



POUŽITELNOSŤ SPEKTROSKOPICKÝCH METÓD PRI VÝSKUME PÔDNEJ ORGANICKEJ HMOTY

Maroš SIROTIAK¹ - Margita ŠČASNÁ²

USE OF SPECTROSCOPIC METHODS IN THE RESEARCH OF SOIL ORGANIC MATTER



¹ Materiálovotechnologická fakulta STU v Trnave, Ústav integrovanej bezpečnosti, Ulica Jána Bottu č. 2781/25, 917 24 Trnava, Slovenská republika

✉ Email: maros.sirotiak@stuba.sk

ORCID iD: 0000-0003-1487-801X

<https://orcid.org/0000-0003-1487-801X>

² Materiálovotechnologická fakulta STU v Trnave, Ústav integrovanej bezpečnosti, Ulica Jána Bottu č. 2781/25, 917 24 Trnava, Slovenská republika

✉ Email: margita.scasna@stuba.sk

ORCID iD: 0009-0006-8897-9963

<https://orcid.org/0009-0006-8897-9963>

Competing interests : The author declare no competing interests.

Publisher's Note: Slovak Society for Environment stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations. Copyright: © 2023 by the authors.



This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)

This license allows reusers to distribute, remix, adapt, and build upon the material in any medium or format, so long as attribution is given to the creator. The license allows for commercial use.

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

Slovak Society for the Environment (Slovenská spoločnosť pre životné prostredie) Bratislava, Slovak Republic

ABSTRAKT

Skúmanie pôdnej organickej hmoty nadobúda význam z viacerých dôvodov. Humínové látky pozitívne ovplyvňujú pôdnu štruktúru, v piesočnatých pôdach zabraňujú stratám živín, v ťažkých pôdach zlepšujú zvetrávanie a zadržávajú vodu, zamedzujú vzniku pôdnych trhlin a erózií pôdy vďaka ich schopnosti zlučovať koloidy. Dôležitá je aj ich schopnosť neutralizácie ako kyslých, tak i zásaditých pôd a tiež schopnosť viazať ťažké kovy, ktoré tak neprenikajú do podzemných vôd a zároveň sa neakumulujú v rastlinách. Pre ich stanovenie sa využívajú tradičné (chemické rozbor) aj inštrumentálne metódy. Cieľom príspevku je opísať použiteľnosť spektroskopických metód pri výskume pôdnej organickej hmoty. Detailnejšie je opísaná NMR spektrometria. Medzi výhody použitia NMR spektrometrie pri stanovovaní humínových látok v pôde patrí možnosť detailného trojdimenzionálneho skúmania ich štruktúry ako v pevnej, tak i v kvapalnej fáze. Nevýhodou je prístrojová náročnosť,



potreba úpravy vzorky, dlhý čas skúmania a potreba odrušiť vzájomnú interakciu spinov rôznych nuklidov nachádzajúcich sa vo vzorke.

Kľúčové slová: pôdna organická hmota, spektroskopia, NMR

ABSTRACT

The study of soil organic matter is becoming important for several reasons. Humic substances positively influence soil structure, in sandy soils they prevent nutrient losses from the soil, in heavy soils they improve weathering and retain water, prevent the formation of soil cracks and soil erosion due to their ability to combine colloids. Their ability to neutralize both acidic and alkaline soils is also important, as is their ability to bind heavy metals, which do not penetrate groundwater and do not accumulate in plants. Both traditional (chemical analyses) and instrumental methods are used for their determination. The aim of the paper is to describe the applicability of spectroscopic methods in the study of soil organic matter. NMR spectrometry is described in more detail. The advantages of using NMR spectrometry in the determination of humic substances in soil include the possibility of detailed three-dimensional examination of their structure in both the solid and liquid phases. The disadvantages are the instrumentation complexity, the need for sample preparation, the long examination time, and the need to cancel the mutual interaction of the spins of different nuclides present in the sample.

Keywords: soil organic matter, spectroscopy, NMR

ÚVOD

Z odumretej organickej hmoty sa v pôde humifikačnými procesmi – zložitými rozkladnými a syntetickými reakciami tvorí humus. Jeho kvalitatívne aj kvantitatívne zloženie sa líši v závislosti od zloženia pôvodných organických látok a tiež od fyzikálno-chemických, ako aj biologických podmienok v pôde. [1] Nehumifikovaná frakcia humusu je z najväčšej časti tvorená lignínom, nasledujú sacharidy a v menšej miere ďalšie látky, napríklad pektíny, vosky, živice a iné. Humifikovaná frakcia humusu sa označuje aj ako skutočný, pravý humus, humínové, prípadne humusové látky. Je produktom premeny nehumifikovaných látok uvoľňovaných počas rozkladu rastlinných alebo živočíšnych zvyškov, pričom pri tomto procese, nazývanom tiež humifikácia môžu, ale nemusia byť prítomné mikroorganizmy. Jedná sa o vysokomolekulové cyklické zlúčeniny, ktoré obsahujú uhlík, vodík, kyslík a dusík. [2] Táto časť pôdneho humusu je rozpustná v alkalických roztokoch a chemickými postupmi možno odlíšiť [2,3]:

- *Fulvokyseliny* - sú rozpustné v kyselinách, v zásadách aj vo vode. Možno ich charakterizovať ako koloidné polydisperzné amorfné látky žltej až hnedočiernej farby s malou molekulovou hmotnosťou. Pri zahrievaní nad 50 °C dochádza v ich štruktúre k nezvratným zmenám, postupne uhoľnatejú bez horenia. Majú vyššiu kyslosť a tiež vyšší obsah kyslíka, ale nižší obsah uhlíka ako humínové kyseliny.
- *Humínové kyseliny* - rozpúšťajú sa v alkalických rozpúšťadlách, v kyselinách a vode sú nerozpustné. Jedná sa o amorfné látky tmavohnedej až čiernej farby. Aj humínové kyseliny pri zahrievaní uhoľnatejú, teplota, pri ktorej dochádza k nezvratným zmenám ich štruktúry je 105 °C. Humínové kyseliny sa ďalej rozdeľujú na *hymatomelánové kyseliny* rozpustné v etanole, *hnedé humínové kyseliny* prítomné napr. v rašelinách a hnedom uhlí, ktoré sú rozpustné v roztokoch neutrálnych solí (NaCl, KCl a pod.) a *sivé humínové kyseliny* prítomné napr. v černozeiach, čierniciach a rendzinách, ktoré nie sú rozpustné v roztokoch neutrálnych solí, sú menej kyslé ako hnedé humínové kyseliny, ich sivá farba je stála.



Chemické správanie sa humusových látok je vo výraznej miere ovplyvnené funkčnými skupinami. Karboxylové funkčné skupiny –COOH ovplyvňujú kyslý charakter humusových látok, obvykle sa stanovujú chemickou metódou titrácie octanom vápenatým alebo spektrálnymi metódami – infračervenou (IR) spektroskopiou, prípadne spektroskopiou nukleárnej magnetickej rezonancie (NMR). Hydroxylové skupiny –OH, ktoré ovplyvňujú charakteristiku humínových látok obsahujú najmä fenoly, alkoholy a chinóny. Najvyššiu reaktivitu dosahujú fenolhydroxylové skupiny, preto ich súčet spolu s karboxylovými skupinami predstavuje tzv. celkovú kyslosť humusových látok. Tú je možné stanoviť chemickými metódami, napr. titráciou hydroxidom bárnatým, ale najmä spektrálnymi metódami, napríklad UV-VIS spektroskopiou, IRspektroskopiou, alebo NMR spektroskopiou. [2,4]

SPEKTROSKOPICKÉ METÓDY V ANALÝZE PÔDY

Spektroskopické metódy všeobecne analyzujú interakciu svetla hmotou. Jedná sa o absorpciu, emisiu alebo rozptyl svetla, ktoré závisia od molekulárnych a atómových vlastností látok. Rozoznávame:

- *absorpčnúspektroskopiú*- meria množstvo svetla absorbovaného vzorkou pri rôznych vlnových dĺžkach. Charakteristický priebeh závislosti poskytuje informácie o elektrónových a vibračných stavoch molekúl, čo sa využíva pri identifikácii a kvantifikácii rôznych látok. Do tejto kategórie spadajú techniky ako UV-viditeľná, infračervená (IR) a blízka infračervená (NIR) spektroskopia.
- *emisnúspektroskopiú*- je zameraná na svetlo vyžarované vzorkou, zvyčajne potom, čo bolo excitované zdrojom energie. Charakteristická emisia žiarenia závisí od zloženia a štruktúry vzorky. Príkladom techniky emisnej spektroskopie je fluorescenčná a laserom indukovaná spektroskopia (LIBS).
- *rozptylovúspektroskopiú*- meria svetlo rozptýlené vzorkou. Rozptýlené svetlo sa môže meniť vo vlnovej dĺžke (Ramanova spektroskopia) alebo zostať rovnaké (Rayleighov rozptyl) a analýza týchto zmien môže poskytnúť informácie o molekulárnej štruktúre a dynamike vzorky.

Tieto metódy ponúkajú nedeštruktívne, rýchle a často veľmi presné spôsoby hodnotenia zloženia a množstva organickej hmoty v pôde.

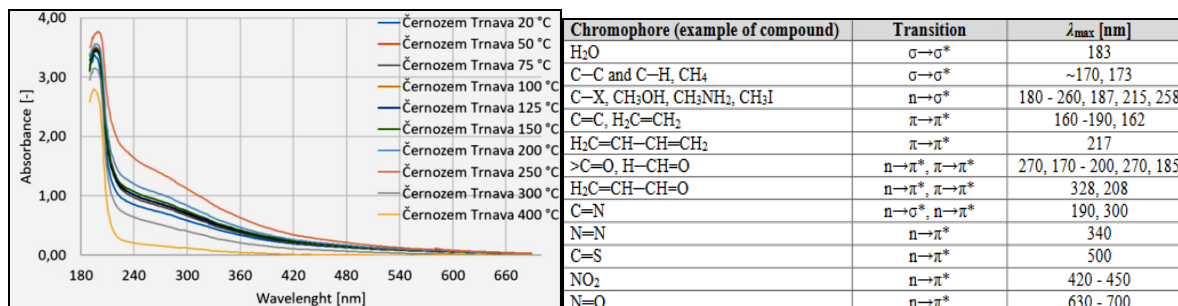
Ultrafialová-viditeľná (UV-Vis) spektroskopia

UV-Vis spektroskopia využíva ultrafialové a viditeľné svetlo. Keď je žiarenie absorbované vzorkou, jeho energia sa použije na excitáciu elektrónov do vyšších energetických stavov. Výsledné absorpčné spektrum ukazuje frekvencie, pri ktorých vzorka absorbuje žiarenie. Výsledné absorpčné spektrum možno použiť na kvalitatívnu analýzu aj na určenie koncentrácie látky v roztoku s využitím Lambertovho-Beerovho zákona.

Jedná sa o jednu z najčastejšie používaných techník na hodnotenie pôdnej organickej hmoty a pôdneho uhlíka. Táto metóda je rýchla, nákladovo efektívna a možno ju použiť na rozsiahle monitorovanie pôdy. Hlavným účelom UV/Vis spektrometrie je určenie absorpčných koeficientov, napr. E_{ET}/E_{BZ} , E_2/E_4 , E_2/E_3 a E_4/E_6 , ktoré sú ukazovateľmi kvality humínových látok.

Časovo rozlíšená spektroskopia

Táto technika sa používa na pozorovanie zmien v systéme v priebehu času. Princíp spočíva v zhotovení série „snímok“ vzorky ihneď po jej vybudení svetelným impulzom. Zmenou časového oneskorenia medzi excitáciou a meraním možno vytvoriť obraz o dynamických procesoch prebiehajúcich vo vzorke. Je obzvlášť užitočná na štúdium chemických reakcií, molekulárnej dynamiky a procesov prenosu energie v reálnom čase.



Obr. 1: Charakteristické UV-VIS spektrum humínových látok a príklady absorbných maxim vybraných funkčných skupín

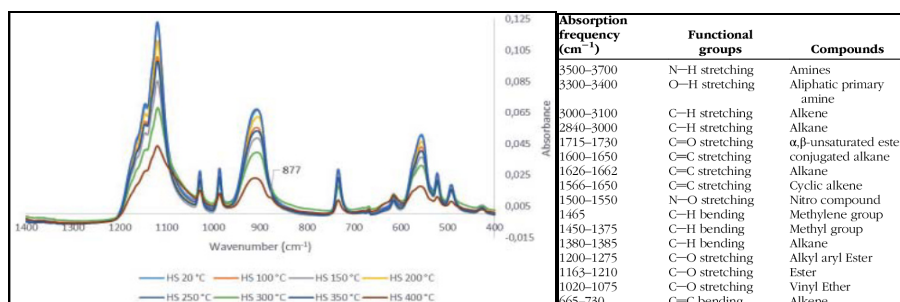
Infračervená (IR) spektroskopia

Pri IR spektroskopii vzorkou prechádza infračervené žiarenie. To je absorbované molekulárnymi väzbami, v dôsledku čoho celé časti molekúl začnú vibrovať. Výsledné absorpčné spektrum je ako odtlačok prsta - rôzne funkčné skupiny v organických zlúčeninách vytvárajú charakteristické absorpčné vzory. IČ spektroskopia je základnou technikou pri identifikácii funkčných skupín, štúdiu molekulových väzieb a celkovej štruktúry organických látok.

IR spektroskopia v porovnaní s UV-Vis poskytuje podrobnejšie informácie o molekulárnom zložení organickej hmoty pôdy. Dokáže identifikovať špecifické funkčné skupiny a chemické väzby v organických molekulách a ponúka pohľad na povahu organickej hmoty, ako je jej stupeň rozkladu.

Spektroskopia zoslabenej celkovej odrazivosti (ATR)

Je to variácia infračervenej spektroskopie, ktorá zber IR spektier zo vzoriek využíva kryštál s vysokým indexom lomu. Vzorka sa privedie do kontaktu s kryštálom a cez ňu smeruje infračervené svetlo. Svetlo sa odráža na rozhraní kryštál-vzorka a vzorka časť tohto svetla absorbuje. ATR je obzvlášť užitočná na štúdium povrchových vrstiev a tenkých vrstiev, ako aj vzoriek, ktoré sa ťažko pripravujú na tradičnú IR spektroskopiu.



Obr. 2: Charakteristické IR spektrum humínových látok a príklady absorbných maxim vybraných funkčných skupín

Terahertzová spektroskopia

Terahertzová spektroskopia využíva terahertzový frekvenčný rozsah elektromagnetického žiarenia (medzi mikrovlnným a infračerveným, zhruba 0,1 až 10 THz). Táto oblasť je obzvlášť užitočná na sondovanie nízkoenergetických excitácií v materiáloch, ako sú rotačné a vibračné režimy v molekulách. Je nedeštruktívna a dokáže preniknúť do mnohých materiálov, vďaka čomu je užitočná na farmaceutickú analýzu, bezpečnostné skenovanie a charakterizáciu materiálov.



Terahertzová spektroskopia sa tiež používa na kontrolu pôdy a detekciu ťažkých kovov. Vývoj tetrahercových zdrojov a detektorov umožnil vykonávať ultrarýchle skenovanie a získavať obrázky s vysokým rozlíšením.

Fluorescenčná spektroskopia

Keď niektoré molekuly absorbujú svetlo alebo iné elektromagnetické žiarenie, môžu ho znovu vyžarovať - tento proces je známy ako fluorescencia. Fluorescenčná spektroskopia meria intenzitu emitovaného svetla a distribúciu jeho vlnových dĺžok.

Technika sa vo veľkej miere používa v biochémií a molekulárnej biológii na štúdium vlastností a správania sa organických molekúl, často s pomocou fluorescenčných značiek alebo vnútorných fluorescenčných vlastností biomolekúl. Táto metóda je tiež užitočná pri identifikácii špecifických organických zlúčenín v pôde.

Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS)

V LIBS je na vzorku zameraný vysokovýkonný laserový impulz, ktorý odoberá malé množstvo materiálu a vytvára plazmu. Keď sa táto plazma ochladzuje, atómy a ióny v nej vyžarujú svetlo s charakteristickými vlnovými dĺžkami. Analýzou tohto svetla je možné určiť elementárne zloženie vzorky. LIBS je rýchla, minimálne deštruktívna technika užitočná pri monitorovaní životného prostredia, analýze materiálov a forenznom vyšetrení.

LIBS možno použiť na rýchlu analýzu pôdy vrátane merania celkového obsahu uhlíka. Je užitočný na meranie organického aj anorganického uhlíka a možno ho použiť v teréne.

Ramanova spektroskopia

Ramanova spektroskopia zahŕňa osvetlenie vzorky monochromatickým svetlom (zvyčajne z lasera) a detekciu rozptýleného svetla. Väčšina rozptýleného svetla má rovnakú vlnovú dĺžku ako dopadajúce svetlo (Rayleighov rozptyl), ale malá časť je vo vlnovej dĺžke posunutá (Ramanov rozptyl). K tomuto posunu dochádza, pretože svetlo interaguje s molekulárnymi vibráciami, čo vedie k prenosu energie medzi svetlom a molekulami. Ramanovo spektrum poskytuje informácie o molekulárnych vibráciách, čo umožňuje určenie molekulárnych štruktúr, fáz a kryštalinity.

Ramanova spektroskopia sa môže použiť na štúdium chemickej štruktúry pôdnej organickej hmoty. Je obzvlášť užitočný na detekciu špecifických typov materiálov na báze uhlíka, ako je grafitický alebo aromatický uhlík, ktoré sú dôležitými zložkami organickej hmoty v pôde.

Röntgenová fotoelektrónová spektroskopia (XPS)

Pri XPS je materiál ožarovaný röntgenovými lúčmi, čo spôsobuje vytrhnutie elektrónov z povrchu vzorky. Meraním kinetickej energie týchto vytrhnutých elektrónov je možné odvodiť ich väzbovú energiu. Tieto informácie možno použiť na určenie elementárneho zloženia a chemického stavu atómov v povrchových vrstvách materiálu.

Röntgenová fotoelektrónová spektroskopia možno použiť na analýzu povrchov pôdnych častíc. Poskytuje informácie o elementárnom zložení a chemickom stave prvkov vrátane uhlíka, čo je cenné pre pochopenie interakcií medzi pôdnymi minerálmi a organickou hmotou.

Mössbauerova spektroskopia

Táto technika je založená na absorpcii gama lúčov jadrami v pevnej vzorke bez akéhokoľvek spätného rázu. Gama lúče spôsobujú prechod jadier do excitovaného stavu. Absorpčné spektrum poskytuje informácie o chemickom a fyzikálnom prostredí jadier, vrátane oxidačného stavu,



kryštalovej štruktúry a magnetických vlastností. Je užitočná najmä pri štúdiu minerálov obsahujúcich železo v pôde a iných materiáloch.

Spektroskopia elektrónovej paramagnetickej rezonancie (EPR)

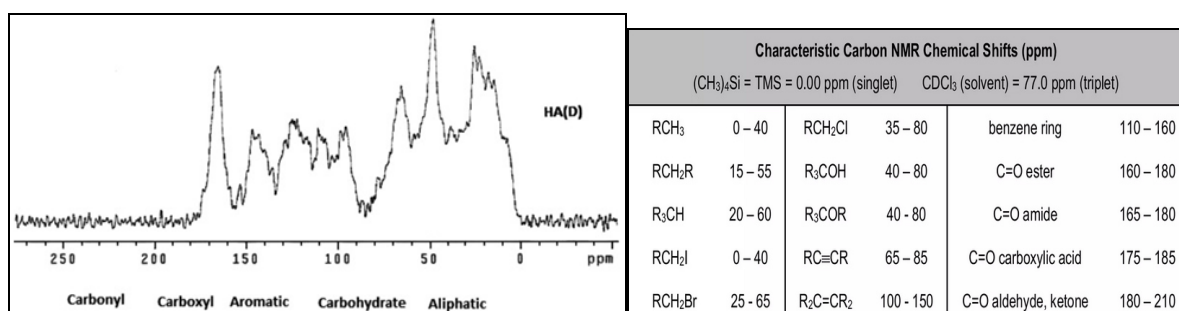
EPR spektroskopia sa používa na štúdium materiálov s nespárovanými elektrónmi (ako sú radikály alebo ióny prechodných kovov). Vzorka sa umiestni do magnetického poľa a aplikuje sa mikrovlnné žiarenie. Nespárované elektróny môžu absorbovať toto žiarenie, keď sa energia zhoduje s energetickou medzerou medzi ich magnetickými stavmi, ktorá závisí od intenzity magnetického poľa. Táto absorpcia poskytuje informácie o štruktúre a prostredí paramagnetických látok.

Pôda ako taká je paramagnetická. Zvyšuje ho prímes kamenného prachu, zvyčajne zo sopečných, žulových alebo čadičových hornín.

Spektroskopia nukleárnej magnetickej rezonancie (NMR)

NMR spektroskopia zahŕňa absorpciu elektromagnetického žiarenia jadrami s frekvenčnou charakteristikou izotopu. Najbežnejšie študované jadrá sú vodík (protónové NMR) a uhlík (uhlík-13 NMR), ale možno analyzovať aj iné jadrá. Prostredie okolo jadier ovplyvňuje ich magnetické vlastnosti a tento vplyv sa prejavuje v NMR spektre. NMR poskytuje podrobné informácie o štruktúre, dynamike a prostredí molekúl, čo z neho robí základnú techniku v organickej chémii a biochémií.

NMR spektroskopia je vysoko účinná na charakterizáciu molekulárnej štruktúry organickej hmoty pôdy - môže poskytnúť podrobné informácie o prítomných typoch uhlíka (sacharidy, ligníny, lipidy a i.).



Obr. 3: ¹³C NMR spektrá vzoriek humínových kyselín [8]

Multidimenzionálna NMR (nukleárna magnetická rezonancia)

Tradičná NMR spektroskopia poskytuje informácie o prostredí atómových jadier v molekule. Viacrozmerné NMR to rozširuje koreláciou signálov z rôznych jadier v rámci tej istej molekuly. Táto technika je obzvlášť účinná na určovanie štruktúry komplexných molekúl, ako sú proteíny a nukleové kyseliny, pretože dokáže rozlíšiť prekrývajúce sa signály a poskytnúť podrobné priestorové informácie o usporiadaní atómov.

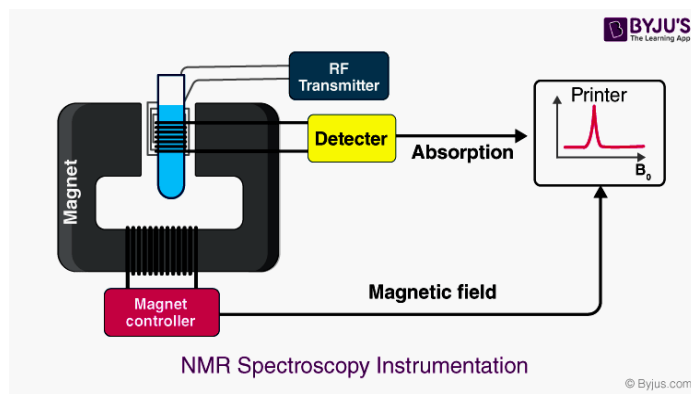
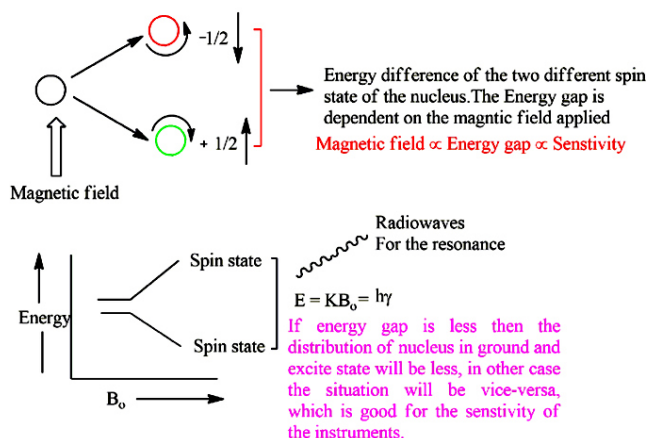
NUKLEÁRNA MAGNETICKÁ REZONANCIA V ANALÝZE PÔDY

Podstatou tejto metódy je jav, ktorý nastane po vložení atómových jadier do magnetického poľa. Pre vznik javu magnetickej rezonancie je základným predpokladom existencia spinu atómového jadra. Elementárne častice charakterizuje spinové kvantové číslo I. *Moment hybnosti* častice so spinom 1/2 sa bude rovnať polovici redukovanej Planckovej konštanty (\hbar). Redukovaná Planckova konštantka je vyjadrená podielom Planckovej konštanty a 2π ($\hbar = h/2\pi$), nadobúda hodnotu $1,055 \cdot 10^{-34} \text{ J s}^{-1}$. *Magnetický moment hybnosti* súvisí s hybnosťou častice cez gyromagnetický pomer γ . Má rozmer vyjadrený v $\text{rad s}^{-1} \text{ T}^{-1}$, charakterizuje pomer magnetického momentu a momentu hybnosti častice. Hodnoty sú pre jednotlivé jadrá rôzne.[5] Gyromagnetický pomer uhlíka γ_C je $67,283 \cdot 10^6 \text{ rad s}^{-1} \text{ T}^{-1}$.



Hoci je v prírodnom uhlíku podiel nuklidu ^{13}C len 1,1 %, vďaka vysokému obsahu uhlíka humínových kyselín (pohybuje sa v rozmedzí 40 až 65 %) je možné ^{13}C NMR spektrá humínových kyselín merať aj napriek nižšej citlivosti tohto jadra so spinom $\frac{1}{2}$. [4]

V základnom stave, počas ktorého nepôsobí magnetické pole, sú spiny usporiadané náhodne a majú rovnakú energiu. Ak však na ne začne pôsobiť vonkajšie magnetické pole, rozdelia sa na dve hladiny - v závislosti od orientácie spinov v smere magnetického poľa E_1 alebo v protismere magnetického poľa E_2 pričom $E_2 > E_1$. Na hladine s nižšou energiou bude mierny nadbytok spinov oproti hladine s vyššou energiou. Ak vyjadríme energiu $E = h \times \nu$, výsledkom je vzťah medzi indukciou magnetického poľa a frekvenciou žiarenia potrebného na vyvolanie zmeny orientácie jadrového spinu. Zároveň vyjadruje pracovnú frekvenciu prístroja ν_0 . Tento vzťah je základným vzťahom nukleárnej magnetickej rezonancie a je označovaný ako rezonančná podmienka. [5]



Obr. Princíp NMR a zariadenia pre NMR analýzu [10]

Zariadenia pre NMR spektroskopiu

Rezonancia v nukleárnej magnetickej rezonancii je založená na rozdielnom obsadení energetických hladín E_1 a E_2 . Aby sa obsadenie hladín vyrovnalo, je potrebné systému dodať energiu vo veľkosti rezonančnej podmienky. Dodanie tejto energie je v NMR spektrometroch zabezpečené aplikovaním vysokofrekvenčného pulzu, pričom si jadrá zo spektra frekvencií vyberú potrebnú frekvenciu tak, aby došlo k vyrovnaniu energetických hladín (čím sa dostanú do rezonancie). Po ukončení dodávania vysokofrekvenčného pulzu dochádza k deexcitácii spinov, ktorá sa následne odmeria. Z uvedeného vyplýva, že na NMR spektrometri je možné merať NMR spektrá rôznych prvkov, ale len v prípade nuklidov, ktoré majú spin rôzny od nuly. Citlivosť prístroja je závislá od veľkosti magnetického poľa, teda dosiahnutia pracovnej frekvencie a od meraného nuklidu, pretože pri väčšom magnetickom poli je väčší rozdiel energií susedných polí a zároveň je prístroj schopný



zaregistrovať jemnejšie odchýlky. Pri ^{13}C NMR je potrebné použiť pulzné spektrometre s Fourierovou transformáciou, ktorá slúži na transformáciu z časovej do frekvenčnej oblasti. Rozsah chemických posunov pri ^{13}C je 600 ppm, pričom chemický posun je možné vyjadriť ako závislosť intenzity interakcie elektromagnetických vln s jadrami a frekvencie elektromagnetických vln. Keďže na meranie NMR signálu je potrebné veľmi silné magnetické pole, využíva sa solenoid. Je to typ veľmi silného magnetu, ktorý je vyrobený so supravodivého materiálu, vyžadujúci si veľmi nízku teplotu (často menej ako $-269\text{ }^\circ\text{C}$), preto je cievka ponorená do kvapalného hélia. Cievka generuje magnetické pole veľké 4 – 18 T, preteká ňou prúd 100 a viac ampérov. Súčasťou NMR spektrometra je tiež sonda, do ktorej sa vkladá vzorka. Táto sonda obsahuje vysielač a prijímač cievky. Poslednou dôležitou súčasťou je sústava zosilňovačov a vysielačov rádiových frekvenčného žiarenia. [5]

Stanovenie humínových kyselín NMR spektroskopiou

Pri stanovení humínových kyselín sa najčastejšie merajú spektrá nuklidu ^{13}C , ale je tiež možné merať spektrá nuklidov ^{27}Al , ^1H , ^{31}P , ^{113}Cd , ^{15}N . Meranie môže byť realizované v roztoku, aj v tuhej fáze. Pri meraní ^{13}C v tuhej fáze sa používa najčastejšie technika skríženej polarizácie pri rotácii vzorky pod magickým uhlom, označovaná ako CP/MAS NMR, ktorá umožňuje merať nerozpustné frakcie humínových látok. Meranie ^{13}C v roztoku, označované aj ako LS NMR, je časovo náročné (zvyčajne 12 hodín), avšak je presnejšie na jednotlivé typy uhlíka a dosahuje sa vyššie rozlíšenie. Pracovná frekvencia spektrometrov je v tomto prípade 466 až 600 MHz, ako rozpúšťadlo sa používa napríklad deuterovaný hydroxid sodný. Navážka humínovej kyseliny je okolo 200 mg s koncentráciou 50 – 100 mg ml $^{-1}$. Počas jednotlivých skenov sa striedajú dlhé spin-mriežkové relaxačné časy jadra T_1 , počas ktorých dochádza k prenosu energie excitovaného jadra na okolité jadrá, a kratšie spin-spinové časy T_2 , počas ktorých dochádza k poklesu magnetizácie excitovaného jadra. Problémom pri kvantitatívnom meraní býva nepriama spin-spinová interakcia medzi nuklidmi ^1H a ^{13}C , ktorý je možné odstrániť využitím inverzného kľúčového decouplingu, pri ktorom je protónový decoupler zapnutý len počas skenovania, mimo jednotlivých skenov sa vypne. [4]

Na základe odlišnosti hodnôt chemických posunov (udáva sa v ppm), ktoré sú charakteristické pre každý chemicky odlišný typ uhlíka, je možné podľa intenzity signálu v jednotlivých oblastiach vypočítať ich percentuálne zastúpenie. Začiatok chemických posunov sa stanovuje v absolútnej hodnote problematicky, preto sa zaužívalo používanie vhodného štandardu, ktorý sa pridáva priamo k meranej látke, alebo sa v zatavenej kapiláre pridá do kvety so vzorkou. Štandard ma v spektre len jednu líniu, ktorá sa dá jednoducho identifikovať, pre ^{13}C NMR spektrá v roztoku deuterovaného chloroformu CDCl_3 sa najčastejšie používa stredná línia s posunom $\delta = 77\text{ ppm}$. [9]

Výstupom z NMR spektrometra je graf, na ktorého osi x je koncentrácia, v našom prípade nuklidu ^{13}C , uvedená ako počet častíc na milión (ppm), na osi y je absorpcia energie. Všeobecne rozoznávame štyri oblasti chemických posunov, v ktorých rezonujú jednotlivé štruktúrne rozdielne typy uhlíka: *alkyly* (0 – 45 ppm), *O-alkyly* (45 – 105 ppm), *aromatický C* (106 – 165 ppm) a *karboxylový C* (165 – 230 ppm). Alkylové a aromatické skupiny tvoria hydrofóbnú časť molekuly humínovej kyseliny, O-alkylové a karboxylové skupiny tvoria hydrofilnú časť molekuly humínovej kyseliny. [8]

ZÁVER

Pre stanovenie kvality pôdnej organickej hmoty sa využívajú tradičné (chemické rozbor) aj inštrumentálne metódy. Najbežnejšou inštrumentálnou technikou je vzhľadom na dostupnosť a nenáročnosť analýzy UV-Vis a IR spektroskopie. Detailnejší rozbor však umožňuje až NMR spektrometria. Medzi výhody použitia NMR spektrometrie pri stanovovaní humínových látok v pôde patrí možnosť detailného trojdimenzionálneho skúmania ich štruktúry ako v pevnej, tak i v kvapalnej fáze. Nevýhodou je prístrojová náročnosť, potreba úpravy vzorky, dlhý čas skúmania a potreba odrušiť vzájomnú interakciu spinov rôznych nuklidov nachádzajúcich sa vo vzorke.



ZOZNAM BIBLIOGRAFICKÝCH ODKAZOV

- [1] OROLÍNOVÁ, M. 2013. Chémia a životné prostredie. Trnava : Pedagogická fakulta TRUNI. ISBN 978-80-8082-690-1.
- [2] TOBIAŠOVÁ, E., BARANČÍKOVÁ, G., GÖMÖRYOVÁ, E. 2016. Pôdna organická hmota. Nitra : Vydavateľstvo SPU. 215 s. ISBN 978-80-552-1583-9.
- [3] PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA UK. 2020. „Humusové“ (humínové) látky, ich vlastnosti a využitie (v poľnohospodárstve, environmentálnom inžinierstve a medicíne). [online] [cit. 29.12.2022]. Dostupné na internete: https://uniba.sk/fileadmin/prif/envi/kpe/ochrana_a_vyuzitie_pedosfery/huminove_latky_a_ich_vyuzitie.pdf
- [4] NOVÁK, F., HRABAL, R. 2011. Kvantitatívni ¹³C NMR spektroskopie huminových látok. Chemické listy [online]. [cit. 29.12.2022]. Dostupné na internete: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2011_10_752-760.pdf
- [5] HALLIDAY, D., RESNICK, R., WALKER, J. Fyzika: Vysokoškolská učebnica obecné fyziky. Brno : VUTIUM, 2000. 1198 s. ISBN 80-214-1869-9.
- [6] REUSCH, W. 2013. Proton NMR Spectroscopy. [online]. [cit. 31.12.2022]. Dostupné na internete: <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/VirtTxtJml/Spectrpy/nmr/nmr1.htm>
- [7] UNIVERSITY OF GUELPH. 2019. 300 MHz Bruker Avance NMR. [online]. [cit.31.12.2022]. Dostupné na internete: <https://www.uoguelph.ca/aac/facilities/nmr-centre/equipment/300-mhz-bruker-avance-nmr>
- [8] AL-FAIYZ, Y. S. S. 2017. CPMAS ¹³C NMR characterization of humicacids from composted agricultural Saudiwaste. Arabian Journal of Chemistry, 10, 1, p. 839-853.
- [9] MORAVEC, Z. 2020. Web o chemii, elektronice a programování. NMR – nukleární magnetická rezonance. [online]. [cit.03.01.2023]. Dostupné na internete: <http://z-moravec.net/chemie/fyzikalne-chemicke-metody/nmr-nuklearni-magneticka-rezonance/>
- [10] PUROHIT, P. 2023. Concept of Organic Chemistry: A New Approach: Unlocking Organic Chemistry's Secretsthrough a New Lens. ISBN 978-9999311083