

**Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský**

**Národní referenční laboratoř**



**Bulletin 2004**

**Ročník VIII, číslo 3/ 2004**

**Brno 2004**

## Obsah

1. Vybrané kapitoly z pedologie pro chemiky 1

(RNDr. Ivo Honsa, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Národní referenční laboratoř, Oddělení speciálních analýz půd Liberec)

Za obsah příspěvků odpovídá autor.

Plné znění všech bulletinů Národní referenční laboratoře (včetně barevných grafů a obrázků) můžete najít na našich webových stránkách v části věnované Národní referenční laboratoři ([http://www.ukzuz.cz/index\\_lo.php?id=publikace](http://www.ukzuz.cz/index_lo.php?id=publikace)).

# Vybrané Kapitoly z Pedologie pro chemiky

**RNDR. IVO HONSA**

ÚSTŘEDNÍ KONTROLNÍ A ZKUŠEBNÍ ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝ, ODDĚLENÍ  
SPECIÁLNÍCH ANALÝZ PŮD LIBEREC, VAŇUROVA 6, 460 01 LIBEREC

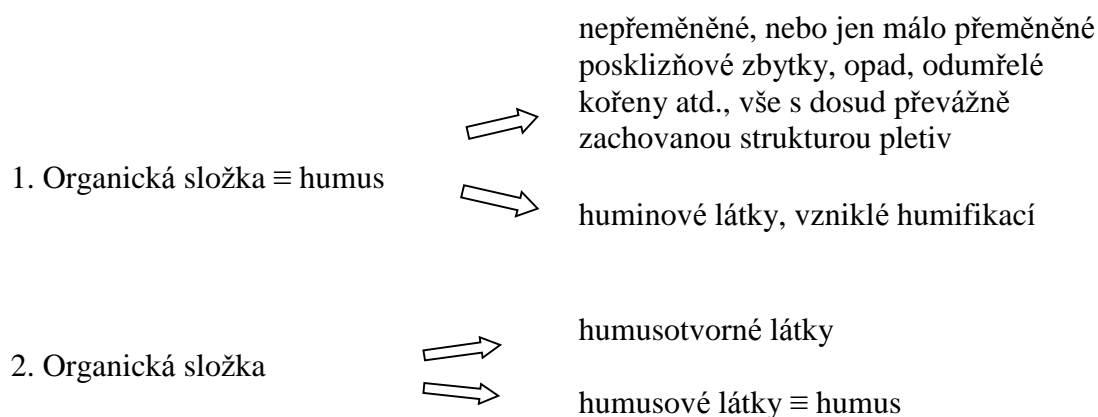
## 2. Organická složka půdy

### 2.1. Definice a třídění

Již v úvodu bylo řečeno, že přítomnost přirozené organické hmoty charakteristického, i když kolísavého látkového složení, je nezbytnou podmínkou existence a funkce celé pedosféry. Ačkoliv stále existuje více systémů třídění organické půdní substance, jejich společným znakem je vyčlenění živé hmoty – biomasy z organického podílu. **Půdní biomasu** představují jednak podzemní orgány rostlin (živé kořeny), jednak půdní organismy zvané souhrnně **edafon** a podle příslušnosti k rostlinné nebo živočišné říši pak fyto-nebo zoedafon. Půdní organismy představují asi 0,05 až 1% hmotnosti půdy do 30 cm a více než 60% z toho připadá na mikroorganismy, především na mikroflóru. Svou hmotností jsou tedy organismy méně významnou, avšak tokem energie nejdynamičtější půdní složkou.

Do **neživé části organické půdní složky** se započítávají i antropogenně vnášené hmoty, ať již velkoobjemově jako např. hnůj nebo ostatní organická hnojiva popř. odpady, či jen v malém množství jako třeba pesticidy ap. Látkové složení neživého podílu je velmi pestré a to je jeden z důvodů existence více **systémů jeho třídění**. Většina těchto systémů se liší spíše terminologicky, což je ovlivněno i tradicí jednotlivých pedologických škol, a to i v tuzemských poměrech. Při studiu literatury je tedy vhodné vědět, kterou skupinu nazvanou jistým termínem má autor příslušné práce na mysli.

**Podle používaných termínů lze většinu třídění rozdělit do dvou základních skupin:**



Vcelku ustálené je názvosloví **dílčích procesů přeměny organických látek** v půdě:

**Odbourávání organických látek resp. jejich rozklad** je proces štěpení vedoucí od složitějších k jednodušším látkám, např. z polysacharidů vznikají jednodušší cukry ap.

**Mineralizace** je úplný mikrobiologický rozklad organické hmoty až na anorganické látky ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{NH}_3$ , oxidy prvků atd.) za dostatečného přístupu vzduchu.

**Rašelinění a uhelnatění** je proces probíhající při výrazně omezeném přístupu vzduchu, při kterém vznikají tmavohnědé až černé látky s vysokým obsahem uhlíku.

**Humifikace** je převážně anaerobní proces, při němž v četných krocích z produktů odbourávání organických látek synteticky vznikají látky nové, zvané **huminové** popř. **humus**.

## 2.2. Výchozí látky a jejich přeměna

Výchozími látkami uvedených procesů jsou vesměs odumřelé organismy nebo jejich části a produkty jejich metabolismu. S výjimkou půd hnojených statkovými hnojivy nebo odpady nejsou antropogenní vstupy pro látkovou bilanci organické složky významné. Ve výchozím materiálu jsou, v závislosti na původu v různém absolutním množství a vzájemném poměru zastoupeny následující skupiny látek:

celulóza,  
lignin,  
hemicelulóza,  
cukry, škroby a další sacharidy, pektiny, chitin,  
bílkoviny,  
lipidy, vosky, pryskyřice, třísloviny, barviva,  
popeloviny.

Mineralizace a humifikace probíhá ve třech těsně navazujících a vzájemně se prolínajících fázích:

1. V první fázi bezprostředně po odumření organismu dochází k **enzymatickému** (hydrolytickému a oxidačnímu) **odbourávání vnitrobuněčných polymerovaných sloučenin** na jednodušší základní látky. Např. škrob se štěpí na cukry, bílkoviny odštěpují aminokyseliny, chlorofyl se mění na feofytin atd. Těmito reakcemi vznikají např. i anthokyany, způsobující spolu s karoteny nebo xantofyty, odolnějšími než chlorofyl, podzimní zbarvení listů. Vedle toho se uvolňuje velký podíl minerálních živin (K, Mg, Fe), které pak mohou být vymyty vodou.

2. Ve druhé fázi nejdříve dochází k **mechanickému mělnění odumřelé biomasy**, kterého se zúčastní makro- a mezofauna, aniž by docházelo k významnější chemické přeměně. Vzniklá měl pak tzv. bioturbací proniká s povrchu hlouběji do půdy a mísí se s ní. Nezastupitelnou úlohu při tom mají též dešťovky a další štětinatí červi, kteří též sami zatahují organické zbytky do půdy. V jejich zaživacím traktu se mísí minerální a organické částice a tráví se (s pomocí střevní flóry) především dusíkaté látky, které částečně přecházejí do exkrementů.

3. Třetí fáze zahrnuje **činnost mikroorganismů** na rozmělněných rostlinných a živočišných zbytcích a exkrementech. Nejsnadněji odbouratelné jsou nízkomolekulární sacharidy, pektiny a bílkoviny pocházející především ze živočišných zbytků, které se tak velmi rychle rozkládají. Výjimku tvoří odolné látky z nosných pletiv, např. chitin. Odbourávání zbytků částí rostlin bohatých na celulózu a lignin je pomalejší a začíná štěpením celulózy s pomocí hub a specializovaných bakterií. Lignin ve velkém odbourávají např. plísně až při nedostatku snáze zpracovatelných látek, např. sacharidů. V této fázi zcela mizí původní molekulární struktura biomasy.

Zpracování produktů odbourávání půdními mikroorganismy je vždy několikeré:

1. V **aerobním prostředí** využijí heterotrofní bakterie až 60% hmoty produktů odbourávání k získání energie její úplnou oxidací až na CO<sub>2</sub> a H<sub>2</sub>O. Uvolněné minerální látky jsou buď přijímány bakteriemi, nebo přecházejí do půdního roztoku. V **anaerobním prostředí** mohou

kyslík zastoupit jiné akceptory elektronů, jako  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{Mn}^{4+}$  nebo  $\text{Fe}^{3+}$ , jsou-li přítomny, Neúplná oxidace však, zpravidla s nižším energetickým výtěžkem, vede k mastným kyselinám,  $\text{CH}_4$  nebo  $\text{H}_2$ .

2. Část produktů odbourávání je využita množícími se bakteriemi **jako vlastní stavební materiál** a zůstává tedy v půdě až do jejich odumření.

3. Část produktů odbourávání **humifikuje**.

Podrobnosti k uvedenému:

**Rychlost odbourávání biomasy** závisí jednak na jejím **látkovém složení**, jednak na **životních podmínkách půdních organismů**. Čím jsou vyšší obsahy ligninu a celulózy, tím obecně pomaleji probíhá mikrobiální rozklad, zatímco vysoký obsah lehce odbouratelných a dusíkatých látek rozklad urychluje. Zbytky starších rostlin s buněčnými stěnami bohatšími celulózou se rozkládají pomaleji než zbytky rostlin mladších. Podobně se liší rozložitelnost různých rostlinných orgánů, např. xylém kořenů, epiderm a žilnatina listů s vyšším obsahem ligninu se odbourávají pomaleji. Rovněž třísloviny (např. tanin) brzdí odbourávání, takže jejich přítomnost může rozklad silně zpomalit. Rostlinné části obsahující mnoho minerálních živin se obecně odbourávají rychleji než živinami chudé a mikroorganismy pak využívají tyto prvky pro vlastní látkovou výměnu.

V mírném klimatu je **teplotní optimum** pro život většiny půdních organismů 25- 30°C. Při nižší teplotě se rozklad zpomaluje. Odbourávání biomasy v půdách **bohatých kyslíkem** probíhá podstatně rychleji než při jeho nedostatku, protože je energeticky příznivější. Při příliš vysokých sacích tlacích **vody v půdě** dalekosáhle stagnují mikrobiální přeměny, k maximální rychlosti odbourávání dochází, jsou-li póry v půdě vyplněny vzduchem asi na 40- 60%. Protože písčité půdy při středních sacích tlacích obsahují často příliš málo a naopak jílovité půdy často příliš mnoho vody, je v nich odbourávání humusu v průměru pomalejší oproti hlinitým půdám s vyrovnaným rozdělením pórů.

Nedostatek **živin v půdě**, často spjatý s nízkou hodnotou pH, může výrazně potlačit rozklad. To se stává zvláště tehdy, obsahuje-li biomasa málo živin (např. jehličnatý opad), takže na takových lesních stanovištích nestačí čas mezi dvěma obdobími opadu k úplnému rozkladu a tvoří se mohutné humusové vrstvy částečně rozloženého materiálu. Obecně se však stanoviště s vysokou produkcí biomasy vyznačují i obzvláště intenzivním odbouráváním, protože příznivé podmínky prospívají jak rostlinám, tak rozkladným organismům. Obsah humusu je pak často patřičně nízký.

**Inhibitory** v opadu a posklizňových zbytcích mohou rozklad natolik zpomalit, že odbourávání se urychlí až po jejich vymytí nebo přeměně. Jsou-li spolu s rostlinnými zbytky

dodávány též inhibitory (mající často fenolický charakter jako např. tanin), může být mikrobiologické odbourávání dlouhodobě znemožněno, jak se předpokládá u rostlin poskytujících surový humus (např. smrky, borovice, vřes). Rovněž *aromatické sloučeniny*, které mohou v počáteční fázi odbourávání reagovat s bílkovinami, mají pravděpodobně částečně povahu inhibitorů. Mnohé z těchto látek mohou být rozloženy pouze specializovanými organismy. Často se uvádí příklad s výkaly skotu dovezeného do Austrálie, které se podařilo zvládnout až s pomocí rovněž ze zámoří importovaných a vysazených specializovaných chrobáků.

Rostlinné zbytky se obvykle shromažďují na povrchu půdy a proto je zde jejich podíl v organické hmotě zpravidla nejvyšší. V lesních půdách proto podíl celulózy a ligninu klesá shora dolů, zatímco podíl huminových látek stoupá. V některých půdách je i ve spodině relativně silně zastoupena bílkovinná frakce. Je to způsobeno jednak přítomností živých i mrtvých organismů, které se při analýze stanoví spolu, jednak aminokyselinami zabudovanými v huminových látkách, které tak vyšší obsah proteinů jen předstírají.

Jak již bylo uvedeno, k produktům rozkladu opadu vedle anorganických látek (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O atd.) náleží v malém množství i *nízkomolekulární organické kyseliny* (mravenčí, octová, šťavelová). V anaerobním prostředí je uvolňování takových kyselin zčásti zesíleno. Kromě toho se tvoří i uhlovodíky a vodík (Tab. 2- 1).

## **2.3. Huminové látky (humusové látky, humus)**

Tyto látky jsou vysokomolekulární organické sloučeniny většinou tmavé barvy. Vytvářejí částice menší než 2 μm, vyznačují se velkým měrným povrchem a schopností reverzibilně poutat vodu a jiné molekuly i ionty, těžké kovy pak zčásti ireverzibilně do komplexů. V půdě se jen částečně vyskytují jako samostatné částice, zpravidla jsou s minerály i partikulami organické hmoty stmeleny do větších agregátů. Jistý podíl je též sorbován na jílové minerály a oxidy.

### **2.3.1. Tvorba huminových látek**

Huminové látky vznikají z produktů štěpení organických zbytků. Před jejich syntézou se větší molekuly rostlinných zbytků zpravidla rozkládají na jednodušší sloučeniny: polysacharidy na oligo- nebo monosacharidy, bílkoviny na peptidy nebo aminokyseliny a aromatické buněčné součásti jako ligniny na jednoduché fenolické látky. Na syntéze

huminových látek se vedle toho podílejí také menší molekuly jako triosy, aminy nebo amonium ( $\text{NH}_4^+$ ). Molekulární struktura rostlinných zbytků, ze kterých vznikají huminové látky, se při tom pronikavě mění. Pomalou oxidací se charakteristicky zvyšuje podíl karboxylových a fenolických OH- skupin na tuhé substanci a tím též kationtová výměnná kapacita (KVK) huminových látek.

Proces humifikace resp. tvorby huminových látek (potažmo humusu v přírodě je v koloběhu uhlíku v biosféře stejně důležitým článkem jako fotosyntéza. Tvorba huminových látek je však složitější a zdaleka ještě není ve všech detailech známá. O tom třeba svědčí skutečnost, že při pokusech o *čistě chemickou syntézu bez pomoci organismů* se dosud podařilo připravit látky "podobné huminovým" s některými vlastnostmi ne zcela shodnými s přirozenými huminovými látkami, jak vyplynulo např. ze srovnání jejich NMR a EPR (resp. ESR) spekter. Při studiu procesů tvorby huminových látek jsme totiž často odkázáni na domněnky, předpoklady a závěry odvozené z analogie se syntézami v jednoduchých systémech. Při nich se zpravidla vychází z nízkomolekulárních reaktivních látek, známých jako produkty odbourávání rostlinných složek popř. látkové výměny půdních živočichů, které se v podmínkách blízkých půdním nechají reagovat s příslušnými reakčními partnery. V tabulce 2-2 jsou uvedeny některé procesy, vedoucí většinou radikálovými reakcemi k látkám "podobným huminovým". Tak např. monosacharidy jsou zejména v kyselém prostředí převáděny na deriváty furanu s velkým sklonem k polymeraci. Cyklické aminokyseliny jako tyrosin po oxidaci na dioxyindoly přecházejí na melaniny, které již mají vlastnosti látek podobných huminovým. Aromatické buněčné složky jako lignin přecházejí hydrolýzou nebo odštěpením postranních řetězců a oxidací na fenoly. Přes oxyfenoly a oxychinony polymerizují rovněž na látky podobné huminovým.

Heterocyklické zabudování dusíku do molekul aromatických sloučenin schopných polymerace je možné tak, že aminokyseliny a také amoniak velmi snadno reagují např. s aldehydy a deriváty furanu. Při navázání aminokyseliny na chinony vzniká zprvu aminochinon. Je-li možné přemístění do ortopolohy, může se alifatický postranní řetězec aminokyseliny odštěpit a vzniklý aminochinon nebo aminofenol je schopný polymerace. Není-li toto přemístění možné, zůstane zachovaná aminosloučenina. Obě reakční cesty mají pravděpodobně v půdě význam: první vede k zabudování heterocyklického nebo můstkového dusíku do huminových látek, druhá k navázání aminokyselin na huminové látky. (Tabulka 2-2.)

Ke shodě v široké oblasti chemických a fyzikálních vlastností (elementární složení, funkční skupiny, IČ- spektra, odbouratelnost, tvorba agregátů s anorg.půdními složkami atd.)



synteticky získaných látek s půdními huminovými látkami se dospělo při **využití přirozených enzymů** nebo **činnosti mikroorganismů** (bakterií nebo hub). Enzymy výrazně podporují tvorbu dusíkatých huminových látek. Tak např. extracelulární fenoloxidáza způsobila zabudování aminokyselin do štěpných zbytků ligninu za vzniku kovalentní vazby C-N. Působením fenoláz a peroxidáz na směs různých nízkomolekulárních látek (aminokyseliny, aminy, proteiny) vznikly vysokomolekulární látky podobné huminovým. Rovněž v substrátech při kultivaci různých druhů bakterií (*Micrococcus*, *Azotobacter*) nebo aktinomycet byla zjištěna tvorba huminových látek.

V přírodě probíhá **biologická humifikace**, tj. syntéza huminových látek z jednoduchých sloučenin vzniklých odbouráváním v mnoha krocích, při čemž převážnou část procesu zajišťují mikroorganismy. Tyto děje probíhají zvláště rychle při hodnotách pH kolem 7 a při přebytku bílkovin nad rozpustnými fenolickými sloučeninami, protože jen za těchto podmínek se v půdě optimálně vyvíjí edafon. Při použití látek značených izotopy (např. glukóza aj.; zpravidla  $^{14}\text{C}$  nebo  $^{15}\text{N}$ ) bylo zjištěno, že nízkomolekulární látky jsou v krátkém čase zabudovány do frakce huminových kyselin. Vedle mikroorganismů zde mají význam i dešťovky a nižší červi (*Enchytraeidae*), přijímající organické látky s mikroorganismy a anorganickými částicemi. V zažívacím traktu je částečně mění a důkladně mísí a tím mohou vznikat organominerální sloučeniny, ve kterých jsou huminové látky zvláště stabilizovány proti rozkladu. V kyselých půdách s nedostatkem těchto živočichů je mísení huminových látek s minerálními částicemi omezeno, což se např. projevuje v humusovém horizontu výskytem bílých částic křemene.

Při **abiologické humifikaci** působí edafon jen při tvorbě výchozích látek. Syntéza je oproti biologické pomalejší a probíhá převážně tehdy, když odbouráváním houbami a plísněmi vznikají nízkomolekulární látky s vysokou koncentrací organických radikálů, zejména při nízké hodnotě pH a vyšším poměru C/N (nedostatek dusíku). Typickým příkladem je **tvorba vrchovišť**, kde je biologická aktivita díky anaerobním podmínkám, nízkému pH, nedostatku živin a pravděpodobně též přítomnosti inhibitorů téměř nulová. Rovněž u **podzolů** se předpokládá vysoký podíl abiologické humifikace, která zpravidla vede převážně ke tvorbě nízkomolekulárních sloučenin, např. k **fulvokyselinám**.

### 2.3.2. Složení, struktura a vlastnosti

Huminové látky obsahují řadu stavebních prvků, mezi kterými jsou vedle větších štěpných částí ligninu, polysacharidů a proteinů zastoupeny především aromatické karbonové popř.

polykarbonové kyseliny obsahující OH- skupiny, chinony, odštěpeniny cukrů, heterocykly obsahující O nebo N a různé aminokyseliny. Tyto molekulové jednotky jsou navzájem spojeny různými vazebnými můstky, např. -O-, -NH-, -N=, -CH<sub>2</sub>-, -C=O-, -S- a též delšími uhlovodíkovými řetězci.

Vlastnosti huminových látek jsou určovány *zejména polárními funkčními skupinami*, schopnými disociovat nebo přijímat protony. Díky tomu mají huminové látky většinou charakter kyselin a náhrada protonů kationty kovů, ať již vyměnitelně nebo v podobě stabilních komplexů, má pro reakce v půdě mimořádný význam. (Tabulka 2- 3).

Složení a struktura huminových látek jsou velmi silně závislé na podmínkách v čase tvorby (půdní typ, vegetace, edafon atd.). Mezi skladebnými elementy jsou vedle C, H a O vždy zastoupeny N a S a často je přítomen P.

**Dusík** je důležitou složkou všech huminových látek (HL), kde je mj. zabudovaný ve formě aminokyselin a aminocukrů. V různých frakcích HL poměr C/N kolísá mezi 7- 15 u huminových kyselin a 20- 100 u fulvokyselin. (Tabulka 2- 4).

**Síra** je v HL rovněž vždy obsažena. Poměr C/S  $\approx$  100-200. V zemědělských půdách je až 90% S vázáno v HL, z toho asi polovina v esterových vazbách.

**Fosfor**, pokud je HL přítomen, je ze 60% až 90% vázán jako mono- nebo diester o-fosforečnanu.

Proměnlivé vzájemné poměry, nepravidelná spojení a různé substituenty na aromatických nebo heterocyklických jádrech neumožňují definovat obecně platnou molekulu huminové kyseliny nebo fulvokyseliny ani "monomery" polymerních huminových látek. Jeden z možných modelů molekuly, zobrazující nejdůležitější dosud zjištěné skupiny atomů a také jejich přibližné vzájemné poměry spolu s její adsorptivní vazbou na jílový minerál, znázorňuje obr. 2- 1. Potenciální rozmanitost je obrovská: ze statistických úvah vyplývá, že v 1 kg huminových látek lze očekávat jen asi 2 totožné molekuly huminové kyseliny.

### 2.3.3. Frakce huminových látek

Třídění HL podle strukturně chemických hledisek, ať pro popisné nebo identifikační účely, je vzhledem k jejich heterogenitě neproveditelné. Proto se, přes všechny známé nedostatky, frakcionují na základě rozpustnosti v kyselině a louhu sodném do 3 skupin:

fulvokyseliny

huminové kyseliny

huminy

V tabulce 2- 4 jsou shrnuty některé vlastnosti skupin (frakcí) huminových látek. Tyto vlastnosti však silně kolísají, protože jsou značně závislé na podmínkách při tvorbě (půdní typ, vegetace, půdní biologie).

**1. Fulvokyseliny**, dříve též zčásti označované jako krenové, jsou podíl huminových látek rozpustný v louhu a nesrážející se kyselinami. Od huminových kyselin se liší nižší relativní molekulovou hmotností. Obsahují až 30% polysacharidových stavebních prvků, zatímco aromatické části se vyskytují zřídka. Fulvokyseliny, stejně jako jejich soli – **fulváty** jsou částečně rozpustné ve vodě a jsou schopné redukovat a převést do roztoku oxidy manganu a železa a ionty pak komplexně vázat.

V půdách jsou často adsorbované, vázané např. na oxidy hliníku a železa, jílové minerály nebo výšemolekulární organické látky.

Vznikají hlavně při nízké biologické aktivitě resp. nízké hodnotě pH po odbourání polysacharidů a proto např. v podzolech představují hlavní podíl huminových látek. Mohou též vznikat štěpením větších molekul HL, např. při okyselení černozemí.

**2. Huminové kyseliny** jsou huminové látky, které se z alkalického výluhu zeminy sráží silnými kyselinami, obvykle  $H_2SO_4$  nebo  $HCl$ . Mají vyšší relativní molekulovou hmotnost, obsahují více aromatických a  $-CH_2-$  skupin a méně polysacharidových zbytků než fulvokyseliny.

Huminové kyseliny jsou obtížně rozpustné ve vodě a s vícemocnými kationty (Ca, Mg, Fe, Al) vytvářejí rovněž těžko rozpustné soli – **humáty**. Větší rozpustnost v louhu sodném spočívá, vedle vlivu iontu  $Na^+$ , v disociaci slabě kyselých skupin, které tak zvyšují náboj huminových kyselin závislý na pH a usnadňují hydrataci. Dále se zvýšením hodnoty pH uvolňují existující vazby s jinými humáty. V organických rozpouštědlech se rozpouštějí relativně dobře tehdy, jestliže tato mohou s huminovými látkami vytvářet komplexy s přenosem náboje ("charge transfer complexes"). To platí zvláště pro polární rozpouštědla, která mohou vystupovat jako akceptory nebo donory elektronů, jako např. dimethylformamid, fenol nebo dimethylsulfoxid.

Kyselý charakter huminových kyselin a s ním též schopnost výměny kationtů spočívá, podobně jako u fulvokyselin převážně v přítomnosti  $COOH-$  a fenolických  $OH-$  skupin. Počet těchto sorpčních skupin je však nižší než u fulvokyselin. (Tab. 2- 5).

RTG difrakční diagram izolovaných huminových kyselin vykazuje široké interferenční pásy, poukazující na strukturu podobnou grafitu nebo na špatně uspořádaný systém aromatických struktur.

Skupina huminových kyselin se často dělí na *šedé HK*, které lze z alkalického roztoku vyvločkovat vyšší koncentrací elektrolytů a *hnědé HK*, které zůstanou v roztoku. Vedle toho lze ještě ethanolem nebo acetylbromidem vyloužit *hymatomelanové kyseliny*, přítomné v tlejícím organickém materiálu, např. v hnoji nebo v hniječím dřevě.

V elektronovém mikroskopu se fulvokyseliny a huminové kyseliny podstatně neliší: podle původu vzorku a způsobu zpracování (dispergace, sušení) vykazují kulové částice, většinou s houbovitou skladbou vláknitých prvků, jejichž tloušťka může kolísat mezi 0,02 až 5  $\mu\text{m}$ .

**3. Huminy** jsou podíl huminových látek nerozpustný v louhu za chladu. Do této frakce se však dostává i část huminových kyselin a fulvokyselin vázaná tak pevně na jílové minerály, že není za chladu louhem extrahovatelná. Velká část frakce huminů, získaná při praktické separaci, sestává z málo rozložených živočišných a rostlinných zbytků, které nelze zahrnovat do huminů, avšak metodicky jsou jen obtížně oddělitelné nebo je nelze oddělit vůbec.

#### 2.3.4. Stáří huminových látek

Metodou datování  $^{14}\text{C}$  zjištěné stáří jednotlivých frakcí HL je rozdílné. Menší ještě málo přeměněné štěpné částice ligninu a polysacharidů, mají podle očekávání stáří 10 až 100 let. Pro snadno pohyblivé a nízkomolekulární organické látky se uvádí 25 až několik stovek let. Z imobilních frakcí HL jsou často nejmladší podíly vázané na jílové minerály (několik set let), zatímco fulvokyseliny, huminové kyseliny a huminy mohou být podstatně starší. (Tabulka 2- 6).

Nižší zjištěné stáří huminů oproti huminovým kyselinám ukazuje na podíl málo rozložených rostlinných zbytků v huminové frakci. Příčinou je též vysoká odolnost huminových kyselin vůči odbourávání: rychlost tohoto půdními bakteriemi uskutečňovaného procesu obecně klesá v řadě fulvokyseliny > hymatomelanové kyseliny > šedé huminové kyseliny > hnědé huminové kyseliny. Tak např. během 120 dní při 25<sup>0</sup> C byla přeměněna pouze 2% uhlíku vázaného v hnědé huminové kyselině, zatímco byl úplně zpracován C z fulvokyselin.

S přibývajícím hloubkou profilu stoupá též  $^{14}\text{C}$  – stáří organické substance i jednotlivých frakcí HL.

### 2.3.5. Metaloorganické komplexy

Mezi organickými látkami a minerálními složkami existují četné těsné vztahy. Zvláštní význam má vliv rozpustných, komplexotvorně působících organických látek na rozpustnost kovů. Tvorbou rozpustných komplexů může být značně zvýšena rozpustnost nejen železa nebo hliníku, ale i stopových prvků (Mn, Cu, Zn aj.) a potenciálně toxických prvků (Hg, Cd, Pb aj.). Organické komplexotvorné látky – ligandy tak ovlivňují zvětrávání minerálů a migraci kovových prvků v půdě. V těsné souvislosti s dynamikou organických komplexotvorných látek je rovněž zásobování rostlin mikroživinami a ekologická účinnost potenciálně toxických těžkých kovů.

#### 2.3.5.1. Organické komplexotvorné látky

Jako komplexotvorné látky v půdě působí vedle fulvokyselin a huminových kyselin též nízkomolekulární organické sloučeniny, uvolňované při odbourávání zbytků vegetace a organických odpadů, nově vznikají při mikrobiologické látkové výměně a vylučované kořeny rostlin. K těmto látkám náleží především jednoduché alifatické karbové kyseliny (např. šťavelová, furanová), hydroxykarbové kyseliny (např. citronová, vinná, glukonová) a ketokyseliny (oxaloctová, ketoglutarová aj.) a dále aromatické hydroxykarbové kyseliny (salicylová, tanin), dihydroxybenzeny (pyrokatechin, hydrochinon) a různé aldehydy (např. salicylaldehyd), polyfenoly a aminokyseliny. Koncentrace těchto ligandů v půdním roztoku je silně ovlivněna obsahem rozložitelné organické substance a činností mikroorganismů. Může být vyšší než  $10^{-3}$  mol/l a vykazovat vyšší komplexotvorné působení než roztok EDTA nebo salicylanu  $c = 10^{-4}$  mol/l. Obsah organických látek v půdním roztoku v A-horizontech různých půd může být nižší než 10, ale také vyšší než 400 mg C/l.

Vnášením kalů z ČOV nebo jiných komunálních odpadů do půd nebo jejich zavlažováním odpadními vodami mohou být též dodány syntetické komplexotvorné látky (EDTA, NTA, smáčedla aj.), které mohou např. způsobit mobilizaci těžkých kovů.

Kovy resp. centrální atomy jsou na organické komplexotvorné látky - ligandy vázány prostřednictvím funkčních skupin, zejména karboxylových (-COOH), karbonylových (=CO), fenolických (aromatických -OH), methoxylových (-OCH<sub>3</sub>), aminových (-NH<sub>2</sub>), iminových (=NH) a sulfhydrylových (-SH). Vazba mezi kovem a ligandem může mít převážně elektrostatický – iontový nebo i kovalentní charakter, je-li sdílen elektronový pár atomů O nebo N funkčních skupin. Je možná i současná vazba oběma typy. Při realizaci vazby atomu

kovu skupinou –COOH nebo též fenolickou –OH obvykle dochází k uvolňování protonu. Při vazbě centrálního atomu dvěma či více funkčními skupinami a vytvoření pěti- nebo šestičlenného cyklu vznikají vysoce stabilní cheláty. (Obr. 2- 2).

### 2.3.5.2. Vlastnosti metalorganických komplexů

V závislosti na vlastnostech, koncentraci příslušných kovů i komplexotvorných látek a hodnotě pH půdy vznikají rozpustné metalorganické komplexy nejrůznějších typů a stability, které mohou mít pozitivní, negativní nebo nulový náboj (obr. 2- 2). Těžké kovy zjevně existují v půdním roztoku převážně jako aniontové komplexy s chelátovou strukturou (obr. 2- 2, b, e).

Vedle železa může vytvářet aniontové komplexy rovněž hliník, především s dikarbonovými nebo hydroxykarbonovými kyselinami (např. citronová, salicylová), nebo s hydroxybenzeny. Tím se značně zvýší rozpustnost kovů především při hodnotách pH nad 5 až 6 ve srovnání s anorganickými rovnováhami rozpustnosti. Pod hodnotami pH 5-6 může být rozpustnost kovů snížena adsorpcí záporně nabitých komplexů na kladně nabitých oxidech železa a hliníku. Takto se při podzolizaci mohou organické komplexy Fe a Al při přesunu do spodiny vylučovat na oxidech a mj. způsobit vznik iluviálního horizontu. Při hodnotách pH pod 3- 4 se díky vyšší koncentraci protonů slabší komplexy opět štěpí a vázané ionty se uvolňují.

Rozpustnost metalorganických komplexů je významně ovlivněna molárním poměrem mezi ligandem a kovem. Při nadbytku fulvokyselin nebo jiných rozpustných komplexotvorných látek mohou vzniknout vysoce rozpustné sloučeniny s molárním poměrem ligandu ke kovu 2:1 u dvojmocných a 3:1 u trojmocných kationtů. Při stoupající koncentraci kovu vznikají komplexy s molárním poměrem 1:1 (obr. 2- 2, a) a konečně nerozpustné komplexy s molárním poměrem <1. Při vysoké koncentraci kovu mohou vedle chelátů vznikat též jednoduché komplexy mezi atomy kovu (M) a karboxylovými skupinami, např. typu –COOM(OH). Molární poměr ligandu k centrálnímu atomu je mnohdy závislý na hodnotě pH zpravidla tak, že se zvětšuje se stoupajícím pH. Spolu s tím se též zvětšuje rozpustnost a stabilita komplexů. Např. u mědi od pH 5,5 a u zinku od pH 6,5 rychle stoupá komplexně vázaný podíl v půdním roztoku. Při hodnotě kolem nebo vyšší než 7 jsou mnohé ionty těžkých kovů v půdním roztoku téměř stoprocentně vázány jako komplexy.

V půdním roztoku, podobně jako v jednoduchých roztocích, existuje rovnováha mezi komplexem, volnými ionty kovu a částicemi ligandu daná konstantou stability komplexu

podle zákona o působení hmoty. Zjišťování konstant stability komplexů vzniklých v půdách je však mimořádně obtížné, protože v půdním roztoku se nacházejí mnohé, zčásti dosud neznámé komplexotvorné látky, obsahující často více různých funkčních skupin a schopné vytvářet několik typů komplexů. Konstanty stability uváděné v literatuře pro komplexy kovů s fulvokyselinami a huminovými kyselinami je třeba chápat jako podmíněné, silně závislé na podmínkách měření a způsobu vyhodnocení. Obecně klesá stabilita v řadě:  $\text{Hg}^{2+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Al}^{3+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$ .

Pro podmíněné konstanty stability komplexů Cu, Pb, Cd a Zn s huminovou kyselinou se pro pH 5- 5,5 uvádějí hodnoty logK 8,65; 8,35; 6,25 a 5,72, pro komplexy Cu, Pb, a Zn s fulvokyselinou pak hodnoty 4,0; 4,0 a 3,6. Zjištěné hodnoty zpravidla stoupají s pH a klesají se zvyšující se koncentrací elektrolytů. Jsou zřetelně nižší než příslušné konstanty stability komplexů s EDTA a DTPA. Kovy vázané na huminové a fulvokyseliny jsou tedy rostlinám přístupnější než vázané na EDTA či DTPA a kromě toho se mohou těmito chelatačními látkami z půdy vyluhovat. Roztoky EDTA a DTPA tak představují užitečná vyluhovací činidla pro stanovení rostlinám přístupných stopových prvků a potenciálně toxických těžkých kovů v zeminách.

Vzestup konstant stability s hodnotou pH se pro různé prvky liší, protože je ovlivněn tvorbou organických hydroxo-kovových komplexů a omezen vylučováním hydroxidů kovů. Tak např. u železa s růstem pH dochází ke vzniku mono-, pak dihydroxokomplexu (obr. 2- 2, d, e) a nakonec hydroxidů  $\text{Fe}^{\text{III}}$ . Namísto iontů  $\text{OH}^-$  nebo současně s nimi se mohou na centrální atom vázat fosforečnany nebo jiné anionty a vytvářet tak složené metaloorganické fosfátové komplexy.

### 2.3.5.3. Vliv rhizosféry

V silně prokořeněných svrchních horizontech, zejména v bezprostředním okolí rostlinných kořenů – rhizosféře – se kořenovými exsudáty a mikrobiální činností, přeměnou nebo uvolňováním ze zbytků odumřelých kořenů vytvářejí zvláště četné rozpustné komplexotvorné látky. Tím se mohou uvolňovat a zpřístupňovat jak makroživiny, tak především mikroprvky. Tak např. při nedostatku železa mohou rostliny zvýšeným vylučováním protonů a komplexotvorně a zčásti též redukčně působících organických látek uvolňovat železo z oxidů  $\text{Fe}^{\text{III}}$  a měnit je na přijatelné komplexy  $\text{Fe}^{\text{III}}$  a  $\text{Fe}^{\text{II}}$ . Stejným způsobem mohou být mobilizovány další kovové stopové prvky.

Kořenové výpotky a výměšky mikroorganismů mj. obsahují nízkomolekulární organické látky jako citronovou, ketoglukonovou nebo hydroxamovou kyselinu, různé hydroxykarbonové kyseliny a též výšemolekulární sloučeniny jako polygalakturonové kyseliny nebo polysacharidy. Takovými látkami mohou být mobilizovány též potenciálně toxické těžké kovy (Hg, Pb, Cd aj.); vzniklé komplexy jsou však zpravidla méně toxické než volné kationty. Organickými ligandy se tak může částečně snížit toxicita těžkých kovů. Podobně v silně kyselých půdách se takto může značná část toxicky působících iontů Al v rhizosféře převést do netoxické formy. Též vzájemné působení různých rostlin na klíčení a růst jiných rostlin (alelopatie) nebo i na tentýž rostlinný druh v následujících vegetačních obdobích (únava půdy) lze částečně vysvětlit působením kořenových exsudátů a produktů mikrobiální přeměny odumřelých kořenů. Vyšší obsahy huminových a fulvokyselin v půdním roztoku rovněž ovlivňují růst rostlin, a to zpravidla stimulačně.

#### **2.3.5.4. Vliv oxidačně – redukčních podmínek**

Ve srovnání s oxidačními podmínkami dochází v redukčním prostředí, jaké převládá v půdách pod hladinou spodní nebo stagnující vody nebo v podvodních půdách či sedimentech, k podstatně silnější tvorbě metaloorganických komplexů, protože fakultativně i obligatorně anaerobní mikroorganismy produkují silněji komplexotvorně a redukčně působící organické látky. Tak mohou aromatické polyhydroxykarbonové kyseliny (např. galová a protokatechová), jejich aldehydy a řada dalších organických komplexotvorných látek uvolňovat protony i elektrony a převádět tak např. oxidy Mn a Fe redukcí a komplexní vazbou na  $Mn^{2+}$  a  $Fe^{2+}$  - komplexy. I v půdách s převládajícím oxidačním prostředím může tímto způsobem při fázi provlhčení docházet k mobilizaci Mn a Fe.

Zesílenou tvorbou komplexů rozpustnými organickými látkami v redukčních podmínkách může být postižena i většina těžkých kovů, pokud nejsou vyloučeny jako sulfidy. Tím může především v silně zatížených podvodních fluviaálních a limnických zeminách a sedimentech dojít k takovému vzrůstu obsahů těžkých kovů v pórovém roztoku a vrstvách vody v blízkosti půd, že se začne projevovat jejich škodlivé působení. Známá je např. mobilizace rtuti v redukčním prostředí, při níž mikrobiologickou alkylací vznikají lehce rozpustné a plynné sloučeniny ( $HgCH_3Cl$ ,  $Hg(CH_3)_2$  aj.). Stejně, ale v menší míře mohou rovněž vznikat alkylové sloučeniny olova a některých dalších těžkých kovů. Protože takovéto alkylové sloučeniny velmi snadno migrují, mohou se, především ve vodním prostředí, lehce koncentrovat v potravním řetězci.



## **2.4. Rovnováha mezi přísunem a odbouráváním organické hmoty**

Vstupy organických látek do půd tedy zajišťuje opad daného porostu, kořeny, posklizňové zbytky, odumřelý edafon a organické hnojení. Tato směs v půdě zčásti podléhá rychlé mineralizaci, zatímco menší podíl se humifikuje a podléhá rozkladu až v průběhu let či desetiletí. Rychlost obou procesů závisí na životních podmínkách půdních mikroorganismů. Mineralizaci kromě toho podporuje časté střídání vysoušení a zvlhčování půdy tím, že dochází k rozpadu agregátů a zpřístupnění organických látek mikroorganismům a též k uvolnění organických látek desorpce.

Při dlouhodobě neměnném vegetačním pokryvu se v každé půdě ustaluje rovnováha mezi přísunem a odbouráváním organické složky, takže se za určitých podmínek prostředí nastavuje charakteristický obsah humusu. Ve středoevropských orných půdách obnáší množství organické hmoty (při cca 2- 5% humusu) v humusovém horizontu 100-200 t/ ha, u černozemí s obsahem humusu cca 6% až 300 t/ ha.

Globálně platí, že množství a kvalita humusu a jeho přeměny podstatně závisí na klimatických podmínkách.

### **2.4.1. Vliv prostředí**

V podmínkách mírně vlhkého klimatu se při stoupající teplotě zvyšuje nejen produkce, ale i mikrobiální odbourávání organické substance. Poněvadž však je odbourávání podpořeno silněji, klesá v této klimatické oblasti se stoupající průměrnou roční teplotou obsah organické složky v půdách.

Podpora odbourávání zvýšenou teplotou může být překryta inhibičním působením větších srážek a tím vyvolanými anaerobními poměry. Tak vysoké teploty v tropech nemají vždy za následek ochuzování půd o organickou hmotu, i když by na to mohla ukazovat častá nepřítomnost hnědého či černého zbarvení půd. Např. ve východoafrických půdách byl s přibývajícimi srážkami (430- 1800 mm) zjištěn značný přírůstek obsahu organické složky. V půdách středoevropských vrchovin až hornatin stoupá obsah organické hmoty s nadmořskou výškou. Za tento vzestup je vedle nižší průměrné teploty zodpovědný přírůstek srážek.

V semiaridním klimatu stepí umožňuje bílkovinami bohatý opad travin a bylin rychlé odbourávání biomasy, při čemž se obohacují i huminové látky díky občasnému snížení biologické aktivity vysušením, což platí zvláště pro černozemě.

Rozdíly mezoklimatu (na malém prostoru) mají za následek, že na jižních svazích díky vyšším teplotám je intenzivnější odbourávání než na severních a tím půdy severních svahů vykazují obecně vyšší obsah humusu. Na jižních svazích může dojít k vyšším obsahům tehdy, je-li jeho odbourávání potlačeno občasným nedostatkem vody, např. v mělkých rendzinách. Na svazích dochází též ke změnám obsahu humusu erozí, když se spolu s jemnými podíly zemin z horních partií vymývá, akumuluje na úpatí a vytváří zde mohutnější humusový horizont.

Rovněž vlastnosti huminových látek jsou významně určovány stanovištními podmínkami a liší se tedy u různých půdních typů, vývojových stadií a druhů vegetace. Tak např. poměr huminových a fulvokyselin mj. souvisí s nasycením sorpčního komplexu bázemi, když obvykle při sycení nad 80% převládají huminové kyseliny. V lesních půdách se zpravidla tvoří více fulvokyselin. Ty díky své rozpustnosti snadněji v půdě migrují než huminové kyseliny a proto např. v podzolech je v iluviálním horizontu nižší poměr HK/FK než v příslušném humusovém horizontu.

#### **2.4.2. Vliv obdělávání**

Ve střední Evropě se pod přirozenými porosty nebo při dlouhodobě stejném využívání v půdách ustaví rovnováha mezi přísunem a odbouráváním organických látek. Při změně obdělávání se rovnováha naruší. K takovým změnám dochází např. smýcením a kultivací dosud lesnický využívaných stanovišť stejně jako přeměnou stepí nebo travních porostů na ornou půdu nebo naopak. Časové změny obsahu uhlíku v půdách mají stejný průběh jako změny obsahu organicky vázaného dusíku.

Půdy trvalých travních porostů a lesů obsahují zpravidla více organických látek než sousední orné plochy, protože je zde větší opad a humusový horizont není zpracováván. Čím častěji se půda během roku obrací (okopaniny), tím více se rovnováha posouvá k nižším obsahům humusu. Toto odbourávání se může zmenšit, jestliže se při zpracování půdy místo pluhu používají kypřicí stroje. Rovněž úhor zvyšuje obsah humusu.

Velký vliv na obsah humusu v půdách má množství posklizňových zbytků a tedy osevní postup. Např. po okopaninách (brambory, řepa) zůstává v půdě sotva 1 t/ha zbytků, po obilovinách 1,2-1,7 t/ha a po jetelotrávce a vojtěšce 2,5-6 t/ha. Víceleté pěstování leguminóz

je tedy účinným prostředkem k udržení obsahu uhlíku v půdách na určité hladině a ke zvýšení úrodnosti.

### 2.4.3. Vliv hnojení

#### 1. Hnůj

Při obvyklých dávkách 30 t/ ha/ 3-5 let (liší se podle druhu půdy, plodiny, osevního postupu atd.) je obsah humusu v ornících v průměru o 0,1- 0,2% vyšší než při pouhém minerálním NPK- hnojení. K udržení výnosů bez hnojení hnojem je nutné zařadit do osevního pravidelné zelené hnojení.

#### 2. Sláma

Zavedení kombajnové sklizně obilovin a pokles stavu hovězího dobytka zvýšily význam hnojení slámou (včetně např. řepkové nebo kukuřičné). Protože však tento materiál má vysoký poměr C/N, potřebují mikroorganismy pro jeho odbourávání dodatkový dusík, který sice může být přítomen v půdě jako lehce mineralizovatelná rezerva, ale obvykle se doporučuje přidávat 5- 10 kg N na 1 t slámy. Čím je půda teplejší a vlhčí (přiměřeně), tím rychleji se sláma odbourává, zejména je-li co nejdříve po sklizni zapravena do půdy. U těžších půd při tom ovšem může zvýšená vlhkost vést k potlačení činnosti mikroorganismů.

Rozklad slámy probíhá zvláště rychle, je-li spojen se zeleným hnojením. Současné zaorání dusíkem bohatých motýlokvětvých rostlin a na dusík chudé slámy podporuje tvorbu organických dusíkatých látek, aniž by bylo nutné dodatkové minerální dusíkaté hnojení.

#### 3. Minerální hnojení

Anorganické hnojení ovlivňuje obsah organických látek v půdách výší výnosu a tím též množstvím posklizňových zbytků. Čím větší je, při srovnatelném osevním postupu, zvýšení výnosů dosažené hnojením, tím více se zvyšuje obsah humusu. Největší obohacení humusem obecně způsobuje hnojení dusíkem. Zatímco u kulturních půd je další zvyšování obsahu humusu velmi obtížné, u nově kultivovaných nebo rekultivovaných (např. pokrytím 1m vrstvou spraše) může obsah růst poměrně rychle (asi 0,04% za rok).

#### 4. Kaly z ČOV

Komunální čistírenské kaly a mnohé sídlištní odpady obsahují často velká množství organických látek, zpravidla spojených s vysokými obsahy živin, zejména dusíku. Jejich

využití ke zvyšování obsahu humusu v půdách, ať přímou aplikací nebo prostřednictvím kompostování je v současné době regulováno zvláštními předpisy, aby se zamezilo vnášení škodlivin (těžké kovy, nevhodné organické látky) do půd. V příznivých případech se může zřetelně snížit poměr C/ N.

#### **2.4.4. Vliv hodnoty pH**

Mezi hodnotou pH půdy a obsahem humusu existuje jen nepřímý vztah: v silně kyselém prostředí (např. v podzolech nebo bázemi chudých hnědozemích) dochází na povrchu ke kumulaci málo rozložených rostlinných zbytků a tvorbě pokravného humusu. Nenáročná vegetace k tomu poskytuje jen živinami chudý, špatně rozložitelný opad a činnost půdních živočichů a bakterií je v tomto prostředí omezená, takže humifikace popř. mineralizace odumřelé biomasy probíhá pomaleji než její přísun. Oproti tomu silné obohacení organické substance v humusovém horizontu, často pozorované ve výrazně karbonátových popř. slabě alkalických půdách, spočívá v občasné nízkých (např. rendziny) nebo příliš vysokých (nedostatek kyslíku, např. gleje, pseudogleje) obsazích vody anebo v kombinaci klimatických a pedologických faktorů (např. černozemě).

U orných půd neexistuje vztah mezi hodnotou pH a obsahem humusu. Ani při zvýšení pH kyselých půd se zpravidla nesnižuje obsah  $C_{org}$ . Rovněž vysoké dávky vápenatých hmot obvykle nezpůsobují ochuzení o organickou složku v půdě, často dokonce spíše obohacení. To se zakládá na skutečnosti, že obsah  $C_{org}$  v půdách je určován mnoha faktory a zesílení mineralizace v důsledku zvýšení pH je kompenzováno větším množstvím posklizňových zbytků díky vyšším výnosům. Ostatně, vápněním kyselých půd způsobená zvýšená mineralizace, je jen přechodná a sníží se během několika měsíců.

## **2.5. Význam organické složky pro půdu a rostlinu**

### **2.5.1. Chemické a půdně biologické účinky**

Především v nehojených půdách je pro růst rostlin důležitý obsah živin v organické substanci. Živiny v ní uložené se půdní flórou za spolupůsobení půdní fauny převádějí do formy přijatelné rostlinou, často oklikou přes vlastní stavební látky, takže organická složka funguje jako pomalu plynoucí zdroj živin. Čím vyšší je biologická aktivita v určité půdě, tím

intenzivnější je dodatečný přísun živin z organické složky. V první řadě se to týká dusíku, který je ve většině půd z více než 95% přítomen v organické vazbě.

Adsorpční schopnost huminových látek má význam pro vazbu mnohých živin, zejména v rašelinách a minerálních zeminách chudých na jíl. Rozsah této vazby je však silně závislý na hodnotě pH. Vedle vazby ve výměnné formě mohou být kovové kationty převedeny do pevných vazeb, např. na cheláty. Kovové kationty mohou být chelátovány i vodorozpustnými huminovými látkami (fulvokyseliny) a pak transportovány prosakující vodou (např. při podzolizaci).

Protože organická složka je základem pro život heterotrofních půdních organismů, existuje v jinak stejných poměrech těsný vztah mezi obsahem humusu v minerálních půdách popř. půdních horizontech a druhy a množstvím půdních organismů. Totéž platí o činnostech půdních organismů, k nimž vedle mineralizace mj. patří vázání vzdušného dusíku a stabilizace struktury. Vysoké obsahy humusu podporují rozvoj saprofytických organismů a potlačují tím vývoj parazitů, resp. zabraňují přechodu od saprofytů k parazitární výživě. Udržení trvale vysoké biologické aktivity vyžaduje neustálou náhradu spotřebované organické substance průběžným přísunem organických látek do půdy.

### **2.5.2. Fyzikální účinky**

Organická složka velkou měrou podporuje tvorbu a stabilitu agregátové skladby s velkými póry. To má význam pro prachové, hlinité a jílovité zeminy, protože se zlepšuje rovnováha mezi vodou a vzduchem.

Humus sám je vybaven vysokou vodní kapacitou, schopnou dosáhnout až 3- 5 násobku vlastní hmotnosti. U písčitéch zemin je proto vodní kapacita převážně závislá na obsahu humusu. Průběžné organické hnojení však na vodní kapacitu půd působí jen málo, protože dodávané množství organických látek je ve srovnání s přítomnými v půdě relativně malé. Přesto se např. u prachově písčité zeminy velmi vysokými dávkami hnoje během 18 let podařilo zvýšit obsah humusu z 0,98 na 1,38%, při čemž objem pórů vzrostl z 38,4 na 41,4%. Huminové látky způsobují tmavé zbarvení humusového horizontu a podporují tak prohřívání půd na jaře (prodloužení vegetační doby). Humus posunuje konzistenční meze zemin k vyšším obsahům vody, takže umožňuje zpracování půdy v širším rozpětí vlhkosti bez ohrožení struktury.

### 2.5.3. Účinné látky

K organické půdní složce náleží rovněž četné sloučeniny charakteru účinných látek (působků), které se do půd dostávají s opadem porostu nebo vznikají jako meziprodukty úplné mineralizace během mikrobiologického odbourávání. V půdách byly mj. prokázány vitaminy, růstové látky a antibiotika, tedy sloučeniny, které již v malých množstvích mohou pozitivně nebo negativně působit na organismy. Protože rostliny mohou tyto látky (až do relativní molekulové hmotnosti 200- 500) částečně přijímat, mohou mít podle okolností rozhodující vliv na jejich růst. Je možné se domnívat, že např. *únava půdy* je minimálně zčásti způsobena obohacením takovými látkami s toxickými účinky. Nízkomolekulární fenoly a kyseliny mohou zejména v kyselých půdách působit jako růstové inhibitory. Co platí pro půdní organickou složku jako celek, platí pravděpodobně i pro její působkovou část: při dlouhodobém stejném využívání se pro každou půdu ustaví typická rovnováha, kterou lze narušit jen přechodně. Znalosti o výskytu a chování organických účinných látek v půdách a o jejich vlivu na rostliny jsou dosud nedostatečné, podobné výzkumy jsou velmi obtížné mj. pro labilitu těchto sloučenin a jejich nízké koncentrace.

Celkově je náchylnost k onemocnění kulturních rostlin při vyšších obsazích humusu většinou nižší. To se může vysvětlit nejen přímým působením organických látek, ale i celkovým ovlivněním půdního života (např. konkurence mezi saprofytickými a parazitickými organismy).

## 2.6. Analytická chemie organické půdní složky

Analytická chemie organické půdní hmoty v současné době tvoří obsáhlý soubor metod a jejich metodických variant, jehož pouhá bibliografie by přesáhla rámec informativní kapitoly. Navíc ne všechna zjistitelná data o organických látkách jsou nezbytná pro prvotní všeobecné posouzení zeminy resp. příslušné půdy. Zpravidla se různá rozšiřující stanovení volí až podle výsledků základních rozborů (nejen organické složky) nebo podle řešeného problému (stav humusu, organické kontaminanty, působky aj.). Z těchto důvodů zde bude pojednáno zejména o metodických aspektech a interpretačních úskalích základních stanovení, týkajících se organické půdní složky.

### 2.6.1. Stanovení celkového obsahu organických látek

Totální obsah organických látek v zemině bylo ještě v nedávné době možné zjistit v podstatě dvěma způsoby: buď ztrátou žiháním nebo stanovením organicky vázaného uhlíku, a to oxidací za sucha nebo za mokra. Každý z těchto způsobů má omezení a nesnáze vyplývající jednak z principů metod, jednak z povahy zkoušeného materiálu. Společným problémem je přítomnost edafonu – biomasy, kterou nelze, až na větší živočichy a kořeny, ze vzorku před rozbořem odstranit a která se proto stanoví s sebou. Chyba tím vzniklá však zpravidla nepřesáhne 10%. Třetí možnost v současné době představuje aplikace metody spektroskopie v blízké infračervené oblasti (NIRS). O aplikaci této metody na stanovení oxidovatelného uhlíku v lesních půdách podrobně referují Čížmár a Pospíchalová (Bulletin LO 1/2002). Zde pouze uvedeme, že bezdestrukční metoda vyžaduje spolehlivou kalibraci referenčními materiály a je možné i stanovení celkového N. Dosavadní dostupné výsledky jsou velmi slibné.

#### 2.6.1.1. Stanovení celkového obsahu organických látek jako ztráta žiháním

Stanovení ztráty žiháním na vzduchu samo o sobě nepředstavuje mimořádný technický problém. Vzorek vysušený při 105° C je nutné žihat do konstantní hmotnosti, při čemž první etapa má trvat 4 hodiny. Konstantní hmotnost je definována tak, že rozdíl mezi předposlední a poslední hmotností nemá být větší, než 0,1% předposlední (někdy se předepisuje i 0,05%). V zájmu srovnatelnosti výsledků je důležité dodržení předepsané nebo dohodnuté nejvyšší teploty žihání alespoň při řešení daného úkolu, resp. při analýzách příslušných sérií vzorků. Obvykle se předepisuje 550° C, některé metodiky se spokojí s nižšími teplotami, zpravidla mezi 400 až 550° C. Občas uváděnou teplotu 600° C již nelze doporučit mj. pro možnost rozkladu některých karbonátů a reakcí jílových minerálů. V zájmu dostatečného přístupu vzduchu je vhodné provádět spalování resp. žihání ve spalovacích miskách nebo alespoň v kelímcích širokého tvaru.

Před zhodnocením informační hodnoty prostého stanovení ztráty žiháním bude zřejmě užitečné provést diskusi alespoň hlavních procesů probíhajících ve vzorku zeminy při spalování a žihání. Ztráta žiháním představuje algebraický součet řady reakcí, proběhlých ve vzorku daného složení a v daném rozpětí teplot (od 105° C výše), které se projeví jako úbytky, ale někdy i jako přírůstky hmotnosti. Za dostatečného přístupu vzduchu (prevence tvorby grafitu) a za dostatečně dlouhou dobu se i odolnější vysokouhlíkaté *organické látky* spálí

na CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O a elementární N popř. jeho oxidy, které vytěkají. To platí i o SO<sub>2</sub>, avšak za přítomnosti uhličitánů ve vzorku se může alespoň zčásti zachytit jako síran na úkor vytěsněného CO<sub>2</sub>. Minerály s obsahem **krystalové vody**, především sádrovec CaSO<sub>4</sub> · 2H<sub>2</sub>O, se v našich půdách vyskytují jen výjimečně, a to jednak v blízkosti jeho ložisek, jednak ve skrývkových zeminách z okolí uhelných slojí. Umělé sádrování půd je dnes již zapomenutá operace, která by však mohla v některých případech přispět k jejich ozdravení při zasolení NaCl, např. v okolí komunikací. V každé zemině je obsaženo proměnlivé množství různých jílových minerálů, ve kterých je podle druhu přítomen rozličný podíl **adsorbované a konstituční vody**. Ta uniká ze vzorku v širokém rozpětí teplot nad 105° C a podílí se tak rovněž na ztrátě žíháním. Přírůstek hmotnosti resp. snížení ztráty žíháním způsobuje **oxidace iontů Fe<sup>2+</sup> popř. Mn<sup>2+</sup>**, přítomných v krystalových mřížkách některých minerálů nebo sorbovaných na sorpčním komplexu. Přítomnost samotných uhličitánů **sideritu** (FeCO<sub>3</sub>) a **rodochrozitu** (dialogitu, MnCO<sub>3</sub>) v našich půdách je málo pravděpodobná. Zde pouze pro úplnost uvedeme, že u sideritu může disociace začínat již při 380° C a vrcholit kolem 550° C, oxidace FeO pak probíhá při 600- 750° C. Rodochrozit se rozkládá v intervalu 600- 670° C, k oxidaci MnO na Mn<sub>3</sub>O<sub>4</sub> dochází při 670- 730° C.

Chování látek přítomných ve vzorku zeminy, které mohou ovlivnit výsledek stanovení ztráty žíháním, je vhodné znázornit pomocí jejich křivek DTA. Pro osvěžení paměti uvedme, že z křivek pořízených při diferenční termické analýze vyplývá tepelné zabarvení reakcí probíhajících ve vzorku tuhé látky při zvyšování teploty. Pozitivní píky indikují exotermní reakce, např. hoření nebo obecně oxidaci, negativní píky pak endotermní reakce, např. disociaci, únik některých složek ap. Dále jsou uvedeny příklady DTA křivek látek v půdě běžně nebo i potenciálně přítomných. Všechny jsou převzaty z publikace M. Eliáše et al. (1.c.) a popisky jsou ponechány s původním pravopisem.

Na obr. 2- 3 zobrazená DTA křivka **organické substance** je pouze příklad, ve skutečnosti může být její průběh různý v závislosti na látkovém složení, s exotermními vrcholy posunutými k nižším teplotám. Reakce je podmíněna hořením organických látek. Z DTA křivek **jílových minerálů** jsou uvedeny křivky **montmorillonitu** (obr. 2- 4) a **illitu** (obr. 2- 5) jako příklady minerálů s třívrstvou stavbou expandující (montmorillonit) a neexpandující (illit) mřížky (viz kapitola o sorpci). Zejména v prvním případě závisí poloha nízkoteplotních píků na druhu sorbovaných kationtů. První endotermní reakce představuje ztrátu adsorbované vody, druhá uvolňování konstituční vody a třetí únik vody vázané v mřížce na Mg<sup>2+</sup> a destrukci mřížky. Následující exotermní reakcí vznikají v závislosti na sorbovaných kationtech a celkovém chemickém složení montmorillonitu různé minerály, např. cordierit



nebo spinel, nebo, byla-li ve větším množství přítomna organická substance, objevuje se mullit. U illitu je průběh DTA křivky méně výrazný a význam píků je obdobný.

Mezi složky, které lze v zeminách očekávat jen občas a za určitých podmínek (Zbiral J., l.c.) náleží **uhličitan**y, především **kalcit** ( $\text{CaCO}_3$ ) a **dolomit** ( $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ ). Oba mohou představovat přirozenou i antropogenní příměs, zatímco prakticky pouze antropogenní příměsí, zejména v lesních půdách, může být **magnezit** ( $\text{MgCO}_3$ ) a neuhličitanový minerál **serpentin** (hadec,  $\text{Mg}_3 [(\text{OH})_4 / \text{Si}_2\text{O}_5]$ ). **Soda** (natrit,  $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ ) se v našich půdách může vyskytnout spíše dočasně v suchých obdobích při dlouhodobě nesprávně vedeném zavlažování. Jak známo, soda uvolňuje krystalovou vodu již při  $32,5^\circ \text{C}$  a bod tání  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  je  $851^\circ \text{C}$ . **Aragonit**, kosočtverečná modifikace  $\text{CaCO}_3$ , vzniká v přírodě z roztoků za vyšších teplot (vřídlovec) nebo biochemicky (lastury). Může se tedy vyskytnout např. v suťových půdách na některých bazických vulkanických horninách nebo antropogenně vnesený v půdách ošetřených odpadem z těžby a zpracování těchto hornin. Výskyt ostatních mineralogických uhličitanů v našich půdách je nepravděpodobný.

Výrazný endotermní pík na DTA křivce **kalcitu** (obr. 2- 6) indikuje disociaci a únik  $\text{CO}_2$ , podobně jako na křivce **magnezitu** (obr. 2- 7), zde ovšem při podstatně nižší teplotě. Na křivce **aragonitu** (obr. 2- 8) je zřetelný endotermní pík obvykle v rozpětí  $390- 490^\circ \text{C}$ , způsobený monotrofním (ireverzibilním) zvratem kosočtverečné modifikace  $\text{CaCO}_3$  na trigonální a další průběh již odpovídá kalcitu. **Dolomit**  $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$  je podvojná sůl s molárním poměrem  $\text{Ca}:\text{Mg} = 1:1$  a ne, jak někdy vyplývá i z oficiálních publikací (např. EN 12 944-3, l.c.), izomorfní směs  $\text{CaCO}_3$  a  $\text{MgCO}_3$  s plynulou záměnou iontů  $\text{Ca}^{2+}$  ionty  $\text{Mg}^{2+}$  v krystalové mřížce. V daném typu mřížky to nedovolují příliš rozdílné iontové poloměry:  $\text{Ca}^{2+}$  99 pm,  $\text{Mg}^{2+}$  66 pm (pm – pikometr). Karbonátové horniny obsahující vápník a hořčík jsou většinou mechanické směsi minerálů kalcitu a dolomitu. Křivka DTA **dolomitu** (obr. 2- 9) vykazuje dva výrazné endotermní píky, z nichž první odpovídá disociaci  $\text{Mg}^{2+}$  iontů v mřížce a druhý disociaci  $\text{Ca}^{2+}$  iontů. Poloha prvního píku může být ovlivněna přítomností  $\text{Fe}^{2+}$  iontů v pozicích iontů  $\text{Mg}^{2+}$  a posunuta k nižším teplotám.

Na křivce DTA **sádrovce** (obr. 2- 10) jsou dva výrazné endotermní píky. První, větší, indikuje uvolnění  $1 \frac{1}{2}$  molekuly vody a vznik hmoty běžně zvané sádra. Při druhém, menším píku ztrácí hemihydrát zbytek vody a vzniká rozpustný anhydrit  $\text{CaSO}_4$ . Při následujícím malém exotermním píku dochází k „mrtvému“ vyžihání anhydritu a jeho přeměně na nerozpustnou formu. DTA křivka **serpentinu** (hadce) vykazuje při  $150^\circ \text{C}$  endotermní pík se začátkem někdy již při  $100^\circ \text{C}$ , způsobený ztrátou hygroskopické vody a při  $680^\circ \text{C}$  se

začátkem při 550° C větší, endotermní pík, indikující únik konstituční vody. Ostrý exotermní pík při 840° C je způsoben rekrystalizací na enstatit (kosočtverečný pyroxen,  $Mg_4(Si_2O_6)_2$ ).

Provedený poněkud zdlouhavý rozbor svědčí o složitosti systému nazývaného půda. Chceme-li tedy s vyhovující správností stanovit celkový obsah organické složky prostou ztrátou žiháním, lze to provést především v zeminách s obsahem písku nejméně 80%. U těžších zemin se vždy musí zvážit, zda míra orientačního charakteru výsledku je pro daný úkol ještě únosná. Některé výsledky mohou být pro tento účel informačně bezcenné. V případech, kdy organická složka v zemině převládá, tedy např. u organických půd (rašeliny, slatiny) nebo u humusových horizontů lesních půd, se naopak vedlejší reakce projevují relativně slabě a ovlivnění výsledků je zpravidla nepodstatné a únosné.

### **2.6.1.2. Stanovení celkového a organického uhlíku elementární analýzou (též podle ISO 10694)**

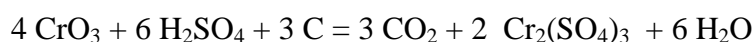
Obecně známý princip metody spočívá ve spálení vzorku v proudu plynu obsahujícího kyslík (vzduchu zbaveného  $CO_2$ ) nebo přímo kyslíku při teplotě 800- 900° C na  $CO_2$  a jeho zachytu nebo průtočné detekci. V historii se vystřídal více způsobů koncovky analýzy, z nichž vážková nebo titrační se nyní uplatní jen výjimečně. Naopak, moderní instrumentace umožňuje rozsáhlou automatizaci této metody a existuje řada konstrukcí přístrojů, ve kterých je koncovka (detekce) založena např. na plynové chromatografii, infračervené spektroskopii, tepelné vodivosti aj. Různé typy přístrojů často umožňují simultánní stanovení C, H, N, popř. S.

Při analýze zemin se při jakékoliv instrumentaci musí vzít v úvahu některá specifika zkoušeného materiálu. Předně je to možná přítomnost karbonátů ve vzorku, které se při používaných teplotách rozkládají a uvolňují  $CO_2$  (viz předchozí odstavec). Řešení je buď v odděleném stanovení uhličitnanového  $CO_2$  a jeho odečtení nebo v předchozím odstranění uhličitnanů kyselinami. Z uhličitnanů běžných v zeminách se v kyselinách za chladu rozpouští pouze kalcit popř. aragonit, zatímco dolomit se rozpouští jen zvolna nebo vůbec ne, a proto je vhodné při odstraňování uhličitnanů směs v závěru alespoň krátce zahřát. Zatím asi nejvhodnější způsob odstranění vlivu karbonátového uhlíku nebo dokonce možnost paralelního stanovení organicky a karbonátově vázaného C poskytují některé přístroje využívající gradientu teploty při spalování.

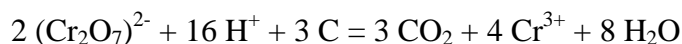
Dále je nutné zohlednit často nezřetelnou heterogenitu vzorku a pro jemnozemi I volit minimální navážku 2g, při navážkách menších pak pracovat s dobře zhomogenizovanou jemnozemí II.

### 2.6.1.3. Stanovení organického uhlíku mokrou oxidací

V tuzemsku se obvykle hovoří o stanovení oxidovatelného uhlíku, též  $C_{ox}$ . Organické látky, resp. organicky vázaný uhlík v zemině se oxiduje kyselinou chromovou v prostředí nadbytku kyseliny sírové. Reakci lze popsat např. rovnicí :



nebo v iontové formě:



Metoda se obvykle provádí ve dvou krocích, když v prvním probíhá oxidace chromsírovou směsí a ve druhém se přímo či nepřímo zjišťuje množství  $Cr^{VI}$  spotřebovaného na oxidaci. Z uvedených rovnic vyplývá ekvivalent  $C/4$ . Metoda má v prvním a zejména v druhém kroku mnoho modifikací a zde lze stručně uvést pouze typické a aktuální příklady.

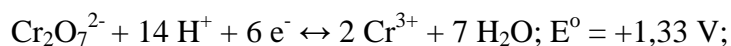
#### 1. Oxidace

Různé varianty doporučují různé koncentrace  $H_2SO_4$ , někdy s přídavkem  $H_3PO_4$ . Rovněž koncentrace oxidačního činidla při vlastní oxidaci bývá různá, nejčastěji 0,4 až 0,7 mol/ l chem. ekv. resp.  $1/6 K_2Cr_2O_7$ . Protože úplnost oxidace mj. závisí na dostatečném nadbytku oxidačního činidla, a to i v jejím závěru, mívá většina metodických modifikací dosti úzce vymezený poměr mezi navážkou vzorku resp. množstvím  $C_{ox}$  a množstvím  $Cr^{VI}$ , tedy objemem činidla dané koncentrace. Tak např. u *metody ÚKZÚZ* se doporučuje, aby spotřeba  $Cr^{VI}$  na oxidaci byla nejvýše 37,5% dávkovaného množství. Rovněž další podmínky, především způsob a doba zahřívání, někdy i objem a tvar reakční nádoby, jsou zpravidla více či méně přesně definovány a pro danou metodickou modifikaci je nutné jejich dodržování.

Oxidaci *varem s chromsírovou směsí* používá např. modifikace podle *Tjurina*, ta navíc s přídavkem  $Ag_2SO_4$  k eliminaci  $Cl^-$  a jako katalyzátoru (jedna z mála) nebo podle *Knopa*, při které se zachycuje vznikající  $CO_2$  a konečně podle *Esterkovy* modifikace se vaří pod zpětným chladičem.

**Zahřívání na určitou teplotu po stanovenou dobu** používá např. **metoda ÚKZÚZ** (sušárna, nejlépe s nucenou cirkulací, 125° C) nebo **ISO 14235** (blok, 135° C), a to v kádince nebo tubě.

Vzhledem k oxidačně-redukčnímu potenciálu reakce:



Lze očekávat oxidaci některých anorganických redukujících látek potenciálně přítomných ve zkoušeném vzorku zeminy, např.  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{MnO}_2$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  popř.  $\text{Mn}^{2+}$ . Obsah chloridů v navážce by neměl být větší než 2 mg.

Efekt oxidace různých metodických úprav je různý, což ovšem vedle již uvedeného je též dáno látkovým složením organické hmoty. Obecně platí, že s vyšším obsahem uhlíku a stupněm polymerace stoupá i odolnost vůči oxidaci. Údaje v literatuře, pokud nebyly ověřeny na různých typech půd, nelze považovat za věrohodné. Metoda ÚKZÚZ má účinnost 75- 95% a podle našich zkušeností jsou nižší hodnoty v tomto rozpětí spíše výjimečné.

## 2. Koncovky

Ke zjišťování množství spotřebovaného oxidovadla a tím ke stanovení  $C_{\text{ox}}$  bylo vyvinuto mnoho metodických variant, často též v závislosti na aktuálním stavu vývoje analytiky a přístrojové techniky. Starší metoda podle **Knopa** stanoví  $\text{CO}_2$  absorbovaný v odměrném roztoku NaOH nebo KOH tak, že se přebytek hydroxidu po vysrážení uhličitanu  $\text{BaCl}_2$  titruje kyselinou. Jiná varianta absorbuje  $\text{CO}_2$  do natronového vápna ve zvážené absorpční trubici.

**Tjurinova** metoda stanoví nadbytek  $\text{Cr}^{\text{VI}}$  buď v alikvotním podílu jodometricky titrací vyloučeného  $\text{J}_2$  odměrným roztokem  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  nebo v celém objemu titrací odměrným roztokem Mohrovy soli, např. na difenylamin jako indikátor.

Podle **Esterky** se do celého objemu reakční směsi (po zředění) přidává odměřený nadbytek roztoku Mohrovy soli a jeho nadbytek se (bez indikátoru a přídatku  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) titruje odměrným roztokem  $\text{KMnO}_4$ . Je to zajímavá směs barev!

Podle **ISO 14235** se u reakčního roztoku po doplnění na 100 ml a odstranění zákalu centrifugací, popř. filtrací filtrem ze skleněných vláken, měří absorbance při 585 nm.

Podle **metody ÚKZÚZ** se celý objem reakční směsi po zředění titruje odměrným roztokem Mohrovy soli, obvykle s biampérometrickou (dead stop) indikací. Protože se titrace provádí přímo v reakční nádobce- kádince bez jakýchkoliv mezioperací, jde v podstatě o velmi

efektivní metodickou variantu. Titrovat je možno i s vizuální indikací na difenylamin nebo o-fenantrolin, ovšem s přidavkem kyseliny fosforečné k odbarvení  $Fe^{3+}$ .

#### 2.6.1.4. Přepočítání $C_{ox}$ na organickou hmotu popř. humus a naopak

Výsledky vyjádřené v %  $C_{ox}$  u běžných zemědělských půd je možné přepočítat na % humusu násobením uzančným faktorem 1,724, který vychází z předpokladu, že huminové kyseliny obsahují 58% C. Tento předpoklad je ovšem splněn jen v omezeném počtu případů, protože složení samotných HK kolísá, huminové látky v půdě nejsou tvořeny jen HK, ale i jejich dalšími složkami (viz odst. 2.3.3) a konečně organické látky v půdě nejsou reprezentovány pouze HL, resp. humusem. Proto se pro některé zeminy uvedený koeficient zaokrouhluje na 1,7 nebo se použije jiný, zhruba v rozpětí 1,7-2,5, podle stavu organické hmoty nebo někdy i podle zvyklostí v té které zemi. Uživatel přepočtených výsledků si musí uvědomit, že mají pouze orientační charakter a zdaleka nemusí odpovídat skutečnosti, až již vypočtenou hodnotu nazveme humusem nebo organickou hmotou.

Podobně se někdy pro orientační výpočet poměru C/ N a porovnání např. u organického horizontu lesních půd použije výsledek ztráty žíháním dělený 2 (předpoklad 50% C). Jde opět o početní operaci, která může být vzdálená od skutečnosti. U hmot jako jsou např. komposty, kde má organická složka stálejší složení, se podobně uzančně vypočtená hodnota poměru C:N (z obsahu spalitelných látek a celkového N) používá jako jeden ze znaků jakosti (ČSN 46 5735, 1.c.).

Pokud byl obsah C a N v zemině stanoven přímo, je výpočet poměru C/ N užitečnou pomůckou pro odhad stavu organické hmoty, resp. poměru mezi dusíkatými, hlavně huminovými a bezdusíkatými (polysacharidy, ligniny) látkami. S výjimkou fulvokyselin, kde může být i 80, kolísá tento poměr u ostatních huminových látek zhruba mezi 10 až 20. V zemědělské praxi se užší poměr C/ N považuje za výraz vyšší kvality humusu. Otevřený poměr C/ N, až 100, ukazuje na přítomnost bezdusíkatých látek, např. posklizňových zbytků.

#### 2.6.2. Izolace huminových látek

Komplexní a nepravidelná struktura HL ztěžuje analýzu jejich složení. Klasická metoda zkoumání se zakládá především na *extrakci vodnými alkalickými roztoky* pokud možno bez přístupu vzduchu, při níž se často zachytí více než 80% huminových látek. Nevýhodou však je, že se rozpouštějí i opady a části živé biomasy. Kromě toho se i HL při extrakci chemicky

mění, takže na její produkty již nelze pohlížet jako na přímé stavební prvky molekul huminových látek. Při hodnotách pH nad 10 nastupuje alkalická hydrolyza např. esterových vazeb, která ireverzibilně mění molekulární strukturu. Huminové látky jsou v alkalickém roztoku zvláště citlivé na oxidační činidla. Oxidační přeměna molekul může být způsobena již vzdušným kyslíkem.

Při **extrakci organickými rozpouštědly** (zvláště účinná jsou např. kyselina mravenčí, dimethylsulfoxid, dimethylformamid, tetrahydrofuran) jsou chemické změny obecně menší, avšak rozpouští se při tom nejčastěji jen několik málo procent HL. Kromě toho byly pozorovány reakce s rozpouštědly, např. methylace (s methanolem) a esterifikace (s mravenčí kyselinou nebo fenolem). Rovněž nelze vyloučit změny s rozpouštědly obsahujícími dusík (dimethylformamid, pyridin), protože extrahované huminové látky často vykazují vyšší obsahy dusíku než extrakty jinými rozpouštědly.

Kromě toho mohou být huminové látky **extrahovány roztoky solí**, jejichž anionty tvoří s ionty  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  nebo  $\text{Al}^{3+}$  komplexy nebo špatně rozpustné soli a jejichž kationty poskytují s huminovými kyselinami vodorozpustné sloučeniny, jako např. vodné roztoky NaF a  $\text{NH}_4\text{F}$ , polyfosfáty nebo šřavelany. Zde však často nelze přesně rozlišit mezi pravým roztokem a dalekosáhlou dispergací tuhých částic.

### 2.6.3. Frakcionace huminových látek resp. humusu

Již v odst. 2.3.3 byl uveden princip separace huminových látek podle jejich rozpustnosti v kyselině a louhu sodném. Před frakcionací HL v užším smyslu se obvykle ze zeminy směsí benzenu a methanolu extrahují lipidy, vosky a jiné látky z opadu. Separace a stanovení jednotlivých frakcí pak umožňuje charakterizovat stav humusu v půdě. Jednotlivé osnovy separace se liší pouze v detailech.

Na obr. 2- 11 je uvedeno schéma, podle kterého byl zjišťován obsah humusu a jeho složení v půdách českých zemí (Pospíšil 1980, 1.c.):

1. **Volné huminové kyseliny a fulvokyseliny** se extrahují přímo ze zeminy roztokem hydroxidu sodného  $c(\text{NaOH}) = 0,1 \text{ mol/ l}$ . Huminové kyseliny koagulují okyselením roztokem kyseliny sírové  $c(1/2\text{H}_2\text{SO}_4) = 2 \text{ mol/ l}$  na hodnotu  $\text{pH} = 2,0$  (1 HK, 1 FK).
2. **Huminové kyseliny a fulvokyseliny vázané** na Ca, Mg, popř. Al se uvolní dekalcinací roztokem kyseliny sírové  $c(1/2 \text{H}_2\text{SO}_4) = 0,1 \text{ mol/ l}$  popř. u vápenitých zemín kyselinou chlorovodíkovou stejné koncentrace. V kyselém výluhu je část fulvokyselin (1a FK). Zemina po dekalcinaci se extrahuje roztokem hydroxidu sodného  $c(\text{NaOH}) =$

0,1 mol/ l a vázané huminové kyseliny koagulují okyselením roztokem kyseliny sírové  $c(1/2 \text{H}_2\text{SO}_4) = 2 \text{ mol/ l}$ , zatímco vázané fulvokyseliny zůstanou v roztoku (2 HK, 2 FK).

- Schéma umožňuje ještě stanovení tzv. **šedých humusových látek** ( $\text{HL}_s$ ), které však lze získat též extrakcí zeminy roztokem difosforečnanu sodného  $c(\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7) = 0,05 \text{ mol/ l}$  při  $\text{pH} = 12,0$ . Alkalický výluh se upraví na hodnotu  $\text{pH} = 7,0$  a "šedé" humusové látky se koagulují nasyceným roztokem síranu amonného.

#### 2.6.4. Barevný kvocient huminových látek Q 4/6

Welte (1956, 1.c.) zavedl do hodnocení optických vlastností humusu barevný kvocient Q 4/6 definovaný jako **poměr absorbancí** čirých roztoků huminových látek při 400 nm a 600 nm. Roztoky vykazují při 400 nm maximální a při 600 nm minimální absorbanci.

Pospíšil a Drozdová (1967, 1.c.) a Pospíšil (1980, 1.c.) při analýzách řady vzorků zemin z různých půdních typů a genetických horizontů stanovili jednak frakce huminových látek (HL), jednak barevný kvocient Q 4/6. Pak bylo možno vypočítat regresní křivku závislosti mezi Q 4/6 a skupinovým složením humusu (poměrem huminových kyselin k fulvokyselinám, resp. HK : FK). Křivka (obr. 2-12) pak poskytuje možnost z poměrně snadno zjistitelné hodnoty Q 4/6 odhadnout poměr HK/FK a posoudit kvalitu huminových látek, přičemž HK se považují za příznivé a FK za méně příznivé.

Huminové látky se ze vzorku zeminy extrahují alkalickým roztokem ( $\text{pH} = 12$ ) difosforečnanu sodného  $c(\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7) = 0,05 \text{ mol/ l}$ . V zemině při tom vznikají látky jako např.  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Fe}_4(\text{P}_2\text{O}_7)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$  a další. Nerozpustné humáty popř. fulváty Ca, Mg, Fe a Al se tak převedou na peptizující Na-humáty a Na-fulváty. Výluhy se zbavují tuhé fáze centrifugací a filtrací, v případě zákalu se jako koagulátor přidává ještě síran sodný. V tomto případě však může dojít ke strhávání huminových kyselin na minerální koloidy a zkreslení výsledků. U naprosto čirých roztoků se měří absorbance při 400 a 600 nm (některé metodiky uvádějí 465 a 665 nm), při čemž vyšší má být v rozpětí 0,4 – 0,6 a nižší minimálně 0,11. Absorbanci lze upravit zředěním výluhu.

Interpretace výsledků stanovení Q 4/6:

> 4,5 – převládají FK

4,0 – HK : FK = 1 : 1

< 4,0 – převládají HK

Z regresní křivky lze pak odečíst poměr HK : FK. U našich půd se tento poměr ve většině případů pohybuje v rozpětí 0,5 – 2,6. Poměr HK/FK vzrůstá s obsahem částic pod 0,001 mm a pod 0,01 mm a se vzrůstem hodnot T a V (Mehlich) a snižuje se s poklesem pH.

Zdánlivě jednoduchá metoda je náročná na experimentální zvládnutí pracovního postupu, zejména optickou čírost roztoků.

### 2.6.5. Stupeň humifikace

Stupeň humifikace se pro naše účely obvykle definuje jako poměr uhlíku vázaného v HK k celkovému uhlíku  $C_{ox}$  vyjádřený v procentech, tedy:

$$(C_{HK}/C_{ox})100 \quad [\%]$$

Dá se určit např. stanovením  $C_{HL}$  ve výluhu pro stanovení Q 4/6 po jeho neutralizaci a bez použití koagulantu  $Na_2SO_4$  a výpočtem:

$$C_{HK} = \frac{C_{HL} \cdot \frac{HK}{FK}}{\left(1 + \frac{HK}{FK}\right)}$$

$$S_h = \frac{C_{HK}}{C_{ox}} \cdot 100,$$

$$S_h = \frac{C_{HL} \cdot q}{C_{ox} (1 + q)} \cdot 100,$$

kde:  $q = \frac{HK}{FK}$ , zjištěný pomocí barevného kvocientu

$C_{ox}$  = celkový oxidovatelný uhlík



Interpretace výsledků výpočtu stupně humifikace:

stupeň	$S_h$
velmi vysoký	> 40
vysoký	30- 40
střední	20- 30
slabý	10- 20
velmi slabý	< 10

#### 2.6.6. Dělení huminových látek gradientovou elucí na kopolymeru

Curtis et al. (1981, 1.c.) vypracovali metodu umožňující rychlé dělení huminových látek elucí s téměř lineárním gradientem pH na kopolymeru (glycidylmethakrylát - ethylendimethakrylát), která tak dovoluje charakterizovat složení huminových látek v zemině. K separaci se použije extrakt alkalickým roztokem difosforečnanu sodného (pH= 12). Při gradientové eluci ze sloupce nastaveného Prideauxovým pufrům (pH= 2,0) v kyselé oblasti přecházejí do roztoku fulvokyseliny, v neutrální a alkalické oblasti pak hnědé a šedé huminové kyseliny. Eluát se sleduje registračním spektrofotometrem při 400 nebo 280 nm, píky na eluční křivce odpovídají relativnímu zastoupení jednotlivých frakcí huminových látek, které se charakterizují jejich Q 4/6.

#### 2.6.7. Rozpustná organická hmota (vodorozpustný uhlík)

V poslední době se zvýšenou měrou projevují snahy o optimalizaci organického hnojení. Důvodů je víc a nejde jen o ochranu životního prostředí v blízkosti koncentrované živočišné výroby v důsledku přehnojování těchto ploch, ale i o optimalizaci organického hnojení v podmínkách redukce živočišné výroby a tím snížení zdrojů. Jde tedy o zachování rovnováhy mezi odběrem organické hmoty a jejím přísunem pomocí bilancování a též zjišťování optimálního obsahu v půdě v daných podmínkách. Obecně totiž stále platí Liebigova zásada, že "co se půdě sklízí odebere, musí se do ní vrátit".

Výsledky dosavadních prací vedou k dělení organické půdní hmoty na dvě frakce, z nichž jedna je "*inertní*", resp. jen málo zúčastněná na mineralizačních procesech a závislá na stanovištních podmínkách, zatímco druhá je "*rozložitelná*" a závislá především na obhospodařování. Změny obsahu organického C v půdě se týkají především rozložitelného

podílu a probíhají relativně pomalu. Např. v podmínkách středního Německa na srovnatelných stanovištích se ekologicky optimální obsah rozložitelného C pohybuje od 0,2% do 0,6% resp. rozložitelného N od 0,02% do 0,06%. Rozložitelný podíl organické hmoty tvoří především oligo- a polysacharidy a je zhruba totožný s podílem organické hmoty rozpustným v horké vodě. Analytickým stanovením C rozpustného v horké vodě lze tedy zhodnotit stav zásobenosti půdy rozložitelnou organickou hmotou. Blíže viz např. Sborník přednášek z r. 1999 (l.c.).

## 2.6.8. Metody identifikace a zjišťování struktury huminových látek

K objasnění struktury a vlastností huminových látek se vedle kvantitativních analytických metod klasické organické chemie, jako je elementární analýza, stanovení funkčních skupin nebo acidobazická titrace, používají především následující metody:

*Spektroskopie ve viditelné a infračervené oblasti*, kterou mohou být studovány vazebné poměry molekul a jednotlivých skupin.

*Spektroskopie NMR* (nukleární magnetická rezonance) a *EPR* (elektronová paramagnetická rezonance, též ESR – elektronová spinová rezonance) mohou na základě interakce mezi magnetickými poli a určitými atomy (např.  $^{13}\text{C}$  u NMR,  $^1\text{H}$  u EPR) poskytnout informace o okolí určitých jader resp. o molekulové struktuře.

*Hmotnostní spektrometrie*, s jejíž pomocí mohou být blíže označeny zlomky molekul huminových látek na základě jejich poměru mezi nábojem a relativní molekulovou hmotností.

Použití těchto fyzikálních metod měření zpravidla předpokládá pečlivé rozdělení komplikovaných látkových směsí humusotvorných a humusových soustav, protože jinak často nelze získaná spektra s dostatečnou přesností interpretovat. Zde se osvědčují zejména *chromatografické postupy* (viz též výše), umožňující izolaci definovaných zlomků. Předpokladem ovšem je, že je možné huminové látky převést do roztoku (pro papírovou, sloupcovou nebo HPLC chromatografii) nebo na plynné sloučeniny (pro plynovou chromatografii). Posledního lze dosáhnout např. methylací nebo silylací (zvýšení těkavosti zavedením skupin  $-\text{CH}_3$  nebo  $-\text{Si}(\text{CH}_3)_3$ ). Vývoj novějších analytických technik směřuje jednak k bezdestrukčnímu zkoumání vzorků (např. v tuhém stavu NMR  $^{13}\text{C}$ ) nebo k šetrné extrakci huminových látek (např. extrakce nadkritickými kapalinami), jednak k přímému spojení analytických postupů s automatickým vyhodnocením (např. pyrolýza - plynová chromatografie – hmotnostní spektrometrie).

## 2.7. Literatura (příklady)

1. Blažek A.: *Termická analýza*. SNTL, Praha 1974.
2. Borkovcová I. et al.: *Fyzikálně chemické metody stanovení organických sloučenin v přírodninách*. Metodické příručky ÚÚG, sv. 3. ÚÚG, Praha 1966.
3. Cílek V.: *Krajiny vnitřní a vnější*. Dokořán, Praha 2002.
4. Curtis M.A. et al.: *Humic acid fractionation using a nearly linear pH gradient*. *Anal.Chem.*53, 1195-1199 (1981).
5. Čižmár D., Pospíchalová M.: *Stanovení oxidovatelného uhlíku v lesních půdách metodou NIR spektroskopie*. Bulletin 2002 Laboratorního odboru, roč.VI., č. 1. ÚKZÚZ, Brno 2002
6. Eliáš M., Šťovík M., Zahradník L.: *Diferenční termická analýza*. Chemické rozborý nerostných surovin, sešit 12. ÚÚG v NČSAV, Praha 1957.
7. Klika J., Novák V., Gregor A. (red.): *Praktikum fytoecologie, ekologie, klimatologie a půdoznalství*. NČSAV 1954.
8. Kotrlý S., Šůcha L.: *Chemické rovnováhy v analytické chemii*. SNTL, Praha 1988.
9. Králová M. a kol.: *Vybrané metody chemické analýzy půd a rostlin*. Studie ČSAV č. 12. Academia, Praha 1991
10. Neuberg J. a kol.: *Komplexní metodika výživy rostlin*. In: Metodiky pro zavádění výsledků výzkumu do zemědělské praxe, 1/1990. ÚVTIZ, Praha 1990.
11. Popl M., Fährnich J.: *Analytická chemie životního prostředí*. 3. vydání. VŠCHT Praha, 1995.
12. Pospíšil F.: *Obsah a složení humusu v půdách v českých zemích*. Studie ČSAV č.14. Academia, Praha 1980.
13. Pospíšil F., Drozdová D.: *Optické vlastnosti huminových kyselin*. Vědecké práce VÚRV 11, 9-18 (1967).
14. Prát S.: *Humus a jeho význam*. NČSAV, Praha 1964.
15. Rabočev I.S. (red.): *Metody izučeniya mineralogičeskogo sostava i organičeskogo vėščestva počv*. Ylym, Aščabad 1975.
16. Scheffer F., Schachtschabel P.: *Lehrbuch der Bodenkunde*. 13. Aufl. F.Enke Verlag, Stuttgart 1992.
17. Stevenson F.J.: *Humus chemistry*. Wiley, New York 1982.
18. Šůcha L., Kotrlý S.: *Teoretické základy analytické chemie*. SNTL, Praha 1971.
19. Vohlídal J., Julák A., Štulík K.: *Chemické a analytické tabulky*. Grada, Praha 1999.

20. Welte E.: *Zur Konzentrationsmessungen von Huminsäuren*. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 74, 219 – 227 (1956).
21. Westbroek P.: *Život jako geologická síla*. Dokořán, Praha 2003.
22. Zbírál J.: *Jednotné pracovní postupy, Analýza půd I.*, 2.vyd. ÚKZÚZ, Brno 2002.
23. Autor neuv.: *Bilancování organických látek a optimální zásoba organické hmoty v půdě*. Sborník přednášek z mezinárodního semináře 9.6.1999. VÚRV, Praha 1999.
24. *Vyhláška č. 382/2001 Sb.*, o podmínkách použití upravených kalů na zemědělské půdě.
25. ISO 10694 *Soil Quality – Determination of organic and total carbon after dry combustion*. International Organization for Standardization, 1996.
26. ISO/DIS 14235 *Soil Quality – Determination of organic carbon in soil by sulfochrome oxidation*. International Organization for Standardization, 1995.
27. EN 12944-3 *Fertilizers and liming materials – Vocabulare – part 3: Terms relating to liming materials*. CEN, Brusel 2001.
28. ČSN 46 5735 *Průmyslové komposty*. Český normalizační institut, Praha 1991.
29. ČSN 72 1001 *Pojmenování a popis hornin*. Úřad pro normalizaci a měření, Praha 1969.