

УДК 541(545+64):547.458:535.37

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ РЕАКЦИИ РАДИКАЛОВ В ЦЕЛЛЮЛОЗЕ И НЕКОТОРЫХ МОДЕЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЯХ

Лымарев А. В., Юдин И. В., Панасюк С. Л., Матюшков В. В.

На примере целлюлозы и некоторых модельных соединений показана возможность использования хемилюминесценции, возникающей при контакте образцов с жидкостью, для определения структуры и концентрации свободных радикалов в моно- и полисахарах. Установлено, что хемилюминесценция этих соединений в воде обусловлена окислением и последующими реакциями оксигалкильных и алкильных радикалов. Эмиттерами хемилюминесценции в длинноволновой области ее спектра ($\lambda_{\text{макс}}=630$ нм) являются эксимеры синглетного кислорода, а в коротковолновой ($\lambda_{\text{макс}}=500$ нм) – возбужденные карбонилсодержащие соединения.

Известно [1], что механическая, термическая и химическая обработка, а также облучение целлюлозы и ее производных ионизирующими излучением и УФ-светом приводят к возникновению в них долгоживущих радикалов, что существенно изменяет физико-химические свойства этих полимеров. Использование метода ЭПР для изучения радикальных реакций в полимерах встречает серьезные затруднения из-за сложности интерпретации спектров ЭПР свободных радикалов, стабилизированных в аморфных и поликристаллических матрицах [2]: препараты целлюлозы содержат и аморфную и кристаллическую фракции [3], что делает практически невозможным однозначную идентификацию свободных радикалов методом ЭПР. В связи с этим особый интерес представляет обнаруженная нами [4] хемилюминесценция (ХЛ), возникающая при контакте препаратов целлюлозы, содержащих свободные радикалы, с жидкостями. Ранее было показано [5], что ХЛ обусловлена рекомбинацией свободных радикалов. Следовательно, выяснение взаимосвязи спектральных характеристик ХЛ и ее интенсивности со структурой и концентрацией свободных радикалов в образце должно способствовать развитию нового метода исследования радикальных процессов в целлюлозе. Относительно высокая чувствительность этого метода (по нашим оценкам, до 10^8 – 10^{10} радикалов в 1 г вещества [6]) подтверждает его перспективность.

В работе использовали препараты целлюлозы в виде хроматографической бумаги марки FN-2. После очистки (кипячение хроматографической бумаги в 2%-ном водном растворе щелочи и последующая отмыкация образцов уксусной кислотой и водой) объект исследования содержал $99.7 \pm 0.2\%$ α -целлюлозы. Целлюлозу изучали в виде воздушно-сухих образцов (содержание воды $6 \pm 1\%$).

В качестве модельных соединений целлюлозы использовали D-глюкозу (ч.), лактозу (ч.), D-ксилозу (ч.) и сахарозу (ч.д.а.). Дополнительную очистку препаратов проводили многократным переосаждением из водных растворов. Критерием очистки служила неизменность хемилюминесцентных характеристик сахаров при последующих переосаждениях.

Свободные радикалы в объектах исследования генерировали облучением образцов γ -квантами ^{60}Co при 303 К и мощности поглощенной дозы 0,25–0,30 Гр/с. Облучение проводили в атмосфере воздуха или аргона.

В качестве жидкости, инициирующей ХЛ, использовали дистиллиированную воду, а также водные растворы различных веществ.

Для измерения светосуммы ХЛ использовали аппаратуру, аналогичную описанной в работе [7]. Спектры ХЛ снимали с использованием интерференционных светофильтров с полушириной полосы пропускания 12 нм. Погрешность определения светосуммы ХЛ не превышала 7%.

Определение концентрации свободных радикалов в образцах проводили методом ЭПР (радиоспектрометр «Рубин»), а также методом акцепторов.

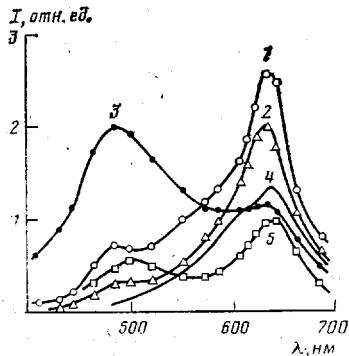


Рис. 1

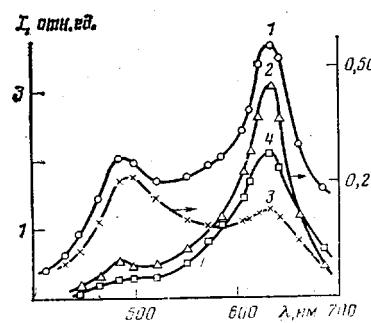


Рис. 2

Рис. 1. Спектры ХЛ облученных целлюлозы (1), лактозы (2), сахарозы (3) и D-ксилоэзы (5) в воде, а также спектр ХЛ синглетного кислорода (4) [8]. Поглощенная доза 10^5 (1) и $2 \cdot 10^3$ Гр (2, 3, 5)

Рис. 2. Спектры ХЛ облученных целлюлозы (1, 2) и D-глюкозы (3, 4) в водном растворе NaOH (pH 12,8) (1, 3) и в водном растворе HCl (pH 0,6) (2, 4). Поглощенная доза 10^5 (1, 2) и $2 \cdot 10^3$ Гр (3, 4). Масштаб для кривой 3 уменьшен в 3 раза

Рис. 3. Зависимость эффективности ХЛ облученной целлюлозы (1, 4), лактозы (2, 5) и D-глюкозы (3, 6) в полосе с $\lambda_{\max} = 630$ (1–3) и 500 нм (4–6) от величины поглощенной дозы

Рис. 4. Зависимости радиационно-химического выхода свободных радикалов при радиолизе целлюлозы, по данным метода акцепторов (тетранитрометан) (1) и метода ЭПР (2), а также интегральной эффективности ХЛ облученной целлюлозы в водном растворе NaOH (pH 13,0) (3), в водном растворе люминола ($9,3 \cdot 10^{-5}$ моль/л; pH 12,8) (4) и в воде (5) от величины поглощенной дозы. Масштаб для кривых 3 и 4 уменьшен в 5 и 10^5 раз соответственно. Ордината кривой 1 выражена в относительных единицах

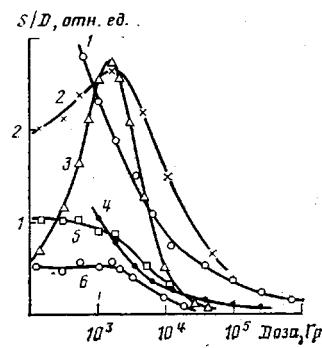


Рис. 3

S/D , квант $\cdot \text{Гр}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$

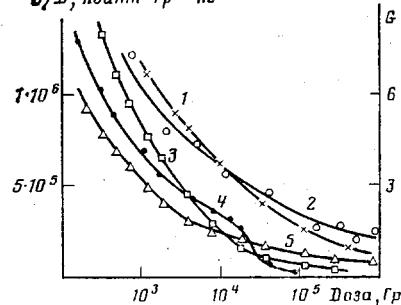


Рис. 4

Радиационно-химический выход карбонильных, карбоксильных и перекисных групп при радиолизе целлюлозы определяли химическими методами, основанными на взаимодействии указанных групп с солянокислым гидроксиламином и *n*-нитрофенилгидразином ($\text{C}=\text{O}$), с солью Мора и иодистым калием ($\text{R}-\text{O}-\text{O}-\text{R}$) и с метиленовым синим и уксуснокислым цинком ($\text{HO}-\text{C}=0$) [8].

В спектре ХЛ облученной целлюлозы и ее модельных соединений мы обнаружили две области свечения с максимумами интенсивности при 500 ± 15 и 630 ± 15 нм (рис. 1). Наблюдаются как минимум два эмиттера свечения, на что указывает перераспределение интенсивности ХЛ по полосам ее спектра при изменении pH растворителя (рис. 2) и величины поглощенной образцами дозы ионизирующего излучения (рис. 3).

Источником энергии, необходимой для возникновения эмиттеров ХЛ (соединений в электронно-возбужденном состоянии), являются реакции рекомбинации свободных радикалов, образовавшихся в моно- и полисахаридах под действием облучения. Об этом свидетельствуют: 1) тушение ХЛ акцепторами свободных радикалов; 2) симбатный ход зависимостей

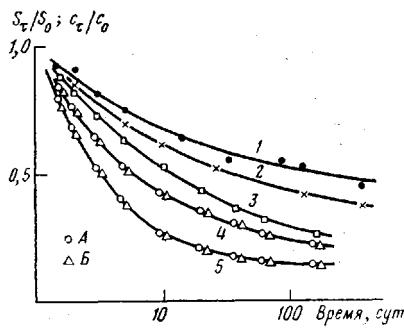


Рис. 5

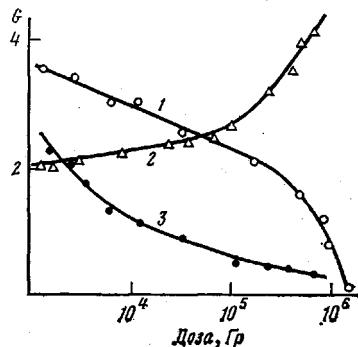


Рис. 6

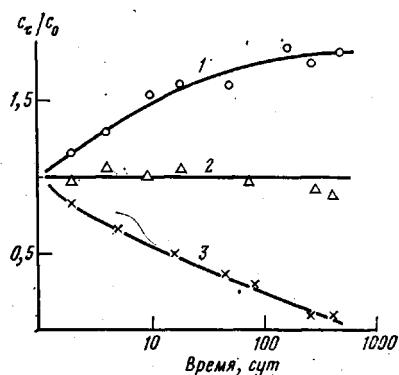


Рис. 7

эффективности ХЛ (отношение светосуммы ХЛ к величине поглощенной целлюлозой дозы S/D) и радиационно-химического выхода G свободных радикалов от величины поглощенной целлюлозой дозы облучения (рис. 3 и 4); 3) симбатное изменение светосуммы ХЛ и концентрации свободных радикалов в образцах при хранении облученной целлюлозы (рис. 5); 4) уменьшение концентрации свободных радикалов в облученной целлюлозе при контакте ее с жидкостями; 5) высокая экзотермичность реакции рекомбинации свободных радикалов, как правило, достаточная для образования продуктов в электронно-возбужденном состоянии [9].

Инициирование реакций рекомбинации свободных радикалов при контакте облученной целлюлозы с жидкостью обусловлено главным образом увеличением подвижности молекул полимера из-за пластифицирующего действия низкомолекулярных соединений [10]. При этом обычно рекомбинируют лишь радикалы, стабилизированные в аморфных областях препаратов целлюлозы, так как большинство жидкостей, в том числе и вода, не проникает в высокоупорядоченные (кристаллические) области полимера [11].

С нашей точки зрения, именно этим можно объяснить некоторые различия в характере зависимостей на рис. 5 (кривые 1 и 3–5), поскольку кривая 1 отражает изменение суммарного содержания свободных радикалов в образце, а кривые 3–5 – лишь изменение свободных радикалов, образовавшихся в наиболее аморфной его части. Поэтому мы считаем, что хемилюминесцентный метод в отличие от метода ЭПР позволяет избирательно фиксировать свободные радикалы, стабилизированные в аморфной фракции целлюлозы и гибнущие при взаимодействии жидкости с образцом.

Используя жидкости с различной проникающей способностью внутрь целлюлозных материалов (водные растворы кислоты и щелочи), по-видимому, можно изучать стабильность свободных радикалов, находящихся

Рис. 5. Изменение концентрации свободных радикалов в образцах, по данным метода ЭПР (1) и метода акцепторов (2), при хранении облученной целлюлозы при 293 К (доза $6,9 \cdot 10^4$ Гр), а также эффективности ХЛ облученной целлюлозы в водном растворе люминона ($9,3 \cdot 10^{-5}$ моль/л; pH 12,8) (3), в водном растворе NaOH (pH 13,1) (4) и в воде (5). А и Б – ХЛ с $\lambda_{\text{макс}} = 500$ и 630 нм соответственно

Рис. 6. Зависимости радиационно-химического выхода перекисных (1), карбонильных (2) и карбоксильных групп (3) при радиолизе целлюлозы от величины поглощенной дозы

Рис. 7. Изменение концентрации карбонильных (1), карбоксильных (2) и перекисных групп (3) в образцах в процессе хранения облученной целлюлозы при 293 К (доза $2 \cdot 10^5$ Гр)

в различных по степени упорядоченности структуры областях образца. Известно [11], например, что проникающая способность щелочи внутрь препаратов целлюлозы выше, чем у воды. В соответствии с этим увеличение pH водного раствора NaOH, которым смачивали облученную целлюлозу, приводит к увеличению светосуммы ХЛ и одновременно к возвращению доли свободных радикалов, гибнущих в образцах во время проведения хемилюминесцентной реакции.

Необходимым условием возникновения ХЛ является присутствие кислорода в окружающей атмосфере во время или после облучения целлюлозы либо в воде, которой смачивали облученные образцы. Аналогичные результаты были получены при изучении влияния кислорода; на эффективность ХЛ облученных D-глюкозы и D-кислозы [12]. Это позволило предположить, что первичной стадией ХЛ при контакте облученных моно- и полисахаридов с водой является окисление кислородом «первичных» радикалов R[·] до перекисных RO₂[·]



Протекание этой реакции в облученной целлюлозе подтверждают результаты изучения влияния кислорода на радиационно-химический выход перекисных соединений (таблица), которые образуются, по-видимому, по реакциям [13]



На участие перекисных радикалов в хемилюминесцентных процессах указывает также и симбатный ход зависимостей эффективности ХЛ, возникающей при контакте облученной целлюлозы с водой и водным раствором люминола, от величины поглощенной дозы (рис. 4) и длительности хранения облученных образцов (рис. 5), поскольку известно [14], что ХЛ облученных полиспиртов и углеводов в присутствии люминола обусловлена окислением этого соединения перекисными радикалами.

Чтобы проверить, не участвуют ли в хемилюминесцентных процессах молекулярные продукты радиолиза целлюлозы, мы изучали кинетику накопления их в образцах при облучении и последующем хранении целлюлозы. Согласно лит. данным [15], молекулярные продукты радиолиза моно- и полисахаридов включают в себя лишь перекисные, карбонильные и карбоксильные группы (не считая гидроксильных).

Реакции перекисных соединений в облученных моно- и полисахаридах, по-видимому, не приводят к возникновению свечения, так как терморазрушение перекисных групп в образцах не вызывает уменьшения светосуммы ХЛ, а зависимость эффективности ХЛ облученной целлюлозы от величины поглощенной дозы (рис. 3) не коррелирует с аналогичной зависимостью радиационно-химического выхода перекисных соединений в целлюлозе (рис. 6).

Молекулярные продукты радиолиза целлюлозы, включающие в себя карбонильные и карбоксильные группы, могут принимать участие в хемилюминесцентных процессах только в качестве акцепторов энергии возбуждения, так как энергетического эффекта реакций свободных радика-

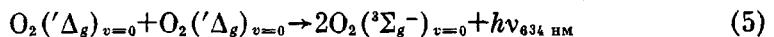
Влияние кислорода на радиационно-химический выход перекисных соединений при радиолизе целлюлозы

Атмосфера при облучении	G_{ROOR} при проведении анализа в атмосфере воздуха (1) и аргона (2)					
	$D=6,2 \cdot 10^4$ Гр		$D=17 \cdot 10^4$ Гр		$D=51 \cdot 10^4$ Гр	
	1	2	1	2	1	2
Воздух	3,2	2,6	2,1	1,6	1,6	1,2
Аргон	2,3	—	1,4	0,3	0,9	0,2

тов с указанными продуктами недостаточно для образования соединений в электронно-возбужденном состоянии. Эффективность же передачи энергии возбуждения в исследуемых системах, по-видимому, невелика, поскольку введение в реакционную смесь различных флуорогенов (флуоресцина, эозина, метиленового голубого, бенгальского розового, глиоксали и т. д.) в диапазоне концентраций 10^{-6} – 10^{-2} моль/л приводит к увеличению светосуммы ХЛ лишь в 2–4 раза. К тому же мы не наблюдали корреляции зависимости эффективности ХЛ облученной целлюлозы от величины поглощенной дозы (рис. 3) с аналогичными зависимостями радиационно-химического выхода карбонильных и карбоксильных групп (рис. 6), а также зависимостей эффективности ХЛ и концентрации этих групп в образцах от продолжительности хранения облученной целлюлозы (рис. 5 и 7). Следовательно, эмиттерами ХЛ (по крайней мере при $\lambda_{\max}=630$ нм) являются сами продукты реакций рекомбинации перекисных радикалов.

Сопоставляя спектры ХЛ и фотолюминесценции растворов облученных моно- и полисахаридов со спектрами фотолюминесценции ряда соединений, включающих в себя различные функциональные группы, мы пришли к выводу, что эмиттерами ХЛ в полосе с $\lambda_{\max}=500$ нм могут быть только карбонилсодержащие соединения. В частности, для некоторых облученных моно- и дисахаридов такими эмиттерами, по нашим данным [16], являются соединения, содержащие дикарбонильный фрагмент.

Эмиттерами ХЛ с $\lambda_{\max}=630$ нм служат эксимеры синглетного кислорода



Основанием для такого утверждения являются следующие факты.

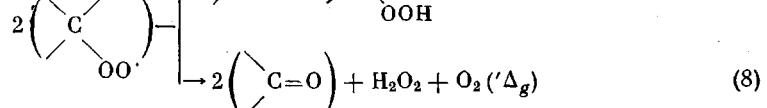
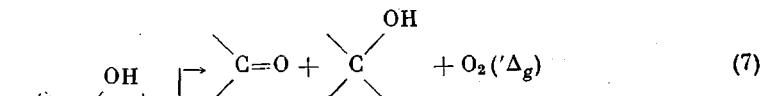
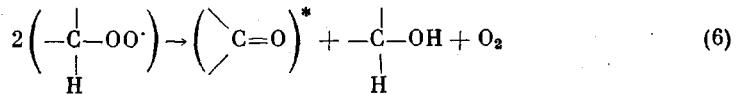
1. Максимумы интенсивности длинноволновой ХЛ и люминесценции эксимеров синглетного кислорода совпадают по положению (рис. 1).

2. В спектрах фотолюминесценции продуктов радиолиза моно- и полисахаридов нет полос свечения в области 600–700 нм, что может свидетельствовать о нестабильности эмиттера длинноволновой ХЛ.

3. Тушение ХЛ облученных моно- и полисахаридов акцептором синглетного кислорода и свободных радикалов (азид натрия) в 2–100 раз эффективнее для длинноволнового свечения, чем для коротковолнового.

4. Замена растворителя (H_2O на D_2O) приводит к увеличению эффективности ХЛ облученных моно- и полисахаридов в полосе с $\lambda_{\max}=630$ нм в 2,5–3,0 раза, по-видимому, вследствие того, что время жизни синглетного кислорода в D_2O в 10 раз больше, чем в H_2O [17]. Эффективность ХЛ в коротковолновой полосе ее спектра при такой замене растворителя не меняется.

Учитывая литературные сведения о путях образования возбужденных карбонильных соединений и синглетного кислорода в реакциях перекисных радикалов [9, 13, 18, 19], а также о структуре радикалов, генерируемых ионизирующими излучением в углеводах [15, 20], наиболее вероятными путями образования эмиттеров ХЛ мы считаем реакции

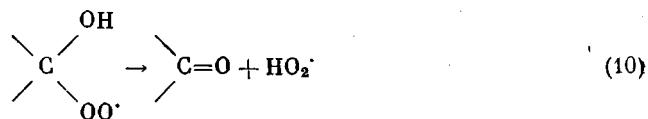


Как было показано ранее [21], в хемилюминесцентных реакциях при растворении облученных моно- и дисахаридов могут принимать участие

гидроперекисные радикалы



Поскольку в облученных углеводах гидроперекисные радикалы не стабилизируются при комнатной температуре, они образуются непосредственно при контакте жидкости с облученным образцом, по-видимому, в результате реакции (10) [22]



Последовательность реакций (9) и (10) играет ведущую роль в случае образования синглетного кислорода при растворении облученных моно- и дисахаридов. Однако на хемилюминесцентные процессы в облученной целлюлозе эти реакции, по-видимому, влияют очень мало. Об этом свидетельствует отсутствие уменьшения эффективности ХЛ облученной целлюлозы при увеличении pH «растворителя» выше 4, 5, которое должно наблюдаться из-за диссоциации гидроперекисных радикалов [23].

Достоверность изложенного механизма ХЛ облученной целлюлозы может быть однозначно установлена лишь после увереной идентификации свободных радикалов, содержащихся в образцах. Однако как отмечено выше, решение этой задачи с использованием метода ЭПР осложнено невозможностью получения монокристаллических образцов. Поэтому основные положения механизма обсуждаемой ХЛ мы подтвердили при комплексном изучении ЭПР и хемилюминесцентных характеристик облученных монокристаллов лактозы [24].

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют утверждать, что ХЛ облученной целлюлозы в полосе с $\lambda_{\max} = 630$ нм обусловлена окислением и последующей рекомбинацией радикалов типа $(\text{HO}-\dot{\text{C}}-)$ (реакции (1), (7) и (8)). Свечение с максимумом интенсивности при 500 нм является результатом излучательной дезактивации возбужденных карбонильных соединений, образующихся, по-видимому, в реакциях свободных радикалов типа $(\text{H}-\dot{\text{C}}-)$ (реакции (1) и (6)).

Результаты работы позволяют также утверждать, что развиваемым нами методом исследования свободных радикалов в целлюлозных материалах можно контролировать содержание этих частиц в аморфной области образца независимо от содержания парамагнитных частиц в его кристаллической области. Это существенно расширяет возможности изучения свободных радикалов в таких объектах, поэтому хемилюминесцентный метод может стать важным дополнением к традиционному методу ЭПР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Артур Дж. В кн.: Целлюлоза и ее производные. М.: Мир, 1974, т. 2, с. 292.
2. Верти Дж., Болтон Дж. Теория и практические приложения метода ЭПР. М.: Мир, 1975, с. 176.
3. Кленкова Н. И. Структура и реакционная способность целлюлозы. Л.: Наука, 1979.
4. Лымарев А. В., Матюшков В. В., Юдин И. В., Сигаев В. Я. Рукопись деп. в ВНИТИ. М., Деп. № 15-78.- Опубл. в РЖХим, 1978, 8С77.
5. Лымарев А. В., Матюшков В. В. В кн.: Тез. докл. Всес. совещ. «Влияние ионизирующего излучения на диэлектрические материалы, включая полимеры». Душанбе: Дониш, 1979, с. 248.
6. Матюшков В. В., Михальченко Г. А., Сигаев В. Я., Юдин И. В., Лымарев А. В. Изв. АН СССР. Сер. физ., 1977, т. 41, № 7, с. 1363.
7. Авотиныш Ю. Э., Дзелме Ю. А., Тиликс Ю. Е., Бугаенко Л. Т., Энгельталер Т. Е. Химия высоких энергий, 1977, т. 11, № 6, с. 448.
8. Бакасова З. Б., Блюмгард И. Г., Иванов В. И. Функциональный анализ углеводов. Фрунзе: Илим, 1971.
9. Stauff J., Sander U., Jaeschke C. In: Proc. Internat. Symp. Chemiluminescence and Bioluminescence N. Y.-L., 1973, p. 131.
10. Плотников О. В., Михайлов А. И., Раляев Э. Л. Высокомолек. соед. А, 1977, т. 19, № 11, с. 2528.

11. Reine A. H., Hinojosa O., Arthur J. C. J. Polymer Sci. B, 1971, v. 9, № 7, p. 503.
12. Матюшков В. В., Юдин И. В. Рукопись Деп. в ОНИИТЭХИМ. Черкассы. Деп. № 1999-78.- Опубл. в Деп. рукописи, 1978, № 12, с. 115.
13. Денисов Е. Т., Мицкевич Н. И., Агабеков В. Е. Механизмы жидкофазного окисления кислородсодержащих соединений. Минск: Наука и техника, 1975, с. 35.
14. Климентов А. С., Михальченко Г. А. Химия высоких энергий, 1973, т. 7, № 6, с. 513.
15. Кошетков Н. К., Кудряшев Л. И., Членов М. А. Радиационная химия углеводов. М.: Наука, 1978.
16. Михальченко Г. А., Матюшков В. В., Юдин И. В., Панасюк С. Л. Химия высоких энергий, 1981, т. 15, № 4, с. 338.
17. Merkel P. B., Nilsson R., Kearns D. R. J. Amer. Chem. Soc., 1972, v. 94, № 3, p. 1030.
18. Bielski B. H. J., Allen A. U. J. Phys. Chem., 1977, v. 81, № 11, p. 1048.
19. Васильев Р. Ф. Изв. АН СССР. Сер. физ., 1982, т. 41, № 2, с. 323.
20. Shimada M., Nakamura Y., Kusama Y., Matsuda O., Tamura N., Kagejama E. J. Appl. Polymer Sci., 1974, v. 18, № 11, p. 3379.
21. Матюшков В. В., Юдин И. В., Панасюк С. Л. Химия высоких энергий, 1982, т. 16, № 2, с. 135.
22. Bothe E., Schuchmann M. N., Schulte-Frohlinde D., Sonntag C. Photochem. and Photobiol., 1978, v. 28, № 4-5, p. 639.
23. Barlow G. E., Bisby R. H., Cundell R. B. Radiat. Phys. and Chem., 1979, v. 13, № 1-2, p. 73.
24. Матюшков В. В., Панасюк С. Л., Юдин И. В. Химия высоких энергий, 1983, т. 17, № 2, с. 138.

Ленинградский технологический
институт им. Ленсовета

Поступила в редакцию
6.V.1983

CHEMILUMINESCENT REACTIONS OF RADICALS IN CELLULOSE AND SOME MODEL COMPOUNDS

Lymarev A. V., Yudin I. V., Panasyuk S. L., Matyushkov V. V.

Summary

The possibility to use chemiluminescence arising at the contact of cellulose and some model compounds with a liquid for determination of the structure and concentration of free radicals in mono- and polysaccharides is shown. Chemiluminescence of these compounds in water is a result of oxidation and subsequent reactions of oxyalkyl and alkyl radicals. Emitters of chemiluminescence in the long-wave region of its spectrum ($\lambda_{\max}=630$ nm) are eximers of singlet oxygen, while in the short-wave region ($\lambda_{\max}=500$ nm) those are the excited carbonyl-containing compounds.