

## Analýza a určení obsahu fulvových kyselin ve vzorku Lignohumátu AM

### Zkrácená zpráva

Vzorek: Lignohumát AM, šarže č. 007.04, pevný vzorek  
Výrobce: NPO RET, Sankt Peterburg, Rusko

Lignohumát AM představuje směs huminových a fulvových kyselin vyrobených z technického lignosulfonanu. Vysoká biologická aktivita Lignohumátu A je dána synergií účinku těchto látek.

Fulvové kyseliny jsou látky patřící ke skupině přírodních huminových látek. Na rozdíl od huminových kyselin fulvové kyseliny vykazují nižší molekulovou hmotnost ( $M_w$ ) a větší obsah karboxylových a hydroxylových skupin než frakce huminových kyselin. Přírodní fulvové kyseliny jsou na rozdíl od huminových rozpustné i ve slabě kyselém prostředí. Stanovení obsahu fulvokyselin v preparátu Lignohumát AM je poměrně náročné vzhledem ke skutečnosti, že fulvové a huminové kyseliny Lignohumátu AM jsou částečně nebo úplně sulfonovány a jsou proto dobře rozpustné ve vodě a klasické metody stanovení obsahu přírodních fulvových a huminových kyselin zde selhávají.

Stanovení fulvových kyselin bylo proto provedeno nově vypracovaným a dosud nepublikovaným postupem odstraněním huminových kyselin jejich vysrážením za specifických podmínek. Kontrola obsahu fulvových kyselin pak byla provedena a) **gravimetricky** b) **spektrofotometrickou analýzou** a c) **hmotnostní spektrometrií** MALDI TOF MS (Matrix Assisted Laser/Desorption Ionization – Time of Flight mass spectrometry). Pro každou z metod byly použity standardy – International Humic Substances Society (IHSS) a standardy laboratoře Masarykovy Univerzity.

### Kontrola kvality fulvových kyselin metodou MALDI – TOF MS

Instrumentace: hmotnostní spektrometr AXIMA – CFR firmy Shimadzu, dusíkový laser:  $\lambda = 337$  nm, měřicí mód: lineární (+), pulzní extrakce: 500

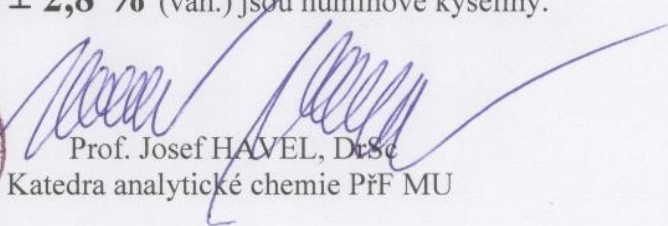
Hmotnostní spektrometrie MALDI – TOF MS se používá pro charakterizaci přírodních huminových či fulvových kyselin a dvoluje určit jejich molekulovou hmotnost. Bylo provedeno podrobné studium různých matic k získání hmotnostních spekter. Měření pak byla provedena ve čtyřech režimech (+) a (-) lineární a refletron. Nejvýhodnější je ionizace těchto látek procesem LDI (laserem indukovaná desorpce a ionizace bez přítomnosti matrice) v lineárním pozitivním módu. V uvedeném vzorku byla potvrzena přítomnost fulvových kyselin a určena jejich molekulová hmotnost  $\approx 60 - 400$  Da.

Průměrný obsah fulvových kyselin v produktu Lignohumát AM (stanovený z několika paralelních stanovení) je

**$72 \pm 2,5$  % (váh.),  $25 \pm 2,8$  % (váh.)** jsou huminové kyseliny.

Brno, 15.11.2006



  
Prof. Josef HAVEL, DrSc  
Katedra analytické chemie PřF MU

# Analysis and Determination of the Fulvic Acid Content in a Lignohumate AM Sample

## Abbreviated Report

Sample: Lignohumát AM, Batch No. 007.04, water soluble powder

Manufacturer: AMAGRO s.r.o.; Prague

Lignohumate AM consists of a mixture of humic and fulvic acids produced from technical lignosulphonate. The high biological activity of Lignohumate AM is a result of the synergic action of these substances.

Fulvic acids are substances that belong to the group of natural humic substances. In contrast to humic acids, fulvic acids have lower molecular weight (Mw) and larger contents of carboxylic and hydroxylic groups than the humic acid fraction. Compared to humic acids, natural fulvic acids are also soluble in weakly acidic media. Determination of the fulvic acid content in Lignohumate AM is rather difficult because the fulvic and humic acids in Lignohumate AM are partly or completely sulphonated and are thus very soluble in water and the classical methods of determination of the contents of natural fulvic and humic acids fail here.

Consequently, fulvic acids were determined by a newly developed and so-far unpublished procedure involving removal of the humic acids by precipitation under specific conditions. The fulvic acid content was then determined by a) **gravimetric** and b) **spectrophotometric analysis** and c) MALDI TOF MS **mass spectrometry** (Matrix Assisted Laser/Desorption Ionization – Time of Flight Mass Spectrometry).

International Humic Substances Society (IHSS) standards and standards in the laboratory at Masaryk University were used for each of the methods.

### **Control of the fulvic acid quality by the MALDI – TOF MS method**

Instrumentation: AXIMA-CFR mass spectrometer from the Shimadzu company, nitrogen laser;  $\lambda = 337$  nm, measuring mode: linear (+), pulse extraction: 500.

MALDI – TOF MS mass spectrometry is used to characterize biomolecules, natural substances and also humic and fulvic acids and permits determination of their molecular weights. A detailed study was performed of various matrices to obtain the mass spectra and the measurement was performed in four (+) and (-) linear and reflectron regimes. Ionization of these substances by the LDI (laser-induced desorption and ionization) process in the linear positive mode is most advantageous.

The presence of fulvic acids was confirmed and their molecular weights were determined,  $M_w \approx 60 - 400$  Da, in the Lignohumate AM sample, batch No. 007.04.

The average fulvic acid content in the Lignohumate AM product (determined in several parallel determinations) is

**$72 \pm 2,5$  % (wt.) fulvic acids,  $25 \pm 2.8$  % (wt.) humic acids.**

Brno, Nov. 15, 2006

Prof. Josef HAVEL, DrSc.  
Department of Analytical Chemistry,  
Faculty of Science, Masaryk University