

# Моделирование биodeградации многокомпонентного органического вещества в водной среде.

## 2. Анализ структурной организации лигнина

Б. М. Долгоносов, Т. Н. Губнаторова

Институт водных проблем Российской академии наук

119333 Москва, ул. Губкина, 3

*Аннотация.* В работе на обширном литературном материале проводится анализ современных представлений о структурной организации лигнина, рассматривается статистика связей и функциональных групп; выявляются доминирующие связи и группы; оцениваются массы и размеры макромолекул и особенности молекулярно-массового распределения; описываются характеристики фрактальной структуры макромолекул. На этой основе формулируются основные структурные закономерности, важные для разработки модели деструкции лигнина в водной среде.

*Ключевые слова:* лигнин, молекулярная и топологическая структура, фрактальные свойства, распределение по размерам, деструкция.

Как отмечалось в предыдущей работе [10], лигнин является эталонным представителем класса неупорядоченных биополимеров, присутствующих в водной среде. Кинетика биodeградации лигнина во многом определяется его молекулярной структурой, которая формируется в процессе синтеза. В связи с этим, задача данной работы состоит в том, чтобы проанализировать строение лигнина и выявить закономерности его структурной организации, общие для данного класса биополимеров. Найденные закономерности затем будут использованы для анализа механизмов деструкции и построения математической модели этого процесса.

### МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА ЛИГНИНА

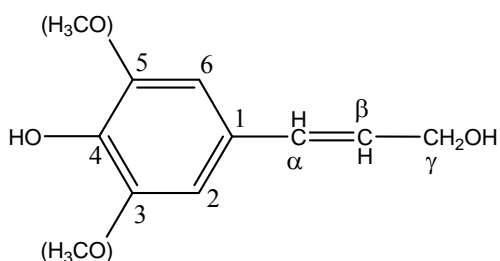
Лигнин — один из наиболее распространенных в природе биополимеров, составляющих 20–33% древесины. Лигнин медленно распадается и составляет вместе со своими производными значительную часть пула углерода в природных водах [26, 27]. Молекулярная структура лигнина формируется в процессе его синтеза. Синтез макромолекул лигнина мо-

жет протекать в двух характерных режимах [17, 32, 35]: 1) *endwise*-полимеризация — медленный рост макромолекулы за счет присоединения отдельных феноксильных радикалов к растущей структуре; 2) *bulk*-полимеризация — быстрый процесс при избытке мономеров, который идет через рекомбинацию радикалов, димеризацию дилигнолов с образованием тетрамеров, полимеризацию тетрамеров и последующую агрегацию по механизму кластер-кластер.

В процессе своего формирования макромолекулы могут подвергаться как деструкции, так и конденсации с образованием соединений с более высокой молекулярной массой. По характеру изменений в макромолекуле лигнина конденсация может быть трех типов [26]. Первый тип — редкая сшивка. В этом случае образуется редкая пространственная сетка за счет группировок на периферии макромолекул, сближенных и ориентированных друг к другу благодаря водородным связям, т.е. рост макромолекул идет по механизму кластер-кластерной агрегации. Второй тип — формирование трехмерной структуры, при котором в процесс сшивки вовлекаются все новые участки макромолекулы. Третий тип — перестройка макромолекул с накоплением полициклических структур. Такая перестройка происходит в жестких условиях высокой температуры или повышенной концентрации ионов  $H^+$  или  $OH^-$  (т.е. в периоды сильного закисления или защелачивания вод). Реакции конденсации могут протекать также с вовлечением различных низкомолекулярных органических соединений.

В структурном отношении лигнин принципиально отличается от других биополимеров, механизм синтеза которых предопределен на генетическом уровне. Лигнин является высокогетерогенным по химическому строению, неупорядоченно сшитым в трехмерную сетку фенилпропановым биопластиком [11]. В отличие от других натуральных биополимеров, характерной чертой которых является стереорегулярность, лигнин не имеет регулярного строения.

Лигнин является смесью высокомолекулярных полифункциональных соединений, построенных из метоксилированных в различной степени *n*-оксифенилпропановых мономеров [46, 3, 8, 26, 27], структура которых изображена на рис. 1. Согласно общепринятой номенклатуре лигнинов, в фенилпропановой структуре (кратко обозначаемой как  $C_9$ ) атомы углерода ароматического кольца нумеруются цифрами 1–6, начиная от атома с алифатическим заместителем, а атомы пропановой части нумеруются буквами  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  в направлении от ароматического кольца. Такой способ нумерации удобен для обозначения связей между фенилпропановыми звеньями в молекуле лигнина.



**Рис. 1.** Фенилпропановый мономер — структурная единица лигнина. Метоксильные группы в скобках могут быть в наличии или отсутствовать.

В зависимости от наличия метоксильных групп существуют три мономера-предшественника:

- 1) *n*-кумаровый спирт — без метоксильных групп (молекулярная масса 150 Да) (гидроксифенилпропановая структура);
- 2) кониферилловый спирт — одна метоксильная группа (180 Да) (гваяцилпропановая структура);
- 3) синапиловый спирт — две метоксильные группы (210 Да) (сирингилпропановая структура).

Элементный состав большинства препаратов лигнина, выделенных разными методами, несколько различается, однако вариация не превышает разброса внутри разных образцов, проанализированных одним методом. Это позволяет рассчитать средний состав мономерного звена хвойных и лиственных лигнинов (табл. 1).

**Таблица 1.** Брутто-формула  $C_9H_xO_y(OCH_3)_z$  среднего состава мономерного звена для хвойных и лиственных лигнинов (метод выделения — по Бьёркману; рассчитано по данным [35])

<b>Хвойные</b>	x	y	z	<b>Лиственные</b>	x	y	z
Ель ( <i>P. abies</i> )	8.3	2.7	0.94	Бук ( <i>F. sylvatica</i> )	8.6	3.1	1.4
Сосна ( <i>P. sylvestris</i> )	8.5	2.5	0.94	Береза ( <i>B. verrucosa</i> )	9.4	3.1	1.5
Туя ( <i>T. plicata</i> )	8.4	2.6	0.94	Осина ( <i>P. tremuloides</i> )	8.4	3.0	1.5
Лиственница ( <i>L. occidentalis</i> )	8.9	2.7	0.76	Ольха ( <i>A. rubra</i> )	8.2	3.4	1.4
Тсуга ( <i>T. heterophylla</i> )	8.5	2.7	0.91	Клен ( <i>A. macrophyllum</i> )	7.7	3.0	1.3
Пихта ( <i>P. menziesii</i> )	8.4	3.0	0.81	Эвкалипт ( <i>E. regnans</i> )	8.6	2.9	1.6
<b>Среднее</b>	<b>8.5</b>	<b>2.7</b>	<b>0.88</b>	<b>Среднее</b>	<b>8.5</b>	<b>3.1</b>	<b>1.45</b>

Видно, что лиственные лигнины содержат больше метоксильных групп (1.45), чем хвойные (0.88). Кроме того, содержание кислорода в лиственных лигнинах в среднем несколько выше, чем в хвойных.

Таким образом, несмотря на разнообразие структур, основными для лигнинов хвойной древесины являются структуры гваяцилпропана, а для лиственных, кроме упомянутых, — также структуры сирингилпропана. Наиболее однороден лигнин хвойных пород: он содержит свыше 90% структурных единиц гваяцильного типа. По характеру боковой пропановой цепи структурные звенья лигнина подразделяются на арилглицериновые (~80%) и карбонилсодержащие (~20%), что свидетельствует о преобладании восстановленной формы боковой цепи по сравнению с окисленной. В состав лигнина однолетних растений, в том числе и водных, вместе с указанными структурами входят производные *n*-оксифенилпропана [3, 8, 46].

Макромолекулы лигнина содержат циклические структуры и различные функциональные группы (гидроксильные, карбоксильные, карбонильные, метоксильные). Число функциональных групп в лигнинах разных видов древесины представлено в табл. 2.

**Таблица 2.** Основные функциональные группы в лигнинах на 100 единиц  $C_9$  [55, 56]

(в скобках — березовый лигнин, без скобок — еловый лигнин)

Функциональные группы	Общее число
<i>Гидроксильные группы:</i>	
Свободные фенольные гидроксогруппы ArOH	15–30 (9–13)
Алифатические гидроксогруппы	105–109
<i>Суммарные карбонильные группы:</i>	
$\alpha$ -CO	6–7
Несопряженные карбонильные группы C=O	10
Коричный альдегид Ar-CH=CH-CHO	3–4
<i>Концевые группы:</i>	
Кониферилловый спирт Ar-CH=CH-CH <sub>2</sub> OH	3
Арилглицерол Ar-CH=CH-	2
Арилпропан Ar-C-C-CH <sub>3</sub>	4
Метоксильная группа OCH <sub>3</sub>	92–96 (139–158)
Бензиловый спирт Ar-CH <sub>2</sub> OH	15–20
Нециклические эфиры Ar-O-Ar	5–9

Видно, что значительно преобладают алифатические гидроксогруппы и метоксильные группы; остальные представлены в небольших количествах. В этом смысле, химический состав лигнина достаточно однороден.

Фенилпропановые звенья в лигнине соединены более чем десятью типами связей. Число основных типов связей между звеньями представлено в табл. 3. Наиболее представительна эфирная связь  $\beta$ -O-4. Другие эфирные связи присутствуют в значительно меньших количествах. Из C-C связей в большинстве случаев преобладает  $\beta$ -5 связь; иногда 5-5 и  $\beta$ -1 связи присутствуют в сравнимых количествах (особенно у елового лигнина).

**Таблица 3.** Число основных типов межмономерных связей в разных моделях лигнина (на 100 единиц C<sub>9</sub>) (прочерк — отсутствие данных)

Тип связи	Модели хвойных лигнинов			Ель ( <i>P. abies</i> ) [35, 56]	Модель ли- ственного лигнина [52]	Береза [56]
	[50]	[55]	[45]			
$\beta$ -O-4	} 55	45	49-51	25-50	} 65	60-62
$\alpha$ -O-4		11	6-8	3-15		6-8
$\beta$ -5	16	16	9-15	9-14	6	—
5-5	9	—	9.5	9.5-22	2.3	4.5
4-O-5	3	—	3.5	—	1.5	6.5
$\beta$ - $\beta$	2	7-14	2	2.5	5.5	—
$\alpha$ -O- $\gamma$ , $\gamma$ -O- $\gamma$	10	7	—	6	—	—
$\alpha$ - $\beta$	11	—	—	—	2.5	—
$\beta$ -1	9	9	2	2-15	15	7
$\beta$ -6, 6-5	2	4; 21	} 4.5-5	2.5-3; —	—	1.5-2.5
1-O-4, 1-5	1-5	7; —		3.5-8; —	—	—

Макромолекулы лигнина внутри прощиты водородными связями, которые образуются между водородом OH-группы и любым кислородом другой группы. В образование водородных связей могут включаться и ОСН<sub>3</sub> группы. Одно фенилпропановое звено образует в среднем 2.5-3 водородные связи с соседними звеньями [38].

Энергии связей варьируют в зависимости от типа связей и их локального окружения. По данным Мелвин-Хьюза [20] энергии разрыва связей таковы (ккал/моль): C-C (бензольное кольцо) 116.4; C-C (алканы) 79.3; C-O (спирты, простые эфиры) 79.6. Энергия водородной связи по разным оценкам варьирует в интервале 2-5 ккал/моль [38], 4-8 ккал/моль [1, 21]. Отметим, что связи C-C (в алканах) и C-O (в эфирах) имеют практически одинаковую энер-

гию. Отсюда следует, что для отрыва фенилпропанового мономера от макромолекулы лигнина необходимо разорвать одну алкиларильную С–С связь (ариларильные С–С связи более прочны) или одну эфирную С–О связь и примерно три водородные связи, т.е. затратить энергию 80–100 ккал/моль.

При технологическом извлечении лигнина из древесины происходит его значительная модификация. Примерами получаемых препаратов являются высококонденсированные сернокислотные лигнины Класона, лигнины молотой древесины Бьёркмана, лигнины, полученные экстракцией диоксаном, ферментные лигнины, выделенные после обработки древесины целлюлазами или грибами бурой гнили, этанол-лигнины Браунса и другие, но ни один из них, в принципе, не может считаться тождественно равным нативному лигнину [32]. Считается, что лигнины Бьёркмана наиболее близки по структуре к нативным.

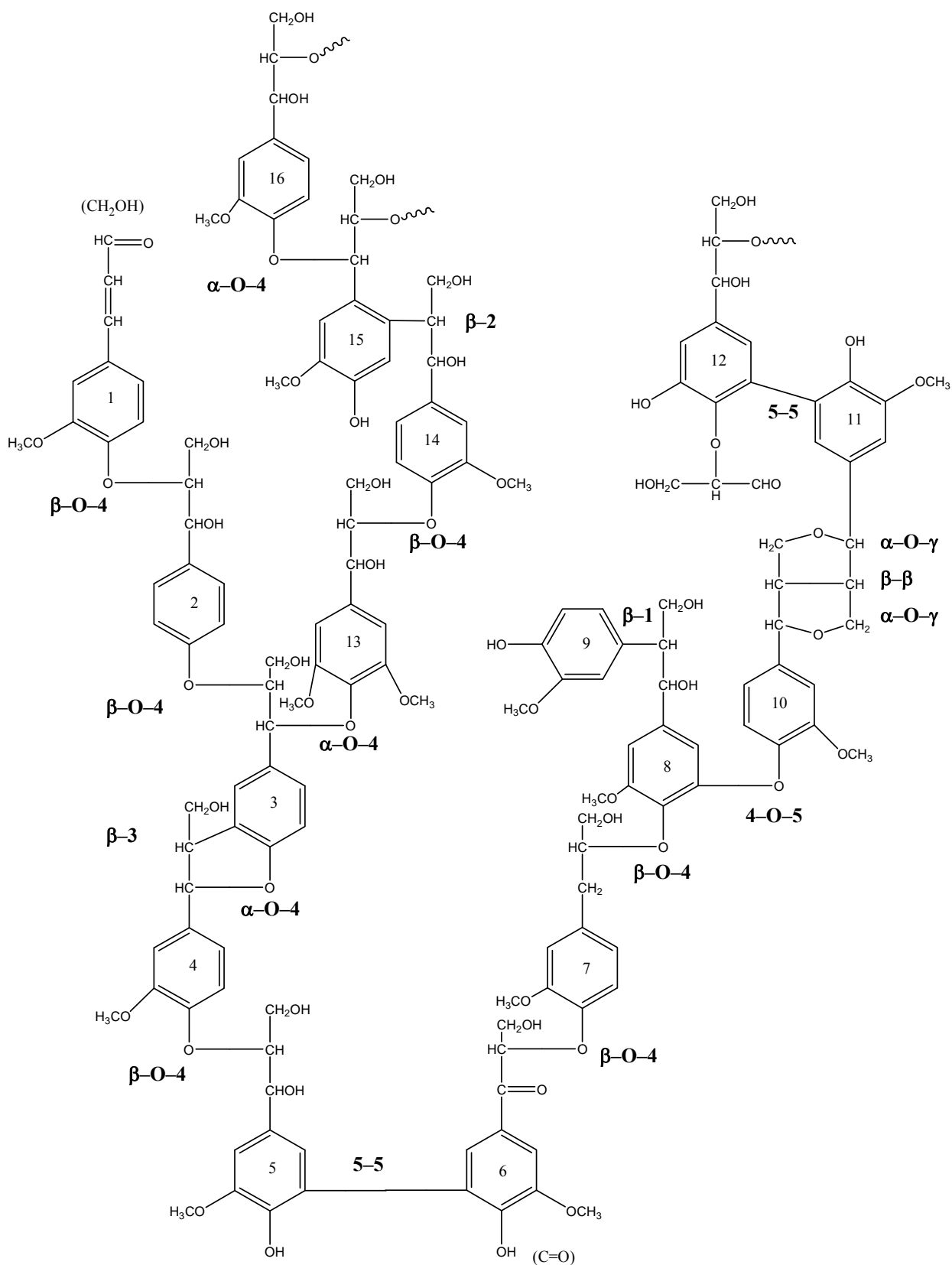
## МОДЕЛИ СТРУКТУРЫ ЛИГНИНОВ

Адлер [39] построил наиболее простую модель елового лигнина, включающую 16 типов С<sub>9</sub>-звеньев, на основе данных окислительной дегградации (рис. 2).

Одна из моделей структуры хвойного лигнина предложена в [48] на основе закономерностей дегидрогенизационной полимеризации оксикоричных спиртов под действием лакказ и пероксидаз. Она представляет собой фрагмент макромолекулы из 18 фенилпропановых единиц, в то время как вся макромолекула намного больше. Однако надо иметь в виду, что реальный лигнин отличается от дегидрополимера, синтезируемого *in vitro*. В процесс синтеза лигнина *in vivo* вовлекаются углеводные и жирнокислотные компоненты, экстрактивные вещества древесины — разнообразные вторичные метаболиты, предшественники и производные оксикоричных спиртов, что отражается и на составе функциональных групп в образцах лигнинов.

Модель хвойного лигнина на основе оценки продуктов его мягкого гидролиза смесью диоксана и воды и гидрогенолиза предложена в работе [55]. Она рассматривает 28 С<sub>9</sub>-единиц с различными альтернативными структурными элементами в согласии с большинством доступных аналитических данных.

Самая большая модель хвойного лигнина создана в работе [50], где смоделирован фрагмент с общей молекулярной массой более 17 кДа из 95 С<sub>9</sub>-единиц. Он построен компьютером на основе имитации радикальной полимеризации *n*-оксикоричных спиртов с учетом обширной аналитической информации по сосновому лигнину, включая ЯМР, хромато-масс-спектрометрию и гель-хроматографию, а также с использованием некоторых гипотетических структур.



**Рис. 2.** Фрагмент структуры елового лигнина (по [39]). Волнистые линии — места продолжения структуры. В скобках приведены возможные варианты структурных элементов. Указаны стандартные обозначения межмономерных связей ( $\beta$ -O-4 и т.п.).

Исследования лигнинов лиственных пород древесины были выполнены преимущественно на образцах измельченных лигнинов березы и бука. Общий принцип построения синригельных лигнинов путем дегидрополимеризации синапилового спирта аналогичен механизму, предложенному для кониферилового спирта. Нимц [52] выделил несколько типов связей между  $C_9$ -мономерами (см. табл. 3) и по этим данным составил гипотетическую формулу букового лигнина из 25 фенилпропановых единиц, включая шесть единиц, замещаемых на альтернативные модифицированные структуры.

Рассмотренные модели показывают, что существуют общие принципы строения макромолекул лигнина, учитывающие типы связей и частоты их встречаемости. В то же время, смоделированные структуры — это лишь гипотетические концептуальные схемы, развернутые на плоскости, хотя реальная структура лигнина является трехмерной хаотической.

## СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ ЛИГНИНА

Можно выделить несколько иерархических структурных уровней, различающихся по сложности: молекулярный, топологический, надмолекулярный, коллоидный [12, 14, 15].

Молекулярный уровень рассматривает взаимодействие фенилпропановых звеньев через установление межмономерных связей. На этом уровне наблюдаются комбинации нескольких мономерных звеньев (гваяцильного, синригельного и *n*-оксифенилпропанового типа) и нескольких типов межмономерных связей (эфирные, углеродные); в образовании межмономерных связей может участвовать практически любой углеродный атом [8, 39]. Этот тип структуры иллюстрирует рис. 2.

Топологическая структура — это уровень структурной организации, который характеризует связность мономерных элементов без учета конкретного химического содержания. Она может быть описана на основе теории графов, например, с использованием статистики разных типов узлов, ребер, циклов, цепей. Дополнительно может учитываться конфигурация (геометрическое расположение атомов, определяемое фиксированными химическими связями между соседними звеньями) и конформация макромолекулы (структура, которая реализуется при вращении сегментов цепи или мономерных звеньев вокруг отдельных связей).

Надмолекулярная структура описывает взаимное расположение химически однотипных фрагментов макромолекул, ответственных за плотность упаковки.

Уровень коллоидной организации имеет дело с коагуляционными агрегатами, сформированными из макромолекул лигнина. Количественными характеристиками коллоидной структуры служат размеры и форма агрегатов, степень упорядоченности.

Каждый последующий уровень является более сложным и генетически в значительной мере предопределяется предыдущим [17].

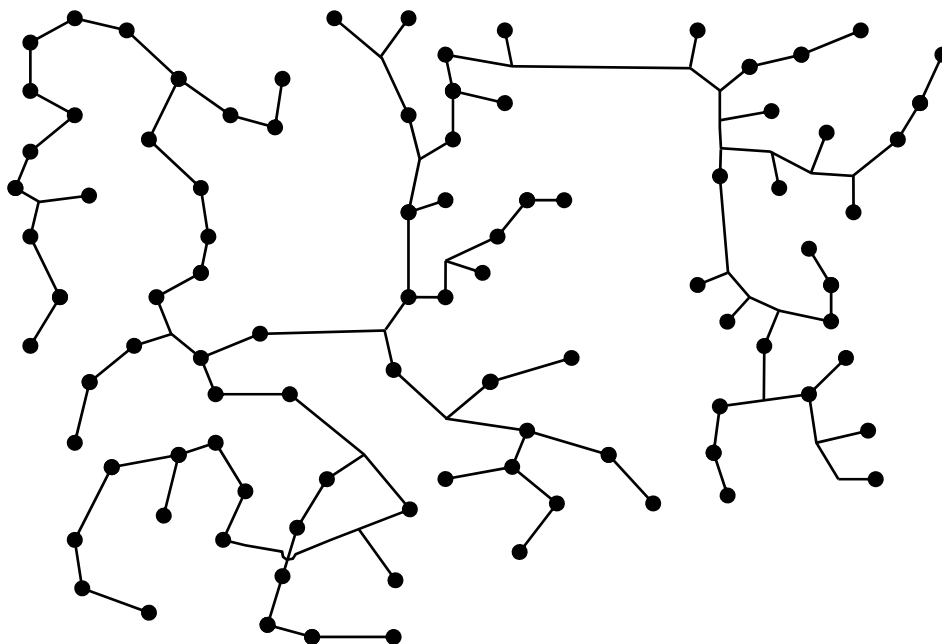


Характерная особенность лигнина как полимера — это многообразие первичных микроструктур, гетерогенность и хаос на молекулярном уровне, которые во многом обусловлены структурой мономерного фенокисьного радикала, способного существовать в различных мезомерных формах [35].

Макромолекулы лигнина образуются при случайной рекомбинации фенокисьных радикалов. Поэтому уже на начальной стадии роста макромолекулы возникает большое число различных первичных микроструктур — дилигнолов, которые являются повторяющимися элементами структуры [6, 7, 12]. В целом, топологическая структура макромолекул лигнина — дендроидная (в виде графа-дерева) с редкими внутримолекулярными сшивками (циклами) [5, 22]. В древесине лигнин существует в виде хаотической гелеобразной бесконечной сетки, а в водной среде — в виде золя с широким спектром размеров и структур макромолекул-кластеров [14, 23, 24, 27].

Проанализируем топологическую структуру, которая присуща расширенной модели хвойного лигнина, предложенной в [50] и изображенной там в виде схемы по типу рис. 2, но с гораздо большим числом мономеров. Построим для этой модели граф, который должен в сжатом виде показывать интересующие нас элементы структуры и их связность. Цель такого представления состоит в том, чтобы выявить структуру макромолекулы, важную с точки зрения процесса деструкции. Исходя из этой цели, в качестве узлов графа надо выбрать наиболее прочные элементы структуры — ароматические кольца фенилпропановых мономеров, а в качестве ребер графа показать тот минимум элементарных связей (описанных в табл. 3 и частично присутствующих на рис. 2), которые надо разорвать, чтобы отделить рассматриваемый узел от основной части графа. Следуя этому принципу, можно показать, что вышеупомянутой модели хвойного лигнина соответствует граф, изображенный на рис. 3. Этот граф описывает фрагмент макромолекулы, состоящий из 95 фенилпропановых мономеров. Особенностью построенного графа является наличие побочных узлов (кроме основных узлов, которым отвечают ароматические кольца), в которых происходит сопряжение связей без участия колец. Введение этих узлов отражает реальную картину связей в макромолекуле. Обойтись без них невозможно: иначе не удастся правильно передать связность ароматических колец, которая важна с точки зрения процесса деструкции.

Каждый мономер может образовывать несколько связей с соседями (в изображенном графе — от одной до трех; характер связей поясняет рис. 2). Число мономеров с одной связью равно 33, с двумя — 53, с тремя — 9 (относительные количества 34.7, 55.8 и 9.5% соответственно). Построенная структура — чисто дендроидная, в ней нет ни одного цикла. В реальных же структурах возможна редкая поперечная сшивка, приводящая к образованию циклов.



**Рис. 3.** Фрагмент топологической структуры макромолекулы хвойного лигнина. Жирные точки — ароматические кольца фенилпропановых мономеров, линии — связи между ними. Связи могут сопрягаться и без участия ароматических колец.

При синтезе лигнина реакционная способность функциональных групп, в том числе активных центров полимеризации, не зависит от размера макромолекул. Это положение известно как принцип Флори [47] и широко используется при расчетах кинетики полимеризации. Естественно, этот принцип справедлив лишь для достаточно крупных молекул. Для относительно небольших молекул — олигомеров — существенным оказывается индуктивный эффект, который отражает зависимость реакционной способности функциональной группы от размера молекулы. Однако с увеличением размера это влияние быстро нивелируется, так что его роль в макромолекулах незначительна [19]. В то же время, в сложных макромолекулах определенное значение приобретают локальные факторы, такие как состав и пространственная организация в непосредственной окрестности функциональной группы, которые могут повлиять на ее реакционную способность.

### ФРАКТАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА МАКРОМОЛЕКУЛ

В работах [13, 14, 16] рассмотрена фрактальная модель строения макромолекулы лигнина, согласно которой в структуре лигнина соблюдается масштабная инвариантность. В [14, 17] установлено, что конфигурация макромолекул природного лигнина отвечает модели хаотически разветвленного фрактального кластера (рис. 4).



**Рис. 4.** Модель фрактального кластера (расчет методом Монте-Карло [17]).

Характерным свойством фрактального кластера является степенная зависимость его массы  $M$  от размера  $L$

$$M \approx M_1(L/L_1)^d,$$

где  $M_1$  — масса мономера (в случае лигнина — фенилпропанового звена),  $L_1$  — средний размер мономера,  $d$  — фрактальная размерность кластера,  $1 \leq d \leq 3$  (заметим, что обычно в литературе фрактальную размерность обозначают  $d_f$ , а за  $d$  сохраняют смысл размерности физического пространства; в нашем случае последняя величина всегда равна 3, поэтому для упрощения обозначений будем писать вместо  $d_f$  просто  $d$ ).

Так как  $n = M/M_1$  — число мономеров в кластере, то указанную зависимость можно представить в виде

$$n \approx (L/L_1)^d.$$

Поверхность  $S$  фрактального агрегата также связана степенной зависимостью с его радиусом:

$$S \approx L_1^2(L/L_1)^D,$$

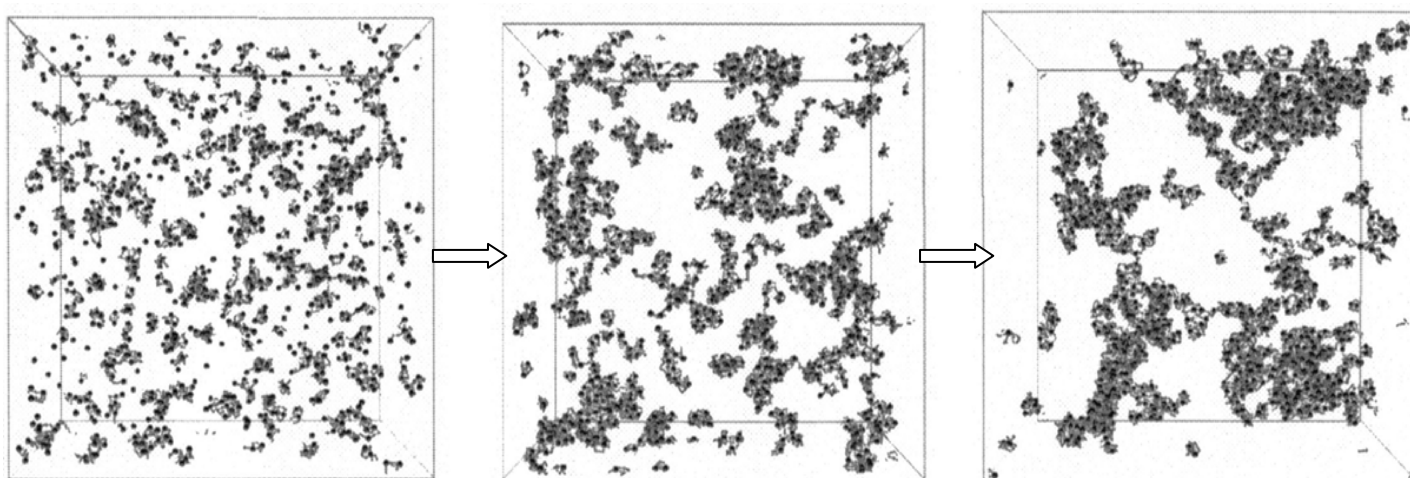
где  $D$  — фрактальная размерность поверхности кластера,  $2 \leq D \leq 3$  [41, 53, 54]. Все соотношения записаны с точностью до множителя (формфактора) порядка 1. Отметим частные случаи: 1) для компактного (нефрактального) кластера  $d = 3$ ; 2) гладкая поверхность имеет  $D = 2$ ; 3) неупорядоченная поверхностная структура со свойствами объема кластера имеет  $D = 3$ ; 4) коллоидные частицы, полученные в результате гидролиза и полимеризации крем-

нийсодержащего мономера тетраэтилортосиликата в присутствии основного катализатора, обладают рыхлой фрактальной поверхностью с  $D = 2.7$  [37].

Приведенные фрактальные свойства необходимо учитывать при моделировании кинетики образования и деструкции макромолекул лигнина.

Ввиду высокой реакционной способности феноксильных радикалов, при синтезе лигнина лимитирующим фактором в образовании кластеров является диффузия, т.е. реализуется так называемый механизм диффузионно-контролируемой агрегации (в отличие от кинетически-контролируемой агрегации, где медленной стадией является присоединение частицы к кластеру). При низкой концентрации мономеров и невысокой численности кластеров их рост идет за счет агрегации по типу кластер–частица [57], т.е. путем случайного присоединения фенолпропановых звеньев к уже существующим растущим макромолекулам лигнина.

Напротив, при высокой концентрации мономеров быстро образуется большое число кластеров, которые затем коалесцируют между собой, т.е. в данном случае построение макромолекулы идет преимущественно путем кластер-кластерной агрегации [48, 51]. Численное моделирование методом Монте-Карло, проведенное в [44], позволяет наблюдать последовательные этапы сборки агрегатов (рис. 5).



**Рис. 5.** Имитация сборки агрегатов из мономеров. Расчет методом Монте-Карло для системы, состоящей из 1000 частиц и 3000 связей, случайно распределенных на кубической решетке с объемной долей частиц 0.01 (по [44]).

Как известно [29], при обоих механизмах роста образуются кластеры с фрактальной структурой, но их фрактальные размерности различаются. Численное моделирование агрегации [29, 33] дает в случае механизма частица–кластер размерность  $d$  около 2.5, тогда как при

кластер-кластерном механизме роста получают более рыхлые агрегаты с размерностью около 1.8.

В работе [14] методами молекулярной динамики проведено исследование различных аспектов структурной организации природного лигнина и его макромолекулярных биосинтетических аналогов — дегидрополимеров. Было показано, что макромолекулы лигнинов являются фрактальными кластерами с хаотически разветвленными цепями. Были рассчитаны фрактальные размерности макромолекул, выращенных по механизму агрегации кластер-частица; результаты таковы:  $d = 2.62 \pm 0.27$  при синтезе дегидрополимеров *in vitro* при интенсивной подаче мономера в зону реакции (так называемый bulk-метод); 2.44 для образцов лигнина механического размола;  $2.48 \pm 0.14$  для разных фракций диоксанлигнинов;  $2.54 \pm 0.10$  для компьютерных трехмерных кластеров с вероятностью присоединения частиц к кластеру, варьируемой в интервале 0.2–1 (всюду разброс относительно среднего составляет  $\pm 2$  стандартных отклонения).

По другим оценкам [2, 18] фрактальная размерность макромолекул диоксанлигнина и лигносульфонатов равна 2.44.

Объединение частиц во фрактальный кластер может происходить не только путем установления одного контакта, но и нескольких контактов с течением времени. Первый контакт может быть нежестким, и частицы могут поворачиваться до следующего контакта, и только после третьего контакта возникает жесткая связь. Это приводит к повышению фрактальной размерности кластера [34]. Например, при образовании фрактальных кластеров в растворах [42] на малых временах (секунды, минуты) формируются кластеры с размерностью 1.75, что отвечает механизму кластер-кластерной агрегации. Увеличение времени роста до часов и суток приводит к размерности 2.05, что говорит о постепенном уплотнении структуры кластеров за счет внутримолекулярной переориентации и образования новых связей.

Таким образом, разнообразные экспериментальные исследования и модельные расчеты подтверждают тезис о том, что макромолекулы лигнина обладают фрактальной структурой. Фрактальная размерность равна  $\sim 2.5$  в случае роста по механизму кластер-частица и  $\sim 1.8$  по механизму кластер-кластер.

В [16] для углубления представлений о динамических закономерностях синтеза лигнина (в системе пероксидаза—пероксид водорода—дегидрополимер) использован подход, основанный на теории самоорганизованной критичности [40]. Характерной особенностью системы, функционирующей в режиме самоорганизованной критичности, является генерация временных фракталов. В качестве динамического процесса в [16] рассматривался ход окислительно-восстановительного потенциала при дегидрополимеризации кониферилового спирта, одного из основных мономерных предшественников хвойных лигнинов. Обнаруже-

но, что система генерирует фликкер-шум со спектром мощности, зависящим от частоты по закону  $1/f^\nu$  с показателем степени  $\nu = 0.8$ . Получена функция распределения макромолекул по размеру  $L$ , которая имеет степенную асимптотику  $L^{-k}$  с показателем  $k = 3.6$  (для кониферилового спирта). Аналогичный показатель для феруловой кислоты по предварительным грубым оценкам равен 1.4. Из анализа корреляционной функции была рассчитана размерность аттрактора, которая равна 2.48. Это говорит о том, что для описания динамики этой системы в окрестности аттрактора достаточно трех уравнений.

## РАЗМЕРЫ МАКРОМОЛЕКУЛ И МОЛЕКУЛЯРНАЯ МАССА ЛИГНИНА

### *Размеры частиц лигнина*

Размеры макромолекул и их агрегатов варьируют в широких пределах в зависимости от рН, температуры, концентрации ферментов, кислорода, пероксида и от других параметров среды. Зависимость от рН была рассмотрена на примере низкоконцентрированных (10 мг/л) дисперсий сульфатного лигнина в широком интервале рН 12–2 [30, 31, 36]. Коагуляция частиц становится заметной уже при рН 11.0, а при рН 4.5 протекает с высокой интенсивностью. Фильтрация через трековые мембраны позволила найти эффективность фильтрационной задержки коагуляционных агрегатов. Построенная по этим данным функция распределения агрегатов по размерам изображена на рис. 6. Отсюда путем дифференцирования можно получить плотность распределения агрегатов по размерам (рис. 7).

Видно, что плотность распределения бимодальна. Одна мода отвечает мелким частицам ( $d < 50$  нм), а другая — крупным ( $d > 70$  нм). С уменьшением рН доля мелких частиц падает, а крупных растет. При рН 4.6 имеется широкое распределение крупных частиц в области размеров  $d > 90$  нм, уходящее за 200 нм. Мелкие частицы ( $d < 50$  нм) также присутствуют. В промежуточной области размеров 50–90 нм частиц практически нет. Причина такого разделения фракций связана с возможностью распада коагуляционных агрегатов под действием гидродинамических напряжений. Этот эффект является общим для коагулирующих дисперсий разной природы; он теоретически описан в [9]. Появление крупных агрегатов с уменьшением рН объясняется следующим образом [30]. При рН 12.0 частицы сульфатного лигнина имеют высокую плотность поверхностного заряда (более 2.0 мг-экв/г), обусловленную полной диссоциацией карбоксильных ( $pK_{\text{COOH}} < 4.75$ ) и фенольных гидроксидов ( $pK_{\text{ФЕН}} \approx 10.5–11$ ), обеспечивающих высокую агрегативную и седиментационную устойчивость системы.

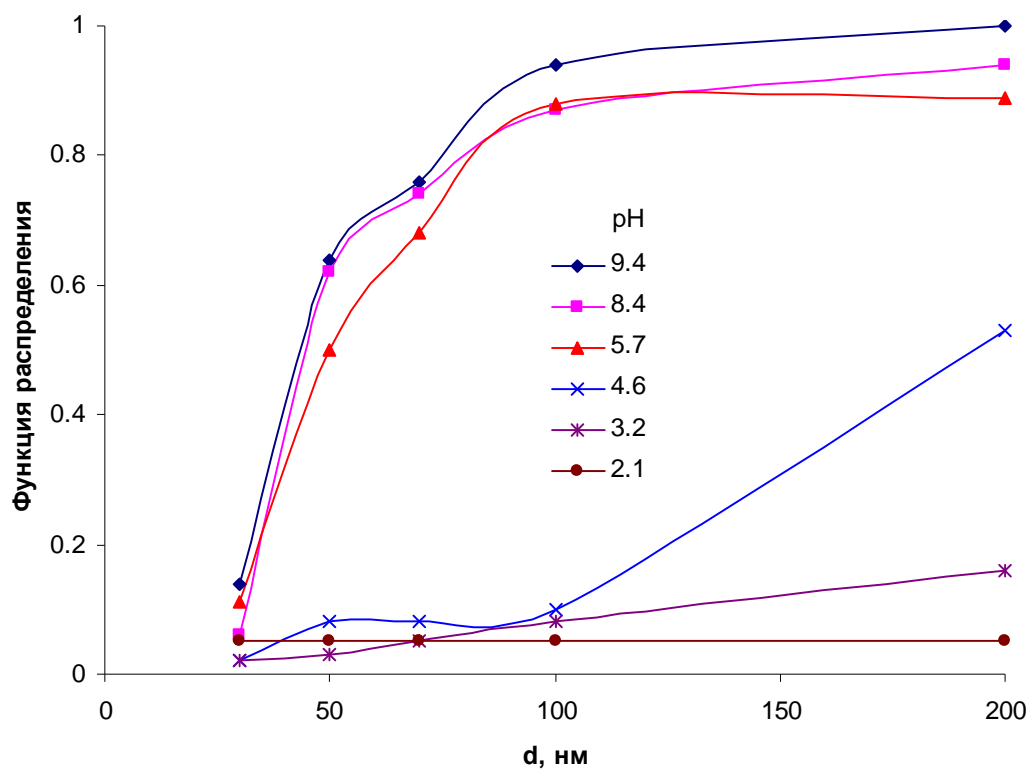


Рис. 6. Функция распределения коагуляционных агрегатов по размерам.

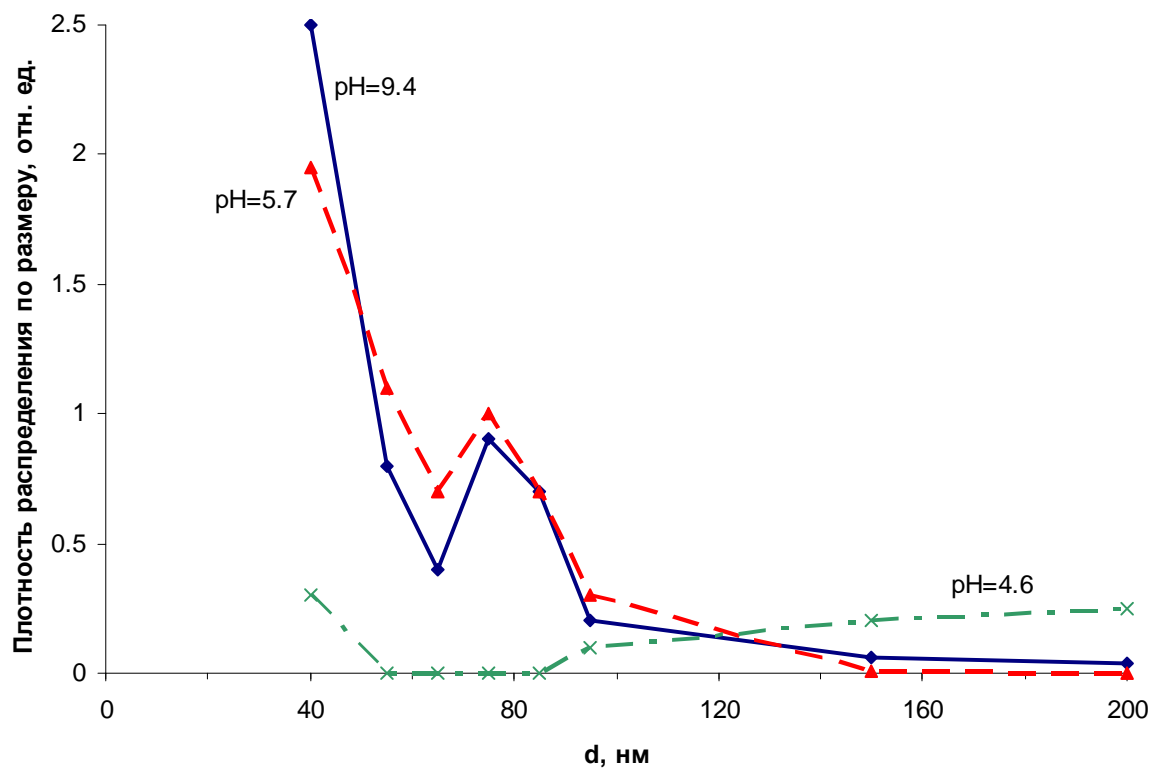


Рис. 7. Плотность распределения агрегатов по размерам (расчет по данным рис. 6).

Понижение рН значительно снижает заряд поверхности, что приводит к частичной потере агрегативной устойчивости системы. Однако седиментационная устойчивость сохраняется, так как размер образовавшихся агрегатов еще достаточно мал. При рН 2.3, в условиях приближения к изоэлектрическому состоянию, диссоциация фенольных гидроксильных групп полностью подавлена, а плотность поверхностного заряда (около 0.3 мг-экв/г) обусловлена лишь частичной диссоциацией карбоксильных групп и уже не является достаточной для сохранения седиментационной устойчивости. Практически полное осаждение сульфатного лигнина наблюдается в изоэлектрической точке рН  $\approx$  2.0. Но даже вблизи изоэлектрического состояния в системе существуют и мелкие частицы (<30 нм).

В работе [49] при изучении деполимеризации лигнина фиксировали частицы размером 350–650 нм, а через 30 дней эксперимента 135–220 нм. По данным [35] размер молекул лигносульфонатов может колебаться в пределах 20–50 нм, а для еловых лигнинов 10–100 нм.

#### *Молекулярная масса лигнина*

Молекулярная масса макромолекул зависит от их состава и от способа выделения. Различия между среднечисловой  $M_n$  (которая равна среднеарифметической массе молекул в образце) и средневесовой молекулярной массой  $M_w$  (учитывающей распределение молекул по массам) демонстрируют высокую степень полидисперсности его образцов. По массе  $M_w$  можно судить о среднем числе фенилпропановых звеньев ( $C_9$ -единиц) в составе макромолекулы, используя соотношение  $n = M_w / M_1$ , где  $M_1 \sim 180$  Да — средняя масса звена.

Для измельченных хвойных лигнинов определены величины  $M_w$  в пределах 7–11 кДа (40–60 звеньев) при отношении  $M_w / M_n = 3.1–3.4$ . Однако в других случаях получены  $M_w$  в диапазоне 15–21 кДа (80–120 звеньев) и даже 77–85 кДа (430–470 звеньев). Выделяемые фракции сильно полидисперсны и содержат полимерные молекулы со среднечисловой массой  $M_n$  от 2 до 19 кДа. Имеются также сведения о низкомолекулярных лигнинах бука, березы, осины, которые имеют  $M_w / M_n = 2.3–2.6$ ,  $M_w = 3.7–5.5$  кДа (20–30 звеньев) [25, 28]. По данным Карманова [14] молекулярные массы фракций для образцов диоксанлигнинов сосны в диоксане изменяются от нескольких до 100 кДа (до 550 звеньев), а для лигнина механического размола — до 64 кДа (до 350 звеньев). По другим литературным данным [43] молекулярные массы фракций доходили до 600–1000 кДа (3300–5500 звеньев). Таким образом, лигнин в водной среде представляет собой смесь молекул с широким спектром молекулярных масс: от нескольких мономерных единиц до нескольких тысяч. Еще большей массы могут достигать агрегаты, образующиеся в результате коагуляции макромолекул.



Спектр молекул лигнина теоретически описывается на основе молекулярно-массового распределения (ММР), которое изменяется с течением времени в процессах синтеза и деструкции лигнина и является важной кинетической характеристикой. Для расчета ММР в процессах полимеризации используются методы молекулярной динамики и Монте-Карло. В работе [4] (см. также [19]) методом Монте-Карло рассчитывались ММР при полимеризации в трехмерной решеточной системе, где в узлах решетки помещались реагирующие элементы, осуществлялся ввод инициатора, и имитировалось перемешивание. Количество вводимого инициатора и интенсивность перемешивания варьировались в разных сериях расчетов, но в пределах одного расчета оставались постоянными. Во всех случаях полученные ММР бимодальны, что отражает наличие двух фракций: мелкой и крупной. К первой принадлежат мономеры и олигомеры, а ко второй — макромолекулы. Такая двухфракционная картина вообще типична для коагуляционного формирования фрактальных кластеров независимо от механизма агрегации: кластер–частица или кластер–кластер [9]. Полимеризация и поликонденсация являются частными случаями коагуляции, отличаясь спецификой вероятностей присоединения элементарных звеньев и отрыва фрагментов. Таким образом, из различных теоретических расчетов следует, что лигнин в водной среде должен быть в основном сосредоточен в двух широких фракциях, одна из которых (мелкая) состоит из мономеров и олигомеров, а другая (крупная) — из макромолекул и их агрегатов. Промежуточные размеры представлены в меньших количествах. В связи с фрактальной структурой макромолекул-кластеров их распределение должно обладать масштабной инвариантностью, а значит, следует ожидать, что распределение макромолекул крупной фракции будет иметь протяженный степенной хвост, как это уже отмечалось выше. Наличие олигомеров наряду с макромолекулами — важная особенность, которая отражается на кинетике деструкции лигнина в водной среде.

## ЗАКОНОМЕРНОСТИ СТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ ЛИГНИНА

Проведенный анализ позволяет указать основные закономерности структурной организации лигнина:

1. Лигнин является смесью высокомолекулярных полифункциональных соединений, построенных из метоксилированных в различной степени *n*-оксифенилпропановых структурных единиц.

2. Структурные единицы лигнина могут соединяться более чем десятью типами связей. Наиболее представительна эфирная связь  $\beta$ -O-4.

3. Макромолекулы лигнина внутри прошиты водородными связями, которые образуются между фенилпропановыми звеньями. Одно фенилпропановое звено образует в среднем 2.5–3 водородные связи с соседними звеньями.

4. Для отрыва концевое фенилпропановое звено от макромолекулы лигнина необходимо разорвать одну связь С–С или С–О и около трех водородных связей, т.е. затратить энергию примерно 80–100 ккал/моль.

5. Основными для лигнинов хвойной древесины являются структуры гваяцилпропана, а для лиственных — структуры гваяцил- и сирингилпропана. Наиболее однороден лигнин хвойных пород: он содержит свыше 90% структурных единиц гваяцильного типа.

6. Характерная особенность лигнина как полимера — это гетерогенность и хаос на молекулярном уровне, которые обусловлены структурой мономерного феноксильного радикала, способного существовать в различных мезомерных формах.

7. Топологическая структура макромолекул лигнина — дендроидная с редкими внутримолекулярными сшивками. Фенилпропановые звенья образуют с соседями от одной до трех связей, причем концевые звенья образуют одну связь, а внутренние — в основном две (редко три) связи.

8. Реакционная способность функциональных групп лигнина не зависит от размера макромолекул.

9. Ввиду высокой реакционной способности феноксильных радикалов, при синтезе лигнина лимитирующим фактором в образовании кластеров является диффузия, т.е. реализуется механизм диффузионно-контролируемой агрегации.

10. Макромолекулы лигнина являются фрактальными агрегатами. Фрактальная размерность равна ~2.5 в случае роста по механизму кластер–частица и ~1.8 по механизму кластер–кластер.

11. Молекулы лигнина в водной среде могут состоять из разного числа фенилпропановых звеньев: от нескольких единиц до нескольких тысяч. Молекулярно-массовое распределение лигнина сосредоточено в основном в двух широких фракциях, одна из которых (мелкая) состоит из мономеров и олигомеров, а другая (крупная) — из макромолекул и их агрегатов. Распределение частиц крупной фракции асимптотически убывает по степенному закону.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Азаров В.И., Буров А.В., Оболенская А.В. Химия древесины и синтетических полимеров. СПб: ЛТА, 1999. 628 с.
2. Афанасьев Н. И. Структура макромолекул в растворах, на границах раздела фаз и поверхностноактивные свойства лигносульфонатов. Автореф. дисс. ... докт. хим. наук. Л., 1975. 42 с.
3. Браунс Ф.Э., Браунс Д.С. Химия лигнина. М.: Лесная промышленность, 1964. 863 с.
4. Варюхин С.Е., Иржак В.И. К вопросу об эффективности инициирования в радикальной полимеризации // Докл. РАН. 2004. Т. 397. № 5. С. 637–639.
5. Гравитис Я.А., Озоль-Калнин В.Г. Строение лигнина как полимера. 2. Структура и образование лигнина с точки зрения теории ветвящихся процессов // Химия древесины. 1977. № 3. С. 24–30.
6. Грушников О.П., Шорыгина Н.Н. О неоднородности природного лигнина // Успехи химии. 1971. Т. 40. № 8. С. 1394–1415.
7. Грушников О.П., Шорыгина Н.Н. Современные представления о биосинтезе лигнина // Успехи химии. 1972. Т. 41. № 11. С. 2024–2064.
8. Грушников О.П., Елкин В.В. Достижения и проблемы химии лигнина. М.: Наука, 1973. 296 с.
9. Долгоносов Б.М. Нелинейная динамика экологических и гидрологических процессов. М.: Книжный дом «Либроком»/URSS, 2009. 440 с.
10. Долгоносов Б.М., Губернаторова Т.Н. Моделирование биodeградации многокомпонентного органического вещества в водной среде. 1. Методология // Вод. ресурсы. 2010 (в печати).
11. Карманов А.П., Давыдов В.Д., Богомолов Б.Д. Современное состояние проблемы неоднородности природного лигнина // Химия древесины. 1982. № 2. С. 3–25.
12. Карманов А.П., Монаков Ю.Б. Образование пространственно-периодических структур при биосинтезе дегидрополимеров // Химия древесины. 1994. № 1. С. 62–64.
13. Карманов А.П., Кузнецов С.П. Компьютерное моделирование роста фрактальных макромолекул // Проблемы химии древесины и лесохимии. Сыктывкар, 1997. С. 63–67.
14. Карманов А.П. Лигнин. Структурная организация и самоорганизация // Химия растительного сырья. 1999. № 1. С. 65–74.
15. Карманов А.П. Характеристика лигнина клеточных оболочек // Высокомолекулярные соединения. 2000. Т. 42. № 7. С. 1213–1220.

16. Карманов А.П., Матвеев Д.В. Концепция самоорганизованной критичности в приложении к исследованию динамики биосинтеза лигнина // Химия растительного сырья. 2001. № 2. С. 31–37.
17. Карманов А.П. Самоорганизация и структурная организация лигнина. Екатеринбург: УрО РАН, 2004. 269 с.
18. 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.
19. Межиковский С.М., Иржак В.И. Химическая физика отверждения олигомеров. М.: Наука, 2008. 269 с.
20. Мищенко К.П., Равдель А.А. (ред.). Краткий справочник физико-химических величин. Л.: Химия, 1967. 200 с.
21. Никитин В.М. Химия древесины и целлюлозы. М.: Лесная промышленность, 1978. 368 с.
22. Озоль-Калнин В.Г., Кокоревич А.Г., Гравитис Я.А. Моделирование сетчатых кластеров конечного размера. Оценка реакционной способности, пространственной формы, топологической структуры // Высокомолекулярные соединения. Серия А. 1987. Т. 29. № 5. 964–969.
23. Пен В.Р., Пен Р.З., Тарабанько В.Е. Кинетика делигнификации древесины. 7. Моделирование деструкции лигнина методом Монте-Карло // Химия растительного сырья. 1998. № 3. С. 107–113.
24. Пен В.Р., Пен Р.З. Кинетика делигнификации древесины. Красноярск: СибГТУ, 1998. 200 с.
25. Рабинович М.Л., Болобова А.В., Кондращенко В.И. Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Кн. 1. Древесина и разрушающие ее грибы. М.: Наука, 2001. 264 с.
26. Резников В.М. Реакционная способность лигнина и его превращение в процессах делигнификации древесины // Химия древесины. 1977. № 3. С. 3–23.
27. Репникова Е.А., Алешина Л.А., Глазкова С.В., Фофанов А.Д. Исследование структуры лигнинов // Химия растительного сырья. 2004. № 1. С. 5–9.
28. Решетникова И.А. Деструкция лигнина ксилотрофными макромицетами. М.: Изд-во МГУ, 1997. 197 с.
29. Ролдугин В.И. Фрактальные структуры в дисперсных системах // Успехи химии. 2003. Т. 72. № 10. С. 931–957.

30. Рудакова И.С. Исследование агрегативной и седиментационной устойчивости дисперсий сульфатного лигнина в водных растворах электролитов. Автореф. дис. ... канд. химич. наук. СПб, 2007. 24 с.
31. Рудакова И.С., Молодкина Л.М., Чернобережский Ю.М., Дягилева А.Б. Исследование зависимости размеров частиц водных дисперсий сульфатного лигнина от рН методом фильтрации на трековых мембранах // Коллоидный журнал. 2007. Т. 69. № 5. С. 718–720.
32. Сарканен К.В., Людвиг К.Х. (ред.) Лигнины (структура, свойства и реакции). М.: Лесная промышленность, 1975. 592 с.
33. Смирнов Б.М. Физика фрактальных кластеров. М.: Наука, 1991. 135 с.
34. Суздалев И.П. Нанотехнология: физикохимия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов. М.: Ком Книга/URSS, 2006. 592 с.
35. Фенгель Д., Вегенер Г. Древесина: химия, ультраструктура, реакции. М.: Лесная промышленность, 1988. 512 с.
36. Чернобережский Ю.М., Рудакова И.С., Лоренцсон А.В. Спектрофотометрическое и точноультрамикроскопическое исследование агрегативной и седиментационной устойчивости водных дисперсий сульфатного лигнина в интервале рН 12.0–2.3 // Коллоидный журн. 2007. Т. 69. № 2. С. 261–264.
37. Шефер Д., Кефер К. Структура случайных силикатов: полимеры, коллоиды и пористые твердые тела // Фракталы в физике. М.: Мир, 1988. С. 62–71.
38. Шорыгина Н.Н., Резников В.М., Елкин В.В. Реакционная способность лигнина. М.: Наука, 1976. 368 с.
39. Adler E. Lignin chemistry – past, present and future // Wood Sci. Technol. 1977. V. 11. № 3. P. 169–218.
40. Bak P., Tang C., Wiesenfeld K. Self-organized criticality // Physical Review A. 1988. **38**: 364–374. [doi:10.1103/PhysRevA.38.364](https://doi.org/10.1103/PhysRevA.38.364).
41. Bale H.D., Schmidt P.W. Small-angle X-ray-scattering investigation of submicroscopic porosity with fractal properties // Phys. Rev. Lett. 1984. V. 53. № 6. P. 596–599.
42. Berry R.S. // Clusters of Atoms and Molecules: Theory, Experiment, and Clusters of Atoms (Springer Series in Chemical Physics. V. 52. Ed. Haberland H.). Berlin: Springer, 1994. Ch. 2.8. P. 187–205.
43. Brunow G. Methods to reveal the structure of lignin // Steinbüchel A. (ed.). Biopolymers. V. 1: Hofrichter M., Steinbüchel A. (eds.) Lignin, Humic Substances and Coal. Germany: Wiley–VCH, 2001. P. 89–116.

44. Chen T., Lamm M.H., Glotzer S.C. Biomolecule-directed assembly of nanoscale building blocks studied via lattice Monte Carlo simulation // *J. Chem. Phys.* 2004. V. 121. №. 8. P. 3919–3929.
45. Eriksson K.-E.L., Blanchette R.A., Ander P. *Microbial and Enzymatic Degradation of Wood Components*. Berlin: Springer, 1990. 398 p.
46. Flaig W. Effects of microorganisms in the transformation of lignin to humic substances // *Geochim. Cosmochim. Acta*. 1964. V. 28. P. 1523–1535.
47. Flory P.J. *Principles of Polymer Chemistry*. New York, 1953. 672 p.
48. Freudenberg K., Neish A.C. *Constitution and Biosynthesis of Lignin*. Berlin, 1986. 120 p.
49. Gidh A, Talreja D, Vinzant T.B, Williford T.C, Mikell A. Detailed analysis of modifications in lignin after treatment with cultures screened for lignin depolymerizing agents // *Appl. Biochem. Biotechnol.* Mar. 2006. V. 131. № 1–3. P. 829–843.
50. Glasser W.G., Glasser H.R. The evolution of lignin's chemical structure by experimental and computer simulation techniques // *Paperi ja Puu*. 1981. V. 63. P. 71–82.
51. Lai Yaun-Zong, Sarkanen K.V. Structural variation in dehydrogenation polymers of coniferyl alcohol // *Cellul. Chem. Technol.* 1975. V. 9. № 3. P. 239–245.
52. Nimz H. Beech lignin-proposal of a constitutional scheme // *Angew. Chem. (Internat. Edit.)*. 1974. V. 13. № 5. P. 313–321.
53. Pfeifer P., Avnir D. Chemistry in noninteger dimensions between two and three. I. Fractal theory of heterogeneous surfaces // *J. Chem. Phys.* 1983. V. 79. P. 3558–3565.
54. Pfeifer P., Avnir D. Chemistry in noninteger dimensions between two and three. II. Fractal surfaces of adsorbents // *J. Chem. Phys.* 1983. V. 79. P. 3566–3571.
55. Sakakibara M.A. *Chemistry of lignin. Wood and cellulosic chemistry*. New York, Basel: Marcel Dekker, 1991. P. 111–168.
56. Sjostrom E. *Wood chemistry: fundamentals and applications*. New York, London, Toronto, Sydney: Academic Press, 1981. 223 p.
57. Wilking J.N., Graves S.M., Chang C.B., Meleson K., Lin M.Y., Mason T.G. Dense cluster formation during aggregation and gelation of attractive slippery nanoemulsion droplets // *Phys. Rev. Lett.* 2006. V. 96. No. 1. 015501 (4).