

УДК 678.01:5

**ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНИЧЕСКОЙ ДЕСТРУКЦИИ  
ПОЛИСАХАРИДОВ МЕТОДОМ ЭЛЕКТРОННОГО ПАРАМАГНИТНОГО  
РЕЗОНАНСА**

***Г. В. Абагян, П. Ю. Бутягин***

Механическая деструкция полисахаридов протекает по свободно-радикальному механизму. Свободные радикалы сначала были обнаружены косвенными методами (например, по связыванию ингибиторов) [1], а затем и прямым путем — по возникновению спектров электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) [5, 7, 8]. В нашей работе рассмотрены спектры ЭПР свободных радикалов в целлюлозе и ее производных, крахмале и инулине.

Методика эксперимента и измерений спектров описана в [2]. Образцы диспергировали в лабораторной стеклянной микромельнице в вакууме при температуре жидкого азота ( $-196^{\circ}$ ).

Спектры ЭПР измеряли на радиоспектрометре ЭПР-2 ИХФ [3]. Опыты проведены с очищенной хлопковой и древесной целлюлозой (содержание полисахаридов 99,3%), карбоксиметилцеллюлозой (КМЦ), триацетилцеллюлозой (ТАЦ), очищенным крахмалом и инулином. Перед измельчением образцы вакуумировали до остаточного равновесного давления водяных паров  $10^{-3}$  мм рт. ст.

Всего выполнено 4 серии измерений спектров ЭПР: а) после диспергирования образцов при  $-196^{\circ}$  в вакууме; б) при нагревании образцов в вакууме до  $50^{\circ}$ ; в) после диспергирования твердых растворов целлюлозы, КМЦ и ТАЦ при  $-196^{\circ}$  в вакууме (деструкция изолированных макромолекул); г) при взаимодействии образцов с кислородом воздуха. Наиболее характерные спектры показаны на рисунках.

а) Спектры ЭПР в целлюлозе, крахмале и инулине (рис. 1, а—в) практически одинаковы. Спектры имеют  $g$ -фактор, близкий к  $g$ -фактору свободного электрона. Они плохо разрешены и являются, по-видимому, суммой двух отдельных сигналов: синглета и квадруплета. На рис. 2, а сплошная кривая — суммарный спектр в целлюлозе, а пунктирная — теоретический квадруплет с соотношением интенсивностей  $1:3:3:1$  и параметром расщепления  $\beta = 0,88$  (см. [4]). Синглет был выделен в чистом виде при взаимодействии образцов с кислородом воздуха (рис. 4, б).

Спектр ЭПР в ТАЦ (рис. 1, г) по своей форме близок к спектру целлюлозы, но не тождествен ему. В этом спектре можно проследить дополнительные линии, которые пока не идентифицированы. В КМЦ спектр ЭПР (рис. 1, д) представляет собой двойную линию, которая, по-видимому, совмещена с небольшим асимметричным сигналом. Аналогичный спектр при диспергировании КМЦ был описан ранее [5].

б) Изменения в спектрах целлюлозы при размораживании образцов в вакууме от  $-196$  до  $50^{\circ}$  показаны на рис. 2, б—д. Нагревание произво-

дили ступенчато, выдержка при каждой заданной температуре — 10 мин. Все спектры измерены при  $-196^{\circ}$ . До  $-60^{\circ}$  форма спектра остается неизменной. При дальнейшем повышении температуры интенсивность крайних линий, принадлежащих квадруплету, падает, а выше  $0^{\circ}$  они практически исчезают. В то же время интенсивность двух средних линий при  $0^{\circ}$  увеличивается примерно на 20—30 %. После нагревания до  $50^{\circ}$  сум-

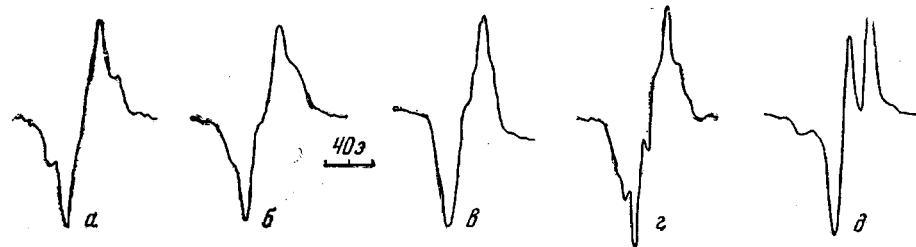


Рис. 1. Спектры ЭПР, полученные при диспергировании в вакууме при  $-196^{\circ}$  сухих образцов:

а — древесная целлюлоза, б — крахмал, в — инулин, г — ТАЦ, д — КМЦ

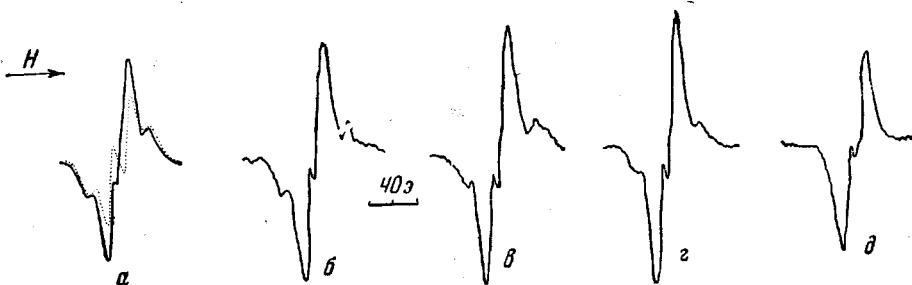


Рис. 2. Спектры ЭПР в продуктах диспергирования полисахаридов:

а — сплошная кривая — спектр в целлюлозе, пунктирная — квадруплет с соотношением интенсивности 1 : 3 : 3 : 1 и  $\beta = 0,87$ ; б — δ — изменения в спектрах при нагревании образцов хлопковой целлюлозы: б — исходный спектр ( $-196^{\circ}$ ), в —  $-40^{\circ}$ , г —  $0^{\circ}$ , д —  $50^{\circ}$

марная интенсивность спектра, состоящего в основном из двойной линии, начинает снижаться.

Наблюдаемые изменения связаны, по-видимому, с превращением квадруплета в дублет в диапазоне температур от  $-40$  до  $0^{\circ}$ . При более высоких температурах начинается гибель дублета. Аналогичные изменения в спектрах ЭПР отмечены в крахмале.

В КМЦ при нагревании до комнатной температуры спектр превращается в четкую, хорошо разрешенную двойную линию; суммарная интенсивность спектра при этом падает. Спектр устойчив до комнатной температуры. В ТАЦ спектр при нагревании претерпевает сложные изменения, сопровождающиеся падением интенсивности. Спектр при  $20^{\circ}$  значительно отличается от спектров в целлюлозе и КМЦ.

б) Спектры ЭПР, возникающие при деструкции изолированных макромолекул, показаны на рис. 3, а—г. Опыты выполнены с твердыми замороженными растворами целлюлозы в 50 %-ном растворе  $H_2SO_4$ , ТАЦ — в ледяной уксусной кислоте и КМЦ — в 20 %-ном растворе KOH в  $D_2O$  и  $H_2O$ . Концентрация полимера в растворах колебалась от 1 до 6 %.

Спектры целлюлозы и ТАЦ в кислотных матрицах при  $-196^{\circ}$  похожи друг на друга; они состоят из линий, принадлежащих нескольким сигналам; при повышении температуры интенсивность спектров падает, а форма меняется. В ТАЦ после размораживания до  $-65^{\circ}$  спектр состоит из пяти компонент сверхтонкой структуры (с.т.с.) (рис. 3, в). Можно думать, что сигнал из пяти компонент составляет часть исходного спектра

3, б, где он совмещен со вторым сигналом, состоящим из четного числа компонент — двух или четырех. Четный сигнал менее устойчив к нагреванию.

В замороженных водных растворах КМЦ спектр ЭПР имеет форму симметричной, хорошо разрешенной двойной линии (рис. 3, г). Вблизи  $0^\circ$  сигнал гибнет. Форма спектра не зависит от природы среды.

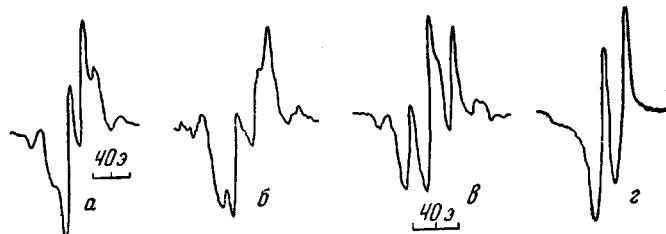


Рис. 3. Спектры ЭПР в твердых растворах: а — целлюлозы в  $\text{H}_2\text{SO}_4$  при  $-196^\circ$ , б — ТАЦ в  $\text{CH}_3\text{COOH}$  при  $-196^\circ$ , в — то же после нагревания до  $-64^\circ$ , г — КМЦ в  $\text{D}_2\text{O}$  при  $-196^\circ$

г) В последней серии измерений мы наблюдали за изменениями в спектрах при контакте образцов с кислородом воздуха. В большинстве опытов кислород вводили при  $-196^\circ$ , а затем постепенно повышали температуру. В целлюлозе при  $-95^\circ$  (рис. 4, а) спектр превращается в характерную асимметричную линию — сигнал перекисных радикалов [6]. Вблизи  $0^\circ$  интенсивность спектра падает в 10—15 раз, а в спектре остается лишь сравнительно слабая симметричная одиночная линия (рис. 4, б). При  $-95^\circ$  происходит, вероятно, превращение квадруплета в сигнал перекисных радикалов, которые далее гибнут вблизи  $0^\circ$ . Одиночная линия, составляющая наряду с квадруплетом часть исходного спектра, при контакте с кислородом не изменяется.

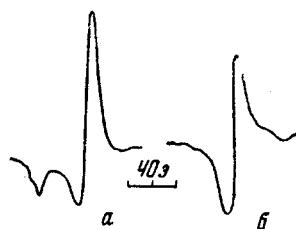


Рис. 4. Спектры ЭПР, возникающие после нагревания образцов целлюлозы на воздухе: а — до  $-95^\circ$ , б — до  $0^\circ$

как в сухом образце, так и в растворах спектр ЭПР при взаимодействии с кислородом воздуха остается без изменений; также устойчив к действию кислорода и дублетный спектр, возникающий после нагревания целлюлозы до  $0^\circ$  в вакууме.

В таблице собраны параметры спектров ЭПР отдельных типов свободных радикалов, обнаруженных в полисахаридах.

**Тип I.** Свободные радикалы, характеризуемые одиночным сигналом ЭПР, стабильнее всех остальных типов радикалов, обнаруженных в полисахаридах; они не взаимодействуют с кислородом и выдерживают нагревание до  $150^\circ$  в вакууме. Благодаря своей устойчивости эти радикалы были найдены ранее других в продуктах механической обработки целлюлозы [5, 8] и целлолигнина [7] в обычных условиях (комнатная температура, на воздухе).

Концентрация радикалов типа I невелика и составляет, примерно,  $1/10$  общего количества радикалов, возникающих при низкотемпературной деструкции. В то же время, по данным работы [7], концентрация их при

Параметры спектров ЭПР свободных радикалов в полисахаридах

Тип радикала	Число компонентов, с.т.с.	Соотношение интенсивностей	$\Delta H_p$ , эрстеды
I	1	—	$10 \pm 1$
II	2	1:1	$16 \pm 1$
III	4	1:3:3:1	$17 \pm 1$
IV	5	1:4:6:4:1	$19 \pm 1$

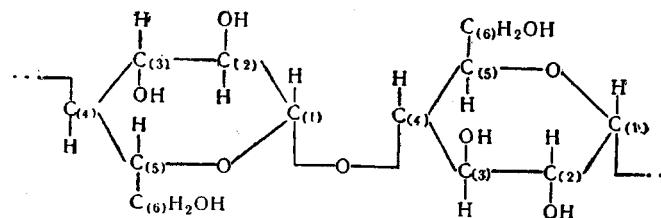
диспергировании целлюлита очень велика, и можно думать, что появление радикалов типа I связано с небольшими примесями (типа лигнина) в полисахарах.

Одиночный сигнал ЭПР мог бы принадлежать радикалам со свободной валентностью, локализованной на атоме кислорода. Однако в этом случае трудно ожидать столь высокой термоустойчивости радикалов, и это объяснение природы радикалов типа I кажется менее вероятным.

Тип II. Свободные радикалы с дублетным спектром ЭПР обнаружены в целлюлозе и КМЦ (сухой полимер и его растворы в  $H_2O$ ,  $D_2O$ ,  $KOH$  и  $H_2SO_4$ ). Радикалы не взаимодействуют с кислородом и медленно гибнут на воздухе (вода, кислород) при комнатной температуре. Радикалы типа II являются вторичными продуктами деструкции. В целлюлозе они образуются из радикалов типа III при температурах  $-40^\circ$  и выше. В КМЦ образование радикалов типа II происходит уже в процессе диспергирования при  $-196^\circ$ . Радикалы типа II в полисахарах сходны по своим свойствам с радикалами типа  $R-O\cdot\cdot H$  в белках [9–13].

Тип III. Свободные радикалы со спектром ЭПР из четырех компонент с.т.с. мы наблюдали при низких температурах в вакууме совместно с радикалами типа I. Радикалы типа III отличаются от сопутствующих им радикалов высокой реакционной способностью: они реагируют с мономерами и кислородом уже при  $-100^\circ$ . При  $-40^\circ$  и выше радикалы типа III превращаются в более устойчивую форму — тип II.

В радикалах типа III, судя по их способности присоединять кислород, свободная валентность локализована на атоме углерода. В элементарном звене целлюлозы спектр ЭПР из четырех компонент с.т.с. с соотношением интенсивностей, близким к биномиальному, соответствует, скорее всего, локализации неспаренного электрона у 5-го атома углерода:



Сравнительно низкую константу с.т.с. ( $\Delta H \sim 19$  эрг/ст) можно объяснить соседством атома кислорода.

Радикалы со свободной валентностью у  $C_{(5)}$  могут возникать либо при разрушении элементарного циклического звена целлюлозы, либо в результате вторичных реакций отрыва атома водорода. При разрыве любой связи должны образоваться два типа радикалов, а мы наблюдаем лишь один из них и поэтому можно думать, что уже при  $-196^\circ$  вторичные реакции могут играть существенную роль.

Тип IV. Наиболее коротковивущие радикалы типа IV (спектр ЭПР из пяти компонент с.т.с.) обнаружены только в твердых растворах целлюлозы и ТАЦ вблизи температуры жидкого азота. Имеющихся данных недостаточно для расшифровки спектра и можно лишь предполагать, что свободная валентность в радикалах типа IV локализована у атома углерода.

В твердых растворах вторичные межмолекулярные реакции затруднены и можно думать, что радикалы типа IV соответствуют состоянию, более близкому к моменту разрыва связи, чем радикалы типа III. Однако, возможно также, что направление деструкции и вторичных реакций в кислотных растворах отличается от направления соответствующих процессов в твердом полимере. Поэтому и природа наблюденных радикалов в обоих случаях различна.

При механической деструкции полисахаридов первичные радикалы со свободной валентностью на атоме кислорода не обнаружены. Однако один этот факт не может служить доказательством того, что глюкозидные связи не разрушаются по радикальному механизму, как, например, в полиформальдегиде [14]. В полисахаридах, как и в других классах полимеров, могут протекать и протекают вторичные свободнорадикальные реакции (стабилизация, миграция свободной валентности, гибель и т. д.), затемняющие картину первичного акта деструкции. Именно благодаря вторичным реакциям спектры ЭПР конечных радикальных продуктов при механодеструкции имеют много общего со спектрами ЭПР, возникающими при  $\gamma$ -облучении целлюлозы и крахмала [15–18].

### Выводы

1. Методом ЭПР исследована механическая деструкция целлюлозы, карбоксиметилцеллюлозы, триацетилцеллюлозы, крахмала и инулина при диспергировании в вибрационной мельнице при  $-196^{\circ}$  в вакууме и на воздухе. Во всех полимерах обнаружены высокие концентрации свободных радикалов.

2. В целлюлозе и крахмале выделены 4 типа свободных радикалов и установлены параметры их спектров ЭПР. 2 типа радикалов со спектрами ЭПР из 4–5 компонент с.т.с., отличающиеся локализацией свободной валентности на атоме углерода, можно отнести к первичным радикалам. Радикалы со свободной валентностью на атоме кислорода, которые могли бы образоваться при разрыве глюкозидной связи, не обнаружены.

Институт химической  
физики АН СССР

Поступила в редакцию  
24 IX 1964

### ЛИТЕРАТУРА

1. K. Hess, E. Steutegger, Z. phys. Chem., 193, 234, 1944.
2. Г. В. Абагян, П. Ю. Бутягин, Биофизика, 9, 180, 1964.
3. А. Г. Семенов, Н. Н. Бубнов, Приборы и техника эксперимента, 1959, № 1, 92.
4. Я. С. Лебедев, Д. М. Черникова, Н. Н. Тихомирова, Атлас спектров ЭПР, Изд. АН СССР, 1962, стр. 196.
5. П. Ю. Бутягин, Докл. АН СССР, 140, 145, 1961.
6. Ю. Д. Цветков, Ю. Н. Молин, В. В. Воеvodский, Высокомолек. соед., 1, 1805, 1959.
7. T. N. Kleineberg, J. R. Morton, Nature, 196, 334, 1962.
8. R. L. Ott, J. Polymer Sci., A2, 973, 1964.
9. W. Gordy, H. Shields, Radiation Res., 9, 611, 1958.
10. W. Gordy, Information Theory in Biology, London, 1958.
11. Г. В. Абагян, П. Ю. Бутягин, Докл. АН СССР, 154, 1444, 1964.
12. М. К. Пулатова, В. Г. Рогулленкова, Л. П. Каюшин, Биофизика, 6, 148, 1961.
13. М. К. Пулатова, Биофизика, 8, 632, 1963.
14. В. А. Радциг, П. Ю. Бутягин, Высокомолек. соед., 7, 922, 1965.
15. R. F. Abraham, D. H. Whiffen, Trans. Faraday Soc., 9, 1291, 1958.
16. S. Dilli, J. L. Garnett, Nature, 198, 984, 1963.
17. R. E. Florin, L. A. Wall, J. Polymer Sci., A1, 1163, 1963.
18. G. S. Park, J. Polymer Sci., B1, 617, 1963.

### ELECTRON PARAMAGNETIC RESONANCE STUDY OF THE MECHANICAL DEGRADATION OF POLYSACCHARIDES

G. V. Abagyan, P. Yu. Butyagin

Summary

The free radicals arising in the low-temperature mechano-degradation of polysaccharides have been investigated with the ESR method. The experiments were made with dehydrated and degassed specimens of cellulose, triacetylcellulose (TAC), carboxymethylcellulose (CMC), starch and inulin. With the objective of diminishing the role of intermolecular interactions experiments were also carried out with solid, frozen solutions of cellulose in 50%  $H_2SO_4$ , TAC in  $CH_3COOH$ , CMC in  $H_2SO_4$ , KOH,  $H_2O$  and  $D_2O$ . Four types of radicals were revealed among the degradation products. The changes in the ESR spectra of these radicals have been investigated over a large range of temperatures both in vacuo and in the presence of oxygen. The possible sites of localization of an unpaired electron have been indicated.