

Введение Известно, что вне зависимости от степени эволюционного развития организма: от прокариотических бактерий до животных и высших растений, на каждой из них находится ряд организмов, способных продуцировать целлюлозу [1-3]. Целлюлозы различного происхождения имеют свои отличительные свойства благодаря отличиям в надмолекулярной структуре. В структуре данного полимера выделяют 3 уровня [4]: · молекулярный (химическая структура, конфигурация и конформация макромолекул, молекулярно-массовое распределение, наличие функциональных групп и их внутримолекулярное взаимодействие); · надмолекулярный (способ упаковки цепных молекул в элементарном кристалле фибриллы, строение кристаллической решетки внутри фибриллы, размеры фибрилл, степень упорядоченности); · морфологический (пространственная упаковка макрофибрилл, наличие слоев роста, микро- и макропор). Основные отличия проявляются в надмолекулярном уровне. Благодаря им целлюлозы различного происхождения обладают различной сорбционной способностью по отношению к воде. Особенности надмолекулярной организации бактериальной целлюлозы (БЦ), а именно, сеточная структура, образованная наноразмерными лентами, и наличие наноканалов между соседними нанофибриллами в этих лентах, придают сформированной матрице геля плёнки БЦ уникальные сорбционные свойства. Так, в зависимости от штамма она способна сорбировать воду по отношению к сухой массе в отношении 50:1 – 400:1. Известно, что вода влияет на механические, релаксационные и реакционные свойства целлюлоз. Поэтому необходимо исследовать процессы связывания воды в надмолекулярной структуре. Для идентификации наблюдаемых процессов может быть использован метод релаксации дипольной поляризации. Метод основан на сравнении экспериментально наблюдаемых молекулярно-кинетических характеристик релаксационных процессов для различных объектов, структура которых меняется направленным образом. Используя этот подход при правильном подборе модельных соединений можно с достаточной достоверностью дать молекулярную интерпретацию релаксационного поведения полимера со сложной структурой. В работах [5,6] было исследовано влияние воды и влажности на различные типы целлюлоз методом диэлектрической спектроскопии. Так в работе [5] были исследованы зависимости тангенса угла диэлектрических потерь от температуры $\text{tg}\delta=f(T)$, на которых при низких температурах было обнаружено наличие области релаксации дипольной поляризации, связанной с подвижностью первичного гидроксила. Величина максимума тангенса угла диэлектрических потерь зависит от длительности осушения образцов, что можно связать с влиянием содержания воды в образцах. Так в работе [7] было исследовано изменение проводимости бумаги и трансформаторной бумаги из целлюлозы после термообработки разной временной длительностью. При медленном увеличении температуры с 50°C до

130^oC и времени термообработки 48 часов, сорбционная способность уменьшается более чем в 100 раз, в то время как объемное сопротивление увеличивается на 3 порядка. Из литературы известно, что вода затрагивает надмолекулярную организацию в молекулах целлюлозы. Часть воды, сорбированной в целлюлозе, имеет параметры, которые заметно отличаются от тех же параметров в свободной воде. Ряд авторов [6] исследовали целлюлозы валония, бактериальную *Glucosacetobacter xylinus*, микрокристаллическую хлопковую, вискозу и ряд других целлюлоз в диапазоне температур от -130 до +20^oC и в диапазоне частот от 5 МГц до 6 МГц. Особое внимание авторы обращают на сушку целлюлозных образцов. В ходе эксперимента было показано, что вне зависимости от происхождения целлюлозы, длины цепей, степени кристалличности, размеров кристаллитов, структуры пористой системы нет никаких отличий в диэлектрических характеристиках хорошо осушенных образцов. В зависимости от массового содержания воды в образце, целлюлозы различного происхождения по-разному меняют своё релаксационное поведение. По мнению авторов [6] связанная вода в целлюлозе находится в различных состояниях. Влияние разной концентрации сорбированной воды на времена релаксации показывает взаимосвязь каждого релаксационного процесса с соответствующим уровнем структуры целлюлозы. В любой целлюлозе существует низкотемпературный релаксационный процесс, что было отмечено авторами [8-11]. Причем, интенсивность релаксационного процесса уменьшается с увеличением степени кристалличности (аморфизованный порошок > микрокристаллическая Avicell > бактериальная целлюлоза > целлюлоза валония). Так Коллманн и соавторы [8], сообщали, что наблюдали релаксационный процесс при комнатной температуре на частотах 107 – 108 Гц. Трапп [9] измерил диэлектрические параметры целлофана и отмытого хлопка и детектировал две области поглощения без максимума в диапазоне частот от 0,1 до 100 кГц. Он связывает эти области с ориентационной поляризацией гидроксильной группы в кристаллических и некристаллических областях целлюлозы соответственно. Ишида и соавторы [10] исследовали диэлектрические свойства трех видов целлюлоз (вискоза, хлопок, купро) и сделали вывод, что диполи в некристаллических областях и на поверхностях кристаллита дают наибольший вклад в релаксационный процесс. Михайлов и соавторы [11] относят эту релаксацию к движению метилольной группы в некристаллических областях. Саватары и соавторы [12] измерили диэлектрические характеристики трифенилметилцеллюлозы и ацетата целлюлозы с различными степенями замещения. Аналогичную работу провели Абрамова и др. [13], они измерили диэлектрические характеристики различных эфиров целлюлозы. В этих работах был сделан один и тот же вывод, что механизм диэлектрической релаксации в целлюлозе связан с движением метилольной группы или первичного гидроксила в некристаллических областях,

т.к., интенсивность пика диэлектрических потерь в низкотемпературной области уменьшается с увеличением степени замещения гидроксила у 6-го атома углерода глюкопиранозного кольца. Таким образом установлено, что релаксационные процессы в целлюлозе, проявляющиеся на диэлектрических зависимостях, связаны с подвижностью метилольной группы или с подвижностью первичного гидроксила в некристаллических областях. Авторы [Ошибка! Закладка не определена.] считают, что в целлюлозе осуществляется несколько релаксационных процессов, часть из которых связана с различным содержанием воды в целлюлозе: 1) При влажности менее 12% массовых наблюдается процесс названный β -релаксацией, который проявляется во всех образцах целлюлоз. Рядом авторов он называется γ -релаксацией [14]. Данный процесс связывают с релаксацией первичного гидроксила или метилольной группы целлюлозы [11Ошибка! Закладка не определена.]. Авторы относят его к вращению глюкопиранозных колец вокруг глюкозидной связи и таким образом к локальной динамике звена. Показано, что с увеличением степени кристалличности целлюлозы происходит уменьшение интенсивности процесса. 2) При влажности менее 12% массовых наблюдается ещё один процесс, названный β_{wet} -релаксацией, который, как считается, связан с диполями первичный гидроксил – вода и является менее подвижным чем β процесс. Он обладает более высокой энергией активации (65-90 КДж/моль), по сравнению с β процессом (46 КДж/моль) и его подвижность уменьшается с уменьшением количества воды в образце. При прогревании образца при температуре более чем 150°C данный процесс уменьшается по интенсивности, вплоть до исчезновения, вследствие разрушения диполей первичный гидроксил — вода. 3) В полностью осушенных образцах целлюлозы β_{wet} -релаксация исчезает, но в том же температурно-частотном диапазоне появляется низкоинтенсивный релаксационный процесс с широким распределением времен релаксации, наблюдаемый во всех полисахаридах, который авторы называют δ -релаксацией. С чем связан этот релаксационный процесс – авторы ответить затрудняются, но предполагают, что он связан с подвижностью конечных групп цепей полимера [15,16]. 4) При температурах выше 100°C, появляется так называемый σ -процесс для осушенных целлюлоз. Этот релаксационный процесс так же находят при низких температурах для образцов содержащих влагу, что детально описано в работе [17], и связан с ориентационным движением глюкопиранозных звеньев. При этом происходит сдвиг низкотемпературной области релаксации в сторону более высоких температур, что также указывает на исчезновение эффекта пластификации в связи с разрушением водородных связей между водой и первичным гидроксильным. Увеличения тангенса угла диэлектрических потерь в низкотемпературной области при этом не происходит. Вероятно освободившиеся ОН-группы участвуют в создании новой системы водородных связей. Исходя из представленных данных можно сделать вывод, что вода в БЦ сорбируется на

разных уровнях надмолекулярной структуры, оказывает существенное влияние на надмолекулярную структуру целлюлозы и, следовательно, на ее физические свойства. Проведенный анализ литературных данных показывает, что наряду с заметными достижениями в исследовании релаксационных свойств целлюлозы, многие аспекты остаются неясными или вообще не изученными. Так, существуют проблемы в отнесении наблюдаемых релаксационных процессов к определенным типам молекулярных движений. Не до конца изучены различные режимы температурной обработки образцов при малых содержаниях сорбированной воды. Поэтому актуальной задачей является исследование надмолекулярной структуры в зависимости от методов удаления воды из образца, установление взаимосвязи между релаксационными свойствами и особенностями надмолекулярного строения полимера.

Экспериментальная часть

Материалы Синтез гель-пленок бактериальной целлюлозы осуществлялся А.А. Ткаченко и А.К. Хрипуновым по известной методике [18] с использованием штамма №1629 CALU (ВКМ В-880). Питательная среда содержала водные растворы глюкозы (7 масс. %), дрожжевого экстракта (0.3 масс. %), пентана (0.3 масс. %), пивного сусла (30 об. %) и этанола (3 об. %). Исходное значение pH питательной среды 5.9-6.0. Посевным материалом служила 48-часовая культура *Glucoacetobacter xylinus*, выращенная в среде, содержащей дрожжевую воду и пивное сусло (6 об. %) в равном соотношении, 2% глюкозы и этанола (1 об. %). Биосинтез целлюлозы проводили при 29-30°C в течение 6-7 сут. БЦ отделяли от культуральной среды и периодически промывали 0.5-1.0%-м водным раствором NaOH при кипячении до обесцвечивания раствора. Затем гель-плёнки отмывали дистиллированной водой, 0,5%-м раствором уксусной кислоты и вновь дистиллированной водой, до нейтральной реакции и хранили в воде при 5°C или герметично закрытыми после стерилизации. В результате чего получалась гель-пленка полностью состоящая из целлюлозы, содержащая воду в соотношении 100:1 по отношению к сухой массе. Полученные образцы бактериальной целлюлозы (гель-пленки) отжимались под прессом таким образом, что соотношение массы сухой образец/вода становилось равным 1/10, против исходных 1/100. Затем образцы помещались на стекло и сушились при температуре 40°C до постоянной массы.

Методы Для исследования релаксационных процессов в полимерных системах в настоящей работе был использован метод диэлектрической релаксации. Именно с его помощью проводилась оценка интенсивности процессов релаксации дипольной поляризации в бактериальной целлюлозе (БЦ). В основе диэлектрической спектроскопии для исследования релаксационных процессов лежит изучение отклика системы на изменение напряженности электрического поля. К образцу прикладывают синусоидальное напряжение определенной частоты. Изменения диэлектрической проницаемости (ϵ'), фактора диэлектрических потерь (ϵ'') или тангенса угла диэлектрических потерь ($\tan\delta = \epsilon''/\epsilon'$) от величины $\omega\tau$, где ω –

круговая частота приложенного электрического поля, τ – время релаксации, описываются уравнениями Дебая. Согласно этим уравнениям максимум диэлектрических потерь достигается при значении $\omega\tau=1$, что дает возможность определить время релаксации. Положение максимума тангенса угла диэлектрических потерь $\text{tg}\delta$ практически (с точностью до коэффициента $(\epsilon_0/\epsilon_\infty)^{1/2}$) совпадает с максимумом фактора диэлектрических потерь ϵ'' . Для нахождения максимума ϵ'' (или $\text{tg}\delta$) необходимо исследовать зависимость этих параметров от $\omega\tau$. В настоящей работе величину $\omega\tau$ изменяли вариацией температуры. При вариации температуры могут наблюдаться изменения диэлектрических параметров, связанные со структурными изменениями исследуемых систем, например с процессом разрушения полярных групп, образованных за счет взаимодействия молекул воды с целлюлозой. Такой процесс является нерелаксационным и наблюдаемые локальные максимумы диэлектрических потерь не сдвигаются по шкале температур при вариации частоты электрического поля. Измерения температурно-частотных зависимостей тангенса угла диэлектрических потерь и емкости, из величины которой определялись значения диэлектрической проницаемости, проводили в интервале температур от -150 до +200°C при фиксированных частотах в диапазоне 102 – 106 Гц. Были использованы установки «LCR Meter 4270» фирмы «Wayne Kerr» и «LCR-819» фирмы «Gw Instek». Для измерения тангенса угла диэлектрических потерь $\text{tg}\delta$ и емкости C образец закрепляли в специальном держателе с изоляторами из тефлоновых дисков толщиной 10-15 мм. Высокотемпературный латунный электрод держателя выполнен в виде диска, который прижимался к электроду образца. Латунные части держателя хромированы. Держатель с образцом помещали в измерительную герметичную стеклянную колбу с платиновыми вводами. Это обеспечивало возможность проведения экспериментов в вакууме или в атмосфере сухого воздуха, с целью исключения возможности сорбции образцом воды из воздуха, а так же конденсации атмосферной влаги на поверхности образца и электродах держателя. Пленка выбиралась таким образом, что в пределах площади электрода разброс по толщине не превышал 4-5%. Electrodes из алюминиевой фольги притирались к поверхности образца с помощью тонкого слоя вазелинового масла. Значения диэлектрической проницаемости (ϵ') рассчитаны по электрической емкости и геометрическим размерам полученного таким образом плоскопараллельного конденсатора. Диэлектрическую проницаемость образцов вычисляли с погрешностью 2-5% по формуле $\epsilon' = \frac{C \cdot d}{\epsilon_0 \cdot S}$ где h – толщина образца в сантиметрах, d – диаметр измерительного электрода в сантиметрах, C – емкость образца при заданной температуре в пикофарадах. Результаты и обсуждение C с целью установления влияния воды на релаксационные характеристики бактериальной целлюлозы были исследованы образцы БЦ в зависимости от режима температурной обработки. Для идентификации

процессов, связанных с остаточным количеством сорбированной влаги образец БЦ, не подвергавшийся термической обработке при температурах выше 40оС был исследован в температурном интервале от 20оС до 160оС. Рис. 1 - Зависимость тангенса угла диэлектрических потерь от температуры (оС) образца БЦ (не подвергавшегося термической обработке при температурах выше 40оС) в диапазоне частот от 0,5 до 33.3 КГц На рис.1. представлена зависимость тангенса угла диэлектрических потерь от температуры для образца БЦ не подвергавшегося термической обработке при температурах выше 40оС. На них обнаруживаются по меньшей мере 3 нерелаксационных процесса (температура локального максимума тангенса угла диэлектрических потерь не зависит от частоты) при 70 - 90оС, 100 - 120оС, 120 - 140оС). Такое поведение: рост и последующее уменьшение тангенса угла диэлектрических потерь свидетельствует о существовании по меньшей мере 3-х типов диполей, которые разрушаются в результате температурного воздействия на пленку бактериальной целлюлозы. Известно, что диэлектрически активным в целлюлозе является первичный гидроксил, находящийся у 6-го атома углерода глюкопиранозного кольца. Наблюдаемые нерелаксационные процессы могут отражать эффекты разрушения полярных групп, образованных первичным гидроксильной группой с молекулами воды, имеющих более высокое значение дипольного момента и характеризующихся большей заторможенностью молекулярного движения, чем первичный гидроксил, под действием температуры. Наличие трех процессов, свидетельствует о взаимодействии первичного гидроксила с молекулами воды на нескольких надмолекулярных уровнях. Перед вторым измерением в интервале температур от -20оС до 160оС образец БЦ находился на воздухе с влажностью 70% на протяжении 16 часов. Рис. 2 - Зависимость тангенса угла диэлектрических потерь от температуры (оС) образца БЦ в диапазоне частот от 0,5 до 33.3 КГц, второе измерение образца На рис.2. представлена зависимость тангенса угла диэлектрических потерь от температуры для БЦ при втором измерении образца. По сравнению с рис.1., на рис.2. наблюдается значительное уменьшение величины тангенса угла потерь (от 0.95 до 0.24 при 500 Гц). Такое изменение тангенса угла диэлектрических потерь свидетельствует о том, что количество диполей, дающих свой вклад в наблюдаемый нерелаксационный процесс, уменьшилось более чем в 3 раза. Интенсивность тангенса угла диэлектрических потерь нерелаксационного процесса в области температур 60оС уменьшается с 0.7 до 0.16, а нерелаксационные процессы с максимумами в области температур 110оС и 130оС явно не локализуются. Это может означать, что под действием высоких температур (до 160оС) полярные группы, содержащие молекулы воды на разных уровнях структурной организации БЦ, разрушаются, из них удаляются молекулы воды. Результаты, представленные на рис.2. показывают, что появляется новый нерелаксационный процесс в области температур 15оС. В связи с тем, что

образец в ходе первого измерения подвергался действию высоких температур (до 160°C), а затем находился на воздухе с влажностью 70% можно сделать следующие выводы: 1. Появление нерелаксационного процесс в области температур 150°C связано с водой, сорбированной на поверхности образца, при выдерживании его в атмосфере влажного воздуха. Поэтому, чтобы предотвратить ее появление необходимо изолировать прогретый образец от длительного контакта с влажной атмосферой. 2. Для удаления сорбированной воды из внутренних областей БЦ, для разрушения соответствующих полярных группировок необходимо длительное прогревание образца при высоких температурах (150-160°C). Важно, что такие группировки не восстанавливаются полностью даже при длительном контакте образца с влажной атмосферой. Для подтверждения данных выводов образец БЦ, не подвергавшийся действию высоких температур, помещался в термошкаф при температуре 150°C на 4 часа.

Рис. 3 - Зависимость тангенса угла диэлектрических потерь от температуры (°C) в диапазоне частот от 0,5 до 33.3 КГц для образца БЦ, осушенного в термошкафу в течение 4 часов при температуре 150°C. Из данных, представленных на рис.3, следует, что в таком образце при температурах выше комнатной не наблюдается никаких нерелаксационных процессов, что свидетельствует о почти полном отсутствии полярных группировок, содержащих молекулы воды и разрушающихся под действием высоких температур. Таким образом, термообработка образца БЦ при высоких температурах ведёт к удалению сорбированной воды, вследствие разрушения диполей первичный гидроксил – вода. Процесс в области температур 150°C не локализуется, т.к. для появления сорбированной на поверхности воды необходим длительный контакт образца с влажной атмосферой. Для выяснения термических условий разрушения диполей первичный гидроксил-вода на различных уровнях надмолекулярной структуры в бактериальной целлюлозе температурно необработанный образец БЦ прогревался последовательно в процессе измерений до 60°C, 105°C и 160°C. Характерно, что в процессе постепенного прогрева образцов во время измерения, сохраняются нерелаксационные процессы выше температуры прогрева. На рис.4. представлена зависимость тангенса угла диэлектрических потерь для постепенно осушенных во время измерений образцов. Видно, что прогревание до температур 60°C и 105°C приводит к тому, что исчезают нерелаксационные процессы при температурах 60°C и 105°C, в то время как нерелаксационные процессы при температурах выше температур прогрева остаются. Полученный результат показывает, что для удаления воды, сорбированной на разных уровнях надмолекулярной организации, требуется разная температура обработки. В связи с тем, что диэлектрически активным является первичный гидроксил и именно он взаимодействует с водой, необходимо исследовать его релаксационное поведение во время осушения образца.

Рис. 4 - Зависимость тангенса угла диэлектрических потерь от

температуры (°C) для образца БЦ: 1 – непрогретого, 2 – прогретого при повышении температуры в процессе измерений до 60°C, 3 – прогретого при повышении температуры в процессе измерений до 105°C. Частота 1 КГц. Можно высказать предположение, что вода сорбированная в образце БЦ связывается с первичными гидроксильными группами, находящимися на разных уровнях надмолекулярной структуры. В дальнейших работах нам предстоит проверить данное предположение. Заключение. Исследованы различные способы осушения бактериальной целлюлозы: постепенная (пошаговая) сушка, осушение при постепенном увеличении температуры, осушение при заданной высокой температуре. В ходе исследований показано отличие в релаксационном поведении по разному осушенным образцам, что может быть связано с различным характером удаления сорбированной воды из образца. Наличие нескольких областей диэлектрических потерь в области температур 0 – 160°C связываем с тем, что вода в БЦ находится на разных уровнях надмолекулярной структуры.