

# Izolacija huminske kiseline iz oksidiranog lignita i kompleksacija metalnim katjonima

Benjamin Čatović<sup>1</sup>, Melita Huremović<sup>1</sup>, Majda Srabović<sup>1</sup>, Minela Šišić<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Univerzitet u Tuzli, Prirodno–matematički fakultet, Tuzla, Bosna i Hercegovina

<sup>2</sup>Univerzitet u Travniku, Farmaceutsko-zdravstveni fakultet, Travnik, Bosna i Hercegovina

## Izvod

Lignit je mrki ugalj koji u svom sastavu sadrži huminsku kiselinu. Izolacija huminskih kiselina je vršena iz prethodno oksidovanog i osušenog lignita nakon čega je vršeno prečišćavanje. Identifikacija tako dobivenih huminskih kiselina vršena je FTIR spektroskopijom, a njena karakterizacija UV analizom gde je određivana optička gustina izolovane huminske kiseline i izvršena njena kompleksacija sa metalnim katjonima. Podaci dobiveni FTIR spektroskopskom analizom za izolovanu huminsku kiselinu ne pokazuju značajnu strukturnu i hemijsku razliku u odnosu na spektar dobiven za standardnu huminsku kiselinu (Sigma–Aldrich). UV analizom je utvrđeno da izolovana i standardna huminska kiselina imaju  $E_4/E_6$  odnos u odgovarajućem opsegu od 3–5, što indicira prisustvo većeg broja alifatskih struktura. Na osnovu stepena humifikacije utvrđeno je da izolovane huminske kiseline pripadaju tipu B dok standardne huminske kiseline pripadaju tipu A. Kompleksacija huminskih kiselina je vršena rastvorima različitih koncentracija nitratnih soli metala i pri različitim pH vrednostima. Količina slobodnog metala merena je metodom ICP-OES. Podaci su analizirani i ANOVA statističkom metodom. Rezultati su pokazali da se povećanjem pH vrednosti smanjuje koncentracija metalnog jona adsorbovanog na huminsku kiselinu dok se povećanjem koncentracije metala i količine huminske kiseline ta moć povećava. Istraživanjem je utvrđen sledeći niz vezivanja metala za huminsku kiselinu  $Pb > Zn > Ni > Cu$ .

**Ključne reči:** oksidacija uglja, huminska kiselina, optička gustina, kompleksacija.

Dostupno na Internetu sa adrese časopisa: <http://www.ache.org.rs/HI/>

Ligniti su mrki ugljevi u kojima je još dobro očuvana anatomski građena karakteristična za drvo. Glavne hemijske supstance koje grade mrki ugalj su: huminska kiselina, nerastvorljive huminske materije i bitumeni a kod ksilitičkih mrkih ugljeva (lignita) ima još i celuloze, lignina i hemiceluloze. Iz treseta i mrkog uglja huminske kiseline se mogu izdvojiti: ekstrakcijom sa alkalnim bazama; obradom vodom i sonim rastvorima i uz pomoć slabih organskih kiselina. Dosadašnja istraživanja pokazala su da se sve vrste ugljeva mogu oksidovati s tim što se najlakše oksiduju mrki ugljevi, naročito ligniti, a znatno teže ugljevi višeg stepena karbonifikacije (kameni ugljevi i antraciti). Upotrebom različitih oksidacionih sredstava, oksidacija uglja se može izvoditi u kiseloj, baznoj ili neutralnoj sredini. Važno je istaći da oksidacijom ugljeva nastaju huminske kiseline, tj. dolazi do obogaćivanja ugljeva huminskim kiselinama [1–3]. Rezultati istraživanja oksidacije uglja pokazali su da se ovaj proces najčešće izvodi dejstvom vazduha, tretiranjem kiselim oksidacionim sredstvima (najčešće nitratom kiselinom) ili upotrebom drugih oksidacionih

sredstava (vazduh, hidrogen peroksid, kalij-permanganat) u baznoj sredini. Koliki će prinos huminskih kiselina biti zavisi od vrste uglja, temperature, pritiska, vrste i koncentracije oksidacionog sredstva i granulacije uglja. Huminske kiseline su rastvorljive u baznim sredinama, a talože se čim rastvori postanu blago kiseli. Te supstance imaju srednju molekularnu veličinu i njihova molekularna težina je 10000 do 100000 Daltona. Kisik čini 33–36%, a azot oko 4% huminskih kiselina.

Glavne funkcionalne grupe huminske kiseline su karboksilna, fenolna, karbonilna, alkoholna, hinonska i metoksi grupa, a mogu se naći i ketonska, estarska i etarska grupa [4]. Najvažnije funkcionalne grupe huminskih kiselina su kisele funkcionalne grupe, zato što ove grupe u velikoj meri reaguju sa metalnim jonima. Huminske kiseline podležu velikom broju istraživanja jer imaju acido–bazna svojstva sa širokim spektrom  $pK_a$  vrednosti i to su mešavine umreženog polimera različitih molekularnih masa [5].

Zbog visokog sadržaja izmenjivih funkcionalnih grupa, lignit je efikasan medij za uklanjanje metala iz otpadnih voda [6]. Priroda stvaranja kompleksa između huminskih kiselina i katjona metala potiče od heterogenog, polielektričnog i polidisperzivnog karaktera huminske kiseline koji se javlja zbog prisustva velikog broja funkcionalnih grupa [7]. Zbog prisustva funkcionalnih grupa u njihovoj strukturi, huminske kiseline su ekološki važne kada je u pitanju kruženje metala u pri-

NAUČNI RAD

UDK 622.332:547.992:66:543

Hem. Ind. 71 (4) 319–327 (2017)

Preписка: B. Čatović, Univerzitet u Tuzli, Prirodno–matematički fakultet, Odsjek za Hemiju, Univerzitetska 4, 75000 Tuzla, Bosna i Hercegovina.

E-pošta: benjamin.catovic@untz.ba

Rad primljen: 28. jun, 2016

Rad prihvaćen: 4. oktobar, 2016

<https://doi.org/10.2298/HEMIND160628041C>

rodi. Kompleksi teških metala sa huminskom kiselinom smanjuju njihovu bioraspodivnost i toksičnost. Sposobnost kompleksiranja se delimično pripisuje karboksilnoj grupi same kiseline i fenolnoj grupi, a u retkim slučajevima mogu biti uključene i amino grupe [8]. Metali kompleksirani sa huminskim kiselinama postaju nedostupni za formiranje sulfida, hidroksida i karbonata i stoga sprečavaju formiranje nerastvornih soli. Huminske kiseline imaju prirodna i izražena adsorpcijska svojstva koja se odnose na transport i akumulaciju teških metala. One mogu kontrolisati ponašanje teških metala u okolini tako što stupaju u interakciju sa metalima stvarajući komplekse što zavisi o karakteristikama huminske kiseline i koncentracije metalnih jona, pH vrednosti, itd. [9].

Cilj ovog rada jeste sledeće:

- Odrediti sadržaj frakcija huminskih kiselina u uzorcima lignita i izolirati čistu huminsku kiselinu iz lignita.
- Ispitati da li huminska kiselina može kompleksirati i imobilizirati rizične elemente njihovim vezivanjem u huminskom (organo-mineralnom) kompleksu.
- Ispitati uticaj parametara pH vrednosti i koncentracije otopina elektrolita ispitivanih metala (Pb, Cu, Zn i Ni) na kompleksaciju sa huminskom kiselinom.

## MATERIJAL I METODE

Kao materijal je korišten lignit sa rudnog kopa „Šikulje“, rudnika lignita „Kreka“, Bosna i Hercegovina, uzet sa krovnog sloja otkopa i usitnjen u drobilici na granulacijsku veličinu 0–15 mm. Za potrebe eksperimenta lignit je dodatno usitnjen te prosijan na granulacijsku veličinu od 0–5 mm nakon čega je sušen na temperaturi od 105 °C. Za potrebe eksperimenta korištena je i čista huminska kiselina (10 g, Sigma–Aldrich, p.a.) koja je poslužila u analizama za uporedbu sa izolovanim huminskom kiselinom kako bi se imao uvid u kvalitet i čistoću izolirane huminske kiseline. Oksidacija lignita je izvršena tako da se 10 g lignita tretiralo sa 125 ml 20% HNO<sub>3</sub> mešajući 90 min na magnetnoj mešalici pri temperaturi od 25 °C. Nakon mirovanja od 24 h vršeno je ispiranje sa destilovanom vodom do neutralne reakcije i sušenje u sušnici na temperaturi od 105 °C. Prvo je određivan sadržaj slobodnih huminskih kiselina i lako-topivih humata prema sledećem postupku: odvagano je 5 g zrakosuhog usitnjenog uglja u tikvicu od 200 ml, dodano je 100 ml 0,1 mol/L otopine kalcijum-acetata i zagrijavano 1 h na vodenom kupatilu na 100 °C, uz povratno hlađenje. Iza toga je hladilo isprano iznutra destilovanom vodom u istu tikvicu. Celokupan sadržaj tikvice je prenet kvantitativno u tikvicu od 1000 mL koja je nadopunjena do marke, dobro je promešana i pusti se da se talog slegne ili u slučaju lošeg sleganja taloga profiltrira. Paralelno je postavljena slepa proba sa svim analognim dodacima i operacijama, ali bez uglja. U jednom alikvotnom delu bistre otopine slepe

probe i uzorka (100–200 ml) je određen sadržaj sirćetne kiseline titracijom sa 0,1 mol/L rastvorom NaOH uz fenolftalein kao indikator do pojave roza boje. Iz dobivenog sadržaja sirćetne kiseline je proračunat sadržaj slobodnih huminskih kiselina. U drugom alikvotnom delu bistre otopine slepe probe i uzorka (100–200 mL) je određivan sadržaj kalcijuma u otopini. Razlika u sadržaju kalcijuma u slepoj probi i probi sa ugljem pokazuje smanjenje sadržaja kalcijuma u otopini uzrokovano razdvajanjem na slobodne huminske kiseline i lako topive humate.

Iz toga je preračunat odgovarajući sadržaj huminskih kiselina, iz kojeg se oduzimanjem sadržaja slobodnih huminskih kiselina dobija sadržaj huminskih kiselina vezanih kao lako-topivi humati. Kod određivanja sadržaja ukupnih huminskih kiselina i teško-topivih humata 2 g zrakosuhog usitnjenog uglja je navlaženo vodom, dodato 50 mL 2 mol/L rastvora HCl i digerirano 1 h na vodenom kupatilu na 100 °C. Rastvor je filtriran i ispiran do neutralne reakcije 0,5% rastvorom NaCl (ispiranje je dugotrajno). Ugalj je zatim zajedno sa filterpapirom kvantitativno prenet u tikvicu sa povratnim hladilom, dodato je 100 mL 0,1 mol/L rastvora kalcijum-acetata i analogno kao i kod određivanja sadržaja slobodnih huminskih kiselina i lako-topivih humata je određeno smanjenje sadržaja kalcijuma u otopini u postupku titracije sa EDTA. Paralelno je postavljena slepa proba sa svim analognim dodacima i operacijama, ali bez uglja. Za određivanje kalcijuma u 50 mL filtrata je dodato 5 mL 3-etanolamina (1:1) i čvrstog KOH do pH 12, zatim je dodat indikator kalcein do pojave boje breskve i titrisano je sa EDTA do pojave roza boje. Iz prethodno oksidisanog lignita je izvršena izolacija huminske kiseline tako da je 5 g lignita tretirano sa 10 mL 1 mol/L rastvora HCl na sobnoj temperaturi, uz mešanje od 60 min nakon čega je vršeno odvajanje supernatanta dekantiranjem (supernatant se koristi za dokazivanje fulvinskih kiselina). Ostatak uzorka (talog) je neutralisan sa 1 mol/L rastvorom NaOH do neutralne pH vrednosti te je ponovo mešan najmanje 4 h. Uzorak je zatim ostavljen u stanju mirovanja 12 h (preko noći) a supernatant je odvojen centrifugiranjem i zakiseljen sa 6 mol/L HCl uz stalno mešanje do pH vrednosti 1. Uzorak je ostavljen da stoji 12 h nakon čega je centrifugiranjem odvojena huminska kiselina (talog) i sušena na 105 °C. Prečišćavanje huminskih kiselina vršeno je po metodi koju je predložio Tan (1926) tako što je talog huminskih kiselina otopljen u 0,1 mol/L NaOH i centrifugiran. Neotopljeni deo je odbačen a otopljena frakcija je zakiseljena do pH 2. Nakon toga je vršeno centrifugiranje 5 min, talog je odvojen a supernatant bačen.

Talog je pomešan sa 50 mL vrlo razblažene smese HCl + HF kako bi se smanjio sadržaj pepela i silicija. Nakon mešanja smesa je centrifugirana tako da se filtrat (HCl + HF) odbacuje a talog huminskih kiselina se temeljno pere sa destilovanom vodom. Identifikacija

huminske kiseline je vršena pomoću FTIR spektroskopije. Mala količina fino ustinjenog materijala (1 mg huminske kiseline) homogeno je izmešana sa materijalom koji ne apsorbira u IR području (KBr) i presovana u tanku okruglu pastilu ili pločicu koja se nakon toga analizira u FTIR spektrofotometru. Pomoću UV analize određena je optička gustina huminskih kiselina na instrumentu Shimadzu UV-1800 uz upotrebu kvarčnih kiveta. Oko 5 mg huminske kiseline je rastvoreno u 25 ml 0,05 mol/L NaHCO<sub>3</sub>. Apsorbanca je merena na 400, 465, 600 i 665 nm. E<sub>4</sub>/E<sub>6</sub> vrednost je izračunata na osnovu omjera apsorbancije na 465 i 665 nm. Izvršena je i UV karakterizacija kompleksa metal-huminska kiselina. Izolacija huminskih kiselina je vršena iz prethodno oksidovanog i osušenog lignita nakon čega je vršeno prečišćavanje. Tako dobivena huminska kiselina je kompleksirana sa dvovalentnim metalnim katjonima (Cu<sup>2+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> i Pb<sup>2+</sup>). Za kompleksaciju izolovanih huminskih kiselina korištene su različite koncentracije (1×10<sup>-4</sup>, 5×10<sup>-5</sup> i 5×10<sup>-6</sup> mol/L) Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O, Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O i Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> pri različitim pH vrednostima (5,5; 6,5 i 7,5). Količina huminske kiseline koja se koristila je 50, 100, 250 i 500 mg. Pripremani su osnovni rastvori nitrata metala koncentracije 100 μM i rastvor izolovane huminske kiseline iste koncentracije (100 μM) te serija rastvora koji su sadržavali samo rastvor metala koncentracije 15 μM, rastvor liganda koncentracije 10 μM te rastvori koji su sadržavali metal (15 μM) i huminsku kiselinu (10 μM). Svi rastvori su inkubirani 24 h na sobnoj temperaturi nakon čega je me-

rena apsorbanca. Apsorbanca je merena za karakteristične talasne dužine tj. one talasne dužine na kojima se javljaju apsorpcioni maksimumi (λ<sub>max</sub>) i minimumi (λ<sub>min</sub>) u rasponu od 190–300 nm.

Kombinacijom svih ovih parametara dobiveno je ukupno 144 uzorka. Svaki uzorak je mešan na magnetnoj mešalici 2 h pri temperaturi od 25 °C, zatim centrifugiran 30 min na 4000 o/min, a nakon čega je filtriran kroz filter papir (plava traka), te je sadržaj metala u filtratu određivan ICP-atomskim emisionim spektrofotometrom. Određivana je količina metala koji nije vezan u kompleks sa huminskom kiselinom. Dobiveni podaci su obrađivani i ANOVA metodom statističke obrade podataka.

## REZULTATI I DISKUSIJA

### Oksidacija lignita

U Bosni i Hercegovini, ugalj kao primarni energetski resurs ima stratešku i nezamjenjivu ulogu. Ova činjenica je osnov za opravdanost svih vrsta istraživanja ovog prirodnog blaga koje prije svega predstavlja jedinstven brend od izuzetne važnosti (tabela 1), kako u energetskom smislu, tako i u smislu upotrebe lignita u razne druge svrhe (primjena ugljeva kao stimulatora rasta i razvoja biljaka).

U tabeli 2 su predstavljeni rezultati određivanja frakcija huminskih supstanci u netretiranom lignitu u usporedbi sa oksidiranim lignitom tretiranim sa 20% HNO<sub>3</sub>.

Tabela 1. Prosečni kvalitet lignita krekanskog basena [3,10]  
Table 1. The average quality of Krekas lignite [3,10]

Parametar	Rudnik			
	Bukinje	Mramor	Dubrave	Šikulje
Imedijatna analiza				
Vlaga, %	35,00	39,60	30,23	49,13
Pepeo, %	16,48	12,06	27,83	10,19
Sagorljive supstance, %	48,52	48,34	41,94	40,68
Ispaljive supstance, %	25,12	22,35	22,47	22,10
C <sub>fix</sub> / %	21,37	18,99	16,84	18,58
Koks (%)	39,85	35,05	49,64	28,77
Ukupni sumpor (%)	0,44	0,39	0,55	0,51
Donja toplotna moć (kJ/kg)	12,06	12,00	9,32	9,22
Elementarni sastav uglja, mas. %				
Ugljik, C	31,73	28,17	25,48	38,75
Vodik, H	2,54	2,26	2,34	6,07
Sumpor gorivi, S	0,17	0,15	0,17	0,93
Nitrogen, N	12,08	10,76	11,32	0,57
Hemijski sastav pepela, mas. %				
SiO <sub>2</sub>	55,36	50,71	53,80	52,00
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	7,88	9,38	8,80	9,40
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	24,32	20,33	23,80	20,20
CaO	6,76	7,29	5,30	7,05

Tabela 2. Sadržaj frakcija huminskih kiselina u lignitu  
Table 2. Content of humic acids fraction in lignite

Supstrat	Slobodne huminske kiseline, %	Lako topivi humati, %	Ukupne huminske kiseline, %
Netretirani lignit	4,29	2,18	15,51
Oksidirani lignit	18,20	5,03	52,55

Može se uočiti povećanje sadržaja svih frakcija huminskih kiselina nakon oksidacije lignita. Pri tome je uočljivo značajno povećanje slobodnih huminskih kiselina kao i povećanje sadržaja ukupnih huminskih kiselina, što je u skladu sa sličnim svetskim istraživanjima.

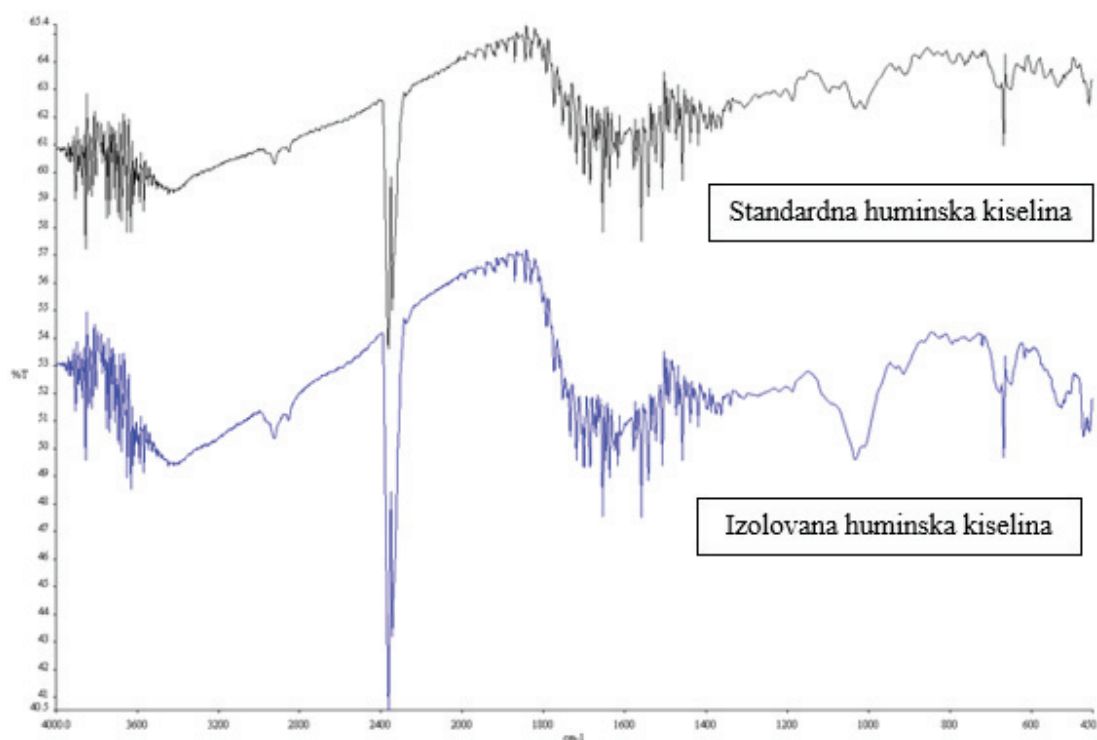
#### FTIR analiza izolovane huminske kiseline

FTIR analiza je metoda koja se široko koristi kao analitička tehnika za određivanje različitih funkcionalnih grupa u strukturi ugljeva i ovde je korištena kao metoda za identifikaciju huminskih kiselina. Na slici 1 su prikazani spektri za standardnu huminsku kiselinu (Sigma–Aldrich) i huminsku kiselinu izolovanu iz oksidovanog lignita. Preklapanje spektara standardne i izolovane huminske kiseline pokazalo je identičnost struktura od 97,4%.

Široki pojas u području  $3400\text{--}3300\text{ cm}^{-1}$  odgovara valencionoj vibraciji O–H veze funkcionalne grupe alkohola, fenola i organskih kiselina. Nekoliko slabih vrpca između  $2920\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$  se javlja zbog prisustva C–H alifatskih veza. Na  $3690\text{ cm}^{-1}$  javlja se oštar pik što odgovara valencionim vibracijama vode. U području od  $1620\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$  su skupine vrpce koje odgovaraju C=C

aromatskim valencionim vibracijama i  $\text{COO}^-$  simetričnim valencionim vibracijama. Vrpce niskog intenziteta između  $1000\text{--}1100\text{ cm}^{-1}$  su povezane sa Si–O istežanjem i C–O valencione vibracije polisaharida. Pik na  $1700\text{--}1750\text{ cm}^{-1}$  odgovara valencionim vibracijama C=O grupe od karboksilnih kiselina, aldehida i ketona. Manje intenzivan vrh se javlja na  $1460\text{--}1380\text{ cm}^{-1}$  što odgovara grupama kao što su  $\text{CH}_3$ , fenolna OH grupa i ortodisupstituisani aromatski prstenovi. Na  $1510\text{--}1540\text{ cm}^{-1}$  javlja se skupina pikova što odgovara C=C valencionim vibracijama i C=N valencionim vibracijama.

Vrpca na  $1032\text{ cm}^{-1}$  pokazuje prisustvo fenolnih i alkoholnih C–O veza kao i C–O–C veza sa alifatskim ugljikom. Na  $669\text{ cm}^{-1}$  se javlja vrpca koja odgovara O–H istežanju van ravni što ukazuje na monosupstituirani benzen. U području od  $3400\text{--}3000\text{ cm}^{-1}$  prisutne su vrpce kao posljedica N–H rastezanja što ukazuje na prisustvo primarnih amina. Snažno prisustvo amidnih grupa potvrđuje proteinsku prirodu azota [11]. Ovo zapažanje se slaže sa nalazima nekih autora da se povezivanje fragmenta huminskih supstanci u oligomere vrši formiranjem amidnih veza [12].



Slika 1. FTIR spektar standardne i izolovane huminske kiseline.  
Figure 1. FTIR spectrum of standard and isolated humic acid.

### UV analiza određivanja optičke gustine huminske kiseline

Karakter optičkih svojstava, a među njima i optičku gustinu huminskih supstanci određuje njihova hemijska građa. Apsorbancija na 465 nm izražava prisutnost huminskih kiselina koje su formirane u početnoj fazi humifikacije a apsorbancija na 665 nm ukazuje na prisutnost huminskih kiselina formiranih u dobro humifikovanoj organskoj materiji.

$E_4/E_6$  koeficijent (tabela 3) se koristi često u poljoprivrednoj praksi da bi se izrazio stepen humifikacije.  $E_4/E_6$  odnos za fulvinske kiseline iznosi od 5 do 8 dok za huminske kiseline taj odnos iznosi od 3 do 5. Nizak odnos je često znak da postoji relativno visok stepen kondenzacije aromatskih sastojaka dok visok odnos ukazuje na prisustvo relativno više alifatskih struktura. Na osnovu vrednosti prikazanih u tabeli 3, može se uočiti da izolovane i standardne huminske kiseline imaju  $E_4/E_6$  odnos koji je u opsegu od 3–5 (4,83–4,89), što odgovara literaturnim podacima.  $E_4/E_6$  odnos se smanjuje sa povećanjem stepena humifikacije odnosno povećanjem sadržaja i kondenzacije aromatskih prstena te povećanjem molekulske mase.  $E_4/E_6$  odnos varijabilno raste sa porastom koncentracije baze koja se koristi za ekstrakciju huminske kiseline [13]. Kumada (1975) je opisao vezu između vrednosti  $\Delta \log K$  koeficijenta i stepena humifikacije huminske kiseline [14].

Na osnovu te vrednosti huminske kiseline su podeljene na tri tipa:

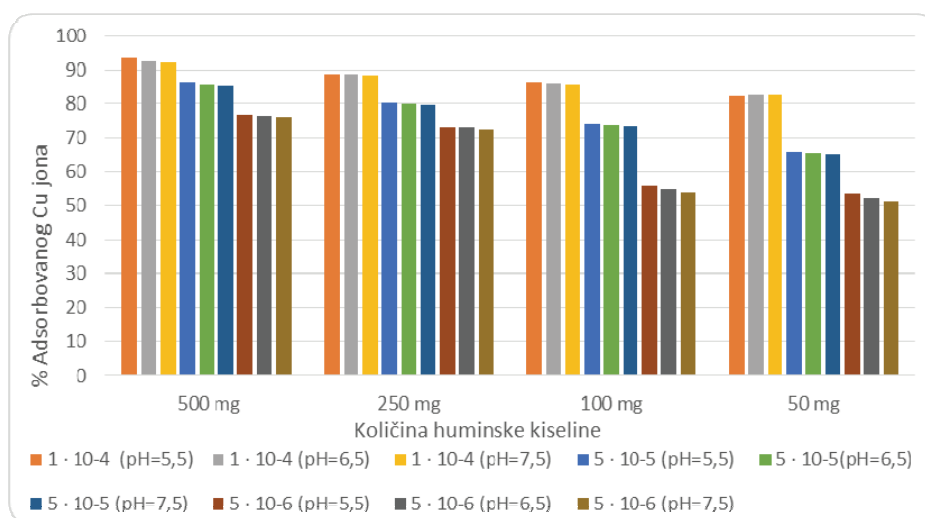
- Tip A – huminske kiseline visokog stepena humifikacije gdje vrednost  $\Delta \log K$  iznosi do 0,6;
- Tip B – huminske kiseline umerenog stepena humifikacije gdje vrednost  $\Delta \log K$  iznosi 0,6–0,8;
- Tip Rp - huminske kiseline niskog stepena humifikacije gdje vrednost  $\Delta \log K$  iznosi 0,8–1,1;

Na osnovu ove podele možemo uočiti da huminske kiseline izolovane iz lignita korištenog u eksperimentu pripadaju tipu B dok standardne huminske kiseline pripadaju tipu A ali treba naglasiti da je razlika veoma mala (tabela 3). Pretpostavlja se da su razlog tome određene razlike u poreklu matičnog materijala iz kojeg je izolovana standardna huminska kiselina. Sa poljoprivredne tačke gledišta huminska kiselina sa većim stepenom humifikacije ima bolji i veći agronomski kvalitet što je od posebnog značaja sa stanovišta upotrebe huminskih kiselina u poljoprivredne svrhe [14]. Proučavana je i sorpcija teških metala od strane huminskih kiselina i određivano je kako količina huminske kiseline utiče na sorpciju istraživanih metala.

Na slici 2 je prikazana sorpcija Cu jona na izolovanu huminsku kiselinu. Pri koncentraciji rastvora nitrata od  $1 \times 10^{-4}$  mol/L Cu jon se vezuje za huminsku kiselinu u različitim količinama. Tako se najveća količina bakra vezuje za 500 mg huminske kiseline pri pH 5,5. Ako se za stvaranje kompleksnih spojeva koristi 50 mg huminske kiseline pri pH od 7,5 i koncentraciji od  $5 \cdot 10^{-5}$  mol/L tek 65,32 % bakra će se vezati za huminsku kiselinu.

Tabela 3. Optička gustina izolovane huminske kiseline  
Table 3. The optical density of the isolated humic acid

Huminska kiselina	Talasna dužina na kojoj je merena apsorbancija, nm				$E_4/E_6$	$\Delta \log K$
	400	465	600	665		
Izolovana	1,593	0,779	0,395	0,159	4,89	0,605
Standardna	1,438	0,836	0,381	0,173	4,83	0,576



Slika 2. Uticaj količine izolovane huminske kiseline na sorpciju  $\text{Cu}^{2+}$  na različitim pH vrednostima i koncentracijama nitrata.  
Figure 2. Influence of the amount of isolated humic acid on the sorption of  $\text{Cu}^{2+}$  to different pH values and nitrate concentration.

Poređenjem količine adsorbovanog jona pri sve tri korištene pH vrednosti i količini od 250 mg huminske kiseline uočava se veoma mala razlika, isti slučaj je i sa 100 mg huminske kiseline. Huminska kiselina najmanje adsorbira  $\text{Cu}^{2+}$  pri koncentraciji od  $5 \times 10^{-6}$  mol/L i pH vrijednosti od 7,5. Uočava se da količina adsorbovanog  $\text{Cu}^{2+}$  raste sa povećanjem količine huminske kiseline a opada sa povećanjem pH vrijednosti. Rezultati su pokazali da što je veća koncentracija metalnih jona veća je i moć adsorpcije huminske kiseline.

Količina bakra vezanog za huminske i fulvinske kiseline na pH 4 su prilično slične dok se pri pH vrednostima od 6 do 8 bakar snažnije veže za huminsku kiselinu u odnosu na fulvinsku kiselinu. Ovi rezultati ukazuju na to da na vezivanje bakra za huminsku kiselinu ne utiče samo ukupan broj različitih funkcionalnih skupina nego i drugi faktori [15].

Na slici 3 je prikazana sorpcija Ni jona na izolovanu huminsku kiselinu. Istraživanja pokazuju da 500 mg huminske kiseline pri pH 5,5 i koncentraciji nitrata metala od  $1 \times 10^{-4}$  mol/L vezuje za sebe čak 94,01%  $\text{Ni}^{2+}$  stvarajući kompleksan spoj što znači da tek 5,91% jona ostaje u slobodnom stanju.

Ako se koristi ista količina huminske kiseline i ista koncentracija metala a poveća pH vrijednost smanjuje se količina adsorbovanog jona na 93,84%. Optimalna pH vrijednost za interakciju metalnih jona sa huminskim kiselinama je 5,5. Kapacitet vezivanja se povećava sa povećanjem pH 1–5,5 a zatim smanjuje povećanjem pH vrijednosti i najniža sposobnosti interakcije je pri pH 9 [16].

Smanjenjem količine huminske kiseline smanjuje se količina adsorbovanog jona. Međutim ukoliko se smanji pH vrednost povećava se količina stvorenog kompleksa. Pri koncentraciji od  $5 \times 10^{-6}$  mol/L, pH vrednosti od 7,5 i količini huminske kiseline od 50 mg procenat adsorbovanog  $\text{Ni}^{2+}$  iznosi 77,09%, što je za 16,92% manje u odnosu na najveću količinu stvorenog kompleksa. Ukoliko se ove vrednosti uporede sa vrednostima za ba-

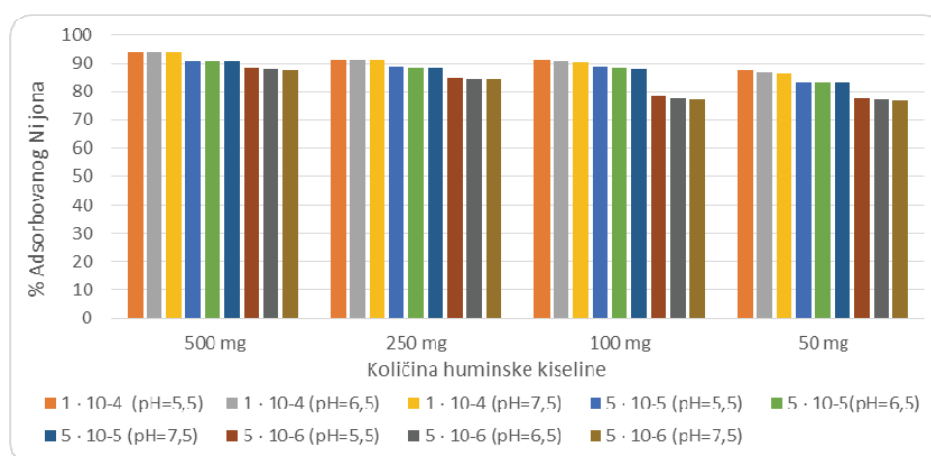
karni jon uočava se da se veće količine niklovog jona vežu za huminsku kiselinu. Huminska kiselina igra ulogu multidentatnog proliganda sa nekoliko reaktivnih donor mesta za koordinaciju sa raznim metalnim jonima. Kapacitet sorpcije metalnog jona zavisi od huminske tvari i njenog predtretmana. Slična istraživanja su pokazala da se huminska kiselina jače veže sa metalima u +2 oksidacionom stanju [16].

Može se uočiti se da je razlika u procentu adsorbovanog cinkovog jona između 50, 100 i 250 mg huminske kiseline veoma mala (slika 4). Najveća količina metala se adsorbira ako se koristi 500 mg huminske kiseline pri pH 5,5. Za razliku od drugih istraživanih metalnih jona gdje je najveća adsorpcija uočena pri koncentraciji od  $1 \times 10^{-4}$  mol/L kod  $\text{Zn}^{2+}$  nije takav slučaj.

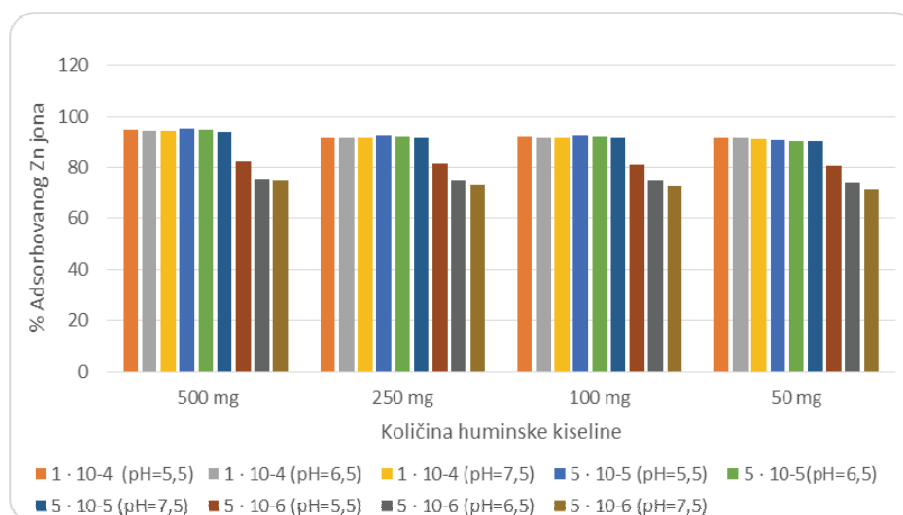
Naime, najveća količina adsorbovanog cinkovog jona je pri koncentraciji od  $5 \times 10^{-5}$  mol/L i iznosi 95,38% dok pri koncentraciji od  $1 \times 10^{-4}$  mol/L iznosi 95,09%. Može se uočiti da je ta razlika veoma mala i iznosi svega 0,29%. Različite sposobnosti interakcije huminske kiseline sa jonima metala pripisuju se njihovoj različitoj molekularnoj složenosti i osobinama. Pri koncentraciji od  $5 \times 10^{-6}$  mol/L, 50 mg huminske kiseline vezuje za sebe 71,21% jona cinka.

Povećanjem pH vrednosti smanjuje se količina adsorbovanog jona jer pri povećanju pH vrednosti dolazi do otapanja huminske kiseline pri čemu dolazi do smanjene stabilnosti nastalog kompleksa. Eksperimentalno je dokazano da je veza između metala i huminske kiseline u kompleksu određena mehanizmom interakcija između metala i funkcionalnih grupa huminskih kiseline. Termalna stabilnost kompleksa zavisi od koncentracije slobodnih adsorpcionih centara (prvenstveno COOH grupe). Efekti uslova sušenja koji utiču na stabilnost kompleksa zavise od magnetskih svojstava metalnih jona [17].

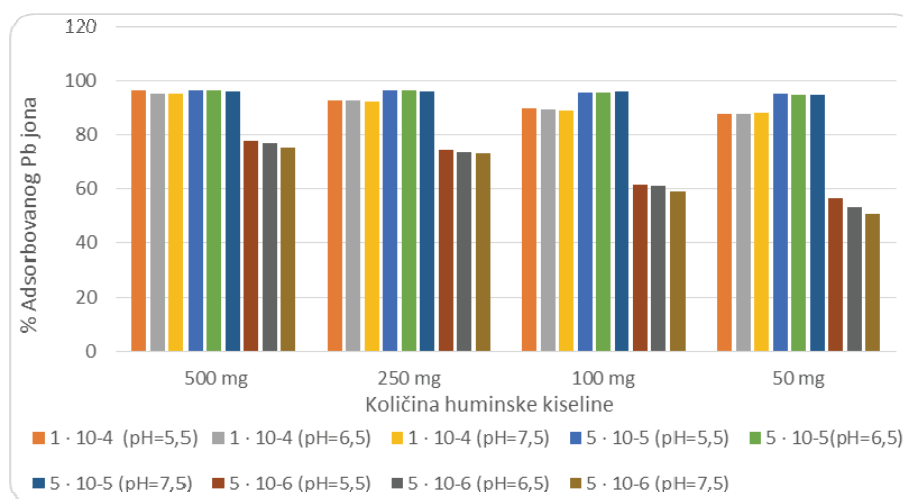
Rezultati pokazuju da huminska kiselina stvara najveće količine kompleksa sa jonom olova (slika 5). Utvrđeno je da se 96,54% ovog jona veže za 500 mg hu-



Slika 3. Uticaj količine izolovane huminske kiseline na sorpciju  $\text{Ni}^{2+}$  na različitim pH vrednostima i koncentracijama nitrata.  
Figure 3. Influence of the amount of isolated humic acid on the sorption of  $\text{Ni}^{2+}$  to different pH values and nitrate concentration.



Slika 4. Uticaj količine izolovane huminske kiseline na sorpciju  $Zn^{2+}$  na različitim pH vrednostima i koncentracijama nitrata.  
Figure 4. Influence of the amount of isolated humic acid on the sorption of  $Zn^{2+}$  to different pH values and nitrate concentration.



Slika 5. Uticaj količine izolovane huminske kiseline na sorpciju  $Pb^{2+}$  na različitim pH vrednostima i koncentracijama nitrata.  
Figure 5. Influence of the amount of isolated humic acid on the sorption of  $Pb^{2+}$  to different pH values and nitrate concentration.

minske kiseline pri pH vrednosti od 5,5 i koncentraciji metala od  $1 \times 10^{-4}$  mol/L. Kod  $Pb^{2+}$  kao i kod  $Zn^{2+}$  najveći stepen adsorpcije metala se uočava kod koncentracije od  $5 \times 10^{-5}$  mol/L. Količina adsorbovanog jona raste porastom količine huminske kiseline koja je korištena za kompleksaciju. Na osnovu svega ranije navedenog može se utvrditi slijedeći niz vezivanja metala za huminsku kiselinu  $Pb > Zn > Ni > Cu$ .

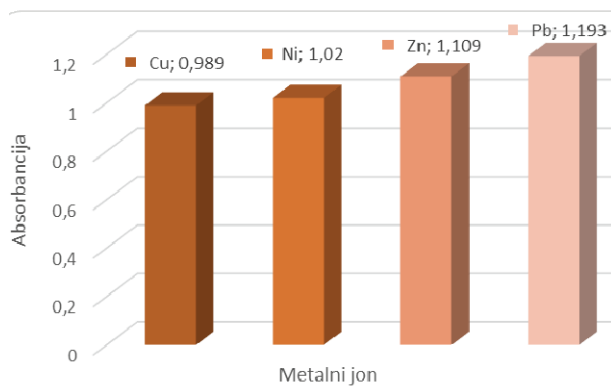
#### UV analiza kompleksa metal-huminska kiselina (M-HK)

Apsolutne vrednosti razlika apsorbance i položaja  $\lambda_{max}$  mogu se posmatrati kao kvalitativni indikatori odnosno semikvantitativni pokazatelji interakcije huminske kiseline kao liganda i metalnih jona jer razlike nastaju usled karakteristika molekulskih orbitala, promene energije veze, elektronske konfiguracije kompleksa i njegove konstante stabilnosti.

Apsorpcijski maksimum kod kompleksa metal-huminska kiselina se javlja na talasnoj dužini od 190 nm. Na osnovu vrednosti dobivenih apsorbanci može se utvrditi sledeći niz vezivanja metala za huminsku kiselinu  $Pb > Zn > Ni > Cu$  (slika 6).

Prisutnost značajne promene apsorbanci može se pripisati ili koordinacijskoj interakciji između huminske kiseline i metalnog jona ili različitosti elektronskih konfiguracija slobodnog i vezanog liganda u pogledu energije orbitala i verovatnoće elektronskih prelaza, što ide u prilog procesu kompleksacije [18].

Rezultati ANOVA analize (Tabela 4) pokazuju da postoji signifikatna statistička razlika na nivou značajnosti od 0,05 između količine korištene huminske kiseline te količine neizreagovanog metala što ukazuje na to da je razlika u količini slobodnog metalnog jona između ispitivanih metala ( $Pb^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  i  $Zn^{2+}$ ) od statističkog značaja.



Slika 6. Utvrđeni niz vezivanja metala za izolovanu huminsku kiselinu.

Figure 6. Determined series of metals binding to the isolated humic acids.

Tabela 4. p-vrednosti utvrđene ANOVA analizom

Table 4. p-values determined by ANOVA

Metal	Cu	Ni	Zn	Pb
p-vrednost	1,84E-06	6,81E-07	3,81E-16	2,81E-08

## ZAKLJUČAK

Na osnovu dobivenih rezultata može se zaključiti da oksidacijom sirovog lignita delovanjem nitratne kiseline dolazi do povećanja prinosa huminske kiseline, tj. dolazi do obogaćivanja uglja huminskim kiselinama. Podaci dobiveni FTIR spektroskopskom analizom za izolovanu huminsku kiselinu ne pokazuju značajnu strukturnu i hemijsku razliku u odnosu na spektar dobiven za standardnu huminsku kiselinu. UV analizom je utvrđeno da izolovana i standardna huminske kiseline imaju  $E_4/E_6$  omjer u odgovarajućem opsegu od 3–5, što upućuje na prisustvo većeg broja alifatskih struktura. Na osnovu stepena humifikacije utvrđeno je da izolovane huminske kiseline pripadaju tipu B dok standardne huminske kiseline pripadaju tipu A ali treba naglasiti da je ta razlika relativno mala. Rezultati pokazuju da je optimalna pH vrednost za stvaranje kompleksa između metalnih jona i huminske kiseline 5,5. Rezultati su pokazali da povećanje koncentracija metalnih jona dovodi do povećanja adsorpcije huminske kiseline. Rezultati pokazuju da huminska kiselina stvara najveće količine kompleksa sa jonom olova. S obzirom na to da Pb(II) jon ostvaruje najjaču interakciju sa huminskom kiselinom u odnosu na druge ispitivane metalne jone, može se doći do zaključka da bi u uslovima povećane koncentracije olova u životnoj sredini došlo do istiskivanja ostalih ispitivanih metalnih jona iz O-donor vezivnih mjesta huminskih kiselina, što bi dalje dovelo do povećanja mobilnosti istisnutih metalnih jona i njihovog prodiranja u podzemne i površinske vode. Povećanje pH vrednosti smanjuje količinu metalnog jona adsorbovanog na huminsku kiselinu. Uočava se da količina adsorbovanog  $Cu^{2+}$  raste sa povećanjem količine huminske kiseline, a

opada sa povećanjem pH vrijednosti. Istraživanja pokazuju da 500 mg huminske kiseline pri pH 5,5 vezuje za sebe čak 94,01%  $Ni^{2+}$  stvarajući kompleksan spoj što znači da tek 5,91% ovog jona ostaje u slobodnom stanju.

Na osnovu razlika u apsorbcama između metala i huminskih kiselina može se reći da postoji interakcija između metala i liganda te se na osnovu vrednosti dobivenih apsorbanca može utvrditi sledeći niz vezivanja metala za huminsku kiselinu  $Pb > Zn > Ni > Cu$ . Rezultati ANOVA analize pokazuju da postoji signifikatna statistička razlika na nivou značajnosti od 0,05 između količine korištene huminske kiseline te količine neizreagovanog metala tj. metala koji se nije vezao za huminsku kiselinu.

## Zahvalnica

Zahvaljujemo se Ministarstvu obrazovanja i nauke Federacija Bosne i Hercegovine na podršci pri realizaciji ovog rada u okviru naučnoistraživačkog projekta pod nazivom „Izolacija huminske kiseline iz oksidiranog lignita i kompleksacija metalnim kationima“

## LITERATURA

- [1] M. Petrović, P. Petrović, Z. Miličević, Influence of parameters of lignite oxidation with nitric acid on yield of humic acids, Univ. Thought, Nat. Sci. **4** (1997) 57–59.
- [2] H.H. Lowry, Chemistry of coal utilization, John Wiley & Sons, New York, 1963.
- [3] B. Čatović, Uticaj huminskih kiselina u lignitu na mobilnost i biodostupnost elemenata tla, Doktorska disertacija, Univerzitet u Tuzli, Prirodno–matematički fakultet, 2012
- [4] M.H.B Hayes, R. Swift, in: The Chemistry of Soil Constituents, D.J. Greenland, M.H.B. Hayes (Eds.), John Wiley & Sons, New York, pp. 179–230.
- [5] H. Baker, F. Khalili, Effects of pH and temperature on the interaction of Pb (II) with Azraq humic acid studied with Schuberts ion exchange method, J. Asian Earth Sci. **1** (2007) 35–44.
- [6] E. Pehlivan, G. Arslan, Removal of metal ions using lignite in aqueous solution – low cost biosorbents, Fuel Process. Technol. **88** (2007) 99–106.
- [7] J. Čežíková, J. Kozler, L. Madronová, J. Novák, P. Janoš, Humic acids from coals of the North-Bohemian coal field II. Metal-binding capacity under static conditions, React. Funct. Polym. **47** (2001) 111–118.
- [8] I. Golonka, F. Czechowski, A. Jezierski, EPR characteristics of heat treated complexes of metals with demineralised humic brown coal in air and ammonia atmospheres, Geoderma **127** (2005) 237–252.
- [9] S.I. Kostić, D.T. Anđelković, S.R. Nikolić, P.T. Cvetković, D.D. Pavlović, Lj.A. Bojić, Usporedna ispitivanja jačine vezivanja jona teških metala sa huminskom kiselinom, Hem. Ind. **67** (2013) 773–779.
- [10] M. Delalić, Minimalna energija upale prašine lignita i mrkih ugljeva u BiH, Doktorska disertacija, Univerzitet u Tuzli, RGGF, 2012.



- [11] X. Zang, J.D.H. van Heemst, K.J. Dria, P.G. Hatcher, Encapsulation of protein in humic acid from a histosol an an explanation for the occurrence of organic nitrogen in soil and sediment, *Org. Geochem.* **31** (2000) 679–695.
- [12] L.T. Jr. Sein, J.M. Varnum, J.A. Jansen, Conformational modeling of a new building block of humic acid: approaches to the lowest energy conformer, *Environ. Sci. Technol.* **33** (1999) 546–552.
- [13] S.S. Fong, L. Seng, W.N. Chong, J. Asing, M.F. Md Nor, S.A. Mohd Pauzan, Characterization of the coal derived humic acids from Mukah, Sarawak as soil conditioner, *J. Braz. Chem. Soc.* **3** (2006) 582–587.
- [14] K. Kumada, *Chemistry of soil organic matter*, Elsevier, Amsterdam, 1987.
- [15] I.D. Christil, Influence of humic substances on the sorption of heavy metal cations on mineral surfaces, Doctoral Dissertation, Swiss Federal Institute of Technology, Zürich, 2000.
- [16] G. Kóródi, Application of humic acids and their derivatives in environmental pollution control, *AARMS* **11** (2012) 61–65.
- [17] I.I. Lishtan, F.N. Kaputskiy, G.Yu. Yanuta, A.M. Abramets, V.P. Strigutsky, E.V. Kachanova, Humic acids: Interaction with metal ions, Features of structure and properties of metal humic complexes, *Chem. Sustain. Develop.* **14** (2006) 367–373.
- [18] S.I. Kostić, Interakcija M (II) jona metala prelazne serije elemenata sa O-donor vezivnim mjestima huminskih kiselina i njihovih model supstanci, Doktorska disertacija, Univerzitet u Nišu, Prirodno–matematički fakultet, 2013.

## SUMMARY

### ISOLATION OF HUMIC ACID FROM OXIDIZED LIGNITE AND COMPLEXATION WITH METAL CATIONS

Benjamin Čatović<sup>1</sup>, Minela Šišić<sup>2</sup>, Majda Srabović<sup>1</sup>, Melita Huremović<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University of Tuzla, Faculty of natural sciences and mathematics, Tuzla, Bosnia and Hercegovina

<sup>2</sup>University of Travnik, Faculty of Pharmacy, Travnik, Bosnia and Hercegovina

(Scientific paper)

Lignite is brown coal, which in its composition contains humic acids. Humic acids are produced by coal combustion, which leads to the enrichment of coal humic acids. Lignite, from the opet pit mine Šikulje, lignite ore „Kreka“, Bosnia and Herzegovina, was fragmented and sieved to the appropriate size and used as a base material. The isolation of humic acid was carried out from pre-oxidized and dried lignite after which it was refined. Identification thus obtained humic acids was carried out by FTIR spectroscopy and its characterization of UV analysis which is determined by optical density of isolated humic acid and its complexation with metal cations. Data obtained by FTIR spectroscopic analysis of isolated humic acids show no significant structural and chemical difference in relation to the spectrum obtained for standard humic acids (Sigma Aldrich). UV analysis showed that isolated and standard humic acid have  $E_4/E_6$  ratio in an appropriate range of 3–5, which indicates the presence of a large number of aliphatic structure. Based on the degree of humification was found that the isolated humic acids belong to the type B standard while humic acids belong to type A. The most important property of the humic substances is the ability to interact with the metal ions forming soluble or insoluble complexes which possess different chemical and biological properties and stability. The nature of the complex between humic acid and metal cation derived from the heterogeneous, polyelectric and polydispersive character humic acids that occurs due to the presence of a large number of functional groups. Complexation of humic acid is carried out with different concentrations of metal nitrate solutions and at different pH values. Different amounts of humic acids were used for the complexation. The amount of the free metal ions was measured with the ICP-OES method. The data were also statistically analyzed with ANOVA. The results showed that increasing the pH reduces the concentration of metal ions adsorbed on humic acid and by increasing the concentrations and amounts of metal humic acid that power increases. On the basis of the difference in absorbance between metals and humic acids can be said that there is an interaction between the metal and the ligand and is based on absorbance values obtained can be determine the next set of metal binding to humic acids  $Pb > Zn > Ni > Cu$ .

**Keywords:** Coal oxidation • Humic acid • Optical density • Complexation