

Исследование лигнинов растительных отходов сельскохозяйственного производства

© 2014. А. П. Карманов¹, д.х.н., в.н.с., Л. С. Кочева², д.х.н., зав. отделом, Ю. С. Оводов³, д.х.н., академик РАН, О. С. Бровко⁴, к.х.н., с.н.с.,
¹Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
²Институт геологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
³Институт физиологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,
⁴Институт экологических проблем Севера Уральского отделения РАН,
 e-mail: apk0948@yandex.ru, karko07@mail.ru

Работа посвящена установлению особенностей химической структуры лигнинов, выделенных из стеблей растений семейства злаковых – пшеницы (*Triticum aestivum*), ржи (*Secale cereale*), овса (*Avena sativa*) и ячменя (*Hordeum vulgare*). Установлен компонентный состав исходного растительного сырья. Препараты лигнина выделены по методу Пеппера, определён их элементный и функциональный состав. Качественный состав кислых функциональных групп лигнинов изучен при помощи метода дифференциальной рН-метрии. Расчёт полуэмпирических C₉-формул мономерного звена показал, что по химической структуре лигнины однолетних злаковых растений существенно отличаются от древесных лигнинов. Сравнительные исследования с использованием методов ИК- и ЯМР-13С-спектроскопии позволили выявить особенности структурной организации лигнинов однолетних злаков, что дало основание отнести их к самостоятельному классу лигнинов GSH-типа. Усреднённое соотношение единиц G:S:H составило 100:80:60. Полученные данные могут быть использованы для совершенствования технологий химической переработки растительного сырья.

This work presents the results of investigation of chemical structure peculiarities of lignins, extracted from annual gramineous plants – oats *Avena sativa*, rye *Secale cereale*, wheat *Triticum aestivum* and barley *Hordeum vulgare*. The component composition of initial plant raw material was determined. Lignin's preparates were extracted by Pepper method, their elemental and functional composition was defined. Qualitative composition of lignin's acid functional groups was studied with the help of differential pH-method. According to calculation of monomeric unit semiempirical C₉-formulas it was shown that chemical structure of gramineous plants lignins differ from wood lignins considerably. On the basis of IR- and NMR-spectroscopy it was determined that gramineous plants lignins belong to a self-dependent class of multivendor composition GSH-polymers. Average ratio of units G:S:H amounted to 100:80:60. The obtained data may be used for enhancement of technology of plant raw material treatment.

Ключевые слова: растительное сырьё, солома злаковых культур, «зелёная химия», лигнин, ИК-спектроскопия, ЯМР-13С-спектроскопия

Keywords: plant raw material, straw of gramineous plants, «green chemistry», lignin, IR-spectroscopy, NMR-spectroscopy

Введение

Фундаментальные и прикладные исследования в области химии и технологии растительных ресурсов создают научную основу комплексного и рационального использования возобновляемого природного сырья и имеют важное народнохозяйственное значение. Современные подходы к переработке растительного сырья должны базироваться на принципах «зелёной химии», одним из основных направлений которой является разработка современных технологий, которые позволили бы минимизировать экологическую нагрузку на окружающую среду [1]. Создание техно-

логических основ комплексной переработки растительного сырья, целью которой является использование всей биомассы растения, позволит не только снизить образование отходов сельскохозяйственного производства и лесного комплекса, но и расширить спектр продуктов, получаемых из растительного сырья.

Известно, что ксилема высших растений на 80–90% состоит из природных растительных биополимеров, причём основная доля приходится на целлюлозу и лигнин. Лигнины как полимеры существенно отличаются от типичных высокомолекулярных соединений – и природных, и синтетических. Актуальность исследований лигнинов – биополимеров, ха-

рактрных для царства растений, определяется значительной ролью, которую они играют в технологических процессах химической переработки растительной биомассы. Основными объектами структурно-химических исследований до настоящего времени служат древесные хвойные и лиственные лигнины, в то же время лигнины недревесных растений остаются малоизученными.

Одним из потенциальных сырьевых источников для получения растительных биополимеров и продуктов на их основе является солома злаковых культур – крупнотоннажный отход сельскохозяйственного производства. В России ежегодно накапливается более 200 млн. т соломы злаковых культур. В основном солома используется самим сельским хозяйством в качестве подстилочного материала и грубого малоценного корма со степенью усвояемости не более 15–20%. Вместе с тем, как нами было установлено ранее [2], лигнины из соломы злаковых культур обладают весьма ценными свойствами и могут найти достойное применение в различных отраслях народного хозяйства – в медицине, фармакологии, парфюмерии, химической и пищевой промышленности.

Работа посвящена установлению особенностей химической структуры лигнинов, выделенных из стеблей растений семейства злаковых – пшеницы (*Triticum aestivum*), ржи (*Secale cereale*), овса (*Avena sativa*) и ячменя (*Hordeum vulgare*).

Объекты и методы исследования

Исходный растительный материал – солома овса, ржи, пшеницы и ячменя (Республика Коми, с. Визинга, сортоиспытательная станция). Компонентный состав растительной ткани овса, ржи, пшеницы и ячменя, %: целлюлоза – 44,7, 49,0, 48,7, 41,3; лигнин – 22,5, 20,0, 21,4, 22,2; легкогидролизуемые полисахариды – 21,0, 17,4, 20,5, 19,6; трудногидролизуемые полисахариды – 39,2, 43,3, 33,9, 34,2; водорастворимые вещества – 14,6, 9,4, 14,3, 12,1; экстрактивные вещества – 4,2, 3,1, 5,6, 4,1; зола – 5,0, 2,6, 3,1, 3,4 соответственно. Компонентный анализ проводили по стандартным методикам [3].

Препараты лигнинов из соломы овса (ЛСО), ржи (ЛСР), пшеницы (ЛСП) и ячменя (ЛСЯ) выделяли по методике [4] путём обработки в течение 2 ч. водным диоксаном в присутствии HCl (0,7%) при температуре кипения указанной смеси 101°C.

Элементный анализ проводили на анализаторе фирмы Hewlett Packard (США). Определенные функциональные группы выполняли по стандартным методикам, принятым в химии лигнина [5]. В методе дифференциальной рН-метрии при проведении потенциометрического титрования использовали стеклянный (индикаторный) и хлорсеребряный (сравнения) электроды. Титрант – HCl. По результатам измерений строили графики скорости изменения рН – $\Delta\text{pH}/V$ от рН раствора, где V – добавленный объём титранта, $\Delta\text{pH}/V$ – отношение изменения рН при добавлении титранта. ИК-спектры снимали с помощью прибора Specord-M 80, а также ИК-Фурье спектрометра MIR8000 (DTGS-детектор). Таблетки KBr. Количественную обработку ИК-спектров проводили по известной методике [6] с применением метода базисной линии и нормирования по наиболее интенсивной полосе поглощения. Спектры ЯМР-13С регистрировали в импульсном режиме (спектрометр Bruker AM-300) с рабочей частотой 75.5 Мгц. Ширина спектров – 18000 Гц. Длительность импульса – 2 мкс. Интервал между импульсами – 5-10 сек. Растворители ДМСО-d6 и ДМФА-d6, содержащие 0,02 моль/л трис-ацетилацетоната хрома (релаксант). Концентрация раствора 30%. Число сканов – 20000-100000. Количественные расчёты по спектрам ЯМР-13С проводили в соответствии с методиками, описанными в работах [7, 8]. Количественные расчёты выполняли при помощи программы «NUTS».

Результаты и их обсуждение

Образцы лигнинов, выделенные из соломы злаковых растений, представляют собой аморфные, хорошо растворимые в полярных растворителях и водных растворах щелочей лёгкие порошки кремового цвета. Количество получаемого лигнина из соломы различных видов растений неодинаково, несмотря на идентичные условия предобработки и делигнификации биомассы. Выход диоксанлигнина составил, %: ЛСО – 19,7, ЛСР – 37,1, ЛСП – 37,9, ЛСЯ – 14,0 от содержания лигнина в исходном сырье. Элементный состав диоксанлигнинов злаковых растений (табл. 1) указывает на то, что исследуемые образцы характеризуются высоким содержанием кислородсодержащих структурных единиц.

Следует отметить низкое содержание углерода (58,7–60,8%). Для сравнения приведены данные по лигнинам овсяницы луговой (*Festuca pratensis*) и бамбука (*Bambusa sp.*). Показано, что лигнин, выделенный из многолетнего злака –

Таблица 1

Элементный состав диоксанлигнинов из растений семейства злаковых

Образец лигнина	C, %	H, %	O, %	ОСН ₃ , %	C ₉ -формула
ЛСО	59,2	5,30	34,9	16,0	C ₉ H _{9,72} O _{3,52} (ОСН ₃) _{1,09}
ЛСР	58,7	5,53	35,5	15,0	C ₉ H _{10,29} O _{3,55} (ОСН ₃) _{1,05}
ЛСП	60,3	5,66	34,0	15,8	C ₉ H _{10,23} O _{3,62} (ОСН ₃) _{0,95}
ЛСЯ	60,5	5,56	33,4	15,7	C ₉ H _{10,1} O _{3,2} (ОСН ₃) _{1,01}
ЛС-ОЛ	60,8	5,60	33,1	14,5	C ₉ H _{10,0} O _{3,2} (ОСН ₃) _{0,91}
ЛСБ	62,5	6,03	30,9	16,9	C ₉ H _{8,45} O _{2,68} (ОСНЗ) _{1,05}

Примечание: препараты лигнина ЛС-ОЛ – овсяница луговая; ЛСБ – бамбук.

бамбука (ЛСБ), характеризуется наиболее высоким значением содержания углерода – 62,5%.

Степень метоксилированности лигнинов относится к числу важнейших характеристик лигнинов, позволяющих ранжировать лигнины в рамках хемотаксономической классификации. Установлено, что содержание ОСН₃-групп в исследованных лигнинах составляет в среднем 15,5±0,5%, что несколько неожиданно, поскольку полученные значения более характерны для лигнинов голосеменных растений, чем цветковых. Результаты расчёта C₉-формулы мономерного звена показывают, что количество метоксильных групп близко к 1,0 ед/C₉, в частности, в образцах ЛСР и ЛСБ этот показатель составляет 1,05 ед/C₉, в образце ЛСО – 1,09, в образце ЛСП – 0,95 ед/C₉. Не исключено, что низкая метоксилированность злаковых лигнинов обусловлена высоким относительным содержанием единиц Н-типа.

Оценка содержания фенольных гидроксидов также представляет большой интерес, так как позволяет определить относительные доли этерифицированных и неэтерифицированных единиц и выполнить при наличии данных ЯМР-13С-спектроскопии количественную оценку межмономерных связей различных

типов. Максимальное количество фенольных групп обнаружено в лигнине из соломы ржи ЛСР – 4,7% (табл. 2). Относительно мало ОН_{фен.} в препарате ЛСП (2,6%). Качественный состав кислых функциональных групп изучен при помощи дифференциальной рН-метрии (рК-спектроскопия) (рис. 1 и 2).

Для образцов лигнинов из однолетних злаков характерны три пика. Как следует из рисунка 1, максимум рН в области 4,6–4,8 обусловлен ОН-группой карбоксилос. Кроме того, в лигнинах присутствуют фенольные гидроксилы двух типов – сильнокислые 7 < рК < 8 и слабокислые с величиной рК > 8,5. В отличие от злаковых лигнинов для лигнинов древесин-

Таблица 2

Характеристика функционального состава лигнинов

Образец	Содержание функциональных групп, %	
	ОН _{фен.}	СООН
ЛСО	4,3	2,7
ЛСР	4,7	2,2
ЛСП	2,6	4,2
ЛСЯ	3,8	2,7
ЛС-ОЛ	4,9	4,3

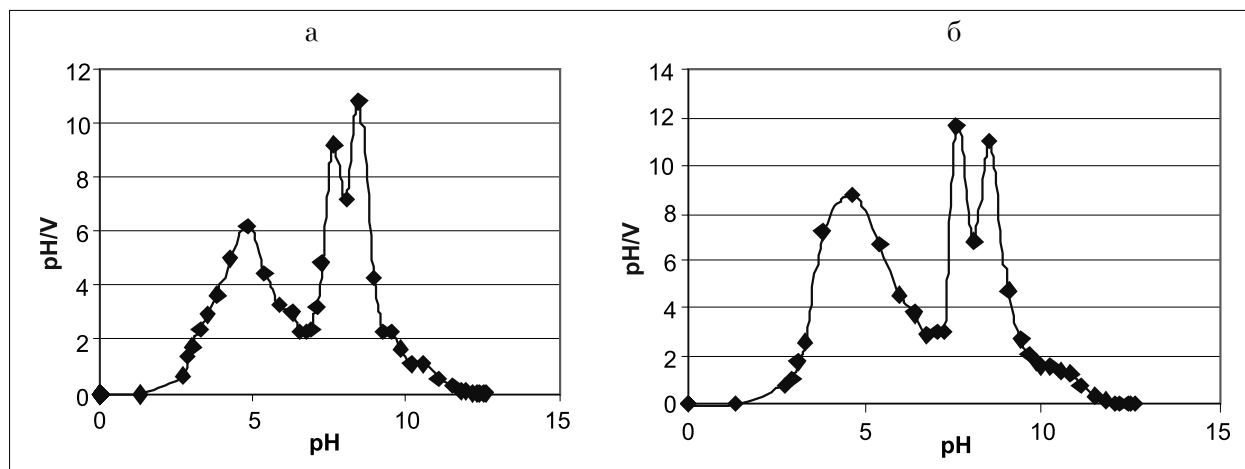


Рис. 1. Диаграммы дифференциальной рН-метрии для препаратов ЛСО (а) и ЛСП (б).

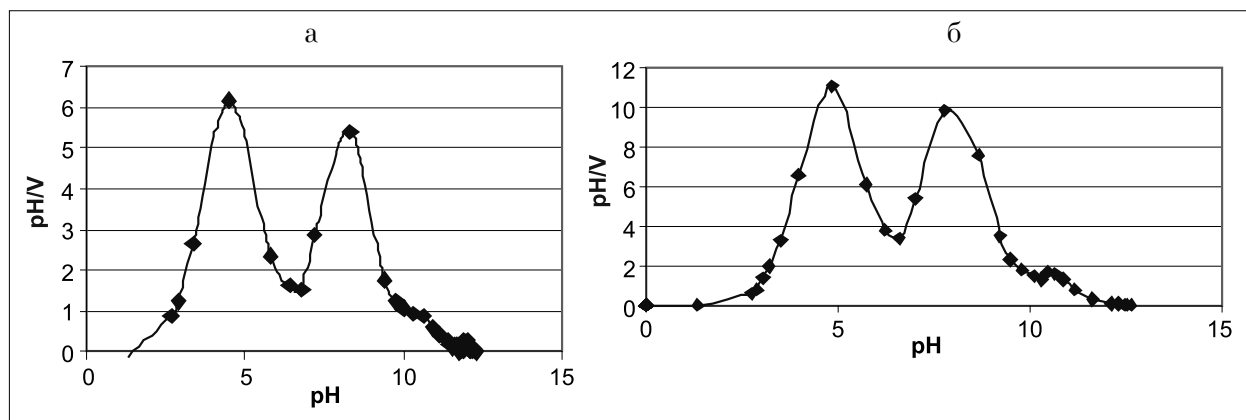


Рис. 2. Диаграммы дифференциальной рН-метрии для препаратов ЛДБ (а) и ЛДЛ (б).

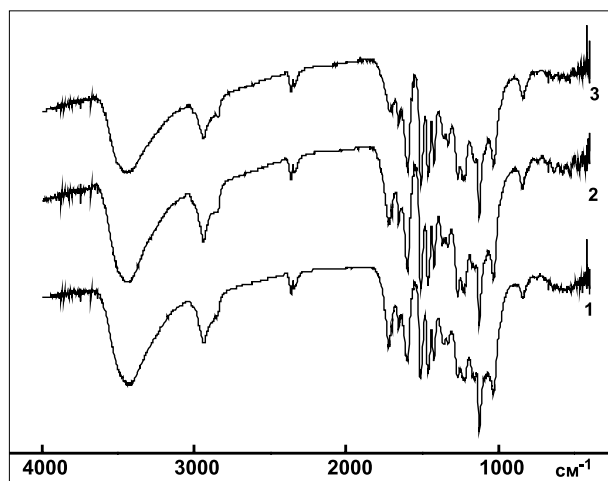


Рис. 3. ИК-фурье спектры препаратов диоксанлигнинов из соломы злаковых растений: 1 – ЛСО, 2 – ЛСП, 3 – ЛСП.

ных пород наблюдаются лишь два пика – в области 4,6–4,8 и 8,5 (рис. 2). Положение пиков, принадлежащих фенольным гидроксилам, на дифференциальных рН-спектрах обусловлено характером заместителей в бензольном кольце, а также эффектом сопряжения – делокализацией отрицательного заряда в результате его взаимодействия с π -орбиталями ароматического кольца.

ИК-спектры исследуемых препаратов (рис. 3) содержат типичный для лигнинов ряд характерных полос в области: 3440–3450, 1710–1730, 1595–1610, 1500–1520, 1460–1470, 1425–1430, 1365, 1330–1340, 1270–1275, 1125–1135, 1035–1070, 815–850 cm^{-1} . Наиболее интенсивной полосой в спектре всех препаратов злаковых лигнинов является полоса в области 1125–1135 cm^{-1} . Для всех препаратов выполняется зависимость: $\text{ООП}_{1500} > \text{ООП}_{1470} > \text{ООП}_{1430}$, что отличает исследуемые лигнины от других гваяцилсирингильных (GS) лигнинов. Кроме того, для всех образцов $\text{ООП}_{1270} > \text{ООП}_{1230}$, что также является отличительной особенностью лигнинов

злаков от GS-лигнинов. Сопоставление всех данных позволяет подтвердить предположение о важной роли *n*-кумаровых структур (H-единиц) в структурной организации макромолекул лигнинов злаков, что и предопределяет низкое содержание метоксильных групп в этих лигнинах. Анализ всех спектральных критериев позволяет утверждать, что по химической структуре исследуемые лигнины из растений семейства злаковых существенно отличаются от лигнинов GS- и G-типа лиственной и хвойной древесины и их следует отнести к лигнинам GSH-типа.

ЯМР-13С-спектры всех исследованных препаратов качественно одинаковы. Спектр ЯМР-13С препарата ЛСЯ приведен на рисунке 4. Однако количественные характеристики существенно различаются. Количество единиц основных функциональных групп и фрагментов n_x препаратов в расчёте на одно ароматическое кольцо (АК) по данным ЯМР-13С-спектров приведено в таблице 3.

В интервале от 5 до 45 ppm ЯМР-спектров (сигналы алифатических атомов углерода в группах CH , CH_2 , CH_3 , не связанных с атомами кислорода) наблюдается несколько сигналов, что указывает на поливариантность химической структуры боковых алифатических цепочек, однако их количество и положение совпадают в спектрах всех препаратов. Сигналы с химическим сдвигом (ХС) 53,5 и 53,8 ppm свидетельствуют о наличии кумарановых и пинорезинольных структур. Для лигнинов злаков характерно наличие двух резонансных сигналов OCH_3 -групп – 55,7 ppm (гваяцильная структура) и 55,9 ppm (сирингильная структура).

Сигналы в области 100–160 ppm обусловлены наличием ароматических структурных единиц. Эту область можно подразделить на четыре интервала: 100–117 ppm – сигналы третичных ароматических атомов углерода, которые содержат в ортоположении С-атомы

Таблица 3

Количество основных функциональных групп и фрагментов в препаратах лигнинов злаков, n_x /АК

Фрагменты	ЛСЯ	ЛСО	ЛСП	ЛСП	Диапазон ХС, ppm
C(O)O-	0,31	1,18	0,84	0,45	185-164 C(O)O – в сложноэфирных связях
C _{ар.} O	0,32	0,66	0,42	0,35	164-156 C-4 H, H'
C _{ар.} O	0,71	0,61	0,62	0,66	156-150 C-3/C-5 S
C _{ар.} O	1,07	1,00	0,95	0,90	150-140 C-3/C-4 G, G'; C-3/C-5 S
C _{ар.} O	0,42	0,37	0,39	0,41	134-138 C-4 S, S'
C _{ар.} C	1,71	1,48	1,39	1,25	140-123 C-1 S, S'; C-1 G, G'
C _{ар.} C	0,50	0,28	0,45	0,44	123-119 C-1 H, H'
C _{ар.} C	0,87	0,54	0,85	0,72	119-114
C _{ар.} C	0,10	1,37	0,11	1,25	114-95
CH _{ар.}	0,87	0,56	0,84	0,73	132-125 C-2/C-6 H, H'
CH _{ар.}	0,36	0,35	0,37	0,36	125-117 C-6 G, G'
CH _{ар.}	0,62	0,48	0,51	0,52	117-114 C-5 G, G' C-3/C-5 H, H'
CH _{ар.}	0,63	0,55	0,57	0,61	108-114 C-2 G, G'
CH _{ар.}	0,35	0,24	0,34	0,29	108-105 C-2/C-6 S, S' (α -CO);
CH _{ар.}	0,53	0,35	0,51	0,48	105-102 C-2/C-6 S, S'
CHO _{алк.}	1,79	1,70	1,74	1,57	90-64 C _{$\alpha\beta$} в β -O-4, α -O-4
CH ₂ O _{алк.}	0,85	1,04	0,90	1,02	74-64 C _{γ} в CH ₂ -O-R, CH ₂ -O-H
CH ₃ O	1,08	1,08	1,07	1,05	56-54 Ar-OCH ₃
C _{β}	0,06	0,07	0,07	0,08	54-50
C _{алк.}	1,90	1,66	2,05	1,99	5-45 CH, CH ₂ алиф.

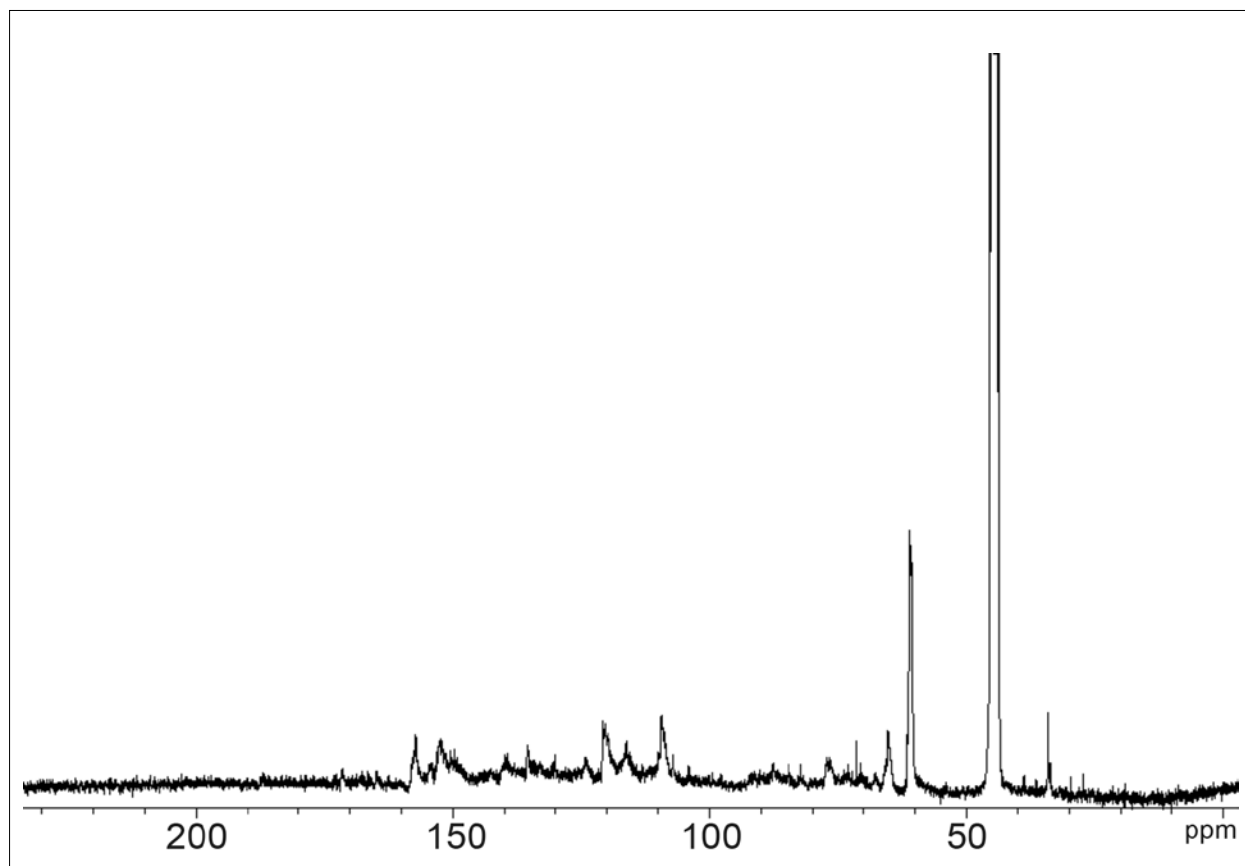


Рис. 4. Спектр ЯМР-13С препарата ЛСЯ.

с кислородной функцией (С-2 и С-5 в неконденсированных G-единицах, или С-2 и С-6 в S-единицах); 117–125 ppm – сигналы третичных ароматических атомов углерода, С-2/С-6 в H-единицах и С-6 в G-единицах); 125–142 ppm – сигналы ароматических четвертичных углеродных атомов, в основном С-1 и С-5; 142–160 ppm – сигналы, обусловленные этерифицированными атомами углерода ароматического кольца.

На спектрах ЯМР-13С наблюдаются характеристичные сигналы с ХС 152,1 и 152,4 ppm, которые обусловлены С-3 и С-5 атомами, связанными с ОСН₃-группами. Незамещённые атомы углерода С-2 и С-6 в сирингильных единицах препаратов вызывают появление сигналов с ХС 102–104 ppm. Сигналы при 119,0 и 119,1 ppm указывают на наличие гваяцильных единиц (С-6). К сигналам, характерным для *n*-кумаровых единиц, относятся пики с величиной ХС 131,4–131,5 ppm (С-2, С-6 атомы в H-единицах), а также сигналы с величиной ХС 160,1 и 166,7 ppm, связанные с С-4 атомами и С_β-атомами в эфирах *n*-кумаровых структур соответственно.

Таким образом, результаты сравнительного количественного анализа ЯМР-спектров по химическим сдвигам резонансных сигналов свидетельствуют о том, что макромолекулы лигнинов злаков построены из структурных единиц всех трёх основных типов: гваяцильного (G), сирингильного (S) и *n*-кумарового (H) (табл. 4). Напротив, приведённый для сравнения лигнин ливственницы относится к композиционно однородным полимерам, поскольку его макромолекулы построены исключительно из единиц гваяцильного типа. В лигнинах берёзы и акации преобладают единицы гваяцильного и сирингильного типа. В отличие от этого в лигнинах злаков велика доля *n*-кумаровых единиц. Соотношение единиц G:S:H можно оценить как 100:80:60.

Таблица 4

Соотношение структурных единиц гваяцильного, сирингильного и *n*-кумарового типа в лигнинах травянистых и некоторых древесных растений

Препарат	H	G	S
ЛСЯ	0,79	1,0	0,98
ЛСО	0,48	1,0	0,65
ЛСР	0,53	1,0	0,69
ЛСП	0,71	1,0	0,85
ЛБер	0,28	1,0	1,22
ЛАк	0,03	1,0	0,63
ЛЛ	–	1,0	–

Примечание: препараты лигнина ЛБер – берёза; ЛАк – акация; ЛЛ – ливственница.

Выводы

На основании исследований, проведённых с использованием методов ИК- и ЯМР-13С-спектроскопии, функционального и элементного анализа, а также расчёта полуэмпирических С₉-формул мономерного звена, показано, что по химической структуре лигнины однолетних злаковых растений существенно отличаются от древесных лигнинов. Установлено, что лигнины злаковых относятся к классу композиционно неоднородных биополимеров GSH-типа и состоят из мономерных единиц гваяцильного, сирингильного и *n*-кумарового типа. Усреднённое соотношение единиц G:S:H составляет 100:80:60. Выявленные структурно-химические особенности лигнинов могут быть применены для создания научных основ современных технологий получения экологически чистых практически полезных продуктов на основе соломы злаковых культур и способствуют рациональному использованию растительных отходов сельскохозяйственного производства.

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

Литература

1. Лунин В.В. Зеленая химия в России // Физико-химия лигнина: Матер. междунар. конф. Архангельск. 2005. С. 9–10.
2. Борисенков М.Ф., Карманов А.П., Кочева Л.С. Физиологическая роль лигнинов // Успехи геронтологии. 2005. Вып. 17. С. 34–41.
3. Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М.: Экология, 1991. 256 с.
4. 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. V. 37. № 8. P. 1241–1245.
5. Закис Г.Ф. Функциональный анализ лигнинов и их производных. Рига: Зинатне, 1987. 230 с.
6. Левдик И.Ю. Исследование химического состава, молекулярной и надмолекулярной структуры целлюлозных материалов методом ИК-спектроскопии: методы исследования целлюлозы. Рига: Зинатне, 1981. С. 32–43.
7. Калабин Г.А., Каницкая Л.В., Кушнарев Д.Ф. Количественная спектроскопия ЯМР природного органического сырья и продуктов их переработки. М.: Наука, 2000. 408 с.
8. Каницкая Л.В., Дейнеко И.П., Кушнарев Д.Ф., Клемпер А.В., Калабин Г.А. Количественная спектроскопия ЯМР ¹H и ¹³C лигнина // Химия древесины. 1989. № 6. С. 17–23.