

УДК 634.0.813:547.992.3

ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИГНИНА МХА *POLYTRICHUM COMMUNE*

© А.П. Карманов^{1*}, Л.С. Кочева^{2,3}, Ю.А. Карманова³

¹Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
ул. Коммунистическая, 28, Сыктывкар, 167982 (Россия),
e-mail: ark0948@yandex.ru

²Институт геологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
ул. Первомайская, 54, Сыктывкар, 167982 (Россия)

³Сыктывкарский государственный университет, Октябрьский проспект, 55,
Сыктывкар, 167001 (Россия)

Проведены исследования диоксанлигнина, выделенного из растения вида мох политрихум *Polytrichum commune*. С помощью классических методов полимерной физикохимии установлены конформационные и топологические характеристики макромолекул в системе лигнин – диметилформамид. Определены значения молекулярных масс, коэффициенты набухания и фрактальные размерности лигнина. Полученные данные свидетельствуют о том, что лигнин мха *Polytrichum commune* относится к универсальному классу хаотически разветвленных полимеров, по многим характеристикам близким к лигнинам хвойных древесных растений.

Ключевые слова: лигнин, конформация, фрактальная размерность, топологическая структура.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований УрО РАН (код проекта 12-М-45-2012).

Введение

Лигнины как полимерные соединения обнаружены практически во всех таксономических группах высших растений, а также плаунах, красных водорослях и папоротниках. Наличие лигнина в бриофитах многими исследователями отрицается, хотя еще в середине XX в. С.М. Манской и Л.А. Кодиной [1] было показано, что мох политрихум (или кукушкин лен) содержит значительные количества (более 10%) лигниновых соединений, которые при нитробензольном окислении дают ванилин и п-оксибензальдегид. Другой известный и широко распространенный вид моховидных растений – мох сфагнум *Sphagnum* лигнина практически не содержит. Дальнейшие исследования подтвердили факт наличия лигнинов в некоторых видах бриофитов [2], однако структура лигнинов моховидных остается малоизученной. Проблема структурной организации лигнинов бриофитов вызывает большой научный интерес в связи с возможностью получения новой информации о закономерностях эволюционного развития видов в царстве растений, в котором отдел моховидных считается конечным результатом эволюции псилофитов – группы древних вымерших наземных растений.

В данной работе представлены результаты исследования диоксанлигнина, выделенного из политри-

Карманов Анатолий Петрович – доктор химических наук, профессор, ведущий научный сотрудник, e-mail: karmanov@ib.komisc.ru

Кочева Людмила Сергеевна – руководитель лаборатории химии минерального сырья, профессора кафедры химии, e-mail: karko07@mail.ru

Карманова Юлия Анатольевна – аспирант, e-mail: karmanova2002@rambler.ru

хума обыкновенного *Polytrichum commune* – одного из наиболее распространенных многолетних листовых мхов семейства политриховые. Основная задача состояла в изучении макромолекулярных свойств лигнина методами молекулярной гидродинамики с целью характеристики топологической структуры его макромолекул.

* Автор, с которым следует вести переписку.

Экспериментальная часть

Исходный растительный материал – мох политрихум *Polytrichum commune* заготовлен в экологически чистом лесном массиве Сыктывдинского района (Республика Коми). Компонентный состав растительной ткани, %: целлюлоза Кюршнера – 27; негидролизуемый остаток (лигнин Комарова) – 32,7; легкогидролизуемые полисахариды – 27,8.

Препарат лигнина выделяли по общепринятой методике Пеппера путем обработки в течение 2 ч водным диоксаном в присутствии HCl (0,7%) при температуре кипения. После упаривания раствора при температуре 40 °С лигнин высаживали в 1% раствор сульфата натрия. Образец лигнина мха политрихум (Л-МП) фракционировали методом дробного осаждения в системе диоксан – бензол. Конформационные свойства полимерной системы лигнин – растворитель (диметилформамид) исследовали методами скоростной седиментации, поступательной диффузии и вискозиметрии разбавленных растворов в изотермических условиях (25 °С). Гидродинамические исследования фракций лигнинов проводили на приборах и установках, использованных ранее [3].

Спектральные исследования образца (порошок) проводили методом ИК-Фурье-спектроскопии диффузного отражения (спектрометр IR Prestige-21 Shimadzu, Япония, 2007 г.). Использовали приставку диффузного отражения DRS-8000, источник излучения He-Ne лазер, детектор DLATGS. Соотношение сигнал/шум > 40000:1. Разрешение 0,5 см⁻¹.

Обсуждение результатов

Как видно из рисунка 1, ИК-спектр исследуемого образца представляют собой набор полос поглощения различной интенсивности, отражающий химическую структуру лигнина. Следует отметить, что спектр имеет вид, характерный для древесных лигнинов, основными полосами поглощения которых являются полосы при ~ 1715, 1500, 1600, 1430, 1330, 1270, 1070, 870, 820 см⁻¹. Полосы поглощения в области 900–750 см⁻¹ связаны, как известно, с внеплоскостными колебаниями C–H связей. Полосы поглощения при 821 и 872 см⁻¹ могут быть отнесены к деформационным колебаниям соответственно одной C–H и двух C–H групп в замещенных ароматических единицах. Очевидно, что присутствие этих полос поглощения в ИК-спектре определяется в первую очередь наличием гваяцильных структурных единиц. Интенсивная полоса при 1616 см⁻¹ обусловлена C=C колебаниями в ароматических структурах. Кроме того, в препарате лигнина Л-МП имеется характерная для лигнинов любого происхождения и стабильная по положению полоса ~ 1716 см⁻¹, отражающая наличие несопряженных β-кето-структур. Широкая интенсивная полоса поглощения в области 3300–3400 см⁻¹ обусловлена валентными колебаниями спиртовых и фенольных гидроксильных групп, включенных в водородную связь. Характерной особенностью спектра исследуемого лигнина является отсутствие каких-либо явных признаков синригельных структур. В целом ИК-спектр препарата Л-МП напоминает спектры лигнинов гваяцильного типа (рис. 1б), которые по классификации Кавамура – Хигуши [4] относятся к лигнинам N-типа. Вместе с тем следует отметить ряд существенных отличий, в частности несовпадение положения полос в области 1500–1400 см⁻¹ и аномально высокую интенсивность пика при 1600 см⁻¹. Сравнительный анализ ИК-спектров исследуемого препарата и лигнинов, выделенных из растений различных таксономических групп, показывает, что, по-видимому, лигнин мха политрихум следует отнести к одному из подтипов N-стандартного типа. Это предположение нуждается, безусловно, в проведении дополнительных исследований с помощью методов химического анализа.

В таблице 1 представлены результаты исследования гидродинамических свойств препарата Л-МП. При обсуждении гидродинамических свойств и топологической структуры Л-МП будем обращаться также к результатам ранее проведенных исследований лигнинов G- и GSH типов, в частности лигнина пихты *Abies* [5] и ржи *Secale sp.* [6]. В первую очередь можно отметить сравнительно низкие значения характеристической вязкости [η]. Приблизительно такой же характеристической вязкостью обладают синтетические сетчатые и регулярно разветвленные полимеры типа дендримеров. Указанные полимеры характеризуются весьма высокой плотностью макромолекулярного клубка, в несколько раз превышающей аналогичные характеристики для гибкоцепных линейных макромолекул. Это связано с тем, что размеры сетчатой структуры при той же молекулярной массе существенно меньше и, следовательно, величина вращательного трения также меньше. Для сетчатых полимеров часто используется модель Эйнштейна (модель сферического микрогеля). Как показывает анализ, концепция эта для образца Л-МП неприменима. Отличие от модели

сферического микрогеля проявляется, в частности, в том, что $[\eta]_{\text{экср.}}$ существенно превышает величину, рассчитанную по уравнению Эйнштейна $[\eta]^3 = 2,5 \times v$. В табл. 1 представлены значения коэффициентов набухания q , вычисленные для Л-МП по соотношению $q = [\eta]_{\text{экср.}} / [\eta]^3$. Согласно расчетам величина q для фракций исследуемого полимера составляет 2,2–5,0. Таким образом, характеристическая вязкость Л-МП в несколько раз превышает вязкость непроницаемых сферических частиц, и поэтому модель Эйнштейна в данном случае действительно неприменима, а это означает, что лигнин Л-МП не является сетчатым полимером. Лигнин пихты характеризуется аналогичными значениями коэффициентов набухания, и следует отметить, что по результатам работ как отечественных, так и зарубежных исследователей лигнин пихты, также как и древесные лигнины ели, сосны, лиственницы, отнесен к классу хаотически разветвленных полимеров [7–9]. Таким образом, в качестве рабочих гипотез для топологической структуры Л-МП можно выбрать концепцию либо разветвленной, либо линейной макромолекулы.

В рамках классической теории полимеров для установления топологической структуры необходимо проведение конформационного анализа, который базируется на оценке скейлинговых индексов, входящих в соотношения типа Марка – Куна – Хаувинка:

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

Установлено [10], что полимеры с линейной топологией макроцепей (включая звездообразные с линейными лучами) в термодинамически хорошем растворителе принимают конформацию «набухшего непротекаемого клубка», а величина $a = 0,6–0,8$; $b = 0,55–0,7$; $c = 0,3–0,45$. Разветвленные полимеры гребнеобразного и лестничного типов в растворах образуют конформацию «протекаемые клубки» (червеобразная цепь) с высоким значением индекса a , достигающего величины 1,0–1,7. Согласно Зиму – Килбу [11], хаотически (статистически) разветвленные макромолекулы характеризуются величинами скейлинговых параметров $a = 0,25$, $b = 0,42$, $c = 0,58$, что принципиально совпадает со значениями параметров, полученными для лигнина пихты (табл. 2). Сопоставляя результаты оценки скейлинговых индексов для лигнина из стеблей ржи (линейная топология), лигнина пихты и лигнина политрихума, можно прийти к однозначному выводу о том, что исследуемый лигнин относится к классу хаотически разветвленных полимеров.

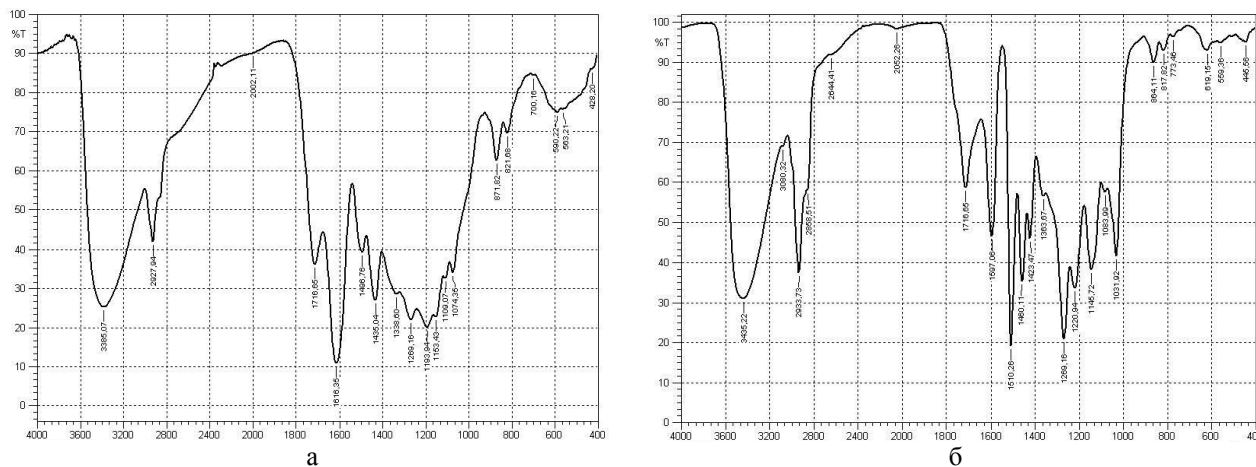


Рис. 1. ИК-спектры: а – лигнина Л-МП, выделенного из мха политрихума *Polytrichum commune*; б – лигнина, выделенного из хвойной древесины (ели).

Таблица 1. Гидродинамические характеристики лигнина мха политрихум Л-МП

№ фракции	$[\eta]$, см ³ /г	$D \times 10^7$, см ² /с	$S \times 10^{13}$, с	$M_{DS} \times 10^{-3}$	$M_{D\eta} \times 10^{-3}$	$A_0 \times 10^{10}$ эрг град ⁻¹ моль ^{-1/3}	k_x	q
1	7,93	7,4	2,35	21,3	17,5	2,3	1,66	4,8
2	8,41	8,15	2,00	16,5	12,4	2,4	0,53	5,0
3	6,19	8,6	1,68	13,1	14,3	2,1	1,44	3,7
4	5,33	8,6	1,34	10,5	16,6	1,9	1,23	3,2
5	5,49	10,6	8,6	...	0,84	3,3
6	5,34	12,0	6,1	...	0,28	3,2
7	3,88	13,5	5,9	...	2,69	2,3
8*	5,58	10,5	8,7	...	2,32	3,3

*Нефракционированный препарат Л-МП

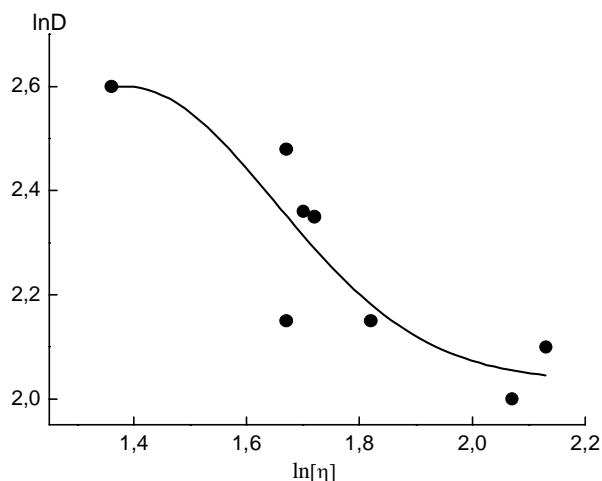


Рис. 2. Зависимость $\ln D$ от $\ln[\eta]$ для образца Л-МП

может означать, что степень разветвленности фракций с различной ММ, скорее всего, неодинакова.

Фрактальный анализ макромолекул используется как альтернативный подход в фундаментальных исследованиях топологической структуры полимеров [13]. Фрактальная размерность макромолекулы определяется как топологией макромолекулы, так и ее конформационным состоянием. Как показали исследования (табл. 2), по величине d_f исследуемые лигнины находятся в разных классах фракталов. Лигнин Л-Рж попадает в универсальный класс фрактальных объектов типа Микина – Кольба. Такого рода полимерные фракталы образуют в растворах достаточно рыхлые макромолекулярные клубки с фрактальной размерностью $5/3 \leq d_f < 2$, образующиеся по механизму диффузионно-лимитированной агрегации кластер-кластер в условиях сильной неравновесности, которая устанавливает превалирующее влияние эффектов динамической самоорганизации. Лигнины гваяцильного типа, в том числе лигнин пихты, относятся к фрактальным объектам типа Виттена – Сандера, которые характеризуются размерностью $2 < d_f < 3$. Судя по значению фрактальной размерности, исследуемый лигнин Л-МП относится именно к данному типу фрактальных кластеров, отличительной особенностью которых является высокая степень разветвленности. Этот вывод подтверждается расчетом фракционной размерности d_s по Вилгису [14].

Особенностью фракционной размерности является независимость ее величины от способа внедрения фрактального объекта в евклидово пространство, или, в терминах полимерной науки, – от конформационного состояния макромолекулы. Другими словами, фракционная размерность, в отличие от фрактальной размерности хаусдорфова типа, определяется только топологической структурой объекта.

Для линейной макромолекулы теоретическое значение фракционной размерности равно 1. Для разветвленных молекул величина d_s больше 1. По имеющимся данным [15] для критических перколяционных кластеров d_s равна 1,33, а для хаотически разветвленных фракталов типа Виттена – Сандера может достигать величины 2,3 и более. Как видно из данных таблицы 2, величина d_s для Л-Рж незначительно отличается от 1, тогда как для Л-МП значение d_s достигает 1,6, что подтверждает вывод о хаотической разветвленности этого лигнина.

Еще один признак разветвленности макромолекул исследуемого полимера – изменчивость величин коэффициента Хаггинса k (табл. 1). Известно [6], что для синтетических полимеров линейного строения величина k изменяется монотонно в зависимости от ММ и в достаточно узком интервале значений от 0,5 в Θ -растворителях до 0,2 в «хороших» растворителях. Синтетические полимеры с разветвленной структурой и природные лигнины древесных хвойных растений характеризуются сильной вариабельностью значений k , что наблюдается и в данном случае для образца лигнина политрихума *Polytrichum commune*. Таким образом, результаты исследования гидродинамических свойств (табл. 1 и табл. 2) свидетельствуют о том, что лигнин Л-МП относится к классу высокомолекулярных соединений, макромолекулы которых имеют разветвленную структуру. Сравнительный анализ макромолекулярных параметров для лигнинов из таксономически различных групп растений указывает на то, что Л-МП по всем основным критериям приближается к лигнинам G-типа.

Для характеристики и сравнения различных лигнинов используется также параметр Цветкова – Кленина A_0 , который представляет собой инвариант [12], отражающий выполнимость самоподобных свойств для фракций с различной молекулярной массой. Как видно из данных таблицы 1, наблюдается тенденция к снижению этого параметра с уменьшением молекулярной массы, что может указывать на некоторое нарушение принципа масштабной инвариантности, демонстрируемое также на рисунке 2. Тем не менее усредненные значения A_0 для хаотически разветвленного полимера (лигнина пихты) и лигнина Л-ПХ совпадают. Криволинейная зависимость $\ln[\eta]$ от $\ln D$ (рис. 2) мо-

Таблица 2. Скейлинговые и конформационные характеристики лигнинов мха политрихум Л-МП, пихты ДЛ-П и ржи Л-Рж

Лигнин	(1- $\nu\rho_0$)	M_w	$A_0 \times 10^{10}$ эрг град ⁻¹ моль ^{-1/3}	a	b	c	d_f	d_s
Л-МП	0,3685	8700	2,2	$0,38 \pm 0,17$	$-0,46 \pm 0,06$	$0,78 \pm 0,06$	2,2	1,6
ДЛ-П	0,3910	14600	2,2	$0,25 \pm 0,03$	$-0,36 \pm 0,03$	$0,64 \pm 0,01$	2,7	2,5
Л-Рж	0,3380	16600	3,2	$0,70 \pm 0,03$	$-0,58 \pm 0,03$	$0,42 \pm 0,03$	1,7	1,1

Выводы

1. Исследованы гидродинамические свойства и определены конформационные, структурно-топологические и фрактальные характеристики макромолекул лигнина политрихум *Polytrichum commune* в системе лигнин – диметилформамид.

2. Полученные данные свидетельствуют о том, что этот изученный лигнин на химическом и топологическом уровнях структурной организации близок к древесным лигнинам хвойных пород.

Авторы благодарят к.х.н. В.Ю. Беляева (Институт химии Коми научного центра УрО РАН) за проведение измерений гидродинамических параметров лигнина.

Список литературы

1. Манская С.М., Кодина Л.А. Геохимия лигнина. М., 1975. 232 с.
2. Пересыпкин В.И., Романкевич Е.А. Биогеохимия лигнина. М., 2010. 340 с.
3. Карманов А.П., Беляев В.Ю. Исследование топологической структуры лигнина // Известия вузов. Лесной журнал. 1999. №6. С. 85–92.
4. Кавамура И., Хигуши Т. Сравнительное исследование методом ИК-спектроскопии лигнинов размолотой древесины различного таксономического происхождения // По материалам междунар. симпозиума в Гренобле «Химия и биохимия лигнина, целлюлозы и гемицеллюлоз». М., 1969. С. 196–212.
5. Карманов А.П., Кочева Л.С., Беляев В.Ю., Бровко О.С., Оводов Ю.С. Лигнин ксилемы пихты *Abies sibirica*. Исследование структуры макромолекул методами молекулярной гидродинамики // Известия вузов. Лесной журнал. 2013. №1. С. 137–145.
6. Кочева Л.С., Карманов А.П., Миронов М.В., Белый В.А., Беляев В.Ю., Монаков Ю.Б. Лигнины из соломы: гидродинамические и конформационные свойства макромолекул // Журнал прикладной химии. 2008. Т. 81. №11. С. 1918–1924.
7. Павлов Г.М., Михайлова Н.А., Беляев В.Ю., Сюткин В.Н. Молекулярные характеристики фракций лигнина молотой древесины // Журнал прикладной химии. 1995. Т. 68. С. 316–320.
8. Afanasjev N.I., Fesenko A.V., Vishnyakova A.P., Chainikov A.N. Macromolecular Properties and topological structure of spruce dioxanlignin // Polymer science. 2008. Vol. 50. № 2. Pp. 190–197.
9. Pla F., Robert A. Study of Extracted lignins by G.P.C., Visxosimetry and Ultracentrifugation Determination of the Degree of Branching // Holzforschung. 1984. Vol. 38. №1. Pp. 37–42.
10. Твердохлебова И.И. Конформация макромолекул. М., 1981. 284 с.
11. Zimm B.M., Kilb R.W. Dynamics of branched polymer molecules in dilute solution // J. Polym. Sci. 1959. Vol. 37. Pp. 19–42.
12. Цветков В.Н., Лавренко П.Н., Бушин С.В. Гидродинамический инвариант полимерных молекул // Успехи химии. 1982. Т. 51, вып. 10. С. 1698–1732.
13. Карманов А.П., Кочева Л.С., Монаков Ю.Б. Фрактальный анализ макромолекул лигнина // Химия и химическая технология. 2007. Т. 50. №7. С. 61–67.
14. Vilgis T.A. A Flory theory of polymeric fractals—intersection, saturation and condensation // Physica. A. 1988. Vol. 153. №2. Pp. 341–354.
15. Кокоревич А.Г., Гравитис Я.А., Озоль-Калнин В.Г. Развитие скейлингового подхода при исследовании надмолекулярной структуры лигнина // Химия древесины. 1989. №1. С. 3–24.

Поступило в редакцию 7 мая 2014 г.

Karmanov A.P.^{1*}, Kocheva L.S.^{2,3}, Karmanova Yu.A.³ INVESTIGATION OF LIGNIN FROM MOSS POLYTRICHUM COMMUNE

¹Institute of Biology, Komi Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, ul. The Communist, 28, Syktyvkar, 167982 (Russia) e-mail: apk0948@yandex.ru

²Institute of Geology, Komi Scientific Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, ul. Day, 54, Syktyvkar, 167982 (Russia)

³Syktyvkar State University, October Prospect, 55, Syktyvkar, 167001 (Russia)

Investigations of dioxanlignin, isolated from plant of species moss *Polytrichum commune*, were carried out With the help of classic methods of polymer physics- chemistry the macromolecules conformational and topological characteristics in system lignin-DMFA were determined. The molecular mass, coefficients of swelling and lignin's fractal dimensionality were found. The findings evidence that *Polytrichum commune* lignin belongs to universal class of chaotic-branched polymers, similar to softwood lignins for many characteristics.

Keywords: lignin, conformation, fractal dimensionality, topological structure.

References

1. Manskaja S.M., Kodina L.A. *Geohimija lignina*. [Geochemistry of lignin]. Moscow, 1975, 232 p. (in Russ.)
2. Peresypkin V.I., Romankevich E.A. *Biogehimija lignina*. [Biogeochemistry of lignin]. Moscow, 2010, 340 p. (in Russ.)
3. Karmanov A.P., Beljaev V.Ju. *Izvestija vuzov. Lesnoj zhurnal*, 1999, no. 6, pp. 85–92. (in Russ.)
4. Kavamura I., Higushi T. *Materialy mezhdunarodnogo simpoziuma v Grenoble «Himija i biohimija lignina, celljulozy i gemicelljuloz»*. [According to the materials Intern. Symposium in Grenoble "Chemistry and biochemistry of lignin, cellulose and hemicellulose"]. Moscow, 1969, pp. 196–212. (in Russ.)
5. Karmanov A.P., Kocheva L.S., Beljaev V.Ju., Brovko O.S., Ovodov Ju.S. *Izvestija vuzov. Lesnoj zhurnal*, 2013, no. 1, pp. 137–145. (in Russ.)
6. Kocheva L.S., Karmanov A.P., Mironov M.V., Belyj V.A., Beljaev V.Ju., Monakov Ju.B. *Zhurnal prikladnoj himii*, 2008, vol. 81, no. 11, pp. 1918–1924. (in Russ.)
7. Pavlov G.M., Mihajlova N.A., Beljaev V.Ju., Sjutkin V.N. *Zhurnal prikladnoj himii*, 1995, vol. 68, pp. 316–320. (in Russ.)
8. Afanasjev N.I., Fesenko A.V., Vishnyakova A.P., Chainikov A.N. *Polymer science*, 2008, vol. 50, no. 2, pp. 190–197.
9. Pla F., Robert A. *Holzforchung*, 1984, vol. 38, no. 1, pp. 37–42.
10. Tverdohlebova I.I. *Konformacija makromolekul*. [The conformation of macromolecules]. Moscow, 1981, 284 p. (in Russ.)
11. Zimm B.M., Kilb R.W. *J Polym. Sci*, 1959, vol. 37, pp. 19–42.
12. Cvetkov V.N., Lavrenko P.N., Bushin S.V. *Uspehi himii*, 1982, vol. 51, issue 10, pp. 1698–1732. (in Russ.)
13. Karmanov A.P., Kocheva L.S., Monakov Ju.B. *Himija i himicheskaja tehnologija*, 2007, vol. 50, no. 7, pp. 61–67. (in Russ.)
14. Vilgis T.A. *Physica, A*, 1988, vol. 153, no. 2, pp. 341–354.
15. Kokorevich A.G., Gravitis Ja.A., Ozol'-Kalnins V.G. *Himija drevesiny*, 1989, no. 1, pp. 3–24. (in Russ.)

Received May 7, 2014