedná se o koloidní sloučeniny s vlastnostmi polyelektrolytů [5] [6] [7] [8].

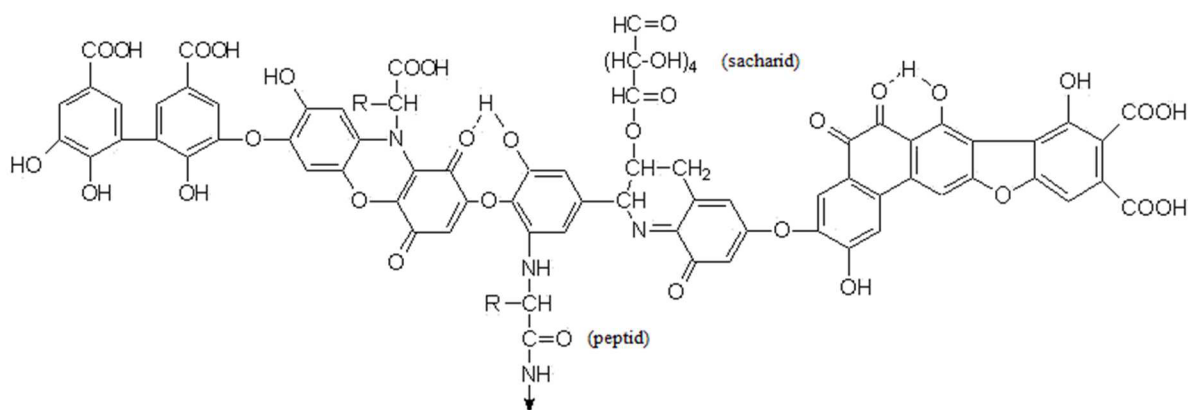
Z fyzikálně chemického hlediska se huminové látky rozpustné ve vodě chovají jako hydrofilní koloidy s různým stupněm disperzity. Koloidní částice mají v přírodních vodách záporný náboj a izoelektrický bod leží v kyselé oblasti. Charakteristické karboxylové a hydroxylové funkční skupiny jsou příčinou kyselosti a polárního charakteru. Obsah volných radikálů je vyšší při vyšším pH a od hodnoty $\text{pH} > 6$ se obsah zvyšuje rapidně [1].

2.1.3 Struktura huminových látek

Jak již bylo řečeno, HL představují nesourodou skupinu látek, tudíž ani jejich struktura nelze zobecnit. Za léta výzkumu bylo představeno několik teorií a zkonstruováno několik modelů shrnujících základní strukturální vlastnosti a funkční skupiny vázané v HL. Příkladem je model Flaiga z roku 1960 (Obr. 2), Stevensonův model z roku 1982 (Obr. 3). Oba tyto modely uvažují makromolekulární strukturu HL.



Obr. 2: Strukturní model huminové látky podle Flaiga z roku 1960 [3]



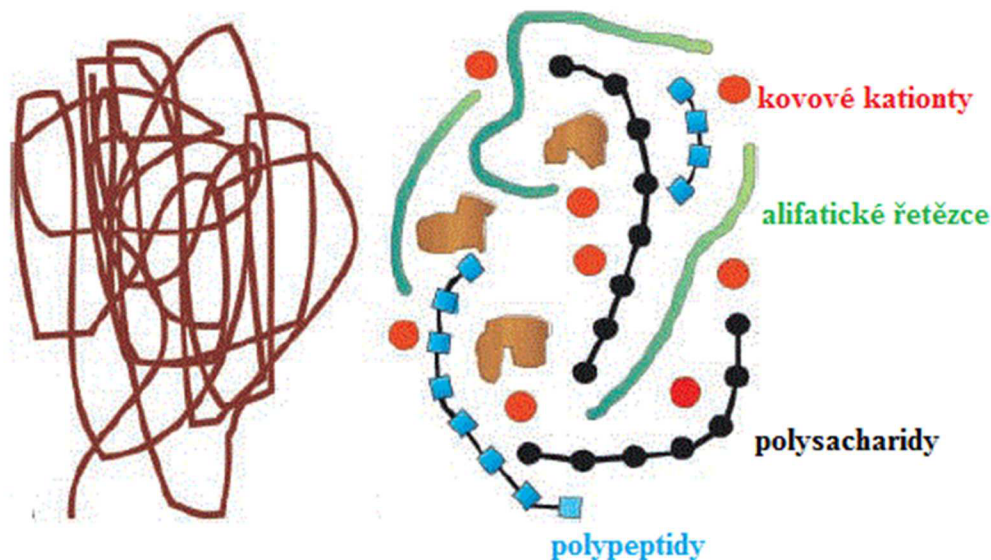
Obr. 3: *Struktura HL podle Stevenson (1982) [3]*

Druhotná teorie předpokládala, že se jedná o polymery mající makromolekulární strukturu. Nejnovější názory tvrdí, že se jedná o supramolekulární agregáty menších molekul s vlastnostmi makromolekul. Molekulová hmotnost kolísá od několika set až desetitisícům daltonů. HL je tvořena aromatickými jádry, fenolovými, chinonovými a heterocyklickými stavebními jednotkami, které se na sebe vážou pomocí esterových, amidových a etherových vazeb. Makromolekula HL nese na povrchu řetězce alifatické, lipidické, ale také zbytky aminokyselin, stejně jako funkční skupiny. Mezi nejčastější funkční skupiny zastoupené ve strukturách HL řadíme skupiny karboxylové COOH a slabě kyselé fenolové OH, ale také alkoholické, karbonylové. Karboxylové a fenolové skupiny jsou příčinou kyselosti, jsou zodpovědné za tvorbu komplexů HL, ovlivňují schopnost iontové výměny a adsorpční kapacitu. Veškeré pokusy o stanovení opakující se a přesně dané strukturální jednotky HL u vysokomolekulárních struktur selhaly, neboť humus, ze kterého látky pochází, se složením liší. Na základě dostupných informací bylo navrženo několik strukturálních modelů HL, které se dříve klonily k prvnímu konceptu, a tedy k makromolekulární struktuře. Z pohledu novější teorie si můžeme strukturu HL představit jako relativně malé heterogenní molekuly rozdílného původu tvořící supramolekulární konformace. Prostorová konformace je tedy poněkud složitější než se předpokládalo. Huminové struktury, poskládané z relativně malých molekul, které vznikají v půdě, se náhodně spojují do supramolekulárních pohyblivých struktur. Dílčí komponenty nejsou vázány kovalentními vazbami, nýbrž jsou stabilizovány slabými hydrofobními interakcemi (van der Waalsovými, π - π a CH- π vazbami) a vodíkovými můstky, které převažují především při nižším pH [4][8][9][10].

Supramolekulární agregáty se skládají z hydrofilních a hydrofobních částí, které spolu sousedí nebo se navzájem prolínají a tvoří útvary podobné micelám [11]. K objasnění struktury přispěl rozvoj technik instrumentální a strukturální analýzy, a to zejména NMR a chromatografických metod. Podle článku [12] uspořádání organických molekul ve vodném prostředí vede k tvorbě micely s externím hydrofilním povrchem chránícím hydrofobní vnitřek před kontaktem se sousedními molekulami vody.

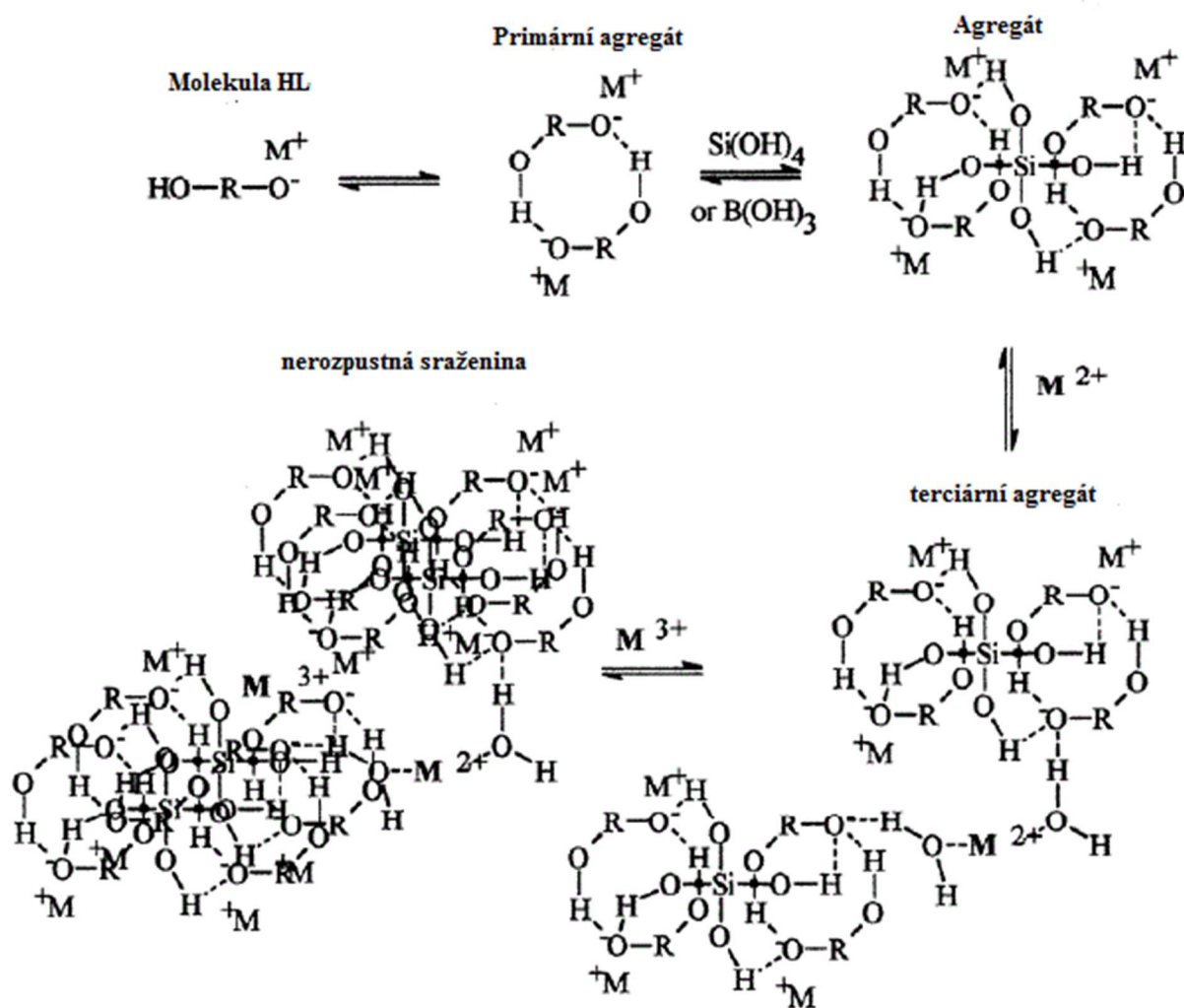
Na obrázku 4 je znázorněno srovnání tradičního konceptu vnímání HL jako svnutých makromolekul podle Swifta z roku 1989 a nového konceptu podpořeného řadou experimentů (NMR, GPC atd.) podporujícího myšlenku, že stěžejní komponenty HL jsou ve skutečnosti molekuly o nízké molekulární hmotnosti a asociují v přítomnosti kovů za vzniku agregátů. Červené tečky reprezentují kovové kationty obecně, černé jednotky zobrazují polysacharidy,

modré polypeptidy a zelené alifatické řetězce. Hnědé útvary pak jsou fragmenty ligninu. Toto znázornění není definitivní, je pouze příkladem, jak by agregát HL mohl vypadat. Jelikož agregáty se spojují do větších útvarů – agregátů pomocí hydrofobních interakcí, vodíkových a kovových můstků. Kovové ionty tedy hrají rozhodující roli při vzniku agregátů a rovněž jsou důležité pro jejich roli [9].



Obr. 4: Micelární struktura HK popsána Simpsonem

Článek J. A. Leenheera z roku 2007 [13] spojuje obě dosavadní myšlenky do jediného, tzv. „kombinačního modelu“. Starší „polymerní model“ popisuje huminové látky jako náhodně stočené makromolekuly, jako výsledek mnoha rozdílných chemických kondenzací a spojování menších biomolekul. Takto vytvořené makromolekuly mění svůj tvar v závislosti na pH, iontové síle, interakcích s minerály a kationty. Novější „agregační model“ vidí huminové látky jako relativně nízkomolekulární komponenty tvořící dynamické útvary stabilizované hydrofobními interakcemi a vodíkovými můstkami. „Kombinační model“ představuje huminové molekuly jako komplex supramolekulárních shluků malých molekul, oligomerů a polymerů agregovaných do supramolekulární struktury, kterou drží pohromadě nekovalentní síly. Tento model má pravděpodobně nejvyšší použitelnost pro přírodní organickou hmotu (NOM) bez ohledu na místo odběru.



Obr. 5: Agregace dle kombinačního modelu [13]

2.1.4 Huminové látky a jejich role v přírodě

Humus jako takový reprezentuje jeden z největších rezervoárů uhlíku na naší planetě. Nyní je používání HL rozděleno do čtyř hlavních odvětví: zemědělství, průmysl, životní prostředí a biomedicína [14]. Huminové látky zastávají významnou úlohu v přírodě, významně vystupují v chemii životního prostředí. Jak již bylo řečeno, jedná se o látky přírodního původu, které významně ovlivňují chování vybraných polutantů v životním prostředí. Mimo jiné jejich toxicitu, rozpustnost a sorpci hydrofobních polutantů a jejich chování v půdách. Chemické vlastnosti HL naznačují, že jsou nadějným prostředkem pro sanaci znečištění. Zejména proto, že jsou samy přírodního původu, tudíž kontaminace jimi samotnými je minimální [6]. Přírodní organické koloidy jsou velmi důležité, neboť tvoří ve vodě rozpustné komplexy s mnoha kovy včetně radionuklidů. Přítomnost HL v přírodních vodách může ovlivnit zachycování radionuklidů pomocí přírodních pevných látek a tudíž i jejich migraci do povrchových a podzemních vod. Hlavní úlohou HL v přírodě je odstranění toxických kovů, antropogenních organických chemikálií a dalších polutantů z vod. Materiály s iontově výměnnou kapacitou jsou vhodné pro odstranění takových těžkých kovů, jako je železo, nikl, měď, kadmium a měď z vody a také pro odstranění radioaktivních prvků z odpadních vod jaderných elektráren.

Jejich selektivní schopnost vazby je také využita pro destrukci munice a chemických válečných zbraní. Humusové filtry byly vyvinuty pro čištění kalů a mají mnoho aplikací (např. odstranění oleje a barviv z odpadních vod, odstranění pesticidů a fenolů). Humus obsahující minerály byl také použit pro sorpci plynů (např. odstranění odpadních plynů). Lehce modifikované humáty mohou být aplikovány k odstranění sirovodíku, merkaptanů a oxidu siřičitého z plynů. Různé skupiny sloučenin vyskytující se v životním prostředí, jako jsou fungicidy, herbicidy, insekticidy, dioxiny atd. byly shledány jako možné škodliviny ve vztahu k životnímu prostředí (ŽP). Díky schopnosti HL adsorbovat polutanty tohoto typu jsou HL užitečné k odstranění těchto kontaminantů z odpadních vod, půdy i čistírenských kalů. Potenciál HL v ŽP je nadále studován a zkoumán [14].

2.1.5 Dělení huminových látek

Humus rozlišujeme podle různých kritérií, jako jsou stupeň disperze, mikroskopické znaky, místo vzniku, botanický původ. Podle chemického složení rozdělujeme humus do dvou základních skupin:

- nespecifické humusové látky (nehuminové nebo primární látky)
- specifické humusové látky (huminové nebo sekundární látky)

Specifické humusové látky jsou charakterizovány vysokou biologickou rezistencí a většinou tmavým zbarvením. Jsou tvořeny vysokomolekulárními organickými sloučeninami a tvoří přibližně 85 – 90 hmotnostních procent z celkové organické hmoty v půdě. Jejich třídění je založeno na základě jejich fyzikálních vlastností, barvy, rozpustnosti v kyselinách nebo zásadách, optických vlastnostech atd. [15].

Díky ohromnému množství různých organických sloučenin přítomných v živých organismech, jejich degradaci a rekombinaci vzniká v podstatě nekonečné množství látek s různými vlastnostmi [16].

Huminové látky jsou nejčastěji děleny na základě různé rozpustnosti v kyselém a alkalickém prostředí. Dělí se na následující tři frakce:

- *huminové kyseliny* (HK), které jsou nerozpustné ve vodě za nízkého pH ($\text{pH} < 2$), ale jsou rozpustné za vyšších hodnot pH
- *fulvinové kyseliny* (FK) jsou rozpustné ve vodě nezávisle na hodnotě pH
- *huminy* jsou černou frakcí huminových látek, které jsou kompletně nerozpustné ve vodě

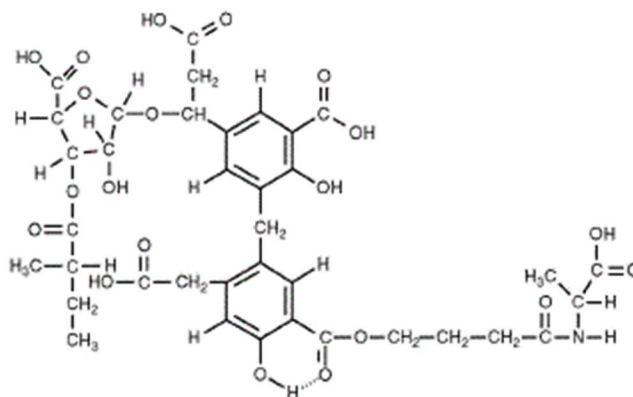
Jednotlivé frakce se liší na první pohled barvou. Barevný přechod je zcela zřejmý. Od žlutých až žlutohnědě zbarvených FK přes tmavohnědé až šedé HK po černé nerozpustné huminy.

Dle teorie, kdy se předpokládá, že HL jsou polymery, které jsou si sice příbuzné, ale nikoli totožné, byly rozdíly mezi HK a FK vysvětleny na základě rozdílů mezi molekulovými hmotnostmi, počtu funkčních skupin a míry polymerizace.

Fulvokyseliny mají nižší molekulární hmotnost, vyšší obsah kyslíku a naopak nižší obsah uhlíku. FK obsahují více funkčních skupin kyselé povahy, zejména karboxylových. Celková kyselost FK je vyšší než kyselost HK. Dalším zásadním rozdílem, že u FK je kyslík součástí především funkčních skupin, u HK převládá jako strukturní prvek základní struktury [17] [18].

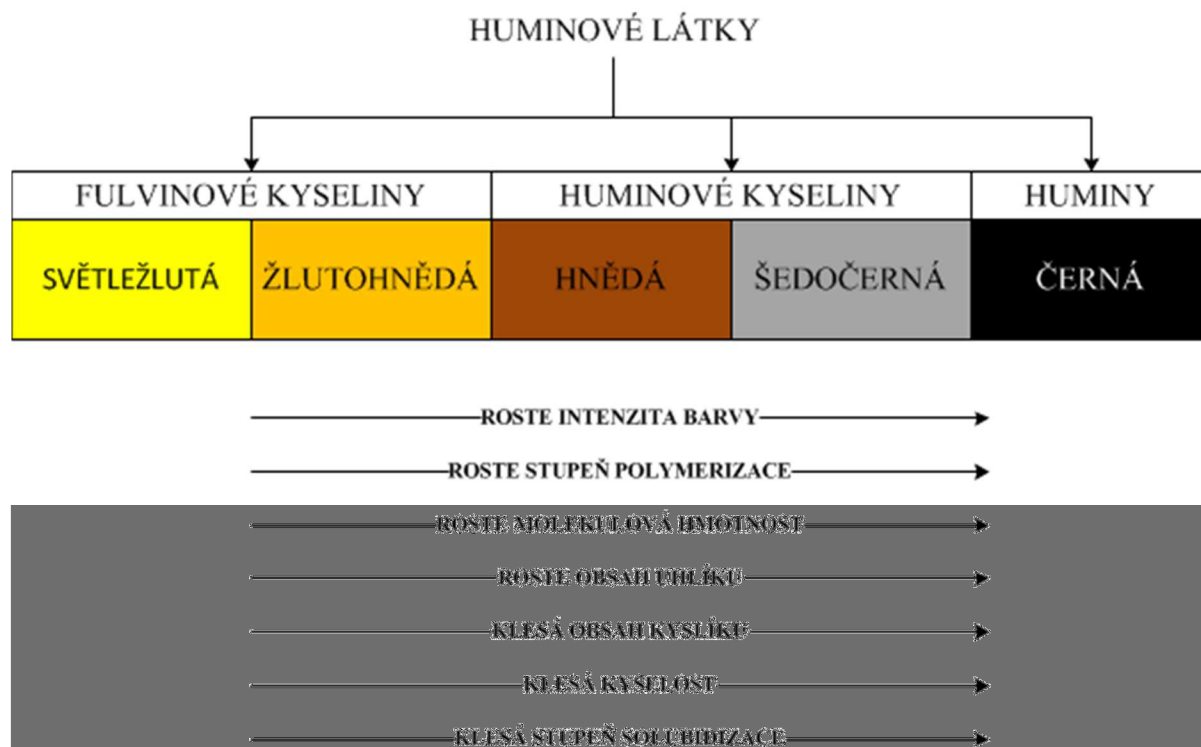
Fulvokyseliny jsou velmi pohyblivé a snadno se přemisťující v půdním profilu. Mají jednodušší stavbu molekuly, obsahují 40 – 52 hm. % uhlíku, 4 – 6 hm. % vodíku, 40 - 48 hm. % kyslíku, a 2 – 6 hm. % dusíku. Obsah popelovin je 2 – 8 hm. %. Kyselinový charakter fulvokyselin je dán především karboxylovými skupinami, jejichž

výměnný vodík představuje hodnotu 6 – 9 mmol/1 g fulvokyseliny. Vodní roztoky fulvokyselin jsou silně kyselé. Relativní molekulová hmotnost kolísá od 200 do 500 000. Fulvokyseliny jsou v důsledku silně kyselé reakce a dobré rozpustnosti ve vodě velmi agresivní na minerální část půdy, kterou zároveň ochuzují o živiny a koloidní látky. FK jsou méně polydisperzní a více hydrofilní než HK. Tyto vlastnosti spolu s dobrou rozpustností ve vodě a polyelektrolytickým charakterem jejich vodných roztoků způsobují jejich vyšší chemickou aktivitu [16].



Obr. 6: Strukturní model fulvinové kyseliny [12]

V případě huminů a humusového uhlí se jedná o silně karbonizovanou organickou hmotu, pevně vázanou na minerální podíl půdy, a proto se nedá získat ani mnohonásobnou extrakcí. Huminy jsou často charakterizovány jako nerozpustné formy huminových kyselin. Humusové uhlí se vyskytuje v půdním humusu jako nejstarší, vývojově kulminující složka produktů humifikace. Je to tmavá, zuhelnatělá, na uhlík a dusík bohatá hmota, která nepeptizuje, nerozpouští se, nehydrolyzuje, nezúčastňuje se půdotvorného procesu, a proto ztratila funkci pravého humusu [15].



Obr. 7: Vlastnosti HL podle Stevensona [4]

2.2 Huminové kyseliny

Jak již bylo řečeno výše, huminové kyseliny (HK) jsou jednou z frakcí huminových látek. Jedná se o esenciální sloučeniny zdravých a úrodných půd. Jejich název byl odvozen od humusu - jejich zdroje na zemi. HK patří mezi neaktivnější složky půdy.

Od rozpustných fulvokyselin jsou většinou odděleny extrakcí zředěným roztokem zásadité soli a vysráženy kyselinou. Prvkové složení ukázalo, že mezi hlavní stavební prvky patří C, H, O, N a S [14] [19]. Jedná se o látky tmavohnědé až šedé barvy. HK jsou všudypřítomné, přirozeně se vyskytující látky, které jsou důležitými prekurzory ropy a uhlí. Vyskytují se v půdách, sedimentech, rašelině, uhlí, řekách. HK byly extrahovány z rostliny *Pilayella littoralis*, což dokazuje, že jsou součástí živých organismů. Rovněž byly objeveny v gastrointestinálním traktu lidí a zvířat. Cirkulují v krvi a odbourávány jsou v játrech. V zemědělství zvyšují úrodnost půdy, urychlují fotodegradaci pesticidů a snižují toxicitu těžkých kovů. HK vznikají během rozkladu rostlin a živočichů. Hlavní funkce v půdě a sedimentech je zajištění porozity, chovají se jako adsorbenty a rezervoáry vody, stavební jednotky rostlin. Biomasa, která obsahuje HK, je lépe kompostovatelná.

Adsorpční kapacita HK je činí atraktivním biodegradabilním materiálem. HK jsou adsorbenty, iontoměniče, biochemické regulátory, rezervoáry. Jejich funkce a použití závisí na druhu procesu. Mají uplatnění nejen v zemědělství, ale také ve farmacii, medicíně. Jsou zásadní pro ochranu životního prostředí. Rozmanitá chemická a fyziologická aktivita je dána polyanionickým charakterem polymeru a funkčními skupina ve struktuře [20].

Huminové kyseliny jsou všeobecně považované za komplexní aromatické makromolekuly, ve kterých spojení mezi aromatickými skupinami zajišťují aminokyseliny, peptidy, alifatické sloučeniny[5]. Základní složkou je aromatické jádro fenolického nebo chinoidního typu s účastí cyklických i alifatických sloučenin. V rozpustném stavu se lehce srážejí vodíkem minerálních kyselin a dvoj a trojmocnými kationty (Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+}). Elementární složení HK je závislé na půdním typu, chemickém složení rostlinných zbytků a podmínkách humifikace. Kolísá v následujícím rozmezí 52 – 62 hm. % uhlíku, 2,8 – 5,8 hm. % vodíku, 31 – 39 hm. % kyslíku a 1,7 – 4,9 hm. % dusíku. HK černozemí jsou nejvíce obohacené uhlíkem. HK obsahují 1 – 10 hm. % popelovin (Si, Al, Fe, S, P, Ca, Mg, K, Na, aj.). Kyselinový charakter těchto sloučenin je daný přítomností kyselých funkčních skupin, ze kterých jsou nejdůležitější karboxylové a fenol hydroxylové. Vodíkové ionty těchto funkčních skupin mají schopnost se vyměňovat za jiné ionty. V neutrálním prostředí výměnný vodík karboxylových skupin představuje hodnotu 2,5 – 5 mmol na 1 gram HK. Relativní molekulová hmotnost dosahuje až 300 000. V nasyceném stavu jsou stále, vysoce odolné vůči mineralizaci.

Jsou to sloučeniny velmi bohaté na uhlík se shodným množstvím karboxylových skupin. Obsah karboxylových skupin je asi 3 mmol na 1 g HK, obsah fenolických OH skupin se různí stejně jako celkový obsah kyselých funkčních skupin v hmotnostní jednotce HK. Poměr obsahu atomů vodíku a uhlíku H/C kolísá od 2 (alifatické sloučeniny, lipidy) až k hodnotám menší než 1, které jsou typické pro naftalen a další polyaromatické uhlovodíky. Atomový poměr kyslíku a uhlíku O/C nabývá hodnot od 0 po 2, je vyšší pro vlhké vzorky. Většina půdních HK má úzký profil atomových poměrů. Bez větších rozdílů mají HK z rozličných míst podobné hodnoty poměrů H/C a O/C. Izolované HK mohou obsahovat až 10 % polysacharidů a proteinů. HK agreguje do skoro kulovitých pevných částic. Výsledky posledních měření metodou kapilární elektroforézy a gelové permeační chromatografie navrhly stavební jednotku HK o hmotnosti odpovídající přibližně 1 kDa; bylo zjištěno, že HK se chovají jako fraktály. Více aromatické HK jsou více kompaktní.

Pomocí ^{13}C NMR spektroskopie bylo zjištěno, že HK izolovaná z rostlin se jeví jako více alifatická v porovnání s HK izolovanou z půdy. Hlavní cesty syntézy HK v půdách zahrnují enzymatickou, abiotickou, volnými radikály katalyzovanou reakci, dále pak kondenzaci a demethylaci. Produkty HK jsou heterogenní ve třech ohledech. Zprvė pochází z jiných podloží, zadruhé mohou být kontaminovány lipidy, polysacharidy, steroidy, kovy atd., zatřetí obsahují funkční alifatické aromatické struktury, které mohou být kyselé, neutrální či zásadité a navíc mohou mít rozdílné molekulární hmotnosti [19].

Přechod od makromolekulárního vnímání HK k supramolekulárnímu konceptu umožnil zásadní změny ve vnímání HL jako faktorů podílejících se na rovnováze. V momentě, kdy bylo zjištěno, že se vyskytují ve formě supramolekul, mohou tedy plnit roli zásobárny organických sloučenin o nízké molekulové hmotnosti. Jejich tvorba je energeticky nezávislý, spontánní proces, ke kterému nejsou potřebné mikrobiální enzymy. Tvorba organických sloučenin z HK pomocí mikroorganismů může rovněž probíhat bez spotřebovávání energie, pokud jsou nahrazeny molekulami metabolitů uvolněných z mikroorganismů [21].

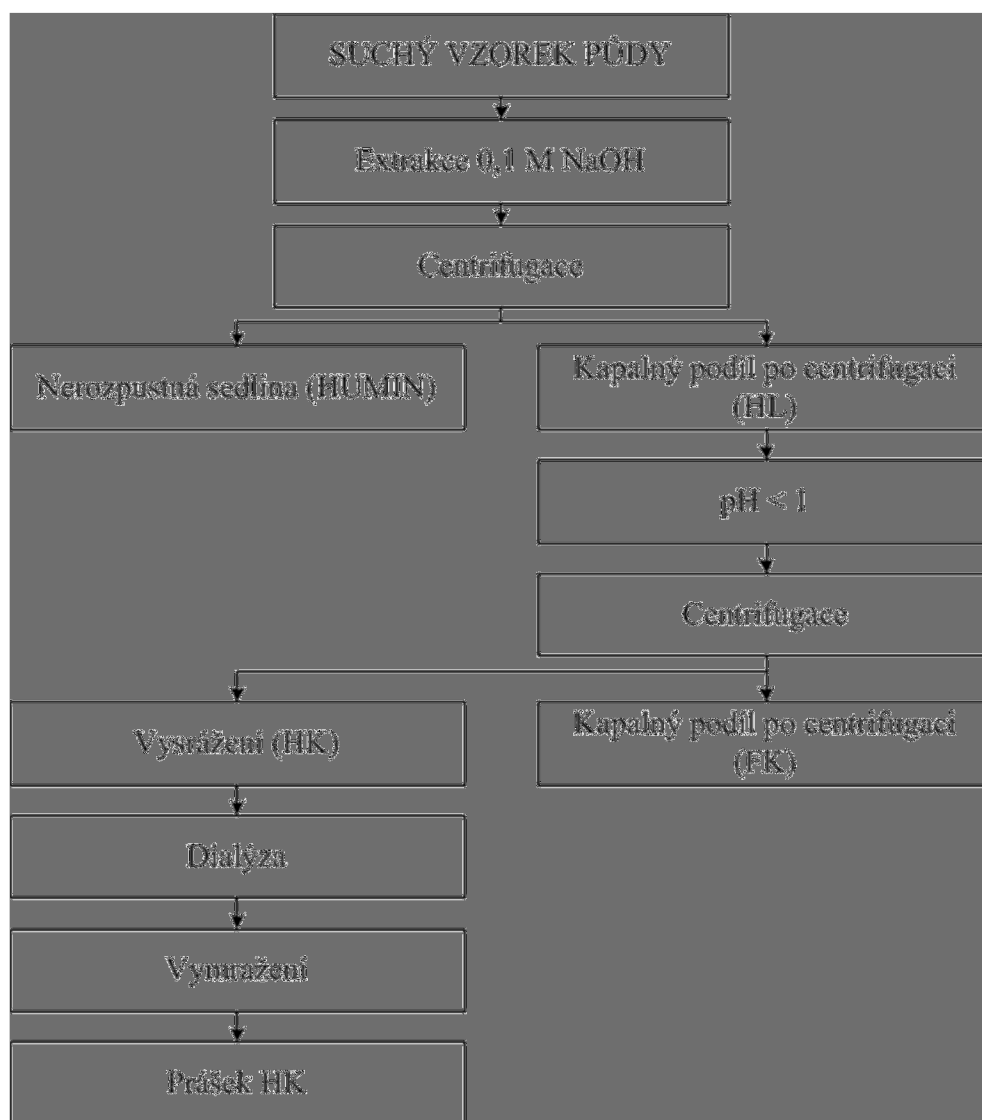
Speciální frakcí HK jsou hymatomelanové kyseliny, které lze oddělit alkoholovou extrakcí; oproti HK mají nižší molekulovou hmotnost [15].

Tabulka 1: Množství HK ve vybraných přírodních zdrojích [2]

<i>Přírodní zdroj</i>	<i>Obsah huminových kyselin [hm. %]</i>
Leonardit/humát	40–85
Černá rašelina	10–40
Hnědé uhlí	10–30
Hněj	5–15
Kompost	2–5
Půda	1–5
Kal	1–5
Černé uhlí	0–1

Extrakce huminových kyselin

Separace HL není jednoduchá. Obecně je využíván následující postup. Extrakce typu Soxhlet s kombinací rozpouštědel benzen-methanol odstraní lipidy, nukleové kyseliny, polysacharidy, protein a menší molekuly. Pevný podíl je dále upraven zředěnou kyselinou chlorovodíkovou a promyt vodou. Zbytek je opakovaně extrahován zředěným hydroxidem sodným, než dojde k odstranění kalů. Po vysrážení a centrifugaci lze oddělit frakci HK od FK. Získáme hnědý hydrogel, kde pH je sníženo na hodnotu 1 pomocí kyseliny chlorovodíkové. Promytý a dialyzovaný gel obsahuje až 98 obj. % vody. Samotnou HK získáme např. lyofilizací, usušením superkriticky fluidním oxidem uhličitým nebo vysušením v sušárně [19].



Obr. 8: Extrakce HK [19]

2.2.1 Struktura huminových kyselin

Struktura huminových kyselin je úzce spjata se strukturou huminových látek obecně, která již byla popsána výše. Pravděpodobně první návrhy struktury huminových kyselin byly předloženy téměř současně Stevensonem (Obr. 3) v roce 1972 a Harworthem v roce 1973. V analogii s tehdy vznikající hypotetickou strukturou hnědého uhlí se předpokládalo, že huminové látky obsahují primárně v základní strukturální síti zabudované polyaromatické uhlovodíky. Tato strukturální představa je dnes však už v zásadě opuštěna. V následujících dvaceti letech došlo pak k řadě zásadních objevů ve struktuře huminových kyselin, a to zejména díky pokrokům dosažených v oblasti instrumentální analýzy. Tyto objevy postupně objasnily, že ve struktuře huminových kyselin jsou zabudovány aromatické a hydroaromatické di-, tri- a tetrakyseliny. Huminové kyseliny jsou obecně považovány za komplexní aromatické makromolekuly, kde spojení mezi aromatickými skupinami zajišťují aminokyseliny, aminocukry, peptidy a alifatické sloučeniny. Hypotetická struktura huminové kyseliny uvedená na (Obr. 3) obsahuje volné a vázané fenolické skupiny -OH, chinonové struktury, dusíkové a kyslíkové atomy ve funkci můstků a karboxylové skupiny umístěné na aromatických kruzích.

Obsah hydroxylových skupin v karboxylových a fenolických jednotkách se pohybuje v rozmezí od 3 až do 10 mmol·g⁻¹ a je závislý na původu suroviny a použitém způsobu zpracování huminových látek. Huminové kyseliny tedy vykazují polyaniontový charakter a mohou vázat ionty různými mechanismy (jak chemickými, tak fyzikálními). Uvedení strukturních vzorců huminových kyselin provázela řada výhrad, což ovšem při složitosti těchto látek bylo v zásadě očekávatelné. V publikovaných strukturních vzorcích huminových kyselin často nebývají uváděny některé další, pro chemickou reaktivitu huminových kyselin velmi důležité strukturní formace. Jsou to např. chinoidní oxidačně-redukční struktury vykazující schopnost tvorby semichinoidních seskupení. Oxidačně-redukční aktivita huminových kyselin je známa téměř čtyři desetiletí. Pro huminové kyseliny byl také opakovaně zjištěn pozitivní EPR signál svědčící o existenci nepárového elektronu odpovídajícího zřejmě semichinoidnímu uhlíkatému radikálu. Zajímavé je v této souvislosti např. pozorování přímé redukční schopnosti huminových kyselin při redukci rtuťnatých iontů na kovovou rtuť. Podobná redukční aktivita huminových kyselin byla pozorována při redukci Cr⁶⁺ a Au³⁺ a některých organických barviv. Přítomnost chinoidních struktur, přesněji řečeno přítomnost 2-methylnaftochinonu byla prokázána již téměř před třemi desetiletími. Koncentrace chinonů v regenerované huminové kyselině získané vysokoteplotní a vysokotlakou oxidací bituminosního uhlí může být až o dva řády vyšší. Tato konstatování jsou velmi významná, protože právě chinoidní struktury jsou důležité při přímém chemickém vytváření kovalentních vazeb humusu s cizorodými látkami bez asistence enzymatické katalýzy [17].

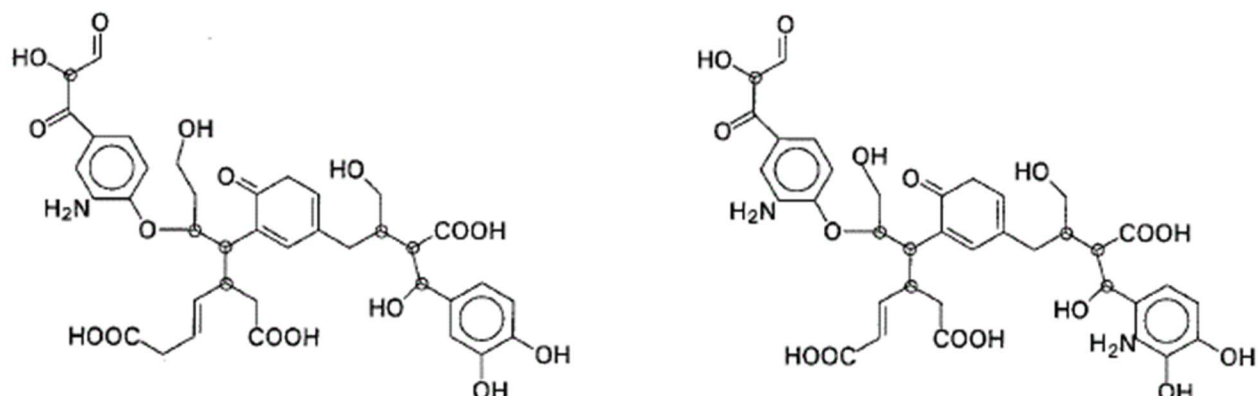
Hosse a Wilkinson v roce 2001 vypožadovali, že k agregaci HK dochází díky vzniku dimerů a trimerů v oblasti nízkého pH. Pomocí kapilární elektroforézy byla definitivně vyvrácena myšlenka, že HK jsou sloučeniny s vysokou molekulární hmotností. Na základě hmotnostních spekter a analýzy poměrů m/z bylo shledáno, že molekuly HK jsou tvořeny konstituenty od nižších poměrů m/z k vyšším, nicméně některé píky byly shodné pro všechny zkoumané HK [14].

HK jsou supramolekuly velké několik nanometrů, které jsou spojovány do trsů fraktálů o velikosti několik desítek až stovek nanometrů. Jsou do jisté míry nezávislé individuum, které tvoří půdní gely [21].

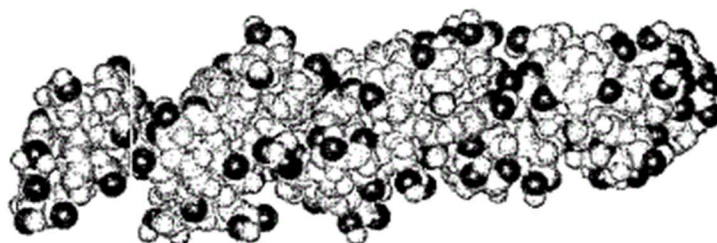
Díky neustálým pokrokům analytických metod je struktura HK stále aktuální téma. Byla vytvořena modelová strukturní jednotka HK, která se nazývá TNB (Temple-Northeastern-Birmingham), která je analogická ke Steelinkovu modelu, prvotní konformace byly získány na základě modifikací k minimalizované Steelinkově struktuře [19].

Dle článku [20] je model struktury popsán na základě Steelinkova modelu a modifikován na základě poznatků analytického zkoumání funkčních skupin a jejich rozmístění. Stavební jednotka má sedm chirálních center, tudíž 128 stereoizomerů, přičemž 64 z nich je chemicky jedinečných. Tato analýza konformace molekuly zkoumala izomer s nejnižší energií, kdy bylo potvrzeno, že je stabilizován van der Waalsovými silami. Stericky neomezená poloha aminů a karboxylátu naznačují, že jsou zásadní pro polymerizaci HK. Spektroskopie potvrdila, že tvorba amidu může být jednou z cest polymerizace HK a některé části HK by mohly být spirálovité. Tento spirálovitý model počítá s tím, že zadržování vody HK probíhá v dutých prostorech hydrofobního středu, zatímco hydrofilní funkční skupiny jsou na povrchu sekundární struktury. Struktura má dutiny dostatečně velké pro uchování peptidů, malých polysacharidů, vody atd. Závěrem tedy vyplývá, že HK jsou skvělými sorbenty, které mají hydrofilní, hydrofobní část, což je klasifikuje jako látky amfifilní povahy, které snižují povrchové napětí vody a tvoří micely, které mohou izolovat hydrofobní molekuly jako pyren,

adsorbovat více polárních sloučenin a vázat kovy. Další výhodou jejich všestrannosti je, že pevná HK se chová jako pufr [19].



Obr. 9: Struktura stavební jednotky HK dle Steelinka (vlevo) a HK – TNB (vpravo) [19]



Obr. 10: Spirálovitá struktura oktamerické HK

2.2.2 Huminové kyseliny a jejich role v přírodě

Jak již bylo řečeno výše, potenciál HK je ohromný, a to v mnoha odvětvích. Díky svým vlastnostem jsou použitelné pro zlepšení technik ochrany životního prostředí, hlavně půdy. Půda jako taková má schopnost eliminovat kontaminanty (kovy, organické látky), a to jejich interakcí s anorganickými (jílové minerály) a organickými (HK) půdními složkami. HK jsou tedy vhodnou alternativou, neboť způsob odstraňování škodlivin z půdy procesem imobilizace je vhodný i pro silně kontaminované oblasti. V přírodních matricích jsou dostatečné zásoby HK, jedná se tedy o obnovitelné zdroje.

Příznivý vliv HK v půdě je mnohostranný a ovlivňuje veškeré půdní vlastnosti, které jsou rozhodující pro obsah živin v půdě a její úrodnost.

1. HK fyzikálně modifikují strukturu půdy, zdokonalují ji, předcházejí vysokých ztrátám živin a vody v lehkých půdách. Tím, že se současně rozkládají, půda se stává úrodnější. V kompaktních půdách zlepšují retenci vody a provzdušnění.
2. HK chemicky mění fixační vlastnosti půd, regulují hodnoty pH, optimalizují příjem vody a živin rostlinami, jsou bohaté na organické a minerální látky, které jsou stěžejní pro růst rostlin. Mají vysokou kationtovou výměnnou kapacitu a redukovat dostupnost toxických látek v půdě.
3. HK biologicky stimulují rostlinu a aktivitu půdních mikroorganismů, stimulují rostlinné enzymy a zvyšují produkci, zvyšují přirozenou rezistenci rostlin vůči

škůdcům a chorobám. Podporují rozvoj chlorofylu, cukrů, aminokyselin a tím napomáhají fotosyntéze.

4. Z ekonomického hlediska HK vážou živiny v půdě ve formě vhodné pro jejich využití rostlinami, tak je zabezpečen optimální přísun živin do rostliny. Díky přidávku HK je dosaženo vyšších výtěžků a redukce v používání pesticidů. Zvyšují rovněž půdní kapacitu zádrže vody, což snižuje spotřebu zavlažovací vody.
5. Z ekologického hlediska představují prospěšné a úspěšné řešení problémů životního prostředí, jeho ochrany a zachování. Půdy s vysokým obsahem HK zabezpečují nepatrné vymývání nitrátů a optimální úroveň živin. Dobře vyvinutý kořenový systém s obsahem HK zamezuje úniku pesticidů a nitrátu do spodních vod. HK redukují přesolení půd, které je způsobeno hnojením, tím snižují toxicitu půdy. Jsou účinným prostředkem proti půdní erozi, což je zabezpečeno vazebnou schopností koloidů [22].

2.3 Reaktivita a vazebné možnosti huminových kyselin

Představu o vazebných možnostech huminových kyselin máme především z doposud známých informací o struktuře. Mezi HK a cizorodými látkami se uplatňují následující typy interakcí.

1. *Iontová vazba* vychází z působení elektrostatických sil mezi fixními náboji přítomných funkčních skupin a ionty v roztoku. Zjednodušeně se tedy jedná o ionexy. Vznik této vazby lze předpokládat u alkalických kovů a amoniaku.
2. *Koordinační vazba* představuje nejdůležitější typ vazebné interakce z hlediska imobilizace kovů. Tvoří se mezi makromolekulárními maticemi HK a ionty kovů. Potenciál vzniku koordinačních vazeb je daný hlavně díky vysokému zastoupení karboxylových, fenolových a dalších funkčních skupin ve struktuře HK. Zastoupení těchto skupin je mimo jiné ovlivněno hodnotou pH, mírou disociace těchto funkčních skupin. Ve slabě kyselé oblasti se na vzniku podílí hlavně karboxylové skupiny, ke kterým se po disociaci hydroxyly, od hodnoty pH vyšší než 7, přidávají fenolové skupiny. Všeobecně stabilita komplexů s růstem pH stoupá.
3. Interakce vedoucí ke vzniku *kovalentní vazby* jsou rozdělené na 2 skupiny. Reakce probíhající bez využití aktivity enzymů a reakce s využitím biokatalýzy. To, že v makromolekulární struktuře HK může docházet k trvalé fixaci cizorodých látek, je známo již dlouhá léta. Vznik kovalentní vazby je předpokladem pro imobilizaci cizorodé látky. Nastává reverzibilně i ireverzibilně.
4. *Vodíkové můstky* se navzdory nízkému energetickému obsahu mohou významně podílet na vazebných schopnostech HK.
5. *Hydrofóbní interakce* vzniká při kontaktu nepolárních skupin nesených molekulami, které se nachází ve vodném roztoku, kde tyto interakce mohou vycházet například z působení van der Waalových sil anebo přesunu π -elektronů. Jedná se o nejčastější předpokládané interakce HK s alifatickými kontaminanty [22].

2.3.1 Reaktivita huminových kyselin

Mnoho studií již dokázalo, že nemnoho HL se v půdě nachází ve volné formě, avšak mnohé jsou vázány na koloidní částice půdy. Druhy, ve kterých se HL vyskytují navázány s minerální složkou půdy, jsou následující. Zaprvé soli nízkomolekulárních organických kyselin (acetát, oxalát, laktát atd.). Dále alkalické soli HL – humáty, fulváty; komplexy s kovy; látky adsorbované na površích jílovitých minerálů.

Soli nízkomolekulárních organických kyselin

Jsou výsledkem reakcí organických kyselin (octová, šťavelová, fumarová, mléčná kyselina) a minerálů (magnetit, kalcit, siderit atd.) nebo solí minerálních kyselin obsahující vápník, draslík a jiné kationty.

Alkalické soli a soli alkalických zemin

Tyto soli se dělí na humáty (soli HK) a fulváty (soli FK). Jsou nejcharakterističtějšími sloučeninami s půdními HL. Alkalické kationty (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) podléhají výměně s atomem vodíku karboxylových skupin (RCOONa , RCOOK atd.) Humáty a fulváty se vyskytují jako směsi s hydroxidy železa a hliníku.

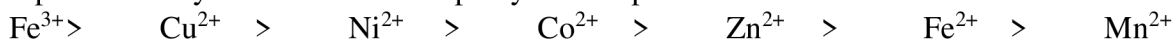
Komplexy s kovy

Komplexy s kovy vznikají v okamžiku, kdy dvě a více koordinačních pozic na iontu kovu jsou obsazeny donory samostatného ligandu za vzniku vnitřní kruhové struktury.

V půdě roli ligandů zastávají jednoduché organické sloučeniny a funkční skupiny HL. Afinita organických funkčních skupin v HL pro tvorbu komplexu s kovy klesá v následujícím pořadí:



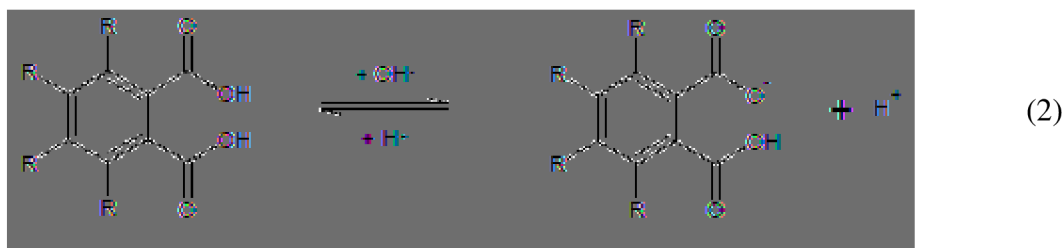
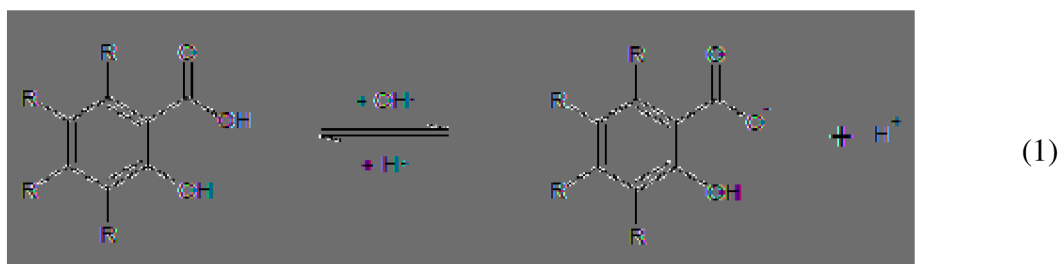
Schopnost kovových iontů tvořit komplexy klesá v pořadí:



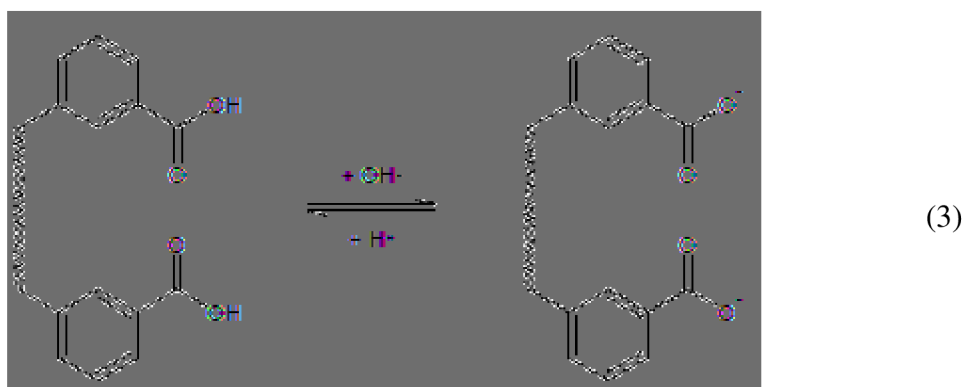
Schopnost HL tvořit komplexy vyplývá z obsahu kyslíkatých funkčních skupin [18].

Vazba kovů prostřednictvím HK je jedna z nejdůležitějších vlastností z hlediska ochrany životního prostředí. Tato vazba se projeví vznikem komplexů [23]. Pro interakci HK s přechodnými prvky jsou nejdůležitější karboxylové a fenolové skupiny. Studie ukázaly, že se nabízí množství koordinačních center, která jsou schopna vázat přechodné prvky [16].

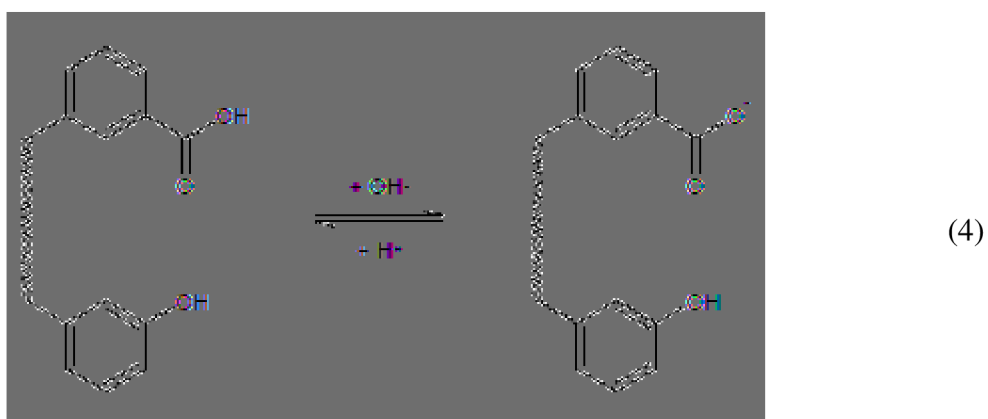
Pro interakci HK s ionty kovů jsou nejdůležitější karboxylové a fenolické skupiny. EPR spektroskopie dokázala, že je mnoho koordinačních míst, která jsou schopna vázat ionty kovů. Vzniklé vazby se liší silou vazby. Pro reakci s ionty přechodných prvků jsou nejdůležitější jádra s dvěma funkčními skupinami. V HK se nachází typy salicylové (1) a dikarboxylové (2).



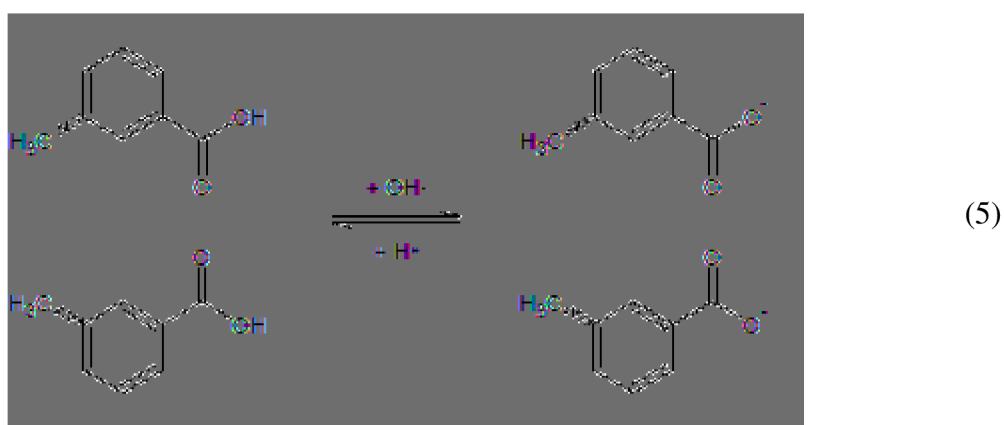
Zprvė mezi vazebnė moŹnosti patřĩ buď dvě karboxylovė skupiny, nebo dvě fenolickė funkční skupiny na různých jádrech stejnė makromolekuly (3).



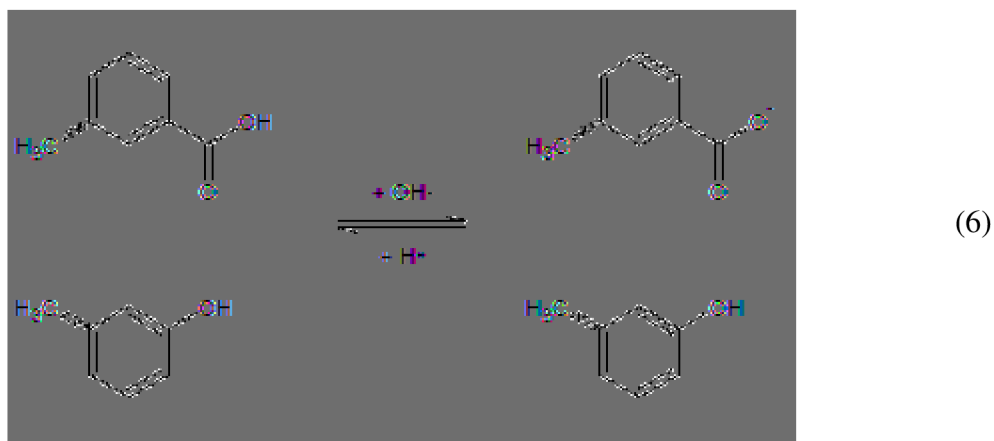
Zadruhė je to karboxylovė a fenolickė funkční skupina na různých jádrech jednė molekuly (4).



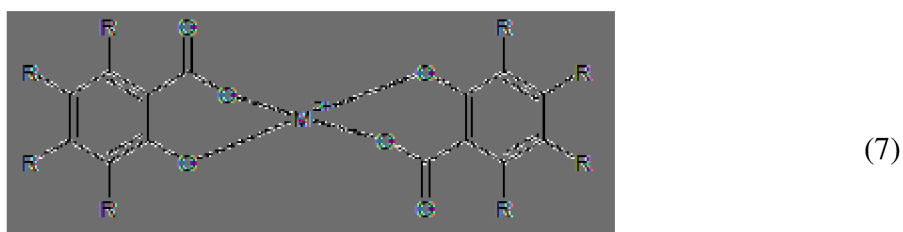
Zatřetĩ dvě karboxylovė skupiny na rozdílných molekulách, ale v rámci jednė strukturĩ jednotky HK (5).



Začtvrté karboxylová a fenolová skupina na rozdílných molekulách v rámci jedné strukturální jednotky HK (6).



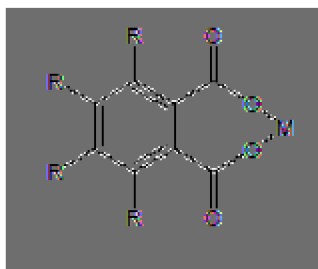
Kromě těchto typů vazeb mohou být ionty přechodných kovů vázány slabými vazbami k reaktivní skupině za tvorby komplexních sloučenin (7). Tvorba komplexů, při nichž je přechodný prvek současně vázán ke dvěma bifunkčním ligandům, je méně pravděpodobná.



Z předešlého vyplývá, že velká různorodost síly vazby v molekulách komplexů HK s přechodnými kovy vede k odlišně vázaným přechodným kovům. EPR studie dokázaly, že u měďnatých komplexů lze odvodit s množstvím vazebních míst o různé síle vazby. Cu^{2+} ionty v nízkých koncentracích silně koordinují se čtyřmi (třemi) atomy kyslíku (donory). Pro vyšší koncentrace Cu^{2+} jsou postupně obsazována méně silná vazebná místa a voda zůstává jako jedním z velmi pravděpodobných ligandů.

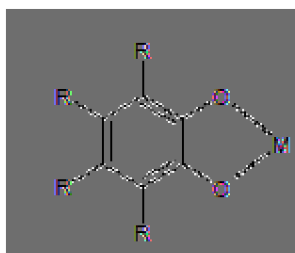
Prvky přechodných kovů jsou vázány k HK hlavně přes silnou kovalentní vazbu, která převážně zahrnuje atomy kyslíku karboxylových nebo fenolových funkčních skupin. Nabízí se mnoho vazebních poloh poskytující vazby s odlišnou silou vazby. Tato místa jsou postupně obsazována nežádoucími ionty přechodných prvků. Rostoucí hodnota pH zvyšuje pravděpodobnost vytvoření vazby HK s přechodným prvkem.

Pro interakci HK s přechodným prvkem je efektivnější, když reakce probíhá v zásaditém prostředí. Karboxylová skupina je pro interakci HK a přechodného kovu preferovanější. Tento její efekt je podpořen přítomností fenolové skupiny v poloze ortho. Toto rozmístění umožňuje tvorbu komplexu s vysokou konstantou stability. Tento chelatující efekt nenastane v přítomnosti fenolových skupin v poloze meta- a para- ve vztahu ke karboxylové skupině. Slabší chelatující efekt byl pozorován v případě dvou karboxylových skupin přítomných v poloze ortho (8). Tato vazba je méně příznivá kvůli tvorbě napnutého sedmičlenného kruhu.



(8)

Vazba kovů ke dvěma fenolickým skupinám v polohách ortho se jeví slabší pro relativně slabou vazebnou energii fenolického kyslíku těchto funkčních skupin, tvoří se relativně napnutý pětičlenný chelatující kruh (9).



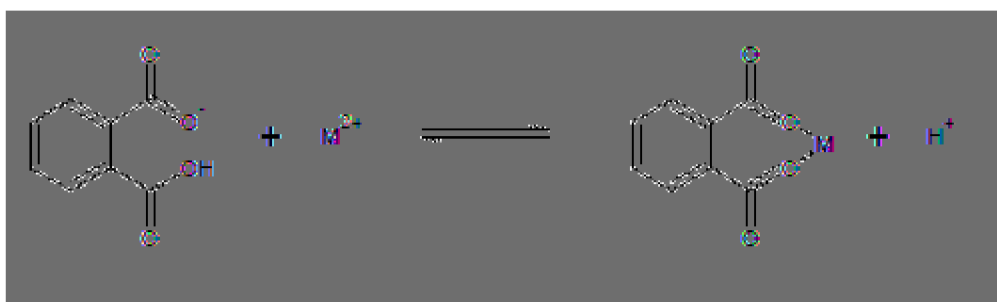
(9)

V případě, že jsou dvě karboxylové skupiny vázány ke dvěma různým molekulám, vede jejich interakce ke vzniku silné vazby kovu k HK, která snadno disociuje. Intramolekulární, a zejména intermolekulární, komplexy kovů se dvěma funkčními skupinami fenolického typu jsou méně stabilní. Pokud jsou karboxylové a fenolické skupiny vázány k jedné molekule vznikají poměrně stabilní komplexy, hlavně u intramolekulárních interakcí se stabilní strukturou. V případě intermolekulárních interakcí komplexy mohou být ovlivněny mobilitou jednotlivých makromolekul a slabou vazbou kovu na fenolickou funkční skupinu [16].

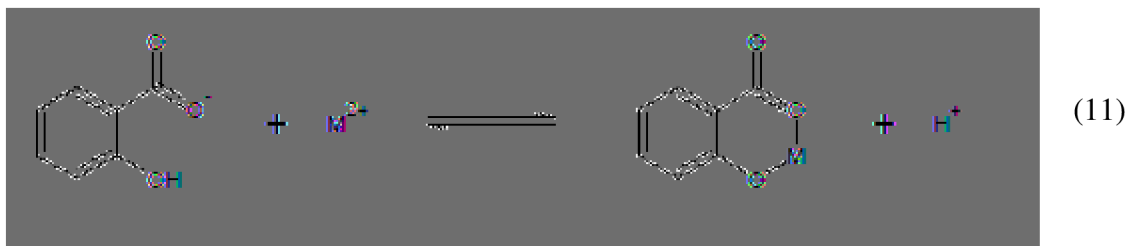
2.3.2 Interakce huminových kyselin s kovy

Huminové látky mají mnoho míst ve své molekule, díky jimž se mohou chovat jako přírodní komplexační činidla, která vážou více ligandů jako proteiny nebo kovové oxidy. Schopnost tvorby komplexů je tedy zaručena jejich charakterem polyelektrolytu, možností změny konformace molekuly, mezimolekulárními interakcemi [24].

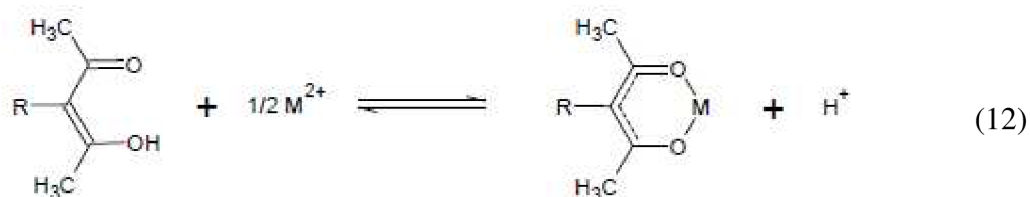
Existuje několik vazebných reakcí uskutečňujících se mezi kovovými ionty a HL, nejjednodušší je vazba 1:1, kdy vznikají komplexy s jedním jádrem, kdy centrální atom je buď kovový iont, nebo makromolekula HL. Rovněž vznikají více jaderné komplexy. Nejčastější stechiometrie jsou 1:1 nebo 2:1, HL:kov. Aromatické karboxylové a fenolické skupiny jsou zásadní pro vazbu kovového iontu a HK 1:1, kdy se tvoří cheláty, dikarboxylového (10) nebo salicylového (11) typu.



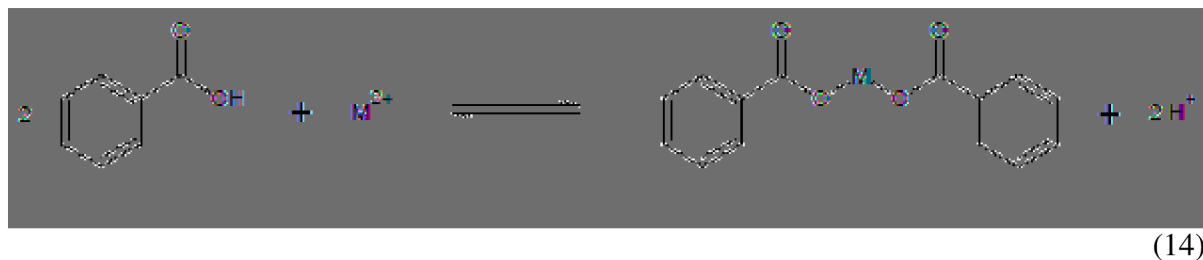
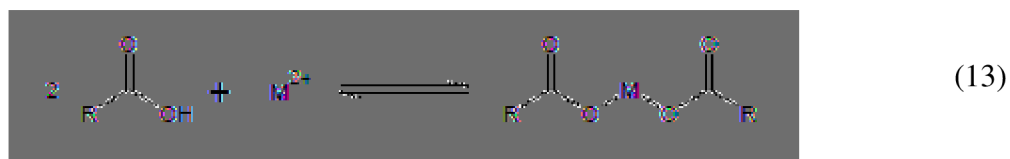
(10)



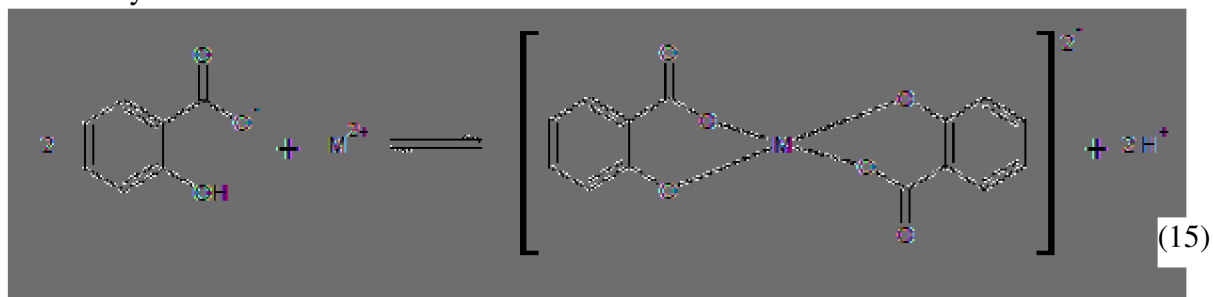
Nejstabilnější komplexy ve své struktuře obsahují silně kyselé COOH skupiny, zatímco méně stabilní komplexy obsahují méně kyselé karboxylové skupiny a fenolické skupiny. Další možnosti vazby jsou prostřednictvím dvou fenolických skupin, chinonové, amino a sulfurylové skupiny a konjugované keto skupiny (12).

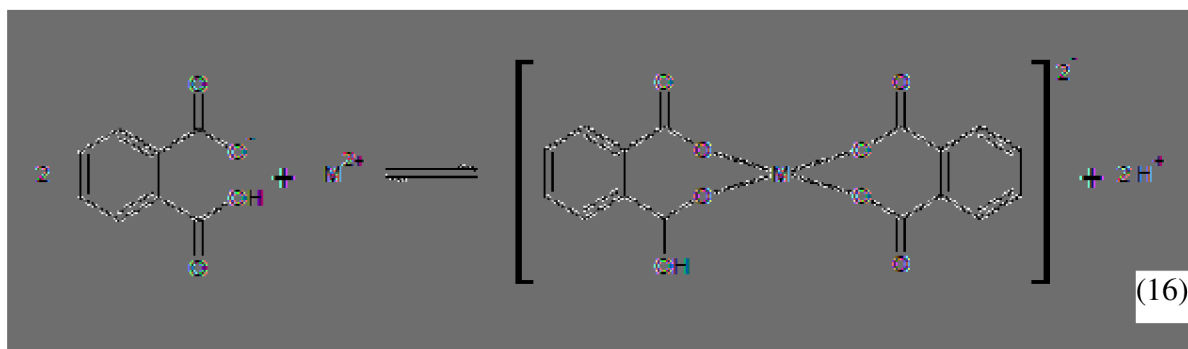


Nearomatické karboxylové skupiny a hydroxylové skupiny mohou být rovněž využity. Kovové ionty mohou tvořit komplexy s ligandy náležících dvěma (i více) molekulám HL. Tvoří komplexy v poměru 2:1 (13), (14):

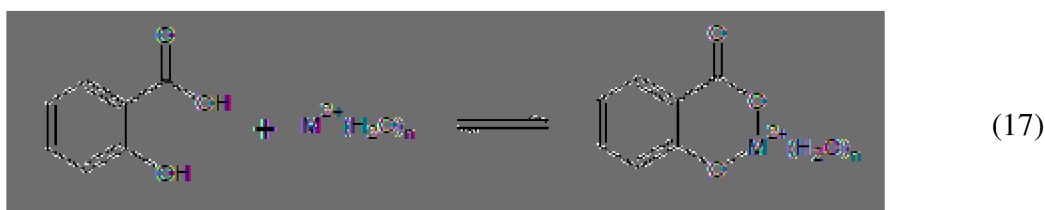


Cheláty:





Řetězcové struktury:



S kovy tedy tvoří HK aniontové komplexy. HL tvoří dva druhy komplexů, jednak ty, které jsou poutány kovalentní vazbou. Kovový iont i ligandy jsou zcela případně částečně dehydratované. Zadruhé komplexy, které jsou výsledkem elektrostatických sil mezi ligandy a kovovým iontem, který zůstává kompletně hydratovaný.

Maximální množství kovu, které může HK absorbovat je jejich významnou charakteristikou. Studium komplexotvorných reakcí HK se věnuje řada výzkumných týmů.

Kinetika těchto procesů závisí na mnoha parametrech. V roztocích závisí na difuzních koeficientech vazebných molekul, konvekci a geometrii adsorbujícího povrchu. Nejjednodušší model popisující adsorpci je Langmuirova izoterma. Experimentálně bylo několikrát potvrzeno, že množství adsorbovaného kovového iontu vázaného HK, je významně závislé na pH. HK jsou částečně rozpustné ve vodných roztocích, předpokládá se, že pouze určitá frakce HK je rozpustná a zbytek je prakticky nerozpustný. Pokud je HK částečně rozpustná, kovové ionty mohou být vázány více způsoby. V silně kyselých systémech je vazba realizována častěji iontovou výměnou. Mnoho autorů došlo k závěru, že nejstabilnější komplexy HK tvoří ionty Cu^{2+} [25]. Reakce HK s kovy probíhají v přírodě buď v kapalně fázi nebo na rozhraní kapaliny a pevné fáze. Částečný rozklad HK a tvorba H^+ iontů komplikuje proces adsorpce, vše probíhá v závislosti na pH roztoku [26].

Jak již bylo napsáno výše, těžké kovy jsou nejtoxictější anorganické polutanty, které se v půdách objevují. Mohou být přírodního i antropogenního původu. Některé jsou toxické i při velmi nepatrných koncentracích. Jejich toxicita vzrůstá s hromaděním ve vodách a půdě. Adsorpce je proces odpovědný za jejich akumulaci, proto porozumění adsorpčním procesům je zásadní pro pochopení toho, jak jsou těžké kovy dopravovány z kapalně mobilní fáze na povrch fáze pevné. Adsorpce těžkých kovů na povrchy mimo jiné jílovitých materiálů reguluje jejich koncentraci v půdním roztoku, která je ovlivněna, která je ovlivňována přítomností organických i anorganických ligandů. Nejdůležitější faktory pro adsorpci těžkých a jejich distribuci jsou typ půdy, druh kovu, jeho koncentrace, pH. Obecně se vyšší retence a nižší rozpustnost jeví při vyšším půdním pH. Bylo aplikováno několik modelů, které zohledňují povahu vazebných

sil a porovnávají několik parametrů, které ovlivňují adsorpci, např. již zmíněného pH, iontové síly.

Závislost, která vyjadřuje závislost rovnovážného adsorbovaného množství na rovnovážném tlaku při konstantní teplotě, se nazývá adsorpční izoterma. V oblasti výzkumu se nejčastěji setkáváme s aplikací Langmuirovy izotermy, která byla odvozena na základě kinetických představ za předpokladu, že se na povrchu adsorbentu vytváří pouze jedna vrstva molekul, pravděpodobnost adsorpce je stejná na všech místech povrchu a adsorbované molekuly se vzájemně neovlivňují. Odvození vychází ze vztahů pro rychlosti adsorpce a desorpce [27].

Langmuirova izoterma, která je založena na myšlence, že množství adsorbovaných a desorbovaných molekul za jednotku času si je rovno. Je aplikována ve tvaru (18):

$$a = \frac{a_{\max} \cdot b \cdot c_{eq}}{(1 + b \cdot c_{eq})} \quad (18)$$

kde a je adsorbované množství, a_{\max} je maximální množství, které může být adsorbováno, b je adsorpční koeficient (poměr mezi adsorpční a desorpční rychlostní konstantou) a c_{eq} je rovnovážná koncentrace adsorbátu ve vodné fázi [25].

Langmuirova izoterma je využívána mnoha autory a výzkumnými týmy, přestože povaha adsorpce na HK často zcela neodpovídá předpokladům, na základě kterých byla izoterma odvozena. Sorpce zahrnuje ztrátu kovového iontu z vodné do přiléhající pevné fáze, vyloučení a interakci na povrchu a fixaci. Tato interakce zahrnuje další procesy. Zaprvé vznik komplexu kovového iontu s příslušnou funkční skupinou, zadruhé elektrostatické interakce, kdy kovový iont vytváří komplex v určité vzdálenosti od povrchu a zatřetí hydrofobní vyloučení kovových komplexů obsahujících rozpuštěné nepolární organické látky. Začtvrté adsorpci komplexů kovových polyelektrolytů zapříčiněnou snížením povrchového napětí [29].

Langmuirova izoterma např. neuvažuje vznik vedlejších produktů při adsorpci např. odštěpení H^+ iontu z karboxylových resp. fenolických funkčních skupin, které se interakce účastní a zvyšují tím pádem kyselost systému. Proto byl navržen nový model na základě experimentálních dat, který zahrnuje produkci H^+ iontů během adsorpce a vliv pH na adsorpční rovnováhu, zároveň uvažuje přítomnost vazebných míst, která pH nemění. Nejpřesnější tedy je kombinace Langmuirovy izotermy a tzv. H-modelu, který je popsán rovnicí:

$$a_{eq} = a_{\max,1} \frac{b_1 c_{eq}}{1 + b_1 c_{eq}} + a_{\max,2} \frac{b_2 c_{eq}}{h^2 + b_2 c_{eq}} \quad (19)$$

kde index 1 odpovídá Langmuirově modelu a index 2 adsorpci na kyselé skupiny, kdy h je koncentrace vodíkových iontů v rovnovážném stavu. Nový tzv. L-H model je tedy přesnější, protože zohledňuje chemické procesy během adsorpce [28].

Půdní pH je nejdůležitější parametr pro sorpci. Počet negativně nabitých míst na povrchu s pH roste. Adsorpce je menší při nižších hodnotách pH. Při vysokých hodnotách pH jsou atomy kovu kompletně odstraněny [29].

2.4 Stabilita huminových kyselin a jejich komplexů

Rozsáhlé studie mnoha vědeckých skupin se zabývali a zabývají stanovením konstanty stability komplexů huminových kyselin. Konstantu stability ovlivňuje mnoho faktorů, mimo jiné i atomový průměr kovu, velikost molekuly HK, výměnná kapacita kationtu, velikost

povrchu molekuly. Konstanty stability byly stanovovány s cílem určit afinitu kovu k organickému ligandu. Existuje několik metod, nicméně stabilita komplexů kovů byla stanovena následovně $\text{Cu} > \text{Fe} > \text{Pb} > \text{Ni} > \text{Co} > \text{Ca} > \text{Cd} > \text{Zn} > \text{Mn} > \text{Mg}$. Stabilita komplexu v roztoku poukazuje na stupeň asociace mezi dvěma zúčastněnými reaktanty, které se nachází v rovnovážném stavu. Kvantitativně, čím vyšší je míra asociace, tím vyšší je stabilita komplexu. Komplexní struktury HK podléhají v jednom okamžiku odlišným oboustranným reakcím, které závisí na pH a koncentraci kationtů. Hering a Kraemer studovali kinetiku interakcí HK – kov a objevili mimořádně pomalou migraci kovových iontů ve struktuře HK. Vysvětlili, že přídavek jakéhokoli kovového iontu vedl ke coulombickým interakcím s negativně nabitými skupinami ve struktuře HK. Konfigurace HK se postupně mění s tím, jak kov putuje do termodynamicky nejvýhodnější polohy uvnitř struktury, vysoce pravděpodobná je i tvorba komplexů uvnitř struktury. Zásadní roli hrají i volné radikály. Z pozorování vyplynulo, že komplexy vytvořené mezi jedním molem HK a jedním molem kovu jsou stabilnější než komplexy vytvořené reakcí jednoho molu HK s dvěma moly kovu. Z pozorování je jasné, že konstantu stability ovlivňuje i způsob analýzy. Závislost konstanty stability na tolika faktorech znamená, že se jedná o podmíněné konstanty stability. Konstanty stability jsou důležité hlavně pro odhad chování příslušných sloučenin v ŽP [30].

V publikaci [31], která se věnuje kompetitivní komplexaci iontu, se uvádí, že komplexy HK a nikelnatých iontů vznikají lépe při vyšším pH, stejně tak při vyšší koncentraci HK, protože více HK nabízí i více vazebných míst. Závěrem vyplynulo, že ionty nikelnaté a vápenaté si při vzniku komplexů konkurují, což platí ve vodném prostředí a lze tomu předejít právě zvýšením koncentrace a pH. Rozdílně se chová iont Al^{3+} , který vykazuje nepatrnou závislost na koncentraci Ni nebo Ca, hydrolyzuje se a sráží se, když je pH přibližně rovno pěti.

V práci [32] se uvádí, že nejvyšší afinitu k aktivním centrům HK má olovo. V největších množstvích jsou adsorbovány kovy Ag^+ , Hg^{2+} , Cu^{2+} , Ba^{2+} , Cd^{2+} . Méně ionty Ni^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} a Cs^+ . V nejmenších množstvích jsou pak adsorbovány ionty lehké a s vysokou valencí jako Mg^{2+} , V^{4+} , Cr^{3+} , Al^{3+} , Fe^{3+} . Ukázalo se, že kovové ionty reagují převážně s karboxylovými skupinami. Pb, Ag, Hg a Cu jsou výjimečné v tom, že jsou při nízkém pH vázány i fenolickými skupinami, mohou tvořit komplexy, kde se na vazbě podílí jak karboxylové, tak fenolické skupiny. U jiných kovů se vazba na skupiny fenolického typu téměř neprojevuje.

Lishtvan a kol. [33] uvádí ve svých studiích mechanismus vzniku komplexů HK s kovy ve vodných roztocích. Předpokládají, že komplexy vznikají ve dvou stupních, jmenovitě mikro- a makrokoordinace. Mikrokoordinace uvažuje vazbu kovových kationtů na funkční skupiny HK za vzniku koordinačních míst. Makrokoordinace je zodpovědná za vazbu dalších kationtů na povrch koloidních agregátů, které byly vytvořeny v první fázi, vznikají makromolekulární komplexy. Podle IR a ESR spekter jsou kationty mědi nejprve vázány přímo na karboxylové skupiny, což je evidentní z poklesu intenzity absorpčních pásů příslušných karboxylových skupin a současného zvýšení absorpce karboxylovými ionty v průběhu saturace komplexů s kovy.

Garcia-Mina a jeho skupina ve své práci [34] sledovali vliv pH a poměr kov/HL na komplexační kapacitu a stabilitu a rozpustnost komplexů kov-HL v roztoku. Výsledky jednoznačně ukázaly, že se komplexační kapacita HL mění v závislosti na pH, určuje míru

ionizace obou funkčních skupin a konformaci molekuly v závislosti na pH. Znovu bylo potvrzeno, že celková acidita ovlivňuje komplexační kapacitu vybrané HL. Výsledky související se stabilitou a komplexační kapacitou naznačují možnou přítomnost dvou vazebných struktur. Jeden při kyselém až neutrálním pH, který se týká karboxylátů, druhý při zásaditém pH pravděpodobně zahrnující karboxyláty a fenolické skupiny. Vztah mezi těmito dvěma vazebnými modely a silou vazebného procesu se liší pro jednotlivé kovové ionty. Rozpuštěnost komplexu byla značně ovlivněna poměrem koncentrace volných ionizovaných skupin a molekulovou hmotností HL.

Plaza a kol. [35] sledoval vliv každoročních po sobě jdoucích přídávků prasečím hnoje, kdy nulový přírůstek byl kontrolním, dále pak 90 a 150 m³ha⁻¹ za rok v čtyřletém období na afinitu Cu²⁺ iontů k HL. Mrva byla aplikována na vymezeném území za polovypřahých podmínek. Pro určení komplexační kapacity mědi byla použita metoda potenciometrická titrace, byla určena i konstanta stability pro HK izolované z obohacené i neobohacené půdy. V porovnání s kontrolní HK měla HK obohacená prasečím hnojem mnohem menší vazebnou kapacitu a konstantu stability. Obohacení hnojem snížilo afinitu HK. Tento efekt byl pozorován výrazněji se zvyšujícím se množstvím a dobou trvání. Autoři proto navrhuji vhodné ošetření prasečím hnoje před samotným hnojením půdy, kdy by se organické složky transformovaly do více stabilizovaných forem s vyšším stupněm humifikace, který by zvýšil afinitu mědi, což by snížilo riziko znečištění.

Studie Prada a kol. [36] se rovněž zabývá komplexem HK s měďnatými a zinečnatými ionty. Interakce byly zkoumány infračervenou spektroskopií a elektrochemickou a termogravimetrickou analýzou. Spektrální studie odhalily, že interakce s kovy se vyskytuje hlavně na karboxylových skupinách HK. Termická analýza ukázala, že stabilita HK vzrostla v přítomnosti dvojmocných kationtů mědi a zinku. Voltametrické studie, na základě aplikace Lignanovy rovnice, potvrdily, že HK lépe reagují s Cu²⁺ než se Zn²⁺. Termogravimetrické křivky ukázaly, že rozklad začíná kolem teploty 160 °C, kdy se začínají rozkládat koncové funkční skupiny řetězce (karboxylové, fenolové, alkoholové skupiny, aminoskupiny), což vede k totálnímu rozkladu organické hmoty HK. Infračervená spektroskopie potvrdila interakci HK s dvojmocnými kationty mědi a zinku, kdy poklesla intenzita píku C=O skupiny v COOH skupině. Vyhodnocení termodynamických vlastností komplexů naznačilo, že HK mají vyšší stabilitu, když vážou kovové ionty.

Studie Madroňové a kol. [37] se zabývá studiem iontové výměnné kapacity HK připravených z oxyhumolitu. Na koloně byly separovány kovy s aktivovanými HK. První roztoky obsahovaly jediný kov (Pb, Cd, Cu, Zn, Ni, Ca, Mg), kdy byla určena schopnost HK sorbovat jednotlivé kovy, aniž by byly rušeny dalšími kovy. Další sada vzorků obsahovala dva i více kovů v roztoku, aby zjistila, jak se kovy vzájemně ovlivňují. Výsledky potvrdily možnost praktické aplikace. Míra sorpce je závislá na složení roztoku a jeho pH. Již předem sorbované kovy nejsou vymývány demineralizovanou vodou, nýbrž zůstávají sorbovány. Mohou být vytlačeny jiným kovem v roztoku, který se váže pevněji, nebo kyselinou.

Vznikem komplexů HK s Cu²⁺ a Ni²⁺ ionty se zabývá i práce [38], která pozorovala vznik komplexů při pH = 4 a pH = 5 za konstantní iontové síly a odlišných teplot pomocí Schubertovy rovnovážné metody. Pro tyto dva komplexy byla stanovena podmíněná konstanta stability,

komplexy se tvoří v poměru 1:1 a 1:2. Pro všechny komplexy kov-HK bylo zjištěno, že podmíněná konstanta stability roste s rostoucím pH a teplotou, výjimkou byl komplex Ni-HK při pH = 4, kdy klesala se zvyšující se teplotou. Rovněž bylo zjištěno, že konstanta stability je pro Cu-HK komplex vyšší než pro Ni-HK při všech testovaných teplotách a při obou hodnotách pH. Odvozené konstanty a jejich teplotní závislosti byly použity pro výpočet korespondujících termodynamických parametrů ΔG , ΔH , ΔS . Výsledky ukázaly, že stabilita těchto komplexů souvisí s velmi příznivou entropií. Vznik kovových komplexů se ukázal být endotermický. Výsledky naznačují samovolný průběh (ΔG je negativní), s příznivou změnou entropie (ΔS je pozitivní). Na rozdíl od toho vznik komplexu Ni-HK při pH = 4 byl shledán exotermickým s méně příznivou entropií než stejný komplex při pH = 5.

Za stejných podmínek pokračovali i v navazující práci [39], kdy zkoumali ionty Zn^{2+} a Cd^{2+} . Rovněž tvoří komplexy v poměru 1:1 a 1:2 (kov:HK). Bylo zjištěno, že podmíněná konstanta stability je vyšší pro kadmátové ionty než pro zinečnaté, a to při obou hodnotách pH.

V práci Glausa a kol. [40] se uvádí, že zatímco nejvíce výzkumných skupin usuzuje, že stechiometrie kovového iontu a ligandu HL je 1:1, je nanejvýš pravděpodobné, že kovový iont vázaný k ligandu vyměňuje koordinované molekuly vody nebo hydroxidové ionty za jeden nebo více ligandů o nízké molekulové hmotnosti, čímž vznikají komplexy se smíšenými ligandy. Zanedbání takových komplexů v prostředí obsahujících ligandy s nízkou hmotností vede k podceňování stupně komplexace kovů prostřednictvím HL. Potvrzení existence těchto komplexů bylo provedeno acidobazickou titrací v kombinaci selektivními měřeními pro ionty Cu^{2+} . Bylo zjištěno, že změna volné energie po přidavku ligandu do komplexu kov-HK a po přidavku téhož ligandu k roztoku kovového iontu je stejná. Termodynamická data pro tvorbu těchto komplexů byla analyzována technikou EDLE (equilibrium dialysis – ligand Exchange). Tvorba komplexů HK se smíšenými ligandy je raději porovnáváno s tvorbou smíšených komplexů s ligandy o nízké molekulové hmotnosti. Předběžné vysvětlení může být např. efekt sterickeho bránění mezi L a HL ve smíšeném komplexu nebo elektrostatické repulze mezi L a HL. Vzhledem k tomu, že má HL charakter polyelektrolytu, je tato repulze silnější než mezi ligandy o nízké molekulové hmotnosti. Tyto komplexy se v porovnání projevují poměrně slabě.

V práci [41] byla porovnána tvorba komplexů iontů Cu^{2+} a Pb^{2+} s HK a s huminovými ligandy, jako je kyselina benzoová a salicylová pomocí Schubertovy metody výměny iontů a její modifikované formy. Bylo zjištěno, že Cu^{2+} a Pb^{2+} tvoří monojaderné komplexy s HK a benzoovou kyselinou, zatímco se salicylovou kyselinou tvoří oba kovy polynukleární komplexy. Výsledky ukázaly, že Pb^{2+} ionty mají větší vazebnou schopnost než Cu^{2+} pro všechny zkoumané ligandy. Komplexy salicylového typu mají zřetelně vyšší stabilitu ve srovnání s jejich komplexy s HK. Salicylové a benzoové kyseliny jako ligandy huminového typu mohou být použity pro stanovení rozsahu konstant stability huminových komplexů. Použitá Schubertova metoda je založena na konkurenci mezi danými ionty kovy a jejich vazbě na ligand, což vede k jejich distribuci mezi roztokem a pevnou fází. Koncentrace kovového iontu byla měřena jak za přítomnosti rozpuštěného ligandu, tak bez něho.

Cílem práce [42] bylo určit komplexační kapacitu a konstantu stability Cu^{2+} -HK komplexů. HK byly izolovány ze dvou vyvýšených rašelinišť s ohledem na jejich základní vlastnosti a podmínky humifikace. Prvková analýza a analýza funkčních skupin byla provedena metodou

UV spektrofotometrie. Pro analýzu komplexu měďnatých iontů a HK byla použita iontově selektivní elektroda. Konstanty stability komplexu jsou v rozmezí hodnot konstant stability HL izolovaných z jiných zdrojů (půda, uhlí, rašelina). Komplexační stabilita se značně změnila v rámci profilu močálu a je závislá na stáří a stupni rozkladu rašeliny. Srovnání stability komplexu a aktuální koncentrace mědi v HK izolovaných z rašeliny ukazuje význam pevné vazby kovu pro srovnání přítomnosti kovu v rašelině a HK z ní izolovaných. Žádná ze základních charakteristik HK sama o sobě (koncentrace karboxylových skupin, kyselost, hydrofobicita atd.) nemůže zcela vysvětlit komplexační kapacitu HK, což ukazuje na vliv více faktorů. Pro charakterizaci byla v tomto případě použita potenciometrická titrace a model založený na stechiometrii 1:1. Močály byly lokalizovány blízko sebe pro možnosti srovnání. Konstanty stability komplexů Cu^{2+} -HK byly podobné těm, které byly izolovány v jiných studiích [38], [39], [44] a byly velmi podobné konstantám HK izolovaných z rašeliny. Ty se ovšem znatelně liší v rámci studovaných profilů, zejména na hloubce odběru rašeliny. Stadium rozkladných procesů proto musí být uvažováno jako ovlivňující faktor. Ukázalo se, že poloha a stáří rovněž ovlivňují makromolekulární vlastnosti HK a jejich schopnost tvořit micelární supramolekulární struktury.

Hlavním cílem [43] bylo zjistit nejdůležitější vazebná místa (funkční skupiny) huminových struktur účastnících se komplexotvorných reakcí s Fe^{3+} a Cu^{2+} . Byla vytvořena skupina sedmi huminových vzorků pomocí aplikace hemi-syntetického procesu sestávajícího z oxidační polymerizace odlišných kombinací tří zdrojů přírodních organických molekul. Jednalo se o dvě HK získané z rašeliny a leonarditu a přírodního tanninu extrahovaného z kůry stromu quebracho. HK byly charakterizovány sadou doplňujících technik (^{13}C NMR, gelová permeační chromatografie, EPR), jejich schopností tvořit komplexy s Fe^{3+} a Cu^{2+} byla měřena pomocí fluorescence. Výsledky ukázaly, že ve skupině HK představující karboxylové, fenolické a O-alkylové skupiny, odlišné alifatické a aromatické struktury, se komplexotvorné reakce Fe^{3+} uskutečňují především pomocí karboxylových skupin v alifatických oblastech, kdežto Cu^{2+} vytváří nejstabilnější komplexy především prostřednictvím individuálních aromatických struktur, které obsahují fenoly, pravděpodobně i substituované fenoly, volné radikály a alkylové skupiny v postranních řetězcích aromatických struktur.

Pomocí potenciometrické titrace s iontově selektivní elektrodou selektivní pro uranylové ionty byla v práci [44] pozorována tvorba komplexů uranylových iontů s různými HK v poměru 1:1 a 1:2 (kov:ligand). Byla vypočtena podmíněná konstanta stability a byly navrženy možné struktury komplexů. Konstanty stability byly spíše vyšší, což znamená, že imobilizovaná HK může být použita například k odstranění stopových množství uranuly z odpadních vod.

V rámci této studie byl sledován transport toxických kovů v životním prostředí v přítomnosti HK, použity byly kromě potenciometrických i spektroskopické metody. Vzorky HK byly extrahovány z hnědého uhlí ze severních Čech. Pro studium interakcí byla použita potenciometrie, UV-VIS a IR spektroskopie.

Terbouche ve své studii [45] porovnává HK izolovanou z lesní půdy s vyčištěnou komerčně dostupnou HK (PCHA). Obě byly podrobeny prvkové analýze, zkoumány elektronovým mikroskopem, UV-VIS, ^{13}C -NMR, která určila u přírodní HK větší zastoupení alifatických a karboxylových skupin, dále vyšší poměry O/C, H/C a N/C mohou být důsledkem nižšího stupně aromatizace. Studium interakcí mezi Ni^{2+} , Zn^{2+} a Cd^{2+} a HK za odlišných poměrů mezi

HK a kovem byly realizovány pomocí konduktometrických a fluorescenčních technik. Výsledky získané vodivostní metodou byly interpretovány funkcí, která uvažovala jednak vodivost směsi, ale i vodivosti jednotlivých složek. Stabilita vazby byla určena pro reagující kovy následovně $Ni > Zn > Cd$, vazebná kapacita byla vyšší pro přírodní HK. HL obecně fluoreskují až do chvíle, kdy je těžký kov navázán a vzniká komplex. Fluorescenční spektrum tedy může poskytnout užitečné kvantitativní a kvalitativní informace o rovnováze těchto iontů v roztoku. Technika může být užita i pro stanovení komplexačních kapacit a konstant stability komplexů kov-HK. Komplexační kapacita pro přírodní HK byla lehce vyšší než pro uměle připravenou. Fluorescenční spektra se jevila býti závislá na původu a vlastnostech vzorků. Přírodní HK sorbovala vyšší množství Ni^{2+} , Zn^{2+} i Cd^{2+} , což mohlo být způsobeno celkovou aciditou, která byla pro přírodní HK vyšší.

Studiu vzniku měďnatých komplexů s HK se věnuje i práce [46]. Molekula HK však byla zjednodušena, byly vytvořeny modelové a organické látky, které byly omezeny pouze na fenolové kyseliny, které představují ligandy. Měření byla prováděna potenciometricky. Předmětem zkoumání byly následující kyseliny 3,4-dihydroxyhydroksofocová, 3,4-dihydroxybenzoová, 3,4-dihydroxyfenolová, kyselina hydrokávová a protokatechuová. Ačkoli mají modelové ligandy určité strukturální odlišnosti, nebyly pozorovány žádné zásadní rozdíly při tvorbě měďnatých komplexů. Při vzniku komplexů hraje roli přítomnost katecholové skupiny. Katecholové skupiny jsou totiž jedny ze stavebních jednotek HK. V komplexech 1:1 je měďnatý iont pravděpodobně vázán na kyslíkový atom deprotonované karboxylové skupiny ligandu. U komplexů v poměru 1:2 se fenolové sloučeniny chovají pravděpodobně jako dvozubé ligandy, přes katecholovou skupinu pak tvoří pětičlenné chelátové prstence. V těchto komplexech jsou oba fenolové anionty (katecholová skupina) vázány ke kovovému iontu v jedné rovině jako dvozubé ligandy a vytváří čtvercově planární strukturu, ke které se mohou v ose vázat dvě molekuly vody. Tím, že v HL je obsaženo tak velké množství funkčních skupin, tak je jasné, že každá analýza bude mít jisté nedostatky, proto se znalost konstanty stability jednotlivých komponent jeví jako zásadní. Ať už pro odhad vzniku komplexu, nebo pro lepší porozumění transportu kovů v ŽP.

Sedlák [47] sledoval kinetiku velkokapacitních supramolekulárních struktur a jejich dlouhotrvající stabilitu v roztoku elektrolytů, neelektrolytů a směsi kapalin. Tato struktura obsahovala submikronové sféry (velké shluky, agregáty) s vyšší koncentrací rozpuštěných látek než ve zbytku roztoku. Jejich velikost dosahovala až několik stovek nanometrů. Přítomnost byla potvrzena nízkým difuzním koeficientem a stabilním i dynamickým rozptylem světla. V případě směsi kapalin bylo možné pozorovat tvorbu struktur v reálném čase ve všech případech. V případě roztoků pevných vzorků bylo pozorování tvorby shluků možné v případě, kdy se částice pomaleji tvořily, než rozpouštěly. Čas vzniku se pohyboval od několika minut do několika týdnů v závislosti na konkrétním systému. Dlouhotrvající stabilita vzniklých struktur byla sledována v časových intervalech až do 15 měsíců. V některých systémech se výsledná struktura jevila jako stabilní, v jiných bylo pozorováno pomalé zeslabování. Tento proces může být popsán jako rovnováha koncentrace rozpuštěné látky uvnitř a vně supramolekulárních agregátů, kdy růst zůstává konstantní. V několika případech byly potvrzeny periodické změny v hustotě agregátů díky výměně rozpuštěné látky mezi supramolekulárními oblastmi a obklopující maticí.

Kompetitivní adsorpci těžkých kovů v HL sleduje ve své práci [48] Jeong. Kompetitivní chování HL nebylo přesně vysvětleno, komplikují to jejich různorodé struktury, proto aplikoval zjednodušený model. Model, který představuje zjednodušenou vazebnou skupinu, byl aplikován pro zkoumání kovů a jejich kompetitivní vazby na HK, uvažuje pouze skupinu karboxylového typu a skupinu hydroxylovou fenolického původu, mezi kterými působí různé elektrostatické interakce, které jsou vyjádřeny jako polynomická rovnice. Vazba kovu byla prováděna a sledována prostřednictvím metody dávkovací vyrovnávací dialýzy. Bilance hmotnosti a náboje byly užity pro výpočet jednotlivých komponentů. Aplikace modelu určila preferované vazebné polohy pro Cd^{2+} , Zn^{2+} a Cu^{2+} ionty. Jednalo se o dvojzubý chelát karboxylových skupin. Model popsal konkurenci dvou a tří kovů působících na HK, použitím skutečných konstant stability pro jednotlivé kovové ionty. Model představuje dobrou prognózu pro měď při poměru koncentrací 2:1:1 Cu:Zn.

Práce Ratea [49] se zabývá kinetikou disociace a tím, jak ovlivňuje stabilitu komplexu a makromolekulární konformaci. Disociace komplexů Cu^{2+} -HK byly sledovány pomocí spektrofotometrických technik. Efekt pH, počáteční poměr koncentrace Cu^{2+} :HK, koncentrace elektrolytu, rychlost disociace komplexu byly sledovány v podmínkách rovnováhy, sledovány byly i konformace makromolekuly. Ukázalo se, že i relativně malá změna může zásadně ovlivnit kinetiku disociace. Obecně zvyšující se pH nebo predisociační rovnováha snižuje rychlosti disociace komplexu Cu^{2+} :HK. Zvyšující se poměr Cu:HK nebo koncentrace elektrolytu zvyšují rychlost Cu^{2+} :HK disociace. Tyto tendence se ukázaly jako shodné pro pomalejší disociaci více termodynamicky stabilních komplexů. Odezva rychlosti těchto reakcí na odlišné experimentální podmínky nenaznačuje efekt reakční rychlosti vzhledem ke stupni makromolekulární kontrakce nebo expanze. Efekt predisociační rovnováhy je pomalý, konformační změna vyvolaná vznikem komplexu prosazuje vznik stabilnějších komplexů a následně opožděnou disociaci. Efekt pomalého vzniku komplexu bude více kritický pro reakce tvořící velmi stabilní komplexy.

Rawat a kol. [50] studovali termodynamické vlastnosti vzniku komplexu Eu^{3+} s karboxyláty pomocí kalorimetrie a potenciometrie. Zkoumali vznik komplexu s Eu^{3+} , což je chemický analog trojmocných aktinidů, s různými karboxylátovými anionty (např. acetát, ftalát, 2-hydroxymethylpropanoát (HMP), sukcinát atd.) za stejné iontové síly i teploty pomocí potenciometrie a izotermické titrační kalorimetrie. Entalpie všech karboxylátových komplexů byla endotermická až na ML_2 komplexy ftalátu. Reakce vedoucí ke vzniku komplexu byla sledována pomocí entropie. Dikarboxylové anionty (sukcinát a ftalát) tvoří silnější komplexy než monokarboxylové (acetát, HMP). Navzdory tomu přítomnost hydroxylové skupiny v HMP zvyšuje konstantu stability komplexu.

2.5 Metody studia stability huminových kyselin

Techniky termoanalýzy jsou ke studiu půd používány delší dobu, zejména pak v mineralogii jílovitých částic. Termogramy popisují charakteristické vlastnosti a mohou být použity k určení charakteristických kvalitativních vlastností. Termická analýza je skupina technik, které testují fyzikální a chemické vlastnosti materiálu. Obecně termická analýza zkoumá chování vzorku v závislosti na teplotě. Data získaná termickou analýzou jsou nepřímá, proto je nutné zařazení nějaké doplňující srovnávací metody např. NMR, FT-IR [50]. Stabilita komplexů se zkoumá i chemickými metodami, a to extrakcemi různými roztoky.

2.5.1 Extrakce kovů z huminových látek

Extrakci kovů z půdy, případně extrakci kovů již nasorbovaných na huminové látky, se věnuje řada autorů. Analytický postup zahrnující sekvenční chemickou extrakci byl vyvinut pro rozdělení stopových kovů (Cd, Co, Cu, Ni, Pb, Zn, Fe a Mn), zabývá se jím práce [51]. Vše bylo rozděleno do 5 frakcí. Iontově výměnnou frakci (extrakční činidlo 1 M MgCl_2 , případně roztok 1 M octanu sodného), ionty vázané na půdní uhličitany (extrakční činidlo 1 M octan sodný, na oxidy železa a manganu (extrakce pomocí 0,04 M hydroxylamin hydrochloridu v 25% kyselině octové), frakci vázanou na půdní organickou hmotu (extrahováno směsí 0,02 M kyseliny dusičné a 30% peroxidu vodíku) a frakci residuální (extrakční činidlo byla směs kyseliny fluorovodíkové a kyseliny chloristé). Vyhodnocení porovnávající celkovou koncentraci kovového iontu se součtem pěti jednotlivých frakcí byla uspokojivá. Frakce byly vybrány jako by byly ovlivňovány odlišnými podmínkami, které nastávají v životním prostředí. Výměnná frakce demonstruje adsorpci kovových iontů na sedimenty. Změny ve vodném prostředí obsahující ionty s největší pravděpodobností ovlivňuje procesy sorpce a desorpce. Ionty vázané na půdní uhličitany jsou citlivé na změny pH. Oxidy železa a manganu fungují jako uzlové molekuly pro kovové ionty, které se na ně vážou, oxidy jsou termodynamicky nestabilní při nedostatku kyslíku. Kovové ionty mohou být vázány k různým formám organické hmoty (živé organismy, sutě, povrchy minerálů). Za oxidačních podmínek v přírodních vodách může být organická hmota degradována za vzniku rozpustných stopových kovů. Residuální frakce je zbytek, který obsahuje hlavně primární a sekundární minerály, které mohou zadržovat kovové ionty v jejich krystalické struktuře.

Selektivní sekvenční extrakce podle Zeiena a Brümmera [52] využívá následující extrakční činidla. Pro mobilní těžko kovy dusičnan amonný, pro lehce přístupné těžko kovy octan amonný, hydroxylamin hydrochlorid ve směsi s octanem amonným pro kovy vázané na oxidy manganu. NH_4 -EDTA pro kovy vázané na organickou hmotu. Šťavelan amonný ve směsi s kyselinou askorbovou pro kovy vázané na krystalické oxidy železa a směs kyseliny dusičné a chloristé pro reziduální frakci.

Kalina a kol. [53] se zabývali využitím frakční extrakce pro charakterizaci interakcí mezi HK a kovy. Difuzní experimenty byly doplněny o selektivní extrakci difundovaných iontů Cu^{2+} . Pro tento účel byla využita činidla se vzrůstající afinitou k měďnatým iontům. Výsledky ukázaly, že v připravených huminových gelech existuje několik forem difundovaných iontů, což je dáno silou vazby s HK. Distribuce měďnatých iontů do těchto forem se stává konstantní až po určitém časovém úseku, což signalizuje lokální rovnováhu interakcí mezi ionty a obsahem huminových látek v připravených gelech během transportního procesu. Metody extrakce jsou důležité, neboť také ovlivňují mobilitu látek v přírodě. Těžké kovy se v přírodě vyskytují v různých chemických formách a mohou být vázány k rozdílným matricím s lišící se silou vazby. Určení rozmanitých způsobů vazby kovu na HK nám poskytne informace o jejich mobilitě, dostupnosti nebo toxicitě. Jednotlivé složky půdy mají rozdílné schopnosti redukovat pohyblivost kovových iontů nebo dokonce imobilizovat kovové ionty. Metoda, která je rozšířená pro stanovení mobility kovových iontů, je tedy sekvenční extrakce. Celkové množství kovových iontů, původně sorbovaných na organickou hmotu, je rozděleno do několika frakcí pomocí sekvenčních přísadků různých extrakčních činidel. Extrahované množství kovového iontu je dáno silou extrakčního činidla, tj. silou interakce mezi kovovými ionty a půdní složkou. Jednotlivá extrakční činidla jsou schopna extrahovat různá množství kovu, což souvisí s jejich rozdílnou afinitou k příslušnému kovu. Voda je slabé činidlo, které je schopno uvolnit pouze

mobilní frakci Cu^{2+} , za účelem získat frakci iontově výměnnou byl použit roztok 1M MgCl_2 , který zároveň umožňuje získat frakci mobilní. Činidlo 1M HCl extrahuje kovové ionty silně vázané.

2.5.2 Termogravimetrická analýza (TGA)

Termogravimetrická analýza je technika, která měří změnu hmotnosti vzorku v závislosti na teplotě případně na čase v izotermickém módu. Vzorek je dávkován s velkou precizností, reaguje na teplotní změny příslušného programu v pícce a během toho je průběžně vážen. Ztráta hmotnosti spojená s termickou reakcí je měřena mezi inflexními body TG křivky. Často je jednodušší interpretovat a řešit termické děje vyhodnocením derivace TG křivky. TGA je užívána ke studiu procesů, kdy dochází k úbytku nebo naopak příbytku hmotnosti (např. různé typy sorpce, sublimace, oxidace, vypařování atd.). Primárně se však užívá pro určení degradace a termostability materiálů za různých podmínek a k určení kinetiky fyzikálně-chemických procesů, které nastávají ve zkoumaném materiálu. Změna hmotnosti materiálu velmi závisí na experimentálních podmínkách. Faktory jako hmotnost vzorku, objem, skupenství tvar, materiál pánvičky, prostředí a tlak atmosféry v pícce a rychlost skenování ovlivňují výslednou termogravimetrickou křivku. Termogravimetrické křivky jsou vyjádřeny jako závislost změny hmotnosti (Δm) na ose y a teploty (T) nebo času (t) na vodorovné ose x [50] [54]. Nejčastější použití TGA je určení termické stability materiálu, relativní těkavost a kinetiku procesu. Propojení TGA a DTA umožňuje stanovení dalších vlastností např. teploty první a druhé fázové přeměny, krystalovou modifikaci, tání, sublimaci, teplotu varu atd.

Termogravimetrickou analýzu ovlivňuje řada faktorů. Velikost a tvar pánvičky může znatelně ovlivnit průběh TGA křivky. Velikost pánvičky a množství vzorku ovlivňují metodu ohřevu a také rychlost difuze plynů uvolněných ze vzorku. Nejlepší výsledky jsou stanovovány s pánvičkami ve tvaru malých mělkých talířků, které umožňují homogenní ohřívání vzorku skrz relativně velkou oblast. Je důležité brát v úvahu další vlastnosti zkoumané substance jako je pění a popraskání (dekrepitace) během zahřívání. Pokud se něco z uvedeného projeví, je vhodné použít cylindrické, konické nebo uzavřené pánvičky.

Měření ovlivňuje i materiál a konstrukce pánvičky, zanedbatelný he pouze pokud jsou použity platinové, hliníkové případně zlaté pánvičky. Množství vzorku ovlivňuje průběh měření v největší míře. Čas, který je třeba, aby reakce proběhla v plném rozsahu v kompletním množství vzorku. Termogravimetrická analýza provádí zahřívání a vážení vzorku souběžně. Nedochozí ke kontaktu vzorku se stěnami pícky. Zahřívání vzorku je závislé na přenosu tepla, který ovlivňují vlastnosti, velikost a původ vzorku, změna entalpie jakékoliv reakce, které vzorek podléhá. Teplotní gradient vzniká mezi vzorkem a stěnou pícky, což může zkreslovat hodnotu teploty vzorku a stanovení rozsahu teplot, při kterých daná reakce probíhá. Rozdíl teploty mezi stěnou pícky a vzorkem je primárně ovlivněna vlastnostmi vzorku, změnou entalpie reakce, která probíhá a rychlostí růstu teploty. Atmosféra, která je v prostoru pícky, rovněž ovlivňuje probíhající měření. V momentě, kdy je vzorek sušen a rozkládán na vzduchu se atmosféra v okolí pánvičky průběžně mění díky uvolňování plynných produktů nebo díky reakci, která probíhá mezi vzorkem a atmosférou. Citlivost navažování a zaznamenávacího zařízení souvisí s množstvím použitého vzorku. Často je bráno, co nejmenší možné množství vzorku, aby reakce probíhala za požadovaných podmínek. Zařízení musí být pravidelně kalibrováno, aby se předešlo chybám v měření, zejména u citlivých reakcí to hraje velkou roli [50].

2.5.3 Diferenční kompenzační kalorimetrie (DSC)

Diferenční kompenzační kalorimetrie sleduje změny entalpie, měří energii dodanou vzorku a referenčnímu materiálu jako funkci teploty. DSC měří rychlost toku tepla a srovnává rozdíl mezi vzorkem a referenčním materiálem. Měření se odehrává ve dvou totožných pánvičkách, nejčastěji se měří v rozmezí od jednoho do desítek miligramů. Látka, která nepodléhá žádným tepelným změnám, slouží jako referenční, nejčastěji prázdná pánvička. Rozlišujeme dva typy přístrojů, a to DSC s kompenzací příkonu (power compensation DSC) a DSC s tepelným tokem (heat flux DSC).

DSC s tepelným tokem umožňuje měření, kdy vzorek i srovnávací materiál jsou zahřívány případně chlazeny tím a samým zdrojem tepla. Teplota cely se mění podle nastaveného teplotního programu, teplo je přenášeno pomocí termoelektrického disku na vzorek a srovnávací materiál, odpovídající signál napětí je konvertován na teplotní tok ($J \cdot s^{-1}$). Výhodou je, že signál je nezávislý na teplotních vlastnostech vzorku.

DSC s kompenzací příkonu je cílem ustanovit minimální teplotní rozdíl mezi vzorkem a srovnávacím materiálem, které jsou vystaveny identickému teplotnímu režimu. Vzorek a srovnávací materiál jsou ve dvou oddělených identických pánvičkách. Rozdílný příkon je potřebný ke kompenzaci teplotních odchylek mezi celami, energie potřebná ke kompenzaci je měřena jako entalpie nebo změna tepelné kapacity ve vzorku poměrně s tou ve srovnávacím materiálu.

DSC neměří pouze endotermické a exotermické změny, ale také změny v tepelné kapacitě vzorku ve vztahu k teplotě. Pro spolehlivé výsledky teplotních toků musí být každý kalorimetr kalibrován na jeho teplotní odpor, tepelnou kapacitu a teplotu [50].

Oba typy DSC mají své výhody a nedostatky, ale konečný výsledek je stejný, oba zprostředkovávají stejnou informaci. Výhodou DSC s tepelným tokem je, že umožňuje měření větších objemů vzorků, má vysokou citlivost a maximální teplota může dosáhnout i 900 °C. Nevýhodou je malá rychlost ohřevu a chlazení. Hlavní výhodou DSC s kompenzací příkonu je, že není třeba kalibrace, protože teplo je získáváno přímo z dodávané elektrické energie dodávané vzorku. Kalibrace je nutná pro převod této energie do použitelných jednotek. Nevýhodou tohoto uspořádání je potřeba extrémně citlivého systému a jeho vysoké citlivosti na kolísavé prostředí, které není způsobeno vzorkem [55].

2.5.4 FT-IR spektrometrie

Infračervená spektroskopie je analytická technika určená především pro identifikaci a strukturní charakterizaci organických sloučenin a také pro stanovení anorganických látek. Tato technika měří pohlcení infračerveného záření o různé vlnové délce analyzovaným materiálem. Infračerveným zářením je elektromagnetické záření v rozsahu vlnových délek 0,78 – 1000 μm , což odpovídá rozsahu vlnočtů 12800 – 10 cm^{-1} .

Celá oblast bývá rozdělena na blízkou (13000 – 4000 cm^{-1}), střední (4000 – 400 cm^{-1}) a vzdálenou infračervenou oblast (400 – 10 cm^{-1}), přičemž nejpoužívanější je střední oblast. Principem metody je absorpce infračerveného záření při průchodu vzorkem, při níž dochází ke změnám rotačně vibračních energetických stavů molekuly v závislosti na změnách dipólového momentu molekuly. Analytickým výstupem je infračervené spektrum, které je grafickým zobrazením funkční závislosti energie, většinou vyjádřené v procentech transmitance (T) nebo jednotkách absorbance (A) na vlnové délce dopadajícího záření. Transmitance (propustnost) je definována jako poměr intenzity záření, které prošlo vzorkem (I) k intenzitě záření, které vyšlo ze zdroje (I_0). Absorbance je definovaná jako dekadický

logaritmus $1/T$. Závislost energie na vlnové délce je logaritmická, proto se používá vlnočet, který je definovaný jako převrácená hodnota vlnové délky a tedy uvedená závislost energie na vlnočtu bude lineární [56].

Důležitou skutečností je relativní nezávislost vibrací jednotlivých částí molekuly (funkčních skupin) na ostatních molekulových vibracích. Toto je základ pro využití IR spektrometrie ve strukturní analýze. V důsledku toho mají totiž různé funkční skupiny relativně stálé vibrační frekvence bez ohledu na to, v jakých organických skeletech jsou přítomny. Absorpční pásy, které mají vrcholy v intervalu $4000 - 1500 \text{ cm}^{-1}$ jsou vhodné pro identifikaci funkčních skupin (např. $-\text{OH}$, $\text{C}=\text{O}$, $\text{N}-\text{H}$, CH_3 aj.). Pásy v oblasti $1500 - 400 \text{ cm}^{-1}$ jsou nazývané oblastí „otisku palce“. Pomocí „search programů“ a digitalizovaných knihoven infračervených spekter je možno identifikovat neznámou analyzovanou látku. V současné době se objevují softwary, které umožňují simulovat infračervené spektrum organických molekul [56], [57] [58].

Infračervená spektroskopie je používána k identifikaci chemické struktury látek již od 30. let 20. století. Avšak spektrometry pracující na principu rozptylu světla neumožňovaly analýzu silně absorbujících matric. Analýza pevných vzorků byla většinou omezena na práškové materiály, které byly měřeny ve formě směsi s halogenidy alkalických kovů lisované do tenkých tablet, nebo metodou kapilární vrstvy, suspenze prášku v lehkém alifatickém oleji mezi okénky monokrystalů halogenidů alkalických kovů nebo kovů alkalických zemin. Kapalné i plynné vzorky bylo možné měřit v zásadě bez omezení. S rozvojem výpočetní techniky v 80. letech 20. století dochází k praktickému rozšíření infračervených spektrometrů s Fourierovou transformací (FTIR spektrometry). Fourierova transformace přinesla v oblasti IR spektroskopie zjednodušení a zkvalitnění měření. FT-IR spektrometry jsou přístroje pracující na principu interference spektra, které měří na rozdíl od disperzních přístrojů interferogram modulovaného svazku záření po průchodu vzorkem. Tyto přístroje vyžadují matematickou metodu Fourierovy transformace, abychom získali klasický spektrální záznam. FTIR spektrometry vykazují celou řadu výhod. Při měření dopadá na detektor vždy celý svazek záření. Takové uspořádání umožňuje experimenty, při nichž dochází k velkým energetickým ztrátám, to znamená, že můžeme měřit silně absorbující vzorky nebo můžeme analyzovat pevné či kapalné vzorky v odraženém světle při použití nástavců tj. reflektanční infračervená spektrometrie. FT-IR spektrum nabízí mnohem vyšší rozlišení než klasické IR spectrum [56].

Infračervená spektroskopie poskytuje velké množství informací o významných skupinách atomů a typů vazeb, jako jsou hydroxylové skupiny, ketonické skupiny a jiné, dále pak informuje o pozici vybraných skupin v molekule huminové kyseliny. Díky této metodě, hojně využívané k charakterizaci, získáváme důležité doplňující informace o struktuře huminových kyselin [58].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

- destilovaná voda
- hexahydrát chloridu nikelnatého p.a., Fluka
- hexahydrát chloridu kobaltnatého p.a., Riedel-de Haën
- dihydrát chloridu měďnatého p.a., Lach-Ner s.r.o.
- hexahydrát chloridu hořečnatého p.a., Penta
- kyselina chlorovodíková 1M Normanal
- bromid draselný
- IHSS
- vzorek huminové kyseliny

3.2 Použité přístroje

- UV-VIS spektrofotometr HITACHI U3900H
- FT-IR spektrofotometr Nicolet iS5, Thermo Scientific
- TGA Q5000, TA Instruments
- TGA Q50, TA Instruments
- DSC Q200, TA Instruments

3.3 Extrakce huminové kyseliny z lignitu

Huminová kyselina byla extrahována z jihomoravského lignitu metodou alkalické extrakce. Třicet gramů namletého lignitu bylo smícháno s 1 dm³ 0,1 M roztokem HCl, tato suspenze byla ponechána 1 hodinu na třepače. Po dekalcinaci byl lignit promyt dostatečným množstvím destilované vody, aby došlo k odstranění Cl⁻ iontů. Zkouška přítomnosti chloridových iontů byla provedena pomocí AgNO₃. Takto připravený lignit byl převeden do plastové nádoby s extrakčním činidlem (2 dm³ 0,5 M NaOH a 0,1 M Na₄P₂O₇·10 H₂O). Směs byla vytřepána na třepače přes noc. Výluh od pevného podílu byl oddělen odstředěním, a to 20 minut při 15 °C a 4000 ot·min⁻¹. Kapalný podíl (roztok huminových a fulvinových kyselin) byl přefiltrován přes filtr a okyselen koncentrovaným roztokem HCl na hodnotu pH < 2, kvůli vysrážení HK. Po zhruba dvou hodinách došlo k vysrážení huminových kyselin, které byly odděleny od roztoku fulvinových kyselin odstředěním. Centrifugace probíhala při 4000 ot·min⁻¹ po dobu 20 minut. Extrakce lignitu byla zopakována ještě jednou za totožných podmínek. Získané huminové kyseliny (po první i druhé extrakci lignitu) byly převedeny do plastové nádoby s 1 dm³ 0,5 obj. % roztoku směsi HCl a HF. Tato směs byla třepána po dobu jednoho dne. Suspenze byla odstředěna při 4000 ot·min⁻¹ a 15 °C po dobu 20 min a pevný podíl huminových kyselin byl převeden do dialyzačních membrán (3500 Da) a dialyzován proti destilované vodě do vymytí Cl⁻ iontů, opět testováno pomocí AgNO₃. Po dialýze byl vzorek lignitické huminové kyseliny lyofilizován. Použitý standart IHSS je komerčně dodávaná HK izolovaná z leonarditu dle postupu International Humic Substance Society [59].

3.4 Charakterizace izolované huminové kyseliny

Huminové kyseliny byly charakterizovány metodou prvkové analýzy, a to na Ústavu struktury a mechaniky hornin Akademie věd České republiky v Praze, pomocí mikroanalýzátoru CHNSO Flash 1112 od společnosti Carlo Erba. Dále pak metodou FT-IR

spektrometrie na přístroji Nicolet iS5, Thermo Scientific. K měření byla využita metoda transparentní tablety KBr. Nejprve byl vyžíhán bromid draselný na hliníkové misce po dobu 30 minut. Naváženo bylo vždy 200 mg KBr. Vyžíhaný KBr byl rozetřen ve třetí misce a zhomogenizován s 1 mg sypké huminové kyseliny případně IHSS. Poté byla pomocí speciálního lisu vylišována transparentní tableta, pod tlakem 1 t po dobu 30 s a 1,5 t po dobu dalších 30 s, která byla vložena do spektrofotometru. Infračervená spektra byla proměřena v rozsahu od 400 – 4000 cm^{-1} . Celková spektra byla získána při nastavení 256 skenů s rozlišením 8.

Výsledky elementární analýzy a FT-IR spekter budou uvedeny v kapitole 4.1.

3.5 Příprava odměrných roztoků

Roztoky CuCl_2 , NiCl_2 a CoCl_2 o koncentracích 0,05 M; 0,1 M; 0,2 M byly připraveny navážením přesného množství dané látky, tak aby hmotnost odpovídala požadovaným koncentracím. Látky byly převedeny do odměrných baněk o objemu 50 ml a doplněny po rysku třemi rozpouštědly, a to destilovanou vodou, 1 M HCl a 1 M MgCl_2 . Takto připravené kalibrační roztoky sloužily ke stanovení koncentrace daného kovu v příslušném rozpouštědle. Roztoky byly proměřeny metodou UV-VIS v rozsahu 200 – 900 nm.

3.6 Příprava komplexů

Navážených 100 mg HK bylo vytřepáno po dobu 48 hodin s 5 ml vodného roztoku příslušného kovového iontu vždy o koncentracích 0,05 M; 0,1 M; 0,2 M. Připraveny byly dvě sady suspenzí. Stejný postup byl opakován i pro IHSS. Kapalný podíl byl slit a postoupen další analýze pomocí UV-VIS. Pevný podíl byl přesušen v sušárně při teplotě 55 °C, byla zkoumána termická stabilita.

3.7 UV-VIS

Množství adsorbovaného a extrahovaného kovového iontu bylo měřeno pomocí UV-VIS spektrometrie, kdy nejprve byly proměřeny absorbance kalibračních roztoků, ze získaných hodnot byla vypočtena rovnice regrese pro stanovení jednotlivých koncentrací. Posléze byla proměřena změna absorbance kapalného výluhu po sorpci kovových iontů. Měření probíhalo v rozsahu vlnových délek 200 – 900 nm. Hodnoty absorbance byly využity ke stanovení úbytku kovových iontů Cu^{2+} , Ni^{2+} a Co^{2+} v sorpčních roztocích po extrakci extrakčními činidly, a to 1 M HCl a 1 M MgCl_2 . Z naměřených hodnot byly vypočítány koncentrace uvedené v 4.2.

3.8 Termická analýza

3.8.1 Termogravimetrická analýza

Termogravimetrická analýza byla provedena pro všechny vzorky HK, IHSS i pro původní HK a IHSS. Byly použity přístroje TA Instruments TGA Q5000 a TGA Q50, které byly propojeny s počítačem, kde byla zaznamenávána naměřená data. Průměrná navážka vzorku činila 2 mg. Použité pánvičky byly otevřené, platinové. Měření probíhalo v atmosféře vzduchu, jehož průtok byl 25 ml/min, průtok balančního plynu (dusík) byl 10 ml/min. Rychlost ohřevu byla nastavena na 10 °C za minutu. Měření probíhalo od pokojové teploty až do 600 °C. Získané výsledky byly vyhodnoceny pomocí softwaru TA Instruments.

3.8.2 Diferenční kompenzační kalorimetrie

Kalorimetrická analýza byla rovněž provedena pro všechny vzorky HK, IHSS i pro původní HK a IHSS. Měření bylo realizováno na přístroji DSC Q200 od TA Instruments. Průměrná

navážka činila kolem dvou miligramů vzorku. Měření bylo uskutečněno v otevřených hliníkových pánvičkách dodávaných firmou TA Instruments. Přítok kyslíku byl stejně jako u TGA nastaven na 25 ml/min. Vzorky byly zahřívány rychlostí 10 °C za minutu od 40 °C až do 540 °C. Získané výsledky byly rovněž vyhodnoceny pomocí programu TA Instruments. Získaná data budou prezentována a diskutována v kapitole 4.4.

Parametry měření TGA i DSC byly zachovány i pro proměření vzorků po extrakci. U vzorků extrahovaných pomocí roztoku $MgCl_2$ došlo v důsledku sušení k vykrystalizování soli na povrchu HK, proto byly vzorky dodatečně promyty 30 ml destilované vody. Vzhledem k dlouhotrvající poruše přístroje k měření diferenční kompenzační kalorimetrie Q200 TA Instruments nebyly analyzovány touto technikou vzorky IHSS po extrakci. Vzorky byly uchovány pro doměření na opraveném přístroji.

Pevné podíly připravených komplexů byly rovněž charakterizovány metodou FT-IR spektroskopie. Postup zůstal stejný jako v kapitole 3.4.

3.9 Chemická stabilita

Zbytky pevných podílů po sorpci byly extrahovány vždy 5 ml 1M HCl a 1M $MgCl_2$. S cílem určit jejich chemickou stabilitu. Směsi byly vytřepány na třepačce po dobu 48 hodin. Poté byl slit kapalný podíl, který byl proměřen pomocí UV-VIS za stejných parametrů jako před extrakcí. Pevné podíly byly přesušeny v sušárně při teplotě 55 °C a poté znovu analyzovány termickými metodami.

Veškeré vzorky po extrakci byly znovu analyzovány metodou FT-IR. Parametry měření zůstaly stejné. Získána spektra budou diskutována v kapitole 4.3.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Charakterizace použité huminové kyseliny a IHSS

4.1.1 Prvková analýza

Největší zastoupení mají ve struktuře huminových kyselin makrobiogenní prvky, a to uhlík, vodík, dusík, kyslík a síra. Poměrné zastoupení elementárních prvků ve vzorcích vysušené huminové kyseliny a komerčně dodávaného standardu IHSS jsou uvedeny v tabulce 2.

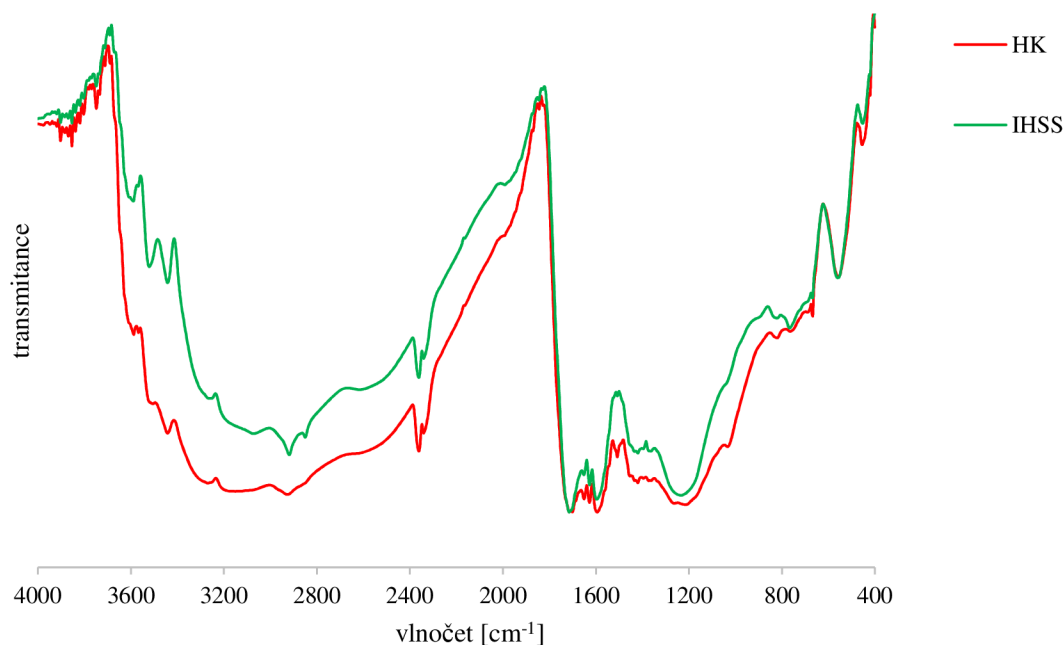
Tabulka 2: Zastoupení prvků v HK a IHSS v atomových procentech (vztaženo na suchý vzorek bez popela)

množství [at. %]					
	uhlík	vodík	dusík	kyslík	síra
HK	49,8	41,3	1,5	6,9	0,5
IHSS	48,1	33,2	0,8	17,7	0,2

Elementární analýza obou vzorků potvrdila většinové zastoupení uhlíku a vodíku, naopak množství síry je téměř zanedbatelné. Nutno podotknout, že procentuální zastoupení kyslíku je u IHSS více jak dvojnásobné.

4.1.2 FT-IR spektrometrie

K charakterizaci huminových kyselin byla v této diplomové práci použita technika infračervené spektrometrie s Fourierovou transformací.



Obr. 11: FT-IR spektra HK a IHSS

Na obrázku 11 jsou vyobrazena FT-IR spektra původních huminových kyselin. Široký pík v rozmezí vlnočtů $3600 - 2900 \text{ cm}^{-1}$ odpovídá absorpci valenčních vibrací skupin $-\text{OH}$ vázaných vodíkovými můstky, díky kterým tvoří huminové látky složité struktury. Tento pás je natolik široký a zásadní, že ovlivňuje další prvky spektra. Volným $-\text{OH}$ skupinám náleží pík okolo 3587 cm^{-1} . Volným aminoskupinám signalizující primární aminy přísluší píky v rozmezí $3506 - 3440 \text{ cm}^{-1}$. Absorpční pásy v rozmezí $2920 - 2850 \text{ cm}^{-1}$ přísluší vibracím alifatických funkčních skupin jako je $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-$, které jsou typické pro HK. Pík v poloze 1710 cm^{-1} poukazuje na vibraci vazby $\text{C}=\text{O}$ přítomné v karboxylových skupinách, alifatických aldehydech a ketonech. Pásy v rozmezí $1650 - 1600 \text{ cm}^{-1}$ odpovídají antisymetrické valenční vibraci karboxylového aniontu $-\text{COO}^-$ v rámci karboxylové skupiny, případně vibraci aromatického kruhu reprezentované $\text{C}=\text{C}$ vazbou. Komplikovaná oblast v rozmezí vlnočtů $1600 - 1400 \text{ cm}^{-1}$ odpovídá aromatickým vazbám $\text{C}=\text{C}$ nebo deformačním vibracím amidických $\text{N}-\text{H}$ skupin. Vlnočty $1420 - 1320 \text{ cm}^{-1}$ odpovídají deformaci alifatických $\text{C}-\text{H}$ skupin, $\text{O}-\text{H}$ vazebným vibracím, valenčním vibracím $\text{C}-\text{O}$ skupiny vázané ve fenolech nebo symetrické valenční vibraci karboxylového aniontu. Pro vlnočty $1230 - 1220 \text{ cm}^{-1}$ je charakteristický výrazný pás odpovídající absorpci fenolické funkční skupiny.

4.2 Charakterizace připravených komplexů

Adsorbované množství iontu každého kovu z roztoků o počátečních koncentracích ($c_0 = 0,05; 0,1; 0,2 \text{ M}$) bylo určeno metodou UV-VIS. Příslušné koncentrace byly vypočteny pomocí rovnic regrese, které byly stanoveny z kalibračních řad.

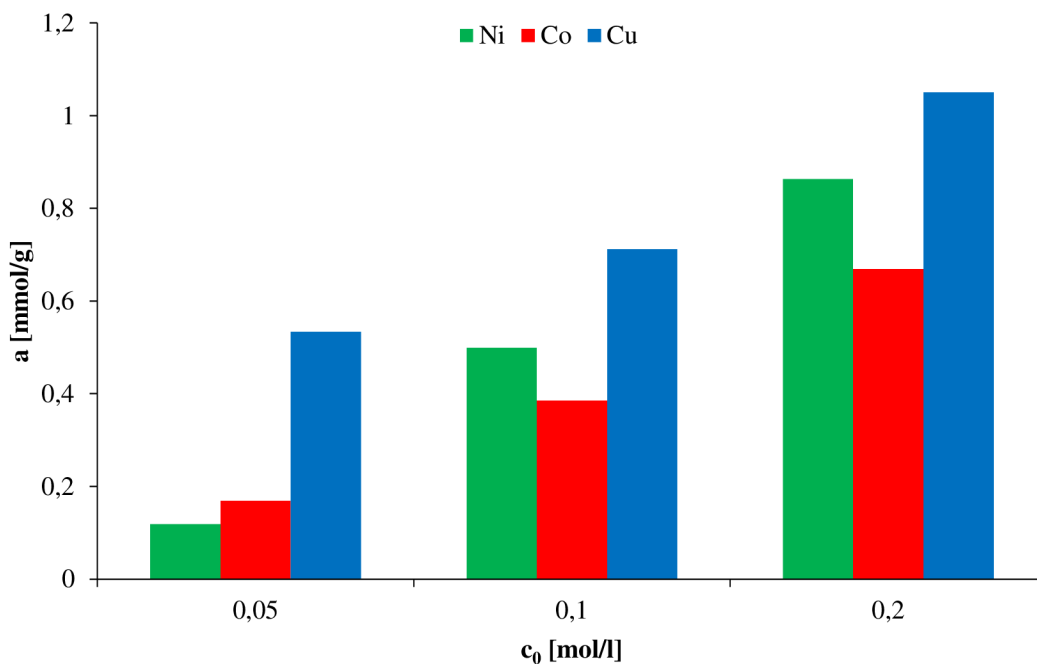
Tab. 3: Adsorbované množství příslušných kovových iontů huminovou kyselinou

$c_0 \text{ (M)}$	Adsorbované množství [mmol/g]		
	Ni^{2+}	Co^{2+}	Cu^{2+}
0,05	0,12	0,17	0,53
0,1	0,50	0,39	0,71
0,2	0,86	0,67	1,05

Tab. 4: Adsorbované množství příslušných kovových iontů IHSS

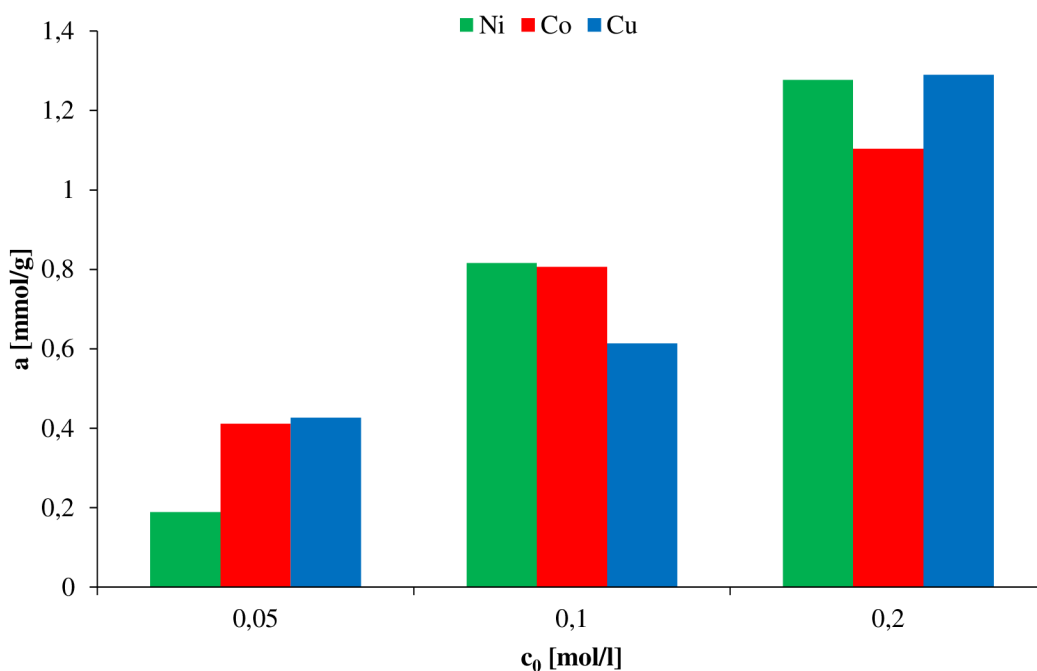
$c_0 \text{ (M)}$	Adsorbované množství [mmol/g]		
	Ni^{2+}	Co^{2+}	Cu^{2+}
0,05	0,19	0,41	0,43
0,1	0,82	0,81	0,61
0,2	1,28	1,10	1,29

Na následujících obrázcích 12 a 13 jsou uvedeny sloupcové grafy poskytující srovnání sorbovaného množství jednotlivých kovů o různých koncentracích, a to pro HK i IHSS.



Obr. 12: Množství sorbovaných kovových iontů na HK pro tři počáteční koncentrace

Je zřejmé, že množství sorbovaných kovových iontů vzrůstá s koncentrací. Nejvyšší nasorbované množství patří ve všech třech případech mědi, pro koncentrace 0,1 M a 0,2 M následuje nikl a nakonec kobalt. Pro nejnižší koncentraci je patrný výrazný rozdíl mezi měďnatými ionty a ionty ostatních kovů, kdy se nejméně sorboval nikl. Nejochtněji tvoří komplexy s HK měď, pak nikl a nakonec kobalt, což potvrzuje získané teoretické poznatky. Rozdíly mezi přírodní HK a IHSS jsou značné. Přírodní HK absorbuje menší množství Ni^{2+} a Co^{2+} než IHSS, naopak přírodní HK sorbuje vyšší množství Cu^{2+} .



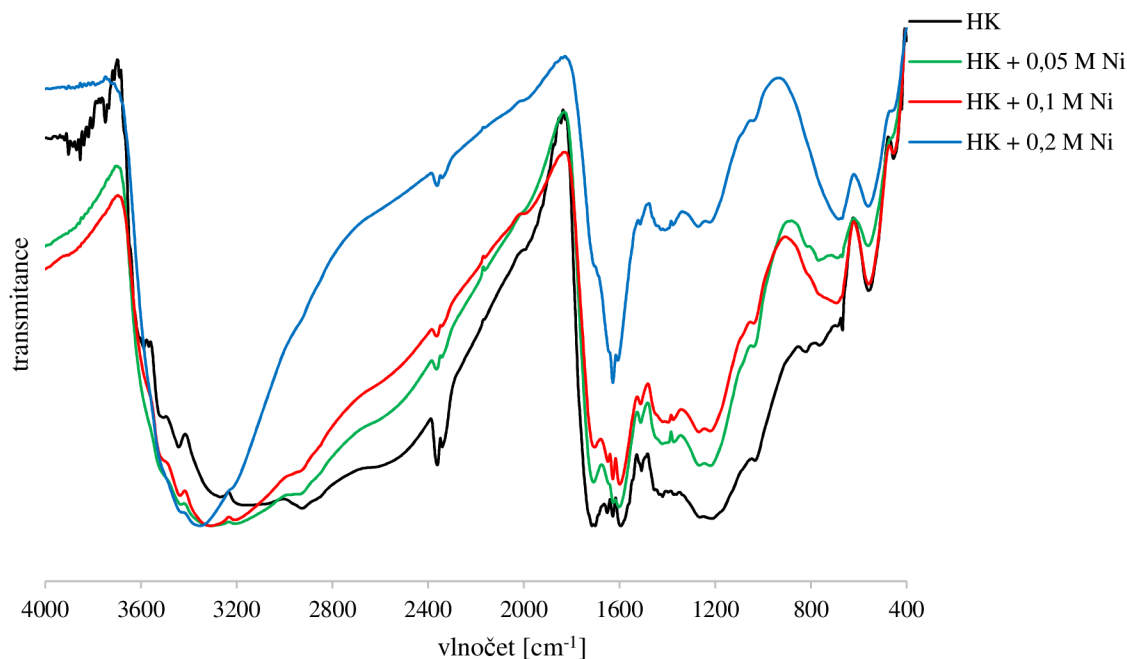
Obr. 13: Množství sorbovaných kovových iontů na IHSS pro tři počáteční koncentrace

4.2.1 Charakterizace připravených komplexů pomocí metody FT-IR spektrometrie

Připravené komplexy byly proměřeny pomocí FT-IR spektrometrie za účelem posouzení vlivu vazby příslušných kovů na HK. Z naměřených transmisních spekter je zřejmé, že struktura huminové kyseliny se v důsledku inkorporace atomů těžkých kovů mění.

4.2.1.1 Vliv Ni^{2+} iontů

Na obrázcích 14 a 15 jsou uvedena FT-IR spektra pro komplexy HK-Ni případně IHSS-Ni o různé koncentraci. Na první pohled je patrná změna spektra oproti původní HK.

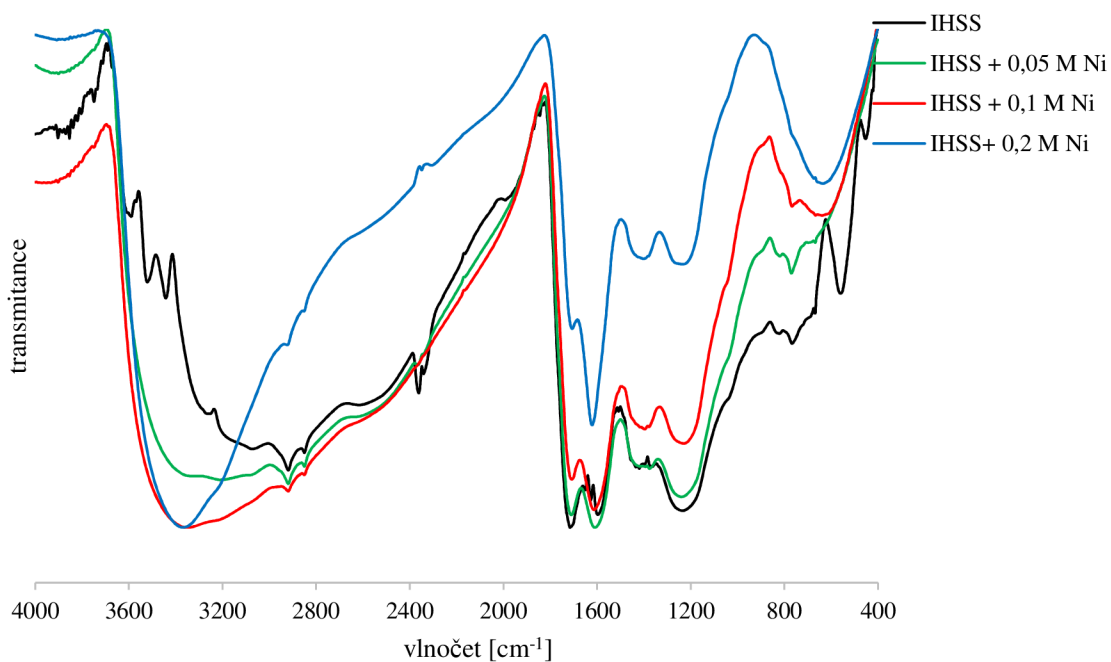


Obr. 14: Porovnání FT-IR spekter pro komplexy HK s Ni^{2+} o různé koncentraci

Odlišnost spekter je patrná u širokého absorpčního pásu, který přísluší –OH skupinám v rozmezí vlnočtů 3600 – 3000 cm^{-1} . Dochází k mírnému nárůstu intenzity absorpce, což by mohlo být způsobeno hydratací Ni^{2+} iontu. S rostoucí koncentrací dochází k poklesu absorpce a překrytí typického pásu o vlnočtu 2920 cm^{-1} , charakteristického pro HK. K největším změnám transmittance dochází v oblasti vlnočtů 1700 – 1200 cm^{-1} , kde zeslabuje absorpce ostrého píku o vlnočtu přibližně 1705 cm^{-1} , který odpovídá vibraci skupiny –C=O, která je součástí kyselých karboxylových skupin, což indikuje vazbu Ni^{2+} na tuto skupinu. Pokles absorpce naznačuje větší saturaci –COOH skupin Ni^{2+} ionty. Toto tvrzení je potvrzeno i v oblasti 1250 – 1200 cm^{-1} (oblast vibrací C-O vazeb karboxylových skupin). To, že se na vzniku komplexů podílí karboxylové skupiny, je možné vyzorovat i z nepatrné změny, která je patrná zejména u nejvyšší koncentrace, a to pokles absorpce širokého píku o vlnočtu 2540 cm^{-1} . Ten odpovídá absorpci –OH skupin v rámci –COOH, které jsou vázány prostřednictvím vodíkových můstků. Pokles absorpce okolo 1200 cm^{-1} je dáno účastí fenolických funkčních skupin na vzniku komplexu.

Na obrázku 15 je uvedeno srovnání pro různě koncentrované komplexy IHSS a Ni^{2+} . Trendy jsou většinou shodné jako v případě komplexů HK- Ni^{2+} . S tím rozdílem, že charakteristický pík o vlnočtu 2920 cm^{-1} je i pro nejvyšší koncentraci patrný. Stejně jako v předchozím případě

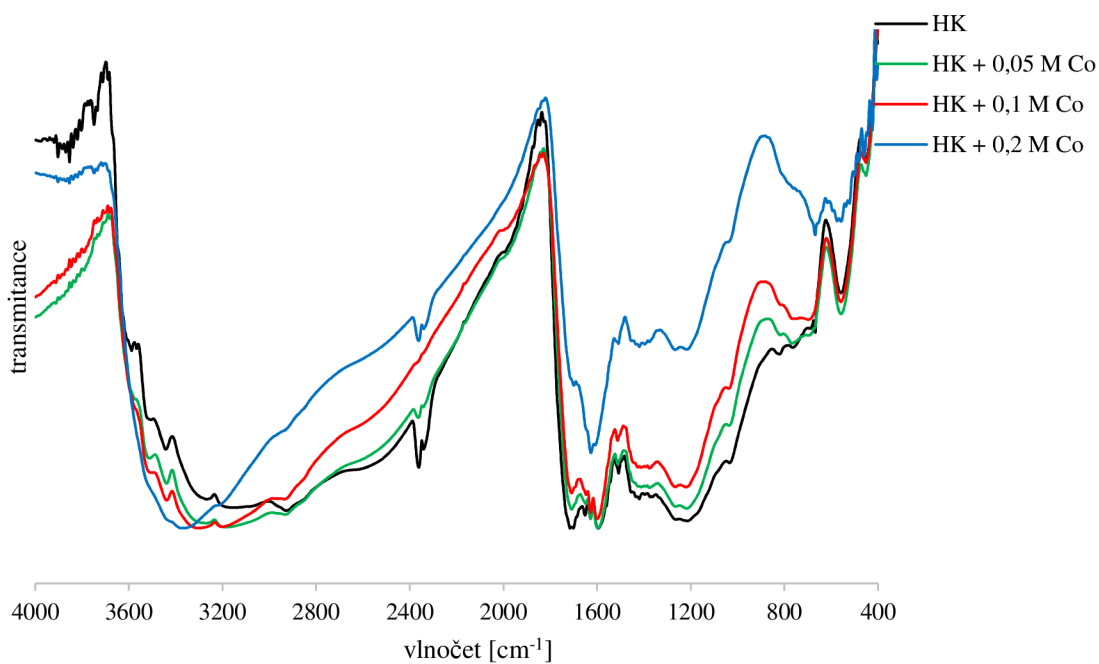
klesá absorpce s rostoucí koncentrací. U komplexů tvořených s IHSS je nárůst intenzity absorpce v rozmezí 3600 – 3200 cm^{-1} intenzivnější.



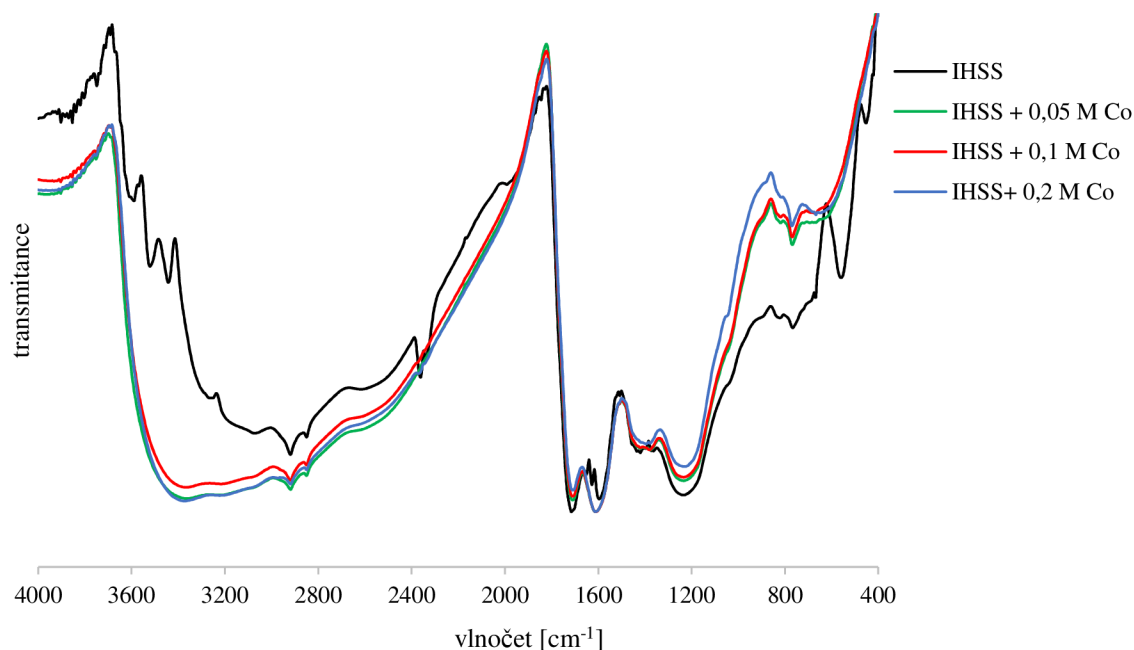
Obr. 15: Porovnání FT-IR spekter pro komplexy IHSS s Ni^{2+} o různé koncentraci

4.2.1.2 Vliv Co^{2+} iontů

Na obrázcích 16 a 17 jsou uvedena FT-IR spektra pro komplexy HK-Co případně IHSS-Co o různé koncentraci.



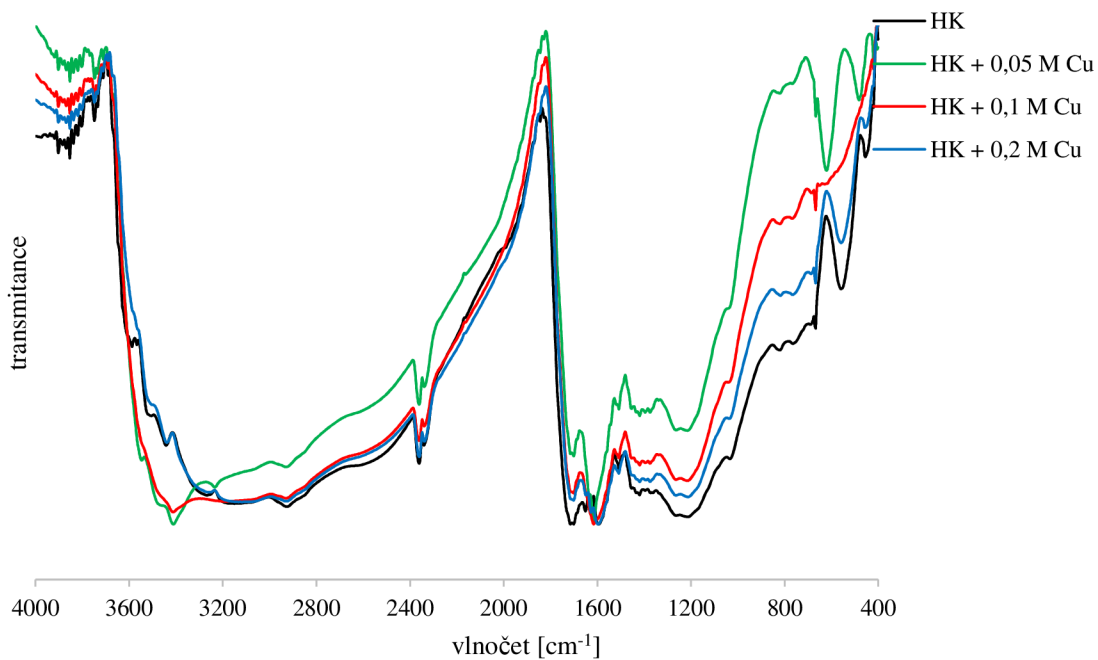
Obr. 16: Porovnání FT-IR spekter pro komplexy HK s Co^{2+} o různé koncentraci



Obr. 17: Porovnání FT-IR spekter pro komplexy IHSS s Co^{2+} o různé koncentraci

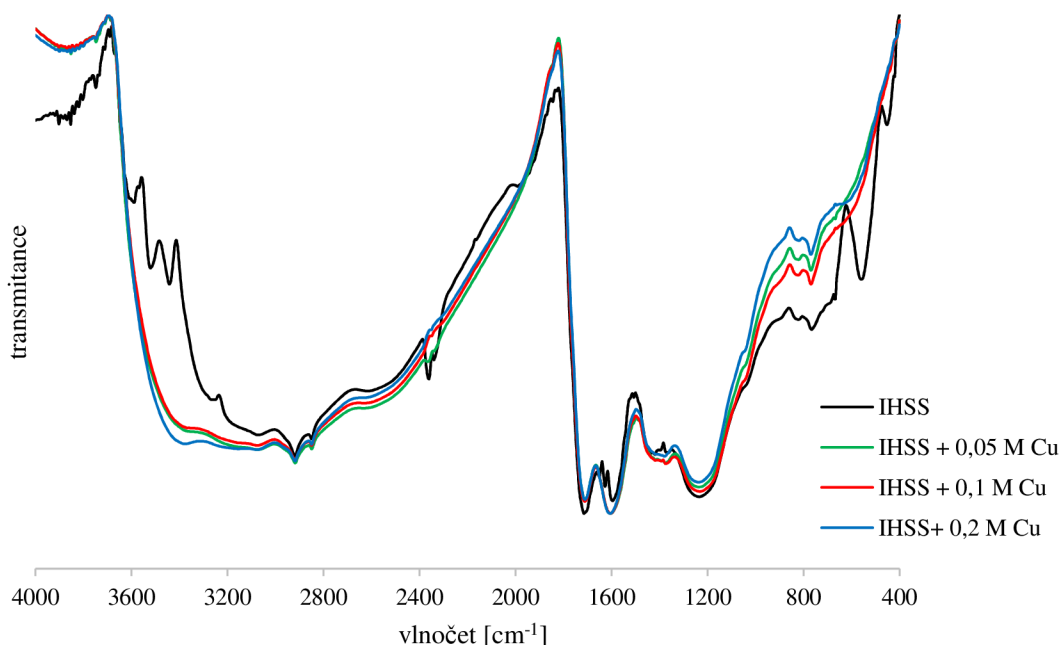
4.2.1.3 Vliv Cu^{2+} iontů

Na obrázcích 18 a 19 jsou uvedena FT-IR spektra pro komplexy HK-Cu a komplexy IHSS-Cu o různé koncentraci.



Obr. 18: Porovnání FT-IR spekter pro komplexy HK s Cu^{2+} o různé koncentraci

Spektra komplexů mědi se odlišují od spekter komplexů kobaltu a niklu, v oblasti širokého absorpčního pásu –OH skupin nedochází k tak výraznému nárůstu intenzity absorpce, jako v předchozích případech. Veškeré významnější změny, ve srovnání s přírodní HK, probíhají v transmisních spektrech měďnatých komplexů až v oblasti vibrací –COOH skupin, okolo hodnoty vlnočtu 1701 cm^{-1} .

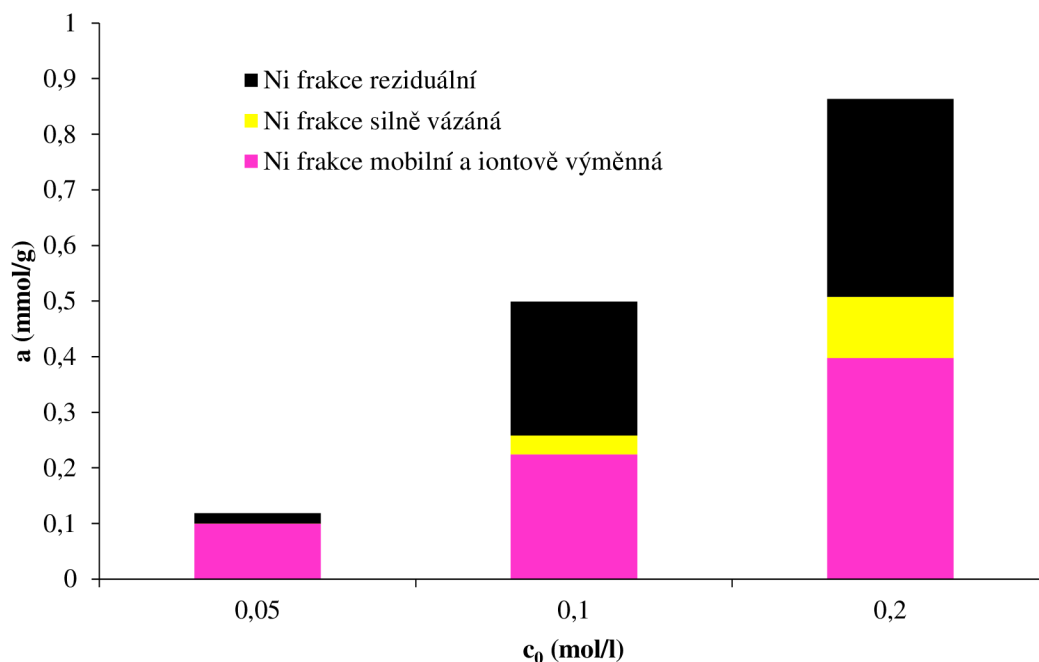


Obr. 19: Porovnání FT-IR spekter pro komplexy IHSS s Cu^{2+} o různé koncentraci

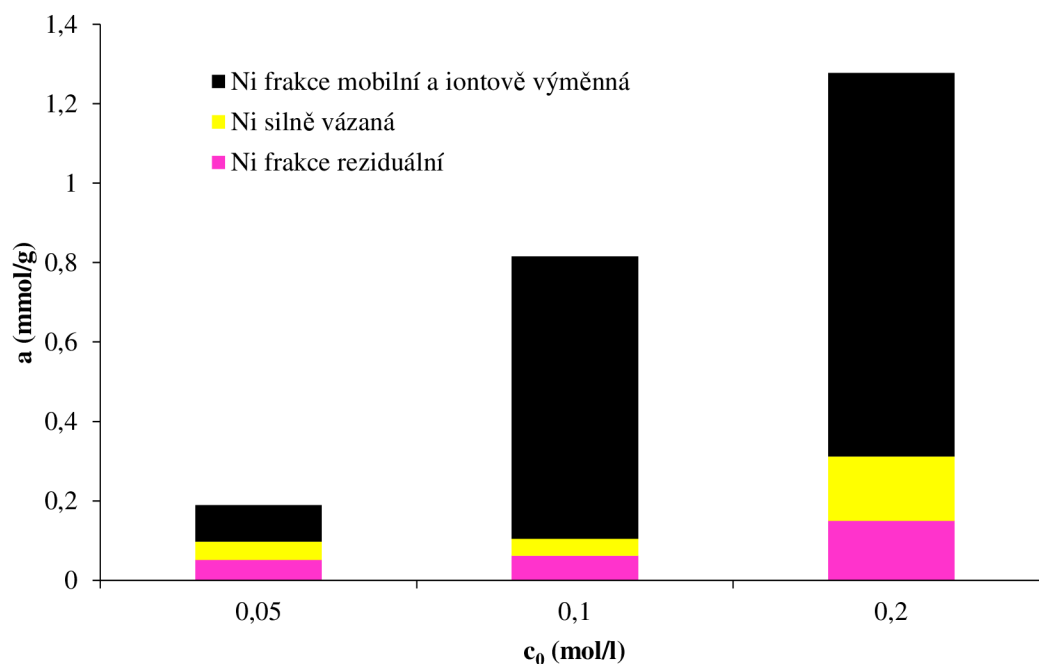
4.3 Chemická stabilita připravených komplexů

Adsorbované množství kovu bylo porovnáno s množstvím vyloučeného kovu ze struktury HK po vytřepání s extrakčním činidlem. Jako extrakční činidla byly použity roztoky 1 M HCl a 1 M MgCl_2 . Frakce extrahovaná 1M MgCl_2 je frakcí mobilní a iontově výměnnou. Extrakce 1M HCl navíc extrahovala frakci pevně vázanou. Zůstatek je pak frakce reziduální.

Sorbovaná množství příslušných kovů byla porovnána s extrahovaným množstvím každého kovu po extrakci MgCl_2 a HCl získaných měřením pomocí metody UV-VIS.



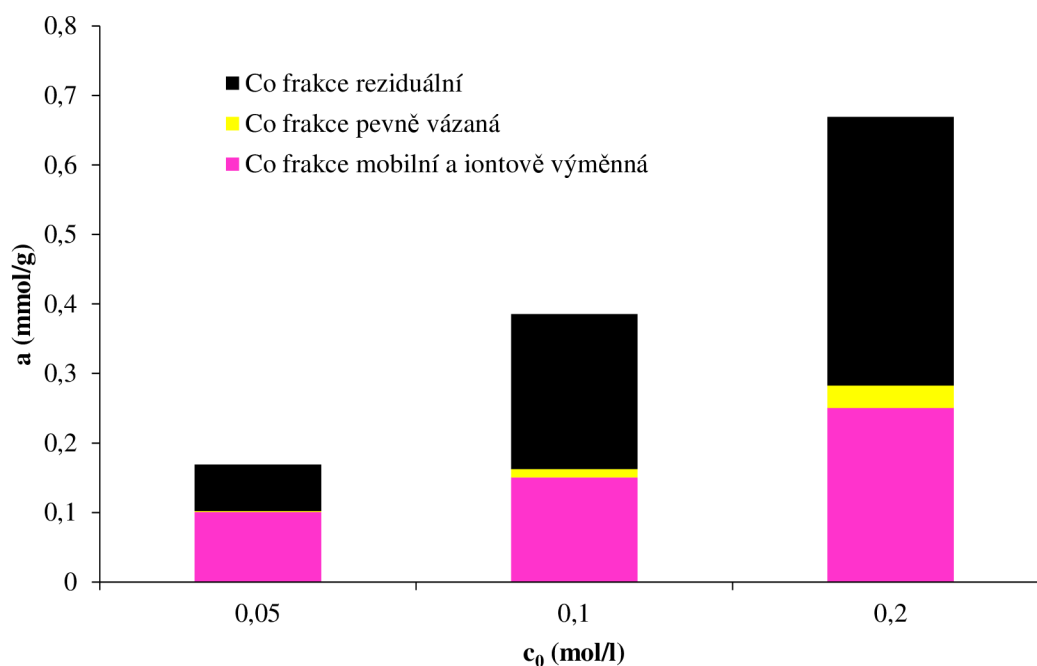
Obr. 20: Jednotlivé frakce po extrakci komplexů HK-Ni²⁺ pro jednotlivé koncentrace



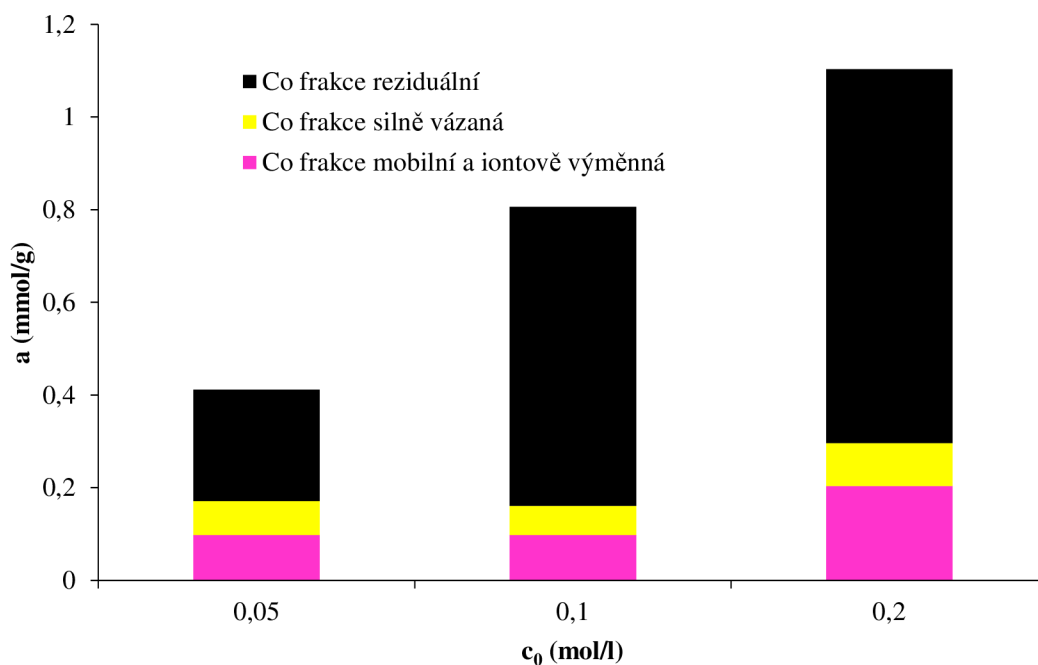
Obr. 21: Jednotlivé frakce po extrakci komplexů IHSS-Ni²⁺ pro jednotlivé koncentrace

Na obrázcích 20 a 21 jsou zobrazena množství jednotlivých frakcí pro komplexy niklu s přírodní HK a standardem. Závislost extrahovaného množství na počáteční koncentraci kovového iontu je zřejmá. S rostoucí koncentrací roste i extrahované množství, a to v případě HK i IHSS. Největší podíl u IHSS zastává frakce reziduální, kromě nejnižší koncentrace, kdy jsou ostatní frakce s frakcí reziduální v rovnováze. U komplexů s HK je však trend opačný, extrahované množství zastoupené ve frakci mobilní a iontově výměnné a frakci silně vázané je s frakcí reziduální zcela srovnatelné, v případě nejnižší koncentrace dokonce vyšší.

Extrahované množství niklu ve frakci mobilní a iontově výměnné je vyšší pro komplexy s přírodní HK, a to několikanásobně. Frakce silně vázaná, extrahovaná HCl, obsahuje nižší množství kovových iontů pro komplexy s HK.



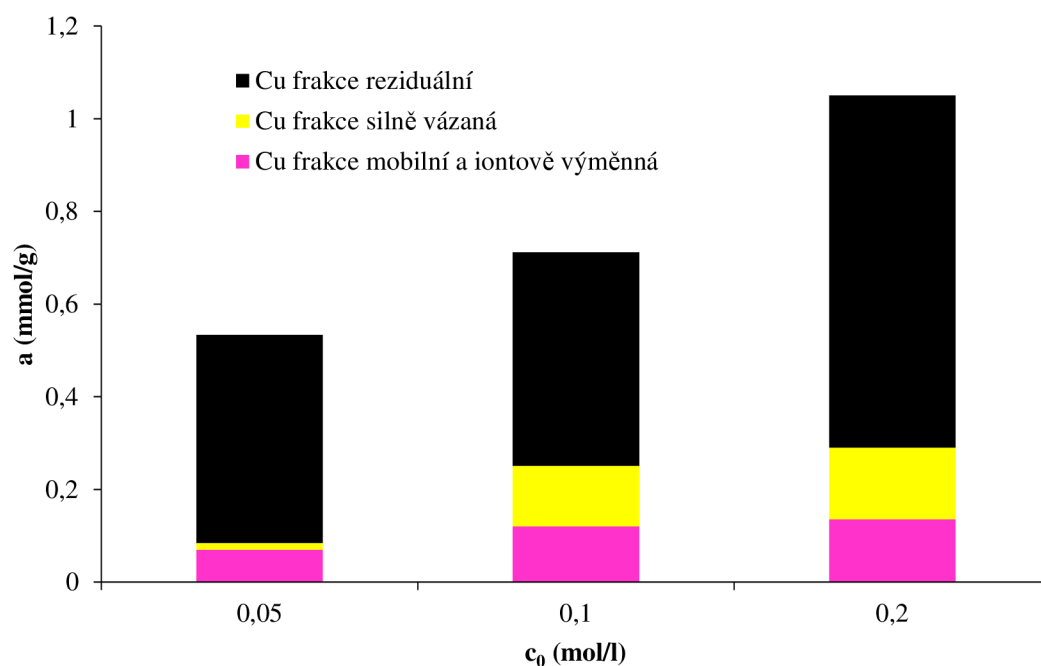
Obr. 22: Jednotlivé frakce po extrakci komplexů HK-Co²⁺ pro jednotlivé koncentrace



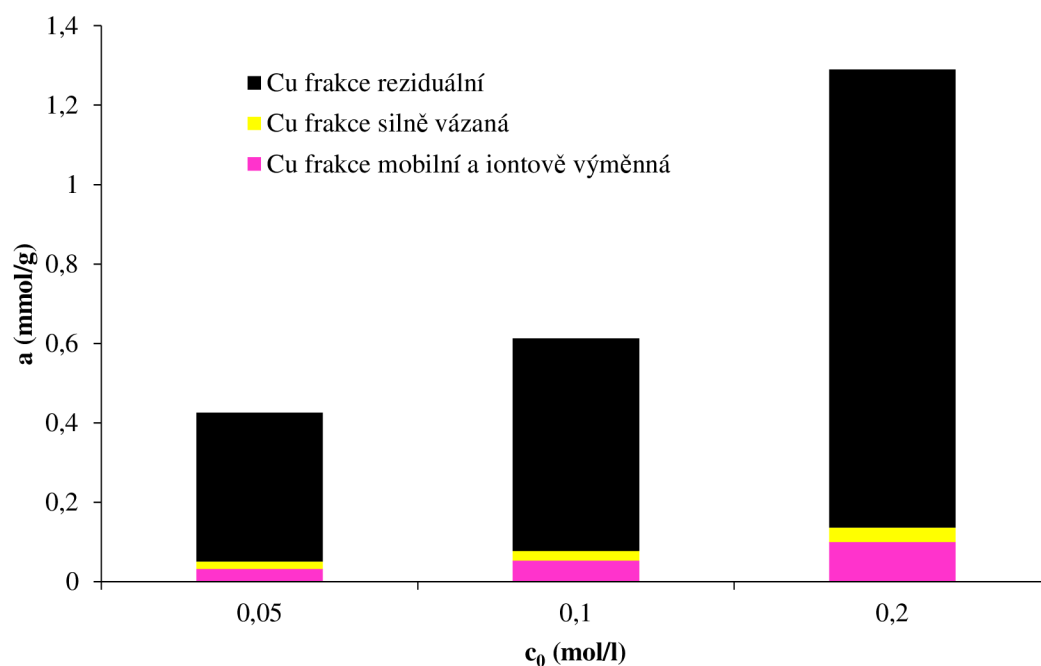
Obr. 23: Jednotlivé frakce po extrakci komplexů IHSS-Co²⁺ pro jednotlivé koncentrace

Na obrázcích 22 a 23 jsou zobrazeny sloupcové grafy porovnávající množství jednotlivých frakcí pro komplexy kobaltu s přírodní HK a standardem. Závislost extrahovaného množství

na počáteční koncentraci kovového iontu je zřejmá stejně jako u komplexů niklu. S rostoucí koncentrací roste v případě HK i extrahované množství. U IHSS jsou extrahovaná množství podobná, narůst je patrný až pro nejvyšší koncentraci. Největší podíl u IHSS zastává bez ohledu na koncentraci frakce reziduální, to platí i u přírodní HK kromě počáteční koncentrace 0,05 M, kdy je reziduální frakce nižší než součet frakce mobilní, iontově výměnné a silně vázané. Extrahované množství kobaltu ve frakci mobilní a iontově výměnné je vyšší pro komplexy s přírodní HK, a to výrazně. Naopak silně vázaná frakce komplexů IHSS obsahuje vyšší množství kovových iontů, což je shodné i pro komplexy niklu.



Obr. 24: Jednotlivé frakce po extrakci komplexů HK-Cu²⁺ pro jednotlivé koncentrace



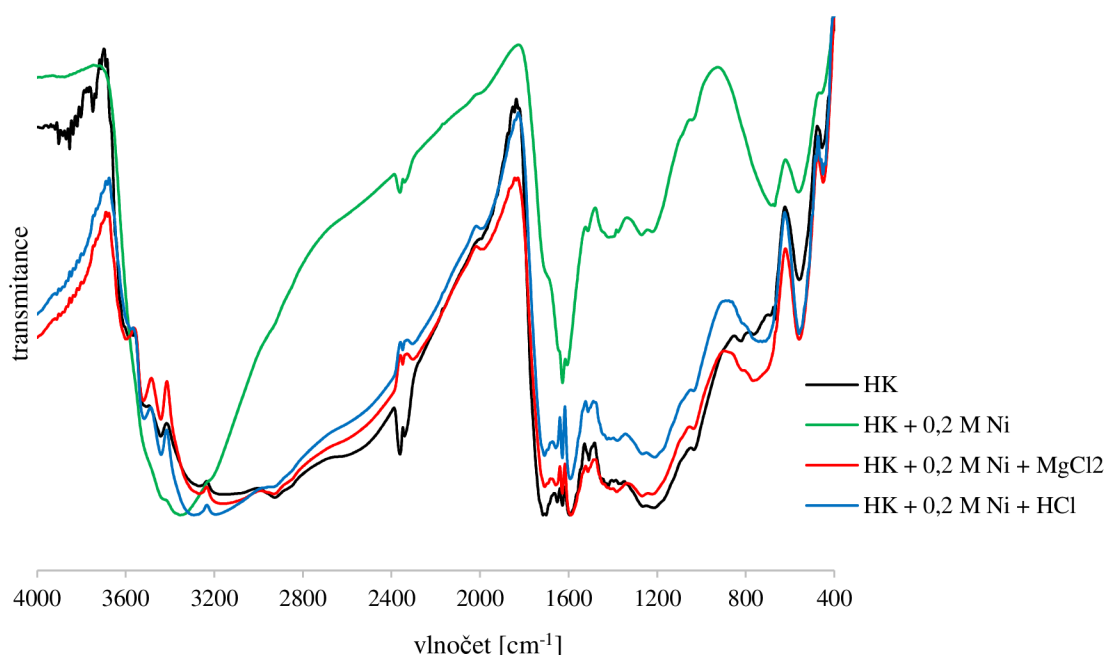
Obr. 25: Jednotlivé frakce po extrakci komplexů IHSS-Cu²⁺ pro jednotlivé koncentrace

Na obrázcích 24 a 25 jsou zobrazeny sloupcové grafy porovnávající množství jednotlivých frakcí pro komplexy mědi s přírodní HK a standardem. Závislost extrahovaného množství na počáteční koncentraci kovového iontu je zřejmá stejně jako u předešlých komplexů niklu a kobaltu. S rostoucí koncentrací roste v případě komplexů HK a IHSS i extrahované množství měďnatých iontů. Na rozdíl od předešlých komplexů niklu a kobaltu je měďnatých komplexů zajímavé, že pro komplexy HK o koncentraci 0,1 M a 0,2 M obsahuje silně vázaná frakce vyšší množství kovových iontů než frakce mobilní a iontově výměnná. Na rozdíl od Ni^{2+} a Co^{2+} reziduální frakce v případě komplexů jak HK, tak IHSS bez výjimky převyšuje frakce zbylé. Extrahované množství mědi ve frakci mobilní a iontově výměnné je vyšší pro komplexy s přírodní HK, stejně jako u předešlých kovů.

Po srovnání jednotlivých kovových iontů mezi sebou je zřejmé, že extrakční činidlo MgCl_2 má nejvyšší schopnost extrahovat kobaltnaté ionty v případě IHSS a nikelnaté ionty v případě přírodní HK. Jak již bylo řečeno, chování mědi je odlišné, zatímco vůči extrakci MgCl_2 je poměrně rezistentní, tak HCl extrahuje nejvyšší množství právě měďnatých iontů pro HK. Pro standard přísluší nejvyšší množství extrahovaných iontů v silně vázané frakci nikelnatým iontům. HCl je silnější extrakční činidlo než MgCl_2 .

4.3.1 FT-IR spektra komplexů kovů s huminovými kyselinami po extrakci

Připravené komplexy byly znovu proměřeny pomocí FT-IR spektrometrie. Účelem bylo posouzení vlivu extrakčních činidel na příslušné komplexy kovů s huminovými kyselinami a porovnání změny oproti původnímu spektru komplexu.

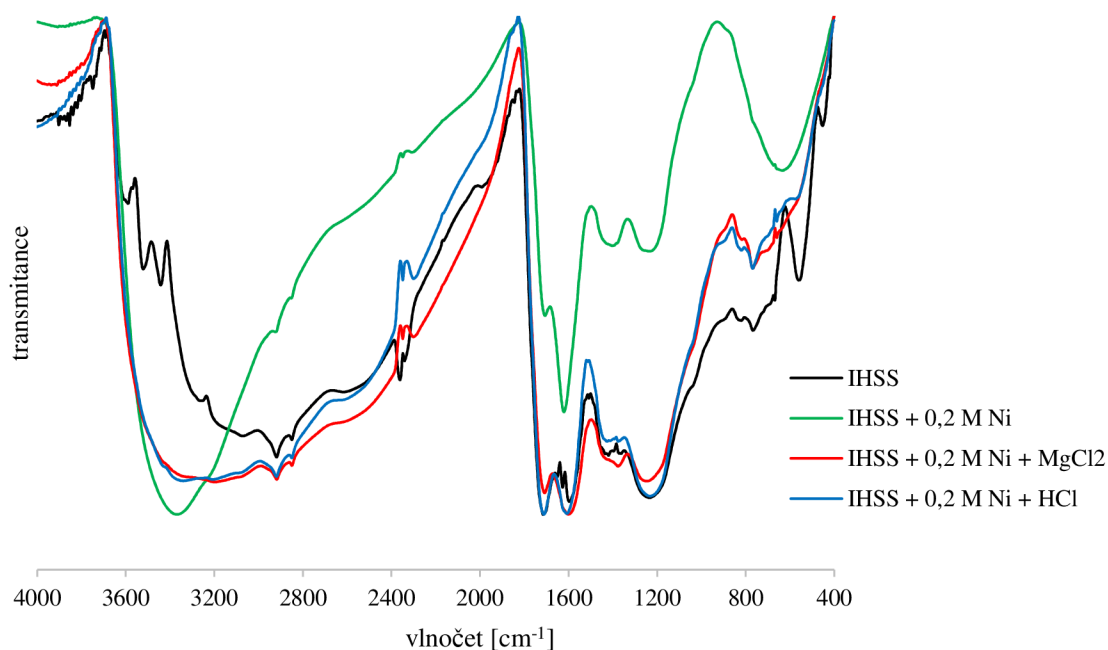


Obr. 26: Porovnání FT-IR spekter po extrakci pro komplex HK s Ni^{2+} o koncentraci 0,2 M

Na obrázcích 26 a 27 jsou vyobrazena FT-IR spektra původních huminových kyselin, komplexu HK-Ni^{2+} a IHSS-Ni^{2+} a spektra tohoto komplexu po extrakci oběma extrakčními činidly. Široký pík v rozmezí vlnočtů $3600 - 2900 \text{ cm}^{-1}$ odpovídá absorpci valenčních vibrací skupin $-\text{OH}$ vázaných vodíkovými můstky, po vytvoření komplexu došlo k mírnému nárůstu

absorpce a jeho zúžení, po extrakci dochází k jeho rozšíření, avšak intenzita absorpce je stále vyšší než pro samotnou HK. Volným -OH^- skupinám náležící pík okolo 3560 cm^{-1} je znovu patrný. Volným aminoskupinám přísluší píky v rozmezí $3520 - 3440\text{ cm}^{-1}$, které po extrakci nabývají na intenzitě, a roste intenzita absorpce. Absorpční pásy v rozmezí $2900 - 2800\text{ cm}^{-1}$, které jsou charakteristické pro HK, začínají být po extrakci znovu patrné. Pík v poloze 1701 cm^{-1} poukazující na vibraci vazby C=O přítomné v karboxylových skupinách, alifatických aldehydech a ketonech nabývá extrakcí na intenzitě, ale původní intenzity absorpce nedosahuje. Tento děj značí uvolnění kovových iontů ze struktury HK. Pro vlnočty $1223 - 1225\text{ cm}^{-1}$ je charakteristický výrazný pás odpovídající absorpci fenolické funkční skupiny, jehož pokles intenzity se vznikem komplexu byl markantní, po extrakci na intenzitě absorpce znovu nabývá, což signalizuje extrakci kovových iontů vázaných přes fenolické funkční skupiny.

Pro komplexy vytvořené s IHSS platí stejné trendy v oblasti absorpce karboxylových a fenolických funkčních skupin. Pík o vlnočtu 3600 příslušící volným -OH skupinám zůstává i po extrakci nadále překryt širokým pásem, který odpovídá vázaným -OH skupinám. Na intenzitě nabírají píky charakteristické pro alifatické skupiny HK. Pro ostatní kovy a koncentrace jsou trendy podobné, pro nižší koncentrace samozřejmě rozdíly nejsou tak patrné. Obrázky pro komplexy kobaltu a mědi budou prezentovány v příloze 1.



Obr. 27: Porovnání FT-IR spekter po extrakci pro komplex IHSS s Ni^{2+} o koncentraci

4.4 Termická stabilita

Jedním z hlavních cílů práce bylo zkoumání vlivu jednotlivých kovů na termickou stabilitu HK a IHSS pomocí metod TGA a DSC. Zkoumána byla i změna křivek po extrakci jednotlivými extrakčními činidly.

4.4.1 Termická stabilita připravených komplexů

Tab. 5: Tepla uvolněná během degradace vzorků samotné HK a IHSS

Vzorek	Tepla uvolněná během termooxidační degradace [$\text{kJ}\cdot\text{g}^{-1}$]
HK	13,439
IHSS	13,043

V tabulce 5 jsou uvedena tepla uvolněná během degradace samotné HK a standardu IHSS. Hodnota pro HK je o něco vyšší, což je potvrzeno i v tabulce 5, kde je patrné, že tepla uvolněná po sorpci kovů a vzniku komplexů jsou povětšinou vyšší pro komplexy HK než komplexy IHSS.

Tab. 6: Tepla naměřená metodou DSC uvolněná během degradace připravených komplexů a při degradaci po jejich extrakci

Tepla uvolněná během termooxidační degradace [$\text{kJ}\cdot\text{g}^{-1}$]	
Vzorek	po sorpci
HK + 0,05 M Ni	15,463
HK + 0,1 M Ni	14,217
HK + 0,2 M Ni	13,292
HK + 0,05 M Co	15,013
HK + 0,1 M Co	15,071
HK + 0,2 M Co	15,148
HK + 0,05 M Cu	15,090
HK + 0,1 M Cu	14,944
HK + 0,2 M Cu	14,801
IHSS + 0,05 M Ni	11,843
IHSS + 0,1 M Ni	11,519
IHSS + 0,2 M Ni	11,213
IHSS + 0,05 M Co	12,963
IHSS + 0,1 M Co	14,631
IHSS + 0,2 M Co	13,667
IHSS + 0,05 M Cu	14,191
IHSS + 0,1 M Cu	13,658
IHSS + 0,2 M Cu	12,508

V tabulce 6 jsou uvedena tepla uvolněná během termooxidační degradace měřené pomocí DSC, a to pro komplexy kovů. V případě nikelnatých a měďnatých komplexů jak s HK, tak IHSS uvolněná tepla klesají se zvyšující se koncentrací. Tepla uvolněná během termooxidační

degradace jsou vyšší pro komplexy HK-kov než pro IHSS-kov. V případě komplexů s HK jsou uvolněná tepla vyšší než pro přírodní HK, kromě tepla uvolněného pro připravený komplex HK-Ni²⁺ o koncentraci 0,2 M. V případě komplexů IHSS-Ni²⁺ jsou uvolněná tepla nižší než u IHSS samotné. U komplexů připravených s měďnatými a kobaltnatými ionty hodnoty kolísají.

Tabulky 7, 8 a 9 shrnují vlastnosti samotných HK. Hodnoty byly získány pro jednotlivé vzorky pomocí metody TGA. V tabulkách je uveden celkový úbytek hmotnosti, obsah popela a teplota píku, při které byla rychlost degradace nejvyšší.

Tab. 7: Vlastnosti samotné HK a standartu IHSS dle TGA

Vzorek	celkový hmotnostní úbytek [hm. %]	celkový obsah popela [hm. %]	teplota [°C]
HK	97,75	2,25	473,6
IHSS	97,17	2,83	452,9

Hodnoty pro HK a IHSS se významně neliší, pouze teplota, kdy degradace dosáhla maxima je pro HK vyšší.

Tab. 7: Vlastnosti jednotlivých komplexů HK získaných prostřednictvím techniky TGA

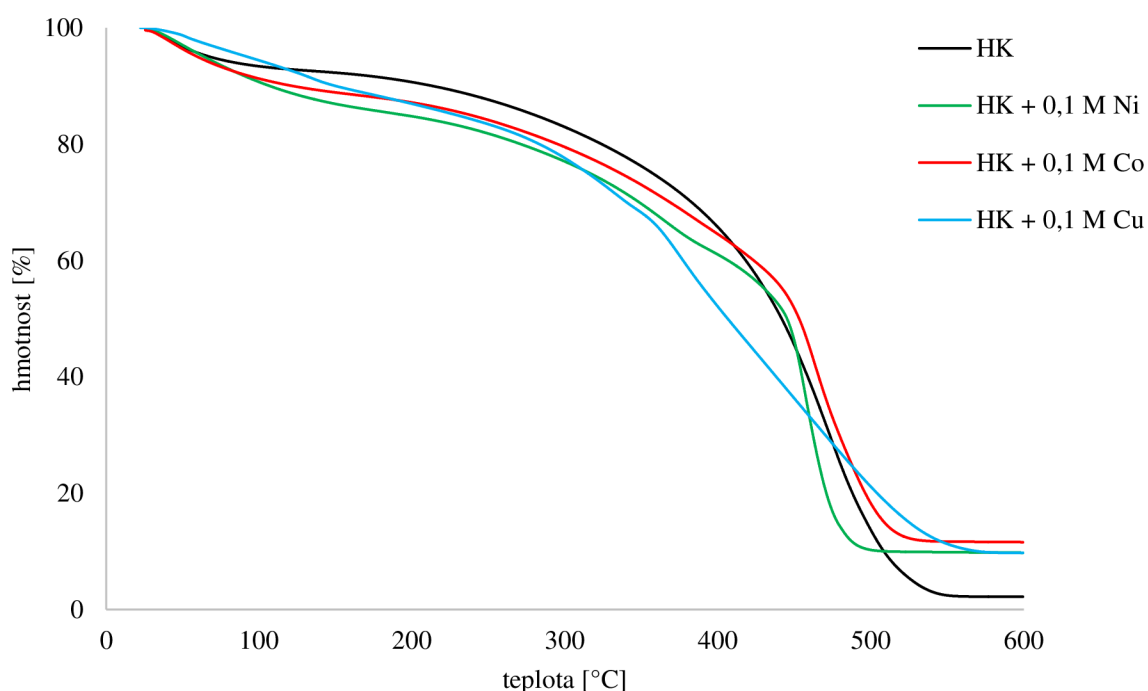
Vzorek	celkový úbytek hmotnosti [hm. %]	obsah popela [hm. %]	teplota [°C]
HK + 0,05 M Ni	92,6	7,4	452,02
HK + 0,1 M Ni	81,45	18,55	468,37
HK + 0,2 M Ni	89,83	10,17	472,02
HK + 0,05 M Co	92,84	7,16	468,73
HK + 0,1 M Co	89,2	10,8	467,43
HK + 0,2 M Co	85,16	14,84	497,57
HK + 0,05 M Cu	94,31	5,69	409,82
HK + 0,1 M Cu	92,41	7,59	425,65
HK + 0,2 M Cu	93,45	6,55	458,57

Tab. 8: Vlastnosti komplexů IHSS s kovy získaných prostřednictvím techniky TGA

Vzorek	celkový úbytek hmotnosti [hm. %]	obsah popela [hm. %]	teplota [°C]
IHSS + 0,05 M Ni	96,86	3,14	435,56
IHSS + 0,1 M Ni	94,53	5,47	443,56
IHSS + 0,2 M Ni	91,06	9,94	466,84
IHSS + 0,05 M Co	95,33	4,67	459,57
IHSS + 0,1 M Co	95,22	4,78	454,2
IHSS + 0,2 M Co	94,74	5,26	456,8
IHSS + 0,05 M Cu	97,05	2,95	390,22

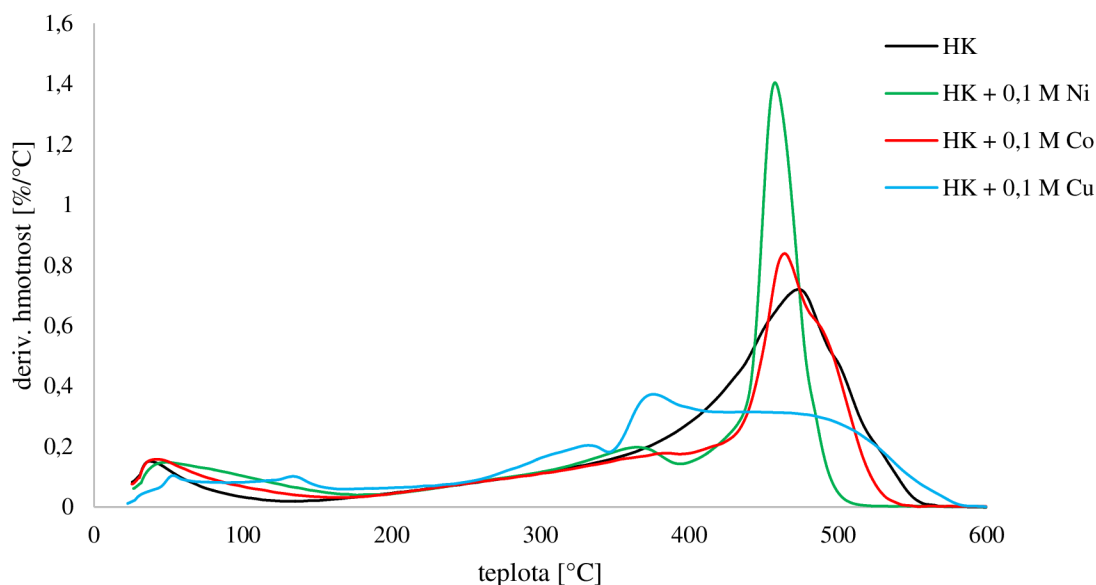
IHSS + 0,1 M Cu	94,85	5,15	388,47
IHSS + 0,2 M Cu	92,07	7,93	394,11

Na základě porovnání hodnot uvedených v tabulkách 8 a 9 lze konstatovat, že celkový obsah popela je výrazně nižší pro komplexy IHSS a je pro ně tedy charakteristický vyšší hmotnostní úbytek. Nejvyšší obsah popela vykazují pro HK komplexy s nikelnatými ionty. Pro IHSS mají nejvyšší obsah popela komplexy niklu a mědi o nejvyšších koncentracích. Pro IHSS přibývá podílu popela se vzrůstající koncentrací, což však neplatí pro komplexy s přírodní HK. Vzrůstající podíly popela signalizují přítomnost stabilnějších anorganických složek, čím víc popela, tím větší množství kovového iontu, což poukazuje na ochotu tvorby komplexů. U komplexů IHSS bez výjimky roste se zvyšující se koncentrací. Teploty, kdy byl signál maximální, byly o poznání vyšší pro komplexy přírodní HK.



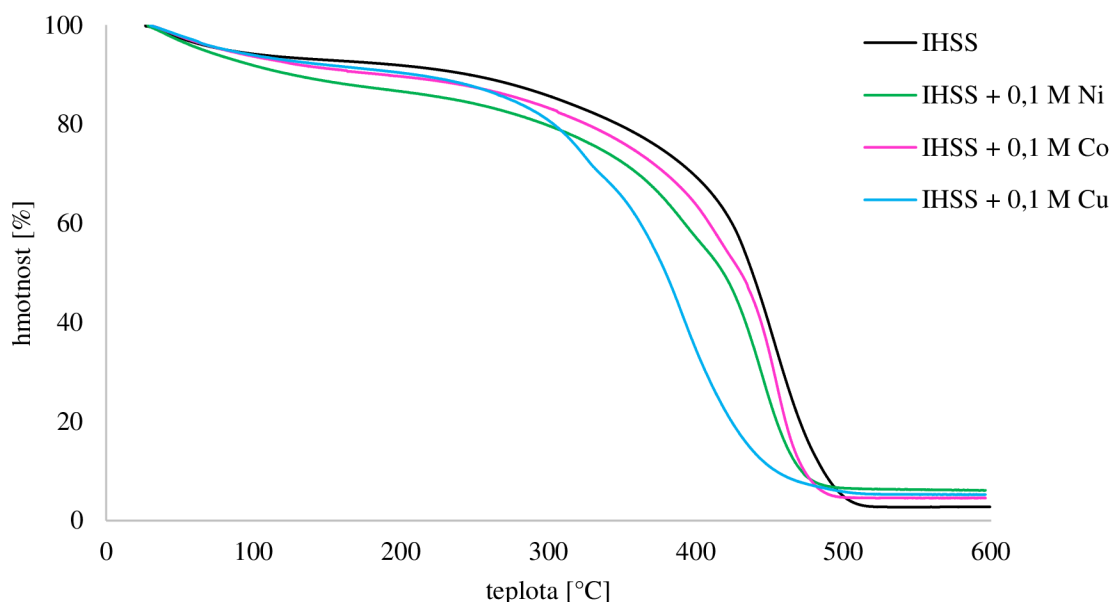
Obr. 28: Srovnání TGA křivek HK a jednotlivých komplexů HK-kov o $c_0 = 0,1 M$

Na obrázku 28 můžeme pozorovat termogravimetrické degradační křivky jednak přírodní HK a pak jejich připravených kovových komplexů o koncentraci $c_0 = 0,1 M$. Potvrzuje se, že komplexy mají vyšší obsah popela než přírodní HK, neboť obsahují stabilnější anorganické složky. Na první pohled je zřejmý poněkud odlišný průběh křivky měďnatého komplexu. Křivka má složitější průběh, k rozkladu organického materiálu začíná docházet při teplotě okolo 320 °C a pokračuje až do 550 °C. U kobaltu zůstává nejvyšší podíl anorganických zbytků. Rozklad organických složek u niklu končí okolo 500 °C.



Obr. 29: Srovnání DTG křivek HK a jednotlivých komplexů HK-kov o $c_0 = 0,1 M$

Obrázek 29 zobrazuje derivační termogravimetrické křivky HK a jejích komplexů, které mají význam rychlosti úbytku hmotnosti s lineárně se zvyšující teplotou, kde počátek prvního píku signalizuje začátek degradace. Při nejnižší teplotě degraduje komplex mědi, tím pádem lze usuzovat, že tento komplex má nejnižší termooxidační stabilitu. Následuje komplex niklu, kobaltu a nakonec samotná HK.



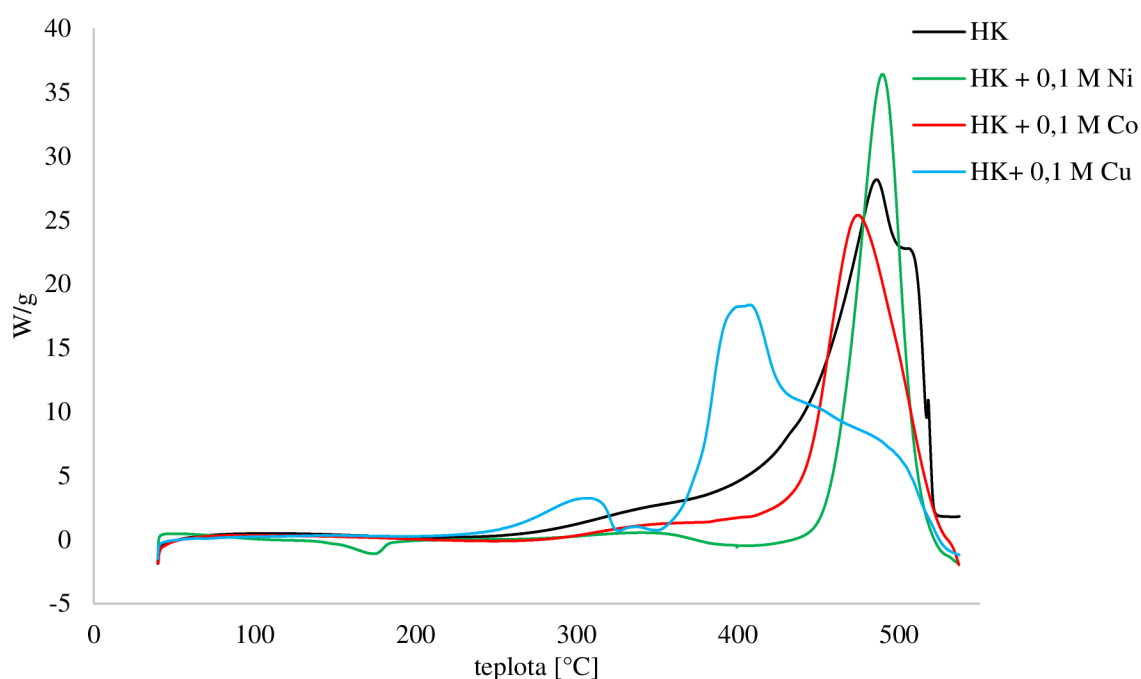
Obr. 30: Srovnání TGA křivek IHSS a jednotlivých komplexů IHSS-kov o $c_0 = 0,1 M$

Na obrázku 30 můžeme pozorovat termogravimetrické degradační křivky standartu IHSS a připravených kovových komplexů o koncentraci $c_0 = 0,1 M$. Docházíme k podobným závěrům jako v předchozím případě, s tím rozdílem, že nejvyšší podíl anorganických zbytků má v tomto

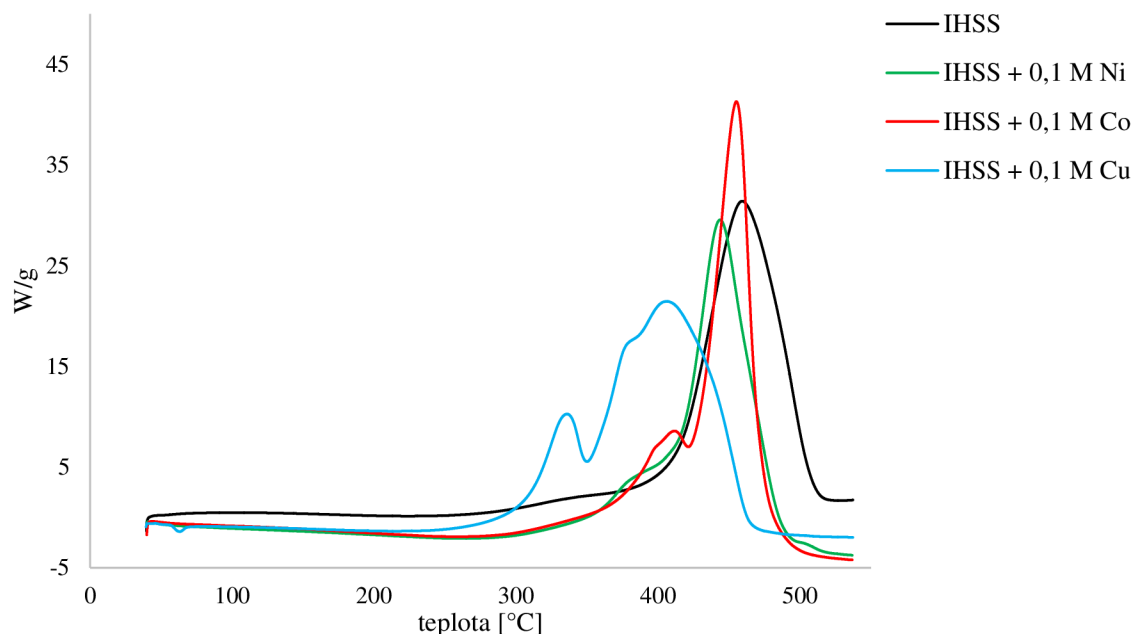
případ komplex nikelnatý. Degradace organických složek komplexů IHSS-kov končí při nižší teplotě než degradace samotné IHSS.

Ani jeden komplex HK-kov nebo IHSS-kov neprokázal vyšší termooxidační stabilitu než má přírodní HK a IHSS. Nižší termo-oxidační stabilita všech kovových komplexů může být vysvětlena přeskupením strukturních komponent v důsledku přidavku kovového iontu. Vazby vodíkovými můstky jsou pravděpodobně narušeny nebo zeslabeny díky těžkému kovu ve struktuře HK a dochází k oxidaci snadněji. Přítomnost kovových iontů v organické molekule vede k tvorbě reaktivních volných radikálů, které urychlují proces rozkladu HK.

Na obrázku 31 jsou uvedeny kalorimetrické křivky, které ukazují na entalpické změny probíhající v komplexech HK, ke kterým docházelo během lineárního nárůstu teploty. Křivky niklu a kobaltu mají shodný výrazný exotermický pík. Jak tomu bylo již při analýze TGA, křivka měďnatého komplexu se od zbylých výrazně liší a má několik exotermických píků. Píky popisují procesy degradace jednotlivých komplexů i samotné HK a poukazují na rozdíly mezi jednotlivými komplexy. Je zajímavé, že zatímco komplex HK-Cu se rozkládá daleko dříve než samotná HK, naopak komplexy HK-Co a HK-Ni se ve stabilitě od HK významně neliší.



Obr 31: Porovnání DSC křivek pro přírodní HK a její komplexy o $c_0 = 0,1 M$



Obr. 32: Porovnání DSC křivek pro IHSS a komplexy o $c_0 = 0,1 M$

Na obrázku 32 sledujeme vývoj degradace IHSS a kovových komplexů s IHSS vytvořených. Samotný IHSS se opět jeví jako nejstabilnější. Stejně jako tomu bylo v předešlém případě, se průběhem liší především kalorimetrická křivka měďnatého komplexu, která má složitější průběh a má dva výrazné exotermické píky. Odlišuje se i DSC křivka kobaltu, která má rovněž dva exotermické píky. V tomto případě exotermické procesy všech komplexů začínají při nižších teplotách než u HK.

4.4.1.1 Vliv kovových iontů na stabilitu HK a IHSS

Pro komplexy HK-Ni²⁺ vzrůstá teplota rozkladu s koncentrací a je nižší než teplota rozkladu izolované HK. Obsah popela je pro všechny koncentrace vyšší než obsah popela HK. Vliv nikelnatých iontů na termooxidační stabilitu HK není výrazný. Rozklad ve dvou krocích je patrný z DTG křivek, výška prvního píku roste se zvyšující se koncentrací stejně jako teplota rozkladu, která s koncentrací vzrůstá. Teplota je pro koncentrace 0,05 M a 0,1 M nižší než pro IHSS, ale pro koncentraci 0,2 M vyšší. Obsah popela je v porovnání s IHSS vyšší.

Srovnání TGA dat komplexů HK-Co o různých počátečních koncentracích je následující. Obsah popela roste s koncentrací. Teplota rozkladu je výrazně vyšší pro nejvyšší koncentraci, pro koncentrace 0,05 M a 0,1 M se liší minimálně. Ve srovnání s HK se komplexy o koncentraci 0,05 M a 0,1 M rozkládají při nižších teplotách, komplex o nejvyšší koncentraci má vyšší teplotu rozkladu než samotná HK. Data neprokázala zásadní rozdíl mezi začátky degradace HK a komplexů HK-Co. Z průběhu derivačních vyplynulo, že docházelo k dvoustupňové degradaci, kdy s rostoucí koncentrací klesala výška prvního píku. U druhého píku se tento trend nepotvrdil. U komplexů IHSS-Co množství popela rovněž vzrůstalo s koncentrací, teplota rozkladu těchto komplexů je nepatrně vyšší než teplota rozkladu IHSS, což by znamenalo nepatrný vliv iontů Co²⁺ na termooxidační stabilitu IHSS, mezi teplotami píků však nejsou patrné zásadní rozdíly. U IHSS je zřejmý pozdější počátek degradace než pro komplexy IHSS-Co. Dvou kroková degradace je patrná i v tomto případě. Výška prvního píku opět klesala s koncentrací. Komplexy IHSS-Co i HK-Co obsahují vyšší procentuální zastoupení popela než HK a IHSS.

HK ani IHSS nevykazují od teploty okolo 550 °C žádné změny u měďnatých komplexů to konstatovat jednoznačně nelze. Průběh křivek je komplikovaný. Maximální teplota píku roste

v případě komplexů HK-Cu s koncentrací. Obsah popela je pro komplexy ve srovnání s HK vyšší, avšak neplatí čím vyšší koncentrace, tím vyšší obsah popela. Počátek degradace nastává při prokazatelně nižších teplotách než pro samotnou HK. Tvary křivek se liší, což je pravděpodobně způsobeno vazbou Cu^{2+} iontů na několik různých vazebných míst. Měď ovlivňuje různé funkční skupiny ve struktuře HK, což pravděpodobně souvisí se vzrůstající koncentrací měďnatých iontů. Přítomnost měďnatých iontů vede k degradaci ve více krocích. Degradace není plynulá jako v případě Co^{2+} a Ni^{2+} . Pro komplexy IHSS-Cu platí opět nárůst obsahu popela s koncentrací. Teploty rozkladu jsou o poznání nižší než teplota rozkladu IHSS, navzájem se mezi sebou příliš neliší.

4.4.2 Termická stabilita připravených komplexů po extrakci 1M HCl a 1M MgCl_2

Vliv extrakčních činidel na připravené komplexy byl zkoumán pomocí termických metod a byly porovnány získané výsledky. V následující tabulce 10 jsou uvedena data získaná metodou DSC po extrakci. Pro HK jsou uvedena data po extrakci HCl případně MgCl_2 . Kdy tepla uvolněná při rozkladu vzorků po extrakci MgCl_2 jsou výrazně vyšší než ta, která se uvolnila po extrakci HCl. Při degradaci vzorků po extrakci HCl většinou dochází k poklesu uvolněného tepla oproti původním hodnotám uvedených v tabulce 6. Nutno podotknout, že hodnoty pro nejvyšší koncentrace po extrakci MgCl_2 viditelně stoupají oproti hodnotám pro koncentrace 0,05 M a 0,1 M. Naměřená tepla uvolněná po extrakci komplexů s IHSS chybí kvůli dlouhodobé poruše přístroje. Vzorky byly uchovány pro pozdější doměření.

Tab. 10: Tepla uvolněná během degradace komplexů HK-kov po extrakci HCl resp. MgCl_2

Tepla uvolněná během termooxidační degradace [$\text{kJ}\cdot\text{g}^{-1}$]		
Vzorek	po extrakci HCl	po extrakci MgCl_2
HK + 0,05 M Ni	13,232	12,610
HK + 0,1 M Ni	11,556	13,962
HK + 0,2 M Ni	13,621	16,766
HK + 0,05 M Co	12,627	15,779
HK + 0,1 M Co	12,972	15,536
HK + 0,2 M Co	12,238	18,776
HK + 0,05 M Cu	11,292	19,904
HK + 0,1 M Cu	11,346	20,817
HK + 0,2 M Cu	13,864	25,577

Všechny DSC záznamy ukazují 2 a více píků. U nikelnatých a kobaltnatých komplexů pozorujeme dva exotermické píky, u mědi jsou průběhy křivek složitější. Exotermické píky poukazují na procesy degradace a jejich poloha ukazuje rozdíly mezi zkoumanými komplexy. Degradací procesy komplexu HK-Cu začínají na nejnižších teplotách. Rozklady všech komplexů začínají při nižší teplotě než samotné HK.

Tabulky 11 a 12 shrnují vlastnosti komplexů HK resp. IHSS po extrakci. Hodnoty byly získány pro jednotlivé vzorky pomocí metody TGA. V tabulkách je uveden celkový úbytek hmotnosti, obsah popela a teplota píku, při které byla rychlost degradace nejvyšší.

Tab. 11: Vlastnosti komplexů HK s kovy po extrakci příslušnými extrakčními činidly

Extrakce	celkový úbytek hmotnosti [hm. %]		obsah popela [hm. %]		teplota [°C]	
	HCl	MgCl ₂	HCl	MgCl ₂	HCl	MgCl ₂
Vzorek						
HK + 0,05 M Ni	97,31	96,22	2,69	3,78	438,11	458,35
HK + 0,1 M Ni	96,09	97,02	3,91	2,98	443,71	443,14
HK + 0,2 M Ni	91,41	96,33	8,59	3,67	443,68	450,26
HK + 0,05 M Co	98,88	95,87	1,12	4,13	456,84	466,61
HK + 0,1 M Co	97,76	95,91	2,24	4,09	480,14	468,76
HK + 0,2 M Co	95,16	96,59	4,84	3,41	454,74	461,01
HK + 0,05 M Cu	98,72	93,99	1,28	6,01	415,74	389,78
HK + 0,1 M Cu	95,72	93,78	4,28	6,22	370,34	378,06
HK + 0,2 M Cu	98,83	95,40	1,17	4,60	380,13	371,16

Tab. 12: Vlastnosti komplexů IHSS s kovy po extrakci příslušnými extrakčními činidly

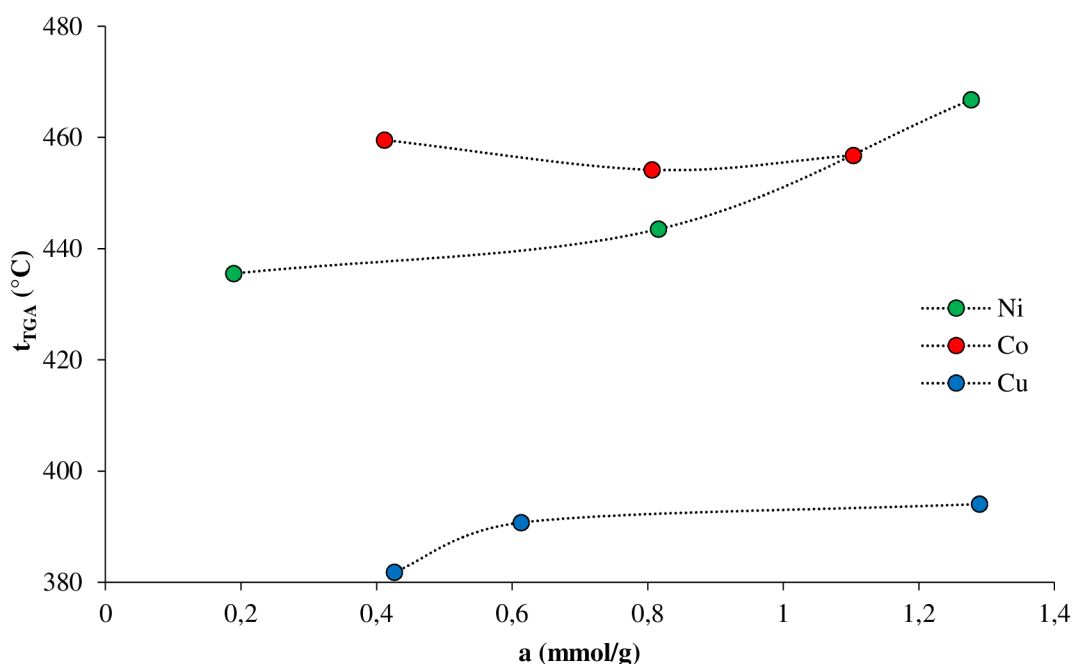
Extrakce	celkový úbytek hmotnosti [hm. %]		obsah popela [hm. %]		teplota [°C]	
	HCl	MgCl ₂	HCl	MgCl ₂	HCl	MgCl ₂
Vzorek						
IHSS + 0,05 M Ni	99,34	96,42	0,66	3,58	476,15	436,50
IHSS + 0,1 M Ni	98,36	96,57	1,64	3,43	480,09	425,74
IHSS + 0,2 M Ni	97,56	96,98	2,44	3,02	462,83	421,54
IHSS + 0,05 M Co	99,40	96,35	0,60	3,65	487,85	435,58
IHSS + 0,1 M Co	98,91	97,36	1,09	2,64	490,86	434,27
IHSS + 0,2 M Co	98,84	96,96	1,16	3,04	487,39	432,74
IHSS + 0,05 M Cu	100,10	94,83	0,00	5,17	474,01	395,60
IHSS + 0,1 M Cu	98,61	95,33	1,39	4,67	418,07	392,25
IHSS + 0,2 M Cu	98,97	94,29	1,03	5,71	456,83	373,32

Markantní rozdíly pozorujeme v obsahu popela, který se významně snižuje po extrakci oběma činidly, jeho obsah po extrakci HCl je nižší než po extrakci MgCl₂, což lze vysvětlit vyšším obsahem anorganických zbytků, obsahující kovy. Po extrakci komplexů HK dochází k degradaci při nižších teplotách ve srovnání s teplotami degradace kovových komplexů. Komplexy IHSS naopak degradují po extrakci HCl při vyšších teplotách. Rozklad při nejnižší teplotě v obou případech nastává pro komplexy mědi. Ve srovnání s teplotou rozkladu samotné HK došlo k poklesu jednotlivých teplot pro komplexy HK-kov po extrakci. Pro komplexy IHSS-kov se teplota rozkladu oproti samotné IHSS po extrakci HCl zvýšila, což by znamenalo tendenci HCl stabilizovat IHSS. Po extrakci MgCl₂ naopak hodnoty oproti IHSS poklesly. Vzorky komplexů o koncentracích 0,2 M zpravidla začínaly degradovat při nejnižších teplotách.

Zásah extrakčních činidel do struktury komplexu způsobuje změny v jejich termooxidačním chování. Konečná teplota degradace je nižší než před extrakcí. Vzorek HK resp. IHSS, který nemá ve struktuře inkorporované kovové ionty má vyšší degradační teplotu, což se potvrdilo pouze v případech komplexů IHSS extrahovaných HCl. Se zvyšujícím se množstvím extrahovaných iontů tedy roste termooxidační stabilita. Vícekroková degradace v případě mědi by mohla být vysvětlena rozpadem na menší agregáty, které degradují nezávisle. Kyselina chlorovodíková ovlivňuje celou strukturu, extrahuje i anorganické zbytky, což vysvětluje procentuální úbytek popela. Degradace po extrakci HCl probíhala v jednom kontinuálním kroku.

4.5 Souvislost mezi chemickou a termickou stabilitou

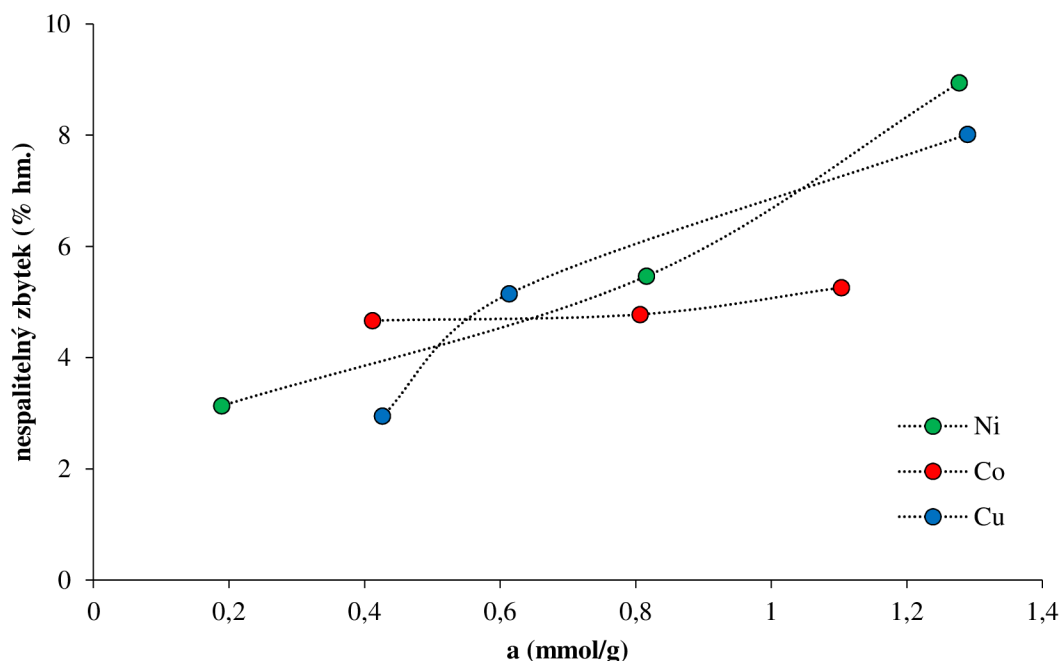
Podstatou této kapitoly je srovnání chemické a termické stability připravených komplexů. Výsledky termické analýzy byly korelovány s výsledky získanými na základě chemické stability, jež byla určena pomocí extrakce. Použitím extrakce bylo původně sorbované množství kovových iontů rozděleno na tři frakce. Nejvíce stabilní komplexy jsou ty s nejvyšším obsahem reziduální frakce, která není extrahovatelná ani roztokem $MgCl_2$ ani HCl. Zvýšení obsahu jednotlivých frakcí s rostoucí koncentrací by mohlo znamenat rozdělení kovových iontů mezi více vazebných možností a jejich inkorporaci do struktury rozdílnými způsoby. Mobilní frakce a iontově výměnná frakce má nižší chemickou i termickou stabilitu. Byly pozorovány závislosti maximálních teplot na obsahu individuálních frakcí kovových iontů v komplexech.



Obr. 33: Závislost teploty degradace na absorbovaném množství kovu na IHSS

Na obrázku 33 je uveden příklad závislosti teploty degradace na absorbovaném množství kovového iontu. Teplota degradace v případě komplexů mědi a niklu vzrůstá s obsahem kovového iontu. Pro kobalt se teplota degradace v závislosti na absorbovaném množství kovového iontu příliš neliší. V případě HK je průběh podobný avšak teplota degradace

komplexu HK-Co²⁺ o koncentraci 0,2 M prudce stoupá. Teploty degradace frakce reziduální a frakce mobilní a iontově výměnné nesouvisí v případě HK s obsahem kovového iontu. V případě IHSS došlo k poklesu degračních teplot v závislosti na absorbovaném množství kovu pro frakci mobilní a iontově výměnnou. Teplota degradace frakce reziduální pro komplexy kovů s IHSS se obsahem kovu mění nahodile.



Obr. 34: Závislost nespalitelného zbytku na absorbovaném množství kovu na IHSS

Srovnání chemické stability vyjádřené jako absorbované množství kovu a termické stability vyjádřené jako nespalitelný zbytek na obrázku 34 je závislý na obsahu iontů v komplexu IHSS, což však neplatí pro frakce reziduální i mobilní a iontově výměnnou.

Na základě naměřených hodnot, lze konstatovat, že chemická a termická stabilita připravených komplexů IHSS-kov spolu bezprostředně souvisí, neboť teplota degradace vzrostla po extrakci a odstranění mobilní a iontově výměnné frakce, což znamená, že termická stabilita souvisí se silou vazby připravených komplexů, liší se s množstvím přítomných kovových iontů. U komplexů HK-kov jednoznačný posun teplot degradace do vyšších hodnot patrný není.

5 ZÁVĚR

Předložená diplomová práce se zabývá prostudováním souvislostí mezi termickou a chemickou stabilitou připravených komplexů huminových kyselin s kovy.

Studované huminové kyseliny byly charakterizovány základními metodami. Technikou elementární analýzou byly zjištěny rozdíly mezi složením izolované HK a standardu IHSS. FT-IR spektrometrie prověřila spektra použitých huminových kyselin. Pro srovnání byly připraveny komplexy huminové kyseliny a komerčně dodávaného standardu IHSS s roztoky kovových iontů Ni^{2+} , Co^{2+} a Cu^{2+} o třech počátečních koncentracích. Sorbované množství kovových iontů vzrůstá se zvyšující se počáteční koncentrací. Pro komplexy izolované HK platí, že nejochotněji tvoří komplexy měďnatá iont, což potvrdilo získané teoretické poznatky.

Připravené komplexy byly extrahovány dvěma extrakčními činidly 1M MgCl_2 a 1M HCl za účelem zjištění jejich chemické stability. Všechny vzorky před i po extrakci byly zkoumány metodami termické analýzy (TGA, DSC). Změny transmisních spekter v důsledku inkorporace kovových iontů byly pozorovány technikou FT-IR spektrometrie. Změny transmisních spekter naměřených po extrakci potvrzují úbytek kovových iontů ve struktuře HK doprovázený zvýšením absorpce v oblasti charakteristických funkčních skupin. Bylo prokázáno, že kovy přítomné ve struktuře HK ovlivňují termooxidační stabilitu HK. Všechny kovové ionty pozměnily termooxidační chování HK a snížily počáteční teplotu degradace. Nejmarkantnější změny byly pozorovány pro komplexy s Cu^{2+} ionty. Pro komplexy IHSS byla potvrzena souvislost mezi termickou a chemickou stabilitou, která souvisí se zvýšením hodnoty teploty degradace po odstranění méně stabilních frakcí. U kovových komplexů HK nelze jednoznačnou souvislost mezi termickou a chemickou stabilitou konstatovat nelze.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] PITTER, Pavel. *Hydrochemie*. 4. aktualiz. vyd. Praha: VŠCHT, 2009, viii, 579 s. ISBN 978-80-7080-701-9.
- [2] SKOKANOVÁ, Marianna a Katarína DERCOVÁ. Humínové kyseliny. Povod a štruktúra. *Chemické listy*. Praha: Česká společnost chemická, 2008, č. 102, s. 262-268.
- [3] PICCOLO, Alessandro. *Humic substances in terrestrial ecosystems*. New York: Elsevier, 1996, xi, 675 p. ISBN 04-448-1516-3.
- [4] STEVENSON, F.J. *Humus chemistry: Genesis, composition, reactions*. 2nd Ed. New York: John Wiley and Sons, 1994, xiii, 496 s. ISBN 04-715-9474-1.
- [5] *Biopolymers: Lignin, Humic Substances and Coal*. Weinheim: Wiley-VCH, 2001, 513 s. ISBN 35-273-0220-4.
- [6] SKYBOVÁ, Mária. Humínové kyseliny - prínos pro environmentálny výzkum. *Acta montanistica Slovaca*. Košice: Technická univerzita [Košice]., 2006, roč. 11, č. 2, s. 362-366.
- [7] KANG, K-H., Hyun Sang SHIN a PARK. Characterization of humic substances present in landfill leachates with different landfill ages and its implications. *Water research*. Oxford: Pergamon Press, 2002, roč. 36, č. 16.
- [8] GHABBOUR, Elham A. *Humic Substances: Structures, Models and Functions*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2001, 387 s. ISBN 08-540-4811-1.
- [9] SIMPSON, André a kol.: Molecular structures and associations of humic substances in the terrestrial environment. *Naturwissenschaften*. 2002, 89, 2, s. 84-88.
- [10] PICCOLO, Alessandro, C. SAIZ-JIMENEZ. THE SUPRAMOLECULAR STRUCTURE OF HUMIC SUBSTANCES: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Soil Science*. 2001, vol. 166, issue 11, iv-44. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/b978-1-85573-806-5.50002>.
- [11] CONTE, Pellegrino, Riccardo SPACCINI, Daniela ŠMEJKALOVÁ, Antonio NEBBIOSO a Alessandro PICCOLO. Spectroscopic and conformational properties of size-fractions separated from a lignite humic acid. *Chemosphere*. 2007, vol. 69, issue 7, s. 1032-1039. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.04.04>.
- [12] SUTTON, Rebecca, Garrison SPOSITO, David A. USSIRI. Molecular Structure in Soil Humic Substances: The New View. *Environmental Science*. 2005, vol. 39, issue 23, s. 281-296. DOI: <http://dx.doi.org/10.1039/9781847551085-00281>.
- [13] LEENHEER, Jerry A. Progression from model structures to molecular structures of natural organic matter components. *Annals of environmental science*. 2007, roč. 1, č.1, s. 57-68.
- [14] PEÑA-MÉNDEZ, Eladia M., Josef HAVEL a Jiří PATOČKA. Humic substances - compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. *Journal of applied biomedicine*. České Budějovice: University of South Bohemia in České Budějovice, 2005, č. 3, s. 13-24.
- [15] JANDÁK, Jiří, Eduard POKORNÝ a Alois PRAX. *Půdoznalství*. Vyd. 3., přeprac. Brno: Mendelova univerzita v Brně, 2010, 143 s., [2] s. obr. příl. ISBN 978-80-7375-445-7.
- [16] KLUČÁKOVÁ, Martina, Peter PELIKÁN, Lubomír LAPČÍK, Barbora LAPČÍKOVÁ, Jiří KUČERÍK a Michal KALÁB. Study of Structure and Properties of Humic and

- Fulvic Acids. I. Properties and Reactivity of Humic and Fulvic Acids. *J. Polym. Mater.* 2000, roč. 17, č. 4, s. 337-356.
- [17] VESELÁ, Lenka, Martin KUBAL, Josef KOZLER a Petra INNEMANOVÁ. STRUKTURA A VLASTNOSTI PŘÍRODNÍCH HUMINOVÝCH LÁTEK TYPU OXIHUMOLITU. *Chemické listy*. Praha: Česká společnost chemická, 2005, roč. 10, č. 99, s. 711-717.
- [18] JERSEY, W.: Definition of soil organic matter. *Humintech* [online]. [cit. 2014-03-30]. Dostupné z: <http://www.humintech.com/001/articles/>.
- [19] DAVIES, Geoffrey, Elham A. GHABBOUR a Cornelius STEELINK. Humic Acids: Marvelous Products of Soil Chemistry. *Journal of Chemical Education*. 2001, vol. 78, issue 12, s. 1609-1614. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ed078p1609>.
- [20] JANSEN, Susan A., Mark MALATY, Sarah NWABARA, Ernestine JOHNSON, Elham GHABBOUR, Geoffrey DAVIES a James M. VARNUM. Structural modeling in humic acids. *Materials Science and Engineering: C*. 1996, vol. 4, issue 3, s. 175-179. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s0928-4931\(96\)00151-8](http://dx.doi.org/10.1016/s0928-4931(96)00151-8).
- [21] FEDOTOV, G. N., S. A. SHOBA. Current ideas on the possible pathways for the formation of humic substances in soils. *Eurasian Soil Science*. 2013, vol. 46, issue 12, s. 334-379. DOI: <http://dx.doi.org/10.1017/cbo9780511535598.015>.
- [22] SKOKANOVÁ, Marianna a Katarína DERCOVÁ. Humínové kyseliny. Interakcie humínových kyselín s kontaminantami. *Chemické listy*. Praha: Česká společnost chemická, 2008, č. 102, s. 338-345.
- [23] MANAHAN, Stanley E. *Environmental chemistry*. 9th ed. Boca Raton: Taylor, 2010. ISBN 978-1-4200-5920-5.
- [24] *Chemical processes in soils*. Editor M Tabatabai, D Sparks. Madison: Soil Science Society of America, 2005, xix, 723 s. ISBN 08-911-8843-6.
- [25] KLUČÁKOVÁ, Martina, Michal KALÁB, Miloslav PEKAŘ a Lubomír LAPČÍK. Study of Structure and Properties of Humic and Fulvic Acids. II. Study of Adsorption of Cu²⁺ Ions to Humic Acids Extracted from Lignite. *J. Polym. Mater.* 2002, roč. 19, č. 3, s. 287-294.
- [26] KLUČÁKOVÁ, Martina a Miloslav PEKAŘ. Study of Structure and Properties of Humic and Fulvic Acids. III. Study of Complexation of Cu²⁺ Ions with Humic Acids in Sol. *J. Polym. Mater.* 2003, roč. 20, č. 2, s. 145-154.
- [27] BARTOVSKÁ, Lidmila. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 5. přeprac. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005, 244 s. ISBN 80-708-0579-X.
- [28] KLUČÁKOVÁ, Martina a Miloslav PEKAŘ. New model for equilibrium sorption of metal ions on solid humic acids. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2006, vol. 286, 1-3, s. 126-133. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2006.03.013>.
- [29] BRADL, Heike B a Yeşim Sağ AÇIKEL. Adsorption of heavy metal ions on soils and soils constituents. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2004, vol. 277, issue 1, s. 183-223. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-94-007-1914-9_8.
- [30] PANDEY, Ashok K., Shri Dhar PANDEY a Virendra MISRA. Stability Constants of Metal-Humic Acid Complexes and Its Role in Environmental

- Detoxification. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 2000, vol. 47, issue 2, s. 195-200. DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/eesa.2000.1947>.
- [31] ZHOU, Ping, Hui YAN, Baohua GU, Walter LUND, P. MACCARTHY a E. M. PERDUE. Competitive complexation of metal ions with humic substances: Fundamental Considerations. *Chemosphere*. 2005, vol. 58, issue 10, s. 469-489. DOI: http://dx.doi.org/10.1007/978-94-017-1909-4_13.
- [32] MARTYNIUK, Halina a Jadwiga WIECKOWSKA. Adsorption of metal ions on humic acids extracted from brown coals. *Fuel Processing Technology*. 2003, vol. 84, 1-3. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s0378-3820\(02\)00246-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0378-3820(02)00246-1).
- [33] LISHTVAN, I. I., V. M. DUDARCHIK, S. I. KOVRIK, T. P. SMYCHNIK a V. P. STRIGUTSKII. Peculiarities of the Formation of Supramolecular Structures of Copper- and Lead-Humic Acid Complexes in Aqueous Solutions. *Colloid Journal*. 2005, vol. 67, issue 6, s. 741-745. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s10595-005-0157-6>.
- [34] GARCIA-MINA, Jose M., a kol. Stability, solubility and maximum metal binding capacity in metal-humic complexes involving humic substances extracted from peat and organic compost. *Organic Geochemistry*. 2006, vol. 37, issue 12, s. 275-297. DOI: <http://dx.doi.org/10.2136/2001.humicsubstances.c22>.
- [35] PLAZA, C., N. SENESI, J.C. GARCÍA-GIL a A. POLO. Copper(II) complexation by humic and fulvic acids from pig slurry and amended and non-amended soils. *Chemosphere*. 2005, vol. 61, issue 5, s. 711-716. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2005.03.04>.
- [36] PRADO, A, J TORRES, P MARTINS, J PERTUSATTI, L BOLZON a E FARIA. Studies on copper(II)- and zinc(II)-mixed ligand complexes of humic acid. *Journal of Hazardous Materials*. 2006, vol. 136, issue 3, s. 585-588. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhazmat.2005.12.035>.
- [37] MADRONOVÁ, Libuše, Josef KOZLER, Jiřina ČEŽÍKOVÁ, Jaromír NOVÁK a Pavel JANOŠ. Humic acids from coal of the North-Bohemia coal field. *Reactive and Functional Polymers*. 2001, vol. 47, issue 2, s. 119-123. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/s1381-5148\(00\)00077-8](http://dx.doi.org/10.1016/s1381-5148(00)00077-8).
- [38] BAKER, Hutaf a Fawwaz KHALILI. Comparative study of binding strengths and thermodynamic aspects of Cu(II) and Ni(II) with humic acid by Schubert's ion-exchange method. *Analytica Chimica Acta*. 2003, vol. 497, 1-2, s. 235-248. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2003.08.036>.
- [39] BAKER, Hutaf a Fawwaz KHALILI. A study of complexation thermodynamic of humic acid with cadmium (II) and zinc (II) by Schubert's ion-exchange method. *Analytica Chimica Acta*. 2005, vol. 542, issue 2, s. 240-248. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2005.04.008>.
- [40] GLAUS, Martin A., Wolfgang. HUMMEL a Luc R. Van LOON. Stability of Mixed-Ligand Complexes of Metal Ions with Humic Substances and Small Molecular Weight Ligands. *Environmental Science*. 1995, vol. 29, issue 8, s. 2150-2153. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/es00008a039>.
- [41] KOSTIC, Ivana, a kol. Copper(II) and lead(II) complexation by humic acid and humic-like ligands. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 2011, vol. 76, issue 9, s. 1325-1336. DOI: <http://dx.doi.org/10.2298/jsc110310115k>.

- [42] DUDARE, D. a M. KLAVINS. Complex-forming properties of peat humic acids from a raised bog profiles. *Journal of Geochemical Exploration*. 2013, vol. 129, s. 18-22. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2012.12.001>.
- [43] FUENTES, Marta, a kol. Main binding sites involved in Fe(III) and Cu(II) complexation in humic-based structures. *Journal of Geochemical Exploration*. 2013, vol. 129, s. 14-17. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2012.12.015>.
- [44] LUBAL, P., a kol. Potentiometric and spectroscopic study of uranyl complexation with humic acids. *Talanta*. Amsterdam: Elsevier, 2000, č. 51, s. 977-991.
- [45] TERBOUCHE, A., et al. Characterization and Complexing Capacity of Humic Acid Extracted from Yakouren Soil with Heavy Metals by Conductimetry and Quenching of Fluorescence. *Soil and Sediment Contamination*. 2010, vol. 19, issue 1, s. 21-41. DOI: 10.1080/15320380903401724.
- [46] BORGES, F, C GUIMARAES, J LIMA, I PINTO a S REIS. Potentiometric studies on the complexation of copper(II) by phenolic acids as discrete ligand models of humic substances. *Talanta*. 2005, vol. 66, issue 3, s. 670-673. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2004.12.012>.
- [47] SEDLÁK, Marián. Large-Scale Supramolecular Structure in Solutions of Low Molar Mass Compounds and Mixtures of Liquids: II. Kinetics of the Formation and Long-Time Stability. *The Journal of Physical Chemistry B*. 2006, vol. 110, issue 9, s. 4339-4345. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/jp056934x>.
- [48] JEONG, Chang Yoon, Scott D. YOUNG a Stewart J. MARSHALL. Competitive Adsorption of Heavy Metals in Humic Substances by a Simple Ligand Model. *Soil Science Society of America Journal*. 2007, vol. 71, issue 2. DOI: <http://dx.doi.org/10.2136/sssaj2005.0281>.
- [49] RATE, Andrew W., Ronald G. MCLAREN a Roger S. SWIFT. Response of copper(II)-humic acid dissociation kinetics to factors influencing complex stability and macromolecular conformation. *Environmental Science*. 1993, vol. 27, issue 7, s. 1408-1414. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/es00044a017>.
- [50] RAWAT, Neetika, R. S. SHARMA, B. S. TOMAR a V. K. MANCHANDA. Thermodynamic study of complexation of Eu(III) with carboxylates by potentiometry and calorimetry. *Thermochimica Acta*. 2010, vol. 501, 1-2, s. 13-18. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tca.2009.12.016>.
- [50] PLANTE, Alain F., José M. FERNÁNDEZ a J. LEIFELD. Application of thermal analysis techniques in soil science. *Geoderma*. 2009, vol. 153, 1-2, s. 1-10. DOI: 10.1016/j.geoderma.2009.08.016.
- [51] TESSIER, A., P. G. C. CAMPBELL a M. BISSON. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals. *Analytical Chemistry*. 1979, vol. 51, issue 7, s. 844-851. DOI: <http://dx.doi.org/10.1021/ac50043a017>.
- [52] ZEIEN, H. a G. W. BRÜMMER. Chemische extraktion zur bestimmung von schwermetallbindungsformen in böden. *Mitteilungen der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft*. 1989, č. 59, s. 505-510.
- [53] KALINA, Michal, Martina KLUČÁKOVÁ a Petr SEDLÁČEK. Utilization of fractional extraction for characterization of the interactions between humic acids and metals. *Geoderma*. 2013, 207-208, s. 92-98. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.04.031>.

- [54] HATAKEYAMA, T. *Thermal Analysis: Fundamentals and Applications Polymer Science*. 2nd Ed. Chichester: John Wiley and Sons, 1999. ISBN 04-719-8362-4.
- [55] RAMACHANDRAN, V. *Handbook of thermal analysis of construction materials*. Norwich, N.Y.: Noyes Publications/William Andrew Pub., c2003, xxii, 680 p. ISBN 08-155-1487-5.
- [56] VŠCHT Praha. *Infračervená spektroskopie* [online]. [cit. 2014-04-15]. Dostupné z: <http://lms.vscht.cz/Zverze/Infrared.htm>
- [57] BOEHM, Stanislav. *Strukturální analýza organických sloučenin*. 1. vyd. Praha: VŠCHT, 1995, 152 s. ISBN 80-708-0235-9.
- [58] GOSTISHCHEVA, M. V., et al. Comparative IR spectral characteristics of humic acids from peats of different origin in the Tomsk area. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2009, vol. 43, issue 7, s. 418-421. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s11094-009-0323-y>.
- [59] International Humic Substances Society: Source Materials for IHSS Samples. INTERNATIONAL HUMIC SUBSTANCES SOCIETY. *Natural organic matter research* [online]. 2013 [cit. 2014-04-25]. Dostupné z: <http://www.humicsubstances.org/sources.html>

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

A	absorbance
DSC	diferenční kompenzační kalorimetrie
EDLE	equilibrium dialysis – ligand exchange
EPR	elektronová paramagnetická rezonance
FK	fulvokyseliny
FT-IR	infračervená spektrometrie s Fourierovou transformací
HK	huminová kyselina
HL	huminové látky
IHSS	International Humic Substances Society
NMR	nukleární magnetická rezonance
T	transmittance
TGA	termogravimetrická analýza
UV	ultrafialová oblast spektra elektromagnetického záření
VIS	viditelná oblast spektra elektromagnetického záření
ΔG	volná Gibbsova energie
ΔS	změna entropie
ΔH	změna entalpie

8 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha č.1: FT-IR spektra HK a IHSS po extrakci $MgCl_2$ a HCl

Příloha 1:

