

HUMÍNOVÉ KYSELINY. PÔVOD A ŠTRUKTÚRA

MARIANNA SKOKANOVÁ
a KATARÍNA DERCOVÁ

*Oddelenie biochemickej technológie, Ústav biotechnológie a potravinárstva, Fakulta chemickej a potravinárskej technológie, Slovenská technická univerzita, Radlinského 9, 812 37 Bratislava
marianna.skokanova@stuba.sk*

Došlo 3.5.07, prepracované 16.10.07, prijaté 27.11.07.

Kľúčové slová: humínové kyseliny, humínové látky, imobilizácia, pentachlórfenol, PCP, xenobiotiká

Obsah

1. Úvod
2. Zloženie a štruktúra humínových kyselín (HK)
3. Pôvod, prekursori a frakcionácia humínových látok (HL)
 - 3.1. Humifikácia
 - 3.2. Prekursori HK
 - 3.3. Frakcie HL
4. Záver

1. Úvod

Vedecký výskum humínových látok (HL) a ich využitelné vlastnosti majú dlhú tradíciu v Nemecku, ktorá začala prácou chemika Franza Carla Acharda (1753–1821). Komerčné využitie hnedého uhlia obsahujúceho humínové kyseliny (HK), ktoré sa využívalo v Nemecku v 19. storočí napr. ako farbiaci materiál pod označením „Cologne brown“ z oblasti lignitových baní v okolí Cologne a „Kassler brown“, sa stáva opäť aktuálnym aj v 21. storočí, ale v širších aspektoch a možnostiach využitia. V priebehu minulého storočia boli humínové látky využívané najmä v poľnohospodárskom, medicínskom, veterinárnom a environmentálnom sektore. V priebehu posledných desaťročí sú predmetom aj intenzívneho vedeckého záujmu¹.

Humínové látky sú prírodné organické zlúčeniny, ktoré vznikajú chemickým a biologickým rozkladom organickej hmoty (zvyškov rastlín, živočíchov apod.) a syntetickou činnosťou mikroorganizmov. Zdrojom HL pre priemyselné využitie sú kaustobiolity – rašelina, lignit a zoxidované hnedé uhlie, tzv. oxyhumolit². Ako vhodnú surovinu na získanie humínových látok možno použiť

prírodné oxyhumolity s vysokým obsahom humínových kyselín. Prírodné sa vyskytujú aj v niektorých ďalších materiáloch, a to v sedimentoch, zeminách a hnedom uhli. Obsah humínových látok v prírodných matriciach kolíše od stopových množstiev (piesky, íly), cez jednotky percent (3 % v bežných zeminách) až k desiatkam percent (3–10 % v hnedom uhli). Mimoriadne vysoký obsah vykazuje lignit, rašelina a oxyhumolit – až do 85 % (cit. ^{3–5}). Pôdne HL sa vo všeobecnosti vyznačujú podobnými vlastnosťami v porovnaní s HL z iných prírodných zdrojov, z výsledkov elementárnych analýz boli zistené iba malé rozdiely v ich zložení a štruktúre⁶.

Humínové látky pozostávajú z humínových kyselín, fulvokyselín a humínu. V tabuľke I je uvedený obsah fulvokyselín a humínových kyselín v jednotlivých prírodných matriciach.

2. Zloženie a štruktúra HK

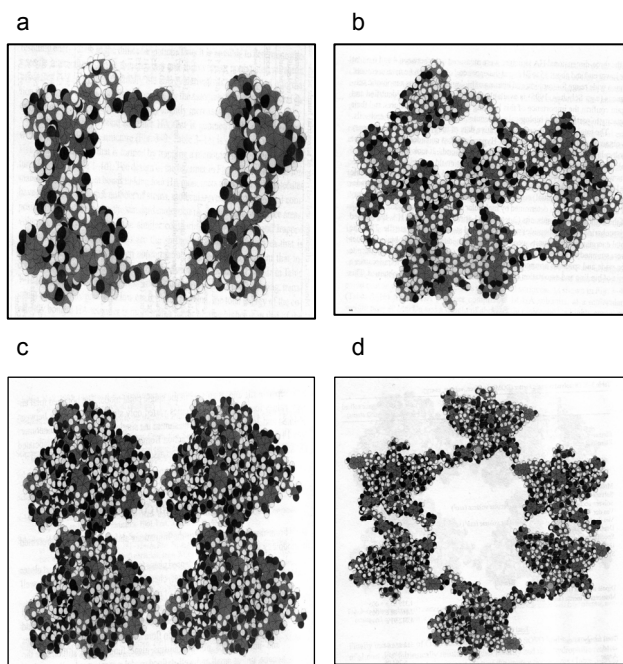
Molekulová hmotnosť HL sa pohybuje v rozmedzí od 2 do 200 kDa. Sú to látky štruktúrne veľmi zložené a doposiaľ nie úplne presne popísané. V minulosti sa objavilo viacero pokusov predpovedať ich typickú alebo priemernú štruktúru. V súčasnosti, najmä z dôvodu značného pokroku a vývoja metód a postupov používaných na riešenie ich zloženia a štruktúry, existujú početné štúdie zaoberajúce sa touto problematikou^{7–9}. Niektoré z navrhovaných predpokladaných hypotetických štruktúr a konformácií jednej z najdôležitejších frakcií HL – humínových kyselín (HK) – sú uvedené na obr. 1 a 2.

Napriek tomu, že jednotlivé varianty predpokladaných štruktúr HK mali slúžiť na objasnenie chémie humí-

Tabuľka I

Obsah humínových kyselín a fulvokyselín v prírodných matriciach¹

Prírodný zdroj	Obsah humínových a fulvokyselín [%]
Leonardit/humát	40–85
Čierna rašelina	10–40
Sapropelová rašelina	10–20
Hnedé uhlie	10–30
Hnoj	5–15
Kompost	2–5
Pôda	1–5
Kal	1–5
Čierne uhlie	0–1



Obr. 1. Predpokladané štruktúry humínových kyselín⁹: a – dimér, b – trimér, c – tetramér, d – hexamér

nových látok, treba si uvedomiť že poznanie týchto látok je skôr spojené s poznaním vlastností celku ako jednotlivých molekúl⁶.

V dôsledku chemického zloženia (aromatické jadro s alifatickými reťazcami a špecifickým obsahom rôznych funkčných skupín) sú HK schopné viazať polárne i nepolárne zlúčeniny. Zo všetkých funkčných skupín celkovo prítomných v HK sa ako najviac reaktívne javia karboxylové a aromatické, vrátane fenolických^{10,11}. Okrem týchto sú v HK prítomné aj iné skupiny, napr. enolové, chinónové, hydrochinónové, laktónové, éterové a alkoholové, dokonca v menších množstvách môžu byť zastúpené aj dusíkové, sírové a fosforové funkčné skupiny alebo mostíky⁶.

V pôdnom prostredí vytvárajú HK aj organo-minerálne komplexy^{12,13}, pričom sorpcia HK závisí jednak na type ílového minerálu, ale tiež na chemickej štruktúre HK (funkčné skupiny, stupeň humifikácie, stupeň polymerizácie, stupeň oxidácie). Za hlavný mechanizmus väzobného procesu HK považujú Eglite a Klavins¹⁴ iónovo-výmenné reakcie. Hayes a Malcolm¹⁰ zistili, že hodnoty kationovej výmennej kapacity humínových látok sa zvyšujú priamo úmerne s pH hodnotou vodného média. Simpson a spol.¹⁵ zistili pri interakciách modelovej HK na ílový minerál veľmi vysokú afinitu alifatických komponentov a tiež určitú afinitu aromatických častí HK k ílovému povrchu na rozdiel od aminových kyselín viazaných na uhlíkovodíky, ktoré vykazujú veľmi nízku afinitu k ílovému povrchu. Barančíková a spol.¹⁶ študovali závislosť sorpcie kadmia od obsahu HK v pôdnom materiáli. Bola zazname-

naná lineárna závislosť medzi mierou sorpcie tohto ťažkého kovu do pôdy a počtom karboxylových skupín v humínových kyselinách.

Údaje z elementárnych analýz vzoriek HK pochádzajúcich z rozmanitých zdrojov sa odlišujú v elementárnom zložení ako aj reaktivitou¹⁷. Pomery prvkov C/H, C/O a C/N sa rôznia v závislosti od podmienok vzniku HL. Vo všeobecnosti možno povedať, že počas procesu tvorby HK, teda v priebehu humifikácie, sa v nich zvyšuje obsah COOH a C=O skupín, pričom obsah alkoholových a fenolických OH skupín a skupín OCH₃ sa počas tohoto procesu znižuje.

Hlavný rozdiel v obsahu funkčných skupín HK a FK je, že vo FK je prakticky všetok kyslík obsiahnutý v COOH, OH a C=O skupinách, zatiaľ čo v HK väčšia časť kyslíka tvorí štruktúrnú zložku, tzv. „jadro“, čo sú napríklad éterové a esterové väzby. Ďalším rozdielom môže byť fakt, že obsah ketónových C=O skupín je vyšší v FK, kým v HK sa nachádzajú skôr chinónové C=O skupiny⁶.

V tabuľke II sú uvedené základné charakteristiky humínových kyselín izolovaných z dvoch prírodných matric, ktoré z hľadiska obsahu HK patria k najbohatším zdrojom, a to lignit a oxyhumolit. Je možné konštatovať, že HK izolované z lignitu vykazujú vyšší obsah takmer všetkých základných prvkov (C, N a O), ako aj vyšší obsah aromatického uhlíka ako HK izolovaná z oxyhumolitu, z čoho vyplýva vyšší stupeň aromaticity (α). Môžeme teda zhrnúť, že HK izolované z lignitu obsahujú viac aromatických štruktúr v porovnaní s HK izolovanými z oxyhumolitu, ktoré sú naopak bohatšie na alifatické reťazce.

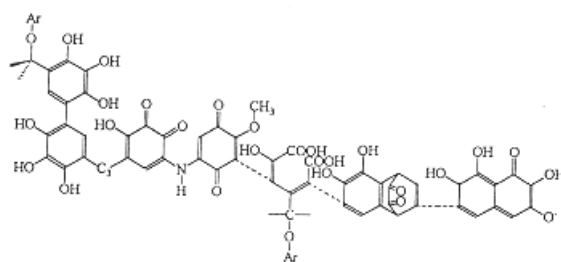
Podľa výsledkov získaných Simpsonom a spol.¹⁹ tvoria majoritnú molekulovú štruktúru HL alifatické kyseliny, étery, estery a alkoholy, ďalej aromatické fragmenty odvodené z lignínu a polysacharidy a polypeptidy s relatívne nízkou molekulovou hmotnosťou do 2000 Da.

Z pohľadu reaktivity humínových látok resp. humínových kyselín majú značnú schopnosť interagovať s takmer všetkými zlúčeninami a štruktúrami v ich prirodzenom okolí (organické a anorganické molekuly, minerálne ióny ako aj minerálne a mikrobiálne povrchy)²⁰.

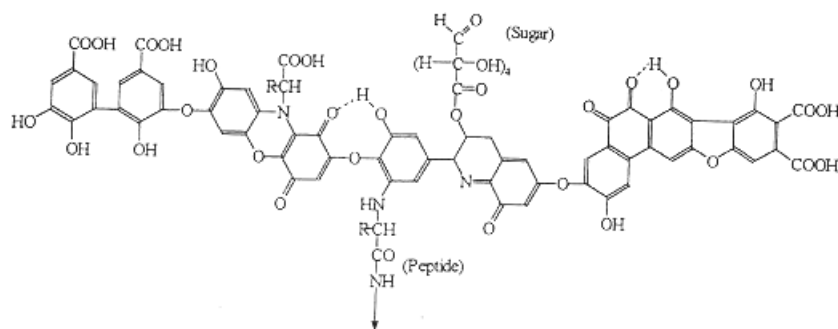
3. Pôvod, prekursori a frakcionácia HL

Počas minulého storočia bol výskum pôvodu humínových látok veľmi populárnou oblasťou. Napriek tomu, že presný mechanizmus vzniku HL dodnes nie je úplne objasnený, boli vyformované tri hlavné teórie (obr. 3). Prvou bola teória, že HL boli odvodené z lignifikovaných pletív rastlinných zvyškov, druhá uprednostňovala mechanizmus zahrňujúci chinóny a tretia teória podporovala vznik HL z jednoduchých cukrov, pričom v tejto poslednej teórii mali prebiehať reakcie medzi redukujúcimi cukrami a aminokyselinami za vzniku hnedých dusík obsahujúcich polymérov. Tieto procesy sú všeobecne známe ako „Millardove reakcie“ (cit.⁶).

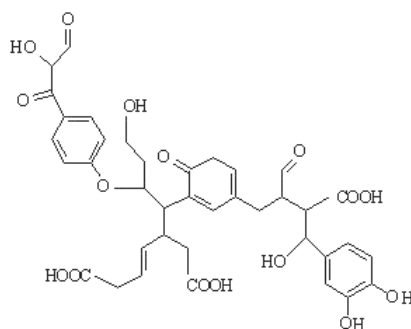
a



b



c



Obr. 2. Štruktúry molekúl humínových kyselín podľa rôznych autorov: a – Flaig (1960), b – Stevenson (1982), c – Stein a spol. (1997), (cit.⁶)

Tabuľka II

Základné charakteristiky humínových kyselín izolovaných z lignitu¹⁸ a oxyhumolitu

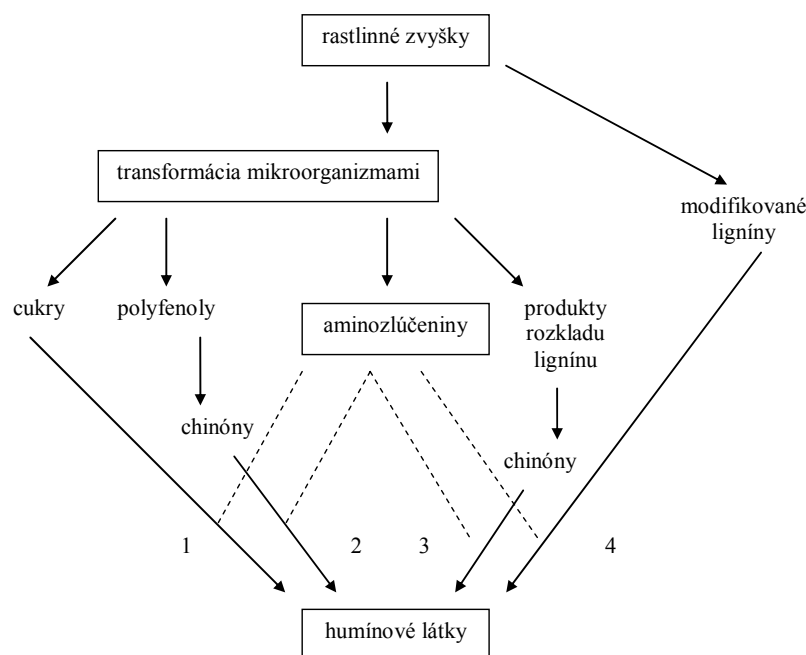
HK (zdroj)	Parameter								
	C [at. %]	H [at. %]	N [at. %]	O [at. %]	COOH [meq g ⁻¹ HK]	E ^{1%} ₆	C _{alif} [%]	C _{arom} [%]	α [%]
HK (lignit)	51,1	28,8	1,1	19,0	4,5	28,7	34,7	44,0	55,9
HK (oxyhumolit)*	43,6	38,3	0,8	17,3	–	–	45,0	39,0	46,4

* Skokanová M., nepublikované výsledky

Pôdny organický materiál je odvodený z pôdnej biomasy a striktné povedané pozostáva zo živého a tiež mŕtveho organického materiálu. Je to najdôležitejšia časť v pôde a už v dávnych dobách vzbudzovala pozornosť poľnohospodárov, pretože určuje fyzikálne, chemické a biologické vlastnosti pôdy²¹. Z agronomického hľadiska sa organická hmota delí na aktívnu (labilnú) a stabilnú. Do

aktívnej časti patria rastlinné zvyšky, biomasa a nehumusové látky, ktoré nie sú pútané na minerálne zložky, a zároveň je táto časť aj zdrojom živín (N, P, S) pre rast rastlín. Stabilná zložka (humus) slúži na zásobovanie rastlín živinami a je dôležitá pre dlhodobú rovnováhu v pôde^{22,23}.

Mŕtvy organický materiál nazývaný humus (latinský názov pre pôdu alebo vegetáciu), je akceptovaný pre tieto



Obr. 3. Mechanizmy vzniku humínových látok: Aminozlúčeniny syntetizované mikroorganizmami reagujú s modifikovaným lignínom (4), chinónmi (2, 3) a redukujúcimi cukrami (1), čím sú tvorené tmavo sfarbené látky, (cit.⁶)

mítve rezíduá mnohými vedcami dodnes. Rozložiteľná čierno-sfarbená organická hmota v pôde definovaná ako humus je alkalicky extrahovateľná. Niektorí autori navrhovali, aby sa termín humus zamenil za termíny nehumínový materiál a humínový materiál⁹. Termín nehumínové materiály sa začal používať ako náprotivok k čierno-sfarbenej humínovej hmote, kde zaradujeme fulvokyseliny a farebné rozkladné materiály organického pôvodu. K nehumínovej hmote patria materiály, ktoré vznikli rozkladom pozostatkov rastlín a iných organizmov, sú to uhľohydráty, aminokyseliny, proteíny, lipidy, vosky, nukleové kyseliny, lignín a mnohé ďalšie organické zlúčeniny. Táto časť humusu obsahuje vo všeobecnosti všetky látky syntetizované rastlinami a ostatnými pôdnymi organizmami. Tieto zlúčeniny sú väčšinou ďalej degradované a rozkladané a sú hlavným zdrojom pre syntézu a vznik humínovej frakcie pôdy. Tieto procesy sa súborne nazývajú humifikácia.

3.1. Humifikácia

Proces, v ktorom vznikajú humínové látky – humifikácia, zahŕňa množstvo biochemických reakcií. Úzko súvisí s organickým a dusíkovým cyklom v environmente. Existujú dve teórie vzniku humínových látok⁹, ktoré sa líšia v tom, ako sa prvotné a základné látky využívajú v syntéze humínových látok. Jedna teória je založená na depolymerizácii biopolymérov vedúcej k vzniku humínových látok. Ďalšia teória uvažuje o polymerizácii malých molekúl, uvoľnených po kompletnom rozklade biopoly-

mérov, za vzniku humínových látok. Všetky teórie súhlasia s tým, že materiál pre vznik humínových látok je väčšinou rastlinného, ale aj živočíšneho pôvodu. Hayes a Malcom¹⁰ tvrdia, že stupeň depolymerizácie závisí od obsahu kyslíka a humifikácia by bola spomalená v anaeróbných podmienkach. Je pravda, že veľké množstvo kyslíka je potrebné na oxidačné reakcie, ale vyvstáva otázka, či nedostatok kyslíka inhibuje humifikačné procesy. Vlhké pôdy sú totiž bohaté na humínové látky, ale sú tam prevažne anaeróbne podmienky.

Tvorba humusu pozostáva z troch základných fáz²⁴:

1. V podmienkach priaznivých teplôt, vlhkosti a prevzdušnenia existuje veľmi silná činnosť aeróbných baktérií, ktoré rozkladajú organickú hmotu na jednoduché zložky (CO_2 , H_2O , NH_3 , oxidy, aj.) – dochádza k mineralizácii a humus sa veľmi rýchlo rozkladá.
2. Počas obmedzeného prístupu vzduchu – anaeróbných podmienok – dochádza k nedostatočnej oxidácii, kyslej reakcii prostredia. Navyše ak pôsobí nízka teplota a vysoká vlhkosť, dochádza k premene organickej hmoty, tzv. rašelineniu alebo uhoľnateniu. Ide o nedokonalý rozklad organických zvyškov, je to vlastne enzymatický a biochemický proces spôsobený najmä anaeróbnymi baktériami, čoho výsledkom sú humínové a ulmínové látky tmavohnedo-čiernej farby s vysokým obsahom uhlíka.
3. Samotná humifikácia je proces prevažne anaeróbný, súbor prevažne enzymatických a biochemických pochodov, pri ktorých sa z medziproduktov rozkladu tvoria tzv. humínové látky. Pomer obsahu uhlíka

k dusíku je 1:10, majú hnedú až čiernohnedú farbu a vlastnosti koloidov. Humifikácia sa uskutočňuje mineralizáciou východiskových látok, nikdy nezhumifikuje všetka organická hmota:

- článkom tvorby HL je kondenzácia štruktúrnych jednotiek, ku ktorej dochádza oksyločením fenolov cez fermenty typu fenoloxidáz vedúcim k tvorbe chinónu a vzájomnej reakcii chinónov s aminokyselinami a peptidmi,
- záverečnou fázou je polymerizácia (polykondenzácia). Tá je reverzibilným procesom a preto je nutné, aby bol produkt z prostredia odvádzaný, inak môže dôjsť k rozpadu už vytvorených kondenzátov (napr. pri nadbytku vody v pôde),
- optimálne podmienky sú periodické vlhčenie a vysychanie, striedanie aeróbných a anaeróbných procesov.

Obsah humusu je hodnotou relatívne stálou v pôdnych klimatických podmienkach v danej oblasti. Bolo preukázané, že uhlík v HK je starý 750 rokov, vo FK 420 rokov a v humínoch 2400 rokov²⁵.

3.2. Prekurzory HK

Prekurzory humínových látok sú lignín, fenoly a polyfenoly, chinóny, proteíny a aminokyseliny, uhľovodíky, lipidy, steroly a steroidy, nukleové kyseliny, rast podporujúce látky ako aj xenobiotiká.

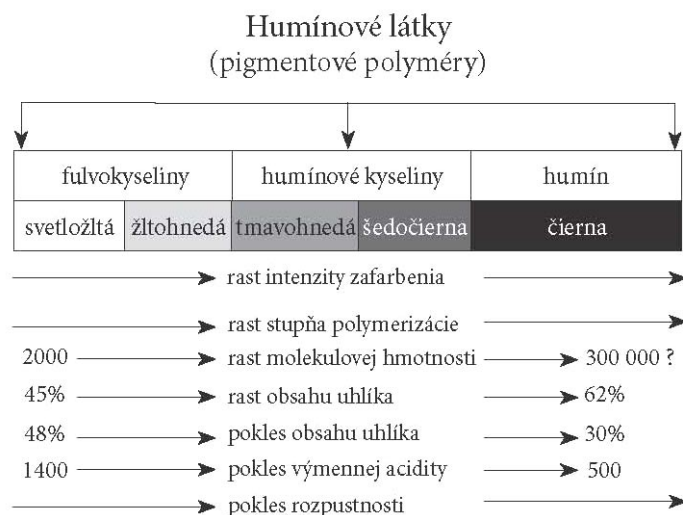
Fenoly a polyfenoly môžu byť odvodené z dvoch zdrojov, z rozkladu lignínu a zo syntetickej činnosti mikroorganizmov⁹. Biodegradácia lignínu môže viesť k produkcii polyfenolov a fenolov. U niektorých druhov húb (*Basidiomycetes*, *Ascomycetes*) bola zistená schopnosť

atakovať lignín, zlúčeninu, ktorá je vo všeobecnosti veľmi rezistentná k mikrobiálnemu rozkladu. Tieto mikroorganizmy atakujú lignín pomocou extracelulárnych enzýmov z fenoloxidázovej skupiny, ktorú môžeme rozdeliť na dva základné typy enzýmov, tyrozinázu a lakkázu. Mikrobiálne fenoly ako prekurzory humínových látok sú produkované aj mikroorganizmami. Existuje široká škála fenolických a hydroxy-aromatických kyselín, u ktorých je známe, že ich syntetizujú mikroorganizmy z nearomatických uhľovodíkových zlúčenín. Mnoho húb, aktinomycét a baktérií bolo identifikovaných ako schopných syntetizovať jednoduché fenoly a komplexné polyfenoly. Jedným z takýchto mikroorganizmov je aj baktéria *Rhodococcus erythrophylis* CCM 2595, ktorá disponuje schopnosťou degradovať fenolické zlúčeniny a bola vybraná ako modelový prokaryotický organizmus v sorpčných experimentoch humínových kyselín na povrchu týchto bakteriálnych buniek²⁰. Avšak táto schopnosť bola zatiaľ lepšie charakterizovaná u húb a aktinomycét než u baktérií²².

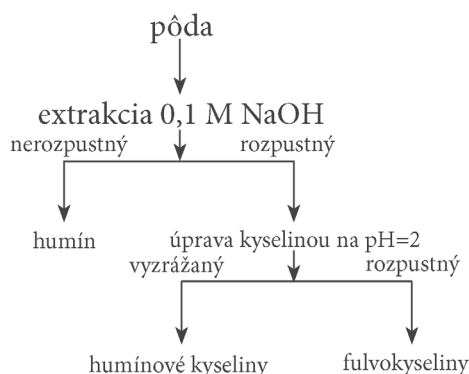
3.3. Frakcie HL

Humínové kyseliny reprezentujú spolu s fulvo kyselinami a humínom tri základné frakcie humusu (obr. 4), ktoré tvoria jeho podstatnú časť. Humínové kyseliny však patria medzi najdôležitejšie frakcie humifikovanej pôdnej organickej hmoty, pretože na rozdiel od fulvo kyselín a humínu, ktoré sa podieľajú asi 8 % na celkovom kolobehu uhlíka, podiel humínových kyselín je až 16 % (cit.²⁶).

Humínové látky predstavujú komplex organických zlúčenín rozpustných v hydroxidoch, soliach a organických rozpúšťadlách. Charakteristickou črtou humusových látok je ich heterogénnosť, podmienená prítomnosťou zložiek na rozličnom stupni humifikácie humusotvorného



Obr. 4. Najdôležitejšie vlastnosti a rozdelenie humínových látok (upravené podľa cit.³)



Obr. 5. Schéma extrakcie humínových látok z pôdy, rašeliny alebo z iných prírodných matríc, upravené podľa cit.⁹

materiálu s nerovnakým chemickým zložením²³.

Humínové látky definujeme ako zmes amorfnych, polydisperzných zlúčenín žltej až hnedočiernej farby. Sú heterogénnou skupinou prírodných organických molekúl s komplikovanou polymérnou štruktúrou a tvoria neoddeliteľnú súčasť pôdnej a vodnej organickej hmoty. 60–80 % celkového organického uhlíka v pôde sa vyskytuje vo forme humínových kyselín. 50–75 % rozpustnej organickej hmoty vo vode pozostáva z fulvo a humínových kyselín²⁰. Humínové zlúčeniny sú hydrofilné, kyslé a majú veľkú molekulovú hmotnosť, dosahujúcu od niekoľko stoviek po tisíce atómových jednotiek (Au) alebo daltonov. Pochádzajú z rozkladu organických frakcií, vzniknutých reakciou nazývanou humifikácia (časť 3.1.) a väčšinou sú získavané z pôdy alebo iných prírodných zdrojov pomocou extrakcie, frakcionácie a izolačných procedúr so zásaditými a kyslými roztokmi (obr. 5).

Frakcionácia pôdnej organickej hmoty (POH) môže byť uskutočnená podľa viacerých metód, biologicky, chemicky a fyzikálne²⁷, avšak pátranie po vhodných extrakčných činidlách je stále prioritnou otázkou v oblasti humínových látok. Ideálne činidlo by malo odstrániť z materiálu prakticky všetok humínový materiál bez ovplyvnenia fyzikálnych a chemických vlastností jeho jednotlivých frakcií. Počas posledných desaťročí bolo vyvinutých a odskúšaných niekoľko užitočných procedúr s rôznou účinnosťou. Napriek testovaniu veľkého množstva extrakčných činidiel, vodný roztok NaOH stále zostáva najbežnejšie používaným a kvantitatívne najúčinnjším činidlom na extrakciu HL z rozličných zdrojov. Najmodernejšími v súčasnosti využívanými metódami sa stávajú gély a chromatografické kolóny s aktívnym uhlím²⁸.

Humínové kyseliny (HK) tvoria najkvalitnejšiu zložku humusových látok. Sú to polyméry tmavohnedej až čiernej farby. Ich základnou jednotkou sú aromatické mikrojadrá fenolického alebo chinoidného typu, na ktoré sa prostredníctvom mostíkov typu (-O-, -NH-, -N-, -S-, -CH₂-) napájajú v bočných reťazcoch funkčné skupiny. V jadre sa môžu nachádzať benzén, furán, naftalén, antracén, pyridín a iné. Funkčné skupiny sa môžu vyskytovať v tvare: -COOH, -OH, -NH₂, -CH₃, -SO₃H, C=O, -OCH₃,

-PO₃H₂.

Fulvokyseliny (FK), ako aj ich soli (fulváty), sa v pôde najčastejšie vyskytujú v adsorbovanej forme. S oxidmi železa a hliníka vytvárajú organominerálne zlúčeniny²⁹. Majú charakteristické žlté sfarbenie (fulvus = žltý), sú menej kondenzované ako humínové kyseliny, sú rozpustné vo vode a v zriedených kyselinách. Sú charakteristické najmä pre kyslé pôdy²⁵. Vďaka svojim vlastnostiam, najmä obsahu kyslých funkčných skupín, sú známe ako najreaktívnejšia frakcia HL vo vodnom prostredí³⁰.

Humíny (H) sú humusové látky nerozpustné v alkalických roztokoch. Sú kondenzovanejšie a silnejšie dehydrované ako humínové kyseliny. Sú to karbonizované organické látky, ktoré sú pevne viazané na minerálny podiel vody a nedajú sa získať ani mnohonásobnou extrakciou alkáliami z dekalcinovanej pôdy²³. Humíny sú spolu s humusovým uhlím (HU) podľa niektorých autorov v podstate HK pevne viazané na minerálny podiel pôdy, podľa iných prameňov sa jedná o silne karbonizovanú organickú hmotu charakterizovanú ako nerozpustné HK. Vykazujú vysoký stupeň kondenzácie a polymerizácie, nehydrolyzujú a podľa Najmra stratili funkciu pravého humusu. Dusík H a HU obsahuje 20–30 % z celkového dusíka v pôde²⁵.

4. Záver

Napriek tomu, že humínové kyseliny sú predmetom záujmu výskumu viac ako sto rokov, množstvo dôležitých informácií o týchto látkach nie je stále známym a ich chemická štruktúra nie je do súčasnosti úplne vyriešená. Štruktúra prírodných humínových kyselín je vhodná pre sorpčné, iónovo-výmenné a biodegradačné procesy. Keďže ako prekurzory HK sú uvádzané aj xenobiotiká, javia sa ako potenciálne vhodné aj na detoxifikáciu kontaminantov prítomných v životnom prostredí, ktoré sa tam dostali predovšetkým ako základné zložky dlhodobo používaných pesticídov. Táto problematika ako aj interakcie HK s kontaminantmi sú predmetom druhej časti príspevku.

Zoznam skratiek

HK	humínové kyseliny
HL	humínové látky
FK	fulvokyseliny
OMK	organo-minerálny komplex
PCP	pentachlórfenol
POH	pôdna organická hmota
H	humín
HU	humusové uhlie

LITERATÚRA

1. <http://www.humintech.com/>, stiahnuté 26.3.2007.
2. Antoňová B., Kozler J., Novák J., Kubiček J., Horová D., Vondrová I.: ChemZi 1, 256 (2005).

3. Veselá L., Kubal M., Kozler J., Innemanová P.: Chem. Listy 99, 711 (2005).
4. Klučáková M.: *International Scientific Conference: Humic Substances in Ecosystems 5, Duszyniki Zdroj 2003*. Proceedings, str. 39.
5. Kučerík J., Pekař M., Klučáková M.: Petrol. Coal 45, 58 (2003).
6. <http://www.fch.vutbr.cz/home/kucerik/frame1.htm>, stiahnuté 20.5.2007.
7. Klučáková M., Pekař M.: J. Polym. Mater. 20, 145 (2003).
8. Klučáková M., Pekař M.: J. Polym. Mater. 20, 155 (2003).
9. Tan K. H.: *Humic Matter in Soil and the Environment: Chemical Composition of Humic Matter*. Marcel Dekker, New York 2003.
10. Hayes M. H. B., Malcolm R. L., v knihe: *Humic Substances and Chemical Contaminants*, (Clapp C. E., Hayes M. H. B., Senesi N., Bloom P.R., Jardine P. M., ed.), s. 3. Soil Science Society of America, Madison 2001.
11. Szpoganicz B., da Silva M. R., Gomes A. P. N., Fernandes A. N., de Sierra M. M. S.: *13th Meeting of the International Humic Substances Society, Karlsruhe, Germany 2006*. Proceedings (Frimmel F. H., Abbt-Braun G., ed.), s. 353.
12. Burdon J.: Soil Science 166, 752 (2001).
13. Schulten H. R., v knihe: *Humic Substances and Chemical Contaminants*, (Clapp C. E., Hayes M. H. B., Senesi N., Bloom P.R., Jardine P. M., ed.), s. 73. Soil Science Society of America, Madison 2001.
14. Eglite I., Klavins M.: *11th International meeting of the Humic Substances Society: Humic Substances: Nature's most versatile materials, Boston 2002*. Proceedings, s. 264.
15. Simpson A., Kingery W., Foan E., Hatcher P.: *11th International meeting of the Humic Substances Society: Humic Substances: Nature's most versatile materials, Boston 2002*. Proceedings, s. 447.
16. Barančíková G., Brečková V., Dlugoš J.: Rostl. Výroba 43, 107 (1997).
17. MacCarthy P., v knihe: *Humic substances: Structures, Models and Functions* (Ghabbour E. A., Davies G., ed.), s. 19. Royal Society of Chemistry, Cambridge 2001.
18. Barančíková G., Klučáková M., Madaras M., Makovníková J., Pekař M.: Humic Substances in the Environment 3, 3 (2003).
19. Simpson A. J., Kingery W. L., Hayes M. H. B., Spraul M., Humpfer E., Dvorstsak P., Kesserbaum R. M., Godejohann M., Hofmann M.: *10th International meeting of the Humic Substances Society, Toulouse, France 2000*. Proceedings, s. 1109.
20. Feifířová D., Čejková A., Masák J., Siglová M., Jirků V.: *Third European Bioremediation Conference, Crete, Chania, Greece 2005*. Proceedings (Kalogerakis N., ed.), s. 143.
21. Tan K. H.: *Environmental Soil Science*. Marcel Dekker, New York 2000.
22. Stevenson F. J.: *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. John Wiley & Sons, New York 1994.
23. Stanovič R.: *Dizertačná práca*. Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra 2004.
24. <http://wwwold.fle.czu.cz/~web/studium>, stiahnuté 25.1.2007
25. http://www.af.mendelu.cz/external/relay/agrochem/multitexty/html/agrochemie_pudy/OL_humifikovane.htm, stiahnuté 23.8.2007.
26. Passo N., Peuravouri J., Lehtonen T., Pihlaja K.: Environ. Int. 28, 173 (2002).
27. Olk D. C., Gregorich E. G., Farenhorst A., Hayes M. H. B., Paul E. A., Simpson M. J.: *13th Meeting of the International Humic Substances Society, Karlsruhe, Germany 2006*. Proceedings (Frimmel F. H., Abbt-Braun G., ed.), s. 21.
28. Schnitzer M., Khan S. U.: *Humic Substances in the Environment*, s. 9. Marcel Dekker, New York 1972.
29. Scheffer F., Schachtschabel P.: *Lehrbuch der Bodenkunde*. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1989.
30. Estevez da Silva J. C. G., Pereira C. C. C., Antunes M. C. G., Rodrigues P. M. S. M.: *13th Meeting of the International Humic Substances Society, Karlsruhe, Germany 2006*. Proceedings (Frimmel F. H., Abbt-Braun G., ed.), s. 889.

M. Skokanová and K. Dercová (Department of Biochemical Technology, Institute of Biotechnology and Food Science, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, Bratislava, Slovak Republic): **Origin and Structure of Humic Acids**

Humic acids are a major part of naturally occurring organic humic substances. They can be isolated from several natural matrices (soil, peat, oxyhumolite, and lignite) where they occur in different amounts. Humic acids are amorphous mixtures of reactive aromatics with phenolic and carboxylic groups. They are used in agriculture, medicine, and environment protection.