

УДК 541.64:547.992.3

А.П. Карманов, Д.В. Матвеев, Л.С. Кочева

Карманов Анатолий Петрович родился в 1948 г., окончил в 1971 г. Куйбышевский политехнический институт, доктор химических наук, заведующий кафедрой общей и прикладной экологии Сыктывкарского лесного института, Института химии Коми НЦ УрО РАН. Имеет более 250 печатных работ в области физико-химии полимеров, химии лигнина, нелинейной динамики, самоорганизации и фракталов.



Матвеев Дмитрий Владимирович родился в 1974 г., кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории физикохимии лигнина Института химии Коми НЦ УрО РАН. Имеет более 30 научных трудов в области нелинейной динамики, фрактального анализа, электронной микроскопии, изучения надмолекулярной структуры.



Кочева Людмила Сергеевна родилась в 1957 г., кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории физикохимии лигнина Института химии Коми НЦ УрО РАН. Имеет более 120 печатных работ в области химии и технологии растительных веществ, структурной организации биополимеров, самоорганизации, электронной микроскопии.

**ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИГНИНА КЛЕТОЧНЫХ
ОБОЛОЧЕК НА РАЗЛИЧНЫХ СТАДИЯХ ДЕ-
ЛИГНИФИКАЦИИ ДРЕВЕСИНЫ С ПРИМЕНЕНИЕМ
МЕТОДОВ СИНЕРГЕТИКИ И НЕЛИНЕЙНОЙ ДИНАМИКИ***

Изучены закономерности изменений лигнина клеточных оболочек древесины сосны на различных стадиях сульфатной делигнификации. Полученные лигнинные скелеты исследованы методом электронной микроскопии. Для количественной характеристики распределения лигнина во вторичной клеточной оболочке использованы методы синергетики и нелинейной динамики.

Ключевые слова: лигнин, надмолекулярная структура, сульфатная варка, электронная микроскопия, клеточные оболочки, лигнинные скелеты, древесина сосны, пока-

* Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 04-03-96029).

затель Херста, фрактальная размерность, скейлинг, нелинейная динамика, синергетика.

В настоящее время в России, как и во многих других странах, сульфатная варка является доминирующим способом получения технической целлюлозы. Обладая рядом неоспоримых достоинств в сравнении с другими варочными процессами, она имеет такой недостаток, как низкая белизна целлюлозы, что требует значительных затрат на ее последующую отбелку. Это связано с особенностями локализации остаточного лигнина на волокнах растительной ткани после варки. Темный цвет обусловлен наличием значительного количества лигнина во внешних слоях клеточной оболочки. Сравнительное исследование надмолекулярной структуры лигнина клеточных оболочек древесины на разных стадиях делигнификации в процессе сульфатной варки позволяет установить закономерности и последовательность его извлечения из различных морфологических элементов растительной ткани.

Цель данного исследования – изучить изменения и дать количественную характеристику клеточных оболочек трахеид древесины сосны на различных стадиях сульфатной делигнификации.

Сульфатную варку образцов древесины (брусочки сечением 1x1 мм и длиной 10 мм) осуществляли в изотермических условиях при температуре $T = 160\text{ }^{\circ}\text{C}$ и высоком значении гидромодуля (1:100). Состав сульфатного белого щелока: гидроксид натрия – 0,82 М, сульфид натрия – 0,18 М. Продолжительность процесса делигнификации $\tau = 10, 20, 30, 45, 60$ и 75 мин, степень делигнификации α изменялась от 13 до 60 %.

На рис. 1 приведена кинетическая кривая делигнификации древесины. Полулогарифмическая анаморфоза кинетической кривой представляет собой прямую. Это означает, что скорость растворения лигнина в каждый момент времени пропорциональна его концентрации. Аналогичный результат получен Вильдером и Далески [5], которые установили, что изотермическая щелочная варка древесины при $160\text{ }^{\circ}\text{C}$ вплоть до глубоких степеней делигнификации протекает в соответствии с уравнением первого порядка. Приведенные данные показывают, что процесс делигнификации древесины в изотермических условиях при указанной температуре и неизменной концентрации щелочного реагента не осложнен заметными побочными процессами, в том числе процессами, которые квалифицируются как явления самоорганизации.

Из образцов древесины после варки готовили лигнинные скелеты путем обработки водным раствором периодата аммония (0,08 М, рН 7,0) при комнатной температуре в течение 7 сут, которые после обезвоживания пропитывали смесью метил- и бутилметакрилатов. Полимеризацию проводили в присутствии перекиси бензоила при $T = 20\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 24 ч. Для приготовления поперечных ультратонких срезов лигнинных скелетов использовали ультрамикротом УМТП-1. Оттенение – платино-палладиевый сплав.

Съемки проводили с помощью электронного микроскопа УЭМК-100к при рабочем напряжении 80 кВ. Степень увеличения – $10000\times$. Фотоизображения

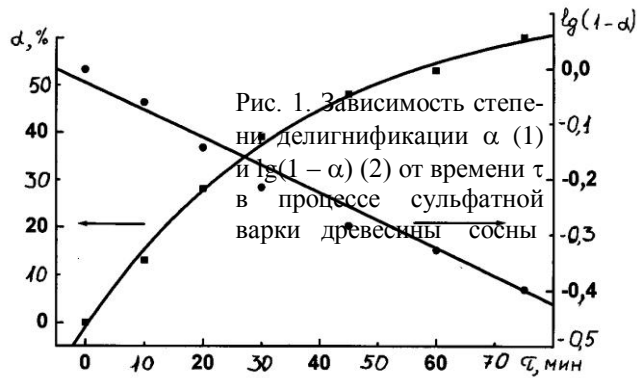


Рис. 1. Зависимость степени делигнификации α (1) и $\lg(1-\alpha)$ (2) от времени τ в процессе сульфатной варки древесины сосны

вводили в память компьютера в виде растровых изображений с разрешающей способностью 400 dpi при размере изображения 24×18 см, что соответствует размеру 3400×2756 пикселей. В качестве объекта сравнения готовили лигнинные скелеты из сосновой древесины (образцы Л-1, -2, и -3), степень делигнификации $\alpha = 0$ %.

Традиционный подход к изучению изменений ультраструктуры лигнина клеточных оболочек заключается в визуальном анализе микрофотографий (рис. 2, 3). При продолжительности сульфатной варки 10 мин (Л-4)

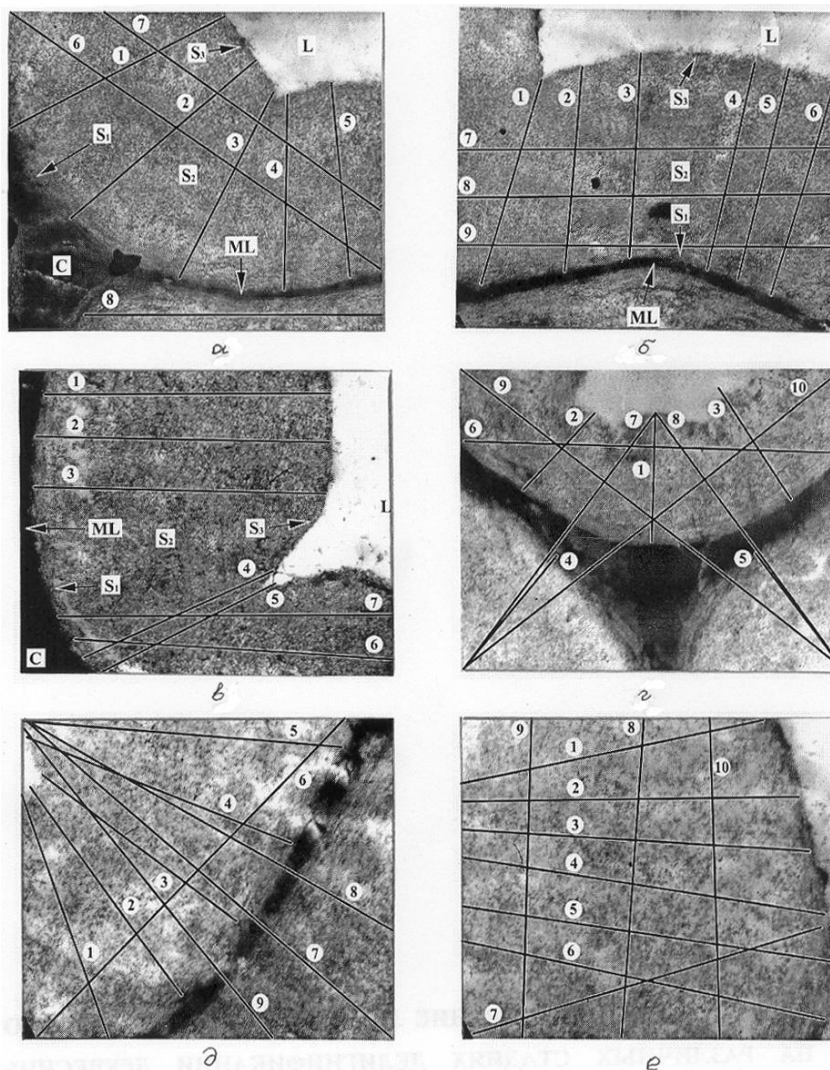


Рис. 2. Микрофотографии поперечного среза лигнинного скелета трахеиды сосновой древесины: *a* – Л-1; *б* – Л-2; *в* – Л-3; *г* – Л-4; *д* – Л-5; *е* – Л-6 (прямыми линиями показаны сечения, по которым производили сканирование; L – люмен, ML – сложная срединная пластинка, С – уголковое утолщение, S₁, S₂, S₃ – слои вторичной клеточной стенки)

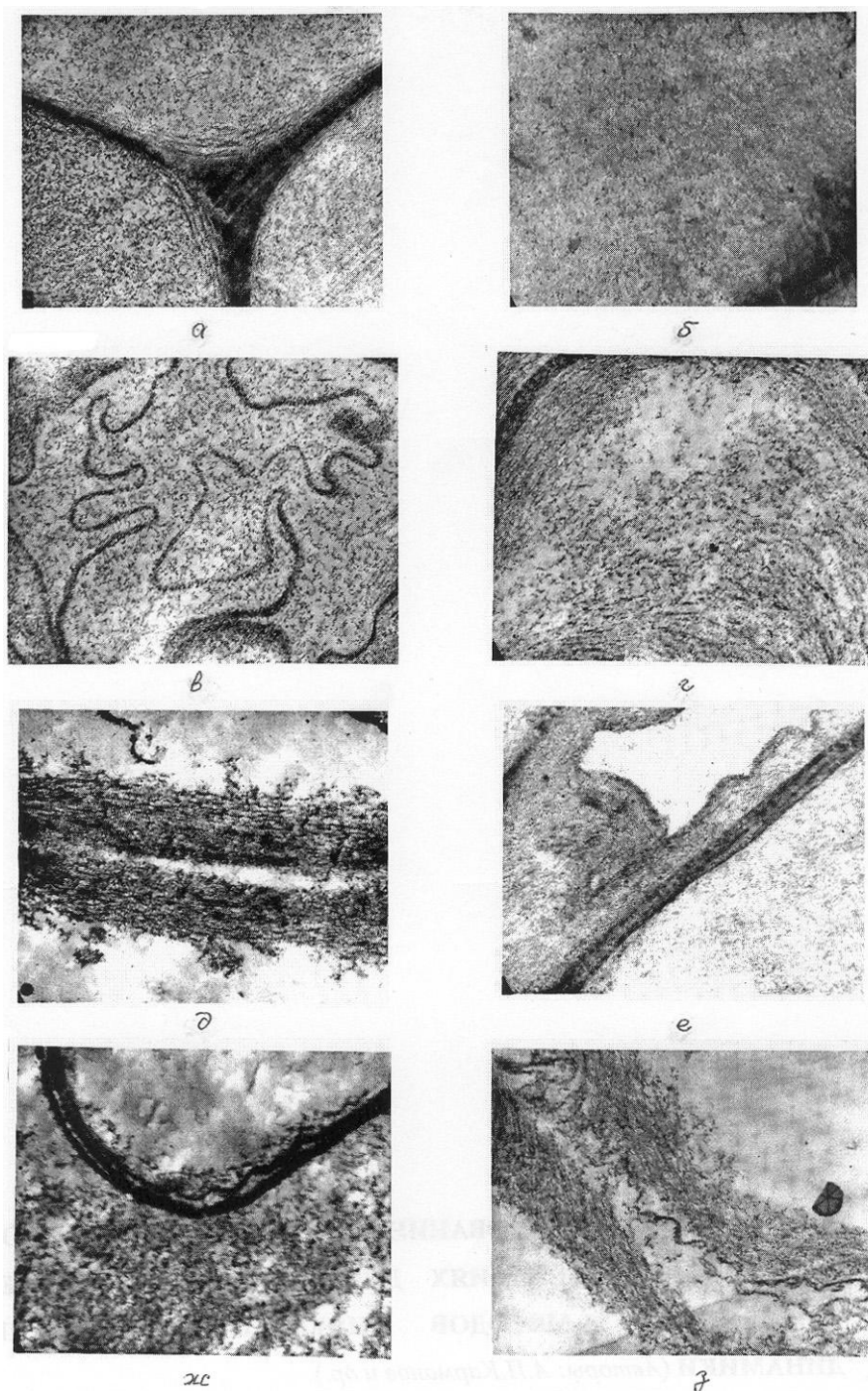


Рис. 3. Микрофотографии поперечного среза лигнинового скелета трахеиды частично делигнифицированной сосновой древесины: а – Л-7; б – Л-8; в – Л-9; г – Л-10; д – Л-11; е – Л-12; ж – Л-13; з – Л-14

из древесины удаляется 13 % лигнина. На этой стадии делигнификации видимые изменения ультраструктуры лигнина клеточных оболочек зафиксировать достаточно сложно. Однако можно отметить некоторое разрыхление вторичной клеточной оболочки, при этом во внешних слоях более четко просматриваются фибриллярные структуры.

После 20 мин варки (Л-5) наблюдается дальнейшее растворение лигнина ($\alpha = 28\%$) и разрыхление наружного и центрального слоев вторичной клеточной стенки. Иногда отмечается повреждение межклеточного слоя. Через 30 мин варки растворяется более трети лигнина (Л-6 ... -8), $\alpha = 39\%$. Серединная пластинка (слой ML) остается достаточно компактной. Происходит дальнейшее удаление лигнина из основного слоя вторичной клеточной стенки S_2 . Внутренний слой S_3 , примыкающий к люмену, сохраняет высокую электронную плотность и устойчивость к варочному раствору. В наружном слое S_1 более четко просматривается его ламеллярная структура.

Варка в течение 45 мин (Л-9, -10) приводит к удалению почти половины лигнина древесины ($\alpha = 48\%$). Микрофотографии поперечных срезов свидетельствуют о значительной делигнификации слоя S_2 . Лигнин вторичной клеточной оболочки находится в набухшем состоянии и образует аморфную слабо структурированную пористую массу, причем в слое S_1 лигнинный скелет образует плотные ламеллярные структуры, в слое S_2 – редкую сетку из агрегированных частиц. По истечении 60 мин ($\alpha = 53\%$) отмечены существенные изменения всех слоев клеточной оболочки (Л-11 ... -13). Разрушение межклеточного слоя ML очень неравномерное. Он или сохраняется почти полностью, или частично растворяется, при этом смежные первичные оболочки разъединяются. Внутренний слой S_3 является более электронно-плотным, чем слой S_2 .

После варки в течение 75 мин (Л-14) удаляется 60 % всего лигнина древесины. Наблюдается интенсивное разрыхление и растворение межклеточного слоя и межклетников и разъединение волокон (смежных трахеид). Первичная оболочка часто имеет форму жгута, оторвавшегося от вторичной оболочки. Все слои вторичной клеточной стенки достаточно рыхлые, но компактность основного слоя S_2 сохраняется.

Проведенный выше анализ надмолекулярной структуры лигнина клеточных оболочек свидетельствует о значительных изменениях в трахеидах древесины в процессе сульфатной варки. Однако недостатки подобного анализа очевидны. Для получения объективной картины необходим просмотр большого количества микрофотографий, при этом информация носит качественный характер.

Для выявления закономерностей изменения надмолекулярной структуры лигнина в процессе щелочной делигнификации вычислено распределение микрочастиц лигнина по размерам. Как видно из (рис. 4), в процессе делигнификации микрочастицы постепенно растворяются и разрушаются, причем на начальных стадиях их количество уменьшается наиболее быстро.

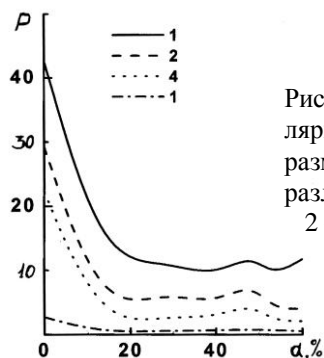


Рис. 4. Зависимость количества надмолекулярных частиц P (шт./мкм²) лигнина разного размера от степени делигнификации α при различной длине волны: 1 – 10...20 нм; 2 – 20...40; 3 – 40...100; 4 – 100...200 нм

Процентное соотношение микрочастиц разного размера (табл. 1) показывает, что происходит относительное увеличение доли микрочастиц малого размера и, соответственно, уменьшение доли более крупных частиц.

Следующий этап работы состоял в установлении закономерностей распределения лигнина и количественных параметров его структурной упорядоченности [1]. Для решения этой задачи микрофотографии лигнина клеточных оболочек вводили в память компьютера в виде массива данных $h(x, y)$, где h – интенсивность исследуемого объекта в точке с координатами x, y . Сечение по некоторой прямой $y = kx + b$ (на рис. 2 сечения обозначены цифрами) дает денситограмму – пространственный ряд (рис. 5).

Процедура анализа денситограмм состояла в следующем. Во-первых, по набору величин h , характеризующих концентрацию лигнина в N эквидистантных точках по пространственной оси x , строили псевдофазовые портреты методом Паккарда (рис. 5, врезки). Во-вторых, вычисляли функции Хевисайда. В-третьих, находили корреляционные размерности псевдофазовых портретов. Реализация данного алгоритма позволяет ответить на вопрос: порядок или бесструктурный хаос?, а также установить параметры

Таблица 1

Закономерности распределения микрочастиц лигнина по размерам в зависимости от степени делигнификации

Образец	Степень делигнификации, %	Доля, %, микрочастиц размером, нм			
		10...20	20...40	40...100	100...200
Л-1, -2, -3	0	46	30	21	3
Л-4	13	70	20	8	2
Л-5	28	53	31	13	3
Л-6, -7, -8	39	55	26	15	4
Л-9, -10	48	48	31	18	3
Л-11, -12, -13	53	57	24	14	5
Л-14	60	64	22	11	3

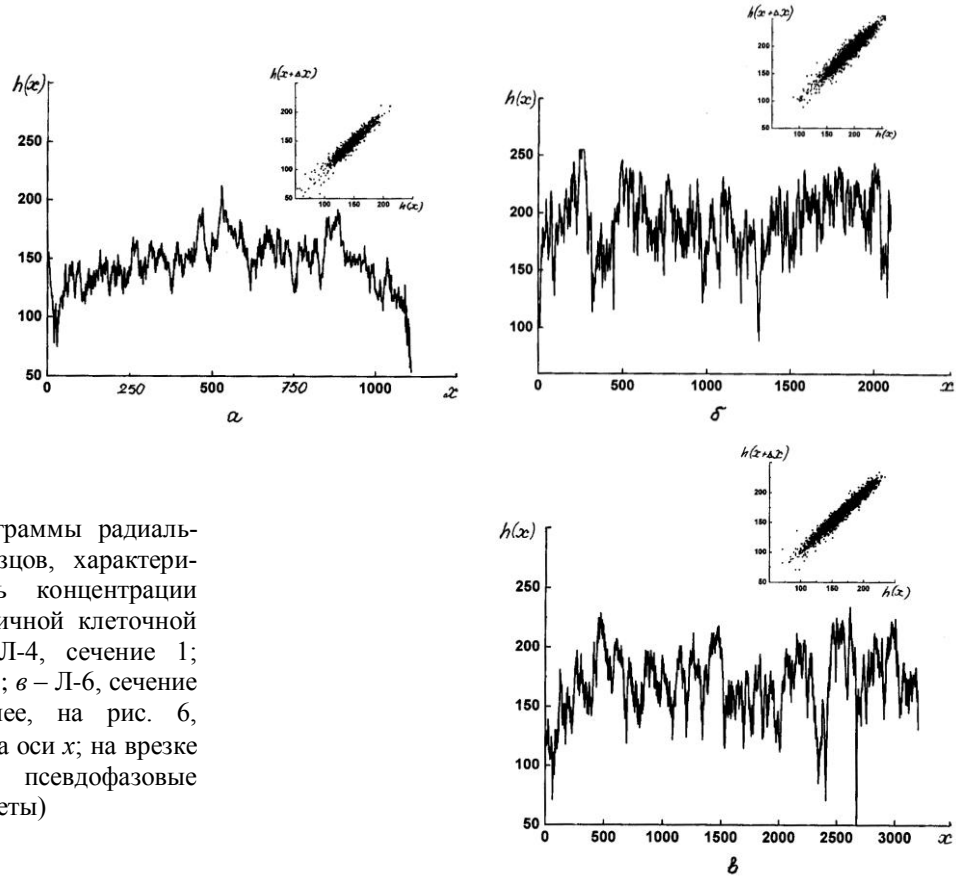


Рис. 5. Денситограммы радиальных серий образцов, характеризующие уровень концентрации лигнина во вторичной клеточной оболочке: *a* – Л-4, сечение 1; *б* – Л-5, сечение 3; *в* – Л-6, сечение 4 (здесь и далее, на рис. 6, 1 мкм ~ 600 ед. на оси *x*; на врезке – двумерные псевдофазовые портреты)

порядка типа фрактальных размерностей, если система оказывается упорядоченной.

Как видно из рис. 5, 6, где представлены денситограммы вторичной клеточной оболочки образцов древесины, подвергнутых сульфатной варке в течение определенного времени, надмолекулярная структура характеризуется внешне хаотическим распределением лигнина как в радиальном, так и в тангенциальном направлениях. Аналогичные картины хаотического распределения лигнина были зафиксированы для структуры его исходных препаратов [2]. Распределение точек на двумерных псевдофазовых портретах также является визуально хаотическим, при этом их плотность убывает к периферии псевдофазового пространства.

Для идентификации закономерностей распределения этих точек в координатах $h(x+\Delta x)$, $h(x)$ и выявления возможного внутреннего порядка системы использован алгоритм Грассбергера–Прокачиа с определением корреляционных функций Хевисайда:

$$C(r) = \frac{1}{N^2} \sum_{i,j=1}^N \Theta(r - |x_i - x_j|),$$

где N – число точек траектории;

Θ – функция Хевисайда,

$$\Theta(r) = \begin{cases} 1, & \text{если } > 0 \\ 0, & \text{если } \leq 0 \end{cases};$$

r – заданное расстояние, на котором ведется подсчет точек;

$|x_i - x_j|$ – расстояние от i -й до j -й точки;

x_i – точка фазовой траектории с координатами
($h(x), h(x + \Delta x), h(x + 2\Delta x), \dots, h(x + (D-1)\Delta x)$);

D – пространство вложения.

В результате вычислений была показана выполнимость уравнения

$$\log C(r) = d_c \log(r),$$

где d_c – корреляционная размерность.

Это означает, что интегральная корреляционная функция анализируемой системы является инвариантной мерой, т. е. распределение множества точек в псевдофазовом пространстве подчиняется принципу скейлинга и фрактальным закономерностям. Таким образом, можно определить фрак-

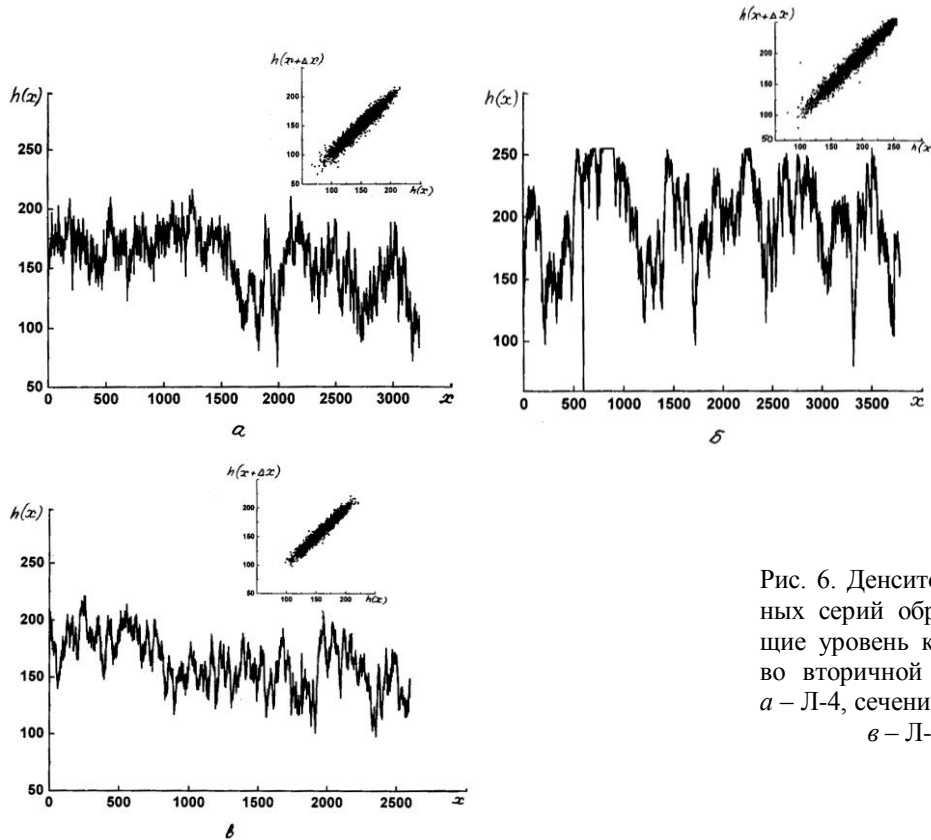


Рис. 6. Денситограммы тангенциальных серий образцов, характеризующие уровень концентрации лигнина во вторичной клеточной оболочке: a – Л-4, сечение 6; b – Л-5, сечение 6; $в$ – Л-6, сечение 8

Таблица 2

Характеристики ультраструктуры лигнина вторичных клеточных оболочек

Образец	H	$d_c(2)$	$d_c(3)$	$d_c(a)$
Исходная древесина				
Л-1	0,83/0,89	1,84/1,84	2,87/2,95	5,14/5,16
Л-2	0,86/0,87	1,87/1,84	2,87/2,97	5,25/5,29
Л-3	0,88/0,87	1,90/1,89	2,80/2,92	4,81/5,06
Среднее значение показателя	0,86/0,88	1,87/1,85	2,85/2,95	5,07/5,17
Частично делигнифицированная древесина				
Л-4	0,90/0,93	1,94/1,80	2,86/2,95	5,07/5,85
Л-5	0,89/0,87	1,85/1,93	2,88/2,35	4,64/3,10
Л-6	0,87/0,90	1,95/1,96	2,96/2,95	5,61/6,21
Среднее значение показателя	0,88/0,90	1,88/1,90	2,82/2,75	4,90/5,05

Примечание. В числителе приведены значения показателей для радиальных сечений, в знаменателе – для тангенциальных сечений.

тальные размерности (в данном случае определяли корреляционную размерность d_c) по наклону прямолинейных участков зависимости $C(r) = f(r)$. Результаты расчетов этих размерностей для двух- и трехмерных псевдофазовых портретов $d_c(2)$ и $d_c(3)$ представлены в табл. 2.

Размерности двумерных псевдофазовых портретов $d_c(2)$, как оказалось, являются величинами дробными (нецелыми) и практически совпадают для всех образцов $\sim (1,90)$, тогда как размерность трехмерных псевдофазовых траекторий $d_c(3)$ изменяется в пределах от 2,86 до 2,35 в зависимости от степени делигнификации древесины при среднем значении 2,82 (радиальное направление) и 2,75 (тангенциальное направление). Для исходных образцов наблюдается меньший разброс значений (табл. 2).

Как известно [3], для низкоразмерных систем корреляционная размерность фазовых траекторий в пространствах вложения более 3–4 практически перестает расти и зависимость размерности от D выходит на плато. С теоретической точки зрения, асимптотическое значение $d_c(a)$ и представляет собой искомую величину истинной размерности исследуемой системы (аттрактора).

Как видно из рис. 7, в отличие от теоретических представлений зависимость d_c от D не выходит на асимптотическое значение, а постепенно возрастает при всех значениях D , хотя при $D > 5$ скорость возрастания значительно меньше, чем при $D < 5$. По-видимому в данном случае имеет место суперпозиция малоразмерного аттрактора и некой

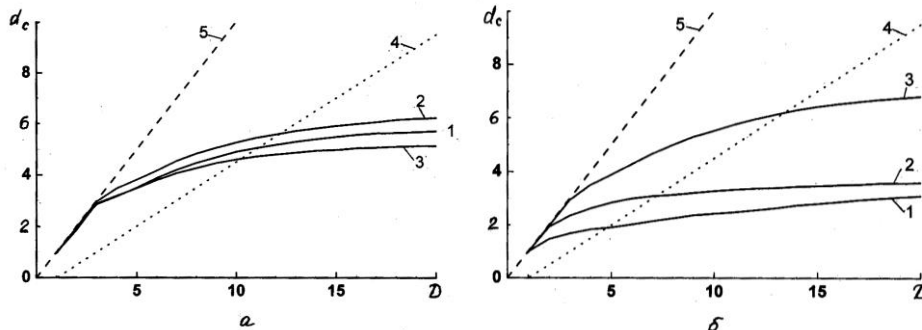


Рис. 7. Зависимость корреляционной размерности d_c от размерности пространства вложения D для радиальных (а) и тангенциальных (б) сечений образцов: 1 – Л-4; 2 – Л-5; 3 – Л-6; 4 – прямая теоремы Такенса; 5 – зависимость для случайного процесса типа «белый шум»

хаотической компоненты. Размерность аттрактора в этом случае можно определить по зависимостям, представленным на рис. 7, применив теорему Такенса. Из полученных результатов, представленных в табл. 2, следует, что величина размерности аттрактора $d_c(a)$ изменяется в сравнительно широких пределах от 3,10 до 6,25 при среднем значении 4,90 (для радиальных серий) и 5,00 (для тангенциальных серий). Следует отметить, что взаимосвязь между $d_c(a)$ и степенью делигнификации достаточно сложная. Для установления природы этой взаимосвязи необходимо проведение более масштабных исследований.

На рис. 8 представлен график, характеризующий взаимосвязь между значениями корреляционной размерности вторичной клеточной оболочки в радиальном $d_{c,r}$ и тангенциальном $d_{c,t}$ направлениях для всех образцов. Как следует из рис. 8, между этими параметрами наблюдается линейная зависимость (наклон равен $1,2 \pm 0,3$). Это означает, что надмолекулярная структура клеточных оболочек в терминах корреляционных размерностей в тангенциальном и радиальном направлениях одинаковая как до, так и после сульфатной варки.

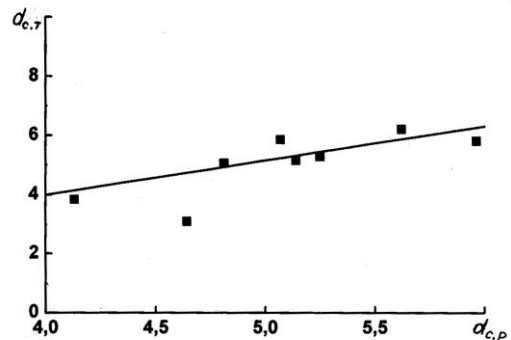
Наличие фрактальной структуры лигнина клеточных оболочек подтверждается также определением показателя Херста (H), который является статистической характеристикой структуры и определяется согласно уравнению

$$R/S = (\tau/2)^H,$$

где R – размах накопленного отклонения от среднего значения;
 S – стандартное отклонение (корень квадратный от дисперсии);
 τ – временной интервал [4].

Значения $0,5 < H < 1,0$ характерны для систем с так называемым детерминированным хаосом, т. е. для систем, в которых имеется фрактальная упорядоченность. Для случайного беспорядочного сигнала-шума величина

Рис. 8. Зависимость корреляционной размерности аттракторов тангенциальных пространственно-временных серий от значения корреляционной размерности аттракторов радиальных серий для образцов Л-1...-8



$H = 0,5[4]$. Значения показателя H для пространственно-временных серий лигнификации клеточных оболочек приведены в табл. 2.

Можно проанализировать изменение параметра Херста при изменении степени делигнификации. Для образца с минимальной степенью делигнификации ($\alpha = 13\%$) показатель $H = 0,90$, с максимальной – $0,88$. При этом среднее значение H по всем образцам составляет $0,88$, что совпадает с величиной H для исходных образцов (табл. 2). Этот результат, а также вышеприведенные данные, свидетельствуют о том, что процесс сульфатной делигнификации демонстрирует простое, с точки зрения динамики, поведение.

Таким образом, изученные закономерности изменений, полученные количественные характеристики клеточных оболочек трахеид древесины сосны на различных стадиях сульфатной делигнификации и сравнительный анализ лигниновых скелетов до и после сульфатной варки дали возможность установить, что на всех стадиях процесса лигнин клеточных оболочек сохраняет структурную упорядоченность фрактального типа. Это подтверждается выполнимостью принципа самоподобия и нецелой корреляционной размерностью псевдофазовых траекторий в пространствах любой размерности. Показано, что в условиях варки не наблюдаются сложные явления, приводящие к возникновению новых типов упорядоченных пространственно-временных структур.

Полученные результаты могут найти применение при совершенствовании варочных процессов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Карманов, А.П. Самоорганизация и структурная организация лигнина [Текст] / А.П. Карманов. – Екатеринбург: УрО РАН, 2004. – 270 с.
2. Карманов, А.П. Характеристика лигнина клеточных оболочек [Текст] / А.П. Карманов, Д.В. Матвеев, Ю.Б. Монаков // Высокомолекул. соединения. – 2000. – Т. 42 (А), № 7. – С. 1213-1220.
3. Николис, Г. Познание сложного [Текст] / Г. Николис, И. Пригожин. – М.: Наука, 1990. – 344 с.
4. Федер, Е. Фракталы [Текст] / Е. Федер. – М.: Мир, 1991. – 151 с.

5. *Wilder, H.* Delignification rate studies [Text] / H. Wilder, E. Daleski. // TAPPI. – 1965. – Vol. 48, N 5. – P. 293–297.

Сыктывкарский лесной институт
Институт химии Коми НЦ УрО РАН

Поступила 05.07.05

A.P. Karmanov, D.V. Matveev, L.S. Kocheva

Investigation of Cell Membranes Lignin at Different Stages of Wood Delignification by Using Synergy and Nonlinear Dynamics Methods

Regularities of changes in pine cell membranes lignin at different stages of sulphate delignification are studied. The produced lignin skeletons are investigated by electron microscopy method. Synergy and non-linear dynamics methods are used for the quantitative characteristics of lignin distribution in the secondary cell membrane.
