

STUDIUM AGREGACE HUMINOVÝCH KYSELIN POMOCÍ TECHNIK ROZPTYLU SVĚTLA

Kalina Michal¹, Klučáková Martina¹

¹Centrum materiálového výzkumu, Fakulta chemická, Vysoké učení technické v Brně,
Purkyňova 464/118, 612 00 Brno, +420541149488, xckalina@fch.vutbr.cz

Abstrakt

Huminové kyseliny jsou pozoruhodné látky, které jsou součástí mnoha biochemických procesů v přírodě. Neoddiskutovatelný je vliv huminových kyselin na transport živin i toxických látek. Studium struktury huminových kyselin je předmětem výzkumů již po mnoho desetiletí a stále lze nalézt chybějící či neúplné informace. V této problematice jsou patrně stěžejní parametry, jako je velikost částic a konformace. Tento příspěvek se zabývá studiem obou zmíněných charakteristik pomocí metody dynamického rozptylu světla. V první části práce jsou charakterizovány vodné roztoky huminových kyselin získané z různých přírodních zdrojů (lignit, půda, kompost). Následně jsou zkoumány vlivy přečištění a modifikace získaných vzorků huminových kyselin. Z dosažených výsledků vyplývá, že oba studované parametry mají významný vliv na agregační chování huminových kyselin ve vodných roztocích.

Klíčová slova: agregace; dynamický rozptyl světla; huminové kyseliny; velikost částic.

Úvod

Huminové kyseliny (HK) jsou přírodní organické sloučeniny, které jsou často označovány zemědělci jako „černé zlato“ půdy. Jde o heterogenní, polydisperzní sloučeniny, které představují patrně největší zásobárnu organického uhlíku na zemském povrchu. Největším zdrojem HK jsou kaustobiolity (lignit, leonardit, uhlí, rašelina), půda a sedimenty [1]. HK hrají důležitou roli při transportu živin a kontaminantů v půdách a vodách. V půdě rovněž významně ovlivňují pórovitost a působí jako sorbent a reservoár vody. Huminové kyseliny jsou patrně nejvíce studovány kvůli své dobře známé vysoké vazebné afinitě vůči ostatním látkám, jako jsou kovy, hydrofobní látky, tenzidy a barviva [2, 3, 4]. Tento fakt spolu s dalšími výhodnými vlastnostmi jako je koloidní velikost částic, bohaté přírodní zdroje a relativně levný způsob výroby dělá z HK poměrně zajímavý materiál využitelný pro praktické aplikace.

Velikost částic stejně jako tvar a molekulová hmotnost představují základní parametry, které je nutné brát v potaz při studiu struktury, reaktivity a také možných budoucích aplikací HK. Na základě micelární teorie [1] struktury HK, dosahují molekuly HK velikostí do 100 nm. Částice okolo 500 nm odpovídají supramolekulárním micelám, stabilizovaným slabými ne vazebnými interakcemi. Větší částice v distribučních křivkách poté lze přisoudit agregátům – tedy shlukům více menších základních jednotek, či micel. Jeden z mnoha příkladů ilustrující důležitost těchto parametrů představuje studium penetrace komplexu huminových kyselin s hnojivou přes rostlinné kutikuly [5]. Dynamický rozptyl světla (DLS) představuje neinvazivní, nedestruktivní optickou metodu, měřící časový vývoj fluktuací rozptýleného světla pohybujícími se částicemi ve vzorku [6]. Aplikace technik rozptylu světla pro základní charakterizaci částic HK ve vodných roztocích se objevuje v literatuře až v posledních letech a stále jde o poměrně obtížný proces. Patrně největším problémem je polydisperzní a heterogenní charakter HK. Navíc je třeba vzít v potaz fakt, že vlastnosti huminových kyselin se liší podle zdroje, ze kterého byly izolovány, způsobu izolace, jejich koncentrace ve vodném prostředí, okolnímu pH a iontové síle.

Materiál a metody

Huminové kyseliny studované v této práci byly izolovány metodou alkalické extrakce z různých zdrojových matric [2, 7]. Huminové kyseliny označené v práci jako LHK1 a LHK2 byly získány z jihomoravského lignitu (Mikulčice, důl Mír). Vzorek huminových kyselin IHK byl izolován z leonarditu a jde o standard získaný z IHSS (International Humic Substances Society). Kromě lignitu byly v této části práce zkoumány HK, které byly izolované také z kompostu (vzorek KHK) a z vzorků půd (PHK1 a PHK2). Půdní vzorky pocházejí z horního humózního horizontu (místo získání Praha – Ruzyně) [8]. V následující části práce byl studován vliv čistoty HK na jejich agregační procesy. Vzorek lignitických huminových kyselin LHK1 byl dále opakovaně promyt destilovanou vodou a vysušen při 50 °C (LHK3). Vzorek LHK4 byl připraven obdobně jako LHK3 opakovaným promytím vzorku LHK1 destilovanou vodou ale navíc ještě následovalo přesušení lyofilizací. Pro určení vlivu funkčních skupin HK na jejich agregaci byly vzorky IHK a LHK1 modifikovány metodou selektivní metylace kyslíkatých funkčních skupin (hlavně karboxylové a fenolické) pomocí TMS-N2 (trimetylsilyl diazometan). Více detailů o samotném procesu selektivní metylace lze nalézt v [2]. Modifikované vzorky LHK1 respektive IHA jsou dále označeny v textu jako mLHK a mIHA. Úspěšné provedení metylace obou vzorků huminových kyselin bylo dále ověřeno metodou FTIR (infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací). FTIR spektra pevných vzorků metylovaných HK byla měřena v KBr tabletách na Nicoletu iS50 v rozmezí 4000 – 400 cm⁻¹. Všechny studované vzorky huminových kyselin byly charakterizovány na obsah popela a jejich elementárního složení (viz Tabulka 1). Více detailů lze nalézt v [7].

Pro účely studia agregačních procesů huminových kyselin ve vodných roztocích, byly pevné vzorky HK rozpuštěny v 0,1 mol·dm⁻³ NaOH, finální koncentrace HK ve všech studovaných vzorcích byla 1 g·dm⁻³. Pro dosažení úplného rozpuštění HK byly studované vzorky před měřením vždy míchány alespoň 12 hodin.

Distribuce velikosti částic huminových kyselin byly zkoumány pomocí Zetasizeru Nano ZS metodou dynamického rozptylu světla. Všechny uvedené distribuce velikosti částic představují průměrné distribuce sestavené vždy z pěti opakovaných měření. Měření na Zetasizeru Nano ZS probíhalo vždy při teplotě (25,0±0,1) °C.

Výsledky a diskuse

Vzorky huminových kyselin použité v této práci byly charakterizovány na základě jejich elementárního složení a obsahu popela. Naměřená data jsou uvedena v Tabulce 1. Z porovnání jednotlivých vzorků HK podle zdroje izolace je patrný rozdíl mezi půdními (PHK1 a PHK2) a lignitickými (LHK1, LHK2, IHK) HK zejména v obsahu dusíku a uhlíku. Tabulka 1 rovněž poukazuje na důležitost čištění huminových vzorků. Již samotným opakovaným promytím vodou (LHK3) došlo k výraznému snížení obsahu popela oproti nepromytemu vzorku LHK1. Lyofilizací došlo ještě k většímu vymytí nízkomolekulárních solí a tedy snížení obsahu popela (LHK4). Vzorky, které byly během výroby ošetřeny lyofilizací (LHK4, SHK1, SHK2 a KHA) dosahovaly obdobných hodnot obsahu popela jako leonarditový standard od IHSS (IHK).

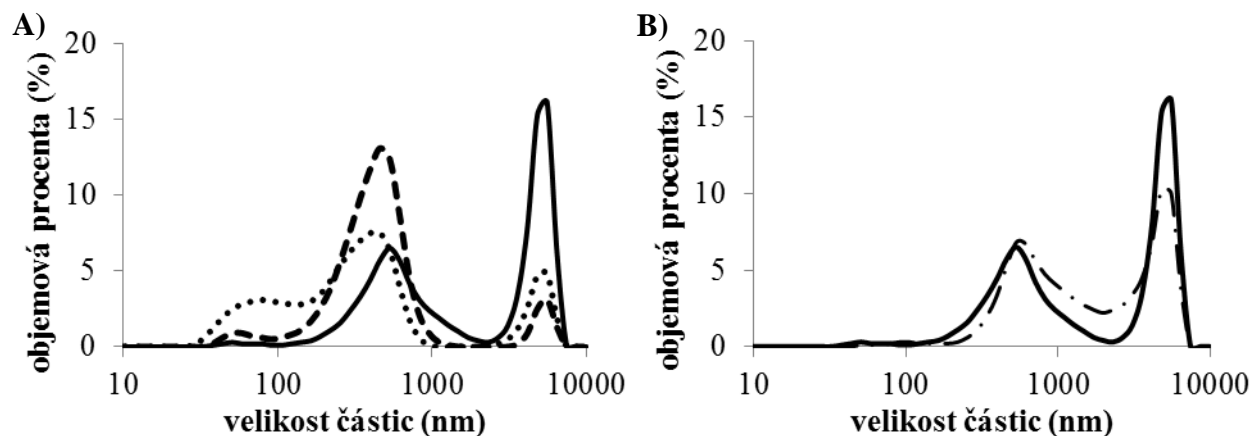
Hlavní část práce se zabývala charakterizací koloidních disperzí huminových kyselin pomocí metody dynamického rozptylu světla. Základním výstupem z měření DLS je závislost intenzity rozptýleného světla na velikosti částic. Při znalosti indexu lomu huminových částic (1,439±0,013) je možné intenzitní distribuce velikosti částic přepočítat na objemové distribuce, ze kterých lze přesněji určit, jak je rozložená hmota z hlediska velikosti částic v měřeném vzorku. Z naměřených distribučních křivek pak lze poměrně jednoznačně určit míru agregace studovaných HK.

Tabulka 1. Elementární složení studovaných vzorků HK (v atomových procentech, přepočteno na suchý vzorek bez popela), jejich obsah popela a naměřená průměrná velikost částic.

název vzorku	elementární složení (atomová %)					popel (%)	průměrná velikost částic (nm)
	C	H	O	N	S		
LHK1	40,0	40,7	18,2	0,8	0,3	30,5	393,8
LHK2	43,9	48,1	0,9	0,4	6,6	41,2	338,5
LHK3	40,6	40,3	18,0	0,9	0,2	26,6	259,3
LHK4	44,5	37,6	16,7	1,0	0,2	2,0	173,0
mLHK	37,3	46,8	14,5	0,8	0,1	27,1	510,9
IHK	47,0	32,5	19,8	0,3	0,4	2,6	232,3
mIHK	45,5	37,9	15,9	0,6	0,1	2,6	305,8
KHK	38,5	41,4	17,2	2,7	0,2	1,1	146,1
PHK1	38,8	40,9	17,2	2,9	0,2	0,1	151,9
PHK2	37,6	42,5	16,4	3,2	0,2	0,4	158,9

Tabulka 1 rovněž indikuje menší průměrnou velikost částic u půdních a kompostových huminových kyselin. Zejména huminové kyseliny získané z kompostu (KHK) obsahovaly poměrně významné zastoupení malých částic o velikosti okolo 30 nm.

Následující část práce se zabývala vlivem přechistění huminových kyselin na jejich distribuce velikosti částic. Obrázek 1A znázorňuje objemové distribuce velikosti částic lignitických HK (LHK1), promytých lignitických HK (LHK3) a lyofilizovaných HK (LHK4). Je zřejmé, že čištěním huminových kyselin dochází ke snižování jejich agregace (snižování intenzity piku okolo 5000 nm). Z Tabulky 1 je rovněž zřejmé, že čištěním HK dochází ke snižování obsahu nespalitelného popela. Z kombinace obou předchozích zjištění vyplývá, že snižování agregace huminových kyselin pozorované na Obrázku 1A je spojeno s obsahem nízkomolekulárních látek ve vzorku HK (tedy s obsahem popela).



Obrázek 1: A) Objemové distribuce velikosti částic pro vzorek lignitických HK (LHK1 – plná čára), promytých HK (LHK3 – čárkovaná čára) a lyofilizovaných HK (LHK4 – tečkovaná čára); B) Objemové distribuce velikosti částic pro vzorek lignitických HK (LHK1 – plná čára) a stejný vzorek po metylaci (mLHK – čerchovaná čára).

Poslední část práce byla zaměřena na studium vlivu přítomnosti kyslíkatých funkčních skupin HK na jejich agregaci. HK byly modifikovány selektivní metylací pomocí TMS-N₂. Obrázek 1B zobrazuje distribuce velikosti částic nemodifikované HK (LHK1) a stejného vzorku

po metylaci (mLHK). Z porovnání obou distribučních křivek je patrné, že metylací dochází opět ke snížení intenzity píku agregátů v oblasti okolo 5000 nm, ale naopak dochází ke zvýšení intenzity píku mezi 900 nm a 2000 nm. Tento nárůst je patrně způsoben konformační změnou struktury HK po náhradě malého vodíkového atomu mnohem objemnější skupinou CH₃ během metylace.

Závěr

Předložená metoda dynamického rozptylu světla se ukázala jako vhodná metoda pro základní charakterizaci huminových kyselin. Ze získaných distribucí velikosti částic lze poměrně rychle a jednoduše odhalit jakékoli změny ve struktuře způsobené ať už přečištěním zkoumané látky, ale také změnou postupu výroby, zdrojové matrice, změnou okolních podmínek či samotnou modifikací zkoumaného materiálu.

Poděkování

Práce byla podpořena Ministerstvem školství, mládeže a tělovýchovy, Projekt LO1211.

Literatura

- [1.] SCHNITZER, F.J., MONREAL C.M. *Quo vadis soil organic matter research?* Advances in agronomy. 2011, č. 113, s. 139–213.
- [2.] KLUČÁKOVÁ, M., KALINA, M., SEDLÁČEK, P. *Reactivity and transport mapping of Cu(II) ions in humic hydrogels.* Journal of Soils and Sediments. 2014, 14, 2, s. 368-376.
- [3.] TIPPING, E., DAVIES, G. *Cation binding by humic substances: molecular details and applications in land and water conservation.* Cambridge: Cambridge University Press, 2002. ISBN 05-216-2146-1.
- [4.] ISHIGURO, M., KOOPAL, L.K. *Predictive model of cationic surfactant binding to humic substances.* Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Eng. Aspects. 2011, 379, 1, s. 70-78.
- [5.] LAŠTŮVKOVÁ, M., SEDLÁČEK, P., PEKAŘ, M. *Penetration of dissolved humic fertilizers to leaves studied by simple diffusion technique.* In ECIS 2013 Abstracts – Complex Fluids and Environmental Colloid Science. Sofie, Bulgaria, 2013.
- [6.] PODZIMEK, Š. *Light scattering, size exclusion chromatography, and asymmetric flow field flow fractionation: powerful tools for the characterization of polymers, proteins, and nanoparticles.* Hoboken: Wiley, c2011. ISBN 978-0-470-38617-0.
- [7.] PEURAVUORI, J., P. ŽBÁNKOVÁ a K. PIHLAJA. *Aspects of structural features in lignite and lignite humic acids.* Fuel Processing Technology. 2006, 87, 9, s. 829-839.
- [8.] ENEV, V., POSPÍŠILOVÁ, L., KLUČÁKOVÁ, M. *Spectral Characterization of Selected Natural Humic Substances.* Soil and Water Research, 2014, 9, s. 9-17.

Abstract

Humic acids are natural compounds, which participate in natural processes. Significant is their role on transport of beneficial and harmful species in nature. Humic acids structural modelling is object of research for many decades and still a lot of key information are still missing or deficient. For structural modelling and also for possible future application of humic acids parameters as particle size and conformation seem to be essential. This contribution is dealing with study of both these parameters measured by means of dynamic light scattering method. The first part of the work is investigating behaviour of lignite and soil humic acids in aqueous solution. As a reference sample IHSS leonardite standard was utilized. Following part of the work describes effects of purification and selective modification of studied humic acids. Both these parameters significantly influence behaviour of humic acids in aqueous solutions.