



## بررسی لیگنین چوب صنوبر

### ۲- تعیین خصوصیات با روشهای طیف سنجی FTIR و UV-Vis\*

حسن صادقی فر

استادیار صنایع چوب و کاغذ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائمشهر

سید احمد میرشکرایبی

دانشیار گروه شیمی دانشگاه پیام نور

#### چکیده

لیگنین چوب صنوبر (*populus nigra*) به روشهای طیف سنجی UV-Vis و FTIR مورد بررسی قرار گرفت. میزان لیگنین کلاسون و لیگنین محلول در اسید به ترتیب ۱۹٪ و ۳۱٪ تعیین گردید. لیگنین این گونه از نوع GS با حدود ۶۵ - ۷۵ درصد واحدهای گویاسیل (G) و ۲۵ - ۳۵ درصد واحدهای سیرینجیل (S) می باشد. میزان واحدهای متوکسیل این لیگنین با توجه به نسبت واحدهای سازنده آن ۱/۳۵ - ۱/۲۵ واحد به ازای هر واحد فنیل پروپان تعیین گردید. نسبت گروههای هیدروکسیل فنولی به هیدروکسیل های آلیفاتیک با استفاده از طیف سنجی FTIR لیگنین استیل دار شده معادل ۰/۴۷ تعیین گردید. ضریب جذب لیگنین در طیف UV-Vis و در حلال DMF برای طول موجهای ۲۰۵nm و ۲۸۰ nm به ترتیب معادل  $D_{205nm}=1/g.cm$  و  $D_{280nm}=1/g.cm$  تعیین شد.

واژه های کلیدی: لیگنین صنوبر، طیف سنجی UV-Vis، طیف سنجی FTIR، ضریب جذب

#### مقدمه

مطالعه ساختار لیگنین به دلیل اهمیت این بسپار در شیمی چوب، تولید خمیر کاغذ و رنگبری، از دیرباز مورد توجه بوده است. تا اوایل دهه ۷۰ میلادی، مطالعه ساختار لیگنین و تغییرات آن در فرآیندهای مختلف، به روشهای شیمیایی انجام می شده است. این روشها پیچیده و وقت گیرند. با توسعه روشهای طیف سنجی از جمله روشهای UV-Vis، IR و NMR بسیاری از جنبه های پنهان ساختار لیگنین روشن گردید و در حال حاضر، شاید تنها ابزار مورد استفاده در این زمینه محسوب می شوند.

\*. این مقاله از رساله دکتری آقای حسن صادقی فر استخراج شده است.

Aulin [۳] با استفاده از طیف UV گروه‌های عاملی به خصوص گروه‌های هیدروکسیل فنولی را در لیگنین از طریق اندازه‌گیری اختلاف طیف تعیین کرد.

Pew [۱۱] با استفاده از طیف UV نشان داد که واحدهای گویاسیل با یک گروه مستقر در موقعیت کربن شماره چهار منحنی جذب مشابهی نشان می‌دهند.

Fengel [۹] اثر حلال‌های مختلف را روی حداکثر جذب گروه‌های عاملی مدل‌های لیگنین مورد مطالعه قرار داد و نشان داد که حلال روی حداکثر جذب توسط گروه‌های عاملی لیگنین تاثیر دارد.

Fengel [۹] مقادیر جذب لیگنین گونه‌های مختلف چوبی را در حلال‌های مختلف در طول موج 280nm برای اندازه‌گیری میزان لیگنین محلول در اسید و لیگنین موجود پساب صنایع خمیر کاغذ تعیین کرد.

Kolboe [۱۴] از طیف IR برای تعیین میزان لیگنین و گروه‌های کوماران استفاده کرد. وی از جذب در عدد موج  $1515 \text{ CM}^{-1}$  برای تعیین لیگنین استفاده کرد. همچنین از عدد موج  $1495 \text{ CM}^{-1}$  برای تعیین میزان فنیل کوماران استفاده کرد.

K.V.Sarkanen [۱۵] با استفاده از طیف IR نشان داد که لیگنین چوب آسیاب شده گونه‌های سوزنی برگ تا حدود زیادی مشابه هستند و اختلاف عمده لیگنین سوزنی برگان در میزان گروه‌های استری ( $1715 \text{ CM}^{-1}$ ) آنها است.

Ewellyn و همکاران [۵] با استفاده از طیف FTIR واکنش‌های لیگنین با اکسیژن را مورد مطالعه قرار داده و نشان دادند که شدت جذب انواع گروه‌ها در مولکول لیگنین تغییر می‌کند.

چوب صنوبر از منابع بسیار مهم چوبی در کشور محسوب می‌شود که به دلیل سریع‌الرشد بودن و امکان رویش در نقاط مختلف کشور مورد توجه است. لذا انجام تحقیقی در زمینه ساختار لیگنین این چوب با روش‌های طیف سنجی مد نظر قرار گرفت. این مطالعه، علاوه بر آشکار سازی ویژگی‌های لیگنین این گونه چوبی، برای اولین بار بکارگیری روش‌های طیف سنجی UV-Vis و FTIR در مطالعات شیمی چوب را در کشور ترویج می‌نماید.

## مواد و روشها

### استخراج لیگنین

از چوب صنوبر، آرد چوب با اندازه ۴۰ مش تهیه و مواد استخراجی آن به روش TAPPI T-265 خارج گردید. ۳۰ گرم آرد عاری از مواد استخراجی با ۴۰۰ میلی لیتر محلول دی اکسان: آب (۱:۹) حاوی  $0.2 \text{ M/L HCl}$  در دمای محیط و در اتمسفر نیتروژن به مدت ۲۴ ساعت استخراج گردید [۱۳،۱۵،۱]. پس از صاف کردن، محلول حاصل در محیط خلاء و دمای ۴۰ درجه سانتیگراد تا حجم ۵۰ میلی لیتر تغلیظ گردید. محلول تغلیظ شده در ۳۰۰ ml آب مقطر رسوب داده شد. لیگنین رسوب کرده چند بار با آب مقطر شسته شده و در محیط خلاء و در حضور ماده رطوبت‌گیر  $\text{P}_2\text{O}_5$  خشک گردید [۲]. بازده استخراج لیگنین ۳۸/۵٪ بوده است. لیگنین استخراج شده با این روش، برای حذف ناخالص‌های کربوهیدراتی و غیره، به روش Bjorkman (1956) [۴] خالص سازی گردید.

### خالص سازی لیگنین

یک گرم لیگنین استخراج شده در ۵۰ میلی لیتر اسید استیک ۹۰٪ حل گردید. محلول حاصله به آرامی وارد ۲۵۰ میلی لیتر آب مقطر گردید. لیگنین رسوب کرده در آب با استفاده از سانتریفوژ جدا سازی شد. لیگنین جدا شده در دمای محیط و در حضور مواد رطوبت گیر خشک گردید. سپس لیگنین خشک شده در مخلوط اتانل: دی‌کلرواتان (۲:۱ ،  $v/v$ ) حل گردید. محلول حاصله در اتر رسوب داده شد و پس از شستشو با اتر در دمای محیط و تحت خلاء خشک گردید.

### استیل‌دار کردن لیگنین

حدود ۱۰۰ mg از لیگنین خالص سازی شده در ۲ ml انیدرید استیک و ۲ ml پیریدین حل گردید. محلول حاصل به مدت ۲۴ ساعت در محیط بسته و در دمای محیط تکان داده شد. پس از این مدت، ۳۰ ml اتانل به محلول فوق اضافه شد و نیم

ساعت دیگر تکان داده شد سپس اتانل در محیط خلاء تبخیر گردید. برای حذف کامل پیریدین اما اضافه کردن و تبخیر اتانل ۱۰ بار تکرار گردید. لیگنین استیل دار شده حاصل در ۲ ml کلروفرم حل شده و در اثر رسوب داده شد و با تبخیر اتر، لیگنین استیل دار شده جمع آوری گردید [۱۰].

#### طیف سنجی UV-Vis

طیف UV-Vis لیگنین خالص سازی شده در حلال DMF و با استفاده از دستگاه طیف سنج مدل CAMSPEC دارای یک جفت سلول، اندازه گیری شد. جذب لیگنین در دامنه طیف ۴۰۰-۲۰۰ nm اندازه گیری شد. ضریب جذب لیگنین (1/g.cm, D) در طول موج های ۲۰۵ nm و ۲۸۰ nm اندازه گیری شد.

#### طیف سنجی FTIR

طیف FTIR در یک دستگاه FTIR مدل پرکین اندازه گیری شد. برای گرفتن طیف در حالت جامد ۲ mg نمونه لیگنین (در حالت استیل دار شده و استیل دار نشده) با حدود ۳۵۰ میلی گرم KBr مخلوط شده و پس از ساییدن در هامون مخصوص در دستگاه پرس به قرصی با قطر ۱۳ mm تبدیل گردید و سپس، طیف FTIR آن با وضوح  $4 \text{ cm}^{-1}$  و با SCAN/MIN ۲۰ اندازه گیری شد [۱۶].

### نتایج

#### آنالیز شیمیایی

ترکیبات شیمیایی چوب صنوبر مورد آزمایش بر اساس آنالیز به روشهای استاندارد TAPPI در جدول ۱ آماده است.

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی چوب صنوبر

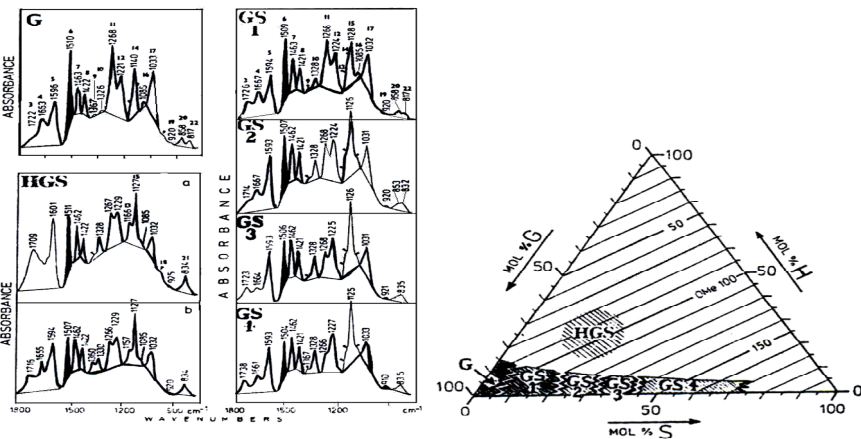
ترکیب درصد	هولوسلولز*	آلفا سلولوز	لیگنین کلاسون	لیگنین محلول در اسید**	مواد استخراجی	خاکستر
۷۲	۴۷	۱۹	۳/۱	۳/۶	۱/۳۵	

\*- برای محاسبه هولوسلولز، آرد چوب عاری از مواد استخراجی با کلریت سدیم در  $\text{Ph} = ۴$  و دمای  $۷۰^\circ \text{C}$  به مدت یک ساعت واکنش داده شد و با حذف لیگنین، هولوسلولز محاسبه گردید. [۶].

\*\* - در روش استاندارد TAPPI UM- 250 1985 برای تعیین لیگنین محلول در اسید، ضریب جذب لیگنین بطور  $D = ۱۱۰ \text{ 1/g.cm}$  تعیین شده است. در این تحقیق، این ضریب برای لیگنین چوب صنوبر در طول موج ۲۰۵، ۱۱۵ تعیین گردید. لذا در محاسبات اندازه گیری لیگنین محلول در اسید، از ضریب جذب  $D = ۱۱۵ \text{ 1/g.cm}$  استفاده شد.

#### طیف FTIR لیگنین صنوبر

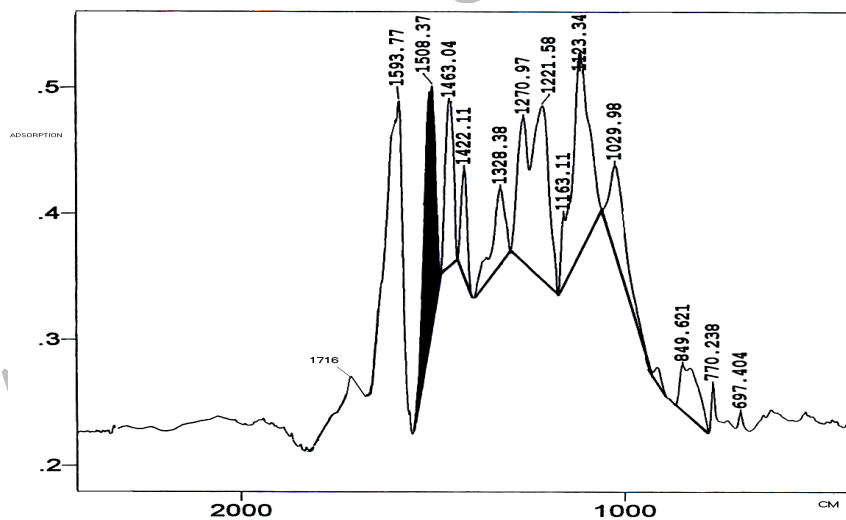
طیف سنجی FTIR برای مطالعه لیگنین های گواپاسیل (G) گواپاسیل - سیرینجیل (GS) و هیدروکسی فنیل - گواپاسیل - سیرینجیل (HGS) به طور گسترده ای مورد استفاده قرار گرفته است [۱۶]. بر اساس مطالعات FAIX [۸] طیف FTIR انواع لیگنین را می توان به صورت شکل ۱ نشان داد. این مطالعات نشان می دهد که تمامی سوزنی برگان طیف مشابهی دارند. اما طیف پهن برگان، بسته به واحدهای G و S در ساختار لیگنین که از طریق شدت جذب براساس نسبت های جذب در عددهای موج  $\text{cm}^{-1}$  ( $۱۴۶۵$ ،  $۱۵۰۸$ ،  $۱۲۲۴$  و  $۱۲۶۸$  نشان داده می شوند، متغیر است. براساس این مطالعات، Faix انواع لیگنین را بر اساس درصد واحدهای سازنده و میزان گروه های متوکسیل در یک سیستم سه بعدی مطابق شکل ۲ نشان داد [۸]. با توجه به مطالعات گسترده انجام شده مهمترین جذب های انواع پیوندهای شیمیایی در لیگنین در طول موج های مختلف تعیین شده است [۲، ۱۶، ۸].



شکل ۲- تعیین گروه‌های هیدروکسیل انواع

۱- طیف FTIR انواع لیگنین

طیف FTIR لیگنین صنوبر در شکل ۳ آمده است. جدول ۲ منشاء هر یک از نوارهای جذبی [۱۶، ۵] و درصد آنها را نسبت به شدیدترین جذب نشان می‌دهد. بر اساس این طیف و نسبت جذب در عدد موج‌های ( $\text{cm}^{-1}$ ) ۱۴۶۲، ۱۵۰۸، ۱۲۲۲ و ۱۲۷۰ و مطابق شکل ۱ و ۲، این لیگنین در گروه لیگنین‌های GS2 قرار می‌گیرد و در نتیجه، نسبت گروه‌های گواپاسیل آن ۶۵ - ۷۵ درصد و گروه‌های سیرینجیل آن ۳۵ - ۲۵ درصد پیش بینی می‌گردد. در نتیجه با توجه به نسبت‌های فوق، میزان گروه‌های متوکسیل این لیگنین معادل ۱/۳۵ - ۱/۲۵ واحد به ازای هر واحد فنیل پروپان برآورد می‌گردد.



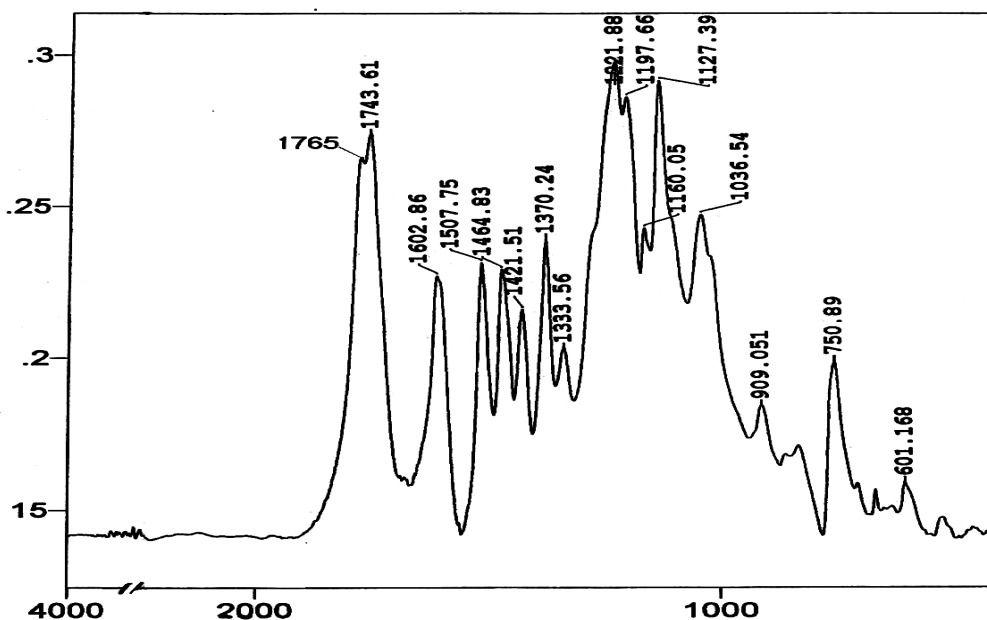
شکل ۳- طیف FTIR لیگنین چوب صنوبر

طیف FTIR این لیگنین نشان می‌دهد که نمونه استخراج شده و خالص سازی شده دارای کمترین جذب‌های اضافی مربوط به ناخالص‌های غیر لیگنینی است (شکل‌های ۱ و ۳ و جدول ۲). میزان لیگنین کلاسون نمونه خالص سازی شده لیگنین هم اندازه‌گیری و مقدار آن ۹۹/۱ درصد تعیین گردید. لذا این روش می‌تواند برای ارزیابی خلوص نمونه‌های لیگنین مورد استفاده قرار گیرد. طیف سنجی FTIR لیگنین استیل دار شده یکی از ابزارهای بسیار مهم برای تعیین واحدهای هیدروکسیل در لیگنین محسوب می‌شود. طیف FTIR لیگنین استیل دار شده چوب صنوبر در شکل ۴ آمده است. در طیف لیگنین استیل دار شده، نوارهای جذبی

گروه‌های هیدروکسیل در عددهای موج  $3410 - 3460 \text{ cm}^{-1}$  ناپدید و نوارهای استوکسی در  $1760 \text{ cm}^{-1}$  (آروماتیک) و  $1744 \text{ cm}^{-1}$  (آلیفاتیک) ظاهر می‌شوند [۷، ۱۲، ۱۶]. تعیین نسبت سطح زیر نوارهای جذبی در عددهای موج  $(1744 \text{ cm}^{-1})$  و  $1766$ ، روش مناسبی برای تعیین نسبت گروه‌های هیدروکسیل فنولی به گروه‌های آلیفاتیک لیگنین صنوبر محسوب می‌شود. با توجه به طیف مربوط به لیگنین استیل دار شده صنوبر، این نسبت معادل  $0.47$  تعیین گردید.

جدول ۲- نوارهای جذبی و شدت نسبی جذب نسبت به قوی ترین نوار در طیف لیگنین صنوبر

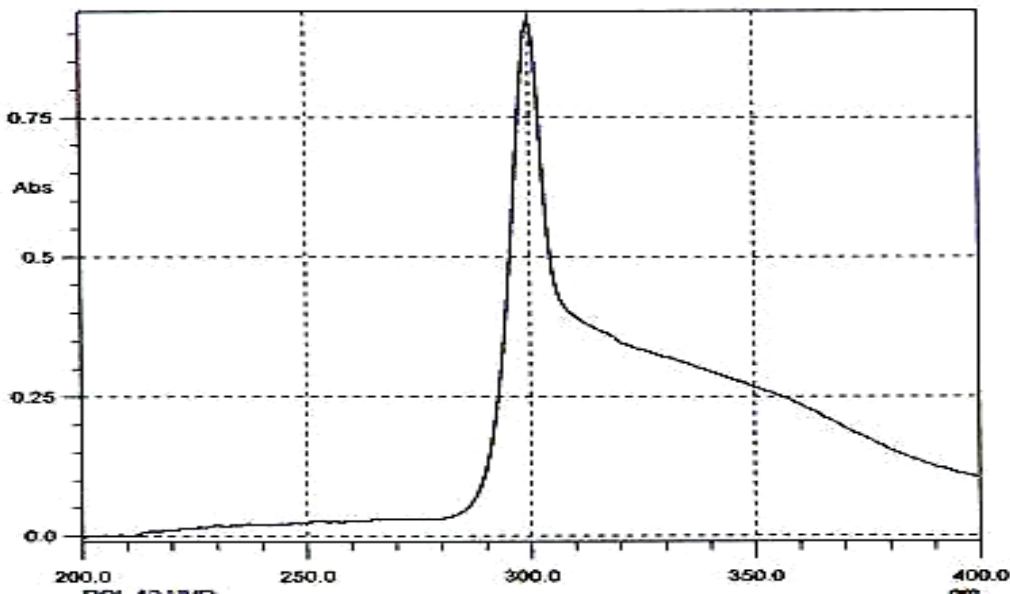
عدد موج $\text{CM}^{-1}$	منشاء نوار جذبی	شدت جذب A%
۱۷۱۶	کشش C=O در کتونها، کربونیل ها، گروههای استری (عمدتا با منشاء کربوهیدراتی	۲۵،۲۹۰
۱۵۹۳-۱۶۰۷	لرزش حلقه آروماتیک به همراه کشش C=O، S>G، G کندانس < G اتری	۸۶،۹
۱۵۰۸	لرزش حلقه آروماتیک	۹۰
۱۴۶۳	پیوند C-H	۸۷،۷
۱۴۲۲	لرزش حلقه آروماتیک به همراه پیوند C-H	۷۱،۹
۱۳۲۸	حلقه S به همراه حلقه متراکم شده G (عمدتا در موقعیت C-5)	۶۸،۷
۱۲۷۰	حلقه G به همراه کشش C=O	۸۴،۶
۱۲۲۲	کشش C=O، C-O، C-C	۸۶،۹
۱۱۲۳	C-H آروماتیک در S به همراه C-O الکل نوع دوم و کشش C=O	۱۰۰
۱۰۲۹	C-H آروماتیک S<G به همراه C-O الکل نوع اول و کشش C=O	۷۴،۳
۸۴۹	C-H در موقعیت های ۲، ۵، ۶ حلقه واحد های G	۲۸،۴



شکل ۴- طیف لیگنین استیل دار شده چوب صنوبر

## طیف UV-Vis

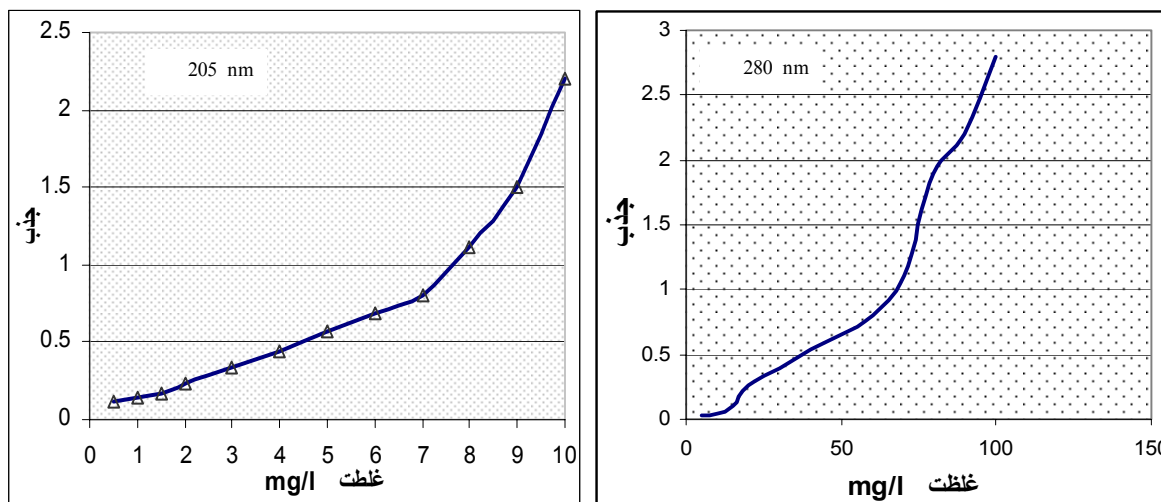
لیگنین در ناحیه امواج UV جذب شدیدی نشان می‌دهد که ناشی از طبیعت آروماتیک آن است. محل و شدت حداکثر جذب بستگی به نوع لیگنین، تغییرات شیمیایی آن و حلال مورد استفاده دارد. به طور کلی، در طیف سنجی فرابنفش، طول موج‌های ۲۰۰ - ۳۸۰ نانومتر در مطالعه لیگنین مورد استفاده هستند. طیف سنجی UV برای مطالعه ساختار لیگنین، تعیین گروه‌های عاملی دارای قابلیت جذب امواج UV-Vis، تعیین غلظت لیگنین در محلول‌های مختلف به خصوص مایعات پخت خمیر، رنگبری و پساب صنایع خمیر و کاغذ و تعیین لیگنین محلول در اسید در روش کلاسون مورد استفاده قرار می‌گیرد. طیف UV لیگنین صنوبر حل شده در DMF (دی متیل فرمامید) اندازه‌گیری شد که در شکل ۵ آمده است. حداکثر جذب در طول ۳۰۰ nm اتفاق می‌افتد.



شکل ۵- طیف جذب نور توسط لیگنین چوب صنوبر

غلظت لیگنین در محلول‌های مختلف بر اساس معادله Bear-Lambert و با استفاده از رابطه  $C = A / D b$  محاسبه می‌گردد [۱۶]. ( $C =$  غلظت (g/l) ( $A =$  جذب)، ( $b =$  طول مسیر عبور پرتو UV در نمونه (cm) ( $D =$  ضریب جذب، (1/g.cm)). در این رابطه، ضریب جذب ( $D$ ) به نوع لیگنین و طول موج بستگی دارد. مهمترین طول موج‌های مورد استفاده برای تعیین غلظت لیگنین، ۲۰۵ nm (عمدتاً برای محاسبه غلظت لیگنین محلول در اسید در روش کلاسون) و ۲۸۰ nm (برای تعیین غلظت لیگنین در محلول‌های مختلف) هستند [۵].

بر اساس معادله بیر - لامبرت، ضریب جذب ( $D$ )، بیان کننده وجود رابطه خطی بین غلظت و میزان جذب قرائت شده است. لذا برای تعیین ضریب بر اساس معادله بیر - لامبرت، ضریب جذب لیگنین در طول موج‌های ۲۰۵ nm و ۲۸۰ nm بایستی محدوده‌ای را پیدا کرد که این رابطه خطی برقرار باشد. برای این منظور، محلول‌های با غلظت‌های مختلف و مشخص از نمونه مورد نظر تهیه و میزان جذب در هر کدام از غلظت‌ها خوانده شد و رابطه بین جذب و غلظت تعیین گردید. در ناحیه خطی تغییرات بین غلظت و جذب، ضریب ثابت  $D$  ( $C = A / D b$ ) تعیین گردید. شکل ۶ نمودار تغییرات جذب و غلظت را در طول موج‌های ۲۰۵ nm و ۲۸۰ nm نشان می‌دهد. بر این اساس،  $D_{205nm} = 115 = 1/g.cm$  و  $D_{280nm} = 13/31 = 1/g.cm$  تعیین گردیدند.



شکل ۶- نمودار تغییرات جذب با غلظت محلول لیگنین در طیف UV و تعیین ناحیه خطی نمودار در طول موج های مختلف

### نتیجه گیری

بر اساس مطالعه انجام شده لیگنین محلول در اسید گونه صنوبر با استفاده از طیف سنجی UV-Vis به میزان ۳/۱٪ تعیین شد. این مقدار نشان می‌دهد که در تعیین لیگنین کلاسون گونه‌های پهن برگ، اندازه‌گیری لیگنین محلول در اسید برای تعیین میزان کل لیگنین ضروری است. همچنین ضریب جذب لیگنین برای تعیین میزان لیگنین محلول در اسید در گونه‌های مختلف متغیر است که حتی‌الامکان بایستی به طور جداگانه برای هرگونه تعیین گردد. این ضریب برای گونه صنوبر در طول موج ۲۰۵nm معادل  $D = 115 \text{ l/g.cm}$  تعیین شد.

طیف FTIR لیگنین استخراج شده و خالص سازی شده با طیف شاهد پهن برگ تطابق کامل دارد و فاقد جذب‌های اضافی مربوط به ترکیبات غیر لیگنین است که نشان دهنده درجه بالای خلوص لیگنین استخراج شده است. برای تأیید این موضوع، لیگنین کلاسون لیگنین خالص سازی شده صنوبر به روش شیمیایی اندازه‌گیری و مقدار آن معادل ۹۹/۱٪ تعیین شد که نشان دهنده درجه بالای لیگنین استخراج شده و خالص سازی شده است. با استفاده از طیف FTIR لیگنین استیل دار نشده صنوبر و طیف‌های موجود در منابع مختلف، میزان گروه‌های متوکسیل این لیگنین به ازای هر واحد فنیل پروپان ۱/۲۵-۱/۳۵ واحد برآورد می‌گردد. از روی طیف FTIR لیگنین استیل دار شده صنوبر، نسبت گروه‌های هیدروکسیل فنولی به هیدروکسیل آلیفاتیک ۰/۴۷ تعیین گردید.

### منابع و مأخذ:

- 1- Adilson R. Goncalves et. Al(2000) " Nmr Spectroscopy Of Passiva Lignin " Braz. Chem. Soc. VOL 1
- 2- Anapaula Duarte(2001) " Eucalyptus Globulus Kraft Pulp Residul Lignin" Holzforschung Vol 55
- 3- Aulin-Erdtman, (1952). Spectroscopic contribution to lignin chemistry. SVENSK PAPPERSTIDN, 55: 745-749
- 4- Bjorkmam(1956) " Study On Finely Divided Wood " Svensk Papperstiden) .
- 5- David N. S. Hom (1991)"Wood and Cellulosic Chemistry " Marcel Dekker inc.
- 6- Ewellyn , et.al ( 2001) , Oxidative ammonolysis of technical lignins . Holzforschung / Vol.55.No.5 : 405-411

- 7- Ewellyn A. Ccapanema et (2001). *Holzforschung*/vol 55
- 8- Faix & Beinhoff, J.(1988), *Wood Chem. Technol.* VOL 21 (1988)
- 9- Fengel D ,( 1984 ) . *Wood , chemistry , ultrastructure , reaction .* Walter de Gruyter , Berlin
- 10-J. George et. (2000). *JPPS* VOL. 26 NO
- 11-J.C.PEW (1962) . Biphenyl group in lignin , *Nature* 193 : 250-254
- 12-Miguel A. Gilarranz et. Al, J.(2001) *Wood Chem. Technol.* VOL 21
- 13-Rydholm, S.A(1965) “ PULPING PROCESS” Wiley, NEW YORK
- 14-S.Kolboe (1992) .Infrared investigation of lignin . *Tappi* , 45 : 163-166
- 15-Sarkanen, K & Ludwig,(1971) *Lignin*, Wiley inttersience New York
- 16-Stephen Y. Lin(1992)" *Methods In Lignin Chemistry*" Springer Verlag

Archive of SID



# Investigation of poplar lignin Determination of characteristics by FTIR & UV-vis

**H.sadeghifar**

*Assistant Professor of Wood and paper, Azad university, Ghaem Shahr*

**S.A.mirshokraie**

*Associate Professor, Chemistry Department, Payame Noor University.*

## Abstract

The analysis of populus nigra was done by UV- vis , FTIR methods . The amount of klasson lignin and acid soluble lignin was determined in such order: 19% aand 3.1% The lignin of this wood is GS kind and contains approximately 65-75% of G units and 25-35% of GS units. The amount of methoxyl units in lignin accordance with the ratio of manufactures units, were determined 1.23-1.35 with respect to each unit of phenyl propan.Ratio of phenolic hydroxyl group to the aliphatic hydroxyl group was determined to equal to 0.47 by using FTIR method on acetylated lignin. Absorption coefficient of lignin in UV-Vis and in DMF solvent for wave frequency of 205 nm, 280 nm were determined to be in such orderb:

D205 nm = 115 l/g.cm

D 280 nm = 13.03 l/g.cm

**Key words:** Absorption coefficient, UV-Vis, FTIR, Populus nigra