

УДК 547.992.3

ЧТО ТАКОЕ ЛИГНИН – ЭВОЛЮЦИЯ ВЗГЛЯДОВ (ОБЗОР)

© Э.И. Евстигнеев

*Санкт-Петербургский государственный лесотехнический университет,
Институтский пер., 5, Санкт-Петербург, 194021, Россия,
edward_evst@mail.ru*

В обзоре рассмотрены изменения представлений о биосинтезе, строении и функциях лигнина в растениях, начиная от ранних упоминаний и до настоящего времени. Представлены альтернативные точки зрения на процесс биосинтеза лигнина, его пространственную и надмолекулярную структуру, характер лигноуглеводных связей.

Особое место в обзоре занимают результаты исследований лигнина с целью снижения его содержания и изменения состава мономерных звеньев методами геной инженерии.

Сопоставление строения лигнинов, выделенных из трансгенных и мутантных деревьев, а также травянистых растений, показало, что биосинтез лигнина пластичен и в нем могут участвовать, помимо канонических монолигнолов (кониферилового, синапового и кумарового спиртов), и другие фенольные соединения.

Исследование так называемых «стрессовых лигнинов» показало, что лигнин играет важную роль в защите растений от неблагоприятных воздействий окружающей среды: механических повреждений, засухи, низких температур, патогенов и др.

Результаты исследований геной модификации лигнина позволили наметить программу направленной модификации процесса биосинтеза с целью получения дизайнерских лигнинов, т.е. лигнинов с заданными свойствами. В эту группу входят и так называемые zip-лигнины. Они отличаются наличием сложноэфирных связей между фенилпропановыми единицами.

Отмечается, что, проводя исследования в области геной инженерии, необходимо искать компромисс между улучшением перерабатываемости растительного сырья за счет модификации лигнина и жизнеспособностью трансгенных растений.

Ключевые слова: лигнин, биосинтез, структура, функции, геной модификация, дизайнерские лигнины.

Для цитирования: Евстигнеев Э.И. Что такое лигнин – эволюция взглядов (обзор) // Химия растительного сырья. 2024. №1. С. 57–81. DOI: 10.14258/jcprm.20240112046.

Введение

Начиная этот обзор, уместно привести древнюю притчу: «Группа слепых услышала, что в город привезли странное животное по имени слон, но никто из них не знал, как он выглядит. Они решили узнать это, но могли сделать это только на ощупь. Первый человек, чья рука коснулась хобота, сказал: «Это существо похоже на толстую змею». Для другого, чья рука дотянулась до уха, он показался чем-то вроде веера. Что касается другого человека, чья рука была на его ноге, он сказал, что слон – это столб, подобный стволу дерева. Слепой, положивший руку на его бок, сказал, что слон – это «стена». Другой, пощупавший его хвост, назвал его веревкой. Последний ощупал его бивень, заявив, что слон тверд, гладок и похож на копье» [1]. При чем здесь лигнин? Мы пока не можем увидеть молекулу лигнина, как, впрочем, и многие другие молекулы, за исключением соединений, способных кристаллизоваться. Поскольку лигнин представляет собой полифункциональный, полидисперсный, нерегулярный гетерополимер, к нему невозможно применить и другие методы, используемые для регулярных гомополимеров, например, секвенирование. Используемые нами химические и инструментальные методы анализа позволяют «увидеть» только какую-то часть молекулы: фенилпропановые единицы (ФПЕ), функциональные группы и межъединичные связи. Используя законы органической химии, физики и химии полимеров, собственную эрудицию и воображение, далее мы пытаемся расположить ФПЕ лигнина в определенном порядке, наиболее близко соответствующему современному состоянию знаний о лигнине. Неслучайно поэтому предложена уже далеко не одна схема строения лигнина – схема, а не структурная формула.

В обзоре рассмотрены изменения представлений о строении и функциях лигнина в растениях под влиянием результатов, полученных с использованием современных методов исследований, включая методы геной инженерии.

Ранние упоминания

Впервые вещество, которое позднее было названо лигнином, упомянуто в 1813 г. швейцарским ботаником де Кандолем, который описал его как волокнистое вещество без вкуса, нерастворимое в воде и спирте, но растворимое в слабых щелочных растворах, которое можно осадить из раствора с помощью кислоты [2].

В 1838 г. Пайен [3] обнаружил, что последовательная обработка древесины азотной кислотой и щелочным раствором дает нерастворимый остаток, который он назвал «целлюлозой», а растворенные вещества – «инкрустирующим материалом». Он был первым, кто попытался разделить древесину на составные части. После обработки древесины различных пород азотной кислотой он получил общее для всех волокнистое вещество, которое он также нашел в хлопке и других растениях. Он установил, что химическая формула этого вещества $C_6H_{10}O_5$.

Термин «лигнин» (от латинского *lignum* – дерево, древесина) для обозначения инкрустирующего материала предложил Щульце [4] в 1857 г.

В 1875 г., после того как было установлено строение кониферина, присутствующего в камбиальном соке хвойных и представляющего собой *b*-D-глюкозид кониферилового спирта, Тимман [5] высказал предположение о наличии генетической взаимосвязи между кониферином и лигнином.

Класон в 1897 г. предположил, что лигнин является продуктом полимеризации кониферилового спирта, образующегося при энзиматическом гидролизе кониферина [6]. Позднее он разработал метод определения лигнина в растительных тканях, основанный на гидролизе полисахаридов серной кислотой с выделением нерастворимого остатка, который впоследствии получил название «лигнин Класона» [7].

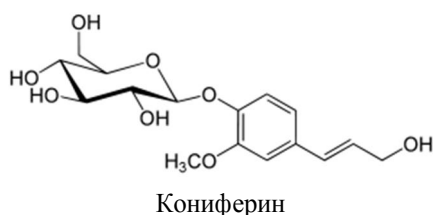
Современные представления о биосинтезе, строении и функциях лигнина

Лигнин был и остается предметом многочисленных исследований, результаты которых обобщены в ряде монографий и обзоров [8–21], поэтому здесь приводится лишь их краткое изложение.

Источником образования лигнина и других компонентов древесины является реакция фотосинтеза. Углеводные продукты фотосинтеза в форме сахарозы транспортируются из листьев по флоэме к местам потребления – меристемам, представляющим собой ткани, состоящие из живых клеток, способных к делению. Достигнув места потребления, сахароза трансформируется в более активные соединения – моносахариды, в том числе глюкозу, которые включаются в процессы биосинтеза компонентов древесины и дыхания.

Глюкоза превращается в шикимовую кислоту, с которой начинается так называемый путь шикимовой кислоты (рис. 1). В качестве конечных соединений на этом пути восстановительным аминированием через префеновую кислоту образуются две ароматические аминокислоты L-фенилаланин и L-тирозин. В свою очередь, эти аминокислоты служат исходными веществами для ферментативного синтеза фенилпропаноидных соединений (путь коричной кислоты), который приводит через активированные производные коричной кислоты к трем коричневым спиртам, а также к некоторым компонентам экстрактивных веществ, таким как флавоноиды и стильбены. Аминокислоты дезаминируются дезаминазами (фенилаланинаммонийлиазой и тирозинаммонийлиазой) с образованием соответствующих коричных кислот. Дальнейшие ступени представляют собой последовательные реакции гидроксирования под действием фенолаз (гидроксилаз) и метилирования под действием O-метилтрансфераз. Эти реакции приводят к *n*-кумаровой, кофейной, феруловой, 5-гидроксиферуловой и синаповой кислотам. Наконец, в результате ферментативной активации и ферментативного восстановления соответствующих кислот и альдегиды образуются коричные спирты (*n*-кумаровый, конифериловый и синаповый). Упрощенный путь биосинтеза монолигнолов приведен на рисунке 2.

Затем происходит образование глюкозидов монолигнолов, например, кониферина – глюкозида глюкозы и кониферилового спирта, которые рассматривают как резерв предшественников для лигнифицирующихся клеток. Перед реакциями образования полимерного лигнина глюкозиды превращаются в соответствующие спирты под действием *b*-глюкозидазы.



Образование макромолекул лигнина из монолигнолов предшественников в настоящее время рассматривают как дегидрогенизационную полимеризацию под действием пероксидаз, лакказ и пероксида водорода. На рисунке 3 показано образование стабилизированного резонансом феноксильного радикала из кониферилового спирта по реакции одноэлектронного переноса.

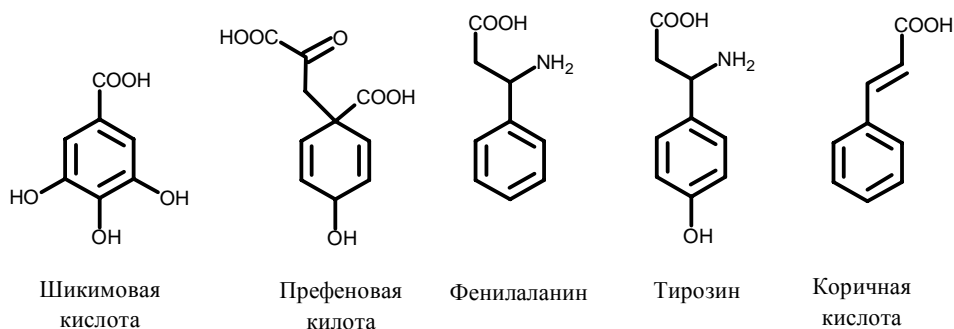


Рис. 1. Соединения, участвующие в биосинтезе лигнина

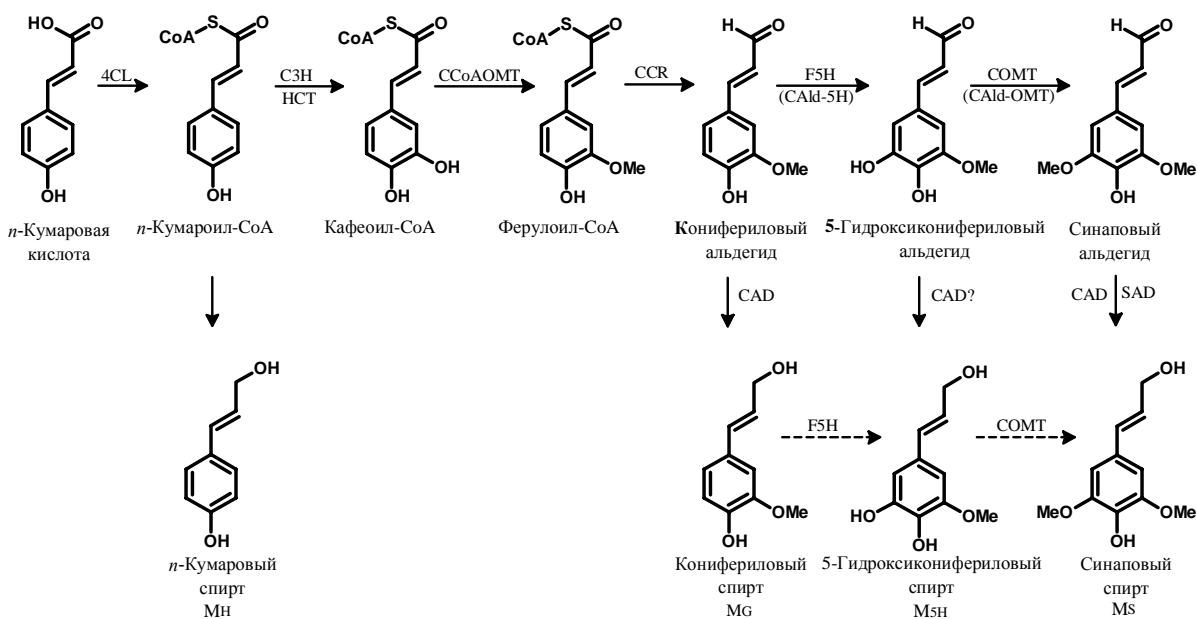


Рис. 2. Упрощенный путь биосинтеза монолигнолов [19]. Обозначения ферментов: 4CL – 4-кумарат КоА-лигаза; C3H – *n*-кумарат 3-гидроксилаза; HCT – *n*-гидроксициннамоил-КоА: кьюнатшикиматр-гидроксициннамоилтрансфераза; CCoAOMT – кафеоил-КоАО-метилтрансфераза; CCR – циннамоил-КоАредуктаза; F5H – ферулат 5-гидроксилаза; CAld5H – кониферилальдегид 5-гидроксилаза; COMT – кофейная кислота O-метилтрансфераза; AldOMT – 5-гидроксикониферильный альдегид O-метилтрансфераза; CAD – коричный спирт дегидрогеназа

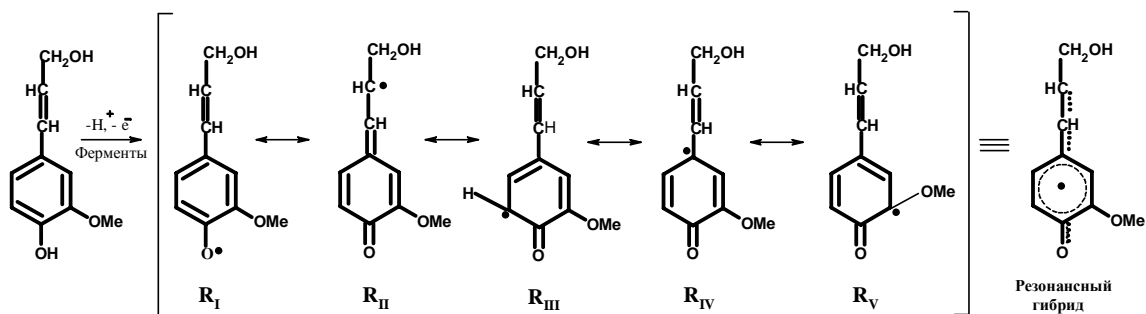
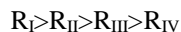


Рис. 3. Образование резонансно-стабилизированного феноксильного радикала из кониферильного спирта [16]

Из пяти резонансных структур феноксильного радикала в биосинтезе лигнина принимают участие только четыре. Структура R_V неактивна из-за стерических затруднений, а возможно, неблагоприятна термодинамически. Частота участия в реакциях рекомбинации различных положений ФПЕ зависит от относительного распределения спиновой электронной плотности и вклада резонансных структур в резонансный гибрид. На основании квантово-химических расчетов резонансные структуры феноксильного радикала по частоте участия в реакциях рекомбинации можно расположить в следующий ряд:



В соответствии с этим рядом преимущественно будут образовываться связи **b-O-4** - основной вид связей в лигнине, а также связи **b-5** и **b-b**. Кроме них будут образовываться и другие связи за счет различных сочетаний резонансных структур феноксильного радикала (табл. 1).

В качестве примера на рисунке 4 показано образование наиболее распространенной связи в лигнине, связи **b-O-4**. Оно происходит в результате рекомбинации радикалов R_{II} и R_I с образованием неустойчивого промежуточного хинонметидного димера. Далее может происходить его стабилизация в реакциях с внешними нуклеофилами. Стабилизация может осуществляться присоединением воды, фенолов и углеводов. В последнем случае образуется лигноуглеводная связь. Образовавшиеся дилигнолы и трилигнолы под действием ферментов снова дают феноксильные радикалы, к которым могут присоединяться радикалы монолигнола или радикалы других ди- и трилигнолов. В конечном итоге формируется макромолекула лигнина (например, лигнина тополя, рис. 5.) При взаимодействии образовавшегося лигнина с гемицеллюлозами формируется трехмерная редкосетчатая структура – лигнин-гемицеллюлозная (лигноуглеводная) матрица, заполняющая пустоты между целлюлозными микрофибриллами.

В силу особенностей процесса биосинтеза лигнин отличается разнообразием типов связей между ФПЕ (рис. 6), поскольку этот процесс по существу является «комбинаторным», в котором возможны все доступные способы сочетания, но они не равновероятны [24, 25]. В клетке ведется тщательный контроль за подачей монолигнолов и условиями полимеризации. Однако этот контроль не следует путать с контролем сборки полимера лигнина. Реальная структура макромолекулы лигнина контролируется только вовлеченными химическими реакциями, наличием доступных мономеров, способностью генерировать радикалы и условиями в клеточной стенке. На сегодняшний день нет убедительных доказательств какого-либо контроля над первичной структурой лигнина с помощью организованного процесса сборки [19].

Лигнин, в отличие от большинства других природных полимеров, представляет собой рацемический полимер. Так, при образовании обсуждавшейся связи **b-O-4** образуются стереоизомеры в основном в соотношении эритро : трео 50 : 50 [26].

Появление лигнина в растениях связано с их эволюционным переходом от водного образа жизни к наземному, поэтому, например, водоросли не лигнифицированы [16]. В древесных растениях он обеспечивает водонепроницаемость проводящей системы и механическую прочность древесных волокон, особенно если учесть, что высота деревьев некоторых видов может достигать 100 м и более. Кроме того, лигнин участвует в защите растений от неблагоприятных воздействий окружающей среды: механических повреждений, различных патогенов (бактерий, грибов и вирусов), некоторых излучений и других факторов [27].

Таблица 1. Основные способы сочетания резонансных структур феноксильного радикала [16]

Способ сочетания	Образующаяся связь	Способ сочетания	Образующаяся связь
$R_I + R_I$	Неустойчивый пероксид	$R_{II} + R_{III}$	b-5
$R_I + R_{II}$	b-O-4	$R_{II} + R_{IV}$	b-1
$R_I + R_{III}$	4-O-5	$R_{III} + R_{III}$	5-5
$R_I + R_{IV}$	4-O-1	$R_{III} + R_{IV}$	5-1
$R_{II} + R_{II}$	b-b	$R_{IV} + R_{IV}$	1-1

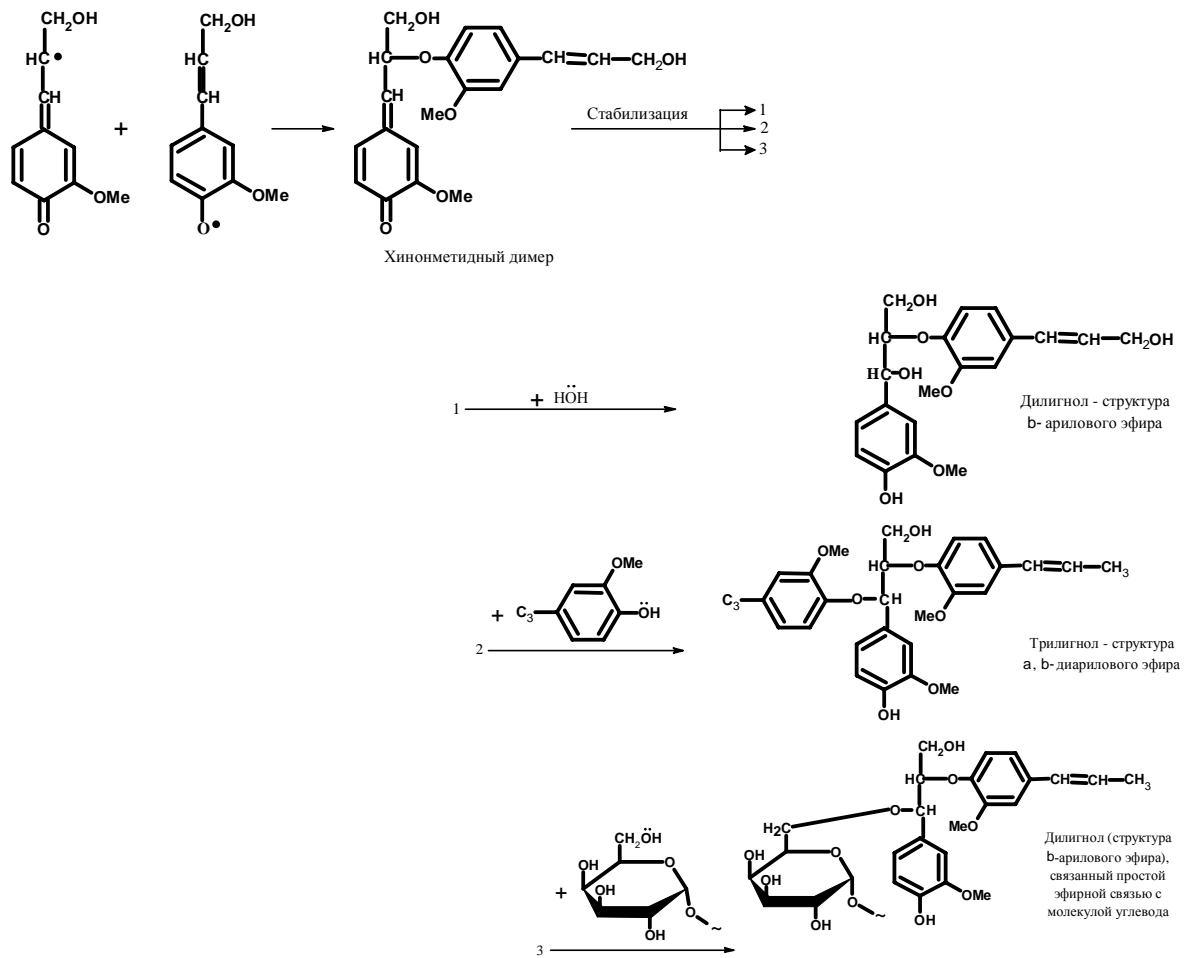


Рис. 4. Образование связи б-О-4 и стабилизация димерногохинонметида [22]

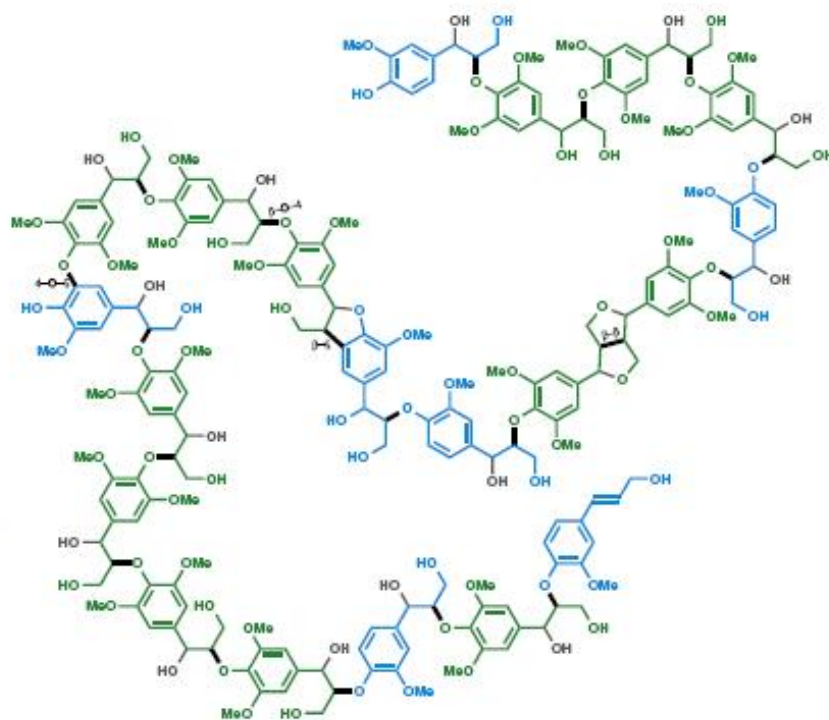


Рис. 5. Модель строения лигнина тополя, состоящая из 20 гваяцилпропановых (синие) и сиригилпропановых (зеленые) фенолпропановых единиц [23]

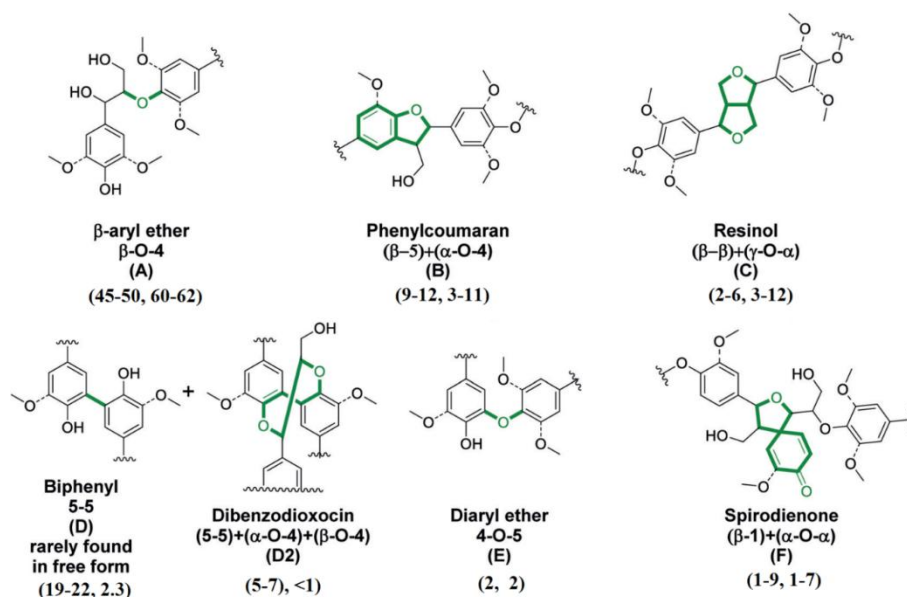


Рис. 6. Типы связей в лигнине [28]. Для структуры **D** данные из работ [29, 30]. В скобках содержание связей соответственно в хвойном и лиственном лигнине (n/100 ФПЕ)

Дискуссионные проблемы

Биосинтез лигнина. Существует альтернативная теория биосинтеза лигнина, разрабатываемая Льюисом с соавторами. В соответствии с новой теорией, изложенной в обзоре [31], рекомбинация образовавшихся на первой стадии феноксильных радикалов происходит не по закону случая, а контролируется так называемыми диригентными (dirigent) ферментами с образованием небольшого числа первичных структурных фрагментов по механизму матричной репликации. Насколько можно судить по содержанию обзора, авторы не располагают прямыми доказательствами выдвигаемых ими постулатов. К тому же обзор написан в манере и с использованием выражений, не принятых в научной дискуссии. Вероятно, и поэтому тоже теория не получила поддержки со стороны специалистов, придерживающихся традиционных представлений, и подверглась критике [19].

Пространственная структура молекул. В настоящее время лигнин рассматривают и как бесконечную трехмерную сетку, и как разветвленную молекулу относительно небольших размеров, и как линейный олигомер.

На наш взгляд, имеется несколько причин таких различий во взглядах. Очевидно, что любой выделенный препарат лигнина представляет собой продукты деструкции природного лигнина (лигнина в древесине), которые в сумме составляют только его часть. Так, выход лигнина Бьеркмана ели, считающегося наиболее близким к природному, составляет не более 25% от лигнина Класона [32], выход лигнина Пеппера – 37.8% [33], а выход лигнина Фрейденберга – 80% [34].

В зависимости от метода и условий выделения природный лигнин в той или иной степени подвергается механической и химической деструкции. О степени деструкции свидетельствует содержание основных связей между ФПЕ лигнина, связей алкил-О-арил (сумма связей **a**-O-4 и **b**-O-4) (табл. 2).

Можно заметить, что по сравнению с природным лигнином среди мягковыведенных препаратов в наибольшей степени деструктирован лигнин Пеппера, а наиболее близким к природному является лигнин Фрейденберга. В сочетании с данными о выходе указанных препаратов полученные данные вызывают вопрос о том, в какой степени они отражают природный лигнин, в том числе и пространственную структуру молекул. Относительно высокое содержание связей алкил-О-арил в гидролизном лигнине связано с реакциями конденсации на стадии гидролиза древесины и подробно обсуждается в цитированной работе [35].

При изучении пространственной структуры макромолекул важную роль играет использованный метод определения. Представления о лигнине как о бесконечной трехмерной сетке предложил Горинг [36] на основании изучения молекулярно-массового распределения выделенных препаратов лигнина (цитировано по [13]). Отметим, что если лигнин представляет собой бесконечную трехмерную сетку, то для него, как и для всех сетчатых полимеров «...само понятие «молекулы» теряет свой физический смысл» [37].

Таблица 2. Содержание фенольных гидроксидов и связей алкил-О-арил в препаратах лигнина ели [35]

Препарат лигнина	ОН _{фен}		Связи алкил-О-арил		
	ммоль/г	п/100ФПЕ	ммоль/г	п/100 ФПЕ	п/100Ar(ЯМР)
Природный лигнин	0.73	13	4.34	79	–
Лигнин Фрейденберга	1.18	22±4	3.89	71	–
Лигнин Бьеркмана	1.75	32±3	3.32	61	64
Лигнин Пеппера	2.66	49±3	2.41	44	41
Натронный лигнин	3.13	57±4	1.94	36	42
Натронно-АХ лигнин	3.78	69±2	1.29	24	26
Сульфатный лигнин	3.81	70±4	1.26	23	34
Сульфатно-АХ лигнин	3.90	71±3	1.17	22	34
Гидролизный лигнин	1.76	32±4	3.31	61	–

Балакшин с соавторами [38], анализируя результаты собственных исследований лигнина Бьеркмана ели методами ЯМР-спектроскопии и гель-хроматографии с детектором светорассеяния, а также литературные данные химического анализа предложили модель строения лигнина, состоящую из 25 ФПЕ, в соответствии с которой он является значительно разветвленным и поперечно связанным (на 25 ФПЕ приходится 1 разветвление и 4 точки поперечного связывания) с короткими боковыми цепями (рис. 7).

В расчетах, предваряющих построение модели, авторы использовали параметр «степень полимеризации» (СП). В связи с этим возникает вопрос, в какой мере СП может использоваться для разветвленных и к тому же поперечно связанных полимеров? Тем не менее предложенная модель на сегодняшний день, вероятно, наиболее полно согласуется с известными данными о строении лигнина.

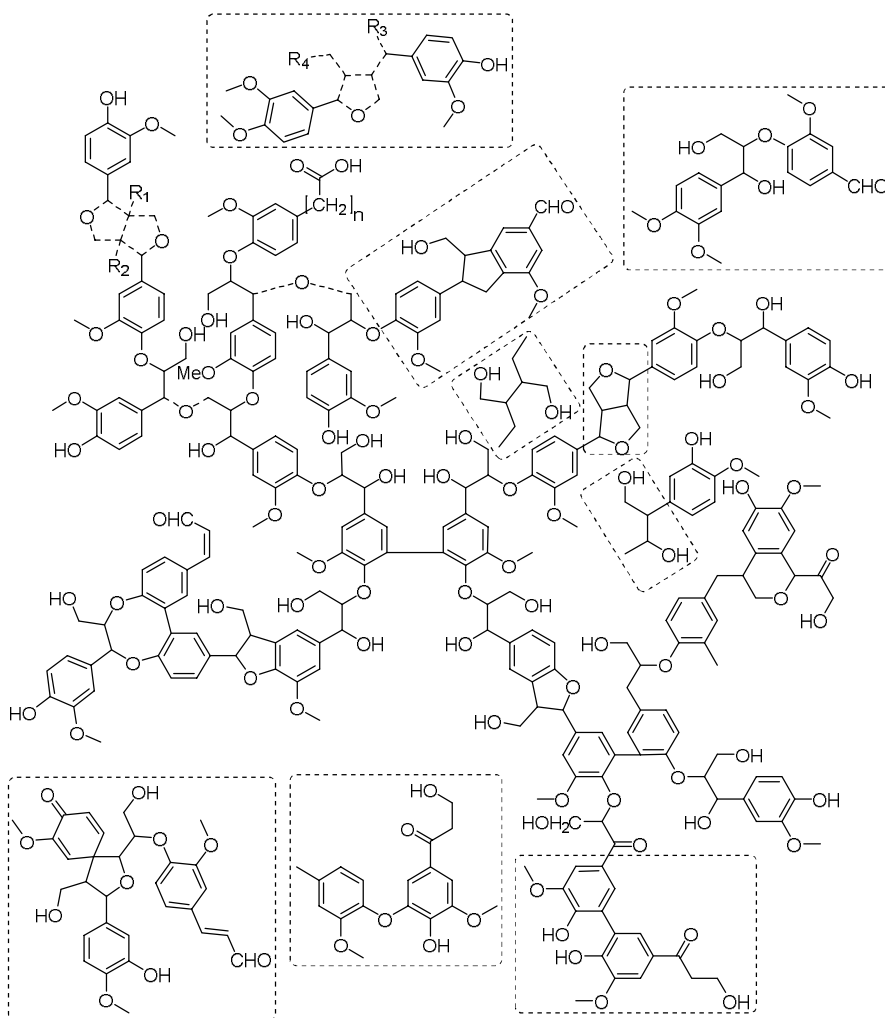


Рис. 7. Предполагаемая структурная модель лигнина Бьеркмана ели. Пунктиром выделены минорные структуры (содержание ниже 4/100 Ar) [38]

Геллерстедти Хенриксон [20] считают, что высокое содержание в лигнине связей b-O-4 предполагает преимущественно линейное строение макромолекул как хвойных, так и лиственных лигнинов. Существуют два типа макромолекул. Первый из них – линейные макромолекулы, содержащие преимущественно связи b-O-4 и незначительное число связей b-b, b-5, b-1. Вследствие этого содержание фенольных гидроксильных групп является очень низким. Содержание связей 5-5 и 4-O-5 приближается к нулю. Во втором типе макромолекул преобладают более разветвленные структуры со связями 5-5 и 4-O-5, а содержание фенольных гидроксильных групп значительно выше. Наличие таких структур предполагает первоначальное образование цепеобразных фрагментов, которые затем связываются друг с другом за счет связей 5-5 и 4-O-5, причем разнообразие таких цепеобразных фрагментов может быть значительным, что приводит к формированию макромолекул различного строения. Второй тип макромолекул также содержит большое число связей b-O-4.

Ральф с соавторами [39] предложили, по существу, линейные модели молекул как для хвойного, так и для лиственного лигнина (рис. 5) на основании современных представлений о биосинтезе лигнина в сочетании с данными ЯМР-спектроскопии.

Крестини с соавторами [40, 41] на основании результатов исследования методом DFRC (дериватизация с последующим восстановительным расщеплением) в сочетании с ЯМР-спектроскопией пришли к выводу, что лигнин представляет собой линейный олигомер.

Помимо лигнинов, выделенных из древесины, исследованы также особенности макромолекулярного строения лигнинов пшеницы и капусты. Методами седиментационно-диффузионного анализа и капиллярной вискозиметрии изучены гидродинамические свойства макромолекул в растворах и выявлены особенности топологического строения. Определены молекулярная масса фракций, радиусы макромолекул и гидродинамические инварианты. Проведен анализ скейлинговых зависимостей в рамках уравнения Марка-Куна-Хаувинка. Молекулярно-гидродинамическими методами показано, что лигнин пшеницы представляет собой линейный полимер, тогда как лигнин капусты представляет собой хаотически слабоветвленный полимер [42].

Таким образом, с течением времени взгляды на пространственную структуру молекул лигнина эволюционировали от бесконечной трехмерной сетки до линейного олигомера. Можно надеяться, что указанные противоречия будут разрешены с развитием методов выделения (в идеале без выделения) и совершенствования инструментальных методов исследования лигнина, например, масс-спектрометрии [43–47].

В этом смысле новые перспективы открывает метод криоэлектронной микроскопии, удостоенный в 2017 г. Нобелевской премии с формулировкой: «За разработку криоэлектронной микроскопии для определения структуры биомолекул в растворе с высоким разрешением». Метод заключается в получении высококачественных изображений благодаря исследованию образца при сверхнизких температурах. Он позволяет наблюдать за объектами (от молекул белка до вирусов) в естественной среде, без их фиксации или окрашивания [48].

Молекулярная масса и молекулярно-массовое распределение

Определение молекулярной массы (ММ) и молекулярно-массового распределения (ММР) имеет важное значение не только для характеристики полимерных свойств лигнина, но и для изучения механизмов реакций делигнификации в условиях технологических процессов – варки древесины и отбелки целлюлозы.

Для этой цели используются гель-проникающая хроматография (ГПХ), светорассеяние, паровая осмометрия, метод ультрацентрифугирования и некоторые другие [49]. В силу относительной простоты и возможности использования как в аналитическом, так и в препаративном вариантах наибольшее распространение среди них получила ГПХ или эксклюзионная хроматография.

Вследствие полидисперсности, связанной со статистическим характером деструкции природного лигнина при выделении, определяют среднечисленную молекулярную массу (\overline{M}_n) и среднемассовую молекулярную массу (\overline{M}_w) различными методами, причем отношение $\overline{M}_w/\overline{M}_n$ характеризует степень полидисперсности (молекулярной неоднородности). Для лигнина Бьеркмана хвойных пород древесины оно составляет 3.1–3.65 [16]. Полную характеристику молекулярной неоднородности лигнина можно получить, разделив образец на фракции в более или менее узких пределах ММ и построив кривую ММР. При соблюдении определенных условий (см. ниже), для этой цели ГПХ имеет явные преимущества.

Внешняя простота и доступность гель-хроматографии породили иллюзию простоты интерпретации полученных хроматограмм: фракция лигнина, первой вытекающая из колонки (при малых объемах элюирования), является высокомолекулярной, последняя – низкомолекулярной, а между ними имеется промежуточная зона, не проявляющаяся в виде отдельного пика (рис. 8).

Гель-хроматограммы лигнина стали называть бимодальными [51], подчеркивая тем самым наличие в нем двух фракций: высоко- и низкомолекулярной, и хотя в отдельных работах [52, 53] бимодальность рассматривалась как артефакт, на это как-то не обратили внимания, вероятно потому, что специальных исследований особенностей элюионного поведения лигнина тогда еще не проводилось. Вне поля зрения остались также сообщения о проходившем практически в то же самое время изучении родственных объектов – лигносульфонатов, в ходе которого было обнаружено существенное влияние на форму кривых элюирования полиэлектролитных эффектов [54].

Природа бимодальности хроматограмм лигнина, а в более широком смысле – механизм его разделения в условиях ГПХ – стали предметом систематических исследований как у нас в стране, так и за рубежом в конце семидесятых – начале восьмидесятых годов прошлого века.

Уже в первой работе из этой серии [55] установлено, что первый пик исчезает, а второй пропорционально увеличивается после введения в элюент (ДМФ) низкомолекулярных электролитов, т.е. он не отражает высокомолекулярную фракцию, а обусловлен полиэлектролитными свойствами лигнина, – вывод, имеющий фундаментальное значение для разработки корректной методики определения ММ и ММР лигнинов и лигноуглеводных комплексов. Такая методика впоследствии и разработана [56, 57], но предварительно анализировался вклад различных полиэлектролитных эффектов в формирование гель-хроматограмм, и среди них ионная эксклюзия, полиэлектролитное набухание и ионная инклюзия (эффект Доннана), а также рассматривалась возможность ассоциации макроионов между собой и с электронейтральными молекулами.

Сопоставляя полученные результаты и данные литературы о ГПХ полиэлектролитов, авторы пришли к заключению, что главным фактором является ионная эксклюзия – исключение из пор геля молекул, несущих заряд, одноименный заряду на поверхности стенок этих пор. Происхождение заряженных молекул – следствие диссоциации части ионогенных групп лигнина (их доля определяется константой диссоциации), и, таким образом, первой из колонки выходит фракция, обогащенная кислыми группами. Следовательно, без подавления ионной эксклюзии разделение молекул лигнина осуществляется не по ММ, а по функциональности.

По-иному трактуют бимодальность гель-хроматограмм Коннорс, Сарканен и Мак-Карти [58]: они связывают первый пик с элюированием ассоциированных молекул лигнина, а замену двух пиков на один после введения в растворитель (ДМФ) низкомолекулярной соли объясняют разрушением ассоциатов. С подобным заключением трудно согласиться, поскольку убедительными доказательствами собственно агрегации молекул авторы не располагают. В качестве такового могла бы выступить концентрационная зависимость формы кривой элюирования, но она почему-то не изучалась. Очевидно, что с ростом концентрации лигнина доля ассоциированных молекул должна увеличиваться и пропорционально должна расти высота первого пика, в то время как результаты работы [56] свидетельствуют об обратном.

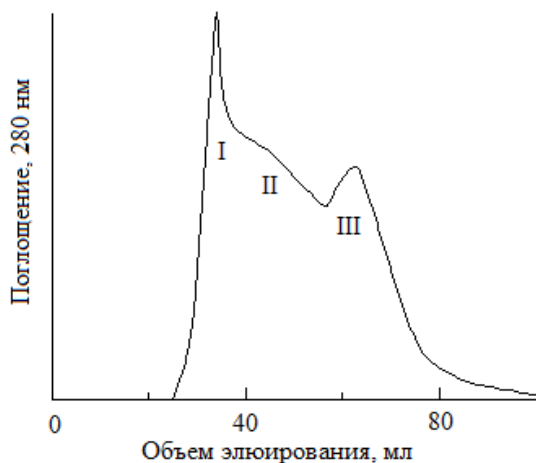


Рис. 8. Гель-хроматограмма хвойного сульфатного лигнина (Сефадекс G-50, формаид, I 280 нм). Зона I – исключенный материал, зона II – ММ 5000–10000, зона III – ММ ~1000 [50]

Тем не менее в последующей публикации [59] Сарканен с соавторами использовали ГПХ (Сефадекс G75) для изучения ассоциации лигнина уже в сильно щелочной среде (рН 13–14), т.е. в условиях, когда основная часть его кислых групп ионизирована, и, следовательно, агрегации препятствует наличие у них одноименного заряда. К тому же наличие в макромолекуле большого числа заряженных группировок вызывает ее полиэлектролитное набухание – эффект, влияние которого на формирование кривой элюирования аналогично влиянию ионной эксклюзии. Именно поэтому в растворах NaOH большая часть образца лигнина вытекает в исключенном объеме [60].

Непеременным атрибутом использования ГПХ для определения ММ является калибровка. В связи с этим обратимся к работе, специально посвященной этому вопросу. Как показали Фромен и Робер [61], зависимость ММ от объема элюирования для фракций диоксанлигнина ели не совпадает с аналогичной зависимостью для фракций диоксанлигнина, выделенного в других условиях, т.е. даже такие близкие по происхождению препараты различаются по структуре. Структурная и функциональная неоднородность лигнинов требует, таким образом, индивидуальной калибровки для каждого препарата, а это лишает ГПХ ее главного преимущества при определении ММ-оперативности.

Тем более трудно избежать погрешностей, если воспользоваться для построения калибровочной зависимости фракциями полимера совершенно иного химического строения – полистирольными стандартами, часто используемыми в анализе лигнина. В последнем случае можно получить скорее порядок величины, чем точное значение ММ лигнина. С учетом отмеченных обстоятельств наиболее целесообразно использовать ГПХ для сравнительных исследований изменений ММР лигнина в ходе той или иной обработки, делая выводы непосредственно из сопоставления гель-хроматограмм, записанных в условиях полного подавления факторов, искажающих их форму. Пример такого сравнительного изучения изменений ММР лигнина Бьеркмана ели в условиях варки приведен на рисунке 9.

Для определения ММ лигнина необходимо использовать другие методы, например, паровую осмометрию. Типичные значения \overline{M}_n лигнинов представлены в таблице 3. Весьма перспективными являются также разработанные в последние годы методы определения ММ полимеров с использованием масс-спектрометрии. В их основе лежат различные способы «мягкой» ионизации молекул, и они позволяют зафиксировать молекулярные ионы высокомолекулярных соединений, например протеинов, причем без их фрагментации. При исследовании хвойных лигнинов Бьеркмана методом MALDI (matrix assisted laser desorption / ionization) получены значения \overline{M}_n , достаточно близкие данным, полученным методом паровой осмометрии: 2090 [63] и 2300 [64]. При исследовании аналогичных образцов лигнина методом ГПХ получены более высокие значения \overline{M}_n : 3700–4640 [38] и 5500 [65].

Являясь полимером, лигнин полидисперсен, в связи с чем его масс-спектры MALDI, по существу, представляют собой кривые распределения молекул по абсолютной ММ.

В таблице 4 приведены средние молекулярные массы препаратов лигнина механического размола, выделенные из древесины и другого растительного сырья.

Надмолекулярная структура. Как уже отмечалось, лигнин является нерегулярным гетерополимером. По данным рентгенографических исследований, лигнин относится к аморфным веществам [9]. Тем не менее имеются публикации, в которых указывается на определенную упорядоченность выделенных препаратов лигнина. Например, А.П. Карманов в одной из глав монографии [67] отмечает: «... что в процессе лигнификации клеточных оболочек происходит нелинейная самоорганизация с образованием упорядоченной структуры фрактального типа».

Вообще, фрактал (лат. *Fractus* дроблённый, сломанный, разбитый) – это множество, обладающее свойством самоподобия (объект, в точности или приближенно совпадающий с частью себя самого, то есть целое имеет ту же форму, что и одна или более частей). Природные объекты (*квазифракталы*) отличаются от идеальных абстрактных фракталов неполнотой и неточностью повторений структуры. Большинство встречающихся в природе фракталоподобных структур (линия берега, деревья, листья растений, кораллы) являются квазифракталами, поскольку на некотором малом масштабе фрактальная структура исчезает. Природные структуры не могут быть идеальными фракталами из-за ограничений, накладываемых размерами живой клетки и, в конечном итоге, размерами молекул [68].

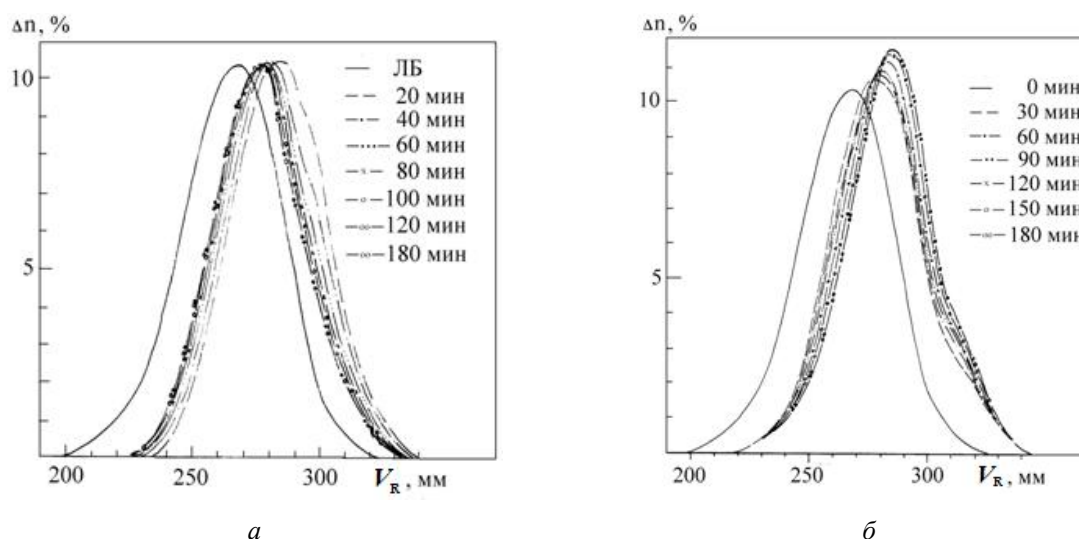


Рис. 9. Нормированные гель-хроматограммы лигнина Бьеркмана ели в ходе натронной (а) и сульфатной (б) варок [22]

Таблица 3. Среднечисленные молекулярные массы лигнинов по данным паровой осмометрии [62]

Образец лигнина	\bar{M}_n
Лигнин Бьеркмана ели	2100
Сульфатный лигнин сосны	1600
Сульфатный лиственный лигнин	1050

Таблица 4. Молекулярные массы и полидисперсность (D) препаратов лигнина, выделенных из древесины и другого растительного сырья [66]

Источник лигнина	\bar{M}_n	\bar{M}_w	D
Ель	6400	23500	3.7
Пихта Дугласа	2500	7400	3.0
Красное дерево	2400	5900	2.5
Пихта одноцветная	2800	8300	3.0
Эвкалипт	2600	6700	2.6
Сосна	4700	14900	3.2
Бамбук	5410	12090	2.23
Мискантус	8300	13700	1.65

Лигнин как фрактальный объект рассмотрен в работах [69–71]. Установлено, что основные критерии фрактальности, а именно принцип масштабной инвариантности и дробная размерность на топологическом уровне структурной организации применительно к лигнину выполняются. Из данных, приведенных в работе [69], следует, что гидродинамическое поведение лигнина отличается от поведения сетчатых и линейных, как гибко-, так и жесткоцепных полимеров в любой из известных конформаций, и соответствует хаотически разветвленным макромолекулам с характерными свойствами фрактальных объектов.

На основании компьютерного моделирования предполагается, что макромолекулы лигнина имеют форму спирали, характерную для молекул биополимеров [72, 73].

Как показало изучение тонкой структуры масс-спектров в цитированной работе [64], в олигомерной фракции листового лигнина присутствуют тетрамерные блоки, состоящие из гваяцилпропановых и сирингилпропановых единиц в различном соотношении. Этим же методом в хвойном лигнине доказано существование тримерных блоков [74].

Упорядоченность лигнина отмечается и на более высоком уровне организации молекул. Методом сканирующей туннельной микроскопии исследован процесс синтеза полимерной модели лигнина (дегидрополимера – ДГП) из кониферилового спирта [75]. Полученные результаты позволили авторам предположить, что ДГП состоит из модулей, объединенных в более крупные частицы, названные супермодулями, которые в свою очередь образуют полимерную решетчатоподобную структуру. Один модуль состоит из 20 мономеров, а супермодуль – из 500.

Способность выделенных препаратов лигнина образовывать мономолекулярные пленки на поверхности воды свидетельствует о потенциальной возможности макромолекул этого полимера к определенной самоорганизации [76].

Форсс и Фремер [77, 78] представили доказательства существования в природном хвойном лигнине двух фракций, значительно различающихся по строению и реакционной способности, названных ими гемилигнинами и гликолигнином, причем последний состоит из повторяющихся блоков, состоящих из 18 ФПЕ. Методом Раман-спектроскопии показано, что лигнин в клеточной стенке ориентирован на молекулярном уровне, а именно ароматические кольца ФПЕ параллельны плоскости поверхности клеточной стенки [79, 80]. Исследования в области надмолекулярной структуры лигнина продолжаются [81–85].

Лигноуглеводные комплексы. Существование какой-то связи между лигнином и полисахаридами основано на многочисленных данных исследований, в которых установлено, что не удастся выделить препараты лигнина, не содержащие углеводов или, напротив, выделить препараты холоцеллюлозы или целлюлозы, не содержащие лигнина [12, 16]. Исходя из представлений о биосинтезе лигнина, при стабилизации димерного хинонметида (рис. 4) в реакции нуклеофильного присоединения возможно, в том числе, образование лигноуглеводной связи.

Реализация такой возможности доказана в модельных экспериментах. При дегидрировании кониферилового спирта пероксидазой в присутствии большого избытка глюкозы образуется дилигнол, содержащий в α -положении глюкозу [16, 86]. В присутствии *D*-глюкуроновой кислоты в α -положении образуется сложноэфирная связь, в которой карбоксильная группа присоединена к дилигнолу [16, 87].

Образование лигноуглеводных связей между низкомолекулярными соединениями в условиях, весьма далеких от условий биосинтеза, все же не означает, что они образуются *in vivo*. Тем не менее предполагается существование в выделенных лигноуглеводных комплексах (ЛУК) следующих типов связей: простых эфирных, сложноэфирных, фенолгликозидных и некоторых других [88–91] (рис. 10).

Не исключено, что связи между лигнином и углеводами являются не ковалентными, а водородными. Так, Эриньш с соавторами провели следующий эксперимент (цитировано по книге [92]). Для определения возможности образования ассоциатов лигнина и гемицеллюлоз – искусственного лигноуглеводного комплекса (ЛУК) – при их совместном осаждении из раствора они использовали гемицеллюлозы, экстрагированные из холоцеллюлозы ДМСО и лигнин механического размола. В качестве растворителей использовали ДМСО, ДМФА и щелочь, в качестве осадителей – этанол, этиловый эфир и кислоту. Из таких «искусственных ЛУК» невозможно полностью перевести в раствор ни лигнин, ни гемицеллюлозы. Следовательно, часть лигнина и гемицеллюлоз в «искусственном ЛУК» находится в виде ассоциатов, образование которых зависит от растворителя и концентрации компонентов. Исследование вязкости растворов показало, что ассоциаты не образуются в исходном общем растворе, а возникают при осаждении.

Этот вывод имеет принципиальное значение для ответа на вопрос о том, существуют ли ЛУК в древесине или образуются при выделении, поскольку известные сегодня методы выделения ЛУК включают в себя стадии совместного растворения и осаждения лигнина и углеводов [93–97].

Можно предположить, что лигнин и полисахариды в ЛУК связаны не химической, а «механической связью». Имеются в виду соединения, образующие структуры типа катенана и ротаксана (рис. 11). Разделить молекулы в таких структурах, не прибегая к деструкции, по понятной причине невозможно. Подробно синтез и свойства таких структур обсуждаются в монографии [98].



Рис. 10. Основные типы лигноуглеводных связей



Структура катенана

Структура ротаксана

Рис. 11. Соединения, образованные молекулами без химических связей [99, 100]

Биосинтез лигнина протекает в матрице из окружающих полисахаридов, поэтому нельзя исключить возможность взаимного проникновения и переплетения образующихся молекул лигнина и цепей гемицеллюлоз.

Сведения о количестве связей лигнина с гемицеллюлозами в ЛУК достаточно противоречивы. Опубликованные данные на этот счет трудно сравнивать. Например, количество таких связей оценивается как очень небольшое: приблизительно одна на каждую индивидуальную полисахаридную цепь [101]. В таблице 5 данные приведены в расчете на 100 ароматических колец лигнина. Если принять модель строения лигнина, предложенную Балакшиным с соавторами [38] (рис. 7), в соответствии с которой молекула лигнина состоит, в среднем, из 25 ФПЕ, то значения в таблице 5 нужно уменьшить в четыре раза.

Существуют объективные причины, препятствующие точному определению содержания и типов лигноуглеводных связей в ЛУК. Во-первых, выход ЛУК из древесины сосны не превышает 30% от лигнина в исходной древесине, а из древесины березы – не выше 35% [95], при том, что содержание лигнина в древесине сосны 26.3%, в древесине березы – 19.4% [16]. Во-вторых, в выделенных препаратах ЛУК лигнин находится в окружении большого избытка углеводов, соответственно 16–34% и 66–84% [102]. Поэтому происходит сильное перекрывание сигналов в спектрах ¹³C ЯМР, широко используемых для анализа лигнина и углеводов. За последние годы для разрешения сигналов используется сочетание методов количественной ¹³C ЯМР-спектроскопии и HSQC 2D ЯМР-спектроскопии, однако нерешенные проблемы анализа таких сложных объектов, как ЛУК еще остаются [38].

В заключение необходимо отметить следующее. Если существование лигноуглеводных связей не вызывает сомнений, то характер связей в ЛУК остается предметом дискуссий. Сложный химический состав и особенности анатомического строения древесины делают выделение ЛУК в неизменном виде достаточно сложной аналитической проблемой, особенно если учесть, что в процессе выделения ЛУК древесина подвергается механической и химической обработке, потенциально способной привести к некоторой модификации ЛУК. К тому же не совсем понятно, какой показатель можно использовать в качестве критерия чистоты выделенных препаратов. Как уже отмечалось, выход ЛУК из древесины не превышает 35% от лигнина в исходной древесине, а в выделенных препаратах ЛУК лигнин находится в окружении большого избытка углеводов. Поэтому надежная идентификация характера связей в ЛУК весьма затруднительна. Не исключено, что в древесине одновременно сосуществует несколько видов взаимодействий между лигнином и полисахаридами.

Для решения обсуждаемой проблемы новый подход развивается в работе [103]. Исследования проводили в условиях максимально близких к условиям биосинтеза в клеточной стенке. Для этой цели клетки ели европейской (*Picea abies* L. Karst.) содержали в виде каллусной культуры на твердой питательной среде и переносили в жидкие культуры для образования лигнина. После инкубирования культуры образовавшийся лигнин отбирали, промывали и лиофилизировали. Кроме того, в отдельных экспериментах синтезировали дегидрополимеры (ДГП) в присутствии галактуроновой кислоты или водорастворимого ксилана. В результате получены производные ДГП, а именно GalA-DHP и Xylan-DHP.

Таблица 5. Содержание лигноуглеводных связей в ЛУК [102]

Источник ЛУК	Количество лигноуглеводных связей на 100 Аг		
	а-Простые эфирные	Фенилгликозидные	g-Сложноэфирные
Хвойные породы			
Сосна	4.3	6.8	4.5
Ель	3.8	4.4	–
Лиственные породы			
Береза	0.7	5.4	5.6
Эвкалипт	0.3-0.9	5.0-7.9	–

В качестве аналитических инструментов применяли полуколичественную двумерную гетероядерную сингулярную квантовую когерентность (HSQC)-, ^{31}P и ^{13}C ЯМР-спектроскопию. Комбинируя результаты этих систем, в выделенных препаратах было обнаружено четыре типа лигноуглеводных связей: простые бензилэфирные связи, сложнобензилэфирные связи, β -сложноэфирные связи и фенолгликозидные связи. Полученные результаты являются серьезным аргументом в пользу образования лигноуглеводных связей уже на стадии биосинтеза лигнина.

Новые направления исследований лигнина

Биосинтез. Играя важную роль в жизни растений, лигнин становится проблемой при переработке растительного сырья. Имеются в виду целлюлозно-бумажные производства [104] и получение биотоплива [105]. Кроме того, содержание лигнина в кормовых культурах является важным фактором в кормлении животных [106]. В связи с этим были продолжены исследования процесса биосинтеза с целью снижения содержания лигнина и изменения состава мономерных звеньев с использованием методов генной инженерии [107].

Исследование лигнинов, выделенных из трансгенных и мутантных деревьев, а также травянистых растений, показало, что помимо канонических монолигнолов (кониферилового, синапового и кумарового спиртов), в биосинтезе лигнина могут участвовать и другие соединения (рис. 12).

Как оказалось, биосинтез монолигнолов очень пластичен, что позволяет растениям заменять монолигнолы, когда функционирование одного или нескольких генов нарушены, так что состав и количество лигнина часто одновременно изменяются. Например, подавление одного из генов у гибридного тополя привело к снижению содержания лигнина на 60%, а также сдвигу биосинтеза в сторону образования *n*-гидроксифенилпропановых единиц [108].

В лигнине тополя *P. tremula* × *P. alba* обнаружен 5-гидроксиконифериловый спирт [109], а в культуре трахеальных элементов *Pinus radiata* – кофейный спирт [110]. Среди неканонических монолигнолов заметное место занимают их конъюгаты: ацетат, ферулат, *n*-гидроксибензоат и *n*-кумарат (рис. 12). По существу, любые совместимые фенольные соединения, присутствующие в месте полимеризации в клеточной стенке, являются «кандидатами» на радикальный перенос, радикально-радикальное связывание и полимеризацию лигнина [111].

В связи с эволюцией взглядов на процесс лигнификации растительных клеток появились термины для обозначения лигнинов, отражающие эту эволюцию.

«Стрессовые» лигнины [107]. Пластичность биосинтеза лигнина проявляется и в защите растений от неблагоприятных воздействий окружающей среды. В ответ на внешний стресс растения меняют биосинтез лигнина с тем, чтобы элиминировать его негативные последствия. Так, в деревьях, положение которых по какой-то причине отличается от вертикального, развивается так называемая «реактивная» древесина. У хвойных деревьев такая древесина развивается на нижней стороне наклоненного ствола в зоне сжатия и называется креновой древесиной. Она содержит меньше целлюлозы и больше лигнина с повышенным уровнем *n*-гидроксифенилпропановых единиц и изменениями в химических связях между мономерами [27].

У лиственных деревьев она развивается на верхней стороне наклоненного ствола в зоне растяжения и называется тяговой древесиной. Она характеризуется дифференциацией сосудов в волокна и содержит меньше лигнина с измененным составом [27].

Растения реагируют на внешние стрессы, как правило, сходным образом – увеличением содержания лигнина. Например, оно происходит при недостатке воды в базальной зоне ствола *Eucalyptusurograndis* и апикальной зоне ствола *E. globulus*, причем в обоих случаях в лигнине возросло отношение числа синригилпропановых звеньев к гваяцилпропановым [112]. Подобным образом отвечают некоторые травянистые растения на воздействие низких температур [113, 114]. Усиление лигнификации происходит и в ответ на атаки патогенных микроорганизмов. Так, виды *Eucalyptus* и *Ulmus* с повышенной устойчивостью к грибным заболеваниям отличались более высоким содержанием лигнина от менее устойчивых [27].

Структура «стрессовых» лигнинов зависит от типа и интенсивности стресса, а также от вида растения, но все же наблюдаются некоторые общие свойства: такие лигнины содержат больше *n*-гидроксифенилпропановых единиц, у которых самый короткий путь биосинтеза, что позволяет растению быстрее реагировать на стресс [115].

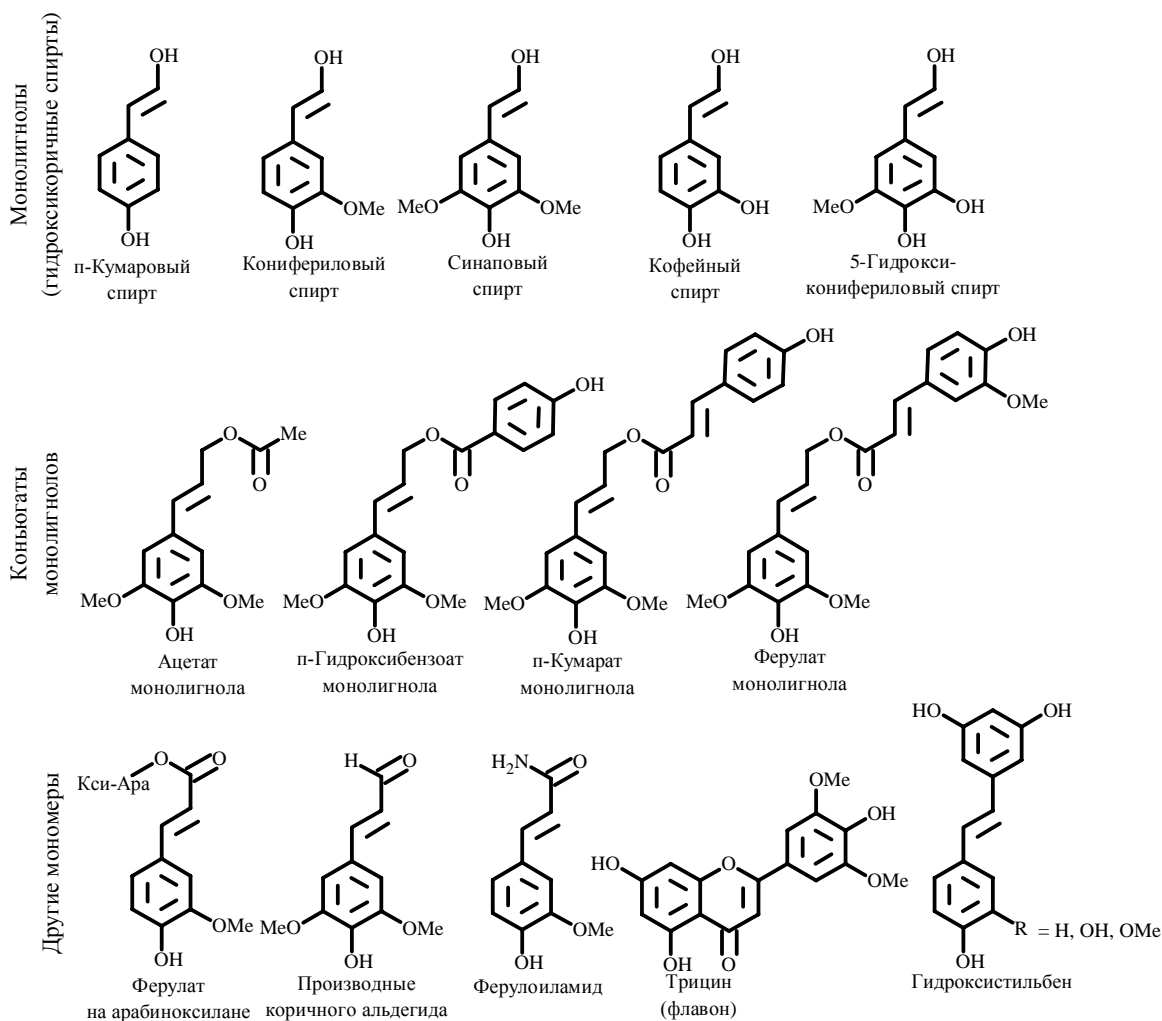


Рис. 12. Канонические монолигнолы и другие соединения, способные участвовать в биосинтезе лигнина [39]

Дизайнерские лигнины [23]. Дизайнерские лигнины – это лигнины, которые не существуют в природе, но которые можно синтезировать, используя пластичность биосинтеза лигнина, с целью улучшения перерабатываемости растительного сырья. Предложено, по крайней мере, пять направлений получения дизайнерских лигнинов, часть из которых реализуется в настоящее время.

1. *Лигнины с более короткими цепями.* Отметим, что применительно к лигнину такие термины как «длина цепи» и «степень полимеризации» весьма условны.

2. *Менее гидрофобные лигнины.* Имеется в виду введение в молекулу лигнина дополнительных гидроксильных групп или гидрофильных единиц в качестве боковых цепей, например, мономерных углеводов.

3. *Лигнины, отличающиеся меньшим количеством поперечных связей с углеводами.*

4. *Лигнины с новыми химически лабильными связями.* Например, феруловая кислота встраивается в лигнин растений с дефицитом некоторых ферментов с образованием кислотолабильных ацеталей [116], а избыточная экспрессия ферулат-5-гидроксилазы в гибридном тополе приводит к лигнину, содержащему почти 98% единиц синрилпропановых звеньев, отличающемуся высоким содержанием связей b-O-4, неустойчивых в щелочной среде [117].

В эту группу дизайнерских лигнинов входят так называемые **zip-лигнины** (zip – застежка-молния). Они отличаются наличием сложноэфирных связей между ФПЕ. Трансгенные тополя с таким генетически модифицированным лигнином легче делигнифицируются, при мягкой щелочной обработке по сравнению с контрольной группой [118], а также в условиях сульфатной варки [119].

5. *Лигнины с добавленной стоимостью.* Имеется в виду биорефайнинг с максимальным использованием биомассы растительного сырья, включая лигнин [120]. Исследования в этой области в основном были сосредоточены на оптимизации извлечения лигнина и разработке продуктов из лигнина, которые могли бы конкурировать с существующими материалами, полученными из нефти.

Основным направлением получения из лигнина продуктов с высокой добавленной стоимостью считается выделение и использование мономерных соединений [121]. Максимально возможный (теоретический) выход мономеров из природного хвойного лигнина составляет 23%, а из лиственного – 51% [122]. При участии в биосинтезе только кофейного или 5-гидроксикониферилового спирта образуются гомогенные линейные молекулы лигнина, состоящие исключительно из бензодиоксановых единиц, соединенных связью *b*-O-4 [123, 124], что открывает новые возможности для получения из лигнина низкомолекулярных соединений.

Последствия генной модификации лигнина для жизни растений. Как показывают приведенные выше литературные данные, имеется определенный прогресс в генной модификации лигнина, однако такое вмешательство в процессы биосинтеза, сложившиеся в ходе естественной эволюции растений, имеет и негативные последствия. Трансгенные растения часто демонстрируют дефекты развития, начиная от полегания стебля и заканчивая карликовостью. Предполагается, что снижение содержания лигнина изменяет структурную целостность и ухудшает перенос воды, и такие растения часто имеют разрушенные клетки ксилемы [125]. Кроме того, они отличаются повышенной восприимчивостью к болезням [126, 127]. Таким образом, проводя исследования в этой области, необходимо искать компромисс между улучшением перерабатываемости растительного сырья за счет генной модификации лигнина и жизнеспособностью трансгенных растений.

Новые направления использования лигнина, включая получение углеродных волокон, гидрогелей, биотоплива, составов для 3D-печати и в других областях подробно описаны в обзоре [128].

Заключение

Анализируя многочисленные литературные данные о строении и роли лигнина в жизни растений, можно заметить, что, начиная от первого упоминания и до наших дней, происходит эволюция взглядов на это уникальное природное соединение. Прежде всего, это относится к биосинтезу лигнина. Оказалось, что этот процесс очень пластичен и гибок и в нем могут участвовать, помимо канонических монолигнолов (кониферилового, синапового и *n*-кумарового спиртов), и другие фенольные соединения.

Благодаря пластичности биосинтеза лигнин защищает растения от неблагоприятных воздействий окружающей среды – стрессов. Меняя содержание и мономерный состав лигнина, растения минимизируют влияние стрессов. Процесс биосинтеза является комбинаторным, то есть таким, в котором могут происходить любые сочетания феноксильных радикалов, но с разной вероятностью. На сегодняшний день нет убедительных доказательств какого-либо контроля над первичной структурой лигнина с помощью организованного процесса сборки. Все это вместе объясняет, почему маловероятно существование в природе двух одинаковых молекул лигнина [19].

Отмеченные обстоятельства делают изучение строения лигнина достаточно сложной аналитической проблемой. Начать с того, что выбор методов исследования природного лигнина (лигнина в древесине) весьма ограничен, поэтому приходится его выделять. Выделенные препараты лигнина, по существу, представляют собой продукты деструкции природного лигнина, отличающиеся друг от друга выходом и степенью деструкции. К тому же лигнин ассоциирован с углеводами, хотя характер лигноуглеводных связей остается предметом дискуссий. Поскольку он представляет собой полидисперсный, полифункциональный, нерегулярный гетерополимер, современные методы изучения полимеров применительно к лигнину имеют существенные ограничения.

Не облегчает решение аналитической проблемы и тот факт, что ФПЕ в лигнине связаны между собой двумя типами связей – гидролизуемой (простой эфирной) и негидролизуемой (углерод-углеродной). Поэтому максимальный выход мономерных соединений из хвойного природного лигнина составляет только 23% [122]. Указанное обстоятельство делает невозможным определение мономерной последовательности молекулы лигнина – секвенирование, широко используемое при изучении линейных макромолекул биополимеров.

Остаются дискуссионными и интенсивно исследуются особенности строения лигнина по сравнению с другими биополимерами с тем, чтобы определить, к каким полимерам он относится: линейным, разветв-

ленным или сетчатым, каковы его молекулярная масса и надмолекулярная структура. Ответы на эти вопросы позволят получить дальнейшее развитие инструментальных методов исследований, например, весьма перспективным представляется исследование лигнина методом криоэлектронной микроскопии [48].

Применительно к такому сложному на всех уровнях организации молекул веществу, каковым является лигнин, развитие методов исследований особенно важно, поскольку, по выражению Гейзенберга: «Мы должны помнить, что то, что мы наблюдаем, – это не природа сама по себе, а природа, подвергаемая нашему методу вопрошания» [129].

Финансирование

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Санкт-Петербургского государственного лесотехнического университета. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

Конфликт интересов

Автор данной работы заявляет, что у него нет конфликта интересов.

Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

Список литературы

1. Goldstein E.B. Encyclopedia of perception. SAGE Publications, London, 2010. Vol. 1. 492 p.
2. de Candolle M.A.P. Theorie Elementaire de la Botanique ou Exposition des Principes de la Classification Naturelle et de l'Art de Decrire et d'Etudier les Vegetaux. Paris, 1813. 417 p.
3. Payen A. Memoire sur la composition du tissupropre des plantes et du ligneux // Comptes Rendus. 1838. Vol. 7. Pp. 1052–1056.
4. Schulze F. Beiträge zur Kenntnis des Lignins // Chemisches Zentralblatt. 1857. Vol. 21. Pp. 321–325.
5. Tiemann F. Ueber Coniferyl alkohol, das bei Einwirkung von Emulsin auf Coniferin neben Trauben zucker entstehende Spaltungsprodukt, so wie Aethyl- und Methylvanillin // Ber. 1875. Vol. 8. Pp. 1127–1136.
6. Klason P. On sulfite cellulose framställningen teoriskt om granveden eteriska olja // Svensk Kem. Tidskr. 1897. Vol. 9. P. 133.
7. Klason P. Über den Lignin gehalt des Fichtenholzes // Cellulose chemie. 1923. Vol. 4. P. 81.
8. Никитин Н.И. Химия древесины и целлюлозы. М.; Л., 1962. 711 с.
9. Браунс Ф.Э., Браунс Д.А. Химия лигнина. М., 1964. 864 с.
10. Freudenberg K., Neish A.C. Constitution and Biosynthesis of Lignin. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-NewYork, 1968. Pp. 78–122.
11. Грушников О.П., Елкин В.В. Достижения и проблемы химии лигнина. М., 1973. 296 с.
12. Лигнины. Структура, свойства и реакции / под ред. К.В. Сарканена, К.Х. Людвиг. М., 1975. 632 с.
13. Шорыгина Н.Н., Резников В.М., Ёлкин В.В. Реакционная способность лигнина. М., 1976. 368 с.
14. Adler E. Lignin chemistry – past, present and future // Wood Sci. Technol. 1977. Vol. 11. Pp. 169–218.
15. Higuchi T. Biochemistry of Lignification // Wood Res. 1980. Vol. 66. Pp. 1–16.
16. Фенгел Д., Вегенер Г. Древесина. Химия, ультраструктура, реакции. М., 1988. 512 с.
17. Heitner C., Dimmel D., Schmidt J. *Lignin and Lignans. Advances in Chemistry*. Boca Raton: CRC Press, 2010.
18. Lignin: Historical, Biological, and Materials Perspectives / eds. W.G. Glasser, R.A. Northey, T.P. Schultz. ACS Symp. Series 742. Washington, 1999.
19. Ralph J., Lundquist K., Brunow G., Lu F., Kim H., Schatz P.F., Marita J.M., Hatfield R.D., Ralph S.A., Christensen J.H., Boerjan W. Lignins: Natural polymers from oxidative coupling of 4-hydroxyphenylpropanoids // Phytochemistry Reviews. 2004. Vol. 3. Pp. 29–60.
20. Gellerstedt G., Henriksson G. Lignins: major sources, structure and properties // Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources. Amsterdam, 2008. Pp. 201–224.
21. Evstigneyev E.I., Shevchenko S.M. Structure, chemical reactivity and solubility of lignin: a fresh look // Wood Science and Technology. 2019. Vol. 53. Pp. 7–47. DOI: 10.1007/s00226-018-1059-1.
22. Евстигнеев Э.И. Путь волокна. Значение структуры древесины в технологии волокнистых полуфабрикатов и бумаги. СПб, 2012. 308 с.
23. Mottiar Y., Vanholme R., Boerjan W., Ralph J., Mansfield S.D. Designer lignins: harnessing the plasticity of lignification // Current Opinion in Biotechnology. 2016. Vol. 37. Pp. 190–200. DOI: 10.1016/j.copbio.2015.10.009.
24. Sederoff R.R., MacKay J.J., Ralph J., Hatfield R.D. Unexpected variation in lignin // Current Opin. Plant Biol. 1999. Vol. 2. Pp. 145–152. DOI: 10.1016/S1369-5266(99)80029-6.
25. Boerjan W., Ralph J., Baucher M. Lignin biosynthesis // Ann. Rev. Plant Biol. 2003. Vol. 54. Pp. 519–549. DOI: 10.1146/annurev.plant.54.031902.134938.

26. Brunow G., Karlsson O., Lundquist K., Sipilä J. On the distribution of the diastereomers of the structural elements in lignins: the steric course of reactions mimicking lignin biosynthesis // *Wood Sci. Technol.* 1993. Vol. 27. Pp. 281–286.
27. Moura J.C., Bonine C.A., Viana J.D.O.F., Dornelas M.C., Mazzafera P. Abiotic and biotic stresses and changes in the lignin content and composition in plants // *J. Integr. Plant Biol.* 2010. Vol. 52. P. 360. DOI: 10.1111/j.1744-7909.2010.00892.x.
28. Rinaldi R., Jastrzebski R., Clough M.T., Ralph J., Kennema M., Bruijninx P.C.A., Weckhuysen B.M. Paving the way for lignin valorisation: recent advances in bioengineering, biorefining and catalysis // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2016. Vol. 55. Pp. 8164–8215. DOI: 10.1002/ange.201510351.
29. Sakakibara A. *Chemistry of Lignin* // *Wood and Cellulosic Chemistry*. New York: MarceDekker Inc., 1991. Pp. 111–175.
30. Nimz H.H. Analytical methods in wood, pulping and bleaching chemistry // *Proc. of 8th Int. Symp. Wood and Pulp. Chem. Helsinki*, 1995. Vol. 1. Pp. 1–32.
31. Davin L.B., Lewis N.G. Lignin primary structure and dirigent sites // *Current Opinion in Biotechnology*. 2005. Vol. 16. Pp. 407–415. DOI: 10.1016/j.copbio.2005.06.011.
32. Lundquist K. *Wood // Methods in Lignin Chemistry*. Berlin, 1992. Pp. 65–69.
33. Pepper J.M., Baylis P.E.T., Adler E. The isolation and properties of lignins obtained by the acidolysis of spruce and aspen woods in dioxane-water medium // *Canadian Journal of Chemistry*. 1959. Vol. 37. Pp. 1241–1248.
34. Freudenberg K., Zocher H., Dürr W. Weitere Versuche mit Lignin (11. Mitteilung über Lignin und Cellulose) // *Chemische Berichte*. 1929. Vol. 62. Pp. 1814–1823.
35. Evstigneyev E.I., Kalugina A.V., Ivanov A.Yu., Vasilyev A.V. Contents of α -O-4 and β -O-4 bonds in native lignin and isolated lignin preparations // *Journal of Wood Chemistry and Technology*. 2017. Vol. 37. Pp. 294–306. DOI: 10.1080/02773813.2017.1297832.
36. Goring D.A.I. Solution properties of natural polymer // *International symposium, Edinburg, July 25-28 1967*. London, 1968. p. 115.
37. Иржак В.И., Розенберг Б.А., Ениколопан Н.С. Сетчатые полимеры. Синтез, структура, свойства. М., 1979. 248 с.
38. Balakshin M., Capanema E.A., Zhu X., Sulaeva I., Potthast A., Rosenau T., Rojas O.J. Spruce milled wood lignin: linear, branched or cross-linked? // *Green Chemistry*. 2020. Vol. 22. Pp. 3985–4001. DOI: 10.1039/d0gc00926a.
39. Ralph J., Lapierre C., Boerjan W. Lignin structure and its engineering // *Current Opinion in Biotechnology*. 2019. Vol. 56. Pp. 240–249. DOI: 10.1016/J.COPBIO.2019.02.019.
40. Crestini C., Melone F., Sette M., Saladino R. Milled wood lignin: A linear oligomer // *Biomacromolecules*. 2011. Vol. 12. Pp. 3928–3935. DOI: 10.1021/bm200948r.
41. Crestini C. Lignin structure: A revisitation of current paradigms through NMR analysis // *Proceed. 13th European Workshop on Lignocellulosics and Pulp*. Seville, Spain, 2014. Pp. 59–62.
42. Karmanov A.P., Kanarsky A.V., Kocheva L.S., Bely V.A., Semenov E.I., Rachkova N.G., Bogdanovich N.I., Pokryshkin S.A. Chemical structure and polymer properties of wheat and cabbage lignins – Valuable biopolymers for biomedical applications // *Polymer*. 2021. Vol. 220. 123571. DOI: 10.1016/j.polymer.2021.123571.
43. Pikovskoi I.I., Ul'yanovskii N.V., Gorbova N.S., Kosyakov D.S. Study of Lignin by Atmospheric pressure photoionization orbitrap mass spectrometry: effect of spectral resolution // *Journal of Analytical Chemistry*. 2021. Vol. 76, no. 14. Pp. 1610–1617. DOI: 10.1134/S1061934821140082.
44. Kosyakov D.S., Ipatova E.V., Krutov S.M., Ul'yanovskii N.V., Pikovskoi I.I. Study of products of the alkaline decomposition of hydrolysis lignin by atmospheric pressure photoionization high-resolution mass spectrometry // *Journal of Analytical Chemistry*. 2017. Vol. 72. Pp. 1396–1403. DOI: 10.1134/S1061934817140064.
45. Pikovskoi I.I., Kosyakov D.S., Shavrina I.S., Ul'yanovskii N.V. Study of nettle (*Urtica dioica*) lignin by atmospheric pressure photoionization orbitrap mass spectrometry // *Journal of Analytical Chemistry*. 2019. Vol. 74. Pp. 1412–1420. DOI: 10.1134/S1061934819140090.
46. Anikeenko E.A., Ul'yanovskii N.V., Shavrina I.S., Kosyakov D.S. Laser desorption/ionization of low-molecular-weight lignin oligomers // *Journal of Analytical Chemistry*. 2020. Vol. 75. Pp. 1814–1824. DOI: 10.1134/S1061934820140038.
47. Kosyakov D.S., Anikeenko E.A., Ul'yanovskii N.V., Khoroshev O.Yu., Shavrina I.S., Gorbova N.S. Ionic liquid matrices for MALDI mass spectrometry of lignin // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2018. Vol. 410. Pp. 7429–7439. DOI: 10.1007/s00216-018-1353-7.
48. Увидеть больше: Нобелевскую премию по химии вручили за развитие криоэлектронной микроскопии. [Электронный ресурс]. URL: <https://russian.rt.com/science/article/436503-nobelevskaya-premiya-himiya-mikroskopiya>.
49. *Methods in Lignin Chemistry* / eds. S.Y. Lin, C.W. Dence. Berlin: Springer-Verlag, 1992.
50. Brown W. Solution properties of lignin. Thermodynamic properties and molecular weight determinations // *J. Applied Polymer Sci.* 1967. Vol. 11. Pp. 2381–2396. DOI: 10.1002/app.1967.070111125.
51. Obiaga T.I., Wayman M. Molecular weight distribution of lignin during alkaline pulping // *Svensk Papperstidn.* 1973. Vol. 76. Pp. 699–703.
52. McNaughton J.G., Yean W.Q., Goring D.A.I. Macromolecular properties of kraft lignins from spruce made soluble by a continuous flow process // *Tappi*. 1967. Vol. 50. Pp. 548–553.
53. Bolker H.I., Rhodes H.E.W., Lee K.S. Degradation of insoluble lignin by chloride monoxide // *J. Agric. Food Chem.* 1977. Vol. 25. Pp. 708–716. DOI: 10.1021/jf60212a061.
54. Stenlund B. Polyelectrolyte effects in gel-chromatography of lignosulfonates. 5. Discussion. // *Paperi ja Puu*. 1970. Vol. 52. Pp. 671–679.

55. Иванов М.А., Нефедов П.П., Русаков А.Е., Щербакова Л.Д., Лазарева М.А., Захаров В.И. Полиэлектrolитные эффекты в эксклюзионной хроматографии лигнинов, лигноуглеводных комплексов и полисахаридов // *Химия древесины*. 1979. №6. С. 108–109.
56. Нефедов П.П., Русаков А.Е., Иванов М.А., Щербакова Л.Д., Лазарева М.А., Захаров В.И. Полиэлектrolитные эффекты в эксклюзионной хроматографии лигнинов, лигноуглеводных комплексов и полисахаридов. 1. Влияние полиэлектrolитной природы лигнинов и лигноуглеводных комплексов на их эксклюзионное поведение при эксклюзионной жидкостной хроматографии в N,N-диметилформамиде // *Химия древесины*. 1981. №4. С. 66–72.
57. Русаков А.Е., Лазарева М.А., Нефедов П.П., Щербакова Л.Д., Иванов М.А., Захаров В.И. Полиэлектrolитные эффекты в эксклюзионной хроматографии лигнинов, лигноуглеводных комплексов и полисахаридов. 2. Эксклюзионная жидкостная хроматография лигнинов и лигноуглеводных комплексов в N,N-диметилформамиде и диметилсульфоксиде // *Химия древесины*. 1982. №5. С. 89–95.
58. Connors W.I., Sarkanen S., McCarthy J.L. Gel chromatography and association complexes of lignin // *Holzforchung*. 1980. Vol. 34, no. 3. Pp. 80–85. DOI: 10.1515/hfsg.1980.34.3.80.
59. Sarkanen S., Teller D.C., Hall J., McCarthy J.L. Lignin. 18. Associative effects among organosolv lignin component // *Macromolecules*. 1981. Vol. 14. Pp. 426–434. DOI: 10.1021/ma50003a037.
60. Hortling B., Turunen E., Kokkonen P. Procedure for molar mass distribution measurement of lignins of different origin // *Proc. 10th Int. Symp. Wood and Pulp. Chem. Yokohama*, 1999. Vol. 1. Pp. 48–53.
61. Froment P., Robert A. Importance de l'étalonnage dans la détermination par G.P.C. des masses moléculaires moyennes de la lignine // *Cellulose Chem. Technol.* 1977. Vol. 11. Pp. 691–696.
62. Marton J., Marton T. Molecular weight of kraft lignin // *Tappi*. 1964. Vol. 47. Pp. 471–476.
63. Evstigneyev E.I., Yuzikhin O.S., Gurinov A.A., Ivanov A.Yu., Artamonova T.O., Khodorkovskiy M.A., Bessonova E.A., Vasilyev A.V. Study of structure of industrial acid hydrolysis lignin, oxidized in the H₂O₂-H₂SO₄ system // *Journal of Wood Chemistry and Technology*. 2016. Vol. 36. Pp. 259–269. DOI: 10.1080/02773813.2015.1137945.
64. Metzger J.O., Bicke O., Faix O., Tuszyński W., Angermann R., Karas M., Strupat K. Matrix-assisted laser desorption mass spectrometry of lignins // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1992. Vol. 31. Pp. 762–764. DOI: 10.1002/anie.199207621.
65. Zinovyev G., Sulaeva I., Podzimek S., Rössner D., Kilpeläinen I., Summerskii I., Rosenau T., Potthast A. Getting closer to absolute molar masses of technical lignins // *ChemSusChem*. 2018. Vol. 11. Pp. 3259–3268. DOI: 10.1002/cssc.201801177.
66. Tolbert A., Akinoshio H., Khunsupat R., Naskar A.K., Ragauskas A.J. Characterization and analysis of the molecular weight of lignin for biorefining studies // *Biofuels, Bioprod. Bioref.* 2014. Vol. 8, no. 6. Pp. 836–856. DOI: 10.1002/bbb.1500.
67. *Физическая химия лигнина* / под ред. К.Г. Боголицына, В.В. Лунина. М., 2010. 492 с.
68. Liebovitch L.S. *Fractals and chaos simplified for the life sciences*. New York, 1998. 268 p.
69. Карманов А.П. Лигнин. Структурная организация и самоорганизация // *Химия растительного сырья*. 1999. №1. С. 65–74.
70. Karmanov A.P., Monakov Y.B. Lignin structural organization and fractal properties // *Russ. Chem. Rev.* 2003. Vol. 72. Pp. 715–734. DOI: 10.1070/RC2003v072n08ABEH000767.
71. Achyuthan K.E., Achyuthan A.M., Adams P.D., Dirk S.M., Harper J.C., Simmons B.A., Singh A.K. Supramolecular self-assembled chaos: polyphenolic lignin's barrier to cost-effective lignocellulosic biofuels // *Molecules*. 2010. Vol. 15. Pp. 8641–8688. DOI: 10.3390/molecules15118641.
72. Faulon J.L., Hatcher P.G. Is there any order in the structure of lignin? // *Energy & Fuels*. 1994. Vol. 8. Pp. 402–407.
73. Faulon J.L. Stochastic generator of chemical structure. 1. Application to the structure elucidation of large molecules // *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 1994. Vol. 34. Pp. 1204–1218. DOI: 10.1021/ci00021a031.
74. Srzić D., Martinović S., Tolić L.P., Kezele N., Shevchenko S.M., Klasinc L. Laser desorption fourier-transform mass spectrometry of lignins // *Rapid Commun. in Mass Spectrom.* 1995. Vol. 9. Pp. 245–249. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0231(19960331)10:5<580::AID-RCM498>3.0.CO;2-8.
75. Radotić K., Simić-Krstić J., Jeremić M., Trifunović M. A study of lignin formation at the molecular level by scanning tunneling microscopy // *Biophysical J.* 1994. Vol. 66. Pp. 1763–1767. DOI: 10.1016/S0006-3495(94)81007-0.
76. Luner P., Roseman G. Monomolecular film properties of isolated lignins // *Holzforchung*. 1986. Vol. 40. Pp. 61–66.
77. Forss K., Fremer K.-E. Comments on the nature of coniferous lignin // *J. Appl. Polym. Sci.: Appl. Polym. Symp.* 1983. Vol. 37. Pp. 531–547.
78. Forss K., Fremer K.-E. The nature of lignin: a different view // *Lignin: Historical, Biological, and Materials Perspectives*. ACS Symp. Series 742. Washington, 1999. Pp. 100–116.
79. Atalla R.H., Agarwall U.P. Raman microprobe evidence for lignin orientation in cell walls of native woody tissue // *Science*. 1985. Vol. 227. Pp. 636–638. DOI: 10.1126/science.227.4687.636.
80. Agarwall U.P., Atalla R.H. In situ Raman microprobe studies of plant cell walls: macromolecular organization and compositional variability in the secondary wall of *Picea mariana* // *Planta*. 1986. Vol. 169. Pp. 325–332.
81. Mičić M., Jeremić M., Radotić K., Mavers M., Leblanc R.M. Visualization of artificial lignin supramolecular structures // *Scanning*. 2000. Vol. 22. Pp. 288–294. DOI: 10.1002/SCA.4950220503.

82. Micic M., Radotic K., Jeremic M., Djikanovic D., Kämmerer S.B. Study of the lignin model compound supramolecular structure by combination of near-field scanning optical microscopy and atomic force microscopy // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2004. Vol. 34. Pp. 33–40. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2003.10.018.
83. Abreu H.S., Latorraca J.V.F., Pereira R.P.W., Monteiro M.B.O., Abreu F.A., Amparado K.F. A supramolecular proposal of lignin structure and its relation with the wood properties // *An. Acad. Bras. Cienc.* 2009. Vol. 81. Pp. 137–142. DOI: 10.1590/s0001-37652009000100014.
84. Terashima N., Yoshida M., Hafrén J., Fukushima K., Westermarck U. Proposed supramolecular structure of lignin in softwood tracheid compound middle lamella regions // *Holzforschung*. 2012. Vol. 66. Pp. 907–915. DOI: 10.1515/hf-2012-0021.
85. Terashima N. Diversification of lignin supramolecular structure during the evolution of plants // *Mokuzai Gakkaishi*. 2013. Vol. 59. Pp. 65–80. DOI: 10.2488/jwrs.59.65.
86. Katayama Y., Morohoshi N., Haraguchi T. Formation of lignin-carbohydrate-complex in enzymatic dehydrogenation of coniferyl alcohol I. Detection of acid-hydrolyzable linkage between D-glucose and dehydrogenation products of coniferyl alcohol // *Mokuzai Gakkaishi*. 1980. Vol. 26. Pp. 358–362.
87. Tanaka K., Nakatsubo F., Higuchi. Reactions of guaiacylglycerol- β -guaiacyl ether with several sugars. II. Reactions of quinonemethide with pyranohexoses // *Mokuzai Gakkaishi*. 1979. Vol. 25. Pp. 653–659.
88. Zhao X., Qi F., Liu D. Hierarchy nano- and ultrastructure of lignocellulose and its impact on the bioconversion of cellulose // *Nanotechnology for bioenergy and biofuel production*. Cham, 2016. Pp. 117–152.
89. Eriksson O., Goring D., Lindgren B. Structural studies on the chemical bonds between lignins and carbohydrates in spruce wood // *Wood Sci. Technol.* 1980. Vol. 14. Pp. 267–279. DOI: 10.1007/BF00383454.
90. Kosikova B., Ebringerova A. Lignin-carbohydrate bonds in a residual soda spruce pulp lignin // *Wood Sci. Technol.* 1994. Vol. 28. Pp. 291–296.
91. Albersheim P., Darvill A., Roberts K., Sederoff R., Staehelin A. Biochemistry of the cell wall molecules // *Plant cell walls: from chemistry to biology*. New York: Taylor & Francis Group, 2010. Pp. 67–118.
92. Гемиллюлозы / под ред. М.С. Дудкина, В.С. Громова. Рига, 1991. 488 с.
93. Björkman A. Studies on finely divided wood. Part 1. Extraction of lignin with neutral solvents // *Svensk Papperstidn.* 1956. Vol. 59. Pp. 477–485.
94. Holtman K., Chang H., Jameel H., Kadla J.F. Quantitative ^{13}C NMR characterization of milled wood lignins isolated by different milling techniques // *J. Wood Chem. Technol.* 2006. Vol. 26. Pp. 21–34. DOI: 10.1080/02773810600582152.
95. Balakshin M., Capanema E., Gracz H., Chang H.-M., Jameel H. Quantification of lignin-carbohydrate linkages with high-resolution NMR spectroscopy // *Planta*. 2011. Vol. 233. Pp. 1097–1110. DOI: 10.1007/s00425-011-1359-2.
96. You T.-T., Zhang L.-M., Zhou S.-K., Xu F. Structural elucidation of lignin-carbohydrate complex (LCC) preparations and lignin from *Arundodonax* Linn // *Ind. Crop. Prod.* 2015. Vol. 71. Pp. 65–74.
97. Watanabe T., Azuma J., Koshijima T. A convenient method for preparing lignin-carbohydrate complex from *Pinus dens flora* wood // *Mokuzai Gakkaishi*. 1987. Vol. 33. Pp. 798–803.
98. Molecular Catenanes, Rotaxanes and Knots / ed. J.-P. Sauvage, C. Dietrich-Buchecker. New York: Wiley-VCH, 1999. 365 p.
99. Catenane [Электронный ресурс]. URL: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Catenane_ChemComm_244_1985.jpg.
100. Rotaxane Crystal Structure [Электронный ресурс]. URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D0%B0%D0%B9%D0%BB:Rotaxane_Crystal_Structure_EurJOrgChem_page2565_year1998.png
101. Gellerstedt G. Chemical structure of pulp components // *Pulp Bleaching. Principles and Practice*. Atlanta: Tappi Press, 1996. Pp. 93–111.
102. Tarasov D., Leitch M., Fatehi P. Lignin-carbohydrate complexes: properties, applications, analyses, and methods of extraction: a review // *Biotechnol Biofuels*. 2018. Vol. 11. Pp. 269. DOI: 10.1186/s13068-018-1262-1.
103. Giummarella N., Balakshin M., Koutaniemi S., Kärkönen A., Lawoko M. Nativity of lignin carbohydrate bonds substantiated by biomimetic synthesis // *Journal of Experimental Botany*. 2019. Vol. 70, no. 20. Pp. 5591–5601. DOI: 10.1093/jxb/erz324.
104. Baucher M., Halpin C., Petit-Conil M., Boerjan W. Lignin: Genetic engineering and impact on pulping // *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.* 2003. Vol. 38. Pp. 305–350. DOI: 10.1080/10409230391036757.
105. Zeng Y., Zhao S., Yang S., Ding S.-Y. Lignin plays a negative role in the biochemical process for producing lignocellulosic biofuels // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2014. Vol. 27. Pp. 38–45. DOI: 10.1016/j.copbio.2013.09.008.
106. Besle J.-M., Cornu A., Jouany J.-P. Roles of structural phenylpropanoids in forage cell wall digestion // *J. Sci. Food Agric.* 1994. Vol. 64. Pp. 171–190. DOI: 10.1002/jsfa.2740640206.
107. Лебедев В.Г., Шестибратов К.А. Генная инженерия биосинтеза лигнина в деревьях: компромисс между свойствами древесины и жизнеспособностью растений // *Физиология растений*. 2021. Т. 68. С. 339–355. DOI: 10.31857/S0015330321030106.
108. Coleman H.D., Park J.-Y., Nair R., Chapple C., Mansfield S.D. RNAi-mediated suppression of p-coumaroyl-CoA 3O-hydroxylase in hybrid poplar impacts lignin deposition and soluble secondary metabolism // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2008. Vol. 105. Pp. 4501–4506. DOI: 10.1073/pnas.0706537105.

109. Lu F., Marita J.M., Lapierre C., Jouanin L., Morreel K., Boerjan W., Ralph J. Sequencing around 5-hydroxyconiferylalcohol-derived units in caffeic acid O-methyltransferase-deficient poplar lignins // *Plant Physiol.* 2010. Vol. 153. Pp. 569–579. DOI: 10.1104/pp.110.154278.
110. Wagner A., Tobimatsu Y., Phillips L., Flint H., Torr K., Donaldson L., Pears L., Ralph J. CCoAOMT suppression modifies lignin composition in *Pinus radiata* // *Plant J.* 2011. Vol. 67. Pp. 119–129. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2011.04580.x.
111. Ralph J. What makes a good monolignol substitute? // *The Science and Lore of the Plant Cell Wall Biosynthesis, Structure and Function.* Universal Publishers Brown Walker Press, 2006. Pp. 285–293.
112. Mourasobczak J., Souza U., Mazzafera P. Drought stress and changes in the lignin content and composition in *Eucalyptus* // *BMC Proc.* 2011. Vol. 5. P. 103. DOI: 10.1186/1753-6561-5-S7-P103.
113. Khaledian Y., Maali-Amiri R., Talei A. Phenylpropanoid and antioxidant changes in chickpea plants during cold stress // *Russ. J. Plant Physiol.* 2015. Vol. 62. Pp. 772–778. DOI: 10.1134/S1021443715060102.
114. Seong E.S., Jeon M.R., Choi J.H., Yoo J.H., Lee J.G., Na J.K., Kim N.Y., Yu C.Y. Over expression of S-adenosylmethionine synthetase enhances tolerance to cold stress in tobacco // *Russ. J. Plant Physiol.* 2020. Vol. 67. Pp. 242–249. DOI: 10.1134/S1021443720020144.
115. Cesarino I. Structural features and regulation of lignin deposited upon biotic and abiotic stresses // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2019. Vol. 56. Pp. 209–214. DOI: 10.1016/j.copbio.2018.12.012.
116. Leple´ J.-C., Dauwe R., Morreel K. et al. Downregulation of Cinnamoyl-Coenzyme A Reductase in Poplar: multiple-level phenotyping reveals effects on cell wall polymer metabolism and structure // *Plant Cell.* 2007. Vol. 19. Pp. 3669–3691. DOI: 10.1105/tpc.107.054148.
117. Stewart J.J., Akiyama T., Chapple C.C., Ralph J., Mansfield S.D. The effects on lignin structure of over expression of ferulate 5-hydroxylase in hybrid poplar // *Plant Physiol.* 2009. Vol. 150. Pp. 621–635. DOI: 10.1104/pp.109.137059.
118. Wilkerson C.G., Mansfield S.D., Lu F. et al. Monolignolferulate transferase introduces chemically labile linkages into the lignin backbone // *Science.* 2014. Vol. 344. Pp. 90–93. DOI: 10.1126/science.1250161.
119. Zhou S., Runge T., Karlen S.D., Ralph J., Gonzales-Vigil E., Mansfield S.D. Chemical pulping advantages of Ziplignin hybrid poplar // *ChemSusChem.* 2017. Vol. 10. Pp. 3565–3573. DOI: 10.1002/cssc.201701317.
120. Ragauskas A.J., Beckham G.T., Biddy M.J., Chandra R., Chen F., Davis M.F., Davison B.H., Dixon R.A., Gilna P., Keller M. et al. Lignin valorization: improving lignin processing in the biorefinery // *Science.* 2014. Vol. 344. 1246843. DOI: 10.1126/science.1246843.
121. Rinaldi R., Jastrzebski R., Clough M.T., Ralph J., Kennema M., Buijninx P.C.A., Weckhuysen B.M. Paving the way for lignin valorisation: recent advances in bioengineering, biorefining and catalysis // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2016. Vol. 55. Pp. 8164–8215. DOI: 10.1002/anie.201510351.
122. Evstigneyev E.I. Selective depolymerization of lignin: Assessment of yields of monomeric products // *J. Wood Chem. Technol.* 2018. Vol. 38. Pp. 409–415. DOI: 10.1080/02773813.2018.1500607.
123. Chen F., Tobimatsu Y., Havkin-Frenkel D., Dixon R.A., Ralph J. A polymer of caffeoyl alcohol in plant seeds // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012. Vol. 109. Pp. 1772–1777. DOI: 10.1073/pnas.112099210.
124. Chen F., Tobimatsu Y., Jackson L., Nakashima J., Ralph J., Dixon R.A. Novel seed coat lignins in the Cactaceae: structure, distribution and implications for the evolution of lignin diversity // *Plant J.* 2013. Vol. 73. Pp. 201–211. DOI: 10.1111/tbj.12012.
125. Voelker S.L., Lachenbruch B., Meinzer F.C., Kiti P., Strauss S.H. Transgenic poplars with reduced lignin show impaired xylem conductivity, growth efficiency and survival // *Plant Cell. Environ.* 2011. Vol. 34. Pp. 655–668. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2010.02270.x.
126. Bonawitz N.D., Chapple C. Can genetic engineering of lignin deposition be accomplished without an unacceptable yield penalty? // *Curr. Opin. Biotechnol.* 2013. Vol. 24. Pp. 336–343. DOI: 10.1016/j.copbio.2012.11.004.
127. Zhao Q., Dixon R.A. Altering the cell wall and its impact on plant disease: from forage to bioenergy // *Ann. Rev. Phytopathol.* 2014. Vol. 52. Pp. 69–91. DOI: 10.1146/annurev-phyto-082712-102237.
128. Евстигнеев Э.И. Проблемы валоризации лигнина (обзор) // *Химия растительного сырья.* 2022. №1. С. 11–33. DOI: 10.14258/jcrpm.2022019211.
129. Heisenberg W. *Physics and philosophy: the revolution in modern science.* New York, 2007. 256 p.

Поступила в редакцию 28 октября 2022 г.

После переработки 4 сентября 2023 г.

Принята к публикации 6 сентября 2023 г.

Yevstigneyev E.I. WHAT IS LIGNIN – THE EVOLUTION OF VIEWS (REVIEW)

St. Petersburg State Forestry University, Institutsky per., 5, St. Petersburg, 194021, Russia,
e-mail: edward_evst@mail.ru

The review considers changes in ideas about the biosynthesis, structure and functions of lignin in plants, starting from early mentions and up to the present. Alternative points of view on the process of lignin biosynthesis, its spatial and supramolecular structure, and the nature of lignincarbohydrate bonds are presented.

A special place in the review is occupied by the results of studies of lignin modification with the aim of reducing the content and changing the composition of monomer units by genetic engineering methods. Comparison of the structure of lignins isolated from transgenic and mutant trees, as well as herbaceous plants, showed that lignin biosynthesis is plastic and, in addition to canonical monolignols (coniferyl, synapic, and coumaric alcohols), other phenolic compounds can also participate in it.

The study of the so-called "stress lignins" showed that lignin plays an important role in protecting plants from adverse environmental influences: mechanical damage, drought, low temperatures, pathogens, etc.

The results of studies of the genetic modification of lignin made it possible to outline a program for directed modification of the biosynthesis process in order to obtain designer lignins, i.e. lignins with desired properties. This group also includes the so-called zip-lignins. They are distinguished by the presence of ester bonds between phenylpropane units.

It is noted that, when conducting research in the field of genetic engineering, it is necessary to find a compromise between improving the processing of plant materials due to the modification of lignin and the viability of transgenic plants.

Keywords: lignin, biosynthesis, structure, functions, genetic modification, designer lignins.

For citing: Yevstigneyev E.I. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2024, no. 1, pp. 57–81. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20240112046.

References

1. Goldstein E.B. *Encyclopedia of perception*. SAGE Publications, London, 2010, vol. 1, 492 p.
2. de Candolle M.A.P. *Theorie Elementaire de la Botanique ou Exposition des Principes de la Classification Naturelle et de l'Art de Decrire et d'Etudier les Vegetaux*. Paris, 1813, 417 p.
3. Payen A. *Comptes Rendus*, 1838, vol. 7, pp. 1052–1056.
4. Schulze F. *Chemisches Zentralblatt*, 1857, vol. 21, pp. 321–325.
5. Tiemann F. *Ber.*, 1875, vol. 8, pp. 1127–1136.
6. Klason P. *Svensk Kem. Tidskr.*, 1897, vol. 9, p. 133.
7. Klason P. *Cellulose chemie*, 1923, vol. 4, p. 81.
8. Nikitin N.I. *Khimiya drevesiny i tsellyulozy*. [Chemistry of wood and cellulose]. Moscow; Leningrad, 1962, 711 p. (in Russ.).
9. Brauns F.E., Brauns D.A. *Khimiya lignina*. [Chemistry of lignin]. Moscow, 1964, 864 p. (in Russ.).
10. Freudenberg K., Neish A.C. *Constitution and Biosynthesis of Lignin*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-NewYork, 1968, pp. 78–122.
11. Grushnikov O.P., Yelkin V.V. *Dostizheniya i problemy khimii lignina*. [Achievements and problems of lignin chemistry]. Moscow, 1973, 296 p. (in Russ.).
12. *Ligniny. Struktura, svoystva i reaktsii* [Lignins. Structure, properties and reactions], ed. K.V. Sarkanen, K.Kh. Lyudvig. Moscow, 1975, 632 p. (in Russ.).
13. Shorygina N.N., Reznikov V.M., Yolkin V.V. *Reaktsionnaya sposobnost' lignina*. [Lignin reactivity]. Moscow, 1976, 368 p. (in Russ.).
14. Adler E. *Wood Sci. Technol.*, 1977, vol. 11, pp. 169–218.
15. Higuchi T. *Wood Res.*, 1980, vol. 66, pp. 1–16.
16. Fengel D., Vegener G. *Drevesina. Khimiya, ul'trastruktura, reaktsii*. [Wood. Chemistry, ultrastructure, reactions]. Moscow, 1988, 512 p. (in Russ.).
17. Heitner C., Dimmel D., Schmidt J. *Lignin and Lignans. Advances in Chemistry*. Boca Raton: CRC Press, 2010.
18. *Lignin: Historical, Biological, and Materials Perspectives*, eds. W.G. Glasser, R.A. Northey, T.P. Schultz. ACS Symp. Series 742. Washington, 1999.
19. Ralph J., Lundquist K., Brunow G., Lu F., Kim H., Schatz P.F., Marita J.M., Hatfield R.D., Ralph S.A., Christensen J.H., Boerjan W. *Phytochemistry Reviews*, 2004, vol. 3, pp. 29–60.
20. Gellerstedt G., Henriksson G. *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*. Amsterdam, 2008, pp. 201–224.
21. Evstigneyev E.I., Shevchenko S.M. *Wood Science and Technology*, 2019, vol. 53, pp. 7–47. DOI: 10.1007/s00226-018-1059-1.
22. Yevstigneyev E.I. *Put' volokna. Znacheniyе struktury drevesiny v tekhnologii voloknistykh polufabrikatov i bumagi*. [Fiber path. The importance of wood structure in the technology of semi-finished fibrous products and paper]. St. Petersburg, 2012, 308 p. (in Russ.).
23. Mottiar Y., Vanholme R., Boerjan W., Ralph J., Mansfield S.D. *Current Opinion in Biotechnology*, 2016, vol. 37, pp. 190–200. DOI: 10.1016/j.copbio.2015.10.009.
24. Sederoff R.R., MacKay J.J., Ralph J., Hatfield R.D. *Current Opin. Plant Biol.*, 1999, vol. 2, pp. 145–152. DOI: 10.1016/S1369-5266(99)80029-6.
25. Boerjan W., Ralph J., Baucher M. *Ann. Rev. Plant Biol.*, 2003, vol. 54, pp. 519–549. DOI: 10.1146/annurev.arplant.54.031902.134938.

26. Brunow G., Karlsson O., Lundquist K., Sipilä J. *Wood Sci. Technol.*, 1993, vol. 27, pp. 281–286.
27. Moura J.C., Bonine C.A., Viana J.D.O.F., Dornelas M.C., Mazzafera P. *J. Integr. Plant Biol.*, 2010, vol. 52, p. 360. DOI: 10.1111/j.1744-7909.2010.00892.x.
28. Rinaldi R., Jastrzebski R., Clough M.T., Ralph J., Kennema M., Bruijninx P.C.A., Weckhuysen B.M. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2016, vol. 55, pp. 8164–8215. DOI: 10.1002/ange.201510351.
29. Sakakibara A. *Wood and Cellulosic Chemistry*. New York, 1991, pp. 111–175.
30. Nimz H.H. *Proc. of 8th Int. Symp. Wood and Pulp. Chem.* Helsinki, 1995, vol. 1, pp. 1–32.
31. Davin L.B., Lewis N.G. *Current Opinion in Biotechnology*, 2005, vol. 16, pp. 407–415. DOI: 10.1016/j.cop-bio.2005.06.011.
32. Lundquist K. *Methods in Lignin Chemistry*. Berlin, 1992, pp. 65–69.
33. Pepper J.M., Baylis P.E.T., Adler E. *Canadian Journal of Chemistry*, 1959, vol. 37, pp. 1241–1248.
34. Freudenberg K., Zocher H., Dürr W. *Chemische Berichte*, 1929, vol. 62, pp. 1814–1823.
35. Evstigneyev E.I., Kalugina A.V., Ivanov A.Yu., Vasilyev A.V. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 2017, vol. 37, pp. 294–306. DOI: 10.1080/02773813.2017.1297832.
36. Goring D.A.I. *International symposium, Edinburg, July 25-28 1967*. London, 1968. p. 115.
37. Irzhak V.I., Rozenberg B.A., Yenikolopyan N.S. *Setchatyye polimery. Sintez, struktura, svoystva*. [Network polymers. Synthesis, structure, properties]. Moscow, 1979, 248 p. (in Russ.).
38. Balakshin M., Capanema E.A., Zhu X., Sulaeva I., Potthast A., Rosenau T., Rojas O.J. *Green Chemistry*, 2020, vol. 22, pp. 3985–4001. DOI: 10.1039/d0gc00926a.
39. Ralph J., Lapierre C., Boerjan W. *Current Opinion in Biotechnology*, 2019, vol. 56, pp. 240–249. DOI: 10.1016/J.COP-BIO.2019.02.019.
40. Crestini C., Melone F., Sette M., Saladino R. *Biomacromolecules*, 2011, vol. 12, pp. 3928–3935. DOI: 10.1021/bm200948r.
41. Crestini C. *Proceed. 13th European Workshop on Lignocellulosics and Pulp*. Seville, Spain, 2014, pp. 59–62.
42. Karmanov A.P., Kanarsky A.V., Kocheva L.S., Bely V.A., Semenov E.I., Rachkova N.G., Bogdanovich N.I., Pokryshkin S.A. *Polymer*, 2021, vol. 220, 123571. DOI: 10.1016/j.polymer.2021.123571.
43. Pikovskoi I.I., Ul'yanovskii N.V., Gorbova N.S., Kosyakov D.S. *Journal of Analytical Chemistry*, 2021, vol. 76, no. 14, pp. 1610–1617. DOI: 10.1134/S1061934821140082.
44. Kosyakov D.S., Ipatova E.V., Krutov S.M., Ul'yanovskii N.V., Pikovskoi I.I. *Journal of Analytical Chemistry*, 2017, vol. 72, pp. 1396–1403. DOI: 10.1134/S1061934817140064.
45. Pikovskoi I.I., Kosyakov D.S., Shavrina I.S., Ul'yanovskii N.V. *Journal of Analytical Chemistry*, 2019, vol. 74, pp. 1412–1420. DOI: 10.1134/S1061934819140090.
46. Anikeenko E.A., Ul'yanovskii N.V., Shavrina I.S., Kosyakov D.S. *Journal of Analytical Chemistry*, 2020, vol. 75, pp. 1814–1824. DOI: 10.1134/S1061934820140038.
47. Kosyakov D.S., Anikeenko E.A., Ul'yanovskii N.V., Khoroshev O.Yu., Shavrina I.S., Gorbova N.S. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2018, vol. 410, pp. 7429–7439. DOI: 10.1007/s00216-018-1353-7.
48. *Uvidet' bol'she: Nobelevskuyu premiyu po khimii vruchili za razvitiye krioelektronnoy mikroskopii*. [See more: Nobel Prize in Chemistry awarded for the development of cryo-electron microscopy]. URL: <https://russian.rt.com/science/article/436503-nobelevskaya-premiya-himiya-mikroskopiya>. (in Russ.).
49. *Methods in Lignin Chemistry*, ed. S.Y. Lin, C.W. Dence. Berlin, 1992.
50. Brown W. *J. Applied Polymer Sci.*, 1967, vol. 11, pp. 2381–2396. DOI: 10.1002/app.1967.070111125.
51. Obiaga T.I., Wayman M. *Svensk Papperstidn*, 1973, vol. 76, pp. 699–703.
52. McNaughton J.G., Yean W.Q., Goring D.A.I. *Tappi*, 1967, vol. 50, pp. 548–553.
53. Bolker H.I., Rhodes H.E.W., Lee K.S. *J. Agric. Food Chem.*, 1977, vol. 25, pp. 708–716. DOI: 10.1021/jf60212a061.
54. Stenlund B. *Paperi ja Puu*, 1970, vol. 52, pp. 671–679.
55. Ivanov M.A., Nefedov P.P., Rusakov A.Ye., Shcherbakova L.D., Lazareva M.A., Zakharov V.I. *Khimiya drevesiny*, 1979, no. 6, pp. 108–109. (in Russ.).
56. Nefedov P.P., Rusakov A.Ye., Ivanov M.A., Shcherbakova L.D., Lazareva M.A., Zakharov V.I. *Khimiya drevesiny*, 1981, no. 4, pp. 66–72. (in Russ.).
57. Rusakov A.Ye., Lazareva M.A., Nefedov P.P., Shcherbakova L.D., Ivanov M.A., Zakharov V.I. *Khimiya drevesiny*, 1982, no. 5, pp. 89–95. (in Russ.).
58. Connors W.I., Sarkanen S., McCarthy J.L. *Holzforchung*, 1980, vol. 34, no. 3, pp. 80–85. DOI: 10.1515/hfsg.1980.34.3.80.
59. Sarkanen S., Teller D.C., Hall J., McCarthy J.L. *Macromolecules*, 1981, vol. 14, pp. 426–434. DOI: 10.1021/ma50003a037.
60. Hortling B., Turunen E., Kokkonen P. *Proc. 10th Int. Symp. Wood and Pulp. Chem.* Yokohama, 1999, vol. 1, pp. 48–53.
61. Froment P., Robert A. *Cellulose Chem. Technol.*, 1977, vol. 11, pp. 691–696.
62. Marton J., Marton T. *Tappi*, 1964, vol. 47, pp. 471–476.
63. Evstigneyev E.I., Yuzikhin O.S., Gurinov A.A., Ivanov A.Yu., Artamonova T.O., Khodorovskiy M.A., Besonova E.A., Vasilyev A.V. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 2016, vol. 36, pp. 259–269. DOI: 10.1080/02773813.2015.1137945.

64. Metzger J.O., Bicke O., Faix O., Tuszynski W., Angermann R., Karas M., Strupat K. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1992, vol. 31, pp. 762–764. DOI: 10.1002/anie.199207621.
65. Zinovyev G., Sulaeva I., Podzimek S., Rössner D., Kilpeläinen I., Summerskii I., Rosenau T., Potthast A. *ChemSusChem*, 2018, vol. 11, pp. 3259–3268. DOI: 10.1002/cssc.201801177.
66. Tolbert A., Akinosho H., Khunsupat R., Naskar A.K., Ragauskas A.J. *Biofuels, Bioprod. Bioref.*, 2014, vol. 8, no. 6, pp. 836–856. DOI: 10.1002/bbb.1500.
67. *Fizicheskaya khimiya lignina* [Physical chemistry of lignin], ed. K.G. Bogolitsyn, V.V. Lunin. Moscow, 2010, 492 p. (in Russ.).
68. Liebovitch L.S. *Fractals and chaos simplified for the life sciences*. New York: Oxford University Press, 1998, 268 p.
69. Karmanov A.P. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 1999, no. 1, pp. 65–74. (in Russ.).
70. Karmanov A.P., Monakov Y.B. *Russ. Chem. Rev.*, 2003, vol. 72, pp. 715–734. DOI: 10.1070/RC2003v072n08ABEH000767.
71. Achyuthan K.E., Achyuthan A.M., Adams P.D., Dirk S.M., Harper J.C., Simmons B.A., Singh A.K. *Molecules*, 2010, vol. 15, pp. 8641–8688. DOI: 10.3390/molecules15118641.
72. Faulon J.L., Hatcher P.G. *Energy & Fuels*, 1994, vol. 8, pp. 402–407.
73. Faulon J.L. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 1994, vol. 34, pp. 1204–1218. DOI: 10.1021/ci00021a031.
74. Srzić D., Martinović S., Tolić L.P., Kezele N., Shevchenko S.M., Klasinc L. *Rapid Commun. in Mass Spectrom.*, 1995, vol. 9, pp. 245–249. DOI: 10.1002/(SICI)1097-0231(19960331)10:5<580::AID-RCM498>3.0.CO;2-8.
75. Radotić K., Simić-Krstić J., Jeremić M., Trifunović M. *Biophysical J.*, 1994, vol. 66, pp. 1763–1767. DOI: 10.1016/S0006-3495(94)81007-0.
76. Luner P., Roseman G. *Holzforschung*, 1986, vol. 40, pp. 61–66.
77. Forss K., Fremer K.-E. *J. Appl. Polym. Sci.: Appl. Polym. Symp.*, 1983, vol. 37, pp. 531–547.
78. Forss K., Fremer K.-E. *Lignin: Historical, Biological, and Materials Perspectives*. ACS Symp. Series 742. Washington, 1999, pp. 100–116.
79. Atalla R.H., Agarwall U.P. *Science*, 1985, vol. 227, pp. 636–638. DOI: 10.1126/science.227.4687.636.
80. Agarwall U.P., Atalla R.H. *Planta*, 1986, vol. 169, pp. 325–332.
81. Mičić M., Jeremić M., Radotić K., Mavers M., Leblanc R.M. *Scanning*, 2000, vol. 22, pp. 288–294. DOI: 10.1002/SCA.4950220503.
82. Micic M., Radotic K., Jeremic M., Djikanovic D., Kämmera S.B. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2004, vol. 34, pp. 33–40. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2003.10.018.
83. Abreu H.S., Latorraca J.V.F., Pereira R.P.W., Monteiro M.B.O., Abreu F.A., Amparado K.F. *An. Acad. Bras. Cienc.* 2009, vol. 81, pp. 137–142. DOI: 10.1590/s0001-37652009000100014.
84. Terashima N., Yoshida M., Hafrén J., Fukushima K., Westermark U. *Holzforschung*, 2012, vol. 66, pp. 907–915. DOI: 10.1515/hf-2012-0021.
85. Terashima N. *Mokuzai Gakkaishi*, 2013, vol. 59, pp. 65–80. DOI: 10.2488/jwrs.59.65.
86. Katayama Y., Morohoshi N., Haraguchi T. *Mokuzai Gakkaishi*, 1980, vol. 26, pp. 358–362.
87. Tanaka K., Nakatsubo F., Higuchi. *Mokuzai Gakkaishi*, 1979, vol. 25, pp. 653–659.
88. Zhao X., Qi F., Liu D. *Nanotechnology for bioenergy and biofuel production*. Cham, 2016, pp. 117–152.
89. Eriksson O., Goring D., Lindgren B. *Wood Sci. Technol.*, 1980, vol. 14, pp. 267–279. DOI: 10.1007/BF00383454.
90. Kosikova B., Ebringerova A. *Wood Sci. Technol.*, 1994, vol. 28, pp. 291–296.
91. Albersheim P., Darvill A., Roberts K., Sederoff R., Staehelin A. *Plant cell walls: from chemistry to biology*. New York: Taylor & Francis Group, 2010, pp. 67–118.
92. *Gemitsellyulozy* [Hemicelluloses], ed. M.S. Dudkin, V.S. Gromov. Riga, 1991, 488 p. (in Russ.).
93. Björkman A. *Svensk Papperstidn*, 1956, vol. 59, pp. 477–485.
94. Holtman K., Chang H., Jameel H., Kadla J.F. *J. Wood Chem. Technol.*, 2006, vol. 26, pp. 21–34. DOI: 10.1080/02773810600582152.
95. Balakshin M., Capanema E., Gracz H., Chang H.-M., Jameel H. *Planta*, 2011, vol. 233, pp. 1097–1110. DOI: 10.1007/s00425-011-1359-2.
96. You T.-T., Zhang L.-M., Zhou S.-K., Xu F. *Ind. Crop. Prod.*, 2015, vol. 71, pp. 65–74.
97. Watanabe T., Azyma J., Koshijima T. *Mokuzai Gakkaishi*, 1987, vol. 33, pp. 798–803.
98. *Molecular Catenanes, Rotaxanes and Knots*, ed. J.-P. Sauvage, C. Dietrich-Buchecker. New York, 1999. 365 p.
99. *Catenane*. URL: https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Catenane_ChemComm_244_1985.jpg.
100. *Rotaxane Crystal Structure*. URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A4%D0%B0%D0%B9%D0%BB:Rotaxane_Crystal_Structure_EurJOrgChem_page2565_year1998.png
101. Gellerstedt G. *Pulp Bleaching. Principles and Practice*. Atlanta, 1996. Pp. 93–111.
102. Tarasov D., Leitch M., Fatehi P. *Biotechnol Biofuels*, 2018, vol. 11, p. 269. DOI: 10.1186/s13068-018-1262-1.
103. Giunmarella N., Balakshin M., Koutaniemi S., Kärkönen A., Lawoko M. *Journal of Experimental Botany*, 2019, vol. 70, no. 20, pp. 5591–5601. DOI: 10.1093/jxb/erz324.
104. Baucher M., Halpin C., Petit-Conil M., Boerjan W. *Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 2003, vol. 38, pp. 305–350. DOI: 10.1080/10409230391036757.
105. Zeng Y., Zhao S., Yang S., Ding S.-Y. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2014, vol. 27, pp. 38–45. DOI: 10.1016/j.cop-bio.2013.09.008.
106. Besle J.-M., Cornu A., Jouany J.-P. *J. Sci. Food Agric.*, 1994, vol. 64, pp. 171–190. DOI: 10.1002/jsfa.2740640206.

107. Lebedev V.G., Shestibratov K.A. *Fiziologiya rasteniy*, 2021, vol. 68, pp. 339–355. DOI: 10.31857/S0015330321030106. (in Russ.).
108. Coleman H.D., Park J.-Y., Nair R., Chapple C., Mansfield S.D. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2008, vol. 105, pp. 4501–4506. DOI: 10.1073/pnas.0706537105.
109. Lu F., Marita J.M., Lapierre C., Jouanin L., Morreel K., Boerjan W., Ralph J. *Plant Physiol.*, 2010, vol. 153, pp. 569–579. DOI: 10.1104/pp.110.154278.
110. Wagner A., Tobimatsu Y., Phillips L., Flint H., Torr K., Donaldson L., Pears L., Ralph J. *Plant J.*, 2011, vol. 67, pp. 119–129. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2011.04580.x.
111. Ralph J. *The Science and Lore of the Plant Cell Wall Biosynthesis, Structure and Function*. Universal Publishers Brown Walker Press, 2006, pp. 285–293.
112. Mourasobczak J., Souza U., Mazzafera P. *BMC Proc.*, 2011, vol. 5, p. 103. DOI: 10.1186/1753-6561-5-S7-P103.
113. Khaledian Y., Maali-Amiri R., Talei A. *Russ. J. Plant Physiol.*, 2015, vol. 62, pp. 772–778. DOI: 10.1134/S1021443715060102.
114. Seong E.S., Jeon M.R., Choi J.H., Yoo J.H., Lee J.G., Na J.K., Kim N.Y., Yu C.Y. *Russ. J. Plant Physiol.*, 2020, vol. 67, pp. 242–249. DOI: 10.1134/S1021443720020144.
115. Cesarino I. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2019, vol. 56, pp. 209–214. DOI: 10.1016/j.copbio.2018.12.012.
116. Leple J.-C., Dauwe R., Morreel K. et al. *Plant Cell.*, 2007, vol. 19, pp. 3669–3691. DOI: 10.1105/tpc.107.054148.
117. Stewart J.J., Akiyama T., Chapple C.C., Ralph J., Mansfield S.D. *Plant Physiol.*, 2009, vol. 150, pp. 621–635. DOI: 10.1104/pp.109.137059.
118. Wilkerson C.G., Mansfield S.D., Lu F. et al. *Science*, 2014, vol. 344, pp. 90–93. DOI: 10.1126/science.1250161.
119. Zhou S., Runge T., Karlen S.D., Ralph J., Gonzales-Vigil E., Mansfield S.D. *ChemSusChem.*, 2017, vol. 10, pp. 3565–3573. DOI: 10.1002/cssc.201701317.
120. Ragauskas A.J., Beckham G.T., Biddy M.J., Chandra R., Chen F., Davis M.F., Davison B.H., Dixon R.A., Gilna P., Keller M. et al. *Science*, 2014, vol. 344, 1246843. DOI: 10.1126/science.1246843.
121. Rinaldi R., Jastrzebski R., Clough M.T., Ralph J., Kennema M., Bruijninx P.C.A., Weckhuysen B.M. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2016, vol. 55, pp. 8164–8215. DOI: 10.1002/anie.201510351.
122. Evstigneyev E.I. *J. Wood Chem. Technol.*, 2018, vol. 38, pp. 409–415. DOI: 10.1080/02773813.2018.1500607.
123. Chen F., Tobimatsu Y., Havkin-Frenkel D., Dixon R.A., Ralph J. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, vol. 109, pp. 1772–1777. DOI: 10.1073/pnas.112099210.
124. Chen F., Tobimatsu Y., Jackson L., Nakashima J., Ralph J., Dixon R.A. *Plant J.*, 2013, vol. 73, pp. 201–211. DOI: 10.1111/tpj.12012.
125. Voelker S.L., Lachenbruch B., Meinzer F.C., Kitin P., Strauss S.H. *Plant Cell. Environ.*, 2011, vol. 34, pp. 655–668. DOI: 10.1111/j.1365-3040.2011.02270.x.
126. Bonawitz N.D., Chapple C. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2013, vol. 24, pp. 336–343. DOI: 10.1016/j.copbio.2012.11.004.
127. Zhao Q., Dixon R.A. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 2014, vol. 52, pp. 69–91. DOI: 10.1146/annurev-phyto-082712-102237.
128. Yevstigneyev E.I. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2022, no. 1, pp. 11–33. DOI: 10.14258/jcprm.2022019211. (in Russ.).
129. Heisenberg W. *Physics and philosophy: the revolution in modern science*. New York, 2007, 256 p.

Received October 28, 2022

Revised September 4, 2023

Accepted September 6, 2023

Сведения об авторе

Евстигнеев Эдуард Иванович – доктор химических наук, профессор, профессор кафедры технологии лесохимических продуктов, химии древесины и биотехнологии, edward_evst@mail.ru

Information about author

Yevstigneyev Eduard Ivanovich – Doctor of Chemical Sciences, Professor, Professor of the Department of Technology of Forest Chemical Products, Wood Chemistry and Biotechnology, edward_evst@mail.ru