

А. Д. АЛЕКСЕЕВ, В. М. РЕЗНИКОВ

*Белорусский технологический институт
им. С. М. Кирова*

Б. Д. БОГОМОЛОВ, О. М. СОКОЛОВ

*Архангельский лесотехнический институт
им. В. В. Куйбышева***ИССЛЕДОВАНИЕ ГИДРОДИНАМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ
ЛИГНИНА БЬЁРКМАНА***Поступило 9. X 1969*

Лигнин Бьёркмана из словой древесины фракционирован по величине молекул гель-фильтрацией на сефадексе G-75. Определены характеристическая вязкость, скорость седиментации и диффузии и средневесовые молекулярные веса отдельных фракций. Найдены экспоненты a , b и c и коэффициенты K_η , K_D и K_s в уравнениях зависимости $[\eta]=f(M_w)$; $D=f(M_w)$ и $s=f(M_w)$. Показано, что макромолекула лигнина Бьёркмана в растворе близка по форме к жесткой сферической частице, и вычислены ее размеры и средневязкостно-диффузионный молекулярный вес. По результатам исследования гидродинамических свойств лигнина опробован новый метод калибровки колонок с гелем. Найдено, что линейная зависимость между радиусом молекулы и обратной дополнительной функцией ошибок коэффициента распределения хорошо выдерживается для лигнина Бьёркмана на сефадексе G-75 с диметилсульфоксидом в качестве растворителя.

Табл. 2, илл. 3, библиограф. 10 назв.

В предыдущем сообщении [1] были приведены дифференциальная и интегральная кривые полидисперсности лигнина Бьёркмана и найдено выражение, связывающее коэффициент распределения при гель-фильтрации лигнина на сефадексе G-75 с молекулярным весом.

В настоящей работе продолжено исследование физико-химических свойств макромолекулы лигнина Бьёркмана в растворе. Измерены скорости диффузии, седиментации и вязкость отдельных фракций лигнина в пиридине, определены форма и размер макромолекулы, вычислены среднегидродинамические молекулярные веса.

ТЕХНИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Выделение и фракционирование лигнина. Для исследования применялся лигнин ели (*Picea excelsa*), выделенный из древесины по методу Бьёркмана с выходом $\sim 22,0\%$ от лигнина Класона. Лигнин Бьёркмана (MWL) содержал $14,7\%$ метоксигрупп и имел следующий элементарный состав: С — $62,7\%$; Н — $5,9\%$ и О — $31,4\%$.

Фракционирование MWL осуществлялось методом гель-фильтрации на колонке с сефадексом G-75. В качестве растворителя и элюента был использован диметилсульфоксид (ДМСО), который предварительно очищался перегонкой на ректификационной колонке (эффективностью

около $10 \div 15$ теоретических тарелок) при температуре $70 \div 80^\circ$ и остаточном давлении $10-15$ мм рт. ст. Для препаративной гель-фильтрации на колонке диаметром 15 мм и высотой 60 см бралось по 5 мл 10% -ного раствора MWL в ДМСО. Скорость элюирования при помощи склянки Мариотта поддерживалась постоянной и равной $\sim 8,6$ мл/ч. Фракции объемом по 5 мл отбирались автоматически хроматографическим коллектором типа ХКОВ-1. Содержание лигнина в отобранных фракциях определялось спектрофотометрически при $\lambda = 280$ мкм. После построения кривой гель-фильтрации отдельные фракции были объединены в более крупные так, чтобы получить 8 основных. Далее фракции упаривались под вакуумом при температуре $40-50^\circ$ и высушивались до постоянного веса в вакуум-эксикаторе над пятиокисью фосфора.

Определение молекулярного веса производилось методом неустановившегося равновесия на ультрацентрифуге типа G-110, как описано ранее [2].

Определение скорости диффузии (D). Для определения D препарата был применен прибор для микроэлектрофореза белков типа ЭМИБ, оптическая система которого позволяет получать и регистрировать градиент концентрации по высоте кюветы. Проверка прибора по эталонным веществам с известным коэффициентом диффузии показала удовлетворительную сходимость. Так, для $0,5\%$ -ного раствора сахарозы в воде найдено $D_A = (4,6 \pm 0,2) \cdot 10^{-6}$ см²/сек, а для 1 М раствора хлористого натрия в воде — $(1,48 \pm 0,06) \cdot 10^{-5}$, что близко к справочным данным — $4,6 \cdot 10^{-6}$ и $1,484 \cdot 10^{-5}$ см²/сек соответственно [3].

Скорость диффузии всех препаратов определялась в пиридине при концентрации $1,5\%$. Как показали Резанович и Горинг [4], коэффициент диффузии диоксаплигнина мало изменяется с концентрацией при проведении измерений в пиридине. Поэтому нами допускалось, что разница между D_A , определенным в $1,5\%$ -ном растворе и при бесконечном разбавлении, будет незначительной.

Градиентные кривые фракций имели симметричную форму, весьма близкую к гауссовой кривой распределения, что говорит о высокой гомогенности препаратов по размерам молекул. Коэффициенты диффузии (D_A) рассчитывались по методу максимальной ординаты [5] и находились по формуле

$$D_A = \frac{A^2}{4\pi\tau \left(\frac{dc}{dx}\right)_{\max}^2} \cdot \frac{1}{G_{\text{опт}}^2} \quad (1)$$

где $A = \sum_0^\infty \left(\frac{dc}{dx}\right)_i$ — площадь под градиентной кривой, см²;

$\left(\frac{dc}{dx}\right)_{\max}$ — максимальная ордината, см;

τ — время, сек;

$G_{\text{опт}}$ — фактор оптического увеличения прибора.

Истинное время начала диффузии находилось графически, экстраполяцией линейной зависимости $A^2 / \left(\frac{dc}{dx}\right)_{\max}^2 = f(\tau)$ к $A^2 / \left(\frac{dc}{dx}\right)_{\max}^2 = 0$.

Диффузия измерялась при температуре $20 \pm 0,15^\circ$, и эти же значения были использованы для расчета МВ и коэффициента седиментации. Воспроизводимость D_A в различных опытах составляла $\pm 5\%$.

Вязкость измерялась в вискозиметре Убеллоде по [6]. Время исте-

чения для различных фракций лигнина и растворителя находилось в пределах 285—310 сек. Измерения производились в термостате при температуре $20 \pm 0,02^\circ$ для нескольких концентраций (от 0,3 до 1,0 г/100 мл) препарата в пиридине.

Характеристическая вязкость находилась экстраполяцией графика зависимости $\frac{\eta_{уд}}{c} = f(c)$ к нулевой концентрации. Для MWL и его фракций такая зависимость в исследованном диапазоне концентраций носит прямолинейный характер, причем прямые всех фракций параллельны оси абсцисс. Это значит, что второй вириальный коэффициент — A_2 в уравнении Хаггинса

$$\frac{\eta_{уд}}{c} = [\eta] + A_2 c + \dots \quad (2)$$

равен нулю. Согласно Хаггинсу [7], это свидетельствует об отсутствии взаимодействия молекул лигнина в пиридине и (косвенно) о разветвленности молекул. Отсутствие концентрационной зависимости характеристической вязкости MWL в пиридине подтверждает мнение о том, что пиридин является хорошим (в термодинамическом смысле) растворителем для лигнина.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В табл. 1 приведены измерения гидродинамических параметров и МВ лигнина и его фракций, а на рис. 1 и 2 — графики зависимости, удовлетворяющей уравнениям

$$[\eta] = K_\eta M^a; D = K_D M^{-b} \text{ и } s = K_s M^c. \quad (3)$$

Как видно из рис. 1 и 2, фракции MWL хорошо описываются данными уравнениями, что обычно свидетельствует о принадлежности к одному полимергомологическому ряду.

По кривым рис. 1 и 2 для уравнений (3) найдены экспоненты a , b и c и константы K_η , K_D и K_s , значения которых приведены в табл. 2.

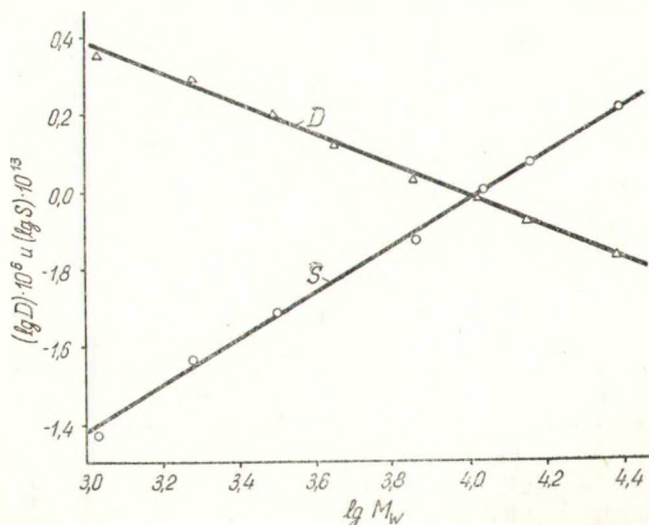


Рис. 1. Зависимость констант седimentации s и диффузии D от молекулярного веса для фракций лигнина Бьёркмана.

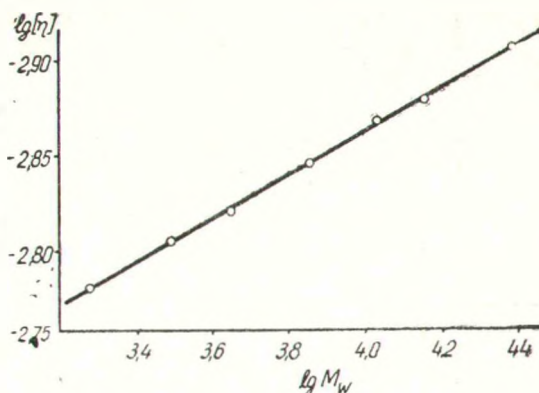


Рис. 2. Зависимость характеристической вязкости от молекулярного веса для фракций MWL.

Таблица 1

МВ и гидродинамические параметры лигнина Бьёркмана и его фракций

Препараты	M_w	$M_{\eta D}$	$[\eta]$, дл. · г ⁻¹	$D \cdot 10^6$, см ² · сек ⁻¹	$s \cdot 10^{10}$, сек ⁻¹	η_{sp} , А
Нефракционированный MWL	7,400	7,260	0,0700	1,10	—	—
Фракция № 1	1,050	—	—	2,17	0,23	10,1
„ № 2	1,890	1,590	0,0606	1,92	0,36	11,4
„ № 3	3,090	2,700	0,06±0	1,58	0,49	13,9
„ № 4	4,900	4,450	0,0660	1,32	0,64	16,6
„ № 5	7,150	7,850	0,0700	1,07	0,77	20,5
„ № 6	10,650	10,300	0,0740	0,96	1,03	22,9
„ № 7	14,300	15,000	0,0755	0,84	1,22	26,1
„ № 8	24,400	25,100	0,0805	0,70	1,70	31,8

Таблица 2

Величины экспонентов a , b и c и констант K_η , K_D и K_s для лигнина Бьёркмана и некоторых моделей макромолекул

Форма макромолекулы	a	b	c	K_η	K_D	K_s
Сфера Эйнштейна	0	0,33	0,67	—	—	—
Лигнин Бьёркмана	0,115	0,39	0,61	$2,6 \cdot 10^{-2}$	$3,88 \cdot 10^{-5}$	$3,88 \cdot 10^{-16}$
Свободно свернутый клубок	0,5	0,5÷0,6	0,4÷0,5	—	—	—

Из данных табл. 2 следует, что величины экспонент a , b и c у MWL лежат в промежутке между значениями, характерными для жесткой сферической частицы и свободно свернутого макромолекулярного клубка, причем они явно ближе к недеформирующимся сферическим частицам, чем к клубку. Эти данные хорошо согласуются с величинами a и b , найденными для диоксанлигнина ($a=0,1$ и $b=0,4$) [8], диоксанлигнина, выделенного в атмосфере азота ($a=0,15$ и $b=0,36$) [4], и щелочного лигнина ($a=0,12$) [9].

Форма макромолекулы лигнина в растворе, близкая к непротекаемой сфере, позволяет для описания ее размеров с определенным приближением использовать уравнение Эйнштейна

$$D_A = \frac{RT}{N} \cdot \frac{1}{6\pi\eta_0 r_\eta}, \quad (4)$$

где R — газовая постоянная;

N — число Авогадро;

T — абсолютная температура;

η_0 — вязкость растворителя;

r_η — эффективный гидродинамический радиус сферы.

Значения r_η и МВ, полученные комбинацией параметров $[\eta]$ и D , приведены в табл. 1. Из табл. 1 видно, что M_w и $M_{\eta D}$ довольно близки друг другу как для отдельных фракций, так и для нефракционированного препарата. Это свидетельствует о возможности использования для расчета молекулярного веса лигнина Бьёркмана уравнения

$$M_{\eta D} = \left[\frac{kT}{\eta_0} \right]^3 \cdot \frac{N}{6480\pi^2 [\eta] \cdot D_A^3}. \quad (5)$$

К такому же выводу пришли Резанович и Горинг [4, 8], применив данное уравнение для расчета $M_{\eta D}$ диоксанлигнина.

Результаты, полученные при исследовании гидродинамических свойств MWL, можно использовать и для характеристики свойств геля сефадекса. Ранее [1] нами уже приводилась зависимость K_{av} от МВ для лигнина Бьёркмана. Недавно Эккерсом [10] был предложен новый оригинальный метод калибровки колонок с гелем. Он основан на том допущении, что микропоры, доступные для данного размера молекул, распределены хаотично внутри геля. По Эккерсу, фракция геля K_d , проникаемая для раствора с радиусом молекулы r_η , может быть представлена гауссовой кривой вероятности и отнесена к дополнительной функции ошибок $erfc$ гауссового распределения:

$$K_d = erfc \left[\frac{r_\eta - r_0}{b} \right] = 1 - \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^{\frac{r_\eta - r_0}{b}} e^{-r_\eta^2} \cdot dr_\eta, \quad (6)$$

где r_0 — положение максимума ординаты распределения;

b — мера стандартного отклонения.

Решая это уравнение относительно радиуса молекулы r_η , получают линейную зависимость r_η от обратной дополнительной функции ошибок $erfc^{-1}(K_d)$

$$r_\eta = r_0 + b \cdot erfc^{-1}(K_d). \quad (7)$$

Параметры r_0 и b являются калибровочными константами для данного типа геля.

По данным гель-фильтрации на сефадексе G-75 раствора MWL в диметилсульфоксиде [1] и значениям r_η из табл. 1 был построен график зависимости r_η от $erfc^{-1}(K_d)$ (рис. 3), с помощью которого найдены значения $r_0=9,8$ и $b=16,8$. Для этой марки сефадекса эти величины согласуются с данными Эккерса ($r_0=10$; $b=16$), полученными для глобулярных белков в буферных водных растворах.

Совпадение результатов, во-первых, подтверждает наши выводы о размерах и форме молекул лигнина Бьёркмана, а во-вторых, свидетельствует о том, что уравнение (6) является, по-видимому, универсальным для данной марки геля, независимо от характера растворителя, в котором набухает последний.

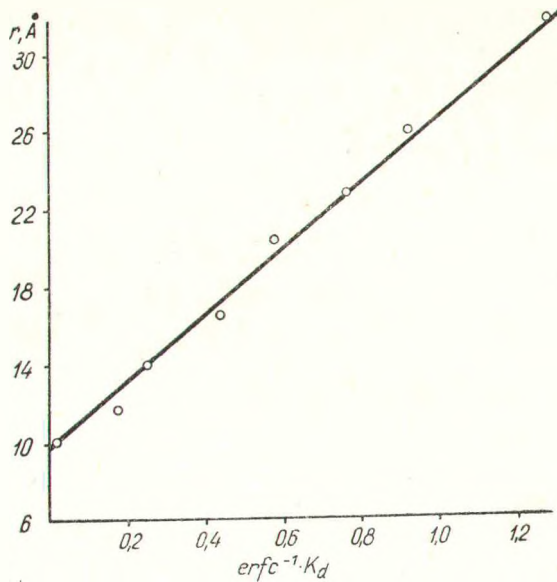


Рис. 3. Зависимость эффективного гидродинамического радиуса молекулы r_η от обратной дополнительной функции ошибок $erfc^{-1}(K_d)$.

ВЫВОДЫ

1. Найдены уравнения, позволяющие определять МВ лигнина Бьёркмана по данным седиментации, диффузии или вязкости его растворов в пиридине.

2. Анализ формы молекулы MWL в пиридине и сравнение полученных результатов с данными других авторов свидетельствуют о том, что, вероятно, все препараты, близкие к MWL, обладают жесткой макромолекулой, по форме приближающейся к сферической.

3. Найдено, что линейная зависимость между радиусом молекулы r_η и обратной дополнительной функцией ошибок $erfc^{-1}(K_d)$ коэффициента распределения хорошо выдерживается для лигнина Бьёркмана на сефадексе G-75 с диметилсульфоксидом в качестве растворителя.

4. Найдены доказательства тому, что, вероятно, для данной марки геля при разделении веществ с молекулами, близкими по форме к сферическим, соотношение $r_\eta = f[erfc^{-1}(K_d)]$ не зависит от природы вещества и растворителя.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев А. Д., Резников В. М., Богомолов Б. Д., Соколов О. М. — В кн.: Химия древесины, 4. Рига, 1969, стр. 49.
2. Соколов О. М., Богомолов Б. Д. — Изв. высш. учебн. заведений, Лесной журн., 1967, 3, 140.
3. Краткий справочник физико-химических величин. М.—Л., 1965, стр. 146.
4. Resanowich A., Goring D. A. I. — Svensk papperstidn., 66, 1963, 5, 141.
5. Рафиков С. Р., Павлова С. А., Твердохлебова И. Н. Методы определения МВ и полидисперсности высокомолекулярных соединений. М., 1963, стр. 124.
6. Шатенштейн А. И., Вырский Ю. П., Правикова Н. А., Алиханов П. П., Жданова К. И., Изюмников А. Л. Практическое руководство по определению МВ и МВР полимеров. М.—Л., 1964, стр. 11.
7. Haggins M. L. — J. Amer. Chem. Soc., 64, 1946, 2716.
8. Goring D. A. I. — Pure Appl. Chem., 5, 1962, 233.
9. Lindberg L. L., Tylli N., Majani C. — Paperi ja puu, 46, 1964, 521.
10. Ackers G. K. — J. Biol. Chem., 242, 1967, 3237.