

ELEKTROCHEMICKÉ METÓDY STANOVENIA FUNKČNÝCH SKUPÍN HUMÍNOVÝCH KYSELÍN

Maroš SIROTIAK

ELEKTROCHEMICAL METHODS FOR HUMIC ACIDS FUNCTIONAL GROUP DETERMINATION



Sustainability - Environment - Safety '2017

ABSTRAKT

Správanie sa humínových kyselín vo vodných roztokoch je úzko späté s ich obsahom kyslých funkčných skupín a schopnosťou ich disociácie. Pre výskum acidobázických vlastností humínových kyselín sa najčastejšie využívajú elektrochemické metódy, ktorých výsledky môžu poukázať na obsah funkčných skupín. Príspevok sa zaoberá možnosťami charakterizácie humínových látok elektrochemickými metódami.

KLÚČOVÉ SLOVÁ: humínové kyseliny, potenciometria, konduktometria

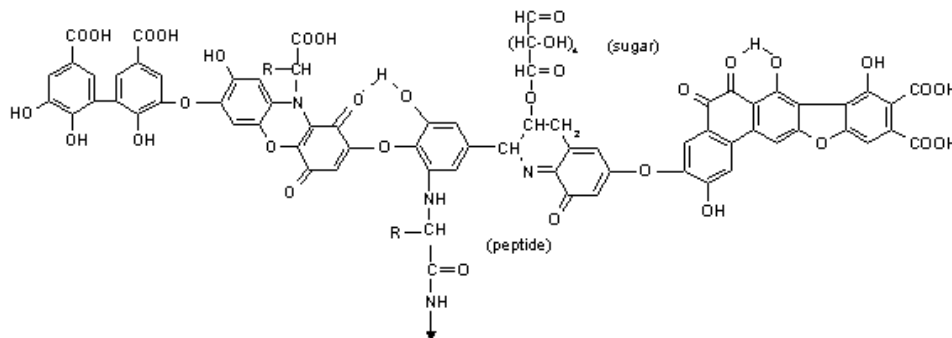
ABSTRACT

The behaviour of humic acids in aqueous solutions is closely connected to the content of acid functional groups and their dissociation abilities. The electrochemical methods are the most often used for the research of acid-basic characteristics of humic acids, their results should lead to the determination of the content of functional groups. The paper deals with possibilities of characterization of humic substances by electrochemical methods.

KEY WORDS: Humic acid, potentiometry, conductometry

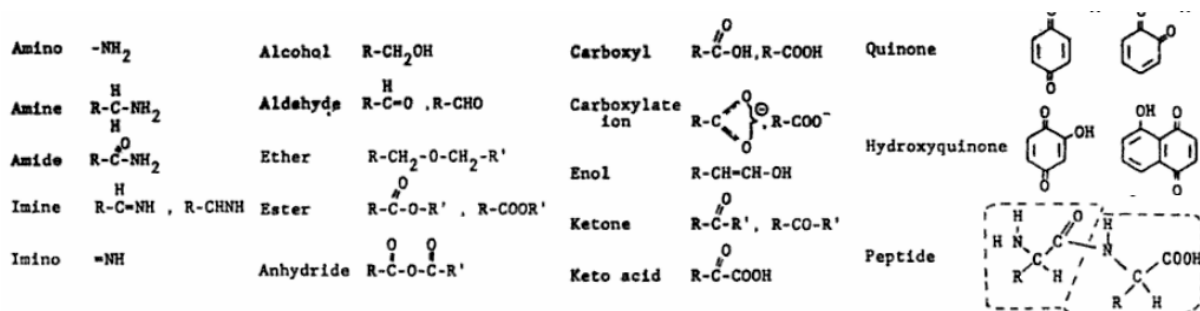
Úvod

Humínové kyseliny sú definované ako frakcia humínových látok, ktoré sa nerozpúšťa v kyslých podmienkach. Izolácia humínových kyselín z prírodných zdrojov je založená na okyslení alkalického extraktu (pôdy, rašeliny, uhlia) na pH 1-2, čo má za následok ich vyvrážanie. Rozpustnosť humínových kyselín závisí nielen na hodnote pH, ale aj na iónovej sile a mnohých ďalších faktoroch. V roztokoch sa správajú ako micelárne koloidy. Koloidné častice majú záporný náboj a tento izoelektrický bod leží v kyslej oblasti (Shaban, a Mikulaj 1998).



Obrázok 1 Príklad štruktúrneho vzorca humínovej kyseliny

Ionizačné miesta v štruktúre humínových kyselín sú atómy kyslíka, dusíka alebo síry, formujúce karboxylové, fenolové, hydroxylové, amínové a tiolové funkčné skupiny. Zo všetkých funkčných skupín prítomných v humínových kyselinách sa ako najviac reaktívne javia skupiny obsahujúce kyslík (karboxylové, fenolové), ktoré prispievajú k celkovej kyslosti humínových látok. V priebehu procesu tvorby humínových kyselín (humifikácie) sa v nich zvyšuje obsah karboxylových $-\text{COOH}$ a karbonylových $>\text{C}=\text{O}$ skupín, pričom obsah alkoholových a fenolových $-\text{OH}$ skupín a metoxylových skupín $-\text{O}-\text{CH}_3$ sa v priebehu tohto procesu znižuje. Hlavný rozdiel v obsahu funkčných skupín humínových kyselín a fulvokyselín je, že vo fulvokyselinách je prakticky všetok kyslík obsiahnutý v $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$ a $>\text{C}=\text{O}$ skupinách, zatiaľ čo v humínových kyselinách väčšiu časť kyslíka tvorí štruktúrny zložku, tzv. jadro, čo sú napríklad éterové a esterové väzby. Ďalším rozdielom môže byť fakt, že obsah ketónových $>\text{C}=\text{O}$ skupín je vyšší vo fulvokyselinách, kým v humínových kyselinách sa nachádzajú skôr chinónové $>\text{C}=\text{O}$ skupiny. (Skokanová a Dercová, 2008)

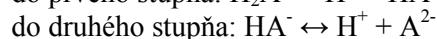
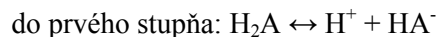


Obrázok 2 Kyslé alebo zásadité funkčné skupiny prítomné v pôdnom humuse

Väčšina metód na stanovenie obsahu kyslých skupín v pôdnom humuse je založená na kyslých vlastnostiach študovaných funkčných skupín. Humínové kyseliny sa správajú ako slabo kyslé polyelektrolyty, pretože obsahujú postranné skupiny schopné elektrolytickej disociácie. Disociáciou vzniká makroión s veľkým počtom elementárnych nábojov a príslušný počet malých iónov opačného náboja (protiiónov). Silné kyseliny disociujú úplne, slabé kyseliny len do určitého stupňa. (Pouchlý 2008). Deprotonáciu ľubovoľných iónových skupín v humínových kyselinách možno zapísať ako disociáciu jednosýtnej kyseliny:



prípadne ako disociáciu slabej dvojsýtnej kyseliny:



S ohľadom na komplexný charakter humínových látok môže byť kyslosť rôznych skupín rôzna a jej hodnoty sa môžu vzájomne prekrývať. Z tohto dôvodu je potrebné výsledky obdržané pomocou metód závislých na výmene iónov alebo meranie pK hodnôt interpretovať len veľmi opatrne. Napríklad, v prípade polykarboxylových kyselín je následná protónová disociácia znížená, zatiaľ čo prisubstituovaných fenoloch môže dochádzať ku ľahšej disociácii iných kyslých skupín. Niektoré skupiny môžu byť nereaktívne kvôli tvorbe silnej vodíkovej väzby alebo kvôli priestorovému bráneniu. Ďalšie problémy v kvantitatívnom stanovení funkčných skupín zahŕňajú (Stevenson 1994):

- obmedzenú rozpustnosť materiálu vo vode a väčšine organických rozpúšťadiel,
- oxidáciu a redukciu,
- interakcie s činidlami používanými pre vytvorenie derivátov,
- nestechiometrická povaha reakcií.

3. Elektrochemické metódy stanovenia funkčných skupín

Pre štúdium funkčných skupín humínových látok možno použiť rad rôznych metód. V predloženej práci sa zaoberáme stanovením kyslých funkčných skupín pomocou potenciometrických a konduktometrických titrácií.

- **Potenciometria** sa najčastejšie používa na meranie pH. Princípom potenciometrického stanovenia pH je meranie rovnovážneho napätia článku zostaveného z jednej elektródy s konštantným potenciálom (referenčná čiže porovnávacia elektróda je napr. nasýtená kalomelová elektróda) a jednej indikačnej elektródy (meracia, napr. sklenená), ktorej potenciál je funkciou pH. Merací článok je ponorený do roztoku, ktorého pH má byť zmerané. Určenie pH má obvykle charakter kalibračného merania, kedy sa merací systém (merací článok a merací prístroj) okalibruje pomocou štandardných tlmivých roztokov (pufrov) so známym pH. Potom sa zmeria pH skúmaného roztoku.
- Pri **potenciometrických titráciách** sa zo závislosti napätia článku na množstvo pridaného štandardného roztoku zisťuje konečný (ekvivalentný) bod titrácie a analyt je stanovený zo spotreby odmerného roztoku. Pri *manuálnych titráciách* sa do titrovaného roztoku postupne manuálne z byrety pridáva odmerný roztok a po každom prídavku sa zaznamenáva potenciál. Spravidla sa zaznamenáva celá titračná krivka, na ktorej sa zistí inflexný bod a odtiaľ zodpovedajúce spotreba štandardného roztoku. Pri *automatických titráciách* sú prídavky štandardného roztoku riadené elektronicky (v dnešnej dobe externým alebo priamo do titrátora zabudovaným počítačom). Spravidla sa titruje iba k vopred nastavenej hodnote potenciálu - konečného bodu. Podľa rozdielu aktuálneho potenciálu a potenciálu konečného môže titrátor riadiť aj rýchlosť a množstvo pridávaného odmerného roztoku, čím sa znižuje nebezpečenstvo pretitrovania. Zo zmeranej spotreby odmerného roztoku, jeho koncentrácie a navážky vzorky sa dá vypočítať požadovaná veličina
- **Konduktometria** je analytická metóda založená na meraní impedancie - meria sa elektrická vodivosť, ktorá charakterizuje schopnosť roztoku viesť elektrický prúd. Konduktometria je neselektívna analytická metóda, poskytujúce informácie o celkovom obsahu látok v analyzovanom roztoku. Principiálny rozdiel oproti ostatným elektroanalytickým metódam spočíva v tom, že stanovenie v elektrochemickom článku nie je založené na elektrochemickej reakcii (oxidáciu alebo redukciu) na rozhraní elektróda / roztok (naopak, elektródové reakcie sú pri týchto meraniach nežiaduce), ale na meraní elektrických vlastností celého objemu roztoku medzi elektródami.
- Ak sa v priebehu stanovenia, napr. titrácie menia v roztoku ióny s vyššou iónovou vodivosťou za ióny s iónovou vodivosťou nižšou, či naopak, možno použiť konduktometriu ako objektívnu metódu zisťovania konečného bodu titrácie. **Konduktometrická titrácia** sa vykonáva v titračných nádobkách (celách), v ktorých sú v titrovanom roztoku ponorené vodivostné elektródy. Roztok sa v priebehu titrácie mieša, titračné činidlo sa používa dostatočne koncentrované, aby objem pridaný v priebehu titrácie z byrety bol zanedbateľný v porovnaní s objemom roztoku (Sirotiak a Michalíková 2015).

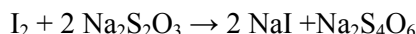
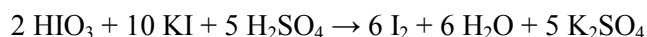
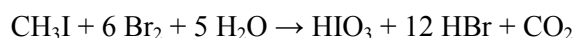
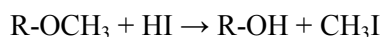
3.1. Stanovenie celkovej kyslosti humínových látok

Pre stanovenie celkovej kyslosti v humínových látkach môžeme použiť viac rôznych metód. Jedná sa o priame a nepriame titrácie, s alebo bez derivatizácie vzorky.

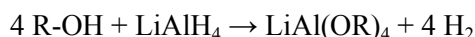
- **Metylačná metóda** je založená na stanovení obsahu skupín $-O-CH_3$ vytvorených vo vzorke po metylácii diazometánom (CH_2N_2), ktorý reaguje s kyslými skupinami podľa schémy:



Táto reakcia prebieha s kyslým (kyselinotvorným) vodíkom v širokom spektre štruktúr, zahŕňajúcim karboxylové -COOH zlúčeniny, fenolové -OH zlúčeniny, enolické zlúčeniny a pravdepodobne aj masťné (alifatické) alkoholy. Fenolové -OH skupiny zúčastňujúce sa tvorby vodíkových väzieb nemusia vždy reagovať. Sprievodné reakcie pri katalytickom pôsobení ťažkých kovov spôsobujú tvorbu polyetylénu. Po metylácii je možná prítomnosť -O-CH₃ stanoviť pomocou Zeiselovej metódy, pri ktorej sú -CH₃ skupiny odtrhávané pomocou jodovodíka vo fenole ako rozpúšťadle. Vzniknutý metyljodid (CH₃I) je vypudený prúdom CO₂ a absorbovaný vo vodnom roztoku brómu, kde sa oxiduje na kyselinu jodistú (HIO₃). Vzniknutá kyselina jodistá reaguje s jodidom draselným (KI) v kyslom roztoku za vzniku I₂, ktorý možno titrovať štandardizovaným roztokom tiosíranu sodného (Na₂S₂O₃) za použitia škrobu ako indikátora. Prebiehajúce reakcie:

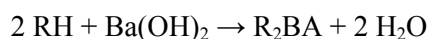


- **Metóda s diboránom** – pri tejto metóde sa predpokladá, že diborán reaguje s priestorovo chránenými skupinami a reakcia prebieha so všetkými aktívnymi atómami aktívneho (kyslého) vodíka bez ohľadu na hodnotu pK. Bol zistený dobrý súlad medzi celkovou kyslosťou pôdných fulvokyselín stanovenou touto metódou a barytovou metódou.
- **Metóda s hydridom hlinito-lítym** - hydrid hlinitý reaguje s kyslými vodíkovými iónmi za vzniku plynného vodíka:



Táto metóda sa používa na stanovenie aktívneho vodíka v uhlí a môže byť tiež využitá pre analýzu kyslosti humínových látok.

- **Barytová metóda stanovenia** - hydroxid bárnatý [Ba(OH)₂] „odtrháva“ ióny H⁺ zo skupín, ionizujúcich pri pH stanovenia (0,1 mol dm⁻³ roztok Ba(OH)₂ má hodnotu pH vyššiu než 13). Stanovuje sa tak celkový obsah karboxylových skupín (-COOH), fenolových skupín hydroxylov s enolickým charakterom. Vlastné stanovenie spočíva v reakcii vzorky s nadbytkom Ba(OH)₂ a nevyužitý reaktant je potom spätne stitovaný. Všeobecne možno prvý krok reakcie zapísať nasledovne:



kde *R* označuje humínovú látku a *H* je protón zo skupiny -COOH alebo -OH. Celková kyslosť (v mmol g⁻¹) sa vypočíta podľa vzťahu:

$$\text{celková kyslosť} = \frac{(V_V - V_S) \times c \times 1000}{m}$$

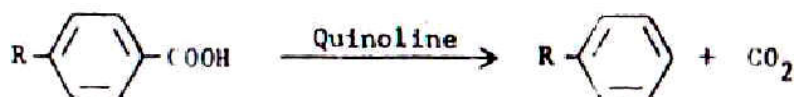
kde *V_V* predstavuje spotrebu NaOH na titráciu vzorky HK v ml, *V_S* spotrebu NaOH na slepú vzorku v ml, *c* je molárna koncentrácia kyseliny v mol dm⁻³ a *m* návažok HK v mg. Vďaka svojej jednoduchosti je barytová metóda najvyužívanejšou metódou pre stanovenie kyslosti humínových látok. Predpokladá sa, že všetok humínový materiál sa vylúči vo forme zrazeniny nerozpustnej bárnatej soli a ten sa potom odstráni filtráciou (čo nie je vždy potrebné). Jednou z nevýhod pri stanovovaní humínových kyselín je skutočnosť, že vzorky môžu obsahovať zvyšky kyselín

použitých pri izolácii. Stanovenie prebiehajúce za prítomnosti kyslíka vedú k vyšším výsledkom. V prípade vysokého obsahu fenolových skupín sú naopak hodnoty kyslosti systematicky podhodnocované (Dubach et al. 1964, Stevenson, 1994).

3.2. Stanovenie obsahu karboxylových skupín v humínových látkach

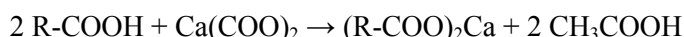
Vyššie opísané metódy stanovujú tzv. celkovú kyslosť humínových látok. Okrem toho bolo vyvinutých niekoľko ďalších metód, ktorými sa dajú špecificky stanoviť iba karboxylové skupiny.

- **Metylačná metóda** - spočíva v metylácii a následnej hydrolyzácii (saponifikácii) vzniknutého metylesteru (saponifikačné postupy sa bežne používajú pri analýze metylesterov). Metyláciu je možné vykonať niekoľkými spôsobmi, napr. pomocou CH_2N_2 alebo CH_3OH v suchom HCl . V prvom prípade sa vzniknuté $-\text{OCH}_3$ zahrievaním s alkáliou odštiepi ako CH_3OH , oddelí destiláciou a následnej oxidáciis KMnO_4 sa stanoví ako formaldehyd. Nevýhodou druhej metódy je náročnosť kvantitatívneho získania materiálu, ktorý postúpi na saponifikáciu. Taktiež bola pozorovaná neúplná esterifikácia, čo vedie k systematickému podhodnocovaniu obsahu $-\text{COOH}$ skupín.
- **Chinolínová dekarboxylácia** - aromatické kyseliny sa v prítomnosti katalyzátorov pri zahrievaní s chinolínom dekarboxylujú a uvoľňuje sa oxid uhličitý:



CO_2 sa však tiež môže uvoľňovať z α -hydroxyalifatických kyselín. Metóda poskytuje výsledky porovnateľné s acetátovou metódou, čo naznačuje, že väčšina COOH skupín v humínových látkach je viazaná na aromatický kruh.

- **Jodometrická metóda** - Wright a Schnitzer (1960) použili jodometrickú metódu na stanovenie COOH skupín v vzorkách humínov. Táto technika, ktorá je založená na výmene iónov však dáva vyššie hodnoty ako acetátová metóda.
- **Acetátová metóda** - je založená na výmene iónov. V priebehu reakcia sa uvoľňuje kyselina octová (CH_3COOH) a tá je potom titrovaná so štandardným roztokom NaOH do $\text{pH} = 9,8$:



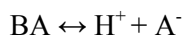
Podiel karboxylových skupín (v mmol g^{-1}) je daný vzťahom:

$$\text{COOH} = \frac{(V_V - V_S) \times c \times 1000}{m}$$

kde V_V predstavuje spotrebu NaOH na titráciu vzorky HK v ml, V_S spotrebu NaOH na slepú vzorku v ml, c je molárna koncentrácia kyseliny v mol dm^{-3} a m návažok HK v mg. Pretože postup zahŕňa výmenu iónov a pretože humínové zlúčeniny môžu obsahovať kyslé $-\text{OH}$ skupiny, ktoré sa ionizujú pod úroveň pH použitého roztoku $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COOH})$, výsledky nemusia vždy zodpovedať kvantitatívnym hodnotám. Pre rad humínových preparátov možno nájsť odchýlky medzi hodnotami obsahu $-\text{COOH}$ skupín získanými z chemickej adsorpcie a vypočítanými z počtu aktívnych vodíkov (diborán), ktoré vzrastajú s celkovým počtom $-\text{OH}$ skupín. Ďalšia komplikácia spočíva v nekompletnom odstránení humínových látok počas filtrácie. Ďalšie práce ukázali, že CH_3COOH môže byť selektívne separovaná zo zreagovaného roztoku použitím ultrafiltrácie. Tak isto bola pozorovaná väzba Ca^{2+} na humínové kyseliny alebo fulvokyseliny, ktoré môžu viesť k uvoľneniu protónu z iného miesta než z $-\text{COOH}$ skupiny. Bola pozorovaná väzba Ca^{2+} na

humínovú látku následkom odtrhnutia protónu neuvoľneným tam, kde bol použitý octan sodný ako zameniteľná báza (Stevenson, 1994).

- **Wandruszkova (konduktometrická)** - pred vykonaním titrácie sa vzorka humínových kyselín rozpustí v nadbytku hydroxidu sodného, čím sa vytvoria humátové anióny (A^-). V roztoku sú ďalej prítomné sodné kationy a nezreagované hydroxidové anióny. Keď tento roztok titrujeme roztokom HCl, vodivosť najskôr prudko klesá (v dôsledku nahrádzania hydroxidového iónu chloridovým iónom). Po odtitrovaní nadbytočného hydroxidu sú humáty postupne protonizované a výsledkom je výmena pôvodného humátového aniónu (A^-) za Cl^- . V závislosti na pomere vodivosti pridávaného aniónu Cl^- zanikajúceho A^- môže dochádzať k zvýšeniu či zníženiu vodivosti roztoku. Priebeh krivky môže byť silne ovplyvnený možnosťou tvorby iónových párov, ktoré síce môžu hrať určitú úlohu, ale uvažuje sa iba s vplyvom humátu. Po úplnej protonizácii humátových aniónov nasleduje efekt nadbytku kyseliny chlorovodíkovej, ktorá dodáva H^+ a Cl^- do roztoku, čo vedie k rýchlemu vzrastu vodivosti. Interpretácia vodivostnej krivky je komplikovaná kvôli hydrolyze A^- a rozkladu HA.



Kvôli variabilite a neznámej štruktúre prítomných humínov, nie je možné presne stanoviť vplyv tejto reakcie. Distorzia (zaoblenie) vodivostnej krivky je ovplyvnená silnou kyselinou (produkuje A^- , ktoré spôsobia väčšie zahnutie krivky). Treba zohľadniť aj vplyv rôzneho množstva vodivých prvkov na rôznych miestach titračnej krivky (Rigole a Wandruszka, 2002).

Záver

Elektrochemické metódy stanovenia obsahu funkčných skupín v humínových kyselinách sú najčastejšie založené na určení ich rôznej kyslosti. Najbežnejšou metódou stanovenia sú nepriame potenciometrické titrácie - konkrétne metóda stanovenia kyslosti pomocou hydroxidu bárnateho a stanovenie karboxylových skupín acetátovou metódou. Analýza kyslých funkčných skupín sa však môže realizovať celým radom rôznych metód, napr. priamou titráciou, prerušovanou titráciou, nepriamou titráciou, nepriamou spojenou titráciou, atď.

Pri humínových kyselinách môže byť stanovenie obsahu kyslých funkčných rozdelené na metódy stanovenia celkovej acidity alebo na určovanie obsahu karboxylových a fenolových funkčných skupín. Obsah kyslíkatých funkčných skupín sa určuje zistením obsahu kyslíka v karboxylových, fenolových, enolových a alkoholových skupinách. Takto získané hodnoty sú však veľmi nešpecifické, a preto je potrebné ich brať s rezervou.

Fulvokyseliny obsahujú oveľa viac kyslíkatých funkčných skupín z pôvodných organických polymérov. Preto je celková kyslosť fulvokyselín v porovnaní s humínovými kyselinami oveľa vyššia.

ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

- DUBACH, P., MEHTA, N. C., JAKAB, T., MARTIN, F. and ROULET, N. 1964. Chemical investigations on soil humic substances. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 28, 1567– 15178
- POUCHLÝ, J. 2008. Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav. VŠCHT Praha. 205. s. ISBN 978-80-7080-674-6.
- RIGOLE, J., WANDRUSZKA, R. 2002. Conductometric Characterization of dissolved humic materials, *Talanta*, 57, s. 519 – 526.
- SIROTIK, M., MICHALÍKOVÁ, A. 2015. Environmentálna chémia: Návody na cvičenia. Trnava: Materiálovotechnologická fakulta STU, Vydavateľstvo AlumniPress. ISBN 978-80-8096-222-7



- SKOKANOVÁ, M. a DERCOVÁ, K. 2008. Huminové kyseliny. Pôvod a štruktúra. Chemické listy. 102, s. 262-268.
- STEVENSON, F. J. 1994. Humus chemistry: Genesis, composition, reactions, 2nd edition. New York, p. 496. ISBN 0-471-59474-1.
- WRIGHT J.R. and SCHNITZER, M. 1960. Oxygen-containing functional groups in the organic matter of the Ao and Bh horizons of a podzol Trans. Intern. Congr. Soil Sci., 7th, Madison, 2, p. 120 - 127.

ADRESA AUTORA

RNDr. Maroš SIROTIK, PhD.

Slovenská technická univerzita v Bratislave, Materiálovotechnologická fakulta Trnava, Ústav integrovanej bezpečnosti, Ulica Jána Bottu č. 2781/25, 917 24 Trnava, Slovenská republika
e-mail: >maros.sirotiak@stuba.sk<

RECENZIA TEXTOV V ZBORNÍKU

Recenzované dvomi recenzentmi, členmi vedeckej rady konferencie. Za textovú a jazykovú úpravu príspevku zodpovedajú autori.

REVIEW TEXT IN THE CONFERENCE PROCEEDINGS

Contributions published in proceedings were reviewed by two members of scientific committee of the conference. For text editing and linguistic contribution corresponding authors.