

УДК 547.992.3

И.В. Сумерский, С.М. Крутов, А.В. Пранович, М.Я. Зарубин

С.-Петербургская государственная лесотехническая академия

Сумерский Иван Викторович родился в 1984 г., окончил в 2007 г. С.-Петербургскую государственную лесотехническую академию, аспирант кафедры органической химии СПбГЛТА. Имеет 10 печатных работ в области химии лигнина.

E-mail: masterVAN@rambler.ru



Крутов Степан Минаевич окончил в 1966 г. Ленинградскую лесотехническую академию, профессор кафедры органической химии С.-Петербургской государственной лесотехнической академии, почетный работник высшего профессионального образования РФ. Имеет более 120 научных работ по различным направления химии древесины.

E-mail: ftaorgchem@yandex.ru



Пранович Андрей Викторович родился в 1957 г., окончил в 1979 г. Ленинградскую лесотехническую академию, кандидат химических наук, доцент Университета Або Академия и факультета химической технологии и биотехнологии С.-Петербургской государственной лесотехнической академии. Имеет около 100 научных публикаций.

E-mail: apranovi@abo.fi



Зарубин Михаил Яковлевич родился в 1930 г., окончил в 1954 г. Ленинградскую лесотехническую академию, доктор химических наук, профессор С.-Петербургской государственной лесотехнической академии, академик Международной академии наук о древесине, заслуженный деятель науки РФ, председатель Совета экспертов по химии растительных ресурсов при ЮНЕСКО. Имеет более 300 научных трудов в области органической химии и химии древесины.

E-mail: fta-zarubin@mail.ru



ИССЛЕДОВАНИЕ МОДЕЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ПРЕПАРАТОВ ЛИГНИНА МЕТОДОМ DFRC

Определены оптимальные условия применения метода DFRC для исследования препаратов лигнинов.

Ключевые слова: модельные соединения лигнина, лигнин Бьёркмана, β-эфирная связь, бромистый ацетил, метод DFRC.

Одним из направлений химической переработки древесины является ее гидролиз разбавленной серной кислотой в целях получения этанола, кормовых дрожжей, фурфурола и др. [4]. Развитие гидролизной промышленности сдерживается многими факторами, в том числе, образованием крупнотоннажных отходов – технического гидролизного лигнина (ТГЛ), который составляет около трети от массы вещества древесины, оставшейся после гидролиза. Эти отходы трудно разлагаются в природных условиях и загрязняют окружающую среду. В отвалах гидролизных заводов России уже накоплены миллионы тонн ТГЛ, и их количество продолжает расти [5].

В настоящее время ТГЛ применяется незначительно. Для нахождения новых направлений его использования, особенно в качестве сырья для химической переработки, необходимы дополнительные знания о его структуре и реакционной способности.

Одним из перспективных методов исследования лигнинов является метод дериватизации с последующим восстановительным расщеплением. Основой для него послужили работы Джонсона и др. (1961 г.), в дальнейшем он был модифицирован Иамой и Уолисом (1988 г.) [7]. Разработанный ими метод заключался в растворении лигноцеллюлозного материала в растворе ацетилбромиды в ледяной уксусной кислоте и определении количества лигнина по УФ-поглощению раствора при характерной для лигнинов (хвойных пород древесины) длине волны (280 нм).

В своих исследованиях Ф. Лу и Д. Ральфа [8] данный метод использовали уже для качественной характеристики образцов растительного происхождения, предложив после растворения в ацетилбромиде последующее восстановление цинковой пылью. На ряде модельных соединений лигнина они показали, что при этом селективно расщепляются β -эфирные связи [8]. В дальнейшем метод был применен к древесине и выделенным препаратам лигнина. Новому методу расщепления эфирной связи в лигнине было дано название *Derivatization followed by reductive cleavage*, аббревиатура которого DFRC отражает название института, где он был разработан (Dairy Forage Research Center).

Цель нашей работы – изучить методом DFRC модельные соединения лигнина и его препараты.

Нами на основании ранее полученных экспериментальных данных по исследованию лигнинов методом DFRC [8] внесены в него дополнения. Модифицированный нами метод DFRC включает следующие стадии.

Обработка ацетилбромидом. Образец лигнина соответствующей массы помещали в круглодонную колбу и приливали на 1 г лигнина 250 мл заранее приготовленного раствора ацетилбромиды в ледяной уксусной кислоте (AcBr : AcOH – 20 : 80 об. частей). Смесь перемешивали на магнитной мешалке при температуре 50 °С в течение 20 ч. По завершении обработки раствор упаривали на ротационном испарителе при температуре ниже 50 °С.

Восстановительное расщепление цинком. После упаривания остаток растворяли в 250 мл смеси диоксан : уксусная кислота : вода (5 : 4 : 1 об. частей). К хорошо перемешиваемой смеси добавляли цинковую пыль (5 г на 1 г лигнина) и продолжали перемешивание в течение 30 мин. После этого смесь фильтровали на бумажном фильтре, осадок на фильтре промывали примерно 100 мл воды и 100 мл CH_2Cl_2 . Получаемый фильтрат количественно переносили в делительную воронку и пятикратно экстрагировали порциями CH_2Cl_2 объемом 20 мл. Объединенный экстракт упаривали на ротационном испарителе при температуре ниже 50 °С.

Анализ продуктов расщепления. Полученные сухие экстракты ацетилировали [8] и анализировали с помощью высокоэффективной жидкостной (ВЭЖХ) и газовой (ГЖХ) хроматографии, хромато-масс-спектрометрии (ХМС) и др. методами.

Для ВЭЖХ использовали жидкостный хроматограф, состоящий из насоса Shimadzu LC-10ATVP, устройства автоматического ввода проб с термостатом колонок Spark Holland Marathon-XT, низкотемпературного испаряющего детектора светорассеивания SEDERE SEDEX 85 LF и двух последовательно соединенных колонок: Jordi Gel DVB 500A (300,0 мм × 7,8 мм) с предколоной Jordi RP-DVB SM-500 (7,5 мм × 4,6 мм). Элюент – тетрагидрофуран; скорость элюирования 0,8 мл/мин; давление в системе около 22 бар; температура термостата колонок 40 °С. Фильтрация проб: 0,2 мкм PTFE фильтр для шприцев; объем пробы 50 мкл; концентрация пробы 0,5...0,8 мг/мл. Параметры детектора LT-ELSD: ВЭЖХ небулайзер; температура 40 °С; давление воздуха 3,5 бар; коэффициент усиления 3. Время анализа 25 мин.

ГЖХ-анализы проводили на газовом хроматографе Perkin Elmer Autosystem XL с пламенно-ионизационным детектором. Колонки – капиллярные: канал А – J&W HP-1 (25 м × 0,199 мм); толщина пленки жидкой фазы (метилсилоксан) 0,11 мкм; канал Б – J&W HP-5 (25 м × 0,204 мм); толщина пленки жидкой фазы (5 %-й фенилметилсилоксан) 0,11 мкм. Программирование температуры колонки: подъем от 120 (1 мин изотермы) до 320 °С со скоростью 6 °С/мин, затем 15 мин изотермы при 320 °С. Программирование температуры испарителя: подъем от 160 до 260 °С со скоростью 8 °С/мин, затем 15 мин изотермы при 260 °С. Газ-носитель – водород; скорость газа-носителя в колонке 0,8 мл/мин. Соотношение анализируемой и сброшенной пробы в испарителе 1 : 24. Температура детектора 320 °С. Объем пробы 1 мкл.

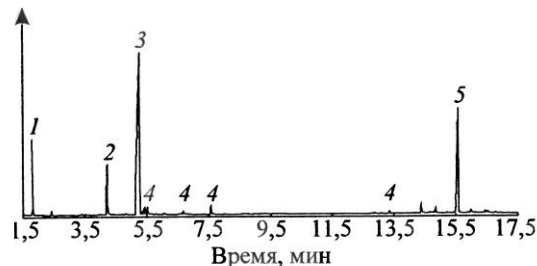
Для проведения ХМС-анализов использовали хромато-масс-спектрометр 6850А модели G2629А с селективным масс-спектрометрическим детектором HP5973 Network модели G2577А (Agilent Technologies, Inc.). Энергия ионизации 70 эВ. Температура сепаратора 280 °С; температура ионного источника 230 °С. Колонка – капиллярная HP-5MS (30 м × 0,25 мм); толщина пленки стационарной жидкой фазы (5 %-й фенилметилсилоксан) 0,25 мкм. Программирование температуры колонки: подъем от 60 до 280 °С со скоростью 5 °С/мин, затем 10 мин изотермы при 280 °С. Температура испарителя 280 °С. Скорость газа носителя (гелий) 1 мл/мин.

Метод DFRC был проверен на модельных соединениях лигнина: А – 1-(3,4-диметоксифенил)-2-(2-метоксифенокси)-пропанол-1; Б – 1-(3,4-димертоксифенил)-2-(2-метоксифенокси)-пропанол-1; В – 1-(3-метокси-4-гидрокси-фенил)-2-(2-метоксифенокси)-пропанол-1. Чистота и строение всех исследованных модельных соединений лигнина подтверждены методами ТСХ, ХМС и ЯМР.

Продукты деструкции модельных соединений лигнина были проанализированы методом ХМС.

На рис. 1 представлена газожидкостная хроматограмма продуктов, полученных после обработки модельного соединения А.

Рис. 1. ГЖ-хроматограмма продуктов, полученных после DFRC обработки модельного соединения А: 1 – метоксифенилацетат; 2 – 1-(3,4-диметоксифенил)-пропанон-2; 3 – 1-(3,4-диметоксифенил)-пропанон-1; 4 – неидентифицированные продукты; 5 – внутренний стандарт



В ходе эксперимента установлено, что исходное соединение А полностью прореагировало. Среди продуктов реакции выявлено три преобладающих компонента: 2-метоксифенилацетат (пик 1); 1-(3,4-диметоксифенил)-пропанон-2 (пик 2) и 1-(3,4-диметоксифенил)-пропанон-1 (пик 3). Выходы соответственно составили 8,5; 6,5 и 57,4 %. Масс-спектры пиков 2 и 3 и предполагаемая фрагментация молекулярных ионов основных продуктов реакции представлены на рис. 2.

Результаты деструкции модельных соединений лигнина, содержащих β -O-4 эфирную связь, подтвердили возможность расщепления этого типа эфирных связей методом DFRC [3].

Для проверки применимости данного метода к исследованию препаратов нативного и промышленного лигнинов были изучены препараты лигнина Бьёркмана (I), лигнина Бьёркмана, обработанного в условиях, приближенных к условиям промышленного гидролиза древесины (II), и лигнина Вильштеттера (III и IV).

Образец I был выделен из древесины ели по стандартной методике [6]. Основные характеристики выделенного нами лигнина Бьёркмана I, в том числе и спектр ЯМР ^{13}C , совпадают с литературными данными [6].

Образец II был получен из лигнина Бьёркмана в условиях, приближенных к условиям промышленного гидролиза древесины. Кислотный гидролиз лигнина Бьёркмана II проводили в стальных автоклавах вместимостью около 3 мл при температуре 175 °С.

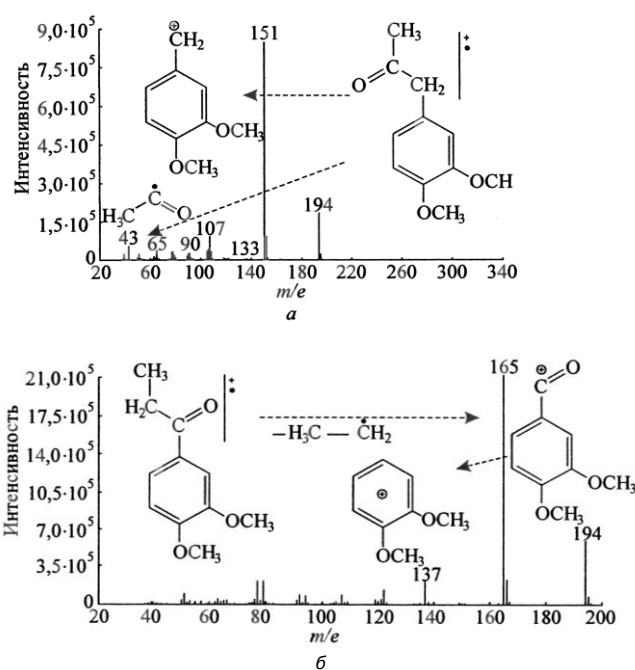


Рис. 2. Масс-спектры пиков 2 (а) и 3 (б) с рис. 1

Гидромодуль варки 1 : 20, продолжительность обработки 2 ч. Затем автоклав охлаждали на водяной бане со льдом и его содержимое количественно переносили на мелкопористый стеклянный фильтр Шота (размер пор 16 мк). Осадок на фильтре, который является препаратом гидролизного лигнина, промывали небольшим количеством воды и CH_2Cl_2 , сушили при комнатной температуре в эксикаторе под вакуумом и измельчали в фарфоровой ступке. Измельченный препарат II имел темно-коричневую окраску, схожую с окраской технических гидролизных лигнинов. Выход гидролизного лигнина в двух параллельных опытах составил 79,6 % от массы исходного лигнина Бьёркмана.

Лигнин Вильштеттера был получен из ТГЛ Тавдинского завода по стандартной методике при действии сверхконцентрированной соляной кислоты (плотность 1,22 г/см³) и пониженных температурах (1...5 °С) [2]. Он характеризовался практически полным отсутствием углеводов. Полученный лигнин Вильштеттера по методу DFRC обрабатывали 20 и 8 %-ми растворами ацетилбромид (AcBr) в ледяной уксусной кислоте с получением соответственно образцов III и IV. Характеристика образовавшихся продуктов деструкции приведена в таблице.

В результате обработки лигнина Бьёркмана по методу DFRC суммарный выход продуктов расщепления составил более 100 % от массы исходного лигнина (см. таблицу).

Значительный прирост массы продуктов расщепления по сравнению с массой исходного лигнина указывает на то, что обработка бромистым ацетилом приводит к ацелированию как свободных гидроксильных групп, так и гидроксильных групп, образующихся в результате расщепления α - и β -эфирных связей лигнина Бьёркмана.

Повторно ацелированные по стандартной методике [8] продукты расщепления лигнина Бьёркмана были исследованы методом ХМС. Найдено, что среди них преобладают 4-метокси-бензальдегид и кониферилловый спирт.

Молекулярно-массовые характеристики продуктов расщепления лигнина Бьёркмана (I, II) были получены методом эксклюзионной ВЭЖХ (рис. 3). Из представленной хроматограммы видно, что лигнин Бьёркмана I расщепляется на широкий спектр продуктов от мономерных до олигомерных соединений с молекулярной массой (ММ) от 240 до 900. Можно предположить, что лигнин Бьёркмана I состоит из структурных фрагментов с ММ от 240 до 900, соединенных между собой простыми α - и β -арилэфирными связями. В свою очередь, фенилпропановые звенья в этих структурах могут быть связаны углерод-углеродными связями, например β -5 или β -1.

Образец	Масса, мг, образца, взятого на обработку	Осадок		CH_2Cl_2 -фракция	
		мг	%*	мг	%*
I	96,8	4,3	4,4	136,3	140,8
II	95,6	78,4	82,0	54,5	57,0
III	23,5	14,5	60,8
IV	106,3	44,7	42,1

*Относительно массы образца, взятого на обработку.

Чтобы исключить влияние сопутствующих веществ (нативные и окисленные жирные и смоляные кислоты, стерины, терпены, часть трудногидролизуемых полисахаридов, редуцирующие вещества (моносахариды, фурфурол и др.), остатки серной кислоты [4]), всегда присутствующих в технических лигнинах, метод DFRC был предварительно применен к полученному в лабораторных условиях образцу лигнина Бьёркмана II.

Известно, что природный лигнин представляет из себя пространственный полимер сетчатого строения [1]. В этом полимере фенилпропановые звенья связаны между собой углерод-углеродными и простыми эфирными связями. В процессе гидролиза преимущественно расщепляются α -эфирные связи. При этом в получаемом при кислотном гидролизе лигнине сохраняются β -O-4 связи. Высокий выход продуктов расщепления при обработке лигнина II, вероятно, можно объяснить значительным количеством β -O-4 связей, расщепляемых по методу DFRC (см. таблицу).

Суммарный выход нерастворимого остатка и растворимых в CH_2Cl_2 продуктов расщепления препарата лигнина II значительно превышает 100 % (см. таблицу). Можно предположить, что при обработке по методу DFRC протекает ацетилирование как исходного лигнина, так и продуктов его расщепления.

Молекулярно-массовые характеристики продуктов расщепления препарата лигнина II были исследованы методом эксклюзионной ВЭЖХ (рис. 3). Из представленной хроматограммы видно, что образец II расщепляется на олигомерные соединения, молекулярная масса которых находится в пределах от 350 до 800.

Таким образом, структура лигнина в условиях промышленного гидролиза древесины сильно изменяется, в том числе и за счет возможного образования новых углерод-углеродных связей. Однако, основываясь на полученных данных, можно предположить, что в структуре препарата лигнина II остается небольшое количество соединенных с другими субструктурами лигнина простыми эфирными (главным образом β -эфирными) связями структурных фрагментов, молекулярные массы которых находятся в пределах от 350 до 800.

Для проверки применимости метода DFRC к исследованию технических гидролизных лигнинов предварительно было проведено исследование лигнина Вильштеттера. Следует отметить, что в отличие от технических

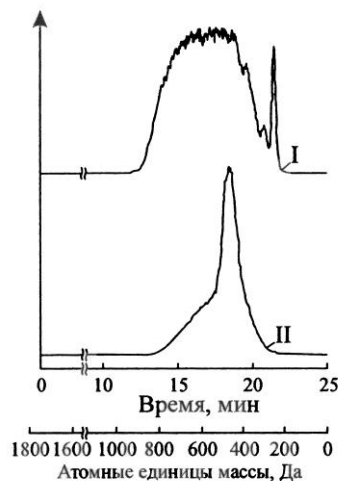


Рис. 3. Эксклюзионные хроматограммы лигнина Бьёркмана, (I) и лигнина Бьёркмана, обработанного в условиях, приближенных к условиям промышленного гидролиза древесины (II)

лигнинов в лигнине Вильштеттера практически отсутствуют экстрактивные вещества (смоляные и жирные кислоты) и остаточные полисахариды.

Условия проведения обработок были взяты из работы [8] (длительность 3 ч, температура бани 50 °С). При концентрации АсВг в ледяной уксусной кислоте 20 и 8 % были получены соответственно образцы III и IV, выход продуктов расщепления составил соответственно 60 и 40 %.

Молекулярно-массовые характеристики продуктов расщепления лигнина Вильштеттера были исследованы методом эксклюзионной ВЭЖХ. Как видно из рис. 4, в обоих случаях происходит образование олигомерных соединений, молекулярные массы которых находятся в пределах 250...650 и 250...550 соответственно для 20 и 8 %-х растворов АсВг.

Выводы

1. Показана принципиальная возможность расщепления модельных соединений лигнина и препаратов лигнина методом DFRC.
2. На примере лигнинов Бьёркмана I и II показано, что в данных условиях структура лигнина изменяется, в том числе и за счет возможного образования новых углерод-углеродных связей.
3. Установлено, что в структуре препарата лигнина II остается небольшое количество структурных фрагментов с молекулярной массой от 350 до 800, соединенных с другими субструктурами лигнина простыми эфирными связями, главным образом β -эфирными.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Оболенская, А.В.* Практические работы по химии древесины и целлюлозы [Текст] / А.В. Оболенская, В.П. Щеголев, Г.Л. Аким. – М.: Лесн. пром-ть, 1965. – С. 121.
2. *Сарканен, КВ.* Лигнины (структура, свойства, реакции) [Текст]/К.В. Сарканен, К.Х. Людвиг. – М.: Лесн. пром-сть, 1975. – 632 с.
3. *Сумерский, И.В.* Расщепление β -эфирных связей лигнина бромистым ацетилом [Текст] / И.В. Сумерский, СМ. Крутов, М.Я. Зарубин // Известия СПбГЛТА. – 2008. – Вып. 186. – С. 206–217.
4. *Холькин, Ю.И.* Технология гидролизных производств [Текст]/Ю.И. Холькин. – М.: Лесн. пром-сть, 1989. – 351 с.

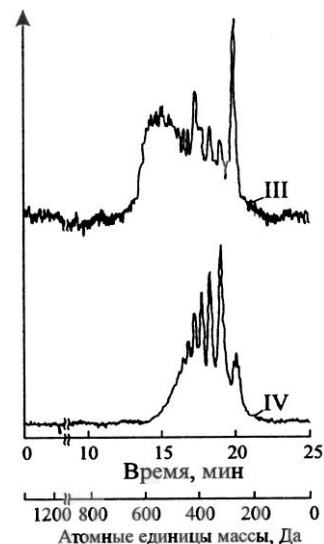


Рис. 4. ВЭЖХ-хроматограммы продуктов расщепления лигнина Вильштеттера, полученных по методу DFRC при использовании 20 (III) и 8 %-х (IV) растворов АсВг

5. Чудаков, М.И. Промышленное использование лигнина [Текст] / М.И. Чудаков. – М: Лесн. пром-ть, 1983. – 200 с.

6. Capanema, A.E. Comprehensive Approach for Quantitative Lignin Characterization by NMR Spectroscopy [Text] / A.E. Capanema, M.Y. Balakshin, J.F. Kadla // J. Agric. Food Chem. – 2004. – N 52. – P. 1850–1860.

7. Lin, S.Y. Methods in lignin chemistry [Text] / S.Y. Lin, C.W. Dence. – Berlin: Springer-Verlag, 1992. – С. 42–49.

8. Lu, F. Derivatization Followed by Reductive Cleavage (DFRC Method), a New Method for Lignin Analysis: Protocol for Analysis of DFRC Monomers [Text] / F. Lu, J. Ralph // J. Agric. Food Chem. – 1997. – N 45. – P. 2590–2592.

Поступила 24.08.09

I.V. Summersky, S.M. Krutov, A.V. Pranovich, M.Ya. Zarubin
Saint-Petersburg State Forest Technical Academy

Investigation of Model Compounds and Lignin Preparations by DFRC method

Optimal conditions for using DRFC method are determined for investigation of lignin preparations.

Keywords: model compounds of lignin, Bjorkman lignin, β -ether bond, bromide acetyl, DRFC method.
