

Л. П. СТЕПОВАЯ, Ю. И. ХОЛЬКИН

АНАЛИЗ ПРОДУКТОВ ГИДРОЛИЗА ДРЕВЕСНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ МЕТОДОМ ГАЗО-ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Для анализа продуктов гидролиза полисахаридов древесины необходим быстрый и точный метод. Широко применяемый в настоящее время в химии древесины метод хроматографии на бумаге трудоемок, требует большой затраты времени и не отличается высокой точностью анализа. Для идентификации и количественного анализа смесей сахаров в виде их летучих производных в последние годы находит применение метод газо-жидкостной хроматографии. В качестве летучих производных сахаров в газо-жидкостной хроматографии применяют метиловые эфиры сахаров [1—3], ацетильные производные [4—6], триметилсилильные (ТМС) эфиры [7—9] и некоторые другие производные [10, 11]. Наиболее быстрой и удобной является методика синтеза ТМС-производных [12], обеспечивающая количественный выход эфиров. Рядом исследователей эта методика была применена для количественного анализа смесей моносахаридов и их производных [13—15] и для исследования углеводного состава некоторых полисахаридов и древесины [13—17].

В связи с новыми возможностями, которые дает применение этого метода в химии древесины, в настоящей работе проведены исследования по уточнению оптимальных условий разделения модельных смесей чистых моносахаридов и по применению этой методики для исследования углеводного состава древесины.

Работа проводилась на газовом хроматографе фирмы W. G. Pye and Co. Ltd. с аргонным ионизационным детектором, ионизация γ -лучами, источник излучения Sr^{90} . Были использованы стеклянные колонки длиной 120 см и внутренним диаметром 4 мм. Проба вводилась в хроматограф калиброванной микропипеткой.

Триметилсилильные производные углеводов были приготовлены по методике Свили и др. [12]. Для синтеза ТМС-эфиров использовали смеси чистых модельных сахаров, которые предварительно высушивали до абсолютно сухого состояния при 40°C в вакуумном шкафу при остаточном давлении ~ 20 мм рт. ст. Тщательной осушке подвергали используемый пиридин, который высушивали и разгоняли над сухим КОН. В хорошо закрытых пробирках производные не теряли устойчивости в течение нескольких недель.

Для разделения модельной смеси углеводов в виде их ТМС-эфиров были испытаны колонки со следующими набивками:

10% апезона *L* на целите 545 (100—120 меш) (колонка 1), 10% апезона *M* на целите 545 (100—120 меш) (колонка 2), 10% полиэтиленгликолядапата на целите 545 (100—120 меш) (колонка 3), 10% силиконового масла на целите 545 (100—120 меш) (колонка 4), 3% силиконового масла на хромосорбе *W* (80—100 меш), который предварительно

был промыт соляной кислотой и обработан диметилдихлорсиланом (колонка 5) и 14% полиэтиленгликольсукцината на хромосорбе W (80—100 меш), промытом соляной кислотой и обработанном диметилдихлорсиланом (колонка 6).

Нанесение неподвижной фазы на носитель в колонках 5 и 6 было проведено по методике Горнинга и Москателли [18].

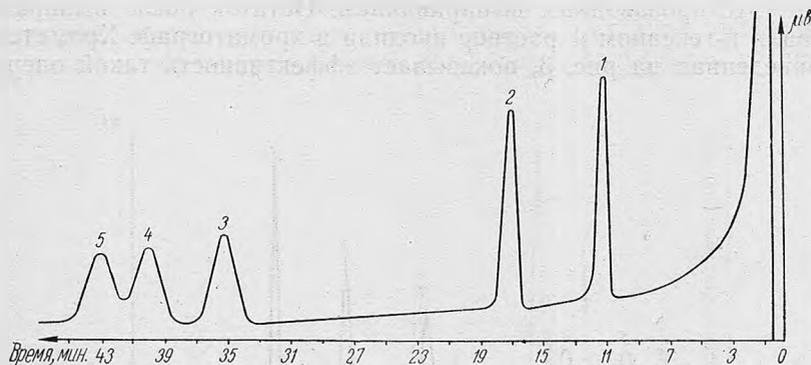


Рис. 1. Пример хроматографического разделения модельной смеси сахаров в виде их ТМС-производных. ТМС-эфиры:

1 — *D*-арабинозы; 2 — *D*-ксилозы; 3 — *D*-галактозы; 4 — *D*-глюкозы; 5 — *D*-маннозы.

На первых трех колонках ТМС-эфиры пентоз разделялись хорошо, производные гексоз — неполностью. ТМС-эфиры *D*-глюкозы и *D*-маннозы элюировались одновременно, изомеры при этом не разделялись.

Наиболее полное разделение производных сахаров было получено на колонке 4.

На рис. 1 приведен пример успешного разделения модельной смеси, содержащей сахара, образующиеся при гидролизе древесных полисахаридов. Разделение проводили при температуре 175°C, расход газа-носителя (Ar) 75 мл/мин., чувствительность детектора $\times 3$, напряжение детектора 1000 в, объем пробы 0,1 мкл.

На колонках 5 и 6 в изотермических условиях разделены ТМС-эфиры изомеров пентоз. Для разделения изомеров гексоз в виде их производных требовалась более высокая температура, при которой плохо разделялись изомеры пентоз.

На рис. 2 приведена хроматограмма, иллюстрирующая разделение ТМС-производных изомеров *D*-арабинозы на колонке 6 при следующих условиях разделения: температура — 150°C, скорость газового потока (Ar) — 60 мл/мин, чувствительность детектора $\times 3$, напряжение детектора — 1000 в, объем пробы — 0,1 мкл.

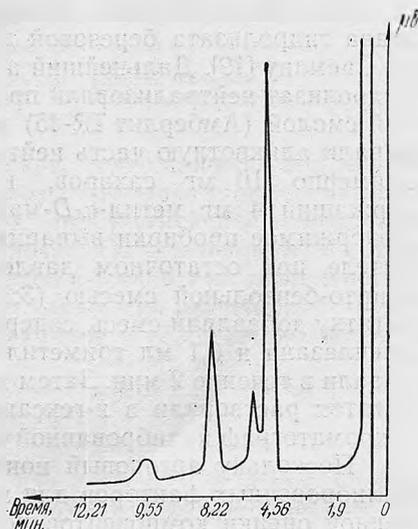


Рис. 2. Хроматографическое разделение ТМС-производных изомерных форм *D*-арабинозы.

Пиридин, содержащийся в реакционной смеси, давал несимметричный пик со значительным нарушением заднего фронта зоны на всех колонках, усложняя количественную оценку площадей пиков сахаров. Частично размывание заднего фронта зоны пиридина удалось уменьшить обработкой твердого носителя диметилдихлорсиланом с целью снижения адсорбционной способности носителя. Более эффективное устранение этого явления достигалось при удалении пиридина из реакционной смеси после синтеза ТМС-производных выпариванием. Остаток после выпаривания промывали *n*-гексаном и раствор вводили в хроматограф. Хроматограмма, приведенная на рис. 3, показывает эффективность такой операции.

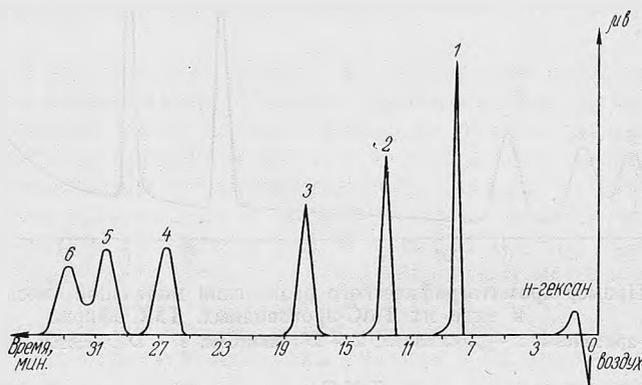


Рис. 3. Хроматографическое разделение модельной смеси ТМС-производных углеводов при условиях:

неподвижная фаза — 10% силиконового масла, твердый носитель — целит 545 (100–120 меш), температура — 175° С, расход газа-носителя (Ar) — 60 мл/мин. ТМС-эфир: 1 — *D*-арабинозы; 2 — *D*-ксилозы; 3 — α -*D*-метилманнозида; 4 — *D*-галактозы; 5 — *D*-глюкозы; 6 — *D*-маннозы.

Описанная методика анализа была применена для определения состава гидролизата березовой древесины. Гидролиз образцов проводили по Саеману [19]. Дальнейший анализ проводили по следующей методике. Гидролизат нейтрализовали пропусканием через колонку с анионообменной смолой (Амберлит IR-45) в карбонатной форме. Микропипеткой отбирали аликвотную часть нейтрализованного гидролизата, содержащую примерно 10 мг сахаров, и раствор внутреннего стандарта, содержащий 4 мг метил- α -*D*-маннопиранозида, и вводили в пробирку. Содержимое пробирки выпаривали досуха при 40° С на роторном испарителе при остаточном давлении 5 мм рт. ст. Остаток обрабатывали спирто-бензольной смесью (3:1) и опять упаривали досуха. К сухому остатку добавляли смесь, содержащую 1 мл пиридина, 0,2 мл гексаметилдисилазана и 0,1 мл триметилхлорсилана и пробирку энергично встряхивали в течение 2 мин. Затем пиридин и избыток реагентов выпаривали, остаток растворяли в *n*-гексане и аликвотную часть раствора вводили в хроматограф калиброванной микропипеткой.

Поскольку аргонный ионизационный детектор требует различных калибровочных факторов для изомеров и стереоизомеров, для количественной оценки компонентов исследуемой смеси строили калибровочные кривые для каждого из компонентов. Для построения калибровочных кривых был выбран метод внутреннего стандарта. Площади пиков рассчитывались умножением высоты пика на его ширину на полувысоте.

На рис. 4 приведена хроматограмма разделения ТМС-производных сахаров, полученных при гидролизе древесины березы *Betula verrucosa*. Из приведенных данных видно, что древесные гидролизаты представляют более сложную систему, чем модельные смеси моносахаридов. Сахара (арабиноза, ксилоза, глюкоза и галактоза) в условиях анализа дали по два и более пика, что говорит о разделении изомеров этих сахаров, присутствующих в гидролизатах в равновесном состоянии. Используя метод внутреннего стандарта, мы провели количественный анализ гидролизата, по которому определяется углеводный состав исходной древесины. При исследовании образцов древесной целлюлозы, полученной из древесины

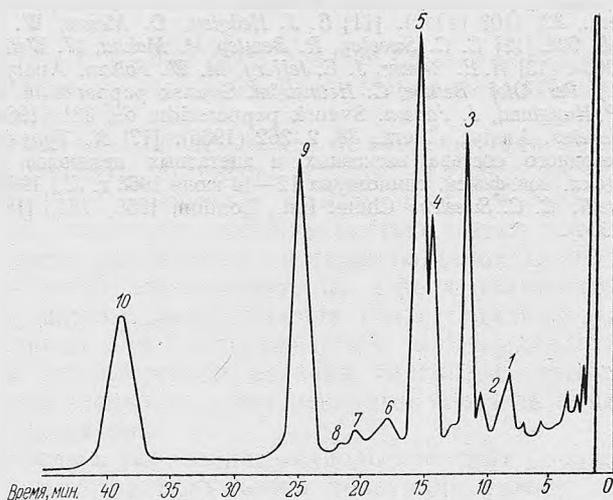


Рис. 4. Хроматографический анализ сахаров (в виде ТМС-эфиров), присутствующих в гидролизате древесины березы.
ТМС-эфиры:

1, 2 — *D*-арабинозы; 3, 4 — *D*-ксилозы; 5 — α -метил-*D*-маннопиранозид (внутренний стандарт); 6, 8 — *D*-галактозы; 7 — *D*-маннозы; 9, 10 — *D*-глюкозы. Условия анализа: колонка (120×0,4 см) с 10% силиконового масла на целите 545 (80—100 меш), температура 180°, расход Аг 60 мл/мин.

березы, в гидролизате найдены все сахара, содержащиеся в древесном гидролизате. При исследовании целлюлозы методом хроматографии на бумаге обычно не определяются сахара, присутствующие в небольшом количестве (арабиноза, галактоза, манноза). Определение этих сахаров методом ГЖХ свидетельствует о его более высокой чувствительности.

Разработанная методика применена также при изучении деструкции целлюлозы и других древесных полисахаридов в условиях модификации древесины синтетическими смолами.

Выводы

1. Выбраны оптимальные условия качественного и количественного анализа моносахаридов в виде их ТМС-производных методом газо-жидкостной хроматографии.

2. Подобраны условия хроматографического анализа углеводного состава древесных полисахаридов.

338941

3. Метод газо-жидкостной хроматографии применен для определения углеводного состава гидролизата древесины березы и древесной целлюлозы.

Л и т е р а т у р а

- [1] A. G. McInnes, G. H. Ball, F. P. Cooper, C. T. Bishop. *J. Chromatogr.*, *1*, 556 (1958). [2] C. T. Bishop, F. P. Cooper. *Canad. J. Chem.*, *38*, 793 (1960). [3] G. Mildred, H. G. Walker. *Analyt. Chem.*, *34*, 650 (1962). [4] S. W. Gunner, J. K. N. Jones, M. B. Perry. *Chem. Ind., London*, 1961, 255. [5] H. W. Kircher. *Tappi*, *45*, 2, 143 (1962). [6] C. T. Bishop, F. P. Cooper, R. K. Murray. *Canad. J. Chem.*, *41*, 2245 (1963). [7] E. I. Hedgley, W. G. Overend. *Chem. Ind., London*, 1960, 378. [8] R. Terrier, M. Singleton. *Tetrahedron*, Oct., 1143 (1962). [9] V. Bilik, J. Jezo. *J. Chem. zvesti*, *17*, 861 (1963). [10] H. W. Kircher. *Analyt. Chem.*, *32*, 1103 (1960). [11] E. J. Hedgley, O. Meresz, W. Overend. *Chem. Ind., London*, 1960, 938. [12] C. C. Sweeley, R. Bentley, M. Makita, W. Wells. *J. Am. Chem. Soc.*, *85*, 2997 (1963). [13] H. E. Brower, J. E. Jeffery, M. W. Folsom. *Analyt. Chem.*, *37*, 12, 1602 (1965). [14] Per Olof Bethge, C. Halmström. *Svensk papperstidn*, *69*, 3, 60 (1966). [15] E. Sjöström, P. Hagglund, J. Janson. *Svensk papperstidn*, *69*, 381 (1966). [16] J. S. Szwarcdeker, J. H. Stoneker. *Analyt. Chem.*, *38*, 2, 362 (1966). [17] К. Турунен, И. Турунен. Определение углеводного состава вязкозных и ацетатных целлюлоз методом газовой хроматографии. Докл. сов.-финск. симпозиума 12—14 июня 1968 г. Л., 1968. [18] E. C. Horning, E. A. Moscatelli, C. C. Sweeley. *Chem. Ind., London*, 1959, 751. [19] J. F. Saeman. *Tappi*, *37*, 336 (1954).