

УДК 543.632.538

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЛИГНИНОВ РАЗЛИЧНЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ФОРМ С ПРИМЕНЕНИЕМ СПЕКТРОСКОПИИ ^{31}P -ЯМР

© Ю.А. Попова*, С.Л. Шестаков, А.Ю. Кожевников, Д.С. Косяков, С.А. Сыпалов

Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова,
наб. Северной Двины, 17, Архангельск, 163002 (Россия),
e-mail: yuliya.popova01@mail.ru

Лигнин является одним из наиболее распространенных биополимеров. Данные о функциональном составе и структуре различных лигнинов могут быть полезны при исследовании процессов биосинтеза в растениях. Предметом статьи является определение возможности применения спектроскопии ^{31}P -ЯМР к идентификации лигнинов, полученных из различных растительных форм. Для получения спектров на ядрах ^{31}P применялась модификация исследуемых образцов путем фосфитилирования их ОН-групп специальным агентом. Проведен качественный и количественный анализ образцов лигнинов древесины хвойных и лиственных пород, а также травянистых растений. По данным спектров ЯМР отмечены различия функционального состава лигнинов, полученных из разного растительного сырья. Подтверждено, что в структуре лигнинов древесины хвойных и лиственных пород преобладают гваяцилпропановые и сирингилпропановые структурные единицы соответственно. Выявлено, что лигнины травянистых растений содержат в заметных количествах все виды ОН-групп, встречающихся в лигнинах, включая *n*-оксифенильные группы. Обнаружено, что в образцах травянистых растений в большинстве случаев содержатся фрагменты соединений класса флавоноидов. Спектр ^{31}P -ЯМР кверцетина как одного из представителей флавоноидов был зарегистрирован, а также смоделирован с помощью программного пакета ACDLabs для подтверждения наличия флавоновых структур в макромолекулах лигнинов трав.

Ключевые слова: лигнины, ЯМР, ^{31}P -ЯМР, функциональный анализ, фосфитилирование.

Введение

Лигнин представляет собой смесь ароматических полимеров сходного строения, содержащихся в клеточных стенках растений. Лигнины считаются дегидрогенизационными полимерами из трех монолигнолов: *n*-кумарового спирта, кониферилового спирта и синапового спирта, имеющих фенилпропановую структуру. Лигнины в своем природном состоянии (протолигнины) сгруппированы в несколько типов, характерных для лиственных пород, хвойных пород и трав. Древесина лиственных пород (покрытосеменных) содержит 19–23% лигнина, построенного из гваяцилпропановых и сирингилпропановых структурных единиц. Содержание фенольных гидроксильных групп в лигнине лиственных пород древесины составляет, по разным оценкам, от 1.5 до 3 ммоль/г [1–3]. В древесине хвойных пород (голосеменных) 25–30% лигнина, состоящего преимущественно из структур гваяцильного типа с содержанием фенольных гидроксильных групп около 1.2 ммоль/г [1]. Лигнины, полученные из трав, помимо вышеперечисленных структурных единиц, содержат значительное количество *n*-оксифенилпропановых структур, содержание *n*-оксифенильных гидроксильных групп составляет порядка 0.7 ммоль/г [4–6]. Однако лигнины травянистых растений недостаточно изучены в части входящих в них структур.

Попова Юлия Александровна – инженер центра коллективного пользования научным оборудованием «Арктика», e-mail: yuliya.popova01@mail.ru
Шестаков Семен Леонидович – старший научный сотрудник центра коллективного пользования научным оборудованием «Арктика», кандидат физико-математических наук, e-mail: s.shestakov@narfu.ru
Кожевников Александр Юрьевич – заместитель директора центра коллективного пользования научным оборудованием «Арктика», кандидат химических наук, e-mail: akozhevnikov@mail.ru
Косяков Дмитрий Сергеевич – директор центра коллективного пользования научным оборудованием «Арктика», кандидат химических наук, e-mail: kosyakov@mail.ru
Сыпалов Сергей Александрович – инженер центра коллективного пользования научным оборудованием «Арктика», e-mail: syrych.one@yandex.ru

В последнее время наблюдается значительный рост интереса к лигнину как возобновляемому

* Автор, с которым следует вести переписку.

источнику ароматических соединений, альтернативных некоторым нефтехимическим продуктам. В связи с этим является актуальным решение задач характеристики функционального состава препаратов лигнина различного происхождения [7–12].

Одним из перспективных методов при исследовании структуры лигнина является спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР). В настоящее время ЯМР занимает лидирующие позиции как практически единственный неdestructивный метод анализа [11]. Также спектроскопия ЯМР является одним из перспективных методов исследования лигнина в части установления его функционального состава [1, 13, 14] и особенно структур фрагментов, входящих в него.

Спектроскопия ^{31}P -ЯМР лигнина позволяет количественно определять содержание гидроксильных групп различных типов, в частности, алифатических, фенольных гидроксильных групп, а также карбоксильных групп. Эти функциональные группы входят в число основных, поэтому их количественное определение важно для структурного анализа лигнина [1].

Для определения гидроксильных групп в лигнине применяется предварительная модификация образца. Наиболее применяемым методом является фосфитилирование лигнина 2-хлор-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксофосфофаном с последующим получением ЯМР-спектров на ядрах ^{31}P [1, 12, 14–16].

Лигнины разных растительных форм отличаются по содержанию различных фенилпропановых структур и, следовательно, соответствующих им гидроксильных групп, что приводит к различиям в положении и относительной интенсивности линий спектров ^{31}P -ЯМР. Таким образом, с помощью метода ЯМР-спектроскопии можно определить, из какой растительной формы получен лигнин.

В литературе преимущественно сравнивают лигнины хвойных и лиственных пород древесины с помощью спектроскопии ^{13}C -ЯМР [1, 17]. Сравнение с использованием метода ^{31}P -ЯМР упоминается реже [14], однако данный метод является не менее информативным. Кроме того, в литературе недостаточно данных по сравнению фрагментов лигнинов лиственных, хвойных пород и лигнинов травянистых растений.

Цель данного исследования – установление различия содержания гидроксильных групп различных типов в лигнинах, полученных из различных растительных форм (хвойных и лиственных лигнинов, лигнинов травянистых растений), с применением спектроскопии ^{31}P -ЯМР.

Экспериментальная часть

Объекты исследования. В качестве объектов исследования выбраны нативные лигнины, выделенные из разных растительных форм, указанных в таблице 1. Все лигнины выделялись по методу Пеппера [18].

Реагенты и материалы. Для дериватизации использовались следующие материалы: Пиридин, 99.8%, Sigma-Aldrich; Хлороформ- d_1 , 99.8%, DeuteroGmbH; Трис-ацетилацетонат хрома (III), 99.99%, Sigma-Aldrich; 2-хлор-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксофосфофан, 95%, Sigma-Aldrich.

В качестве внутренних стандартов для количественного определения гидроксильных групп использовались холестерин (95%, Sigma-Aldrich) и эндо-N-гидрокси-5-норборнен-2,3-дикарбоксимид (97%, Sigma-Aldrich). Также в качестве модельного соединения был использован кверцетин (95%, Sigma-Aldrich).

Подготовка образцов для анализа ЯМР ^{31}P . Использованы наиболее распространенные стандартные методики для анализа ^{31}P [1, 15]. Для анализа лигнинов методом ^{31}P -ЯМР применяется фосфитилирование гидроксильных групп специальными агентами. Около 10 мг лигнина полностью растворяли в 0.5 мл свежеприготовленной смеси нейтрерированного пиридина и дейтерированного хлороформа (1.6 : 1, об/об). К образцу добавляли 100 мкл внутреннего стандарта (раствор холестерина или N-гидрокси-5-норборнен-2,3-дикарбоксимида с концентрацией ~0.12 М) и 100 мкл релаксанта (раствор трис-ацетилацетоната хрома (III) с концентрацией ~5 мг/мл). Растворы обоих реагентов готовили с использованием вышеуказанной смеси растворителей. Внутренний стандарт применялся для количественного анализа гидроксильных групп образца, релаксант необходим для сокращения времени эксперимента. Таким образом, отношение внутреннего стандарта к лигнину составляло около 0.3 мкмоль/мг, в соответствии со стандартными методиками [1, 15]. Для фосфитилирования гидроксильных групп к смеси добавляли 50 мкл 2-хлор-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксофосфолана, взятого в избыточном количестве для получения в спектре калибровочного сигнала, отвечающего продукту реакции фосфитилирующего агента с водой. После завершения реакции фосфитилирования (приблизительно 5 мин) содержимое пробирки перемешивали и 0.6 мл раствора переносили в ампулу для ЯМР-анализа диаметром 5 мм.

Таблица 1. Объекты исследования

Растительная форма	Название
Хвойные деревья	Ель обыкновенная (<i>Picea abies</i>)
	Сосна обыкновенная (<i>Pinus sylvestris</i>)
Лиственные деревья	Береза повислая (<i>Betula pendula</i>)
	Рябина обыкновенная (<i>Sorbus aucuparia</i>)
	Липа сердцевидная (<i>Tilia cordata</i>)
Травянистые растения	Тритикале (\times <i>Triticale</i>)
	Осока мохнатая (<i>Carex hirta</i>)
	Пырей ползучий (<i>Elytrigia repens</i>)

Параметры регистрации спектров ^{31}P -ЯМР. Спектры ^{31}P -ЯМР регистрировались на импульсном ЯМР-спектрометре Bruker AVANCE III™ 600 с рабочей частотой для протонов 600 МГц. Для регистрации спектров применялась стандартная одноимпульсная последовательность с длительностью импульса 12 мкс. Время регистрации спада свободной индукции составляло 1.1 с, задержка между импульсами была равна 25 с. Ширина спектрального диапазона составила ~60 м.д., спектры ЯМР усреднялись по 512 накоплениям. При регистрации спектров в датчике поддерживалась температура 298 К.

Количественный анализ. Спектры ^{31}P -ЯМР позволяют определить массовую долю гидроксильных групп, относящихся к различным структурным единицам в образце. Расчет состава производили на основе данных об интегральной интенсивности сигналов ^{31}P -ЯМР. Поскольку интенсивность сигнала зависит от концентрации ядер, дающих данный сигнал, и известна масса (концентрация) добавленного стандарта, то становится возможным рассчитать концентрации ядер, принадлежащих различным группам атомов.

Результаты и обсуждение

Спектры ^{31}P -ЯМР некоторых исследованных образцов представлены на рисунке 1.

В области ~132.2 м.д. наблюдается сигнал, соответствующий атому фосфора в составе продукта реакции фосфитилирующего агента с водой, по этому пику производится калибровка всего спектра [1]. В областях ~145 м.д. и ~152 м.д. наблюдаются сигналы, отвечающие гидроксильным группам внутренних стандартов – холестерина и эндо-N-гидрокси-5-норборнен-2,3-дикарбоксимида соответственно. В области ~135 м.д. проявляется сигнал, соответствующий карбоксильным ОН-группам лигнинов. В области ~138 м.д. наблюдается сигнал *n*-оксифенильных групп. В диапазоне химических сдвигов ~139–140 м.д. наблюдаются сигналы гваяцильных ОН-групп, в области ~142–144 м.д. находятся сигналы, отвечающие сирингильным ОН-группам. В диапазоне ~146–150 м.д. проявляются сигналы алифатических ОН-групп [19].

Обнаружено, что спектры ^{31}P -ЯМР лигнинов различных растительных форм различаются по относительной интенсивности сигналов в вышеуказанных диапазонах, а, следовательно, и по содержанию соответствующих функциональных групп.

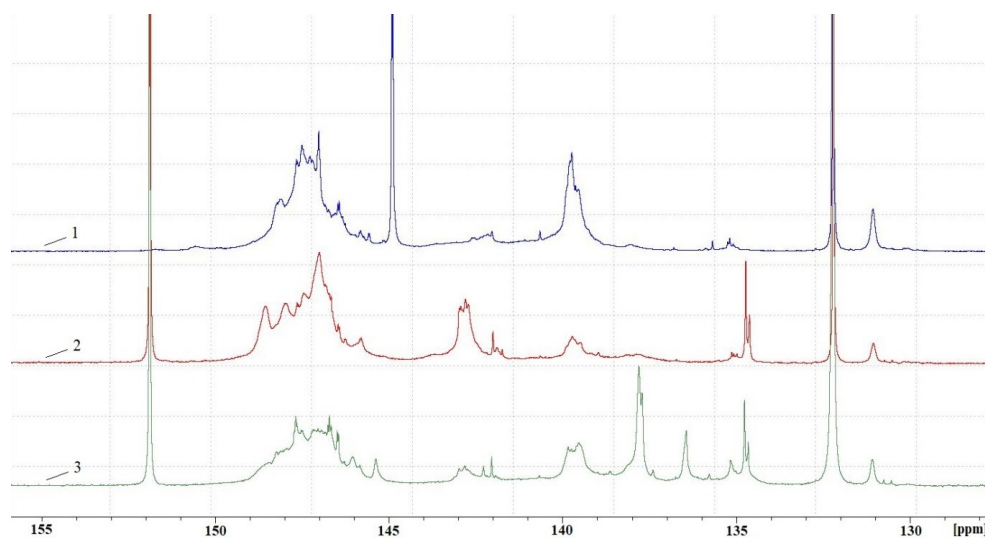


Рис. 1. Спектры ^{31}P -ЯМР образцов лигнинов: 1 – ель; 2 – береза; 3 – осока

Из спектров ^{31}P -ЯМР лигнинов хвойных пород (рис. 2) следует, что наибольшую интенсивность среди сигналов фенольных гидроксильных групп имеют сигналы, соответствующие гваяцильным ОН-группам (~139–140 м.д.). В то же время сигналы, отвечающие сирингильным ОН-группам, практически отсутствуют в спектрах. Из литературных данных известно, что лигнины хвойных пород древесины состоят преимущественно из гваяцилпропановых структурных единиц [4, 8], что подтверждается экспериментальными данными.

Спектры ^{31}P -ЯМР лигнинов лиственных пород (рис. 3) показывают, что, в отличие от лигнинов хвойных пород, наряду с гваяцильными ОН-группами (~139–140 м.д.) в значительном количестве присутствуют и сирингильные ОН-группы (~142–144 м.д.). Из анализа относительной интенсивности сигналов фенольных гидроксильных групп следует, что в лигнинах лиственных пород древесины преобладают сирингилпропановые структурные единицы, что согласуется с литературными данными [4].

В отличие от лигнинов, выделенных из древесины, лигнины трав содержат в заметных количествах все типы гидроксильных групп, распространенных в лигнинах. Спектры ^{31}P -ЯМР лигнинов трав представлены на рисунке 4.

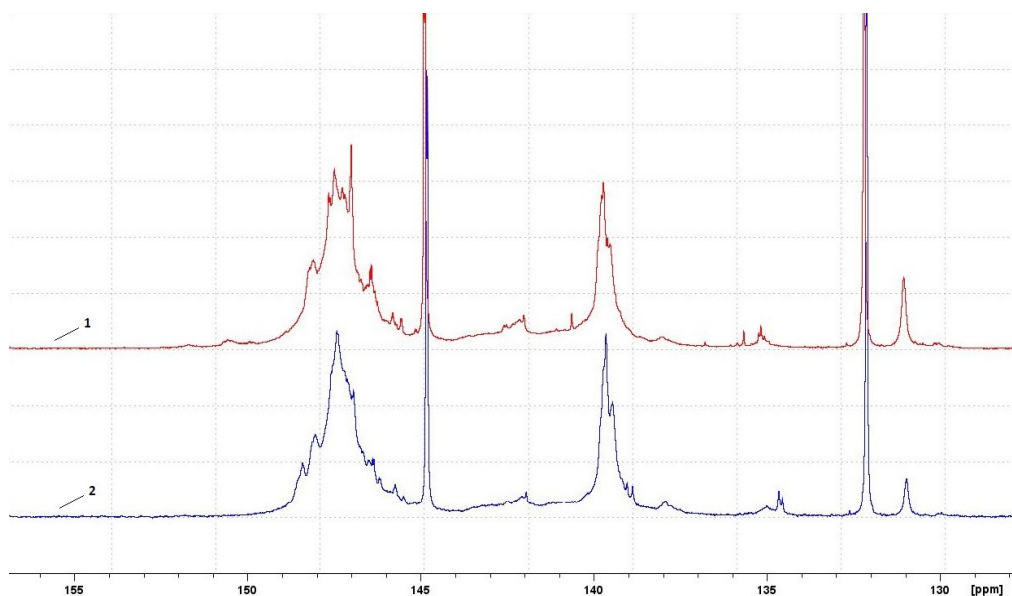


Рис. 2. Спектры ^{31}P -ЯМР образцов лигнинов хвойных пород древесины: 1 – ель; 2 – сосна

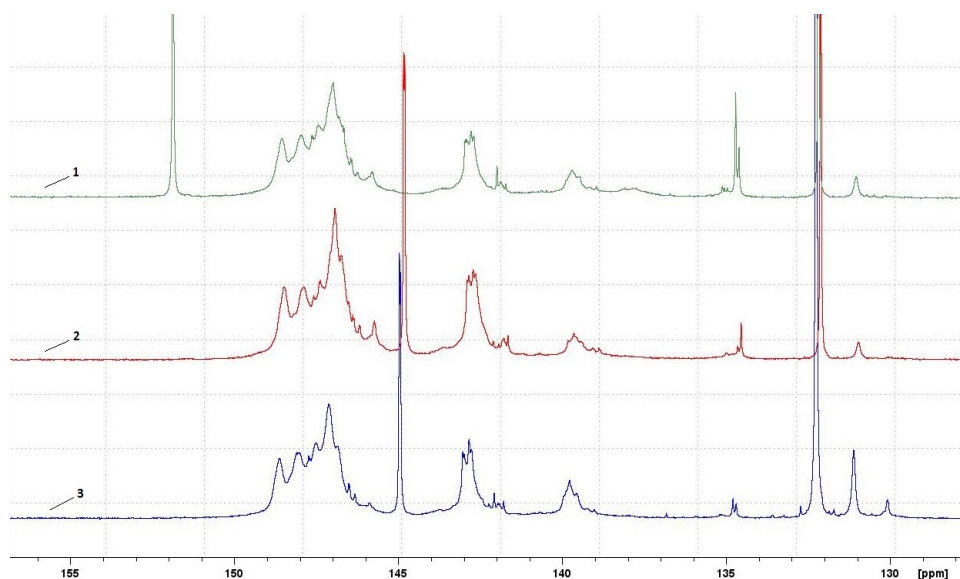


Рис. 3. Спектры ^{31}P -ЯМР образцов лигнинов лиственных пород: 1 – береза; 2 – рябина; 3 – липа

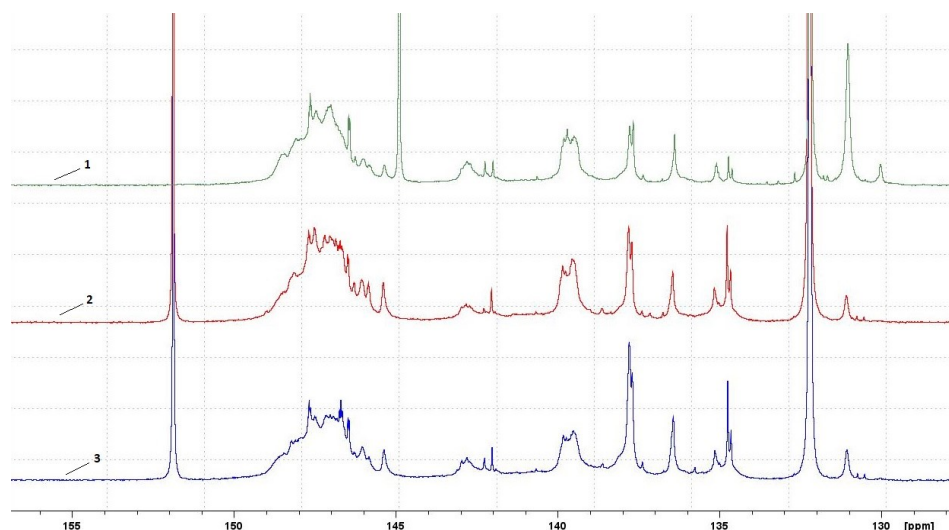


Рис. 4. Спектры ^{31}P -ЯМР образцов лигнинов трав: 1 – тритикале; 2 – пырей; 3 – осока

Во всех спектрах наблюдается сигнал в области ~ 136.4 м.д., который не отвечает ни одной из распространенных функциональных ОН-групп лигнинов. В литературе, как правило, описание данного сигнала не приводится, но в единичных источниках его относят к группе флавоноидов [2, 20].

Известно, что лигнины травянистых растений плохо поддаются очистке от экстрактивных веществ, в частности, флавоноидов, содержащихся в растениях. Нами было предположено, что сигнал, наблюдаемый в области ~ 136.4 м.д., соответствует ОН-группам флавоноидов. Для проверки предположения был зарегистрирован спектр ^{31}P -ЯМР кверцетина, как одного из представителей флавоноидов (рис. 5). Подготовку образца кверцетина проводили по той же процедуре, что и образцов лигнинов, однако масса навески была уменьшена до 5 мг для сохранения избыточного количества фосфитилирующего агента.

В спектре кверцетина наблюдается сигнал в области ~ 136.4 м.д., его химический сдвиг с точностью до 0.1 м.д. совпадает с химическим сдвигом ранее отмеченного сигнала в спектрах ^{31}P -ЯМР трав. Отнесение рассмотренного сигнала, представленное на рисунке 5, было выполнено с помощью моделирования средствами программного пакета ACDLabs 2015. Таким образом, можно заключить, что в образцах лигнинов травянистых растений в большинстве случаев присутствуют флавоноиды. Это может быть связано с тем, что флавоноиды имеют химическую связь с фенилпропановыми единицами лигнина и не отделяются от него в процессе выделения лигнина.

Результаты расчетов долей гидроксильных групп в исследованных лигнинах даны в таблице 2.

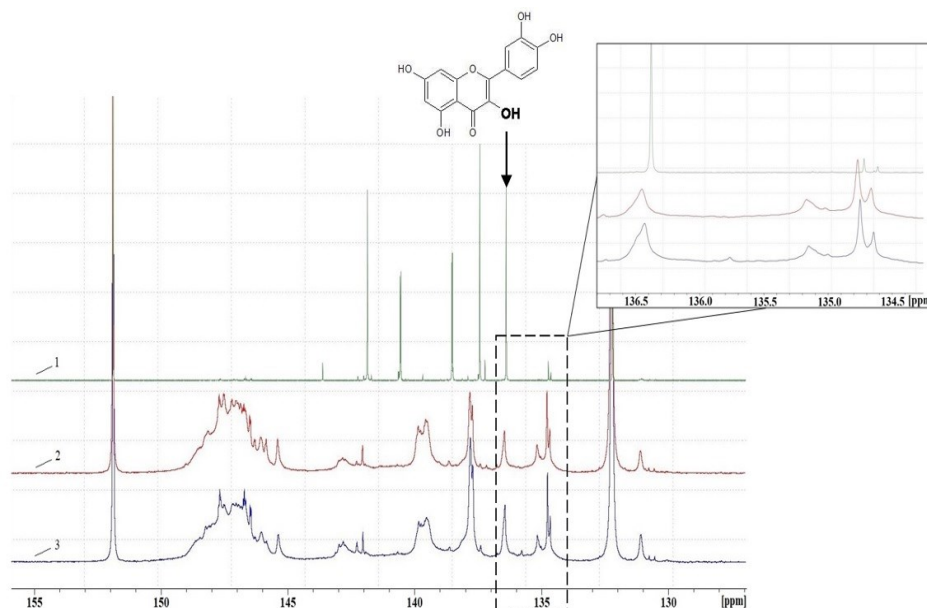


Рис. 5. ^{31}P -ЯМР спектры: 1 – кверцетин; 2 – пырей; 3 – осока

Таблица 2. Массовые доли функциональных ОН-групп в лигнинах разного происхождения, %

Диоксанлигнины	Функциональные ОН-группы				
	Карбоксильные	Гваяцильные	<i>n</i> -оксибензильные	Сирингильные	Алифатические
Ель	0.04	3.42	–	0.77	7.99
Сосна	0.05	2.2	–	0.23	5.88
Береза	0.39	0.65	–	1.77	7.15
Рябина	0.09	0.47	–	1.95	6.62
Липа	0.05	0.59	–	1.60	6.08
Тритикале	0.15	1.21	0.56	0.50	6.03
Пырей	0.62	1.32	0.79	0.24	6.17
Осока	0.59	1.2	1.53	0.44	5.27

Заключение

В результате исследования с применением спектроскопии ³¹P-ЯМР установлено различие содержания гидроксильных групп различных типов в лигнинах, полученных из разных растительных форм. Подтверждено, что в лигнинах хвойных пород древесины практически отсутствуют сирингилпропановые структурные единицы, в отличие от лигнинов лиственных пород. Установлено, что лигнины травянистых растений в заметных количествах содержат все типы функциональных ОН-групп, распространенных в лигнинах. Кроме того, обнаружено, что в образцах лигнинов травянистых растений в большинстве случаев присутствуют фрагменты флавоноидов, что следует из появления в спектрах ³¹P-ЯМР сигнала, не отвечающего ни одной из распространенных функциональных ОН-групп.

Список литературы

- Balakshin M.Yu., Capanema E.A. On the quantification of lignin hydroxyl groups with ³¹P and ¹³C NMR spectroscopy // *Journal of Wood Chemistry and Technology*. 2015. Vol. 35. N3. Pp. 220–237. DOI: 10.1080/02773813.2014.928328.
- Crestini C., Argyropoulos D.S. Structural analysis of wheat straw lignin by quantitative ³¹P and 2D NMR spectroscopy. The occurrence of ester bonds and α -O-4 substructures // *J. Agric. Food Chem.* 1997. Vol. 45. N4. Pp. 1212–1219. DOI: 10.1021/jf960568k.
- Калабин Г.А., Каницкая Л.В., Кушнарев Д.Ф. Количественная спектроскопия ЯМР природного органического сырья и продуктов его переработки. М.: Химия, 2000. 408 с.
- Sarkanen K.V., Ludwig C.H. Lignins: Occurrence, formation, structure and reactions. New-York: Wiley-Interscience, 1971. 916 p.
- Dashtban M., Schraft H., Syed T.A., Qin W. Fungal biodegradation and enzymatic modification of lignin // *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 2010. Vol. 1. N1. Pp. 36–50.
- Capanema E.A., Balakshin M.Yu., Kadla J.F. Quantitative characterization of a hardwood milled wood lignin by Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy // *J. Agric. Food Chem.* 2005. Vol. 53 (25). Pp. 9639–9649. DOI: 10.1021/jf0515330.
- Wang H., Pu Y., Ragauskas A., Yang B. From lignin to valuable products—strategies, challenges, and prospects // *Bioresource Technology*. 2019. Vol. 271. Pp. 449–461. DOI: 10.1016/j.biortech.2018.09.072.
- Боголицын К.Г., Лунин В.В. Физическая химия лигнина. Архангельск, 2009. 489 с.
- Monteil-Rivera F., Phuong M., Ye M., Halasz A., Hawari J. Isolation and characterization of herbaceous lignins for applications in biomaterials // *Industrial Crops and Products*. 2013. Vol. 41. Pp. 356–364. DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.04.049.
- Xia Z., Akim L.G., Argyropoulos D.S. Quantitative ¹³C NMR analysis of lignins with internal standards // *Journal of agricultural and food chemistry*. 2001. Vol. 49. N8. Pp. 3573–3578. DOI: 10.1021/jf010333v.
- Stark N.M., Yelle D.J., Agarwal U.P. Techniques for characterizing lignin // *Lignin in polymer composites*. Elsevier Inc., 2016. Pp. 49–65. DOI: 10.1016/B978-0-323-35565-0.00004-7.
- Fitigau I.F., Peter F., Boeriu C.G. Structural analysis of lignins from different sources // *International Journal of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering*. 2013. Vol. 7. N4. Pp. 167–172.
- Kanitskaya L.V., Gorotov A.F., Khai D.T.T., Rokhin A.V. Quantitative ¹³C NMR spectroscopy. Chemical structure of kraft and nitrosated lignins // *Russ. J. Bioorg. Chem.* 2012. Vol. 38. N7. Pp. 720–725. DOI: 10.1134/S1068162012070102.
- Pu Y., Cao S., Ragauskas A.J. Application of quantitative ³¹P NMR in biomass lignin and biofuel precursors characterization // *Energy Environ. Sci.* 2011. Vol. 4. Pp. 3154–3166. DOI: 10.1039/C1EE01201K.
- Granata A., Argyropoulos D.S. 2-Chloro-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaphospholane, a reagent for the accurate determination of the uncondensed and condensed phenolic moieties in lignins // *J. Agric. Food Chem.* 1995. Vol. 43. N6. Pp. 1538–1544. DOI: 10.1021/jf00054a023.

16. Шестаков С.Л., Косяков Д.С., Кожевников А.Ю., Ульяновский Н.В., Попова Ю.А. Совершенствование методики определения гидроксильных групп лигнина методом ЯМР-спектроскопии // Химия растительного сырья. 2017. №2. С. 81–88. DOI: 10.14258/jcprm.2017021641.
17. Nimz H.H., Robert D., Faix O., Nemr M. Carbon-13 NMR spectra of lignins, 8. Structural differences between lignins of hardwoods, softwoods, grasses and compression wood // *Holzforschung*. 1981. Vol. 35. N1. Pp. 16–26. DOI: 10.1515/hfsg.1981.35.1.16.
18. 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 // *Can. J. Chem.* 1959. Vol. 37. N8. Pp. 1241–1248. DOI: 10.1139/v59-183.
19. Преч Э., Бюльманн Ф., Аффольтер К. Определение строения органических соединений. Таблицы спектральных данных. М.: Мир, 2006. 438 с.
20. Constant S., Wienk H.L.J., Frissen A.E., Peinder P., Boelens R. et al. New insights into the structure and composition of technical lignins: a comparative characterization study // *Green Chem.* 2016. Vol. 18. Pp. 2651–2665. DOI: 10.1039/c5gc03043a.

Поступила в редакцию 1 февраля 2019 г.

После переработки 22 апреля 2019 г.

Принята к публикации 27 мая 2019 г.

Для цитирования: Попова Ю.А., Шестаков С.Л., Кожевников А.Ю., Косяков Д.С., Сыпалов С.А. Сравнительный анализ лигнинов различных растительных форм с применением спектроскопии ³¹P-ЯМР // Химия растительного сырья. 2019. №4. С. 57–64. DOI: 10.14258/jcprm.2019045119.

*Popova Yu.A.**, *Shestakov S.L.*, *Kozhevnikov A.Yu.*, *Kosyakov D.S.*, *Sypalov S.A.* COMPARATIVE ANALYSIS OF LIGNINS OF VARIOUS PLANT FORMS BY ³¹P-NMR

Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov, nab. Severnoy Dviny, 17, Arkhangelsk, 163002 (Russia), e-mail: yuliya.popova01@mail.ru

Lignin is one of the most abundant biopolymers. Information about the functional composition and structure of various lignins may be useful in the study of biosynthesis processes in plants. The subject of the article is the determination of ³¹P-NMR spectroscopy possibilities to identify lignins obtained from various plant forms. To obtain spectra on ³¹P nuclei, a modification of the studied samples was applied by phosphitylating their OH-groups with a special reagent. We obtained qualitative and quantitative analysis of samples of softwood and hardwood lignins and herbaceous plants. According to the NMR spectra we noted the differences in composition and structure of the studied lignins. We confirmed that the structure of lignins of softwood and hardwood wood mainly contain guaiacylpropane and syringylpropane structural units, respectively. We found that lignins of herbaceous plants contain all types of OH-groups characteristic for lignins, including p-hydroxyphenyl groups. It was observed that samples of herbaceous plants lignins contain fragments of flavonoid structures in most cases. The ³¹P-NMR spectrum of quercetin, as the flavonoids representative, was registered and also modeled using the ACDLabs software package to confirm the presence of flavone structures in the macromolecules of the herbaceous lignins.

Keywords: lignins, NMR, ³¹P-NMR, functional analysis, phosphitylation.

* Corresponding author.

References

1. Balakshin M.Yu., Capanema E.A. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 2015, vol. 35, no. 3, pp. 220–237, DOI: 10.1080/02773813.2014.928328.
2. Crestini C., Argyropoulos D.S. *J. Agric. Food Chem.*, 1997, vol. 45, no. 4, pp. 1212–1219, DOI: 10.1021/jf960568k.
3. Kalabin G.A., Kanitskaya L.V., Kushnarev D.F. *Kolichestvennaya spektroskopiya YaMR prirodnogo organicheskogo syr'ya i produktov yego pererabotki*. [Quantitative NMR spectroscopy of natural organic raw materials and products of its processing]. Moscow, 2000, 408 p. (in Russ.).
4. Sarkanen K.V., Ludwig C.H. *Lignins: Occurrence, formation, structure and reactions*, New-York: Wiley-Interscience, 1971, 916 p.
5. Dashtban M., Schraft H., Syed T.A., Qin W. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2010, vol. 1, no. 1, pp. 36–50.
6. Capanema E.A., Balakshin M.Yu., Kadla J.F. *J. Agric. Food Chem.*, 2005, vol. 53 (25), pp. 9639–9649, DOI: 10.1021/jf0515330.
7. Wang H., Pu Y., Ragauskas A., Yang B. *Bioresource Technology*, 2019, vol. 271, pp. 449–461, DOI: 10.1016/j.biortech.2018.09.072.
8. Bogolitsyn K.G., Lunin V.V. *Fizicheskaya khimiya lignina*. [Physical chemistry of lignin]. Arkhangelsk, 2009, 489 p. (in Russ.).
9. Monteil-Rivera F., Phuong M., Ye M., Halasz A., Hawari J. *Industrial Crops and Products*, 2013, vol. 41, pp. 356–364, DOI: 10.1016/j.indcrop.2012.04.049.
10. Xia Z., Akim L.G., Argyropoulos D.S. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2001, vol. 49, no. 8, pp. 3573–3578, DOI: 10.1021/jf010333v.
11. Stark N.M., Yelle D.J., Agarwal U.P. *Lignin in polymer composites*, Elsevier Inc., 2016, pp. 49–65, DOI: 10.1016/B978-0-323-35565-0.00004-7.
12. Fitigau I.F., Peter F., Boeriu C.G. *International Journal of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering*, 2013, vol. 7, no. 4, pp. 167–172.
13. Kanitskaya L.V., Gorotov A.F., Khai D.T.T., Rokhin A.V. *Russ. J. Bioorg. Chem.*, 2012, vol. 38, no. 7, pp. 720–725, DOI: 10.1134/S1068162012070102.
14. Pu Y., Cao S., Ragauskas A.J. *Energy Environ. Sci.*, 2011, vol. 4, pp. 3154–3166, DOI: 10.1039/C1EE01201K.
15. Granata A., Argyropoulos D.S. *J. Agric. Food Chem.*, 1995, vol. 43, no. 6, pp. 1538–1544, DOI: 10.1021/jf00054a023.
16. Shestakov S.L., Kosyakov D.S., Kozhevnikov A.Yu., Ul'yanovskiy N.V., Popova Yu.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2017, no. 2, pp. 81–88, DOI: 10.14258/jcprm.2017021641. (in Russ.).
17. Nimz H.H., Robert D., Faix O., Nembr M. *Holzforschung*, 1981, vol. 35, no. 1, pp. 16–26, DOI: 10.1515/hfsg.1981.35.1.16.
18. Pepper J.M., Baylis P.E.T., Adler E. *Can. J. Chem.*, 1959, vol. 37, no. 8, pp. 1241–1248, DOI: 10.1139/v59-183.
19. Prech E., Byulmann F., Affolter K. *Opredeleniye stroyeniya organicheskikh soyedineniy. Tablitsy spektral'nykh dannykh*. [Determination of the structure of organic compounds. Spectral Data Tables]. Moscow, 2006, 438 p. (in Russ.).
20. Constant S., Wienk H.L.J., Frissen A.E, Peinder P., Boelens R. et al. *Green Chem.*, 2016, vol. 18, pp. 2651–2665, DOI: 10.1039/c5gc03043a.

Received February 1, 2019

Revised April 22, 2019

Accepted May 27, 2019

For citing: Popova Yu.A., Shestakov S.L., Kozhevnikov A.Yu., Kosyakov D.S., Sypalov S.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2019, no. 4, pp. 57–64. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2019045119.