Polymerization
Quarterly, 2015
Volume 6, Number 4
Pages 124-132
ISSN: 2252-0449

Chemical Structure Characterization Methods for Lignin Polymer

Ramin Bairami Habashi, Mahdi Abdollahi*
Polymer Reaction Engineering Department, Faculty of Chemical Engineering, Tarbiat Modares University, P.O.Box:14115-143, Tehran, Iran

Received: 9 April 2016, Accepted: 8 July 2016

Abstract

Lignin is the second most abundant natural polymer after cellulose in the world; and as a cheap, non-toxic and biodegradable material, it is a good alternative to the petroleum-based polyols. Despite researchers' efforts to identify the structure of lignin, there are many problems which hinder lignin to be accepted as an appropriate monomer and a competitive alternative to the monomers derived from the crude oil for synthesis of polymers such as polyurethane. One of the major problems related to identification of the lignin structure is lack of well-defined protocols and standard. In this paper, a systematic study has been performed to quantitatively identify the functional groups present in the lignin structure using different techniques such as ^{1}H NMR, ^{13}C NMR, ^{3}1P NMR, ^{19}F NMR and UV-VIS spectroscopies and titration. The advantages and limitations of each method havealso been discussed. Moreover, the molecular weight and thermal properties of lignin have been determined by a variety of methods.

Key Words

lignin,
chemical structure characterization,
titration,
spectroscopy,
molecular weight

(*) To whom correspondence should be addressed.
E-mail: abdollahim@modares.ac.ir

مقالات علمی

بسپارش
فصلنامه علمی- ترویجی
سال ششم، شماره ۴
صفحه ۱۳۲-۱۲۴، ۱۳۹۵
ISSN: 2252-0449

روش‌های شناسایی ساختار شیمیایی پلیمر لیگنین

رامین بایرامی حبشی، مهدی عبداللهی*

تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده مهندسی شیمی، گروه مهندسی فرایندهای پلیمریزاسیون،
صندوق پستی ۱۴۳-۱۴۱۱۵

دریافت: ۱۳۹۵/۱/۲۱، پذیرش: ۱۳۹۵/۴/۱۸

چکیده

لیگنین دومین پلیمر طبیعی فراوان پس از سلولوز در دنیاست که به‌عنوان ماده‌ای ارزان، غیرسمی و زیست‌تخریب‌پذیر، جایگزین مناسبی برای پلی‌ال‌های بر پایه نفت شناخته شده است. پژوهشگران تلاش فراوانی به‌منظور شناسایی ساختار شیمیایی لیگنین انجام داده‌اند. اما، همچنان مشکلات بسیاری در جایگزینی مونومرهای به‌دست آمده از نفت خام و به‌کار رفته در ساخت و سنتز مواد پلیمری، مانند پلی‌یورتان‌ها، با لیگنین وجود دارد. از مشکلات عمده در شناسایی این پلیمر طبیعی، نبود پروتکل‌های مشخص و استاندارد است. در این مقاله، مطالعه‌ای نظام‌مند به‌منظور شناسایی کمی گروه‌های عاملی لیگنین، با استفاده از فنون مختلف، مانند تیترکردن و طیف‌سنجی‌های ^{1}HNMR، ^{13}CNMR، ^{31}PNMR، ^{19}FNMR و UV-VIS انجام شده است. در ادامه، با بررسی مزایا و محدودیت‌های هر روش، شیوه‌های تعیین وزن مولکولی و خواص گرمایی لیگنین نیز بیان شده است.

رامین بایرامی حبشی

مهدی عبداللهی

واژگان کلیدی

لیگنین،
شناسایی ساختار شیمیایی،
تیترکردن،
طیف‌سنجی،
وزن مولکولی

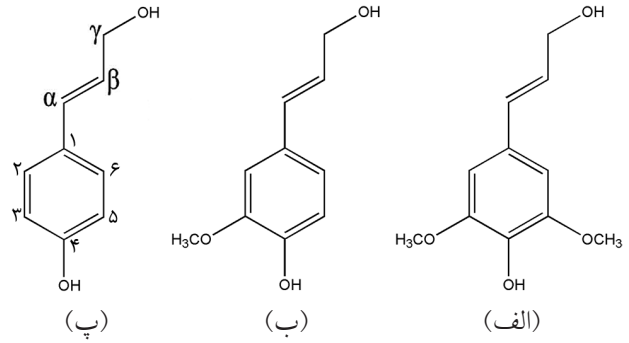
* مسئول مکاتبات، پیام‌نگار:
abdollahim@modares.ac.ir

مقدمه

لیگنین دومین پلیمر طبیعی فراوان پس از سلولوز در دنیاست که به‌سبب قیمت ارزان، غیرسمی بودن و زیست‌تخریب‌پذیری جایگزین مناسبی برای پلی‌ال‌های بر پایه نفت است. شناسایی لیگنین به‌منظور ارزیابی کاربردهای بالقوه آن در حوزه‌های مختلف فنی ضروری است. بدین سبب، در چند دهه گذشته پژوهش‌های گسترده‌ای با هدف توسعه روش‌های مناسب شناسایی این پلیمر طبیعی انجام یافته است. با این هدف، روش‌های جدید شناسایی لیگنین توسعه یافته و روش‌های قدیمی بهبود پیدا کرده‌اند. افزون بر این، تلاش‌هایی نیز برای حل برخی از مشکلات موجود در حوزه شناسایی ساختار لیگنین به‌عنوان درشت‌مونومر انجام شده است. در نتیجه، گسترش و استقرار روش‌های استاندارد تکرارپذیر به موضوعی مهم در زمینه پژوهشی لیگنین تبدیل شده است.

لیگنین نقش مهمی در ساختار گیاهان چوبی ایفا می‌کند. حفظ استحکام و ساختار دیواره‌های سلولی، کنترل جریان سیال و حفاظت در برابر تنش‌های زیست‌شیمیایی با مهار تخریب آنزیمی، از وظایف مهم لیگنین به‌شمار می‌آید. ساختار شیمیایی این پلیمر شامل واحدهای فنیل پروپان است که از سه ترکیب پیش‌ساز الکلی آروماتیکی پاراکوماریل الکل (p-coumaryl alcohol)، کانیفریل الکل (coniferyl alcohol) و سیناپیل الکل (sinapyl alcohol) ناشی می‌شود (شکل ۱) [۱].

لیگنین با واکنش‌های زیست‌سنتزی ترکیبات یادشده در گیاهان ساخته می‌شود. در مدت فرایند زیستی تشکیل چوب، مونومرهای شکل ۱ با واکنش جفت‌شدن رادیکالی، ساختار مولکولی سه‌بعدی پیچیده‌ای ایجاد می‌کنند که شامل انواع متعددی از پیوندهای مختلف است. بیش از ۵۰٪ پیوندهای لیگنین از نوع β-O-4 هستند [۱]. براساس اولین ساختار کامل لیگنین که Adler در سال ۱۹۷۷ ارائه داد، لیگنین پلیمری به‌شدت شاخه‌ای شناخته شد



شکل ۱- ساختار مونومرهای: (الف) پاراکوماریل الکل، (ب) کانیفریل الکل و (پ) سیناپیل الکل [۱].

(شکل ۲) [۲].

خواص فیزیکی و شیمیایی لیگنین به‌شدت از ساختار و انواع گروه‌های عاملی آن اثرپذیر است. این پلیمر طبیعی، بسته به منبع و شیوه استخراج، مقادیر مختلف از گروه‌های عاملی هیدروکسیل، متوکسیل، کربونیل و کربوکسیل را در موقعیت‌های متفاوت روی حلقه آروماتیکی دارد [۳].

داشتن دانش و آگاهی از خواص لیگنین، مانند واکنش‌پذیری، پایداری گرمایی و خواص درشت‌مونومری برای یافتن کاربردهای بهینه به‌مراتب باارزش‌تر و منطقی‌تر از به‌کاربردن آن، تنها به‌عنوان سوخت کارخانه‌های کاغذسازی است. بدین منظور، روش‌ها و فنون مختلفی برای شناسایی ساختار لیگنین در اینجا ارائه می‌شود که اغلب برگرفته از کارهای Lin، Dence و Zakis است. تمام روش‌های گزارش شده از مزایا و معایبی برخوردارند. بنابراین، در شناسایی لیگنین استفاده هم‌زمان از روش‌های مختلف ضروری است. در نتیجه، روش‌های شیمیایی مرطوب مانند استیل‌دارکردن، اکسایش با پرمنگنات، آمین‌کافت و غیره و روش‌های طیف‌سنجی FTIR، UV، NMR و کروماتوگرافی یا ترکیبی از این فنون برای تعیین ساختار لیگنین استفاده می‌شوند.

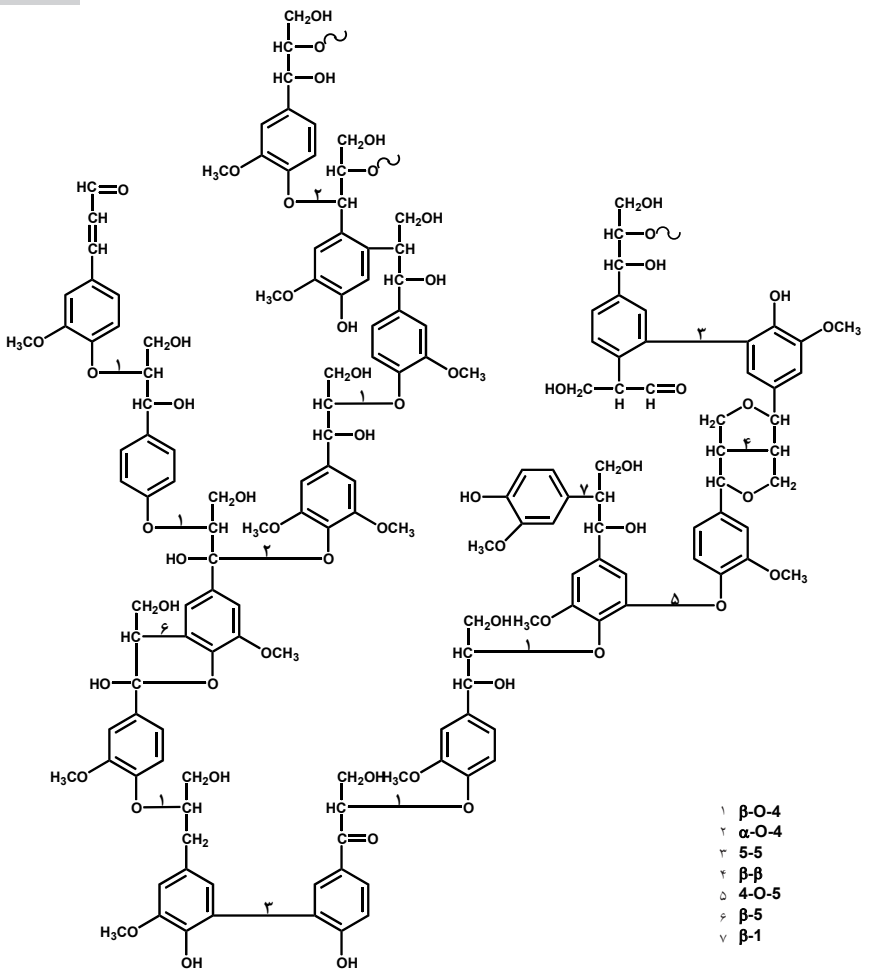
تجزیه گروه‌های عاملی لیگنین

روش‌های شیمیایی مرطوب

اکسایش پریدات، آمین‌کافت، متیل‌دار کردن، پتانسیل‌سنجی غیرآبی (non-aqueous potentiometric method)، اکسیم‌دارکردن (oximation)، روش اصلاح شده زیزل (Zeisel) و استیل‌دارکردن از جمله روش‌های شیمیایی مرطوب تجزیه گروه‌های عاملی لیگنین هستند. دو روش اول از روش‌های کلاسیک تعیین گروه‌های هیدروکسیل فنولی هستند. گروه پژوهشی Adler اکسایش با کمک سدیم پریدات را توسعه داد که به اکسایش گروه‌های فنولی در محیط آبی و تشکیل ترکیب ارتوکینون و متانول منجر شد [۴].

متانول تولید شده که معیاری از گروه‌های هیدروکسیل فنولی است، با کمک کروماتوگرافی گازی (GC) اندازه‌گیری شد. در این روش تنها آن دسته از حلقه‌های آروماتیکی فنولی شناسایی می‌شوند که در مجاورت گروه‌های متوکسیل قراردارند. سایر گروه‌های هیدروکسیل فنولی لیگنین، مانند ۲،۱-دی‌هیدروکسی بنزن و پاراهیدروکسی فنیل که در مجاورت آن‌ها گروه‌های متوکسیل وجود ندارد، شناسایی نمی‌شوند [۵].

Mansson روش آمین‌کافت را توسعه داد. این روش شامل تعیین مقدار گروه‌های هیدروکسیل لیگنین با استفاده از استیل‌دارکردن



شکل ۲- ساختار لیگنین ارائه شده توسط Adler [۲].

گروه‌های هیدروکسیل فنولی و سپس واکنش آمین‌کافت آن‌ها با استفاده از پیرولیدون است. روش آمین‌کافت بر این اساس استوار است که گروه‌های هیدروکسیل فنولی به‌مقدار درخور توجهی سریع‌تر از گروه‌های هیدروکسیل آلیفاتیک استیل‌دار می‌شوند [۶].

Lai و همکاران با مقایسه مقدار گروه‌های هیدروکسیل با استفاده از روش‌های اکسایش با پریدات و آمین‌کافت دریافتند، از هر دو روش نتایج مشابهی به‌دست می‌آید [۷]. Faix و همکاران با مطالعه تطبیقی واکنش آمین‌کافت در کنار آزمون‌های ^{1}HNMR، FTIR و UV گام جدیدی در تعیین گروه‌های هیدروکسیل فنولی برداشتند. آن‌ها دریافتند، داده‌های به‌دست آمده از طیف‌سنجی UV، دارای مقادیر غیرقابل اعتمادی است. درحالی که، واکنش آمین‌کافت با وجود زمان‌بر بودن واکنش، نتایج معتبر و دقیق با تکرارپذیری زیاد ارائه می‌دهد. همچنین، ارتباط مناسبی میان نتایج حاصل از واکنش آمین‌کافت و داده‌های ^{1}HNMR برقرار می‌شود. ولی، داده‌های طیف‌سنجی FTIR ارتباط کمی با این نتایج نشان می‌دهند. بنابراین، واکنش آمین‌کافت، به‌عنوان دقیق‌ترین روش تعیین گروه‌های هیدروکسیل فنولی لیگنین درنظر گرفته شده است [۸].

روش بعدی تعیین گروه‌های هیدروکسیل فنولی لیگنین، واکنش متیل‌دارکردن است. این واکنش اغلب با استفاده از ترکیب بسیار سمی دی‌آزومتان به‌عنوان عامل متیل‌دارشدن انجام می‌شود. از سویی، در مدت فرایند متیل‌دارکردن ممکن است، واکنش‌های رقابتی نیز رخ دهد. باوجود این، واکنش متیل‌دارکردن با متانول در مجاورت هیدروکلریک اسید یا دی‌متیل سولفات در محیط قلیایی نیز انجام‌پذیر است. مقدار گروه‌های هیدروکسیل فنولی بر اساس افزایش گروه‌های متوکسیل ایجاد شده پس از واکنش متیل‌دارکردن، محاسبه می‌شود. Faix و همکاران طی مطالعه مقایسه‌ای دریافتند، مقدار گروه‌های هیدروکسیل فنولی که با متیل‌دارکردن لیگنین به‌وسیله دی‌آزومتان به‌دست می‌آید، بیشتر از داده‌های حاصل از فنون مختلف NMR (^{31}PNMR، ^{1}HNMR و^{13}CNMR) است. این تفاوت را می‌توان به واکنش دی‌آزومتان با گروه‌های کربوکسیل و

کربونیل لیگنین نسبت داد [۹].

Chen برای تعیین گروه‌های کربونیل لیگنین از واکنش اکسیم‌دارکردن بهره جست که به‌عنوان معتبرترین روش شناسایی گروه‌های کربونیل شناخته می‌شود. Gierer و Lenz به‌منظور اصلاح لیگنین، از محلول هیدروکسیل آمین هیدروکلرید استفاده کردند که به تشکیل ترکیب اکسیم و هیدروکلریک اسید منجر شد. سپس با تعیین مقدار هیدروکلریک اسید آزاد شده از راه تیترکردن، معیاری از مقدار گروه‌های کربونیل لیگنین به‌دست آمد. Zakis با اصلاح روش Gierer و Lenz و انجام واکنش در حلال دی‌متیل سولفوکسید در دمای ۸۰°C و در مجاورت تری‌اتانول آمین اضافی به نتایج بهتری دست یافت. در این پژوهش که به تعیین گروه‌های کربونیل لیگنین مربوط می‌شد، هم‌بستگی مناسبی میان نتایج حاصل از واکنش اکسیم‌دارکردن اصلاح شده و داده‌های طیف‌سنجی FTIR مشاهده شد [۱۰].

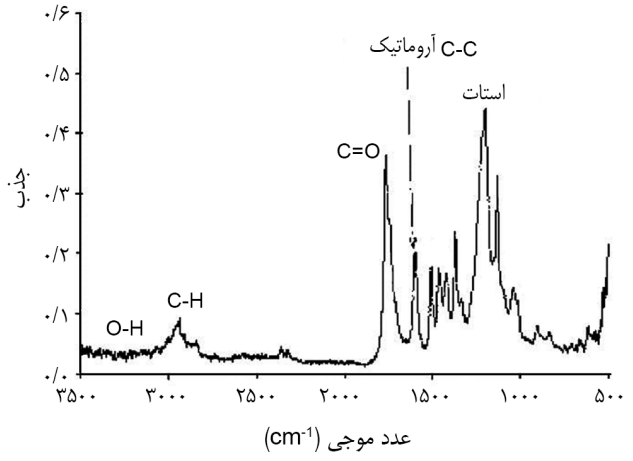
روش پتانسیل‌سنجی غیرآبی برای تعیین گروه‌های کربوکسیل لیگنین و گروه‌های هیدروکسیل فنولی استفاده می‌شود. این روش شامل پتانسیل‌سنجی غیرآبی لیگنین و تیترکردن آن با استفاده از تترا–N–بوتیل‌آمونیوم هیدروکسید (TnBAH) در مجاورت پاراهیدروکسی بنزوئیک اسید به‌عنوان استاندارد داخلی است. محدودیت اصلی این روش، دشواربودن تعیین نقاط عطف است. Gosselink داده‌های معتبری بر اساس این روش برای تعیین گروه‌های کربوکسیل لیگنین گزارش کرده است [۱۱].

روش اصلاح شده Zeisel پرکاربردترین روش در تعیین گروه‌های متوکسیل لیگنین است. روش اصلی این پژوهشگر در سال ۱۸۸۵ برای تعیین کمی گروه‌های آلکوکسی ارائه شد. باوجود این، روش یاد شده شامل برخی محدودیت‌ها در تعیین گروه‌های متوکسیل ترکیبات حاوی گوگرد است [۱۲]. در تمام این سال‌ها، اصلاحات زیادی با هدف توسعه این روش انجام یافته و تلاش شده است تا برای ترکیبات دارای گوگرد مانند لیگنین و لیگنوسولفونات‌ها به‌کار گرفته شود [۹،۱۰].

امروزه قابل پذیرش‌ترین روش تعیین گروه‌های متوکسیل لیگنین بر اساس روش اصلی Zeisel و اصلاحات انجام شده روی آن توسط Vieböck و همکاران است. روش Zeisel اصلاح شده، بر پایه اصلاح لیگنین با هیدرویدیک اسید در دمای بازروانی و تشکیل متیل یدید است. در اثر واکنش متیل یدید تشکیل شده با برم، ید آزاد شده و یدیک اسید ایجاد می‌شود. برم اضافی در محیط پس از کاهش‌یافتن با کمک فرمیک اسید به هیدروژن بروميد تبدیل شده و با محلول سدیم استات خنثی می‌شود. در نهایت، یدید تولید شده به‌وسیله محلول استاندارد تیوسولفات تیتر می‌شود [۱۰]. به‌منظور شناسایی گروه‌های متوکسیل لیگنین از فنون کروماتوگرافی نیز به‌جای تیترکردن استفاده شده است. با آنکه فن یاد شده به‌نسبت پیچیده و خسته‌کننده است و تجهیزات خاصی مورد نیاز است، اما همچنان برای شناسایی گروه‌های متوکسیل لیگنین به‌کار می‌رود.

از میان روش‌های شیمیایی شناسایی گروه‌های عاملی لیگنین، واکنش‌های استیل‌دارکردن در تعیین مقدار گروه‌های هیدروکسیل لیگنین مورد توجه زیادی قرار گرفته‌اند. مزیت این روش در شناسایی تمام گروه‌های هیدروکسیل لیگنین است. بنابراین، با به‌کارگیری هم‌زمان این روش در کنار روش‌های تیترکردن و طیف‌سنجی‌های FTIR، ^{1}HNMR و ^{13}CNMR می‌توان گروه‌های هیدروکسیل آلیفاتیک و هیدروکسیل فنولی و در مجموع تمام گروه‌های هیدروکسیل لیگنین را شناسایی کرد. در روش پتانسیل‌سنجی، ابتدا نمونه‌ها در مخلوط پیریدین و استیک اسید، استیل‌دار می‌شوند. سپس، با محلول تیترازول سدیم هیدروکسید تیتر می‌شوند [۱۰،۱۳].

در روش طیف‌سنجی، لیگنین استیل‌دار شده پس از بازیابی با استفاده از فنون طیف‌سنجی، تجزیه می‌شود. واکنش استیل‌دارکردن لیگنین موجب افزایش انحلال‌پذیری آن در حلال تتراهیدروفوران می‌شود. بنابراین، به‌منظور تعیین وزن مولکولی نمونه‌ها می‌توان از دستگاه کروماتوگرافی ژل تراوایی استفاده کرد. اشکال عمده این روش در احتمال انجام واکنش استری‌شدن در لیگنین است که اغلب به‌شکل ناقص اتفاق می‌افتد و مقداری از گروه‌های هیدروکسیل استیل‌دارنشده باقی می‌مانند [۱۳]. این رفتار در کارهای پژوهشی که پیش‌تر انجام شده نیز مشاهده و نادیده گرفته شده است. با اصلاح روش Mansson توسط Thielemans، واکنش استری‌شدن



شکل ۳– طیف FTIR لیگنین استیل‌دار شده [۱۴].

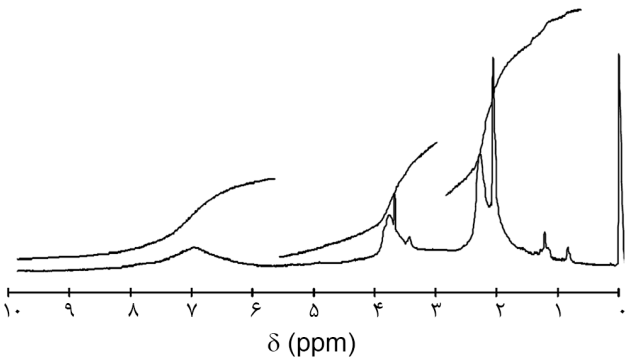
لیگنین به‌شکل کامل پیش رفت و این ادعا با ناپدیدشدن پیک کششی گروه هیدروکسیل در طیف FTIR در ناحیه $3600\ cm^{-1}$ تأیید شد (شکل ۳) [۱۴].

فنون طیف‌سنجی

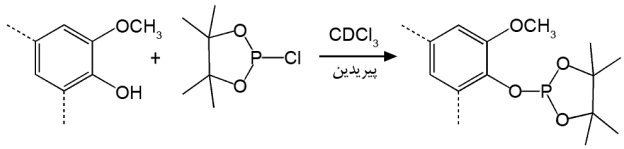
اگرچه روش‌های شیمیایی مرطوب پیش‌گفته همچنان برای شناسایی لیگنین استفاده می‌شوند، به‌دلیل سختی به‌کارگیری واکنش‌های شیمیایی مختلف و کنترل آن‌ها و دسترسی گسترده به روش‌های طیف‌سنجی، به‌ویژه طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته (NMR)، محبوبیت خود را از دست داده‌اند. فنون طیف‌سنجی، برای شناسایی کمی و کیفی لیگنین به‌کار می‌روند. اطلاعات کیفی اغلب به‌منظور ایجاد تمایز میان بخش‌های مختلف لیگنین از یکدیگر شامل گواسیل، گواسیل–سرینگیل (GS) و پاراهیدروکسی فنیل گواسیل–سرینگیل (HGS) استفاده می‌شوند. این کار با شناسایی خواص ویژه آن‌ها یا بررسی تغییرات ساختاری لیگنین با اصلاح شیمیایی آن انجام می‌شود. شناسایی‌های کمّی، معمولاً به تعیین مقدار گروه‌های عاملی لیگنین مربوط است. در میان روش‌های طیف‌سنجی استفاده شده، طیف‌سنجی NMR کاربرد گسترده‌ای در شناسایی لیگنین دارد. این روش، نتایجی با وضوح زیاد ارائه می‌دهد که به شناسایی دقیق ساختار شیمیایی لیگنین، گروه‌های عاملی موجود و پیوندهای شیمیایی متنوع آن منجر می‌شود.

طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته پروتون

مطالعات طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته پروتون (^{1}HNMR) انجام شده با استفاده از لیگنین استیل‌دار شده، پیک‌هایی با دقت زیاد ارائه می‌دهند. تجزیه این لیگنین با استفاده از ^{1}HNMR موجب محاسبه همه گروه‌های هیدروکسیل لیگنین و تعیین نسبت گروه‌های هیدروکسیل آلیفاتیک به هیدروکسیل آروماتیک می‌شود. ناحیه بین ۱/۶ تا ۲/۲ گروه‌های آلیفاتیک استیل‌دار شده، ۲/۲ تا ۲/۵ گروه‌های



شکل ۴– طیف ^{1}HNMR لیگنین استیل‌دارشده [۱۵].



شکل ۵– واکنش لیگنین با ۲–کلرو–۴،۴،۵،۵–تترامتیل–۱،۳،۲–دی‌اکسافسفولان [۱۶].

آروماتیک استیل‌دار شده، ۳/۵۵ تا ۳/۹۵ گروه‌های متوکسیل، ۳/۹۵ تا ۵/۲ گروه‌های آلیفاتیک، ۵/۲ تا ۵/۷۵ حلقه‌های بنزیلی و ۶/۷۵ تا ۷/۹ حلقه‌های آروماتیک را نشان می‌دهد (شکل ۴) [۱۵].

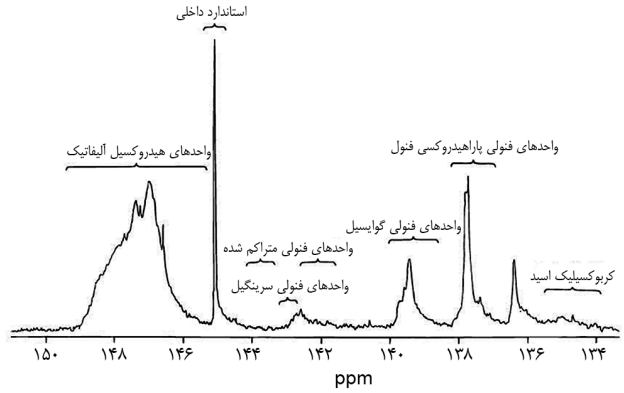
طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته فسفر

فن طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته فسفر (^{31}PNMR) برای شناسایی گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل لیگنین به‌کار برده می‌شود. در این فن، ابتدا گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل لیگنین با ترکیب دارای فسفر ۲–کلرو–۴،۴،۵،۵–تترامتیل–۱،۳،۲–دی‌اکسافسفولان (TMDP) وارد واکنش می‌شوند. بنابراین، جابه‌جایی شیمیایی اتم فسفر متصل به هر یک از گروه‌های هیدروکسیل آلیفاتیک، آروماتیک و کربوکسیل در طیف ^{31}PNMR متفاوت است. گروه‌های اشاره شده پیک‌های جداگانه‌ای در طیف ^{31}PNMR نشان می‌دهند (شکل‌های ۵ و ۶) [۱۶].

ناحیه میان ۱۳۴ ppm تا ۱۳۷ ppm به گروه‌های کربوکسیل، بین ۱۳۷ ppm تا ۱۴۵ ppm به گروه‌های هیدروکسیل آروماتیک و فنولی و بین ۱۴۵ ppm تا ۱۵۰ ppm به گروه‌های هیدروکسیل آلیفاتیک فسفردارشده اشاره می‌کند.

طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته فلوئور

در سال ۱۹۹۳ طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته فلوئور



شکل ۶– طیف ^{31}PNMR لیگنین اصلاح شده با ۲–کلرو–۴،۴،۵،۵–تترامتیل–۱،۳،۲–دی‌اکسافسفولان [۱۷].

^{19}FNMR برای تعیین کیفی گروه‌های هیدروکسیل لیگنین استفاده شد. این روش بر پایه واکنش لیگنین با ۴-فلوئوروبنزیل کلرید و بررسی جابه‌جایی شیمیایی فلوئور در لیگنین به‌دست آمده، قرار دارد. طیف‌سنجی ^{19}FNMR به شناسایی تمایز میان بخش‌های مختلف لیگنین از جمله گواسیل، گواسیل-سرینگیل، تعیین مقدار نسبت گواسیل به سرینگیل و شناسایی گروه‌های کربونیل منجر می‌شود. به‌تازگی، طیف‌سنجی ^{19}FNMR برای شناسایی کمی گروه‌های عاملی لیگنین، به‌ویژه تعیین مقدار گروه‌های کربونیل، نیز استفاده می‌شود [۱۸].

در روش دیگری که در سال ۲۰۰۱ برای تعیین کمی گروه‌های کربونیل لیگنین ارائه شد، ابتدا لیگنین با ۴-(تری‌فلوئورومتیل) فنیل‌هیدرازین اصلاح و از محصول اصلاح شده طیف ^{19}FNMR گرفته شد. از هر دو روش نتایجی با تکرارپذیری زیاد به‌دست آمد و ارتباط مناسبی با سایر روش‌های متداول برقرار شد [۱۹].

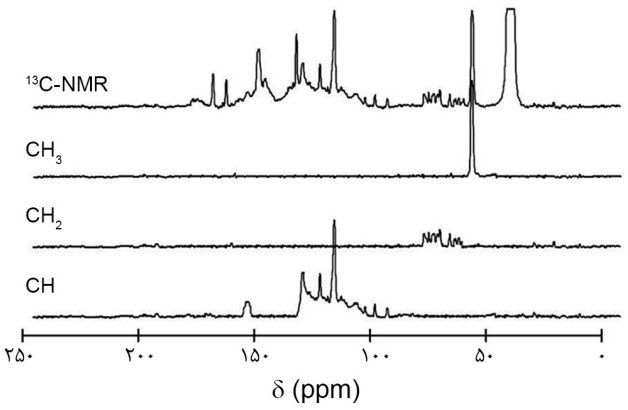
طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته کربن

طیف‌سنجی رزونانس مغناطیسی هسته کربن (^{13}CNMR) از فنون قدرتمند موجود برای تجزیه و تحلیل گروه‌های عاملی لیگنین است که اطلاعات جامعی درباره ساختار اسکلت کربنی لیگنین ارائه می‌دهد. طیف‌سنجی ^{13}CNMR در مقایسه با ^{1}HNMR، طیفی با وضوح بیشتر و در محدوده گسترده‌تر از جابه‌جایی شیمیایی (۲۴۰ ppm) و تقریباً بدون هیچ اثر جفت‌شدگی ارائه می‌دهد. استفاده از فن افزایش بدون واپیچش با انتقال قطبش (distortionless enhancement by polarization transfer, DEPT) در کنار طیف ^{13}CNMR به درک بهتر این طیف لیگنین منجر شده است (شکل ۷).

با وجود مزایای متعدد طیف‌سنجی ^{13}CNMR، به‌دلیل درصد کم هسته کربن ۱۳، پیک‌های حاصل از کربن ۱۳ ضعیف هستند و حساسیت کمی دارند. بنابراین، به‌منظور بررسی کمی ساختار لیگنین، غلظت زیاد همراه با زمان آسایش به‌نسبت طولانی لازم است. Xia با به‌کارگیری ۱،۳،۵-تری‌اکسان و پنتافلوئوروبنزن به‌عنوان استاندارد داخلی در طیف کربن لیگنین، موفق به شناسایی دقیق انواع اتم‌های کربن در انواع مختلف لیگنین شد. در مجموع، تعیین تمام گروه‌های هیدروکسیل لیگنین استیل‌دار شده، شامل گروه‌های هیدروکسیل نوع اول و دوم با ^{13}CNMR امکان‌پذیر است [۲۰].

طیف‌سنجی فرابنفش مرئی

طیف‌سنجی فرابنفش مرئی (UV-Vis) از روش‌های تجزیه کمی و کیفی گروه‌های هیدروکسیل فنولی لیگنین است. این روش، به‌طور



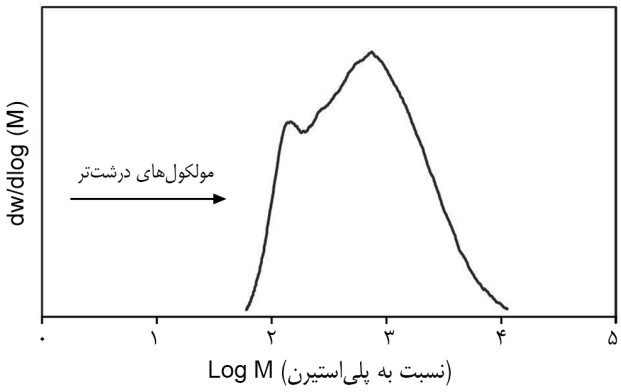
شکل ۷- استفاده از فن DEPT در کنار طیف ^{13}CNMR لیگنین [۱۵].

گسترده برای تعیین گروه‌های هیدروکسیل لیگنین به‌کار می‌رود. مبنای شناسایی گروه‌های هیدروکسیل فنولی براساس تفاوت میان جذب این گروه‌ها در حالت پروتونی در pH=۶ و جذب در pH=۱۳/۳۷ در حالت بی‌پروتون است. افزون بر داده‌های کمی، با ارزیابی در طول موج‌های مختلف می‌توان اطلاعاتی را درباره ساختار شیمیایی اطراف گروه‌های هیدروکسیل فنولی به‌دست آورد [۲۱].

تعیین وزن مولکولی لیگنین

آگاهی از خواص لیگنین به اطلاعاتی درباره وزن مولکولی و توزیع وزن مولکولی (MWD) لیگنین نیاز دارد. روش‌های متنوعی مانند پراکندگی نور (LS)، اسمزسنجی فشار بخار (VPO) و کروماتوگرافی ژل تراوایی (GPC) برای تعیین وزن مولکولی لیگنین و MWD آن به‌کار گرفته می‌شود. در دهه‌های گذشته از روش‌های پیچیده‌ای مانند زمان یونش واجذبی لیزری با کمک ماتریس طیف‌سنجی جرمی جریانی (matrix-assisted laser desorption ionization–time of flow–mass spectroscopy, MALDI-TOF-MS) و یونی‌شدن الکتروافشانه‌ای‌طیف‌سنجی جرمی (electrospray ionization-mass spectrometry, ESI-MS) برای تعیین جرم مولکولی لیگنین استفاده می‌شود [۲۲،۲۳].

اندازه مولکول لیگنین را می‌توان با استفاده از سامانه کروماتوگرافی اندازه‌طردی (SEC) تعیین کرد. با استفاده از این روش، وزن مولکولی‌های متوسط عددی (M_n) و متوسط وزنی (M_w) به‌دست می‌آیند. در نتیجه، توزیع وزن مولکولی را می‌توان محاسبه کرد. نمودار تجزیه SEC نمونه از لیگنین استیل‌دارشده در شکل ۸ نشان داده شده است. در مدت کار با دستگاه، شرط



شکل ۸- نمودار تجزیه SEC نمونه وزن مولکولی لیگنین استیل‌دار شده نسبت به پلی‌استیرن [۲۴].

بسیار مهم جلوگیری از تجمع مولکول‌های لیگنین در حلال است که به چالشی جدی تبدیل شده است. بدین سبب، حلال‌های مختلف برای نمونه‌های لیگنین استیل‌دار شده استفاده شده‌اند که تتراهیدروفوران و لیتیم کلرید-دی‌متیل‌استامید بهترین حلال گزارش شده‌اند [۲۴].

تجزیه گرمایی لیگنین

از موضوعات مهم، تجزیه گرمایی لیگنین بوده که مطالعات متعددی به این زمینه اختصاص یافته است. واکنش تخریب لیگنین، به‌دلیل ازدحام فضایی حلقه‌های آروماتیکی، فرایند پیچیده‌ای است. ساختار لیگنین در گستره وسیع دمایی تخریب می‌شود، زیرا گروه‌های عاملی مبتنی بر اکسیژن پایداری گرمایی متفاوتی دارند و پیوندهای آن‌ها در دماهای مختلف تفکیک و از یکدیگر جدا می‌شوند. تخریب پیوندهای α و β آریل و آلکیل اتر در دمایی بین ۱۵۰-۳۰۰°C رخ می‌دهد. در دمای ۳۰۰°C زنجیرهای جانبی آلیفاتیکی که از حلقه‌های آروماتیکی نشأت گرفته‌اند، شروع به تخریب می‌کنند. درحالی‌که پیوندهای کربن-کربن موجود در میان ساختارهای آروماتیکی لیگنین، در دمای ۳۰۰-۴۰۰°C تخریب می‌شوند. در نهایت، تخریب زنجیر اصلی لیگنین در دمای بین ۵۰۰-۷۰۰°C، موجب تشکیل ۳۰٪-۵۰٪ وزنی زغال و آزادشدن گازهای فرار مانند کربن مونوکسید، کربن دی‌اکسید، متان و هیدروژن می‌شود [۲۵].

نتیجه‌گیری

لیگنین دومین پلیمر طبیعی فراوان پس از سلولوز در دنیاست و به‌عنوان ماده‌ای ارزان، غیرسمی و زیست‌تخریب‌پذیر، جایگزین مناسبی برای پلی‌ال‌های بر پایه نفت است. شناسایی لیگنین به استفاده هم‌زمان از روش‌های مختلف نیاز دارد. اکسایش پریدات، آمین‌کافت، متیل‌دارکردن، پتانسیل‌سنجی غیرآبی، اکسیم‌دارکردن، روش اصلاح شده زیزل و استیل‌دارکردن از جمله روش‌های شیمیایی مرطوب تجزیه گروه‌های عاملی لیگنین است. روش آمین‌کافت توسط مانسن توسعه داده شده که شامل تعیین مقدار گروه‌های هیدروکسیل لیگنین با استفاده از استیل‌دارکردن گروه‌های هیدروکسیل فنولی و سپس واکنش آمین‌کافت آن‌ها با استفاده از پیرولیدون بوده است. واکنش اکسیم‌دارکردن را معتبرترین روش شناسایی گروه‌های کربونیل می‌شناخته‌اند. روش پتانسیل‌سنجی غیرآبی برای تعیین گروه‌های کربوکسیل لیگنین و گروه‌های هیدروکسیل فنولی به‌کار می‌روند. روش اصلاح‌شده زیزل پرکاربردترین روش تعیین گروه‌های متوکسیل لیگنین است.

فنون طیف‌سنجی با هدف شناسایی کمی و کیفی لیگنین به‌کار می‌روند. تجزیه لیگنین استیل‌دارشده با استفاده از ^{1}HNMR به محاسبه همه گروه‌های هیدروکسیل لیگنین و نسبت گروه‌های هیدروکسیل آلیفاتیک به هیدروکسیل آروماتیک منجر می‌شود. به‌منظور شناسایی گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل لیگنین، از طیف‌سنجی ^{31}PNMR استفاده می‌شود. در این روش، ابتدا گروه‌های هیدروکسیل و کربوکسیل لیگنین با ترکیب دارای فسفر وارد واکنش می‌شوند. طیف‌سنجی ^{19}FNMR برای شناسایی کمی گروه‌های عاملی لیگنین و به‌ویژه تعیین مقدار گروه‌های کربونیل لیگنین به‌کار می‌رود. شناسایی تمام گروه‌های هیدروکسیل لیگنین استیل‌دار شده، شامل گروه‌های هیدروکسیل نوع اول و دوم با کمک ^{13}CNMR امکان‌پذیر است. مبنای شناسایی گروه‌های هیدروکسیل فنولی بر اساس تفاوت میان جذب گروه‌های هیدروکسیل فنولی در حالت پروتون‌دار در pH = ۶ و جذب در pH = ۱۳/۳۷ در حالت بدون پروتون است.

روش‌های متنوعی از قبیل پراکندگی نور، اسمزسنجی فشار بخار، کروماتوگرافی ژل تراوایی برای تعیین وزن مولکولی لیگنین و توزیع وزن مولکولی آن به‌کار گرفته می‌شوند. واکنش تخریب لیگنین به‌دلیل ازدحام فضایی حلقه‌های آروماتیکی، فرایند پیچیده‌ای است. ساختار لیگنین در گستره وسیع دمایی تخریب می‌شود، زیرا گروه‌های عاملی برپایه اکسیژن پایداری گرمایی متفاوتی دارند و پیوندهای مربوط به آن‌ها در دماهای مختلفی تفکیک شده و از یکدیگر جدا می‌شوند.

مراجع

1. Laurichesse S. and Avérous L., Chemical Modification of Lignins: Towards Biobased Polymers, *Prog. Polym. Sci.*, **39**, 1266-1290, 2014.
2. Adler E., Lignin Chemistry-Past, Present and Future, *Wood Sci. Technol.*, **11**, 169-218, 1977.
3. Sarkanen K. and Ludwig. C, *Lignins: Occurrence, Formation, Structure and Reactions*, John Wiley and Sons, New York, 1971.
4. Adler E. and Hernestam S., Estimation of Phenolic Hydroxyl Groups in Lignin. I. Periodate Oxidation of Guaiacol Compounds, *Anal. Chim. Acta*, **9**, 319-334, 1995.
5. Lai Z., Determination of Phenolic Hydroxyl Groups, *Methods in Lignin Chemistry*, Springer-Verlag, Heidelberg, 423-434, 1992.
6. Mansson P., Quantitative Determination of Phenolic and Total Hydroxyl Groups in Lignins, *Holzforschung*, **37**, 143-146, 1983.
7. Lai Y.Z., Guo X.P., and Situ W., Estimation of Phenolic Hydroxyl Groups in Wood by a Periodate Oxidation Method, *J. Wood Chem. Technol.*, **10**, 365-377, 1990.
8. Faix O., Grünwald C., and Beinhoff O., Determination of Phenolic Hydroxyl Content of Milled Wood Lignins (MWL´s) from Different Botanical Origins Using Selective Aminolysis, FTIR, ^{1}H-NMR and UV Spectroscopy, *Holzforschung*, **46**, 425-432, 1992.
9. Zakis G., *Functional Analysis of Lignins and Their Derivatives*, Tappi, Atlanta, 1994.
10. Chen C.L., Dence C., and Lin S., Determination of Carbonyl Groups, *Methods in Lignin Chemistry*, Springer-Verlag, Heidelberg, 446-457, 1992.
11. Gosselink R., Abächerli A., Semke H., Malherbe R., Käuper P., and Nadif A., Analytical Protocols for Characterisation of Sulphur-Free Lignin., *Ind. Crops Prod.*, **19**, 271–281, 2004.
12. Zeisel S., Über ein Verfahren Zum Quantitative Nachweis Von Methoxyl, *Monatsh. Chem.*, **6**, 989-996, 1885.
13. Mansouri N. and Salvadó J., Analytical Methods for Determining Functional Groups in Various Technical Lignins, *Ind. Crops Prod.*, **26**, 116-124, 2007.
14. Thielemans W. and Wool R., Lignin Esters for Use in Unsaturated Thermosets: Lignin Modification and Solubility Modelling, *Biomacromolecules*, **6**, 1895-1905, 2005.
15. Adilson R., Gonçalvesa U., and Maria L., Piassava Fibers (Attalea funifera): NMR Spectroscopy of their Lignin, *J. Braz. Chem. Soc.*, **11**, 491-494, 2000.
16. Granata A. and Argyropoulos D., 2-Chloro-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaphospholaan Reagent for the Accurate Determination of the Uncondensed and Condensed Phenolic Moieties in Lignins, *J. Agric. Food. Chem.*, **43**, 1538-1544, 1995.
17. Crestini C. and Argyropoulos D., Structural Analysis of Wheat Straw Lignin by Quantitative ^{31}P and 2D NMR Spectroscopy, The Occurrence of Ester Bonds and α-O-4 Substructures, *J. Agric. Food. Chem.*, **45**, 1212-1219, 1997.
18. Barrelle M., A New Method for The Quantitative ^{19}FNMR Spectroscopic Analysis of Hydroxyl Groups in Lignins, *Holzforschung*, **47**, 261–267, 1993.
19. Sevillano R., Mortha G., Barrelle M., and Lachenal. D, ^{19}F NMR Spectroscopy for the Quantitative Analysis of Carbonyl Groups in Lignins, *Holzforschung*, **55**, 286–295, 2001.
20. Xia Z., Akim L., and Argyropoulos D., Quantitative ^{13}C-NMR Analysis of Lignins with Internal Standards, *J. Agric. Food. Chem.*, **49**, 3573-3578, 2001.
21. Gärtner A., Gellerstedt G. and Tamminen T., Determination of Phenolic Hydroxyl Groups in Residual Lignin Using a Modified Uv Method, *Nordic Pulp Pap. Res. J.,* **14**, 163–170, 1999.
22. Evtuguin D., Domingues P., Amado F., Pascoal Neto C., and Correia A., Electrospray Ionization Mass Spectrometry As a Tool for Lignins Molecular Weight Determination and Structural Characterisation, *Holzforschung*, **53**, 525-528, 1999.
23. Bayerbach R., Nguyen V., Schurr U., and Meier D., Characterisation of the Water Insoluble Fraction from Fast Pyrolysis Liquids (Pyrolytic Lignin) Part III. Molar Mass Characteristics by SEC, MALDI-TOF-MS, LDI-TOF-MS and Py-FIMS, *J. Anal. Appl. Pyrolysis*, **77**, 95–101, 2006.
24. Hortling B., Turunen E., and Kokkonen P., Molar Mass and Size Distribution of Lignins, *Handbook of Size Exclusion Chromatography and Related Techniques*, CRC, New Jersey, USA, 355-384, 2004.
25. Nassar M. and MacKay G., Mechanism of Thermal Decomposition of Lignin, *Wood Fiber Sci.*, **16**, 441-453, 1984.