

УДК 634.0.813:547.992.3

А.П. Карманов¹, Л.С. Кочева², В.Ю. Беляев³, О.С. Бровко⁴, Ю.С. Оводов⁵

¹ Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения
Российской академии наук

² Сыктывкарский государственный университет

³ Институт химии Коми научного центра Уральского
отделения Российской академии наук

⁴ Институт экологических проблем Севера Уральского отделения
Российской академии наук

⁵ Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения
Российской академии наук

Карманов Анатолий Петрович родился в 1948 г., окончил в 1971 г. Куйбышевский политехнический институт, доктор химических наук, заведующий лабораторией физикохимии лигнина Института химии Коми НЦ УрО РАН. Имеет более 250 печатных работ в области физикохимии полимеров, химии лигнина, самоорганизации, фракталов, нелинейной динамики и электронной микроскопии.

E-mail: apk0948@yandex.ru



Кочева Людмила Сергеевна окончила в 1979 г. Сыктывкарский государственный университет, доктор химических наук, зав. кафедрой химии Сыктывкарского государственного университета. Имеет более 130 печатных работ в области химии и технологии растительных веществ, структурной организации биополимеров, самоорганизации, электронной микроскопии.

E-mail: kocheva-ls@chemi.komisc.ru



Беляев Валерий Юрьевич родился в 1963 г., окончил в 1985 г. Сыктывкарский государственный университет, кандидат химических наук, ст. научный сотрудник лаборатории физикохимии лигнина Института химии Коми НЦ УрО РАН. Имеет более 50 печатных работ в области физикохимии полимеров, химии лигнина, целлюлозы, лигноуглеводного комплекса.

Тел.: 8(8212) 43-24-27



Бровко Ольга Степановна окончила в 1983 г. Архангельский лесотехнический институт, кандидат химических наук, доцент, ст. научный сотрудник лаборатории химии растительных биополимеров ИЭПС УрО РАН. Имеет более 120 научных трудов в области физикохимии биополимеров.

E-mail: brovko-olga@rambler.ru



Оводов Юрий Семенович родился в 1937 г., окончил Московский государственный университет, академик РАН, член Бюро Отделения биологических наук РАН, директор Института физиологии КомиНЦ УрО РАН. Имеет более 350 научных работ в области иммунологии природных углеводсодержащих антигенов и иммуномодуляторов; химии природных соединений, биоорганической химии, иммунохимии и иммунобиологии.

E-mail: ovoys@phisiol.komisc.ru



© Карманов А.П., Кочева Л.С., Беляев В.Ю., Бровко О.С., Оводов Ю.С., 2013

**ЛИГНИН КСИЛЕМЫ ПИХТЫ *ABIES SIBIRICA*.
ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ МАКРОМОЛЕКУЛ
МЕТОДАМИ МОЛЕКУЛЯРНОЙ ГИДРОДИНАМИКИ***

Методами скоростной седиментации, поступательной диффузии и вискозиметрии исследованы гидродинамические свойства растворов лигнина пихты *Abies sibirica*. Определены скейлинговые параметры зависимостей типа Марка–Куна–Хаувинка и гидродинамические инварианты. Рассмотрена взаимосвязь гидродинамических и конформационных свойств образцов лигнина.

Ключевые слова: лигнин, гидродинамические свойства, конформация, топологическая структура, скейлинг.

Введение

Актуальность исследований природного полимера–лигнина определяется той значительной ролью, которую он играет в технологических процессах химической переработки древесины на целлюлозу, бумагу и картон. Технология получения целлюлозосодержащих материалов из различных видов растительного сырья определяется и во многом зависит от химической и топологической структуры входящего в его состав лигнина. Проблема топологической структуры макромолекул природных лигнинов до настоящего времени не имела однозначного решения, что связано с многообразием химического состава лигнинов, отсутствием совершенных методов выделения, сложностью изучения и интерпретации гидродинамических и конформационных свойств макромолекул в растворах. Исследования, проведенные в последние годы [1, 2, 5], показывают, что физико-химические свойства лигнинов отличаются от свойств сетчатых полимеров. На основании экспериментально установленных фактов и обнаруженных закономерностей было показано, что макромолекулы лигнина березы, осины, рябины, робинии имеют звездообразную структуру, а лигнины, выделенные из древесины сосны, ели и лиственницы, относятся к классу хаотически разветвленных полимеров [7]. Эти результаты подтверждают ранее предложенную гипотезу о поливариантности топологической структуры природных лигнинов [3], в рамках которой устанавливается определяющая роль таксономического положения лигнинсодержащих растений. Поскольку из хвойных видов сырья древесина ели и сосны наиболее востребована в целлюлозно-бумажной промышленности, то наибольший объем исследований пришелся на лигнины из этих видов сырья, тогда как сведения о топологической структуре других лигнинных биополимеров, в частности пихтового лигнина, практически отсутствуют.

* Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований УрО РАН (код проекта 12-М-45–2012) и гранта РФФИ (код проекта 12-04-00445-а).

Настоящая работа посвящена исследованию гидродинамических свойств и топологической структуры макромолекул лигнина, выделенного из ксилемы пихты *Abies sibirica*.

Экспериментальная часть

Объект исследования – лигнин вторичной ксилемы пихты *Abies sibirica*. Содержание лигнина (по Комарову) – 29,2 %. Образец лигнина выделяли диоксанным методом [8], обрабатывая предварительно измельченную и обессмоленную древесину смесью диоксан–вода в присутствии хлористого водорода при температуре кипения раствора в течение 2 ч. После двукратного переосаждения из диоксана в диэтиловый эфир образец диоксанлигнина пихты (ДЛ-П) характеризовался следующими показателями, %: содержание ОСН₃-групп – 14,4 (метод С13-ЯМР-спектроскопии); СООН-групп – 3,2 (хемосорбционный метод); С – 65,1; Н – 6,3 (Hewlett Packard).

Фракционирование образца ДЛ-П проводили дробным осаждением в системе диоксан–бензол. Для исследования гидродинамических свойств лигнина использовали методы скоростной седиментации, поступательной диффузии и вискозиметрии. Растворитель – диметилформамид (ДМФА). Концентрация полимера η при измерениях отвечала критерию разбавленности Дебая $c[\eta] < 1$ (где η – характеристическая вязкость).

Коэффициенты скоростной седиментации S измеряли на аналитической ультрацентрифуге МОМ-3180 в 2-секторной полиамидной кювете с образованием искусственной границы при $48 \cdot 10^3$ об/мин по скорости смещения максимума ординаты седиментограммы:

$$S = (\Delta \ln x / \Delta t) \omega^{-2},$$

где x – координата максимума седиментограммы;

t – время седиментации, мин;

ω – частота вращения ротора центрифуги, $\omega = 2\pi n$.

Концентрация растворов $\sim (1,5 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$ г/см³. На рис. 1 представлена зависимость $\Delta \ln x$ от t для некоторых фракций ДЛ-П в ДМФА.

Рис. 1. Зависимость смещения седиментационной границы $\Delta \ln x$ от времени седиментации t для фракций образца лигнина ДЛ-П (цифрами от 1 до 6 обозначены номера фракций)

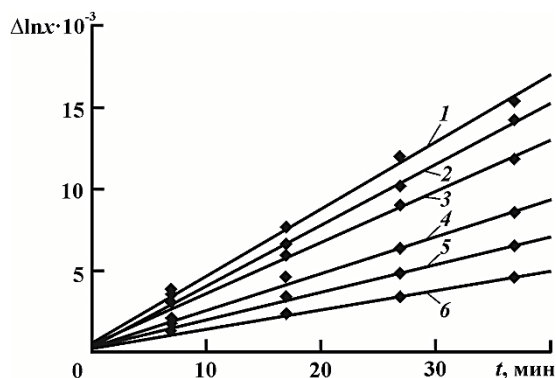
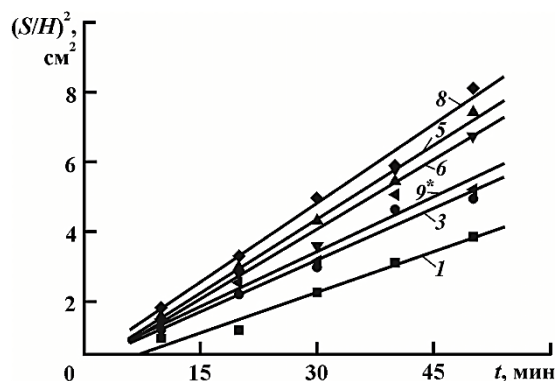


Рис. 2. Зависимость дисперсии диффузионной границы $(S/H)^2$ от времени t для фракций 1, 3, 5, 6, 8 и нефракционированного образца 9* лигнина ДЛ-П



Коэффициенты диффузии D определяли с помощью аналитической ультрацентрифуги МОМ-3180 ($5 \cdot 10^3$ об/мин) при использовании полиамидной кюветы наплаивающего типа, рабочие полости которой имеют секториальную форму. Концентрация растворов $\sim 3 \cdot 10^{-3}$ г/см³. Коэффициенты D рассчитывали, используя зависимость $(S/H)^2 = f(t)$ (рис. 2) и формулу

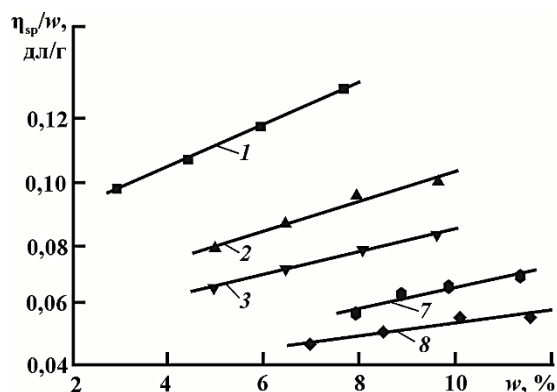
$$D = (\Delta(S/H)^2 / 4\pi F^2 \Delta t),$$

где S и H – соответственно площадь и максимальная ордината контура диффузионной кривой;

F – масштабный множитель.

Вязкость растворов измеряли в капиллярном вискозиметре Оствальда при температуре 298 К. Характеристическую вязкость $[\eta]$ фракций полимера определяли линейной экстраполяцией зависимостей приведенной вязкости $([\eta]_{уд}/c)$ к бесконечному разбавлению, выполненной в соответствии с известным уравнением Хаггинса и с учетом поправки на плотность растворов. На рис. 3 представлены результаты вискозиметрических измерений для некоторых фракций исследуемого лигнина.

Рис. 3. Зависимость приведенной вязкости η_{sp}/w от массовой концентрации w фракций ДЛ-П в ДМФА



Для вычислений молекулярных масс M_{SD} использовали экспериментальные данные, найденные непосредственно для каждой из анализируемых фракций лигнина:

$$M_{SD} = SRT / (1 - \bar{v}\rho_0)D,$$

где $(1 - \bar{v}\rho_0)$ – фактор плавучести Архимеда системы полимер–растворитель.

Для образца ДЛ-П фактор $(1 - \bar{v}\rho_0) = 0,3910$.

Молекулярные массы $M_{D\eta}$ определяли по уравнению

$$M_{D\eta} = A_0^3 ([D]^3 [\eta]),$$

где A_0 – инвариант Цветкова–Кленина, $A_0 = \eta_0 D (M_{SD} [\eta])^{1/3} / T$;

$$D = \eta_0 D / T.$$

Обсуждение результатов

В результате исследований установлено, что лигнин ДЛ-П относится к биополимерам, состоящим в основном из мономерных единиц гваяцильного типа. Об этом свидетельствует сравнительно невысокое содержание метоксильных групп (14,4 %), а также элементный состав ДЛ-П, характерный для G-лигнинов. ИК-спектр данного образца (рис. 4) указывает на то, что ДЛ-П в рамках классификации Кавамура–Хигуши относится к гваяцильным лигнинам N-типа.

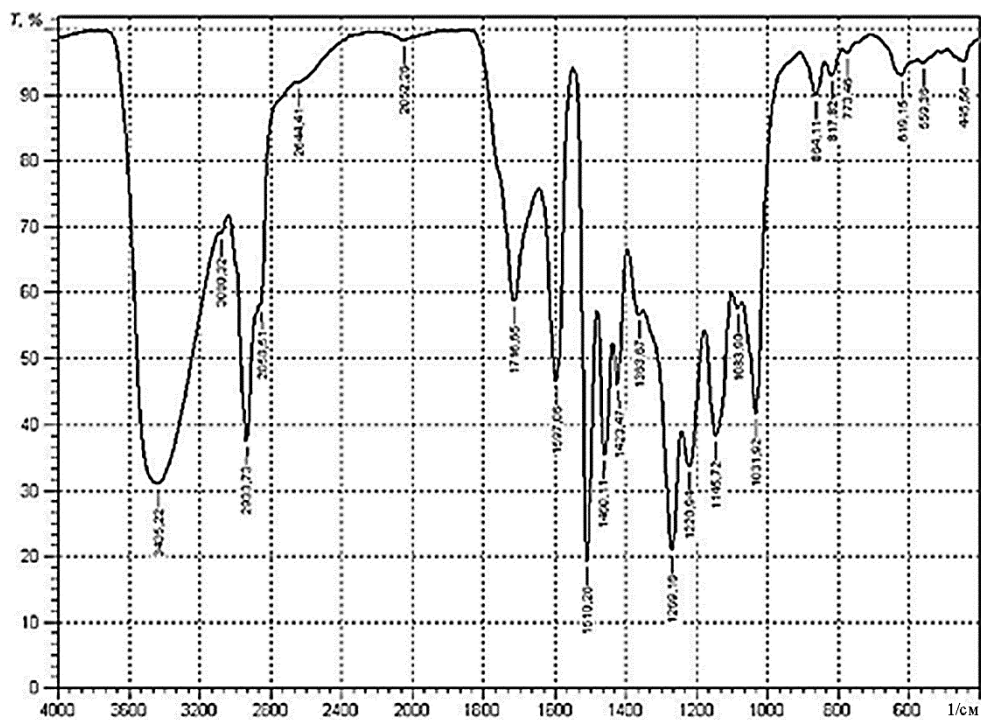


Рис. 4. ИК-спектр лигнина ДЛ-П

Таблица 1

Гидродинамические характеристики фракций ДЛ-П

№ фракции	$W_i \cdot 10^2$	$[\eta]$, см ³ /г	$D \cdot 10^7$, см ² /с	$S \cdot 10^{13}$, с	$M_{SD} \cdot 10^{-3}$	$M_{D\eta} \cdot 10^{-3}$	k_x	$A_0 \cdot 10^{10}$, эрг · К ⁻¹ · моль ^{-1/3}
1	18,0	9,5	6,5	3,4	33,0	22,0	1,26	2,6
2	19,8	6,1	7,1	2,2	19,7	26,3	1,31	2,0
3	16,3	6,0	9,5	1,7	11,5	11,2	0,70	2,2
4	17,5	5,7	10,7	1,5	8,6	8,2	0,69	2,3
5	5,8	5,3	11,2	1,2	7,0	7,7	1,02	2,2
6	2,5	5,6	11,4	1,1	5,9	6,9	0,65	2,1
7	3,4	5,1	12,3	–	–	6,0	0,84	–
8	16,7	4,8	14,5	–	–	3,9	0,60	–

В табл. 1 приведены гидродинамические характеристики фракций ДЛ-П. Значения характеристической вязкости $[\eta]$, коэффициентов поступательной диффузии и скоростной седиментации (S) представляют собой набор базовых экспериментальных данных, на основе которых рассчитывают молекулярные массы (M_{SD} , $M_{D\eta}$), и коэффициент Хаггинса k_x , инвариант (A_0), а также индексы Марка–Куна–Хаувинка (b_i) исследуемого биополимера.

По результатам фракционирования и исследования фракций вычислены: средние молекулярные массы $M_w = 14,6 \cdot 10^3$ и степень полидисперсности $M_w/M_n = 1,62$.

Для получения данных о форме клубка и плотности упаковки макромолекулы рассчитывают корреляционные соотношения между $[\eta]$, D , S и молекулярной массой M в виде степенных уравнений типа Марка–Куна–Хаувинка:

$$\lg C_i = \lg K_i + b_i \lg M,$$

где $C_i = [\eta]$, или D , или S ;

K_i – коэффициенты уравнений Марка–Куна–Хаувинка;

b_i – индексы Марка–Куна–Хаувинка (соответственно b_η , b_D , b_S);

M – молекулярная масса.

Как показывает анализ, логарифмические зависимости $[\eta]$, S , D от молекулярных масс M_{SD} и $M_{D\eta}$ аппроксимируются прямыми линиями с коэффициентом корреляции не менее $R = 0,9$. Результаты обработки данных представлены в табл. 2.

Сравнение индексов показывает выполнимость соотношения

$$(1 - b_S) = |-b_D| = 1/3(b_\eta + 1).$$

Установление подобных корреляций b_η , b_D , b_S позволяет подтвердить предположение о масштабной инвариантности макромолекул, т.е. полимергомологичности фракций. Поскольку зависимости гидродинамических характеристик $[\eta]$, S и D от молекулярных масс M_{SD} и $M_{D\eta}$ для исследуемых

Таблица 2

Параметры уравнения Марка–Куна–Хаувинка для системы ДЛ-П–ДМФА

Характеристика	b_η	b_S	$-b_D$	Δb_i	K_η	K_S	K_D
$[\eta]-M_{SD}$	0,28	–	–	0,08	$4,4 \cdot 10^{-3}$	–	–
$[\eta]-M_{D\eta}$	0,25	–	–	0,08	$6,0 \cdot 10^{-3}$	–	–
S_0-M_{SD}	–	0,64	–	0,03	–	$4,4 \cdot 10^{-16}$	–
$S_0-M_{D\eta}$	–	0,66	–	0,16	–	$3,5 \cdot 10^{-16}$	–
D_0-M_{SD}	–	–	0,36	0,03	–	–	$2,8 \cdot 10^{-5}$

дуремых лигнинов носят прямолинейный характер и корреляционные соотношения, приведенные выше, выполняются, то можно утверждать, что все макромолекулы лигнина, независимо от размеров, топологически подобны, т.е. соблюдается универсальный для полимеров принцип скейлинга. Это означает, что полученные результаты могут быть использованы для суждений и выводов о конформации и конфигурации макромолекул.

Известно [6], что линейные и звездообразные макромолекулы в Θ -растворителе находятся в конформации гауссова клубка, а $b_\eta = 0,50$. Макромолекула в конформации сферы Энштейна характеризуется индексом $b_\eta = 0$. Жесткоцепные полимеры (лестничные, гребнеобразные) в конформации протекаемых клубков отличаются повышенным значением индекса b_η , достигающим 1,00...1,70. Для хаотически разветвленных макромолекул типично $b_\eta = 0,25$.

Для исследуемой системы ДЛ-П–ДМФА скейлинговый индекс $b_\eta = 0,28 \pm 0,08$ (если для расчетов выбрать пару $[\eta] - M_{SD}$) и $b_\eta = 0,25$ (если выбрать $[\eta] - M_{D\eta}$), что, в принципе, одно и то же. Диффузионный индекс системы $|b_D| = 0,36$, что также значительно ниже «критического» значения (для линейных и звездообразных полимеров $|b_D| \geq 0,50$). Таким образом, скейлинговые индексы для образца ДЛ-П однозначно отвечают значениям, типичным для хаотически разветвленных полимеров.

Согласно полученным данным, скейлинговые индексы для образца ДЛ-П практически совпадают с найденными при исследовании лигнинов других хвойных древесных растений (сосна, лиственница, ель [2, 7]). Необходимо отметить, что топологические структуры диоксанлигнинов и лигнинов механического размола, считающихся в настоящее время наиболее близкими к природному, практически не отличаются. По данным Павлова с сотр. [4], скейлинговые индексы для лигнина молотой древесины *Pinus silvestris* составляют: $b_\eta = 0,28 \pm 0,06$; $b_S = 0,60 \pm 0,04$; $b_D = -0,41 \pm 0,04$; диоксанлигнины, выделенные из этой древесины, имеют [1]: $b_\eta = 0,26 \pm 0,01$; $b_S = 0,57 \pm 0,03$; $b_D = -0,43 \pm 0,02$. Эти результаты свидетельствуют об идентичности топологии макромолекул лигнинов, выделенных различными методами. Анализ экспериментальных результатов дает основания полагать, что макромолекулы

лигнина, выделенного из древесины пихты, относятся к классу хаотически разветвленных полимеров.

Предположение о разветвленности макромолекул ДЛ-П подтверждается значениями инварианта A_0 , которые находятся в интервале $(2,0...2,6) \cdot 10^{-10}$ эрг·К⁻¹·моль^{-1/3} (см. табл. 1). Небольшие значения параметра A_0 (менее $3,2 \cdot 10^{-10}$ эрг·К⁻¹·моль^{-1/3}) обусловлены разветвленностью макромолекул полимеров, что подтверждается и достаточно низкими значениями характеристической вязкости $[\eta]$. Как правило, у линейных полимеров $[\eta]$ существенно выше, у сетчатых значительно ниже, чем в данной работе.

Еще один признак разветвленности макромолекул исследуемого полимера – непостоянство значений коэффициента k_x (табл. 1). Известно [6], что для полимеров линейного строения в Θ -растворителях $k_x = 0,5$, в термодинамически хороших растворителях $k_x = 0,2...0,3$. Вместе с тем, результаты исследования синтетических полимеров с разветвленной топологической структурой макроцепей свидетельствуют о сильной вариабельности значений k_x , что и наблюдается в нашем случае.

Таким образом, при изучении поведения макромолекул диоксанлигнина, выделенного из ксилемы пихты *Abies sibirica*, в разбавленных растворах методами молекулярной гидродинамики подтверждена гипотеза о хаотически разветвленной структуре макромолекул пихтового лигнина.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Исследование физико-химических свойств лигнинов из древесины сосны и акации / А.П. Карманов [и др.] // Лесн. журн. 2003. № 5. С. 93–102. (Изв. высш. учеб. заведений).
2. Карманов А.П., Беляев В.Ю. Исследование топологической структуры лигнина // Лесн. журн. 1999. № 6. С. 85–92. (Изв. высш. учеб. заведений).
3. Карманов А.П. К вопросу о концепции топологической структуры лигнина // Химия и технология растительных веществ: тр. Коми НЦ УрО РАН. 2003. № 171. С. 21–31.
4. Молекулярные характеристики фракций лигнина молотой древесины/Г.М. Павлов, Н.А. Михайлова, В.Ю. Беляев, В.Н. Сюткин // Журн. прикл. химии. 1995. Т. 68, № 2. С. 316–320.
5. Свойства растворов и конформационные характеристики макромолекул диоксанлигнинов / А.П. Карманов [и др.] // Лесн. журн. 2007. № 4. С. 112–120. (Изв. высш. учеб. заведений).
6. Твердохлебова И.И. Конформация макромолекул. М.: Химия, 1981. 284 с.
7. Физическая химия лигнина: моногр./ К.Г. Боголицын [и др.]; под ред. К.Г. Боголицына и В.В. Лунина. Архангельск: Изд-во. АГТУ, 2009. 489 с.
8. Pepper J.M., Baylis P.E., Adler E. The isolation and properties of lignin obtained by the acidolysis of spruce and aspen woods in dioxane-water// Canad. J. Chem. 1959. Vol. 37, N 8. P. 1241.

Поступила 02.02.12

*A.P. Karmanov*¹, *L.S. Kocheva*², *V.Yu. Belayev*³, *O.S. Brovko*⁴, *Yu.S. Ovodov*⁵

¹Institute of Biology, Komi Scientific Centre,
Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

²Syktvykar State University

³Institute of Chemistry, Komi Scientific Centre,
Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

⁴Institute of Ecological Problems of the North,
Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

⁵Institute of Physiology, Komi Scientific Centre,
Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

Lignin of *Abies sibirica* Xylem. Study of Macromolecule Structure by Means of Molecular Hydrodynamics

By means of sedimentation velocity, translational diffusion and viscometry, hydrodynamic properties of *Abies sibirica* lignin solutions were examined. Scaling characteristics of Mark-Kuhn-Houwink relationships as well as hydrodynamic invariants were determined. Interrelation between hydrodynamic and conformational properties of lignin samples was considered.

Key words: lignin, hydrodynamic properties, conformation, topological structure, scaling
