



ХИМИЧЕСКАЯ ПЕРЕРАБОТКА ДРЕВЕСИНЫ

УДК 547.992.3:581.412

А.П. Карманов¹, Л.С. Кочева², В.Ю. Беляев¹, О.С. Бровко³, Ю.С. Оводов⁴

¹Институт химии Коми научного центра Уральского отделения РАН

²Сыктывкарский государственный университет

³Институт экологических проблем Севера Уральского отделения РАН

⁴Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения РАН

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, профессор, 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) 432427



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 в 1959 г. Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, академик РАН, член Бюро Отделения биологических наук РАН, директор Института физиологии КНЦ 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@physiol.komisc.ru



ЖИЗНЕННАЯ ФОРМА РАСТЕНИЙ И ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ЛИГНИНОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВТОРИЧНОЙ КСИЛЕМЫ *BETULA NANA* И *BETULA VERRUCOSA**

Методами скоростной седиментации, поступательной диффузии и вискозиметрии проведено исследование лигнина березы карликовой *Betula nana* и березы бородавчатой *Betula verrucosa*. Установлены структурно-топологические характеристики и показана возможность отнесения исследуемых лигнинов к универсальному классу звездообразных полимеров.

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

Введение

Известно, что лигнин – один из основных растительных биополимеров на Земле. В отличие от других полимеров, построенных из совершенно одинаковых мономерных единиц, макромолекулы лигнинов представляют собой набор из десятков различных структур – дилигнолов, причем последовательность их соединения неизвестна [7]. Решить эту задачу чрезвычайно сложно, поскольку по современным представлениям на второй стадии биосинтеза – стадии полимеризации – генетические механизмы не работают, и это приводит к хаотической самосборке структурных элементов макромолекулы [9]. Следует отметить, что этот факт не отменяет действие управляющих биосинтезом факторов и процессов самоорганизации, что приводит к созданию вполне определенной структурной организации лигнинов, зависящей от биологической природы растений [1, 4]. По нашему мнению, все растения, точнее каждое конкретное растение, должно иметь свою собственную неповторимую, как отпечатки пальцев, химическую структуру лигнина. Кроме того, доказано, что структура лигнина может изменяться в результате действия экзогенных факторов, а также в процессе онто- и филогенеза. Эти изменения, очевидно, направлены на наилучшее обеспечение и эффективное выполнение лигнином его функций в растении, в том числе на повышение устойчивости

* 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).

к низким температурам и др. стрессам. В связи с этим определенный интерес представляет исследование структурной организации лигнинов, которые входят в состав различных жизненных форм растений, являющихся представителями одной и той же таксономической группы.

К числу возможных объектов исследования можно отнести лигнин березы бородавчатой (*Betula verrucosa*) и лигнин вторичной ксилемы березы карликовой (*Betula nana*). Последняя относится к виду семейства березовые (*Betulaceae*), который адаптировался к суровым условиям произрастания в районах Крайнего Севера и представляет собой низкорослый кустарник высотой 50 ... 70 см.

Настоящая работа посвящена сравнительному исследованию топологической структуры малоизмененных лигнинов, выделенных из *B. verrucosa* и *B. nana*, традиционными методами молекулярной гидродинамики: скоростной седиментации, поступательной диффузии и капиллярной вискозиметрии.

Экспериментальная часть

Исследования проведены с образцами лигнина, выделенными из стволовой части свежесрубленной *B. verrucosa* (Сыктывдинский район Республики Коми) и вторичной ксилемы (стебли) *B. nana*, заготовленной в тундре на севере Республики Коми. Образцы лигнинов выделены стандартными методами механического размола Бьеркмана и диоксановым методом Пеппера.

Элементный состав лигнина Бьеркмана из древесины *B. verrucosa* (L-Bv): С – 57,6 %; Н – 5,4 %. Количество метоксильных (ОСН₃) групп – 16,2 %. Элементный состав лигнина Пеппера из *B. nana* (L-Bn): С – 56,6 %; Н – 5,6 %.

Фракционирование лигнинов проводили методом дробного осаждения в системе диоксан–бензол. Каждую из фракций, а также нефракционированный образец исследовали с помощью методов молекулярной гидродинамики.

Коэффициенты скоростной седиментации S и поступательной диффузии D определяли на аналитической ультрацентрифуге МОМ-3180. При измерении S концентрация растворов составила $(1,5 \pm 0,5) \cdot 10^{-3}$ г/см³, при измерении D – примерно $3,0 \cdot 10^{-3}$ г/см³. Вязкость растворов измеряли с помощью вискозиметра Оствальда. Характеристическую вязкость $[\eta]$ фракций полимера рассчитывали по уравнению Хаггинса.

Обсуждение результатов

Растворы лигнинов как высокомолекулярных соединений представляют собой лиофильные системы, термодинамически устойчивые и обратимые. С точки зрения термодинамики разбавленный раствор является определенным аналогом идеального газа, что позволяет измерять молекулярные массы полимеров. Относительно большие размеры макромолекул вносят специфику в свойства и поведение этих систем по сравнению с низкомолекулярными

системами и требуют привлечения специальных (в том числе гидродинамических) методов исследования, которые позволяют определять важные характеристики, отражающие строение соединения как полимера.

Характерные особенности лигнинов как полимеров [2]:

компактность макромолекул, обуславливающая их высокую диффузионную подвижность в растворах;

аномально низкая характеристическая вязкость при нормальных условиях и дальнейшее ее уменьшение при нагревании растворов (отрицательный температурный коэффициент $[\eta]$);

вариабельность гидродинамических инвариантов в зависимости от биологического вида растения;

ранжирование фрактальных и других скейлинговых параметров лигнинов по видовому происхождению растений.

Ниже проведен сравнительный анализ макромолекулярных свойств лигнинов L-Vv и L-Vn.

Оценка молекулярной массы и гидродинамических размеров. Для вычислений молекулярной массы (ММ) использовали экспериментальные данные, найденные с помощью ультрацентрифуги непосредственно для каждой из анализируемых фракции лигнинов:

$$M_{SD} = S_o RT / (1 - \bar{v} \rho_o) D_o,$$

где $(1 - \bar{v} \rho_o)$ – фактор плавучести Архимеда системы полимер–растворитель, который определяли пикнометрическим методом, при этом он равен 0,3241 и 0,3250 соответственно для L-Vn–ДМФА и L-Vv–ДМФА.

При определении ММ низкомолекулярных фракций (в отличие от высокомолекулярных) вместо соотношения Сведберга использовали уравнение

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

где A_o – усредненный гидродинамический инвариант, установленный по результатам исследования высокомолекулярных фракций методом седиментационно-диффузионного анализа, $A_o = \eta_o D_o (M_{SD} [\eta])^{1/3} / T$;

$$[D] = \eta_o D_o / T.$$

Как показал анализ литературных данных [2, 5], область скейлинга для диоксанлигнинов – это масштабный диапазон (от ~3 до 20 ... 30) · 10³. Верхняя граница значений ММ, с одной стороны, определяется природой лигнина, его видовой принадлежностью, конкретными условиями биосинтеза в данном конкретном растении, с другой – процессами деструкции полимера в ходе выделения из растительной ткани. В данном случае для лигнина L-Vv выделены фракции с довольно высоким значением ММ, достигающим почти 70 · 10³, тем не менее для всех фракций соблюдается принцип скейлинга, что демонстрируют билогарифмические зависимости транспортных характеристик макромолекул. Низкомолекулярные фракции (ниже (~2 ... 3) · 10³) не используются для конформационного анализа, поскольку при уменьшении ММ до указанных значений происходит выход из области скейлинга. Это связано с конечным значением равновесной гибкости для реальных макромолекул.

Таблица 1

Гидродинамические и фрактальные параметры лигнинов Л-Вн и Л-Вп

№ фракции	$[\eta]$, см ³ /г	$D \cdot 10^7$, см ² /с	$S \cdot 10^{13}$, с	$M_{гс} \cdot 10^{-3}$	Лигнин Л-Вн	$M_{вн} \cdot 10^{-3}$	$A_0 \cdot 10^{10}$, эрг · К ⁻¹ · моль ^{-1/3}	$k_{гс}$	q	d_f
1	25,4	3,9	3,3	64,5	Лигнин Л-Вн	68,9	2,9	0,23	14,3	2,1
2	25,0	4,2	3,11	56,5		56,0	2,6	0,15	14,0	2,3
3	19,0	5,0	2,73	41,6		43,7	2,6	0,86	10,7	2,0
4	11,1	8,5	2,30	20,6		15,2	2,9	0,60	6,2	1,9
5	7,9	11,4	1,38	9,2		8,9	2,7	0,64	4,4	1,9
6	6,1	13,3	1,06	6,1		7,2	2,5	1,01	3,4	1,9
7	3,5	22,2	-	-		2,7	-	2,64	2,0	1,8
8	3,2	23,4	-	-		2,5	-	3,10	1,8	1,8
9	2,2	33,5	-	-		1,2	-	1,36	1,2	1,7
10*	12,5	7,1	-	-		23,2	-	1,02	7,0	1,9
1	9,0	9,7	1,91	15,1	Лигнин Л-Вп	14,2	2,6	0,93	5,1	1,9
2	8,1	10,5	1,70	12,4		12,4	2,7	0,86	4,5	1,8
3	7,4	11,2	1,55	10,6		11,2	2,7	0,79	4,1	1,8
4	6,3	12,8	1,43	8,6		8,8	2,7	1,00	3,5	1,8
5	5,1	15,6	1,27	6,2		6,0	2,7	1,12	2,9	1,8
6	4,3	18,4	-	-		4,4	2,7	1,08	2,4	1,8
7	3,6	21,1	-	-		3,4	-	1,21	2,0	1,7
8	3,1	24,7	-	-		2,5	-	1,45	1,7	1,7
9*	6,0	13,7	-	-		7,6	-	0,82	3,4	1,8

* Нефракционированный образец

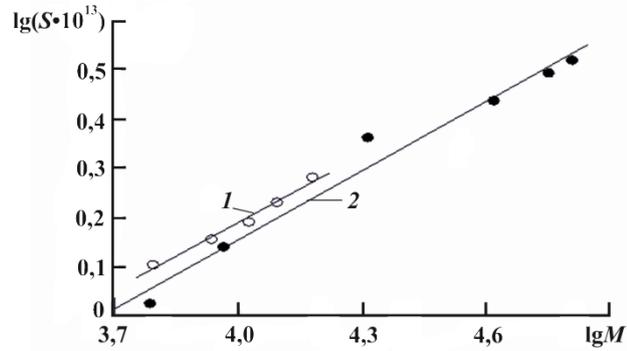
Значения ММ и гидродинамических параметров фракций исследуемых образцов представлены в табл. 1. Молекулярная масса фракций образца L-Bv изменяется в интервале $(1,2 \dots 68,9) \cdot 10^3$, у образца L-Bn – $(2,5 \dots 14,2) \cdot 10^3$. Таким образом, результаты исследования показывают, что лигнин карликового растения является относительно низкомолекулярным. Следует ли рассматривать это факт как следствие влияния климатических условий, среди которых температурный фактор является одним из важнейших, утверждать достаточно сложно, однако, как видно из табл. 1, M_{Dn} исходного нефракционированного образца L-Bn практически в 3 раза ниже, чем для образца L-Bv.

Следует отметить, что исследование закономерностей биосинтеза лигнина *in vitro* выявило наличие температурной зависимости молекулярной массы дегидрополимеров. Было показано [2], что биосинтетический лигнин, синтезированный при температуре 10 °С, имеет в 1,5–2 раза меньшую ММ, чем синтезированный при температуре 20 °С, а в температурной области 2 ... –60 °С различия по ММ еще более существенны.

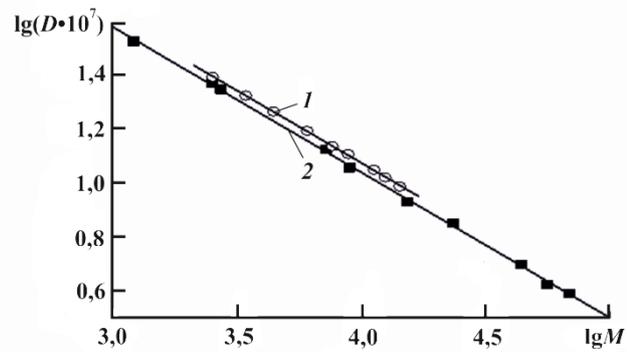
Компактность макромолекул. Важнейшее свойство лигнинных полимеров – компактность макромолекул – состоит в том, что макромолекулы всех без исключения лигнинов имеют сравнительно малые гидродинамические размеры в любых растворителях лигнина. В результате этого полимерные клубки в разбавленных растворах отличаются низким коэффициентом поступательного трения, что приводит к высоким значениям экспериментально определяемых коэффициентов диффузии. Как показывает анализ гидродинамических данных, исследуемые лигнины характеризуются весьма высокой плотностью макромолекулярных клубков, которая может быть количественно оценена с помощью так называемой степени глобулярности. Для исследуемых препаратов степень глобулярности достигает 20 % и более, тогда как для типичных линейных гибкоцепных полимеров обычно не менее 10 %. Кроме того, компактность макромолекул можно оценить по значению коэффициента $q = 0,4[\eta] / \bar{v}$. Приведенные в табл. 1 результаты расчетов показывают, что q для препарата L-Bv не превышает 14,0, для L-Bn – 5,1. Синтетические линейные полимеры характеризуются на порядок более высокими значениями q .

Принцип скейлинга. Выполнимость принципа скейлинга указывает на топологическую однородность высокомолекулярных соединений. Прямолинейность зависимостей в рамках уравнения Марка–Куна–Хаувинка (М–К–Х) для системы лигнин–ДМФА (см. рисунок) свидетельствует о молекулярно-массовом скейлинге гидродинамических параметров для образцов L-Bv и L-Bn, т.е. макромолекулы являются масштабно-инвариантными. Зависимости S , D и $[\eta]$ от M_{DS} удовлетворительно аппроксимируются степенными уравнениями типа М–К–Х:

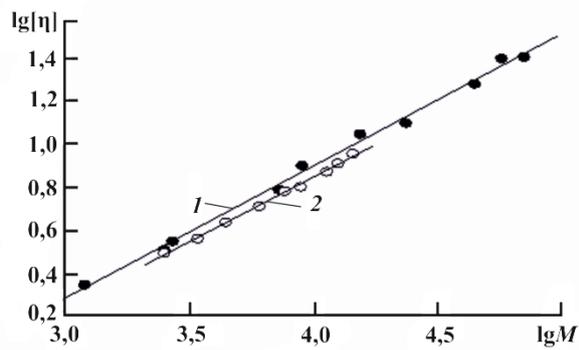
$$[\eta] = K_{\eta} M^a; S = K_S M^c; D = K_D M^b.$$



a



b



в

Зависимость коэффициентов седиментации M_{SD} (a), поступательной диффузии от $M_{D\eta}$ (б) и характеристической вязкости от $M_{D\eta}$ (в) образцов L-Bv(1) и L-Bv(2) в растворителе ДМФА

Значения скейлинговых индексов М–К–Х и соответствующие им коэффициенты K_{η} , K_S , K_D представлены в табл. 2. При анализе скейлинговых индексов выявлено, что для обоих образцов четко выполняется соотношение

$$|b| = (a + 1)/3 = 1 - c,$$

указывающее на корректность проведенных расчетов и определенное соответствие гидродинамических размеров, оцениваемых по эффектам вращательного и поступательного трения. Значения параметров М–К–Х для L-Vv и L-Vn полностью совпадают, что демонстрируют также графики зависимостей типа М–К–Х, и соответствуют линейным полимерам в конформации набухшего непротекаемого клубка. Кроме того, необходимо обратить внимание на последовательность этих индексов по численным значениям $a > |b| > c$, что отражает типичную для линейных полимеров закономерность по факту чувствительности к изменению ММ соответствующих гидродинамических параметров. Однако не следует спешить с выводами о топологической структуре исследуемых полимеров, поскольку характерными для линейной топологии скейлинговыми параметрами обладают и разветвленные структуры с линейными ветвями.

Таблица 2

Макромолекулярные характеристики лигнинов L-Vv и L-Vn

Образец	$(1 - \bar{v}p_0)$	a	b	c	K_{η} , см ³ /г	K_S , с	K_D , см ² /с	d_f
L-Vv	0,3250	0,61±0,03	-0,53±0,03	0,47±0,0	$2,6 \cdot 10^{-2}$	$1,9 \cdot 10^{-15}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$	1,9±0,2
L-Vn	0,3241	0,65±0,02	-0,54±0,03	0,46±0,0	$2,6 \cdot 10^{-2}$	$2,3 \cdot 10^{-15}$	$1,7 \cdot 10^{-4}$	1,8±0,1

Представляет интерес сравнение скейлинговых индексов, в частности параметра a , для лигнинов различного биологического происхождения. Из опубликованных данных [2] следует, что для хвойных лигнинов (G-тип) этот параметр варьирует в пределах от 0,12 до 0,30, для лиственных (GS-тип) – от 0,50 до 0,65, для травянистых (GSH-тип) – 0,70 и более. Для исследуемых в данной работе лигнинов индекс a составляет $0,61 \pm 0,03$ и $0,65 \pm 0,20$ соответственно для препаратов L-Vv и L-Vn, что укладывается в интервал значений, установленный для лиственных лигнинов.

Гидродинамические инварианты. Для характеристики и сравнения различных полимеров используются параметры Флори–Манделькерна или Цветкова–Кленина. Параметр Цветкова–Кленина (A_0), определенный методом седиментационно-диффузионного анализа, считается наиболее надежным и, как показано в работе [8], представляет собой инвариант, отражающий выполнимость самоподобных свойств для фракций с различной молекулярной массой как в хороших, так и в Θ -растворителях. Различия в значениях параметра A_0 могут зависеть от термодинамической гибкости цепи, а также от особенностей топологической структуры (при прочих равных). Для образца L-Vn данный параметр составляет $2,7 \cdot 10^{10}$ эрг·К⁻¹·моль^{-1/3}, для L-Vv находится в интервале $(2,5 \dots 2,9) \cdot 10^{10}$ эрг·К⁻¹·моль^{-1/3}, т.е. по данному показателю

препараты практически не отличаются. Линейные полимеры, в том числе препараты лигнина, выделенные из растений семейства злаковых, характеризуются более высокими средними значениями инварианта Цветкова–Кленина $((3,2 \pm 0,1) \cdot 10^{10} \text{ эрг} \cdot \text{К}^{-1} \cdot \text{моль}^{-1/3})$. Наличие разветвлений в полимерной цепочке приводит к однозначному снижению, поэтому можно утверждать, что исследуемые лигнины относятся к одному из классов разветвленных полимеров.

Коэффициенты Хаггинса. Характерной особенностью полимерных систем лигнин–растворитель следует считать достаточно высокие значения коэффициентов Хаггинса k_x вне зависимости от природы лигнина, метода выделения и выбора растворителя. В низкомолекулярной области значения k_x при переходе от фракции к фракции обычно варьируют в диапазоне 1,00 ... 5,00. Как видно из табл. 1, для системы L-Vn–ДМФА диапазон изменений коэффициентов Хаггинса невелик (0,79 ... 1,45) и явно выходит за рамки погрешности измерений. Для другой системы L-Vv–ДМФА диапазон вариации k_x составляет 0,15 ... 3,10.

В связи с этим принципиально важными представляются результаты определения фрактальной размерности отдельных фракций лигнинов по методу, предложенному Г.В. Козловым и др. [3], который опирается на значения коэффициентов Хаггинса. Значения фрактальной размерности d_f (табл. 1), вычисленные по методу [3], для фракции L-Vn практически одинаковы $(1,8 \pm 0,1)$ и совпадают с вычисленными по скейлинговым индексам M–K–X (табл. 2). Для образца L-Vv d_f также является достаточно постоянной величиной, хотя k_x , на основе которых были рассчитаны фрактальные размерности каждой из фракций, существенно отличаются (например, 0,15 для фракции № 2 и 3,10 для фракции № 8). В данном случае эти результаты указывают на надежность оценок коэффициентов Хаггинса. Как известно, изменчивые и высокие значения коэффициентов Хаггинса свидетельствуют о неприменимости концепции линейных цепей.

Ранее [6] было проведено исследование гидродинамических свойств другого образца лигнина березы *B. verrucosa*. При этом лигнин характеризовался следующими уравнениями M–K–X:

$$[\eta] = 4,0 \cdot 10^{-2} M^{0,57}; \quad S_0 = 0,85 \cdot 10^{-15} M^{0,55}; \quad D_0 = 0,65 \cdot 10^{-4} M^{0,45}.$$

На основании полученных данных был сделан вывод о том, что макромолекулы березовых лигнинов представляют собой тетрафункциональные звезды, гидродинамические и конформационные свойства которых определяются линейной топологией ветвей. Сравнение ранее полученных результатов и экспериментальных данных, приведенных в настоящей работе, указывает на то, что лигнин, выделенный из карликовой березы, практически не отличается (за исключением молекулярной массы) от лигнинов березы бородавчатой, т. е. топологическая структура этого полимера отвечает универсальному классу полимеров звездообразной структуры.

Выводы

1. Проведено сравнительное исследование гидродинамических свойств лигнина березы *B. papyra* и березы *B. verrucosa*. Определены молекулярные массы, характеристические вязкости, коэффициенты диффузии и седиментации, установлены структурно-топологические параметры макромолекул.

2. Установлено, что лигнин березы *B. papyra* отличается от лигнина *B. verrucosa* сравнительно более низкой молекулярной массой, однако значения гидродинамических и скейлинговых характеристик у них практически одинаковые.

3. Обнаружена общность в структурной организации лигнина березы *B. papyra* и березы *B. verrucosa* на топологическом уровне и показана возможность отнесения этих лигнинов к универсальному классу звездообразных полимеров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Исследование физико-химических свойств лигнинов из древесины сосны и акации / А.П. Карманов, Л.С. Кочева, К.Г. Боголицын, Д.В. Кузьмин // Лесн. журн. 2003. № 5. С. 93–102. (Изв. высш. учеб. заведений).
2. Карманов А.П. Самоорганизация и структурная организация лигнина // Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 269 с.
3. Козлов Г.В., Темираев К.Б., Созаев В.А. Оценка фрактальной размерности макромолекулярного клубка в разбавленном растворе по вязкостным характеристикам // Журн. физ. химии. 1999. Т. 73, № 4. С. 766–768.
4. Лигнин ксилемы пихты *Abies sibirica*. Исследование структуры макромолекул методами молекулярной гидродинамики / А.П. Карманов [и др.] // Лесн. журн. 2013. № 1. С. 137–145. (Изв. высш. учеб. заведений).
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. Топологическая структура природного лигнина березы / А.П. Карманов [и др.] // Высокомолекул. соед. 2002. Т. 44 (А), № 2. С. 233–238.
7. Фенгел Д., Вегенер Г. Древесина (химия, ультраструктура, реакции) / Пер. с англ.; под ред. А.А. Леоновича. М., 1988. 512 с.
8. Цветков В.Н., Лавренко П.Н., Бушин С.В. Гидродинамический инвариант полимерных молекул // Успехи химии. 1982. Т. 51, № 10. С. 1698–1732.
9. Ralph J. Hydroxycinnamates in lignification // Phytochem. Rev. 2010. N 9. P. 65–83.

Поступила 17.05.12

A.P. Karmanov¹, L.S. Kocheva², V.Yu. Belyaev¹, O.S. Brovko³, Yu.S. Ovodov⁴

¹Institute of Chemistry, Komi Science Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

²Syktvykar State University

³Institute of Ecological Problems of the North, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

⁴Institute of Physiology, Komi Science Centre, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences

Life Form of Plants and Structure of Lignins Isolated from the Secondary Xylem of *Betula nana* and *Betula verrucosa*

Velocity sedimentation, translational diffusion and viscosimetry were used to examine hydrodynamic properties of *Betula nana* and *Betula verrucosa* lignins. Structural-topological parameters were determined and the possibility of classifying the lignins under study as star polymers was demonstrated.

Keywords: lignin, hydrodynamic properties, conformation, topological structure, scaling.