

1166,

**¹H-NMR SPECTROSCOPIC DETERMINATION
OF FUNCTIONAL GROUPS IN HUMIC SUBSTANCES**

Kovalevskii D.V., Permin A.B., Perminova I.V., Konnov D.V., Petrosyan V.S.

Department of Chemistry, Lomonosov Moscow State University, Russia

Quantitative determination of functional groups remains an unsolved problem of analysis of humic substances (HS). Registration of ¹H-NMR spectra of HS in NaOD/D₂O (commonly used solvent) prohibits the obtaining of separate signals of functional groups due to processes of fast proton exchange. The result is the coalescence of resonances of functional groups protons with the signal of residual protons of the solvent.

The aim of the presented work was: (1) to develop experimental design which would allow to quantify amount of functional groups in HS with a use of ¹H-NMR spectroscopy; (2) to apply this design for analysis of HS samples of different origin.

To make the protons of functional groups distinguishable in ¹H-NMR spectra of HS, it was proposed to replace NaOD/D₂O with DMSO-d₆. For this solvent exchange processes are slow and protons of carboxyl, phenolic and alcoholic groups have essentially different chemical shifts. However, under these conditions the resonances of protons of phenolic hydroxyls overlap with aromatic C-H protons, and peaks of protons of alcoholic hydroxyls overlap with carbohydrate C-H protons. To handle with this problem, it was proposed to shift the signals of all the O-H protons into low field by addition of CF₃COOD into solution of HS in DMSO-d₆. Quantitative comparison of both spectra (before and after addition of CF₃COOD) was conducted by normalizing all the spectral intensities of the chosen regions on intensity of aliphatic region which remains unchanged in the presence of CF₃COOD.

The method was used for analysis of thirteen HS samples of different origin. For the studied samples the content of COOH protons was accounted for 6-15%, phenolic hydroxyl protons — 3-11%, alcoholic hydroxyl protons — 4-15% of total hydrogen. The comparison of determined contents of alcoholic hydroxyl protons and carbohydrate C-H protons allowed to attribute the most of alcoholic hydroxyl groups as belonging to cyclic polysaccharides structures.

1166,

**ПРИМЕНЕНИЕ СПЕКТРОСКОПИИ ПМР ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ
ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТАВА ГУМУСОВЫХ КИСЛОТ**

Ковалевский Д.В., Пермин А.Б., Перминова И.В., Коннов Д.В., Петросян В.С.

Химический факультет МГУ им. М.В.Ломоносова, Москва, Россия

Количественное определение функциональных групп остается в числе нерешенных проблем химии гумусовых кислот (ГФК). Применение для этой цели традиционного варианта ПМР-спектроскопии ГФК, основанное на регистрации спектров в 0,1 М NaOD/D₂O, исключает возможность определения протонов функциональных групп, т.к. из-за быстрого обмена их сигналы переходят в пик остаточных протонов растворителя. Целью представленной работы являлась разработка способа количественного ПМР-определения функциональных групп ГФК и его применение для анализа препаратов ГФК различного происхождения.

Для разделения сигналов протонов функциональных групп было предложено использовать в качестве растворителя ДМСО-d₆, замедляющий процессы обмена. В этом растворителе сигналы протонов карбоксильных, фенольных и спиртовых групп имеют значительно различающиеся химические сдвиги. Однако в этих условиях сигналы фенольных протонов накладываются на сигналы ароматических С-Н протонов, а спиртовых — на карбогидратных СH_n-О прото-

нов. Для их разделения было предложено использовать сдвиг протонов функциональных групп в слабое поле путем добавления дейтеротрифторуксусной кислоты к раствору ГФК в ДМСО. При этом в целях количественного сопоставления спектров до и после добавления кислоты была введена процедура нормирования интегральных интенсивностей всех спектральных областей на интенсивность сигналов в области алифатических протонов, не изменяющуюся в условиях обоих экспериментов.

При помощи разработанного метода был определен функциональный состав 13 препаратов ГФК различного происхождения. Содержание COOH-протонов в исследованных препаратах составляло 6-15%, фенольных — 3-11%, спиртовых — 4-15% от общего количества водорода. Сопоставление количеств спиртовых и карбогидратных протонов позволило сделать вывод о принадлежности большей части спиртовых групп к циклическим полисахаридным структурам.

P6.5a

DETERMINATION OF CONDITIONS OF QUANTITATIVE ¹³C NMR SPECTRA OF HUMIC SUBSTANCES

Kovalevskii D.V., Perminova I.V., Permin A.B., Petrosyan V.S.

Department of Chemistry, Lomonosov State University, Moscow, Russia

The main problem of quantitative ¹³C NMR of humic substances (HS) is a difference in relaxation time of a wide variety of carbon types with different chemical surroundings which compose the structure of HS. As a result, a choice of optimum repetition delay (T_d) is of crucial importance for acquiring quantitative ¹³C-NMR spectra of HS with satisfactory signal-to-noise ratio accumulated during reasonable experimental time. The research objective of the current study was directed toward elucidation of experimental conditions providing registration of quantitative ¹³C-NMR spectra of HS.

To solve this problem we studied of influence of pulse delay time on the values of integral intensities of various spectral regions in ¹³C NMR spectrum of HS in 0.1 M NaOD/D₂O. In our experiments this parameter was varied in a range from 1 to 4 s. The spectra were subdivided into 7 regions corresponding to carbonyl ($C_{C=O}$), carboxyl (C_{COOH}), O-substituted aromatic (C_{ArO}), C- and H-substituted aromatic (C_{Ar}), acetal (C_{O-C-O}), O-substituted aliphatic (C_{Alk-O}) and unsubstituted aliphatic (C_{Alk}) carbon atoms.

The obtained results demonstrate that average relaxation times for observed carbon types could be put into the following order:

$$C_{Alk-O} < C_{Alk} < C_{Ar} \cong C_{C=O} \cong C_{O-Alk-O} < C_{ArOH} < C_{COOH}$$

The analysis of the plots of relative intensity vs T_d shows that the relative intensities reach almost the constants values at $T_d = 4s$ thus indicating that the spectra of HS acquired at this T_d are close to quantitative. For pulse delay times less than 4 s the result was the overestimation of C_{Alk} and C_{Alk-O} and underestimation of quarternary carbon of C_{ArOH} and C_{COOH} .