

مطالعه طیفی، ساختاری و شیمیایی هیومیک اسیدهای استخراج شده از زغال سنگ های معادن ایران

احسان سرلکی^۱، علی شریف پاقلعه^{۲*}، محمدحسین کیان مهر^۳، نیما شکیبا^۴

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی فنی کشاورزی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

۲. مری، گروه مهندسی فن آوری صنایع غذایی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

۳. استاد، گروه مهندسی فنی کشاورزی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

۴. دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه مهندسی فنی کشاورزی، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۲/۱۰ - تاریخ بازنگری: ۱۳۹۶/۲/۱۱ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۲/۱۸)

چکیده

به دلیل تأثیر و اهمیت مواد هیومیکی در انواع فرآیندهای زیست محیطی، آگاهی و دانش از خصوصیات شیمیایی، طیفی و ساختاری این مواد، جنبه‌هایی هستند که همیشه باید در مطالعات وابسته به مدیریت و پالایش اکوسیستم‌ها در نظر گرفته شوند. در این پژوهش، پس از استخراج و پالایش هیومیک اسید از زغال سنگ‌های معادن ایران، از تکنیک گراویمتری برای تعیین درجه خلوص، از طیف‌سنجی‌های غیرمخرب مانند FT-IR، UV-VIS، ICP-OES و CHNOS برای سنجش کیفی و کمی و همچنین از ریزنگاره‌های SEM برای مطالعه ساختاری هیومیک اسید استفاده شد و نتایج بدست آمده با نمونه هیومیک اسید استاندارد آلدريج مقایسه شدند. نتایج آزمون گراویمتری نشان داد که درجه تخلیص هیومیک اسید تولید شده ۹۸ درصد است. از نظر کمی، نتایج آنالیز عنصری ICP-OES نشان دادند که بعد از پالایش هیومیک اسید، غلظت انواع فلزات سنگین در هیومیک اسید خیلی کمتر از محدوده مجاز پیشنهاد شده هستند و گستره ای از عناصر ماکرو و میکرومغذی در ساختار هیومیک اسید وجود دارند. همچنین نتایج کیفی آنالیزهای FT-IR، UV-VIS و SEM به خوبی حضور یک ساختار غالب آروماتیک و غنی از گروه‌های عاملی کربوکسیلی و فنولی با درجه هیومیفیکاسیون و فشردگی بالا و نوع A با سطوح اسفنجی مانند نرم و متخلخل ناهمگن را در هیومیک اسید نشان دادند. نتایج آنالیز CHNOS نیز علاوه بر تأیید مناسب بودن زغال سنگ استفاده شده جهت استخراج هیومیک اسید، محصول تولیدی را منطبق بر نمونه استاندارد هیومیک اسید نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: هیومیک اسید، زغال سنگ، طیف‌سنجی، ساختار، خواص.

مقدمه

چالش‌های ترکیبی تولید مواد غذایی با توجه به افزایش جمعیت جهانی و به تبع آن حفاظت از محیط‌زیست، بدون در نظر گرفتن منابع طبیعی برای تولیدات آینده کشاورزی، یکی از بزرگترین مشکلات و چالش‌های علوم کشاورزی است. در نتیجه با وجود این معضل، ایده‌های جدید برای کمک به بهبود کشاورزی پایدار، ضروری می‌نماید. یکی از منابع طبیعی مناسب برای حل این مشکل، استفاده از محرک‌های زیستی بر پایه مواد هیومیکی است (Melo et al. 2015).

مقادیر بسیار کمی از مواد هیومیکی، نتایج قابل ملاحظه‌ای را در بهبود خصوصیات فیزیکی، شیمیایی خاک و فیزیولوژیکی گیاهان داشته و به دلیل وجود ترکیبات شبه هورمونی و خواص بیومحرکی، اثرات مفیدی در افزایش تولید و بهبود کیفیت

محصولات کشاورزی دارند. (Canellas et al. 2015).

یک ویژگی مشخص از هیومیک اسید، این است که آن‌ها دارای محتوای بالایی از گروه‌های عاملی مختلف مانند، کربوکسیلی و فنولی و کوئینون‌ها در ساختار شبه-مایسلی‌شان هستند، که باعث می‌شوند این مواد دارای ویژگی‌های کامپلکس با فلزات و کاتیون‌ها، فعالیت‌های ضدقارچی، ضدباکتری و آنتی-اکسیدانی باشند (Melo et al. 2015).

هیومیک اسید، امروزه به‌عنوان طلای سیاه کشاورزی و به‌عنوان یک ماده ماکرومولکول با مشخصه غالب آروماتیک شناخته می‌شوند که دارای ساختار بسیار پیچیده‌ای هستند (Das et al. 2015; Baruah et al. 2013).

جدیدترین ایده در رابطه با ساختار مواد هیومیکی این است که آن‌ها از تجمع و توده‌هایی با مولکول‌های کوچک با خصوصیات یکسان تشکیل شده‌اند که با واکنش‌های قوی ابرمولکولی در کنار هم قرار گرفته‌اند (Giovanela et al. 2010; Sun et al. 2015).

* نویسنده مسئول: alisharif@ut.ac.ir

برای بهبود خواص لاستیک‌ها استفاده می‌شوند (Das et al. 2015). اخیراً از هیومیک اسید برای کاربرد در علوم نانو به‌عنوان مواد جاذب (Zhang et al. 2013) و برای کنترل و جذب گازهای سمی (SO_2 , NO_x , H_2S , CO_2) و فلزات سنگین از گازهای احتراقی (Sun et al. 2015; Hu et al. 2010) استفاده می‌شود.

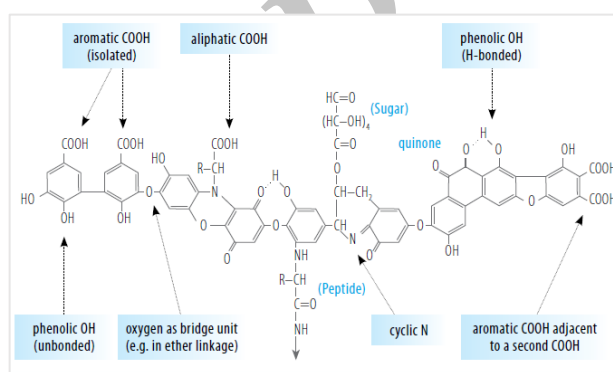
منبع اصلی هیومیک اسید زغال‌سنگ است که یک سوخت فسیلی فراوان شناخته می‌شود (Das et al. 2015). هیومیک اسید استخراج‌شده از نمونه‌های زغال‌سنگ، مطابق با درجه زغالی شدن و شرایطی که هیومیک اسید در آن شکل‌گرفته‌اند، با یکدیگر تفاوت دارند (Kurkova et al. 2004). مقدار هیومیک اسید در زغال‌سنگ به درجه رسیدگی یا همان رتبه و سن زغال‌سنگ بستگی دارند (Stevenson, 1994). با افزایش رده و سن زغال‌سنگ، میزان رسیدگی و میزان کربن افزایش و مقدار اکسیژن در زغال‌سنگ‌ها کاهش می‌یابد. این رفتار نیز در مقدار هیومیک اسید موجود در زغال‌سنگ نیز مشاهده می‌شود. مقدار هیومیک اسید در زغال‌سنگ‌های نارس به‌آسانی قابل استخراج است و دارای عملکرد بالاتری نسبت به زغال‌های رسیده‌تر مانند بیتامینوس هستند (Asing et al. 2009).

امروزه، روش‌های مکانیزه کردن زغال‌سنگ‌های معدن و فرآیندهای پاک کردن آن‌ها به‌طور همزمان، پسماندهای زغال-سنگ را در حدود ۳۵ تا ۶۰ درصد در اکثر معادن و بخش‌های صنعتی افزایش می‌دهند (Das et al. 2013). مقادیر بسیار زیادی از پسماند زغال‌سنگ در تولید زغال‌سنگ و در نتیجه در اتلاف انرژی از بین می‌روند و در نتیجه مشکلات زیست‌محیطی در طی فرآیندهای ابگیری، خشک کردن، نگهداری، انتقال و مراحل انبارداری آن‌ها ایجاد می‌کنند (Das et al. 2013). بنابراین بهره‌برداری و استفاده از پسماند زغال‌سنگ و استخراج هیومیک اسید از آن‌ها، یک چالش، موقعیت کاری و یک ایده جدید برای بهره‌برداری از پسماند زغال‌سنگ و تولید هیومیک اسید از آن‌ها، بوجود می‌آورند (Das et al. 2013; Baruah et al. 2013).

به‌دلیل تاثیر و اهمیت مواد هیومیکی در انواع فرآیندهای زیست‌محیطی (خواص کی‌لیت‌کنندگی فلزات و پالایشی در خاک‌ها)، آگاهی و دانش از خصوصیات طیفی و شیمیایی این مواد، امری لازم و ضروری است که همیشه باید در مطالعات وابسته به مدیریت و پالایش اکوسیستم‌ها در نظر گرفته شوند (Giovanela et al. 2010). برای آگاهی و دانش خصوصیات جزئی‌تر از مواد هیومیکی و فرآیندهای گوناگون آن‌ها در محیط زیست، نیاز است که از چندین ابزار آنالیزی در ترکیب با روش-

براساس مدل استیونسون، ساختار هیومیک اسید (شکل ۱) را می‌توان به‌عنوان یک بیوپلیمر در نظر گرفت که شامل گروه‌های عاملی متعددی مانند گروه‌های آزاد فنولی OH، ساختار کوئینون، نیتروژن، اکسیژن به‌عنوان واحدهای پل‌مانند و گروه کربوکسیلی COOH با بخش‌های آب‌دوست تشکیل شده از گروه‌های OH و بخش‌های آب‌گریز تشکیل شده از حلقه‌های آلیفاتیک و آروماتیک هستند (Melo et al. 2015).

به صورت تقریبی وزن مولکولی هیومیک اسید ۵ هزار تا ۱۰۰ هزار دالتون می‌باشد (Enev et al. 2014; Pospisilova & Fasurova. 2010; Pena-Mendez et al. 2005).



شکل ۱. ساختار بیوپلیمری هیومیک اسید (Stevenson, 1994)

به‌طور کلی، هیومیک اسید از منابع طبیعی بسیار متنوعی همچون خاک، کمپوست، لیگنات اکسیدشده (لئوناردیت)، رسوبات، پیت و انواع زغال‌سنگ‌ها استخراج می‌گردد که از این بین، بهترین منبع آن زغال‌سنگ لئوناردیت با راندمان بالای ۴۵ تا ۸۵ درصد بسته به شرایط استخراج، می‌باشد (Das et al. 2012; Giovanela et al. 2010; Xavier et al. 2013). در حال حاضر مواد هیومیکی مانند هیومیک اسید، در مقیاس‌های تجاری اکثراً به‌روش استخراج قلیایی از پیت و زغال‌سنگ تولید شده و در بخش‌های کشاورزی به‌عنوان محرک‌های زیستی گیاهی و اصلاح‌کننده‌های ساختار خاک^۱ (Rose et al. 2014)، کاربردهای صنعتی به‌عنوان تیمار برای آب‌های آلوده به فلزات سنگین (Tong et al. 2014)، صنایع کاغذ، چسب، رنگ و سرامیک به‌عنوان مواد کمک‌کننده، در صنایع نفت برای حفاری سیالات و در صنایع باتری‌سازی برای افزایش راندمان باتری (Sun et al. 2015)، به‌عنوان بیوسورفکتانت (Conte et al. 2011; Salati et al. 2005)، کاربردهای پزشکی و دارویی (Klocking & Helbig, 2005; Sun et al. 2015) و اضافه‌شونده

1. Soil conditioner

منشأ گوناگون بکار برده می‌شوند (Giovanela et al. 2010). طیف-سنجی نورمرئی-فرابنفش از مواد هیومیکی توسط اورلوف در سال ۱۹۸۵ (Orlov, 1985) و کومادا در سال ۱۹۸۷ (Kumada, 1987) بیان شده‌اند و شاخص‌های رنگی محاسبه شده ($Q_{4/6}$) یا همان (E_4/E_6)، قادر هستند که به‌طور رضایت‌بخشی کیفیت مواد هیومیکی، رسیدگی و بلوغ، درجه فشردگی آن‌ها را بررسی کند (Enev et al. 2014; Pospisilova & Fasurova. 2011). جذب نور در ۶۶۵ نانومتر با ترکیبات هیومیکی شده در رابطه است. مقادیر پایین‌تر از ۴ برای شاخص رنگی ($Q_{4/6}$)، کیفیت بالایی از مواد هیومیکی را نشان می‌دهد. درجه هیومیکی شدن پارامتری است که به محتوای کربن آلی کل، ترکیبات تفکیک‌شده هوموس و طرز تشکیل خاک بستگی دارد. مقدار درجه هیومیکی شدن با افزایش مقدار هیومیک اسید در ترکیبات هوموسی افزایش می‌یابد (Enev et al. 2014; Chen et al. 1977; Pospisilova & Fasurova. 2010; Senesi et al. 2003).

طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته^۸ از ایزوتوپ کربن ۱۳ به‌ویژه در حالت جامد، تحت قطبش عرضی^۹ و شرایط magic angle spinning^{۱۰} به اختصار (^{13}C NMR-CP-MAS) برای بررسی تابعیت هیومیک اسید به شبکه‌های کربنی هم به صورت کمی و هم کیفی استفاده می‌شوند (Giovanela et al. 2010). از میکروسکوپ الکترونی روبشی^{۱۰} (SEM) نیز به‌طور وسیعی برای مشاهده ریزساختار اجزای مواد آلی مانند مواد هیومیکی و تجمع‌شان با مواد غیر آلی و برای آگاهی از مورفولوژی‌های سطوح در هیومیک اسید و زغال‌سنگ استفاده می‌شود (Giovanela et al. 2010; Xavier et al. 2012).

در این مطالعه از طیف‌سنجی‌های مادون‌قرمز (FT-IR)، نور مرئی-فرابنفش (UV-Vis)، SEM، آنالیز عنصری ICP-OES و آنالیز عناصر اصلی (CHNOS) برای تعیین خصوصیات شیمیایی و طیفی هیومیک اسید جداسازی‌شده از زغال‌سنگ-های رده پایین ایران، برای اولین بار مورد استفاده قرار گرفت و نتایج آن‌ها با نمونه هیومیک اسید استاندارد آلدریچ مقایسه گردیدند.

مواد و روش‌ها

آماده‌سازی زغال‌سنگ

نمونه‌های زغال‌سنگ مورد استفاده در این مطالعه از معادن زغال‌سنگ زرنده کرمان انتخاب شدند و در کیسه‌های پلاستیکی بسته‌بندی‌شده به آزمایشگاه واحد فرآوری مرکز تحقیقات مواد

های طیف‌سنجی و شیمیایی استفاده شود. آنالیز عناصر^۱، اولین مرحله در هر مطالعه است. نسبت‌های اتمی^۲ C/N و O/C، H/C می‌توانند برای نشان دادن منبع مواد آلی، درجه فشردگی^۳ و شرایط زیست‌محیطی که مواد هیومیکی در آن وجود آمده‌اند، استفاده گردند (Giovanela et al. 2010; Pospisilova & Fasurova. 2011). آنالیزهای حرارتی یک ابزار سریع، دقیق و تداخل آزاد است که برای بررسی مواد پیچیده‌ای مانند هیومیک اسید و مواد هیومیکی شده استفاده می‌شوند. در مطالعات مواد هیومیکی، ترموگراویمتری یا حرارت‌سنجی^۴ (TG)، حرارت-سنجی اشتقاقی^۵ (DTG) و حرارت‌سنجی تفاضلی^۶ (DTA) به صورت کمی محتوای رطوبت و خاکستر را نشان می‌دهند که به خوبی برای مشاهده و خواص تغییرات ساختاری در نمونه‌ها در هنگامی که در معرض حرارت‌دهی قرار می‌گیرند، بکار برده می‌شوند (Xavier et al. 2012). خصوصیات حرارتی (TGA-DTA) و خصوصیات طیف‌سنجی (UV-Vis & FT-IR)، روش‌های ابزاری آنالیزی خیلی قوی هستند که برای مطالعه و مقایسه خواص هیومیک اسید استخراج‌شده از انواع زغال‌سنگ‌ها با رده‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرند (Purmališ et al. 2005; Francioso et al. 2011). از آنالیزهای XRD برای بدست‌آوردن اطلاعات از فضا‌های بین‌سطحی و کشش ساختاری و ناخالصی‌های هیومیک اسید جدا شده از زغال‌سنگ مورد استفاده قرار می‌گیرند (Giovanela et al. 2010; Matsui et al. 1984). از طیف‌سنجی FT-IR همچنین به‌طور گسترده‌ای می‌توان در بررسی‌های مربوط به هیومیک اسید استفاده کرد و درک و فهم قابل توجهی در رابطه با طبیعت این مواد، چیدمان و آرایش ساختاری از گروه‌های عاملی حاوی اکسیژن در مواد هیومیکی را فراهم کرد. نتایج طیف‌سنجی IR حاوی باندهایی هستند که گروه‌های عاملی مختلف را در ساختار پیچیده مواد هیومیکی و هیومیک اسید نشان می‌دهند (Lawson & Stewart, 1989; Georgakopoulos et al. 2003).

طیف‌سنجی نور مرئی-فرابنفش (UV-Vis) تکنیک دیگری است که می‌تواند اطلاعات مفیدی را در مورد ترکیبات، منشأ و خواستگاه این مواد فراهم کند. پارامترهای کلاسیکی مانند نسبت جذب در بین ۴۶۵ نانومتر و ۶۶۵ نانومتر (E_4/E_6) و ضریب $\Delta \log K$ ($\log Abs_{400\text{ nm}} - \log Abs_{600\text{ nm}}$) برای ارزیابی درجه هیومیکی شدن^۷ مواد هیومیکی استخراج شده از مواد آلی با

1. Elemental Analysis
2. Atomic Ratios
3. condensation
4. Thermogravimetry
5. Derivative Thermogravimetry
6. Differential Thermal Analysis
7. Degree of Humification

8. Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy
9. Cross-Polarization
10. Scanning Electron Microscopy

خلوص نهایی هیومیک اسید به صورت وزنی/وزنی ارائه می‌شود. با استفاده از فرمول زیر مقدار هیومیک اسید نسبت به ماده اولیه به صورت درصد خلوص وزنی برای هیومیک اسید ارائه شد (Lamar et al. 2014):

$$\text{Purity of HA} = \frac{\text{Dreid weight of HA}}{\text{Dreid weight of raw materials}} \times 100 \quad (\text{رابطه ۱})$$

آنالیز عناصر اصلی (CHNOS)

برای تعیین میزان کربن، نیتروژن، هیدروژن و گوگرد کل زغال-سنگ اولیه و هیومیک‌اسید استخراج شده از آن، از دستگاه آنالیز عناصر CHNOS، مدل Eager 300 for EA1112 استفاده شد. در این روش، از دمای بالا به منظور تجزیه گرمایی نمونه و جدا نمودن عناصر گوگرد، نیتروژن، هیدروژن و کربن از نمونه استفاده می‌شود.

تعیین درجه اکسیداسیون داخلی (ω) و آروماتیسیته (f_a) هیومیک اسید

بر اساس آنالیز عناصر اصلی CHNOS از بخش قبلی، درجه اکسیداسیون داخلی (ω) نمونه‌های هیومیک اسید طبق معادله-ی زیر بدست می‌آید: (Debska et al. 2002; Cieslewicz et al. 2008).

$$\omega = \frac{(2O+3N-H)}{C} \quad (\text{رابطه ۲})$$

که مقادیر O، N، H و C از آنالیز ترکیبات عنصری، به-صورت درصد اتمی^۴ هستند.

آروماتیسیته (f_a) هیومیک اسید نیز بر اساس نسبت اتمی C/H طبق معادله‌ی زیر محاسبه می‌شود (Saikia et al. 2013):

$$f_a = 0.035 \left(\frac{C}{H} + 0.057 \right) + (0.197) \quad (\text{رابطه ۳})$$

تعیین گروه‌های عاملی هیومیک اسید با تکنیک FT-IR

اساس کار در دستگاه FT-IR بررسی ارتعاش پیوندهاست که در اثر تغییر طول پیوند و یا زاویه پیوند در مولکول‌ها صورت می‌گیرد. ارتعاش مولکول‌هایی با ممان دوقطبی دائم، ایجاد میدان الکتریکی متغیر بر حسب زمان می‌کند و موجب تأثیر متقابل آن با تابش می‌شود. بنابراین تغییر ممان دوقطبی لازم است و لذا اکثر مواد به جز مواد غیرقطبی در این ناحیه جذب دارند و در نهایت از نسبت درصد عبور برحسب عدد موجی طیف IR حاصل می‌شود. این دستگاه قابلیت اندازه‌گیری نمونه‌های جامد، مایع و گاز را دارا می‌باشد. برای اندازه‌گیری با استفاده از لیزر He/Ne و منبع نور Global (silicon carbide)، پودر نمونه‌های هیومیک اسید به خوبی ساییده شد و از KBr

معدنی ایران منتقل شدند. نمونه‌های زغال‌سنگ ابتدا توسط دستگاه خردایش فکی کوچک^۱ ساخت شرکت فریتچ (Fritsch) آلمان به ذراتی تا اندازه ۵ میلی‌متر ریز شدند. برای استخراج مواد هیومیکی از زغال‌سنگ، نمونه‌های خردشده‌ی میلی‌متری به ذراتی تا اندازه‌های میکرونی با دستگاه مورتار آزمایشگاهی^۲ ریزتر شدند. از این ذرات ریزشده تا سطح میکرون برای آنالیزهای کیفی زغال‌سنگ و فرآیندهای استخراج مواد هیومیکی در این مطالعه استفاده گردید. برای تعیین توزیع اندازه ذرات زغال‌سنگ از دستگاه آنالیز اندازه ذرات مالورن ساخت انگلستان مدل Hydro 2000S استفاده شد و نتایج آن با نرم‌افزار مسترسایزر ۲۰۰۰ ورژن ۵/۲۲ تحلیل شد.

استخراج مواد هیومیکی از زغال‌سنگ

برای انجام فرآیند استخراج مواد هیومیکی از زغال‌سنگ، نسبت جامد به مایع ۱:۱۰ و معرف استخراج‌کننده‌ی سدیم هیدروکسید ۰/۵ مولار مطابق روش انجمن بین‌المللی مواد هیومیکی (IHSS)، در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است که مواد هیومیکی استخراج‌شده، شامل مواد جامد نامحلول هیومیکی و مواد محلول هیومات و فولوات می‌باشند. هیومیک اسید نیز با استفاده از روش استخراج اسیدی مطابق روش بین‌المللی IHSS با HCL 6M تا pH=1 از هیومات و فولوات‌های محلول پس از ته‌نشینی با سانتریفوژ (دستگاه سانتریفوژ مدل SPINTRON GT-15FR ساخت استرالیا در شرایط سرعت دورانی ۳۲۰۰ دور بر دقیقه، مدت زمان ۱۵ دقیقه و در دمای ۲۷ درجه سلسیوس) جداسازی شدند. همچنین فرآیند پالایش و حذف ناخالصی‌های موجود در هیومیک اسید مانند یون کلر Cl، با آبشویی هیومیک اسید در آب مقطر انجام شد. نهایتاً هیومیک اسید پس از سانتریفوژ و جداسازی، در دمای ۵۰ درجه سلسیوس در آون خشک گردید (Das et al. 2015; Xavier et al. 2012).

تکنیک گراویمتری

این روش برای تعیین مقدار هیومیک و فولویک اسید در نمونه-های جامد و مایع و تعیین مقدار آن‌ها بر اساس استفاده از یک باز قوی برای استخراج مواد محلول در قلیا و سپس اسیدی کردن محلول برای کلونیدی شدن هیومیک اسید می‌باشد. مواد باقیمانده پس از تیمار با اسید و قلیا، فولویک اسید نامیده می‌شوند. اساس این روش تکنیک وزن‌سنجی^۳ است که در آن مقدار ماده نهایی نسبت به ماده اولیه سنجیده شده و درصد

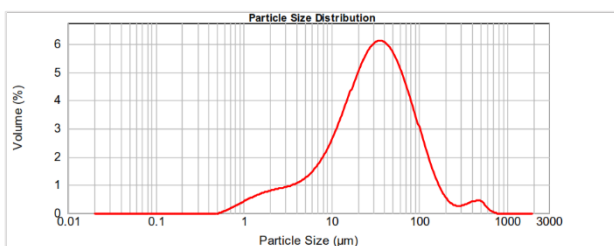
4. Atomic percentages

1. small jaw crusher
2. laboratory type mortar
3. Gravimetric Technic

نتایج و بحث

توزیع اندازه ذرات زغال سنگ

توزیع اندازه ذرات زغال سنگ مورد مطالعه در شکل (۲) آورده شده است. اندازه ذرات میکرونی برای استخراج مواد هیومیکی از زغال سنگ راندمان بالاتری نسبت به ذرات میلی متری و بزرگتر دارند (Asing *et al.*, 2009). توزیع اندازه ذرات در زغال سنگ در محدوده ۵ تا ۱۰۰ میکرون بدست آمد. $d(0.5)$ برای زغال-سنگ که معرف توزیع ۵۰ درصدی اندازه ذرات در زغال سنگ است، برابر $30/51$ بدست آمد (شکل ۲).



شکل ۲- توزیع اندازه ذرات زغال سنگ مورد مطالعه

مطابق گزارش‌های آمده در مقالات مختلف، اندازه ذرات ۷۱۰ میکرون برای زغال سنگ عملکرد بالاتری در استخراج هیومیک اسید نسبت به اندازه ذرات دو میلی متر در پی داشته-اند (Sim *et al.*, 2006). همچنین اندازه ذرات کمتر از ۸۰ میکرون برای زغال سنگ‌های لیگنیت ترکیه (Tarhan *et al.*, 2015) و اندازه ذرات ۱۰۰ میکرون از زغال سنگ‌های مالزی برای استخراج هیومیک اسید از زغال سنگ پیشنهاد شده‌اند (Asing *et al.*, 2009). نظر به اینکه در فرآیند استخراج ترکیبات هیومیکی از زغال سنگ، ذرات جامد بسیار ریزی حاصل می‌گردد می‌توان این ذرات ریز جامد را با تجهیزات جداسازی جامد از مایع مانند سانتریفیوژ و یا جداسازی غشایی، تفکیک نمود.

عناصر اصلی زغال سنگ و هیومیک اسید

نتایج حاصل از آنالیز عناصر و ترکیبات اصلی و همچنین نسبت-های اتمی برای زغال سنگ و هیومیک اسید استخراج شده از آن و هیومیک اسید استاندارد در جدول (۱) نشان داده شده است. بخش عمده‌ای از ترکیبات اصلی زغال سنگ و هیومیک اسید تولید شده را اکسیژن و کربن تشکیل می‌دهند. با توجه به جدول، زغال سنگ اولیه حاوی تقریباً $53/5$ درصد کربن و مقادیر ۵، ۲ و $0/45$ درصد به ترتیب هیدروژن و نیتروژن و گوگرد کل می‌باشد. نتایج برای هیومیک اسید حاوی تقریباً ۵۹ درصد کربن، ۳ و ۱ درصد به ترتیب برای هیدروژن و نیتروژن بدست آمد.

به‌عنوان Beam Splitter برای رقیق‌سازی استفاده گردید. برای تشخیص گروه‌های عاملی تشکیل دهنده هیومیک اسید از دستگاه FT-IR مدل TENSOR 27-Brucker از شرکت Brucker ساخت کشور آلمان استفاده شد.

آنالیز عنصری ICP-OES

طیف‌سنجی نشری اپتیکال پلاسمای جفت‌شده القایی^۱ (ICP-OES) از جمله روش‌های طیف‌سنجی هستند که اتم‌سازی در آن به کمک پلاسمای تولیدشده توسط یک گاز بی‌اثر که عمدتاً آرگون (Ar) است، صورت می‌پذیرد. از این روش برای آنالیز عنصری بیشتر عناصر بجز آرگون (گاز بی‌اثر) استفاده می‌شود. البته به جهت کم‌بودن تداخل‌های طیفی برای نمونه‌های حاوی فلزات واسطه، بیشترین کاربرد این روش در تعیین مقادیر عناصر فلزی و به‌ویژه فلزات سنگین و عناصر غیرآلی است. در این آنالیز از دستگاه ICP-OES مدل varian 735 ساخت کشور آمریکا استفاده شد.

طیف‌سنجی UV-Vis spectroscopy

آنالیز طیف‌سنجی نور مرئی-فرابنفش^۲ از هیومیک اسید توسط دستگاه Shimadzu سری UV-2600 با سرعت اسکن متوسط ۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر انجام شد. برای اندازه‌گیری جذب، هیومیک اسید در $0/1$ نرمال سدیم هیدروکسید حل شده و جذب (Abs) اندازه‌گیری شد. جذب‌ها در طول موج‌های ۲۵۰، ۳۶۵، ۴۰۰، ۴۶۵ و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند و شاخص‌های جذب E_4/E_6 (Abs_{465}/Abs_{665})، E_2/E_3 (Abs_{250}/Abs_{365}) و ضریب $\Delta \log K$ ($\log Abs_{400 \text{ nm}} - \log Abs_{600 \text{ nm}}$) محاسبه شدند (Das *et al.*, 2015; Xavier *et al.*, 2012; Giovanela *et al.*, 2010).

SEM از پودرهای هیومیک اسید و زغال سنگ

از تکنیک میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) برای خصوصیت‌سنجی ساختاری و مورفولوژی سطوح هیومیک اسید استفاده می‌شود. برای تعیین خصوصیات و مورفولوژی سطوح هیومیک اسید از میکروسکوپ الکترونی روبشی (SEM) مدل EM3200 ساخت شرکت KYKY از کشور چین با شتاب ولتاژی ۲۶ کیلوولت (KV) استفاده شد. نمونه‌ها قبل از عکس‌برداری به روش P.V.D یا ترسیب بخار فیزیکی، پلاننشانی شدند. پلاننشانی نمونه‌ها توسط دستگاه روکش‌دهنده‌ی سریع، ساخت شرکت KYKY، از کشور چین مدل SBC12 انجام شد.

1. Inductively Coupled Plasma - Optical Emission Spectrometry

2. Ultraviolet-visible spectroscopy

جدول ۱- نتایج آنالیز عناصر و ترکیبات اصلی زغال سنگ و هیومیک اسید استخراج شده از آن

نسبت‌های اتمی			عناصر اصلی تشکیل دهنده (%)					نمونه
H/C ^c	O/C ^b	C/N ^a	گوگرد کل	اکسیژن	نیتروژن	هیدروژن	کربن	
۱/۱۲	۰/۵۴۵۳	۳۱/۹۷	۰/۴۵۵۲	۳۸/۹۴۵۴	۱/۹۵۳۷	۵/۰۷۵۲	۵۳/۵۷۰۵	زغال سنگ
۰/۶۴۷۹	۰/۴۷۳۱	۶۲/۲۶	-	۳۷/۰۱۹۳	۱/۰۹۹۲	۳/۱۹۱۴	۵۸/۶۹۰۱	هیومیک اسید
۰/۷۲۷۱	۰/۵۱۴	۳۴/۸۹	-	۳۸/۵۰۳	۱/۸۷۸۰	۳/۴۲۸۹	۵۶/۱۹۰۱	هیومیک اسید استاندارد

$$^a\text{C/N} = [(\% \text{C} / 12.011) / (\% \text{N} / 14.0067)]$$

$$^b\text{O/C} = [(\% \text{O} / 16.0118) / (\% \text{C} / 12.011)]$$

$$^c\text{H/C} = [(\% \text{H} / 1.00794) / (\% \text{C} / 12.011)]$$

$$\% \text{O} = [(100 - (\text{C} \% + \text{H} \% + \text{N} \% + \text{S} \%))]$$

نسبت اتمی H/C به‌طور معکوس با درجه فشردگی و همچنین درجه آروماتیک و در نتیجه درجه هیومیک شدن مواد هیومیکی در رابطه است که مقادیر بالاتر نسبت H/C نشان دهنده‌ی یک کمیت بالاتری از ترکیبات آلیفاتیک است که ثابت می‌کند که مواد هیومیکی دارای درجه هیومیک شدن کمتری در ساختارشان هستند (Giovanela et al. 2010). مقدار بالای نسبت H/C در زغال سنگ نسبت به هیومیک اسید و نوع استاندارد در این مطالعه، نشان می‌دهد که زغال سنگ دارای درجه هیومیک شدن و آروماتیک کمتری است. همچنین در مقایسه نسبت H/C برای هیومیک اسید و نوع استاندارد به این نتیجه می‌رسیم که هیومیک اسید بدست آمده در این مطالعه دارای درجه هیومیک شدن و درجه آروماتیک بالاتری و ساختار آلیفاتیک کمتر نسبت به نوع استاندارد با توجه به کمتر بودن نسبت H/C در هیومیک اسید (۰/۶۴) برای هیومیک اسید و ۰/۷۲ برای هیومیک اسید استاندارد) است.

نسبت C/N، نشان‌دهنده منبع مواد هیومیکی است که هیومیک اسید از آن‌ها تولید شده است. نسبت‌های C/N پایین بین ۲ تا ۱۰ به منابع هیومیکی آبی و نسبت‌های C/N بالاتر از ۲۰ به منابع هیومیکی خاکی که حاوی لیگنین، سلولز و تانین‌ها هستند، مربوط می‌شوند (Giovanela et al. 2010). محققان همچنین نشان داده‌اند که هیومیک اسیدهای با نسبت H/C پایین و نسبت C/N بالا، درجه پایداری و فشردگی بالاتری از خود نشان می‌دهند که می‌توانند درجه هیومیک شدن مواد آلی در خاک‌هایی که هیومیک اسید از آن‌ها تولید شده‌اند، را توسعه و بهبود دهند (Barancikova et al. 1997).

مقادیر یکسان نسبت O/C برای هردو نوع هیومیک اسید در این مطالعه، نیز می‌تواند نشان‌دهنده‌ی مقادیر یکسانی از گروه‌های حاوی اکسیژن و تابعی از میزان اکسیژن در هیومیک اسید و هیومیک اسید استاندارد باشد (Tarhan et al. 2015). در نهایت، بنابر نتایج آنالیز عناصر اصلی و نسبت‌های اتمی، هیومیک اسید استخراج شده از زغال سنگ معادن زرند کرمان،

به‌طور کلی، زغال سنگ‌های با درصد کربن بالا و اکسیژن پایین حاوی مقادیر پایینی از هیومیک اسید هستند و بیشتر دارای ارزش حرارتی و مناسب سوخت می‌باشند. با افزایش رده و سن زغال سنگ‌ها، مقدار کربن افزایش می‌یابد در حالی که مقادیر هیدروژن، نیتروژن و اکسیژن کاهش می‌یابند (Asing et al. 2009). در مطالعه‌ای محققان گزارش دادند که انواع زغال-سنگ حاوی ۵۱ تا ۶۸ درصد کربن، ۴/۵ تا ۵/۳ درصد هیدروژن، ۱ تا ۱/۴ درصد نیتروژن، ۳۰ تا ۴۳ درصد اکسیژن، ۰/۲ تا ۰/۵ درصد گوگرد و ۲ تا ۱۳ درصد خاکستر هستند. آن‌ها همچنین گزارش دادند که میزان عناصر اصلی در هیومیک اسید حاوی ۵۰ تا ۶۰ درصد کربن، ۳/۸ تا ۵/۶ درصد هیدروژن، ۰/۹ تا ۳/۹ درصد نیتروژن، ۳۲ تا ۴۳ درصد اکسیژن و ۰/۲ تا ۰/۸ درصد سولفور و ۱/۷ تا ۱۳ درصد خاکستر است (Asing et al. 2009). هیومیک اسیدهای بدست‌آمده از زغال سنگ در مقایسه با هیومیک اسیدهای بدست آمده از خاک و کمپوست دارای مقادیر کربن بالاتر و نیتروژن و اکسیژن کمتری هستند.

با مقایسه هیومیک اسید بدست‌آمده در این مطالعه با هیومیک اسید استاندارد آلدريج^۱ متوجه خواهیم شد که درصد کربن هیومیک اسید تولیدشده در این مطالعه تفاوت چندانی با نمونه‌ی استاندارد ندارد. همچنین این روند را در میزان هیدروژن و نیتروژن را نیز می‌توان متوجه شد. با این حال می‌توان گفت که از نظر کیفی ممکن است مشخصات هیومیک اسید بدست‌آمده در این مطالعه با هیومیک اسید استاندارد مطابقت داشته باشد اما برای مقایسه بهتر کیفیت هیومیک اسید با نمونه‌ی استاندارد هیومیک اسید، نسبت‌های اتمی در جدول (۱) آورده شده‌اند. لازم به‌ذکر است که نسبت‌های اتمی، فاکتورهای کیفی (درجه فشردگی و هیومیفیکاسیون^۲) هیومیک اسید را نشان می‌دهند.

1. Aldrich Standard humic acid
2. Condensation and humification degree

سنگین کادمیوم، آرسنیک، سرب، روی، مس، نیکل، کرومیوم و آلومینیوم برای هیومیک اسیدهای استخراج شده از زغال سنگ بدست آمده است (Kurkova et al. 2004). نتایج آنالیز عنصری ICP-OES نشان داد (جدول ۳) که میزان عناصر سنگین در هیومیک اسید فرآوری شده از نمونه‌های هیومات به ترتیب برای کادمیم، مس، سرب، آرسنیک، کرومیوم، روی و نیکل مقادیر ۳/۸، ۷۴۰، ۱۶۰، ۱۵۸، ۳۲۰، ۹/۵ و ۵۰ برابر کاهش پیدا کرده است. مطابق قوانین استاندارد برای کودهای ارگانیک، حداقل غلظت برای کادمیوم (۳-۱)، مس (۱۴۰-۵۰)، نیکل (۷۵-۳۰)، سرب (۳۰۰-۵۰) و روی (۳۰۰-۱۵۰) ppm هستند (Olivella et al. 2011). غلظت فلزات سنگین شناسایی شده هم برای زغال سنگ و هم برای هیومیک اسید تولید شده از آن در این مطالعه، در سطوح پیشنهاد شده و مجاز هستند و از نقطه نظر سمیت برای سلامتی در محدوده ایمن قرار دارند (Olivella et al. 2011). میزان فلزات سنگین موجود در زغال سنگ و هیومیک اسید بدست آمده در این مطالعه، مقادیر بسیار کمتری نسبت به مطالعات (Ketris & Olivella et al. 2011; Yudovich, 2009; Xavier et al. 2012) داراست.

جدول ۳- غلظت فلزات سنگین در زغال سنگ و هیومیک اسید تولید شده از آن (ppm)

عنصر	As	Cd	Co	Cr	Cu	Ni	Pb	Zn
حد شناسایی دستگاه	۰/۵	۰/۱	۱	۱	۱	۱	۱	۱
زغال سنگ	۹/۵	۰/۱۹	< ۱	۱۶	۳۷	۱۵	۸	۲۱
هیومیک اسید تولید شده	۰/۰۶	< ۰/۰۵	< ۰/۰۵	< ۰/۰۵	< ۰/۰۵	< ۰/۳	< ۰/۰۵	۲/۲

با توجه به نتایج کیفی آنالیز ترکیبات اصلی CHNOS، نتایج کمی از عناصر ماکرو و میکرو ریز مغذی مانند Ca, Al, Fe, Na, Mg, Mn, P, S, Si و بقیه عناصر توسط آنالیز ICP-OES در جدول (۴) آورده شده‌اند. آنالیز ICP-OES غلظت کمی از عناصر فلزی را بر حسب ppm در نمونه‌های زغال سنگ و هیومیک اسید استخراج شده از آن نشان می‌دهد. همه‌ی عناصر بررسی شده غلظت پایینی را نشان می‌دهند. عنصر سدیم Na بالاترین غلظت را در بین عناصر (۹۹۵۰ ppm) با ۰/۹۹٪ داراست که علت آن نیز می‌تواند ناشی از استخراج قلیایی مواد هیومیکی از زغال سنگ با استفاده از سدیم هیدروکسید (NaOH) باشد. بعد از آن گوگرد (S)، آهن (Fe)، آلومینیوم (Al) و سیلیسیوم (Si) به ترتیب با غلظت‌های ۵۳۳، ۴۴۷، ۳۱۰ و ۱۵۵ ppm و با درصد‌های ۰/۵۳، ۰/۴۴، ۰/۳۱ و ۰/۱۵

دارای ساختار آروماتیک، پایدار و درجه هیومیکی شدن بالایی به‌مانند هیومیک اسید استاندارد می‌باشد که می‌تواند برای کاربردهای کشاورزی، تجاری و صنعتی مورد استفاده قرار بگیرد.

نتایج درجه اکسیداسیون داخلی و آروماتیسیته هیومیک اسید

درجه آروماتیسیته (f_a)، نمونه‌های هیومیک اسید در این مطالعه با افزایش نسبت C/H، افزایش می‌یابد (جدول ۲). درجه آروماتیسیته هیومیک اسید استخراج شده از زغال سنگ در این مطالعه، از هیومیک اسید استاندارد بالاتر (۰/۲۵۳) برای هیومیک اسید و ۰/۲۴۷ برای هیومیک اسید استاندارد) بدست آمد که گواه ساختار آروماتیک غنی تری در هیومیک اسید است (Das et al. 2015). مقادیر درجه اکسیداسیون داخلی (ω) محاسبه شده در جدول (۲)، منشأ و منبع اولیه و خصوصیت هیومیک اسید را توصیف می‌کنند. مقادیر بالاتر نسبت C/H، درجه‌ی اکسیداسیون داخلی کمتری را دارند. یک درجه‌ی اکسیداسیون داخلی با مقادیر مثبت، شرایط هوازی^۱ از هیومیک اسید را بیان می‌کنند (Das et al. 2015)، درحالی‌که مقادیر منفی، شرایط بی‌هوازی^۲ را برای هیومیک اسید در طی تجزیه دیاژنتیک^۳ بوجود می‌آورند (Cieslewicz et al. 2008). با توجه به مقادیر بدست آمده از درجه اکسیداسیون داخلی، می‌توان گفت با درجه‌ی اکسیداسیون داخلی مثبت، شرایط هوازی برای هیومیک اسید استخراج شده از زغال سنگ در این مطالعه وجود دارد.

جدول ۲- درجه اکسیداسیون داخلی (ω) و آروماتیسیته (f_a) هیومیک اسید

نمونه	C/H ^a	ω	f_a
زغال سنگ	۰/۸۸	۱/۴۶۸	۰/۲۲۹
هیومیک اسید	۱/۵۴	۱/۲۶۳	۰/۲۵۳
هیومیک اسید استاندارد	۱/۳۷	۱/۴۰۹	۰/۲۴۷

بررسی نتایج آنالیز عناصر ICP-OES

فلزات سنگین شامل یک گروه از مواد خطرناک شیمیایی و سمی هستند که شامل سرب (Pb)، کرومیوم (Cr)، آرسنیک (As)، روی (Zn)، کادمیم (Cd)، مس (Cu)، جیوه (Hg) و نیکل (Ni) می‌باشند (Wuana & Okieimen. 2011). محققان در مطالعه‌ای گزارش دادند که مقادیر ۰/۲، ۴/۵، ۵/۷، ۴/۲، ۲۲/۲، ۱۷/۵ و ۲۶/۱ و ۷۴۹ بر حسب ppm به ترتیب برای فلزات

1. aerobic condition
2. anaerobic condition
3. diagenetic transformations

مقادیر بسیار معنی‌داری از کاتیون‌های فلزی در فرآیند خالص-سازی از هیومیک اسید حذف شوند و در نتیجه غلظت عناصر در محصول نهایی کاهش یابد. البته باید به این نکته اذعان داشت که غلظت کم عناصر فلزی شناسایی‌شده در هیومیک اسید می‌توانند با ساختار هیومیک اسید ترکیب شوند و در فرآیندهای کامپلکس هیومیک اسید با یون‌های فلزات سنگین، کمک کنند (Xavier et al. 2012; Pourret et al. 2007).

بالاترین غلظت را در بین عناصر دارا هستند که علت آن‌ها ممکن است به منشأ و منبع زغال‌سنگ برگردد (Xavier et al. 2012). بقیه عناصر سهم بسیار ناچیزی کمتر از ۰/۰۲٪ را دارا هستند. غلظت پایین عناصر مشاهده شده توسط آنالیز ICP-OES، اثرات فرآیندهای پالایش و خالص‌سازی هیومیک اسید را معلوم می‌کنند (Xavier et al. 2012). به‌طور کلی فرآیندهای پالایش هیومیک اسید بعد از مرحله‌ی استخراج اسیدی هیومیک اسید با آبشویی انجام می‌شوند که باعث می‌شوند

جدول ۴- عناصر ماکرو و میکرومغذی بر حسب (ppm) شناسایی‌شده در هیومیک اسید توسط آنالیز ICP-OES

عناصر	Al	Ca	Fe	Na	Mg	Mn	P	K	S	Si
حد شناسایی دستگاه	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۵	۵	۵	۵۰	۱۰۰
زغال‌سنگ	۹۷۲۲	۵۷۳۰	۷۷۴۴	۲۱۲۰	۱۳۹۷	۳۹	۲۲۲	۳۲۵	۲۲۰۴	۶۰۱۰
هیومیک اسید خالص‌شده	۳۱۰/۲	۸/۸	۴۴۷	۹۹۵۰	۳/۸	۸/۱	۲۹/۱	۷۱/۶	۵۳۳	۱۵۵
عناصر	V	Sc	Sb	Th	Y	Yb	Li	Ce	La	Ag
حد شناسایی دستگاه	۱	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۵	۰/۲	۱	۱	۱	۰/۱
زغال‌سنگ	۱۲	۵/۵	۱/۱۶	۶/۲	۶	۰/۳	۵	۳	۴	۰/۲۲
هیومیک اسید خالص‌شده	۰/۰۵<	۰/۰۵<	۰/۰۵<	۰/۰۵<	۰/۰۵<	۰/۰۵<	۰/۰۵<	۰/۰۱<	۰/۰۵<	۰/۰۵<

پی^۲ ($\pi \rightarrow \pi^*$) گروه‌های آروماتیک است (Das et al. 2015; Campitelli et al. 2006; Xavier et al. 2012).

داده‌های مربوط به نسبت‌های E_2/E_3 و E_4/E_6 و ضریب $\Delta \log K$ برای هیومیک اسید در جدول (۵) آورده شده است. نسبت E_4/E_6 نسبت جذب در ۴۶۵ و در ۶۶۵ نانومتر است که شاخص هیومیفیکاسیون^۳ نامیده می‌شود. نسبت E_4/E_6 به‌طور معکوس با درجه هیومیک‌شدن، فشردگی ساختاری، وزن مولکولی، محتوای اکسیژن و ساختار آروماتیک شبکه‌های کربن در هیومیک اسید در رابطه است (Campitelli et al. 2006; Xavier et al. 2012). نسبت E_2/E_3 نیز، نسبت جذب در ۲۵۰ و ۳۶۵ نانومتر است و اغلب به‌عنوان شاخصی برای هیومیک‌شدن و وزن مولکولی مواد هیومیکی استفاده می‌شود (Enev et al. 2014). مقادیر پایین از نسبت E_2/E_3 از مواد هیومیکی استخراج‌شده از خاک‌های قهوه‌ای، کمپوست و زغال‌سنگ نشان‌دهنده‌ی حضور ساختارهایی با وزن مولکولی بالا، آروماتیسته و درجه‌ی هیومیک‌شدن می‌تواند باشند (Enev et al. 2014).

براساس گزارش و یافته‌های محققان، درجه‌ی فشردگی هیومیک اسید با کاهش مقدار $\Delta \log K$ ، افزایش می‌یابد (Kumada, 1987). درکنار این اطلاعات، ضریب $\Delta \log K$

بررسی آنالیز طیف‌سنجی UV-Vis

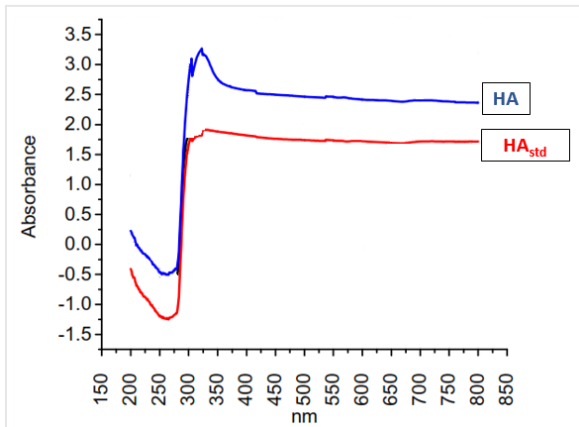
طیف‌سنجی UV-VIS از هیومیک اسید و هیومیک اسید استاندارد در شکل (۳) نمایش داده شده‌اند. با توجه به شکل، یک انتقال الکترونی^۱ در طول موج‌های بین ۲۵۰ تا ۳۵۰ نانومتر وجود آمده است که ناشی از هم‌پوشانی جذب‌ها از تعداد زیادی کروموفورهای موجود در هسته هیومیک اسید هستند. به‌طور کلی، کروموفورهای مسئول جذب در نواحی UV، آرن‌های فنولی، اسیدهای بنزوئیک، مشتقات آنیلین، پلی‌ن‌ها و هیدروکربن‌های آروماتیک پلی‌سیکلیک با دو یا چند حلقه‌ی بیشتر هستند (Giovanela et al. 2010). به‌عبارت دیگر، جذب در نواحی مرئی پیچیده‌تر است اگرچه بعضی از محققان پیشنهاد داده‌اند که آن می‌تواند به ساختارهای آلیفاتیک یا پلی‌آروماتیک، ساختارهای کوئینوئید و سیستم‌های keto-enol و همچنین حضور کامپلکس‌های فلزی و یا کامپلکس‌های donor-acceptor درون و یا برون مولکولی، شیفت و انتقال داده شوند (Giovanela et al. 2010).

باند‌های آشکارشده در طول موج‌های بین ۲۵۰ تا ۳۵۰ نانومتر همچنین مربوط به حضور ترکیبات نوع لیگنین (Cieslewicz et al. 2008) و ناشی از برانگیختگی الکترون‌های-

1. electronic transition

2. pi-electrons

3. Humification Index



شکل ۳- طیف‌سنجی UV-VIS هیومیک اسید تولیدشده (HA) و هیومیک اسید استاندارد (HA_{std})

همچنین برای دسته‌بندی و طبقه‌بندی هیومیک اسید نیز استفاده می‌شود (Enev et al. 2014). به‌طور کلی هیومیک اسید، می‌تواند در چهار کلاس مختلف طبقه‌بندی شوند: A، B، R_p و P. به‌طور ویژه، اکثر نمونه‌های هیومیک اسید، یک انحراف و انحنا ضعیف و کوچک در طول موج بین ۲۷۰ تا ۲۸۰ نانومتر و مقادیر $\Delta \log K$ از ۰/۶ تا ۰/۸ دارند. نوع A نمونه‌های هیومیک اسید باند جذبی مشخص و معینی ندارند و مقدار $\Delta \log K$ کمتر از ۰/۶ دارند. هیومیک اسید نوع B مقدار $\Delta \log K$ بین ۰/۶ تا ۰/۸ و هیومیک اسید نوع R_p مقدار $\Delta \log K$ بین ۰/۸ تا ۱/۱ دارند. سرانجام، هیومیک اسید با جذب مشخص در نواحی مرئی ۶۱۵، ۵۷۰ و ۴۵۰ نانومتر به عنوان هیومیک اسید نوع P در نظر گرفته می‌شوند.

جدول ۵- داده‌های شاخص‌های طیف‌سنجی UV-VIS برای هیومیک اسید تولیدشده در این پژوهش و مقایسه آن با نمونه‌های مختلف هیومیک اسید

نوع هیومیک اسید	$\Delta \log K$	E_4/E_6	E_2/E_3	منبع	نمونه
نوع A	۰/۰۲۷۲	۱/۰۴۴	۲/۰۴	پژوهش حاضر	هیومیک اسید
نوع A	۰/۰۲۴۳	۱/۰۳۹	۲/۱۸	پژوهش حاضر	هیومیک اسید استاندارد آلدريج
نوع B	۰/۷۷	۷/۸	-	(Giovanela et al. 2010)	هیومیک اسید از رسوبات دریاچه
نوع A	۰/۴۲	۳/۲	-	(Xavier et al. 2012)	هیومیک اسید از زغال سنگ برزیل
نوع R _p	۰/۸۵	۶/۴۶	۲/۳۳	(Enev et al. 2014)	هیومیک اسید از کمپوست
نوع R _p	۰/۹۴	۶/۷۵	۲/۸	(Enev et al. 2014)	هیومیک اسید از خاک قهوه‌ای

درجه اشباع بالا^۱ از نمونه‌های هیومیک اسید می‌تواند در محدوده‌ی جذبی ۲۸۵۰ تا ۲۹۴۰ cm^{-1} مشاهده شود. در هر دو نمونه هیومیک اسید و هیومیک اسید استاندارد دو باند در این نواحی ظاهر شده است (در نواحی ۲۹۲۸ و ۲۸۴۹ cm^{-1} برای هیومیک اسید و در ۲۹۲۶ cm^{-1} برای هیومیک اسید استاندارد). این باندها به کششی متقارن و غیر متقارن از C-H متیل و متیلن از هیدروکربن‌های سیکلی غیر کششی و آلیفاتیک نسبت داده می‌شود (Giovanela et al. 2010). این نواحی درجه اشباع نمونه را نشان می‌دهند که یک درصد پایین از کربن‌های آلیفاتیک را در هیومیک اسید ثابت می‌کند (Xavier et al. 2012).

باند شارپ و نوک‌تیز در ۱۷۱۱ cm^{-1} مربوط به ارتعاش-های کششی به‌دلیل حضور گروه‌های کربوسیلیک است (Xavier et al. 2012).

پیک‌های قوی در نزدیک ۱۶۰۰ cm^{-1} از نمونه‌ها، ناشی از COO- کششی غیرمتقارن آروماتیک و کششی C=C از حلقه‌های آروماتیک است (Saikia et al. 2007a) که برای

بررسی آنالیز طیف‌سنجی FT-IR

برای تعیین گروه‌های عاملی نمونه‌های هیومیک اسید، از آنالیز FT-IR استفاده شد و نتایج با گروه‌های عاملی هیومیک اسید استاندارد مقایسه شدند. نتیجه این آنالیز به صورت طیف نمایش داده شده در شکل (۴) می‌باشند. چند منطقه طیفی، کیفیت هیومیک اسید استخراج شده و هیومیک اسید استاندارد و گروه‌های عاملی آن‌ها را نمایش می‌دهند.

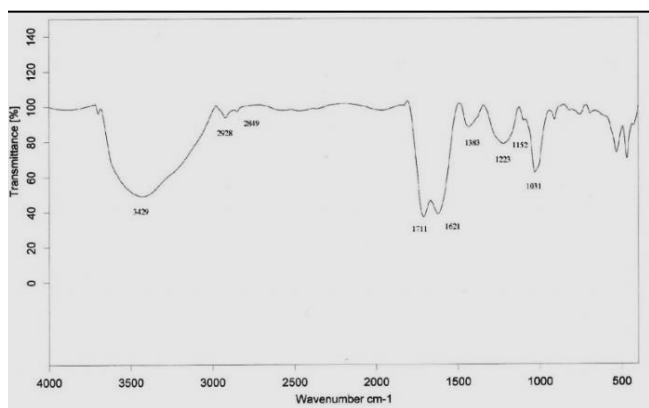
باند در اطراف نواحی ۳۰۰۰ تا ۳۴۰۰ cm^{-1} پهن‌ترین باند در تمام نمونه‌های هیومیک اسید است. این باندها در هیومیک اسید به گروه‌های O-H کششی الکی و یا فنولی و کششی N-H از گروه‌های آمین‌ها و یا آمیدها نسبت داده می‌شوند (Giovanela et al. 2010). پیک‌های پهن‌تر از ارتعاش کششی O-H ممکن است با نسبت‌های بالای O/C و H/C در رابطه باشند (Georgakopolos et al. 2003). غیاب باندهای هیدروژنی آروماتیک در نزدیک ۳۰۴۰ cm^{-1} در هر دو نمونه هیومیک اسید و نوع استاندارد، ساختار جایگزین شده و فشرده شده بالایی را نشان می‌دهند (Das et al. 2015).

1. high degree of saturation

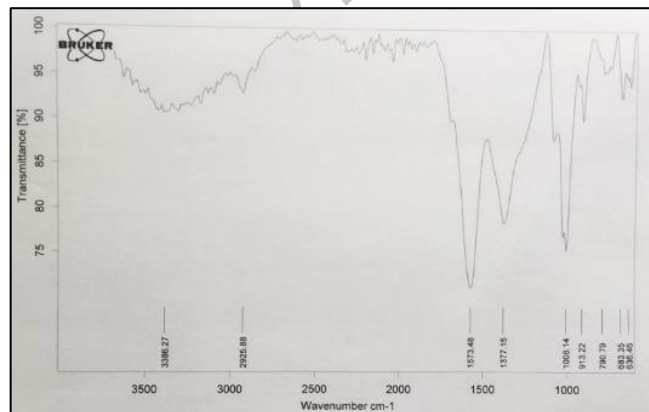
(2013). این باندها ناخالصی‌های سیلیکات را نشان می‌دهند (Xavier *et al.* 2012).

به‌طور کلی باندهای شناسایی‌شده در طیف‌های FT-IR نشان داد که هیومیک اسید استخراج شده از زغال‌سنگ‌های ایران در ساختارهای آروماتیک مطابق نتایج طیف‌سنجی UV-VIS غنی هستند.

با مقایسه طیف FT-IR هیومیک اسید این مطالعه با هیومیک اسید استاندارد آلدیچ نیز می‌توان گفت که گروه‌های عاملی کربوکسیل، هیدروکسیل و فنولی در هردو نمونه در پیک‌های تقریباً یکسان بدست آمده است که از نظر طیفی هم نیز متوجه خواهیم شد که هیومیک بدست‌آمده از زغال‌سنگ در این مطالعه نیز شباهت بسیار زیادی به‌مانند نتایج بدست‌آمده از آنالیزهای طیفی UV-VIS و CHNOS با نمونه‌ی استاندارد آلدیچ دارد. نتایج بدست‌آمده از آنالیز FT-IR برای هیومیک اسید در این مطالعه با نتایج (Das *et al.* 2015; Tarhan *et al.* 2010; Xavier *et al.* 2012; Giovanela *et al.* 2010) مطابقت دارند.



(الف)



(ب)

شکل ۴- طیف‌سنجی FT-IR هیومیک اسید (شکل الف) و هیومیک اسید استاندارد (شکل ب).

هیومیک اسید در 1621 cm^{-1} (کششی C=C از حلقه‌های آروماتیک) و برای هیومیک اسید استاندارد در 1573 cm^{-1} (COO- کششی غیرممتقارن آروماتیک) ظاهر شده است (Das *et al.* 2015). برای اجزا و ترکیبات تکی، کششی کربن-کربن معمولاً در 1650 cm^{-1} ظاهر می‌شوند، اما برای هیومیک اسید در مطالعه ما، نزدیک به 1621 cm^{-1} و برای هیومیک اسید استاندارد نزدیک به 1573 cm^{-1} توسط جابه‌جایی^۱ شیفت داده شده‌اند (Giovanela *et al.* 2010). به‌طور کلی، در مواد هیومیکی از همه انواع آن‌ها انتظار می‌رود که ارتعاش داشته باشند و سیگنال‌های فرکانسی برگشتی ممکن است که در این نواحی باهم همپوشانی داشته باشند و به سمت راست یا چپ شیفت کنند که می‌تواند تأثیر نسبی در هر گروه را در پی داشته باشد (Giovanela *et al.* 2010).

باندهای شناسایی‌شده در محدوده‌ی 1350 تا 1384 cm^{-1} مربوط به گروه‌های tert-butyl - C(CH₃)₃ یا خمشی متقارن -CH₃ و -CH₂ در یک ساختار سیکلی هستند (Saikia *et al.* 2007b) که برای هیومیک اسید در 1383 cm^{-1} و برای هیومیک اسید نوع استاندارد در 1377 cm^{-1} مشاهده می‌شود. در این نواحی، شدت پیک‌ها از هیومیک اسید نسبت به هیومیک اسید استاندارد تقریباً باهم برابر و در حدود ۸۰ درصد است.

باند در 1000 تا 1200 cm^{-1} ممکن است مربوط به C-O- C اتر آروماتیک و کششی C-O از پلی‌ساکاریدها باشند (Das *et al.* 2015) که باندهای شناسایی‌شده برای هیومیک اسید در 1031 ، 1152 و 1223 cm^{-1} مربوط به C-O-C اتر آروماتیک و برای هیومیک اسید استاندارد در 913 و 1008 cm^{-1} مربوط به کششی C-O از پلی‌ساکاریدها مشاهده شده‌اند.

باند جذب‌شده در نواحی 750 تا 880 cm^{-1} مربوط به C-H آروماتیک خارج از صفحه‌ی دفرم‌شده از ساختار آروماتیک با حلقه‌های بنزنی تکی جابه‌جا شده، حلقه‌های بنزنی دوتایی جابه‌جا شده و سیستم‌های حلقه‌ای کاندنس‌شده^۲ هستند (Saikia *et al.* 2007a, 2007b; Xavier *et al.* 2012). در این مطالعه برای هیومیک اسید، باندی در این نواحی شناسایی نشده ولی برای هیومیک اسید استاندارد در باند 790 cm^{-1} شناسایی شده است. و سرانجام، باندهای کوچک در نواحی بین 400 تا 700 cm^{-1} ارتعاش Si-O را نشان می‌دهند (Saikia *et al.* 2007a).

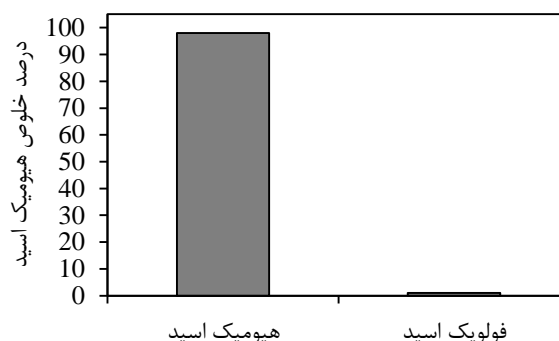
1. conjugation
2. condensed ring systems

جدول ۶- داده‌های طیف‌سنجی FT-IR هیومیک اسید و مقایسه آن با هیومیک اسید استاندارد

هیومیک اسید استاندارد (cm^{-1})	هیومیک اسید (cm^{-1})	گروه‌های عاملی شناسایی شده
۳۳۸۶	۳۴۲۹	* کششی O-H از الکل‌ها و فنول‌ها و همچنین کششی N-H از آمین‌ها و آمیدها
۲۹۲۶	۲۸۴۹، ۲۹۲۸	* کششی متقارن و غیر متقارن از C-H از متیل و متیلن از هیدروکربن‌های غیر کششی و الیفاتیک
-	۱۷۱۱	* کششی C=O به دلیل ارتعاش گروه‌های کربوکسیلیک COOH
۱۵۷۳	۱۶۲۱	* COO- کششی غیرمتقارن آروماتیک و کششی C=C از حلقه‌های آروماتیک
۱۳۷۷	۱۳۸۳	* ترت-بوتیل (tert-butyl) از گروه‌های $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ یا CH_3 - فشاری غیر متقارن و CH_2 - در ساختار سیکلی
۹۱۳-۱۰۰۸	-۱۰۳۱-۱۲۲۳	* کششی C-O-C از اثر آروماتیک و کششی C-O از پلی ساکارید و خمشی OH از تغییر شکل گروه‌های کربوکسیل
۷۹۰	-	* C-H آروماتیک
۶۳۰-۶۹۰	۴۰۰-۶۰۰	* کششی Si-O به دلیل حضور ناخالصی‌های سیلیکات

بررسی خلوص هیومیک اسید

به منظور بررسی خلوص هیومیک اسید به دست آمده در انتهای آزمایش‌ها، محصولات تولید شده، در بخش تحقیقات خاک و آب مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان تهران مورد آزمون گراویمتری قرار گرفتند. نمودار شکل (۵) میزان هیومیک و فولویک اسید استخراج شده را نشان می‌دهد. همان‌طور که در این شکل مشاهده می‌شود، درصد خلوص هیومیک اسید تولید و پالایش شده از زغال‌سنگ در این پژوهش در حدود ۹۸٪ است که نشان‌دهنده اهمیت فرآیند پالایش در فرآوری هیومیک اسید از زغال‌سنگ است. لذا به دلیل خلوص بالای هیومیک اسید، از آن می‌توان در صنایع کشاورزی، صنعتی، زیست‌محیطی، پزشکی و زیست‌دارویی بهره گرفت (Sun et al. 2015; Pena-). محققان روسی نیز در مطالعه‌ی خود بر روی استخراج هیومیک و فولویک اسید از یک معدن زغال‌سنگ در روسیه، بازده خلوص استخراج هیومیک و فولویک اسید را به ترتیب ۷۴/۶٪ و ۱/۷٪ گزارش دادند (Alekseeva, 2009).



شکل ۵- درصد خلوص هیومیک اسید استخراج شده از زغال‌سنگ

بررسی ریزنگاره‌های زغال‌سنگ و هیومیک اسید

مواد هیومیکی به‌طور گسترده‌ای توسط تکنیک SEM مورد آنالیز قرار گرفته‌اند و ریزساختارهای مشاهده شده در هیومیک اسید، اصولاً به pH و شرایط تهیه و تولید آن‌ها بستگی دارد و شامل ساختارهای ورقه‌ای، فیبرها و میله‌ای کوچک هستند که ساختاری شبکه‌ای و توده‌ای در کنار هم بوجود می‌آورند (Giovanela et al. 2010; Agarwal et al. 2010).

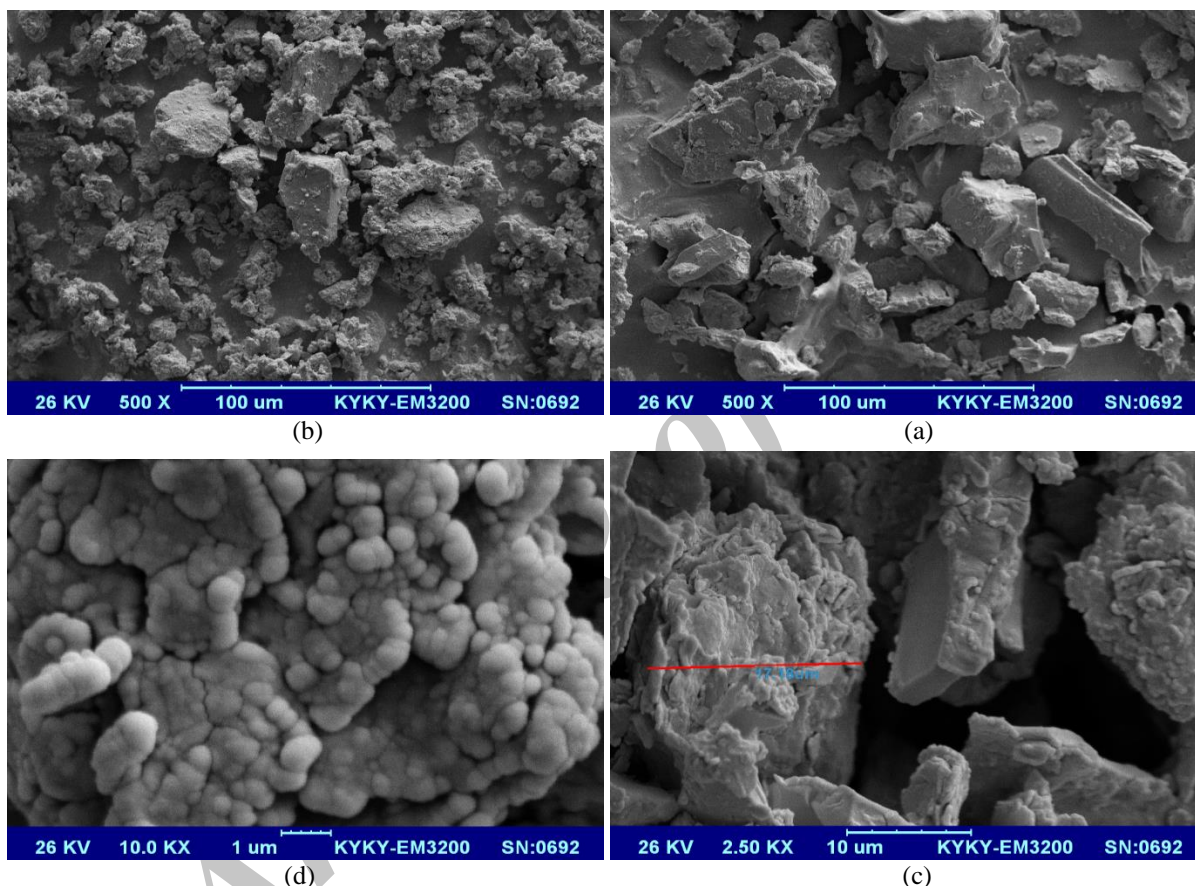
شکل (۶) ریزساختارهای زغال‌سنگ (شکل a) و هیومیک اسید استخراج شده از آن (شکل b) در بزرگنمایی ۵۰۰ برابر را نشان می‌دهند.

شکل و اندازه ذرات زغال‌سنگ به‌فرم منظم و خاصی نیستند. ذرات با اندازه‌های مختلف دیده می‌شوند که به‌طور میانگین اندازه ذرات زغال‌سنگ بین ۲۰ تا ۱۰۰ میکرون هستند. در طرف مقابل ذرات هیومیک اسید هستند که دارای یکنواختی بالاتری در اندازه و ابعاد مختلف و کوچکتر نسبت به زغال‌سنگ و در محدوده ۱ تا ۲۵ میکرون هستند (شکل b). در بزرگنمایی‌های بالاتر (۲۵۰۰ برابر) برای هیومیک اسید، سطوحی با ساختار نرم و بدون تخلخل^۱ و همچنین اسفنجی-مانند نرم^۲ مشاهده می‌شود (شکل c). همچنین در بزرگنمایی بالاتر (۱۰۰۰۰ برابر) بروی سطوح هیومیک اسید برای شناخت بهتر از ریزساختار و مورفولوژی آن، تجمع ذرات با ساختاری گرد-مانند^۳ و متخلخل ناهمگن^۴ با شعاعی در محدوده بین ۱۰ تا ۱۰۰ نانومتر دیده می‌شوند (شکل d). این مقادیر به‌طور

1. smooth and no pores
2. loose sponge-like
3. globular-like structure
4. heterogeneous porous

اسید استخراج شده از زغال سنگ را بوجود بیآورند. نیروهای چسبندگی مولکول‌ها در ذرات کوچک می‌توانند به تشکیل توده‌های بزرگتر (ذرات مشاهده شده در بزرگنمایی پایین) در طی فرآیند خشک کردن بعد از پالایش هیومیک اسید کمک کنند. البته این فرضیه نیاز دارد که مورد آزمون و بررسی قرار گیرد (Xavier et al. 2012; Das et al. 2015).

مستقیم از روی تصاویر در بزرگنمایی بالا بدست آمده‌اند. مکانیسم تجمع ذرات یادشده، در فرآیند تجمع مولکول‌های هیومیک اسید، می‌تواند ضعیف باشند مانند نیروهای واندر والز و لاندون و یا مانند نیروهای انتقال بار و پیوندهای هیدروژنی، قوی باشند. فشردگی ساختاری بالا و مولکول‌های با اندازه بزرگ (قبلاً توسط تکنیک‌های طیف‌سنجی نشان داده شده‌اند) می‌توانند نیروهای قوی را در بین مولکول‌های هیومیک



شکل ۹- ریزساختار زغال سنگ و هیومیک اسید فرآوری شده از آن: زغال سنگ (a)، هیومیک اسید (b)، هیومیک اسید در بزرگنمایی ۲۵۰۰ برابر (c) و هیومیک اسید در بزرگنمایی ۱۰۰۰۰ برابر (d).

نتیجه‌گیری

کشاورزی و دیگر صنایع با توجه به درصد خلوص بالای هیومیک اسید و غلظت پایین فلزات سنگین در ساختارش، است. نتایج آنالیز CHNOS نیز علاوه بر تأیید مناسب بودن زغال سنگ استفاده شده جهت استخراج هیومیک اسید، محصول هیومیک اسید تولیدی را منطبق بر نتایج هیومیک اسید استاندارد آلدریچ نشان می‌دهد. نهایتاً، با توجه به درصد خلوص بالا و پایین بودن غلظت فلزات سنگین در ساختار هیومیک اسید تولیدشده در این پژوهش و همچنین شبیه بودن آن به نمونه استاندارد هیومیک اسید، این امکان را می‌توان مورد سنجش قرار داد که بتوان از آنها در مصارف کشاورزی و صنعتی بهره‌برداری نمود.

بررسی خصوصیات و شاخص‌های جذب (نسبت‌های E_2/E_3 ، E_4/E_6 و ضریب $\Delta \log K$) از طیف‌سنجی UV-VIS و نتایج طیف‌سنجی‌های FT-IR و SEM حضور یک ساختار غالب آروماتیک و غنی از گروه‌های عاملی کربوکسیلی و فنولی با درجه هیومیفیکاسیون و فشردگی بالا و نوع A با ساختاری متخلخل و اسفنجی را برای هیومیک اسید استخراج شده از زغال سنگ‌های معادن ایران نشان دادند. همچنین با توجه به نتایج آنالیزی عنصری ICP-OES، هیومیک اسید استخراج شده از زغال سنگ ایران، از سلامت کافی برای استفاده آن در صنعت

REFERENCES

- Agarwal, S. P., Khalid Anvar, M. D., Khanna, R., Asgar, A., and Sultana, Y. (2010). Hhumic Acid from Shilajit-a physico-chemical and spectroscopic characterization. *J. Serb. Chem. Soc*, 75 (3): 413–422.
- Alekseeva, V. A. (2009). Humic substances of the Late Carboniferous palygorskitic paleosol from the southern Moscow region, Russia. *In Doklady Biological Sciences*, 425 (1):128-132.
- Asing, J., Wong, N.C., and Lau, S. (2009). Optimization of extraction method and characterization of Humic Acid derived from coals and composts, *J. Trop. Agriculture and Food. Science*, 37: 211–223.
- Barancikova, G., Senesi, N., Brunetti, G. (1997). Chemical and spectroscopic characterization of Humic Acids isolated from different Slovak soil. *Geoderma*, 78: 251–266.
- Baruah, B.P., Sharma, A. and Saikia, B.K. (2013). Petro-chemical Investigation of some Perhydrous Indian Coals. *Jour. Geol. Soc. India*, 81: 713-718.
- Campitelli, P. A., Velasco, M. I. and Ceppi, S. B. (2006). Chemical and physicochemical characteristics of Humic Acids extracted from compost, soil and amended soil. *Talanta*, 69: 1234-1239.
- Canellas, L. P., Oliveras, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P and Piccolo, A. (2015). Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196: 15–27.
- Chen, Y., Senesi, N., Schnitzer, M. (1977). Information provided on Humic Substances by E_4/E_6 ratios. *Soil Science Society of American Journal*, 41: 352–358.
- Cieslewicz, J., Gonet, S. S. and Marszelewski, W. (2008). Differences in the properties of bottom sediments in the system of Wdzydze lakes (Northern Poland). *Soil and Water Res*, 3 (1): 21-30.
- Conte, P., Agretto, A., Spaccini, R and Piccolo, A. (2005). Soil remediation: Humic Acids as natural surfactants in the washings of highly contaminated soils. *Environmental Pollution*, 135: 515–522.
- Das, T., Saikia, B. K. and Baruah, B. P. (2013). Feasibility studies for isolation of Humic Acid from coal of Mongchen Coalfield, Nagaland. *Jour. Indian Chem. Soc*, 90: 2007-2014.
- Das. T., Saikia, K. B., Bourah. B. P., Das, D. (2015). Characterizations of Humic Acid Isolated from Coals of Two Nagaland Coalfields of India in Relation to their Origin. *Journal geological society of India*, 86: 468-474.
- Debska, B., Maciejewska, A. and Kwiatkowska, J. (2002). The effect of fertilization with brown coal on Haplic Luvisol Humic Acids. *Rostl. Vyroba*, 48 (1): 33-39.
- Enev, V., Pospisilova, L., Klucakova, M., Liptaj, T., Duskocil, L. (2014). Spectral characterization of selected Humic Substances. *Soil & Water Res*, 9: 9–17.
- Francioso, O., Montecchio, D., Gioacchini, P. and Ciavatta, C. (2005). Thermal analysis (TG–DTA) and isotopic characterization (^{13}C – ^{15}N) of Humic Acids from different origins. *Appl. Geochem*, 20: 537–544.
- Georgakopolos, A., Iordanidis, A. and Kapina, V. (2003). Study of low rank Greek coals using FT-IR spectroscopy. *Energy Sour*, 25: 995-1005.
- Giovanella, M., Crespo, J. S., Antunes, M., Adamatti, D. S., Fernandes, A. N., Barison, A., DA Silva, C. W. P., Guegan, R., Motelica-Heino, M. and Sierra, M. M.D. (2010). Chemical and spectroscopic characterization of Humic Acids extracted from the bottom sediments of a Brazilian subtropical microbasin. *Jour. Mol. Struct*, 981: 111-119.
- Hu, G. X., Sun, Z. G., Gao, H. Y. (2010). Novel process of simultaneous removal of SO_2 and NO by sodium humate solution. *Environ. Sci. Technol.*, 44, 6712–6717.
- Ketris, M. P., Yudovich, Ya. E., (2009). Estimations of Clarkes for Carbonaceous biolithes: World averages for trace element contents in black shales and coals. *International Journal of Coal Geology*, 78: 135-148.
- Klocking, R. and Helbig, R. N. B. (2005). Medical aspects and applications of Humic Substances. Biopolymers for Medical and Pharmaceutical Application. Wiley-Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, pp 3–16.
- Kumada, K. (1987). Chemistry of Soil Organic Matter. Japan Scientific Societies Press, Tokyo.
- Kurkova, M., Klika, Z., Klikova, C. and Havel, J. (2004). Humic Acids from oxidized coals. I. Elemental composition, titration curves, heavy metals in Humic Acid samples, nuclear magnetic resonance spectra of Humic Acid and infrared spectroscopy. *Chemosphere*, 54 (8): 1237-1245.
- Lamar, R.T., Olk, D.C., mayhew, L and Bloom, P.R. (2014). A New Standardized Method for Quantification of Humic and Fulvic Acids in Humic Ores and Commercial Products. *Journal of AOAC International*, 94 (3): 1-10.
- Lawson, G.J., Stewart, D. (1989). Coal Humic Acids. In: Hayes B.H.M., MacCarthy P., Malcolm R.L., Swift R.S. (eds): Humic Substances II, Search of Structure. John Wiley & Sons Ltd., Chichester, 642–686.
- Matsui, Y., Kumada, K. and Shiraiishi, M. (1984). An X-ray diffraction study of Humic Acids. *Soil Sci. Plant Nutr*, 30: 13-24.
- Melo, B. A., Lopes Motta, F., Santana, M. H. A. (2015). Humic Acids: Structural properties and multiple functionalities for novel technological developments. *Materials Science and Engineering C*, (0): 59-94.
- Olivella, M. A., Sole, M., Gorchs, R., Lao, C., De Las Heras, F. X. C. (2011). *Geochemical.ir*

- Characterization of a Spanish Leonardite Coal. *Arch. Min. Sci.*, 56 (4): 789–804.
- Orlov D.S. (1985). Soils Chemistry. Moscow State University, Moscow.
- Pena-Mendez, E. M., Havel, J., Patocka, J. (2005). Humic Substances - compounds of still unknown structure: applications in agriculture industry, environment and biomedicine. *Journal of Applied Biomedicine*, 3: 13-24.
- Pospisilova, L and Fasurova, N. (2010). Characterization of Soil Humic Substances by Ultraviolet-Visible and Synchronous Fluorescence Spectroscopy. *J. central European agriculture*, 11 (3): 351-358.
- Pospisilova, L and Fasurova, N. (2011). Spectroscopic Characteristics of Humates Isolated from Different Soils. *Soil & Water Res*, 6 (3): 147–152.
- Pourret, O., Davranche, M., Gruau, G. and Dia, A. (2007). Rare earth elements complexation with Humic Acid. *Chem. Geol.*, 243: 128-141.
- Purmalis, O., Porsnovs, D. and Klavins, M. (2011). Differential thermal analysis of peat and peat Humic Acids. *Mat. Sci. Appl. Chem*, 24: 89-93.
- Rose, M. T.; Patti, A. F.; Little, K. R.; et al. (2014). Chapter two – A meta-analysis and review of plant-growth response to Humic Substances: practical implications for agriculture. *Adv. Agron*, 124: 37–89.
- Saikia, B. K., Sharma, A., Khound, K. and Baruah, B. P. (2013). Solid State ¹³C-NMR Spectroscopy of some Oligocene Coals of Assam and Nagaland. *Jour. Geol. Soc. India*, 82: 295-298.
- Saikia, B.K., Baruah, R.K. and Gogoi, P.K. (2007a). FT-IR and XRD analysis of coal from Makum coalfield of Assam. *Jour. Earth Syst. Sci.*, 116 (6): 575-579.
- Saikia, B.K., Sahu, O.P. and Boruah, R.K. (2007b). FT-IR spectroscopic investigation of high sulfur assam coals and their solvent-extracts. *Jour. Geol. Soc. India*, 70 (6): 917-922.
- Salati, S., Papa, G., Adani, F. (2011). Perspective on the use of Humic Acids from biomass as natural surfactants for industrial applications. *Biotechnology Advances*, 29: 913–922.
- Senesi, N., D’Orazio, V., Ricca, G. (2003). Humic Acids in the first generation of Euro soils. *Geoderma*, 116: 325–344.
- Sim, S.F., Lau, S., Wong, N.C., Janice, A., Faizal, M.N. M and Satirawaty, M.P. A. (2006). Characteristics of Humic Acids of Mukah coal in Sarawak. *J. Trop. Agric. and. Fd. Sc.* 34 (2): 333-342.
- Stevenson, F. J. (1994). Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions. Wiley-Interscience, New York.
- Sun, Z., Tang, B., Xie, H. (2015). Treatment of Waste Gases by Humic Acid. *Energy & Fuels*, 29 (3), pp 1269–1278.
- Tarhan, I. H., Ayyildiz, F., Topkafa, M., Arslan, F., Tas, A. S. T., Sherazi, H., Kara, H. (2015). Chemical and Spectroscopic Characterization of Humic Acid Isolated from Ilgin Lignite, Turkey. *International Journal of Scientific and Technological Research*, 1 (1): 176-183.
- Tong, Y., Chen, K., Yang, R. (2014). The application progress of Humic Acids in ecological environment. *Humic Acid (China)*, 1: 9–13.
- Wuana, R. A. and Okieimen, F. E. (2011). Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. *International Scholarly Research Network Ecology*, 40: 26-47.
- Xavier, D. M., Silva, A. S., Santos R. P., Mesko, M. F., Costa, S. N., Freire, V. N., Cavada, B. S. and Martins, J. L. (2012). Characterization of the coal Humic Acids from the candiota coalfield, Brazil. *Int. Jour. Agric. Sci.*, 4(5): 238-242.
- Zhang, X., Zhang, P., Wu, Z., Zhang, L., Zeng, G. and Zhou, C. (2013). Adsorption of methylene blue onto HA-coated Fe₃O₄ nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 435: 85-90.