

Э.И. Евстигнеев

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ НЕЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ ПОЛИСАХАРИДОВ
И ДРУГИХ КОМПОНЕНТОВ В РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ**

Введение. Ранее автором разработан метод определения общего содержания полисахаридов в растительном сырье и препаратах лигнина [Евстигнеев, 2016]. В основе метода лежит цветная реакция моносахаридов с фенолом в присутствии концентрированной серной кислоты. Установлено, что метод позволяет относительно просто и с высокой точностью определять полисахариды как в растительном сырье (сельскохозяйственных растениях и древесине хвойных и лиственных пород), так и в различных препаратах лигнина (мягковыделенных и технических). Целью настоящей работы является разработка методики количественного определения нецеллюлозных полисахаридов в растительном сырье.

Методика исследования. В работе исследовали образцы растительного сырья с известным составом полисахаридов, охарактеризованные в рамках международной программы Round-Robin on Whole Feedstock Analysis [Milne et al., 1992]. Состав полисахаридов представлен в табл. 1.

Определение целлюлозы проводили азотно-спиртовым методом (методом Кюршнера) [Kürschner, Hoffer, 1929; Оболенская и др., 1991]. Число последовательных обработок азотно-спиртовой смесью составило для древесины хвойных пород 4, для всех остальных образцов – 3. Выделенную из древесины целлюлозу Кюршнера, отфильтровывали на стеклянном пористом фильтре ПС-2 (размеры пор 40-100 мкм), целлюлозу из пшеничной соломы и багассы – на фильтре ПС-3 (размеры пор 16-40 мкм).

Содержание остаточных пентозанов в целлюлозе Кюршнера определяли бромид-броматным полумикрометодом [Оболенская и др., 1991]. Выход фурфурола, % к абсолютно сухому образцу рассчитывали по формуле

$$F = \frac{(a - b) \cdot 100 \cdot 0,0012}{25g} \cdot 100,$$

где a – расход на контрольное титрование раствора тиосульфата натрия концентрацией $0,05 \text{ моль/дм}^3$, см^3 ; b – расход на титрование дистиллята раствора тиосульфата натрия концентрацией $0,05 \text{ моль/дм}^3$, см^3 ; $0,0012$ – масса фурфурола, соответствующая 1 см^3 раствора тиосульфата натрия концентрацией $0,05 \text{ моль/дм}^3$, г; g – масса абсолютно сухой навески образца, г. Коэффициенты пересчета фурфурола на пентозаны для древесины хвойных пород 1,56, для остальных образцов – 1,52.

Таблица 1

Состав полисахаридов растительного сырья [Milne et al., 1992]

Composition of polysaccharides of vegetable raw materials [Milne et al., 1992]

Компонент	Содержание компонента, %			
	Древесина		Пшеничная солома	Багасса
	<i>Populus deltoides</i>	<i>Pinus radiata</i>		
Арабианан	0,6	1,5	2,2	1,7
Ксилан	13,4	5,9	18,7	20,4
Маннан	2,0	10,7	0,3	0,3
Галактан	0,6	2,4	0,7	0,6
Глюкан	42,2	41,7	32,9	38,6
Сумма полисахаридов	58,8	62,2	54,8	61,6
Сумма нецеллюлозных полисахаридов	16,6	20,5	21,9	23,0

Определение экстрактивных веществ. Образец растительного сырья (5 г) с размером частиц 0,25 мм экстрагировали этиловым спиртом (95%) в аппарате Сокслета в течение 6 ч (30 сливов) и после отгонки растворителя на роторном испарителе и сушки колбы определяли содержание экстрактивных веществ.

Определение кислотонерастворимого лигнина (лигнина Класона). К обессмоленному образцу (1 г) добавляли 15 см³ 72%-й H₂SO₄ и выдерживали при температуре 25 °С в течение 2,5 ч при периодическом перемешивании. По истечении указанного времени смесь переносили в колбу объемом 500 см³, добавляли 200 см³ дистиллированной воды и кипятили с обратным холодильником в течение 1 ч. Поскольку при анализе по описанной методике препаратов лигнина образуются очень мелкодисперсные осадки, проходящие через пористые стеклянные фильтры, для определения кислотонерастворимого лигнина (лигнина Класона) во всех образцах использовали известный методический прием [Оболенская и др., 1991]. Раствор с осадком лигнина фильтровали через сложенные вместе два уравновешенных на аналитических весах бумажных фильтра. Осадок лигнина и фильтры промывали водой из промывалки до полного удаления кислоты. Фильтры с лигнином сушили при температуре 103 ± 2 °С до постоянной массы и взвешивали, помещая верхний фильтр (с лигнином) на левую чашку аналитических весов, а нижний – на правую. Здесь важно отметить, что

фильтрат для последующего анализа на содержание кислоторастворимого лигнина и полисахаридов отбирали до стадии промывки.

Кислоторастворимый лигнин (КРЛ) определяли по методике из работы [Swan, 1965] при длине волны 204–205 нм для древесины лиственных пород и 192–193 нм для древесины хвойных. После разбавления фильтрата в 10 раз записывали УФ-спектры в 1-сантиметровых кюветках на спектрофотометре UV-2400PC Series фирмы Shimadzu. В качестве примера на рис. 1 приведен УФ-спектр фильтрата древесины осины.

Содержание КРЛ, % к абсолютно сухому исходному (необессмоленому) образцу, рассчитывали по формуле

$$\text{КРЛ} = \frac{DK_d V}{\varepsilon \cdot 1000 \cdot g} K_e \cdot 100,$$

где D – оптическая плотность; K_d – коэффициент разбавления; V – объем гидролизата, см³; ε – удельный коэффициент поглощения, л·г⁻¹·см⁻¹; g – масса абсолютно сухой навески образца, г; K_e – коэффициент экстрагирования.

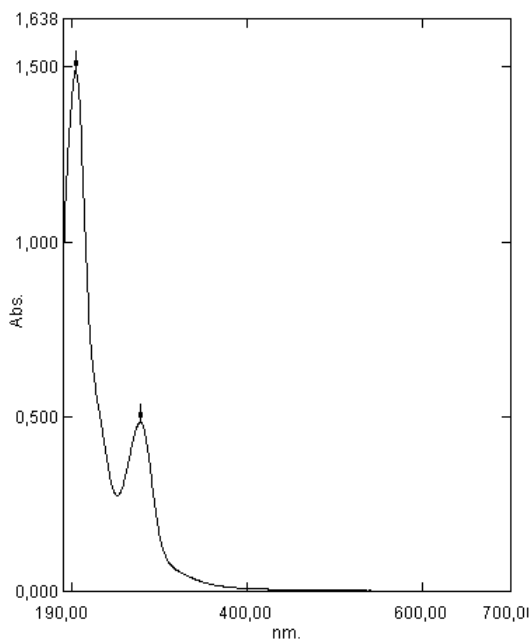


Рис. 1. УФ-спектр кислоторастворимого лигнина осины (*Populus tremula*)
 Fig. 1. UV spectrum of acidsoluble lignin of an aspen (*Populus tremula*)

Определение общего содержания полисахаридов [Евстигнеев, 2016]. Для определения полисахаридов 0,25 см³ гидролизата (фильтрата), предварительно разбавленного в 10 раз, помещали в пробирку, вносили 1 см³ раствора свежеперегнанного фенола с концентрацией 0,6 моль·л⁻¹ и 5 см³ концентрированной H₂SO₄ («хч»); горячий раствор выдерживали в течение 10 мин, а затем охлаждали в течение 10 мин при температуре 25 °С. Затем в 1-сантиметровых кюветах записывали УФ-спектр, используя в качестве раствора сравнения те же реагенты и в тех же концентрациях, что и в рабочем растворе, за исключением того, что вместо гидролизата добавляли 0,25 см³ дистиллированной воды. УФ-спектры записаны на спектрофотометре UV-2400PC Series фирмы Shimadzu. В качестве примера на рис. 2 представлен УФ-спектр гидролизата древесины сосны.

Содержание полисахаридов, % к абсолютно сухому исходному (необессмоленному) образцу растительного сырья, рассчитывали по формуле

$$C = \frac{DK_d M_m V K_p}{\varepsilon_c \cdot 1000g} K_e \cdot 100,$$

где D – оптическая плотность; K_d – коэффициент разбавления; M_m – молярная масса моносахарида, г·моль⁻¹ (гексозы 180,16; пентозы 150,13); V – объем гидролизата, см³; K_p – коэффициент пересчета моносахаридов в полисахариды (для гексозанов 0,9; для пентозанов 0,88); ε_c – средний молярный коэффициент экстинкции, л·моль⁻¹·см⁻¹; g – масса абсолютно сухой навески образца, г; K_e – коэффициент экстрагирования.

Содержание нецеллюлозных полисахаридов определяли по разности между общим содержанием полисахаридов и содержанием «чистой» целлюлозы (см. текст).

Содержание золы определяли после сжигания и прокаливания образца при 600 °С.

Результаты исследования. Содержание полисахаридов, в том числе нецеллюлозных полисахаридов в растительном сырье можно определить на основании результатов хроматографического анализа гидролизатов этого сырья (табл. 1). Однако как автор уже отмечал [Евстигнеев, 2016], хроматографический метод имеет ряд недостатков. Он предусматривает предварительную экстракцию образца, кислотный гидролиз, нейтрализацию гидролизата, восстановление и ацетилирование моносахаридов, экстракцию полученных альдитолацетатов с последующим газохроматографическим анализом. Метод достаточно сложный, многостадийный, требующий калибровки и использования стандартных образцов.

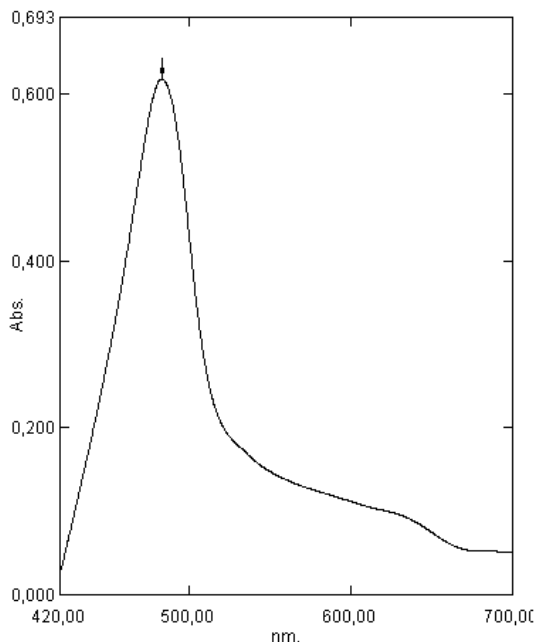


Рис. 2. УФ-спектр гидролизата древесины сосны (*Pinus silvestris*) после взаимодействия с фенолом в присутствии серной кислоты

Fig. 2. The UV spectrum of a hydrolyzate of a pine wood (*Pinus silvestris*) after interaction with phenol in the presence of sulfuric acid

В качестве альтернативы для определения полисахаридов разработан фотоколориметрический метод, основанный на цветной реакции фенола с моносахаридами в присутствии концентрированной серной кислоты [Евстигнеев, 2016]. Очевидно, что нецеллюлозные полисахариды можно определить по разности между общим содержанием полисахаридов и содержанием целлюлозы. В качестве метода определения целлюлозы использовали азотно-спиртовой метод [Оболенская и др., 1991], который отличается простотой и отсутствием необходимости предварительной экстракции образца, поскольку этанол является лучшим растворителем экстрактивных веществ среди индивидуальных растворителей.

Выделяемая указанным методом целлюлоза (целлюлоза Кюршнера) содержит небольшое количество нецеллюлозных веществ, главным образом, остаточных пентозанов, поэтому их определяют и корректируют содержание целлюлозы Кюршнера на «чистую» целлюлозу. В основе методов определения пентозанов лежит реакция гидролиза пентозанов 12–13%-м

раствором соляной кислоты до пентоз, превращающихся в фурфурол, который отгоняется с водяным паром.

Здесь необходимо отметить, что, помимо фурфурола, в дистилляте содержатся гидроксиметилфурфурол, образующийся из остаточных гексозанов, и метилфурфурол, образующийся из звеньев метилпентоз, например рамнозы. Поэтому в тех случаях, когда необходимо определить только фурфурол используют его способность давать цветную реакцию с орсином, а также спектрофотометрические и хроматографические методы. При использовании бромид-броматного метода определения фурфурола на указанные побочные продукты реакции необходимо вносить поправки.

Исходя из цели настоящей работы, более предпочтительным является бромид-броматный метод, поскольку он обеспечивает потенциальную возможность определять не только остаточные пентозаны, но и остаточные гексозаны. Ответ на вопрос о том, с какой точностью бромид-броматный метод позволяет определять сумму остаточных нецеллюлозных полисахаридов, можно получить, анализируя образцы сырья с известным составом полисахаридов (табл. 1).

Как показывают полученные автором результаты (табл. 2), содержание нецеллюлозных полисахаридов, полученное с использованием определения фурфурола бромид-броматным методом, для всех исследованных образцов растительного сырья незначительно отличается от известного (относительная ошибка определения не превышает 4,3%). Иными словами, предлагаемый метод позволяет относительно просто и с достаточно высокой точностью определять нецеллюлозные полисахариды как в древесине, так и в сельскохозяйственных растениях.

Таблица 2

Результаты определения нецеллюлозных полисахаридов в растительном сырье

Results of determination of noncellulosic polysaccharides in vegetable raw materials

Компонент	Содержание компонента, %			
	древесина		пшеничная солома	багасса
	<i>Populus deltoides</i>	<i>Pinus radiata</i>		
«Сырая» целлюлоза	50,6	48,7	46,9	51,9
Остаточные пентозаны	7,9	6,5	13,2	14,3
Целлюлоза	42,7	42,2	33,7	37,6
Полисахариды*	58,6	62,4	55,7	59,6
Нецеллюлозные полисахариды	15,9 (4,2)	20,2 (1,5)	22,0 (0,5)	22,0 (4,3)

* Данные – из работы [Евстигнеев, 2016]. В скобках приведена относительная ошибка определения, %.



Рис. 3. Схема определения основных компонентов растительного сырья
 Fig. 3. Scheme of determination of the main components of vegetable raw materials

Обобщая результаты, полученные в настоящей работе и в работе [Евстигнеев, 2016], можно предложить следующую схему определения основных компонентов растительного сырья (рис. 3). Она включает в себя определение полисахаридов, целлюлозы, нецеллюлозных полисахаридов, лигнина, экстрактивных веществ и золы. С ее помощью можно достаточно полно охарактеризовать компонентный состав сырья растительного происхождения, не прибегая к использованию специального оборудования.

Отличительной особенностью предлагаемой схемы от известных схем является стадия определения общего содержания полисахаридов [Евстигнеев, 2016], а с ее помощью и общего содержания нецеллюлозных полисахаридов – важного критерия при оценке пригодности растительного сырья для химической переработки, например для получения биотоплива. Важно и то, что при этом определяются все нецеллюлозные полисахариды (гемицеллюлозы и водорастворимые полисахариды).

С использованием этой схемы проводили исследование компонентного состава древесины отечественных пород, имеющих промышленное значение (ели, сосны, осины и березы). Положения максимумов поглощения в спектрах и средние молярные коэффициенты экстинкции гидролизатов приведены в табл. 3. Значения ϵ_c из работы [Евстигнеев, 2016], при этом для древесины березы использован молярный коэффициент экстинкции $9400 \text{ л}\cdot\text{моль}^{-1}\cdot\text{см}^{-1}$, поскольку в гидролизатах этой породы древесины, помимо арабинозы, ксилозы, маннозы, галактозы и глюкозы содержится рамноза в сопоставимых с ними количествах [Patent CA 2046595, 1999]. Состав выделенной целлюлозы Кюршнера представлен в табл. 4, результаты исследования – в табл. 5.

Таблица 3

Оптические характеристики гидролизатов древесины
Optical characteristics of hydrolyzates of wood

Характеристика	Гидролизат			
	древесина хвойных пород		древесина лиственных пород	
	<i>Picea abies</i>	<i>Pinus silvestris</i>	<i>Populus tremula</i>	<i>Betula verrucosa</i>
$\lambda_{\text{макс}}$, нм	483,2	483,0	479,0	479,2
ε_c , л·моль ⁻¹ ·см ⁻¹	8050	8050	8400	9400

Таблица 4

Содержание и состав целлюлозы Кюршнера
Contents and composition of Kürschner cellulose

Компонент	Содержание компонента, %			
	древесина хвойных пород		древесина лиственных пород	
	<i>Picea abies</i>	<i>Pinus silvestris</i>	<i>Populus tremula</i>	<i>Betula verrucosa</i>
«Сырая» целлюлоза	48,5	51,7	51,1	53,3
Остаточные пентозаны	4,5	5,2	11,7	13,1
Целлюлоза	44,0	46,5	39,4	40,2

Таблица 5

Результаты определения компонентов древесины
Results of determination of wood components

Компонент	Содержание компонента, %			
	древесина хвойных пород		древесина лиственных пород	
	<i>Picea abies</i>	<i>Pinus silvestris</i>	<i>Populus tremula</i>	<i>Betula verrucosa</i>
Целлюлоза	44,0	46,5	39,4	40,2
Нецеллюлозные полисахариды	18,6	15,9	25,8	24,7
Сумма полисахаридов	62,6	62,4	65,2	64,9
Лигнин Класона	28,0	24,5	18,7	18,7
КРЛ*	0,6	0,4	2,8	3,7
Всего лигнина	28,6	24,9	21,5	22,4
Экстрактивные вещества	2,6	6,9	4,2	2,9
Зола	0,5	0,2	0,4	0,2
Сумма компонентов	94,3	94,4	91,3	90,4

* КРЛ – кислоторастворимый лигнин.

Необходимо отметить, что при детальном исследовании состава древесины, помимо основных компонентов, указанных в табл. 5, определяют также уроновые кислоты и ацетильные группы. Содержание урновых кислот в древесине хвойных пород составляет в среднем 3–4%, в древесине лиственных – 5–8%; ацетильных групп содержится соответственно 1–2 и 3–6% [Шарков и др., 1976]. В сочетании с этими данными сумма компонентов в табл. 5 для каждой породы древесины приближается к 100%, что еще раз свидетельствует о правильности разработанного метода определения нецеллюлозных полисахаридов и схемы анализа.

Анализируя экспериментальные данные, приведенные в табл. 5, можно отметить некоторые закономерности, касающиеся полисахаридов. Общее содержание полисахаридов в древесине хвойных пород несколько ниже, а целлюлозы выше, чем в лиственных. Более заметны различия по содержанию нецеллюлозных полисахаридов, которых больше в лиственных породах древесины. Для всех исследованных пород древесины отчетливо проявляется следующая зависимость: чем ниже содержание в древесине целлюлозы, тем выше содержание в ней нецеллюлозных полисахаридов.

В заключение отметим, что, на наш взгляд, определение в древесине нецеллюлозных полисахаридов позволяет более точно установить содержание полисахаридов, не являющихся целлюлозой, по сравнению с выделением гемицеллюлоз, поскольку их выделение представляет собой многостадийную процедуру и связано с неизбежными потерями части анализируемого компонента.

Выводы. Результаты анализа образцов с известным содержанием нецеллюлозных полисахаридов показывают, что разработанный метод позволяет определять указанные компоненты с высокой точностью (относительная ошибка определения не превышает 4,3%).

Предложенная в работе схема дает возможность достаточно полно охарактеризовать компонентный состав растительного сырья, не прибегая к использованию специального оборудования.

Изучение компонентного состава древесины отечественных пород, имеющих промышленное значение (ели, сосны, осины и березы), с помощью новой схемы анализа позволило выявить различия в содержании и составе полисахаридов хвойной и лиственной древесины.

Библиографический список

Евстигнеев Э.И. Определение полисахаридов в растительном сырье и препаратах лигнина // *Химия растительного сырья.* 2016. № 2. С. 5–11.

Оболенская А.В., Ельницкая З.П., Леонович А.А. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. М.: Экология. 1991. 320 с.

Шарков В.И., Куйбина Н.И., Соловьева Ю.П., Павлова Т.А. Количественный химический анализ растительного сырья. М.: Лесн. пром-сть. 1976. 72 с.

Kürschner K., Hoffer A. Ein neues Verfahren zur Bestimmung der Cellulose in Hölzern und Zellstoffen // *Tech. Chem. Pap. Zellst. Fabr.* 1929. No. 26. P. 125–129.

Milne T.A., Chum H.L., Agblevor F., Johnson D.K. Standardized analytical methods // *Biomass and Bioenergy*. 1992. Vol. 2, no. 1–6. P. 341–366.

Patent CA 2046595 C (Finland). Method for the production of xylitol from mixtures containing xylose / H. Heikkila, J. Nurmi, L. Rahkila, M. Toyryla. 1999.

Swan B. Isolation of acidsoluble lignin from the Klason lignin determination // *Svensk Papperstidn.* 1965. Vol. 68, no. 22. P. 791–795.

References

Evstigneyev E.I. Opredelenie polisacharidov v rastitel'nom syr'je i preparatakh lignina [Quantification of noncellulosic polysaccharides and other components in vegetable raw materials]. *Khimija Rastitel'nogo Syr'ja*, 2016, no. 2, pp. 5–11. (In Russ.)

Obolenskaya A.V., Elnitskaya Z.P., Leonovich A.A. Laboratornye raboty po khimii drevesiny i cellulozy [Laboratory works on chemistry of wood and cellulose]. Moscow: Ekologiya, 1991. (In Russ.)

Sharkov V.I., Kuybina N.I., Solovyeva Yu.P., Pavlova T.A. Kolichestvennyi khimicheskiy analiz rastitelnogo syr'ja [Quantitative chemical analysis of vegetable raw materials]. Moscow: Lesnaya promyshlennost, 1976. (In Russ.)

Kürschner K., Hoffer A. Ein neues Verfahren zur Bestimmung der Cellulose in Hölzern und Zellstoffen. *Tech. Chem. Pap. Zellst. Fabr.* 1929, no. 26, pp. 125–129.

Milne T.A., Chum H.L., Agblevor F., Johnson D.K. Standardized analytical methods. *Biomass and Bioenergy*, 1992, vol. 2, no. 1–6, pp. 341–366.

Patent CA 2046595 C (Finland). Method for the production of xylitol from mixtures containing xylose / H. Heikkila, J. Nurmi, L. Rahkila, M. Toyryla. 1999.

Swan B. Isolation of acidsoluble lignin from the Klason lignin determination. *Svensk Papperstidn.* 1965, vol. 68, no. 22, pp. 791–795.

Материал поступил в редакцию 05.02.2018 г.

Евстигнеев Э.И. Определение нецеллюлозных полисахаридов и других компонентов в растительном сырье // Известия Санкт-Петербургской лесотехнической академии. 2018. Вып. 225. С. 248–259. DOI: 10.21266/2079-4304.2018.225.248-259

Предложен метод количественного определения нецеллюлозных полисахаридов в растительном сырье (древесине и сельскохозяйственных растениях). Он предусматривает определение в анализируемых образцах

общего содержания полисахаридов и целлюлозы, а нецеллюлозные полисахариды определяются по разности. В качестве метода определения целлюлозы использовали азотно-спиртовой метод (метод Кюршнера), который отличается простотой и отсутствием необходимости предварительной экстракции образца, поскольку этанол является лучшим растворителем экстрактивных веществ среди индивидуальных растворителей. Для корректировки содержания целлюлозы Кюршнера на «чистую» целлюлозу в ней бромид-броматным методом определяются остаточные пентозаны. Как показали результаты анализа образцов с известным содержанием нецеллюлозных полисахаридов, разработанный метод позволяет определять указанные компоненты с высокой точностью (относительная ошибка определения не превышает 4,3%). Кроме того, в работе предложена схема определения основных компонентов растительного сырья. Она включает в себя определение полисахаридов, целлюлозы, нецеллюлозных полисахаридов, лигнина, экстрактивных веществ и золы. С ее помощью можно достаточно полно охарактеризовать компонентный состав сырья растительного происхождения, не прибегая к использованию специального оборудования. С помощью новой схемы анализа определены различия в содержании и составе полисахаридов древесины хвойных и лиственных пород.

Ключевые слова: полисахариды, нецеллюлозные полисахариды, целлюлоза Кюршнера, остаточные пентозаны.

Evstigneyev E.I. Quantification of noncellulosic polysaccharides and other components in vegetable raw materials. *Izvestia Sankt-Peterburgskoj Lesotehniceskoy Akademii*, 2018, is. 225, pp. 248–259 (in Russian with English summary). DOI: 10.21266/2079-4304.2018.225.248-259

The method of quantitative determination of noncellulosic polysaccharides in vegetable raw materials (wood and agricultural plants) is offered. He provides determination in the analyzed samples the general content of polysaccharides and cellulose, and noncellulosic polysaccharides are determined by a difference. As a method of determination of cellulose used Kürschner method which differs in simplicity and lack of need of preliminary extraction of a sample as ethanol is the best solvent of extractive substances among individual solvents. For correction of content of Kürschner cellulose on «pure» cellulose residual pentosans are determined by bromide bromated method. As have shown results of the analysis of samples with the known content of noncellulosic polysaccharides, the developed method allows to determine the specified components with high precision (the relative error of definition doesn't exceed 4.3%). Besides, in work the scheme determination of the main components of vegetable raw materials is offered. It includes determination of polysaccharides, cellulose, noncellulosic polysaccharides, lignin, extractive substances and ashes. With her help it is possible to characterize rather fully

component composition of vegetable raw materials without resorting to use of the special equipment. Differences in contents and composition of polysaccharides of wood of coniferous and deciduous breeds are defined by the new scheme of the analysis.

Key words: polysaccharides, noncellulosic polysaccharides, Kürschner cellulose, residual pentosans.

ЕВСТИГНЕЕВ Эдуард Иванович – профессор кафедры технологии лесохимических продуктов, химии древесины и биотехнологии Санкт-Петербургского государственного лесотехнического университета имени С.М. Кирова, доктор химических наук. SPIN-код 4998-9937.

194021, Институтский пер., д. 5, Санкт-Петербург, Россия. E-mail: edward_evst@mail.ru

EVSTIGNEYEV Edward I. – DSc (Chemistry), Professor, Department of technologies of timber-chemical products, chemistry of wood and biotechnology, St.Petersburg State Forest Technical University. SPIN-код 4998-9937.

194021. Institute per. 5. St. Petersburg. Russia. E-mail: edward_evst@mail.ru