

ОРГАНИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

УДК 543.422.25:547.992.2

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБМЕННЫХ И СКЕЛЕТНЫХ ПРОТОНОВ ГУМУСОВЫХ КИСЛОТ С ПОМОЩЬЮ СПЕКТРОСКОПИИ ПМР

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

(кафедра органической химии)

Предложен метод количественного анализа распределения основных типов протонов в структуре гумусовых кислот (ГФК) на основании данных спектроскопии ПМР, основанный на сопоставлении ПМР-спектров ГФК в ДМСО- d_6 , в ДМСО- d_6 с добавкой CF_3COOD и в $0.1M NaOD/D_2O$. Метод позволяет определять следующие типы протонов: $C_{Ar}-OH$, $C_{Alk}-OH$, $C_{Ar}-H$, CH_n-O и $C_{Alk}-H$. Проведено исследование структурных особенностей ГФК различного происхождения. Сделан вывод об отсутствии длинноцепочечных алифатических фрагментов в структуре исследованных препаратов ГФК.

Количественное раздельное определение водорода, связанного с углеродным скелетом и функциональными группами в структуре гуминовых и фульвокислот (ГФК), является одной из нерешенных проблем химии. ГФК представляют собой высокомолекулярные соединения нерегулярного строения и переменного состава. Структура молекул ГФК характеризуется наличием ароматических фрагментов, замещенных алифатическими цепочками и функциональными группами (главным образом карбоксильными и гидроксильными), и обширной полисахаридно-пептидной периферией [1, 2]. Сложность и нерегулярность строения ГФК приводят к тому, что классические химические методы определения функционального состава дают неточные результаты вследствие неполноты протекания реакций дериватизации. В то же время перекрытие спектральных линий, принадлежащих различным типам протонов ГФК, не позволяет в полной мере использовать возможности такого мощного метода структурного исследования, как спектроскопия ПМР.

Как правило, при использовании спектроскопии ПМР для анализа ГФК получают отношение количеств скелетных протонов: ароматических ($C_{Ar}-H$) и алифатических ($C_{Alk}-H$, CH_n-O) [3, 4]. Это единственный параметр, который может быть рассчитан из спектров ГФК в D_2O или $NaOD/D_2O$, наиболее широко применяющихся для ГФК растворителей. В присутствии D_2O происходит быстрый обмен протонов функциональных групп (обменных протонов) с дейтерием воды, в результате чего в спектре наблюдаются только сигналы $C-H$ -протонов и сигнал HDO (4.6 м.д.), в интенсивность которого вносят вклад все обменные протоны ГФК.

Для количественного определения обменных и скелетных протонов ГФК некоторые исследователи [5, 6] предлагают применять в качестве растворителя ДМСО- d_6 , замедляющий процессы протонного обмена. Это позволяет наблюдать в спектре ПМР раздельные пики кислотных,

спиртовых и фенольных протонов, однако при этом перекрываются сигналы, с одной стороны, спиртовых и карбогидратных CH_n-O -протонов, а с другой – фенольных и ароматических протонов. Кроме того, пик остаточных протонов растворителя ($\delta = 2.49$) закрывает значительную часть области алифатических протонов. Для разделения интегральных интенсивностей перекрывающихся сигналов использованы различные приемы. В работе [7] для удаления подвижных протонов проводили предварительный дейтерообмен ГФК с D_2O , после чего в 1H -спектре ГФК в ДМСО- d_6 наблюдались сигналы только скелетных протонов. Другой подход основан на сдвиге сигналов обменных протонов ГФК в слабое поле путем добавления небольших количеств CF_3COOD [8, 9]. При этом инициируется быстрый в шкале времени ЯМР-обмен протонов функциональных групп ГФК с дейтерием трифторуксусной кислоты и в спектре 1H наблюдается усредненный широкий пик в области 12–15 м.д. Однако обе предложенные методики не дают возможности определить общую интегральную интенсивность сигналов протонов ГФК в связи с их перекрыванием с пиком остаточных протонов растворителя, не позволяя, таким образом, определять абсолютное содержание функциональных групп или скелетных протонов в препаратах ГФК.

Еще одна серьезная проблема, возникающая при регистрации ПМР-спектров ГФК в ДМСО- d_6 , связана с высокой гигроскопичностью ГФК и растворителя, что вызывает присутствие в спектре ПМР сигнала воды, который при следовых ее количествах сливается с сигналами спиртовых протонов. При увеличении количества воды в ее сигнал из-за ускорения процессов обмена переходят все сигналы подвижных протонов, что делает их определение невозможным. В связи с этим для количественной интерпретации таких спектров требуется тщательная осушка препаратов и ДМСО- d_6 , которые обладают высокой гигроскопичностью [10, 11].

Перед нами была поставлена задача – разработать схему ПМР-эксперимента и обработки данных для количественного определения как скелетных, так и обменных протонов.

Экспериментальная часть

Спектры ПМР регистрировали в 5-миллиметровых ампулах на спектрометре «VXR-400» фирмы *Varian* (рабочая частота 400 МГц). Ширина развертки спектра составляла около 8000 Гц (от –3 до 17 м.д.), время регистрации сигнала ССИ составляло 2 с, ширина импульса 17°, число импульсов для накопления спектра 512.

В качестве внутреннего стандарта использовали сигнал остаточных протонов дейтерорастворителя (ДМСО). При регистрации спектров в D₂O в качестве внутреннего стандарта использовали DSS (натриевую соль 3-триметилсиллил-1-пропансульфонокислоты).

Фурье-преобразование выполняли с предварительным экспоненциальным взвешиванием сигнала ССИ с константой времени, эквивалентной уширению линий 1 Гц. Для минимизации ошибок интегрирования, связанных с неидеальностью подбора фазовой коррекции спектра, независимое фазирование каждого преобразованного сигнала ССИ проводили вручную четырехкратно с последующим усреднением результатов интегрирования. Ошибка, вызываемая фазированием, составляла до 5% от величины рассчитываемых интегральных интенсивностей сигналов.

Для препаратов Т6, TTL, HMG и FIX-8 в качестве растворителей использовали ДМСО-d₆ (ТОО «Изотоп») изотопной чистоты 99 ат.%, осушенный перемешиванием с CaH₂ в течение 2 сут с последующей вакуумной перегонкой, для остальных препаратов – ДМСО-d₆ (*Merck*) изотопной чистоты 99.95 ат.% дейтерия, содержащий не более 0.02% воды; D₂O (*Aldrich*) изотопной чистоты 99.95 ат.%. Кроме того, использовали 40% NaOD в D₂O (*Aldrich*) изотопной чистоты 99 ат.% и CF₃COOD (*Merck*) изотопной чистоты 99.5 ат.%.

Препараты гумусовых кислот

В работе использовали 13 препаратов ГФК, выделенных из различных природных источников. Происхождение и элементный состав (в пересчете на беззольную пробу) препаратов приведены в табл. 1.

Препарат HBWN гуминовых кислот (ГК) почв был выделен из нативной почвы экстракцией 0.1 М NaOH с последующим подкислением экстракта до pH 2 концентрированной HCl [2] (препарат предоставлен М. И. Макаровым, факультет почвоведения МГУ).

Препарат SEL, представляющий собой нефракционированный препарат ГФК-почв, был выделен из нативной почвы экстракцией 0.1 М NaOH [12].

Препарат HMG, представляющий собой гидрофильную фракцию ГК лугово-глеевой почвы, был предоставлен кафедрой химии почв факультета почвоведения МГУ.

Препараты ФК почв BS1FA и природных вод FG1FA были предоставлены кафедрой водной химии Института им. Энглера и Бунте Технического университета Карлсруэ

(Германия).

Препараты ГФК торфа (Т5, Т6, Т7, Т10, НТЛ, TTL) были выделены экстракцией 0.1 М NaOH из торфов, предварительно проэкстрагированных 1:1 смесью этанол/бензол [11].

Препарат ГФК природных вод FIX-8 был выделен сорбцией на XAD-8 с последующим элюированием 0.1 М NaOH по методике [13].

Все препараты были обессолены пропусканием через катионообменные смолы КУ-2-8 в H⁺-форме и выделены в твердом виде упариванием на роторном испарителе. Зольность препаратов составляла 2–5%.

Приготовление образцов ГФК для регистрации спектров ПМР

Все работы по подготовке образцов для регистрации спектров ¹H проводили в отсутствие доступа воздуха на вакуумной установке. Осушение препаратов ГФК проводили в высоком вакууме при 45° в течение 6 ч.

Спектры ПМР в ДМСО-d₆. 15 мг препарата ГФК помещали в 5-миллиметровую ЯМР-ампулу и высушивали на вакуумной установке. Затем под вакуумом добавляли

Таблица 1

Описание и элементный состав препаратов гумусовых кислот

Шифр	Описание	Элементный состав				
		C	H	N	S	O
HBWN	ГК дерново-подзолистой почвы	56.1	5.6	2.1	–	36.2
HMG	ГК лугово-глеевой почвы	53.7	3.9	4.1	–	35.5
SEL	ГФК чернозема типичного	48.5	4.5	3.5	2.7	40.7
BS1FA	ФК почвы	53.6	3.6	0.7	0.3	41.8
T5	ГФК верхового торфа	53.8	4.4	2.5	1.1	38.2
T6	ГФК верхового торфа	54.3	4.2	1.3	2.1	38.1
T7	ГФК верхового торфа	53.9	4.2	2.0	3.1	36.8
T10	ГФК низинного торфа	54.0	4.0	2.3	1.5	38.1
HTL	ГФК верхового торфа	55.4	4.1	2.7	1.7	36.1
TTL	ГФК низинного торфа	55.3	4.1	2.3	1.5	36.8
HTO	коммерческие ГК торфа, 3-д Олайне	53.3	5.5	2.8	–	38.4
FIX-8	ГФК речных вод (р.Истра)	54.4	4.7	1.3	1.9	37.6
FG1FA	ФК грунтовых вод	55.6	4.8	2.4	–	37.2

Т а б л и ц а 2

Отнесение сигналов в спектрах ПМР ГФК в различных растворителях

Растворитель	Спектральные области, м.д. и отнесение					
	16.5–11.5	11.5–6.0	6.0–4.48	4.48–3.2	3.2–2.05	2.05–0.5
DMCO-d ₆	COOH	C _{Ar} -OH + C _{Ar} -H	C _{Alk} -OH + CH _n -O		α-CH _n + DMCO	CH _n
DMCO-d ₆ + CF ₃ COOD	COOH	C _{Ar} -H	CH _n -O		α-CH _n + DMCO	CH _n
0.1 M NaOD/D ₂ O		C _{Ar} -H	HDO*	CH _n -O*	α-CH _n	CH _n

* Пики частично перекрываются.

0.7 мл DMCO-d₆, ампулу запаивали и регистрировали спектр.

Спектры ПМР в DMCO-d₆ в присутствии CF₃COOD.

Ампулу с раствором ГФК в DMCO вскрывали и добавляли 20 мкл CF₃COOD, после чего регистрировали спектр.

Спектры ПМР в DMCO-d₆ с предварительным дейтерообменом. Высушенный под вакуумом препарат ГФК (15 мг) суспендировали в 1 мл D₂O, перемешивали на магнитной мешалке в течение трех дней в отсутствие доступа влаги воздуха, отгоняли воду на вакуумной установке и высушивали, после чего под вакуумом растворяли в 0.7 мл DMCO-d₆, переносили раствор в 5-миллиметровую ЯМР-ампулу и запаивали.

Спектры ПМР в NaOD/D₂O. Для уменьшения интенсивности сигнала HDO препараты ГФК подвергали предварительному дейтерообмену, растворяя под вакуумом 15 мг препарата ГФК в 1 мл 0.1 M NaOD/D₂O и выдерживая в течение 12 ч. Затем воду отгоняли, препарат ГФК высушивали, после чего под вакуумом добавляли D₂O, переносили в 5-миллиметровую ЯМР-ампулу и запаивали.

Результаты и их обсуждение

Протоны ГФК рассматривали как два основных типа: подвижные протоны функциональных групп (COOH, C_{Ar}-OH и C_{Alk}-OH), и протоны углеродного скелета, среди которых выделяли ароматические (C_{Ar}-H), алифатические (C_{Alk}-H) и протоны карбогидратных и спиртовых фрагментов (CH_n-O). Исходя из данных об элементном составе ГФК (табл. 1), согласно которым содержание азота (1 – 3%) пренебрежимо мало по сравнению с кислородом (30 – 40%), протоны типа NH_n и CH_n-N учитывались как OH и CH_n-O соответственно.

Среди алифатических протонов, в свою очередь, выделяли протоны алкильных групп, находящихся в α-положении к карбоксильной группе или ароматическому кольцу (α-CH_n), и находящихся к указанным группам не ближе, чем в β-положении (CH_n).

Для количественного определения как скелетных, так и подвижных протонов в составе ГФК нами была разработана схема комплексного ПМР-эксперимента:

1. Предварительное осушение препаратов ГФК и последующее приготовление образцов для ПМР-спектроско-

пии с использованием вакуумной техники для устранения мешающего влияния влаги.

2. Регистрация ПМР-спектров ГФК в DMCO-d₆, позволяющая разделить сигналы карбоксильных, фенольных и спиртовых протонов в спектре ГФК вследствие замедления в данном растворителе процессов протонного обмена.

3. Разделение сигналов скелетных и подвижных протонов в спектре ГФК в DMCO-d₆, основанное на сдвиге сигналов подвижных протонов в область слабого поля при добавлении трифторуксусной кислоты.

4. Расчет суммарной интенсивности сигналов протонов ГФК в ПМР-спектре в DMCO-d₆, основанный на сопоставлении этого спектра со спектром в NaOD/D₂O.

Согласно данной схеме были получены спектры исследованных препаратов ГФК. В качестве апротонного растворителя, замедляющего процессы обмена, можно также было выбрать ГМФА или ДМФА. По нашему мнению, лучшим для этой цели является именно DMCO благодаря легкости его очистки и вакуумного переноса, а также хорошей растворимости в нем большинства использованных в работе препаратов. Один из сигналов остаточных протонов ДМФА (8.01 м.д.) находится в области фенольных протонов ГФК, что делает невозможным их корректное определение. Немаловажное значение имеет также то обстоятельство, что DMCO-d₆ является самым дешевым из коммерчески доступных дейтерированных растворителей.

ПМР-спектры ГФК. На рис. 1, а, б, в приведены спектры ПМР препарата HMG в DMCO-d₆ (а), в DMCO-d₆ с добавкой CF₃COOD (б) и в 0.1 M NaOD/D₂O (в). Их качественное сопоставление проведено в табл. 2.

Как видно из табл. 2, в спектрах ГФК в DMCO-d₆ ароматические C_{Ar}-H-протоны перекрываются с фенольными C_{Ar}-OH, а пик остаточных протонов DMCO частично перекрывается с α-CH_n-протонами алифатических фрагментов. Сигналы спиртовых C_{Alk}-OH-протонов перекрываются с CH_n-O-протонами карбогидратных фрагментов.

При добавлении дейтеротрифторуксусной кислоты в спектре происходят следующие изменения (рис.1, б). Интегральная интенсивность сигнала в области 16.5 – 14 м.д. возрастает за счет уменьшения интегралов областей 11.5 – 6 и 6 – 3.2 м.д., а также добавления остаточных протонов CF₃COOD. Спиртовые и фенольные протоны в этих

условиях сливаются с сигналом кислоты в связи с ускорением процессов обмена. При условии полноты сдвига интегралы в областях 11.5 – 6 и 6 – 4.48 обусловлены сигналами только скелетных протонов $C_{Ar}-H$ и CH_n-O соответственно. Интегральная интенсивность сигналов алифатических протонов (часть которых по-прежнему закрыта пиком остаточных протонов ДМСО) остается неизменной.

Для большинства препаратов ГФК полнота сдвига достигается при внесении 20 мкл кислоты. При дальнейшем добавлении кислоты в области спектра 10.5 – 0.5 м.д. изменений не происходит. Однако для препаратов НВWN и Т7, характеризовавшихся наибольшей зольностью, внесение 20 мкл CF_3COOD оказалось недостаточным, по-видимому, из-за образования солей с зольными компонентами ГФК. В этом случае происходит неполный сдвиг подвижных протонов в слабое поле и их общий широкий сигнал наблюдается при 8 – 11 м.д. В этом случае для достижения полноты сдвига дополнительно вносили 20 мкл CF_3COOD .

Для определения суммарной интегральной интенсивности сигналов протонов ГФК была проведена регистрация спектра в 0.1 М NaOD/D₂O (рис. 1, в), химический

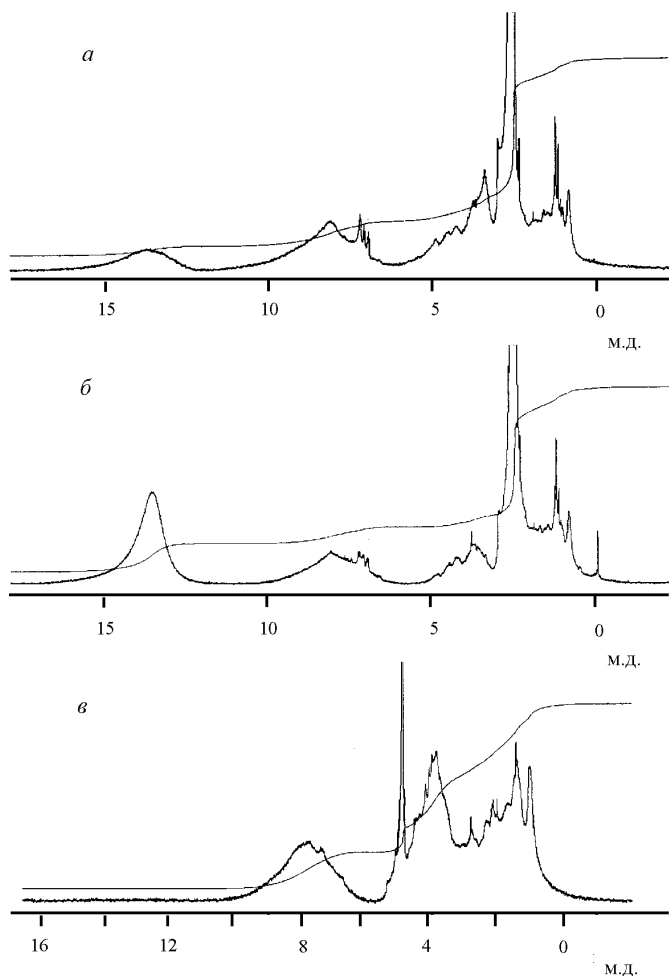


Рис. 1. Типичные спектры ПМР ГФК почв: а – в ДМСО-d₆, б – в ДМСО-d₆ с добавкой 20 мкл CF_3COOD , в – в 0.1 М NaOD/D₂O

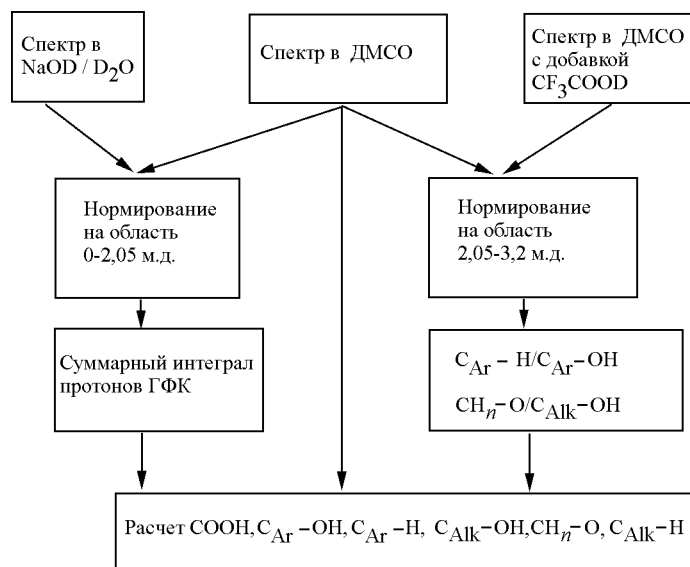


Рис. 2. Схема комплексного ПМР-исследования и расчета результатов интегрирования ПМР-спектров гумусовых кислот

сдвиг остаточных протонов которого (4.8 м.д.) существенно отличается от такового для ДМСО-d₆ (2.49 м.д.). При использовании этого растворителя в спектре ПМР ГФК все подвижные протоны входят в пик H₂O (6 – 4.48 м.д.), частично перекрывающий область CH_n-O -протонов.

Количественная обработка данных ПМР-спектров ГФК

Сопоставление спектров в ДМСО-d₆ и ДМСО-d₆ с добавкой CF_3COOD позволяет вычислить вклад скелетных и подвижных протонов в интегральные интенсивности интервалов C_{Ar} ($C_{Ar}-OH + C_{Ar}-H$) и C_{Alk} ($C_{Alk}-OH + CH_n-O$) (рис. 1, а). Для проведения такого сопоставления необходимо выполнить нормирование интегральных интенсивностей соответствующих областей обоих спектров на интенсивность сигналов CH_n , $\alpha-CH_n$ или всей алифатической области. С нашей точки зрения, выбор в качестве репера области 2.05 – 3.2 м.д. более обоснован в связи с тем, что в этой спектральной области находится отчетливый пик остаточных протонов ДМСО. В связи с этим данная область характеризуется меньшей зависимостью результатов интегрирования от корректности фазирования и установления нулевой линии.

Применение описанной выше процедуры нормирования позволяет рассчитать соотношения $C_{Ar}-OH / C_{Ar}-H$ и $C_{Alk}-OH / CH_n-O$. Однако из-за присутствия остаточных протонов ДМСО-d₆ в обоих спектрах невозможно вычислить абсолютные количества соответствующих протонов в структуре ГФК. Данную проблему можно решить путем сопоставления спектров в ДМСО-d₆ и NaOD/D₂O, вычисляя отношение интенсивностей сигналов $\alpha-CH_n$ -протонов и остаточных протонов ДМСО, перекрывающихся в первом спектре. При этом нормирование проводится на область CH_n -протонов, которая не изменяется при переходе

от одного растворителя к другому. Это дает возможность вычлест из интегральной интенсивности интервала 3.2 – 2.05 м.д. спектра в ДМСО-d₆ интеграл остаточных протонов растворителя и рассчитать абсолютные количества каждого из рассмотренных типов протонов в структуре ГФК (рис. 2). Привлечение результатов элементного анализа о содержании водорода позволяет получить данные о функциональном составе препаратов ГФК.

Таким образом, для ПМР-исследования ГФК была предложена схема эксперимента и обработки результатов, представленная на рис. 2.

При использовании ДМСО-d₆ высокой изотопной чистоты (99.95 ат.% D, *Merk*), характеризующегося высоким постоянством изотопного состава, можно избежать необходимости регистрации спектров в NaOD/D₂O. В этом случае долю сигналов α остаточных протонов ДМСО-d₆ в интегральной интенсивности спектра можно рассчитать так:

$$\alpha_{\text{ДМСО}} = (m_{\text{ДМСО}} \cdot H_{\text{ДМСО}}) / (m_{\text{ДМСО}} \cdot H_{\text{ДМСО}} + m_{\text{ГФК}} \cdot H_{\text{ГФК}}),$$

где

$m_{\text{ДМСО}}$ и $m_{\text{ГФК}}$ – массы внесенного ДМСО-d₆ и навески препарата ГФК соответственно;

$H_{\text{ДМСО}}$ и $H_{\text{ГФК}}$ – массовое содержание протонов в ДМСО-d₆ и ГФК соответственно.

В условиях нашего эксперимента (навеска ГФК 15 мг с содержанием водорода 3.5 – 5.0%, 0.7 мл ДМСО-d₆ 99.95 ат.% D) сигнал остаточных протонов ДМСО может составлять 2.0 – 3.5% от общей интенсивности спектра.

Справедливость такого способа расчета была подтверждена при сравнении результатов расчета распределения водорода при помощи данной формулы и сопоставления

спектров в ДМСО-d₆ и NaOD/D₂O. Результаты расчетов совпадали в пределах погрешности интегрирования (~5% от величины).

Применение схемы комплексного ПМР-эксперимента для определения скелетных и подвижных протонов в препаратах ГФК

В соответствии с изложенной выше схемой было охарактеризовано распределение водорода в структуре 13 препаратов ГФК различного происхождения. При этом для всех препаратов были получены спектры ¹H в ДМСО-d₆ и в ДМСО-d₆ с добавкой CF₃COOD, а для T7, TTL, HMG, и FIX-8 также и в NaOD/D₂O после H–D-обмена. Результаты расчетов по изложенной выше схеме содержания протонов различных типов в образцах ГФК приведены в табл. 3.

Как следует из табл. 3, содержание карбоксильных групп в исследованных препаратах ГФК составляло от 5.7 до 15.7%. При этом ФК почв и ГФК поверхностных вод характеризовались более высоким содержанием этих групп по сравнению с ГФК торфа и ГФК почв. Исключением является препарат HMG, который, как было сказано выше, представляет собой гидрофильную фракцию ГФК почв.

Полученные результаты были сопоставлены с имеющимися для ряда препаратов данными, полученными кальций-ацетатным методом [14] и при помощи рК-спектроскопии [15] (табл. 4). При этом содержание карбоксильных групп было пересчитано в мэкв/г с использованием данных элементного анализа.

Содержание ароматических протонов незначительно

Таблица 3

Относительное содержание протонов разных типов в структуре ГФК

Шифр	Доля протонов, %							Характеристики структуры	
	COOH	C _{Ar} -H	C _{Ar} -OH	CH _n -O	C _{Alk} -OH	α-CH _n	CH _n	C _{Ar} H H _{Alk} **	C _{Ar} OH C _{Ar} -H
T5*	7.8	10.9	5.1	31.9	10.2	17.6	17.0	0.16	0.47
T6	9.6	13.5	10.5	30.7	10.7	12.6	12.2	0.24	0.78
T7*	7.1	13.1	9.8	36.4	17.7	8.0	8.0	0.25	0.75
T10*	8.8	12.5	11.7	32.4	10.1	10.8	13.8	0.22	0.94
HTL*	8.3	11.4	8.9	36.5	12.1	10.1	12.8	0.19	0.78
TTL	9.0	13.1	10.9	30.2	12.0	15.1	9.7	0.24	0.83
HTO*	5.7	12.1	9.9	29.9	11.9	13.4	16.1	0.20	0.82
HBWN*	6.7	12.2	4.7	22.4	7.8	23.1	27.2	0.17	0.39
HMG	10.8	20.0	9.2	21.9	8.1	17.3	12.7	0.38	0.46
SEL*	8.8	10.9	7.1	34.0	14.0	14.4	10.8	0.18	0.65
BS1FA*	15.7	12.1	5.3	28.5	9.5	16.8	12.1	0.21	0.44
FIX-8	9.9	8.8	9.2	28.9	12.1	14.7	16.5	0.13	1.04
FG1FA*	11.0	5.5	3.1	20.1	4.1	29.8	25.4	0.07	0.56

* Расчет был проведен по схеме без регистрации спектров в NaOD/D₂O.

** H_{Alk} = CH_n-O + α-CH_n + CH_n.

Т а б л и ц а 4

**Сопоставление результатов определения
карбоксильных групп титриметрическими
методами и ПМР**

Препарат	Содержание COOH-групп, мэкв/г		
	ПМР	Ca-Ac	pK-спектр
T5	3.0	3.1	3.0
T6	3.3	3.1	2.7
T7	3.0	2.9	2.5
T10	3.8	3.1	6.0
HNL	3.5	4.0	3.9
SEL	4.0	3.9	4.3

различалось для большинства исследованных препаратов, однако для ГФК природных вод оно было значительно ниже, а для препарата НМГ наблюдалось максимальное содержание Н-замещенной ароматики. Аналогичные изменения наблюдались для соотношения скелетных протонов $C_{Ar}H / H_{Alk}$, которое было максимально в случае НМГ (0.38), минимально для ГФК природных вод (0.07 – 0.13), а для остальных препаратов находилось в диапазоне

0.16 – 0.25 (табл. 3). В то же время соотношение $C_{Ar}-OH / C_{Ar}-H$, являющееся одной из характеристик окисленности ароматического ядра ГФК, изменялось в широких пределах (от 0.39 для НВWN до 1.04 в случае FIX-8). Содержание карбогидратных структур было выше для препаратов торфяных ГФК, что, по-видимому, обусловлено особенностями их генезиса [2]. Содержание спиртовых групп хорошо коррелирует с содержанием карбогидратных CH_nO -протонов, составляя 30–45% от содержания последних. Это указывает на то, что основная часть спиртовых протонов соответствует полисахаридным фрагментам ГФК.

При рассмотрении алифатической части ГФК обнаружено, что для всех исследованных препаратов вне зависимости от источника происхождения и величины соотношения $C_{Alk}H / H_{Alk}$ около 50% алифатических протонов принадлежит $\alpha-CH_n$ -группам. Это указывает на общий принцип строения алифатической части ГФК, для которой, по-видимому, нехарактерно наличие незамещенных длинноцепочечных алифатических фрагментов.

Таким образом, предложен метод количественного анализа основных типов протонов в структуре ГФК из данных ПМР-спектроскопии, основанный на сопоставлении спектров ГФК в ДМСО, в ДМСО – CF_3COOD и в $D_2O/NaOD$. Проведено сравнение структурных особенностей ГФК различного происхождения. Показано отсутствие длинноцепочечных алифатических фрагментов в исследованных образцах ГФК.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований
(№ проекта 98-03-33186а)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Steelink C., Wershaw R. L., Thorn K. A., Wilson M. A. Humic Substances. Oxford, 1989. P. 281.
2. Орлов Д. С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации, М., 1990.
3. Wilson M. A. NMR techniques and Applications in Geochemistry and Soil Chemistry. Oxford, 1987.
4. Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in Environmental Chemistry/ Eds. M. A. Nanny, R. A. Minear, J. A. Leenheer. N.Y., 1997.
5. Ishiwatari R. // Chem. Geol. 1973. **12**. P. 113.
6. Yonebayashi K., Hattori T. // Soil Sci. Plant Nutr. 1989. **35**. P. 383.
7. Ruggiero P., Interesse F. S., Cassidei L., Sciacovelli O. // Geochim. Cosmochim. Acta. 1980. **44**. P. 603.
8. Ruggiero P., Sciacovelli O., Testini C., Interesse F. S. // Geochim. Cosmochim. Acta. 1978. **42**. P. 411.
9. Wershaw R. L. Humic Substances in Soil, Sediments, and Water/ Eds. G. R. Aiken, D. M. McKnight, R. L. Wershaw. N. Y., 1985.
10. Ruggiero P., Interesse F. S., Sciacovelli O. // Geochim. Cosmochim. Acta 1979. **43**. P. 1771.
11. Данченко Н. Н. Дис. ... канд. хим. наук. М., 1997.
12. Орлов Д. С. // Химия почв. М., 1992.
13. Aiken G. R., Thurman E. M., Malcolm R. L., Walton H. F. // Anal. Chem. 1979. **51**. P. 1799.
14. Данченко Н. Н., Перминова И. В., Гармаш А. В., Кудрявцев А. В. // Вестн. Моск. ун-та. 1997. **2** (в печати).
15. Гармаш А. В., Воробьева О. Н., Кудрявцев А. В., Данченко Н. Н. // ЖАХ. 1997. **2** (в печати).

Поступила в редакцию 29.09.98