# Dél-kelet alföldi termálvizekből kinyert humuszanyagok jellemzése

Doktori (Ph.D.) értekezés

Kovács Krisztina Éva

Témavezető:

**Dr. Tombácz Etelka** Egyetemi tanár, MTA doktora

Környezettudományi Doktori Iskola Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszék SZTE TTIK

> 2010. Szeged

# Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	4
2. Irodalmi áttekintés	7
2.1. Humuszanyagok	7
2.1.1. Elemi összetétel	11
2.1.2. Funkciós csoportok	13
2.1.3. Egyéb alkotók	20
2.1.4. Molekulatömeg, összetétel	25
2.2. Felszín alatti víz, termálvíz	32
2.2.1. Termálfürdők, geotermikus energia	36
2.2.2. Humuszanyagok a felszín alatti vizekben	38
3. Kísérleti anyagok és módszerek	44
3.1. Anyagok	44
3.1.1. Vízmintavétel	44
3.1.2. Huminsav és fulvósav kinyerés	46
3.1.3. Referencia minta	48
3.2. Módszerek	48
3.2.1. Szervetlen és szerves analitikai vízvizsgálatok	48
3.2.2. UV-látható spektroszkópia	49
3.2.3. Elemanalízis	49
3.2.4. Potenciometriás sav-bázis titrálás	50
3.2.5. Szénhidrát és aminosav elemzés	52
3.2.6. FTIR spektroszkópia	53
3.2.7. Fluoreszcencia spektroszkópia	53
3.2.8. 1H-NMR spektroszkópia	54
3.2.9. ESI-FT-ICR tömegspektrometria	54
3.2.10. Szilárd fázisú extrakció	55
4. Kísérleti eredmények és értékelésük	56
4.1. Vízminták jellemzése	56
4.1.1. Fizikai jellemzők és szervetlen anyag tartalom	56
4.1.2. Szervesanyag-tartalom	58
4.2. Huminsav és fulvósav kinyerése	61
4.2.1. Különbségek a huminsav megjelenésében a termálvíz mélységétől függően	61
4.2.2. Huminsav és fulvósav koncentráció és arányaik meghatározása	62
4.3. Huminsav és fulvósav jellemzése	63
4.3.1. Elemi összetétel	64
4.3.2. Funkciós csoportok mennyiségi és minőségi jellemzése	68
4.3.2.1. Potenciometriás sav-bázis titrálás	68
4.3.2.2. FT-IR spektroszkópia	72

4.3.2.3. 1H-NMR spektroszkópia	78
4.3.3. Szénhidrát és aminosav elemzés	
4.3.4. Fluoreszcencia spektroszkópia	
4.3.5. ESI-FT-ICR tömegspektrometria	
4.3.5.1. Huminsav és fulvósav frakciók vizsgálata	95
4.3.5.2. Vízminták vizsgálata	
5. Összefoglalás	107
6. Summary	112
Irodalomjegyzék	117
Irodalomjegyzék Függelék	117 132

## 1. Bevezetés

A humuszanyagok (HS, humic substances) elhalt növényi és állati szervezetek bomlási termékeiből fizikai, kémiai, valamint enzimatikus és mikrobiológiai átalakulás, azaz a humifikáció útján felépülő nagy molekulatömegű, főként savas karakterű szerves molekulák keveréke. A természetes szerves anyagoknak (NOM, natural organic matter) ez a csoportja valamennyi környezeti rendszerben (talaj, felszíni és felszín alatti víz, valamint szerves eredetű lerakódás, azaz tavi üledék, tőzeg és barnaszén) megtalálható oldott, precipitált vagy szervetlen alkotókhoz (talaj agyagásvány és vas-oxid részecskéi) kötött formában (Aiken et al., 1985). A humuszanyagok a kolloid mérettartományban léteznek (Jones & Bryan, 1998). Vizes oldataik egyaránt mutatják az asszociációs kolloidok és a polielektrolitok tulajdonságait, a körülmények viszonylag csekély változásával pedig a kolloid diszperziók jellegzetességeit (Tombácz & Regdon, 1994; Guetzloff & Rice, 1994; Tombácz & Rice, 1999; Tombácz, 1999; Tombácz, 2002a). Ezek a kémiailag változatos szerkezetű szerves molekulák számos előnyös hatással bírnak, például növelik a talaj termékenységét (Stevenson, 1994), sőt fémkomplexeiknek humán felhasználása is köztudott. Hátrányos tulajdonságuk azonban, hogy szerves és fémszennyezőkkel kölcsönhatva növelik ezen szennyezők oldhatóságát, ezáltal komoly környezeti problémákat okoznak (Tombácz, 2002b). A humuszanyagok egyes frakciói savban, illetve lúgban való oldódásuk alapján műveletileg meghatározottak. A fulvósav (FA) a teljes pH tartományban oldható, míg a huminsav (HA) savban kicsapódik, csak lúgos pH-n oldható.

A humuszanyagokhoz kapcsolódó kutatások több mint kétszáz éves története során elsősorban a talajból kinyert humusz frakciókat vizsgálták. A vízi eredetű humuszanyagok csupán néhány évtizede kerültek az érdeklődés középpontjába, miután Rook 1974-ben közölte, hogy az ivóvízben a klórozás hatására megjelenő trihalometánok lehetséges forrásanyagai a vízben természetesen jelenlévő humuszanyagok. A vízi humuszanyagok kinyerésénél nehézséget okoz, hogy koncentrációjuk a természetes vizekben igen alacsony a talaj vagy tőzeg humuszanyag tartalmához képest. Az utóbbi évtizedekben azonban jelentős előrelépések történtek a vízi humuszanyagok kinyerésének technológiai megvalósítása terén (*Thurman & Malcolm, 1981; Aiken, 1985*), ezáltal különböző álló- és folyóvizekből kinyert humusz frakciók vizsgálatára nyílt lehetőség. Néhány kivételtől eltekintve a felszín alatti vizekre vonatkozó hasonló kutatások csekélyebb lendülettel indultak el (*Thurman, 1985a; 1985b*). Ezt bizonyítja az a tény is, hogy az 1981-ben megalakult Nemzetközi Humuszanyag Társaság (IHSS, International Humic Substances

Society) által létrehozott sztenderd és referencia huminsav és fulvósav gyűjteményben a mai napig nem szerepel olyan humusz frakció, amelyet felszín alatti vízből nyertek ki (*International Humic Substances Society Homepage*).

A természetes vagy mesterséges úton (források, kutak) a felszínre kerülő felszín alatti vizeket hagyományosan ivóvízként és gyógyfürdők vizeként használják évszázadok óta. Magyar osztályozás szerint minden 30°C-nál magasabb kifolyó víz hőmérséklettel bíró felszín alatti vizet termálvíznek neveznek. A felszín alatti vizek gyakran jelentős szerves anyag tartalommal bírnak, melynek egy részét humusz frakciók alkothatják. Ez azért is figyelemre méltó, mivel a humuszanyagok bizonyítottan gyulladáscsökkentő és antivirális hatásúak (Klöcking & Helbig, 2005), a fürdővízként használt termálvizekben jelenlévő szerves anyagok terápiás hatását nemrég kezdték el vizsgálni (Szuetta & Varga, 2009). Természetes eredetű mérgező szerves komponenseket is mutattak ki termálvizekben (Kárpáti et al., 1999). A termálvíz hője kinyerhető, így helyi, tehát import független, megújuló energiaforrást biztosít, mely káros kibocsátásoktól mentes, valamint a napszakos és évszakos időjárási körülményektől teljes mértékben független (Mádlné et al., 2009). A termálvíz használat gyakorlati és jogi szabályozásának sarkallatos pontja a geotermális energia fenntarthatóságának biztosítása, illetve a hasznosítást követő elhelyezés megoldása. Csak energetikai célú felhasználást követően engedélyezett, illetve előírt a lehűlt termálvíz visszasajtolása a vízadó rétegbe. Azonban a visszasajtoló kutak szűrőin megfigyelhető sötétbarna kiválások a szűrők eltömítése miatt jelentősen megnövelik a kutak üzemben tartási költségeit. A kiválások eredete még nem tisztázott, de feltehetően a termálvíz nagyobb molekulájú szerves anyaga is hozzájárul ezekhez. Nyilvánvaló, hogy a termálvizek felhasználását döntően befolyásolhatja a jelenlévő humuszanyagok mennyisége és minősége.

Tanszékünk Vizes Kolloidok csoportjában a talajok ásványi és szerves anyagainak kolloid kölcsönhatásaival foglalkozó kutatások már több évtizede folynak, vízi humuszanyagokkal viszont korábban nem foglalkoztak. Diplomamunkásként nyírségi homoktalaj javítási kísérletből származó mintákat vizsgáltam reológiai módszerrel és tanulmányoztam a talajhoz kevert ásványi és/vagy szerves (bentonit, komposzt) talajjavító anyagok hatását. Már ekkor érdekelni kezdtek a humuszanyagok változatos környezeti előfordulásával kapcsolatos kutatások. Doktoranduszként lehetőségem nyílt egy korábban részletesen nem kutatott terület, a termálvizek humuszanyagainak vizsgálatára.

### Munkám során célom volt:

- Dél-kelet alföldi termálvizeket mintavételezni és tartósítani, továbbá rutin vízanalitikai vizsgálatokat (pH, lúgosság, TOC, UV-látható spektroszkópia) elvégezni és összehasonlítani korábbi eredményekkel.
- Műveletileg meghatározott humusz frakciókat, azaz humisavat és fulvósavat kinyerni délkelet alföldi termálvizekből.
- A kapott humusz frakciók tulajdonságait összehasonlítani a Nemzetközi Humuszanyag Társaság létrehozott sztenderd és referencia mintákat tartalmazó gyűjtemény egyes tagjainak jellemzőivel.
- A vízmintavételt követő savazás időpontjában eltérő mintaelőkészítés hatását tanulmányozni a kinyert humusz frakciók tulajdonságaira.
- A kinyert humuszanyagok átlagos összetételét elemanalízissel jellemezni.
- A huminsav és fulvósav minták funkciós csoport tartalmának sokféleségét jellemezni FTIR és <sup>1</sup>H-NMR spktroszkópiával és a főleg savas csoportok mennyiségét meghatározni potenciometriás sav-bázis titrálással.
- A humuszanyagok hidrolízisét követően a felszabadult aminosav és szénhidrát egységeket azonosítani, és meghatározni ezen komponensek humuszanyagok elemi összetételéhez való hozzájárulását.
- A huminsav és fulvósav minták híg vizes oldatainak fluoreszcenciáját vizsgálni.
- ESI-FT-ICR tömegspektrometriás módszer révén
  - humusz minták vizsgálatához reprodukálható mérési körülményeket kidolgozni,
  - az észlelt molekulatömegek alapján a minták felépítésében résztvevő alkotókat azonosítani,
  - van Krevelen diagramon történő ábrázolás és aromássági index szerinti csoportosítás alapján az összetételbeli különbségeket vizsgálni,
  - továbbá új adatfeldolgozási módot kidolgozni a kapott tömegspektrumok alapján meghatározott molekula összetételbeli változások összehasonlítására,
  - valamint dél-kelet alföldi termálvizek C18-SPE oszlopon megköthető szerves anyagait ESI-FT-ICR tömegspektrometriával tanulmányozni.

# 2. Irodalmi áttekintés

#### 2.1. Humuszanyagok

A humuszanyagok (HS) biogén eredetű, bomlással szemben igen ellenálló, jellegzetesen sárgás-barnás színű szerves anyagok, melyek valamennyi szárazföldi és vízi környezetben előfordulnak (*Aiken et al., 1985*). Feltehetően növényi (lignin, szénhidrátok, fehérjék, viaszok, stb.) és állati (zsírok, olajok, fehérjék, stb.) eredetű biopolimerek bomlásával létrejött kis molekulák oxidatív polikondenzációja révén képződnek. Kis molekulájú szerves anyagokból katalizátorként szerepet játszó ásványok felületén, illetve katalizátor nélkül oxigén jelenlétében, lúgos pH-n is keletkeznek humuszanyagokhoz hasonló vegyületek (*Giannakopoulos et al., 2009*). További elméletek a humuszanyagok képződésére és szén körforgásban betöltött szerepére vonatkozóan Vandenbroucke & Largeau cikkében olvashatók (*2007*).

Már eddig is több becslést tettek az egyes rezervoárok (talaj, édesvíz, tengervíz, üledék, atmoszféra, fosszilis energiahordozók), illetve folyóvizek által óceánokba szállított üledékek szén tartalmára vonatkozóan (Bolin, 1977; Woodwell et al., 1978; Perdue & Ritchie, 2003), amelynek számottevő része humuszanyag formájában van jelen. Bár nagyfokú bizonytalanság lehet ezekben a becslésekben, általában a 10<sup>14</sup> kg C nagyságrendű érték jellemzi az édesvíz (tó, folyó) és tengervíz, mint rezervoárok szén tartalmát. A humuszanyagok jelenléte a természetes vizekben nemcsak a bevezetőben említett vízfertőtlenítés során keletkező melléktermékek miatt fontos, hanem azért is, mivel felismerték, hogy a vizekben lévő fém kation specieszek képződését a humuszanyagokkal való kölcsönhatásuk nagymértékben befolyásolja (Beck et al., 1974; Reuter & Perdue, 1977; Doig & Liber, 2007). Ehhez kapcsolódóan pedig bizonyították, hogy a különféle specieszek biológiai felvétele eltérő, ezen alkotók jelenléte pedig hozzájárulhat egyes vízi élőlények akut mérgezéséhez (Sunda et al., 1978; Koukal et al., 2003; Sures & Zimmermann, 2007). Szerves szennyezőkkel (hidrofób peszticidek) és fémszennyezőkkel (nehézfémek, radioaktív izotópok) kölcsönhatva szolubilizáció, illetve komplexképződés révén növelik ezen szennyezők oldhatóságát, így hozzájárulnak a szennyeződés terjedéséhez (Tombácz, 2002b). Továbbá felismerték, hogy a humuszanyagok szerepe a természetes vizek mikrobiális táplálékláncában alapvető fontosságú, mivel a baktériumok egyrészt képesek hasznosítani ezeket a komponenseket (Hertkorn et al., 2002), másrészt olyan változásokat idézhetnek elő egyes mikroorganizmusok anyagcseréjében, amely

lehetővé teszi olyan tápanyagként szolgáló komponesek felhasználását, amelyeket korábban nem tudtak hasznosítani (*Visser, 1985*).

A humuszanyagok kinyerésére és frakcióik szétválasztására számos módszert használtak a korábbi évtizedekben. Egy rövid történeti áttekintés található a talaj szerves anyag tartalmára vonatkozóan Stevenson könyvének második fejezetében (*1994*). A vízi humuszanyagok kinyerése a XAD gyanták használatának elterjedésével vált lehetségessé (*Thurman et al., 1978; Aiken et al., 1979; Thurman & Malcolm, 1981; Aiken, 1985*). Különösen a XAD-8 gyanta bizonyult hatékonynak a vízi humuszanyagok kinyerése során, melynek anyaga makroretikuláris, nemionos, akril-észter polimer. Az eljárás lényege a humuszanyagok koncentrálása a megfelelő tölteten, majd a lúgos leoldást követően a frakciók szétválasztása és tisztítása. A kinyerés a vízminták savazásával kezdődik (pH=2), mely révén a humuszanyagok hidrofób jellegűvé válnak és képesek a gyantán megkötődni. Ez a koncentrálási lépés biztosítja, hogy a vízben – a talajhoz képest – eleve kisebb koncentrációban jelenlévő humuszanyagok is kinyerhetők legyenek. Így akár a kis oldott szerves szén tartalmú (DOC, dissolved organic carbon < 1 mg L<sup>-1</sup>) vizek is vizsgálhatók.

Meg kell említeni, hogy a természetes vizekben a humuszanyagok mellett egyéb szerves anyagok is megtalálhatók (cukrok, aminosavak, lipidek, ligninből bomlásából keletkező fenolszármazékok). Ezek együttesen alkotják a víz oldott szerves anyag tartalmát (DOM, dissolved organic matter), amely definíció szerint minden olyan szerves anyagot magában foglal, melyet 0,45 µm-es szűrő átenged (Perdue & Ritchie, 2003). Többféle módszer is ismert a DOM kinyerésére. A nano- és ultraszűrés, DEAE (dietilaminoetil) cellulózon való megkötés (Miles et al., 1983; Peuravuori et al., 2005) mellett a leggyakrabban alkalmazott módszer a fordított ozmózis elvén alapul (RO, reverse osmosis) (Serkiz & Perdue, 1990; Sun et al., 1995), amelyet a hatékonyság növelésének érdekében újabban elektrodialízissel kapcsolnak össze (Koprivnjak et al., 2009). Szilárd fázisú extrakció (SPE, solid phase extraction) alkalmazása különféle töltetekkel mint gyors és hatékony módszer egyre inkább elterjedőben van. Kifejezetten a C18 adszorbens (szilika vázhoz rögzített 18 szénatomos hosszúságú, azaz oktadecil szénhidrogén lánc) tűnik ígéretesnek, mely megfelelő körülmények között (pH=2) az oldott szerves anyag tartalom hidrofób részét köti meg (Dittmar et al., 2008; Sleighter et al., 2009). A kutatási cél meghatározza a vizsgálandó frakciót (DOM vagy HS) és így a kinyerési módszert, a kinyert frakciók összehasonlításánál pedig ezt figyelembe kell venni (Maurice et al., 2002).

A humuszanyagok a kinyerési eljárástól függően eltéréseket mutathatnak, ezek az anyagok valójában csak műveletileg, azaz a kinyerési folyamat alapján definiálhatók. Ezért volt szükséges a kinyerési folyamatok egységesítése, amelyet a Nemzetközi Humuszanyag Társaság a nyolcvanas években megtett. A vízi és szilárd fázisú (talaj, tőzeg, szén) mintákra vonatkozó leírások a társaság honlapján megtalálhatók (International Humic Substances Society Homepage), ezek ma már a kutatók által a legszélesebb körben elfogadott és alkalmazott eljárások. Az így kapott minták az egységes kinyerési módszer révén összehasonlíthatóak. A vízi humuszanyagok kinyerése esetén ez a XAD gyantán történő megkötést, majd a lúgos leoldást követő frakcionálást és tisztítást jelenti. A műveleti definíció alapján, az oldhatósági tulajdonságok figyelembevételével a humuszanyagok egyes frakciói meghatározhatók. A lúgos kezelés nem oldható maradéka a humin (ez a frakció csak szilárd fázisú mintákra jellemző, ezért a továbbiakban eltekintek a tárgyalásától), a savval kicsapható rész a huminsav (HA), a savas kezelés után oldatban maradt frakció pedig a fulvósav (FA) (Stevenson, 1994). Az időigényes kinyerési eljárás helyett a vízminta színének, abszorbanciájának, fluoreszcenciájának mérése alapján is becsülhető a vízminta humuszanyag tartalma és egyes jellemzői (Hongve & Åkesson, 1996; Chin et al., 1994; Senesi, 1990; McDonald et al., 2004), bár ekkor a huminsav és fulvósav komponensek tulajdonságai nem vizsgálhatók. Hautala et al. (2000) cikkében összefoglalást közöl az oldott szerves anyagok egyes jellemzőinek (DOC, TOC, humuszanyagok aromássága, molekulatömege, humifikációjának foka) mérésére használt különböző hullámhosszakról (254, 280, 330, 465, 665 nm stb.). A víz színéért felelős kromofórok olyan komponensek, melyek különböző fokú és típusú helyettesítésekkel bíró aromás csoportokat, beleértve a mono- és poliszubsztituált fenolokat és aromás savakat tartalmaznak (Korshin et al., 1997; Schwarzenbach et al., 2003). Ezek a kromofórok elsősorban az oldott szerves anyag humusz frakciójához kötődnek (Chin et al., 1994; Korshin et al., 1997). Dilling & Kaiser (2002) megállapította, hogy a 260 nm-en mért abszorbancia arányos az oldott szerves anyag tartalom hidrofób részének, azaz a humuszanyagoknak a mennyiségével. A XAD-8 gyantán megkötődött komponensek jelentik a DOM hidrofób frakcióját, azaz a humuszanyagokat (Leenheer, 1981).

A különböző módszerekkel, széles körben elvégzett vizsgálatok eredményei azt mutatják, hogy a humuszanyagok kémiai, molekulaszerkezeti szempontból igen összetettek (*Hayes et al., 1989*). Ez érthető, hiszen a humifikáció eltérő körülményei, valamint a szerves maradványok és a lehetséges reakciók sokfélesége következtében nem egy jól meghatározható, egységes anyagcsoport képződik. A humuszanyagok kémiai szerkezetének felderítésére (Hayes et al., 1989) alkalmazott roncsolásos technikákkal (pirolízis, hidrolízis, oxidáció, redukció, stb.) nyert molekulatöredékek ezreit kémiailag alapján felépített (Schulten Å 1995: 1997) azonosították, ezek Schnitzer, "humuszmolekula" egyikét mutatom be az 1. ábra bal oldalán. A molekula szimulációval felépített optimalizált térszerkezet egy valószínű konformációs állapotot mutat az 1. ábra jobb oldalán (Johnston & Tombácz, 2002).



1. ábra: Egy humuszmolekula valószínűsített szerkezete két- (Schulten & Schnitzer, 1995; 1997) illetve háromdimenziós ábrázolásban (Johnston & Tombácz, 2002).

Az ábra alapján megállapítható, hogy a humuszanyagok váza aromás gyűrűk halmazából áll, amelyhez alifás oldalláncok, valamint fehérje, peptid, aminosav és szénhidrát egységek kapcsolódnak. Továbbá a vázhoz és az oldalláncokhoz nagyszámú és változatos funkciós csoport kötődik. Főleg savas funkciós csoportok, a leggyakoribb karboxil és fenolos hidroxil csoport mellett alkoholos hidroxil és oxocsoport, illetve jóval csekélyebb mennyiségben bázikus karakterű amin és aminocsoport jelenléte a jellemző. A molekulák nagysága a váz méretétől, a hidrofilitás pedig elsősorban a funkciós csoportok és az oldalláncok mennyiségétől és minőségétől függ (*Tombácz, 2003*). A poláris, hidrofil részek a heteroatomok környezetéhez rendelhetők, míg a kondenzált aromás gyűrűk és az alifás részek hidrofób tulajdonságúak. Ez a modell visszatükrözi a humuszanyagok jellemzőit, azaz a felületaktív jelleget a poláris és apoláris térrészek elkülönülése révén, illetve a kationmegkötő képességet és a komlexképző tulajdonságot a funkciós csoportok jelenléte révén (*Schulten & Schnitzer, 1997; Tombácz, 2003*). Mivel a humuszanyagok nem egy egységes, jól meghatározott anyagcsoportot alkotnak, ezért az egyes tulajdonságaikat jellemző értékek (savas funkciós csoportok mennyisége, molekulatömeg, -méret) sem pontosan meghatározottak, hanem kisebb vagy nagyobb tartományon belül változnak. Különböző humuszanyagokat vizsgálva azonban jellegzetes eltérések figyelhetők meg egyrészt a két humusz frakció, a huminsav és fulvósav, másrészt a különböző eredetű, azaz talajból vagy természetes vízből, sőt a tengerből vagy édesvízből kinyert minták tulajdonságait tekintve is (*Senesi et al., 1989; Malcolm, 1990; Esteves et al., 2009*). A további négy szakaszban a humuszanyagok néhány jellemző tulajdonságát mutatom be.

#### 2.1.1. Elemi összetétel

Mivel a humuszanyagok biogén eredetűek, ezért főként szén, hidrogén és oxigén vesz részt a molekulák felépítésében, az egyéb elemek (nitrogén, kén, esetleg foszfor) mennyisége kisebb és eredettől függően változó. Több száz, különböző forrásanyagból (talaj, tőzeg, édesvíz, tengervíz) kinyert huminsav és fulvósav elemi összetételének statisztikai elemzése található meg Rice & MacCarthy gyakran hivatkozott cikkében (1991). Megállapították, hogy a huminsavak általánosságban nagyobb C és N, viszont kisebb O tartalommal bírnak, mint az ugyanolyan forrásanyagból kinyert fulvósavak. Továbbá megfigyelték, hogy ezen humusz frakciók elemi összetétele meglepően csekély szórást mutat, így feltételezhető, hogy a humuszanyagok kedvezményezett összetétel, illetve viszonylag szűk összetétel tartományon belül léteznek a természetben (Rice & MacCarthy, 1991). Az összetételbeli különbségek leírására továbbá a van Krevelen (1961) által kidolgozott és a mai napig gyakran használt van Krevelen diagram szolgálhat, mely a geokémiai tanulmányokban szén és olajminták vizsgálatára eddig is széles körben volt használatos. A diagramon a százalékos elemi összetételből számított H/C atomi arány mint ordináta és az O/C atomi arány mint abszcissza van feltüntetve. A fő biogeokémiai osztályok (lignin, zsírok, szénhidrátok, stb.) jellemző H/C és O/C atomi arányaik révén a diagram egy-egy kitüntetett részét foglalják el (2. ábra, bal). Railsback (2006), valamint Sleighter & Hatcher (2007) számos természetben előforduló szerves molekula atomi arányait közli. Az egyes komponensek diagramon elfoglalt helyzetükből azonosíthatók, sőt a komponensek diagenetikus története (oxidációs, kondenzációs stb. reakciók) is nyomon követhető, mivel minden olyan folyamat, amely a C, H, O atomok számának változásával jár együtt, megjeleníthető a diagramon (Visser, 1983). O/C és H/C atomi arányban bekövetkező változások által meghatározott irányok is fel vannak tüntetve a 2. ábra bal oldali diagramján. Rice & MacCarthy (1991) cikkében szereplő egyik diagramot átvettem,

melyet különböző eredetű huminsav (410) és fulvósav (214) minta elemanalízis eredményei alapján alkottak meg (**2. ábra, jobb**). A két humusz frakció diagramon elfoglalt helyzete elkülönül mind a H/C, mind az O/C atomi arány tekintetében. A H/C atomi arány egyébként az egyes molekulák alifás/aromás jellege közötti különbség leírására szolgáló értéknek is tekinthető (*Rice & MacCarthy, 1991*). Ezek alapján a fulvósavak egyrészt alifásabb, azaz kevésbé aromás jellegűek, másrészt oxigénben gazdagabbak, mivel H/C és O/C atomi arányaik is nagyobbak, mint a megfelelő huminsav frakciókra jellemző arányok.



2. ábra: Az egyes komponens osztályok helyzete és a fő reakció útvonalak (A: metiláció/demetiláció, vagy alkil lánc hosszabodás; B: dehidrogenáció-hidrogenáció; C: kondenzáció-hidratáció; D: oxidáció-redukció) a van Krevelen diagramon Sleighter & Hatcher (2007) cikke alapján (bal oldal); a pontok oldott szerves anyag (DOM) azonosított molekuláit jelölik. Különböző eredetű huminsav (410) és fulvósav (214) minták atomi arányai van Krevelen diagramon jelölve Rice & MacCarthy (2001) cikke alapján (jobb oldal).

Előretekintésként annyit érdemes megjegyezni, hogy az FT-ICR (Fourier transzform ion ciklotron rezonancia) tömegspektrometria manapság lehetőséget ad rendkívül összetett anyagok, mint például a humuszanyagok egyes molekuláinak tömegének (pontosabban tömeg/töltés arányának) ultra-nagy pontossággal való meghatározásához, az eredményül kapott molekulaképletből pedig H/C és O/C atomi arány számolható. Az arányok szintén ábrázolhatók a van Krevelen diagramon, így tehát az alkotó molekulák diagramon elfoglalt helyzete és az egyes reakció útvonalak is vizsgálhatóvá válnak (*Kim et al., 2003; Wu et al., 2004; Sleighter & Hatcher, 2007; Hertkorn et al., 2008*).

#### 2.1.2. Funkciós csoportok

A humuszanyagok funkciós csoportjainak mennyiségi és minőségi jellemzésére többféle módszer is ismert, mint például a titrálás, valamint az IR és NMR spektroszkópia. Ez azért is fontos, mivel a funkciós csoportok disszociációs állapota határozza meg a humuszanyagok oldatbeli viselkedését, kolloidkémiai tulajdonságait (*Tombácz, 2002a*).

A savas karakterű humuszanyagokban a savasságot elsősorban a karboxil és fenolos hidroxil csoportok jelenléte okozza (*Perdue et al., 1980; Bowles et al., 1989; Hayes et al., 1989; Schulten & Schnitzer 1995*). A huminsavak és fulvósavak sav-bázis tulajdonságainak ismerete alapvető fontosságú, mivel ezek az anyagok egyrészt hozzájárulnak a természetes vizek sav-bázis egyensúlyához, másrészt befolyásolják fém kationok komplexációját és transzportját (*Oliver et al., 1983; Wood, 1996*).

Savas funkciós csoportok mérése indirekt és direkt potenciometriás, valamint kalorimetriás titrálással lehetséges (*Stevenson, 1994; Perdue, 1978; Perdue, 1980; Perdue, 1985; Perdue & Ritchie, 2003*). Két gyakran alkalmazott indirekt titrálásos módszer a bárium-hidroxidos módszer a teljes savasság, valamint a kalcium-acetátos kicseréléses módszer a karboxil tartalom meghatározására. A fenolos hidroxil tartalom pedig a teljes savasság és a karboxil tartalom különbségeként adható meg (*Schnitzer & Khan, 1972*). Fontos azonban hangsúlyozni, hogy a választott módszertől függően a kapott értékek eltérnek, az egyes mintákra kapott eredmények összehasonlításánál figyelembe kell venni ezt a tényt. Ritchie & Perdue (*2003*) IHSS referencia és standrad minták direkt titrálással, valamint számos humusz minta irodalmi hivatkozásokból vett, indirekt és direkt módon mért savas csoportjainak mennyiségét közli.

Direkt potenciometriás titrálás során a titrálószert kis mennyiségekben adagolják, és folyamatosan mérik a pH-t. A disszociációval kialakuló töltések önkényesen megválaszott pH értékeken vett mennyiségei használhatók a karboxil és fenolos hidroxil tartalom meghatározására. A karboxil tartalmat a pH=8-on kialakuló töltésmennyiségként, míg a fenolos hidroxil tartalmat a pH 8 és 10 tartomány közötti töltésmennyiség változás kétszereseként lehet definiálni (*Bowles et al., 1989; Ritchie & Perdue, 2003*). Ezen pH alapú közelítés szerint a fenolos hidroxil csoportok fele disszociál pH=10-en, amit egyébként fenolos hidroxil csoporttal bíró egyszerű szerves molekulák disszociációjának vizsgálata is alátámaszott (*Perdue, 1985*). A disszociált savas csoportok teljes mennyiségét, illetve a karboxil és fenolos hidroxil csoportok mennyiségét mekv g<sup>-1</sup> vagy mmol g<sup>-1</sup> egységben, illetve mekv gC<sup>-1</sup> vagy mmol gC<sup>-1</sup> lehet megadni, ez utóbbi esetben a töltésmennyiség a vizsgált minta szén tartalmára van vonatkoztatva, amely elemanalízissel meghatározható (*Ritchie & Perdue, 2003*). A teljes aciditás értéke, azaz a disszociált funkciós csoportok mennyisége pH=10-en jellemzően kisebb a huminsavakban, azaz 5-6 mmol g<sup>-1</sup>, a fulvósavakra jellemző 10-12 mmol g<sup>-1</sup>-es értékhez képest. Perdue (*1985*) számos egy és többértékű karboxil, illetve fenolos vagy alkoholos hidroxil csoporttal bíró szerves sav disszociációját tanulmányozta. Megállapította, hogy a pK (-log<sub>10</sub> K) értékek közel normál eloszlást mutatnak, pK  $\approx$  4,5 és pK  $\approx$  10 átlag értékkel a karboxil és fenolos hidroxil csoportok esetén, továbbá jelentős átlapolódást figyelt meg az egyes funkciós csoportok pK értékei között. A humuszanyagokban számos, különféle kémiai környezetben lévő funkciós csoport található, amelyek pK értékei között olyan kicsi a különbség, hogy gyakorlatilag folytonos tartományt képeznek, ami lehetetlenné teszi az egyes csoportok elkülönítését. Így a titrálási görbéken az egyes disszociációs lépcsők átfedik egymást, nem különülnek el.

További fontos megfigyelés, hogy humusz frakciók lúggal, majd savval végzett direkt potenciometriás titrálása során a felfelé (lúgos pH), majd lefelé (savas pH) tartó titrálási görbe között hurok jelenik meg, a két ág nem reverzibilis. Néhány tanulmány foglalkozik a humuszanyagok titrálása során tapasztalt hiszterézissel (*Bowles et al., 1989; Santos et al., 1999; Ritchie & Perdue, 2008*). Az egyik legvalószínűbb elmélet szerint bázis katalizált észter és amid hidrolízis történik lúgos pH tartományban, amely tulajdonképpen új savas csoportok felszabadulását eredményezi, a savval végzett titrálás során azonban nem teljes egészében, csak részlegesen történik meg a fordított folyamat, az észterképződés (*Bowles et al., 1989; Sierra et al., 2004; Ritchie & Perdue, 2008*).

A töltés-pH görbék kiértékeléséhez az előzőekben már említett pH alapú közelítés mellett különböző modelleket is használnak, így nemcsak a disszociált savas funkciós csoportok mennyisége, hanem azok erősségét kifejező savi disszociációs állandók értéke (K<sub>a</sub>) is meghatározható. Az eddig ismert legtöbb modell a humuszanyagok protonkötésére egyszerűsített. A humuszanyagok reális összetettségét, hogy méret szerint különböző, változó számú és molekuláris környezetű különféle savas csoportokat tartalmazó molekulák keverékéből áll, valamint makroionos jellegét, hogy a szénvázhoz kapcsolt csoportok disszociációjával kialakuló töltések sokasága által létrehozott lokális elektrosztatikus tér hatással van az ionok megoszlására, csak közelíteni lehet (*Tombácz, 2003*). A humuszanyagok sav-bázis tulajdonságainak leírására használt legismertebb matematikai modelleket, a polielektrolit, a sok-hely és a folytonos megoszlási modellek

alkalmazhatóságát Perdue (1990) hasonlította össze. Direkt potenciometriás titrálással kapott töltéssűrűség-pH görbék pH alapú becslése és a módosított Henderson-Hasselbalch modell szerinti kiértékelése alapján meghatározott karboxil tartalom értékek jól megfelel egymásnak, a modell alapú meghatározás esetén mindig nagyobb a kapott eredmény. Ugyanakkor a fenolos hidroxil tartalom esetén a kétféle módon meghatározott érték jobban eltér egymástól, a pH alapú becslés pedig mindig nagyobb értéket ad (*Ritchie & Perdue, 2003*). A Model V és Model VI szerint karboxil és fenolos hidroxil tartalom aránya humuszanyagokban 2:1-hez, azaz 66%-ban karboxil és 33%-ban fenolos hidroxil csoportok okozzák a savasságot (*Tipping & Hurley, 1992; Tipping, 1998*). pH alapú becslés szerint ez az arány átlagosan 4:1-hez, azaz 80%-ban karboxil és csak 20%-ban fenolos hidroxil csoportok a felelősek a savas tulajdonságokért (fulvósavak esetén 5:1, huminsavak esetén 3:1-hez) (*Ritchie & Perdue, 2003*).

Ritchie & Perdue (2003) az IHSS referencia gyűjteményébe tartozó különböző eredetű humuszanyagok titrálással meghatározott töltéssűrűség értékeit (mmol gC<sup>-1</sup>) a pH függvényében vizsgálva megállapította, hogy ezek az értékek a teljes pH tartományon belül a következő sorrend szerint változnak: szárazföldi fulvósavak > vízi fulvósavak > vízi huminsavak > szárazföldi huminsavak. Ez azt jelenti, hogy a szárazföldi fulvósavak mindig nagyobb, míg a szárazföldi huminsavak kisebb töltéssűrűséggel bírnak bármely pH értéken, mint a vízi eredetű megfelelő humusz frakciók. Nemcsak a titrálással meghatározott teljes aciditás értékek, hanem az egyes funkciós csoportok mennyisége, illetve aránya is eltérő lehet a humusz frakció eredetétől függően. Döntően a karboxil csoportok okozzák a savasságot, a különböző eredetű humusz minták karboxil tartalma hasonlóan változik, mint a teljes aciditás értékek. A fenolos hidroxil tartalom hasonló a huminsavakban és fulvósavakban, bár a vízi eredetű humusz frakciók kissé nagyobb fenolos hidroxil tartalom bírnak, mint a szárazföldi eredetűek.

Az infravörös spektroszkópia alapvetően az oxigén tartalmú funkciós csoportok, valamint aromás és alifás szerkezetek, továbbá szénhidrát és fehérje eredetű alkotók jelenlétéről adhat információt, tehát minőségi elemzést biztosít. Mint egyéb spektroszkópiás módszer esetén a mért infravörös abszorbancia is arányos az egyes alkotók koncentrációjával a Beer-Lambert törvény szerint:

 $A = \mathcal{E}cl$ 

ahol A az abszorbancia, ε az abszorptivitás, c a koncentráció és l az optikai út hossza (MacCarthy & Rice, 1985; Davis et al., 1999). Azonban humuszanyagok infravörös spektroszkópiai vizsgálata néhány, széles abszorpciós sávból álló spektrumot eredményez, ellentétben határozott összetételű és szerkezetű molekulák spektrumaival, melyeket sok, keskeny, jól meghatározható abszorpciós csúcs alkot. Mivel adott funkciós csoport sokféle kémiai környezetben lehet jelen a humuszanyagban, így a funkciós csoportban lévő kötés erőállandója kissé megváltozik. Ennek eredményeként az egyedi alkotók abszorpciós sávjainak jelentős átlapolódása következik be, amely felelős a széles sávok megjelenéséért (MacCarthy & Rice, 1985). Az abszorpciós jel intenzitása nem arányosan fejezi ki az egyes funkciós csoportok gyakoriságát, mivel a különböző csoportok abszorpciós potenciálja eltérő (Lis et al, 2005). Ezek a tényezők megnehezítik a kapott spektrumok kiértékelését. Ezért általában humuszanyagok esetén csak minőségi vizsgálatokra használják a kapott IR spektrumokat, bár történtek már próbálkozások a mennyiségi összehasonlításokra is. Davis et al. (1999) belső sztenderd (KSCN, kálium-tiocianát) használatával olyan módszert dolgoztak ki, amely lehetővé teszi adott infravörös csúcsok intenzitásainak közvetlen összehasonlítását, és így az egyes abszorpciós sávokhoz rendelhető funkciós csoportok mennyiségi vizsgálatát. A mintaelőkészítés során a kevéssé elterjedt "cast film" technikát használták, azaz a mérendő mintából elkészített oldatot ZnSe lemezre helyezték, és az oldószer elpárolgása után a képződött réteget vizsgálták.

Humusz frakciók infravörös spektrumában megjelenő abszorpciós sávok Stevenson & Goh (1971), MacCarthy & Rice (1985), Stevenson (1994), valamint Barančíková et al. (1997) eredményei alapján azonosíthatók. 3400 cm<sup>-1</sup>-nél megjelenő abszorpciós sáv megfelel alkoholok, fenolok és szerves savak hidroxil csoportjai O–H kötéseinek, valamint néhány esetben N–H kötések vegyértékrezgésének. 2925 és 2860 cm<sup>-1</sup>-es hullámszámnál az abszorpciós csúcsot –CH<sub>2</sub>– és –CH<sub>3</sub> csoportok C–H kötéseinek szimmetrikus és aszimmetrikus vegyértékrezgései okozzák. 1720 cm<sup>-1</sup> hullámszám környékén az abszorpciós sáv megjelenése karboxil, keton, aldehid és éter csoportokban lévő C=O kötések vegyértékrezgéseinek tulajdonítható. Azonban humuszanyagok infravörös spektroszkópiai vizsgálatai alapján ennek az abszorpciós sávnak a jelenlétét főleg karboxil csoportok C=O kötései okozzák, és sokkal kevésbé jellemzőek a ketonos és aldehides karbonil csoportok. Stevenson & Goh (1971) cikkében bemutatott Na-formára alakított huminsavak és fulvósavak infravörös spektrumait. Megállapították, hogy Na-formában lévő humuszanyag esetén az 1720 cm<sup>-1</sup>-es hullámszámnál lévő csúcs intenzitása

drasztikusan csökkent, ugyanakkor új csúcs jelent meg 1575 és 1390 cm<sup>-1</sup> környékén, amely régiók a karboxilát ionra jellemzőek. Az 1660-1600 cm<sup>-1</sup>-es régióban megjelenő csúcsokra egyértelmű hozzárendelés nehezen adható. Az 1600 cm<sup>-1</sup>-es hullámszám közelében lévő sáv jelenlétét aromás C=C kötések, és hidrogénkötésben lévő kinonok C=O kötéseinek rezgései okozhatják. 1400 cm<sup>-1</sup> hullámszám környékén tapasztalt abszorpció fenolok, alkoholok, karbonsavak C–O kötések vegyértékrezgéseinek és O–H deformációs rezgéseinek, vagy –CH<sub>2</sub>– és –CH<sub>3</sub> csoportban lévő C–H kötések deformációs rezgéseinek köszönhető. 1200 cm<sup>-1</sup>-nél megjelenő széles és erős abszorpciós sáv arányosan változik az 1720 cm<sup>-1</sup>-nél lévő C=O sáv intenzitásával, karboxil csoportok C–O vegyértékrezgése és O–H deformációs rezgése okozhatja, azonban egyéb csoportok, mint aril éterek is hozzájárulhatnak az abszorpcióhoz. Fehérjékre jellemző amid kötés jelenléte 1540 cm<sup>-1</sup>nél, szénhidrát származékok C–O kötéseinek vegyértékrezgése az 1050 cm<sup>-1</sup>-es hullámszámon feltételezhető.

Stevenson & Goh (*1971*) tanulmányában különböző forrásanyagokból kinyert humuszanyagokat infravörös abszorpciójuk alapján csoportosított. Ezen felosztás első csoportjába a leonarditból és szerves anyagban kivételesen gazdag, termékeny talajból (jelenlegi USDA talajtani osztályozás szerint a Mollisol rendbe tartozó talajok) kinyert huminsavak tartoznak. Ezen huminsavak spektrumai erős abszorpciós sávokkal bírnak a 3400, 2900, 1720, 1600 és 1200 cm<sup>-1</sup> hullámszám tartományokban. Az 1720 és 1600 cm<sup>-1</sup>nél mért abszorpciós sávok intenzitása közel azonos, ugyanakkor 1640 cm<sup>-1</sup>-nél nem látható abszorpció. A második csoportba elsősorban fulvósavak tartoznak, melyek jellegzetesen erős abszorpciót mutatnak 1720 cm<sup>-1</sup>-es hullámszámon. Továbbá az 1600 cm<sup>-1</sup> -es régióra jellemző csúcs intenzitása kisebb, és 1640 cm<sup>-1</sup>-es hullámszámnál összpontosul. A harmadik típusba tartozó huminsavak és fulvósavak az előző csoportok jellegzetességeit mutatják, továbbá spektrumaikban viszonylag erős abszorpciós sávok

Üledékes szerves anyagok vizsgálataira is már régóta alkalmazott módszer az infravörös spektroszkópia. Lis et al. (2005) tanulmányukban FTIR abszorpciós jelekből képzett arányokat hasonlítottak össze geokémiai vizsgálatok során gyakran használt  $R_0$ , azaz vitrinit reflexió értékével, valamint a kinyert szerves frakció H/C atomi arányával. A vitrinit reflexió szerves anyagot tartalmazó kőzetek termális érését jellemző mutató. Megállapították, hogy az alifás tartalom vizsgálatára a 2800-3000 cm<sup>-1</sup>-es hullámszám tartomány, aromás tartalom esetén az 1600 cm<sup>-1</sup>-es régió, valamint C=O kötések vizsgálatára az 1700 cm<sup>-1</sup>-es tartomány a legalkalmasabb. Az abszorpciós csúcsokból képzett arányok alkalmasak voltak az egyes hullámszámokhoz rendelhető funkcionalitások változásának tanulmányozásához.

A mágneses magrezonancia, azaz NMR (Nuclear Magnetic Resonance) spektroszkópia az egyik leghatékonyabb és legsokoldalúbb vizsgálati módszernek bizonyult a humuszanyagok összetételére, szerkezetére irányuló kutatásokban (Wershaw, 1985; Thorn, 1987; Thorn, 1989; Steelink et al., 1989; Stevenson, 1994; Hertkorn et al., 2006; Hertkorn et al., 2007; Mopper et al., 2007). Napjainkban a funkciós csoportok eloszlásáról a legfontosabb bizonyítékot az NMR spektroszkópia szolgáltatja (Sohár, 2004; Batta, 2004). Oldat vagy szilárd minták különböző atommagjai (<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N, <sup>31</sup>P, <sup>33</sup>S) vizsgálhatók. Az oldat NMR mérések jellemzően jobb felbontással bírnak, mint a szilárd NMR mérések. Szilárd minták (elsősorban <sup>13</sup>C) NMR spektroszkópiai vizsgálata során a dipólus kölcsönhatások, valamint a kémiai eltolódás anizotrópia következtében jelentős jelkiszélesedés tapasztalható, így a kapott spektrumok csak minőségi információt adnak, mennyiségi összehasonlításra nem megfelelőek. Különböző technikák alkalmazásával mint a kereszt polarizáció (cross polarization, CP) és a minta pörgetése az alkalmazott mágneses térrel 54,7°-os, azaz mágikus szögben (magic angle spinning, MAS), ezek a hatások kiküszöbölhetőek, így a CPMAS <sup>13</sup>C-NMR ma már egyre szélesebb körben használt. A szilárd NMR spektroszkópia előnye egyébként, hogy a minta változatlan formában visszanyerhető. Talajminták közvetlenül is vizsgálhatók így, lehetséges a talajművelés hatásának tanulmányozása a talaj szerves anyag tartalmára (Fernández et al., 2008), valamint a humifikáció folyamatának (*Bartoszek et al.*, 2008), illetve <sup>13</sup>C izotóppal megjelölt szerves komponensek a talaj szerves anyagába való beépülésének nyomon követése (Kögel-Knabner, 2000), amennyiben az esetlegesen jelenlévő, mérést zavaró paramágneses ionok (pl. Fe<sup>3+</sup>) eltávolíthatók (*Stevenson*, 1994).

Humuszanyagok <sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N, <sup>31</sup>P and <sup>33</sup>S NMR spektroszkópiai mérései időigényesek (néhány órától több napig) és mintaigényesek (néhány 100 mg minta szükséges), ennek oka egyrészt, hogy a vizsgálandó C, N, és S izotópok természetes gyakorisága kicsi, valamint a N, P és S koncentrációja csekély a humuszanyagokban, másrészt az atommagok relaxációja lassú. A természetes szén 98,9%-ban tartalmazza az NMR-inaktív <sup>12</sup>C izotópot, míg az NMR-aktív <sup>13</sup>C izotóp 1,108%-ban fordul elő benne. A <sup>15</sup>N és <sup>33</sup>S izotópok gyakorisága 1% alatti.

A természetes hidrogén 99,98%-ban <sup>1</sup>H izotópot, 0,016%-ban <sup>2</sup>H izotópot (deutériumot) tartalmaz. Az <sup>1</sup>H természetes gyakorisága és giromágneses tényezője alapján a legkönnyebben megfigyelhető izotóp. A folyadék fázisú <sup>1</sup>H NMR mérések a gyakoriak, a vizsgálandó mintát DMSO-d<sub>6</sub> (hexadeutero-dimetil-szulfoxid), dioxán-d<sub>8</sub> vagy NaOD (nátrium deutér-oxid) oldószerben feloldva. Humuszanyagok proton NMR spektroszkópiai vizsgálata a nem kicserélhető, azaz szerkezeti protonok eloszlásáról ad felvilágosítást (Grøn et al., 1996; McIntyre et al., 2005). Huminsavak és fulvósavak <sup>1</sup>H-NMR spektrumának megfelelő felvételéről (minta koncentráció, oldószer, pH, a deutérium és hidrogén csere mértéke, belső sztenderd) és értelmezéséről részletes leírás Leenheer et al. (1997) könyvfejezetében található. Lam & Simpson (2008) bemutatta, hogy lehetséges különböző természetes vizekben (folyó, tó, tenger) jelenlévő szerves anyagról közvetlen <sup>1</sup>H-NMR spektrumot szerezni az úgynevezett vízelnyomás módszerrel. Így közvetlen és részletes információ nyerhető a szerves alkotókról a vízminta előkezelése nélkül. A kapott <sup>1</sup>H-NMR spektrum kvantitatív, azaz a jelintegrál a koncentrációval arányos amennyiben a relaxációra szánt idő elegendő (Wershaw et al., 1985). A spektrumból ekkor megállapítható a különböző kémiai eltolódású jeleket létrehozó protonok számaránya, mivel egy molekula jeleinek integráljai arányosak az őket létrehozó protonok számával. Protonok kémiai eltolódása 0-13 ppm tartományba esik. A humuszanyagok összetett kémiai természetéből adódóan a kapott NMR spektrumok széles sávokat mutatnak, ellentétben egyszerű szerves molekulák spektrumaival, melyek éles, jól körülhatárolt csúcsokból állnak. Ezért a gyakorlatban a kiértékeléshez a spektrumokat tartományokra osztják, melyek egyes funkciós csoportoknak, kémiai atomcsoportoknak felelnek meg. A sávok területének integrálásával kapott értékek aránya kifejezi az atomcsoportok arányát. Humuszanyagok <sup>1</sup>H-NMR protonjainak spektrumában négy fő sáv különböztethető meg. Az első sáv (0-1,6 ppm) olyan protonokat jelöl, melyek alifás szénhez kapcsolódnak (azaz a metil, metilén csoportban álló szén másik szén atomhoz kötődik). A második sávhoz (1,6-3,2 ppm) tartozó protonok olyan metil vagy metiléncsoportban lévő szénatomhoz kapcsolódnak, mely szénatom aromás gyűrűhöz vagy karbonil, karboxil csoporthoz kapcsolódik. A harmadik sáv (3,2-4,3 ppm) protonjai olyan metil, metilén vagy metin szénhez kapcsolódnak, amely közvetlenül nitrogén vagy oxigénatomhoz kapcsolódik, idetartoznak a szénhidrát és aminosav egységek protonjai is. A negyedik sáv (6-8,5 ppm) protonjai aromás vagy olefin szénatomhoz kötődnek (Leenheer et al., 1997; Kim et al, 2006). NMR mérések kiértékelése során ritkán vizsgálják a meghatározás pontosságát, azonban humuszanyagok esetén a fázisolás nem mindig

egyértelmű, így célszerű szórás értéket megadni (*Malcolm, 1990*). Kim et al. (2006) közlik az SRFA és SRHA minták négy féle protonjainak relatív gyakoriságát. A relatív gyakoriság értékekből meghatározható az alifás és aromás protonok aránya is.

# $\frac{proton_{alifásI} + proton_{alifásII}}{proton_{aromás}}$

Az irodalomban közölt, egyes sávokat kijelölő kémiai eltolódás értékek némileg eltérnek (*Noyes & Leenheer, 1989; Thorn, 1989*). Ennek oka egyrészt a különböző mérési körülmények és beállítások, másrészt a sokféle kémiai környezetben lévő protonok jelei átlapolódnak az egyes régiókon belül, így csak közelítő tartományok jelölhetők ki. Leenheer et al. (*1997*) részletesebb hozzárendelést közölnek (13 sáv), azonban a mennyiségi meghatározás ebben az esetben spektrális dekonvolúciót igényel, az egyszerű integrálás nem használható. Humuszanyagok metilációval, acetilációval képzett származékainak NMR spektroszkópiai vizsgálata további lehetőséget nyújt a funkciós csoport tartalom (karboxil, alkoholos és fenolos hidroxil, valamint szénhidrát egységek) meghatározásában (*Wershaw et al., 1981; Mikita et al., 1981*).

## 2.1.3. Egyéb alkotók

Az oldott szerves anyag (DOM) néhány százalékát alkotó biomolekulák (fehérjék, cukrok, lipidek, lignin), illetve monomerjeik (aminosavak, monoszacharidok, karbonsavak, fenolok) kémiailag kötött vagy szabad formában vannak jelen a természetes vizekben. Ezek a komponensek fontos szerepet játszanak a vízi életközösségek működésében. Egyrészt elhalt növényi és állati szervezetek bomlásából származnak, ugyanakkor mikrobiális úton gyorsan hasznosulnak, tehát – a humuszanyagokkal ellentétben – a szerves anyag tartalom gyorsan változó frakcióját alkotják (Thomas, 1997; Perdue & Ritchie, 2003). Kivételt a magasabb rendű, fásszárú növényekből származó lignin jelent, mivel a mikrobiális bomlásnak ellenáll, ezért a természetes vizekbe kerülő allochton, azaz máshol – jelen esetben szárazföldi környezetben – keletkezett szerves anyag "nyomkövetésére" szolgál. A vizsgálatok nagy része a természetes vizekben szabad formában jelenlévő biomolekulák azonosítására, koncentrációjának meghatározására irányul. Az eredmények nagy mértékben függnek az adott vízfolyás vagy állóvíz jellemzőitől. A humuszanyagok és ezen biomolekulák közötti kapcsolat azért is lényeges, hiszen a humuszanyagok felépülése éppen ezen anyagok monomerjeiből történik a humifikáció során.

Ezek a biomolekulák kémiailag kötött formában is előfordulhatnak. Savval, bázissal vagy enzimekkel végzett hidrolízis és/vagy oxidatív degradáció hatására a megfelelő monomerek mint az összetett szerves molekulák építőkövei (aminosavak, monoszacharidok, karbonsavak, fenolok) felszabadulnak. A teljes hidrolizálható és a teljes szabad, azaz hidrolízis nélkül meghatározott aminosav és cukor tartalom kerül meghatározásra a vízmintákban, a két érték különbsége pedig megadja a kötött aminosav és cukor mennyiségét. Kaplan & Newbold (2003) természetes vizekben mért kis molekulatömegű szerves komponensek eloszlásáról adott összefoglalást, folyóvízben a szabad aminosav és a szabad cukor mennyiségét az oldott szerves szén (DOC, dissolved organic carbon) 0,05, illetve 1 %-ának határozta meg. Benner (2003) a hidrolizálható aminosav és cukor mennyiségét folyóvízben az oldott szerves szén 1-3, illetve 1-2 %-ának becsülte, tavakban azonban ezeknek a komponenseknek a mennyisége a DOC akár 40 %-át is alkothatja. Thurman (1985a) a kis molekulatömegű karbonsavakat is vizsgálta, megállapította, hogy az illékony és nem illékony zsírsavak mennyisége a természetes vizekben a DOC 6 %-át is elérheti.

A kötött formában lévő biomolekulákról további információk szerezhetők, mivel humuszanyagok hidrolízisét követően a felszabaduló aminosav és szénhidrát egységek azonosíthatók (Bertino et al., 1987; Watt et al., 1996; Jahnel & Frimmel, 1996; Jahnel et al., 2002; Allard, 2006). Vízi humusz frakciókban az aminosavak eloszlását irodalmi adatok alapján Thurman (1985a) foglalta össze. Természetes vizekben és vízi eredetű humuszanyagokban a szénhidrát és aminosav tartalom jellemzően jóval kisebb, mint talajban és tőzegben. Talajból kinyert humuszfrakciók ioncsere és ion kizárásos kromatográfiás vizsgálata során purin és pirimidin bázisokat is azonosítottak már, jelenlétük a vízi humuszanyagokban is valószínű (Schnitzer, 1985; Stevenson, 1994). Ezeket a biomolekulákat, illetve monomerjeiket egyrészt a humuszanyagok alegységeinek, szerkezeti alkotókelemeinek tekintik (Flaig et al., 1975; Zang et al., 2000), viszont más elképzelés szerint csupán lazán kapcsolódnak (másodlagos kötésekkel, pl. hidrogén híd kötéssel) a humuszmolekulákhoz (Haworth, 1971; Sutton & Sposito, 2005), illetve olyan kötésekkel, amelyek a hidrolízis hatására megszűnnek. Többféle elképzelés létezik a nitrogén tartalmú komponensek (fehérjék, aminosavak) humuszanyaghoz való kapcsolódását illetően, azonban ezek főleg a talaj eredetű humuszfrakciók vizsgálatai alapján születtek (Schnitzer, 1985; Stevenson, 1994). Példaként megemlíthető a karbonil és

NH<sub>2</sub>-csoport kondenzációjaként képződő Schiff bázis, a fenolok, illetve kinonok reakciója proteinnel vagy aminosavval (*Stevenson, 1994*).

A hidrolízis eredményeként néhány változással azonban számolni kell, mint például a triptofán aminosav elbomlása, aminosavak racemizációja (Kaiser & Benner, 2005). A hidrolízist követően a komponensek azonosításához az adott molekulák összetett keverékből való elválasztását biztosító kromatográfiás technikákat kell megfelelően érzékeny detektorokkal kapcsolni, melyek nmol  $L^{-1}$ -es, vagy akár pmol  $L^{-1}$ -es koncentrációban is képesek a kimutatásra (Kaplan & Newbold, 2003). Aminosavak esetén a fluoreszcenciás meghatározás is gyakran alkalmazott módszer, így akár eredeti vízminták is közvetlenül vizsgálhatók, bár csak az aromás aminosavak (fenilalanin, tirozin, triptofán) (Coble. 1996). Szénhidrátok detektálhatók esetén gázkromatográfiás így tömegspektrometria (Allard, 2006), valamint az utóbbi években egyre elterjedtebb nagy folyadékkrotamográfiás elválasztás amperometriás detektálással is hatékonyságú használható (HPLC-PAD, high-performance liquid chromatography and pulsed amperometric detection) (Kaiser & Benner, 2000; Cheng & Kaplan, 2001). Perdue & Ritchie (2003) számos irodalmi adat felhasználásával a természetes vizekben szabad, illetve hidrolizálható formában lévő aminosavak és cukrok eloszlásának és koncentrációjának statisztikai elemzését közli. Ez alapján a leggyakoribb aminosavak a humuszanyagokban a glicin, aszparaginsav, alanin, glutaminsav és szerin, míg a cukrok közül a glükóz, galaktóz, mannóz, xilóz és arabinóz fordul elő a legnagyobb gyakorisággal. A vízi humuszanyagok nitrogén tartalma átlagosan néhány százalék csupán, elemanalízis vizsgálatok alapján általában nem haladja meg a 2,5 %-ot (Thurman, 1985a; Rice & MacCarthy, 1991). A tengervízből kinyert humuszanyagok esetén figyeltek meg jelentősebb nitrogén tartalmat (1-6,5 %) (Stuermer & Payne, 1976; Harvey & Boran, 1985). Humuszanyagok hidrolízisével kinyert és azonosított nitrogén tartalmú komponensek N tartalmát összevetve a elemanalízis által meghatározott teljes N tartalommal megállapítható, hogy a nitrogén 20-50 %-a aminosav, 1-10 %-a aminocukor, valamint kis mennyiségű purin és pirimidin bázis formájában van jelen a humuszanyagokban, míg nagyjából fele-harmada nem rendelhető kémiai vegyülethez, azonosítatlan formában van jelen. Elképzelhető, hogy a korábban említett elméletnek megfelelően a N tartalomnak ez a része a humuszanyagok szerkezeti felépítésében vesz részt, illetve a hidrolízis számára nem hozzáférhető, például fenolos hidroxil csoport kinon csoporttá történő oxidációja után, majd amin csoporttal reagálva olyan aminokinont képez,

amely a savas hidrolízisnek ellenáll (*Schnitzer, 1985*). Hasonló megállapítás a humuszanyagok szén tartalmára vonatkozóan is tehető, azaz meghatározható, hogy a hidrolízist követően felszabaduló aminosav és szénhidrát egységek szén tartalma mennyiben járul hozzá a teljes széntartalomhoz.

A humuszanyagok az UV-látható sugárzást elnyelik, az abszorpcióért felelős kromofórok elsősorban a nem kötő elektronpárral rendelkező funkciós csoportok (pl. karbonil), illetve a kén, nitrogén és oxigén atomok, valamint konjugált szén-szén kettős kötések (*MacCarthy & Rice, 1985; Schwarzenbach et al., 2003*). Tulajdonképpen a molekulák ezen részei felelősek a humuszanyagok barnás-sárgás színéért (*Stevenson, 1994*). Ehhez szorosan kapcsolódik, hogy a humuszanyagok az elnyelt (elsősorban UV) sugárzást nagyobb hullámhosszú (látható) sugárzás formájában kisugározzák, azaz fluoreszcenciát mutatnak. A konjugált kettős kötéssel bíró szerkezetek, valamint aromás gyűrűk felelősek a fluoreszcenciáért, ugyanakkor elektron leadásra képes csoportok (–OH, –NH<sub>2</sub>) fokozzák, míg az elektront vonzó csoportok (–COOH) csökkentik a fluoreszcenciát (*MacCarthy & Rice, 1985; Lakowicz, 2006*).

A fluoreszcencia spektroszkópiát eddig is széles körben alkalmazták az oldott szerves anyag tartalom, valamint kinyert humusz frakciók tanulmányozására (Kalbitz et al., 2000; Chen et al., 2003; Fuentes et al., 2006). A módszer nagy érzékenysége lehetővé teszi, hogy eredeti, tehát koncentrálás nélküli vízminták is közvetlenül vizsgálhatók legyenek (Coble, 1996). A mintaelőkészítés a szűrést magában foglalja, ez a szilárd részecskék által okozott szórást kiküszöböli. Coble et al. (1990) bizonyították három dimenziós gerjesztési-emissziós mátrix segítségével (EEM, excitation emission matrix), hogy tengervízben legalább három különböző fluorofór komponens van jelen. Ezt a megfigyelést később Coble (1996) pontosította, megkülönböztetett két humusz (A és C csúcs), valamint tirozin és triptofán (B és T csúcs), tehát aminosav eredetű, továbbá egy tengervízi mintára (M csúcs) jellemző fluoreszcenciát, amely tulajdonképpen a C csúcs kék eltolódásának - azaz rövidebb hullámhossz felé való eltolódásának - felel meg. Coble szintén ebben a közleményben humuszanyagok fluoreszcenciájának modellezéséhez cukor és aminosav kondenzációjával előállított melanoidineket (Hedges, 1978; Cosovic et al., 2010) vizsgált. A kapott EEM spektrumok alakja hasonlított a vízminták spektrumához, azonban az A és C csúcsok vörös eltolódása – azaz hosszabb hullámhosszak felé való eltolódása – volt megfigyelhető. Az azonosított humusz eredetű fluoreszcenciás csúcsok jellemzőek más forrásanyagból kinyert humusz frakciókra is, azonban vízi humuszanyagok kis mértékű kék, szárazföldi eredetű huminsavak vörös eltolódást mutatnak (*Alberts & Takács, 2004*). A humuszfrakció koncentrációja, az oldat pH-ja és ionerőssége is nagy mértékben befolyásolja a fluoreszcenciát (*Mobed et al., 1996*). Coble (*1996*) eredeti vízminta és vízmintából C18 tölteten szilárd fázisú extrakcióval kinyert anyag fluoreszcenciájának összehasonlításával megállapította, hogy a kinyert anyag fluoreszcens tulajdonságai jellemzőek az eredeti vízminta fluoreszcenciájára, az eltérés a csúcsok helyzetében csekély (± 10 nm), ezáltal valószínűsítette, hogy az ilyen módon végzett kinyerés nem befolyásolja a vízminták fluoreszcenciáját. Alberts & Takács (*2004*) az IHSS referencia minták fluoreszcencia vizsgálatai alapján megállapították, hogy valamennyi vízi humuszanyag, valamint talaj és tőzeg eredetű fulvósav két fluoreszcenciás csúccsal jellemezhető, melyek rövidebb (220-260 nm), illetve hosszabb hullámhosszú fény (320-450 nm) hatására gerjesztődnek, egyéb minták esetén 3 vagy akár 4 csúcsot is megfigyeltek.

Senesi et al. (1991) talajból, tőzegből, leonarditból, komposztált szerves anyagból, szennyvíziszapból, talajgomba által termelt szerves anyagból kinyert humusz frakciók fluoreszcenciáját vizsgálva megállapította, hogy a tapasztalt eltérések alapján a huminsavak és fulvósavak, valamint a különböző forrásanyagból kinyert humusz frakciók viselkedésük megkülönböztethetők. А humuszanyagok fluoreszcenciás alapján osztályozhatók is. Talaj, tőzeg, leonardit eredetű huminsavak nagyobb hullámhosszokon mért, illetve kisebb fluoreszcencia intenzitását főleg lineárisan kondenzált aromás gyűrűk és egyéb, telítetetlen kötést tartalmazó rendszerek, elektront vonzó funkciós csoportok (karbonil, karboxil), valamint nagy molekulatömegű egységek jelenlétének tulajdonították. A komposztból kinyert huminsav és talaj eredetű fulvósav kisebb hullámhosszokon mért, illetve nagyobb fluoreszcencia intenzitása pedig kis molekulatömegű, egyszerű szerkezetű komponensek, valamint elektron leadásra képes hidroxil, metoxi és amino csoportok jelenlétéhez köthető, ugyanakkor az aromás polikondenzáció és a konjugáció kisebb mértékű. A fluoreszcenciáért felelős kémiai szerkezetekre vonatkozó feltételezéseket egyszerű molekulákra jellemző adatokkal való összehasonlítás alapján tették meg. Kalbitz et al. (2000) vízminták (felszíni, felszín alatti víz, talajminta vizes kivonata) UV-vis és fluoreszcencia spektroszkópiai jellemzőit, illetve az ezekből kinyert humusz frakciók ugyanezen spektroszkópiai jellemzőit, valamint elemanalízis és infravörös spektroszkópiai eredményeit hasonlította össze. Megállapították, hogy az eredeti vízminták fluoreszcencia

spektroszkópiával meghatározott humifikációt kifejező mutatószáma arányban áll a kinyert fulvósav hasonló értékével. Így vízminták fluoreszcenciája alapján közvetlen becslést lehet tenni a vízi humuszanyagok jellemzőire az időigényes kinyerési folyamat nélkül.

Egyéb alkalmazhatósága is lehetséges a fluoreszcencia spektroszkópiának a környezeti rendszerek tanulmányozása során. A humuszanyagokhoz kötött fémionok kioltják a fluoreszcenciát, ezt a tulajdonságot használják fel a szabad, illetve fémionokkal betöltött kötési helyek megkülönböztetésére (*Provenzano et al., 2004; Divya et al., 2009; Henderson et al., 2009*). Humuszanyagok szerves szennyezőkkel (peszticid, PAH) való kölcsönhatása pedig módosítja a fluoreszcenciát (*Cavoski et al., 2009; Hur et al., 2009*). A módszer érzékenysége lehetővé teszi akár a környezeti feltételeknek megfelelő körülmények közötti mérést is (pl. kis szerves anyag koncentráció természetes vizekben, talajoldatokban).

#### 2.1.4. Molekulatömeg, összetétel

A tömegspektrometria fejlődése új távlatokat nyitott a humuszanyagokkal foglalkozó kutatásokban. Tömegspektrometriát mint vizsgálati módszert először gáz kromatográfiával összekapcsolva humuszanyagok termális bomlási termékeinek azonosítására használták (MacCarthy et al., 1985). Ez a pirolízissel kapcsolt eljárás lehetőséget adott biológiai, fosszilis vagy akár mesterséges eredetű polimerek jellemzésére is. Különböző biopolimerek (szénhidrátok, fehérjék, lipidek, lignin származékok) és egyszerű szerves molekulák (aminosavak, zsírsavak, fenolok, karbonsavak) pirolízisével képződött termékek segítették a humuszanyagok vizsgálatából származó töredékek azonosítását, mivel hasonló pirolízis termékek voltak megfigyelhetőek huminsavak, fulvósavak vizsgálata során is (Bracewell et al. 1989); így lehetőség nyílt humuszanyagok általános szerkezeti modellének megalkotására is (2.1. fejezet, 1. ábra) (Schulten & Schnitzer, 1995). Természetesen a funkciós csoportokra és egyéb alkotókra vonatkozó ismeretek, valamint molekulatömeg meghatározási eredmények is segítették ezeket a törekvéseket. Számos molekulaméret, illetve molekulatömeg meghatározási módszert (kisszögű röntgen szórás, statikus és dinamikus fényszórás, méret kizárásos kromatográfia, gőznyomás ozmometria, pásztázó és transzmissziós elektronmikroszkópia, ultracentrifugálás) használnak humuszanyagok jellemzésére, melyek szám (Mn, numberaverage molecular weight) vagy tömeg (M<sub>w</sub>, weight-average molecular weight) szerinti átlagértéket adnak eredményül (Thurman et al., 1982; Wershaw & Aiken, 1985; Aiken et al., 1989; Swift, 1989; Chin et al., 1994; Peuravuori & Pihlaja, 1997). A meghatározást

bizonytalanná teszi egyrészt az a tény, hogy a humuszmolekulák mérete tág határok között változik, azaz polidiszperz anyagok. Másrészt az oldat körülményekben bekövetkező csekély eltérés is a humusz molekulák konformációs és aggregációs állapotában azonnali változást okoz. Továbbá egyes módszerek esetén kalibrálás szükséges, ehhez megfelelő, azaz a vizsgálandó anyagot jól jellemző referenciát kell választani, ez a lépés a nem határozott összetételű humuszanyagok esetén bizonytalanná teszi a mérést (*Aiken et al., 1989*). Mindezek eredményeként a különböző módszerekkel kapott molekulatömeg értékek több nagyságrendet is átölelhetnek (néhány száztól több tízezer daltonig). Fontos megjegyezni, hogy vízi humuszanyagok esetén. Aiken et al. (*1989*) többféle módszerrel meghatározták az IHSS referencia gyűjteményébe tartozó SRFA és SRHA (Suwannee River Fulvic Acid and Humic Acid) molekulatömegét, átlag értékként 800, illetve 1100 Da-t kaptak.

Az ionizációs és detektálási technikák, valamint a tömeganalizátorok folyamatos fejlesztése lehetőséget ad humuszanyagok egyre szélesebb körű tömegspektrometriás vizsgálatára és jellemzésére. A napjainkban használt mátrix által segített lézer deszorpciós ionizáció (MALDI, matrix-assisted laser desorption ionization), elektrospray vagy elektroporlasztásos ionizáció (ESI, electrospray ionization) (Fenn et al., 1989), légköri nyomású fotoionizáció (APPI, atmospheric pressure photo ionization) és légköri nyomású kémiai ionizáció (APCI, atmospheric pressure chemical ionization) technikák a minták lágy ionizációját biztosítják. Az egyik első, átfogó tanulmány az ESI működési elvéről és alkalmazásáról Gaskelltől származik (1997). Az ESI folyamata során légköri nyomáson mind savas, mind bázikus karakterű funkciós csoportokkal bíró poláris molekulák ionizálódhatnak, ennek megfelelően tehát negatív és pozitív módban is működhet. A folyamat három fő szakaszra bontható: csepp képződés, csepp zsugorodás és gázfázisú ion képződés. Sematikus ábra az ESI folyamatáról segíti a megértést (3. ábra). Víz és/vagy egyszerű, kis molekulatömegű szerves oldószer keverékében feloldott minta bevitele a tömegspektrométerbe közvetlenül történik, folyamatosan, folyadék formában. Az oldat az ellenelektróddal szemben nagy potenciálkülönbséggel (0,8-5,5 kV) rendelkező tűt töltött cseppekből álló permet formájában hagyja el. A cseppek töltése megegyezik a tű töltésével, aminek következtében az taszítja a cseppeket az ellenelektródon lévő ellentétes töltés felé. Az ionizáció légköri nyomáson történik, majd a keletkezett ionok a már nagy vákuumban üzemelő analizátorba jutnak. A tű és az elektród között az oldószer elpárolog,

ez nitrogén gáz segítségével fokozható. A töltések a képződött cseppeken felhalmozódnak, és miután a csepp eléri az ún. Rayleigh határt, ahol a töltések közötti taszítóerő meghaladja az oldószer felületi feszültségét, a csepp kisebb cseppekre robban szét. A visszamaradó oldószer teljesen elpárolog, a vizsgálandó molekulából képződött (egyszeresen, vagy többszörösen töltött) molekuláris ion pedig a gáz fázisban marad (*Sleighter & Hatcher, 2007; Szájli, 2008*).



3.ábra: Az elektrospray (fent) és az ionképződés folyamata (lent) (Gaskell, 1997 nyomán)

Ivóvízben lévő szerves anyagok elemzésére elektroporlasztásos ionizációs technikát először McIntyre et al. (1997) használtak. Fievre et al. (1997) ESI-vel összekapcsolt FT-

ICR tömegspektrométert használtak IHSS referencia gyűjteményéből származó fulvósav (SRFA, Suwannee River Fulvic Acid) molekulatömeg eloszlásának vizsgálatára. A más módszerekkel mért molekulatömeg eloszlásnál az ESI-MS eredmények kisebb értéket adnak. A kisebb m/z tartomány felé történő eltolódás okaként többszörös töltésű ionok jelenlétét, ionizációs különbségeket, valamint a minta fragmentációját lehet feltételezni. Többen vizsgálták az ionizáció során esetlegesen bekövetkező fragmentációt határozott összetételű makromolekulák vizsgálatával való összehasonlítás alapján (Leenheer et al., 2001; Stenson et al., 2002), valamint egyes mérési beállítások hatását az észlelt molekulatömeg eloszlásra is (Hunt et al., 1998). Humuszanyagok eddigi vizsgálatai azt mutatják, hogy elektroporlasztásos ionizáció során döntően egyszeres töltéssel rendelkező molekuláris ionok képződnek, illetve jelennek meg a spektrumban (Stenson et al., 2002; Koch et al., 2005). Gáspár et al. (2009) bizonyították kétszeres töltésű ionok jelenlétét fulvósav minta elektroporlasztásos ionizációját követően, továbbá, hogy ezek csak megfelelő körülmények között észlelhetők. Brown & Rice (2000) szintén a kísérleti körülmények tömegspektrumra gyakorolt hatását tanulmányozta (oldószer, oldószer keverék választás, alkalmazott pH és ionerősség, mérési beállítások). Karbonsavak észtereződését tapasztalták metanol oldószer használata esetén (McIntyre et al., 2002), megfelelő mintaelőkészítéssel azonban ez kiküszöbölhető. Hertkorn et al. (2008) humuszanyagok különböző ionizációs technikákkal kapcsolt tömegspektrometriás vizsgálatain keresztül mutatták be az egyes ionizációs folyamatok nagyfokú szelektivitását. Több ionizációs technika együttes alkalmazásával lehetőség nyílik eltérő módon ionizálódó (poláris és apoláris) komponensek egyidejű vizsgálatára (Schmitt-Kopplin et al., 2008).

A tömeganalizátorok közül a repülési idő mérésen alapuló (TOF, time-of-flight) és egyszeres, háromszoros kvadrupól (quadrupole) mellett a legígéretesebbek a Fourier transzform ion ciklotron rezonancia (FT-ICR, Fourier transform ion cyclotron resonance) és az Orbitrap, mely két utóbbi kivételesen nagy felbontó képességgel és tömegmérési pontossággal bír (Marshall et al., 1998; Makarov, 2000). FT-ICR tömegspektrométerekben az erős mágneses tér hatására a cellába kerülő ionok körpályára kényszerülnek, ez a ciklotron mozgás. Az ionok töltés/tömeg arányától függ ennek a mozgásnak a frekvenciája, a frekvencia érték pedig az alábbi egyenlet felhasználásával tömeg/töltés értékké alakítható át,

ahol f a mért frekvencia, q az ion töltése, m az ion tömege, B pedig a mágneses tér erőssége. Mivel a frekvencia nagyon pontosan mérhető, így ezzel a technikával nagyon nagy felbontás érhető el (m/ $\Delta m_{50\%}$ , értéke legalább 100.000, de elérheti az 500.000-t, ahol m az adott csúcshoz tartozó tömeg,  $\Delta m_{50\%}$  pedig a csúcsszélesség 50%-os csúcsmagasságnál).

Számos tanulmány eredményei mutatják, hogy az FT-ICR tömegspektrometria megfelelő módszer rendkívül összetett szerves anyagok mint a humuszanyagok jellemzésére, sőt alkalmas a különböző eredetű minták közötti molekuláris szintű eltérések felderítésére is (Kujawinski et al., 2002; Koch et al., 2005; Reemtsma et al., 2008). Az FT-ICR/MS elektroporlasztásos ionizációval negatív módban lehetővé teszi a savas karakterű komponensek közvetlen mérését előzetes elválasztás nélkül is, az ultra nagy felbontás és tömegmérés pontosság pedig biztosítja a komponensek azonosítását (Sleighter & Hatcher, 2007; Reemtsma, 2009). A mért molekulatömegekhez molekulaképlet hozzárendelése – szigorú kémiai feltételek felállítása mellett, melyek tulajdonképpen kiszűrik a hamis, kémiailag lehetetlen összetételeket – szükséges. A leggyakrabban használt feltételek a nitrogén-szabály (azaz ha az ion tömege páros számú, akkor páratlan számú nitrogénatomot, jellemzően humuszanyagok esetén 1-et, ha az ion tömege páratlan számú, akkor páros számú nitrogénatomot, jellemzően 0-t tartalmaz), illetve atomi arányokra vonatkozó kikötések (0< H/C<2,5 és 0<O/C<1) (Stenson et al., 2003; Koch & Dittmar, 2006; Koch et al, 2007; Hertkorn et al., 2007; Kind & Fiehn, 2007). A lehetséges képletek közül egyrészt izotóp ellenőrzés révén lehet a megfelelő képletet kiválasztani, azaz a molekulaképlet akkor érvényes, ha a megfelelő izotópot, leggyakrabban a <sup>13</sup>C izotópot tartalmazó komponens is megtalálható a spektrumban. Másrészt lehetséges olyan sorozatok felállításával, melynek tagjai adott tömegkülönbség értékekben térnek el egymástól. A módszer alapja, hogy a NOM felépítésében résztvevő molekulák gyakran sorozatokat, homológ sorokat alkotnak (Hughey et al., 2001; Stenson et al., 2002; Stenson et al., 2003), Egy homológ sor tagjai olyan molekulák, amelyek kizárólag valamilyen atomcsoport (pl. -CH2-) tömegében különböznek egymástól, a molekulák többi részlete megegyezik. A meghatározott molekulaképletek közül az a legvalószínűbb, amelyik valamilyen molekulasorozat tagja. Ez utóbbi tulajdonság a kapott tömegspektrum megjelenésén is látszik, hiszen jellegzetes mintázatot mutat. Az egyes molekuláris ionok közötti

tömegkülönbség értékek gyakran ismétlődnek végig a spektrumon. Az egyes molekuláris ionok a funkciós csoport helyettesítésben, a telítetlenség fokában, illetve a CH<sub>2</sub> csoportok számában különböznek (*Stenson et al., 2002; Reemtsma, 2009*). A jellemző tömegkülönbség értékeknek megfelelő összetételbeli eltéréseket a **1. táblázat**ban foglalom össze.

relatív atomtömeg-különbség (Da)	helyettesítés
0,0364	CH <sub>4</sub> helyett O
0,9953	NH helyett CH <sub>2</sub>
1,0034	<sup>13</sup> C helyett <sup>12</sup> C
2,0157	H <sub>2</sub> helyett kettős kötés vagy gyűrű
14,0156	$(CH_2)_n$ helyett $(CH_2)_{n-1}$

**1. táblázat**: Ultra nagy felbontású tömegspektrum mintázatáért felelős tömegkülönbség értékeknek megfelelő összetételbeli eltérések

Mivel a kapott spektrumok rendkívül összetettek (több ezer, akár tízezer jelből állnak), közvetlen vizsgálatuk és értelmezésük lehetetlen, ezért a spektrumokból kinyerhető információt másképp kell megjeleníteni. A korábban már említett van Krevelen diagram gyakran használt ábrázolási mód a humuszanyagok FT-ICR tömegspektrometriás vizsgálata alapján meghatározott molekukaképletekből számított atomi arányok megjelenítésére (van Krevelen, 1961; Kim et al., 2003; Wu et al., 2004; Sleighter & Hatcher, 2007), így lehetséges a minták közötti eltérések ábrázolása, illetve a változások feltérképezése. Azonban mindig szem előtt kell tartani azt a tényt, hogy a különböző molekulaképletekből számított azonos atomi arányok diagramon elfoglalt pontjai nem feltétlenül jelentenek egyedi kémiai szerkezeteket, inkább lehetséges izomereket (Hertkorn et al., 2007). A tömegspektrum mintázatáért felelős molekulasorozatok jelenléte alapján született meg egy további ábrázolási mód, a Kendrick tömeg defektust (KMD, Kendrick mass defect) bemutató diagram (Kendrick, 1963; Hughey et al., 2001; Stenson et al., 2003). A molekulák tömegét Kendrick tömegben megadva, valamennyi adott homológ sort alkotó molekulának a tömeg defektusa azonos lesz. A Kendrick tömeg a IUPAC szerinti mért tömegből számítható

$$t \ddot{o}meg_{Kendrick} = t \ddot{o}meg_{IUPAC} \frac{14}{14,01565}$$

egyenlet alapján, ahol -CH<sub>2</sub>- csoport Kendrick tömege 14, IUPAC tömege 14,01565. A Kendrick tömeg defektus (KMD) pedig megadható, mint a Kendrick tömeg egész számra

kerekített értéke és a Kendrick tömeg közötti különbség. Ez a fajta megközelítés egyéb helyettesítésekre alapozva humuszanyagok vizsgálata során is alkalmazható. Wu et al. (2004) javasolta a van Krevelen féle atomi arányok és a Kendrick tömeg defektus együttes használatát, azaz a képzett homológ sorok van Krevelen diagramon történő ábrázolását, így további jellegzetes eltérések deríthetők fel az egyes minták között. További lehetőség a tömegspektrum értelmezéséhez a kapott molekulatömegek komponens osztályokba való sorolása, melyek kizárólag a heteroatomok (O, N, S) minőségében és számában térnek el (Hughey et al., 2002). A minták összetételbeli különbsége jellemezhető az egyes komponens osztályokra meghatározott relatív gyakoriság értékekkel, melyek az intenzitás értékből számíthatók. További csoportosításra ad lehetőséget a hidrogén hiányt jellemző, úgynevezett Z-érték bevezetése. Hughey et al. (2002) elnevezése szerint a molekulák Zérték szerinti csoportosításával molekulatípusok állíthatók fel. A hidrogén hiányt mutató érték, azaz a Z értéke a CcH2c+zX képletben, kifejezi a telítetlenség fokát, azaz függ a gyűrűk és kettős kötések számától. Szénhidrogének esetén minél negatívabb a Z-érték, annál telítetlenebb/aromásabb a molekula (Hughey et al., 2002). Maximális értéke 2 lehet, pl. alkánok esetén. A képletben X a heteroatomokat jelöli. Természetesen heteroatomok jelenléte befolyásolhatja a molekula H atomjainak számát, és ennek megfelelően a Z-érték is változhat.

$$Z = H - 2C$$

Koch & Dittmar (2006) bevezették az aromássági indexet (aromaticity index, AI), melyet a tömegspektrometriában gyakran használt kettős kötés ekvivalens (double bond equivalent, DBE) kifejezésből származtattak (*Pellegrin, 1983*).

$$DBE = 1 + \frac{1}{2}(2C - H - N)$$

A kettős kötés ekvivalens a molekulában megtalálható kettős kötések és gyűrűk számának összege. A DBE független a molekulák O és S atomjainak számától. Az aromássági index révén lehetőség nyílik az aromás (AI>0,5) és kondenzált aromás (AI>0,67) szerkezeteket tartalmazó komponensek azonosítására. A molekulatömegek egy részéről, azaz a szélsőséges atomi arányokkal (pl. kis H/C atomi arány) bíró molekulákról tehát ilyen módon szerkezeti információk szerezhetők. Ez az index magában foglalja azt a lehetőséget, hogy valamennyi heteroatom képezhet kettős kötést, ami ugyanakkor nem járul hozzá az aromássághoz, gyűrűképződéshez, illetve kondenzációhoz. Az aromássági index a molekulaképletből számítható

$$AI = \frac{1 + C - O - S - 0.5H}{C - O - S - N}$$

egyenlet alapján, ahol C, O, S, H, és N az egyes atomok számát jelöli. Az AI a legszigorúbb feltételt jelenti az aromás és kondenzált aromás szerkezetek meghatározásásra, néhány aromás egységet tartalmazó komponens (pl. lignin bomlási termékek) azonban nem azonosítható alifás oldalláncaik miatt. Kunenkov et al. (2009) kidolgoztak egy olyan algoritmust, amely lehetővé tette humuszanyagok nagyobb tömegű, ismétlődő szerkezeti egységének ( $C_7H_6O_4$ ), valamint többszörös töltésű ionjainak azonosítását (*Gáspár et al., 2009*).

#### 2.2. Felszín alatti víz, termálvíz

A Föld vízkészletének (1.386.000 ezer km<sup>3</sup>) kevesebb, mint 1%-a tárolódik felszín alatti vízként, jelentőségét azonban jobban kifejezi az a tény, hogy a jégtakaróban és gleccserekben őrzött vizet nem számítva az édesvíz 96%-a felszín alatti víz (**4.ábra**, *Postel et al., 1996*, alapján). Magyarországon kiemelt jelentőségű ezeknek a vízkészleteknek használata, hiszen az ivóvízellátás több mint 97%-ban felszín alatti vizekből történik (*Liebe, 2006*).



(tavak, folyók, mocsarak) 4. ábra: Becslés a Föld vízkészletének eloszlásáról

Felszín alatti víz a föld felszíne alatt, a telített zónában elhelyezkedő víz, amely közvetlen érintkezésben van a földtani közeggel. A felszín alatti vizeknek több típusa ismert. A talajvíz a felszín közeli, legfelső porózus vízadó képződményben tárolódó víz, melynek fizikai, kémiai jellemzőit döntően befolyásolják a meteorológiai viszonyok. A rétegvíz a porózus kőzet pórusaiban, illetve réseiben és hasadékaiban elhelyezkedő víz.

Parti szűrésű víz a felszíni vízfolyást övező, azzal közvetlen kapcsolatban levő víztartó porózus kőzetek rétegeiből kitermelt víz. Karsztosodó vagy nem karsztosodó hasadékos kőzetek repedéseiben, hasadékaiban, üregeiben tárolt és mozgó víz a hasadékvíz (mészkő, dolomit esetén karsztvíz).

A termálvizek magyar osztályozás szerint a felszín alatti vizek azon csoportját jelentik, amelyek 30°C-nál magasabb kifolyó víz hőmérséklettel bírnak. Az Európai Környezetvédelmi Ügynökség (EEA, European Environment Agency) honlapján található magyarázó szógyűjtemény szerint termálvíz általában olyan forrás vagy gejzír, amelynek vízhőmérséklete meghaladja helyi éves levegő hőmérsékletet а átlag (http://glossary.eea.europa.eu/). A felszín alatti vizek csoportjába tartoznak a gyógyvizek és természetes ásványvizek is. A termálvíz kifejezés azonban nem feltétlenül jelent gyógyvizet vagy természetes ásványvizet. A természetes gyógytényezőkről szóló 74/1999. EüM rendelet meghatározza a gyógyvíz és természetes ásványvíz fogalmakat. Eszerint a gyógyvíz olyan természetes ásványvíz, amelynek bizonyított gyógyhatása van. A természetes ásványvíz pedig természetesen vagy védelmi intézkedésekkel védett, felszín alatti vízadó rétegből származó, eredeténél fogya tiszta, az adott felhasználási formában mikrobiológiai és kémiai szempontból az emberi egészségre ártalmatlan, összetétele, oldott szilárd ásványi anyag tartalma a víznyerő helyen - a természetes ingadozás határain belül közel állandó, és oldott összes ásványi anyag tartalma literenként legalább 1000 mg, vagy az oldott összes szilárd ásványi anyag tartalma 500-1000 mg L<sup>-1</sup> között van és átlagosnál nagyobb koncentrációban tartalmaz valamilyen aktív biológiai anyagot.

A termálvizet törmelékes és repedezett, karsztos kőzetek tárolják (*Vető et al.*, 2004). A magyarországi termálkutakról a Környezetvédelmi és Vízgazdálkodási Kutató Intézet (VITUKI) vezet egységes nyilvántartást, Országos Hévízkút Kataszter néven, mely több, mint 1200 hévízkutat tart számon, amelyeknek mintegy 60%-a az Alföld – többsége a Dél-Alföld – területén található (*Ferenc, 1994*). Ezek közel harmada nem termelő kút (ideiglenesen lezárt, észlelő vagy visszasajtoló, illetve meddő kút). Termálvíz az ország területének több, mint 70%-án áll rendelkezésre.

Magyarország geotermikus adottságai közismerten igen kedvezőek. Az ország területének nagy részét elfoglaló Pannon medence különleges és kedvező földtani adottságokkal bír. A medence alatt a Föld szilárd kérge erősen kivékonyodott, mindössze 24-26 km vastag a 30-35 km-es világátlaghoz képest, ami a kéreg alatti magas hőmérsékletű magma felszín közelbe kerülését eredményezi. Ez több hő átadását teszi

lehetővé, a feláramló hő magyarországi értéke átlagosan 90 mW m<sup>-2</sup>, másfélszerese az európai kontinensen tapasztalhatónak (*Dövényi et al., 1983*). A földhő a medencét több ezer méter vastagságban kitöltő laza, porózus üledékes kőzetekben tárolódik. A prepannon medencealjzatot alkotó idősebb kőzeteket tengeri és folyóvízi üledékek takarják. Az **5. ábrán** Magyarország délkeleti részének délnyugat-északkelet irányú földtani szelvénye a Kelebia és Doboz községek által meghatározott egyenes mentén látható.



5. ábra: Magyarország dél-keleti részének földtani szelvénye

A szürke sáv a medencealjzat felső határát mutatja, az aljzatot változó vastagságban fedik különböző üledékek. A mélyebben fekvő tengeri üledékes kőzetek főként agyagok, agyagmárgák, amelyekből víz alig fakasztható, az alsó pannon (felső miocén) üledékek 12 és 9 millió évvel ezelőtti időtartam között rakódtak le. A Pannon-tenger beltóvá alakulásával az ideömlő folyók egyre több durvább szemű üledéket raktak le, az ebből az időszakból származó üledéksor – amelynek vastagsága elérheti az 1-2 km-t is – már több homok-homokkő és aleurit réteget is tartalmaz, a felső pannon (felső miocén és pliocén) üledékek 9 és 2 millió évvel ezelőtt rakódtak le. A 2 millió éve kezdődött negyedidőszakban már tisztán a folyóvízi üledékképződés volt jellemző tavi és folyami iszapos, homokos, kavicsos lerakódásokkal. Ezek vastagsága megközelíti az 500-700 m-t az Alföld déli részén (*Liebe, 2006*).

A Pannon-medence és Pannon tó földtani és ősföldrajzi fejlődéstörténetének részletesebb leírása megtalálható Kázmér (1990), Magyar et al. (1999) és Varsányi et al. (1997) cikkeiben. Az alsó pannon réteg az Endrődi, Szolnoki és Algyői Formációt, míg a

felső pannon réteg az Újfalui, Zagyvai és Nagyalföldi Formációt foglalja magában. Az egyes kőzetrétegtani egységek leírása a Magyar Állami Földtani Intézet (MÁFI) honlapján megtalálható (*http://www.mafi.hu*). A medencét kitöltő üledékek III típusú kerogén formájában több-kevesebb szerves anyagot is tartalmaznak (*Hetényi, 1992; Kárpáti et al., 1999*). A III típusú kerogén kiindulási szerves anyaga döntően szárazföldi fásszárú növények lignin tartalma (*Vandenbroucke & Largeau, 2007*).

Két felszín alatti áramlási rendszer kötődik a termálvizekhez. A helyi és regionális áramlási rendszer közötti átmeneti rendszer a negyedidőszaki üledékekben, a regionális áramlási rendszer a mélyebb rétegekben, 2500 méteres mélységig található meg. Ennél nagyobb mélységben gyakorlatilag pangó, NaCl-NaHCO<sub>3</sub> típusú, nagy oldott anyag tartalommal (TDS > 6000 mg L<sup>-1</sup>) bíró víz található (*Erdélyi, 1979*). A dél-alföldi felszín alatti vizek eredetét Varsányi et al. (*1997; 1999*) vizsgálták. <sup>2</sup>H és <sup>18</sup>O izotóp mérések alapján megállapították, hogy a felső miocén, pliocén, pleisztocén (negyedidőszak első fele) rétegek vize paleometeorikus eredetű, a földrajzi helyzettől függően a beszűrődés az utolsó jégkorszak idejére, mely 70.000 éve kezdődött és 12.000 éve ért véget, illetve az ezt megelőző melegebb időszakra tehető. A geotermikus gradiens értékének megfelelően a hőmérséklet a mélység felé haladva átlagosan 5°C-kal növekszik 100 méterenként. A kőzetek felfűtöttsége 1000 m-es mélységben általában eléri az 60-70°C-ot, 2000 m-ben a 110-120°C-ot, a süllyedékek 2500 m-es mélységeiben a 130-150°C-ot is (*Kóbor, 2008*). Természetes forrásokkal vagy kutakkal felszínre kerülő termálvíz hőmérséklete ezeknél az értékeknél 15-25°C-kal kisebb (*Korim, 1972*).

Az 5. ábrán bemutatott szelvény két jelentős süllyedéket is jelöl, a Makói árkot és a Békési medencét. A Makói árok szénhidrogénföldtani kutatása már 1969-ben megkezdődött. 1998-ban a Makói árok, mint potenciális medenceközpontú gázfelhalmozódási terület került értékelésre. A gáztelített cella megismerése céljából kutatófúrásokat mélyítettek, valamint felszíni háromdimenziós szeizmikus méréseket végeztek. Jelenleg a Makó M-7 kút számít Magyarország legmélyebb fúrásának, 6085 méteres talpmélységgel. A fúrás a kristályos aljzat kőzeteiben állt meg. A kutatás jelentős kiterjedésű medenceközpontú gázfelhalmozódást tételezett fel a Makói árokban, amely tévesnek bizonyult, de kevésbé jelentős szénhidrogén-termelésre azért van még remény. A földgáz-előfordulás a makói árok nagymélységű pannon időszaki üledékes képződményeiben található. A földgázvagyon nem konvencionális, hanem folytonos típusú, nagy mélységű (3000-6000 m mélységtartomány), medenceközpontú, mintegy

3000 m vastag, részben gázzal telített formációkban található gázfelhalmozódás (*Fodor*, 2007, *Badics et al.*, 2010).

#### 2.2.1. Termálfürdők, geotermikus energia

A felszínre kerülő termálvizet hagyományosan ivóvízként és fürdővízként használják évszázadok óta. Magyarországon számos példa létezik ezekre (Anna-víz, Hévíz, budai fürdők). A vízkivétel megközelíti a 0,2 millió m<sup>3</sup>-t naponta. A termálvizet adó kutak mintegy 30%-a balneológiai célú, több, mint egynegyedük az ivóvízellátásban hasznosul, s nem egészen a fele szolgál geotermikus energiahasznosítási célokra (*Liebe, 2006*). A termálvizek gyakran jelentős mennyiségű szerves anyagot tartalmaznak, sárgás-barnás színűek, és néhány esetben akár fenolos szagúak is. Már korábban is történtek erőfeszítések a szerves anyagok azonosítására vonatkozóan (*Kárpáti et al., 1996; Kárpáti et al., 1999*).

Napjainkban egyre nagyobb szerepet kap a kitermelt termálvíz hőjének hasznosítása. A Lindal-diagram a hasznosítás különböző tartományait foglalja össze a víz hőmérsékletének függvényében (6. ábra, Lindal, 1973 alapján). Két fontos szempontra hívja fel a figyelmet, egyrészt a készlethőmérséklet korlátozza a lehetséges hasznosítást, másrészt azonban többlépcsős rendszer révén, amelyben a termálvíz hőjének minél nagyobb mértékű kinyerése valósul meg a csökkenő hőmérsékletnek megfelelően, a hőhasznosítás hatékonyabbá tehető. Tipikus példája ennek a Hódmezővásárhelyi Geotermikus Közműrendszer, amelyben 80°C-os víz biztosítja a közintézmények távfűtését, majd a kikerülő 40°C-os víz egy része a városi fürdőbe kerül. A 90°C-nál kisebb hőmérsékletű geotermális készleteket közvetlenül fűtési célokra használják lakóépület-fűtés, használati melegvíz előállítás, üvegházfűtés, (távhőszolgáltatás, halgazdálkodás).

További részletek a közvetlen hasznosításról, valamint megvalósítható formáiról Lund et al. (2005) és Gudmundsson (1988) cikkeiben olvashatók. Az európai geotermikus energia forrásokról, valamint közvetlen és elektromos energia termelésre történő felhasználásukról Antics & Sanner (2007) közöl összefoglalást. Friedleifsson (2001) átfogó tanulmányban ír a geotermikus energia termelés és használat múltjáról, jelenéről és jövőjéről. Az utóbbi évtizedben a közvetlen felhasználás terén a földhőszivattyúk elterjedése a legszembetűnőbb (*Mádlné et al., 2009*). Sanner et al. (2003) a
földhőszivattyúk és felszín alatti termálenergia tároló rendszerek telepítésének elterjedését és használatát vizsgálja.



6. ábra: A Lindal-diagram a termálvíz hasznosítás tartományait mutatja a termálvíz hőmérsékletének függvényében (Lindal, 1973 alapján)

Magyaroszág adottságainak megfelelően a geotermikus energiavagyon döntő része közvetlen felhasználásra kerül. Azonban a prepannon medencealjzat 2,5-4 km-es mélységében közepes és magas hőmérsékletű (90-150°C és >150°C) karbonátos tározók találhatók, az itt tárolt hő pedig kapcsolt üzemű erőművekkel áram termelésére használható (*Mádlné et al., 2009*). Ez a lehetőség egyelőre még nem kiaknázott. A geotermikus energia energiamérlegben való aránya Magyarországon 0,29%. Az összes megújuló energiafajtán belül vizsgálva a geotermikus energiát, mindössze 6,6%-ban részesedik a biomassza és a tűzifa együttes ~86%-os aránya mellett (*Mádlné et al., 2009*).

A geotermikus energia alapja a Föld belsejében termelődő és tárolódó hő. A földhő pedig mint megújuló készlet, fenntartható módon használható (*Rybach, 2003; Axelsson et al., 2005*). A tározókban lévő, földhőt közvetítő vízkészletek azonban végesek, csak utánpótlódásukkal arányban hasznosíthatók. A termelést hosszú távon csak úgy lehet

fenntartani, ha a lehűlt vizet a vízadó rétegbe visszsajtolják. Számos nemzetközi (*Kühn et al., 1998; Ungemach, 2003*) és néhány hazai példa (Kistelek, Hódmezővásárhely, Balástya) ismert a visszasajtolásra. Csak energetikai célú felhasználást követően engedélyezett, illetve előírt a lehűlt termálvíz visszasajtolása a vízadó rétegbe. A hasznosítást követő elhelyezés megoldása szempontjából is fontos a visszasajtolás, mivel a termálvizek felszíni vízbe, talajba történő vezetése komoly környezeti károkat okoz elsősorban a vizek magas hőmérséklete, só- és szerves anyag tartalma miatt.

## 2.2.2. Humuszanyagok a felszín alatti vizekben

A vízi eredetű humuszanyagok vizsgálatánál sokáig nehézséget okozott, hogy koncentrációjuk a természetes vizekben igen alacsony is lehet. A metil-metakrilát gyanták használatán alapuló adszorpciós kormatográfia előnye, hogy vízmintákból kis hamu tartalmú (<1 tömeg%) huminsav és fulvósav frakciók nyerhetők ki preparatív mennyiségben (Thurman & Malcolm, 1981; Aiken, 1985). Perdue & Ritchie (2003) számos vízi humuszanyagokkal foglalkozó kutatás eredményeit foglalta össze, e szerint édesvizekben általában a szerves anyag tartalom 60%-át alkotó humuszanyagokban a huminsav:fulvósav arány 1:3-hoz, azaz a humuszanyagok 25%, illetve 75%-át alkotják a huminsavak és fulvósavak. Felszín alatti vízre irányuló kutatások eredményei alapján azonban a humuszanyagok mennyisége és frakcióinak aránya eltér a felszíni vizek esetén tapasztaltaktól. Wassenaar et al. (1990) sekély kutakból (1 és 25 méter közötti mélység) vett vízminták szerves anyag tartalmát  $(0,8-26,0 \text{ mg } L^{-1})$  és humuszanyag tartalmát határozták meg. A kinyerés eredményeként kapott humusz frakciók tömege alapján megállapították, hogy a szerves anyag tartalom 15-89 %-át humuszanyagok alkotják, valamint a minták nagy része csak fulvósavból áll, míg néhány minta esetén 10-20%-ban huminsav is van jelen. Pettersson et al. (1994) vizsgálatai szerint a felszín alatti vizekben a teljes szerves szén tartalom 5-20%-a van jelen humuszanyagok formájában. Az oldott szerves anyag tartalom, illetve a humuszanyagok mennyisége jelentős időbeli és térbeli eltéréseket mutat, elsősorban a sekély felszín alatti vizekben (Wassenaar et al., 1990). A felszín alatti vizek humuszanyag tartalmát számos tényező befolyásolja. Az évszakos időjárás változások (tavaszi hóolvadás, őszi esők) nyomán a talajból jelentős mennyiségű szerves anyag mosódik bele a talajvízszint feletti, vízzel telítetetlen rétegbe (Cronan & Aiken, 1985; Wassenaar et al., 1989). A 7. ábrán a szerves anyag koncentrációjának változását mutatom be a talajvízszint feletti és alatti, illetve vízadó rétegben Thurman (1985b) alapján. Mikrobiális aktivitás, adszorpció ásványi szilárd felszíneken, valamint oxidáció is tovább módosíthatják a felszín alatti vizekben lévő szerves anyagok, és így a humuszanyagok koncentrációját is (*Wassenaar et al., 1989*).



7. ábra: Az oldott szerves szén (DOC) koncentrációjának változása a talaj egyes rétegeiben, illetve a vízadó rétegben (Thurman, 1985b alapján)

Thurman (1985a) homokkő, dolomit és mészkő vízadó rétegek különböző mélységeiből származó Ca(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> and CaSO<sub>4</sub> típusú felszín alatti vizekből kinyert huminsav és fulvósav frakciók tulajdonságait vizsgálta. Megállapította, hogy amennyiben a szerves szén koncentrációja a felszín alatti vízben meghaladja az 1 mg L<sup>-1</sup>-es értéket, akkor ez a felszín alatti víz olyan vízadó rétegből származhat, amely szerves anyagban gazdag vízből kap utánpótlást, azaz más területről származik vagy szerves anyagban (pl. kerogénben) gazdag üledékekkel van kapcsolatban, így a szerves anyag a helyszínen, kerogén-víz reakciójából képződik. Thurman (1985b) különböző vízadó rétegekre jellemző átlagos szerves szén koncentrációt is közöl. Homokkő, mészkő és vulkanikus kőzet esetén a DOC 1 mg  $L^{-1}$  alatti, míg az üledékben jelenlévő szerves anyag esetén 3-100 mg  $L^{-1}$  is lehet. Eredményei alapján a szerves szén 11-66%-a alkotja a humuszanyagokat. Petróleum vagy olajmezővel kapcsolatban lévő felszín alatti vízben a szerves szén koncentrációja akár az 1000 mg L<sup>-1</sup>-es értéket is meghaladhatja, azonban a szerves szén ezekben a vizekben döntően rövid szénláncú alifás sav anionok (acetát, propionát), valamint metán formájában van jelen (Willey et al., 1975; Varsányi et al., 2002). Továbbá meg kell még említeni azt a tényt, hogy felszín alatti vizek szerves anyag, illetve humuszanyag tartalmának forrásául nemcsak az üledék szerves anyaga (kerogén) szolgálhat, ehhez az betemetődését üledék követően a bomlási folyamatokban szerepet játszó mikroorganizmusokat felépítő komponensek (döntően fehérje, szénhidrát és zsírok) is hozzájárulhatnak. Eddig már több közleményben is vizsgálták dél-kelet alföldi termálvizek szerves anyagait, 75-2500 méter közötti mélységből, azaz pleisztocén, pliocén és felső

pannon rétegekből származó felszín alatti vizek különböző formában előforduló szénvegyületeit mérték, többek között meghatározták a humuszanyagok arányát az összes oldott szerves szén mennyiségéhez képest. Ezekben az esetekben spektrofotometriás módszert alkalmaztak a termálvizek humuszanyag tartalmának meghatározására. Néhány esetben Chalupa (1963) által kidolgozott módszert használtak, melynek lényege, hogy a vízminta lúgos alkoholos kivonatának 420 nm-es hullámhosszon mért abszorbanciáját mérték (*Varsányi, 1985; Varsányi & Bertalan Balogi, 1985*). Más esetekben a vízmintát Fluka huminsav oldattal hasonlították össze, mely utóbbit sztenderdként használtak, és ennek alapján adtak meg közelítő értéket a huminsav tartalomra vonatkozóan (*Varsányi et al., 1997; 2002; Kárpáti et al., 1999*).

Különböző mélységű felszín alatti vízből kinyert humuszanyagok lehetséges eredetét izotóp összetétel és elemanalízis, valamint különféle spektroszkópiai vizsgálatok alapján már korábban is tárgyalták (Wassenaar et al. 1990; Grøn et al., 1996; Artinger et al., 2000). A kinyert humuszanyagok jellemzői jelentősen eltérhetnek a kiindulási szerves anyag minőségétől (szárazföldi vagy tengeri eredetű szerves anyag), korától (modern vagy néhány millió éves) és a hidrokémiai körülményektől (a felszín alatti víz oxigéntartalma, sótartalma, pH-ja) függően (Thurman, 1985a; Alberts et al., 1992; Pettersson et al., 1994; Wassenaar et al. 1990). A humuszanyagok eredetének megismerésére <sup>12</sup>C, <sup>13</sup>C izotóp vizsgálatokat és radiokarbon kormeghatározást (<sup>14</sup>C) is alkalmaztak (*Murphy et al., 1989*; Pettersson et al., 1989; Wassenaar et al. 1990). Grøn et al. (1996) eredményei azt mutatták, hogy a felszín alatti vízből kinyert humuszanyagok eredetére és szerkezetére, kémiai összetételére vonatkozó megállapítások általában összhangban voltak a vízadó rétegek földtani és hidrogeokémiai jellemzőivel. Ezen jellemzőktől való eltérésért feltételezésük szerint viszonylag új szerves anyag hozzájárulás felelős. Pettersson et al. (1994) összehasonlították felszíni és felszín alatti vízből DEAE-cellulóz és XAD-gyanta használatával kinyert humuszanyagok tulajdonságait. Néhány különbség ellenére az elemi összetételbeli, molekulatömeg és sav-bázis jellemzők hasonlósága alapján arra a megállapításra jutottak, hogy ezekből az adatokból a humuszanyagok eredetére vonatkozóan következtetéseket nem lehet levonni. Más esetben azonban talajból, folyóvízből és tengervízből kinyert humuszanyagok vizsgálatai jellegzetes különbségeket tártak fel (Malcolm, 1990).

Artinger et al. (2000) az üledékes szerves anyag hatását tanulmányozták a felszín alatti vizek humuszanyag tartalmára. Szerves anyag nélküli, illetve barnaszenet és tőzeget

tartalmazó üledékes kőzetekben tárolódó fiatal és idősebb felszín alatti vizekből kinyert humuszanyagok tulajdonságait vizsgálták. A vizsgált felszín alatti vizek többségében a szerves anyag 10-40%-a fulvósav, a maradék rész hidrofil komponenseket jelent, melyek a XAD-8 gyantán nem kötődtek meg. Kisebb mélységekből származó felszín alatti vizek esetén a huminsav megjelenését az üledékes szerves anyag jelenlétéhez kötötték. A huminsavat is tartalmazó felszín alatti vizek üledékes szerves szént (sedimentary organic carbon, SOC) például lignit formájában tartalmazó vízadókból származtak. A huminsav tartalom ezekben a vizekben az oldott szerves szén 20-90%-át is elérheti. Megállapították, hogy a kinyert huminsav és fulvósav egyes jellemzőinek megváltozása (hidrodinamikai méret, fluoreszcencia intenzitás és abszorbancia) az üledékes szerves szén bomlását és a humuszanyagok vízadó rétegben történő képződését vizsgálta.

Felszín alatti vízből kinyert humusz frakciók átfogó jellemzését közli Thurman (1985b), Alberts et al. (1992) és McIntyre et al. (2005). A felszín alatti vízből kinyert humuszanyagok elemi összetétele jelentősen eltér a szárazföldi, illetve felszíni vízi eredetű megfelelőitől, nagyobb szén és kisebb oxigén tartalom jellemzi (Wassenaar et al., 1990). A felszín alatti vizek esetén a fulvósavak kevésbé aromás jelleget kifejező, nagyobb H/C atomi aránnyal, illetve kisebb O/C atomi aránnyal bírnak, mint a felszíni vízből kinyert megfelelő frakciók (Pettersson et al., 1994; Thurman, 1985b). Thurman (1985b) eredményei szerint a karboxil csoport mennyisége a felszíni vízből kinyert frakciókhoz hasonló, a kisebb oxigén tartalmat elsősorban a karbonil, hidroxil és éter csoportok mennyiségében bekövetkező csökkenéssel magyarázza. Feltételezi, hogy anaerob környezetben bizonyos mikroorganizmusok képesek a humuszanyagok oxigéntartalmát elektron akceptorként használni. Lovley et al. (1996) közli, hogy talajban, üledékben előforduló mikroorganizmusok képesek oxigén hiányában a humuszanyagokat mint elektron akceptort használni szerves komponensek oxidációjára. Ugyanakkor felszín alatti vizek fulvósav tartalma elektron donorként szolgálhat szulfát redukáló és denitrifikáló mikroorganizmusok számára (Krumholz et al., 1997; Einsiedl et al., 2007). A baktériumok képesek a szerves komponenseket oxidálni vagy redukálni is (Sand, 2003). A termálvizekben élő mikroorganizmusok növekedését befolyásoló legfontosabb kémiai és fizikai tényezőket Sand (2003) tárgyalja, a humuszanyagok szerepére azonban nem tér ki. Bizonyos esetekben a humuszanyagok jelentős kén tartalommal bírnak, ennek okaként szerzők szulfát redukció kénhidrogén egyes a folyamata során keletkező

humuszanyagokba való beépülését tételezik fel (*Francois, 1987; Ferdelman et al., 1991; Einsiedl et al., 2008*). Természetesen az eredeti szerves anyag eltérő kén tartalma is állhat a megfigyelés hátterében, bár ez kevésbé valószínű. A humuszanyagok bomlása nemcsak mikrobiológiai úton történhet, a vizes közegben lejátszódó bomlási folyamatok, mely az oxigén és nitrogén tartalom folyamatos csökkenését okozzák, a szerves anyag korának növekedésével előrehaladnak, azonban mértékük függ a felszín alatti víz kémiai jellemzőitől (pH, Eh, sótartalom) (*Pettersson et al., 1989*). Thurman (*1982*) felszín alatti és felszíni vízből kinyert huminsav és fulvósav frakciók kisszögű röntgen szórással (smallangle X-ray scattering, SAXS) meghatározott molekulaméret értékeit közli, eredményei alapján a vízi humuszanyagok mérete 500-10.000 Da közötti, a meghatározások többsége, illetve a fulvósavak tömege 2000 Da-nál kisebb értéket mutat. A felszín alatti vízből kinyert humusz frakciók alifásabb jelleget mutatnak nemcsak az elemi összetételből számított H/C atomi arány, hanem az 2925 cm<sup>-1</sup> hullámszámon mért infravörös abszorbancia értéke alapján is (*Thurman, 1985b*).

Ivóvíz, fürdővíz, illetve geotermikus energiahasznosítás céljából kitermelt termálvizek szerves anyag és humuszanyag tartalma alapvetően meghatározza a lehetséges felhasználást. A magyarországi felszín alatti vizek legnagyobb része, elsősorban a rétegvizek, ivóvízként való hasznosítása megfelelő vízkezelési technológia alkalmazásával lehetséges, máshol elegendő a fertőtlenítés (*Liebe, 2006*). Nagy humuszanyag tartalmú vizek esetén a fertőtlenítés nem alkalmazható a klórozás hatására képződő trihalometánok miatt (*Rook, 1974*). László & Hodúr (2007) termálvíz nagy szerves anyag és ion tartalmának csökkentésére membrán elválasztásos technikákat (fordított ozmózis, ultraszűrés, nanoszűrés) és ózonkezelést használt.

Termálvizek fürdővízként való alkalmazásával kapcsolatban meg kell említeni, hogy a hazai balneológusok körében néhány évvel ezelőtt kezdett kibontakozni az az elgondolás, hogy az eddigi, szervetlen ion tartalmon, illetve összetételen alapuló osztályozás – amely ma is érvényben van – felülvizsgálatra szorul. A gyógyvizek szerves frakcióinak és vegyületeinek megismerése kulcsfontosságú lehet a hatásmechanizmusok feltárásában (*Szuetta & Varga, 2009*). A szerves anyag tartalom egy részét alkotó humuszanyagok bizonyítottan gyulladáscsökkentő és antivirális hatásúak (*Klöcking & Helbig, 2005*). A humuszanyagok biológiai hatásának megismerése terén az utóbbi évtizedekben jelentős eredményeket értek el (*Khanna et al., 2009*).

A tisztán geotermikus energiahasznosítási célú termálvízkivétel a jövőben nem engedhető meg visszatáplálás nélkül, a lehűlt hévizeket vissza kell juttatni a termálvízadó rétegek közelébe. Néhány tanulmány született a lehűlt termálvizek visszasajtolása során nyert tapasztalatokból (Seibt & Kellner, 2003; Ungemach, 2003), azonban a szerves anyag, illetve humuszanyagok esetleges hatására nem tértek ki. A Hódmezővásárhelyi Geotermikus Közműrendszer visszasajtoló kutaiban használt 10-20 µm-es szövetszűrőkön megfigyelhető sötétbarna kiválások a szűrők eltömítése miatt megnövelik a kutak üzemben tartási költségeit. A kiválások eredete még nem tisztázott, de feltehetően a termálvíz nagyobb molekulájú szerves anyaga is hozzájárul ezekhez. A szerves anyag jellemzői (mérete, hidrofób és hidrofil jellege, töltése), a membrán, az oldat tulajdonságai, illetve a szűrőrendszer hidrodinamikai jellemzői is hatással van a membrán eltömődésére (Gray et al., 2007). Számos szerző tárgyalja a humuszanyagok lehetséges szerepét a különböző szűrők eltömődésében (Yuan & Zydney, 1999; Yu et al., 2008; Bessiere et al., 2009). Brons et al. (1991) felszín alatti vizek kitermelése és visszasajtolása során a vízadó rétegben fellépő biogeokémiai folyamatokat tanulmányozta. A visszasajtolt víz eltérő hőmérsékletének hatására megváltozott a felszín alatti víz összetétele. Egyrészt a szerves anyag bomlása CO<sub>2</sub>-t termelt, másrészt az üledékből a termálvízbe kerülő fulvósav hatással volt a kalcium- és magnézium-ásványok kicsapódására.

Végül megemlítem, hogy eddig még nem vizsgálták a felszínre kerülő termálvizekben a humuszanyagok képződésének lehetőségét. Giannakopoulos et al. (2009) egyszerű szerves savakból oxigén jelenlétében, lúgos pH-n (pH>9) lejátszódó polimerizáció révén humuszanyagokhoz hasonló vegyületeket állítottak elő. Kérdéses, hogy az oxigénmentes környezetből felszínre kerülő enyhén lúgos termálvizekben jelenlévő kis szerves molekulák oxigén jelenlétében polimerizálódnak-e, humuszanyagokhoz hasonló vegyületek képződnek-e. A vízmintavételt követő savazás nemcsak a vízminta tartósítását biztosítja, hanem megállítja a felszínre kerülő enyhén lúgos termálvizekben jelenlévő kis szerves molekulák oxigén jelenlétében esetlegesen lejátszódó polimerizációját is.

# 3. Kísérleti anyagok és módszerek

# 3.1. Anyagok

Humin- és fulvósavak kinyerése és vizsgálata során főként Reanal gyártmányú, analitikai tisztaságú vegyszereket, közegként nagytisztaságú ioncserélt vizet (Millipore) használtam. Az ettől való eltérések a módszerek leírása részben találhatók meg. A méréseket szobahőmérsékleten (25±1°C) és légköri nyomáson végeztem.

#### 3.1.1. Vízmintavétel

2006 februárjában, 2007 januárjában és 2008 februárjában Szeged és Makó környéki termálvíz kutakból 30-100 liternyi mennyiségben történtek a mintavételek. A kutak által termelt víz vagy közvetlenül kerül felhasználásra fürdővízként (makói strand), vagy hőtartalmát használják üvegházak és fóliasátrak (volt Móra Tsz és Floratom Kft. Szegeden, Benkő és Tsa Kft. Makón), valamint épületek fűtésére (makói kórház, újszegedi lakótelepi lakások). A kutak folyamatos üzemelése a téli szezonban biztosította, hogy nem csőben pangó víz került mintázásra. A vízminták előzőleg 1M NaOH-dal és desztillált vízzel, valamint a mintázandó vízzel átöblített (művese állomásokról származó eredetileg dializáló folyadékot –speciális sóoldat– tartalmazó műanyag) 10 literes kannákba kerültek. A kutak azonosítása kataszteri szám alapján lehetséges, továbbá a helyszínt is megjelöltem az egyszerűbb tájékozódás érdekében. A kutak ezen jellemzőit a talpmélység és szűrőzött mélység értékekkel, valamint a mintavételek időpontjaival az 2. táblázatban mutatom be. A volt Móra Tsz területén lévő kút eredeti talpmélysége 3471 méter, azonban 1851 méternél egy cementdugót helyeztek el, így a továbbiakban ezt tekintem a kút talpmélységének. A Floratom Kft. kútjának talpmélysége 2145 méter, azonban a szűrőzés lényegesen kisebb mélységig tart, az eredmények megfelelő értelmezéséhez ezért a szűrőzött mélység alját (1775 méter) használom a talpmélység jelölésére. A makói és szegedi kutak növekvő talpmélységük alapján vannak sorba rendezve. A 8. ábrán a kutak elhelyezkedését az 5. ábrán bemutatott geológiai szelvény részletén jelölöm.

Összesen hat (3 szegedi és 3 makói) kútból származó termálvizet vizsgáltam. A kutak a felső pannon rétegeket csapolják meg, a legmélyebb kút vize és a szegedi minták az Újfalui, míg a sekélyebb makói minták a Zagyvai Formációból származnak. Két makói kútból (993 és 2103 méter) többször is vettem mintát. A többszörös mintavétellel lehetőségem nyílt a termálvizek oldott szerves anyag, valamint huminsav és fulvósav tartalmának és jellemzőinek változását rövid időtartamon keresztül (3 év) tanulmányozni.

Kataszteri szám	Helyszín	Talpmélység (m)	Szűrőzött mélység (m)	Mintavétel
K-57	Makó (Strand)	993	752-884	2006 2008
B-226	Makó (Kórház)	1703	1622-1684	2006
K-159	Makó (Benkő és Tsa Kft.)	2103	1968-2099	2006 2007 2008
B-453	Szeged (Floratom Kft.)	1775 (2145)	1602-1775	2007
K-658	Szeged (volt Móra Tsz)	1851 (3471)	1659-1850	2007
B-384	Szeged (Hőszolg. Kft.)	1905	1750-1866	2007

**2. táblázat**: A termálvíz kutak kataszteri száma, helye, talpmélysége, szűrőzött mélysége és a mintavételek időpontjai (két esetben a talpmélységnél zárójelben az eredeti értékek szerepelnek)



8. ábra: Kataszteri számmal jelölt mintavételi kutak elhelyezkedése a geológiai szelvényen (a kutak szűrőzött mélység tartománya arányos a kutat jelölő fekete sáv hosszával)

A vízmintákat savazással tartósítottam tömény sósavval pH=2-es értékig. Ez egyben a vízi huminsav és fulvósav kinyerés első lépése is. A 2006-os és 2007-es mintavétel során a savazás csak a vízminták lehűlése után, a laborban történt. Az utolsó mintavételnél azonban a mintákat közvetlenül a felszínre kerülés után, a helyszínen savaztam le. Ekkor a korábbi évek tapasztalatai alapján adtam megfelelő mennyiségű tömény sósavat a kannákba kerülő mintákhoz. Minden mintavétel esetén néhány deciliternyi eredeti, azaz nem savazott vízmintát további vizsgálatokra félretettem. A mintafeldolgozás menetén azért módosítottam, hogy meghatározzam van-e, és ha igen, milyen változás történik a kinyert humin- és fulvósav frakciók tulajdonságaiban a termálvíz felszínre kerülése után az eltelt időtől függően. A módosítás révén lehetőségem nyílt a megváltozott körülmények (azaz csökkenő hőmérséklet és oxigén jelenléte) esetleges hatását tanulmányozni. A savazott vízminták a további feldolgozásig 5 °C alatti hőmérsékleten voltak tárolva.

#### 3.1.2. Huminsav és fulvósav kinyerés

A huminsav és fulvósav kinyerését a Nemzetközi Humuszanyag Társaság (International Humic Substances Society, IHSS) ajánlása alapján végeztem el. A módszer a vízi huminsav és fulvósav kinyeréséről és tisztításáról ("Method for Preparation of IHSS Aquatic Humic and Fulvic Acids") megtalálható a társaság honlapján (*http://www.ihss.gatech.edu/*). Sematikus ábra a kinyerés folyamatáról az **9. ábrá**n látható.

Néhány kiegészítést a kinyerést illetően fontos megemlíteni. Az IHSS ajánlásban első lépésként a vízminta 0,45 µm-es szűrőn való átengedése szerepel, azonban ezt a lépést kihagytam. Az IHSS ajánlását eddig rutinszerűen csaknem kizárólag folyók és tavak humusz frakcióinak kinyerésére alkalmazták. Ezekben az esetekben a jelentős mennyiségű lebegő anyag jelenléte szükségessé tette a szűrést. Felszín alatti vizekből a humusz frakciók kinyerésére eddig csak kevés példa volt. Thurman (*1985b*) vizsgált különböző vízadó rétegekből származó (homokkő, dolomit, mészkő) eltérő kémiai összetételű felszín alatti vizeket (Ca(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> and CaSO<sub>4</sub>) és elvégezte a humusz frakciók kinyerését. Tapasztalatai szerint felszín alatti vizek esetén nem szükséges a szűrés. Saját megfigyeléseim szerint is a kutak által kitermelt, felszínre hozott vizek esetén nem volt indokolt a szűrés.

A kinyerést bemutató sematikus ábrán néhány részlet nem szerepel, mivel törekedtem a lehető legáttekithetőbb bemutatásra. Mielőtt a vízmintákat a XAD-8 gyantát (Amberlite) tartalmazó oszlopokra engedtem volna, szükség volt a hozzáadott sósav hatására keletkező jelentős mennyiségű CO2 kibuborékoltatására. Perisztaltikus pumpával 15 percig levegőt pumpáltam a vízmintát tartalmazó kannákba. A továbbiakban a vízmintát szintén perisztaltikus pumpa segítségével 30-36 ml perc<sup>-1</sup>-es sebességgel áramoltattam át a XAD-8 gyantát tartalmazó oszlopokon. Egyéb esetekben, azaz a megkötődött humuszanyagok, illetve fulvósav frakció XAD-8 gyantáról való leoldása, valamint a Varion KSM (magyar) gyantát tartalmazó oszlopon a fulvósav átengedése során az oldatok (0,1 M NaOH és fulvósav) adagolását manuálisan végeztem el. A 0,1 M NaOH-os leoldást és a kationcserét is lassan kellett elvégezni, maximálisan 35 csepp perc<sup>-1</sup>-es sebességet tartottam. A Varion KSM gyanta kationcserélő funkciós csoportjai R-SO<sub>3</sub>, kapacitása 150 mmol 100 ml gyantánként. Továbbá a lúggal leoldott humuszanyagok savazását követően a kicsapódott huminsav és oldatban maradt fulvósav elválasztását, és a huminsav tisztítását Sorvall RC 5B Plus szupercentrifugával (DuPont) 10.000 fordulat perc<sup>-1</sup> -es sebességgel végeztem el.



9. ábra Huminsav és fulvósav kinyerése vízből az IHSS ajánlása alapján

#### 3.1.3. Referencia minta

Az 1981-ben megalakult Nemzetközi Humuszanyag Társaság létrehozott egy különböző forrásokból (folyó, tó, tenger, talaj, tőzeg, leonardit) meghatározott módon kinyert huminsav és fulvósav frakciókból álló gyűjteményt. Ezek a minták kereskedelmileg elérhetők. Ez a gyűjtemény és a társaság által kidolgozott kinyerés egységes használata lehetővé teszi, hogy a más forrásokból ugyanilyen módon kinyert minták egymással és a referencia mintákkal is összehasonlíthatók.

Az általam használt referencia minták a Suwannee folyóból (Georgia, USA) a korábban említett módszerrel kinyert fulvósav és huminsav volt. A minta angol elnevezése alapján az SRFA (Suwannee River Fulvic Acid) és SRHA (Suwannee River Humic Acid) rövidítést használom dolgozatomban. A referencia minták azonosító jele a gyűjteményben 1R101F, illetve 1R101H. A referencia minták számos tulajdonsága a társaság honlapján elérhető (*http://www.ihss.gatech.edu/*). Néhány esetben azonban külön ezeket a mintákat is vizsgáltam. A módszerek leírása részben megtalálható, hogy melyik esetben használtam a társaság által közzé tett adatokat, illetve vizsgáltam közvetlenül a refencia mintát.

# 3.2. Módszerek

#### 3.2.1. Szervetlen és szerves analitikai vízvizsgálatok

A kutak többsége már évek óta folyamatos ellenőrzés alatt áll. Helyszíni és labor vizsgálatok sokaságát végezték el. Az 1775 m-es talpmélységű kút (Floratom Kft.) az egyetlen, amelyről nincs hosszabb ideje vezetett nyilvántartás. A termálvizek szerves anyag (összes szerves szén, kémiai oxigénigény) és szervetlen ion tartalmára (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, Γ, F, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, S<sup>2-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, HBO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>, összlúgosság, keménység, fajlagos vezetőképesség, összes oldott szilárd anyag, azaz TDS) vonatkozó adatokat a korábbi évekről Kárpáti Zoltán (Országos Környezetegészségügyi Intézet, később Fővárosi Csatornázási Művek Zrt.) és Horváth István (Magyar Állami Földtani Intézet) bocsátották rendelkezésemre. Néhány korábbi mintavétel során végzett analízisek eredményei a **Függelék**ben megtalálhatók.

A 2007-es mintavételnél a Magyar Állami Földtani Intézet (MÁFI) munkatársai végeztek helyszíni és labor vizsgálatokat. A helyszínen mérték a kifolyó víz hőmérsékletét, pH-ját, fajlagos vezetőképességét, redoxpotenciálját. A fémionok meghatározásához savazott, 0,45 μm-en szűrt, az anionok meghatározásához tartósított, 0,45 μm-en szűrt mintákat vettek. A Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-ion tartalmat ICP-

OES technikával mérték meg. Az NH4<sup>+</sup>-ion tartalmat spektrofotometriával, a HCO3<sup>-</sup>-ion tartalmat titrálással határozták meg. Továbbá a laborban mérték szintén a vízminták pH-ját és fajlagos vezetőképességét, valamint az össz- és fenolftalein lúgosságot, az összes és karbonát keménységet, az összes oldott anyag tartalmat, illetve a permanganátos és bikromátos kémiai oxigénigényt is. A mintavételt követő néhány héten belül megtörténtek a mérések. Összehasonlításképpen a mintavételeket követően megmértem a vízminták pH-ját és meghatároztam a lúgosságát potenciometriás sav-bázis titrálással.

Az összes szerves szén (total organic carbon, TOC) tartalom meghatározását az Országos Környezetegészségügyi Intézetnél (OKI, Budapest), valamint a 2008-as mintavétel során a Dunántúli Regionális Vízmű Zrt.-nél (DRV, Siófok) végezték el.

A továbbiakban a termálvizek és a belőlük kinyert huminsav és fulvósav frakciók azonosítására a kutak talpmélység értékeit használom.

#### 3.2.2. UV-látható spektroszkópia

A spektrofotometriás vizsgálatokat Uvikon 930 UV-Vis kétsugaras spektrofotométerrel és Ocean Optics USB2000 spektrofotométerrel végeztem 1 cm optikai úthosszúságú kvarcküvettákat használva 200 nm-től 800 nm-ig terjedő hullámhossz tartományban. Az eredeti és savazott vízminták spektrumait az Uvikonnal, a kinyert huminsav és fulvósav mintákét az Ocean Optics-sal vettem fel.

# 3.2.3. Elemanalízis

A százelékos elemi összetétel (N, C, S, H tartalom) meghatározása Fisons NA1500 NCS elemanalizátorral 1010°C-on történt, az O tartalmat különbségként adták meg.

$$O\% = 100\% - (N\% + C\% + S\% + H\%)$$

Mivel az IHSS által ajánlott kinyeréssel sómentes humin frakciók szerezhetők, a megadott O tartalom nem foglal magában egyéb alkotókat. A méréseket Bruknerné Wein Alice a MÁFI-ban végezte el. A referenciaként használt SRFA és SRHA elemi összetételének jellemzésére az IHSS által közölt adatokat használtam.

A szénhidrát és aminosav meghatározás során is történt elemi összetétel vizsgálat. A szerves szén és nitrogén meghatározása Carlo Erba 1108 CHN analizátorral történt.

#### 3.2.4. Potenciometriás sav-bázis titrálás

Az eredeti vízminták és kinyert humin frakciók, valamint a referencia fulvósav minta (SRFA) potenciometriás sav-bázis titrálását végeztem el. A vízminták titrálási görbéjéből meghatározható a p- és m-lúgosság, és ezek ismeretében számolható a  $HCO_3^-$ ,  $CO_3^{2-}$  és OH<sup>-</sup>-ion tartalom. Humuszanyagok potenciometriás sav-bázis titrálásával pedig a funkciós csoportok deprotonálódási folyamatai révén kialakuló töltésmennyiséget tanulmányoztam.

A potenciometriás titrálásokat a tanszéken kifejlesztett GIMET1 automata titrálóberendezéssel végeztem, amely két 665 Dosimat (Metrohm) bürettából és egy konverteren keresztül kapcsolódó potenciométerből van felépítve, ehhez kapcsolódik a pH-szenzor (Radelkis OP-0808 P típusú kombinált üvegelektród) és a gázáramlást szabályzó szelep. Mindezek összehangolt működését egy személyi számítógépen futó, a tanszéken kifejlesztett AUTOTITR elnevezésű szoftver biztosítja. Az automatikus rendszer a megfelelő beállítások elvégzése után a titrálásokat a megadott paramétereknek megfelelően elvégzi és a mérési adatokat rögzíti. A titrálásokhoz a CO<sub>2</sub> mentes atmoszférát nitrogéngáz áramoltatásával, a reaktánsok homogén eloszlatását mágneses kevertetéssel biztosítottam. A titráló oldatokat a berendezéshez zárt csőrendszeren át csatlakozó edényben tároltuk, a méréseket szobahőmérsékleten végeztük. A titrálások előtt az oldatokat 15 percen keresztül N<sub>2</sub>-gázzal buborékoltattam át. Az állandó ionerősség biztosítása érdekében háttérelektrolitként NaCl-oldatot használtam, melynek koncentrációja 0,01 M volt.

A titrálás eredményét lényegesen befolyásoló tényezők: a használt elektród állapota, a háttérelektrolit mennyisége, minősége. Elengedhetetlen a titrálórendszer kalibrációja is. A pH kalibrációját kétnaponta végeztem, háromféle, ismert pH-jú pufferoldat (Radelkis sztenderdek) segítségével. A három pH-n mért kalibrációt csak akkor fogadtam el, ha a mérési pontokra illesztett egyenes Nernst-i meredekségű, az illeszkedés korrelációs együtthatója pedig 0,9998 feletti volt. A lúg (~0,1 M NaOH) mérőoldat hatóértékét átkristályosított benzoesavból készített 0.01 Μ koncentrációjú segédmérőoldattal, a sav (~0,1 M HCl) koncentrációját pedig a már ismert lúg koncentrációjának segítségével határoztam meg. A karbonát-mentesség ellenőrzése hidrazinszulfát mérőoldattal történt.

A mintavételek során félretett eredeti vízminták 15 ml-es mennyiségét titráltam. Néhány esetben szükség volt a vízminták hígítására Millipore vízzel. A kiértékelésnél ezt figyelembe vettem. A titrálási görbékből közvetlenül meghatározható a termálvizek lúgossága. A fenolftalein (p)-lúgosság pH 8,3-ig történő titrálásnál fogyott 0,1 M HCl mérőoldat térfogata 100 ml vízmintára vontakoztatva. Az összes vagy metilnarancs (m)lúgosság pH 4,5-ig történő titrálásnál fogyott mérőoldat térfogata. A p- és m-lúgosság értékeitől függően adott összefüggés alapján számolható a HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> és OH<sup>-</sup>-ion tartalom. A humin- és fulvósavak titrálásakor tapasztalt egyik különbség oka a frakciók eltérő oldhatósági jellemzői. A huminsavak műveleti definíciójából következően a humuszanyagoknak ez a frakciója csak lúgos pH tartományban oldódik, ezért ezek a minták a lúg oldattal való titrálás során oldódtak fel teljesen. Minden egyes titrálandó oldatot 50 ml-es térfogatban készítettem el. Az oldatok 80±20 mg L<sup>-1</sup> koncentrációban tartalmazták a mintákat. A titrálásokat pH 3-10,5 tartományban végeztem, az egyensúlyi feltétel 0,0002 pH sec<sup>-1</sup>, a mérési ciklus 15 sec, a kívánt pH változás 0,005 volt. Minden minta kezdeti pH értéke is rögzítésre kerül a titrálási adatsorban.

A huminsav és fulvósav minták titrálásakor mért adatok kiértékelését az egyensúlyi proton koncentráció számolása alapján végeztem, amely értékeket az ugyanolyan elektrolit koncentrációjú vak (azaz mintát nem, csak háttérelektrolitot tartalmazó) oldatok titrálási adataira vonatkoztattam. A minták titrálása egyensúlyi módban, a háttérelektrolitok titrálása lineáris módban történt. A vak oldat titrálásának célja a sav és a lúg egymásra vonatkoztatott titerének, illetve a savas és lúgos "oldalra" vonatkozó kísérleti aktivitási koefficiensek (a bemért H<sup>+</sup>/OH<sup>-</sup> koncentráció és az elektróddal mért aktivitási hányadosa) meghatározása:

$$S_a = \frac{c_{H^+}}{10^{-pH}}$$
$$S_b = \frac{c_{OH^-}}{10^{-pOH}} = \frac{c_{OH^-}}{10^{pH-pK_v}} = \frac{c_{OH^-}}{10^{pH-14}}$$

ahol S<sub>a</sub> és S<sub>b</sub> a savas és lúgos tartományban a titráláskor bemért mérőoldatok pontos hatóértékének ismeretében számolt proton- és hidroxidion-koncentrációk és a mért pHkból számolt aktivitások lineáris függvényeinek meredekségei, pK<sub>v</sub> = 14 a víz ionszorzata. A háttérelektrolit titrálása alapján a H<sup>+</sup>/OH<sup>-</sup> aktivitását a koncentráció függvényében ábrázolva (módosított Gran ábrázolás) az erre illesztett egyenes meredeksége tehát megadja a H<sup>+</sup>/OH<sup>-</sup> ionok kísérleti aktivitási együtthatóját. Ezeket felhasználva számoljuk a H<sup>+</sup> és OH<sup>-</sup> ionok felületi többletkoncentráció, n<sup>o</sup><sub>H+</sub> és a n<sup>o</sup><sub>OH-</sub> értékeit a titrálás minden pontjára a kiindulási és az egyensúlyi koncentrációk segítségével. Mivel híg oldatokból történő adszorpció esetén a felületi többletmennyiség ( $n^{\sigma}_{i}$ ) az oldott anyag (i) kiindulási és egyensúlyi koncentrációjának különbségével arányos és számítható,

$$n^{\sigma}_{i} = V \frac{c_{i,0} - c_{i,e}}{m}$$

ahol V a folyadékfázis térfogata és m az adszorbens tömege.

A huminsavak potenciometriás sav-bázis titrálási adatainak az anyagmérleg alapján történő kiértékelésével, a szilárd anyag egységnyi tömegére vonatkoztatott nettó felületi protontöbblet ( $n^{\sigma}_{H+/OH-} = n^{\sigma}_{H+} - n^{\sigma}_{OH-}$ ) pH-függvényeket kapunk (*Tombácz, 1999*). A felületi többletek definíciójának megfelelően a nettó felületi protontöbbletek negatív értékei a protonok adott mennyiségének a felületi hiányát jelentik, így egy disszociábilis savas funkciós csoportokkal bíró anyag esetén ez a mennyiség ellentétes előjellel éppen a disszociált savas funkciós csoportok mennyiségével egyenlő. A leggyakoribb feltételezés szerint a disszociáció két lépcsőben megy végbe, egy erősebb és egy gyengébb savas csoporthoz rendelve, amelyek azonosíthatók a karboxil és a fenolos hidroxil csoportok disszociációjával (*Tombácz, 1999*).



A töltéssel rendelkező fukciós csoportok mennyiségét a humin- és fulvósav minták C tartalmára vonatkoztattam. A számolást az elemanalízis által meghatározott C tartalom alapján végeztem el, így megkaptam a minták töltéssűrűségét mmol gC<sup>-1</sup> egységben. Majd adott pH értékre jellemző töltéssűrűség értékekből becsültem a minták karboxil és fenolos hidroxil csoport tartalmát. Gyakran használt tapasztalati módszer szerint pH 8-as értéken a töltéssűrűség a karboxil, míg pH 8 és pH 10 közötti töltéssűrűség-változás kétszerese a fenolos hidroxil csoportok mennyiségével egyenlő (*Ritchie & Perdue, 2003*).

#### 3.2.5. Szénhidrát és aminosav elemzés

A 2007-ben vett vízmintákból kinyert huminsav és fulvósav minták szénhidrát és aminosav elemzését a South Carolina Egyetemen végezték el (Ron Benner, Karl Kaiser, Columbia, USA). Ehhez kapcsolódóan a minták C és N tartalmát is mérték Carlo Erba 1108 CHN analizátorral. A referencia minták (SRFA és SRHA) szénhidrát és aminosav tartalmának jellemzésére az IHSS által közölt adatokat használtam.

A szénhidrát tartalom mérése, kisebb módosításokkal, Skoog és Benner által kifejlesztett módszerrel történt (*Skoog & Benner, 1997; Skoog et al., 1999*). Röviden összefoglalva, a mintákat 1,2 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-val hidrolizálták, majd kationcserélőn átengedve semlegesítették (*Kaiser & Benner, 2000*). A sómentesítés után a semleges aldózokat izokratikusan választották el 25 mM NaOH-dal PA 1 oszlopon, majd Dionex 500 amperometriás detektorral felszerelt készülékkel mérték.

Enantiomer aminosavakat OPA/IBLC (o-ftáldialdehid/N-isobutiril-L-cisztein) vagy OPA/IBDC (o-ftáldialdehid/N-isobutiril-D-cisztein) reagensekkel végzett származékképzés után 20 °C-on Agilent HP 1100 készülékkel, Licrospher 100 RP18 (250×4 mm, 5  $\mu$ m) oszlopon választották el. Az elválasztás előtt a mintákat 6 M sósavval hidrolizálták 20 órán keresztül 110 °C-on. Az enantiomer elválasztás másodlagos enantiomer centrumok hozzáadásával (IBLC és IBDC) történt. 30  $\mu$ L minta és 20  $\mu$ L IBL(D)C reagens befecskendezése után gradiens programot használtak az elválasztásra. 500 nmol L<sup>-1</sup>-nál nagyobb egyedi aminosav koncentráció esetén 10  $\mu$ L mintát 10  $\mu$ L 0,5 M bórsavval (pH 9,5) és IBL(D)C reagenssel elegyítettek. A mintákat felváltva mérték OPA/IBLC, illetve OPA/IBDC reagenssekkel (*Kaiser & Benner, 2005*).

## 3.2.6. FTIR spektroszkópia

Az infravörös spektrumokat Perkin Elmer 1600 FTIR spektrofotométerrel Bruknerné Wein Alice vette fel a MÁFI-ban. A méréseket a minták és kálium-bromid keverékéből készített pasztillákon végezte el. Az IHSS honlapján megtalálhatók a referencia minták infravörös spektrumai.

#### 3.2.7. Fluoreszcencia spektroszkópia

A minták fluoreszcenciáját 150 Watt-os Xenon lámpával rendelkező Horiba Jobin Yvon Fluoromax-4 spektrofluorométerrel vizsgáltam 1 cm optikai úthosszúságú kvarcküvettákat használva. A humin- és fulvósav mintákat 0,22 μm-es Millipore szűrőn szűrt nagytisztaságú ioncserélt vízzel és 0,1 M NaOH-dal feloldottam. Az elkészített enyhén lúgos kémhatású oldatok (pH=7-8,5) 7-10 mg L<sup>-1</sup>-es koncentrációban tartalmazták a mintákat. Az SRFA (pH=4; 8; 10) fluoreszcenciáját is vizsgáltam. Azonban a rendelkezésre álló csekély mintamennyiség miatt az 1851 méteres mélységből származó huminsav és fulvósav, valamint az 1905 méteres mélységből származó fulvósav mintát nem vizsgáltam. A gerjesztési és emissziós monokromátor réstávolságát minden esetben 3 nm-nek választottam.

#### 3.2.8. 1H-NMR spektroszkópia

A méréseket a DNT (Dél-Alföldi Neurobiológiai Tudásközpont) NMR laborjában Bruker AV 500 MHz-es készülékkel végeztem el. 2,9±0,2 mg mintát 40 tömeg%-os NaOD-ban és D<sub>2</sub>O-ban (Sigma-Aldrich) összesen 0,5 mL-es térfogatban oldottam fel úgy, hogy a végső ionerősség 0,04 M lett. 128 szken felvétele után Topspin 2.0 programmal alapvonal javítást végeztem, majd értékeltem a spektrumokat.

## 3.2.9. ESI-FT-ICR tömegspektrometria

A Fourier transzform ion ciklotron rezonancia tömegspektrometria méréseket elektroporlasztásos ionizációval negatív módban 12 Teslás szupravezető mágnessel és Apollo II elektroporlasztásos ionforrással felszerelt Bruker APEX Qe Fourier transzform tömegspektrométerrel végeztem a Helmholtz Zentrum München intézetben (Neuherberg, Németország).

A kinyert mintákat metanol és víz (LC-MS tisztaságú, Sigma-Aldrich) keverékében oldottam fel (a térfogat arányok 99:1 és 99,5:0,5 metanol:víz, 2 ml össztérfogatban) közvetlenül a mérés előtt. Az oldatok 10 mg L<sup>-1</sup> -es koncentrációban tartalmazták a huminés a fulvósavat. A huminsav oldatok készítésénél kevés NH<sub>4</sub>OH-ot használtam a minták teljes feloldásához (40  $\mu$ L 28 w% NH<sub>4</sub>OH). Az oldatokat fecskendő segítségével 2  $\mu$ L perc<sup>-1</sup> -es sebességgel vezettem be az ionforrásba. A spektrumokat 1000 szken után negatív módban vettem fel 4 MW (time domain) adatponttal, az átlagos felbontás (m/ $\Delta$ m50%, ahol m a tömeg és  $\Delta$ m50% a tömeg a csúcs félérték szélességénél) 500.000 volt.

A mérések előtt a tömegspektrométert először arginin klaszterekre, majd a mért spektrumokat zsírsavakra kalibráltam. Miután a pontos molekulatömeg meghatározás megtörtént, az összegképletek számolása következett egy az intézetben kifejlesztett program segítségével. A következő feltételeket alkalmaztam: a maximális atomszám C esetén 100, O esetén 80, N esetén 5, S esetén 2, valamint a H atomszám korlátlan, különböző atomi arányokra vonatkozó határértéken belül, azaz 0<H/C<2,5 és 0<O/C<1, továbbá a N-szabály. A számolások csak egyszeres töltésű molekuláris ionokra vonatkoztak. Az adott molekulaképlet ( ${}^{I2}C_{c}{}^{16}O_{o}{}^{14}N_{n}{}^{32}S_{s}{}^{1}H_{h}$ ) csak abban az esetben lett elfogadva, ha a  ${}^{13}$ C izotópot tartalmazó molekulának ( ${}^{I2}C_{c-1}{}^{I3}C_{1}{}^{16}O_{o}{}^{14}N_{n}{}^{32}S_{s}{}^{1}H_{h}$ ) megfelelő csúcs, azaz 1,0034 daltonnal nagyobb értéknél lévő csúcs is megtalálható volt a

spektrumban. A molekulaképlet hozzárendelés és <sup>13</sup>C izotóp keresés esetén 1 ppm-nél kisebb eltérés volt megengedve. Azaz egyrészt az adott molekulaképletre számított elméleti és a mért molekulatömeg érték közötti eltérés, másrészt a <sup>13</sup>C izotópot tartalmazó csúcsra várható érték is ±1 ppm-nél kisebb kellett, hogy legyen. Általában a tapasztalt eltérés 0,5 ppm-nél kisebb volt, azaz

$$\frac{\left|t\ddot{o}meg_{m\acute{e}rt} - t\ddot{o}meg_{elm\acute{e}leti}\right|}{t\ddot{o}meg_{elm\acute{e}leti}}10^{6} < 0.5$$

A meghatározás feltételei, valamint a <sup>13</sup>C izotópot tartalmazó molekula jelenlétéhez (1,0034 Da) kapcsolódó érvényesítés alapján a molekuláris ionok egyszeres töltésűként kerültek meghatározásra. Esetlegesen jelenlévő többszörös töltéssel bíró molekuláris ionok meghatározására nem tértem ki, ebben az esetben figyelembe véve a <sup>13</sup>C izotóp 1,07%-os természetes gyakoriságát a <sup>13</sup>C izotópot tartalmazó molekula 0,5017 daltonnal nagyobb érték mellett jelenne meg. További részletek Gáspár et al. (*2009*) közelmúltban megjelent pulikációjában találhatók.

# 3.2.10. Szilárd fázisú extrakció

A 2008-as mintavétel során a korábbi évektől eltérően nemcsak a humuszanyag kinyerésére használt XAD gyantán történő megkötés céljából vettem vízmintákat. A legsekélyebb és legmélyebb kút vizének szerves anyag tartalmát C18 töltetet tartalmazó szilárd fázisú extrakciós (SPE, solid phase extraction) oszlop alkalmazásával közvetlenül is vizsgáltam. A huminsav és fulvósav kinyerés során alkalmazott módosított mintavételhez hasonlóan a termálvíz felszínre kerülését követően azonnal, illetve 1 nap állás után savaztam le a vízmintákat, majd -20 °C-on fagyasztva tároltam az SPE oszlopokon történő megkötésig. 10 mm átmérőjű, 50 mm hosszú Varian Elut Bond (Agilent) oszlopokat használtam, melyeket először 1 ml metanol, majd 1 ml vízzel átmostam. A pH=2-re savazott vízminták 2 ml-ét 1 csepp perc<sup>-1</sup>-es sebességgel átengedtem az oszlopon. Az oszlopot 1 ml vízzel átmostam, a megkötődött komponenseket pedig 0,5 ml metanollal leoldottam, melyek ESI-FT-ICR tömegspektrometriával közvetlenül vizsgálhatók. A spektrumokat 500 szken után negatív módban vettem fel, majd számos természetes szerves anyag (NOM) mérési eredményei alapján a Helmholtz Zentrum München intézetben összeállított kalibráló sor tagjai szerint kalibráltam. A pontos molekulatömeg meghatározás után a molekulaképlet hozzárendelés és <sup>13</sup>C izotóp keresés ugyanazon feltételek szerint történt, mint a huminsav és fulvósav frakciók vizsgálata során.

# 4. Kísérleti eredmények és értékelésük

### 4.1. Vízminták jellemzése

Munkám során célom volt a termálvizek szerves anyag tartalmának egy részét, a humuszanyagokat vizsgálni. Üledékes környezetben a szervetlen és szerves reakciók nem tekinthetők egymástól független folyamatokként (*Kharaka et al., 1985*). Ezért szükségesnek tartom egy rövid általános ismertetést adni ezen termálvizek legfontosabb jellemzőiről a szervetlen és a szerves anyag tartalomra vonatkozóan egyaránt.

## 4.1.1. Fizikai jellemzők és szervetlen anyag tartalom

A termálvízkutak mélységétől függően a felszínre kerülő vizek 41 és 83 °C közötti hőmérsékletűek voltak. Ezek a termálvizek NaHCO3 típusúak enyhén lúgos kémhatással (pH>7) és jelentős oldott anyag tartalommal (TDS, total dissolved solid). A termálvizek legfontosabb fizikai és kémiai jellemzőit a kutak talpmélység és szűrőzött mélység értékeivel a 3. táblázatban mutatom be. Elsősorban több éve, évtizede termelő kutakat vizsgáltam, az összetételt jellemző értékek esetenként nagy szórása utalhat kútkarbantartás vagy kútkiképzés megváltoztatása miatt rövidebb-hosszabb időre megzavart termelési körülményekre. A vizsgálati eredmények átlagát és ezek szórását a 2006-os és 2007-es, valamint korábbi mintavételek adatbázisából (Függelék) számítottam. Mivel az 1775 méteres kútról nincs hosszabb ideje vezetett nyilvántartás, ezért a táblázatban csak a 2007es mintavételi eredmények szerepelnek. A mérési adatok alapján a kutak vizének összetétele a legtöbb esetben csekély változást mutat. A felszínre kerülő termálvizek hőmérsékletét és a kutak szűrőzött mélység értékeit összevetve megállapítható, hogy a makói minták növekvő hőmérsékletet és mélységet mutatnak, a hasonló hőmérsékletű szegedi minták pedig közel azonos szűrőzött mélységből származnak, illetve a mélységtartományok átfedik egymást. A szegedi termálvizek hőmérséklete az 1703 és 2103 méteres talpmélységű, makói kutak vizéhez hasonló.

Általános tapasztalat, hogy a Na<sup>+</sup> és HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-ion koncentráció nő a mélység és a hőmérséklet függvényében (*Varsányi et al., 1997*). A makói minták (993, 1703 és 2103 méter) esetén ez a megállapítás helytálló, a változások jól követhetők. A szegedi minták esetén az iontartalmat jellemző szórás értékek a makói mintákhoz képest nagyobbak. Az 1775 és 1905 méteres talpmélységű kutak vizének Na<sup>+</sup> és HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-ion koncentrációja elég jó egyezést mutat. Ugyanakkor az 1851 méteres talpmélységű kút vize a vártnál kisebb iontartalommal bír. Ez alapján elmondható, hogy bár a szegedi kutak egymáshoz közeli

Talpmélység (m)	Szűrőzött mélység (m)	Víz- hőmérséklet (°C)	pH helyszín	Összes oldott szilárd anyag (mg L <sup>-1</sup> )	$Na^+$ (mg L <sup>-1</sup> )	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (mg L <sup>-1</sup> )
993	752-884	41,4±1,5	8,01±0,15	1343±40	334±20	936±26
1703	1622-1684	75,5±0,9	7,72±0,06	2438±47	600±20	1630±69
2103	1968-2099	83,2±2,6	7,48±0,06	3878±80	1027±31	2684±52
1775	1602-1775	78,3	7,68	2944	790	1993
1851	1659-1850	76,7±7,6	7,75±1,14	1886±140	462±24	1273±155
1905	1750-1866	81,4±5,3	8,10±0,25	2809±414	738±104	1875±321

szűrőzött mélységtartományból termelik ki a vizet, mégis adódnak különbségek a szervetlen ion összetételben.

*3. táblázat*: A termálvizek legfontosabb fizikai és kémiai jellemzői, a minták azonosítására a kutak talpmélység és szűrőzött mélység értékei szolgálnak

Potenciometriás sav-bázis titrálással meghatároztam a 2006-os, 2007-es mintavétel során vett vízminták p- és m-lúgosságát, ezek ismeretében számítottam a termálvizek HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>-2-</sup> és OH<sup>-</sup>ion tartalmát. A 2006-os minták potenciometriás titrálási görbéit a **10. ábrá**n mutatom be. A p- és m-lúgosság viszonya (2p<m) alapján megállapítható, hogy a vizek OH<sup>-</sup>-iont nem tartalmaznak. A számítások eredményei a **4. táblázat**ban vannak összefoglalva. 2006-ban a titrálásokat a mintavételt követő 2 hónapon, 2007-ben 10 napon belül elvégeztem. A mérések elvégzéséig a vízmintákat 5°C alatt tároltam.



10. ábra: A 2006-os mintavétel során vett vízminták potenciomtriás titrálási görbéi

A helyszínen és a laborban, a titrálás előtt mért pH értékeket összehasonlítva látszik (**3. és 4. táblázat**), hogy a mintavételt követően a pH minden esetben nő, mivel a felszínre kerülő termálvízben megváltozik a  $H_2CO_3$ ,  $HCO_3^-$ ,  $CO_3^{2-}$  specieszek eloszlása. A  $CO_2$ 

vízből való távozása a pH növekedését okozza. A mért pH értékekben és változásukban azonban mélységtől, illetve hőmérséklettől függő eltérések nem tapasztalhatók. Az ily módon meghatározott HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-ion tartalom jellemzően kisebb összehasonlítva a több mintavételből vont átlag értékekkel (**3. táblázat**), ennek nyilvánvaló oka a mintavétel után eltelt hosszabb idő. Az 1775 és 1905 méteres talpmélységű kutak vizének potenciometriás titrálással meghatározott HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-ion koncentrációja jelentősen eltér, szemben a **3. táblázat** ban bemutatott eredményekkel. Az 1851 méteres talpmélységű kút vizére ugyanakkor a **3. táblázat** adatainak megfelelően a 993 és 1703 méteres talpmélységű kutak vizére kapott HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-ion koncentrációk közötti érték adódott.

Talpmélység	pН	hígítás	p-lúgosság	m-lúgosság	HCO <sub>3</sub>	$CO_3^{2-}$
(m)	titrálás előtt	8	$(mgeé L^{-1})$	$(mgeé L^{-1})$	$(\text{mg } L^{-1})$	$(\text{mg } L^{-1})$
993	8,94	nincs	0,7	14,9	819	43
1703	9,07	nincs	1,9	25,5	1318	117
2103	8,87	háromszoros	1,9	44,5	2481	116
1775	8,79	háromszoros	1,5	35,7	1999	90
1851	8,80	kétszeres	0,8	21,2	1193	51
1905	9,06	kétszeres	1,5	25,8	1387	93

**4. táblázat**: A termálvizek potenciometriás sav-bázis titrálása alapján a p- és m-lúgosság értékeiből a hígítás figyelembevételével számított hidrokarbonát- és karbonátion tartalmak

# 4.1.2. Szervesanyag-tartalom

A szervesanyag-tartalom jellemzésére az  $NH_4^+$ -ion koncentrációt, valamint a teljes szerves széntartalom (total organic carbon, TOC) és kémiai oxigénigény (KOI) értékeit használom (**5. táblázat, 11. ábra**). A KOI meghatározása többféle módszerrel történt, így a kapott eredmények is eltérőek, az alsó index jelöli a lúgos és savas közegű permanganátos (pl és ps), illetve bikromátos (b) meghatározást. A vízminták UV abszorpciója is alkalmas a szerves anyag tartalmuk összehasonlítására (**12. ábra**). Az NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-ion koncentráció, valamint KOI<sub>pl</sub> esetén az átlag és szórás értékeket a korábban említett mintavételi eredményekből számoltam, hasonlóan a **3. táblázat**ban megadottakhoz. A TOC, KOI<sub>ps</sub> és KOI<sub>b</sub> esetén az alsó index a meghatározás évét jelenti. Egyéb eredmények nem álltak rendelkezésemre.

A termálvízben és üledékben jelenlévő nitrogént is tartalmazó szerves anyag bomlásából származik az  $NH_4^+$  tartalom (*Varsányi et al., 2002*). A bomlási folyamatok előrehaladásával nő a vizek  $NH_4^+$ -ion koncentrációja, de természetesen ez a szerves anyag minőségétől is függ. Az  $NH_4^+$ -ion tartalom változása hasonló, de nem teljesen egyező

tendenciát mutat, mint a szervetlen anyag tartalom (Na<sup>+</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) mélységtől, illetve hőmérséklettől függő változása. Mivel elég nagy szórás jellemzi az 1703 méteres mélységből származó minta NH<sub>4</sub><sup>+</sup> tartalmát (**5. táblázat**), ezért a kiugró érték nélkül is meghatároztam az átlagot és szórást (14,0±1,4). Összehasonlításképpen a kutak talpmélységének függvényében ábrázoltam a termálvizek NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-ion koncentrációját (**11. ábra**). Látható, hogy az 1851 méteres talpmélységű kút vizének NH<sub>4</sub><sup>+</sup> tartalma a korábbiakban bemutatott szervetlen anyag tartalomhoz hasonlóan a 993 és 1703 méteres talpmélységű makói kút vize közötti értéket mutat (a kiugró érték nélküli átlag figyelembevételével). Továbbá az 1703 méteres talpmélységű és a két másik szegedi kút (1775 és 1905 méter) NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-ion tartalma jó egyezést mutat.

Talpmélység (m)	$NH_4^+$ (mg L <sup>-1</sup> )	$TOC_{1995}$ (mg L <sup>-1</sup> )	$\frac{\text{TOC}_{2008}}{(\text{mg L}^{-1})}$	$KOI_{pl}$ (mg L <sup>-1</sup> )	$KOI_{ps (2007)}$ (mg L <sup>-1</sup> )	$KOI_{b (2007)}$ (mg L <sup>-1</sup> )
993	3,6±0,3	8,5	6,1	6,3±1,1		-
1703	20,0±10,4	17,6	-	13,0±2,6	-	-
2103	16,2 <b>±</b> 2,3	-	138,8	-	16,4	-
1775	12,8	-	-	-	9,9	20,9
1851	9,6±2,5	-	-	-	5,5	48,0
1905	12,4±1,5	-	-	-	9,9	68,0

5. táblázat: A termálvizek szerves anyag tartalmát jellemző mutatók



11. ábra: A vízminták NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-ion koncentrációja a kutak talpmélységének függvényében

A vízminták UV-látható spektrumait a **12. ábrá**n mutatom be. Jellemző az erős abszorpció az UV-tartományban. Mivel számos kromofór együttes abszorpciója hozza létre a spektrumot, ezért alakja jellegtelen. A vízminták szerves anyag tartalmának időbeli állandóságának tanulmányozásához a 993 és 2103 méteres talpmélységű kútból több mintavétel során vett vízminták UV-látható spektrumait az **13. ábrá**n mutatom be. Ez

alapján úgy tűnik, hogy az UV abszorpcióért felelős anyagok mennyisége, minősége nem változott ez alatt a rövid időtartam alatt (3 év).



12. ábra: Vízminták UV-látható spektrumai, a kinagyított rész mutatja az UV abszorpciót



**13. ábra:** A 993 és 2103 méteres talpmélységű kútból több mintavétel során vett vízminták UV-látható spektrumai (a mintavétel évszámával jelölve)

# 4.2. Huminsav és fulvósav kinyerése

A vízminták szervetlen és szerves anyag tartalmának rövid, általános jellemzése után az oldott szerves anyag tartalom humuszanyag frakciójával foglalkozom részletesebben.

Mint a "Kísérleti anyagok és módszerek" részben már említettem a huminsav és fulvósav frakciók kinyerését a Nemzetközi Humuszanyag Társaság ajánlása alapján végeztem el. A kinyerés folyamatát az előző fejezetben a **9. ábra** részletezi.

# 4.2.1. Különbségek a huminsav megjelenésében a termálvíz mélységétől függően

A vízminták humuszanyag tartalmának XAD-gyantán történő koncentrálása, majd 0,1 M NaOH-dal való leoldása után az oldatokat tömény sósavval azonnal lesavaztam, majd 24 óráig állni hagytam. Ezalatt a két humusz frakció teljesen elvált, mivel savas pH-n a huminsav kicsapódott, a fulvósav azonban oldatban maradt. Erről az állapotról fényképet készítettem, ami a **14. ábrá**n látható. A legmélyebb kút kivételével a termálvizek huminsav frakciójára az ábra bal oldalán bemutatott megjelenés jellemző, míg a 2103 méteres talpmélységű kútból vett vízminta esetén a jobb oldali megjelenést tapasztaltam (minden évben). Savas pH-n a huminsav általában finom, pelyhes csapadékot képez, a legmélyebb kút esetén azonban ragadós hidrofób jellegű részecskék formájában volt jelen. Ez a ragadós jelleg megnehezítette a huminsav további frakcionálását és tisztítását, mivel a részecskék könnyen az üveg- és műanyag eszközökhöz tapadtak. Nyilvánvaló, hogy ennek az eltérő megjelenésnek az oka a huminsav megváltozott tulajdonságaiban kereshető, azonban konkrét választ erre még nem tudtam adni.



**14. ábra:** A 993 méteres (bal) és 2103 méteres (jobb) talpmélységű kútból vett vízminták feldolgozása során megfigyelhető különbségek a huminsav frakció megjelenésében

## 4.2.2. Huminsav és fulvósav koncentráció és arányaik meghatározása

Az alkalmazott módszer révén nagy tisztaságú (hamutartalom<1,0%) humusz frakciók nyerhetők ki preparatív mennyiségben. A kinyert frakciók tömegét a vízminta térfogatára vonatkoztatva a humusz frakciók koncentrációja megadható, ennek meghatározási pontossága  $\pm 0.2 \text{ mg L}^{-1}$  (6. táblázat). A legkisebb humusz tartalommal az 1851 méteres talpmélységű kút vize bír, a legmélyebb szűrőzött mélységű kút vizének humusz tartalma pedig a legnagyobb. Fontos megemlíteni, hogy valamennyi vizsgált termálvízben az összes humuszanyag koncentrációja meghaladja az 1 mg  $L^{-1}$ -es értéket. Thurman (1985a) eredményei alapján arra következtethetünk, hogy a vizsgált termálvizek olyan vízadó rétegekből származnak, melyek szerves anyagban gazdag vízből kapnak utánpótlást, vagy szerves anyagban (kerogénben) gazdag üledékekkel vannak kapcsolatban, de olajmező szerves anyagával nem állnak kapcsolatban. A vizsgált területeken az üledékekben III típusú kerogén lignit formájában van jelen (Hetényi, 1992; Kárpáti et al., 1999). A mélyebb termálvizekből kinyert nagyobb huminsav és fulvósav tartalom nem feltétlenül jelent humuszanyag képződést, inkább különböző szerves anyag tartalmú üledékek jelenlétére utalhat, azaz helyi különbségek előfordulhatnak. További értelmezéshez figyelembe kell venni a termálvizek összes szerves szén tartalmát is, azonban erre vonatkozó adatok sajnos csak hiányosan álltak rendelkezésemre. A humuszanyag koncentráció és TOC aránya a makói mintákban csökken (0,4-ról 0,1-re), az 5. és 6. táblázatban közölt eredmények alapján számoltam, külön nem jelölöm. Ez a megfigyelés korábbi eredményekkel is összhangban van (Kárpáti et al., 1999). A vizsgált termálvizekben a huminsav tartalom nagyobb, mint a fulvósav tartalom, illetve az 1851 méteres talpmélységű kút vizében közel azonos. A frakciók koncentrációjának aránya (HA:FA) pedig eltér a felszíni vizek esetén Perdue & Ritchie (2003) által megfigyelt 1:3 aránytól. A humusz koncentráció összes szerves szénhez képest, valamint a fulvósav tartalom huminsav tartalomhoz viszonyított csökkenése alapján feltételezhetők olyan kémiai és/vagy biogeokémiai reakciók, melyek a fulvósav frakció molekuláinak kisebb szerves vegyületekké történő bomlásáért felelősek. A fulvósav tartalom viszonylagos hiányának további oka lehet még, hogy a kerogén és felszín alatti víz reakciójából származó komponensek döntően a huminsav frakcióba tartoznak.

A **6. táblázat**ban a termálvizek 260 és 420 nm-en mért abszorbanciáját is bemutatom (szórás ±0,05 és ±0,06). A különböző hullámhosszakon mért abszorbancia értékek alakulása az összes humuszanyag koncentrációjának függvényében a **15. ábrá**n tanulmányozható. Az abszorbancia értékek változása a termálvízből kinyert humusz frakciók koncentrációjának alakulását követi, azaz a humuszanyagok jelentősen hozzájárulhatnak a fényelnyeléshez.

Talpmélység	НА	FA		Összes	Abszorbancia	
(m)	$(\text{mg } \text{L}^{-1})$	$(\text{mg } \text{L}^{-1})$	HA:FA	humuszanyag (mg L <sup>-1</sup> )	260 nm-en	420 nm-en
993	1,9	1,0	2:1	2,9	0,298	0,025
1703	2,1	0,9	2:1	3,0	0,375	0,020
2103	6,9	2,6	3:1	9,5	1,063	0,056
1775	2,0	1,0	2:1	3,0	0,533	0,025
1851	0,7	0,6	1:1	1,3	0,228	0,016
1905	3,0	0,5	6:1	3,5	0,396	0,043

6. táblázat: A kinyert humuszanyagok mennyisége (mg) alapján a huminsav és fulvósav koncentrációjának (mg L<sup>-1</sup>) meghatározása adott térfogatú vízmintákban (L) (HA és HA), valamint ezen frakciók aránya (HA:FA), összege (összes humuszanyag), továbbá a vízminták abszorbanciája 260 és 420 nm-es hullámhosszon



**15. ábra:** A vízminták 260 és 420 nm-en mért abszorbanciájának változása a kinyerés alapján meghatározott összes humusz koncentráció függvényében

# 4.3. Huminsav és fulvósav jellemzése

Ebben a részben rátérek a kinyert huminsav és fulvósav minták jellemzésére kezdve az átlagos összetételt leíró elemanalízistől több spektroszkópiai módszeren át a molekuláris szintű információkat biztosító ultra nagy felbontással bíró FT-ICR (Fourier transform ion cyclotron resonance) tömegspektrometriás vizsgálatig. Az általános jellemzés mellett a tulajdonságok esetleges mélység, illetve hőmérséklet függő változásának felderítése is célom volt. A három, egymást követő évben végzett kinyerés, illetve a módosított mintaelőkészítést követő kinyerés eredményeként kapott frakciók tulajdonságait is összehasonlítottam. Így egyrészt a huminsav és fulvósav jellemzők rövid időtartamon (3 év) belüli állandóságát, illetve a módosított mintaelőkészítés (2008) hatását tanulmányoztam.

# 4.3.1. Elemi összetétel

Az elemanalízis eredményeként kapott százalékos elemi összetétel és az ebből számított atomi arányok a **7. táblázat**ban szerepelnek. A kapott eredmények a párhuzamos mérések és ismételt mintavétel alapján kapott átlag értékek, a meghatározást jellemző szórás az egyes elemek esetén: C  $\pm 2,24$ ; H  $\pm 0,28$ ; N  $\pm 0,23$ ; S  $\pm 0,42$ ; valamint O  $\pm 2,47$ . A referenciaként használt SRHA és SRFA elemi összetétele a táblázat végén található. A termálvízből kinyert humusz frakciók esetén is igaz a megállapítás, hogy huminsav nagyobb C és N, viszont kisebb O tartalommal bír, mint a fulvósav. A minták H tartalma csupán csekély különbséget mutat. A fulvósav minták nagyobb O/C és H/C atomi aránnyal jellemezhetők, mint a megfelelő huminsav minták.

Talpmélység	Huminsav								
(m)	С	Н	Ν	S	0	O/C	H/C		
993	58,78	4,28	2,22	1,70	33,02	0,42	0,87		
1703	63,35	4,95	1,97	1,20	28,53	0,34	0,94		
2103	63,68	5,23	1,68	1,03	28,40	0,33	0,99		
1775	61,36	4,82	2,37	1,42	30,03	0,37	0,94		
1851	58,03	4,25	2,05	3,95	31,72	0,41	0,88		
1905	55,36	5,33	5,89	1,73	31,69	0,43	1,16		
SRHA	52,89	4,14	1,17	0,58	43,40	0,62	0,94		

Talpmélység	Fulvósav								
(m)	С	Н	Ν	S	0	O/C	H/C		
993	53,19	4,13	1,28	1,70	39,70	0,56	0,93		
1703	56,03	4,85	1,01	1,31	36,80	0,49	1,04		
2103	58,01	5,48	0,74	0,90	34,78	0,45	1,13		
1775	56,23	4,95	1,00	1,29	36,53	0,49	1,06		
1851	53,97	4,45	1,08	4,00	36,50	0,51	0,99		
1905	51,75	4,54	1,22	1,96	40,53	0,59	1,05		
SRFA	53,04	4,36	0,75	0,46	43,91	0,62	0,99		

7. táblázat: A kinyert huminsav és fulvósav minták, valamint a referencia minta átlagos százalékos elemi összetétele és atomi arányai

Talpmélység	Huminsav							
(m)	С	Н	Ν	S	0	O/C	H/C	
993	58,46	4,33	2,24	1,69	33,28	0,43	0,89	
2103	58,01	4,72	1,51	0,93	34,83	0,45	0,98	
Talpmélység	Fulvósav							
(m)	С	Н	Ν	S	0	O/C	H/C	
993	50,69	4,16	1,28	1,17	42,70	0,63	0,98	
2103	58,20	5,73	0,61	0,58	34,88	0,45	1,18	

8. táblázat: A 2008-as mintavételből származó huminsav és fulvósav minták százalékos elemi összetétele és atomi arányai

A 2008-as mintavételből számazó minták elemi összetételét és atomi arányait a **8**. táblázatban mutatom be. Látható, hogy a 993 méteres mélységből származó termálvíz esetén a huminsav, míg a 2103 méteres mélységből származó termálvíz esetén a fulvósav minta elemi összetétele a módosított mintavétel ellenére is gyakorlatilag azonos a korábbi mintavételek eredményeivel (**7. táblázat**). A másik két minta (fulvósav 993 méteres és huminsav 2103 méteres mélységből származó termálvízből) esetén elsősorban a C és O tartalom mutat a szórás értékét kissé meghaladó különbséget. Azonban mindkét esetben a 2008-as évből származó minták kisebb C és nagyobb O tartalommal bírnak, mint a 2006-os, 2007-es mintavétel eredményei mutatják. Ezen eredmények alapján úgy tűnik, hogy a termálvízi eredetű humuszanyagok a termálvíz felszínre kerülését követően nem válnak oxigénben gazdagabbá, ekkor ugyanis a korábbi mintavételből származó mintáknak kellene kisebb C és nagyobb O tartalommal rendelkezniük.

Az 1851 és 1905 méteres talpmélységű kút vizéből kinyert frakciók a többihez képest eltérő S és N tartalommal bírnak. Valószínű, hogy a S és N tartalom nagyobb arányú megjelenése a mintákban különböző eredetű. A S tartalom egyébként jellemzően nem túl nagy a humuszanyagokban (huminsavban 1,8±1,6 és fulvósavban 1,2±1,2) (*Rice & MacCarthy, 1991*). A **Függelék**ben szereplő adatsorok a vízminták  $SO_4^{2-}$  és S<sup>2-</sup>-ion tartalmára vonatkozóan hiányosak. Az 1851 méteres talpmélységű kút vizének  $SO_4^{2-}$ -ion koncentrációja csupán 1,5 mg L<sup>-1</sup>, kisebb, mint a többi termálvízre jellemző érték. Elképzelhető a szervetlen formában lévő kén beépülése a nagy kéntartalmú huminsav és fulvósav frakció molekuláiba (*Heitmann et al., 2006; Einsiedl et al., 2008*). Ehhez megfelelő geokémiai feltételek szükségesek az adott üledékrétegben, ezek vizsgálata túlmutat a disszertáció keretein. Hasonlóan a nagy N tartalom oka az 1905 méteres talpmélységű kút vizének huminsav frakciójában sem tisztázott még. Általában a szerves anyag N tartalma fehérjékből, peptidekből származik. Az üledék szerves anyaga döntően III típusú kerogén (Hetényi, 1992), mely elsősorban a nitrogént gyakorlatilag nem tartalmazó ligninből származik. Azonban nemcsak az üledék szerves anyaga, hanem az üledék betemetődését követően а bomlási folyamatokban szerepet játszó mikroorganizmusok szervezetét felépítő biopolimerek is hozzájárulhatnak a vizek szerves anyag tartalmához. A nitrogén tartalmú szerves anyag bomlása során NH<sub>3</sub> képződik, ami NH4<sup>+</sup>-ionként van jelen a termálvízben, majd részben megkötődik az agyagásványokon (Árkai et al., 2004). A 11. ábrán (4.1.2. fejezet) látható az  $NH_4^+$ -ion koncentráció alakulása a termálvízben a kutak talpmélységének függvényében. Az 1905 méteres talpmélységű kút vize nem tartalmaz a többitől eltérő koncentrációban NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-iont. Feltételezhető, hogy az eredeti szerves anyag nagyobb mennyiségben tartalmazott nitrogént, így bár a bomlási folyamatok a többi üledékréteghez hasonló ütemben történtek, a szerves anyag eredeti nagyobb N tartalmának egy része megőrződött a huminsav frakcióban. A megfelelő fulvósav frakció kevesebb nitrogént tartalmaz, ennek értéke a második legnagyobb a többi fulvósavhoz képest. Továbbá megfigyelhető, hogy a nagy N tartalmú huminsav mintában a H tartalom is viszonylag nagy, a többi huminsavhoz képest a legnagyobb. Bár csak az elemi összetétel ismeretében nem lehet messzemenő következtetéseket levonni a humusz molekulák szerkezetéről, feltételezhető, hogy a nagy N tartalmú mintában a nitrogén egy része amin formában lehet jelen. A nagy N tartalmú minta egyben jelentős O tartalommal is bír, ez különösen a fulvósav frakció esetén szembetűnő. Olyannyira, hogy valamennyi minta közül az 1905 méteres talpmélységű kútból vett víz huminsav és fulvósav frakciója bír a legnagyobb O/C atomi aránnyal.

Mivel korábban még nem történt elemi összetétel vizsgálat 1000-2000 méteres mélység közötti vízadó rétegek vizéből kinyert huminsavra és fulvósavra vonatkozóan, ezért érdemes a kapott eredményeket más forrásanyagokból (pl. folyóvíz, talaj, tőzeg) kinyert anyagokéval összehasonlítani. Rice & MacCarthy (1991) cikkében közölt egyik ábrát átvettem, és ezen jelöltem a termálvízi eredetű huminsav és fulvósav minták atomi arányait (**16. ábra**). Látható, hogy valamennyi termálvízi eredetű humusz frakciót leíró atomi arányok az egyéb forrásanyagokból kinyert humuszanyagok atomi arányai által meghatározott tartományon belül helyezkednek el. Ez a tény igazolja azt a korábbi megállapítást, hogy a humuszanyagok kedvezményezett összetétel tartományban léteznek a természetben (*Rice & MacCarthy, 1991*). Továbbá látszik, hogy a termálvízi eredetű humuszanyagokhoz képest

kisebb atomi arányokkal jellemezhetők, azaz a diagram bal alsó részén csoportosulnak a pontok, ez különösen a fulvósav minták esetén szembetűnő. Ahogy már említettem a fulvósavak minták nagyobb O/C és H/C atomi aránnyal jellemezhetők, mint a megfelelő huminsav minták. Ez a különbség a van Krevelen diagramon elfoglalt területek helyzetén is látszik, nemcsak általánosságban, hanem a termálvízi humuszanyagok esetén is. A H/C atomi arány a különböző molekulák alifás/aromás jellege közötti különbség leírására szolgáló értéknek is tekinthető (*Rice & MacCarthy, 1991*). Ez alapján a fulvósav minták alifásabb, illetve kevésbé aromás jellegűek, mint a megfelelő huminsav minták.



 16. ábra: A termálvízből kinyert huminsav (fekete négyzet) és fulvósav (fekete kör) minták H/C és O/C atomi arányai van Krevelen diagramon jelölve; az eredeti diagram Rice & MacCarthy (1991) cikkéből átvett, a más forrásanyagokból kinyert humusz frakciók (vízszintes és függőleges csíkozás) atomi arányait mutatja

Tovább vizsgálva a termálvízből kinyert humusz frakciók elemi összetételét, a **17. ábrá**n az előző diagram kinagyított részleteit mutatom be, külön a huminsav és fulvósav mintákra úgy, hogy a kutak talpmélység értékeit is jelölöm. Mint már említettem az 1905 méteres talpmélységű kútból kinyert humusz frakciók a többi mintától elkülönülnek. A huminsav frakció kifejezetten nagy H/C, míg a fulvósav frakció szintén elég nagy O/C atomi aránnyal jellemezhető. A termálvizek szervetlen és szerves anyag tartalmára vonatkozó vizsgálatok eredményeinek megfelelően a humusz frakciók atomi arányainak változása is hasonló a kutak talpmélység értékeitől függően. A makói (993, 1703 és 2103 méter) kutak mélységének növekedésével a humuszanyagok O/C atomi aránya csökken, míg H/C atomi aránya nő. A két szegedi termálvíz (1775 és 1851 méter) humusz frakcióit jellemző atomi arányok a 993 és 1703 méteres mélységből számazó mintákhoz hasonló.



**17. ábra:** A termálvízből kinyert huminsav és fulvósav minták atomi arányai a kutak talpmélységei szerint

# 4.3.2. Funkciós csoportok mennyiségi és minőségi jellemzése

#### 4.3.2.1. Potenciometriás sav-bázis titrálás

A humuszanyagok sav-bázis tulajdonságait potenciometriás titrálással vizsgáltam. Az eredményül kapott pH-függő disszociációs görbék a 18. és 19. ábrán láthatók. A töltéssel rendelkező fukciós csoportok mennyiségét a humin- és fulvósav minták szén tartalmára vonatkoztattam, így a minták töltéssel rendelkező csoportjainak mennyiségét mmol  $gC^{-1}$  egységben kaptam meg. A negatív értékek a protonok adott mennyiségének hiányát jelentik, így disszociábilis savas funkciós csoportokkal bíró humuszanyag esetén ez a mennyiség ellentétes előjellel éppen a disszociált savas funkciós csoportok mennyiségével egyenlő. Mivel egyensúlyi titrálásokat végeztem, így a mintától függően eltérő ideig tartott a titrálás, azaz fulvósavak esetén átlagosan 60 percig, huminsavak esetén pedig 90 percig. A kapott disszociációs görbék alakja hasonló. A huminsav minták a titrálás folyamán oldódtak fel teljesen, hiszen savas tartományban nem oldódnak (műveleti definíciójuk szerint), ez a görbék alakján is látszik. Így pH 7-8 értékig a mért pontok által meghatározott görbék futása nem olyan sima, mint a fulvósavak vizsgálata során kapott görbék. Az ábrákon csak a lúggal végzett titrálás, azaz a felfelé ág szerepel. A savval végzett titrálás, azaz visszafelé ág során a görbék kissé eltérnek a bemutatottaktól (ezt külön nem ábrázolom), a titrálás során tapasztalt irreverzibilitás más szerzők által is gyakran tapasztalt jelenség (Santos et al., 1999; Ritchie & Perdue, 2008).

A **19. ábrá**n a különböző mintavételekből származó minták disszociációs görbéit hasonlítom össze, valamint az SRFA referencia minta titrálását is bemutatom. A görbék

alakja alapján elmondható, hogy a 3 éves időtartam alatt nem változtak a termálvízi minták sav-bázis tulajdonságai, illetve a módosított mintaelőkészítés nem volt hatással ezekre a jellemzőkre.



18. ábra: A huminsav és fulvósav minták pH-függő disszociációs görbéi



**19. ábra:** A különböző mintavételekből származó huminsav és fulvósav minták, valamint SRFA pH-függő disszociációs görbéi

A disszociációs görbék leírására több érték is használható. Egyrészt a titrálás kezdetén mért pH érték, ez a kezdeti pH érték a vizsgált fulvósavak esetén pH<4, míg huminsavak esetén pH>4. Az oldott állapotú fulvósav és huminsav minták kezdeti töltésállapota is különbözik, azaz a töltéssel rendelkező csoportok mennyisége a kezdeti pH értéken a fulvósavak esetén 3,6-5,0; míg huminsavak esetén 1,0-1,9 mmol gC<sup>-1</sup>. Az ábrák alapján látszik, hogy a fulvósavak töltéssel rendelkező csoportjainak mennyisége

minden pH értéken nagyobb, mint a huminsavakra jellemző. Az SRFA kezdeti pH és töltéssűrűség értéke a termálvízi fulvósavakhoz hasonló, azonban a pH=10-nél meghatározott teljes aciditás értéke kisebb (**19. ábra**). Ritchie & Perdue (*2003*) eredményeivel összehasonlítva megállapítható, hogy a termálvízi eredetű humuszanyagok a töltéssűrűség értékek alakulása alapján a szárazföldi humusz frakciókkal mutatnak rokonságot.

A kétféle humusz frakció mintái a pH=10-nél meghatározott teljes aciditás értékben eltérnek, az értékek a **9. táblázat**ban láthatók. A fulvósavak mindig nagyobb teljes aciditással bírnak. Adott pH értékre jellemző töltéssűrűség értékekből gyakran használt tapasztalati módszer alapján becsültem a minták karboxil és fenolos hidroxil csoport tartalmát (*Bowles et al., 1989; Ritchie & Perdue, 2003*). E szerint a töltéssűrűség pH=8 értéken a karboxil, míg pH=8 és pH=10 közötti töltéssűrűség-változás kétszerese a fenolos hidroxil csoport mennyiségével egyenlő. Az eredményül kapott funkciós csoport mennyiségeket a **9. táblázat**ban tüntettem fel.

Talpmélység (m)	Huminsav						
	Teljes aciditás (mmol gC <sup>-1</sup> )	COOH (mmol gC <sup>-1</sup> )	Fenolos-OH (mmol gC <sup>-1</sup> )	COOH : fenolos-OH			
993	10,3	8,3	4,1	2:1			
1703	10,5	8,2	4,6	2:1			
2103	10,6	8,4	4,4	2:1			
1775	11,1	8,4	5,5	1,5:1			
1851	nem mért	nem mért	nem mért	nem mért			
1905	8,3	6,1	4,3	1,5:1			

Talpmélység	Fulvósav						
(m)	Teljes aciditás (mmol gC <sup>-1</sup> )	$\begin{array}{c} \text{COOH} \\ (\text{mmol gC}^{-1}) \end{array}$	Fenolos-OH (mmol gC <sup>-1</sup> )	COOH : fenolos-OH			
993	15,4	13,2	4,5	3:1			
1703	15,1	13,3	3,7	4:1			
2103	16,6	14,1	5,1	3:1			
1775	15,6	13,5	4,1	3:1			
1851	14,7	11,7	6,0	2:1			
1905	15,6	12,9	5,4	2,5:1			
SRFA	12,3	10,3	4,0	2,5:1			

**9. táblázat:** A huminsavak és fulvósavak disszociációs görbéiből meghatározott teljes aciditás (pH=10) értékek, valamint a becsült karboxil és fenolos hidroxil csoport mennyiségek és ezek aránya

A meghatározást jellemző szórás párhuzamos titrálások alapján a karboxil csoport esetén ±1,0; fenolos hidroxil csoport esetén ±0,7. Huminsavak karboxil tartalmát vizsgálva az 1905 méteres mélységből származó minta valamivel kisebb értéket mutat a többi mintához képest. A fulvósav minták karboxil csoport tartalma közel azonosnak tekinthető, (kivételt az 1851 méteres minta jelent). A minták fenolos hidroxil tartalma nagyobb változatosságot mutat. Összehasonlítás céljából meghatároztam az SRFA karboxil és fenolos hidroxil tartalmát is. A kapott eredmények Ritchie & Perdue (2003) tanulmányában közölt értékektől (COOH: 12,23 és fenolos-OH: 3,11 mmol gC<sup>-1</sup>) eltérnek, elemzésem a karboxil tartalom esetén valamivel kisebb, míg fenolos hidroxil tartalom esetén nagyobb értéket adott. Továbbá megállapítható, hogy a fulvósavak 1,5-szer, 2-szer nagyobb karboxil csoport tartalommal bírnak, mint a huminsavak, ugyanakkor a fenolos hidroxil csoport tartalomra számított arány alapján sokkal kevésbé különböznek. Az eredmények alapján a becsült funkciós csoport tartalom mennyiségi változásait a termálvíz hőmérsékletétől függően nem tudtam megállapítani. Ezért számításokat végeztem arra vonatkozóan, hogy a humusz minták C és O tartalmának hány százaléka jelenik meg ezekben a funkciós csoportokban. A fulvósavak C tartalmának 15,8±1,0%, míg huminsavak esetén 9,5±1,2%-a vesz részt karboxil csoport felépítésében, a fenolos hidroxil csoportok pedig benzolgyűrűhöz való kapcsolódásuk révén a teljes C tartalom 33,1, illetve 34,6%-át alkotják. A fulvósavak O tartalmának 63,6±7,3%-a, illetve 11,8±3,0%-a járul hozzá a karboxil és fenolos hidroxil csoportokhoz. Huminsavak esetén az O tartalom 51,3±12,1%-a és 14,2±3,0%-a van jelen karboxil, illetve fenolos hidroxil csoportban. Az 20. ábrán a huminsav és fulvósav minták karboxil csoportjainak felépítésében résztvevő oxigén teljes O tartalomra vonatkoztatott százalékos mennyiségét mutatom a kutak talpmélységének függvényében. A jobb oldali diagramon az SRFA-ra számított értéket is jelölöm 0 méternél. A makói mintákban a mélység növekedésével a karboxil csoportban jelenlévő oxigén aránya nő. Az 1775 méteres mélységből származó humusz minták karboxilos O tartalma pedig a talpmélységnek megfelelően az 1703 méteres mintákra kapott eredményekhez áll közel. A nagy S és N tartalmú (1851 és 1905 méteres) minták elkülönülnek ezektől, és a legkisebb karboxilos oxigén tartalommal bírnak. Továbbá látható, hogy a referencia fulvósav minta karboxilos oxigén tartalma (39,8%) a termálvízi fulvósavakra jellemző értéknél kisebb, annak ellenére, hogy oxigén tartalma, O/C atomi aránya a legnagyobb a fulvósavak között (4.3.1. fejezet, 7. táblázat).



20. ábra: A huminsav (bal) és fulvósav (jobb) minták karboxil csoportjaiban lévő oxigén a teljes oxigén tartalom százalékában kifejezve a kutak talpmélységének függvényében (0 méteres talpmélységnél a felszíni vízi eredetű SRFA-ra számított értéket jelölve).

A továbbiakban vizsgáltam az egyes mintákban a funkciós csoportok arányát is (**9. táblázat**, utolsó oszlop). A pH alapú becsléssel meghatározott funkciós csoportok (COOH : fenolos-OH) aránya a termálvízi eredetű humisavakban 1,5:1 és 2:1, míg fulvósavakban 2,5:1 és 4:1-es tartomány között változik. Fulvósavak esetén kivételt jelent az 1851 méteres mélységből származó minta 2:1-es funkciós csoport aránnyal. SRFA esetén a COOH : fenolos-OH arány nagyjából 2,5:1-hez, míg Ritchie & Perdue (2003) tanulmányában ez az arány 4:1-nek adódott.

## 4.3.2.2. FT-IR spektroszkópia

A 993, 1703 és 2103 méteres talpmélységű kutak vizéből kinyert huminsav és fulvósav minták FT-IR spektrumait a **21. ábrá**n és **22. ábrá**n mutatom be. A spektrumok alakja jellemző a humuszanyagokra. Eltérés az egyes minták között az adott hullámszámokon tapasztalt abszorbanciabeli különbség. Stevenson & Goh (*1971*) tanulmányában közölt felosztás szerint az abszorpciós sávok jelenléte alapján a termálvízi huminsavak az első típusba tartoznak. Ugyanakkor a termálvízi fulvósavak a csoportosítás első és második típusa közötti átmenetet jelentenek, mivel a spektrumok 1720 cm<sup>-1</sup> körüli tartománynál jellegzetesen erős abszorpciót mutatnak. A spektrumok hasonlósága alapján feltételezhető, hogy a termálvízi eredetű humuszanyagok, azon belül is elsősorban a huminsavak az üledékes szerves anyagból származnak. A **22. ábrá**n a 2006-os, 2007-es és 2008-as mintavételekből származó huminsavak és fulvósavak infravörös spektrumait mutatom be. A különböző időpontokban vett vízmintákból kinyert humusz frakciók spektrumai alapján megállapítható, hogy a humuszanyagok minősége nem változott a 3 éves időtartam alatt, valamint a módosított mintaelőkészítés nem volt hatással a minták abszorpciós jellemzőire.


**21. ábra:** A 993, 1703 és 2103 méteres talpmélységű kutak vizéből kinyert huminsav és fulvósav minták FT-IR spektrumai (szaggatott vonalak jelölik az abszorpciós csúcsokat a 2925, 1710 és 1620 cm<sup>-1</sup>-es hullámszámnál)



22. ábra: A különböző mintavételekből származó huminsav és fulvósav minták FT-IR spektrumai

A továbbiakban a spektrumok néhány jellemző hullámszámánál mért abszorbancia értékeit hasonlítom össze. A kiválaszott hullámszámokat (2925, 1710 és 1620 cm<sup>-1</sup>) a **21. ábrá**n szaggatott vonallal jelölöm. Ezekhez a hullámszámokhoz tartozó abszorbancia értékeket a humuszanyagok alifás, karboxil és aromás tartalmának jellemzésére használom. A mért abszorbancia értékek a **10. táblázat**ban szerepelnek. Párhuzamos mérés és külön mintavételekből származó minták vizsgálata alapján becslést adtam az abszorbancia mérés pontosságára vonatkozóan. Huminsavak esetén 2925 cm<sup>-1</sup>-es hullámszámon ±0,03; 1710 cm<sup>-1</sup> esetén ±0,16; 1620 cm<sup>-1</sup>-en ±0,10 szórás értékeket kaptam. Fulvósavak esetén ugyanezekre a hullámszámokra vonatkozóan a következő eredményeket kaptam: ±0,03; ±0,12; ±0,05. Valamennyi infravörös spektrumban az 1710 cm<sup>-1</sup> hullámszámnál mért csúcs a legnagyobb, ez különösen a fulvósavak esetén szembetűnő. Ez alapján valószínű, hogy a legnagyobb gyakoriságú oxigéntartalmú funkciós csoport a mintákban a karboxil csoport, továbbá a fulvósavak jóval gazdagabbak karboxil csoportokban, mint a huminsavak. Ez a megfigyelés összhangban van az elemanalízis és a potenciometriás sav-bázis titrálás eredményeivel is.

Talpmélység		Huminsav			
(m)	A <sub>2925cm-1</sub>	A <sub>1710cm-1</sub>	A <sub>1620cm-1</sub>		
993	0,11	0,52	0,34		
1703	0,18	0,79	0,42		
2103	0,17	0,87	0,36		
1775	0,12	0,64	0,36		
1851	0,09	0,43	0,30		
1905	0,19	nem meghatározott	0,59		
Talpmélység	Fulvósav				
(m)	A <sub>2925cm-1</sub>	A <sub>1710cm-1</sub>	A <sub>1620cm<sup>-1</sup></sub>		
993	0,15	1,41	0,53		
1703	0,19	1,41	0,42		
2103	0,17	1,34	0,28		
1775	0,12	0,81	0,21		
1851	0,21	1,62	0,53		
1905	0,20	1,36	0,40		

**10. táblázat:** A huminsav és fulvósav minták különböző hullámszámokon mért infravörös abszorbancia értékei

A spektrumok további értelmezéséhez, illetve az egyes abszorpciós csúcsokhoz hozzárendelhető alifás, karboxil és aromás tartalom hőmérséklettől függő változásának felderítéséhez a mért abszorbancia értékekből Lis et al. (2005) által javasolt arányoknak megfelelően képzett arányok változását vizsgáltam, az eredmények a **11. táblázat**ban szerepelnek. Az  $A_{2925cm^{-1}}$  /  $A_{1620cm^{-1}}$  arány tehát az alifás és aromás tartalom arányát mutatja, jelölhető  $A_{alifás}$  /  $A_{aromás}$  formában is.

Talpmélység	Huminsav				
(m)	A <sub>2925cm-1</sub> / A <sub>1620cm-1</sub>	A <sub>2925cm-1</sub> / A <sub>1710cm-1</sub>	A <sub>1710cm<sup>-1</sup></sub> / A <sub>1620cm<sup>-1</sup></sub>		
993	0,31	0,21	1,45		
1703	0,43	0,22	1,87		
2103	0,48	0,20	2,35		
1775	0,34	0,20	1,76		
1851	0,29	0,20	1,47		
1905	0,32	nem meghatározott	nem meghatározott		
Talpmélység	Fulvósav				
(m)	A <sub>2925cm-1</sub> / A <sub>1620cm-1</sub>	A <sub>2925cm-1</sub> / A <sub>1710cm-1</sub>	A <sub>1710cm<sup>-1</sup></sub> / A <sub>1620cm<sup>-1</sup></sub>		
993	0,29	0,11	2,68		
1703	0,44	0,13	3,35		
2103	0,64	0,13	4,82		
1775	0,56	0,15	3,79		
1851	0,40	0,13	3,05		

# **11. táblázat:** Huminsavak és fulvósavak különböző hullámszámokon (2925, 1710 és 1620 cm<sup>-1</sup>) mért infravörös abszorbancia értékeinek arányai

0,14

3,43

0.50

1905

A makói termálvizek humusz frakcióit jellemző arányok esetén megfigyelhető, hogy  $A_{2925cm^{-1}} / A_{1620cm^{-1}}$  és  $A_{1710cm^{-1}} / A_{1620cm^{-1}}$  (azaz alifás : aromás és karboxil : aromás arány) nő, míg  $A_{2925cm^{-1}} / A_{1710cm^{-1}}$  (azaz alifás : karboxil arány) változatlan a kutak talpmélységének függvényében. A szegedi kutak, elsősorban az 1775 és 1905 méteres kutak esetén az arányok viszonylag kis eltérést mutatnak. Az 1851 méteres talpmélységű kút vizéből kinyert humuszanyagok kisebb arányokkal jellemezhetők, mint az 1703 méteres mélységből származó termálvízből kinyert humusz frakciók. A makói termálvizek humusz frakcióinak  $A_{karboxil} / A_{aromás}$  arányának a kút talpmélységétől függő növekedésének oka lehet a növekvő karboxil és/vagy csökkenő aromás tartalom. Ezt a feltételezést alátámasztja az  $A_{alifás} / A_{aromás}$  arány növekedése, ezért az alifás tartalom növekedése és/vagy aromás tartalom csökkenése a felelős, valamint az  $A_{alifás} / A_{karboxil}$ arány állandósága, ehhez a két abszorbancia érték együttes növekedése vagy csökkenése és fulvósav frakciók a növekvő mélységgel egyre alifásabb és/vagy kevésbé aromás jellegűvé válnak, illetve a minták karboxil tartalma nem csökken.

humusz elemanalízisből meghatározott O/C А minták atomi aránya, potenciometriás sav-bázis titrálása alapján számított karboxilos oxigén tartalma, valamint az 1710 cm<sup>-1</sup>-nél mért infravörös abszorbancia értéke közötti kapcsolatot a 23. ábrán vizsgálom. Az ábrán az egyenesek a makói huminsav és fulvósav minták értékeit kötik össze. Az elemanalízis eredményeiből ismert, hogy a humusz minták O/C atomi aránya az O tartalommal csökken, valamint az 1905 méteres mélységből származó huminsav és fulvósav minta mindkét frakción belül a legnagyobb O/C atomi aránnyal bír. Az összehasonlításból hiányzik az 1851 és 1905 méteres mélységből kinyert huminsav karboxilos O tartalom, illetve A<sub>1710cm-1</sub> meghatározása (9. és 10. táblázat). A makói minták O/C atomi aránya a kutak talpmélységének növekedésével csökken, ugyanakkor potenciometriás sav-bázis titrálás és FT-IR spektroszkópiai mérésekből származtatott, karboxil csoport mennyiségét kifejező mutatók értéke nő. Kivételt a fulvósav minták A<sub>1710cm-1</sub> értéke és O/C atomi aránya közötti kapcsolat jelent, a makói minták infravörös abszorbancia értéke 1710 cm<sup>-1</sup>-nél nem változik az O/C atomi aránynak megfelelően. A legnagyobb O tartalmú, O/C atomi arányú huminsav, amely a legsekélyebb, azaz 993 méteres talpmélységű kút vizéből kinyert, a legkisebb abszorpcióval bír 1710 cm<sup>-1</sup>-nél. Ugyanakkor a legmélyebb kútból származó, legkisebb O tartalmú huminsav a legnagyobb abszorpciót mutatja ezen a hullámszámon. Ez alapján úgy tűnik, hogy a 993 méteres mélységből származó huminsav a karboxil csoportok mellett jelentős mennyiségben egyéb oxigén tartalmú csoportokat (pl. éter) is tartalmazhat, amelyek jelenléte más abszorpciós sávokhoz köthető, a 2103 méteres mélységből származó huminsavban pedig a karboxil csoportok nagyobb arányban vannak jelen, más csoportok jelenléte lényegesen csekélyebb ebben a mintában. Feltételezhető, hogy a csökkenő O tartalom oka a karboxil csoporttól eltérő oxigén tartalmú funkciós csoportok (hidroxil, éter, metoxi) mennyiségének csökkenése, mely Thurman (1985b) korábbi megállapításaihoz hasonló. Az 1775 és 1851 méteres mélységből származó szegedi mintákat jellemző mutatók az 1703 és 993 méteres kutak vizéből kinyert frakciókat leíró értékekhez hasonlóak.

Lis et al. (2005) eredményeinek megfelelően az elemi összetételből számított H/C atomi arány és az infravörös abszorbancia értékekből képzett A<sub>2925cm<sup>-1</sup></sub> / A<sub>1620cm<sup>-1</sup></sub> arány közötti kapcsolatot vizsgáltam (**24. ábra**). Az ábrán az egyenesek a makói huminsav és fulvósav minták értékeit kötik össze. Az elemi összetételből számított H/C atomi arány

együttesen fejezi ki a humuszanyagokban jelenlévő alifás és aromás tartalmat. Fulvósavak esetén az arányok változása megfelel egymásnak, azaz a H/C atomi arány tükrözi a minta alifás és aromás tartalmának változását. Huminsavak esetén az 1905 méteres talpmélységű kút vizéből kinyert frakció (C: 55,36%, H: 5,33% és N: 5,89%) H/C atomi aránya lényegesen eltér a többi mintáétól, azonban alifás : aromás aránya a többihez hasonló. Ez alátámasztja azt az elképzelést, hogy a nagy H/C atomi arány ellenére a H tartalom egy része amin formában van jelen, és nem a minta alifás részeihez kötődik. Továbbá megfigyelhető, hogy az 1851 méteres talpmélységű kút vizéből kinyert frakciók alifás : aromás aránya és H/C atomi aránya az 1703 és 993 méteres kutak vizéből kinyert frakciókat leíró értékek közötti.



**23. ábra:** A különböző talpmélységű kutak vizéből kinyert huminsav és fulvósav minták potenciometriás sav-bázis titrálás alapján meghatározott százalékos karboxil O tartalma (fent) és 1710 cm<sup>-1</sup> hullámszámnál mért infravörös abszorbancia értéke (lent) a minták O/C atomi arányának függvényében



24. ábra: A különböző talpmélységű kutak vizéből kinyert huminsav és fulvósav minták
2925 és 1620 cm<sup>-1</sup> hullámszámnál mért infravörös abszorbancia értékeinek aránya a minták H/C atomi arányának függvényében

#### 4.3.2.3. 1H-NMR spektroszkópia

A kinyert huminsav és fulvósav minták <sup>1</sup>H-NMR spektrumai a **25. ábrá**n szerepelnek. Fulvósavak esetén nagyon fontos megállapítás tehető, miszerint a termálvíz mélységének növekedésével a csúcsok egyre élesebbé válnak, ennek magyarázata a molekulatömeg csökkenése lehet (*Ernst et al., 1987*). Bár független molekulatömeg meghatározást a rendelkezésre álló csekély mintamennyiség miatt nem végeztem, az NMR jelek alakjának változása alapján a jellemzően kisebb molekulatömegű fulvósav frakció molekulatömeg csökkenése feltételezhető. Huminsavak esetén ez nem jellemző. Ez az észrevétel hozzájárulhat a **4.2.2. fejezetben** tett feltételezés igazolásához, mely a humuszanyag koncentráció összes szerves szénhez viszonyított arányával, valamint a kinyert huminsav és fulvósav frakciók arányával kapcsolatos. Azaz a termálvizek hőmérsékletének növekedésével egyrészt a humuszanyag tartalom kisebb szerves vegyületekké bomlik, másrészt a fulvósav frakció molekuláti nagyobb mértékben bomlanak, mint a huminsav frakciót alkotó molekulák, melyet a molekulatömeg csökkenés



**25. ábra:** Különböző talpmélységű kutak vizéből kinyert huminsav (fent) és fulvósav (lent) minták <sup>1</sup>H-NMR spektrumai

A 26. ábrán a 993 méteres mélységből származó termálvíz 2006-ban és 2008-ban vett vízmintájából kinyert fulvósav (fent) és a 2103 méteres mélységből származó termálvíz 2007-ben és 2008-ban vett vízmintájából kinyert huminsav (lent) frakciójának <sup>1</sup>H-NMR spektrumait mutatom be. A spektrumok alakja nem változott, ez alapján úgy tűnik, hogy a 2008-as módosított mintavétel nem okozott változást a minták <sup>1</sup>H-NMR spektroszkópiával azonosított funkciós csoport összetételében.



**26. ábra:** 2006-ban és 2008-ban a 993 méteres mélységű termálvizekből kinyert fulvósav (fent), valamint a 2007-ben és 2008-ban a 21033 méteres mélységű termálvizekből kinyert huminsav (lent) minták <sup>1</sup>H-NMR spektrumai

Mivel a spektrumok széles sávokat mutatnak, ezért a kiértékeléshez 4 fő tartományt (0-1,6 ppm, 1,6-3,2 ppm, 3,2-4,3 ppm, 6-8,5 ppm) jelöltem ki, melyek megfelelnek az alifás I és alifás II, valamint heteroatomos és aromás protonoknak. A **27. ábrá**n az egyes <sup>1</sup>H-NMR sávokhoz tartozó protontípusok néhány jellemző példáját ábrázoltam. A sávok területének integrálásával kapott értékek arányait használtam az összehasonlításhoz. Különböző mintavételekből mintaelőkészítés módosítása nélkül (2006, 2007) vagy módosítással (2008) származó minták NMR spektrumainak kiértékelése alapján

kiszámítottam a meghatározásra jellemző szórás értékeket. Az aromás és heteroatomos protonok relatív gyakoriságát  $\pm 0,3$  és  $\pm 1,0$  szórással, míg az alifás I és alifás II protonok esetén  $\pm 2,0$  és  $\pm 1,2$  szórással lehet megadni. A **28. ábrá**n az egyes protonféleségek relatív gyakoriságát mutatom be a különböző mélységekből származó huminsav és fulvósav mintákban. A referencia mintákra (SRHA, SRFA) vonatkozó relatív gyakoriság értékek az irodalomból származnak (*Kim et al., 2006*). A diagramon az egymás melletti oszlopok mutatják az összetartozó huminsav (bal) és fulvósav (jobb) mintákra jellemző értékeket.



27. ábra: Néhány példa a <sup>1</sup>H-NMR sávokhoz tartozó protonféleségekre



**28. ábra:** Az egyes protonféleségek relatív gyakorisága <sup>1</sup>H-NMR mérések alapján a különböző mélységekből származó és referencia huminsav (bal) és fulvósav (jobb) mintákban, a referencia mintákra vonatkozó eredmények Kim et al. (2006) cikkéből származnak

A termálvízi eredetű humusz frakciók protonjainak relatív gyakoriságát vizsgálva látható, hogy az alifás protonok aránya minden minta esetében meghaladja az aromás protonokét. Ugyanakkor az azonos mélységből származó humusz mintákban a huminsavak aromás, illetve a fulvósavak alifás protonjainak relatív gyakorisága kissé nagyobb. A heteroatomos protonok relatív mennyisége a legkisebb valamennyi mintában. A felszíni vízből kinyert huminsav és fulvósav referencia minták protonjainak relatív gyakorisága a termálvízi minták jellemzőitől eltér, különösen a heteroatomos protonok, valamint huminsavak esetén az aromás, fulvósavak esetén pedig az alifás I protonok tekintetében. Az eredmények azt mutatják, hogy a termálvízi eredetű humusz minták jóval szegényebbek heteroatomos protonokban, valamint a huminsav frakciók aromás, a fulvósav frakciók pedig alifás I protonokban gazdagabbak, mint a felszíni vízi eredetű SRHA, illetve SRFA.

Az elemanalízis eredmények alapján a fulvósavak heteroatomos (O+N+S) mennyisége a huminsavakhoz képest jellemzően nagyobb, ugyanakkor a nitrogén és kén tartalom (N+S) a huminsavakban nagyobb (4.3.1. fejezet, 7. táblázat). A <sup>1</sup>H-NMR mérések szerint a huminsavakhoz köthető a kicsivel több heteroatomos proton jelenléte. Ez érthető, ha figyelembe vesszük, hogy ehhez a sávhoz a szénhidrát és aminosav egységek protonjai is hozzátartoznak, amelyek jellemzően nagyobb arányban vannak jelen a huminsavakban, mint a fulvósavakban. Továbbá, hogy a leggyakoribb heteroatom, az oxigén döntően karboxil és fenolos hidroxil csoport formájában van jelen a mintákban – a karboxil csoport 9,75-12 ppm-es kémiai eltolódás tartományhoz köthető – azonban a mintaelőkészítés miatt gyakorlatilag valamennyi karboxil csoport deprotonálódott, így a spektrumban nem jelenik meg. A termálvíz mélységével összefüggő változások a legegyértelműbben a heteroatomos protonok esetén láthatók, azaz a mélység növekedésével a makói minták heteroatomos protonjainak mennyisége 40-50%-kal csökken. Az 1905 méteres mélységből származó huminsav heteroatomos protonjainak relatív gyakorisága megközelíti a legsekélyebb kútból származó mintáét. Ez a minta kiemelkedően nagy N tartalommal bír, feltételezhetjük, hogy a heteroatomos protonok többlete aminosav egységekhez köthető. Továbbá ezen huminsav alifás I proton aránya kissé nagyobb, míg alifás II és aromás proton aránya valamivel kisebb, mint a többi huminsavé. A nagy kén tartalmú minta (1851 m) humusz frakciói nem mutatnak a többi minta által kijelölt iránytól eltérő értékeket. Ez alapján úgy tűnik, hogy a nagyobb kén tartalom nem -S-CH<sub>3</sub>, -S-CH<sub>2</sub>- vagy -S-CH< csoportok jelenlétéhez kötődik. Az egyéb

protonféleségek relatív gyakoriságának változását a termálvíz mélységétől függően tekintve úgy tűnik, hogy az aromás protonok relatív gyakorisága kissé, az alifás I protonoké pedig egyértelműen nő. Az alifás II protonok relatív gyakoriságának változása kevésbé egyértelmű. Az említett irányok a makói minták esetén jól követhetők.

Az alifás és aromás protonok egymáshoz viszonyított arányának szemléltetésére a **29. ábrá**n bemutatom a termálvízi humuszanyagok alifás I : aromás és (alifás I + alifás II) : aromás protonok relatív gyakoriságának arányait. Huminsavakban a két arány közel állandó, kivételt az 1905 méteres mélységből származó huminsav jelent az alifás I : aromás proton arány tekintetében, melynek értéke 1,5 körüli, azonban az összes alifás proton alapján, azaz az (alifás I + alifás II) : aromás protonok arányát figyelembe véve nem mutat különösebb eltérést a többi mintától. Tehát a minta kimagaslóan nagy H/C atomi aránya nem az alifás I és alifás II protonok többletéhez köthető, mivel amennyivel több a  $-CH_{2-}$ és  $-CH_3$  protonok mennyisége, annyivel kevesebb alifás II proton van jelen. Ez az információ közvetetten alátámasztja azt a feltevést, hogy a proton többlet amin csoportokban lehet jelen. A makói fulvósavak esetén az alifás I : aromás arány egyértelműen nő, a másik arány esetén a növekedés kisebb mértékű. Érdemes megemlíteni, hogy valamennyi minta közül az 1851 méteres mélységből származó huminsav és fulvósav bír a legkisebb arányokkal, ez alapján a kinyert frakciók a legkevésbé alifás, azaz inkább aromás jellegűek.



**29.** *ábra:* Különböző mélységekből származó huminsav (bal) és fulvósav (jobb) minták alifás és aromás protonjainak aránya (alifás I : aromás, (alifás I + alifás II) : aromás)

Hasonlóan a **24. ábrá**n bemutatott összehasonlításhoz, mely az infravörös abszorbancia értékekből képzett arányok és az elemi összetételből számított H/C atomi arányok közötti összefüggést vizsgálja, a <sup>1</sup>H-NMR mérések alapján meghatározott (alifás I + alifás II) : aromás proton arány és a H/C atomi arány közötti kapcsolatot mutatom be a **30. ábrá**n. Az ábrán az egyenesek a makói termálvizekből kinyert huminsav és fulvósav

mintákra jellemző értékeket kötik össze. A huminsavak esetén az NMR mérések eredményeiből származtatott arány nem változik az elemi összetételből számított H/C atomi aránytól függően. Fulvósavak esetén a makói és szegedi minták elkülönülnek, ugyanakkor a H/C atomi arány növekedésével az NMR méréssel meghatározott alifás és aromás protonok aránya nő, azaz a növekvő H/C atomi arány növekvő alifás és/vagy csökkenő aromás tartalomnak felel meg.



**30. ábra:** Különböző mélységekből származó huminsav és fulvósav minták <sup>1</sup>H-NMR vizsgálata alapján meghatározott (alifás I + alifás II) : aromás) protonjainak aránya a minták H/C atomi arányának függvényében

## 4.3.3. Szénhidrát és aminosav elemzés

A 2007-ben vett vízmintákból kinyert huminsav és fulvósav frakciók hidrolízisével felszabaduló szénhidrát és aminosav koncentráció meghatározása történt meg. A minták C és N tartalmának ismeretében számítottam, hogy a hidrolízist követően felszabaduló aminosav és szénhidrát egységek szén, illetve nitrogén és oxigén tartalma mennyiben járul hozzá a humuszanyagok teljes szén és nitrogén, valamint oxigén tartalmához.

A szénhidrát elemzés során glükóz, galaktóz, xilóz, mannóz, arabinóz, fukóz és ramnóz mérése történt (az 1775 méteres mélységből származó termálvíz huminsav és a 2103 méteres mélységből származó termálvíz fulvósav frakciója nem került vizsgálatra). Ribóz monoszacharidot nem vizsgáltak. Az eredmények a **12. táblázat**ban µmol g<sup>-1</sup> minta egységben vannak megadva, a referencia minták szénhidrát tartalma a táblázat végén szerepel. Megállapítható, hogy egyértelműen a glükóz a leggyakoribb cukor a mintákban, a galaktóz pedig a második helyen áll, hasonlóan más forrásanyagokból kinyert humuszanyagokhoz. Továbbá, hogy a huminsavak gazdagabbak cukorban, mint a megfelelő fulvósav frakciók. Különösen nagy cukortartalommal bír az 1905 méteres mélységből származó termálvíz huminsav és fulvósav frakciója (178,2 és 19,3 µmol g<sup>-1</sup>

Talpmélység				Huminsav			
(m)	glükóz	galaktóz	xilóz	mannóz	arabinóz	fukóz	ramnóz
1851	4,3	0,4	0,8	0,5	0,1	0	0
1905	105,2	44,6	12,8	1,6	5,4	7,6	1,0
2103	1,9	0,5	0,3	0,5	0,1	0,05	0,2
SRHA	37,8	9,4	10,0	9,4	9,3	3,0	20,7
Talpmélység				Fulvósav			
(m)	glükóz	galaktóz	xilóz	mannóz	arabinóz	fukóz	ramnóz
1775	1,6	0,3	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1

minta), a három leggyakoribb monoszacharidot tekintve 2, illetve 1 nagyságrenddel gazdagabb cukorban, mint a többi megfelelő minta.

**12. táblázat:** Az egyes humisav és fulvósav minták, valamint a referencia minta szénhidrát tartalma ( $\mu$ mol g<sup>-1</sup> minta)

0.1

0,6

2,2

0.2

2,5

2.0

0,04

0,8

4,0

0.04

1,4

0,6

0,04

0,4

3,7

0,6

10,4

17,2

0.1

3.2

3,3

1851

1905

SRFA

A termálvízi minták cukortartalmát felszíni vízi eredetű referencia mintákkal összehasonlítva látható, hogy a huminsav és fulvósav minták az SRHA és SRFA cukortartalmának közel, illetve kevesebb, mint tizedét tartalmazzák. Kivételt az 1905 méteres mélységből származó termálvízből kinyert humusz minták jelentenek. A fulvósav frakció az SRFA-val közel azonos mennyiségű galaktózt, valamint az SRFA glükóz tartalmának több, mint felét tartalmazza. A huminsav frakció azonban egyéb vízi eredetű huminsavakhoz képest is jóval több cukrot tartalmaz, a glükóz és galaktóz mennyisége alapján inkább a talajból kinyert humusz frakciókkal rokon. A másik három kút (1775, 1851, 2103 m) vizéből kinyert huminsav és fulvósav minták cukor összetételében lényeges különbségeket nem lehet felfedezni. Általában a humuszanyagok szénhidrát tartalma az idő előrehaladtával bomlik, ez a megállapítás egyébként az aminosav tartalomra is igaz. Az 1905 méteres talpmélységű kút a többi kúthoz hasonlóan a felső pannon rétegeket csapolja meg, vize rokon a többi kút vizével, ugyanabból az áramlási rendszerből származik, ezért a kinyert huminsav és fulvósav frakciók nagyobb szénhidrát tartalmának okaként nem az üledék vagy a felszín alatti víz fiatalabb korát, azaz rövidebb ideje ható bomlási folyamatokat, inkább a kezdeti szerves anyag eltérő összetételét feltételezem. A nagy cukortartalom összhangban van az elemanalízis és <sup>1</sup>H-NMR spektroszkópia eredményeivel is. A két humusz minta egyrészt a többi mintához képest jelentős O tartalommal és O/C atomi aránnyal bír (azaz HA esetén 31,69 % és 0,43; FA esetén 40,53 % és 0,59), illetve a huminsav <sup>1</sup>H-NMR spektrumában a 3,2-4,3 ppm-es sávhoz rendelhető heteroatomos protonok jelentős relatív gyakorisága a második legnagyobb a minták közül.

Valamennyi 2007-ből származó minta aminosav elemzése megtörtént, mely során tizenöt aminosav mennyiségét határozták meg (glicin Gly, glutaminsav Glu, alanin Ala, leucin Leu, aszparaginsav Asp, arginin Arg, szerin Ser, valin Val, treonin Thr, lizin Lys, izoleucin Ile, fenil-alanin Phe, hisztidin His, tirozin Tyr, metionin Met). Metionint egyik minta sem tartalmaz, így nem szerepel a továbbiakban. Az eredmények µmol g<sup>-1</sup> mintaegységben a 13. táblázatban szerepelnek, a referencia minták aminosav tartalma a táblázat végén szerepel. A glicin és a glutaminsav a leggyakoribb aminosavak a humuszanyagokban, ezek mellett még néhány aminosav megtalálható jelentősebb mennyiségben. Hasonlóan a szénhidrát elemzés eredményéhez megállapítható, hogy a huminsavak gazdagabbak aminosavban, mint a megfelelő fulvósav frakció. Az 1775 és 1905 méteres mélységből származó termálvizek huminsav frakcióinak aminosav tartalma többszöröse (tízszerese vagy akár több, mint kétszázszorosa) a másik két huminsav mintáénak. Ezek a mennyiségek más vízi huminsavakhoz képest is kiemelkedően nagyok, talajból, tőzegből kinyert huminsavaknak megfelelő. Fulvósavak esetén csak az 1905 méteres mélységből származó minta mutat kicsivel nagyobb aminosav tartalmat, mint a referencia minta, jelentős különbségek azonban nem tapasztalhatók. Az 1851 és 2103 méteres talpmélységű kutak vizéből kinyert humuszanyagok aminosav tartalmának összehasonlításakor látható, hogy a sekélyebb kútból vett vízminták humusz frakcióinak aminosav tartalma nagyobb, mint a mélyebb kút vizéből származó mintáké (4 kis konecntrációjú aminosav kivételével). Ez megfelel annak a korábban említett tapasztalatnak, hogy az aminosav tartalom az idővel bomlik. A mélyebb rétegeket felépítő idősebb üledékes kőzetekből származó termálvíz humuszanyagainak hidrolizálható aminosav tartalma kisebb. Az aminosav elemzés alapján az is megállapítható, hogy az 1851 méteres mélységből származó termálvíz huminsav és fulvósav frakciójának kén tartalma nem kén tartalmú aminosavakhoz, azaz metioninhez vagy ciszteinhez köthető.

A továbbiakban számításokat végeztem arra vonatkozóan, hogy megállapítsam a humuszanyagok szén, illetve nitrogén és oxigén tartalma hány százalékban van jelen szénhidrát és aminosav formájában. Ehhez a minták C, N és O tartalmának, illetve az egyes cukrokban és aminosavakban lévő C és N atomok számának ismerete szükséges. A **14. táblázat**ban az aminosav és szénhidrát vizsgálathoz kapcsolódó elemanalízis

eredmények szerepelnek. Összehasonlítva a **4.3.1. fejezet**ben bemutatott eredményekkel megállapítható, hogy a két meghatározás közötti eltérés a C tartalom esetén kisebb, mint 2,20%, kivételt az 1905 méteres mélységből származó fulvósav minta, az eltérés a C tartalomban ebben az esetben több, mint 4 %, míg a N tartalom esetén az eltérés 0,8 % alatti.

Talnmélység				Huminsav			
(m)	Glv	Glu	Ala	Leu	Asp	Arg	Ser
1775	30.42	27.59	27.79	20.01	20.85	15.09	11.61
1851	5.47	2.78	0.40	1.63	1.79	1.00	2.28
1905	255,99	258.41	277.02	230.92	187.60	161.19	93,50
2103	1,29	1,47	0,27	0,55	0,54	0,42	0,47
SRHA	13,0	11,0	-	3,0	14,0	11,0	12,0
Talpmélység				Huminsav			
(m)	Val	Thr	Lys	Ile	Phe	His	Tyr
1775	16,84	9,97	10,77	8,15	7,73	4,11	6,87
1851	1,21	0,85	0,93	0,80	0,69	0,23	0,46
1905	177,38	100,58	106,81	73,79	85,31	43,03	62,60
2103	0,42	0,25	0,35	0,37	0,35	0,37	0,19
SRHA	6,0	2,1	-	2,6	1,6	2,1	2,0
Talpmélység		1	1	Fulvósav		1	1
(m)	Gly	Glu	Ala	Leu	Asp	Arg	Ser
1775	4,16	2,17	0,46	1,17	1,42	0,49	0,97
1851	2,39	1,18	0,50	0,19	0,87	0,30	0,63
1905	8,34	6,21	4,32	4,04	4,10	2,56	2,33
2103	1,89	0,72	0,18	0,31	0,46	0,14	0,48
SRFA	3,9	4,8	-	1,1	6,6	3,7	3,8
	[						
Talpmélység		Γ	Γ	Fulvósav	T	Γ	Γ
(m)	Val	Thr	Lys	Ile	Phe	His	Tyr
1775	0,86	0,46	0,48	1,04	1,42	0,16	0,43
1851	0,52	0,35	0,68	0	0,29	0,07	0
1905	3,22	1,91	2,02	1,85	1,12	0,82	1,22
2103	0,19	0,18	0,15	0,16	0.16	0,05	0,14
SRFA	2,0	0,4	-	0,8	0,4	0,2	0,4

**13. táblázat:** Az egyes huminsav és fulvósav minták, valamint a referencia minták aminosav tartalma ( $\mu$ mol g<sup>-1</sup> minta)

Talpmélység	Huminsav		Fulvósav	
(m)	С	Ν	С	Ν
1775	-	-	57,41	1,79
1851	59,83	2,25	55,21	1,40
1905	57,13	6,22	56,27	1,66
2103	62,20	2,11	-	-

14. táblázat: A 2007-es mintavétel során vett vízmintákból kinyert huminsav és fulvósav minták százalékos C és N tartalma

A humuszanyagok hidrolízisét követően felszabaduló szénhidrát és aminosav egységek C és N tartalmának hozzájárulása a humuszanyagok teljes elemi összetételéhez a **15. táblázat**ban láthatók. A számításokat összehasonlításképpen mindkét elemanalízis eredményei alapján elvégeztem, ezeket azonban külön nem jelölöm, mivel az eltérés minimális. Az 1775 méteres huminsav, illetve a 2103 méteres fulvósav esetén adatok hiányában a **4.3.1. fejezet**ben bemutatott elemi összetétel eredményeket használtam. Az O tartalomra vonatkozó számolásokat a táblázatban nem jelölöm. Az oxigén szénhidrát egységekhez köthető aránya elenyésző, fulvósavak esetén a teljes oxigén tartalom 0,004-0,071%-a, míg huminsavak esetén 0,013-0,675%-a.

Talnmélység	Huminsav				
(m)	szénhidrát	aminosav			
(111)	С	С	Ν		
1775	-	1,94	16,66		
1851	0,07	0,17	1,55		
1905	2,19	20,62	62,80		
2103	0,04	0,07	0,64		
		•			
Talnmélység	Fulvósav				
(m)	szénhidrát	aminosav			
(III)	С	С	Ν		
1775	0,03	0,15	1,41		
1851	0,01	0,07	0,97		
1905	0,24	0,41	4,67		
2103	-	0,04	1,12		

**15. táblázat:** A 2007-es mintavétel során vett vízmintákból kinyert huminsav és fulvósav minták hidrolízisével felszabaduló szénhidrát és aminosav egységek C és N tartalmának hozzájárulása a minták teljes C és N tartalmához százalékban kifejezve

Az 1775 és 1905 méteres talpmélységű kutak vizéből kinyert huminsavak kivételével a humusz minták C tartalmának kevesebb, mint 1%-a vesz részt a szénhidrát és aminosav részek felépítésében. Ehhez hasonlóan a nitrogén viszonylag csekély százaléka

járul hozzá ezen egységek felépítéséhez. Az 1775, de különösen az 1905 méteres mélységből származó huminsavak N tartalmának jelentős része azonban aminosav egységeket alkot. A teljes elemi összetételre (2,37 és 5,89% N) átszámítva ez 0,39 és 3,69%-nyi nitrogént jelent. A következőkben az 1905 méteres talpmélységű kút vizéből kinyert huminsavat vizsgálom tovább. A vizsgált aminosavak közül három (Arg, Lys, His) tartalmaz egynél több N atomot, ezt figyelembe véve kiszámítottam, hogy a teljes N tartalom 50,24%-a alkotja az aminosav egységek aminocsoportjait, ehhez hasonlóan a teljes H tartalom 7,90%-a járul hozza az -NH2 csoportokhoz. Az aminosavak aminocsoportjait felépítő hidrogén atomok nélkül a minta H/C atomi aránya 1,06-nak adódott. A hidrolízist követően felszabadult összes aminosav valamennyi H atomjának figyelembevételével a teljes H tartalom 38,11%-a, azaz 2,03%-nyi H járul hozzá az aminosavak H tartalmához, ezekkel az adatokkal a H/C atomi arány 0,71-nek adódott. Mivel az aminosav egységek kapcsolódása nem ismert, a kétféle feltétel alapján számított H/C atomi arány tulajdonképpen az alifás/aromás tartalmat leíró kifejezés minimális és maximális értékeként is felfogható. Ezt alátámasztja az a tény is, hogy a többi huminsav minta H/C atomi aránya 0,87 és 0,99 közé esik.

### 4.3.4. Fluoreszcencia spektroszkópia

A különböző talpmélységű kutak vizéből kinyert huminsav és fulvósav minták EEM (gerjesztési-emissziós mátrix) spektrumait a **31. ábrá**n mutatom be. A rendelkezésre álló csekély mintamennyiség miatt az 1851 méteres mélységből származó huminsav és fulvósav mintát, valamint az 1905 méteres mélységből származó fulvósav mintát nem vizsgáltam. A referencia fulvósav minta EEM spektruma, valamint a xenon lámpa gerjesztési spektruma a **32. ábrá**n látható.

Az első fontos észrevétel, hogy minden spektrumon csupán egy határozott, 300-350 nm-es hullámhosszú fény hatására gerjesztődő csúcs figyelhető meg. Korábbi tapasztalatok alapján a vízi humuszanyagok két fluoreszcenciás csúccsal jellemezhetők. Mivel az összehasonlítás céljából vizsgált referencia minta EEM spektruma is egy csúcsot mutat (**32. ábra**), mely megfelel a hosszabb hullámhosszú fény hatására gerjesztődő csúcsnak (*Alberts & Takács, 2004*), így megállapítható, hogy a mérési körülmények nem teszik lehetővé a rövidebb hullámhosszú (230 nm) sugárzás hatására gerjesztődő fluoreszcenciás csúcs megfigyelését. Ezt a feltételezést alátámasztja az is, hogy a xenon lámpa intenzitása 230 nm-nél kisebb hullámhossznál gyakorlatilag nulla, és még 250 nm-nél is túl gyenge ahhoz, hogy a minta fluorofór komponenseit gerjessze.



**31. ábra:** A különböző talpmélységű kutak vizéből kinyert huminsav és fulvósav minták EEM spektrumai a relatív intenzitással jelölve



32. ábra: SRFA (pH=4) EEM spektruma és a xenon lámpa gerjesztési spektruma

A **33. ábrá**n a különböző mintavételek alkalmával vett vízmintákból kinyert huminsav és fulvósav minták EEM spektrumait mutatom be. A spektrumok alapján elmondható, hogy a 2008-as módosított mintavétel nem befolyásolta a kinyert humusz minták fluoreszcens jellemzőit.



33. ábra: Különböző mintavételekből (2006, 2007 és 2008) származó huminsav és fulvósav minták EEM spektrumai

A humusz minták maximális gerjesztési és kisugárzási hullámhossz értékeit a **16. táblázat**ban foglalom össze.

Talnmélység	Huminsav			
(m)	Gerjesztési hullámhossz	Kisugárzási hullámhossz		
	(nm)	(nm)		
993	355	440		
1703	340	410		
2103	305	385		
1775	340	415		
1851	-	-		
1905	340	415		

Talnmélység	Fulvósav			
(m)	Gerjesztési hullámhossz	Kisugárzási hullámhossz		
	(nm)	(nm)		
993	350	440		
1703	335	420		
2103	305	400		
1775	315	410		
1851	-	-		
1905	-	-		
SRFA	340	450		

16. táblázat: A különböző talpmélységű kutak vizéből kinyert huminsav és fulvósav minták, valamint referencia fulvósav (SRFA) (pH=8) maximális gerjesztési és emissziós hullámhossza

A gerjesztési és kisugárzási hullámhossz értékeket megvizsgálva látható, hogy a 993 méteres talpmélységű kút vizéből kinyert humusz frakciók gerjesztési hullámhossza alig különbözik, kisugárzási hullámhossza pedig megegyezik. Az SRFA gerjesztési hullámhossza ennél valamivel kisebb, míg kisugárzási hullámhossza nagyobb. A termálvízi huminsav és fulvósav fraciók, valamint az SRFA fluoreszcencia gerjesztési és kisugárzási hullámhossz értékekben tapasztalt jellegzetes különbségek alapján arra következtettem, hogy a termálvízi humuszanyagokban minőségileg eltérő komponensek felelősek a fluoreszcenciáért, ezt a megállapítást nemcsak az SRFA-hoz képest, hanem a termálvízi eredetű frakciók egymáshoz képest is különböző hullámhossz értékei alapján tettem. Továbbá a makói kutak talpmélységének növekedésével a kinyert humusz frakciók mindkét hullámhossz értéke csökken. A szegedi kutak huminsav frakcióinak fluoreszcenciája az 1703 méteres mélységből származó mintával mutat rokonságot. A szegedi kutakból kinyert fulvósavak közül csupán az 1775 méteres mélységből származót vizsgáltam, jellemzői hullámhosszai az 1703 és 2103 méteres talpmélységű kutak frakcióinak ezen értékei között képeznek átmenetet. A hullámhossz értékeben tapasztalt kék eltolódás kisebb molekulatömegű, egyszerűbb szerkezetű komponensek jelenlétéhez köthető, ugyanakkor kisebb mértékű aromás polikondenzáció és konjugáció is lehetséges. A kék eltolódás okaként tehát esetleges molekulatömeg csökkenés is feltételezhető, melynek lehetőségét közvetve az NMR-jelek élesedése alapján is már megemlítettem.

#### 4.3.5. ESI-FT-ICR tömegspektrometria

A **35. ábrá**n termálvízből kinyert huminsav negatív módben mért ESI-FT-ICR tömegspektrumát mutatom be. Látható, hogy humuszanyagok vizsgálata rendkívül összetett spektrumot eredményez, ebben az esetben több, mint 20.000 jel volt észlelhető. Az ábra kinagyított részletei mutatják az egyes m/z értékekhez tartozó komponensek sokaságát, példaként csak egy-egy érték van feltüntetve.



**35. ábra:** Termálvízből kinyert huminsav negatív módban mért ESI-FT-ICR tömegspektruma (jelölve a leggyakoribb relatív atomtömeg-különbségekkel)

A spektrum mintázata visszatükrözi az egyes molekuláris ionok közötti tömegkülönbség értékek ismétlődését, a kinagyított részeken jelöltem a 0,0364; 0,9953; 1,0034; 2,0157 és 14,0156 Da különbségeket, melyek a leggyakoribb helyettesítéseknek

felelnek meg (**2.1.4. fejezet, 1. táblázat**). Kétszeres töltéssel bíró molekuláris ionok is jelen vannak, ezt bizonyítja az a megfigyelés, hogy az egész számú m/z értékek között, 0,6 körül is megjelennek csúcsok, azonban ezek intenzitása lényegesen kisebb (**35. és 36. ábra**). A **36. ábrán** a makói kutak vizéből kinyert fulvósav minták ESI-FT-ICR tömegspektrumainak egy-egy részletét a 321 és 507 m/z körüli tartományról mutatom be. A kevésbé intenzív csúcsok esetén a relatív intenzitás értékeket százalékban kifejezve jelölöm. A páratlan egész számú m/z értékeknél megjelenő csúcsok a legintenzívebbek, a páros egész számú m/z értékekhez tartozó csúcsok egy része a <sup>13</sup>C izotópot tartalmazó, illetve a nitrogén-szabály értelmében az 1 N atomot tartalmazó molekuláris ionok. A nem egész m/z értékekhez (0,6) tartozó csúcsok a kétszeres töltéssel bíró, azaz (M-2H)<sup>2–</sup> molekuláris ionok jelenlétét bizonyítják. Természetesen az egész számú m/z értékekhez tartozó molekuláris ionok között is lehetnek jelen többszörös töltésűek, azonban ezek megkülönböztetése így nehéz.



**36. ábra:** A 993, 1703 és 2103 méteres talpmélységű kutak vizéből kinyert fulvósav minták ESI-FT-ICR tömegspektrumainak egy-egy részlete kiválasztott m/z tatományokról (321 m/z, bal és 507 m/z, jobb) zárójelben a relatív intenzitás értékek százalékban vannak feltüntetve

A **36. ábra** spektrumain egyrészt látható, hogy a kisebb m/z értéknél (321) a kétszeres töltésre utaló csúcsok nagyobb intenzitással vannak jelen, mint a nagyobb m/z

értéknél (507), másrészt a termálvíz mélységének növekedésével ezen csúcsok intenzitása csökken. Csupán a spektrumok megjelenése alapján elmondható, hogy a legsekélyebb kútból származó minta nem egész számú m/z értéknél megjelenő nagyobb relatív intenzitású csúcsai révén nagyobb átlagos molekulatömeggel jellemezhető, illetve az átlagos molekulatömeg a mélység növekedésével csökkenő irányt mutat. A szegedi minták esetén a kétszeres töltésű molekuláris ionok jelenlétére utaló csúcsok relatív intenzitása 321 m/z körül 3-8 % közötti, míg 507 m/z érték körül ezek a csúcsok a mérési körülmények között már nem jelennek meg a spektrumokon (külön nem ábrázolom). Ezen megfigyelések alapján feltételezem, hogy a szegedi minták átlagos molekulatömege közelebb áll a 2103 méteres talpmélységű kútból származó vízminta fulvósav frakciójára jellemzőhöz. A kétszeres töltésű komponensek további részletes vizsgálatára külön nem tértem ki, így nem végeztem számításokat az egyes minták átlagos molekulatömegére vonatkozóan sem.

A molekulaképlet meghatározás után a kémiai feltételek szerinti szűrést, valamint <sup>13</sup>C izotópot tartalmazó csúcs (+1,0034 Da) tömegspektrumban való jelenlétén alapuló érvényesítést követően a tömegspektrumok értelmezéséhez egyrészt a van Krevelen diagramon való ábrázolást alkalmaztam az aromássági index két határértékének jelölésével, másrészt a komponenseket heteroatomos összetételük alapján komponens osztályokba soroltam, valamint a Z-értékük alapján csoportosítottam, és így vizsgáltam az összetételbeli változásokat. Valamennyi meghatározott molekulaképlet egyszeres töltéssel bíró (M-H)<sup>-</sup> molekuláris iont jelöl.

### 4.3.5.1. Huminsav és fulvósav frakciók vizsgálata

A kinyert humusz frakciók tömegspektrometriás vizsgálata után a molekulaképlet meghatározás és érvényesítés révén átlagosan 2700 csúcs vált azonosíthatóvá. Az eredmények értelmezéséhez először a molekulatömegből meghatározott elemi összetétel alapján számított atomi arányokat van Krevelen diagramon ábrázoltam (**37., 38. és 40. ábra**).

A **37. ábrán** különböző mintavételekből származó humusz mintákra meghatározott atomi arányokat jelöltem. A bemutatott van Krevelen diagramokon az eltérés az atomi arányokat jelölő pontok számában ±10%-nál kisebb. A pontok diagramon elfoglalt mintázata alapján úgy tűnik, hogy a 2008-as módosított mintavétel nem okozott változást a kinyert humusz frakciók ESI-MS-sel meghatározott minőségében.



**37. ábra:** Különböző mintavételekből (2006 és 2008) származó huminsav minták ESI-FT-ICR tömegspektrometriás vizsgálata alapján meghatározott van Krevelen diagramok

Összehasonlítás céljából a referencia fulvósav mintát (SRFA) is vizsgáltam, az eredményt a **38. ábrá**n mutatom be, a legmélyebb kút vizéből kinyert fulvósavra kapott atomi arányokkal együtt. A diagramokon továbbá jelöltem az aromássági index két határértékét (0,5 és 0,67) (*Koch & Dittmar, 2006*) világos és sötét szürke egyenesekkel. Az ábra két felső diagramja az összes molekulára, míg az alsó diagramok a CHO, azaz csak oxigént mint heteroatomot tartalmazó molekulákra vonatkoznak (a molekulákat alkotó atomok vegyjelét jelöltem). A diagramokon külön nem látható, de a nitrogént és ként is tartalmazó (CHONS) molekulák száma elhanyagolható, ez egyébként valamennyi minta vizsgálata esetén igaz. A két fulvósav minta atomi arányait kifejező pontok által a van Krevelen diagramon elfoglalt terület eltér. A molekulaképletekből meghatározott atomi arányok a termálvízi eredetű fulvósav esetén a diagram bal, azaz kisebb O/C atomi arányt mutató területe felé tolódtak el a felszíni vízi eredetű mintához képest. A H/C atomi arányra vonatkozóan hasonló összehasonlítást nehezebb tenni.



38. ábra: Referencia (bal) és termálvízi eredetű (jobb) fulvósav minta ESI-FT-ICR tömegspektrometriás vizsgálata alapján meghatározott összes (fent) és CHO, azaz csak oxigént mint heteroatomot tartalmazó (lent) molekulák atomi arányai van Krevelen diagramokon ábrázolva, továbbá az aromássági index két határértéke (0,5 és 0,67) világos és sötét szürke egyenesekkel jelölve

A humusz frakciók ESI-MS-sel meghatározható különbségeinek, illetve a termálvízi eredetű minták esetén a termálvíz mélységétől függő változásainak felderítésére az elemanalízis eredmények tárgyalásához hasonlóan (**4.3.1. fejezet**) a H/C és O/C atomi arányok alakulását vizsgáltam a diagramokon. Fontos hangsúlyozni, hogy az elemanalízisből, valamint az ESI-MS módszerrel meghatározott molekulaképletekből számított átlagos atomi arányok eltérnek. A **39. ábrán** a makói termálvizekből kinyert huminsav és fulvósav, valamint SRFA elemanalízisből és ESI-MS meghatározott molekulaképletekből számított atomi arányait mutatom be a van Krevelen diagramokon. Kim et al. (*2003*) és Koch et al. (*2005*) eredményeihez hasonlóan a mintákra jellemző O/C atomi arányok kisebb értékkel bírnak, míg a H/C atomi arányok viszonylag változatlanok az ESI-MS meghatározás esetén az elemanalízisből számítottakhoz képest. A referencia mintára vonatkozó atomi arányok alakulása is ennek megfelelő. Az ábrán a nyilak az atomi arányok változását jelölik. Ugyanakkor az ESI-MS alapján meghatározott atomi arányok

visszatükrözik a termálvíz mélységétől függő változásokat, azaz csökkenő O/C és növekvő H/C atomi arányokat (*Kovács et al., 2010*).



**39. ábra:** A makói termálvizekből kinyert huminsav (bal) és fulvósav (jobb), valamint SRFA elemanalízisből és ESI-MS alapján meghatározott molekulaképletekből számított atomi arányai. A nyilak az atomi arányok változásának irányát jelölik a termálvízi huminsavak, fulvósavak (fehér) és SRFA (szürke) esetén.

A H/C atomi arány az egyes molekulák alifás/aromás jellege közötti eltérést tükrözheti, azonban heteroatomok jelenléte befolyásolhatja a molekulák H atomjainak számát, és így H/C atomi arányát is. A minták alifás/aromás jellegének tanulmányozására az aromássági indexet is használtam (Koch & Dittmar, 2006) (38. ábra). Az aromássági index két határértékéhez tartozó egyenesek (AI=0,5 és AI=0,67) a diagramokat három részre osztják, így az aromássági index értékétől függően három csoportba sorolhatók a komponensek (AI<0,5; 0,5<AI<0,67 és AI>0,67). Az egyenesek alatti terület jelöli ki az aromás (AI<0,5) és a kondenzált aromás (AI>0,67) szerkezeteket tartalmazó molekulákat. Az egyenesek közötti terület pedig a nem kondenzált aromás szerkezetet tartalmazó, de aromás molekulák helyét jelöli ki (0,5<AI<0,67). A diagramok alapján elmondható, hogy adott mérési körülmények között kondenzált aromás szerkezetek jelenléte csekély a mintákban. Ez érthető, ha figyelembe vesszük, hogy elektroporlasztásos ionizáció során a poláris molekulák ionizálódnak. A termálvízi fulvósav ESI-MS-sel meghatározott molekulái között nagyobb arányban jelennek meg az aromás molekulák a felszíni vízi eredetű referencia fulvósavhoz képest. Ugyanakkor alifásabb karakterű molekulák nagyobb arányban vannak jelen az SRFA-ban.

A következőkben a termálvízből kinyert huminsav és fulvósav minták ESI-FT-ICR tömegspektrometriás vizsgálata alapján meghatározott atomi arányokat mutatom be a **40**. **ábra** van Krevelen diagramjain, szintén az aromássági index két határértékét (0,5 és 0,67) világos és sötét szürke egyenesekkel jelölve. A diagramok az összes (CHO, CHON, CHOS és CHONS) molekulák atomi arányait mutatják. Külön nem jelölöm, csak megjegyzem,

hogy a CHO molekulák által a van Krevelen diagramokon elfoglalt terület a bemutatott területekkel fedésben van, hasonlóan a 38. ábrán lévő termálvízi eredetű fulvósav diagramjaihoz. Az aromássági index alapján csoportosítottam a molekulákat (AI<0,5; 0,5<AI<0,67 és AI>0,67), és meghatároztam ezen csoportok relatív gyakoriságát a mért intenzitás értékekek segítségével, azaz az adott csoportba tartozó molekulákra mért intenzitás értékeket öszegeztem, majd elosztottam a valamennyi azonosított molekulára mért összintenzitás értékkel (41. ábra). Fontos hangsúlyozni, hogy az AI nem az összes, aromás részt tartalmazó molekulát azonosítja. A huminsavak és fulvósavak esetén az egyes csoportokra számított relatív gyakoriság értékeket vizsgálva látható, hogy a huminsavak aromás és kondenzált aromás tartalma jóval nagyobb, mint a fulvósavaké. Bár a termálvíz mélységétől függő változások ezen eredmények alapján egyértelműen nem állapíthatók meg. Érdemes azonban megfigyelni az 1905 méteres talpmélységű kút vizéből kinyert huminsavra kapott értékeket. Valamennyi minta közül a legnagyobb H/C atomi aránnyal (1,16) bír, ezért részben nagy N és aminosav tartalma felelős. Ugyanakkor az ESI-MS mérés alapján a legnagyobb összes aromás (0,5<AI<0,67 és AI>0,67) tartalommal is jellemezhető (43,8%). Ha figyelembe vesszük azt a tényt, hogy az aromássági index nem képes a lignin bomlásából származó aromás részeket tartalmazó komponensek azonosítására (Koch & Dittmar, 2006), akkor feltételezhető, hogy a többi mintára kapott kisebb aromás tartalom oka, hogy a döntően szárazföldi növények lignin tartalmából keletkezett III típusú kerogénből származtathatóak ezek a humuszanyagok, melyek nem azonosíthatók az aromássági index alapján. Ugyanakkor közvetett módon feltételezhető, hogy a nagy N tartalmú huminsav forrásanyaga, mely ezen megfigyelés alapján nagy aromás tartalommal is bír, nem lignin eredetű.



**40. ábra:** A különböző talpmélységű kutak vizéből kinyert huminsav (bal) és fulvósav (jobb) minták ESI-FT-ICR tömegspektrometriás vizsgálata alapján meghatározott atomi arányok van Krevelen diagramokon ábrázolva, továbbá az aromássági index két határértéke (0,5 és 0,67) világos és sötét szürke egyenesekkel jelölve



**41. ábra**: A különböző talpmélységű kutak vizéből kinyert huminsav (bal) és fulvósav (jobb) minták ESI-FT-ICR tömegspektrometriás vizsgálata alapján meghatározott molekulaképletekből számított aromássági index értékek alapján felállított csoportok relatív gyakorisága

A kinyert humusz frakciók O/C atomi arányának termálvíz mélységétől függő változásának elemzéséhez a molekulákat komponens osztályokba soroltam. Az egyes komponens osztályok relatív gyakoriságát a mért intenzitás értékekből számítottam. A CHO molekulák csoportosítására térek ki, az eredményeket a 42. ábrán oszlopdiagramok formájában foglalom össze. A komponens osztályok azonosításához a molekulák oxigén atomjainak számát alsó indexben jelölöm, a C és H atomok számától függetlenül. Látható, hogy mind a huminsav, mind a fulvósav esetén a termálvíz mélységének növekedésével a kevesebb oxigén atomot tartalmazó molekulák komponens osztályai nagyobb relatív gyakorisággal vannak jelen a mintákban. További gyakori komponens osztályok huminsavakban a CHO<sub>x</sub>N<sub>1</sub> és CHO<sub>x</sub>N<sub>2</sub>, valamint CHO<sub>x</sub>S<sub>1</sub>, fulvósavakban a CHO<sub>x</sub>N<sub>1</sub> és CHO<sub>x</sub>S<sub>1</sub>. Fulvósavakban CHO<sub>x</sub>N<sub>2</sub> molekulák kis valószínűséggel azonosíthatók, nem jellemzőek. Ez a megfigyelés annyiban visszatükrözi az elemanalízis eredményeit, hogy a fulvósavak N tartalma jellemzően kisebb, mint a huminsavaké. További érdekesség, hogy a nagy S tartalmú (1851 m) minta huminsav és fulvósav frakciójában megtalálhatók nagy gyakoriságú CHO<sub>x</sub>S<sub>2</sub> molekulák, melyek a többi mintában ilyen meghatározási feltételek mellett nem azonosíthatók. A nitrogént vagy ként is tartalmazó molekulák relatív gyakorisága hasonló irányt mutat, azaz a termálvíz mélységétől függően a kevesebb oxigént tartalmazó komponens osztályok relatív gyakorisága nő, illetve a különféle komponens osztály együttes relatív gyakorisága visszatükrözi a CHO<sub>x</sub> komponens osztályok relatív gyakoriságának alakulását, ezeket külön nem ábrázolom.



**42. ábra:** A különböző talpmélységű kutak vizéből kinyert huminsav (bal) és fulvósav (jobb) minták ESI-FT-ICR tömegspektrometriás vizsgálata alapján meghatározott CHO<sub>x</sub> komponens osztályok relatív gyakorisága

A CHO<sub>x</sub> komponens osztályok összetételbeli különbségének további vizsgálatához a CHO molekulákat a hidrogén hiányt kifejező Z-érték alapján csoportosítottam (*Hughey et al., 2002*). A **43. ábrá**n a huminsav és fulvósav minták CHO<sub>x</sub> komponens osztályainak relatív gyakoriságát a hidrogén hiányt kifejező Z-érték függvényében három dimenziós oszlopdiagramok formájában ábrázolom. Látható, hogy a kisebb oxigén tartalmú komponens osztályok tagjai kevésbé negatív Z-értékkel bírnak. A humuszanyagokra jellemző két leggyakoribb funkciós csoport közül a fenolos –OH csoport jelenléte nem módosítja, míg a karboxil csoport 2-vel csökkenti a Z értékét. Azaz minél negatívabb a Zérték, a molekula annál telítetlenebb/aromásabb és/vagy annál több karboxil funkciós csoporttal bír. Annak eldöntésére, hogy a termálvíz mélységétől függően a molekulák aromássága és/vagy karboxil tartalma mennyiben járul hozzá a Z-érték alakulásához a legnagyobb relatív gyakoriságú alkotók O atomjainak számát és Z-értékét hasonlítottam össze (**17. táblázat**).



43. ábra: A különböző talpmélységű kutak vizéből kinyert huminsav (fent) és fulvósav (lent) minták ESI-FT-ICR tömegspektrometriás vizsgálata alapján meghatározott CHO<sub>x</sub> komponens osztályok relatív gyakorisága a hidrogén hiányt kifejező Z-érték függvényében

Talnmélység	Huminsav		Fulvósav	
(m)	O <sub>x</sub> (osztály)	Z-érték (típus)	O <sub>x</sub> (osztály)	Z-érték (típus)
993	7	-32	10	-26
1703	6	-28	8	-22
2103	6	-22	7	-16
1775	6	-28	8	-20
1851	6	-28	8	-20
1905	5	-20	8	-20

**17. táblázat:** A különböző talpmélységű kutak vizéből kinyert huminsav és fulvósav minták ESI-FT-ICR tömegspektrometriás vizsgálata alapján meghatározott legnagyobb relatív gyakoriságú alkotók O atomjainak száma és Z értéke

Két huminsav minta (1851 és 1905 méter) esetén a CHO<sub>2</sub> komponens osztály Z=0 tagjai a legnagyobb relatív gyakoriságú alkotók (3,17 és 3,19%) (43. ábra), a 17. táblázatban azonban nem ezek szerepelnek. Ebben a típusban a legnagyobb intenzitású [M-H]<sup>-</sup> molekuláris ionok tömege 255,2329 Da és 283,2642 Da, összesen 1,5 és 1,9%-os relatív gyakorisággal a két huminsavban. A negatív módban mért ESI-MS módszer miatt a tömegek deprotonálódott molekuláris ionokat jelölnek. Bár számos izomer tartozhat ezekhez a tömegekhez, nagy valószínűséggel egy jelentősebb részük zsírsavak, azaz a palmitinsav és a sztearinsav deprotonálódott formái. A zsírsavak jelenlétére két magyarázat lehetséges. A zsírsavak a termálvízben szabadon vagy humuszanyagokhoz kötött formában fordulhatnak elő. Egyrészt a szabad formában lévő vagy kinyerési folyamat során felszabaduló eredetileg humuszanyaghoz kötött zsírsavak a savval történő kicsapás hatására a huminsav frakcióban feldúsulhatnak. Másrészt kötött formában lévő zsírsavak az elektroporlasztásos ionizáció folyamán az esetlegesen lejátszódó gyenge, másodlagos kötések felszakadása miatt szabaddá válnak, és megjelennek a spektrumban. Itt említem meg, hogy a CHO<sub>2</sub> komponens osztály Z=-2 típusú tagjai közül a 253,2172 és 281,2486 Da tömegű molekuláris ionok is jelentős intenzitással jelennek meg a spektrumon (1,4 és 0,3% relatív gyakoriság), ezek megfelelhetnek a palmitolénsavnak és az olajsavnak.

Visszatérve a **17. táblázat**ban bemutatott eredményekhez, elmondható, hogy a mélység növekedésével csökken a legnagyobb relatív gyakoriságú alkotók O atomjainak száma, illetve a Z-érték kevésbé negatívabbá válik. Azonban a Z-érték alakulása nemcsak az O atomok számának csökkenésével magyarázható, hiszen annál nagyobb mértékű. Megállapítható, hogy termálvíz mélységének növekedésével a vártnál kevésbé negatív Z-értékek arra utalnak, hogy a minták kevésbé telítetlen, kevésbé aromás jellegűvé is válnak.

A fulvósav frakciók osztály és típus szerint négy csoportba sorolhatók, a makói kutak (993, 1703 és 2103 m) vizéből kinyert fulvósav minták jellemzői a termálvíz mélységének megfelelően elkülönülnek, a közel azonos mélységekből származó szegedi minták pedig ugyanolyan O atomszámmal és Z-értékkel bírnak, illetve átmenetet képeznek az 1703 és 2103 méteres talpmélységű kutak vizéből kinyert frakciók jellemzői között. A makói huminsavak esetén a fulvósavakhoz hasonló, termálvíz mélységétől függő változások figyelhetők meg. A középső makói minta a szegedi mintákkal rokon, bár az 1905 méteres talpmélységből származó frakció bír a legkisebb O tartalmú osztállyal és a legkevésbé negatív Z-értékkel az összes minta közül.

Huminsavak és fulvósavak közötti jelentős minőségbeli különbséget támasztja alá az a tény is, hogy az ugyanolyan O számmal bíró osztályok Z-értéke eltér. A legsekélyebb kútból származó huminsav és a legmélyebb kútból származó fulvósav frakció O<sub>7</sub> komponens osztályának legnagyobb relatív gyakoriságú alkotóinak Z-értéke huminsav esetén –32, míg fulvósav esetén –16. Adott osztályba tartozó molekulákat alkotó O atomok számának azonossága miatt a Z-értékben jelentkező különbség egyértelműen, más vizsgálati módszerek eredményeivel összhangban a huminsavak aromásabb, illetve a fulvósavak kevésbé aromás, alifásabb jellegét bizonyítja.

#### 4.3.5.2. Vízminták vizsgálata

A legsekélyebb és legmélyebb kút vizének azonnali és 1 napos állás után történő savazását követően C18-SPE oszlopon való megkötése, majd metanolos leoldása utáni ESI-FT-ICR tömegspektrometriás vizsgálat alapján meghatározott atomi arányokat a **44. ábra** diagramjain mutatom be. Az egyes mintákra meghatározott atomi arányok által elfoglalt terület a mintavételt követő savazás időpontjától függően nem mutat eltérést. Összehasonlítva a **38. és 44. ábrá**n bemutatott van Krevelen diagramokat elmondható, hogy a XAD-8 gyanta által kinyert huminsav és fulvósav frakciók, illetve a C18-SPE oszlop által megkötött NOM frakciók a diagramok eltérő részét foglalják el. Nagyobb O/C atomi aránnyal bíró, oxigénben gazdagabb, sőt nagyobb H/C atomi arányal bíró, alifásabb karakterű komponensek jóval nagyobb arányban jelennek meg a **44. ábra** diagramjain. Ugyanakkor a különböző mélységekből, tehát 993 és 2103 méteres talpmélységű kutak vizéből SPE oszlopokon megkötődött komponensek atomi arányai által elfoglalt területek viszonylag elég nagyok. A 993 méteres talpmélységű kutak vizének C18-SPE frakciója oxigénben gazdagabbnak tűnik, ez a megfigyelés összhangban van az elemanalízis,

valamint a kinyert huminsav és fulvósav frakció tömegspektrometriás vizsgálataira kapott eredményekkel.



44. ábra: A legsekélyebb (fent) és legmélyebb (lent) kút vizének azonnali (bal) és 1 napos állást (jobb) követő savazása után C18-SPE oszlopon való megkötését, majd leoldását követő ESI-FT-ICR tömegspektrometriás vizsgálat alapján meghatározott atomi arányok van Krevelen diagramokon ábrázolva

# 5. Összefoglalás

Magyarország különleges földtani adottságainak köszönhetően termálvizekben kivételesen gazdag. A termálvizek gyakran jelentős szerves anyag tartalommal bírnak, melynek egy részét kémiailag nem azonosítható, nagy molekulájú, barna színű, feltehetően humuszanyag frakciók alkotják. A felszínre kerülő termálvizet hagyományosan ivóvízként és fürdővízként használják évszázadok óta. A fürdővízként használt termálvizekben jelenlévő szerves anyagok terápiás hatását nemrég kezdték el vizsgálni, ez azért is figyelemre méltó, mivel a humuszanyagok bizonyítottan gyulladáscsökkentő és antivirális hatásúak. Továbbá napjainkban egyre nagyobb szerepet kap a kitermelt termálvizek hőjének hasznosítása is. Az energetikai célú hasznosítást követően a lehűlt termálvíz vízadó rétegbe történő visszasajtolása során a visszasajtoló kutak szűrőin megfigyelhető sötétbarna kiválások megjelenéséhez a termálvíz nagyobb molekulájú szerves anyaga is hozzájárul. A termálvizek felhasználását tehát alapvetően befolyásolhatja a jelenlévő humuszanyagok mennyisége és minősége.

Munkám során célom volt termálvizek humuszanyag tartalmát vizsgálni. A Pannon-medence dél-kelet magyarországi részének felső pannon rétegeiből (750 és 2100 méteres mélységtartomány) kitermelt termálvizekből nyertem ki műveletileg meghatározott huminsavat és fulvósavat a Nemzetközi Humuszanyag Társaság vízi humuszanyagokra vonatkozó ajánlása alapján. A kinyerési módszer biztosítja, hogy a kinyert humusz frakciók egyéb, hasonló módon kinyert humusz frakciókkal, valamint a társaság által létrehozott sztenderd és referencia mintákat tartalmazó gyűjtemény tagjaival is összehasonlíthatóak legyenek. A Suwannee folyóból kinyert referencia fulvósav (SRFA) és huminsav minta (SRHA) jellemzőit is vizsgáltam.

Három makói és három szegedi kút vizét vizsgáltam. A felszínre kerülő termálvizek hőmérséklete és a kutak szűrőzött mélység tartománya alapján a makói minták növekvő hőmérsékletet és mélységet mutatnak, a hasonló hőmérsékletű szegedi minták pedig közel azonos szűrőzött mélységből származnak, jellemzőik a mélyebb makói kutak vizéhez hasonlóak. Három, egymást követő évben történt a mintavételezés. Továbbá a legmélyebb kút vizéből kétszer vettem mintát, illetve az utolsó évben a legsekélyebb és a legmélyebb kút esetén a termálvíz felszínre kerülését követően azonnal, savazással tartósítottam a vízmintákat. Az eltérő időpontban, azaz egy nap után vagy azonnal végzett savazás révén lehetőségem nyílt a megváltozott körülmények (azaz csökkenő hőmérséklet és oxigén jelenléte) esetleges hatását a kinyert huminsav és fulvósav frakciók tulajdonságaira tanulmányozni. Ultra-nagy felbontású FT-ICR tömegspektrometriás módszerrel a különböző időpontokban savazott vízmintákat közvetlenül is tudtam vizsgálni. A vízmintavételezést követően szervetlen és szerves anyag tartalomra vonatkozó rutin vízanalitikai vizsgálatokat (lúgosság, TOC, UV-látható spektroszkópia) is elvégeztem, és összehasonlítottam korábbi mintavételek eredményeivel. Az alkáli-hidrogénkarbonátos termálvizek szervetlen anyag tartalma (Na<sup>+</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) a mélység növekedésével nő. Ugyanakkor helyi különbségek is előfordulnak, melyek a szervetlen ion összetételbeli eltérésekben is visszatükröződnek. A termálvizek szervetlen ion összetételében tapasztalt mélységtől függő változások, sőt a helyi különbségekhez köthető eltérésekhez hasonló irányok mutatkoztak a kinyert humusz frakciók egyes jellemzőinek, pl. elemi összetételből számított atomi arányok, karboxilos oxigén teljes oxigén tartalomhoz viszonyított aránya, infravörös abszorbancia értékekből képzett arányok változásaiban.

A kinyert humusz frakciók tömege és a vízminták térfogata alapján meghatároztam a termálvizek huminsav és fulvósav koncentrációját. A huminsav és fulvósav koncentráció aránya (HA:FA) jelentősen eltér a felszíni vízi környezetben tapasztalt értéktől. A termálvizek összes szerves szén tartalma alapján földtani, a vizek szerves anyag tartalmára vonatkozó vízföldtani hasonlóságot figyelembe véve arra következtettem, hogy a humuszanyagok is kerogén tartalmú üledékből vagy szerves anyag tartalmú felszín alatti víz utánpótlásból származnak, továbbá forrásuk nem áll kapcsolatban olajmezővel. A humuszanyag koncentráció összes szerves szénhez, valamint a fulvósav tartalom huminsav tartalomhoz viszonyított csökkenése alapján azt a következtetést vontam le, hogy a mélység növekedésével egyrészt a humuszanyag tartalom kisebb szerves vegyületekké bomlik, másrészt a fulvósav frakció molekulái nagyobb mértékben bomlanak, mint a huminsav frakciót alkotó molekulák. Továbbá feltételezhető, hogy a kerogén és felszín alatti víz reakciójából származó komponensek döntően a huminsav frakcióba tartoznak.

A kinyert huminsav és fulvósav frakciók elemi összetétele alapján megállapítottam, hogy a termálvízi eredetű humuszanyagok az egyéb forrásanyagokból kinyert humuszanyagok által meghatározott összetétel tartományban léteznek, ugyanakkor a felszíni vízi eredetű humuszanyagok elemi összetételéhez képest elsősorban abban térnek, hogy kisebb oxigén tartalommal és nagyobb szén tartalommal bírnak. A termálvíz felszínre kerülését követően a termálvízi eredetű humuszanyagok nem válnak oxigénben gazdagabbá. A termálvíz mélységének növekedésével a humuszanyagok O/C atomi aránya csökken, H/C atomi aránya viszont nő. Oxigén mellett nagy mennyiségben egyéb
heteroatomot, pl. nitrogént és ként is tartalmazó humuszanyagok keletkezése eltérő szerves anyag forrásra, vagy geokémiai körülményekre (kén beépülése a humusz frakció molekuláiba) utalhat.

A termálvízi humuszanyagok potenciometriás sav-bázis titrálással, FTIR és <sup>1</sup>H-NMR spektroszkópiával meghatározott funkciós csoport összetétele, valamint fluoreszcencia spektroszkópiával vizsgált jellemzői az egy napos állási idő után végzett tartósítás hatására nem változnak. Az ESI-FT-ICR tömegspektrometriás mérések is hasonló eredményt mutatnak, mivel a meghatározott molekulaképletekből számított atomi arányok van Krevelen diagramon elfoglalt mintázata nem változik a savazás időpontjától függően.

A termálvízből kinyert humuszanyagok potenciometriás sav-bázis titrálással meghatározott savas funkciós csoport mennyiség értékeinek alakulása alapján a szárazföldi, nem vízi eredetű humusz frakciókkal mutatnak rokonságot. Ezen értékekből becsült karboxil és fenolos hidroxil csoport tartalom nem mutat változást a termálvíz mélységétől függően, ugyanakkor a karboxil csoportban jelenlévő oxigén teljes oxigén tartalomhoz viszonyított aránya a termálvíz mélységének függvényében nő. Megállapítottam, hogy a humuszanyagokban, elsősorban a fulvósavakban az oxigén legnagyobb arányban karboxil csoport formájában van jelen. A felszíni vízi eredetű fulvósav (SRFA) oxigén tartalma nagyobb, míg karboxilos oxigén tartalma kisebb, mint termálvízi eredetű megfelelő frakciók, ez alapján úgy tűnik, hogy a termálvízi humusz frakciók oxigén tartalma kevésbé változatos formában jelenik meg, kémiailag egységesebb, mint az SRFA referencia mintában.

A termálvízi huminsavak infravörös spektruma az üledékes szerves anyaggal fennálló rokonságot is alátámaszthatja. Az infravörös abszorbancia értékek alapján – összhangban a potenciometriás sav-bázis titrálás eredményeivel – megállapítottam, hogy a legnagyobb gyakoriságú oxigéntartalmú funkciós csoport a karboxil csoport, továbbá hogy a fulvósavak jóval gazdagabbak karboxil csoportokban, mint a huminsavak. Az adott hullámszámokon mért infravörös abszorbancia értékekből képzett arányok változása arra utal, hogy a termálvízből kinyert huminsav és fulvósav frakciók a növekvő mélységgel egyre alifásabb és/vagy kevésbé aromás jellegűvé válnak, valamint a minták karboxil tartalma nő vagy nem csökken. Az elemanalízissel meghatározott mélységgel csökkenő O tartalom okaként a karboxil csoporttól eltérő oxigén tartalmú funkciós csoportok mennyiségének csökkenését tételezem fel, összhangban a potenciometriás sav-bázis titrálás alapján becsült karboxilos oxigén tartalom teljes oxigén tartalomhoz viszonyított arányának növekedésével. Az elemi összetételből számított H/C atomi arány és az infravörös abszorbancia értékekből képzett  $A_{2925cm^{-1}}$  /  $A_{1620cm^{-1}}$  arány között lineáris kapcsolat van. Az oxigén mellett egyéb heteroatomot (nitrogén) jelentősebb mennyiségben tartalmazó humusz minta esetén azonban az összefüggés nem áll fenn.

A termálvíz mélységének növekedésével az <sup>1</sup>H-NMR spektrumok csúcsai elsősorban a fulvósav frakció esetén élesebbé válnak, mely molekulatömeg csökkenésre utal. A termálvízi humuszanyagok elsősorban a heteroatomos protonok mennyiségében térnek el a felszíni vízi eredetű humusz frakcióktól, mivel jóval kisebb a heteroatomos proton tartalmuk. A huminsav frakciók az aromás, a fulvósav frakciók pedig az alifás I protonokban gazdagabbak, mint a megfelelő felszíni vízi eredetű frakciók. A mélység növekedésével a humusz minták heteroatomos protonjainak mennyisége 40-50%-kal csökken, továbbá az aromás protonok relatív gyakorisága kissé, az alifás I protonoké pedig határozottabban nő, az alifás II protonok relatív gyakoriságának változása viszont nem egyértelmű. Az elemi összetételből számított H/C atomi arány és az <sup>1</sup>H-NMR spektrumból származtatott alifás és aromás proton arány között nem egyértelmű a kapcsolat. A nagy nitrogén tartalomhoz jelentősebb heteroatomos proton tartalom társul, nagy kén tartalom

A humuszanyagok fluoreszcencia spektrumai a termálvíz mélységének növekedésével a gerjesztési és emissziós hullámhossz értékekben a rövidebb hullámhosszak felé tartó, azaz kék eltolódást mutatnak. Ennek okaként molekulatömeg csökkenés is feltételezhető, mely összhangban van az NMR-jelek élesedésével. Továbbá egyszerűbb szerkezetű komponensek, valamint elektron leadásra képes hidroxil, metoxi és amino csoportok jelenléte is lehetséges, ugyanakkor kisebb mértékű aromás polikondenzáció és konjugáció is feltételezhető.

A szénhidrát elemzés alapján megállapítottam, hogy a glükóz és a galaktóz a leggyakoribb cukor a humusz mintákban, hasonlóan más forrásanyagokból kinyert humuszanyagokhoz. Továbbá, hogy a huminsavak gazdagabbak cukorban, mint a megfelelő fulvósav frakciók. Ugyanakkor a termálvízi huminsav és fulvósav minták a felszíni vízi eredetű humusz frakciók cukortartalmának csak töredékét tartalmazzák. A nagy nitrogén tartalmú huminsav jelentős mennyiségben szénhidrátot is tartalmaz. Az aminosav elemzés szerint a vizsgált termálvízi humuszanyagokban a glicin és a glutaminsav a leggyakoribb aminosav, a huminsavak pedig gazdagabbak aminosavban,

mint a megfelelő fulvósav frakciók. Az aminosav elemzés alapján az is megállapítható, hogy a kénben gazdag humusz minta kén tartalma nem kén tartalmú aminosavakhoz, azaz metioninhez vagy ciszteinhez köthető. Ugyanakkor a nagy nitrogén tartalmú huminsav nitrogén tartalmának jelentős része aminosav egységek formájában van jelen. Ez utóbbi eltérő szerves anyag forrásra utal.

Megállapítottam, hogy az elemanalízisből, valamint az ESI-MS módszerrel meghatározott molekulaképletekből számított átlagos atomi arányok eltérnek. Az O/C atomi arányok kisebb értékkel bírnak, míg a H/C atomi arányok gyakorlatilag változatlanok az ESI-MS meghatározás esetén az elemanalízisből számítottakhoz képest. Ugyanakkor az ESI-MS alapján meghatározott atomi arányok visszatükrözik a termálvíz mélységétől függő változásokat, azaz csökkenő O/C és növekvő H/C atomi arányokat mutatnak.

A humusz frakciók ESI-MS-sel meghatározható különbségeinek, illetve a termálvízi eredetű minták esetén a termálvíz mélységétől függő változásainak felderítésére a korábbiakban gyakran alkalmazott van Krevelen diagramon történő ábrázolást, illetve az aromássági index (AI) szerinti csoportosítást használtam. Továbbá a bevezetett új adatfeldolgozási mód révén az összetételbeli változásokat tudtam értékelni. Az O/C atomi arány változását a heteroatomok szerinti komponens osztályokba sorolás, a H/C atomi arány alakulását pedig a hidrogén hiányt kifejező Z-érték szerini csoportosítás alapján vizsgáltam. Megállapítottam, hogy mind a huminsav, mind a fulvósav frakció esetén a termálvíz mélységének növekedésével a kevesebb oxigén atomot tartalmazó molekulák komponens osztályai nagyobb relatív gyakorisággal vannak jelen a mintákban. Továbbá a Z-érték kisebb negatív értékeket vesz fel, amely arra utal, hogy a minták kevésbé telítetlen, kevésbé aromás jellegűvé válnak a mélység növekedésével. A komponens osztály és Z-érték szerinti csoportosítás a huminsavak és fulvósavak közötti jelentős minőségbeli különbséget is visszatükrözi, más vizsgálati módszerek eredményeivel összhangban a huminsavak aromásabb, illetve a fulvósavak kevésbé aromás, alifásabb jellegét bizonyítja.

Az eredmények alapján elmondható, hogy a termálvízből kinyert humuszanyagok jellemzői (heteroatomos összetétel, alifás/aromás jelleg) a vízadó réteg mélységétől függően változnak, ugyanakkor a mintázási időszak alatt és a termálvíz felszínre kerülését követő rövid időtartamon belül ezek a jellemzők nem mutatnak változást.

## 6. Summary

Hungary is especially rich in thermal waters due to specific geologic conditions. Thermal waters often contain organic matter of significant amount, a part of which consists of chemically not identified molecules with high molecular weight and brown colour, presumably humic fractions. Thermal waters after outcropping have been traditionally used as drinking and spa water for centuries. Therapeutic effect of organic matter present in bath waters has recently begun to investigate. This is especially remarkable as humic substances are proven to have anti-inflammatory and antiviral effects. In addition, nowadays heat extraction from exploited thermal water has been played an increasing role, too. Higher molecular weight organic matter of thermal waters contributes to the appearance of dark brown precipitations on filters of wells during the injection of cooled thermal water back to the aquifer following energy use. Quantity and quality of humic substances present in thermal waters may essentially affect the use of thermal waters.

In my work my aim was to investigate the humic substances of thermal waters. I isolated operationally defined humic and fulvic acid from thermal waters exploited from Upper Pannonian layers of Southeast Hungary in Pannonian Basin (depth between 750 and 2100 meter) according to the procedure related to aquatic humic substances recommended by International Humic Substances Society. The isolation procedure ensures that the obtained humic fractions can be compared with other humic fractions isolated in a similar manner as well as the members of the collection consisting of standard and reference samples established by the society. I investigated the characteristics of the reference fulvic acid (SRFA) and humic acid (SRHA) isolated from Suwannee River, too.

I analyzed waters of three wells in Makó and Szeged, respectively. Based on the perforated depth of the wells and the temperature of thermal waters after outcropping, samples from Makó show increasing temperature and depth, in turn samples from Szeged with similar temperature originate from approximately same perforated depth. The characteristics of the samples from Szeged are similar to those of waters from deeper wells in Makó. Sampling in three consecutive years was performed. In addition, I sampled the water of the deepest well in the first and second year and that of the shallowest and deepest wells last year. Water samples were preserved immediately after outcropping by acidification last year. I could study the possible effect of changing conditions (i.e. decreasing temperature and the presence of oxygen) on the properties of isolated humic and fulvic acids by means of acidification done at different time (in a day or immediately

after outcropping). I could examine directly the water samples acidified at different time by ultra-high resolution FT-ICR mass spectrometry, too. I also performed routine analytical tests related to the inorganic and organic content (alkalinity, total organic carbon, UV-visible spectroscopy) after water sampling, and I compared the results with those of previous samplings. The inorganic content (Na<sup>+</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) of thermal waters of alkalibicarbonate increases with depth. But local differences may occur which reflect in variations of inorganic content, too. Similar trends appear in some characteristics of the isolated humic fractions like changes in inorganic content of thermal waters depending on the depth, and even variations related to local differences, for example changes in the atomic ratios calculated from elemental analysis, the carboxyl oxygen to total oxygen content ratio, the ratios derived from infrared absorbance values.

I determined the humic acid and fulvic acid concentration in thermal waters on the basis of the mass of isolated humic fractions and the volume of water samples. The humic acid to fulvic acid ratio (HA:FA) significantly differ from the value found in surface water environment. I concluded that humic substances may originate from either kerogen containing sediment or groundwater recharge of organic matter content, but their source is not in contact with oilfield on the basis of total organic carbon content of thermal waters taking into account geological and hydrogeological analogy, too. Furthermore, I concluded that humic content decomposes into smaller organic compounds and molecules of fulvic acid fraction decay in higher degree than those of humic acid fraction based on the decrease of the humic substances concentration relative to total organic carbon as well as that of fulvic acid content relative to humic acid content with increasing depth. In addition, it is presumable that compounds originating from interaction of kerogen and groundwater are mainly in humic acid fraction.

Based on the elemental composition of isolated humic and fulvic acids, I determined that humic substances originating from thermal waters exist in composition range defined for humic substances extracted from other sources. In addition, they have lower oxygen and higher carbon content as compared with elemental composition of humic substances originating from surface water. After outcropping of thermal water humic substances do not become richer in oxygen. O/C atomic ratio of humic substances decreases, their H/C atomic ratio increases with increasing depth of thermal water. Formation of humic substances containing high amount nitrogen and sulfur may refer

different organic matter source or geochemical conditions (incorporation of sulfur into humic molecules).

Functional group composition of humic substances originating from thermal waters determined by potentiometric acid-base titration, FTIR and <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy, as well as their fluorescence characteristics investigated by fluorescence spectroscopy do not change due to preservation after one day standing. ESI-FT-ICR mass spectrometric measurements show similar results since the patterns of the atomic ratios calculated from determined molecular formulas on the van Krevelen diagram do not change depending on the date of acidification.

Humic substances isolated from thermal waters show relationship with terrestrial, not aquatic humic fractions based on the amounts of acidic functinal groups determined by potentiometric acid-base titration. Carboxyl and phenolic hydroxyl group contents estimated from these values do not indicate change depending on the depth of thermal water. However, oxygen present in carboxyl group to total oxygen content ratio increases in a function of thermal water depth. I found that the largest proportion of oxygen in humic substances is present in carboxyl group, especially in fulvic acids. Fulvic acid originating from surface water (SRFA) has higher oxygen content but its oxygen content in carboxyl group is lower than that in the corresponding fractions isolated from thermal waters. Based on this observation, it seems that oxygen content of humic fractions from thermal water appears in less various forms, and is chemically more uniform than that in SRFA.

Infrared spectra of humic acids from thermal waters may confirm the relationship with sedimentary organic matter, too. I established that most abundant oxygen containing functional group is the carboxyl group, as well as fulvic acids are much richer in carboxyl groups than humic acids based on infrared absorbance values in accordance with the results of potentiometric acid-base titration. The changes in ratios derived from infrared absorbance values measured at different wavenumbers indicate that humic acid and fulvic acid fractions isolated from thermal waters become more aliphatic and/or less aromatic gradually with increasing depth, while the carboxyl content of the samples increase or not change at all.

I supposed the decrease of amount of functional groups other than carboxyl groups like the reason for decreasing oxygen content with depth measured by elemental analysis. This observation is in accordance with increase of the carboxyl group to total oxygen content ratio estimated from potentiometric acid-base titration. There is linear relationship between H/C atomic ratio calculated from elemental composition and  $A_{2925cm^{-1}}$  /  $A_{1620cm^{-1}}$  ratio derived from infrared absorbance values. However, this correlation does not exist in case of humic samples containing heteroatom (nitrogen) other than oxygen in significant amount.

The peaks of <sup>1</sup>H-NMR spectra of humic substances sharpen with increasing depth of thermal water, especially in case of fulvic acid fraction. This observation denotes decreasing molecular weight. Humic substances isolated from thermal water differ mainly in heteroatomic proton content as compared with humic fractions from surface water environment, since they have much less heteroatomic proton content. Humic acids are richer in aromatic, and fulvic acids are richer in aliphatic I proton than the corresponding fractions from surface water. The heteroatomic proton content of humic samples decreases by 40-50 % in a function of depth. In addition, the relative abundance of aromatic protons protons increases to some extent, and that of aliphatic I protons in higher degree, but the change of aliphatic II protons is not obvious. There is no unequivocal relationship between H/C atomic ratio calculated from elemental composition and the ratio of aliphatic to aromatic proton derived from <sup>1</sup>H-NMR spectrum. The high nitrogen content is associated with greater heteroatomic proton content, but this is not typical in case of high sulfur content.

Fluorescence spectra of humic substanes represent shift in the values of the excitation and emission wavelength towards shorter wavelengths, namely blue shift as the depth of thermal water increases. Decreasing molecular weight can be assumed as the reason of this phenomenon, which is consistent with the sharpening of NMR signals. In addition, presence of components of simpler structure, and electron withdrawing groups like hydroxyl, methoxy and amino groups is also possible, however, less aromatic polycondensation and conjugation is assumed, too.

I established that the most common carbohydrates are glucose and galactose in the humic samples similarly in humic substances derived from other sources. In addition, humic acids are richer in carbohydrates than corresponding fulvic acids. As well as humic and fulvic acids isolated from thermal waters contain only a fraction of the carbohydrate content of humic fractions derived from surface water. Humic acid of high nitrogen content contains carbohydrate of significant amount, too. The amino acid analysis indicates that the most abundant amino acids are glycine and glutamic acid in the examined humic substances. Humic acids are richer in amino acids than the corresponding fulvic acids. It is also concluded that the sulfur content of the sulfur-rich humic sample is not associated with sulfur containing amino acids, methionine or cysteine, based on amino acid analysis. However, the substantial part of the nitrogen content of humic acid with high nitrogen content is present in amino acids. This fact refers different source of organic matter.

I observed that atomic ratios derived from elemental analysis and those calculated from molecular formulas determined by ESI-MS are different. O/C atomic ratios have lower values and H/C atomic ratios are virtually unchanged in case of ESI-MS measurement as compared with values calculated from elemental analysis. However, atomic ratios determined by ESI-MS reflect changes depending on the depth of thermal water, namely decreasing O/C and increasing H/C atomic ratios.

Representation on van Krevelen diagram, which was commonly applied in the past and grouping by aromaticity index (AI) were used to explore the differences of humic fractions definable by ESI-MS and changes depending on the depth of thermal water in case of humic substanes isolated from thermal waters, respectively. In addition, I could evaluate the compositional changes by new data processing method. I studied the change of O/C and H/C atomic ratios based on grouping according to compund classes containing different heteroatoms and Z-value which expresses the deficit of hydrogen, respectively. I found that molecules of compound classes containing less oxygen atom were present with higher relative abundance both in humic and fulvic acid fraction with increasing depth of thermal water. Furthermore, the Z-value is less negative, which suggests that the samples become less unsaturated, less aromatic as depth increases. Grouping according to compund class and Z-value reflects the significant qualitative difference between the humic and fulvic acids, too. This confirms more aromatic character of humic acids and less aromatic, more aliphatic character of fulvic acids in accordance with results of other methods.

The results suggests that characteristics of humic substances isolated from thermal water (heteroatomic composition, aliphatic/aromatic character) change depending on the depth of the aquifer, but these features show no change during the sampling period after outcropping of thermal water.

## Irodalomjegyzék

- Aiken, G. R. Isolation and concentration techniques for aquatic humic substances, In: Humic Substances in Soil, Sediment, and Water (Eds. Aiken, G. R.; McKnight, D. M.; Wershaw, R. L.; MacCarthy, P.) Wiley-Interscience, New York, 1985. 363-385.
- Aiken, G. R.; Brown, P. A.; Noyes, T. I.; Pinckney, D. J. Molecular Size and Weight of Fulvic and Humic Acids from the Suwannee River. In: Humic Substances in the Suwannee River, Georgia: Intercations, Properties, and Proposed Structure (Eds. Averett, R. C.; Leenheer, J. A.; McKnight, D. M.; Thorn, K. A.) USGS, Report 87-557, Denver, 1989. 89-97.
- Aiken, G. R.; McKnight, D. M.; Wershaw, R. L.; MacCarthy, P. Eds. Humic Substances in Soil, Sediment, and Water. Wiley-Interscience, New York, 1985.
- Aiken, G. R.; Thurman, E. M.; Malcolm, R. L.; Walton, H. F. Comparison of XAD macroporous resins for the concentration of fulvic acid from aqueous solution. Anal Chem., 1979, 51, 1799-1803.
- Alberts, J. J. and Takács, M. Total luminescence spectra of IHSS standard and reference fulvic acids, humic acids and natural organic matter: comparison of aquatic and terrestrial source terms. Org. Geochem., 2004, 35, 243-256.
- Alberts, J. J.; Filip, Z.; Hertkorn, N. Fulvic and humic acids isolated from groundwater: Compositional characteristics and cation binding. J Contam. Hydrol., 1992, 11, 317-33.
- Allard, B. A comparative study on the chemical composition of humic acids from forest soil, agricultural soil and lignite deposit Bound lipid, carbohydrate and amino acid distributions. Geoderma, 2006, 130, 77-96.
- Antics, M. and Sanner, B. Status of geothermal energy use and resources in Europe. Proceedings of the European Geothermal Congress 2007. Unterhaching, Germany, 30 May-1 June 2007. CD.
- Árkai, P.; Livi, K. J. T.; Frey, M.; Brukner-Wein, A.; Sajgó, Cs. White micas with mixed interlayer occupancy: a possible cause of pitfalls in applying illite Kübler index ("crystallinity") for the determination of metamorphic grade. Eur. J. Mineral., 2004, 16, 469-482.
- Artinger, R.; Buckau, G.; Geyer, S.; Fritz, P.; Wolf, M.; Kim, J. I. Characterization of groundwater humic substances: influence of sedimentary organic carbon. Appl. Geochem., 2000, 15, 97-116.
- Axelsson, G.; Stefánsson, V.; Björnsson, G.; Liu, J. Sustainable Management of Geothermal Resources and Utilization for 100 – 300 Years. Antalya, Proceedings World Geothermal Congress 2005. Antalya, Turkey, Turkey 24-29 April 2005. CD.
- Badics, B.; Sajgó, Cs.; Vető, I.; Uhrin, A.; Bartha, A. Mako Trough basin-centered gas accumulation: Myth or reality? Investigated by a 3D basin modelling study. In: Medencefejlődés és geológiai erőforrások: Víz, szénhidrogén, geotermikus energia (Ed. Pál-Molnár, E.) Magyarhoni Földtani Társulat vándorgyűlése, GeoLitera, Szeged, 2010. 30-32.
- Barančíková, G.; Senesi, N.; Brunetti, G. Chemical and spectroscopic characterization of humic acids isolated from different Slovak soil types, Geoderma, 1997, 78, 251-266.
- Bartoszek, M.; Polak, J.; Sułkowski, W.W. NMR study of the humification process during sewage sludge treatment. Chemosphere, 2008, 73, 1465-1470.

- Batta, Gy. Korszerű méréstechnikák az NMR-ben. Magyar Kémiai Folyóirat, 2004, 109-110, 127-135.
- Beck, K. C.; Reuter, J. H.; Perdue, E. M. Organic and inorganic geochemistry of some coastal plain rivers of the southeastern United States. Geochim. Cosmochim. Ac., 1974, 38, 341-364.
- Benner, R. Molecular indicators of the bioavailability of dissolved organic matter. In: Aquatic Ecosystems: Interactivity of Dissolved Organic Matter (Eds. Findlay, S. E. G., Sinsabaugh, R. L.) Elsevier Science, 2003. 121-137.
- Bertino, D. J.; Albro, P. W.; Hass, J. R. Enzymatic hydrolysis of carbohydrates in aquatic fulvic acid. Environ. Sci. Technol., 1987, 21, 859-863.
- Bessiere, Y.; Jefferson, B.; Goslan, E.; Bacchin, P. Effect of hydrophilic/hydrophobic fractions of natural organic matter on irreversible fouling of membranes. Desalination, 2009, 249, 182-187.
- Bolin, B. Changes of Land Biota and Their Importance for the Carbon Cycle, Science, 1977, 196, 613-615.
- Bowles, E. C.; Antweiler, R. C.; MacCarthy, P. Acid-base titration and hydrolysis of fulvic acid from Suwannee River, In: Humic Substances in the Suwannee River, Georgia: Intercations, Properties, and Proposed Structure (Eds. Averett, R. C.; Leenheer, J. A.; McKnight, D. M.; Thorn, K. A.) USGS, Report 87-557, Denver, 1989. 116-127.
- Bracewell, J. M.; Haider, K.: Larter, S. R.: Schulten, H. R. Thermal degradation relevant to structural studies of humic substances In: Humic Substances II. In Search of structure (Eds. Hayes, M. H. B.; MacCarthy, P.; Malcolm, R. L.; Swift, R. S.) Wiley, Chichester, 1989. 181-222.
- Brons, H. J.; Griffioen, J.; Appelo, C. A. J.; Zehnderi, A. J. B. (Bio)geochemical reactions in aquifer material from a thermal energy storage site. Water Res., 1991, 25, 729-736.
- Brown, T. L. and Rice, J. A. Effect of experimental parameters on the ESI FT-ICR mass spectrum of fulvic acid. Anal. Chem., 2000, 72, 384-390.
- Buckau, G.; Artinger, R.; Geyer, S.; Wolf, M.; Fritz, P.; Kim, J. I. Groundwater in-situ generation of aquatic humic and fulvic acids and the mineralization of sedimentary organic carbon, Appl. Geochem., 2000, 15, 819-832.
- Cavoski, I.; D'Orazio, V.; Miano, T. Interactions between rotenone and humic acids by means of FT-IR and fluorescence spectroscopies. Anal. Bioanal. Chem., 2009, 395, 1145-1158.
- Chalupa, J. Humic acids in water I. Methods of preparation and determination. Scientific Papers from Institute of Chemical Technology, Prague, 1963, 18-47.
- Chen, J.; LeBoeuf, E. J.; Dai, S.; Gu, B. Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions. Chemosphere, 2003, 639-647.
- Cheng, X. and Kaplan, L. A. Improved analysis of dissolved carbohydrates in stream water with HPLC-PAD. Anal. Chem., 2001, 73, 458-461.
- Chin, Y.-P.; Aiken, G.; O'Loughlin, E. Molecular Weight, Polydispersity, and Spectroscopic Properties of Aquatic Humic Substances. Environ. Sci. Technol., 1994, 28, 1853-1858.

- Coble, P. G. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitationemission matrix spectroscopy. Mar. Chem., 1996, 51, 325-346.
- Coble, P. G.; Green, S. A.; Blough, N. V.; Gagosian, R. B. Characterization of dissolved organic matter in the Black Sea by fluorescence spectroscopy. Nature, 1990, 348, 432-435.
- Ćosović, B.; Vojvodić, V.; Bošković, N.; Plavšić, M.; Lee, C. Characterization of natural and synthetic humic substances (melanoidins) by chemical composition and adsorption measurements. Org. Geochem., 2010, 41, 200-205.
- Cronan, C. S. and Aiken, G. Chemistry and transport of soluble humic substances in forested watersheds of the Adirondack Park, New York. Geochim. Cosmochim. Ac., 1985, 49, 1697-1705.
- Davis, W. M.; Erickson, C. L.; Johnston, C. T.; Delfino, J. J.; Porter, J. E. Quantitative Fourier transform infrared spectroscopic investigation of humic substance functional group composition. Chemosphere, 1999, 38, 2913-2928.
- Dittmar, T.; Koch, B.; Hertkorn, N.; Kattner, G. A simple and efficient method for the solid-phase extraction of dissolved organic matter (SPE-DOM) from seawater. Limnol. Oceanogr-Meth., 2008, 6, 230-235.
- Divya, O.; Venkataraman, V.; Mishra, A. K. Analysis of metal ion concentration in humic acid by excitation-emission matrix fluorescence and chemometric methods. J. Appl. Spectrosc., 2009, 76, 864-875.
- Doig, L. E. and Liber, K. Nickel speciation in the presence of different sources and fractions of dissolved organic matter. Ecotox. Environ. Safe., 2007, 66, 169-177.
- Dövényi, P.; Horváth, F.; Liebe, P.; Gálfi, J.; Erki I. Magyarország geotermikus viszonyai. Geofizikai Közlemények, 1983, 29, 77-78.
- Einsiedl, F.; Hertkorn, N.; Wolf, M.; Frommberger, M.; Schmitt-Kopplin, Ph.; Koch, B. P. Rapid biotic molecular transformation of fulvic acids in a karst aquifer. Geochim. Cosmochim. Ac., 2007, 71, 5474-5482.
- Einsiedl, F.; Mayer, B.; Schafer, T. Evidence for incorporation of H2S in Groundwater fulvic acids from stable isotope ratios and Sulfur K-edge X-ray Absorption Near Edge Structure Spectroscopy. Environ. Sci. Technol., 2008, 42, 2439-2444.
- Erdélyi, M. Hydrodynamics of the Hungarian Basin. VITUKI Közlemények 18. Budapest, 1979.
- Ernst, R. R.; Bodenhausen, G.; Wokaun, A. Principles of Nuclear Magnetic Resonance in One and Two Dimensions. Oxford University Press, New York, 1987.
- Esteves, V. I.; Otero, M.; Duarte, A. C. Comparative characterization of humic substances from the open ocean, estuarine water and fresh water. Org. Geochem., 2009, 40, 942-950.
- European Environment Agency Homepage, http://www.eea.europa.eu/
- Fenn, J. B.; Mann, M.; Meng, C. K.; Wong, S. F.; Whitehouse, C. M. Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. Science, 1989, 246, 64-71.

Ferenc B. Magyarország Hévízkútjai VI. (szerk.) VITUKI, Budapest, 1994, 1-15.

- Fernández, J. M.; Hockaday, W. C.; Plaza, C.; Polo, A.; Hatcher, P. G. Effects of longterm soil amendment with sewage sludges on soil humic acid thermal and molecular properties. Chemosphere, 2008, 73, 1838-1844.
- Fievre, A.; Solouki, T.; Marshall, A. G.; Cooper, W. T. High-resolution Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry of humic and fulvic acids by laser desorption/ionization and electrospray ionization. Energ. Fuel., 1997, 11, 554.
- Flaig, W.; Beutelspacher, H.; Rietz, E. Chemical composition and physical properties of humic substances. In: Soil components: Volume 1. Organic components (Ed. Gieseking, J. E.) Springer-Verlag, New York, 1975. 1-211.
- Fodor, B. A makói gázmezőről: A dél-alföldi (makói árok) földgáz megkutatása és kitermelése nemzeti érdek. Bányászati és kohászati lapok. Bányászat, 2007, 140, 33-34.
- Fridleifsson, I. B. Geothermal energy for the benefit of the people. Renew. Sust. Energ. Rev., 2001, 5, 299-312.
- Fuentes, M.; González-Gaitano, G.; García-Mina, J. M. The usefulness of UV–visible and fluorescence spectroscopies to study the chemical nature of humic substances from soils and composts. Org. Geochem., 2006, 37, 1949-1959.
- Gaskell, S. J. Electrospray : Principles and Practice. J. Mass Spectrom., 1997, 32, 677-688.
- Gaspar, A.; Kunenkov, E. V.; Lock, R.; Desor, M.; Perminova, I.; Schmitt-Kopplin, Ph. Combined utilization of ion mobility and ultra-high resolution mass spectrometry to identify multiply charged constituents in natural organic matter. Rapid Commun. Mass Spectrom., 2009, 23, 683-688.
- Giannakopoulos, E.; Drosos, M.; Deligiannakis, Y. A humic-acid-like polycondensate produced with no use of catalyst. J. Colloid Interf. Sci., 2009, 336, 59-66.
- Goldberg, M. C. and Weiner, E. R. Fluorescence measurements of the Volume, Shape and Fluorophore Composition of Fulvic Acid from the Suwanne River. In: Humic Substances in the Suwannee River, Georgia: Intercations, Properties, and Proposed Structure (Eds. Averett, R. C.; Leenheer, J. A.; McKnight, D. M.; Thorn, K. A.) USGS, Report 87-557, Denver, 1989. 99-114.
- Gray, S. R.; Ritchie, C. B.; Tran, T.; Bolto, B. A. Effect of NOM characteristics and membrane type on microfiltration performance. Water Res., 2007, 41, 3833-3841.
- Grøn, C.; Wassenaar, L.; Krog, M. Origin and structures of groundwater humic substances from three Danish aquifers. Environ. Int., 1996, 22, 519-534.
- Gudmundsson, J.-S. The elements of direct uses. Geothermics, 1988, 17, 119-136.
- Guetzloff, T. F. and Rice, J. A. Does humic acid form a micelle? Sci. Total Environ., 1994, 152, 31-35.
- Harvey, G. R. and Boran, D. A. Geochemistry of humic substances in seawater, In: Humic Substances in Soil, Sediment, and Water (Eds. Aiken, G. R.; McKnight, D. M.; Wershaw, R. L.; MacCarthy, P.) Wiley-Interscience, New York, 1985. 233-247.
- Hautala, K.; Peuravuori, J.; Pihlaja, K. Measurement of aquatic humus content by spectroscopic analyses. Water Res., 2000, 34, 346-258.
- Haworth, R. D. Chemical nature of humic acid. Soil Science, 1971, 111, 71-79.

- Hayes, M. H. B.; MacCarthy, P.; Malcolm, R. L.; Swift, R. S. Eds. Humic Substances II: In Search of Structure. Wiley, Chichester, 1989.
- Hedges, J. I. The formation and clay mineral reactions of melanoidins. Geochim. Cosmochim. Ac., 1978, 42, 69-76.
- Heitmann, T. and Blodau, C. Oxidation and incorporation of hydrogen sulfide by dissolved organic matter. Chem. Geol., 2006, 235, 12-20.
- Henderson, R. K.; Baker, A.; Murphy, K. R.; Hambly, A.; Stuetz, R. M.; Khan, S. J. Fluorescence as a potential monitoring tool for recycled water systems: A review. Water Res., 2009, 43, 863-881.
- Hertkorn, N.; Benner, R.; Frommberger, M.; Schmitt-Kopplin, Ph. Witt, M.; Kaiser, K.; Kettrup, A.; Hedges, J. I. Characterization of a major refractory component of marine dissolved organic matter. Geochim. Cosmochim. Ac., 2006, 70, 2990-3010.
- Hertkorn, N.; Claus, H.; Schmitt-Kopplin, Ph.; Perdue, E. M.; Filip, Z. Utilization and transformation of aquatic humic substances by autochthonous microorganisms. Environ. Sci. Technol., 2002, 36, 4334-4345.
- Hertkorn, N.; Frommberger, M.; Witt, M.; Koch, B. P.; Schmitt-Kopplin, Ph.; Perdue, E. M. Natural organic matter and the event horizon of mass spectrometry. Anal. Chem., 2008, 80, 8908-8919.
- Hertkorn, N.; Ruecker, C.; Meringer, M.; Gugisch, R.; Frommberger, M.; Perdue, E. M.; Witt, M.; Schmitt-Kopplin, Ph. High-precision frequency measurements: indispensable tools at the core of molecular-level analysis of complex systems. Anal. Bioanal. Chem., 2007, 389, 1311-1327.
- Hetényi, M. Organic geochemistry and hydrocarbon potential of Neogene sedimentary rocks in Hungary, J. Petrol. Geol., 1992, 15, 87-96.
- Hongve, D. and Åkesson, G. Spectrophotometric determination of water colour in hazen units. Water Res., 1996, 30, 2771-2775.
- Hughey, C. A.; Hendrickson, C. L.; Rodgers, R. P.; Marshall, A. G.; Qian, K. N. Kendrick mass defect spectrum: A compact visual analysis for ultrahigh-resolution broadband mass spectra. Anal. Chem., 2001, 73, 4676-4681.
- Hughey, C. A.; Rodgers, R. P.; Marshall, A. G.; Qian, K.; Robbins, W. K. Identification of acidic NSO compounds in crude oils of different geochemical origins by negative ion electrospray Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. Org. Geochem., 2002, 33, 743-759.
- Hunt, S. M.; Sheil, M. M.; Belov, M.; Derrick, P. J. Probing the Effects of Cone Potential in the Electrospray Ion Source: Consequences for the Determination of Molecular Weight Distributions of Synthetic Polymers. Anal. Chem., 1998, 70, 1812-1822.
- Hur, J.; Lee, D.-H.; Shin, H.-S. Comparison of the structural, spectroscopic and phenanthrene binding characteristics of humic acids from soils and lake sediments. Org. Geochem., 2009, 40, 1091-1099.
- International Humic Substances Society Homepage, http://www.ihss.gatech.edu/
- Jahnel, J. B. and Frimmel, F. H. Detection of glucosamine in the acid hydrolysis solution of humic substances. Fresen. J. Anal. Chem., 1996, 354, 886-888.

- Jahnel, J. B., Brinkmann T.; Abbt-Braun, G.; Frimmel, F. H. Occurence of amino acids, carbohydrates, and low-molecular-weight organic acids in refractory organic substances. In: Refractory organic substances (ROS) in the environment (Eds. Frimmel, F. H.; Abbt-Braun, G.; Heumann, K. G.; Hock, B.; Lüdemann, H.-D.; Spiteller, M.) Wiley – VCH, Weinheim, 2002. 264.
- Jones, M. N. and Bryan, N. D. Colloidal properties of humic substances. Adv. Colloid Interface Sci., 1998, 78, 1-48.
- Jonhston, C. F. and Tombácz, E. Surface Chemistry of Soil Minerals In: Soil Mineralogy with Environmental Applications (Eds. Dixon, J. B. and Schulze, D. G.) SSSA Book Series, Madison, Wisconsin, USA, 2002. 37-68.
- Kaiser, K. and Benner, R. Determination of amino sugars in environmental samples with high salt content by high performance anion exchange chromatography and pulsed amperometric detection. Anal. Chem., 2000, 72, 2566-2572.
- Kaiser, K. and Benner, R. Hydrolysis-induced racemization of amino acids. Limnol. Oceanogr-Meth., 2005, 3, 318-325.
- Kalbitz, K.; Geyer, S.; Geyer, W. A comparative characterization of dissolved organic matter by means of original aqueous samples and isolated humic substances. Chemosphere, 2000, 40, 1305-1312.
- Kaplan, L. A. and Newbold, J. D. The role of monomers in stream ecosystem metabolism.In: Aquatic Ecosystems: Interactivity of Dissolved Organic Matter (Eds. Findlay, S. E. G., Sinsabaugh, R. L.) Elsevier Science, 2003. 97-119.
- Kárpáti Z.; Vető I.; Sajgó Cs. A hazai termálvizek szerves mikrokomponens-összetétel vizsgálata. Egészségtudomány. 1996, 40, 356-364.
- Kárpáti, Z.; Sajgó, Cs.; Vető, I.; Klopp, G.; Horváth, I. Organic matter in thermal waters of the Pannonian Basin - a preliminary report on aromatic compounds. Org. Geochem., 1999, 30, 701-712.
- Kázmér, M. Birth, life and death of the Pannonian Lake. Palaeogeogr. Palaeocl., 1990, 79, 171-188.
- Kendrick, E. A mass scale based on  $CH_2 = 14.0000$  for high resolution mass spectrometry of organic compounds. Anal. Chem., 1963, 35, 2146-2154.
- Khanna, R.; Agarwal, S. P.; Khar, R. K. Humic Substances in Drug Development. Studium Press (India) Pvt Ltd, 2009.
- Kharaka, Y. K.; Hull, R. W.; Carothers, W. W. Water-rock interactions in sedimentary basins (Ch. 2, in Relationship of organic matter and mineral diagenesis) 1985, SEPM Short Course 17, 79-176.
- Kim, H.-C.; Yu, M.-J.; Han, I. Multi-method study of the characteristic chemical nature of aquatic humic substances isolated from the Han River, Korea. Appl. Geochem., 2006, 21, 1226-1239.
- Kim, S.; Kramer, R. W.; Hatcher, P. G. Graphical method for analysis of ultrahighresolution broadband mass spectra of natural organic matter, the van Krevelen diagram. Anal. Chem., 2003, 75, 5336-5344.
- Kind, T. and Fiehn, O. Seven Golden Rules for heuristic filtering of molecular formulas obtained by accurate mass spectrometry. Bmc Bioinformatics, 2007, 8, 105.

- Klöcking, R. and Helbig, B. Medical aspects and applications of humic substances. In: Biopolymers for medical and pharmaceutical applications; Volume I, (Eds. Steinbüchel, A. and Marchessault, R. H.) Wiley-VCH, 2005. 3-16.
- Kóbor, B. (szerk.) Az alternatív energiahasználat fejlesztési lehetőségei a Dél-alföldi Régióban. Csongrád Megyei Önkormányzat, 2008.
- Koch, B. P. and Dittmar, T. From mass to structure: an aromaticity index for highresolution mass data of natural organic matter. Rapid Commun. Mass Spectrom., 2006, 20, 926-932.
- Koch, B. P.; Dittmar, T.; Witt, M.; Kattner G. Fundamentals of molecular formula assignment to ultrahigh resolution mass data of natural organic matter. Anal. Chem., 2007, 79, 1758-1763.
- Koch, B. P.; Witt, M. R.; Engbrodt, R.; Dittmar, T.; Kattner, G. Molecular formulae of marine and terrigenous dissolved organic matter detected by electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. Geochim. Cosmochim. Ac., 2005, 69, 3299-3308.
- Kögel-Knabner, I. Analytical approaches for characterizing soil organic matter. Org. Geochem., 2000, 31, 609-625.
- Koprivnjak, J.-F.; Pfromm, P. H.; Ingall, E.; Vetter, T. A.; Schmitt-Kopplin, P.; Hertkorn, N.; Frommberger, M.; Knicker, H.; Perdue, E. M. Chemical and spectroscopic characterization of marine dissolved organic matter isolated using coupled reverse osmosis–electrodialysis. Geochim. Cosmochim. Ac., 2009, 73, 4215–4231.
- Korim, K. Geological aspects of thermal water occurences in Hungary. Geothermics, 1972, 1, 96-102.
- Korshin, G. V.; Li, C.-W.; Benjamin, M. M. Monitoring the properties of natural organic matter through UV spectroscopy: A consistent theory. Water Res., 1997, 31, 1787-1795.
- Koukal, B.; Guéguen, C.; Pardos, M.; Dominik, J. Influence of humic substances on the toxic effects of cadmium and zinc to the green alga Pseudokirchneriella subcapitata. Chemosphere, 2003, 53, 953-961.
- Kovács, K.; Gáspár, A.; Sajgó, Cs.; Schmitt-Kopplin, Ph.; Tombácz, E. Comparison of humic substances isolated from thermal water and surface water by electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. Eur. J. Mass Spectrom., 2010, 16, 625-630.
- Krumholz, L. R.; McKinley, J. P.; Ulrich, G. A.; Suflita, J. M. Confined subsurface microbial communities in Cretaceous rock. Nature, 1997, 386, 64-66.
- Kühn, M.; Niewöhner, C.; Isenbeck-Schröter, M.; Schulz, H. D. Determination of major and minor constituents in anoxic thermal brines of deep sandstone aquifers in Northern Germany. Water Res., 1998, 32, 265-274.
- Kujawinski, E. B.; Freitas, M. A.; Zang, X., Hatcher, P. G.; Green-Church, K. B.; Jones, R. B. The application of electrospray ionization mass spectrometry (ESI MS) to the structural characterization of natural organic matter. Org. Geochem., 2002, 33, 171-180.
- Kunenkov, E. V.; Kononikhin, A. S.; Perminov, a I. V.; Gaspar, A.; Schmitt-Kopplin, Ph.; Hertkorn, N.; Popov, I. A.; Garmash, A.; Nikolaev, E. N. Total Mass Difference

Statistics algorithm: A new approach to identification of high-mass building blocks in electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron mass spectrometry data of natural rrganic matter. Anal. Chem., 2009, 81, 10106–10115.

- Lakowicz, J. R. Principles of fluorescence spectroscopy. (3rd edition) Springer Science, New York, 2006.
- Lam, B. and Simpson, A. J. Direct <sup>1</sup>H NMR spectroscopy of dissolved organic matter in natural waters. Analyst, 2008, 133, 263-269.
- László, Zs. and Hodúr, C. Purification of thermal wastewater by membrane separation and ozonation. Desalination, 2007, 206, 333-340.
- Leenheer, J. A. Comprehensive approach to preparative isolation and fractionation of dissolved organic carbon from natural waters and wastewaters. Environ Sci Technol., 1981, 15, 578-587.
- Leenheer, J. A.; Noyes, T. I.; Wershaw, R. L. Acquisition and Interpretation of Liquid-State <sup>1</sup>H NMR Spectra of Humic and Fulvic Acids. In: Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Environmental Chemistry (Eds. Nanny, M. A.; Minear, R. A.; Leenheer, J. A.) Oxford University Press, New York, 1997. 295-304.
- Leenheer, J. A.; Rostad, C. E.; Gates, P. M.; Furlong, E. T.; Ferrer, I. Molecular Resolution and Fragmentation of Fulvic Acid by Electrospray Ionization/Multistage Tandem Mass Spectrometry. Anal. Chem., 2001, 73, 1461-1471.
- Liebe, P. Felszín alatti vizeink. Környezetvédelmi és Vízügyi Minisztérium, Budapest, 2006.
- Lindal, B. Industrial and other applications of geothermal energy. In: Geothermal Energy: Review of Research and Development (Ed. H. C. H. Armstead) UNESCO, Paris, 1973. 135-148.
- Lis, G. P.; Mastalerz, M.; Schimmelmann, A.; Lewan, M. D.; Stankiewicz, B. A. FTIR absorption indices for thermal maturity in comparison with vitrinite reflectance R<sub>0</sub> in type-II kerogens from Devonian black shales. Org. Geochem., 2005, 36, 1533-1552.
- Lovley, D. R.; Coates, J. D.; Blunt-Harris, E. L.; Phillips, E. J. P.; Woodward, J. C. Humic substances as electron acceptors for microbial respiration. Nature, 1996, 382, 445-448.
- Lund, J. W.; Freeston, D. H.; Boyd, T. L. Direct application of geothermal energy: 2005 worldwide review. Geothermics, 2005, 34, 691-727.
- MacCarthy, P. and Rice, J. A. Spectroscopic methods (other than NMR) for detemining functionality in humic substances. In: Humic Substances in Soil, Sediment, and Water (Eds. Aiken, G. R.; McKnight, D. M.; Wershaw, R. L.; MacCarthy, P.) Wiley-Interscience, New York, 1985. 527-559.
- MacCarthy, P.; DeLuca, S. J.; Voorhees, K. J.; Malcolm, R. L.; Thurman, E. M. Pyrolysismass spectrometry/pattern recognition on a well characterized suite of humic samples. Geochim. Cosmochim. Ac., 1985, 49, 2091-2096.
- Mádlné Sz., J.; Rybach, L.; Lenkey L.; Hámor T.; Zsemle F. Fejlődési lehetőségek a geotermikus energia hasznosításában, különös tekintettel a hazai adottságokra. Magyar Tudomány, 2009, 170, 989-1003.

Magyar Állami Földtani Intézet Honlapja, http://www.mafi.hu

- Magyar, I.; Geary, D. H.; Müller, P. Paleogeographic evolution of the Late Miocene Lake Pannon in Central Europe. Palaeogeogr. Palaeocl., 1999, 147, 151-167.
- Makarov, A. Electrostatic axially harmonic orbital trapping: A high-performance technique of mass analysis. Anal. Chem., 2000, 72, 1156-1162.
- Malcolm, R. L. The uniqueness of humic substances in each of soil, stream and marine environments. Anal. Chim. Acta, 1990, 232, 19-30.
- Marshall, A. G.; Hendrickson, C. L.; Jackson, G. S. Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry: A primer. Mass Spectrom. Rev., 1998, 17, 1-35.
- Maurice, P. A.; Pullin, M. J.; Cabaniss, S. E.; Zhou, Q.; Namjesnik-Dejanovic, K.; Aiken, G. R. A comparison of surface water natural organic matter in raw filtered water samples, XAD, and reverse osmosis isolates. Water Res., 2002, 36, 2357-2371.
- McDonald, S.; Bishop, A. G.; Prenzler, P. D.; Robards, K. Analytical chemistry of freshwater humic substances. Anal. Chim. Acta, 2004, 527, 105-124.
- McIntyre C.; Batts B. D.; Jardine D. R. Electrospray mass spectrometry of groundwater organic acids, J. Mass Spectrom., 1997, 32, 328.
- McIntyre, C.; McRae, C.; Batts, B. D.; Piccolo, A. Structural characterisation of groundwater hydrophobic acids isolated from the Tomago Sand Beds, Australia. Org. Geochem., 2005, 36, 385-397.
- McIntyre, C.; McRae, C.; Jardine, D.; Batts, B. D. Self-esterification of fulvic acid model compounds in methanolic solvents as observed by electrospray ionization mass spectrometry. Rapid Commun. Mass Spectrom., 2002, 16, 785-789.
- Mikita, M. A.; Steelink, C.; Wershaw, R. L. Carbon-13 Enriched Nuclear Magnetic Resonance Method for the Determination of Hydroxyl Functionality in Humic Substances. Anal. Chem., 1981, 53, 1715-1717.
- Miles, C. J.; Tuschall, Jr., J. R.; Brezonik, P. L. Isolation of aquatic humus with diethylaminoethylcellulose. Anal. Chem., 1983, 55, 410-411.
- Mobed, J. J.; Hemmingsen, S. L.; Autry, J. L.; McGown, L. B. Fluorescence characterization of IHSS Humic Substances: Total luminescence spectra with absorbance correction. Environ. Sci. Technol., 1996, 30, 3061-3065.
- Mopper, K.; Stubbins, A.; Ritchie, J. D.; Bialk, H. M.; Hatcher P. G. Advanced instrumental approaches for characterization of marine dissolved organic matter: Extraction techniques, mass spectrometry, and nuclear magnetic resonance spectroscopy. Chem. Rev., 2007, 107, 419-442.
- Murphy, E. M.; Davis, S. N.; Long, A.; Donahue,, D.; Jull, A. J. T. <sup>14</sup>C in fractions of dissolved organic carbon in ground water. Nature, 1989, 337, 153-155.
- Noyes, T. I. and Leenheer, J. A. Proton Nuclear-Magetic-Resonance Studies of Fulvic Acid from the Suwannee River. In: Humic Substances in the Suwannee River, Georgia: Intercations, Properties, and Proposed Structure (Eds. Averett, R. C.; Leenheer, J. A.; McKnight, D. M.; Thorn, K. A.) USGS, Report 87-557, Denver, 1989. 129-139.
- Oliver, B. G.; Thurman, E. M.; Malcolm, R. L. The contribution of humic substances to the acidity of colored natural waters. Geochim. Cosmochim. Ac., 1983, 41, 2031-2035.
- Pellegrin, V. Molecular formulas of organic compounds: the nitrogen rule and degree of unsaturation. J. Chem. Educ., 1983, 60, 626-632.

- Perdue, E. M. Acidic functional groups of humic substances, In: Humic Substances in Soil, Sediment, and Water (Eds. Aiken, G. R.; McKnight, D. M.; Wershaw, R. L.; MacCarthy, P.) Wiley-Interscience, New York, 1985. 493-526.
- Perdue, E. M. and Ritchie, J. D. Dissolved organic matters in freshwaters. In: Treatise on Geochemistry; Volume 5: Surface and Ground Water, Weathering, and Soils, Chapter 10, (Eds. Holland, H. D. and Turekian, K. K.) Elsevier Science, 2003. 273-318.
- Perdue, E. M. Modeling the acid-base chemistry of organic acids in laboratory experiments and in freshwaters. In: Organic Acids in Aquatic Ecosystems (Eds. Perdue, E. M. and Gjessing, E. T.) Wiley, New York, 1990. 111-126.
- Perdue, E. M. Solution thermochemistry of humic substances-I. Acid-base equilibria of humic acid. Geochim. Cosmochim. Ac., 1978, 42, 1351-1358.
- Perdue, E. M.; Reuter, J. H.; Ghosal, M. The operational nature of acidic functional group analyses and its impact on mathematical descriptions of acid-base equilibria in humic substances. Geochim. Cosmochim. Ac., 1980, 44, 1841-1851.
- Pettersson, C., Arsenie, I., Ephraim, J., Boren, H., Allard, B. Properties of fulvic acids from deep groundwaters. Sci. Total Environ., 1989, 81/82, 287-296.
- Pettersson, C.; Ephraim, J.; Allard, B. On the composition and properties of humic substances isolated from deep groundwater and surface waters. Org. Geochem., 1994, 21, 443-451.
- Peuravuori, J. and Pihlaja, K. Molecular size distribution and spectroscopic properties of aquatic humic substances. Anal. Chim. Acta, 1997, 337, 133-149.
- Peuravuori, J.; Monteiro, A.; Eglite, L.; Pihlaja, K. Comparative study for separation of aquatic humic-type organic constituents by DAX-8, PVP and DEAE sorbing solids and tangential ultrafiltration: elemental composition, size-exclusion chromatography, UV–vis and FT-IR. Talanta, 2005, 65, 408-422.
- Postel, S. L.; Daily, G. C.; Ehrlich, P. R. Human appropriation of renewable fresh water. Science, 1996, 271, 785-788.
- Provenzano, M. R.; D'Orazio, V.; Jerzykiewicz, M.; Senesi, N. Fluorescence behaviour of Zn and Ni complexes of humic acids from different sources. Chemosphere, 2004, 55, 885-892.
- Railsback, L. B. C-H-O chemistry of some naturally organic substances. In: Some Fundamentals of Mineralogy and Geochemistry, 2006. (http://www.gly.uga.edu/railsback/FundamentalsIndex.html)
- Reemtsma, T. Determination of molecular formulas of natural organic matter molecules by (ultra-) high-resolution mass spectrometry Status and needs. J. Chromatogr. A, 2009, 1216, 3687-3701.
- Reemtsma, T.; These, A.; Linscheid, M.; Leenheer, J.; Spitzy, A. Molecular and structural characterization of dissolved organic matter from the deep ocean by FTICR-MS, including hydrophilic nitrogenous organic molecules. Environ. Sci. Technol., 2008, 42, 1430-1437.
- Reuter, J. H. and Perdue, E. M. Importance of heavy metal-organic matter interactions in natural waters. Geochim. Cosmochim. Ac., 1977, 41, 325-334.
- Rice, J. A. and MacCarthy, P. Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances. Org. Geochem., 1991, 17, 635-648.

- Ritchie, J. D. and Perdue, E. M. Proton-binding study of standard and reference fulvic acids, humic acids, and natural organic matter. Geochim. Cosmochim. Ac., 2003, 67, 85-96.
- Ritchie, J. D. and Perdue, E. M. Analytical constraints on acidic functional groups in humic substances. Org. Geochem., 2008, 39, 783–799.
- Rook, J. Formation of haloforms during chlorination of natural waters, Water Treat. Exam., 1974, 23, 234-243.
- Rybach, L. Geothermal energy: sustainability and the environment. Geothermics, 2003, 32, 463-470.
- Sand, W. Microbial life in geothermal waters. Geothermics, 2003, 32, 655-667.
- Santos, E. B. H. ; Esteves, V. I. ; Rodrigues, J. P. C. ; Duarte, A. C. Humic substances' proton-binding equilibria: assessment of errors and limitations of potentiometric data. Anal. Chim. Acta, 1999, 392, 333-341.
- Schmitt-Kopplin, Ph.; Englmann, M.; Rossello-Mora, R.; Schiewek, R.; Brockmann, K. J.; Benter, T.; Schmitz, O. J. Combining chip-ESI with APLI (cESILI) as a multimode source for analysis of complex mixtures with ultrahigh-resolution mass spectrometry. Anal. Bioanal. Chem., 2008, 391, 2803-2809.
- Schnitzer, M. and Khan, S. U. Humic Substances in the Environment, Marcel Dekker, New York. 1972.
- Schnitzer, M. Nature of nitrogen in humic substances. In: Humic Substances in Soil, Sediment, and Water (Eds. Aiken, G. R.; McKnight, D. M.; Wershaw, R. L.; MacCarthy, P.) Wiley-Interscience, New York, 1985. 303-325.
- Schulten, H.-R. and Schnitzer, M. Chemical Model Structures for Soil Organic Matter and Soils. Soil Science, 1997, 162, 115-130.
- Schulten, H.-R. and Schnitzer, M. Three-Dimensional Models for Humic Acids and Soil Organic Matter, Naturwissenschaften, 1995, 82, 487-498.
- Schwarzenbach, R. P.; Gschwend, P. M.; Imbode, D. M. Environmental Organic Chemistry (2nd edition), Wiley-Interscience, Hoboken, New Jersey, 2003.
- Seibt, P. and Kellner, T. Practical experience in the reinjection of cooled thermal waters back into sandstone reservoirs. Geothermics, 2003, 32, 733-741.
- Senesi, N. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals Part II. The fluorescence spectroscopy approach. Anal. Chim. Acta, 1990, 232, 77-106.
- Senesi, N.; Miano, T. M.; Provenzano, M. R.; Brunetti, G. Characterization, differentiation, and classification of humic substances by fluorescence spectroscopy. Soil Science, 1991, 152, 259-271.
- Senesi, N.; Miano, T. M.; Provenzano, M. R.; Brunetti, G. Spectroscopic and compositional comparative characterization of IHSS reference and standard fulvic and humic acids of various origin. Sci. Total Environ., 1989, 81/82 143-156.
- Serkiz, S. M. and Perdue, E. M. Isolation of dissolved organic matter from the suwannee river using reverse osmosis. Water Res., 1990, 24, 911-916.

- Sierra, M. M. D.; Fernandes, A. N.; Szpoganicz, B. Influence of amide linkages on acidity determinations of humic substances: Testing with model-mixtures. Talanta, 2004, 62, 687-693.
- Skoog, A. and Benner, R. Aldoses in various size fractions of marine organic matter: Implications for carbon cycling. Limnol. Oceanogr., 1997, 42, 1803-1813.
- Skoog, A.; Biddanda, B.; Benner, R. Bacterial utilization of dissolved glucose in the upper water column of the Gulf of Mexico. Limnol. Oceanogr., 1999, 44, 1625-1633.
- Sleighter, R. L. and Hatcher, P. G. The application of electrospray ionization coupled to ultrahigh resolution mass spectrometry for the molecular characterization of natural organic matter. J. Mass Spectrom., 2007, 42, 559-574.
- Sleighter, R. L.; McKee, G. A.; Hatcher, P. G. Direct Fourier transform mass spectral analysis of natural waters with low dissolved organic matter. Org. Geochem., 2009, 40, 119-125.
- Sohár, P. Az NMR-sztori. Magyar Kémiai Folyóirat, 2004, 109-110, 120-126.
- Steelink, C.; Wershaw, R. L.; Thorn, K. A.; Wilson, M. A. Application of liquid-state NMR spectroscopy to humic substances. In: Humic Substances II. In Search of structure (Eds. Hayes, M. H. B.; MacCarthy, P.; Malcolm, R. L.; Swift, R. S.) Wiley, Chichester, 1989. 281-308.
- Stenson, A. C.; Landing, W. M.; Marshall, A. G.; Cooper, W. T. Ionization and Fragmentation of Humic Substances in Electrospray Ionization Fourier Transform-Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. Anal. Chem., 2002, 74, 4397-4409.
- Stenson, A. C.; Marshall, A. G.; Cooper, W. T. Exact masses and chemical formulas of individual Suwannee River fulvic acids from ultrahigh resolution electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectra. Anal. Chem., 2003, 75, 1275-1284.
- Stevenson, F. J. and Goh, K. M. Infrared spectra of humic acids and related substances, Geochim. Cosmochim. Ac., 1971, 35, 471-483.
- Stevenson, F. J. Humus chemistry: genesis, composition, reactions (2nd edition), Wiley-Interscience, New York, 1994.
- Stuermer, D. H. and Payne, J. R. Investigation of seawater and terrestrial humic substances with carbon-13 and proton nuclear-magnetic-resonance. Geochim. Cosmochim. Ac., 1976, 40, 1109-1114.
- Sun, L.; Perdue, E. M.; Mccarthy, J. F. Using reverse osmosis to obtain organic matter from surface and ground waters. Water Res., 1995, 29, 1471-1477.
- Sunda, W. G.; Engel, D. W.; Thuotte, R. M. Effect of chemical speciation on toxicity of cadmium to grass shrimp, Palaemonetes pugio: importance of free cadmium ion. Environ. Sci. Technol., 1978, 12, 409-413.
- Sures, B. and Zimmermann, S. Impact of humic substances on the aqueous solubility, uptake and bioaccumulation of platinum, palladium and rhodium in exposure studies with Dreissena polymorpha. Environ. Pollut., 2007, 146, 444-451.
- Sutton, R. and Sposito, G. Molecular structure in soil humic substances: The new view. Environ. Sci. Technol., 2005, 39, 9009-9015.

- Swift, R. S. Molecular weight, shape, and size of humic substances by ultracentrifugation In: Humic Substances II. In Search of structure (Eds. Hayes, M. H. B.; MacCarthy, P.; Malcolm, R. L.; Swift, R. S.) Wiley, Chichester, 1989. 467-495.
- Szájli, E. A tömegspektrometria kvalitatív és kvantitatív proteomikai alkalmazása. Doktori értekezés, Szeged, 2008.
- Szuetta, J. és Varga Cs. A gyógyvizek új osztályozásának szükségességéről. Balneológia, Gyógyfürdőügy, Gyógy-Idegenforgalom, 2009, 28, 7-12.
- Thomas, J. D. The role of dissolved organic matter, particularly free amino acids and humic substances, in freshwater ecosystems. Freshwater Biol., 1997, 38, 1-36.
- Thorn, K. A. Nuclear-Magnetic-Resonance Spectrometry Investigations of Fulvic and Humic Acids form Suwannee River. In: Humic Substances in the Suwannee River, Georgia: Intercations, Properties, and Proposed Structure (Eds. Averett, R. C.; Leenheer, J. A.; McKnight, D. M.; Thorn, K. A.) USGS, Report 87-557, Denver, 1989. 141-182.
- Thorn, K. A. Structural characteristics of the IHSS Suwannee River fulvic and humic acids determined by solution state C-13 NMR spectroscopy. Sci. Total Environ., 1987, 62, 175-183.
- Thurman, E. M. and Malcolm, R. L. Nitrogen and Amino Acids in Fulvic and Humic Acids form Suwannee River. In: Humic Substances in the Suwannee River, Georgia: Intercations, Properties, and Proposed Structure (Eds. Averett, R. C.; Leenheer, J. A.; McKnight, D. M.; Thorn, K. A.) USGS, Report 87-557, Denver, 1989. 55-66.
- Thurman, E. M. and Malcolm, R. L. Preparative isolation of aquatic humic substances. Environ. Sci. Technol. 1981, 15, 463-466.
- Thurman, E. M. Humic substances in groundwater. In: Humic Substances in Soil, Sediment, and Water (Eds. Aiken, G. R.; McKnight, D. M.; Wershaw, R. L.; MacCarthy, P.) Wiley-Interscience, New York, 1985. 87-103. b
- Thurman, E. M. Organic geochemistry of natural waters, Martinus Nijhoff/W. Junk Publisher, Dordrecht, Netherlands, 1985. a
- Thurman, E. M.; Malcolm, R. L.; Aiken, G. R. Prediction of capacity factors for aqueous organic solutes adsorbed on a porous acrylic resin. Anal. Chem., 1978, 50, 775-779.
- Thurman, E. M.; Wershaw, R. L.; Malcolm, R. L.; Pinckney, D. J. Molecular size of aquatic humic substances. Org. Geochem., 1982, 4, 27-35.
- Tipping, E. and Hurley, M. A. A unifying model of cation binding by humic substances. Geochim. Cosmochim. Ac., 1992, 56, 3627-3641.
- Tipping, E. Humic Ion-Binding Model VI: An improved description of the interactions of protons and metal ions with humic substances. Aquat. Geochem., 1998, 4, 3-48.
- Tombácz, E. A humuszanyagok határfelületi és kolloid tulajdonságai. Magyar Kémiai Folyóirat, 2002, 108, 435-443. a
- Tombácz, E. and Regdon, I. Humic substances as various colloidal systems. In: Humic Substances in the Global Environment and Implications on Human Health (Eds. Senesi, N., Miano, T. M.), Elsevier, Amsterdam, 1994. 139-144.

- Tombácz, E. and Rice, J. A. Changes of colloidal state in aqueous systems of humic acids. In: Understanding Humic substances, Advanced Methods, Properties and Applications (Eds. Ghabbour, E. A.; Davies, G.) RSC, Cambridge, 1999. 69-78.
- Tombácz, E. Colloidal properties of humic acids and spontaneous changes of their colloidal state under variable solution conditions. Soil Science, 1999, 164, 814-824.
- Tombácz, E. Humuszanyagok a környezeti rendszerekben. Magyar Kémikusok Lapja, 2002, 57, 306-313. b
- Tombácz, E. Talajreleváns határfelületi és kolloid kölcsönhatások. MTA Doktori értekezés, Szeged, 2003.
- Ungemach, P. Reinjection of cooled geothermal brines into sandstone reservoirs. Geothermics, 2003, 32, 743-761.
- Ungemach, P. Reinjection of cooled geothermal brines itno sandstone reservoirs. Geothermics, 2003, 32, 743-761.
- van Krevelen, D. W. Graphical-statistical method for the study of structure and reaction process of coal. Fuel, 1961, 29, 269-284.
- Vandenbroucke, M. and Largeau, C. Kerogen origin, evolution and structure. Org. Geochem., 2007, 38, 719-833.
- Varsányi, I. A Dél-alföld felszín alatti vizei; hidrogeokémiai folyamatok és vízföldtani következtetések. Akadémiai doktori értekezés, Szeged, 2001.
- Varsányi, I. and Bertalanné Balogi, M. Humic acids as indicator of subsurface water movements. Acta Miner. Petr., 1985, XXVII, 171-174.
- Varsányi, I. Humic acids in subsurface waters from the Southern Great Plain, Hungary. Acta Miner. Petr., 1985, XXVII, 165-170.
- Varsányi, I.; Matray, J.-M.; Ó.Kovács, L. Geochemistry of formation waters in the Pannonian Basin (southeast Hungary). Chem. Geol., 1997, 140, 89-106.
- Varsányi, I.; Matray, J.-M.; Ó.Kovács, L. Hydrogeochemistry in two adjacent areas in the Pannonian Basin (Southeast-Hungary). Chem. Geol., 1999, 156, 25-39.
- Varsányi, I.; Ó.Kovács, L.; Kárpáti, Z.; Matray, J.-M. Carbon forms in formation waters from the Pannonian Basin, Hungary. Chem. Geol., 2002, 189, 165-182.
- Vető, I.; Horváth, I.; Tóth, Gy. A magyarországi termálvizek geokémiájának vázlata. Magyar Kémiai Folyóirat, 2004, 109-110, 4, 199-203.
- Visser, S. A. Application of van Krevelen's graphical-statistical method for the study of aquatic humic material. Environ. Sci. Technol., 1983, 17, 412-417.
- Visser, S. A. Physiological action of humic substances on microbial cells. Soil Biol. Biochem., 1985, 17, 457-462.
- Wassenaar, L.; Aravena, R.; Fritz, P. The geochemistry and evolution of natural organic solutes in groundwater. Radiocarbon, 1989, 31, 865-876.
- Wassenaar, L.; Aravena, R.; Fritz, P.; Barker, J. Isotopic composition (<sup>13</sup>C, <sup>14</sup>C, <sup>2</sup>H) and geochemistry of aquatic humic substances from groundwater. Org. Geochem., 1990, 15, 383-396.

- Watt, B. E.; Malcolm, R. L.; Hayes, M. H. B.; Clark, N. W. E.; Chipman, J. K. Chemistry and potential mutagenicity of humic substances in waters from different watersheds in Britain and Ireland. Water Res., 1996, 30, 1502-1516.
- Wershaw, R. L. and Aiken, G. R. Molecular Size and Weight Measurements of Humic Substances. In: In: Humic Substances in Soil, Sediment, and Water (Eds. Aiken, G. R.; McKnight, D. M.; Wershaw, R. L.; MacCarthy, P.) Wiley-Interscience, New York, 1985. 477-492.
- Wershaw, R. L. Application of Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy for Determining Functionality in Humic Substances. In: Humic Substances in Soil, Sediment, and Water (Eds. Aiken, G. R.; McKnight, D. M.; Wershaw, R. L.; MacCarthy, P.) Wiley-Interscience, New York, 1985. 561-582.
- Wershaw, R. L.; Mikita, M. A.; Steelink, C. Direct <sup>13</sup>C NMR Evidence for Carbohydrate Moieties in Fulvic Acids. Environ. Sci. Technol., 1981, 15, 1461-1463.
- Willey, L. M.; Kharaka, Y. K.; Presser, T. S.; Rapp, J. B.; Barnes, I. Short chain aliphatic acid anions in oil field waters and their contribution to the measured alkalinity. Geochim. Cosmochim. Ac., 1975, 39, 1707-1711.
- Wood, S. A. The role of humic substances in the transport and fixation of metals of economic interest (Au, Pt, Pd, U, V). Ore Geol. Rev., 1996, 11, 1-31.
- Woodwell, G. M.; Whittaker, R. H.; Reiners, W. A.; Likens, G. E.; Delwiche, C. C.; Botkin, D. B. The biota and world carbon budget. Science, 1978, 199, 141-146.
- Wu, Z.; Rodgers, R. P.; Marshall, A. G. Two- and three-dimensional van Krevelen diagrams: A graphical analysis complementary to the Kendrick mass plot for sorting elemental compositions of complex organic mixtures based on ultrahigh-resolution broadband Fourier transform ion cyclotron resonance mass measurements. Anal. Chem., 2004, 76, 2511-2516.
- Yu, C.-H.; Wu, C.-H.; Lin, C.-H.; Hsiao, C.-H.; Lin, C.-F. Hydrophobicity and molecular weight of humic substances on ultrafiltration fouling and resistance. Sep. Purif. Technol., 2008, 64, 206-212.
- Yuan, W. and Zydney, A. L. Humic acid fouling during microfiltration. J. Membrane Sci., 1999, 157, 1-12.
- Zang, X.; van Heemst, J. D. H.; Dria, K. J.; Hatcher, P. G. Encapsulation of protein in humic acid from a histosol as an explanation for the occurrence of organic nitrogen in soil and sediment. Org. Geochem., 2000, 31, 679-695.

## Függelék

Talpmélység	Mintavétel	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Fe <sup>2+</sup>	Mn <sup>2+</sup>	$NH_4^+$
(m)	éve	$(mg L^{-1})$	$(mg L^{-1})$	$(mg L^{-1})$	$(mg L^{-1})$	$(mg L^{-1})$	$(mg L^{-1})$	$(mg L^{-1})$
993	1986	340	12,8	7,2	4,3	0,07	-	3,8
993	1988	290	2,3	5,7	4,5	0,10	-	3,3
993	1995	320	2,3	5,7	3,4	0,08	-	3,6
1703	1982	620	10,0	7,2	3,0	0,33	-	32,0
1703	1986	600	13,8	7,2	1,7	0,25	-	13,0
1703	1995	580	7,8	4,3	1,7	0,15	-	15,0
2103	1970	1049	-	7,1	nmk	0,2	-	14,1
2103	2007	1005	14,1	7,2	1,5	<0,005	<0,001	15,5
1775	2007	790	10,0	5,4	1,1	0,08	<0,001	12,8
1851	1982	487	9,0	7,2	1,3	0,04	-	12,5
1851	1989	440	6,7	5,7	1,7	0,10	-	8,4
1851	2007	459	7,2	4,9	0,9	0,07	0,01	8,1
1905	1962	795	-	20,0	0,9	0,80	-	13,0
1905	1965	773	-	5,1	1,7	0,03	-	13,8
1905	1967	800	-	6,4	1,2	nmk	-	12,2
1905	2007	584	10,9	5,7	1,1	0,10	0,01	10,4

Különböző talpmélységű kutak vizének kation, anion koncentrációja, valamint szervetlen és szerves anyag tartalmára vonatkozó mérések eredményei a korábbi mintavételekről.

-: nem mért

nmk: nem mutatható ki

Talpmélység	Mintavétel	Cl	Br	Г	F
(m)	éve	$(mg L^{-1})$	$(mg L^{-1})$	$(mg L^{-1})$	$(mg L^{-1})$
993	1986	2	nmk	0,01	0,26
993	1988	2	<0,05	0,01	0,47
993	1995	2	0,11	0,01	0,50
1703	1982	60	nmk	0,14	2,7
1703	1986	58	nmk	0,12	2,6
1703	1995	57	0,05	0,14	2,4
2103	1970	56	0,02	0,09	4
2103	2007	37,4	-	-	-
1775	2007	26,9	-	-	-
1851	1982	19	nmk	0,05	1,4
1851	1989	22	nmk	0,05	1,5
1851	2007	17,9	-	-	-
1905	1962	75	nmk	-	3,6
1905	1965	66	-	0,44	3,6
1905	1967	53,2	0,02	0,65	3,9
1905	2007	13,2	-	-	-

Talpmélység	Mintavétel	$SO_4^{2}$	S <sup>2-</sup>	$PO_4^{3-}$	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	CO3 <sup>2-</sup>
(m)	éve	$(mg L^{-1})$	$(mg L^{-1})$	$(mg L^{-1})$	$(mg L^{-1})$	$(mg L^{-1})$
993	1986	12	-	0,44	960	-
993	1988	nmk	0,54	0,23	915	-
993	1995	<25	0,32	0,68	920	-
1703	1982	11	-	0,20	1590	-
1703	1986	12	-	0,15	1710	-
1703	1995	<25	0,84	0,28	1590	nmk
2103	1970	18,5	-	-	2720	-
2103	2007	19,2	-	0,41	2647	6
1775	2007	6,9	-	0,63	1993	37
1851	1982	nmk	-	0,22	1430	-
1851	1989	<25	nmk	0,17	1120	66
1851	2007	1,5	-	0,20	1269	-
1905	1962	3,8	nmk	-	2074	-
1905	1965	20,6	0,2	-	1970	-
1905	1967	20,9	nmk	-	2055	-
1905	2007	2,6	-	0,28	1398	98

-: nem mért

nmk: nem mutatható ki

Talpmélység (m)	Mintavétel éve	HBO <sub>2</sub> (mg L <sup>-1</sup> )	$\begin{array}{c} H_2SiO_3\\ (mg \ L^{-1}) \end{array}$	összlúgosság (mmol L <sup>-1</sup> )	keménység (mg CaO L <sup>-1</sup> )	fajlagos vezetőképesség (µS cm <sup>-1</sup> )
993	1986	6	38	-	20,1	-
993	1988	6,7	36	-	18,5	-
993	1995	6	40	15,1	16,0	1230
1703	1982	7	51	-	17,1	-
1703	1986	7	62	-	14,0	-
1703	1995	8	63	26,0	10,0	2150
2103	1970	4,5	60,06	-	-	-
2103	2007	-	68,40	43,6	13,46	3720
1775	2007	-	60,20	33,9	10,04	3010
1851	1982	4	73	-	13,1	-
1851	1989	4,5	80	20,5	12,0	-
1851	2007	-	60,60	20,8	8,8	1804
1905	1962	16	19,76	34,0	39,7	-
1905	1965	16	70,46	-	11,1	-
1905	1967	6,5	72,8	-	11,8	-
1905	2007	-	67,60	26,2	10,4	2230

Talpmélység	Mintavétel	TOC	KOI <sub>pl</sub>	<b>KOI</b> <sub>ps</sub>	KOI <sub>b</sub>
(m)	éve	$(mg L^{-1})$	$(mg L^{-1})$	$(\text{mg } L^{-1})$	$(mg L^{-1})$
993	1986	-	6,4	-	-
993	1988	-	0,7	-	-
993	1995	8,5	8,0	-	-
1703	1982	-	11	-	-
1703	1986	-	16	-	-
1703	1995	17,6	12	-	-
2103	1970	-	39	-	-
2103	2007	-	-	16,40	-
1775	2007	-	-	9,87	20,90
1851	1982	-	11,8	-	-
1851	1989	-	58	-	-
1851	2007	-	-	5,54	48
1905	1962	-	26,5	-	-
1905	1965	-	28,5	-	-
1905	1967	-	36,0	-	-
1905	2007	-	-	9,87	68

-: nem mért

nmk: nem mutatható ki

## Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretném köszönetemet kifejezni mindazoknak, akik doktori értekezésem elkészítéséhez kapcsolódó munkámban segítettek.

Szeretnék köszönetet mondani **Dr. Dékány Imre** akadémikus úrnak, hogy a volt Kolloidkémiai Tanszéken, jelenleg Fizikai Kémiai és Anyagtudományi Tanszéken lehetővé tették számomra disszertációm elkészítését.

Köszönetet szeretnék mondani témavezetőmnek, **Dr. Tombácz Etelka** egyetemi tanárnak, aki szakmai és személyes támogatásával mindvégig segített, valamint lehetővé tette számomra külföldi konferenciákon és ösztöndíjas utakon való résztvételt, ezáltal segítve szakmai tapasztalatok megszerzését és életreszóló élmények megélését.

Köszönettel tartozom **Dr. Sajgó Csanád**nak a téma felvetéséért, a kutatási terv körvonalazásáért és szakmai segítségéért, **Dr. Kárpáti Zoltán**nak a mintavétel és a kinyerés során nyújtott segítségéért, **Bruknerné Dr. Wein Alice**nak az elemanalízis és infravörös spektroszkópiai mérések elvégzéséért.

Köszönetemet fejezem ki **Dr. Philippe Schmitt-Kopplin**nak és **Dr. Gáspár András**nak az ESI-FT-ICR tömegspektrometriás vizsgálatok elvégzése során nyújtott segítségéért. **Dr. Martinek Tamás**nak az NMR mérések során nyújtott segítségéért. **Dr. Ron Benner**nek és **Dr. Karl Kaiser**nek a szénhidrát és aminosav elemzések elvégzéséért.

Köszönetemet szeretném kifejezni a volt Kolloidkémiai Tanszék valamennyi munkatársának szakmai, gyakorlati segítségéért és barátságáért.

Végül, de nem utolsó sorban köszönöm családomnak, barátaimnak, és legfőképpen páromnak, hogy disszertációm elkészítése során mindvégig mellettem álltak és biztattak.