

植物纤维化学 结构的研究方法

陈嘉翔 余家鸾 编著

华南理工大学出版社

植物纤维化学结构的研究方法

陈嘉翔 余家鸾 编著

华南理工大学出版社

内 容 提 要

植物纤维是农业、林业的重要资源，是许多工业的优良原料。因此，对植物纤维的了解，特别是各组分化学结构的了解，显得非常重要。

作者集国内外近二十年来研究方法之精华，及作者与其研究生的研究成果，较详尽地介绍了研究纤维素、半纤维素和木素等化学结构的方法，包括各种化学方法和仪器分析方法，如各种光谱、色谱、核磁共振和电镜、能谱等，并举实例作参考。

本书可作制浆造纸科学与工程专业及其它应用植物纤维作原料或有关专业研究生的参考书，亦可供同类专业师生和工程技术人员参考。

责任编辑 张巧巧

植物纤维化学结构的研究方法

陈嘉翔、余家骥 编著

华南理工大学出版社出版发行

(广州 五山)

广东省新华书店经销

广东番禺印刷厂印刷

开本787×1092 1/16 印张16 字数386千

1989年12月第1版 1989年12月第1次印刷

印数1—1500

ISBN 7—5623—0065—8/TB·13(课)

定价：2.20元

前 言

植物纤维是取之不竭、用之不尽的再生性资源，是目前制浆造纸、纺织、水解和林产加工等工业的必须原料。研究各种植物纤维的主要成分，对合理利用和用好这些原料是必要的。

植物纤维的主要成分都是纤维素、半纤维素和木素。但是，植物纤维的种类不同，加工方法不同，这些成分表现出来的性能也有一定的差别。为了了解它们的差别，就必须研究它们结构上的差异，特别是化学结构上的差异。

本书着重介绍研究原料中或产品中纤维素、半纤维素和木素化学结构的方法，特别是近二十年来国内、国外发展的新方法，如利用各种光谱、色谱、能谱和各种电镜、核磁共振等新技术。

本书曾以讲义的方式从1981年开始作为华南理工大学制浆造纸专业研究生的教材，并作为本科生植物纤维化学课程的重要参考书。

本书共分三章。第一章纤维素物理结构和化学结构的研究方法与第三章木素化学结构研究方法由陈嘉翔编著，第二章半纤维素化学结构的研究方法由余家鸾编著，全书由陈嘉翔主编。

本书可供制浆造纸专业研究生作教材和本科生作参考书，也可供有关科研单位、工厂的工程技术人员和高等院校有关专业师生作参考。

由于我们的水平有限，书中难免存在缺点和错误，希望读者批评指正。

编著者

目 录

第一章 纤维素化学结构和物理结构的研究方法	1
第一节 纤维素化学结构的研究方法	1
一、研究纤维素大分子链状结构的方法.....	1
二、研究纤维素大分子功能基的红外光谱分析方法.....	2
三、纤维素分子量与分子量分布的测定方法.....	6
第二节 纤维素物理结构的研究方法	13
一、研究纤维素结晶结构的方法.....	13
二、研究纤维素微细结构的方法.....	26
参考文献.....	31
第二章 半纤维素化学结构的研究方法	33
第一节 半纤维素的分离	33
一、试样的有机溶剂抽提和制备综纤维素.....	33
二、半纤维素的分离方法.....	35
第二节 研究半纤维素化学结构的方法	45
一、半纤维素的化学结构.....	45
二、研究半纤维素化学结构的方法.....	49
第三节 半纤维素各组分的分离与鉴定	78
一、半纤维素的水解.....	79
二、半纤维素糖类组分的色谱分离与鉴定.....	80
三、半纤维素中酸性基团的测定.....	94
第四节 研究半纤维素在纤维细胞壁中分布的方法	106
一、半纤维素在纤维细胞壁中的分布.....	106
二、研究半纤维素在纤维细胞壁中分布的方法.....	106
参考文献.....	109
第三章 木素化学结构的研究方法	112
第一节 木素结构化学的发展	112
一、木素结构化学的发展历史 ^[1]	112
二、木素结构化学的研究成就.....	116
第二节^M 从原料中分离木素的方法	119
一、Brauns 天然木素(BNL)的分离 ^[3]	120
二、Björkman 木素(磨木木素MWL)的分离.....	120
三、二氧陆环木素的分离.....	126

四、纤维素酶木素 (CEL) 或酶分离木素 (EIL) 的分离	127
五、分级抽提分离木素	128
六、羟基醋酸木素的分离 (26)	128
七、胞间层 (或复合胞间层) 木素的分离	130
第三节 研究木素化学结构的物理方法	132
一、紫外光谱研究法	132
二、红外光谱研究法	142
三、喇曼 (Raman) 光谱研究法	147
四、核磁共振 (NMR) 研究法	149
五、电子自旋共振 (ESR) 研究法	170
六、纸色谱研究法	175
七、薄层色谱研究法	175
八、气相色谱研究法	176
九、高压液相色谱研究法	177
十、凝胶色谱 (GPC) 研究法	177
第四节 研究木素化学结构的化学方法和生物化学方法	180
一、木素元素分析法	181
二、木素功能基测定法	181
三、木素化学解聚和降解研究法	186
四、木素生物降解研究法	197
第五节 研究木素-碳水化合物复合体的方法	207
一、木素-碳水化合物复合体的结构	207
二、木素-碳水化合物复合体的分离	213
三、木素-碳水化合物复合体的分级与鉴定	213
四、木素-碳水化合物复合体的酶处理与鉴定	216
五、木素-碳水化合物复合体的甲基化和结构分析	220
六、木素-碳水化合物复合体的红外光谱和核磁共振鉴定	222
七、木素-碳水化合物复合体稳定性的研究	226
第六节 研究木素在纤维细胞壁中分布的方法	230
一、木素在纤维细胞壁中的分布情况	230
二、研究木素在纤维细胞壁中分布的方法	230
参考文献	243

第一章 纤维素化学结构和物理结构的研究方法

第一节 纤维素化学结构的研究方法

一、研究纤维素大分子链状结构的方法

纤维素大分子的化学结构，现在已经肯定，可以认为是由葡萄糖基组成的呈链状结构的简单聚糖，其结构式如图 1-1。

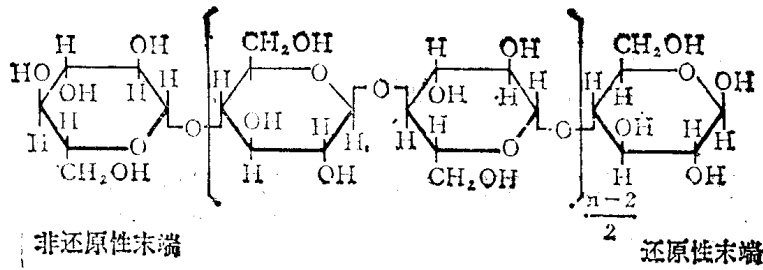


图 1-1 纤维素大分子的化学结构

对图 1-1 的证明，也就是研究纤维素大分子化学结构的方法，基本上可按下述过程进行：

(一) 水解

用酸将纤维素完全水解，能得到得率为 96%~98% 的 D-葡萄糖，这说明了纤维素是由葡萄糖基组成的简单聚糖。如果分离出来的纤维素中混有其他聚糖（如半纤维素），则酸水解后能得到其他的单糖，这些单糖都能用气相色谱或液相色谱加以鉴定。

(二) 酯醇化

纤维素经完全酯化后的产物为纤维素的三取代物，这说明组成纤维素的 D-葡萄糖基具有三个游离羟基，分别在 C₂、C₃ 和 C₆ 位置上。这可将三甲基纤维素（纤维素的甲基醚）水解所得产物与从 2、3-二甲基-D-葡萄糖酯化后得到的 2、3、6-三甲基葡萄糖的性质作一比较即可得到证实⁽¹⁾。

由于组成纤维素的 D-葡萄糖基只有三个羟基，因此可推断这种 D-葡萄糖基的结构是环状，而不是开链状的。因为如果是开链状的，则应当有四个游离羟基，酯化时应当得到四取代物。

(三) 甲醇解

纤维素不完全水解时可以得到各种低聚糖，其中最小的低聚糖为纤维贰糖。

将纤维贰糖酯化（如甲基化）可以得到八-甲基纤维贰糖，把它再甲醇解，可分离出 2、3、4、6-四甲基葡萄糖的甲基贰和 2、3、6-三甲基葡萄糖的甲基贰⁽²⁾。其反应过程如图 1-2。

从图 1-2 说明纤维贰糖分子中 D-葡萄糖基之间的联接是 1 → 4 β 贰键，即所有纤维素大分子中葡萄糖基之间的联接都属 1 → 4 β 贰键联接。

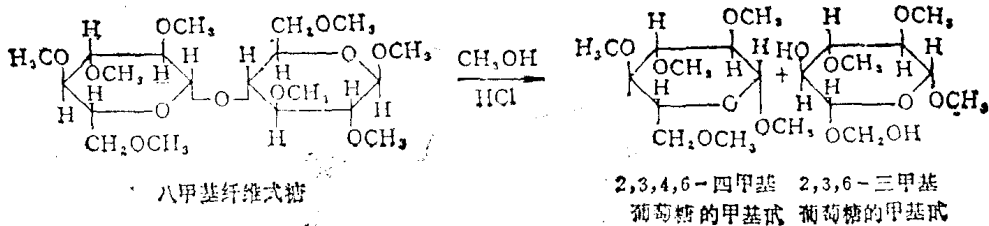


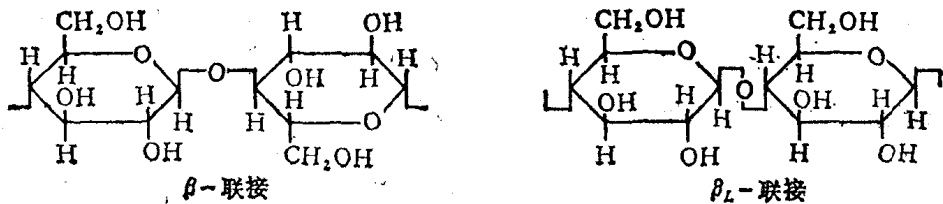
图 1-2 八甲基纤维贰糖的甲醇水解过程

(四) 还原

纤维素有还原性，它能使氧化铜 (CuO) 还原为氧化亚铜 (Cu₂O₂)，也能在碱性溶液中使碘 (I₂) 还原为碘化物 (I⁻)，这说明纤维素大分子的一端的贰羟基在碱溶液中会互换为醛基，因此具有还原性，也即是纤维素具有还原性的末端，但另一端则是非还原性的末端。

以上的实验证明了纤维素是由 D-陆环-葡萄糖以 1 → 4 β 贰键联接、具有还原性末端的链状结构的聚糖。

这种链状结构，过去一向认为是直链状的，但是，在发现粘胶纤维的纤维素大分子中有“弱联接”（即弱贰键）以后，就对“直链状”有所怀疑。“弱联接”的来源，除可能从邻近葡萄糖贰键的葡萄糖基中由于形成了羰基 >C=O 造成“弱联接”⁽³⁾⁽⁴⁾以外，现在认为很可能是由于线型纤维素大分子折叠造成的，即线型纤维素大分子并非全部是“直链状”，而是呈折叠链状的，在折叠处就形成了“弱联接”⁽⁵⁾，以 β_L-联接表示之。



天然纤维素大分子中是否呈折叠链状，Manley 作过设想⁽⁶⁾，但需进一步证实。

二、研究纤维素大分子功能基的红外光谱分析方法

纤维素大分子，和其他大分子一样，可以利用红外光谱来研究它结构中所具有的基团。

一般的红外光谱图，横轴为波长 (μm) 或波数 (cm⁻¹)，纵轴为透过率或吸收率。波长与波数的关系如下：

$$\nu (\text{cm}^{-1}) = \frac{1}{\lambda (\text{cm})} = \frac{10000}{\lambda (\mu\text{m})}$$

式中，ν 为波数，λ 为波长。

透过率和吸收率的关系如下：

$$\text{透过率} = \frac{I}{I_0} \times 100$$

$$\text{吸收率} = 100 - \frac{I}{I_0} \times 100$$

有时也用光密度E来表示吸收强度

$$E = \log \frac{I_0}{I}$$

式中, I_0 —为辐射的入射强度,

I —为辐射的透射强度。

用来进行红外光谱检测的纤维素物料试样的制备方法如下: 取80~120目试样3.5~4.0mg和350mg 200目的K.Br混合(在玛瑙钵中研合), 混合好后, 称取300mg置于称量瓶中, 然后在60°C真空干燥(真空度接近 $-1.01325 \times 10^5 \text{Pa}$) 4h, 然后直接倒入压片模中压片。压片时抽气1~2min, 在 $1.47 \times 10^9 \text{Pa}$ (15吨/厘米²) 压力下压3min(对 $\phi 15\text{mm}$ 片子而言) 则可得全透明的片子(注意空气相对湿度 $\leq 57\%$) 供应用。

图1-2为澳大利亚产王桉(*Eucalyptus regnans* F. Mnell) 木材及其主要成分(纤维素、半纤维素和木素)的红外线光谱图⁽⁷⁾。图1-3为澳大利亚产辐射松(*Pinus radiata* D. Don) 木材的红外光谱图⁽⁷⁾。图1-3和图1-4中有关吸收峰表示的基团列于表1-1⁽⁷⁾。一些资料关于天然纤维素的红外光谱的解释见表1-2⁽⁸⁾。表1-1和表1-2可用来解释红外光谱图上各吸收峰代表的基团(定性分析)。如要进行各基团的定量测定, 则可用基线法测量每个峰的吸收强度, 或吸光度(Λ)。

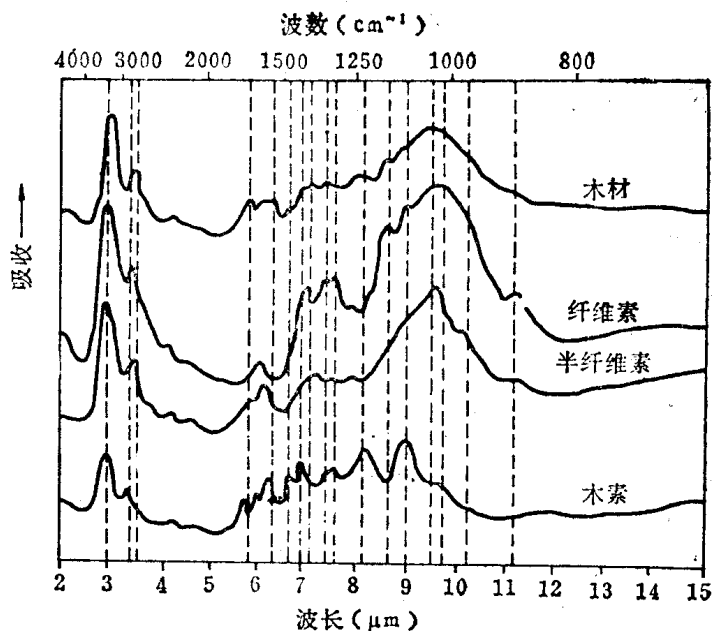


图1-3 澳大利亚产王桉木材及其主要组分的红外光谱图

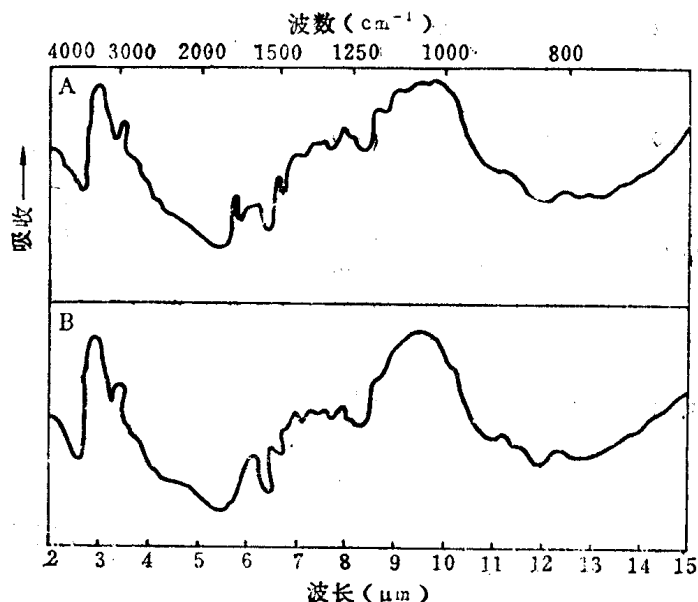


图1-4 澳大利亚产辐射松木材红外光谱图

A—辐射松原木材

B—除去半纤维素后的辐射松木材

表 1-1 王桉和辐射松红外光谱的解释

王 桉		辐 射 松		基.团 说 明	参 考 文 献
波长 μm	波数 cm^{-1}	波长 μm	波数 cm^{-1}		
3.03	3330	3.03	3330	O--H 伸展振动	
3.45	2900	3.45	2900	O—H 伸展振动	
5.77	1730	5.77	1730	C=O 伸展振动 (聚木糖)	H.J. Bolker PPMC 64 T-183 (1963)
6.05	1650	6.05	1650	H—O—H 形变振动(吸附水) C=O 伸展振动 (木素)	D.E. Blanot, Biochem. J. 75 195 (1960)
6.28	1595	6.23	1605	 伸展振动 (木素)	R.M. Marchessault, J. Polymer Sci., 59 357 (1962)
6.65	1505	6.62	1510	 伸展振动 (木素)	
6.87	1455	6.85	1460	CH ₂ 形变振动*(木素聚木糖)  振动*(木素)	
7.02	1425	7.02	1425	CH ₂ 剪切振动 (纤维素) CH ₃ 弯曲振动 (木素)	H.J. Bolker, PPMC T-187 (1963)
7.30	1370	7.30	1370	CH弯曲振动 (纤维素和半纤维素)	C.Y. Liang et al., J. Polymer Sci., 52 357 (1962)
7.55	1325	7.50 7.58 7.90	1335 1320 1265	} OH平面内形变 (纤维素) C=O伸展振动 (木素酚醚键)	R.A. Durie, et al., Aust. J. Chem., 13 156 (1960)
8.10	1235	8.10	1235	乙酰基与羟基振动 (聚木糖) C=O伸展振动 (木素)	R.H. Marchessault, J. Polymer Sci., 52 357 (1962)
8.15	1225			C=O伸展振动 (木素)	R.A. Durie et al., Aus. J. Chem., 13 156 (1960)
8.30	1205	8.30	1205	O—H平面弯曲振动 (纤维素和半纤维素)	S. Kolboe et al., Tappi 45 163 (1963)
8.62	1160	3.62	1160	C—O—C 反-对称“桥”伸展振动 (纤维素和半纤维素)	C.Y. Liang et al., J. Polymer Sci., 37 385 (1959)

续上表

9.00	1110	9.00	1110	O-H 缔合光带 (纤维素和半纤维素)	H.G. Higgins et al., J. Polymer Sci., 51 59 (1961)
9.50	1050	9.50	1050	C=O 伸展振动 (纤维素和半纤维素)	同上
9.70	1030	9.70	1030	C=O 伸展振动 (纤维素、半纤维素和木素)	同上
10.10	990	10.10	990	C=O 伸展振动 (纤维素和半纤维素)	同上
11.15	895	11.15	895	} 异头碳 (C ₁) 振动 甘露糖 (针叶木)	S.A. Barker, et al., J. Chem. Soc., 171 (1954), C.Y. Ziang et al., Tappi 43 1017 (1960)
		11.50	870		
		12.35	810		
11.95	835			类似与紫丁香基 (1, 3, 4, 5-有取代物的苯环) 接触的氢原子的振动 (阔叶木)	D.E. Bland, Holz- forschung 12 36 (1958)

表 1-2 天然纤维素红外光谱的解释

波 数	基团振动说明
3488~3350	OH 伸缩 (分子内氢键)
3350~3175	OH 伸缩 (分子内氢键)
2933	CH ₂ 不对称伸缩
2850	CH ₂ 对称伸缩
1635	H ₂ O 的吸收
1455	OH 面内弯曲
1430	CH ₂ 弯曲
1374	CH 弯曲
1336	OH 面内弯曲
1317	CH ₂ 摇摆
1282	CH 弯曲
1205	OH 面内弯曲

1162	不对称C-O-C“桥”伸缩
1110	不对称环向内伸缩
1000	C-O伸缩
859	不对称环向外伸缩C ₁ -H弯曲
~800	环呼吸
~740	CH ₂ 摇摆
663	OH面外弯曲

图1-5为基线画法举例。

在图1-5A的情况下，就可以画一条与吸收峰肩(为该峰透过率最大处)相切的KL线作为基线，如果通过分析波数 ν_0 的垂线和该基线相交于M点，则用基线法测得顶峰N处的吸光度(A)为：

$$A = \log \frac{T_0}{T}$$

式中 T_0 和 T 分别为M和N处的透过率。由此可知，所谓基线法，实际上就是用基线来表示该分析峰不存在时的背景吸收线，

并用它来代替记录纸上的100% (透过) 坐标。在作基线时应该根据具体情况十分谨慎地进行。一般来说，基线可有以下几种画法：

1. 如果分析峰不受其他峰干扰，则可作如图1-5中的1线为基线，即作一线和峰的两肩相切。

2. 如果分析峰受到近旁峰的干扰，则可作单点水平切线为基线，如图1-5中的2线。

3. 如果干扰峰和分析峰紧靠在一起，但是它们的影响实际上是恒定的，也就是说，当浓度变化时，干扰峰的峰肩位置变化不是太厉害，则可以采用图1-5的4线作基线。

4. 基线也可以不是直线，例如根据吸收峰应该是对称的这个原理，其外推曲线很可能就是近旁分析峰的合适基线，如图1-5中的3线。

当然，取图1-5中的5线和6线作基线也是可以的，只要所取的切点位置不会因浓度不同而有较大的变化即行。但是，为保证分析的准确度，基线最好能保持水平，并具有低的吸光度。

三、纤维素分子量与分子量分布的测定方法

根据纤维素的化学结构式不难看出纤维素分子量(M)与聚合度(n)存在如下关系：

$$M = 162n + 18$$

式中，162为葡萄糖基分子量，18为纤维素两端葡萄糖基分子量增值之和。当 n 很大时，上式中18可以忽略不计，即

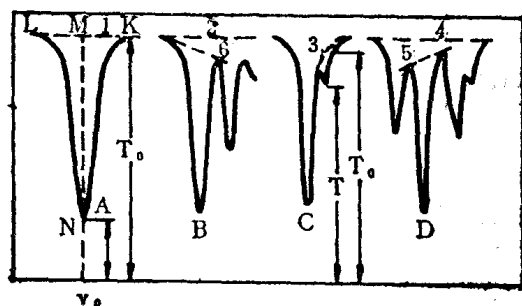


图1-5 基线画法举例

$$M = 162n$$

由于纤维素的聚合度有大有小，形成了纤维素的多分散性。多分散性常用分子量分布、聚合度分布或链长分布来表示。

(一) 纤维素分子量测定方法

由于纤维素的多分散性，所以通常所谓纤维素的分子量，都是平均分子量。因统计方法不同，计有数均分子量(\bar{M}_n)，重均分子量(\bar{M}_w)，离均分子量(\bar{M}_z)和粘均分子量(\bar{M}_η)等。属数均分子量的测定方法有末端基分析法和渗透压法。属重均分子量的测定方法有光散射法。属离均分子量的测定方法有超速离心机法。属粘均分子量的测定方法粘度法。由于测定方法的不同，测定结果也有所不同，它们之间相互的大小关系为： $\bar{M}_n < \bar{M}_\eta < \bar{M}_w < \bar{M}_z$ 。在实际工作中应用最广的方法为粘度法。一般用粘度法先测得平均聚合度，再计算平均分子量。由于所采用的溶剂和粘度计的不同，各国测定纤维素溶液粘度的方法也不尽相同。常用的溶剂有铜氨溶液、铜乙二胺溶液和镉乙二胺溶液等⁽⁹⁾。但在测定原料中的纤维素聚合度时，往往采用乙酸乙酯。常用的粘度计有奥氏粘度计、乌氏粘度计和北欧粘度计等。测定纸浆聚合度的粘度法可参考各个国家的标准。测定原料中纤维素的聚合度时，可用下述方法：

原料先磨碎，取40/60目间的粉末为试样，用1:1苯醇抽提6h，然后在50℃下真空干燥备用。

以上处理过的原料，可用硝化法制取硝化纤维素，然后用乙酸乙酯作溶剂测定硝化纤维素的聚合度并换算成分子量。

硝化剂的组成是64% HNO₃，26% H₃PO₄，10% P₂O₅。

原料硝化的方法是：取试样1g左右（绝干）慢慢地加入预先已冷却到-8℃的混合硝化剂80ml中，在带玻塞的锥形瓶中于17±0.5℃硝化8~10h（时而摇动之）。再冷却至-8℃，立即用120ml已预先冷却至-8℃的50%醋酸洗涤之，再用冷却过的蒸馏水洗几次，黄色物用饱和碳酸氢钠溶液处理，再用水洗涤，然后用醋酸酸化，最后用大量蒸馏水洗至中性。硝化物用甲醇浸1~2天，中间换新鲜甲醇数次，直至颜色变浅为止，最后用蒸馏水洗，风干并在50℃下真空干燥。将干燥的硝化物溶于丙酮中，不溶解残渣用离心分离机分离之，澄清溶液注入大量蒸馏水中，硝化纤维素呈白色絮状析出，不溶残渣再用丙酮处理，把其中硝化纤维素尽可能抽出为止。

沉淀析出的硝化纤维素，用水洗几次，最后在50℃下真空干燥之，然后用乙酸乙酯作溶剂测定其聚合度。

此外，近年来已采用气相色谱法来测定纤维素（或纸浆）的聚合度⁽¹⁰⁾。

1. 测定原理

每一条纤维素或半纤维素都有一个还原性末端基（醛基），先将其还原为相应的糖醇基，然后进行酸水解并测定水解液中糖醇和还原糖的比例。如糖醇和还原糖的比例为1:500，即平均聚合度为500。

可以用过碘酸盐氧化的方法测定糖醇，因为糖醇氧化后放出甲醛，从测得的甲醛的量就可以计算出糖醇的量⁽¹¹⁾，还原糖另行测定。

现在则可用气相色谱法把糖醇与各种还原糖分离。其主要原理是：上述水解液中的还

原糖(聚糖水解得来)先转变为糖脎,经脱水变成糖脞,而水解液中的糖醇则不能转变为糖脞,仍以糖醇状态存在。两者一起醋酸化形成糖脞醋酸酯和糖醇醋酸酯,两者可以用气相色谱法分离,并定量地测定其比例。即得该聚糖(或纸浆)的平均聚合度。

2. 测定步骤⁽¹⁰⁾

碳水化合物先用 NaBH_4 还原(每一个mol还原用10mol NaBH_4),低聚糖只需反应1h,纤维素等高聚糖则需反应过夜。多余的 NaBH_4 氧化成硼酸盐,钠离子用离子交换树脂Amberlite IR-120(H^+)除去,吸出的溶液蒸发至干。硼酸盐用5% HAc液在甲醇中反应,使之成为挥发性甲酯在蒸发时除去。此过程反复5次。残渣用2 mol/L三氟醋酸在100℃水解16h,蒸发干后进行脎化反应。

水解液中蒸干的每ml糖用0.2ml 5%盐酸羟胺的吡啶溶液在100℃加热15min使之变成糖脎,冷却后每mg糖加0.2mg醋酐继续加热1h使糖脎脱水变成糖脞,同时,糖脞与糖醇的所有游离羟基发生醋酸化作用。糖脞与糖醇醋酸酯的气相色谱法可参考本书第二章半纤维素化学结构的研究方法。

此外,最近有采用在 $^3\text{H}_2\text{O}$ 中酸水解纤维素以示迹技术(探测 ^3H)测定纤维素分子量的方法⁽¹¹⁾,值得注意。

(二) 纤维素分子量分布测定方法

由于纤维素的聚合度具有多分散性,因此了解聚合度分布(或分子量分布)的情况便能了解纸浆或人纤浆粕的某些物理性能。

过去测定聚合度分布的实验方法都需要很长时间,如:直接或间接的分级沉淀法、分级溶解法和凝胶过滤法等(这些方法可参考植物纤维化学教材)。六十年代以来,普遍地采用了凝胶渗透色谱法(Gel Permeation Chromatography,简称GPC),现在也有称为高分辨分子大小排斥色谱法的(High Performance Size Exclusion Chromatography,简称HPSEC)⁽¹²⁾,其与经典方法比较,具有快速、准确和重现性好等优点。凝胶渗透色谱法的原理与具体方法介绍于下:

1. 凝胶渗透色谱法的基本原理

凝胶渗透色谱法是液相色谱法的一种形式。色谱柱中填充的担体是经过处理的、具有一定的孔隙结构和分布的多孔硅胶或惰性的交联聚合物凝胶。纤维素必须先制成衍生物如硝酸酯或三苯胺基甲酸酯(Tricarbanilate),然后溶解在溶剂中通过凝胶色谱柱。由于分子大的纤维素衍生物不容易渗透到凝胶的微孔中去,因此分子量最大的就首先被溶剂洗提出来,然后是分子量较小一些的纤维素衍生物,最后是分子最小的纤维素衍生物就被洗提出来。因此,在出口处,纤维素衍生物就被按分子大小而分开,从而达到按分子量大小被分离的目的。如果在出口处用检测器测定每一流出体积(级分)溶液的浓度,就能得到一个GPC谱图(如图1-6)。谱图的横坐标是洗出液体积(V_e),实际上与分子量大小有关。纵坐标是洗出液中纤维素衍生物的浓度(D),可以折光率表示。如果要从GPC谱图中得到定量的关系,如平均分子量、分子量微分分布曲线和积分分布曲线等,则就要用一组已知分子量的单分散性的标准样品首先定出分子量 M 和流出体积 V_e 的数量关系,这就是标准校正曲线。一般常用的校正曲线是用分子量对数($\log M$)对流出体积(V_e)作图表示。这种校正曲线,只能用于测定和标准样品相同的高聚物。在用GPC测定硝化纤维素聚合度分布的工作

中，若直接制备的硝化纤维素的缔合力强和溶剂化作用等原因，用一般沉淀分级法制得的标准样品的聚合度分布仍然较宽，而且对称性很差，容易造成人为的误差，特别是低聚合度部分尤其如此。因此，在实际应用上，可采用普式校正曲线来测定纤维素聚合度分布。所谓普式校正曲线，即用一种标准样品作出一校正曲线，在相同的操作条件下，可用于测定不同结构、不同化学性质的高聚物试样。这是因为GPC色谱柱流出的体积真正反映的是试样的流体力学体积，因此，Benoit等人提出用表征流体力学体积的 $\log[\eta]M$ 对 V_e 作图，不同高聚物（聚苯乙烯，聚丁二烯和硝化纤维素）的实验点都落在一条直线上，这就是普式校正曲线（见图1-7）。 $[\eta]M$ 的大小具体反映了分子量大小和分子链的柔顺性，不同高聚物在同一溶剂中， $[\eta_1]M_1 = [\eta_2]M_2$ ，式中 η_1 和 η_2 分别代表不同高聚物的特别粘度， M_1 和 M_2 分别代表不同高聚物的分子量。

由于 $[\eta] = KM^\alpha$ ，故 $K_1M_1^{1+\alpha_1} = K_2M_2^{1+\alpha_2}$ ，这里的 K 和 α 值，特别是 α 值反映了分子链在溶液中的卷曲状态。因此，根据纤维素分子量大小、含氮量等，选择适当的 K 和 α 值，减少溶剂化所造成的影响，直接用聚苯乙烯标准样品建立纤维素的标准校正曲线还是可行的。

2. 仪器与试剂

凝胶渗透色谱仪，采用折光检测器。

色谱柱固定相为NDG—3 L、5 L和6 L多孔硅胶，三柱串联使用。

流动相：四氢呋喃。流速 1 ml/min。

标准样品：各种分子量的聚苯乙烯（PS），平均分子量 $\bar{M}_n = 3600 \sim 4700000$ （美国Waters公司提供）。

3. 凝胶渗透色谱法测定步骤与方法

（1）纤维素硝酸酯或三苯胺基甲酸酯的制备

纤维素硝酸酯的制备，一般是用Newman法⁽¹³⁾或Alexander和Mitchell的方法⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾。

硝化试剂制备：将90% HNO_3 1000g浸于冰水浴中冷却搅拌，徐徐加入404g P_2O_5 即制

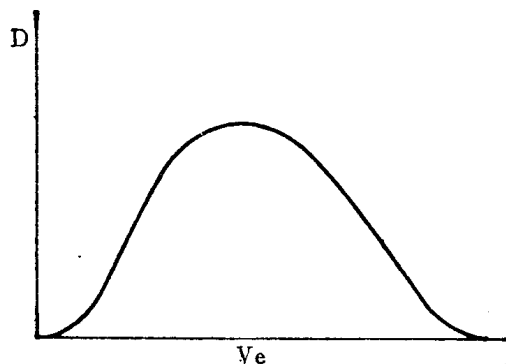


图1-6 GPC谱图示意

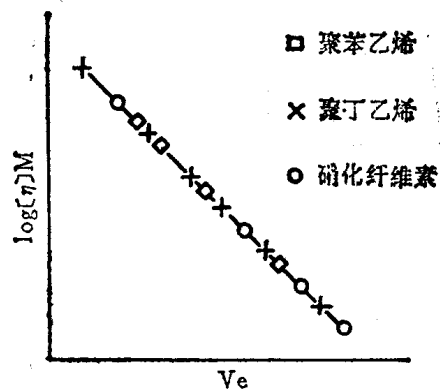


图1-7 普式校正曲线

得硝化试剂Mitchell混合液，其酸液组成为64% HNO_3 ，26% H_3PO_4 ，10% P_2O_5 。在0℃暗处贮存2~4天后供使用⁽¹⁵⁾，如有混浊，可过滤之。

硝化步骤：撕松的纤维素试样（相当于绝干试样1g左右），在50℃下烘干1~2h，烘干后加入100倍量的混合酸，投入0℃冰水中不断搅拌硝化4h，硝化后用蒸馏水洗涤之，再用流水洗24h，然后用蒸馏水煮沸，最后浸于甲醇中进行稳定化处理，经压榨除去甲醇并经低温真空干燥后得到纤维素硝酸酯，硝化时间必须根据试样的种类适当选择。为了防止聚合度降低，必须充分洗涤和进行稳定化处理，尽可能除净剩余混合酸。硝化之后，若能得到纤维素三硝酸酯，其含氮量应为14.15%，希望不低于13.5%。实际上，一般所得，硝化产物的含氮量在12.8~13.6%。硝化不完全的原因有：聚戊糖含量高（聚戊糖只能形成二硝酸酯），反应条件不够适当，已形成的硝酸酯发生了分解等。酯化度过低，将使溶解性能降低，因此，必须测定纤维素硝酸酯的含氮量。

采用纤维素三苯胺基甲酸酯的优点是不会象纤维素硝化时那样发生纤维素的降解，同时也可用于含半纤维素高达20%的普通化学浆⁽¹⁶⁾。

纤维素三苯胺基甲酸酯的制备方法如下：

4g风干纸浆放入150ml无水吡啶中，再加入40ml异氰酸苯酯（Phenyl isocyanate $\text{C}_6\text{H}_5\text{N}:\text{CO}$ ），混合物在110℃加热8h，所得黄色粘状溶液冷却后倒入快速搅拌着的2L无水酒精中，所得白色纤维素状沉淀物溶于丙酮中并倒入水中以沉淀之。该过程（溶解—沉淀）重复一次后将沉淀用甲醇洗涤之，并在50~60℃真空干燥至恒重。纤维素三苯胺基甲酸酯的含氮量在7.8%以上时取代度就可达2.90以上⁽¹⁶⁾。

纤维素三苯胺基甲酸酯（Cellulose tricarbonylcarbanilate，简称为CTC）也可用微量制备的方法如下⁽¹²⁾：

试样如是再生纤维素，则需先行活化，活化的方法如下：干再生纤维素100mg放在50ml反应瓶中，加入10ml液体氨和1ml吡啶并充满干燥的氮气，反应约2h后，稍加热以逐出氨气，试样活化完成。

干纤维素100mg，或经上述活化过的干再生纤维素100mg，放在50ml的反应瓶中，加入20ml干吡啶和2ml异氰酸苯酯，在80℃反应，待纤维素溶解后，将溶液倒入含盐甲醇水溶液中以沉淀出CTC。沉淀出来的CTC用离心分离的方法收集，再用含盐甲醇水溶液洗涤之，然后干燥备用，此时CTC的含氮量约为 $8.10 \pm 0.19\%$ 。含盐甲醇水溶液的制备方法为：一份0.02mol Na_2SO_4 水溶液和一份甲醇混合即得。

（2）含氮量的测定⁽¹⁵⁾

测定方法的基本原理是硝化纤维素中的硝基利用水杨酸和硫代硫酸钠等强还原剂，使之还原为氨态氮并与 H_2SO_4 作用形成 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 。反应过程中加入 K_2SO_4 目的在提高溶液沸点从而加速分解。生成的硫酸铵在加入氢氧化钠后即放出氨，用水蒸汽把它逐出以硼酸吸收之，然后再用标准盐酸滴定氨量。具体操作步骤按Glegg等人介绍的微量凯氏（Kjeldahl）法进行：试样15~20mg（ $\pm 0.01\text{mg}$ ）直接放在微量凯氏烧瓶中，加入大约0.1g水杨酸或2.0ml浓硫酸，假如试样是纤维状的硝酸酯，则反应1h就可完成。假如试样是丙酮液中风干而来，则反应不完全，测得的含氮量偏低。上述反应完成后的溶液为黄色或棕色，再加入大约0.3g硫代硫酸钠和0.6g无水硫酸钾稍加热0.5h，然后慢慢升温直到硫酸开始沸腾，回流

6 h, (有时摇动之) 溶液变为无色即为反应完毕。用蒸馏水15ml 稀释后进行水蒸汽蒸馏。水蒸汽蒸馏情况是这样: 上述溶液中加入20ml 35% NaOH液, 形成的NH₃用水蒸汽蒸馏出来, 然后通入25ml 0.8% 硼酸液中吸收之。硼酸液事先要用混合指示剂检查呈微酸性。混合指示剂由5份0.1% 溴甲酸绿酒精溶液和1份0.1% 甲基红酒精溶液组成。蒸馏5~7 min后, 用0.03mol标准盐酸直接滴定氨的含量(到指示剂再显红色为止)。一般需消耗5~9 ml 标准盐酸。四次空白试验测定, 平均消耗0.03molHCl0.05ml, 计算时校正之。

(3) 纤维素硝酸酯的凝胶渗透色谱分析。

(i) 建立标准校正曲线(PS校正曲线)

将已知分子量的PS标准样品配成0.3%的四氢呋喃溶液, 依次注入色谱仪中, 得对称性较好的各标准样品的GPC谱图, 取各谱图峰值的洗出液体积V_e作为横座标, 作出PS的logM-V_e校正曲线(图1-8之曲线(1))。

(ii) 把标准校正曲线换算成纤维素硝酸酯的校正曲线。

当标准样品(PS)和试样(纤维素硝酸酯)的洗出体积相同时, 根据流体力学体积相等的原则进行换算。即

$$[\eta_1]M_1 = [\eta_2]M_2$$

式中 $[\eta_1]$ 和 $[\eta_2]$ 分别是标样和试样的特性粘度, M₁和M₂分别是标样和试样的分子量。

$$\text{由于} [\eta_1] = K_1 \cdot M_1^{\alpha_1},$$

$$[\eta_2] = K_2 \cdot M_2^{\alpha_2}$$

$$\text{故 } M_2 = \left(\frac{K_1}{K_2} \right)^{\frac{1}{\alpha_2 + 1}} \cdot M_1^{\frac{\alpha_1 + 1}{\alpha_2 + 1}}$$

$$\log M_2 = \frac{1}{\alpha_2 + 1} \log \left(\frac{K_1}{K_2} \right) + \left(\frac{\alpha_1 + 1}{\alpha_2 + 1} \right) \log M_1$$

当 $\overline{DP} = 800$ 左右时,

$$K_1 = 1.26 \times 10^{-2}, \alpha_1 = 0.72$$

$$K_2 = 2.19 \times 10^{-2}, \alpha_2 = 0.89$$

将K₁、K₂、α₁、α₂值和标准样品的分子量(M₁)代入上式, 即可得纤维素硝酸酯的分子量(M₂), 从而可得到纤维素硝酸酯的校正曲线logM₂-V_e。(见图1-8之曲线(2))。如果将纤维素硝酸酯(硝化纤维素)的分子量换算成聚合度(DP), 便可将logM₂-V_e校正曲线换算成logDP-V_e校正曲线(见图1-9)。根据此校正曲线便可进行纤维素聚合度分布的测定。

(iii) 凝胶渗透色谱分析

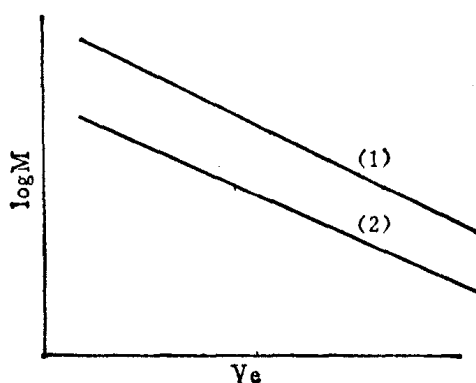


图1-8 logM-V_e校正曲线
曲线(1), PS的logM₀-V_e校正曲线
曲线(2), 硝化纤维素的logM₂-V_e校正曲线