



Publisher: Soil Science Society of Iran

Journal of Soil Research
(Soil and Water Sci.)

<https://srjournal.areeo.ir/>


Chemical and Structural Properties of Humic Acid Extracted from Leonardites of Selected Mines in Kerman

Razieh Ahesteh^a, Majid Hejazi-Mehrizi^{a*} , Naser Boroomand^a, Mehdi Sarcheshmehpour^a, and Majid Fekri^a

^a Department of Soil Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Article Info	Extended Abstract
Article Type Research Article Received August 24, 2025 Revised October 05, 2025 Accepted October 26, 2025 Published online December 20, 2025 Keywords Humic acid, Spectrophotometric ratio, Elemental analysis, coal washing *Corresponding author's email mhejazi@uk.ac.ir	Background and Objectives: Leonardites display considerable diversity in their structural and chemical properties, and a more detailed understanding of these characteristics can greatly contribute to a better appreciation of their potential applications in agriculture. Leonardite is a naturally oxidized mineral derived from lignite, distinguished by its high oxygen content and elevated levels of humic acids (40–80%), and is recognized as a primary source for humic acid (HA) extraction. The chemical structure of humic acid consists of aliphatic and aromatic chains bearing various functional groups, notably carboxyl and phenolic groups. These functional groups enable humic acid to interact effectively with metal ions and organic compounds, thereby enhancing the chemical and biological properties of soil. There is limited information regarding the chemical composition and humic acid extraction potential of leonardite deposits from the Pabdana area (Zarand) as well as the waste materials from the Zarand coal-washing plant. The present study was conducted to thoroughly investigate these resources with the aim of identifying indigenous potentials for the production of humic substances Methodology: A total of 16 samples, including 13 leonardite; L1–L13 were collected from the Goltoot coal mine, and 3 coal-washing waste samples; C1–C3 were collected from Zarand coal washing factory. Fresh samples were air-dried, and their pH and electrical conductivity (EC) were measured in a 1:20 solid-to-liquid ratio (w/w). Humic acid extraction followed California Department of Food and Consumer Protection method (CDFA Method) California method. Briefly, 10 g of sample (<75 µm) was mixed with 0.1 M NaOH, agitated for 24 hours, filtered, acidified to pH 1–2, washed, and subsequently dried. The percentage of extracted HA was calculated as: (weight of extracted HA / weight of initial sample) × 100. An UV-Vis spectrophotometer was used to determine structural characteristic including E4/E6, E3/E5, and E2/E3. Based on results, 6 samples (C1, L1, L5, L7, L10, and L13) were selected for further evaluation. Humic acid was extracted from selected samples and their elemental CHNS analysis, pH, EC and FTIR spectroscopy (400–4000 cm⁻¹) were investigated.

Results: The results revealed the differences among the initial samples in terms of humic acid extraction yield. The highest humic acid contents were recorded in samples L1 (64.6%), L2 (60.05%), L10 (60.07%), and L11 (62.35%). The E4/E6 ratio of C1 and L13 (0.12 and 0.58) exhibited more aromatical structures, whereas samples L3 and L6, with ratios of 3.93 and 3.88 displayed predominantly aliphatic structure. The E3/E5 ratio results showed that the highest value (5.07) was observed in sample L11, while the lowest value (0.78) was measured in sample L9. The pH of extracted HA varied from 1.50 (L6) to 7.10 (L9), and EC varied from 63 in C3 to 1035 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ in L6. The CHNS elemental analysis revealed that there is considerable variability in the C, H, O, N content of extracted HA from leonardite and coal washing waste. The infrared spectroscopy results indicated the presence of aromatic rings, aliphatic chains, and several key functional groups—including phenolic hydroxyl, carboxyl, and carbonyl—in the extracted humic acid.

Conclusion: In conclusion, leonardites from the Pabedana region, particularly samples L1, L2, L10, and L11, constitute promising sources for humic acid extraction, characterized by high yields and diverse chemical properties that support their application in sustainable agricultural practices.

Cite this article: Ahesteh, R., Hejazi Mehrizi, M., Boroomand, N., Sarcheshmehpour, M., and Fekri, M., 2025. Chemical and Structural Properties of Humic Acid from Leonardites in Kerman Mines. *Journal of Soil Research*, 39 (3), pp 345-359.



DOI: [10.22092/IJSR.2025.370831.792](https://doi.org/10.22092/IJSR.2025.370831.792)

Publisher: Soil Science Society of Iran



بررسی ویژگی‌های شیمیایی و ساختاری اسید هیومیک استخراجی از لئوناردیت‌های برخی معادن کرمان

راضیه آهسته^۱، مجید حجازی مهریزی^{۱*} , ناصر برومند^۱، مهدی سرچشمه‌پور^۱ و مجید فکری^۱

^۱ گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	لئوناردیت‌ها از لحاظ ساختار و ویژگی‌های شیمیایی طیف گسترده‌ای دارند و شناخت دقیق‌تر این ویژگی‌ها می‌تواند به درک بهتر کاربردهای بالقوه آن‌ها در کشاورزی کمک کند. در این پژوهش ویژگی‌های شیمیایی و ساختاری نمونه‌های لئوناردیت جمع‌آوری شده از معدن زغال سنگ گلتوت در منطقه پابدانا (زرنده کرمان) و سه نمونه باطله کارخانه زغال‌شویی (زرنده) بررسی شدند. در نمونه‌های اولیه، pH، EC، درصد اسید هیومیک و برخی نسبت‌های اسپکتروفومتری اسید هیومیک استخراجی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که بین نمونه‌های اولیه از نظر میزان استخراج اسید هیومیک تفاوت وجود داشت و بیشترین میزان اسید هیومیک در نمونه‌های L1 (۶۴/۶)، L2 (۶۰/۰۵)، L10 (۶۰/۰۷) و L11 (۶۲/۳۵) اندازه‌گیری شد. تحلیل ساختاری نشان داد که نمونه‌های C1 و L13 با نسبت آلفاتیک به آروماتیک (E4/E6) به ترتیب ۰/۱۲ و ۰/۵۸ ساختار آروماتیک‌تر و نمونه‌های L3 و L6 با نسبت‌های ۳/۹۳ و ۳/۸۸ ساختار آلفاتیک‌تری دارند. نتایج E3/E5 نیز نشان داد که بیشترین مقدار این نسبت (۵/۰۷) در نمونه L11 و کمترین مقدار (۰/۷۸) در نمونه L9 اندازه‌گیری شد. بر اساس این نتایج، نمونه‌های لئوناردیت شامل L1، L5، L7، L10، L13 به همراه یک نمونه یک ماهه باطله زغال‌شویی به عنوان نمونه‌های منتخب مورد ارزیابی بیشتری قرار گرفتند. در نمونه‌های منتخب، علاوه بر میزان استخراج اسید هیومیک، FTIR، ترکیب عنصری، EC، pH اسید هیومیک استخراجی بررسی و بر اساس نتایج آن‌ها، لئوناردیت‌های معادن منطقه پابدانا به دلیل تنوع ساختاری و غنای اسید هیومیک، منبعی ارزشمند برای استخراج اسید هیومیک شناخته شدند، در حالی که باطله‌های زغال‌شویی پتانسیل مناسبی جهت استخراج اسید هیومیک نشان ندادند.
واژه‌های کلیدی اسید هیومیک، نسبت‌های اسپکتروفومتری، آنالیز عنصری، زغال‌شویی	
ایمیل نویسنده مسئول mhejazi@uk.ac.ir	

استناد: آهسته، ر.، حجازی مهریزی، م.، برومند، ن.، سرچشمه‌پور، م.، فکری، م.، ۱۴۰۴. بررسی ویژگی‌های شیمیایی و ساختاری اسید هیومیک

استخراجی از لئوناردیت‌های برخی معادن کرمان. مقاله پژوهشی، نشریه پژوهش‌های خاک، (۳) ۳۹، ص ۳۴۵-۳۵۹.

DOI: 10.22092/IJSR.2025.370831.792



مقدمه

لئوناردیت یک ماده معدنی طبیعی اکسید شده از لیگنیت با محتوای بالای اکسیژن و اسیدهای هیومیک (۸۰-۴۰ درصد) است، که به عنوان منبعی کلیدی برای استخراج اسید هیومیک شناخته می‌شود (Stevenson, 1994, Trckova et al., 2018). یکی از انواع لئوناردیت لیچه^۱ نام دارد که به دلیل محتوای بالای اسید هیومیک، به عنوان ترکیب اصلاح کننده خاک و محرک زیستی^۲ برای گیاهان استفاده می‌شود (Canellas and Olivares, 2014). این ماده آلی می‌تواند در بهبود ساختمان خاک، افزایش ظرفیت نگهداری آب و کاهش جذب فلزات سنگین توسط گیاهان در خاک‌های آلوده تأثیر داشته باشد (Arquetopanyo et al., 2018) از لئوناردیت، به ویژه نوع لیچه، می‌توان برای استخراج اسید هیومیک با بازده بالا استفاده کرد که کاربردهای گسترده‌ای در کشاورزی پایدار دارد.

اسیدهای هیومیک معمولاً با استفاده از محلول‌های قلیایی مانند هیدروکسید سدیم، آزاد و با اسیدی کردن محلول، استخراج می‌شوند (Stevenson, 1994). ساختار شیمیایی اسید هیومیک، شامل زنجیره‌های آلیفاتیک و آروماتیک با گروه‌های عاملی نظیر کربوکسیل و فنولی بوده که به آن قابلیت تعامل با یون‌های فلزی و مواد آلی را می‌دهد و این امر سبب بهبود خصوصیات شیمیایی و زیستی خاک خواهد شد (Tan, 2014). این ویژگی‌ها، اسید هیومیک را به ابزاری مؤثر برای افزایش فراهمی عناصر غذایی، کاهش شوری خاک و جذب فلزات سنگین در خاک‌های آلوده تبدیل کرده است (Fuentes et al., 2018). Qin و همکاران (۲۰۲۰) با تحلیل مولکولی اسید هیومیک استخراج شده از لئوناردیت و منابع رودخانه‌ای نشان دادند که ترکیبات حاوی هترواتم‌های بیشتر، مانند نیتروژن و گوگرد، از اشباع ناپذیری و ویژگی‌های آروماتیک بالاتری برخوردارند، هرچند تغییرات pH و هدایت الکتریکی در خاک‌های کربنات‌دار طی دوره‌های کوتاه انکوباسیون (مانند سه ماه) اغلب ناچیز است. به همین ترتیب، Fuentes و همکاران (۲۰۱۸) ویژگی‌های شیمیایی مشابه اسید هیومیک حاصل از ورمی‌کمپوست و لئوناردیت را بررسی کرده و بر توانایی این مواد در بهبود تعادل عناصر غذایی در خاک‌های کشاورزی تأکید نمودند. از سوی دیگر، Giovanela و همکاران (۲۰۱۸) بر محتوای بالای گروه‌های عاملی در اسید هیومیک استخراج شده از کودهای آلی تأکید کرده و آن را عاملی کلیدی در افزایش فراهمی عناصر غذایی دانستند. در مطالعه انجام شده توسط

Kulikowska و همکاران (۲۰۱۹) با استفاده از طیف‌سنجی FTIR^۳ و همچنین روش تجزیه عنصری مشخص شد که لئوناردیت استخراج شده از معادن لهستان، دارای ۵۰ تا ۶۵ درصد کربن و گروه‌های عاملی کربوکسیل و هیدروکسیل می‌باشند.

استخراج اسید هیومیک از منابع مختلف آلی و معدنی با ترکیب دانش دیرین و فناوری‌های روز، به راه‌حلی پایدار و مقرون به صرفه برای تولید این ماده مهم تبدیل شده است. Meng و همکاران (۲۰۲۱) نشان دادند که لئوناردیت با داشتن گروه‌های عاملی اسیدی مانند کربوکسیل و فنولیک، برای استخراج قلیایی-اسیدی بسیار مناسب بوده و بازدهی بالایی در مقیاس صنعتی داشت. Sarlaki و همکاران (۲۰۲۰) با بهینه‌سازی شرایط استخراج (دما، زمان و سرعت هم‌زدن) در راکتورهای مکانیکی، بازده استخراج اسید هیومیک را تا حدود ۷۰ درصد افزایش دادند. Sarlaki و همکاران (۲۰۱۹) با بررسی ویژگی‌های طیفی، ساختاری و شیمیایی اسید هیومیک استخراج شده از زغال سنگ معادن ایران، نشان دادند که ناخالصی‌های معدنی نقش تعیین‌کننده‌ای در بازده استخراج (۴۰ تا ۶۰ درصد) دارند. از سوی دیگر، Sarlaki و همکاران (۲۰۲۴) گزارش کردند که روش‌های نوین استخراج هیدروترمال، لئوناردیت را به منبعی پایدار و کم‌هزینه برای تولید تجاری اسید هیومیک تبدیل می‌کند که با اهداف اقتصادی همخوانی دارد. در مطالعه Sarlaki و همکاران (۲۰۱۹)، لئوناردیت‌های منطقه تبریز با محتوای مناسب اسید هیومیک و کارایی بالای روش استخراج قلیایی-اسیدی، منبعی مناسب برای تولید صنعتی مواد هیومیکی شناخته شده‌اند. در مقابل، لیگنیت‌های ایرانی به دلیل وجود ناخالصی‌های معدنی بیشتر، بازده استخراج پایین‌تری دارند (Sarlaki et al., 2019). باطله‌های زغال‌شویی که عمدتاً شامل ذرات ریز زغال، خاک رس و مواد معدنی ناخواسته با محتوای پایین کربن (حدود ۲۲ درصد) و اکسیژن (۷ درصد) است (Singh et al., 2005). در مطالعه‌ی Heidarzadeh و همکاران (۲۰۱۳) باطله‌های زغال‌شویی کارخانه زغال‌شویی زرند کرمان مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌برداری از محل دیوی باطله‌های زغال‌شویی انجام و آزمون‌های شیمیایی نشان داد که این باطله‌ها از نظر هدایت الکتریکی نسبتاً بالا هستند. ترکیب یونی آن‌ها شامل مقادیر قابل توجهی سولفات، کلرید، سدیم و کلسیم است. همچنین این باطله‌ها دارای مقدار متوسط عناصر غذایی نظیر نیتروژن، فسفر و پتاسیم و درعین حال دارای غلظت بسیار پایین عناصر سنگین از جمله سرب، کادمیم و جیوه بودند.

^۳ Fourier Transform Infrared Spectroscopy

^۱ Leonardite leachate

^۲ biostimulant

مواد و روش‌ها

در این پژوهش نمونه‌ها از منطقه پابدانا (زرند)، واقع در ۷۵ کیلومتری شمال غربی کرمان (مختصات تقریبی: ۳۰/۸۷° شمالی، ۵۶/۳۷° شرقی)، از معدن زغال‌سنگ گلتوت و از رگه‌های مختلف معدن تهیه شدند (شکل ۱). این منطقه در ارتفاع ۲۰۰۰ تا ۲۵۰۰ متری از سطح دریا قرار داشته و دارای ذخایر غنی زغال‌سنگ و لئوناردیت است.

از آن‌جا که تاکنون اطلاعات جامع و دقیقی از ترکیب شیمیایی و امکان استخراج اسید هیومیک از لئوناردیت‌های منطقه پابدانا (زرند) و همچنین ضایعات کارخانه زغال‌شویی زرند در دسترس نیست، این مطالعه با هدف بررسی دقیق‌تر این منابع در راستای شناخت پتانسیل‌های بومی در تولید ترکیبات هیومیکی انجام پذیرفت.



شکل ۱- تصویر ماهواره‌ای معدن زغال‌سنگ گلتوت
Figure 1. Satellite image of the Goltot coal mine

سنج اندازه‌گیری شد. برای ارزیابی ویژگی‌های شیمیایی اسید هیومیک استخراج شده، ۱۰۰ میلی‌گرم از اسید هیومیک خشک شده هر نمونه در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد و محلول به مدت ۳۰ دقیقه هم‌زده شد. سپس pH و EC اندازه‌گیری شدند. مقادیر حاصل در (جدول ۳) بیان شده است (Sparks et al., 2020).

استخراج اسید هیومیک از نمونه‌های مورد آزمایش به روش کالیفرنیا انجام شد. روش استخراج اسید هیومیک به "روش کالیفرنیا" که به‌عنوان CDFA Method (روش وزارت کشاورزی و حفاظت از مصرف‌کننده کالیفرنیا) شناخته می‌شود، یک پروتکل استاندارد و ساده برای اندازه‌گیری و استخراج اسید هیومیک از نمونه‌های جامد (مانند خاک، لئوناردیت یا کودهای آلی با حداقل ۰/۵ درصد اسید هیومیک) و مایع (با حداقل ۰/۵ درصد اسید هیومیک) است. این روش بر پایه استخراج قلبایی با هیدروکسید سدیم (NaOH) و رسوب‌دهی اسیدی با اسید هیدروکلریک

در این پژوهش سیزده نمونه لئوناردیت با کدهای L1، L2، L3، L4، L5، L6، L7، L8، L9، L10، L11، L12 و L13 (لیچه) از معدن زغال‌سنگ گلتوت واقع در منطقه پابدانا (زرند) و سه نمونه باطله زغال‌شویی با کدهای C1 (یک‌ماهه)، C2 (چهارماهه) و C3 (چهار ساله) جهت بررسی میزان استخراج اسید هیومیک مورد بررسی قرار گرفت. تمامی ۱۶ نمونه (چه خشک چه مرطوب) ابتدا در شرایط هوای آزاد به‌طور کامل خشک شدند تا رطوبت آن‌ها به حداقل برسد و برای توزین و مراحل بعدی آزمایش آماده شدند. برای سنجش pH و EC نمونه‌ها، از نسبت ۱:۲۰ استفاده شد. به این ترتیب، ۵ گرم از هر نمونه با ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و به مدت ۲ ساعت با سرعت ۲۰۰ دور در دقیقه (۲۰۰ rpm) هم‌زده شد. سپس، محلول به مدت ۲۰ ساعت در حالت سکون قرار گرفت و پس از آن مجدداً به مدت ۲ ساعت هم‌زده شد. در نهایت، محلول فیلتر شده و pH با استفاده از دستگاه pH متر و EC با دستگاه هدایت

(HCl) بنا شده و برای ارزیابی کیفیت محصولات تجاری هیومیک در کشاورزی استفاده می‌شود. این روش در مقایسه با پروتکل‌های پیچیده‌تر مانند روش IHSS (انجمن بین‌المللی مواد هیومیک)، ساده‌تر و عملی‌تر بود و اغلب برای گواهی‌نامه‌های کشاورزی در ایالات متحده به کار می‌رود. نمونه‌های جامد ابتدا در آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفته تا خشک شود. سپس، ۱ گرم از نمونه جامد (یا ۱۰ میلی‌لیتر از نمونه مایع) با دقت وزن شده و در بطری ۵۰۰ میلی‌لیتری قرار گرفت. به نمونه، ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول NaOH ۰/۵ نرمال افزوده شد (نسبت نمونه به محلول ۱:۱۰۰). در بطری بسته شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) در تاریکی و عدم حضور اکسیژن تکان داده شد. در ادامه مخلوط حاصل سانتریفیوژ شده (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه) تا مایع رویی (عصاره قلیایی حاوی اسید هیومیک) جدا شود. مایع رویی به بطری جدیدی منتقل شد و رسوب باقی‌مانده با ۵۰ میلی‌لیتر NaOH ۰/۵ نرمال شست‌شو داده شد. این شست‌شو دو بار تکرار شد و مایعات شست‌شو به عصاره قبلی اضافه شدند تا استخراج به‌طور کامل انجام گیرد. به عصاره ترکیبی، اسید هیدروکلریک ۶ نرمال افزوده شده تا pH به کمتر از ۱ برسد. مخلوط به مدت ۱۲ تا ۱۶ ساعت در دمای اتاق نگهداری شد. رسوب تشکیل شده با سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه، ۲۰ دقیقه) جدا شد. سپس، رسوب با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر شست‌شو داده شد و این فرآیند ۳ تا ۴ بار تکرار شد تا کل‌ریدها کاملاً حذف شوند. در نهایت رسوب در آون در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شد (CDFA, 1983).

برای بررسی ساختار شیمیایی اسید هیومیک استخراج شده، میزان جذب عصاره‌های قلیایی حاوی اسید هیومیک و اسیدفولویک (پس از جداسازی هیومین نامحلول از طریق سانتریفیوژ یا ته‌نشینی) اسیدی شدند تا اسید هیومیک رسوب کند. رسوب حاصل شسته، خشک و به‌عنوان نمونه‌ی خالص اسید هیومیک جهت تحلیل‌های طیف‌سنجی استفاده شد. هیومین، به‌عنوان بخش نامحلول در محیط قلیایی، در این مرحله کاملاً از عصاره جدا شد و تنها مواد محلول (اسید هیومیک و اسیدفولویک) برای تحلیل‌های بعدی نگهداری شدند (Chen et al., 1977).

درصد اسید هیومیک استخراجی با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد:

$$100 \times \frac{\text{وزن رسوب خشک شده}}{\text{وزن اولیه نمونه}} = \text{درصد اسید هیومیک}$$

میزان جذب نوری عصاره اسید هیومیک در طول موج‌های خاص (۲۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری

UV-Vis اندازه‌گیری شد تا نسبت آلفاتیک به آروماتیک، اندازه مولکولی و وزن مولکولی تعیین گردد (Meng et al., 2021). برای تعیین نسبت‌های اسپکتروسکوپی، مقدار ۳ میلی‌گرم اسید هیومیک از هر نمونه در ۱۰ میلی‌لیتر محلول بافر بی‌کربنات سدیم (NaHCO_3) ۰/۰۵۱ مولار با pH حدود ۷ حل شد. استفاده از بافر بی‌کربنات باعث پایداری pH در محدوده‌ی خنثی و جلوگیری از تغییرات pH در هنگام اندازه‌گیری جذب نوری گردید. برای تحلیل اسپکتروسکوپی، میزان جذب عصاره‌های اسید هیومیک در طول موج‌های ۲۵۰ نانومتر (E_2) و ۳۵۰ نانومتر (E_3) با استفاده از لامپ دوتریوم و در طول موج‌های ۴۶۵ نانومتر (E_4)، ۵۵۰ نانومتر (E_5) و ۶۶۵ نانومتر (E_6) با استفاده از لامپ تنگستن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر-UV-Vis اندازه‌گیری شد (Stevenson, 1994).

نسبت آلفاتیک به آروماتیک از طریق تحلیل نسبت جذب در طول موج‌های ۴۶۵ نانومتر (E_4) و ۶۶۵ نانومتر (E_6) محاسبه شد که نشان‌دهنده ویژگی‌های ساختاری اسید هیومیک بود (Meng et al., 2021).

بر اساس درصد بالای استخراج اسید هیومیک و ویژگی‌های اسپکتروفتومتری (نسبت E_4/E_6)، شش نمونه شامل پنج لئوناردیت معدنی (L_1 , L_5 , L_7 , L_{10} و L_{13}) و یک باطله زغال شویی (C_1) به‌عنوان نمونه‌های منتخب برای بررسی‌های بیشتر انتخاب شدند. لازم به ذکر است که اگرچه تنها چهار نمونه (L_1 , L_2 , L_{10} و L_{11}) بازدهی بالاتر از ۶۰ درصد داشتند، نمونه‌های L_5 , L_7 و C_1 به دلیل ویژگی‌های طیفی متمایز و ساختارهای شیمیایی متفاوت در گروه نمونه‌های منتخب قرار گرفتند تا مقایسه جامع‌تری از ساختار و کیفیت اسیدهای هیومیک استخراجی حاصل شود. ترکیب عنصری این نمونه‌ها، شامل درصد نیتروژن (N)، کربن (C)، هیدروژن (H) و گوگرد (S)، با استفاده از دستگاه آنالیز عنصری (CHNS) اندازه‌گیری شد (Stevenson, 1994). همچنین، طیف‌سنجی (FTIR) برای تأیید ویژگی‌های ساختاری اسید هیومیک استخراج شده از این نمونه‌ها انجام شد تا کیفیت و مناسب بودن آن‌ها برای کاربردهای احتمالی ارزیابی شود.

از میان روش‌های مختلف شناسایی ساختار مواد هیومیکی، طیف‌نگاری تبدیل فوری مادون قرمز (FTIR) یکی از ابزارهای کلیدی برای شناسایی گروه‌های عاملی اکسیژن‌دار مانند کربوکسیل، فنول و هیدروکسیل در لئوناردیت و اسید هیومیک استخراج شده محسوب می‌شود (Stevenson, 1994). استفاده از این روش در مطالعه‌ی حاضر به درک تغییرات ساختاری در طی فرآیند استخراج کمک می‌کند. برای تحلیل FTIR، طیف‌های اسید هیومیک استخراج شده با دستگاه

PerkinElmer Spectrum Two در محدوده ۴۰۰-۴۰۰۰ cm^{-1} و با رزولوشن ۴ cm^{-1} اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها به صورت قرص KBr (۱ میلی‌گرم نمونه در ۱۰۰ میلی‌گرم KBr) تهیه و طیف‌ها با نرم‌افزار Spectrum برای شناسایی پیک‌های کلیدی تحلیل شدند (Giovannella et al., 2004, Artetxe et al., 1993).

نتایج و بحث

درصد اسید هیومیک استخراج شده از نمونه‌های لئوناردیت و باطله‌های زغال‌شویی در (جدول ۱) نشان داده شده است و برای ارزیابی بازده استخراج اسید هیومیک از این نمونه‌ها استفاده شده است. بر اساس داده‌های (جدول ۱)، نمونه‌های لئوناردیت L1، L2، L10 و L11 به ترتیب با بازده استخراج اسید هیومیک ۶۴/۶۱، ۶۰/۰۵، ۶۰/۰۷ و ۶۲/۳۵ درصد، بالاترین عملکرد را در میان نمونه‌های مورد بررسی از منطقه پابدانا (زرند) نشان دادند. علاوه بر بالا بودن محتوای کربن در ماده خام، شاید پایین بودن کربنات‌ها و سولفات‌ها در این نمونه‌ها سبب آزادسازی مؤثرتر مواد هیومیکی و افزایش درصد استخراج شده باشد. Souza و Bragança (۲۰۱۸) با آنالیز XRF نشان دادند که لئوناردیت‌هایی با کربنات کلسیم کمتر از ۵ درصد و سولفات آهن کمتر از ۲ درصد، بازده استخراج اسید هیومیک توسط هیدروکسید پتاسیم را تا ۷۰ درصد افزایش داده است درحالی‌که نمونه‌های حاوی مقادیر بالاتر کربنات کلسیم و سولفات آهن

بازده استخراج کمتری داشته است. به‌طور مشابه، Sarlaki و همکاران (۲۰۲۰) نیز با بررسی نتایج XRF گزارش کردند که لئوناردیت‌های ایرانی با سیلیکا غالب (۴۸-۴۲ درصد) و کربنات کلسیم کم (۴-۲ درصد) بازده استخراج اسید هیومیک برابر با درصد ۵۶/۸ دارند. با این حال، باید توجه داشت که بازده استخراج تنها به ترکیب معدنی وابسته نیست؛ تفاوت در محتوای ماده آلی یا کربن آلی اولیه لئوناردیت‌ها نیز می‌تواند بر مقدار اسید هیومیک قابل استخراج اثرگذار باشد (Tan, 2014). همچنین بازده بالای استخراج اسید هیومیک در نمونه‌ها را احتمالاً به حضور فراوان گروه‌های عاملی کربوکسیل و فنولی نیز بتوان نسبت داد که با یونیزاسیون در محیط قلیایی، حلالیت اسید هیومیک را افزایش داده و استخراج را از ماتریکس معدنی آسان‌تر می‌کنند (Stevenson, 1994). پژوهش‌ها نشان می‌دهد لئوناردیت‌هایی که مقدار بیشتری ساختارهای حلقه‌ای پایدار در ترکیب خود دارند، گروه‌های عاملی شان بهتر در سطح ماده دیده می‌شود. این ویژگی کمک می‌کند تا ترکیبات معدنی مزاحم مثل کربنات کلسیم یا سولفات آهن ساده‌تر از ماده جدا شوند و در نهایت فرایند استخراج اسید هیومیک با کارایی بیشتری انجام گیرد (Piccolo, 2001). Zara و همکاران (۲۰۲۱) برای ارزیابی دقیق‌تر نقش ناخالصی‌های معدنی، نمونه‌های لئوناردیت را با اسید هیدروکلریک یک مولار تیمار کردند و گزارش دادند که پس از حذف بخشی از ترکیبات معدنی، بازده استخراج اسید هیومیک در فرآیند استخراج قلیایی به‌طور قابل توجهی افزایش یافت.

جدول ۱- pH و EC نمونه‌های لئوناردیت و باطله زغال‌شویی

Table 1. pH and EC of leonardite and coal-washing waste samples

نمونه Sample	هدایت الکتریکی (μS/cm) EC (μS/cm)	اسیدیته pH
C3	413	8.38
C2	639	7.42
C1	732	7.58
L1	784	6.09
L2	530	3.41
L3	245	6.32
L4	233	5.45
L5	320	2.59
L6	236	5.11
L7	261	7.67
L8	1031	4.24
L9	513	7.11
L10	225	5.81
L11	304	6.57
L12	319	7.3
L13	215	7.67

لئوناردیت L1، L2، L3، L4، L5، L6، L7، L8، L9، L10، L11، L12 و L13 و باطله زغال‌شویی C1 (یک ماهه)، C2 (چهار ماهه) و C3 (چهار ساله).
Leonardite samples L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, L10, L11, L12, and L13, and coal-washing waste samples C1 (one-month), C2 (four-month), and C3 (four-year).

نمونه L7 از لئوناردیت‌های پایدانا (زرند) با بازده استخراج اسید هیومیک ۱۵/۵۶ درصد، کمترین عملکرد را در مقایسه با سایر نمونه‌ها نشان داد. این بازده پایین به احتمال زیاد ناشی از حضور بالای ناخالصی‌های معدنی، مانند کربنات کلسیم یا سولفات آهن بود که با اسیدهای هیومیکی کمپلکس‌های نامحلول تشکیل داده و فرآیند استخراج در محیط قلیایی را دشوار می‌کنند. نتایج تحقیق Piccolo (۲۰۰۱) نشان داده که کربنات‌ها با گروه‌های عاملی هیومیکی واکنش داده و ترکیبات نامحلول تولید می‌کنند، که حلالیت و استخراج‌پذیری اسید هیومیک را کاهش می‌دهد. Souza و Bragança (۲۰۱۸) با بررسی لئوناردیت‌های برزیلی نشان دادند که محتوای کربنات کلسیم بیش از ۱۰ درصد بازده استخراج اسید هیومیک را به زیر ۵۰ درصد می‌رساند، درحالی‌که مقادیر کمتر از ۵ درصد، بازده را تا ۷۰ درصد افزایش می‌دهد. اکسیداسیون محیطی، ناشی از هوازدگی یا نفوذ آب‌های زیرزمینی غنی از اکسیژن، معمولاً محتوای هیومیکی لئوناردیت را غنی‌تر می‌کند. همچنین، Wang و همکاران (۲۰۲۱) گزارش کردند که اکسیداسیون شیمیایی با آب اکسیژنه در لیگنیت‌های چینی، گروه‌های کربوکسیل را تا ۲۸ درصد افزایش داده و بازده استخراج را از ۳۵ درصد به ۴۵ درصد رسانده است. بازده پایین نمونه L7 احتمالاً به تفاوت در ترکیب معدنی یا درجه اکسیداسیون طبیعی آن نسبت به سایر نمونه‌ها

هدایت الکتریکی لئوناردیت‌ها از ۲۱۵ تا ۱۰۳۱ میکروزیمنس بر سانتی‌متر متغیر بود. نمونه L8 با ۱۰۳۱ μS/cm بالاترین هدایت الکتریکی را داشت که می‌تواند به محتوای بالای کربنات‌ها یا سایر املاح معدنی مانند سولفات‌ها و کلریدها مرتبط باشد. Kalaitzidis و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که لئوناردیت‌های با هدایت الکتریکی بالا معمولاً دارای مقادیر بیشتری از مواد معدنی هستند که می‌توانند به عنوان منبع عناصر غذایی مختلف در خاک عمل کنند. در مقابل، L13 با ۲۱۵ μS/cm کمترین EC را داشت.

اسیدیته لئوناردیت‌ها از ۲/۵۹ (L5) تا ۸/۳۸ (C3) متغیر بوده و L5 با pH اسیدی (۲/۵۹) می‌تواند برای تنظیم اسیدیته خاک‌های قلیایی مناسب باشد. بر پایه پژوهش Tan (2014)، استفاده از اسید هیومیک با pH پایین، راهکاری مؤثر برای افزایش فراهمی عناصر کم‌مصرف در خاک‌های قلیایی است. در مقابل، نمونه C3 بیشترین میزان pH را در بین نمونه‌ها (۸/۳۸) داشت. این ویژگی می‌تواند نشانگر تأثیر ترکیبات معدنی قلیایی در باطله‌های زغال‌شویی باشد، هرچند در این پژوهش آنالیز مستقیم ترکیب معدنی (مانند XRF یا XRD) انجام نشد. Meng و همکاران (۲۰۲۱) نشان داده‌اند که وجود این ترکیبات معدنی در لئوناردیت و باطله‌های معدنی می‌تواند باعث افزایش قلیائیت محیط و pH خاک شود.

مربوط است که می‌توان در مطالعات آینده با روش‌های تحلیلی دقیق‌تر مانند XRF و FTIR بررسی شود.

نمونه‌های باطله زغال‌شویی C1 و C3 با بازده‌های ۱۹/۱۱ و ۲۰/۵۵ در صد نیز عملکرد ضعیفی داشتند. بخشی از این کاهش بازده به احتمال زیاد می‌تواند ناشی از حضور بالای ناخالصی‌های معدنی، مانند سیلیکات‌ها یا سولفات‌ها و بخش از آن مربوط فرآیند شدید زغال‌شویی (تماس طولانی با آب و اکسیژن) باشد که اتواکسیداسیون اسید هیومیک و به دنبال آن کاهش در صد اسید هیومیک در نمونه را به همراه داشته است. Kalaitzidis و همکاران (۲۰۰۳) در مطالعه باطله‌های زغال‌شویی یونانی گزارش کردند که ناخالصی‌های معدنی، به‌ویژه سیلیکات‌ها، با تشکیل پیوندهای شیمیایی با اسید هیومیک، بازده استخراج را به ۲۰ تا ۳۰ درصد کاهش می‌دهند. Souza و Bragança (۲۰۱۸) نیز تأیید کردند که سیلیکات‌ها و سولفات‌ها در باطله‌ها با ممانعت از حلالیت هیومیک، استخراج را دشوار می‌کنند. با این حال، اکسیداسیون شیمیایی می‌تواند بازده را بهبود بخشد. Doskočil و همکاران (۲۰۱۴) نشان دادند که اکسیداسیون با آب اکسیژنه در باطله‌های لیگنیت، با افزایش گروه‌های هیدروفیل، بازده را تا ۴۹/۶ درصد افزایش می‌دهد. بنابراین، بازده پایین C1 و C3 به محتوای بالای ناخالصی‌های معدنی و تأثیرات فرآیند زغال‌شویی نسبت داده می‌شود.

نتایج این پژوهش نشان داد که بین لئوناردیت‌های منطقه پابدانا از لحاظ محتوای اسید هیومیک تفاوت وجود دارد که می‌تواند ناشی از تفاوت در ویژگی‌های شیمیایی و معدنی نمونه‌های لئوناردیت باشد. غلظت ناخالصی‌های معدنی نظیر

کربنات‌ها و سولفات‌ها و همچنین درجه اکسیداسیون شیمیایی، نقش تعیین‌کننده‌ای در میزان بازده استخراج دارند. این یافته با گزارش‌های پیشین هم‌راستا است. Rani و همکاران (۲۰۲۴) بیان کردند که بازده استخراج اسید هیومیک به شدت تحت تأثیر ماهیت ماده خام و شرایط استخراج قرار دارد و تنها به محتوای اسید هیومیک اولیه محدود نمی‌شود. افزون بر این، Mohinuzzaman و همکاران (۲۰۲۰) نشان دادند که حلالیت ترکیبات هیومیکی در محیط قلیایی با حضور یون‌های معدنی و ساختار شیمیایی اولیه لئوناردیت ارتباط مستقیم دارد. به‌طور مشابه، مطالعات Sarlaki و همکاران (۲۰۲۴) نیز نشان داده‌اند که حذف یون‌های مزاحم معدنی در مرحله پالایش، خلوص و بازده اسید هیومیک حاصل از لئوناردیت را به‌طور محسوسی افزایش می‌دهد؛ بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که بازده استخراج بالاتر در برخی نمونه‌های لئوناردیت پابدانا به ترکیب شیمیایی مناسب‌تر، غلظت کمتر ناخالصی‌های معدنی و پایداری ساختاری بیشتر مواد آلی نسبت داده می‌شود. Giovanella و همکاران (۲۰۱۸) توضیح دادند که تنوع قابل توجهی در محتوای اسید هیومیک لئوناردیت از مناطق مختلف را به تفاوت‌های زمین‌شناسی و شرایط محیطی (مانند دما، رطوبت و فعالیت میکروبی) نسبت دادند.

(جدول ۲) نسبت‌های اسپکتروسکوپی حاصل از اندازه‌گیری‌های جذبی اسید هیومیک استخراج شده در طول موج‌های مختلف را برای هر نمونه ارائه می‌دهد. این نسبت‌ها برای تحلیل ویژگی‌های ساختاری و شیمیایی اسید هیومیک به کار گرفته شده‌اند.

جدول ۲- درصد استخراج اسید هیومیک و نسبت‌های اسپکتروسکوپی اسید هیومیک استخراج شده از نمونه‌های لئوناردیت و باطله زغال‌شویی

Table 2. Humic acid extraction percentage and spectroscopic ratios of the extracted humic acid selected leonardite and coal-washing waste samples

نمونه‌ها Sample	میزان اسید هیومیک (%) Humic acid content (%)	E4/E6	E3/E5	E2/E3
C3	20.55	1.28	1.17	0.07
C2	47.11	1.70	1.71	0.064
C1	19.11	0.12	0.99	0.069
L1	64.61	3.28	2.74	0.043
L2	60.05	1.14	1.01	0.083
L3	23.43	3.93	3.78	0.004
L4	50.02	2.96	4.52	0.014
L5	45.26	1.01	1.22	0.053
L6	30.02	3.88	3.72	0.004
L7	15.56	1.93	0.91	0.084
L8	38.81	0.85	0.98	0.071
L9	25.45	0.71	0.78	0.058
L10	60.07	2.87	2.61	0.011
L11	62.35	2/6	5.07	0.014
L12	24.03	2	0.82	0.084
L13	46.06	0.58	0.99	0.057

لئوناردیت L1، L2، L3، L4، L5، L6، L7، L8، L9، L10، L11، L12 و L13 و باطله زغال‌شویی C1 (یک ماهه)، C2 (چهار ماهه) و C3 (چهار ساله)

Leonardite samples L1, L2, L3, L4, L5, L6, L7, L8, L9, L10, L11, L12, and L13, and coal-washing waste samples C1 (one-month), C2 (four-month), and C3 (four-year)

نسبت جذبی ۴۶۵ به ۶۶۵ نانومتر (E_4/E_6) که شاخصی برای تعیین نسبت ساختارهای آلیفاتیک به آروماتیک در اسید هیومیک است، در نمونه‌های L3 و L6 به ترتیب با مقادیر ۳/۹۳ و ۳/۸۸ بالاترین مقدار را نشان داد این نسبت بالا نشان می‌دهد که زنجیره‌های هیدروکربنی خطی (آلیفاتیک) در ساختار این نمونه‌ها سهم بیشتری دارند. Tan (۲۰۱۴) گزارش کرد که بالاتر بودن عدد نسبت جذبی ۴۶۵ به ۶۶۵ نانومتر نشان‌دهنده بیشتر بودن محتوای آلیفاتیک نسبت به محتوای آروماتیک است. این محققین بالا بودن نسبت جذبی ۴۶۵ به ۶۶۵ در اسید هیومیک را ناشی از فراوانی زنجیره‌های هیدروکربنی خطی و گروه‌های عاملی مانند کربوکسیل و هیدروکسیل دانستند. نسبت بالاتر E_4/E_6 معمولاً با ساختار آلیفاتیک‌تر و حلالیت بالاتر همراه است که می‌تواند استخراج پذیری را افزایش دهد (Stevenson, 1994). Zaccone و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که اسیدهای هیومیک با نسبت جذبی ۴۶۵ به ۶۶۵ نانومتر بالا معمولاً دارای گروه‌های عاملی فعال‌تر و انعطاف‌پذیری ساختاری بیشتری هستند که برهم‌کنش آن‌ها با یون‌ها را تسهیل می‌کند. این ویژگی‌ها بیشتر به کیفیت شیمیایی و ساختاری اسید هیومیک مربوط می‌شوند. در نتیجه، بازده بالاتر لزوماً نشان‌دهنده کیفیت بالاتر اسید هیومیک برای کاربردهای کشاورزی نیست. در مقابل، نمونه‌های C1، L13 و L9 با مقادیر پایین‌تر نسبت جذبی ۴۶۵ به ۶۶۵ نانومتر (۰/۱۲، ۰/۵۸ و ۰/۷۱) ساختار آروماتیک‌تری دارند، به این معنا که حلقه‌های بنزنی و پیوندهای دوگانه در ساختار آن‌ها غالب بود. Tan (۲۰۱۴) توضیح داد که نسبت جذبی ۴۶۵ به ۶۶۵ نانومتر پایین نشان‌دهنده ترکیبات آروماتیکی بیشتر و حضور ساختارهای متراکم‌تر مانند حلقه‌های بنزنی بود که معمولاً با اکسیداسیون پیشرفته‌تر یا حضور مواد اولیه غنی از ترکیبات آروماتیک مرتبط بود. در این نمونه‌ها، احتمالاً فرآیندهای اکسیداسیون شیمیایی یا شرایط استخراج (مانند استفاده از حلال‌های قلیایی قوی) باعث حفظ ساختارهای آروماتیک شده است. Zaccone و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که اسیدهای هیومیک با ویژگی‌های آروماتیکی بالا به دلیل وجود گروه‌های عاملی پایدارتر نظیر گروه‌های فنولی، مقاومت بیشتری در برابر تجزیه شیمیایی دارند.

نسبت جذبی ۳۵۰ به ۵۵۰ نانومتر (E_3/E_5) که نشان‌دهنده اندازه مولکولی اسید هیومیک بود، در محدوده ۰/۷۸ تا ۵/۰۷ متغیر بود. نمونه L11 با مقدار ۵/۰۷ بزرگ‌ترین اندازه مولکولی را نشان داد که احتمالاً به تجمع مولکول‌های بزرگ‌تر با پیوندهای پیچیده‌تر در این نمونه مرتبط بود. Tan (۲۰۱۴) بیان کرد که نسبت جذبی ۳۵۰ به ۵۵۰ نانومتر بالا نشان‌دهنده مولکول‌های بزرگ‌تر با ساختارهای پلیمری پیچیده‌تر بود که اغلب در اسیدهای هیومیک با تجزیه کمتر مشاهده می‌شود. در مقابل، نمونه L9 با مقدار ۰/۷۸ کوچک‌ترین اندازه مولکولی را دارد که می‌تواند به تجزیه بیشتر مولکول‌ها طی فرآیند استخراج یا محتوای اولیه کمتر مولکول‌های بزرگ مرتبط باشد. Zaccone و همکاران (۲۰۱۷) گزارش کردند که اسیدهای هیومیک با اندازه مولکولی کوچک‌تر به دلیل تحرک بالاتر، برهم‌کنش سریع‌تری با اجزای شیمیایی خاک دارند.

نسبت جذبی ۲۵۰ به ۳۵۰ نانومتر (E_2/E_3) که بیانگر وزن مولکولی اسید هیومیک استخراجی بود، بین ۰/۰۴ تا ۰/۰۸ متغیر بود. نمونه‌های L3 و L6 با مقدار ۰/۰۴ کمترین وزن مولکولی را دارند که احتمالاً به دلیل تجزیه بیشتر مولکول‌ها در فرآیند استخراج یا حضور مواد اولیه با وزن مولکولی پایین‌تر بود. Piccolo (۲۰۰۱) گزارش کرد که اسیدهای هیومیک با وزن مولکولی پایین‌تر، به دلیل اندازه کوچک‌تر، تحرک بیشتری در ماتریکس شیمیایی دارند و به راحتی با سایر ترکیبات آلی و معدنی برهم‌کنش می‌کنند. در مقابل، نمونه‌های L2، L7 و L12 با مقدار ۰/۰۸ وزن مولکولی بالاتری دارند که نشان‌دهنده ساختارهای متراکم‌تر و پایدارتر بود. Tan (۲۰۱۴) توضیح داد که اسیدهای هیومیک با وزن مولکولی بالاتر معمولاً به دلیل پیوندهای پیچیده‌تر، مقاومت بیشتری در برابر تجزیه شیمیایی دارند. نتایج این مطالعه نشان داد که تفاوت در نسبت جذبی ۴۶۵ به ۶۶۵ نانومتر (E_4/E_6) بین نمونه‌های لئوناردیت پادانا به ویژگی‌های شیمیایی آن‌ها، شامل غالبیت ساختارهای آلیفاتیک یا آروماتیک، اندازه مولکولی و وزن مولکولی اسید هیومیک استخراج‌شده وابسته بود.

(جدول ۳) ترکیب عنصری (درصد نیتروژن، کربن، هیدروژن و گوگرد) اسیدهای هیومیک استخراج شده از نمونه‌های لئوناردیت‌های منتخب را نشان می‌دهد.

جدول ۳- ترکیب عنصری، pH و EC اسید هیومیک استخراجی از نمونه‌های منتخب لئوناردیت و باطله زغال‌شویی

Table 3. Elemental composition, pH, and EC of the extracted humic acid from selected leonardite and coal-washing waste samples

نمونه‌های منتخب Selected examples	اسید هیومیک Humic acid	نیتروژن Nitrogen	کربن Carbon	هیدروژن Hydrogen	گوگرد Sulfur	اکسیژن Oxygen	C/N	O/C	H/C	pH	EC(μS.cm ⁻¹)
%											
C1	19.11	2.1	35.29	2.30	0	60.40	20.49	1.28	0.78	6.46	458
L1	64.61	2.18	72.22	4.34	0	21.26	38.64	0.22	0.72	6.61	372
L5	45.26	2.35	56.44	3.70	3.34	34.17	28.01	0.45	0.79	6.59	252
L7	15.56	2.21	57.06	3.52	0	37.21	30.12	0.49	0.74	6.13	539
L10	60.07	2.15	52.94	2.89	0	42.02	28.72	0.59	0.66	2.15	458
L13	46.06	1.97	35.33	2.43	0	60.27	20.92	1.27	0.83	6.45	491

لئوناردیت L1، L5، L7، L10 و L13 و باطله زغال‌شویی C1 (یک ماهه)

Leonardite samples L1, L5, L7, L10, and L13, and coal-washing waste sample C1 (one-month)

قطبی اکسیژنه بود. چنین ساختارهایی معمولاً با خاصیت اسیدی قوی‌تر و ظرفیت تبادل کاتیونی بالاتر همراه هستند (Rice and MacCarthy, 1991, Senesi and Loffredo, 2001). در مقابل، نمونه‌هایی مانند L1 و L5 با نسبت O/C پایین‌تر (۰/۲۹ و ۰/۶۰) ترکیباتی با ساختار پایدارتر و کمتر اکسیده را نشان می‌دهند. این ویژگی معمولاً در لئوناردیت‌های با درجه اثر فرآیندهای زمین‌شیمیایی طولانی‌تر و اکسیداسیون شدیدتر و محتوای آروماتیک غالب مشاهده می‌شود (Klucakova, 2018, Boguta et al., 2021). نسبت هیدروژن به کربن (H/C) در محدوده‌ی ۰/۵۴ تا ۰/۶۹ قرار داشت و به‌عنوان شاخصی از نوع پیوندهای کربنی و درجه اشباع مولکول شناخته می‌شود. مقادیر پایین‌تر H/C بیانگر وجود ساختارهای آروماتیک و تراکم و چندحلقه‌ای بودن، در حالی که مقادیر بالاتر نشان‌دهنده سهم بیشتر زنجیره‌های آلیفاتیک در ساختار هستند (Sensi et al., 2001, Conte and Piccolo, 1999). برای نمونه، نسبت H/C پایین در L10 (۰/۵۴) حاکی از ویژگی‌های آروماتیکی بیشتر و تراکم بالای ساختار بود، در حالی که در نمونه‌ی L13 (۰/۶۹) نسبت بالاتر هیدروژن به کربن، بیانگر سهم نسبی بیشتر پیوندهای اشباع است (Demirbaş, 2003).

به‌طور کلی، مقایسه‌ی نسبت‌های O/C و H/C نشان داد که لئوناردیت‌های دارای O/C پایین و H/C کمتر (مانند L1 و L10) ساختارهایی آروماتیکی‌تر و پایدارتری دارند، در حالی که نمونه‌های دارای O/C بالا (مانند C1 و L13) ترکیباتی با درجه اکسیداسیون بیشتر و حضور گسترده‌تر گروه‌های اکسیژنه را نشان می‌دهند. این نتایج با گزارش‌های پیشین درباره تأثیر منشأ و شرایط زمین‌شناسی بر میزان اکسیداسیون و ترکیب شیمیایی اسیدهای هیومیک سازگار بود (Stevenson, 1994, Tan, 2014, Boguta et al., 2021).

هدایت الکتریکی اسید هیومیک استخراجی در نمونه‌های منتخب بین ۲۵۲ تا ۵۳۹ μS/cm متغیر بود.

بر اساس (جدول ۳)، نسبت کربن به نیتروژن (C/N) در نمونه‌های مختلف از ۱۷/۵۷ در نمونه C1 تا ۳۳/۱۳ در نمونه L1 متغیر بود. نسبت C/N پایین‌تر (مانند ۱۷/۵۷ در C1 و ۱۷/۹۳ در L13) نشان‌دهنده تجزیه‌پذیری بیشتر مواد آلی است چرا که نیتروژن بیشتری نسبت به کربن وجود دارد. این ویژگی می‌تواند به آزادسازی سریع‌تر نیتروژن در خاک کمک کند. Tan (۲۰۱۴) گزارش کرده بود که نسبت پایین C/N (کمتر از ۲۰) در اسیدهای هیومیک، به دلیل افزایش قابلیت جذب نیتروژن، نقش مهمی در فراهمی نیتروژن برای گیاهان در خاک دارد. در مقابل، نسبت C/N بالاتر در L1 (۳۳/۱۳) بیانگر پایداری بیشتر اسید هیومیک است.

تنها نمونه L5 ۳/۳۴ درصد گوگرد داشت. Qin و همکاران (۲۰۲۰) گزارش کردند که حضور گوگرد در ساختار اسید هیومیک می‌تواند در بهبود کارایی فیزیولوژیکی گیاهان تحت تنش‌های محیطی مانند خشکی و کمبود فسفر نقش داشته باشد. به‌طور مشابه، Della Lucia و همکاران (۲۰۲۳) نشان دادند که ترکیبات حاوی گوگرد در اسیدهای هیومیک قادرند فعالیت آنزیم‌های خاک مانند اوره‌آز را افزایش داده و در فرآیندهای زیست‌تصفیه مؤثر باشند.

بر اساس داده‌های (جدول ۳)، درصد اکسیژن در نمونه‌های مورد بررسی بین ۲۱/۲۶ تا ۶۰/۴۰ درصد متغیر بود. بیشترین مقادیر مربوط به نمونه‌های C1 و L13 بود که این میزان بالای اکسیژن، نشان‌دهنده حضور فراوان گروه‌های عاملی اکسیژنه مانند کربوکسیل، کربونیل و فنولی در ساختار اسید هیومیک بود. وجود این گروه‌ها سبب افزایش قطبیت، حلالیت و واکنش‌پذیری ترکیب می‌شود و معمولاً در مواد هیومیکی با درجه‌ی اکسیداسیون بالا مشاهده می‌گردد (Stevenson, 1994, Tan, 2014). نسبت اکسیژن به کربن (O/C) نیز بین ۰/۲۹ تا ۱/۷۱ متغیر بود. مقادیر بالای این نسبت در نمونه‌های C1 و L13 بیانگر درجه اکسیداسیون بیشتر و غلبه‌ی گروه‌های

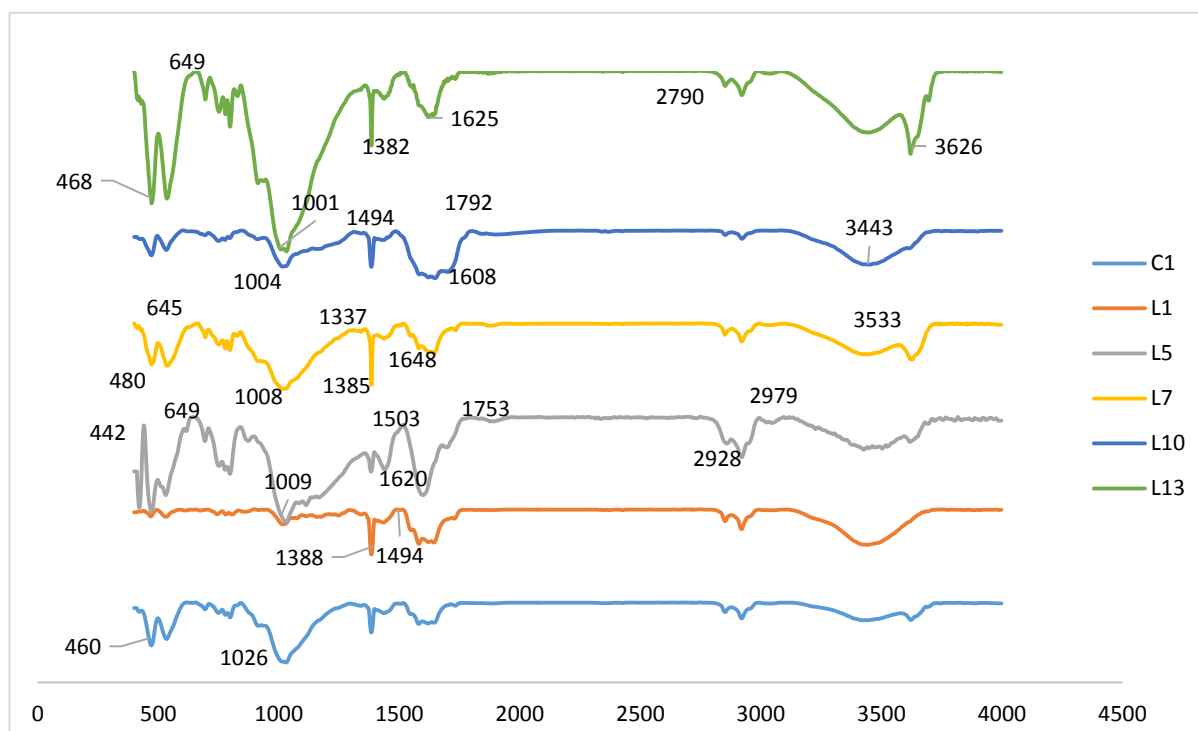
پایین‌ترین مقدار مربوط به نمونه L5 ($252 \mu\text{S/cm}$) و بالاترین مقدار مربوط به نمونه L7 ($539 \mu\text{S/cm}$) بود. این اختلاف می‌تواند ناشی از میزان متفاوت یون‌های باقیمانده در ساختار اسید هیومیک باشد؛ یون‌هایی که پس از شست‌و شو به صورت جذب‌شده یا پیوند یافته در ساختار باقی می‌مانند. Piccolo (۲۰۱۶) اشاره کرد که حتی با شست‌وشوی کامل، مقدار اندکی از یون‌های محلول ممکن است در ساختار اسید هیومیک حفظ شود و بر EC نهایی اثر بگذارد. مقادیر pH اسید هیومیک نیز در نمونه‌های منتخب بازه‌ای از $6/13$ تا $6/61$ را نشان داد. نزدیک‌ترین مقدار به خنثی در نمونه L1 ($6/61$) مشاهده شد، در حالی که L7 ($6/13$) پایین‌ترین مقدار را داشت. pH نزدیک به خنثی معمولاً با پایداری بیشتر گروه‌های عاملی و رفتار مناسب‌تر در خاک‌های زراعی همراه است. Palumbo و همکاران (۲۰۱۸) گزارش کردند که اسیدهای هیومیک با pH نزدیک به خنثی می‌توانند به عنوان محرک زیستی عمل کرده و رشد میکروارگانیسم‌های مفید خاک را تقویت کنند. در مقابل، نمونه‌هایی با pH کمی اسیدی (مانند L7) ممکن است فعالیت میکروبی و حلالیت برخی عناصر غذایی را افزایش دهند؛ موضوعی که در مطالعه‌ی Olivares و Canellas (۲۰۱۴) نیز به آن اشاره شده است. به‌طور کلی، تنوع محدود اما معنی‌دار در مقادیر EC و pH میان نمونه‌های منتخب نشان می‌دهد که منشأ معدنی لئوناردیت و تفاوت در ترکیب یونی نمونه‌ها می‌تواند بر کیفیت اسید هیومیک استخراجی اثرگذار باشد؛ هرچند همه نمونه‌های منتخب از نظر شیمیایی در محدوده‌ای قرار گرفتند که برای کاربردهای کشاورزی مناسب تلقی می‌شود.

نتایج طیف FTIR در اسیدهای استخراجی از نمونه‌های منتخب در (شکل ۲) نشان داده شده است. حضور پیک پهن در محدوده 3400 تا 3500 cm^{-1} با این تفاوت که در نمونه L13 این باند به صورت یک قله‌ی تیزتر و مشخص‌تر در حوالی 3320 – 3720 cm^{-1} ظاهر شد، می‌تواند بیانگر ارتعاشات گروه‌های هیدروکسیل فنولی و هیدروکسیل اسیدی باشد که با توجه به پیک‌های مشاهده شده در محدوده 1600 تا 1700 cm^{-1} مبنی بر ارتعاشات C=O ، حضور گروه کربوکسیلیک در اسید هیومیک تأیید می‌شود. چنین الگوی طیفی در پژوهش‌های Sarlaki و همکاران (۲۰۱۹) و García و همکاران (۲۰۱۶) نیز مشاهده شد. پیک‌های مشاهده شده در محدوده 2900 cm^{-1} را می‌توان به ارتعاشات CH در زنجیره آلیفاتیک اسید هیومیک نسبت داد. Artetxe و همکاران (۱۹۹۳) در تحلیل FTIR اسید هیومیک استخراجی از لئوناردیت گزارش کردند که افزایش پیک C=O (1700 cm^{-1}) نتیجه اکسیداسیون گروه‌های فنولی است. پیک مشخص ناحیه 1750 – 1700 cm^{-1} در نمونه‌های

L5 و L1 با شدت بیشتری ظاهر شد که نشان‌دهنده حضور گروه‌های کربوکسیلیک ($\text{C=O} / \text{COOH}$) بود. مطالعات Wang و همکاران (۲۰۲۱) تأیید کرده‌اند که افزایش این باند نشانه غنی‌تر بودن اسیدهای هیومیک از گروه‌های اسیدی و واکنش‌پذیر است. پژوهش Sarlaki و همکاران (۲۰۱۹) که بر روی طیفی لئوناردیت و اسیدهای هیومیک حاصل از آن بود نشان داد که شدت این ناحیه با افزایش محتوای اکسیژنی ترکیب ارتباط مستقیم دارد. پیک‌های مشاهده شده در محدوده 1300 تا 1500 cm^{-1} نیز را می‌توان به ارتعاشات کششی و خمشی گروه C-O فنولی در اسید هیومیک استخراجی، C=C در ساختار آروماتیک و همچنین ترکیبات پیتیدی در اسید هیومیک نسبت داد (جیووانلا و همکاران، ۲۰۰۴؛ کلوچاکووا، ۲۰۱۸). در ناحیه 1650 – 1500 cm^{-1} ، پیک‌های مرتبط با ساختارهای آروماتیک (C=C) در همه نمونه‌ها مشاهده شد، اما شدت آن‌ها در L7 و L10 بیشتر بود. حضور قوی این باند نشان می‌دهد که ساختارهای آروماتیک نقش غالبی در ترکیب نهایی این دو نمونه دارند؛ وضعیتی که در مطالعات Xin و همکاران (۲۰۲۱) که بر روی اسیدهای هیومیک منشأ لئوناردیت مطالعه کرده بودند گزارش شد. تفاوت پیک‌های FTIR اسیدهای استخراج شده از نمونه‌های مختلف نشان‌دهنده تغییرات در ساختار شیمیایی بود. Schnitzer (۱۹۷۸) در مطالعه‌ای کلاسیک روی FTIR اسید هیومیک توضیح داد که تفاوت‌های بین نمونه‌ها از نظر پیک‌های FTIR به درجه اکسیداسیون و حضور ناخالصی‌ها بستگی دارد که توجیه‌کننده تنوع در نمونه‌های این مطالعه است. نتایج طیف‌سنجی مادون قرمز نشان داد که در اسید هیومیک استخراجی حلقه‌های آروماتیک، زنجیره آلیفاتیک و تعدادی از گروه‌های عامل مهم شامل هیدروکسیل فنولی، کربوکسیل، کربونیل وجود دارند. پیک‌های ناحیه 1250 – 1000 cm^{-1} که مربوط به ارتعاشات C-O الکل‌ها، اترها و فنول‌ها هستند، در همه نمونه‌ها دیده شدند، اما در C1 و L1 شدت بیشتری داشتند. این موضوع نشان‌دهنده حضور بیشتر گروه‌های اکسیژنه فعال در این نمونه‌هاست که می‌توانند در برهم‌کنش با یون‌های فلزی و ترکیبات آلی نقش داشته باشند. یافته‌های اخیر نیز نشان داده‌اند که شدت بالاتر این ناحیه با توانایی بالاتر اسید هیومیک در تعاملات سطحی و جذب یون‌ها مرتبط است (Baran et al., 2021). در محدوده 1650 – 1460 cm^{-1} پیک‌هایی با شدت کم در تمامی نمونه‌ها مشاهده شد که مربوط به ارتعاشات حلقه‌ای و در برخی موارد تأثیر مواد معدنی همراه است. مشابه این الگو در مطالعات طیفی Sarlaki و همکاران (۲۰۱۹) که بر روی لئوناردیت و فازهای هیومیکی منشأ ایرانی تحقیق کرده بودند گزارش شد

بیشتر بخش آروماتیک در L7 و L10 نشان‌دهنده تأثیر منشأ و ترکیب اولیه لئوناردیت بر ساختار نهایی اسید هیومیک است. هم‌خوانی این الگو با پژوهش‌ها نشان می‌دهد که لئوناردیت‌های منطقه پابدانا از پتانسیل ساختاری مناسبی برای تولید اسید هیومیک باکیفیت بالا برخوردارند.

در مجموع، نتایج FTIR نشان می‌دهد که اسید هیومیک استخراج شده از نمونه‌های منتخب شامل مجموعه‌ای از گروه‌های کربوکسیلیک، ساختارهای آروماتیک، پیوندهای C-O و گروه‌های هیدروکسیل است. تفاوت‌های مشاهده شده میان نمونه‌ها از جمله محتوای اسیدی بیشتر در L1 و L5 و سهم



شکل ۲- طیف FTIR اسید هیومیک استخراج شده از نمونه‌های لئوناردیت و باطله زغال‌شویی. L1، L5، L7، L10 و L13 نمونه‌های لئوناردیت منتخب و C1 و باطله یک‌ماهه زغال‌شویی C1

Figure 2. FTIR spectra of the humic acid extracted from leonardite and coal-washing waste samples. L1, L5, L7, L10, and L13 as selected leonardite samples, and C1 as the one-month coal-washing waste sample

گروه‌های عاملی فعال (کربوکسیل و فنولی) نیز نقش کلیدی در کارایی و کیفیت اسید هیومیک استخراجی دارد. پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی تأثیر تیمارهای شیمیایی و بیولوژیکی بر لئوناردیت و ضایعات زغال‌شویی باهدف دستیابی به افزایش بازدهی استخراج و افزایش کیفیت اسید هیومیک مورد توجه قرار گیرد. همچنین مطالعات XRF جهت تعیین نقش ناخالصی‌های معدنی در میزان استخراج اسید هیومیک از لئوناردیت و باطله زغال‌شویی در پژوهش‌های آتی مورد توجه قرار گیرد.

تقدیر و تشکر

این رساله با حمایت مالی سازمان صنایع کوچک و شهرک‌های صنعتی ایران انجام شده است.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که لئوناردیت‌های معدن زغال‌سنگ گلتوت در منطقه پابدانا (زرند، کرمان)، از نظر ترکیب شیمیایی و ساختار مولکولی، تنوع قابل توجهی دارند و می‌توانند منبعی مناسب برای استخراج اسید هیومیک با بازده بالا باشند. تیمارهای L1، L2، L10 و L11 با بازده استخراج بیشتر از ۶۰ درصد، به‌عنوان منابع کارآمد برای تولید اسید هیومیک شناخته شدند. بررسی‌های طیف‌سنجی نشان داد که تفاوت در نسبت‌های جذبی (به‌ویژه E_3/E_5 و E_4/E_6) بیانگر اختلاف در ساختارهای آلیفاتیک و آروماتیک، اندازه و وزن مولکولی اسید هیومیک بود. بر همین اساس می‌توان گفت بازده بالاتر لزوماً به معنای کیفیت بالاتر اسید هیومیک نیست چرا که ساختارهای شیمیایی و

References

- Arquetopanyo, O., Thongmee, T. & Sooksamiti, P., 2018. Chemical characterization of leonardite and its potential use as soil conditioner and plant growth enhancement. *Asia-Pacific Journal of Science and Technology*, 22(04), Article APST-22-04-01. <https://so01.tci-thaijo.org/index.php/APST/article/view/107637>
- Artetxe, A., Aizpurua, A. & Artetxe, J., 1993. Structural investigations of humic acid from leonardite by spectroscopic methods. *Geoderma*, 56(1-4), pp.539-550. [https://doi.org/10.1016/0016-7061\(93\)90009-A](https://doi.org/10.1016/0016-7061(93)90009-A)
- Baran, A. et al. (2021). FTIR insight into functional groups of humic acids from mineral and organic origin. *Applied Geochemistry*, 132, 105-112. DOI:10.1081/SL-100002007
- Boguta, P., D' Orazio, V., Sokołowska, Z. and Senesi, N. (2021) 'Chemical and spectroscopic characterization of humic acids derived from lignite and composts', *Journal of Soils and Sediments*, 21, pp. 1753-1768. DOI:10.1080/00103624.2023.2277415
- Brady, N.C. & Weil, R.R., 2016. *The nature and properties of soils*. 15th ed. Pearson Education.
- California Department of Food and Agriculture (CDFA), 1983. Humic Acid Method. Sacramento: CDFA. Available at: <https://www.cdffa.ca.gov/is/cac/pdfs/HumicAcid-HumicAcidMethod.pdf>
- Canellas, L.P. & Olivares, F.L., 2014. Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 1(1), Article 3. <https://doi.org/10.1186/2196-5641-1-3>
- Chen, Y., Senesi, N. and Schnitzer, M., 1977. Information provided on humic substances by E4/E6 ratios. *Soil Science Society of America Journal*, 41, pp.352-358. <https://doi.org/10.2136/sssaj1977.03615995004100020037x>
- Conte, P. and Piccolo, A. (1999) 'Conformational arrangement of dissolved humic substances as revealed by NMR spectroscopy', *Environmental Science & Technology*, 33(10), pp. 1682-1690. <https://doi.org/10.1021/es9808604>
- Della Lucia, M.C., Tiraferri, A. & Sethi, R., 2023. Effect of humic deposit (leonardite) on degradation of semi-volatile and heavy hydrocarbons and soil quality in crude-oil-contaminated soil. *Environmental Technology & Innovation*, 30, Article 103075. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2023.103075>
- Demirbaş, A., 2003. Characterization of humic substances from lignite samples. *Energy Sources*, 25(1), pp.23-32. <https://doi.org/10.1080/00908310290142082>
- Doskočil, L., Grasset, L., Valková, D. and Pekar, M., 2014. Hydrogen peroxide oxidation of humic acids and lignite. *Fuel*, 134, pp.165-176. doi:10.1016/j.fuel.2014.05.058. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.05.058>
- Fuentes, M., Baigorri, R. & Garcia-Mina, J.M., 2018. Characterization of humic acids extracted from different sources using FTIR and ¹³C NMR spectroscopy. *Soil Science Society of America Journal*, 82(3), pp.645-652. <https://doi.org/10.2136/sssaj2017.11.0397>
- García, A.C., de Souza, L.G.A., Pereira, M.G., Castro, R.N., García-Mina, J.M., Zonta, E. et al., 2016. Structure-property-function relationship in humic substances to explain the biological activity in plants. *Scientific Reports*, 6(1), p.20798. <https://doi.org/10.1038/srep20798>
- Giovanela, M. et al., 2004. Elemental and spectroscopic characterization of humic acids fractionated by gel permeation chromatography. *Soil Science*, 169(10), pp.727-735. <https://doi.org/10.1097/01.ss.0000144147.13399.45>
- Giovanela, P., Carmo, J.B., Collins, C.D. and Gobetti, M., 2018. Earthworms as a bioindicator of soil quality. *Frontiers in Environmental Science*, 6, p.69. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2018.00069>
- Heydarzadeh, M., Naqavi, H. and Moghaddam, M.R., 2013. Evaluation of chemical, physical and fertility properties of coal washing wastes for agricultural use. *Iranian Journal of Irrigation and Water Engineering*, 14, p.58. Available at: <https://civilica.com/doc/1406248/> (In Persian)
- Kalaitzidis, S., Papazisimou, S. & Christanis, K., 2003. Preliminary comparative analyses of two Greek leonardites. *Fuel*, 82(7), pp.859-861. [https://doi.org/10.1016/S0016-2361\(02\)00373-9](https://doi.org/10.1016/S0016-2361(02)00373-9)
- Klucakova, M., 2018. FTIR spectroscopy of humic acids extracted from leonardite. *Journal of Molecular Structure*, 1173, pp.140-145. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.06.064>
- Kulikowska, D., Gusiati, Z.M. & Klik, B., 2019. Chemical composition and agricultural potential of leonardite from Polish deposits. *Journal of Soils and Sediments*, 19(6), pp.2456-2468. <https://doi.org/10.1007/s11368-019-02269-4>
- Meng, F., Huang, Q., Larson, S.L. and Han, F.X., 2021. The adsorption characteristics of uranium (VI) from aqueous solution on leonardite and leonardite-derived humic acid: a comparative study. *Langmuir*, 37(43), pp.12557-12567. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c01838>
- Mohinuzzaman, M., Rahman, M. M., & Islam, M. S. (2020). Insights into solubility of soil humic substances: influence of pH, ionic strength and mineral impurities. *Science of the Total Environment*, 735, 139905. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137395>
- Palumbo, G., Schiavon, M. & Nardi, S., 2018. Biostimulant potential of humic acids extracted from an amendment obtained via combination of olive mill wastewaters (OMW) and a pre-treated organic material derived from municipal solid waste (MSW). *Frontiers in Plant Science*, 9, Article 1028. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01028>
- Piccolo, A., 2001. The supramolecular structure of humic substances. *Soil Science*, 166(11),

- pp.810-832. <https://doi.org/10.1097/00010694-200111000-00007>
25. Piccolo, A., 2016. The nature of soil organic matter and innovative soil managements to fight soil degradation. In: D.L. Sparks, ed. *Advances in agronomy*. Vol. 139. Academic Press, pp.1-37. <https://doi.org/10.1016/bs.agron.2016.05.001>
26. Qin, X., Wang, Y., Cui, X., Zhang, X., Li, Y. and Wang, Y., 2020. Molecular signatures of humic acids from different sources as revealed by ultrahigh resolution mass spectrometry. *Journal of Chemistry*, 2020, p7171582. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2017.08.008>
27. Rani, J., Sharma, N., & Kaur, G. (2024). Extraction and chemical characterization of humic acid from different organic sources. *Scientific Reports*, 14(1), 116805. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-11680580>
28. Rice, J.A. and MacCarthy, P. (1991) 'Statistical evaluation of the elemental composition of humic substances', *Organic Geochemistry*, 17(5), pp. 635-648. [https://doi.org/10.1016/0146-6380\(91\)90006-6](https://doi.org/10.1016/0146-6380(91)90006-6)
29. Sarlaki, E., Kianmehr, M.H., Marzban, N., Shafizadeh, A., Sheikh Ahmad Tajuddin, Sh, A, F., Hu, S., Tabatabaei, M and Aghbashlo, M Hu, S., Tabatabaei, M. and Aghbashlo, M., 2024. Advances and challenges in humic acid production technologies from natural carbonaceous material wastes. *Chemical Engineering Journal*, 498, p.155521. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.155521>
30. Sarlaki, E., Sharif Paghaleh, A., Kianmehr, M.H. and Asefpour Vakilian, K., 2020. Valorization of lignite wastes into humic acids: process optimization, energy efficiency and structural features analysis. *Renewable Energy*, 163, pp.105-122. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2020.08.096>
31. Sarlaki, E., Sokhandan-TooMaj, M., Paghaleh, A., Kianmehr, M.H. and Nikousafat, O., 2019. Extraction of humic acid from lignite coals using stirred tank reactors (STRs): evaluation of process parameters and final product properties. *Iranian Journal of Water and Soil Research*, 50(5), pp.1112-1125. <https://doi.org/10.22059/ijswr.2018.260201.667947> (In Persian)
32. Schnitzer, M., 1978. Humic substances: Chemistry and reactions. In: M. Schnitzer & S.U. Khan, eds. *Soil organic matter*. Elsevier, pp.1-64. [https://doi.org/10.1016/S0166-2481\(08\)70002-4](https://doi.org/10.1016/S0166-2481(08)70002-4)
33. Senesi, N. and Loffredo, E. (2001) *The chemistry of soil organic matter*. In: Sparks, D.L. (ed.) *Soil Physical Chemistry*. 2nd edn. Boca Raton: CRC Press, pp. 239-370. <https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9780203739280-6/chemistry-soil-organic-matter-nicola-senesi-elisabetta-loffredo>
34. Singh, B.P., 2005. COAL WASHING & POWER GENERATION FROM WASHERY REJECTS. 2nd Indo-US Coal Working Group Meeting, Washington, November 2005. [Online] Available at: https://fossil.energy.gov/international/Publications/cwg_nov05_singh_washery.pdf
35. Souza, F. & Bragança, S.R., 2018. Extraction and characterization of humic acid from coal for the application as dispersant of ceramic powders. *Journal of Materials Research and Technology*, 7(3), pp.254-260. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2017.08.008>
36. Sparks, D.L., Page, A.L. & Helmke, P.A., 2020. *Methods of soil analysis: Part 3-Chemical methods*. Soil Science Society of America. <https://access.onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.2136/sssabookser5.3>
37. Stevenson, F.J., 1994. *Humus chemistry: Genesis, composition, reactions*. John Wiley & Sons. <https://www.wiley.com/en-us/Humus+Chemistry%3A+Genesis%2C+Composition%2C+Reactions%2C+2nd+Edition-p-9780471594741>
38. Tan, K.H., 2014. *Humic matter in soil and the environment: Principles and controversies*. CRC Press. <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20153427341>
39. Trckova, M., Lorencova, M., Babinsky, P., Toman, J., Sustova, K., Bartejsova, M. and Vacha, R., 2018. The effect of leonardite and lignite on the health of weaned piglets. *Research in Veterinary Science*, 119, pp.9-16. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.06.004>
40. Wang, Y., Li, J., Wang, Y., Zhang, X. and Liu, Y., 2021. Characterization of humic acids from original coal and its oxidization production. *Scientific Reports*, 11(1), p.15052. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94949-0>
41. Xin, P., Liu, Q., Zhang, K. et al., 2025. Functional groups as functional drivers: structure-activity relationships in humic substances for medical applications. *Environmental Geochemistry and Health*, 47, p.564. <https://doi.org/10.1007/s10653-025-02885-z>
42. Zacccone, C., Miano, T.M. & Shotyk, W., 2017. Molecular characterization of humic substances in Arctic soils using liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Geoderma*, 298, pp.1-9. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.03.005>
43. Zara, M., Ahmad, Z., Akhtar, J., Shahzad, K., Sheikh, N. and Munir, S., 2021. Extraction and chemical characterization of humic acid from nitric acid treated lignite and bituminous coal samples. *Sustainability*, 13(16), p.8969. <https://doi.org/10.3390/su13168969>