

Extrakční fotometrické stanovení huminových látek v povrchových a podzemních vodách

Veronika Turoňová

Bakalářská práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Veronika TUROŇOVÁ**
Osobní číslo: **T10608**
Studijní program: **B2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Inženýrství ochrany životního prostředí**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Extrakční fotometrické stanovení huminových látek
v povrchových a podzemních vodách**

Zásady pro vypracování:

1. V literární studii se zaměřte na: charakteristiku huminových látek, jejich vliv na kvalitu povrchových resp. podzemních vod a metody stanovení huminových látek ve vodném prostředí.
2. V experimentální části optimalizujte metodu extrakčního fotometrického stanovení huminových látek v povrchových a podzemních vodách. Poté proveďte stanovení v reálných vzorcích.
3. Získaná data přehledně zpracujte a výsledky kriticky zhodnoťte.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] PITTER, Pavel. Hydrochemie. 4., aktualiz. vyd. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2009, 579 s. ISBN 978-80-7080-701-9.

[2] Odborné časopisy: Chemické listy: Chemical Papers (Prague). Praha: Průmyslové vydavatelství, 1951-. ISSN 0009-2770. 1x měsíčně. Vodní hospodářství: Water management : Voda - ovzduší - půda - odpady. Praha: Vodní hospodářství, 1951-. ISSN 1211-0760. 1x měsíčně.

Vedoucí bakalářské práce:

Ing. Markéta Julinová, Ph.D.

Ústav inženýrství ochrany životního prostředí

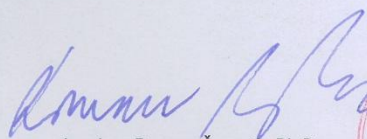
Datum zadání bakalářské práce:

8. února 2013

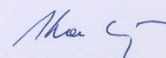
Termín odevzdání bakalářské práce:

24. května 2013

Ve Zlíně dne 8. února 2013



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan



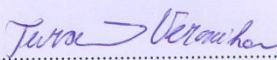
doc. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 9. 5. 2013


.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací;

[1] Vysoká škola nevydělčně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3;

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihledne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Hlavní náplní této bakalářské práce je ověření postupu fotometrického stanovení huminových látek v povrchových a podzemních vodách pro potřeby výuky- laboratorní cvičení předmětu Technologie vody oboru Inženýrství ochrany životního prostředí, Fakulty technologické, UTB Zlín. Teoretická část je věnována základní charakterizaci, vzniku, výskytu a využití huminových látek. Dále také vlivu huminových látek na kvalitu vod a stručný souhrn doposud použitých metod stanovení huminových látek a jejich sloučenin. Praktická část je věnována fotoextrakční metodě stanovení huminových látek v konkrétních vzorcích povrchových a podzemních vod, hledání a charakterizace vhodné modelové látky s obsahem huminových a fulvinových kyselin, jako alternativního nízkonákladového standardu pro přípravu modelových vod. Jedním z úkolů bylo také ověření doby extrakce. Na závěr byly analyzovány vzorky povrchových a podzemních vod z odběrových míst v blízkosti výukových prostor (FT, UTB) a odlehlých lokalit (Olomouc, Břest, Kvasice, Halenkovice, Napajedla, Hulín). U všech analyzovaných vzorků byla koncentrace huminových látek buď pod detekcí metody (<1 mg/l) a nebo velmi nízká. Na základě výsledků experimentů lze konstatovat, že zvolené modelové látky jsou vhodnými alternativami ke komerčním standardům a lze je využít pro potřeby laboratorní výuky, nicméně nelze je považovat za analytické standardy.

Klíčová slova: huminové látky, modelové látky, UV/VIS spektroskopie huminových látek

ABSTRACT

The main concern of this thesis is the verification procedure of photometric determination of humic substances in surface and ground waters for teaching-lab course Water Technology industry Environmental Protection Engineering, Faculty of Technology, UTB Zlin. The theoretical part is devoted to basic characterization, occurrence, distribution, and use of humic substances. Furthermore, the influence of humic substances on water quality and a brief summary of the previously used methods for the determination of humic substances and their compounds. The practical part is devoted to the extraction photometric method for the determination of humic substances in specific samples of surface water and

groundwater, search and characterization of suitable model compounds containing humic and fulvic acids, as an alternative low-cost standard for the preparation of model plants. One of the tasks was also verify the time of extraction. Finally samples were analyzed for surface and groundwater sampling sites near the training area (FT UTB) and remote locations (Olomouc, Brest, Kvasice, Halenkovice, Napajedla, Hulin). In all samples analyzed, the concentration of humic substances either below detection method ($<1 \text{ mg / l}$) or very low. Based on the experimental results it can be stated that the selected model compounds are suitable alternatives to commercial standards and can be used for the needs of laboratory instruction, however, can not be regarded as analytical standards.

Keywords: humic substances, model compounds, UV/VIS spectroscopy of humic substances

Na tomto místě bych ráda poděkovala mé vedoucí Ing. Markétě Julinové, Ph. D. za odborné vedení této práce, cenné připomínky a konzultace, které mi často poskytovala.

Dále bych ráda poděkovala paní laborantce Věře Zbrankové z Ústavu životního prostředí za pomoc teoretickou tak i praktickou.

Poděkování patří i mé rodině, blízkým a příteli za velkou a neustálou podporu během celého studia

OBSAH

ÚVOD	2
I TEORETICKÁ ČÁST	4
1 ZÁKLADNÍ CHARAKTERIZACE HUMINOVÝCH LÁTEK	5
Fulvokyseliny/fulvinové kyseliny	6
Huminové kyseliny.....	7
Huminy	8
1.1 VÝSKYT HUMINOVÝCH LÁTEK VE VODÁCH	8
1.2 Vliv huminových látek na kvalitu vody	9
1.3 VYUŽITÍ HUMINOVÝCH LÁTEK	10
2 METODY STANOVENÍ HUMINOVÝCH LÁTEK VE VODÁCH	12
2.1 EXTRAKCE HL	12
2.2 METODY STANOVENÍ.....	13
SHRNUTÍ LITERÁRNÍ ČÁSTI	15
II PRAKTICKÁ ČÁST	16
3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	17
3.1 EXTRAKČNÍ FOTOMETRICKÉ STANOVENÍ HUMINOVÝCH LÁTEK VE VODÁCH.....	17
VÝPOČET HMOTNOSTNÍ KONCENTRACE HL	17
POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A ČINIDLA	18
PŘÍSTROJE A POMŮCKY	18
3.2 ANALYZOVANÉ VZORKY POVRCHOVÉ O PODZEMNÍ VODY	19
3.3 MODELOVÉ LÁTKY	20
3.4 LABORATORNÍ POSTUPY A ANALÝZY.....	21
Stanovení veškerých látek a ztráty žíháním	21
Stanovení celkového organického uhlíku (TOC).....	22
3.5 OPTIMALIZACE METODY STANOVENÍ HUMINOVÝCH LÁTEK.....	22
4 DISKUZE A VÝSLEDKY	24
4.1 STANOVENÍ HL VE VODÁCH – VÝPOČET OBSAHU HL POMOCÍ EMPIRICKÉHO VZTAHU DLE ČSN 757536.....	24
4.2 STANOVENÍ HL V MODELOVÝCH LÁTKÁCH – VÝPOČET KONCENTRACE POMOCÍ EMPIRICKÉHO VZTAHU [ČSN 757536]	31
4.3 STANOVENÍ HL V MODELOVÝCH LÁTKÁCH – VÝPOČET KONCENTRACE POMOCÍ METODY JEDNOHO STANDARDU (KALIBRAČNÍ KŘIVKA)	33
4.4 OPTIMALIZACE DOBY EXTRAKCE PŘI STANOVENÍ HUMINOVÝCH LÁTEK	38
ZÁVĚR	40
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	41
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	45
SEZNAM OBRÁZKŮ	47
SEZNAM TABULEK	48

ÚVOD

Humínové látky jsou vysokomolekulární cyklické sloučeniny aromatického charakteru, které jsou vzhledem ke svému původu a vlastnostem běžnou součástí přírodních vod. Nicméně v současnosti mají humínové látky poměrně rozsáhlé technické využití, které je možné rozdělit na následující oblasti: aplikace v zemědělství, průmyslové použití, využití v oblasti ochrany životního prostředí, farmakologické použití a využití jako palivo. V zemědělství jsou tyto látky využívány zejména jako hnojivo v podobě humátů, příkladem průmyslového a farmakologického použití materiálů s obsahem huminových látek může být izolace huminových kyselin z hnědého uhlí, lignitu nebo rašeliny. [1]

Po aplikaci poté odchází v odpadních vodách na ČOV kde nepodléhají biochemickým pochodům a protékají tak ČOV téměř beze změny. Dochází tak ke zvyšování přirozené koncentrace těchto látek v povrchových a následně i v podzemních vodách. Ke stejnému problému dochází i při nadměrné aplikaci těchto látek v zemědělství. Negativní vliv huminových látek na ŽP nelze podceňovat, zaznamenána byla již řada prací studující interakce huminových látek s celou řadou xenobiotik, jako jsou alkalické kovy a amoniak za vzniku iontové vazby s HL (humínovými látkami), díky karboxylovým a fenolickým skupinám v HL dochází k fixaci toxických kovů do stabilních komplexů koordinační vazbou. Kovalentní vazbou vytváří HL stabilní makromolekuly s PAU (polyaromatickými uhlovodíky), dále např. s herbicidy obsahující iminoskupiny mohou s HL vznikat vodíkové můstky nebo nejběžnějším typem hydrofobních interakcí snižují toxicitu některých herbicidů a insekticidů. [2] Také interakce farmak s HK (humínové kyseliny) tvoří velký problém zvláště při analýzách odpadních vod. [3]

Z výše uvedených důvodů je nutné sledovat obsah huminových látek ve vodách a to zejména takových, které jsou určeny k následné úpravě (pitné, užitkové nebo provozní vody). K tomu lze využít celou řadu analytických metod od pokročilých instrumentálních technik jako např. HPLC nebo klasických metod jako např. spektrofotometrické stanovení. Hlavní náplní této práce je i praktické ověření extrakčního fotometrického stanovení huminových látek v povrchových a podzemních vodách, a případná optimalizace této metody pro potřeby výuky- laboratorních cvičení předmětu Technologie vody oboru Inženýrství ochrany životního prostředí FT, UTB Zlín. Následně je také úkolem, toto stanovení ověřit na reálných vzorcích povrchových a podzemních vod odebraných v různých lokalitách,

v blízkosti výukových prostor (FT, UTB) a odlehlých lokalit (Olomouc, Břest, Kvasice, Halenkovice, Napajedla, Hulín).

I. TEORETICKÁ ČÁST

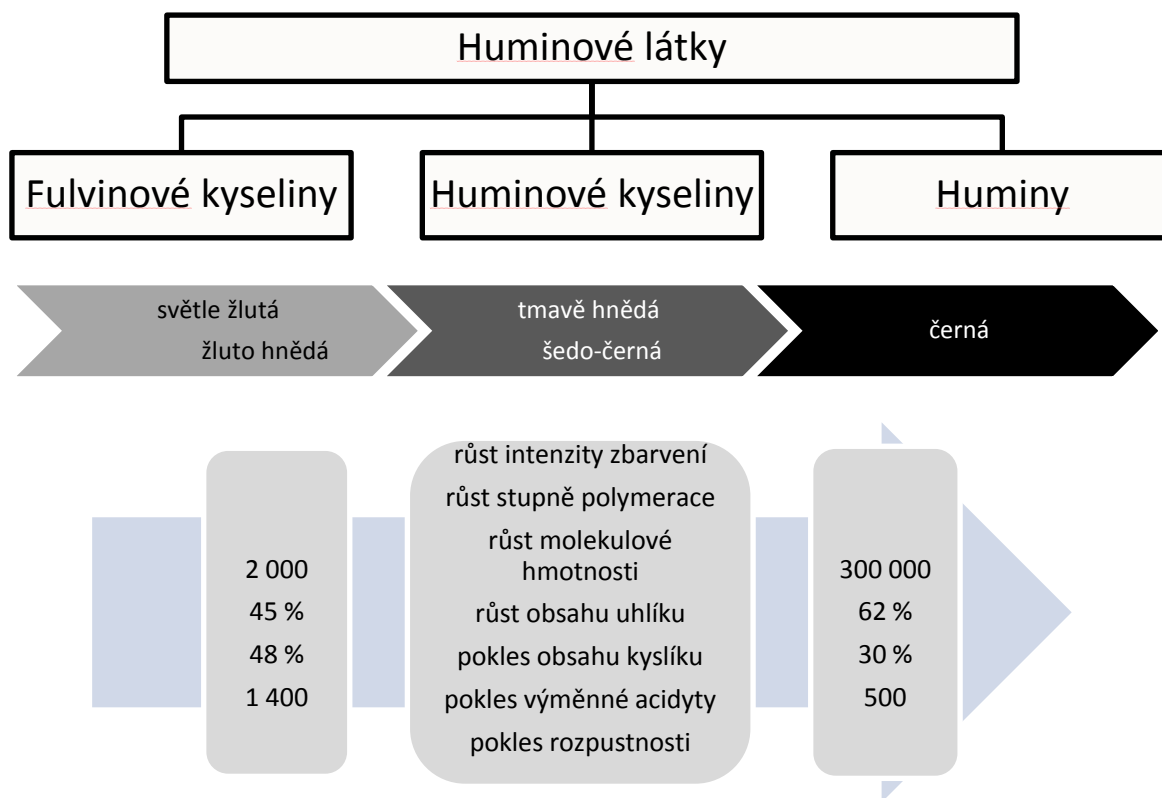
1 ZÁKLADNÍ CHARAKTERIZACE HUMINOVÝCH LÁTEK

Huminové látky (HL- huminové látky) jsou přírodní organické látky (NOM-Natural Organic Matter), které jsou významnou součástí povrchových vod. NOM se podle velikosti částic dělí na rozpuštěné (DOM-Dissolved Organic Matter) a nerozpuštěné (POM-Particulate Organic Matter) organické látky, mezi kterými je dohodou stanovená hranice 0,45 μm . Hlavní význam sledování DOM (respektive HL) v povrchových vodách spočívá ve výzkumu technologie úpravy surové vody na vodu pitnou, proto jsou HL už po řadu desetiletí předmětem velkého zájmu. DOM mohou být dvojího původu a to allochtonního (tj. výluhy organické hmoty z okolního prostředí) a autochtonního (tj. látky ve vodě přímo vznikající). DOM jsou tvořeny látkami huminového (HL) a nehuminového charakteru (bílkoviny, polysacharidy), jejich obsah v podzemních vodách je udáván v jednotkách ng.l^{-1} a v povrchových vodách to jsou desítky mg.l^{-1} [1], [4], [5].

HL obsažené ve vodách vznikají rozkladnými procesy rostlinné a živočišné hmoty (odumřelé vodní organismy, tlející listí a kusy dřeva atd.), či z výluhů z půd, rašelinišť a dnových sedimentů. Obecně se HL obsaženým ve vodách říká vodní humus, který je méně stabilizován oproti půdnímu humusu [6]. HL se nacházejí téměř ve všech přírodních vodách (v podzemních však málo). V našich povrchových vodách (hlavně ve stojatých), je obsah HL velmi vysoký, v některých oblastech jižní Moravy a Českomoravské vrchoviny až 500 mg.l^{-1} [4]. V nezbarvených povrchových vodách tvoří HL tradičně méně než 40 % rozpuštěného organického uhlíku (DOC), kdežto v rašelinných vodách může tato hodnota dosahovat až 80 % DOC [7].

Huminové látky patří mezi vysokomolekulární heterocyklické sloučeniny aromatického charakteru, které lze zařadit do skupiny polyfenolů a polykarboxylových kyselin s menším množstvím dusíkatých sloučenin (obsah dusíku od 1 do 4 hmotnostních %). Struktura HL je značně složitá a těžko identifikovatelná, ale je známá jejich hypotetická struktura, kde základní strukturální jednotkou jsou především polycyklické aromatické sloučeniny s bočními alifatickými řetězci a s vysokým obsahem hydrofilních skupin vázaných, jak na jádru, tak i v postranních řetězcích (obr. 2 a 3) [5], [6]. Mívají relativní molekulovou hmotnost v rozmezí asi od 10^2 do 10^5 [8]. Kromě aromatických jader byly zjištěny i chinoidní struktury, které jsou spolu s hydroxyskupinami příčinou jejich oxidačně-redukčních vlastností [5]. U HL jsou charakteristické zejména tyto funkční skupiny a to amidové, karboxylové, hydroxylové a ketonické, což je důsledkem jejich rozdílných fyzikálních a chemických

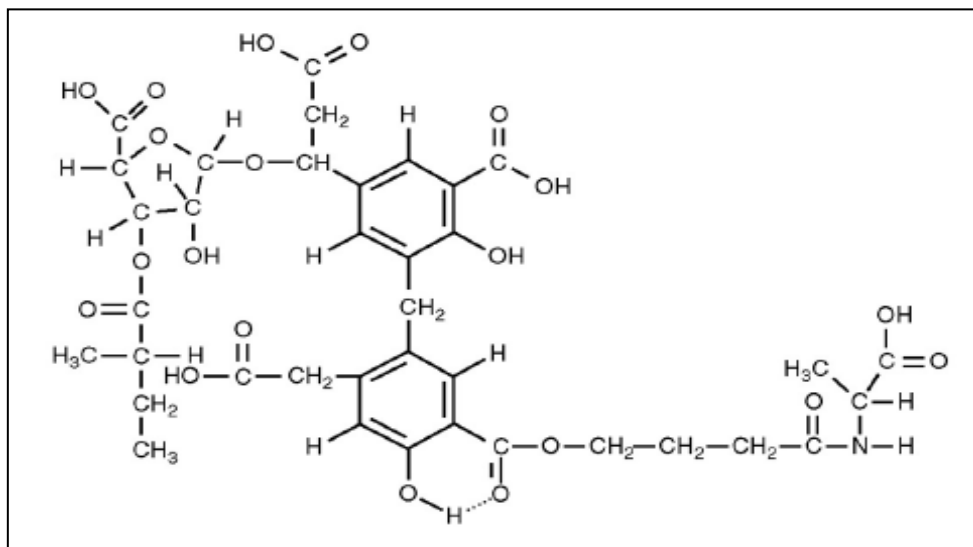
kých vlastností [6]. HL ve vodním humusu můžeme tradičně rozdělit podle jejich extrahovatelnosti zásadami a kyselinami na fulvinové kyseliny (FK), huminové kyseliny (HK) a huminy, které se od sebe liší chemickou strukturou a různou molekulovou hmotností [8]. Sumárně lze vlastnosti HL shrnout v jednoduchém schématu znázorněném na Obr. č. 1.



Obr. č. 1-Obecné schéma vlastností HL

Fulvokyseliny/fulvinové kyseliny

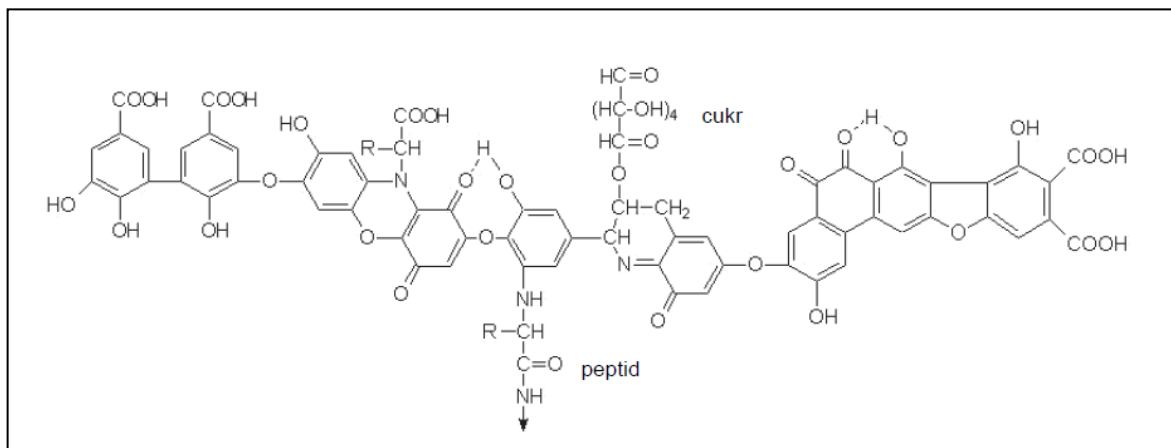
FK představují frakci HL, která je rozpustná ve vodě v celém rozmezí pH a která zůstává v matrici po kyselém odstranění HK. Zbarvení FK se ve vodných roztocích pohybuje v rozmezí od světle žluté až po žlutohnědé [8]. Od HK se liší nižší molekulovou hmotností. FK mají v molekule více molekul kyslíku a méně výrazný aromatický charakter než HK, jelikož mají až dvakrát více karboxylových skupin na rozdíl od fenolových, více alifatických postranních řetězců a na rozdíl od HK mají více homogenní strukturu, jak můžeme vidět na Obr. č. 2. Díky své lepší rozpustnosti od ostatních frakcí HL v přírodních vodách převládají. Procentuální prvkové složení FK je následující: 46-55 % uhlíku, 37-50 % kyslíku, 4-5 % vodíku a i nízký obsah dusíku a síry. Oproti HK mají FK silnější redukční vlastnosti [5], [6].



Obr. č. 2-Hypotetická struktura fulvinové kyseliny [8]

Huminové kyseliny

HK představují frakci HL, která není rozpustná v kyselých a neutrálních vodných roztocích, ale při vyšších hodnotách pH už rozpustná je. HK bývají získávány například alkalickým loužením vhodných matric s následným okyselením výluhu. Stevenson v roce 1972 a Harworthem v roce 1973 předložily téměř současně první hypotetickou strukturu HK, kterou můžeme vidět na Obr. č. 3. Jak je z něj patrné můžeme také vidět zabudování aromatické a hydroxyaromatické di-, tri-, a tetra- kyseliny. Obecně jsou HK považovány za komplexní aromatické molekuly, kde je spojení mezi jednotlivými aromatickými skupinami zajištěno aminokyselinami, aminocukry, peptidy a alifatické sloučeniny. Obsah hydroxylových skupin v HK je závislý na původní surovině a na způsobu přeměny HL [8]. Jejich procentuální prvkové složení je následující: 50-57 % uhlíku, 34-38 % kyslíku, 4-6 % vodíku a také dusík a síru [5]. HK vykazují polyaniontový charakter, jak je zřejmé z jejich struktury HK [8].



Obr. č. 3- Hypotetická struktura huminové kyseliny [8]

Vodné roztoky zásaditých HK se chovají jako povrchově aktivní látky, které snižují povrchové napětí vody. Se zvyšující se koncentrací HK povrchové napětí neustále klesá, až do určitého okamžiku nastane konstantní povrchové napětí i přes zvyšující se koncentraci HK. Pro mnoho povrchově aktivních látek to má za následek tvorbu agregátů, známé jako micely. Tento bod se nazývá kritická micelární koncentrace. Přítomnost těchto hydrofobních micel dává schopnost solubilize jinak nerozpustné sloučeniny na úroveň mnohokrát vyšší než jejich rozpustnost v tomto rozpouštědle samostatně nebo v roztocích s povrchově aktivní koncentrací pod kritickou micelární koncentrací. Tato skutečnost tvorby micel HK v alkalickém prostředí je prokázána až do extrémně vysokých koncentrací ($7,4 \text{ g HK.l}^{-1}$) [9].

Huminy

Huminy představují frakci HL, která je ve vodě nerozpustná jak při kyselé, tak i alkalické hodnotě pH. A tradičně se vykazuje černou barvou [8].

1.1 Výskyt huminových látek ve vodách

Jejich původ v přírodních vodách je směsí přírodních a syntetických pochodů, do kterých se řadí rozkladné, chemické, kondenzační, polymerační a biochemické reakce odumřelé organické hmoty. Veškeré tyto pochody mohou být shrnuty pojmem tzv. huminifikace. Druhým původcem HL v povrchových a podzemních vodách je antropogenní činnost a to z odpadu ze zemědělství, splaškových a průmyslových odpadních vod (vznikají např. při čištění fenolových odpadních vod) [5], [6].

Výskyt HL ve vodách je různý. Mohou se vyskytovat jako jednotlivé molekuly, nebo jsou vzájemně spojeny slabými vazebnými interakcemi do supramolekulárních struktur, či jako micelární koloidy s hydrofobní (uvnitř molekuly) a hydrofilní částí molekuly umístěnou vně molekuly [5].

1.2 Vliv huminových látek na kvalitu vody

HL zhoršují sensorické vlastnosti vody (zhoršují její chuť, barvu a zápach) [4]. Pro vody obsahující HL, je typická jak vysoká koncentrace těchto látek, ale také nízký obsah vápníku, hořčíku a hydrogenuhličitanových iontů a nízká hodnota pH. Ve většině přírodních vod za běžného pH jsou HL obsaženy jako negativně nabitě, povrchově aktivní makromolekuly, což je důsledkem vysokého obsahu karboxylových a hydroxylových funkčních skupin. Tyto funkční skupiny, zejména karboxylové jsou tedy i příčinou relativně silně kyselého charakteru (disociační konstanty jsou v řádu 10^{-2} - 10^{-5}), který se zvyšující se koncentrací HL roste. Zásadní vliv na pH mají substituenty v ortho poloze. S ovlivněním kyselosti HL dále souvisí polarita (dipólový moment) molekul, která vzniká důsledkem nerovnoměrného rozložení náboje daného přítomností polárních skupin. Platí, přímá úměra mezi polaritou a kyselostí HL a to tak, že čím vyšší je polarita, tím vyšší je i kyselost [5].

HL jsou známé i svou význačnou sorpční schopností, která je dána přítomností různých funkčních skupin v trojrozměrné struktuře HL. Díky tomuto komplexnímu charakteru vznikají interakce mezi HL a kationty (kationtová výměnná kapacita HL od 3 do 10 mmol.g⁻¹). Celková tvorba komplexů a chelátů s HL je tedy výsledkem kombinace specifických, elektrostatických, kovalentních interakcí a nespécifické elektrostatické interakce kovového iontu s negativním nábojem HL. Funkční skupiny HL jsou schopné vázat i organické látky antropogenního původu jako jsou pesticidy, herbicidy, polyaromatické uhlovodíky (PAU) a polychlorovanébifenyly (PCB), což způsobuje hromadění polutantu v tomto prostředí [5], [6]. Piccolo spolu s dalšími autory roku 1996 publikovali a poukázali na značnou adsorpci herbicidu glyfosátu na huminové látky, která se značně lišila se strukturou a rozměry jednotlivým makromolekul HL. Extrahovali čtyři HL z rašeliny (HK1), z vulkanické půdy (HK2), z oxidovaného uhlí (HK3) a lignitu (HK4). Tyto čtyři HL měly zřetelné rozdíly v jejich fyzikálně-chemických vlastnostech, které zhodnotili pomocí ¹³C-NMR a HPLC, kdy zkoumali i jejich interakci s glyfosátem a zjistili toto pořadí účinnosti adsorpce glyfosátu na HK: HK1 > HK2 > HK3 ≥ HK4 [10]. Chelatační schopnost HL má i kladný účinek na lidské zdraví a to omezením absorpce cholesterolu v žaludku a tlustém

střevě. HL jsou také aktivní v řadě tkání (významně na povrchu buněčných membrán) a významná je i mezimolekulární interakce s řadou lipofilních látek [11].

Při úpravě povrchových vod na vodu pitnou procesem chlorace tvoří HL toxické trichlormethany [7]. Dá se tedy říci, že HL působí jako prekurzory tvorby haloformů. Tato problematika je sledována již od roku 1974, po první publikaci výsledků rozborů s pozitivním výsledkem na trihalogenmethanů (THM) v pitných vodách po dezinfekci chlorem, kde se THM běžně pohybují v rozmezí $5 \mu\text{g l}^{-1}$ do $100 \mu\text{g l}^{-1}$ a z toho je nejvíce trichlormethanů. Experimentálně byl zjištěn poměr vzniku těchto sloučenin, kdy u FK je až 60 % vyšší tvorba haloformů než u FK [6], [12]. Tradičně se udává, že z 2,5 mg HL může vzniknout až 30 μg trichlormethanu [6]. Tomuto jevu můžeme předcházet jinou úpravou (či předpravou) vod s obsahem HL, jako je chemická úprava destabilizací a následnou agregací (koagulace/flokulace) HL. Musíme však brát v potaz, že touto cestou se odstraní především vysokomolekulární HL a nízkomolekulární FK jsou odstraňovány iontovou výměnou (iontoměniče na bázi celulózy- DEAE celuloza, Sephadex), která je účinnější než adsorpce na aktivní uhlí [4], [5].

Vzhledem k výše uvedeným vlastnostem jsou HL v pitných, užitkových a provozních vodách nežádoucí, z čehož plyne, že patří mezi ukazatele jakosti vody, za předpokladu úpravy na vodu pitnou. Z hygienického hlediska jsou málo škodlivé, za prahovou hranici pro teplokrevné živočichy se považuje obsah 100 mg.l^{-1} v pitné vodě. Podle ČSN 86 06 11 je v pitné vodě přípustný obsah HL maximálně $2,5 \text{ mg.l}^{-1}$ [4], [6], [9].

1.3 Využití huminových látek

V současnosti jsou HL hojně využívány v různých oblastech, jako je aplikace v zemědělství, kde fungují jako stimulant růstu, kdy stimulují rostlinné enzymy a zvyšují jejich produkci, a také působí jako organické katalyzátory v mnohých biologických procesech. Další oblastí je průmyslové využití, zejména izolace HK oxihumolitu, lignitu a dalších zdrojů. V oblasti ochrany životního prostředí se využívají při fyto-remediačních technologiích kontaminovaných půd, také redukují problém zasolování při aplikaci ve vodě rozpustných minerálních hnojiv. V neposlední řadě jsou HK efektivním řešením v boji proti půdní erozi, ve farmakologii (dietní doplňky stravy) a také slouží jako palivo.

Z různorodých vlastností HL je zřejmé, že mají širokou perspektivitu uplatnění. Významná je jejich biologická aktivita, která hraje velkou roli v biochemických procesech ve fyziolo-

gii rostlinných buněk a stále narůstá s novými možnostmi jejich aplikací. HL mohou mít na růst mikroorganismů kromě stimulačního účinku i účinek retardační [1], [13], [14]. Biologická aktivita HK se zjišťuje např. pomocí měření délky kořenového systému rostliny. Hospodářské rostliny, na které HK působí pozitivně, jsou rozděleny do čtyř skupin: rostliny bohaté na uhlohydráty- velmi pozitivní působení, obilniny- mírný vliv, rostliny bohaté na proteiny- jen minimální vliv, olejnaté rostliny- negativní vliv HK na vývoj rostlin [2].

Dalším příkladem využití HL v technické praxi je např. použití oxyhumolitů a derivátů HK jako „přírodních ionexů“ třeba pro zachycení toxických kovů (Pb, Hg, Cd, Cu, Zn, Ni, Cr), tedy spíše jejich iontů z odpadní vody. V tomto případě je nejvhodnější použití v rozmezí koncentrace těžkých kovů od 1 až po 10 mg.l⁻¹. Tyto látky jsou „ekologicky nezávadné“, se srovnatelnou vazebnou silou jako u průmyslových ionexů.

V papírenském průmyslu se uplatňuje humát sodný (HNa) jako barvivo papíru, a zároveň zvyšuje retenci papíroviny a snižuje průnik toxických prvků do podsítných vod.

Ve stavebnictví jsou HK uplatňovány jako účinná složka plastifikátorů betonových směsí, kde jsou řešením pro zamezení hydratace cementu a zachování konzistence během její dopravy.

A v neposlední řadě je tu humánní a veterinární medicína, kde HK uplatňují léčivé účinky jak u lidí, tak i u zvířat, díky své schopnosti vazby rizikových prvků, fyziologických procesů a pohlcování UV záření [1], [13].

2 METODY STANOVENÍ HUMINOVÝCH LÁTEK VE VODÁCH

K nejběžněji používaným metodám pro charakterizaci HL patří elementární analýza a určení obsahu funkčních skupin [15]. Huminové látky ve vodách lze analyticky stanovit přímo i nepřímo metodou [6]. Stanovení se většinou skládá ze dvou kroků a to extrakce HL a samotného stanovení. V současné době se doporučuje mnoho postupů stanovení jako např. oxidimetrické (nespecifické), spektrofotometrické ve viditelné oblasti i v ultrafialové oblasti světla, luminiscenční, elektrochemické a další [4], [16].

2.1 Extrakce HL

Extrakce je dělicí metoda, která je založena na distribuci složky mezi dvě kapalně fáze, které jsou v podstatě nemísitelné. Tato dělicí schopnost je podmíněna selektivní rozpustností látek (solutů) v rozpouštědlech (solventech). Selektivita solventů na solut závisí na povaze sil, které se uplatňují při rozpouštění. Volba vhodného solventu tedy pak závisí na znalosti těchto interakcí. Jednorázová extrakce z kapaliny do kapaliny se provádí v dělicích nálevkách, této metodě se též říká vytřepávání [17]. HL lze izolovat například i pomocí vakuové destilace za nízkých teplot, kdy ale dojde k izolování veškerých DOM a toto nastává i u lyofilizace či u levné metody vymražování. Z těchto důvodů se tedy nejčastěji používá extrakce pomocí vhodného organického rozpouštědla. Některé další typy izolačních metod jsou shrnuty v Tab. č. 1 [4].

Tab. č. 1-Metody izolace vodných HL

EXTRAKCE	VÝHODY	NEVÝHODY
Vymražování	Levná a jednoduchá	Pomalá Zkoncentrovány všechny DOM
Extrakce pomocí rozpouštědla	Anorganické soli se účinně oddělí	HL jsou nerozpustné v řadě rozpouštědel Je pomalá
Lyofilizace	Vysoký koncentrační faktor	Pomalá Zkoncentrovány všechny DOM
Ultrafiltrace	DOM jsou frakcionované podle velikosti molekul Mohou být použity větší objemy	Možnost interakce s membránou Možnost zanášení membrány

Po extrakci HL následuje stanovení molekulových hmotností, identifikace nejčastěji pomocí ultrafialové a viditelné spektroskopie, infračervené spektroskopie, luminiscenční spektroskopie- fluorescence, nukleární magnetické rezonance, elektronové paramagnetické rezonance, plynovou či kapalinovou chromatografií s normálními či obrácenými fázemi a identifikací pomocí hmotnostní spektroskopie apod. Následkem složité struktury HL je, že lze charakterizovat pouze skupinově jako HK nebo FK bez přesnější identifikace [4].

2.2 Metody stanovení

Nepřímé stanovení lze použít u vod, kde z organických látek huminové látky zcela převládají. Pak se jejich koncentrace zjišťuje z hodnoty $CHSK_{Mn}$, která se násobí empirickým faktorem asi 1,2 (což je převrácená hodnota průměrné specifické $CHSK_{Mn}$ asi $0,84 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$), platícím pro rašelinné vody ČR. Obdobně to platí i o hodnotě DOC, která se násobí faktorem 2,0 (uvádí se, že u HL $CHSK_{Cr} \approx \text{DOC}$) [6].

Klasická přímá metoda je založena na ztmavnutí vody s obsahem HL po její alkalizaci. Intenzita barvy vody se značně zvyšuje s rostoucí koncentrací HL. Stanovení se provádí tak, že huminové látky se extrahují z kyselého prostředí do pentanolu a následně se reextrahují roztokem hydroxidu sodného. Měří se absorbance alkalického roztoku při 254 nm nebo 420 nm. Pro přepočítání absorbance na koncentraci se používá buď empirický koeficient (platný pro rašelinné vody v ČR), nebo i komerční standard (např. Merck, Aldrich).

V poslední době se používá zakoncentrování na různých absorbentech (Sephadex-DEAE-celulosa, pryskyřice XAD) s následující elucí roztokem hydroxidu sodného. Po odstranění anorganických forem uhlíku se stanoví DOC. Koncentrace huminových látek se získá vynásobením DOC v $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ dvěma, protože huminové látky obsahují přibližně 50 % C [6].

Další metodu stanovení publikoval G. L. Burn a D. L. Milburn v Analytických listech a to automatickou fluorescenční analýzu huminových látek v přírodní vodě, v rozsahu $0,5 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ do $20 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ [18]. De Wit, Van Riemsdijk a Nederlof analyzovali huminové látky s využitím jejich variabilního elektrického potenciálu a různých vazebných míst vedoucích k chemické heterogenitě. Metodika je založena na acidobazických titracích na několika úrovních [19]. Stanovení chlorovaných HL ve vodě plynovou chromatografií s mikrovlnou detekcí emise plazmatu publikoval Quimby a kolektiv v Analytické chemii [20]. Malé, ale významné poklesy v difúzních koeficientech byly pozorovány s klesajícím pH, s největší pravděpodobností to znamená, že nastává malá míra agregace (tvorba dime-

rů a trimerů). Tuto metodu stanovení difúzních koeficientů HL podle fluorescenční korelační spektroskopie použil a publikoval Lead, Wilkinson a kolektiv ve Švýcarsku. [21] Molekulové hmotnosti extraktů huminových kyselin a fulvinových kyselin se stanovují zkoumáním sedimentačních rovnováh pomocí analytické ultracentrifugy vybavené UV snímacím systémem. Systém umožňuje provádět měření při nízkých koncentracích huminových látek, které existují v přirozeně humózně bohaté vodě. Toto publikovali Reid, Wilkinson, Tipping a Jones v Anglii. [22] Další použitá metoda je extrakční fotometrické stanovení, která je založena na extrahování huminových látek při nízkém pH do pentanolu. Po oddělení vodné fáze se z pentanolu zpětně extrahují roztokem hydroxidu sodného. Pro vyhodnocení se používá empirický přepočtový koeficient, který byl stanoven pro střední složení rašelinových vod v naší oblasti. Platí pro UV/VIS spektroskopii pro absorpenci měřenou v kyvetách o tloušťce 1 cm, při vlnové délce 420 nm. Tato metoda stanovení podrobněji popsána v České technické normě jakosti vody ČSN 75 7536 stanovení huminových látek. [7] Fuchs a Kohler uvádí spektrofotometrické stanovení HL v ultrafialové oblasti. Sontheimer a Wagner popisují stanovení HL vedle ligninsulfonových kyselin v oblasti 250 až 300 nm z ultrafialových spekter, po jejich extrakci alaminem a chloroformem. Stanovení HL lze provést také gravimetricky, např. po vysrážení dusičnanem olovnatým, a to stanovením hmotnosti vysrážených humátů po odečtení zvlášť stanoveného obsahu těžkého kovu [16]. Novák a Hrabal použili kvalitativní metodu nukleární magnetické resonance (NMR), která je založena na měření spektra huminových látek, důsledkem pootočení spinu jader isotopu přírodního uhlíku ^{13}C . Určitý problém pro měření představuje přirozená složitost huminových kyselin, která ovlivňuje spin-mřížku. [23] Jednoduchou metodu stanovení HL a železa popsal Carperter a kolektiv, kdy měřili absorpenci filtrovaných vzorků vody při 365 nm, kde absorbují jak HL, tak i železité ionty Fe^{3+} . Potom k alikvótnímu podílu přidali kyselinu askorbovou a ferozin a měřili absorpenci při 562 nm, kde absorbuje jen železo. Autoři dosáhli mez stanovení pro HL 0,01 mg/l a 0,04 mol/l pro železo. Další možnou metodou stanovení HL je infračervená spektroskopie, kdy HL v IR spektrech dva charakteristické pásy při $3\,400\text{ cm}^{-1}$ (OH stretching) a $1\,640\text{ cm}^{-1}$ (C-C v konjugaci s karbonylem) [4]. Pomocí tohoto principu IR spektroskopie také zkoumali Piccolo a Stevenson komplexy kationových kovů Cu^{2+} , Pb^{2+} a Ca^{2+} s HL a zjistili zdánlivý řád reakce těchto tří dvojmocných kovů s HK v tomto pořadí: $\text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Ca}^{2+}$. [24]

SHRNUTÍ LITERÁRNÍ ČÁSTI

Z biochemického hlediska jsou HL velmi rezistentní a chemicky velmi dobře oxidovatelné. Díky své struktuře a chemickému složení HL v přírodních vodách způsobují např. zhoršení senzoryckých vlastností vod, či zvyšování kyselosti vod s rostoucím obsahem HL. Významnou vlastností je také komplexace s kovy i s řadou již výše jmenovanými xenobiotiky, adsorpce kovů a v neposlední řadě jsou prekurzorem karcinogenních trihalogenmethanů při úpravě vody surové na vodu pitnou chlorací. Vzhledem k výše uvedeným vlastnostem jsou HL již po řadu let monitorovány.

Proto je cílem mé bakalářské práce ověření extrakčního fotometrického stanovení v konkrétních vzorcích vody a také aplikace tohoto postupu na mnou zvolené modelové látky a snaha o optimalizaci tohoto postupu pro potřeby výuky laboratoří Technologie vody na naší universitě.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Extrakční fotometrické stanovení huminových látek ve vodách

Do dělicí nálevky o objemu 500 ml bylo odměřeno 250 ml vzorku, přidalo se 5 ml koncentrované kyseliny sírové a celý obsah dělicí nálevky se promíchal. Přidalo se 25 ml pentan-1-olu a směs se intenzivně třepala po dobu 1 minuty a nechala se v klidu 2 hodiny pro oddělení fází. Poté se spodní vodná vrstva oddělila a extrakt se mírně protřepal a po několika minutách se odpustil zbytek vodné fáze. K zbylému extraktu se přidalo 25 ml 0,5 % hydroxidu sodného a opět se celý obsah mírně protřepal po dobu 10 sekund. Asi po 10 minutách stání se opět fáze rozvrstvíly a stonkem dělicí nálevky se vypustily asi 2 až 4 ml přebytečného kyselého zbytku. Poté se zbytek čirého roztoku (asi 10 až 15 ml) přefiltroval do suché odměrné baňky přes kvantitativní filtr a změřila se absorbance extraktu v kyvetě s optickou dráhou 1 cm, při vlnové délce 420 nm proti destilované vodě. Tato metoda je empirická a k výpočtu hmotnostní koncentrace HL (Rovnice /1/) se používá empirický koeficient (získaný při analýze 115 vzorků rašelinných vod z různých částí České republiky). Hodnoty empirických koeficientů pro různé optické délky jsou uvedeny u vysvětlení symbolů rovnice /1/.

Současně se vzorky se stejným způsobem zpracovalo i slepé stanovení s použitím destilované vody místo vzorku [7].

Výpočet hmotnostní koncentrace HL

Hmotnostní koncentrace huminových látek se vypočte podle ČSN 757536 [7]

$$\rho_{HL} = (A - A_o) \cdot K_p \quad /1/$$

Kde:

ρ_{HL} hmotnostní koncentrace huminových látek [$mg.l^{-1}$]

A absorbance extraktu vzorku [1]

A_o absorbance slepého stanovení [1]

K_p empirický koeficient pro různé optické délky kyvet	K_p	l [cm]
	68	1
	34	2
	13,6	5

Tato metoda slouží pro stanovení HL v povrchové a surové vody určenou k úpravě na vodu pitnou, či při rozboru pitné vody. Metodu lze použít v rozsahu hmotnostních koncentrací od 0,5 mg/l až do 15 mg/l v kyvetách o optické délce 5 cm. Vyšší koncentrace lze stanovit v kyvetách o kratších optických délkách. Rušivý vliv tohoto stanovení může být přítomnost barevných látek obdobných vlastností (sloučeniny fenolového typu), močové pigmenty, třísloviny a melaniny [7].

Použité chemikálie a činidla

Používají se chemikálie analytické čistoty [7] a to

- Destilovaná voda
- Kyselina sírová- extra čistá, $\rho(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1,84 \text{ g/mol}$

Dodává: Ing. Petr Lukeš, Osvoboditelů 1815, Uherský Brod

- Pentan-1-ol p. a., $\text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}$ $M_r = 88,15$

LOBA CHEMIE WIEN-FISCHAMEND

- Hydroxid sodný p. a., NaOH $M_r = 40,00$, použitý vodný roztok $w(\text{NaOH}) = 0,5\%$

Ing. Petr Švec, PENTA- Výrobní divize Chrudim

Příprava zásobního roztoku 0,5 hmot. % hydroxidu sodného

Byl připraven vodný roztok hydroxidu sodného o hmotnostní koncentraci 0,5 % kvantitativním převedením (po naprostém rozpuštění asi v 800 ml destilované vody) navážky 5 g komerčně dodávaného hydroxidu sodného (p. a.) do 1000 ml odměrné baňky a doplněním destilovanou vodou po rysku.

Přístroje a pomůcky

Používá se obvyklé laboratorní vybavení, laboratorní sklo a dále [7]:

- Papírové filtry modrá páska; FILTRAK, Německo
- Dělicí nálevky na 500 ml, odměrné baňky 250 ml, 100 ml, 25 ml
- Spektrofotometr-SPEKOL 11; Carl Zeiss- JENA

- Spektrofotometr UV 540- UNICAM UV 500; Thermo Spectronic, Mercers Row, Cambridge, United Kingdom
- Laboratorní pec- mikroTHERM 825
- Sušárna UM 100-Memmert, Německo
- Analytické váhy KERN 770; KERN & Sohn GmbH, Německo
- Váhy KERN WEW 1500- 2M, Německo
- Analyzátor TOC-5000A; SHIMADZU CORPORATION, Japonsko

3.2 Analyzované vzorky povrchové o podzemní vody

Mezi hlavní faktory ovlivňující kvalitu vody patří hydrogeologické poměry. Charakter půdního podloží úzce souvisí s obsahem HL. Nejvíce analyzovaných vzorků bylo odebráno ve Zlínském kraji, který je z velké části tvořen jílovci s jemnozrnnými křemennými pís-kovci. Pro tuto lokalitu je charakteristická velikost zrn od 0,063 mm do 0,10 mm s vysokým obsahem zirkonové frakce. Z hydrologických poměrů povodí Moravy obsahuje flyšové sedimenty. Jílové podloží je charakteristické nízkou propustností, což zabraňuje pohybu podzemní vody a urychluje vertikální oběh ve vrchní hranici podloží [25]. Jeden vzorek povrchové stojaté vody byl odebrán v Olomouci, v lokalitě, která je z geologického hlediska skládá z usazených hornin, jako jsou hlíny, spraše, štěrky a písky. Velikost pórů se pohybuje od několika milimetrů do 0,002 mm. Pro tyto materiály je charakteristická pórovitost a pro vodu silná propustnost. Odběrné místo se nacházelo v blízkosti řeky Mo-ravy, z toho lze usoudit, že okolní hlíny byly aluviální (povodňové). Pro tyto hlíny je cha-rakteristická stlačitelnost. Hladina podzemní vody kopíruje hladinu řeky, což při povod-ních způsobuje výstup vody na povrch [26].

Byla odebrána řada vzorků vod v blízkosti výukových prostor FT UTB, ale i odlehlejších lokalitách. Vzorky byly odebrány v půl metrové vzdálenosti od bředu. Vzorky byly odbí-rány do čistých, destilovanou vodou promytých PET lahví. Před samotným odběrem byly třikrát vypláchnuty odebíraným vzorkem. Vzorkovnice byla označena potřebnými parame-try a byly po uchování v chladu analyzovány nejpozději do 24 hodin. Před samotným sta-novením byly jednotlivé vzorky ještě přefiltrovány přes papírový filtr.

Tab. č. 2- Charakterizace vzorků vod

ZDROJ	GPS SOUŘEDNICE	LOKALITA
POVRCHOVÉ VODY		
Stojaté		
Nový rybník	17,43118°E; 49,34434°N	Břest
Starý rybník	17,43062°E; 49,34297°N	Břest
Nepstruhový rybník	17,27587°E; 49,56461°N	Olomouc
Rybník	17,46858°E; 49,23450°N	Kvasice
Tekoucí		
Řeka Dřevnice	17,65763°E; 49,22751°N	Zlín
Řeka Morava	17,50938°E; 49,17070°N	Napajedla u Fatry
Řeka Morava	17,50824°E; 49,15799°N	Napajedla za ČOV
Rybník- Pahrbek	17,51132°E; 49,15664°N	Napajedla
Rybník-U dvora	17,47586°E; 49,14401°N	Halenkovice
PODZEMNÍ VODY		
Studna (hloubka 5 m)	17,46305°E; 49,17124°N	Halenkovice
Studna (hloubka 8 m)	17,47023°E; 49,32833°N	Hulín
Studna (hloubka 5 m)	17,44766°E; 49,35019°N	Břest

3.3 Modelové látky

Modelová látka 1

LIGNOHUMÁT-pomocný rostlinný přípravek, výrobce: NPO“RET“, Sankt Peterburg, Rusko. Jedná se o vodný roztok huminových látek získaných hydrolyticko-oxidačním rozkladem technických lignosulfonátů, s vlhkostí maximálně 90 %. Obsah HL v sušině je minimálně 60 %, představuje směs huminových a fulvinových kyselin a jejich solí, z nichž fulvinové kyseliny a jejich soli převládají. Hodnota pH se pohybuje v rozmezí 8-10 a obsah nečistot, které zůstávají na síti (0,5 mm) je maximálně 0,5%. Minimální obsah spalitelných látek v sušině je 55 %. Veškeré uvedené charakteristiky byly udány výrobcem.

Modelová látka 2

LIGNOHUMÁT- zahradní 6 %, výrobce: AMAGRO s. r. o., Praha. Lignohumát je přírodní produkt s obsahem fulvinových látek a huminových kyselin, který činí minimálně 3 %. Vedle toho obsahuje mikroprvky v chelátové formě (železo, mangan, měď, molybden, zinek, bor a kobalt). Hodnota pH se pohybuje v rozmezí 8-10 a obsah nečistot na síť (0,5 mm) je maximálně 0,5 %. Veškeré výše uvedené hodnoty byly udány výrobcem.

3.4 Laboratorní postupy a analýzy

Stanovení veškerých látek a ztráty žiháním

Stanovení spočívalo v odpaření 5 ml homogenizovaného množství vodného vzorku v sušárně při 105 °C do konstantní hmotnosti a následně se zvážil vysušený odparek. Pro stanovení zbytku po žihání se sušina vyžihala při teplotě 550 °C opět do konstantní hmotnosti a zvážila se. Ztráta žiháním se zjistila výpočtem [16].

Postup stanovení veškerých látek

Do předem vyžihaného a zváženého porcelánového kelímku se odměřilo 5 ml homogenizovaného vodného vzorku modelové látky. Tento vzorek byl sušen v sušárně při 105 °C do konstantní hmotnosti. Po ochlazení v exsikátoru se kelímek zváží a vypočte se obsah veškerých látek dle Rovnice /2/ [16].

Postup stanovení ztráty žiháním

Vysušený vzorek v kelímku se vyžihá při teplotě 550 °C do konstantní hmotnosti (2 hodiny). Kelímek s vyžihaným vzorkem se poté nechá v exsikátoru ochladit na laboratorní teplotu a zváží se. Poté se vypočítá zbytek po žihání podle Rovnice 3 [16].

$$VL_{105} = \frac{1000 \cdot (m_2 - m_1)}{V_0} \quad /2/$$

$$Z\check{Z}_{550} = \frac{100 \cdot (m_2 - m_3)}{(m_2 - m_1)} \quad /3/$$

Kde:

VL_{105} hmotnostní koncentrace veškerých látek [mg l^{-1}]

$Z\check{Z}_{550}$ ztráta žiháním v sušině [%]

m_1	hmotnost porcelánového kelímku [mg]
m_2	hmotnost porcelánového kelímku s odparkem [mg]
m_3	hmotnost porcelánového kelímku se zbytkem po žihání [mg]
V_0	objem vzorku použitý pro stanovení [ml]

Stanovení celkového organického uhlíku (TOC)

Vlastní stanovení TOC bylo založeno na principu oxidace organických látek ze vzorku ve spalovací trubici s platinovým katalyzátorem při 670 ° C v proudu kyslíku. Vzniklý oxid uhličitý je veden do NDIR detektoru (Non-disperse infrared detector), kde signál vznikající absorpcí příslušné vlnové délky je registrován jako plocha píku přímo úměrná koncentraci TC ve vzorku. Stejným způsobem se získá i hodnota IC (IC- anorganického uhlíku). Koncentrace TOC lze získat tím, že se odečte koncentrace anorganického uhlíku od koncentrace celkového uhlíku ($TOC = TC - IC$) [27].

3.5 Optimalizace metody stanovení huminových látek

Vzhledem k tomu, že extrakční fotometrické stanovení HL ve vodách je časově náročné, díky dvou hodinové době extrakce, tak jedním z pokusů byla i optimalizace této metody z hlediska doby extrakce za použití modelových látek. Proměřena byla časová závislost extrakce 250 ml připraveného roztoku již stanovené modelové látky 1 (o známé koncentraci) po 15 minutách až do určené 2 hodinové extrakce. Podle již výše popsaného postupu byly u jednotlivých frakcí změřeny absorbance a podle rovnice /1/ vypočteny koncentrace HL.

Dalším krokem k optimalizaci této metody stanovení HL spočívala v tom, že byla připravena řada roztoku odpipetováním určitých objemů jednotlivých modelových látek a doplněním 0,5 % roztokem hydroxidu sodného po rysku v odměrné baňce do 250 ml a u těchto roztoků byla změřena absorbance proti vodě i proti hydroxidu. Z těchto hodnot absorbancí byla sestavena kalibrační závislost a z rovnice regrese této závislosti byly vypočteny teoretické koncentrace huminových látek u jednotlivých roztoků, které byly následně porovnány s hodnotami koncentrací zjištěnými experimentálně fotoextrakčním stanovením roztoků modelových látek o různých koncentracích.

Snaha o optimalizaci metody stanovení HL vyplývá z požadavků pro potřeby výuky laboratoří- Technologie vody, kdy by použití modelových látek pro přípravu kalibračních roztoků bez samotné extrakce mělo vést k vyplnění časové prodlevy u fotoextrakčního stano-

vení reálných vzorků vody a sestavení kalibrační křivky, do které by se vložily experimentálně zjištěné výsledky koncentrací HL v jednotlivých vzorcích vody.

4 DISKUZE A VÝSLEDKY

Cílem této práce bylo praktické ověření extrakčního fotometrického stanovení huminových látek v povrchových a podzemních vodách, a případná optimalizace této metody pro potřeby výuky. Následně bylo také úkolem, toto stanovení ověřit na reálných vzorcích povrchových a podzemních vod odebraných v různých lokalitách, dle vlastního uvážení. V neposlední řadě byla snaha o výběr a porovnání vhodné modelové látky pro přípravu modelových vod a pro případnou přípravu kalibračních roztoků.

Následující data nejsou diskutována chronologicky, ale tématicky podle logické návaznosti prováděných kroků.

4.1 Stanovení HL ve vodách – výpočet obsahu HL pomocí empirického vztahu dle ČSN 757536

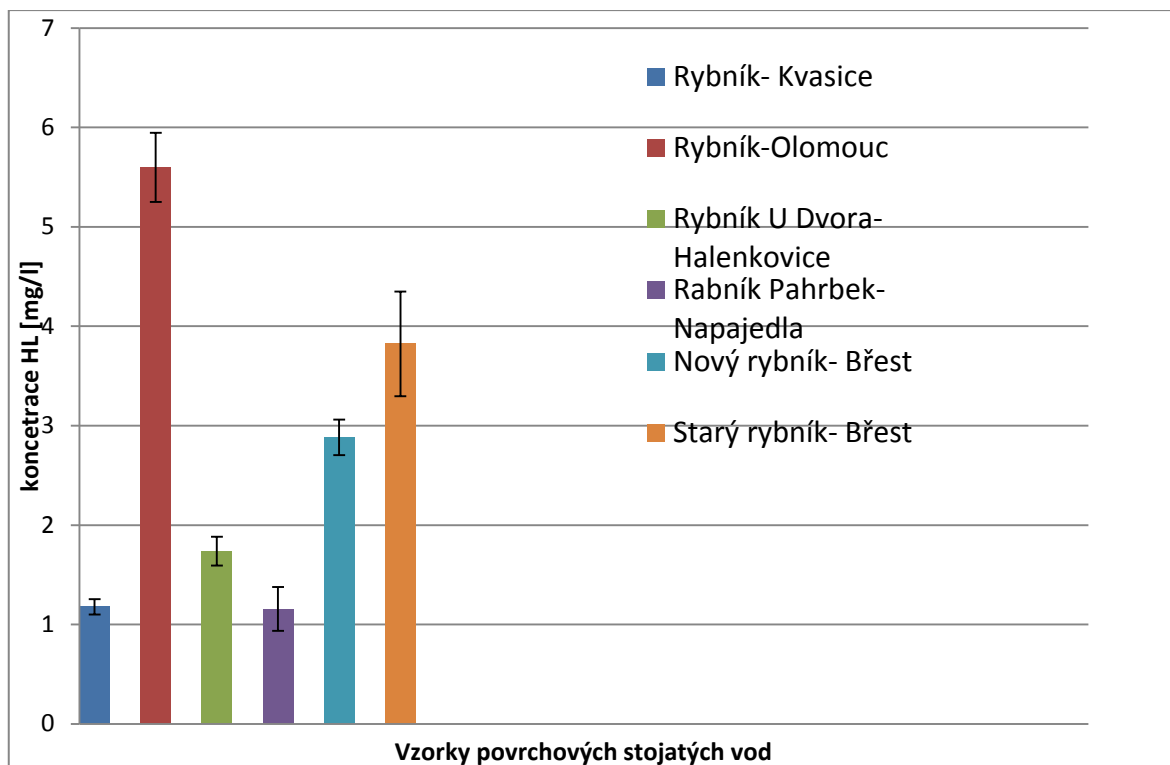
Touto metodou byla stanovena řada vzorků povrchové a podzemní vody (Tab. č. 2), jelikož řada autorů v literatuře udává, že je obsah HL v povrchových vodách značný a vyšší než ve vodách podzemních. Odběry byly provedeny dle subjektivního uvážení a nebyly odebrány systematicky. Důvodem odběru bylo viditelné zbarvení vzorků vod na žluté, tak i hnědé barvy, které je charakteristické právě pro vody obsahující HL. Jedinou výjimkou byly vzorky podzemní vody ze studny v Halenkovicích a v Břestě, jelikož sloužily jako zdroj pitné vody a byla předpokládána žádná či nízká koncentrace HL, která by měla být srovnatelná se slepým stanovením. Odebrané vzorky vody byly před samotným stanovením přefiltrovány přes papírový filtr. Poté bylo odebráno 250 ml vzorku do dělicí nálevky a postupovalo se dle výše podrobněji popsaného postupu (kap. 3.2). Po změření absorbance extraktů při vlnové délce 420 nm v 1 cm kyvetách byla z těchto hodnot absorbance dle Rovnice /1/ vypočtena hmotnostní koncentrace HL ve vzorcích vod viz Tab. č. 3.

Tab. č. 3- Koncentrace huminových látek ve vzorcích vody vypočteny dle empirického vztahu /1/

LOKALITA	průměrná A₄₂₀ [1]	Odchylka A₄₂₀ [1]	ρ_{HL} [mg.l⁻¹]
Slepý pokus	0,035	0,006	0,000
POVRCHOVÉ VODY			
Stojaté			
Nový rybník-Břest	0,078	0,003	0,179
Starý rybník-Břest	0,091	0,008	0,525
Rybník-Olomouc	0,117	0,005	5,599
Rybník- Kvasice	0,052	0,001	1,179
Rybník Pahrbek- Napajedla	0,052	0,003	1,156
Rybník U dvora-Halenkovice	0,061	0,002	1,738
Tekoucí			
Dřevnice-Zlín	0,078	0,003	2,932
Morava u Fatry- Napajedla	0,061	0,001	1,783
Morava za ČOV-Napajedla	0,060	0,005	1,700
PODZEMNÍ VODY			
Studna-Halenkovice	0,039	0,005	0,234
Studna-Hulín	0,054	0,003	1,296
Studna-Břest	0,041	0,001	0,389

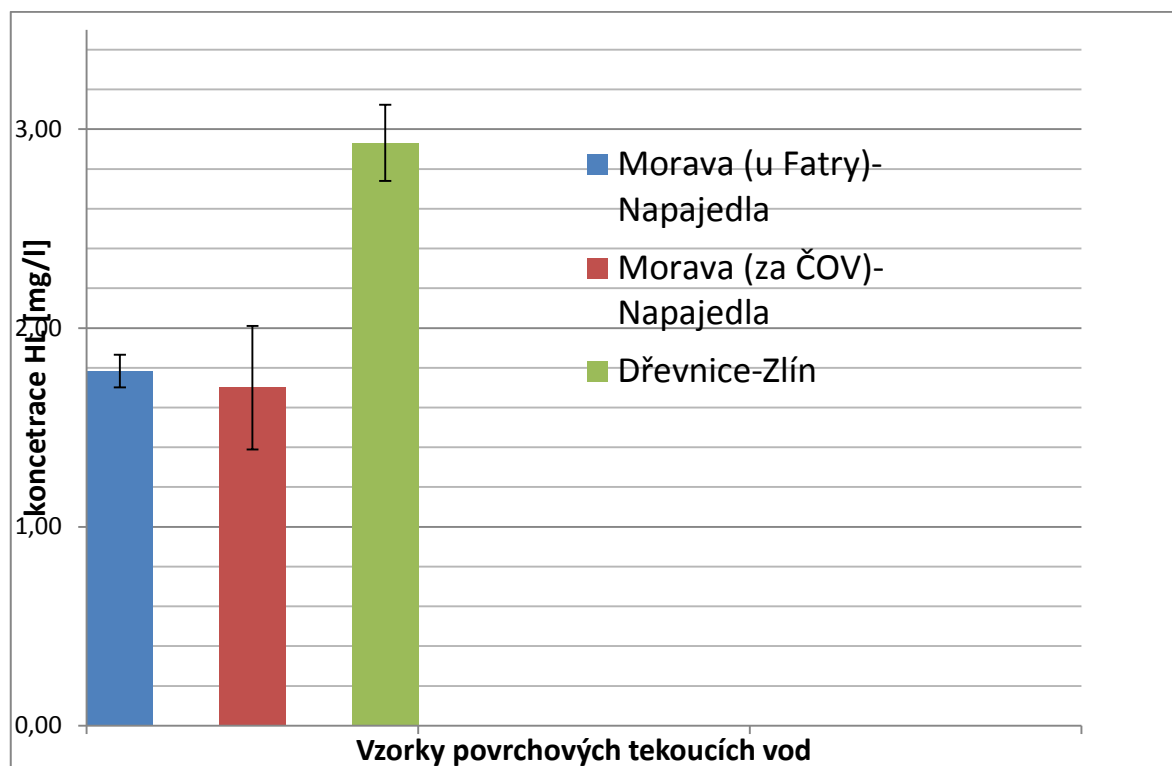
Extrakčním fotometrickým stanovením byly stanoveny hmotnostní koncentrace HL v konkrétních vzorcích povrchových a podzemních vod. Již v teoretické části této práce je uvedena informace o všeobecně vyšší koncentraci HL v povrchových vodách než je koncentrace HL ve vodách podzemních [4]. Toto tvrzení bylo experimentálně prokázáno, jak můžeme vidět v Tab. č. 3. Ve vzorcích povrchových vod se obsah HL značně lišil, nejvyšší koncentrace HL byla naměřena ve vzorku vody z nepstruhového rybníku- Olomouc a v ostatních vzorcích povrchových vod se postupně snižoval v tomto pořadí: Rybník Olomouc > starý rybník- Břest > řeka Dřevnice- Zlín > nový rybník- Břest > řeka Morava (u Fatry)- Napajedla > rybník U dvora- Halenkovice > řeka Morava (za ČOV)- Napajedla >

rybník- Kvasice > rybník Pahrbek- Napajedla. Ve vzorcích podzemních vod byl obsah HL značně nižší a ve všech případech, také pod detekcí této spektrofotometrické metody (< 1,5 mg/l). Obsah huminových látek v reálných vzorcích se snižoval v tomto pořadí: studna Hulín > studna Břest > studna Halenkovice. Z nízké koncentrace HL ve vzorcích podzemních vod Břest a Halenkovice by se mohlo usuzovat, že se potvrdil předpoklad podobnosti se slepým stanovením.



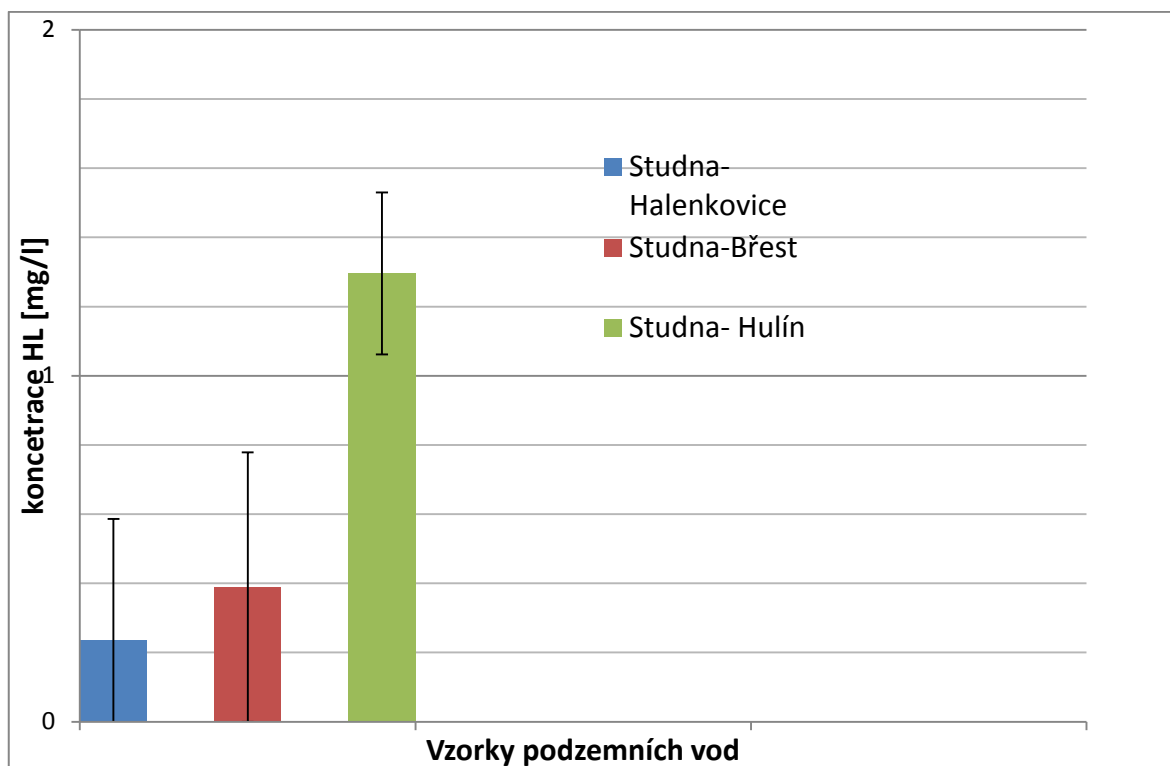
Obr. č. 4- Porovnání obsahu HL ve vzorcích stojatých vod stanovené extrakčně fotometrickým stanovením a vypočtené pomocí empirického vztahu dle ČSN

757536



Obr. č. 5- Porovnání obsahu HL ve vzorcích tekoucích vod stanovené extrakčně fotometrickým stanovením a vypočtené pomocí empirického vztahu dle ČSN

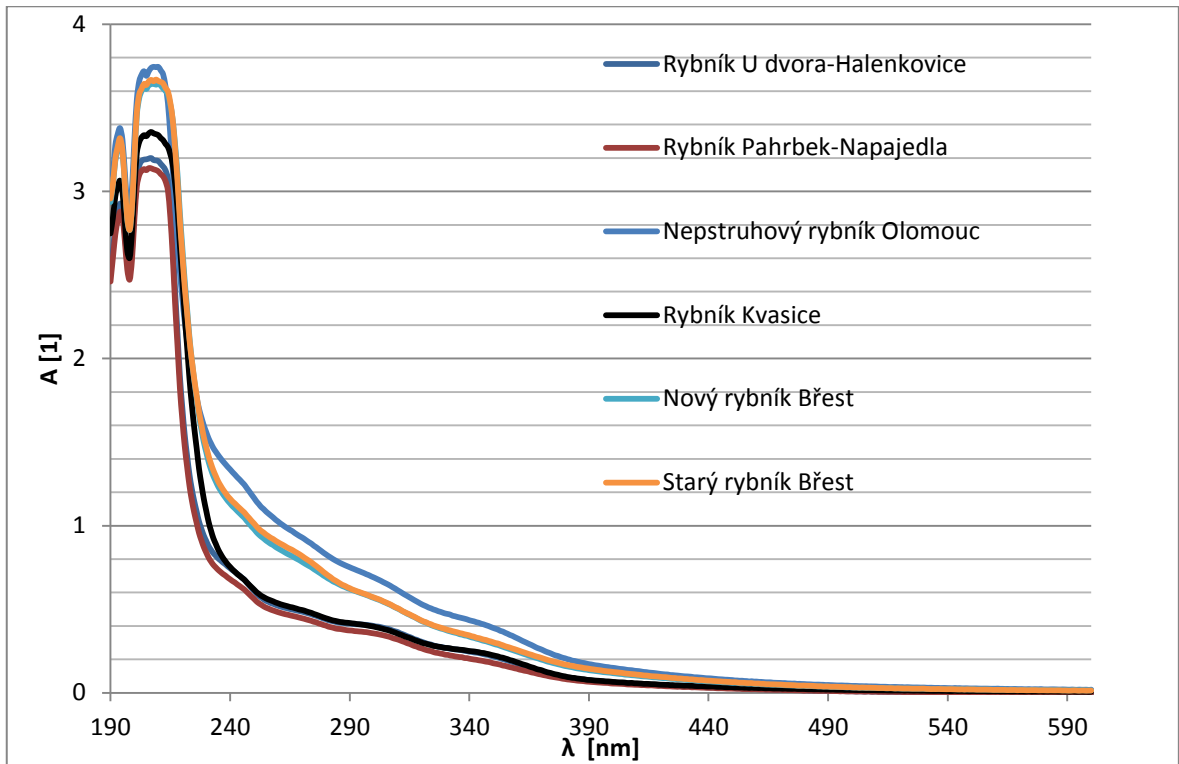
757536



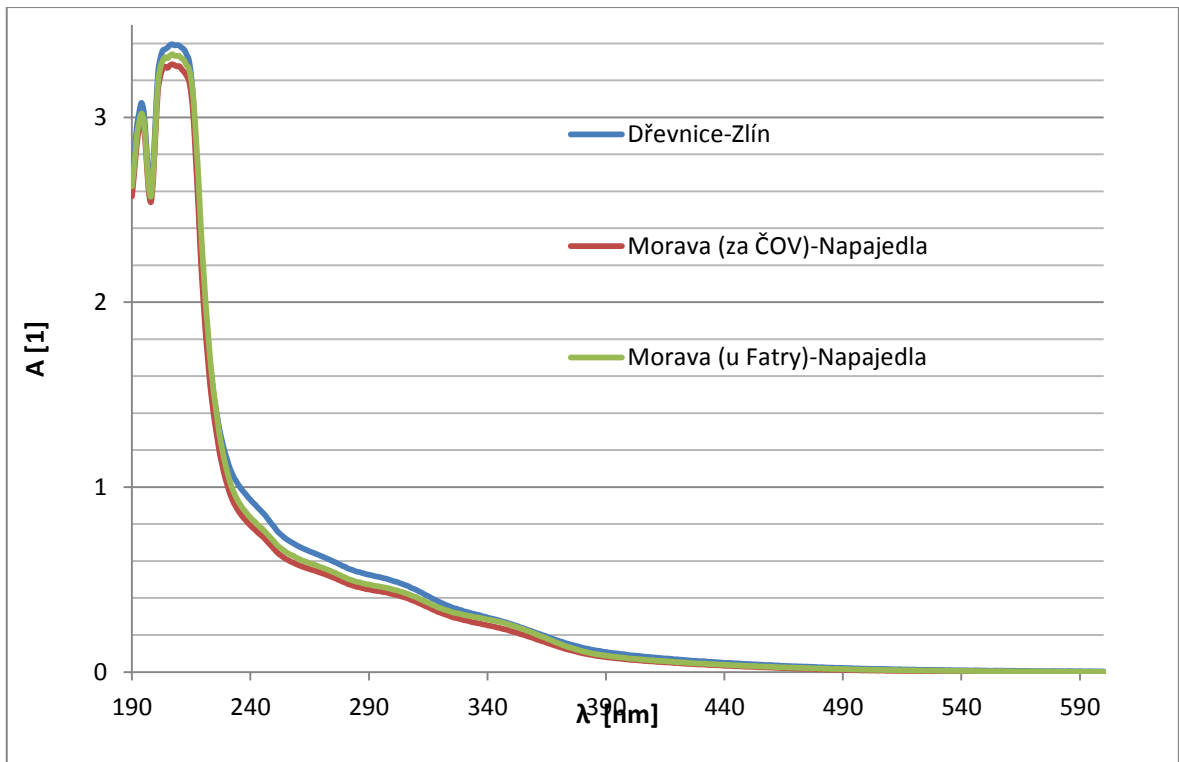
Obr. č. 6- Porovnání obsahu HL ve vzorcích podzemních vod stanovené extrakčně fotometrickým stanovením a vypočtené pomocí empirického vztahu dle ČSN 757536

V práci Menšíka bylo pomocí měření UV/VIS spekter extraktů HL charakterizováno složení resp. zralost HK v půdních výluzech. Dle hodnoty rozdílů logaritmických koeficientů absorpance při vlnové délce 400 nm a 600 nm. Lze HK rozdělit na tři typy. Prvním typem jsou HK, které mají vysoký stupeň huminifikace, což je charakteristika intenzity biologických a chemických přeměn HL. Jsou to HK s hodnotou $\Delta \log K$ do 0,60 a jsou velice stabilní s vysokou molekulovou hmotností a aromatické skupiny v HK mají vysoký stupeň kondenzace. Druhým typem jsou HK s nižší molekulovou hmotností, nižším stupněm huminifikace a hodnotou $\Delta \log K$ od 0,60 do 0,80. Třetím a posledním typem HK s hodnotou $\Delta \log K$ od 0,80 do 1,10 jsou HL o nejnižší molekulové hmotnosti, nejnižším stupněm huminifikace, ale s obsahem alifatických skupin velmi vysokým [28]. Další krokem experimentální části této práce, který byl zvolen na základě výše uvedené skutečnosti provedeno proměření UV/VIS spekter extraktů vzorků v rozmezí vlnových délek od 190 nm do 600 nm (Obr. č. 7, Obr. č. 8, Obr. č. 9). Tento postup a následně výpočet $\Delta \log K$ se ukázal jako nevhodný pro aplikaci na extrakty vzorků vod. Jelikož po výpočtu rozdílu logaritmických

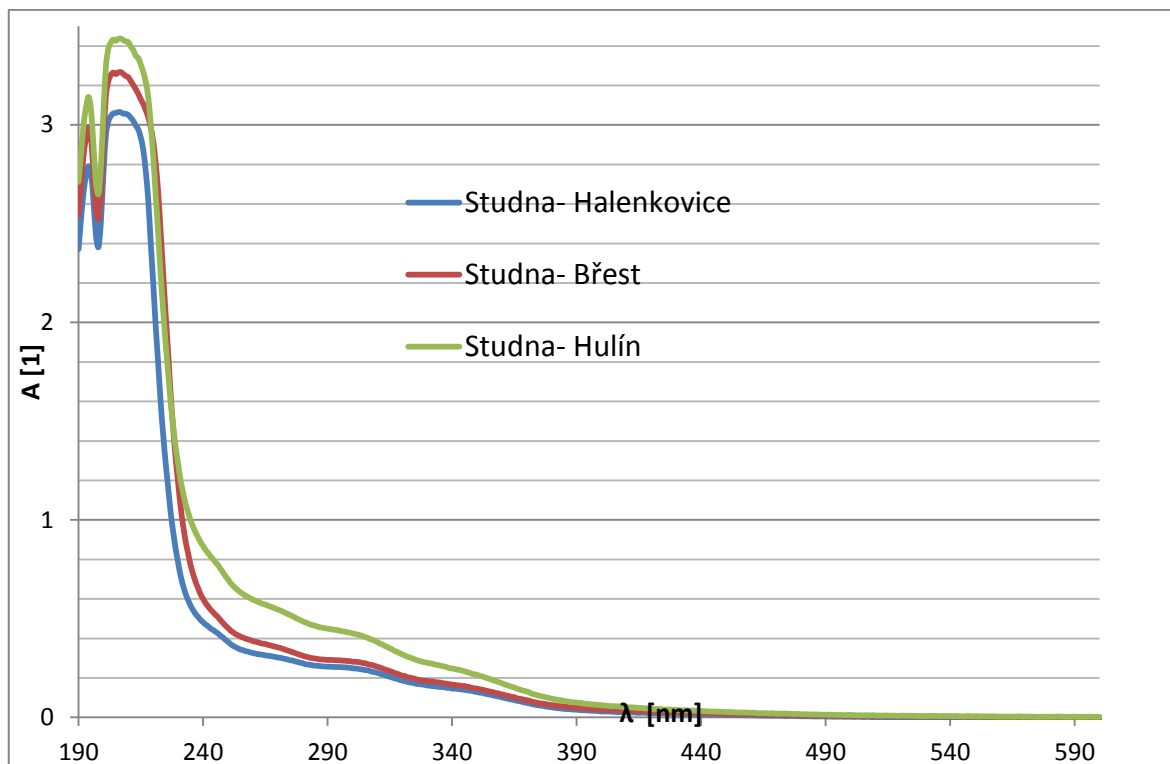
koeficientů absorpční při vlnové délce 400 nm a 600 nm, nebylo možné HK zařadit ani do jedné z třech popsaných typů HK.



Obr. č. 7- UV/VIS spektra vzorků stojatých povrchových vod

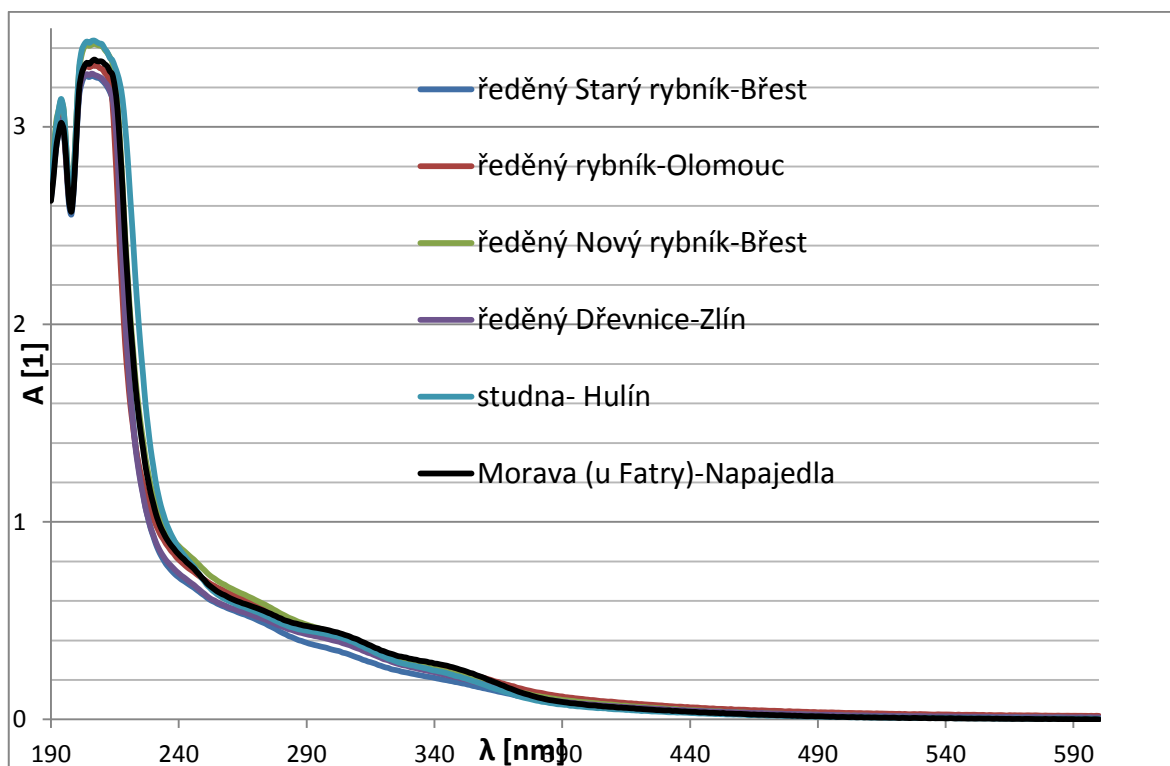


Obr. č. 8- UV/VIS spektra vzorků tekoucích povrchových vod



Obr. č. 9- UV/VIS spektra vzorků podzemních vod

Nicméně z naměřených spekter lze usuzovat „typ“ HL ve zkoumaných vzorcích. Aby bylo možno kvalitativní posouzení provést, je nutné, aby koncentrace HL ve studovaných vzorcích byla stejná - koncentraci cca $1,5-2,5 \text{ mg.l}^{-1}$. Z tohoto důvodu byly extrakty vzorků vod s vysokou koncentrací HL naředěny roztokem 0,5 % NaOH a byla znovu proměřena UV/VIS spektra (obr.10). Ze získaných spekter vyplývá, že charakter HL ve vzorcích povrchových a podzemních vod byl obdobný.



Obr. č. 10-UV/VIS spektr zředěných vzorků vod na stejnou koncentraci s původními vzorky o již nízké koncentraci po extrakci

4.2 Stanovení HL v modelových látkách – výpočet koncentrace pomocí empirického vztahu [ČSN 757536]

Vzhledem k tomu, že dostupné komerční standardy huminových látek jsou značně ekonomicky nákladné (např. Merck, Aldrich,...), tak byly jako modelové látky pro optimalizaci metody použity komerčně dostupné vodné roztoky huminových látek. Zvoleny byly dvě látky lišící se způsobem výroby (syntetická a přírodní) tedy i různým obsahem huminových látek a různé struktúře, která jak již bylo řečeno v teoretické části, je značně složitá a různorodá.

Tab. č. 4- Experimentálně zjištěné charakteristiky modelových látek

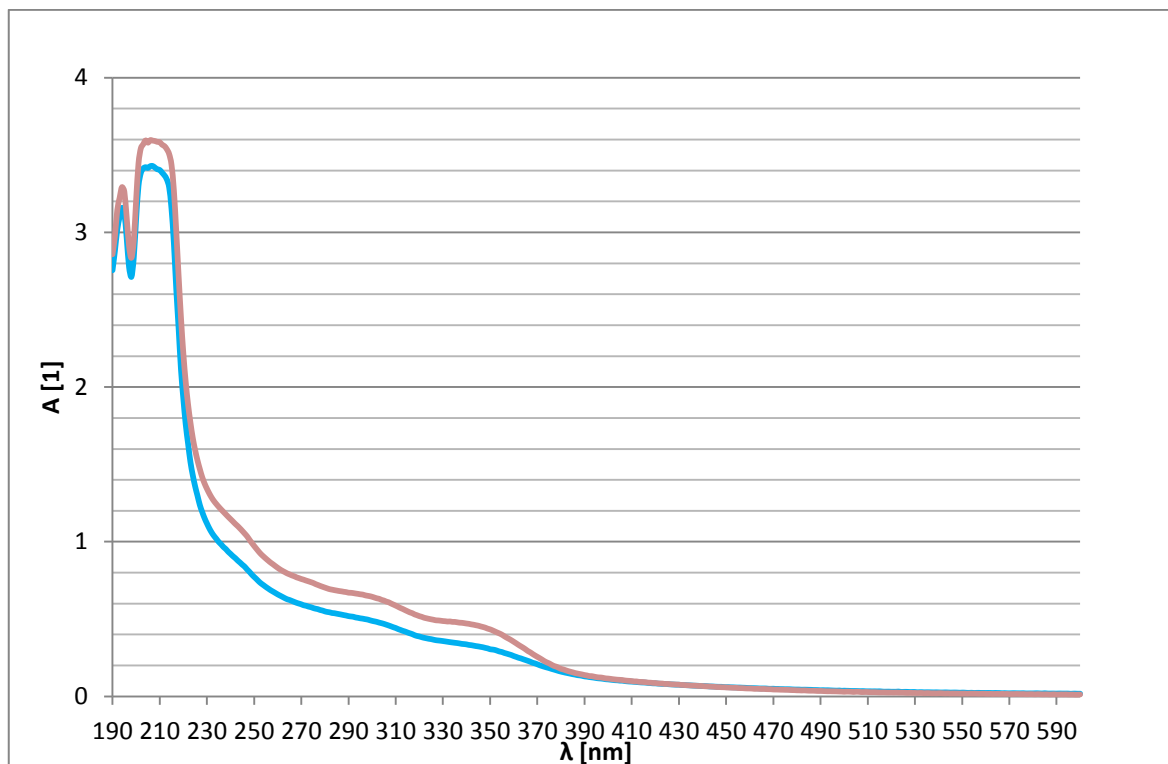
	VL ₁₀₅ [g.l ⁻¹]	ZŽ ₅₅₀ [%]	TOC [g.l ⁻¹]	HL [g.l ⁻¹]
Modelová látka 1	129,0	27,13	40,00	164,3
Modelová látka 2	64,84	30,04	23,68	64,22

Z naměřených hodnot absorbancí extraktů modelových látek, byla vypočtena koncentrace HL v jednotlivých modelových látkách. Použité modelové látky měly podle výrobce obsahovat především HL a lze tak předpokládat, že jejich obsah bude téměř shodný s obsahem veškerých látek. Porovnáním výsledků obsahu HL vypočtených pomocí empirického koeficientu (Rovnice /1/) se zjištěným obsahem veškerých látek bylo zjištěno, že u synteticky vyráběné modelové látky 1 se hodnota VL_{105} s koncentrací HL poněkud lišila a to až o desítky gramů. Zatím co koncentrace HL u přírodně získané modelové látky 2 byla takřka totožná s VL_{105} a to i přesto, že modelová látka obsahovala navíc kovy v chelátové formě. Tyto dvě hodnoty se lišily až v desetínách gramů.

Z těchto získaných dat by se mohlo konstatovat, že způsob vzniku HL má vliv na jejich strukturu a složení, přičemž v případě synteticky vyráběných HL - modelová látka 1 budou v jejich roztoku pravděpodobně přítomny ještě zbytky nezreagovaných komponent z výroby.

Poté byly prokresleny spektra v UV/VIS oblasti na spektrofotometru UNICAM UV 500 v oblasti vlnových délek od 190 nm až do 600 nm.

Porovnáním spekter extraktů modelových látek, kde se porovnávají modelové látky o blízkých koncentracích HL, naznačují rozdíly mezi složením jednotlivých modelových látek. Nicméně k vyslovení přesných závěrů by bylo nutno provést další analýzy jako např. infračervenou spektroskopii.



Obr. č. 11- UV-VIS spektra modelových látek blízké koncentrace

4.3 Stanovení HL v modelových látkách – výpočet koncentrace pomocí metody jednoho standardu (kalibrační křivka)

A) Stanovení HL v modelových látkách metodou extrakčně fotometrickou¹

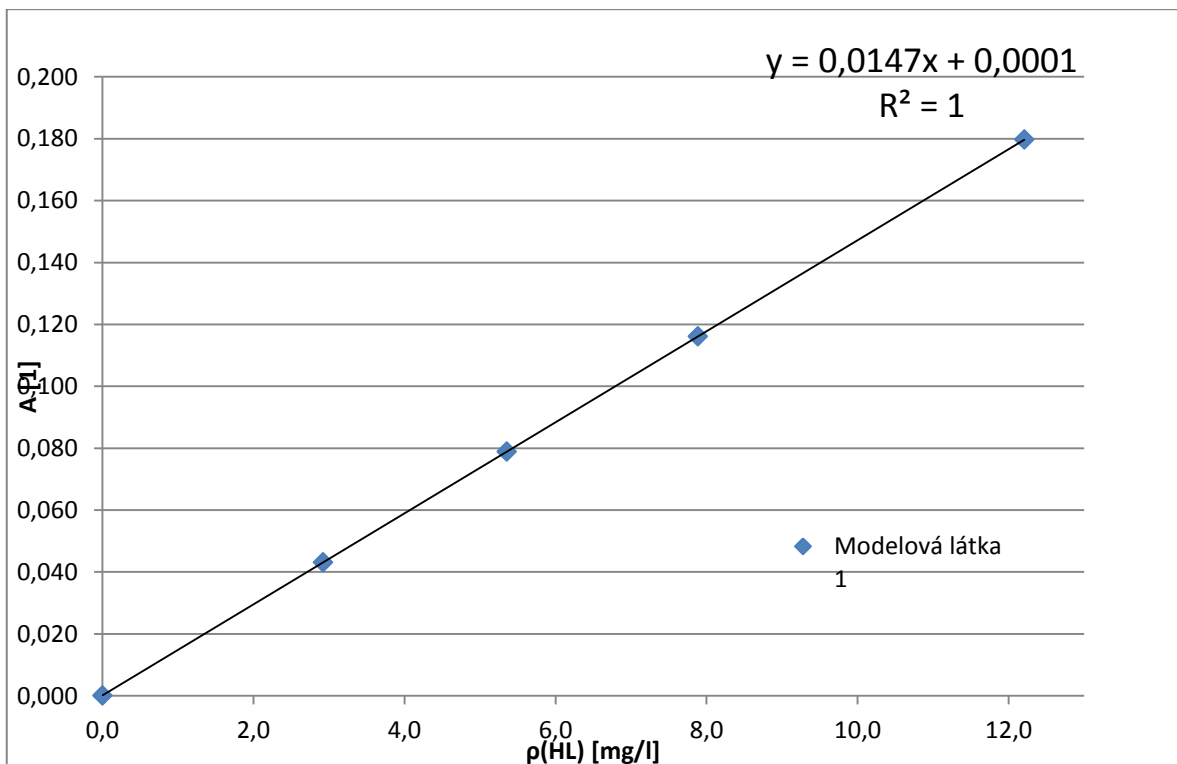
Připravena byla řada kalibračních roztoků (odpipetoval se určitý objemu ze zásobního roztoku do odměrné baňky =>V_{ZR}) ze zásobních roztoků modelových látek (odpipetoval se určitý objem modelové látky do 250 ml odměrné baňky =>V_{HL}) o výsledných koncentracích v rozmezí 2,9 mg.l⁻¹ až 12,1 mg.l⁻¹ HL v 250 ml odměrných baňkách pro modelovou látku 1 a 0,5 mg.l⁻¹ až 2,1 mg.l⁻¹ pro modelovou látku 2. Jednotlivé kalibrační roztoky prošly extrakcí stejným způsobem jako vzorky vody. Po ukončení extrakčního postupu se změřila absorbance všech extraktů na spektrofotometru SPEKOL 11 při vlnové délce 420 nm proti destilované vodě. Každý roztok modelové látky byl

¹ POSTUP EXTRAKCE PODLE NORMY 757536, KDY MODELOVÁ LÁTKA PROŠLA CELÝM POSTUPEM

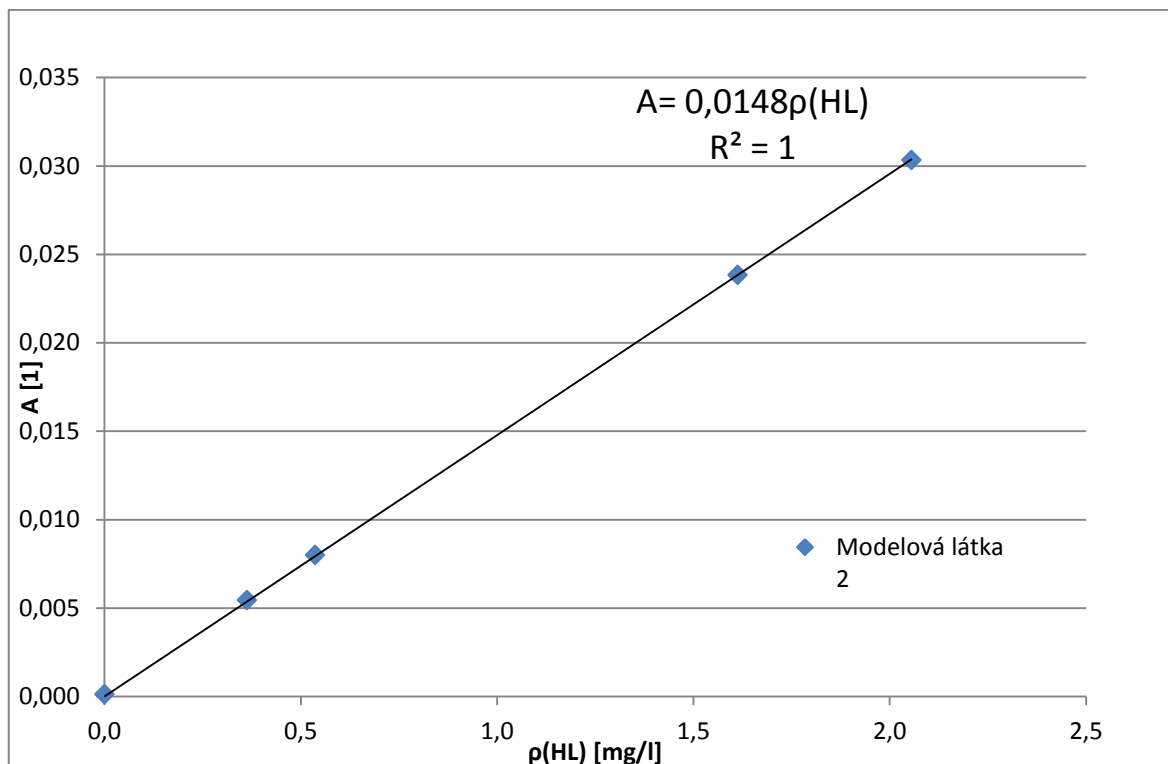
třepán a měřen 3 x vedle sebe a spolu s ním se stanovil slepý pokus stejným postupem, kde se místo roztoku modelové látky nadávkovala destilovaná voda (A_0).

Tab. č. 5- Příprava kalibračních roztoků modelových látek a jejich koncentrace
HL

V_{HL} [ml]	Modelová látka 1					Modelová látka 2				
	0,2					0,1				
V_{ZR} [ml]	0	5	10	15	20	0	5	10	15	20
A_{420} [1]	0,035	0,078	0,121	0,151	0,213	0,035	0,040	0,043	0,060	0,065
ρ_{HL} [mg.l ⁻¹]	0,000	2,924	5,825	7,888	12,074	0,000	0,370	0,544	1,621	2,063



Obr. č. 12- Kalibrační křivka modelové látky 1 v rozmezí koncentrací HL 0 mg/l až 12,1 mg/l



Obr. č. 13- Kalibrační křivka modelové látky 2 v rozmezí koncentrací HL od 0 mg/l do 2,1 mg/l

Z vytvořené rovnice regrese a korelačního koeficientu je zřejmé, že se jedná o lineární závislost absorpance HL na jejich koncentraci v připravených roztocích, která je charakteristická pro spektrofotometrické stanovení. Z této závislosti vyplývá, že se zvyšující se koncentrací se lineárně zvyšuje i absorpance měřených roztoků.

Zpětné stanovení vzorků modelových látek

Tímto krokem se kontrolovala reprodukovatelnost dat. Připravená modelová látka se stanovila jako vzorek a z vytvořených rovnic regrese při kalibraci se zpětně dopočítala koncentrace vzorků modelových látek 1 a 2.

Tab. č. 6- Zpětný výpočet koncentrace vzorků modelových látek z rovnic regrese

	Vzorek-Modelová látka 1	Vzorek-Modelová látka 2
Rovnice regrese	$A = 0,0147\rho(\text{HL}) + 0,0001$	$A = 0,0148\rho(\text{HL})$
$A_{420}-A_0$ [1]	0,086	0,030
ρ_{HL} (teoretická) [mg.l ⁻¹]	4,132	2,075
ρ_{HL} [mg.l ⁻¹]	5,844	2,027

Porovnáním hodnot teoretické koncentrace HL ve vzorcích modelových látek s nalezenými hodnotami z kalibrační křivky se může hovořit o uspokojivé shodě, hlavně u vzorku modelové látky 2 byly koncentrace téměř totožné.

B) Modifikovaný postup spektrofotometrického stanovení HL v modelových látkách (Ředění modelové látky přímo 0,5 % NaOH²)

Připravena byla řada roztoků z modelových látek 1 a 2 odpipetováním zvolených objemů 50 ml, 100 ml, 150 ml a 200 ml (ze zásobních roztoků modelových látek) do 250 ml odměrných baněk a doplnily se po rysku přímo 0,5 % vodným roztokem hydroxidu sodného. Zásobní roztoky byly připraveny odpipetováním 0,2 ml modelové látky 1 a 0,2 ml modelové látky 2 do 250 ml odměrných baněk a doplněním po rysku také 0,5 % roztokem NaOH (toto dávkování bylo zvoleno z důvodu minimální změny koncentrace roztoku NaOH).

Takto připravené roztoky byly rovnou spektroskopicky změřeny při vlnové délce 420 nm proti 0,5 % roztoku NaOH, tak proti destilované vodě. Rozsah kalibračních křivek v tomto případě byl volen na základě znalostí obsahu VL₁₀₅ modelových látek 1 a 2 byla ze známých objemů vypočtena koncentrace HL, a to za předpokladu, že obsah VL₁₀₅ v modelové látce odpovídá obsahu HL.

² MODELOVÁ LÁTKA NEPROŠLA CELÝM POSTUPEM EXTRAKCE PODLE ČSN 757536

Z důvodu nereprodukovatelnosti dat zde nejsou žádná data prezentována. Problémem při tomto pokusu stanovení HL ve vodách bylo vhodné zvolení rozsahu koncentrací a to se bohužel nepovedlo. Veškeré připravené a následně změřené roztoky HL v 0,5 % NaOH měly hodnoty absorbance mimo rozsah kalibrační křivky stanovené postupem A (modelová látka 1), a nebo byly nízké až na hraně měřitelnosti přístroje (modelová látka 2). Důsledkem těchto proměnných měla tato metoda nelineární průběh.

Z této kapitoly tedy vyplývá, že při stanovení obsahu huminových látek pomocí kalibrační křivky lze logicky postupovat pouze podle postupu A.

SROVNÁNÍ DVOU APLIKOVANÝCH POSTUPŮ STANOVENÍ HL VE VODÁCH- Metoda fotoextrakční dle ČSN 757536 s metodou jednoho standardu (kalibrační křivky)

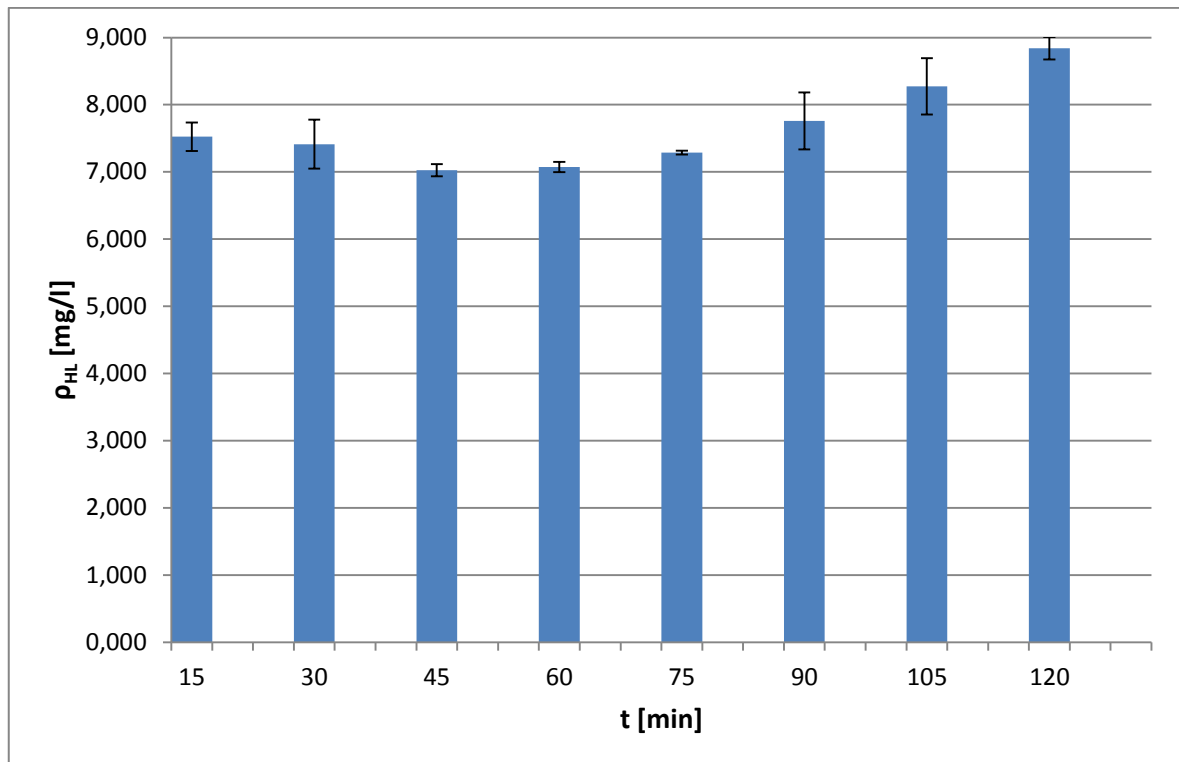
V této kapitole jsou srovnána naměřená a vypočtena data týkající se analyzovaných vzorků vod. Kdy z měřené absorbance extrahovaných vzorků vody byly pomocí empirického vztahu /1/ vypočteny koncentrace HL vzorků vod. Tyto výsledky jsou porovnány s vypočtenými výsledky z rovnic regrese kalibračních křivek modelových látek (Obr. č. 12, Obr. č. 13). Dá se říci, že všechny tři hodnoty koncentrací vzorků, jsou takřka totožné s přesností desetinného místa. Z toho lze usoudit, že modelové látky lze využít jako alternativní standardy pro přípravu kalibračních roztoků.

Tab. č. 7- Koncentrace huminových látek ve vzorcích vody vypočtené empirickým vztahem a z rovnic regrese

LOKALITA	$\rho_{HL} [mg.l^{-1}]$		
	EMPIRICKÝ VZTAH	KALIBRAČNÍ KŘIVKA (Model. 1)	KALIBRAČNÍ KŘIVKA (Model. 2)
Rybník Kvasice	1,179	1,150	1,149
Nepstruhový rybník-Olomouc	5,599	5,571	5,541
Řeka Morava u Fatry- Napajedla	1,783	1,762	1,757
Řeka Morava za ČOV- Napajedla	1,700	1,694	1,689
Řeka Dřevnice- Zlín	2,932	2,918	2,905
Rybník Pahrbek- Napajedla	1,156	1,150	1,149
Rybník U dvora- Halenkovice	1,738	1,762	1,757
Nový rybník- Břest	2,882	2,918	2,905
Starý rybník- Břest	3,823	3,803	3,784
Studna- Halenkovice	0,234	0,265	0,270
Studna- Břest	0,389	0,401	0,405
Studna- Hulín	1,296	1,286	1,284

4.4 Optimalizace doby extrakce při stanovení huminových látek

Pro stanovení byly použity roztoky modelové látky 1 a to odpipetováním 15 ml ze zásobního roztoku (0,2 ml modelové látky 1 do 250 ml odměrné baňky) do 250 ml odměrné baňky, připraveného odpipetováním 0,2 ml lignohumátu (modelové látky 1) do 250 ml odměrné baňky doplněním destilovanou vodou po rysku. V předešlém kroku byl roztok 15 ml modelové látky 1 v 250 ml odměrné baňce doplněné po rysku destilovanou vodou již stanoven a hmotnostní koncentrace HL po 2 hodinách extrakce a to 7,888 mg.l⁻¹ s absorbcí 0,151 při vlnové délce 420 nm. Výsledky tohoto stanovení jsou znázorněny ve sloupcovém diagramu, závislosti doby extrakce v minutách na absorpci extraktů.



Obr. č. 14- Účinnost extrakce v závislosti na době extrakce

Z tohoto stanovení je zřejmé, že zkrácení doby extrakce u spektrofotometrické extrakční metody stanovení HL ve vodách není možné. Což se dalo předpokládat vzhledem k tomu, že 2 hodinová doba extrakce je již normovaný postup stanovení HL ve vodách.

ZÁVĚR

Úkolem předkládané bakalářské práce bylo provedení literární rešerše dostupných informací o charakterizaci a výskytu HL ve vodách, jejich vlivu na kvalitu vod a v neposlední řadě také jejich dosavadní různorodé využití. Další částí bylo shrnutí a popsání metod stanovení HL obsažených ve vodách.

Druhá část bakalářské práce je věnována popisu experimentálně použitých metod k stanovení HL extrakční fotometrickou metodou v konkrétních vzorcích povrchových a podzemních vod čímž, byla ověřena tato metoda stanovení popsána v normě ČSN 757536. A také byla prokázána skutečnost zpracováním získaných dat, že obsah HL v povrchových vodách je vyšší než ve vodách podzemních.

Byly navrženy modelové látky s různým obsahem HL, které se lišili způsobem výroby (syntetické a přírodní), jako alternativní standardy ekonomicky náročných komerčně dostupných standardů. Tyto modelové látky byly pomocí hodnot udávanými výrobcem a experimentálně zjištěnými charakterizovány a dále byly používány pro další experimentální postupy snažící se o optimalizaci extrakční fotometrické metody stanovení HL ve vodách, která by se dala aplikovat ve výuce laboratoří- Technologie vody na FT UTB.

Na základě výsledků experimentů (bylo dosaženo dobré shody výsledků při stanovení obsahu HL ve vzorcích vod) lze konstatovat, že zvolené modelové látky jsou vhodnými alternativami ke komerčním standardům a lze je využít pro potřeby laboratorní výuky, nicméně nelze je považovat za analytické standardy.

Optimalizace stanovení HL ve vodách byla dvojitá. První byla snaha o zkrácení doby extrakce stanovení HL, ale po zpracování získaných dat se dospělo k závěru, že to není možné a je opravdu potřebná 2 hodinová extrakce roztoků. S čímž souvisí i práce s modelovými látkami roztoků HL, které se osvědčili při přípravě kalibrační křivky, ale i v tomto případě je potřeba dodržení extrakčního postupu. Bez něj by je nešlo využít, jak se zjistilo pokusem o modifikované stanovení HL v modelových látkách.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] VESELÁ, Lenka, KUBAL, Martin, KOZLER, Josef, INNEMANOVÁ, Petra. Struktura a vlastnosti přírodních huminových látek typu oxihumolitu. *Chemické listy*. [online časopis] Praha: 2005, č. 99. ISSN 752-760

Dostupné z: http://chemicke-listy.cz/docs/full/2005_10_711-717.pdf

- [2] SKOKANOVÁ, Marianna, DERCOVÁ, Katarína. Humínové kyseliny. Interakce huminových kyselin s kontaminantami. *Chemické listy*. [online časopis] Praha: 2008, č. 102. ISSN 338-345

Dostupné z: www.chemicke-listy.cz/docs/full/2008_05_338-345.pdf

- [3] KOTYZA, Jan, et al. Léčiva-,nový“ environmentální polutant. *Chemické listy*. [online časopis] Praha: 2009, č. 103. ISSN 540-547

Dostupné z: www.chemicke-listy.cz/docs/full/2009_07_540-547.pdf

- [4] KALAVSKÁ, Dagmar; HOLOUBEK, Ivan. *Analýza vod*. Bratislava: Vydavatelství technické a ekonomické literatury Bratislava, 1987, s.174-182. ISBN 80-05-00065-0

- [5] PIVOKONSKÝ, Martin; PIVOKONSKÁ, Lenka; BURÁKOVÁ, Petra a JANDA, Václav. Úprava vody s obsahem huminových látek. *Chemické listy*. [online časopis] Praha: 2010, č. 104. ISSN 752-760

Dostupné z: www.chemicke-listy.cz/docs/full/2010_11_1015-1022.pdf

- [6] PITTEK, Pavel. *Hydrochemie*. 3.-přepřacované. Praha: VŠCHT Praha, 1999, s. 24, 277-293, 304-305, 315-333, 363-374, 383-412. ISBN 80-7080-340-1

- [7] ČSN 757536. *Jakost vod-Stanovení huminových látek*. 2011

- [8] HAVELCOVÁ, Martina, MIZERA, Jiří, MACHOVIČ, Vladimír, PŘIBYL, Oldřich, BORECKÁ, Lenka, KRAUSOVÁ, Ivana. Sorbenty na bázi huminových látek a chitosanu. *Chemické listy*. [online časopis] Praha: 2011, č. 105. ISSN 752-760

Dostupné z: http://w.chemicke-listy.cz/docs/full/2011_12_913-917.pdf

- [9] GUETZLOFF, Thomas F.; RICE, James A. Does humic acid form a micelle?. *Science of the total environment*. [online database] 1994, 152.1: 31-35.

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0048969794905487>

- [10] PICCOLO, A., CELANO, G., CONTE, P. Adsorption of Glyphosate by Humic Substances. *J. Agric. Food chem.* Itálie: 1996, č. 44 (8) ISSN 2442-2446

Dostupné z:

<http://translate.google.cz/?hl=cs&tab=wT#en|cs|Adsorption%20of%20Glyphosate%20by%20Humic%20Substances> [cit. 2012-04-17]

- [11] TICHÁ, A., et al. Vliv huminových látek na absorpci cholesterolu.

Dostupné z: <http://www.cskb.cz/res/file/KBM-pdf/2009/1-09/2009-1-Ticha.pdf> [cit. 2013-03-27]

- [12] FIŠAR, Pavel, BÍŽOVÁ, Jana, ŠTASTNÝ, Bohumil. Hodnocení potenciálu tvorby trihalogenmethanů v huminových vodách.

Dostupné z: <http://www.smv.cz/res/data/014/001652.pdf> [cit. 2013-03-27]

- [13] TYL, Pavel, et al. Tvorba ontologie huminových látek. ICS AS ČR, Technical Report.

Dostupné z: <http://www3.cs.cas.cz/ics/reports/v1098-10.pdf> [cit. 2013-03-27]

- [14] SKYBOVÁ, Mária. Humínové kyseliny-prínos pre environmentálny výskum. *Acta Montanistica Slovaca*. [online časopis] Praha: 2006, č. 11. ISSN 362-366

Dostupné z: actamont.tuke.sk/pdf/2006/s2/25skybova.pdf

- [15] MIKULÁŠKOVÁ, Barbora, LAPČÍK, Lubomír, MAŠEK, Ivan. Lignit-struktura, vlastnosti a použití. *Chemické listy*, [online časopis] Praha: 1997, č. 91: 160-168.

Dostupné z: http://chemicke-listy.cz/docs/full/1997_03_160-168.pdf

- [16] HORÁKOVÁ, Marie, LISCHKE, Peter, GRÜNWARD, Alexander. *Chemické a fyzikální metody analýzy vod*, Praha: SNTL Praha, 1986, s.63-70, 375-381

- [17] CHURÁČEK, Jaroslav, et al. *Analytická separace látek*, Praha: SNTL Praha, 1990, s. 27-43

- [18] BURN, G. L., MILBURN, D. L. D. *Analytical Letters*. 1977.

Dostupné z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00032717708067856>. [cit. 2012-08-25]

- [19] DE WIT, J. C. M., VAN RIEMSDIJK, W. H. NEDERLOF, M.M..*Analytica Chimica Acta*. 1990

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267000812350> [cit. 2012-08-25]

[20] QUIMBY, Bruce D., DELANEY, Michael F., UDEN Peter C., BARNES, Ramon M.. *Analytical Chemistry*. 1980

Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac50052a010> [cit. 2012-08-25]

[21] LEAD, Jamie R., WILKINSON, Kevin J., STARCHEV, Konstantin; CANONICA, Silvio; BUFFLE, Jacques. *Environmental science and technology*. Switzerland. 2000

Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es9907616> [cit. 2012-08-25]

[22] REID, Patrick M., WILKINSON, Alan E., TIPPING Edward, JONES, Malcom N. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. UK. 1990

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/001670379090201U> [cit. 2012-08-25]

[23] NOVÁK, František; HRABAL, Richard. Kvantitativní ^{13}C NMR spektroskopie huminových látek. *Chemické listy*. [online časopis] Praha: 2011, č. 10. ISSN 752-760.

Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011_10_752-760.pdf

[24] PICCOLO, A., STEVENSON, FJ. Infračervená spektra Cu^{2+} , Pb^{2+} a Ca^{2+} komplexy huminových látek půdní. *Geoderma*. 1982, 27, 3: 195-208

Dostupné z: www.sciencedirect.com/science/article/pii/0016706182900301 [cit. 2013-05-02]

[25] MENYHÁRTOVÁ, Zuzana. Monitoring akosti vôd v povodí Hraničního potoka. 2010

[26] ŠAMALÍKOVÁ, Milena, et al. UČEBNÍ TEXTY VYSOKÝCH ŠKOL. GEOLOGIE.

Dostupné z: <http://147.229.22.130/wwwroot/scripta/Geologie/Geologie.pdf> [cit. 2013-05-22]

[27] Instruction Manual Total Organic Carbon Analyzer Model TOC-5000A

[28] MENŠÍK, Ladislav. FRAKCIONACE HUMUSOVÝCH LÁTEK LESNÍCH PŮD. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, 2010. 210,

[29] MALCOLM, Ronald L., MACMARTHY, Patrick. Limitations in the use of commercial humic acids in water and soil research. *Environmental science & technology*. [online database] 1986, 20, 9 :904-911.

Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es00151a009>

[30] RITCHIE, Jason D., PERDUE, E. Michael. Proton-binding study of standard and reference fulvic acids, humic acids, and natural organic matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta*. [online database] 2003, 67.1: 85-96.

Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001670370201044X>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

a	Absorpční koeficient
A	Absorbance extraktu vzorku
A ₀	Absorbance slepého stanovení
C	Koncentrace
DOC	Rozpuštěný organický uhlík
DOM	Dissolved Organic Matter (rozpuštěná organická hmota)
E	Excitovaný stav
FK	Fulvokyseliny/fulvinové kyseliny
G	Základní stav
HK	Huminové kyseliny.
HL	Huminové látky.
HNa	Humát sodný
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie
IR	Infračervená oblast záření
K _p	Empirický koeficient pro různé optické dráhy
l	Optická dráha
m ₁	Hmotnost porcelánového kelímku
m ₂	Hmotnost porcelánového kelímku s odparkem
m ₃	Hmotnost porcelánového kelímku se zbytkem po žihání
NaOH	Hydroxid sodný
NDIR	Nedisperzní infračervený analyzátor plynu
NMR	Nukleární magnetická resonance
NOM	Natural Organic Matter (přírodní organická hmota)
PAU	Polyaromatické uhlovodíky

PCB	Polychlorovanébifenyly
POM	Particulate Organic Matter (částicová/partikulární organická hmota)
ρ_{HL}	Hmotnostní koncentrace huminových látek
TC	Celkový uhlík
THM	Trihalogenmethany
TOC	Celkový organický uhlík
UV	Ultrafialová oblast záření
V_0	Objem vzorku použitý pro stanovení
V_1	Pipetovaný objem modelové látky
V_2	Objem odměrné baňky
VIS	Viditelná oblast záření
VL_{105}	Hmotnostní koncentrace veškerých látek
$Z\check{Z}_{550}$	Ztráta žíháním v sušině
Φ	Světelný tok naměřený po průchodu kyvetou se vzorkem
Φ_0	Světelný tok naměřený pře kyvetou se vzorkem

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. č. 1-Obecné schéma vlastností HL	6
Obr. č. 2-Hypotetická struktura fulvinové kyseliny [8].....	7
Obr. č. 3- Hypotetická struktura huminové kyseliny [8]	8
Obr. č. 4- Porovnání obsahu HL ve vzorcích stojatých vod stanovené extrakčně fotometrickým stanovením a vypočtené pomocí empirického vztahu dle ČSN 757536.....	26
Obr. č. 5- Porovnání obsahu HL ve vzorcích tekoucích vod stanovené extrakčně fotometrickým stanovením a vypočtené pomocí empirického vztahu dle ČSN 757536.....	27
Obr. č. 6- Porovnání obsahu HL ve vzorcích podzemních vod stanovené extrakčně fotometrickým stanovením a vypočtené pomocí empirického vztahu dle ČSN 757536.....	28
Obr. č. 7- UV/VIS spektra vzorků stojatých povrchových vod.....	29
Obr. č. 8- UV/VIS spektra vzorků tekoucích povrchových vod.....	29
Obr. č. 9- UV/VIS spektra vzorků podzemních vod.....	30
Obr. č. 10-UV/VIS spektr zředěných vzorků vod na stejnou koncentraci s původními vzorky o již nízké koncentraci po extrakci.....	31
Obr. č. 11- UV-VIS spektra modelových látek blízké koncentrace	33
Obr. č. 12- Kalibrační křivka modelové látky 1 v rozmezí koncentrací HL 0 mg/l až 12,1 mg/l.....	34
Obr. č. 13- Kalibrační křivka modelové látky 2 v rozmezí koncentrací HL od 0 mg/l do 2,1 mg/l	35
Obr. č. 14- Účinnost extrakce v závislosti na době extrakce	39

SEZNAM TABULEK

Tab. č. 1- Metody izolace vodných HL	12
Tab. č. 2- Charakterizace vzorků vod	20
Tab. č. 3- Koncentrace huminových látek ve vzorcích vody vypočteny dle empirického vztahu /1/	25
Tab. č. 4- Experimentálně zjištěné charakteristiky modelových látek	31
Tab. č. 5- Příprava kalibračních roztoků modelových látek a jejich koncentrace HL.....	34
Tab. č. 6- Zpětný výpočet koncentrace vzorků modelových látek z rovnic regrese.....	36
Tab. č. 7- Koncentrace huminových látek ve vzorcích vody vypočtené empirickým vztahem a z rovnic regrese	38