

ИЗУЧЕНИЕ ХИМИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ ЛИГНИНА КАМНЕЛОМКИ СУПРОТИВНОЛИСТНОЙ (*SAXIFRAGA OPPOSITIFOLIA* L.) МЕТОДАМИ ИК- И ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ

А.В. Фалёва, А.В. Белесов, А.Ю. Кожевников

ФГАОУ ВО «Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова» (САФУ), Центр коллективного пользования научным оборудованием «Арктика», 163002, Россия, г. Архангельск, Наб. Северной Двины, д. 17

a.bezumova@narfu.ru

Впервые проведены исследования химической структуры лигнина, выделенного из растения рода Камнеломка. С помощью современных физико-химических методов, а также данных элементного анализа, получены сведения о его строении и химическом составе. По данным ИК-спектроскопии, подтверждена лигниновая ароматическая природа полученного образца. По результатам спектроскопии ^{13}C - и ^{31}P -ЯМР, рассчитано содержание основных функциональных групп. Рассчитана развернутая эмпирическая формула фенилпропанового структурного звена. В результате получен образец лигнина, который характеризуется низким содержанием метоксильных групп (0,19/C₉) и в тоже время значительным количеством свободных фенольных и алифатических гидроксильных групп (0,53/C₉), что не позволяет отнести его ни с одним ранее исследованным лигнином. По количественному соотношению основных фенилпропановых единиц лигнин камнеломки также заметно отличается от исследуемых ранее лигнинов. На основании проведенной двумерной спектроскопии ядерного магнитного резонанса установлено, что в химической структуре исследуемого образца присутствуют преимущественно единицы гваяцильного (G) и *n*-кумарового (H) типа с небольшим количеством сингильных (S) единиц. Полученные данные указывают на принадлежность исследуемого лигнина к GH-типу. Соотношение S:G:H составило 0,21:1,00:1,01. В качестве основных типов связей, характерных для структуры лигнина, следует отметить β-O-4 (7,1/100C₉) и α-O-4 (0,88/100C₉), участвующих в формировании структур β-арилового эфира и фенилкумарона соответственно. Предполагается, что в структуре лигнина камнеломки фенилпропановые единицы *n*-кумарового типа не участвуют в образовании простых эфирных связей, а формируют макромолекулу лигнина за счет образования углерод-углеродных связей и также могут участвовать в образовании сложноэфирных связей с фрагментами жирных кислот.

Ключевые слова: травянистые растения, лигнин, химическая структура, спектроскопия

Ссылка для цитирования: Фалёва А.В., Белесов А.В., Кожевников А.Ю. Изучение химической структуры лигнина камнеломки супротивнолистной (*Saxifraga oppositifolia* L.) методами ИК- и ЯМР-спектроскопии // Лесной вестник / Forestry Bulletin, 2020. Т. 24. № 2. С. 111–118. DOI: 10.18698/2542-1468-2020-2-111-118

Лигнин является структурным компонентом всех высших растений и определяется как сложный биополимер, построенный из фенилпропановых единиц (ФПЕ), полученных в результате окислительных реакций соединения одного-трех типов гидроксикоричных спиртов (кумарового, кониферилового и синапового). Соответствующие мономерные единицы обозначаются как *n*-гидросифенил (H), гваяцил (G) и сингил (S) [1].

Благодаря значительному природному содержанию, а также своей неоднородности и большому разнообразию фрагментов лигнины привлекли внимание многих исследователей. Большинство работ направлено на исследование лигнинов древесных пород в связи с их вовлеченностью в технологию целлюлозно-бумажного производства. Однако за последние десятилетия возрос и интерес к исследованию лигнинов травянистых растений, в частности, накоплен значительный объем данных о лигнинах злаковых культур (однодольные растения) [2, 3]. Это связано с тем, что солома злаков является крупнотоннажным отходом сельскохозяйственного производства и благодаря значительному содержанию лигнина может служить

перспективным сырьем для получения широко спектра низкомолекулярных веществ. Лигнинам двудольных травянистых растений уделено меньше внимания [4–6]. Ориентируясь на тот факт, что химическая структура лигнина весьма переменчива и во многом зависит от ботанического происхождения растения, выявление особенностей его химического строения на разных уровнях ботанической иерархии представляет значительный интерес.

Цель работы

В данной работе исследован лигнин, выделенный из растения рода Камнеломка. Вид Камнеломка супротивнолистная (*Saxifraga oppositifolia* L.) представляет собой многолетнее травянистое растение с ползучими стеблями длиной до 15 см и является одним из самых северных видов цветковых растений. Лигнин растений, произрастающих в арктической зоне, может значительно отличаться от лигнина других растений в силу климатических особенностей условий произрастания. Результаты, полученные авторами данной работы, могут внести вклад в систематику лигнинов, в зависимости от их ботанической принадлежности, а

также в разработку критериев соответствия малоизмененных лигнинов определенным классам, близким по химической структуре и свойствам.

Объекты и методы исследования

Сырьем для получения препарата лигнина послужили стебли растения камнеломка супротивнолистная (*Saxifraga oppositifolia* L.), собранные в районе пос. Пирамида — на о-ве Западный Шпицберген архипелага Шпицберген (координаты 78 39.321 N, 16 17.222 E).

Экстракция и очистка. Предварительная подготовка заключалась в измельчении стеблей до состояния муки и в последующей экстракции ацетоном в аппарате Сокслета в течение 48 ч для удаления экстрактивных веществ. Препарат лигнина получали по методу Пеппера [7], экстрагируя растительное сырье смесью диоксан — вода (9:1) в присутствии соляной кислоты (0,7 %) на водяной бане при температуре 94...96 °С в течение 2 ч. Для удаления остаточных полисахаридов и прочих растворимых загрязняющих веществ полученный препарат подвергали очистке путем переосаждения из диоксана в диэтиловый эфир.

ИК-спектроскопия. Запись инфракрасных спектров (ИК-спектров) проводилась на ИК-Фурье-спектрометре Vertex 70 (Bruker, Германия) с помощью приставки однократного нарушенного полного внутреннего отражения GladiATR (PikeTech., США) с алмазной призмой. Условия записи спектров:

- Диапазон, см⁻¹ от 4000 до 400
- Разрешение, см⁻¹ 4
- Параллельные сканирования образца 128

Элементный анализ. Элементный анализ проводили на анализаторе CHNS EA-3000 (Euro

Vector, Италия). Содержание кислорода рассчитывали следующим образом (%): O = 100 – (C + H). Расчет эмпирической формулы структурной единицы лигнина проводился в соответствии со стандартной методикой [8].

ЯМР-спектроскопия. Все спектры ядерного магнитного резонанса (ЯМР-спектры) регистрировали при температуре 298 К в ампулах диаметром 5 мм на спектрометре Bruker AVANCE III 600 (Германия) с рабочей частотой для протонов 600 МГц. При регистрации ЯМР-спектров добавлением трис-ацетил-ацетоната хрома (III) с концентрацией 5 мг/мл искусственно уменьшалось время релаксации. Интегрирование сигналов осуществлялось с использованием программного обеспечения спектрометра «TopSpin 3.2», интерпретация — по литературным данным [4, 9–11] и с помощью программного пакета ACD/Labs® (ACD/SpectrumProcessor 2015, version 2014, Advanced Chemistry Development, Inc., Toronto, ON, Canada, www.acdlabs.com.).

³¹P-ЯМР. Данный вид ЯМР-спектроскопии используется для оценки содержания свободных гидроксильных (ОН-групп) и карбоксильных СООН-групп в исследуемом образце лигнина. Предварительно проводится процедура дериватизации с соответствующим фосфитилирующим реагентом — 2-хлор-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксафосфаном, который в присутствии органического основания, такого как пиридин, реагирует с ОН-группами в лигнине (алифатическими, фенольными и СООН-группами карбоновых кислот) с образованием фосфитилированных продуктов (рис. 1).

Дериватизацию образца, а также подбор экспериментальных параметров проводили на основе

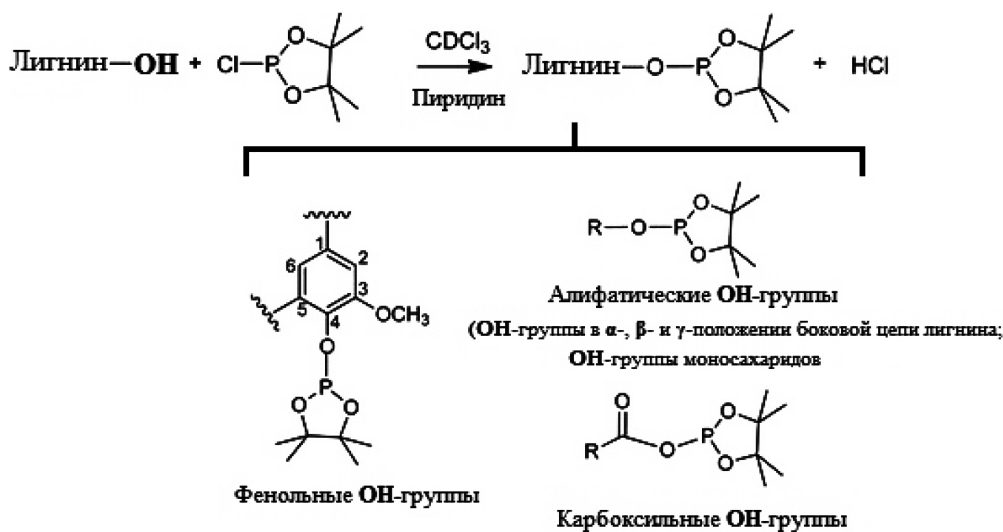


Рис. 1. Фосфитилирование ОН-групп структурных единиц лигнина камнеломки супротивнолистной
 Fig. 1. Phosphitylation OH-groups of Mountain saxifrage lignin structural units

данных, изложенных в работах [11–13]. Калибровка спектров осуществлялась по сигналу ЯМР фосфитилирующего реагента ($\delta_p \sim 132,2$ м.д.) [11]. В качестве внутреннего стандарта использовался N-гидрокси-5-норборнен-2,3-дикарбоксимид. Расчет содержания свободных гидроксильных и карбоксильных групп проводили на основе данных изложенных в работах [12, 13], по следующим формулам:

$$C_{\text{ОН(СООН)}} = \frac{I_{\text{ОН(СООН)}} \cdot m_{\text{IS}} \cdot 1000}{I_{\text{IS}} \cdot M_{\text{IS}} \cdot m_L}, \text{ (ммоль/г)},$$

или

$$C_{\text{ОН(СООН)}} = \frac{I_{\text{ОН(СООН)}} \cdot m_{\text{IS}} \cdot M_{\text{ОН(СООН)}}}{I_{\text{IS}} \cdot M_{\text{IS}} \cdot m_L} \cdot 100, \text{ (мас. \%)},$$

где $I_{\text{ОН(СООН)}}$ — интегральная интенсивность сигнала соответствующих ОН- или СООН-групп;

I_{IS} — интегральная интенсивность внутреннего стандарта;

m_{IS} — масса внутреннего стандарта, г;

m_L — масса лигнина, г;

$M_{\text{ОН(СООН)}}$ — масса ОН-группы (СООН-группы), г/моль.

^{13}C -ЯМР. Для регистрации спектра ^{13}C -ЯМР около 50 мг лигнина растворяли в 0,5 мл DMSO- d_6 . Спектры ^{13}C -ЯМР регистрировались с использованием последовательности zgig30 (из стандартной библиотеки Bruker), что позволило проводить количественный анализ и сравнивать интенсивности сигнала, используя параметры:

Длительность импульса, мкс 12

Время регистрации, с 1,4

Время задержки между импульсами, с 2

Число точек при накоплении 64000

Число сканирований ~ 16000

Ширина спектрального диапазона составила 238 м.д. Сигнал растворителя использовался в качестве внутреннего стандарта (δ_C/δ_H 39,5/2,5 м.д.). Содержание метоксильных групп (ОСН₃-групп) $C_{\text{ОСН}_3}$ (мас. %) определяли по методике, представленной в работе [14], используя относительное содержание атомов углерода ОСН₃-групп и данные элементного анализа:

$$C_{\text{ОСН}_3} = \frac{I_{\text{ОСН}_3} \cdot [C] \cdot M_{\text{ОСН}_3}}{I_{\text{общ}} \cdot 12},$$

где $I_{\text{ОСН}_3}$ — интегральная интенсивность сигнала ОСН₃-групп (δ_C 55,5 м.д.);

$I_{\text{общ}}$ — общая интегральная интенсивность атомов углерода в спектре;

[C] — доля атомов углерода по данным элементного анализа, %;

$M_{\text{ОСН}_3}$ — масса ОСН₃-групп, г/моль.

2D-ЯМР. Ампулы с образцом, подготовленным для регистрации спектров ^{13}C -ЯМР, в дальнейшем использовались для регистрации [^1H - ^{13}C] HSQC-спектра (heteronuclear single quantum coherence):

Ширина спектра в измерении ^1H , м.д. 15

Ширина спектра в измерении ^{13}C , м.д. ... 238

Число точек 1024 × 256

Число накоплений на одну точку, скан 32

Задержка, с 2

Количественный анализ основных типов связей, а также соотношение ФПЕ определяли комбинированным методом, применяя соответствующие сигналы на спектрах [^1H - ^{13}C] HSQC и ^{13}C -ЯМР [10, 15].

Результаты и обсуждение

Полученный по методу Пеппера препарат лигнина представляет собой порошок темно-коричневого цвета с незначительным выходом — 0,4 % относительно массы исходного сырья. Согласно данным элементного анализа ($\text{C}_{60,48}\text{H}_{7,39}\text{O}_{32,13}$), исследуемый образец характеризуется высоким содержанием кислородсодержащих структурных единиц и сравнительно низким — углерода. Доказательством лигнинной природы полученного вещества служит его ИК-спектр.

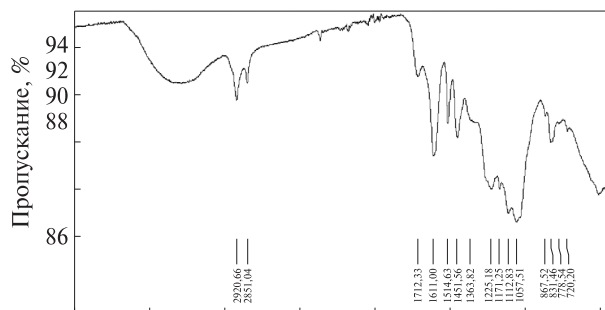


Рис. 2. ИК-спектр лигнина камнеломки супротивнолистной
Fig. 2. The IR spectrum of lignin Mountain saxifrage

Как видно из рис. 2, ИК-спектр выделенного образца содержит полосы поглощения, характерные как для лигнина, так и для полисахаридов, свидетельствующие о том, что исследуемый образец представляет собой лигноуглеводный комплекс. Наличие в ИК-спектре полосы при длине волны 1171 cm^{-1} подтверждает преобладание G-единиц в выделенном препарате. Две полосы характерные для колебаний ароматических колец, — на длинах волны 867 и 831 cm^{-1} — показывают внеплоскостные колебания в 2-м, 5-м и 6-м положении G-единиц. Присутствие в спектре полосы поглощения при 1712 cm^{-1} соответствует колебаниям связей С=О в несопряженных кетонах, а также карбонильных и сложноэфирных групп в углеводах, в то время как полоса поглоще-

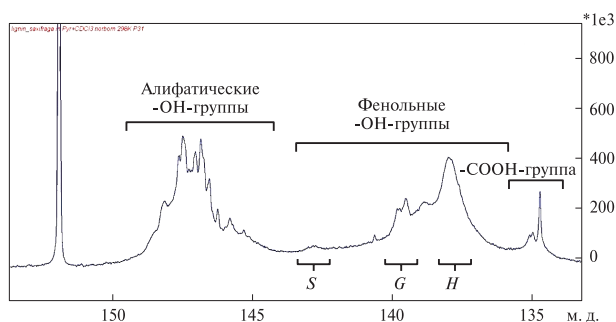


Рис. 3. Спектр ³¹P-ЯМР лигнина камнеломки супротивнолистной после фосфотилирования
Fig. 3. Spectrum ³¹P-NMR of Mountain saxifrage after phospholation

Т а б л и ц а 1

Количество функциональных групп по данным спектров ¹³C и ³¹P-ЯМР
The number of functional groups according to the data of ¹³C and ³¹P-NMR spectra

Функциональные группы	C, ммоль/г	C, масс. %
ОСН ₃ -группы	–	3,31
Алифатические ОН-группы	2,91	4,95
Фенольные ОН-группы	2,89	4,91
СООН-группы	0,31	0,52

Т а б л и ц а 2

Сравнение эмпирической формулы структурного звена лигнина камнеломки супротивнолистной и формул лигнинов хлопчатника и алтея розового, рассчитанных аналогичным способом

Comparison of the empirical formula of the structural link of Mountain saxifrage lignin and the formulas of cotton and rose mallow lignin, calculated in a similar way

Образец препарата лигнина	Развернутая эмпирическая формула
Камнеломка	C ₉ H _{11,8} O _{2,37} (OCH ₃) _{0,19} (OH _ф) _{0,53} (OH _{ал}) _{0,53} (OOH _{COOH}) _{0,021}
Хлопчатник [5]	C ₉ H _{6,22} O _{1,21} (OCH ₃) _{0,82} (OH _ф) _{0,63} (OH _{ал}) _{0,88} (O _{CO}) _{0,46} (OOH _{COOH}) _{0,17} (O _{ар-ал}) _{0,37}
Алтей розовый [5]	C ₉ H _{6,55} O _{0,99} (OCH ₃) _{1,15} (OH _ф) _{0,31} (OH _{ал}) _{0,85} (O _{CO}) _{0,30} (OOH _{COOH}) _{0,03} (O _{ар-ал}) _{0,69}

ния 1057 см⁻¹ соответствует колебаниям С–О–С связей. Это позволяет сделать предположение о наличии гемилцеллюлоз в выделенном препарате. Полосы, наблюдаемые при длинах волны 2920 см⁻¹ и 2851 см⁻¹, можно отнести к валентным колебаниям –СН– в метильных и метиленовых группах, а полоса при длине волны 1363 см⁻¹ соответствует СОО– асимметричным и симметричным колебаниям связей в СООН-группах, что в свою очередь может свидетельствовать о значительном количестве алифатических кислот в исследуемом образце. Интенсивная полоса поглощения при длине волны 3300 см⁻¹ соответствует колебаниям ОН-групп.

Содержание основных функциональных групп получено по данным ЯМР-спектроскопии на ядрах ¹³C и ³¹P. На спектре ³¹P-ЯМР (рис. 3) наблюдаются интенсивные сигналы в диапазоне химических сдвигов δ_p = 137...141 м.д. характерные для свободных фенольных гидроксидов G- и H-типа, однако вследствие сильного перекрытия сигналов не удалось провести их дифференциальную оценку (табл. 1). Содержание ОСН₃-групп, полученное в результате интегрирования соответствующего сигнала на спектре ¹³C-ЯМР, оказалось весьма низким — 3,31 % относительно массы лигнина.

По данным элементного состава и по полученному с помощью одномерной ЯМР-спектроскопии количеству основных функциональных групп рассчитана расширенная структурная формула элементарного звена, проведено ее сравнение с эмпирическими формулами для препаратов лигнина других двудольных трав, выделенных аналогичным способом (табл. 2).

Наличие большого количества атомов водорода в формуле исследуемого лигнина свидетельствует о менее конденсированной структуре его боковых цепей. Содержание ОСН₃-групп (0,19/С₉) отличается от такового в лигнинах других травянистых растений и сравнительно близко к значениям лигнинов низших растений (0,01–0,45/С₉) [5]. Существенное содержание фенольных ОН-групп (0,53/С₉) не уникально и может свидетельствовать о высоком содержании H-единиц.

Более подробный анализ химической структуры, в частности соотношение ФПЕ, а также тип и количество основных межблочных связей в структуре исследуемого лигнина, проведен с использованием спектра HSQC эксперимента (рис. 4). Сигналы, зарегистрированные в диапазоне химических сдвигов δ_C/δ_H 103...135/6...8 м.д., соответствуют атомам ароматического кольца в структуре всех трех типов ФПЕ (рис. 5). Отме-

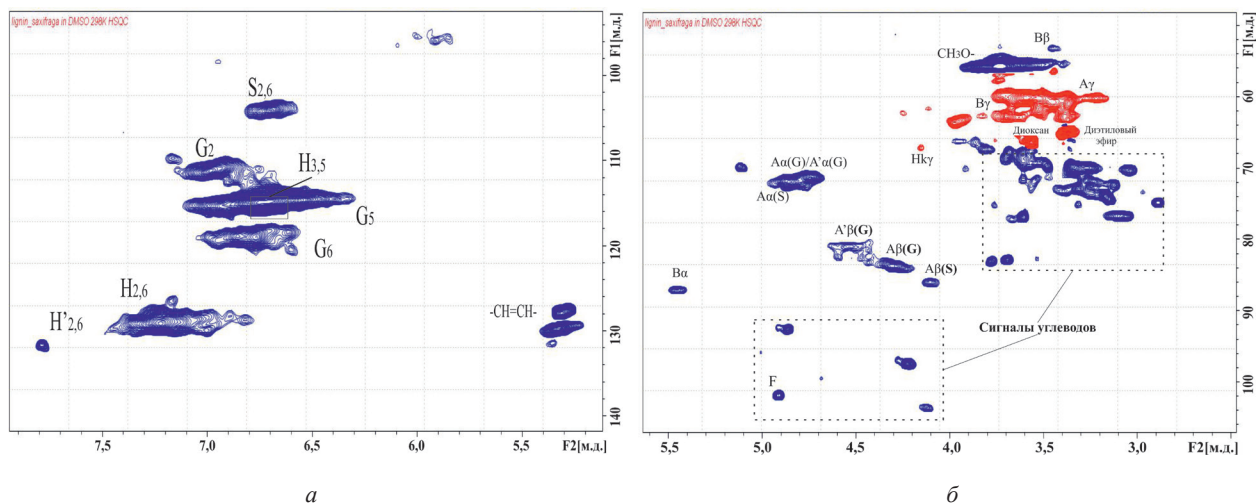


Рис. 4. Спектр $[^1\text{H}-^{13}\text{C}]$ HSQC препарата лигнина камнеломки супротивнолистной: *a* — область сигналов ароматических атомов; *б* — алифатическая кислородсодержащая область спектра
Fig. 4. Spectrum of $[^1\text{H}-^{13}\text{C}]$ HSQC of Mountain saxifrage lignin: *a* — signal region of aromatic atoms; *б* — aliphatic oxygen-containing region of the spectrum

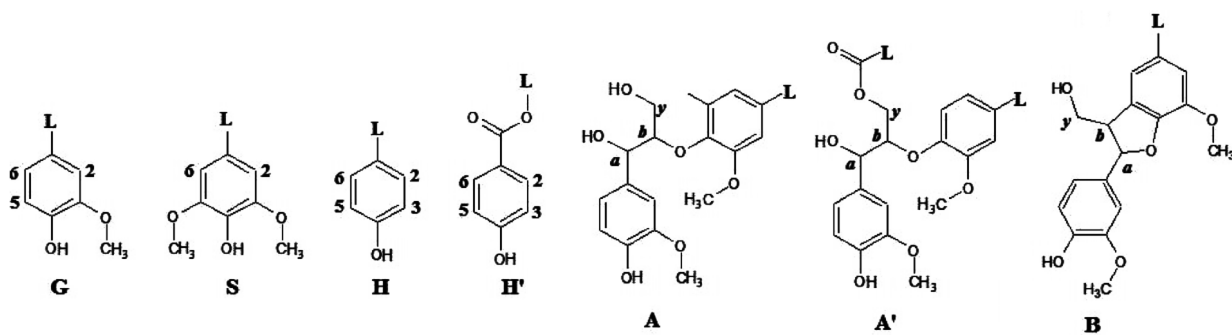


Рис. 5. Структурные фрагменты лигнина камнеломки супротивнолистной
Fig. 5. Structural fragments of Mountain saxifrage lignin

тим интенсивный корреляционный сигнал при $\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}} = 128/7,22$ м.д., принадлежащий к структурной единице *H*-типа. Интегрирование сигналов позволило рассчитать относительное соотношение структурных единиц: $S:G:H$ (0,21:1,01:1,00), в результате определено, что на долю *H*-единиц приходится около 45 % — значение, не характерное ни для одного образца исследуемого лигнина. Данные по другим травянистым растениям характеризуют лигнины *GSH*-типа со значительным количеством как *G*-, так и *S*-единиц. Полученный нами композиционный состав явно указывает на принадлежность исследуемого образца лигнина к гваяцил-*n*-кумаровому типу (*GH*-типу), что является его уникальной характеристикой. К достаточно близким по содержанию *H*-единиц относятся органорастворимые лигнины бобовых (на основании результатов нитробензольного окисления), для которых соотношение структурных единиц $S:G:H$ составляет 1,03:1,00:1,04 [5]. В области $\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}} 126 \dots 130/5,0 \dots 5,5$ м.д. наблюдаются два интенсивных сигнала, отнесенные к

двойным связям в структуре ненасыщенных жирных кислот. Множество корреляционных сигналов, принадлежащих данным структурам, также наблюдается в диапазоне $\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}} 10 \dots 40/0,5 \dots 3$ м.д. (спектр не представлен). Следовательно, процедура исчерпывающей экстракцией ацетоном и очистка лигнина путем переосаждения являются неэффективными для отделения этих компонентов. Жирные кислоты — это индивидуальные компоненты клеточной стенки, оказавшиеся прочно связанными с лигнином, вероятно, через сложно-эфирную связь.

Диапазон химических сдвигов $\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}} 50\text{--}100/2,5\text{--}5,5$ м.д. (см. рис. 4, б) помимо четкого сигнала ароматических метоксильных групп дает ценную информацию о типах связей в макромолекуле лигнина и формирующих основные ди- и трехмерные фрагменты. Сигналы с химическим сдвигом $\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}} 83,6/4,30$ и $85,8/4,11$ м.д. явно указывают на присутствие $\beta\text{-O-4}$ связи, формирующей фрагменты β -арилового эфира (структуры типа *A* и *A'* на рис. 5) между единицами *G*- и *S*-типа.

Комбинация HSQC-спектра и ^{13}C -ЯМР позволила количественно оценить содержание данного типа связей, которое составляет $\sim 7,1$ на 100C_9 . Слабый корреляционный сигнал, наблюдаемый при $\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}}$ 86,8/5,44 м.д., указывает на присутствие связи α -O-4, формирующей структуру фенолкупарона (структура типа *B* на рис. 5), в количестве 0,88 на 100C_9 . Следует обратить внимание на отсутствие сигнала, относящегося к фрагментам β -арилового эфира между единицами *H*-типа, доля которых, как уже упоминалось ранее, значительна. Вероятно, в структуре исследуемого образца содержится существенное количество фрагментов бифенила, образованного углерод-углеродной связью 5–5. Об этом также свидетельствует значительное количество свободных фенольных гидроксиллов, определяемое ранее по результатам спектроскопии ^{31}P -ЯМР. Необходимо также отметить большое количество корреляционных сигналов ($\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}}$ 68...84/2,8...3,8 и 92...104/5,0...4,0 м.д.), принадлежащих атомам в структуре моносахаридов. Сигнал при $\delta_{\text{C}}/\delta_{\text{H}}$ 101/4,9 м.д. (обозначен как *F* на рис. 4, б) может свидетельствовать о присутствии фенолгликозидной связи между структурами лигнина и остатками гемицеллюлоз.

Выводы

Выделенный препарат из стеблей камнеломки супротивнолистной (*Saxifraga oppositifolia* L.), согласно его химической структуре, наличию и количеству функциональных групп, а также данным элементного состава, имеет лигнинную природу.

Эмпирическая формула элементарного звена исследуемого препарата лигнина — $\text{C}_9\text{H}_{11,8}\text{O}_{2,37}(\text{OCH}_3)_{0,19}(\text{OH}_{\text{ф}})_{0,53}(\text{OH}_{\text{ал}})_{0,53}(\text{OON}_{\text{COOH}})_{0,021}$ — характеризуется значительным количеством единиц *n*-гидроксифенила. Содержание OCH_3 -групп образца лигнина камнеломки чрезвычайно низкое и сходно с их содержанием в лигнинах из низших растений (0,19/ C_9), в то время как содержание свободных OH-групп высокое (0,53/ C_9).

Согласно данным, полученным с помощью спектроскопии 2D-ЯМР, в химической структуре исследуемого образца лигнина присутствуют структурные единицы всех трех типов — *G*, *H* и *S*, однако преобладают гваяцильные и *n*-кумаровые — *S*:*G*:*H* = 0,21:1,01:1,00. ФПЕ *n*-кумарового типа соединены одна с другой с помощью углерод-углеродной связи, в то время как основной тип связи, характерный для структуры лигнина (β -O-4), наблюдается только между *G*- и *S*-единицами.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП НО «Арктика» САФУ при финансовой поддержке Министерства образования и науки Архангельской обл. (номер проекта 04-2019-03а).

Авторы выражают благодарность проекту «Арктический плавучий университет» Северного (Арктического) федерального университета имени М.В. Ломоносова и лично Трофимовой Анне Николаевне за отбор проб растительного материала.

Список литературы

- [1] Фенгель Д., Вегенер Г. Древесина (химия, ультраструктура, реакции). М: Лесная пром-сть, 1988. 512 с.
- [2] Карманов А.П., Кочева Л.С., Оводов Ю.С., Бровко О.С. Исследование лигнинов растительных отходов сельскохозяйственного производства // Теоретическая и прикладная экология, 2014. № 2. С. 35–40.
- [3] Buranov A.U., Mazza G. Lignin in straw of herbaceous crops // Industrial Crops and Products, 2008, v. 28, no. 3, pp. 237–259.
- [4] Белый В.А., Алексеев И.Н., Садыков Р.А. Изучение химической структуры лигнинов рододолы розовой (*Rhodiola Rosea* L.) и серпухи венценосной (*Serratula Coronata* L.) методом 2D ЯМР-спектроскопии // Известия Коми научного центра УрО РАН, 2012. Т. 3. № 11. С. 20–27.
- [5] Далимова Г.Н., Абдуазимов Х.А. Лигнины травянистых растений // Химия природных соединений, 1994. № 2. С. 160–177.
- [6] Пиковской И.И., Косяков Д.С., Шаврина И. С., Ульяновский Н.В. Изучение лигнина крапивы (*Urtica dioica*) методом масс-спектрометрии на основе орбитальной ионной ловушки с фотоионизацией при атмосферном давлении // Масс-спектрометрия, 2019. Т. 16. № 1. С. 49–57.
- [7] Pepper J.M., Baylis P.E.T., Adler E. The isolation and properties of lignins obtained by the acidolysis of spruce and aspen woods in dioxane-water medium // Canadian Journal of Chemistry, 1959, v. 37, no. 8, pp. 1241–1248.
- [8] Закис Г.Ф., Можейко Л.Н., Тельшева Г.М. Методы определения функциональных групп лигнина. Рига: Зинатне, 1975. 174 с.
- [9] Del Río J.C., Rencoret J., Prinsen P., Martínez A.T., Ralph J., Gutiérrez A.J. Structural Characterization of Wheat Straw Lignin as Revealed by Analytical Pyrolysis, 2D-NMR, and Reductive Cleavage Methods // J. of Agricultural and Food Chemistry, 2012, v. 60, no. 23, pp. 5922–5935.
- [10] Balakshin M., Capanema E., Gracz H., Chang H.M., Jameel H. Quantification of lignin-carbohydrate linkages with high-resolution NMR spectroscopy // Planta, 2011, v. 233, no. 6, pp. 1097–1110.
- [11] Fițișău I.F., Peter F., Boeriu C.G. Structural Analysis of Lignins from Different Sources // International J. of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering, 2013, v. 7, no. 4, pp. 167–172.
- [12] Balakshin M., Capanema E. On the Quantification of Lignin Hydroxyl Groups with ^{31}P and ^{13}C NMR Spectroscopy // J. of Wood Chemistry and Technology, 2015, v. 35, no. 3, pp. 220–237.
- [13] Шестаков С.Л., Косяков Д.С., Кожевников А.Ю., Ульяновский Н.В., Попова Ю.А. Совершенствование методики определения гидроксильных групп лигнина методом ЯМР-спектроскопии // Химия растительного сырья, 2017. № 2. С. 81–88.
- [14] Рохин А.В. Количественная спектроскопия ЯМР ^1H и ^{13}C в исследовании химической структуры лигнинов: автореф. дис. ... канд. хим. наук : 02.00.03. Иркутск, 1996. 23 с.
- [15] Zhang L., Gellerstedt G. Quantitative 2D HSQC NMR determination of polymer structures by selecting suitable internal standard references // Magnetic resonance in chemistry, 2007, no. 45, pp. 37–45.

- [16] Rabinovich M.L. Lignin by-products of Soviet hydrolysis industry: resources, characteristics, and utilization as a fuel // *Cellulose Chemistry and Technology*, 2014, no. 48 (7–8), pp. 613–631.
- [17] Gorbacheva G.A., Ivankin A.N., Sanaev V.G., Ageev A.K., Kiryukhin D.P., Kichigina G.A., Kushch P.P., Badamshina E.R. Surface Modification of Cellulose-Containing Materials with Solutions of Tetrafluoroethylene Telomers // *Russian J. Applied Chemistry*, 2017, v. 90, no. 8, pp. 1104–1110.
- [18] Тиньгаева Е.А., Фарберова Е.А. Исследование возможности использования лигнина и целлолигнина для получения гранулированных активных углей // *Вестник ПНИПУ*, 2016. № 1. С. 47–60.
- [19] Ivankin A.N., Oliferenko G.L., Kulikovskii A.V., Chernuha I.M., Semenova A.A., Spiridonov K.I., Nasonova V.V. Determination of Unsaturated Fatty Acids with a Migrating Double Bond in Complex Biological Matrices by Gas Chromatography with Flame Ionization and Mass Spectrometry Detection // *J. Analytical Chemistry*, 2016, v. 71, no. 11. pp. 1131–1137. DOI: 10.1134/S1061934816110046
- [20] Федорова О.В., Аким Э.Л. Гидролизный и сульфатный лигнин, как перспективное сырье для биотоплива // *Леса России: политика, промышленность, наука, образование: Материалы IV науч.-техн. конф. (Санкт-Петербург, 22–25 мая 2019 г.)*. Санкт-Петербург: СПбГЛТУ, 2019. С. 325–327.

Сведения об авторах

Фалёва Анна Викторовна — аспирант, «Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова», a.bezumova@narfu.ru

Белесов Артем Владимирович — аспирант, «Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова», a.belesov@narfu.ru

Кожевников Александр Юрьевич — канд. хим. наук, профессор, «Северный (Арктический) федеральный университет имени М.В. Ломоносова», a.kozhevnikov@narfu.ru.

Поступила в редакцию 29.10.2019.

Принята к публикации 12.02.2020.

LIGNIN CHEMICAL STRUCTURE OF MOUNTAIN SAXIFRAGE (*SAXIFRAGA OPPOSITIFOLIA* L.) STUDY BY IR- AND NMR-SPECTROSCOPY

A.V. Faleva, A.V. Belesov, A.Yu. Kozhevnikov

Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, Core Facility Center «Arktika», 17, Naberezhnaya Severnoy Dviny, 163002, Arkhangelsk, Russia

a.bezumova@narfu.ru

For the first time, studies have been carried out of lignin chemical structure extracted from a plant of the genus Saxifrage. Using modern physical and chemical methods, as well as elemental analysis data, information was obtained on its structure and chemical composition. According to IR spectroscopy, the lignin aromatic nature of the obtained sample was confirmed. According to the results of ^{13}C - and ^{31}P -NMR spectroscopy, the content of the main functional groups was calculated. A detailed empirical formula of the phenylpropane structural unit is calculated. As a result, a lignin sample was obtained, which is characterized by a low content of methoxyl groups (0,19/C₉) and at the same time a significant amount of free phenolic and aliphatic hydroxyls (0,53/C₉), which does not allow correlating it with any previously studied lignin. By the quantitative ratio of the main phenylpropane units, the saxifrage lignin also differs markedly from the previously studied lignins. Based on the two-dimensional nuclear magnetic resonance spectroscopy, it was found that the chemical structure of the test sample contains mainly units of the guaiacyl (*G*) and *n*-coumaric (*H*) types with a small number of syringyl (*S*) units. The data obtained indicate the belonging of the studied lignin to the *GH*-type. The ratio of *S*:*G*:*H* was 0,21:1,00:1,01. β -O-4 (7,1/100C₉) and α -O-4 (0,88/100C₉) participating in the formation of the structures of β -aryl ether and phenylcoumarone, respectively, should be noted as the main types of bonds characteristic of the lignin structure, respectively. It is assumed that in the structure of the saxifrage, phenylpropane units of the *n*-coumar type do not participate in the formation of ether bonds, but form the lignin macromolecule due to the formation of carbon-carbon bonds and can also participate in the formation of ester bonds with fatty acid fragments.

Keywords: herbaceous plants, lignin, chemical structure, spectroscopy

Suggested citation: Faleva A.V., Belesov A.V., Kozhevnikov A.Yu. *Izuchenie khimicheskoy struktury lignina kamnelomki suprotivolistnoy (Saxifraga oppositifolia L.) metodami IR- i YaMR-spektroskopii* [Lignin chemical structure of Mountain saxifrage (*Saxifraga oppositifolia* L.) study by IR and NMR-spectroscopy]. *Lesnoy vestnik / Forestry Bulletin*, 2020, vol. 24, no. 2, pp. 111–118. DOI: 10.18698/2542-1468-2020-2-111-118

References

- [1] Fengel D., Vegener G. *Drevesina (khimiya, ul'trastruktura, reaktivnosti)* [Wood (chemistry, ultrastructure, reactions)]. Moscow: Lesnaya promyshlennost' [Forestry], 1988, 512 p.
- [2] Karmanov A.P., Kocheva L.S., Ovodov Yu.S., Brovko O.S. *Issledovanie ligninov rastitel'nykh otkhodov sel'skokhozyaystvennogo proizvodstva* [Research of lignins of plant wastes of agricultural production]. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya* [Theoretical and applied ecology], 2014, no. 2, pp. 35–40.

- [3] Buranov A.U., Mazza G. Lignin in straw of herbaceous crops. *Industrial Crops and Products*, 2008, v. 28, no. 3, pp. 237–259.
- [4] Belyy V.A., Alekseev I.N., Sadykov R.A. *Izuchenie khimicheskoy struktury ligninov rodioly rozovoy (Rhodiola Rosea L.) i serpukhi ventsenosnoy (Serratula Coronata L.) metodom 2D YaMR-spektroskopii* [Study of the chemical structure of lignins of *Rhodiola rosea* (*Rhodiola Rosea* L.) and *serratula coronata* (*Serratula Coronata* L.) by 2D NMR spectroscopy]. *Izvestiya Komi nauchnogo tsentra UrO RAN* [Proceedings of the Komi science center Ural branch of the RAS], 2012, v. 3, no. 11, pp. 20–27.
- [5] Dalimova G.N., Abduazimov Kh.A. *Ligniny travyanistykh rasteniy [Lignins of herbaceous plants]. Khimiya prirodnikh soedineniy* [Chemistry of natural compounds], 1994, no. 2, pp. 160–177.
- [6] Pikovskoy I.I., Kosyakov D.S., Shavrina I. S., Ul'yanovskiy N.V. *Izuchenie lignina krapivy (Urtica dioica) metodom mass-spektrometrii na osnove orbital'noy ionnoy lovushki s fotoionizatsiey pri atmosfernom davlenii* [Study of the nettle (*Urtica dioica*) lignin by orbitrap mass spectrometry with atmospheric pressure photoionization]. *Mass-spektrometriya* [Mass-spectrometry], 2019, v. 16, no. 1, pp. 49–57.
- [7] Pepper J.M., Baylis P.E.T., Adler E. The isolation and properties of lignins obtained by the acidolysis of spruce and aspen woods in dioxane-water medium. *Canadian Journal of Chemistry*, 1959, v. 37, no. 8, pp. 1241–1248.
- [8] Zakis G.F., Mozheyko L.N., Telysheva G.M. *Metody opredeleniya funktsional'nykh grupp lignina* [Methods for determining lignin functional groups]. Riga: Zinatne, 1975, 174 p.
- [9] Del Río J.C., Rencoret J., Prinsen P., Martínez A.T., Ralph J., Gutiérrez A.J. Structural Characterization of Wheat Straw Lignin as Revealed by Analytical Pyrolysis, 2D-NMR, and Reductive Cleavage Methods. *J. of Agricultural and Food Chemistry*, 2012, v. 60, no. 23, pp. 5922–5935.
- [10] Balakshin M., Capanema E., Gracz H., Chang H.M., Jameel H. Quantification of lignin-carbohydrate linkages with high-resolution NMR spectroscopy. *Planta*, 2011, v. 233, no. 6, pp. 1097–1110.
- [11] Fişigău I.F., Peter F., Boeriu C.G. Structural Analysis of Lignins from Different Sources. *International J. of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering*, 2013, v. 7, no. 4, pp. 167–172.
- [12] Balakshin M., Capanema E. On the Quantification of Lignin Hydroxyl Groups with ^{31}P and ^{13}C NMR Spectroscopy. *J. of Wood Chemistry and Technology*, 2015, v. 35, no. 3, pp. 220–237.
- [13] Shestakov S.L., Kosyakov D.S., Kozhevnikov A.Yu., Ul'yanovskiy N.V., Popova Yu.A. *Sovershenstvovanie metodiki opredeleniya gidroksil'nykh grupp lignina metodom YaMR-spektroskopii* [The elaboration of NMR analysis of different types of hydroxyl groups in the lignin samples]. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of plant raw materials], 2017, no. 2, pp. 81–88.
- [14] Rokhin A.V. *Kolichestvennaya spektroskopiya YaMR ^1H i ^{13}C v issledovanii khimicheskoy struktury ligninov* [Quantitative ^1H and ^{13}C NMR spectroscopy in the study of the chemical structure of lignins]. Diss. Sci. (Chemical): 02.00.03. Irkutsk, 1996, 23 p.
- [15] Zhang L., Gellerstedt G. Quantitative 2D HSQC NMR determination of polymer structures by selecting suitable internal standard references. *Magnetic resonance in chemistry*, 2007, no. 45, pp. 37–45.
- [16] Rabinovich M.L. Lignin by-products of Soviet hydrolysis industry: resources, characteristics, and utilization as a fuel // *Cellulose Chemistry and Technology*, 2014, no. 48 (7–8), pp. 613–631.
- [17] Gorbacheva G.A., Ivankin A.N., Sanaev V.G., Ageev A.K., Kiryukhin D.P., Kichigina G.A., Kushch P.P., Badamshina E.R. Surface Modification of Cellulose-Containing Materials with Solutions of Tetrafluoroethylene Telomers // *Russian J. Applied Chemistry*, 2017, v. 90, no. 8, pp. 1104–1110.
- [18] Tin'gaeva E.A., Farberova E.A. *Issledovanie vozmozhnosti ispol'zovaniya lignina i tselloolignina dlya polucheniya granulirovannykh aktivnykh ugley* [The study of the possibility of using lignin and cellolignin to obtain granular activated carbons]. *Vestnik PNIPU* [Bulletin of PNIPU], 2016, no. 1, pp. 47–60.
- [19] Ivankin A.N., Oliferenko G.L., Kulikovskii A.V., Chernuha I.M., Semenova A.A., Spiridonov K.I., Nasonova V.V. Determination of Unsaturated Fatty Acids with a Migrating Double Bond in Complex Biological Matrices by Gas Chromatography with Flame Ionization and Mass Spectrometry Detection // *J. Analytical Chemistry*, 2016, v. 71, no. 11, pp. 1131–1137. DOI: 10.1134/S1061934816110046

Authors' information

Falyeva Anna Viktorovna — Postgraduate student of the Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, a.bezumova@narfu.ru

Belesov Artyem Vladimirovich — postgraduate student of the Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, a.belesov@narfu.ru

Kozhevnikov Aleksandr Yurievich — Cand. Sci. (Chemistry), Professor of the Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, a.kozhevnikov@narfu.ru;

Received 29.10.2019.

Accepted for publication 12.02.2020.