

УДК 547.993:543.421/424:543.429

СУЛЬФАТИРОВАНИЕ ЭТАНОЛЛИГНИНА ПИХТЫ КОМПЛЕКСАМИ ТРИОКСИДА СЕРЫ С 1,4-ДИОКСАНОМ И ПИРИДИНОМ*

© **Ю.Н. Маляр^{1,2}, Н.Ю. Васильева^{1,2}, А.С. Казаченко^{1,2**}, Г.П. Скворцова¹, И.В. Королькова¹, С.А. Кузнецова¹**

¹ *Институт химии и химической технологии СО РАН, ФИЦ «Красноярский научный центр СО РАН», Академгородок, 50/24, Красноярск, 660036 (Россия), e-mail: leo_lion_leo@mail.ru*

² *Сибирский федеральный университет, пр. Свободный, 79, Красноярск, 660041 (Россия)*

Проведена оптимизация процесса сульфатирования этаноллигнина пихты комплексами серного ангидрида с пиридином и 1,4-диоксаном. Экспериментально найдены условия осуществления процесса сульфатирования этаноллигнина пихты комплексами триоксида серы с 1,4-диоксаном и пиридином, обеспечивающие высокое содержание серы (12.0–12.6%). Показано, что высокое содержание серы 12.0–13.5% (масс.) в полученном сульфате этаноллигнина достигается при соотношении количества хлорсульфоновой кислоты к количеству этаноллигнина, равном 20.22 : 1 ммоль : г, и продолжительности процесса сульфатирования 60–120 мин и не зависит от природы сульфатирующего комплекса. Строение и состав водорастворимого сульфатированного этаноллигнина подтверждены данными ИК-спектроскопии, гельпроникающей хроматографии и элементного анализа. В ИК-спектрах сульфатированного этаноллигнина пихты в сравнении с ИК-спектрами исходного этаноллигнина присутствуют полосы поглощения в области 1270–1260, 1220–1212, 861–803 см⁻¹, соответствующие колебаниям сульфатных групп. Сульфатированный этаноллигнин древесины пихты по сравнению с исходным лигнином обладает низкой степенью полидисперсности. В частности, наблюдалось увеличение Mw с ~1.5 кДа до ~3.4 кДа в сульфатированном в течение 30 мин лигнине и уменьшение по сравнению с исходным этаноллигнином полидисперсности с 2.59 до 1.22. При увеличении времени сульфатирования профиль кривой молекулярно-массового распределения смещается в высокомолекулярную область, с одновременным увеличением полидисперсности до 1.5, а среднечисловая молекулярная масса возрастает до ~4.3 кДа.

Ключевые слова: этаноллигнин, древесина пихты, сульфатирование, хлорсульфоновая кислота, диоксан, пиридин, сульфатированный этаноллигнин, ИК-спектроскопия, гельпроникающая хроматография, оптимизация.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда науки в рамках научного проекта «Модификация древесных лигнинов с получением перспективных фармакологически активных и светочувствительных водорастворимых полимеров» №18-43-243016 p_мол_a.

Введение

Лигнин представляет собой природный полифенольный полимер, являющийся соединительной тканью в клетках растений, наряду с целлюлозой и гемицеллюлозами [1]. Лигнин состоит из основных струк-

Маляр Юрий Николаевич – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории каталитических превращений возобновляемых ресурсов, доцент кафедры органической и аналитической химии, e-mail: leo_lion_leo@mail.ru

Васильева Наталья Юрьевна – кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории химии природного органического сырья, доцент кафедры органической и аналитической химии, e-mail: leo_lion_leo@mail.ru

турных звеньев (фенилпропановых единиц), содержащих в качестве заместителей различные органические группы, в том числе карбоксильные, эфирные и спиртовые [2, 3]. Состав и свойства лигнинов зависят от способа их выделения и типа исходной древесины [4]. В среднем, количественная доля лигнина в древесной биомассе находится в пределах 15–35% [5].

Окончание на С. 6.

* Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprtm.2020036931s

** Автор, с которым следует вести переписку.

Благодаря низкой токсичности и широкому спектру биологической активности лигнинов [6–8] в последние годы была показана перспективность применения лигнинов и их производных для создания новых классов биомедицинских препаратов. Известно, что производные лигнина обладают противовирусной [9, 10], противовоспалительной [11], противодиабетической [12, 13], антиоксидантной [14–16] и противоопухолевой [17, 18] активностью, а также используются для производства биоразлагаемых наночастиц для доставки лекарств [19, 20].

Одним из перспективных направлений модификации лигнина является получение производных, содержащих сульфатную группу. Введение в макромолекулу биополимера сульфатной группы придает ему способность растворяться в воде и увеличивает его биоразлагаемость [7]. Кроме того, сульфатированные производные лигнинов могут заменить не только широко используемые продукты химической модификации полисахаридов, но и найти применение в фармацевтике как потенциальные противовирусные препараты и антикоагулянты нового класса [21–28].

В настоящее время в качестве сульфатирующих реагентов для гидроксилсодержащих органических соединений широко распространены комплексы триоксида серы с различными основаниями, применяемыми не только для получения сульфатирующей смеси, но и в качестве реакционной среды [29].

В основе синтезов сульфатов лигнинов в основном лежат способы, при которых в качестве сульфатирующей смеси используются комплексы триоксида серы с токсичными аминами [27, 28]. Также разработан способ сульфатирования этаноллигнина пихты сульфаминовой кислотой в 1,4-диоксане в присутствии мочевины [30, 31]. В отличие от традиционных сульфатирующих агентов сульфаминовая кислота является малотоксичным и коррозионно не агрессивным соединением. Однако сульфаминовая кислота является дорогостоящим и менее реакционноспособным реагентом, чем комплексы серного ангидрида. В отличие от сульфатирования лигнина комплексом триоксида серы с триэтиламином [28] сульфатирование сульфаминовой кислотой приводит к образованию продуктов, обладающих значительно меньшей степенью сульфатирования [30, 31].

Цель настоящей работы – оптимизация процесса сульфатирования этаноллигнина пихты комплексами триоксида серы с 1,4-диоксаном и пиридином и исследование полученных сульфатов этаноллигнина методами ИК-спектроскопии, гель-проникающей хроматографии и элементного анализа.

Экспериментальная часть

В работе использовали этаноллигнин, выделенный из древесины пихты сибирской (*Abies sibirica*) по методике [32]. Выход этаноллигнина составил 9.5% от массы древесины.

Комплексы пиридина и триоксида серы, используемые для сульфатирования этаноллигнина, получали взаимодействием пиридина или 1,4-диоксана с хлорсульфоновою кислотой [29]. Для этого в трехгорлую колбу, снабженную термометром, механической мешалкой, капельной воронкой, помещали 25 мл соответствующего растворителя и при интенсивном перемешивании и охлаждении с помощью ледяной бани при температуре 0–5 °С (для комплекса триоксида серы с пиридином) и при температуре 20–22 °С (для комплекса триоксида серы с 1,4-диоксаном) добавляли по каплям 1–4 мл (15.2–60.8 ммоль) хлорсульфоновою кислоты.

Сульфатирование этаноллигнина предварительно полученными комплексами триоксида серы осуществляли по разработанным нами методикам. Сульфатирование комплексом триоксида серы и пиридина осуществляли по представленной ниже прописи. К комплексу триоксида серы и пиридина при перемешивании и температуре 60 °С добавляли 2.5 г лигнина, реакционную смесь перемешивали при этой температуре

Казаченко Александр Сергеевич – кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории химии природного органического сырья, e-mail: leo_lion_leo@mail.ru

Скворцова Галина Павловна – научный сотрудник лаборатории химии природного органического сырья, e-mail: leo_lion_leo@mail.ru

Королькова Ирина Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной спектроскопии и анализа, e-mail: leo_lion_leo@mail.ru

Кузнецова Светлана Алексеевна – доктор химических наук, главный научный сотрудник лаборатории химии природного органического сырья, e-mail: leo_lion_leo@mail.ru

30–180 мин. По окончании процесса сульфатирования реакционную массу нейтрализовали водным раствором аммиака до pH 8–9. Для удаления неорганических солей и других низкомолекулярных соединений нейтрализованную реакционную смесь подвергали диализу против воды. Диализ проводили в целлофановом диализном мешке марки MF-503-46 MFPI (США) с размером пор 0.1 мкм в течение 10–15 ч, сменяя воду каждый час. После диализа водный раствор сульфатированного лигнина упаривали досуха в вакууме на

ротационном испарителе и получали твердый остаток – сульфатированный этаноллигнин в виде аммониевой соли, содержащий 4.4–13.5% серы.

Сульфатирование этаноллигнина пихты комплексом триоксида серы и 1,4-диоксана проводили аналогично методике описанной выше для сульфатирования лигнина комплексом триоксида серы и пиридина. Температура процесса составляла 20–22 °С. Аналогично осуществляли очистку и выделение сульфатированного продукта из реакционной смеси.

Элементный анализ сульфатированного лигнина проводили на элементном анализаторе Flash EA-1112 (Thermo Quest Italia).

Содержание серы в образцах сульфатированного этаноллигнина пихты определяли по методике [33].

Выход сульфатированного этаноллигнина пихта X (% от количества исходного этаноллигнина) вычисляли по формуле

$$X(\%) = \frac{m_{SL}}{m_{EL}} \times 100,$$

где m_{SL} – масса воздушно-сухого сульфатированного этаноллигнина, г; m_{EL} – масса навески воздушно-сухого этаноллигнина, г.

ИК-спектры лигнина и сульфатированного лигнина снимали с использованием ИК-Фурье спектрометра Tensor-27 (Bruker, Германия) в области длин волн 400–4000 cm^{-1} . Обработку спектральной информации проводили по программе OPUS (версия 5.0). Твердые образцы для анализа готовили в виде таблеток в матрице KBr (2 мг образца / 1000 мг KBr).

Средневесовую молекулярную массу (M_w), среднечисловую молекулярную массу (M_n) и полидисперсность образцов определяли с помощью метода гелепроникающей хроматографии с использованием хроматографа Agilent 1260 Infinity II Multi-Detector GPC/SEC System с тройным детектированием: рефрактометром (RI), вискозиметром (VS) и светорассеянием (LS). Разделение проводили на двух колонках Aquagel-OH Mixed-M, в качестве подвижной фазы применяли раствор 0.2 М NaNO_3 +0.01 М NaH_2PO_4 в воде, pH – 7. Калибровку колонки осуществляли с использованием полидисперсных стандартов полиэтиленгликоля (Agilent, США). Скорость подачи элюента – 1 мл/мин, объем вводимой пробы – 100 мкл. Перед анализом образцы растворяли в подвижной фазе (1 мг/мл) и фильтровали через 0.45 мкм мембранный ПТФЭ-фильтр (Millipore). Сбор и обработку данных выполняли с использованием программного обеспечения Agilent GPC/SEC MDS.

Численная оптимизация процесса сульфатирования этаноллигнина пихты комплексом серного ангидрида и диоксана проводилась с применением программного обеспечения Statgraphics Centurion XVI, блок DOE (Design of Experiment), по методике, описанной в работе [34].

Результаты и обсуждение

Схема реакции сульфатирования этаноллигнина пихты (ЭЛ) комплексами триоксида серы в среде 1,4-диоксана или пиридина приведена на рисунке 1. Сульфат лигнина (СЛ) выделяли в виде аммонийной соли.

Использование триоксида серы или его комплексов может приводить к сульфатированию не только спиртовых групп, но и фенольных гидроксильных групп [28, 29]. Применение *n*-нитрофенилсульфата в качестве источника сульфатных групп и арилсульфотрансферазы как катализатора для ферментативного сульфатирования лигнинов различного происхождения демонстрирует специфическое сульфатирование фенольных гидроксильных групп [21].

Удобным методом получения комплексов триоксида серы с основаниями является использование в качестве источника серного ангидрида хлорсульфоновой кислоты. При взаимодействии хлорсульфоновой кислоты с пиридином при температуре 0 °С образуется комплекс SO_3 -пиридин и пиридиний хлорид [29].



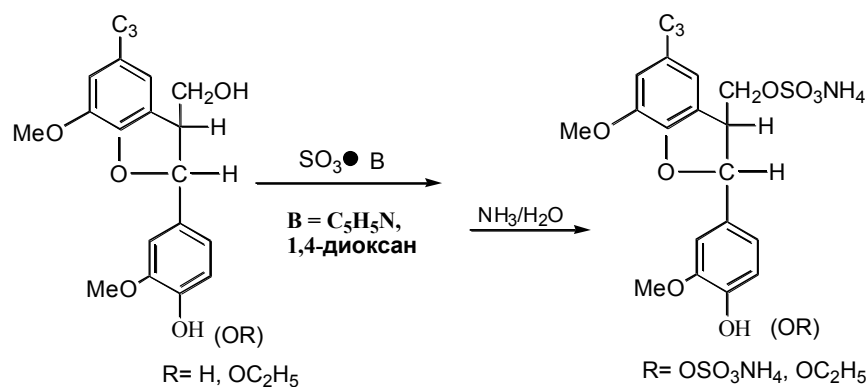
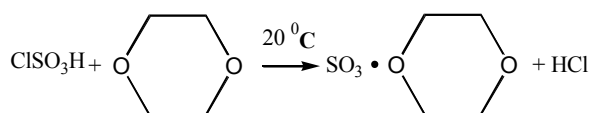


Рис. 1. Схема реакции сульфатирования структурного фрагмента лигнина (на примере фенилкумарана)

Образование комплекса триоксида серы с 1,4-диоксаном из хлорсульфоновой кислоты и диоксана происходит при 20 °С, в процессе реакции выделяется хлористый водород [29].



Комплекс SO_3 -пиридин является более мягким сульфатирующим реагентом по сравнению с комплексом SO_3 -1,4-диоксан и хлорсульфоновой кислотой. В связи с его слабой растворимостью в пиридине при комнатной температуре и незначительной реакционной способностью при температуре менее 55 °С сульфатирование лигнина комплексом триоксида серы с пиридином проводили при температуре 60 °С. Комплекс SO_3 -1,4-диоксан неустойчив при повышении температуры выше 30 °С, поэтому сульфатирование лигнина комплексом SO_3 -1,4-диоксан проводили при температуре 20–22 °С.

При сульфатировании лигнина комплексами триоксида серы (СК) варьировали время процесса от 30 до 180 мин и количество хлорсульфоновой кислоты (ClSO_3H) к количеству этанолигнина в пределах 5.04÷20.22 : 1 ммоль : г, что соответствовало отношению количества хлорсульфоновой кислоты к числу свободных гидроксильных групп во взятом этанолигнине, равном 0.93÷3.73 : 1 моль/моль. Количество свободных гидроксильных групп рассчитывали согласно эмпирической формулы елового лигнина Бьеркмана [35] в пересчете на одну фенилпропановую единицу (ФПЕ) $\text{C}_9\text{H}_{8,83}\text{O}_{2,37}(\text{OCH}_3)_{0,96}$. Одна структурная единица лигнина содержит 1.1–1.2 свободных алифатических и фенольных гидроксильных групп.

Как следует из полученных данных (табл. 1), содержание серы 12.0–13.5% в полученном сульфате этанолигнина достигается при соотношении количества хлорсульфоновой кислоты к количеству этанолигнина, равном 20.22 : 1 ммоль : г, продолжительности процесса сульфатирования 60–120 мин и не зависит от природы сульфатирующего комплекса. Однако применение для сульфатирования комплекса триоксида серы с 1,4-диоксаном предпочтительнее, чем комплекса триоксида серы с пиридином по ряду причин. Во-первых, пиридин является высокотоксичным соединением второго класса опасности [36], при его использовании возникает проблема устранения стойкого неприятного запаха пиридина. Во-вторых, при получении комплекса триоксида серы с пиридином из хлорсульфоновой кислоты и пиридина происходит образование трудноудаляемого побочного продукта – пиридилий хлорида. В-третьих, вследствие малой реакционной способности комплекса при низких температурах процесс сульфатирования необходимо проводить при температуре более 55 °С [29]. Использование для сульфатирования комплекса серного ангидрида с 1,4-диоксаном лишено этих недостатков.

Оптимизация процесса сульфатирования этанолигнина пихты комплексами триоксида серы с пиридином в пиридине и с 1,4-диоксаном в 1,4-диоксане проводилась на основе экспериментальных данных приведенных в таблице 1. Эти данные показывают интервалы варьирования факторов и их влияние на выходные параметры. Задача оптимизации процесса сульфатирования сформулирована следующим образом: в пределах изученной области факторного пространства найти условия, обеспечивающие получение сульфатированного этанолигнина пихты с максимальным содержанием серы при одинаковом выходе целевого продукта.

Таблица 1. Матрица планирования эксперимента и ее реализация

№	ClSO ₃ H : (ЭЛ), ммоль : г (X ₁)	Продолжительность, мин (X ₂)	Содержание S, %	
			Пиридин (Y ₁)	Диоксан (Y' ₁)
1	5.04 : 1	30	4.4	5.5
2	5.04 : 1	60	5.3	6.0
3	5.04 : 1	120	5.7	6.1
4	5.04 : 1	180	5.8	6.2
5	12.63 : 1	30	6.7	7.2
6	12.63 : 1	60	7.4	8.0
7	12.63 : 1	120	8.0	8.6
8	12.63 : 1	180	8.8	9.1
9	20.22 : 1	30	10.2	10.5
10	20.22 : 1	60	12.1	12.0
11	20.22 : 1	120	12.5	12.7
12	20.22 : 1	180	13.5	12.9

Примечание: во всех экспериментах выход составлял 95–100%.

В качестве независимых переменных использовали факторы: соотношения ClSO₃H : ЭЛ (ммоль : г) (X₁), продолжительность процесса сульфатирования (X₂). Результаты процессов сульфатирования характеризовали одним выходным параметром: содержанием серы в сульфатированном этаноллигнине при сульфатировании комплексом серный ангидрид-пиридин (Y₁) и комплексом серный ангидрид-1,4-диоксан (Y'₁).

Зависимость содержания серы в сульфатированном этаноллигнине пихты от переменных факторов процесса сульфатирования этаноллигнина пихты комплексом триоксида серы-пиридин в пиридине аппроксимированы уравнением регрессии:

$$Y_1 = 2.71184 - 0.122449 \cdot X_1 + 0.04741 \cdot X_2 + 0.467687 \cdot X_1^2 + 0.003997 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0.00019815 \cdot X_2^2 \quad (1)$$

Высокие прогностические свойства математической модели наблюдаются и в случае ее реализации с использованием в качестве выходного параметра содержание серы в образце сульфатированного этаноллигнина (табл. 2).

Влияние источника дисперсии на выходной параметр считается статистически значимым, если уровень значимости $P < 0.05$, соответствующий доверительной вероятности 95.0%. Согласно вышеописанной модели, оптимальными условиями сульфатирования лигнина комплексом серного ангидрида с пиридином в пиридине являются соотношение ClSO₃H : ЭЛ (ммоль : г) 20.22 : 1 и продолжительность процесса 157 мин.

Графическое отображение зависимости выходного параметра содержание серы при сульфатировании этаноллигнина пихты комплексом триоксид серы–пиридин (% мас.) (Y₁) от переменных факторов соотношения ClSO₃H : ЭЛ (ммоль : г) (X₁), продолжительности процесса сульфатирования этаноллигнина пихты (X₂), с использованием математических моделей, в виде поверхностей отклика представлено на рисунке 1 электронного приложения.

Влияние соотношения ClSO₃H : ЭЛ (ммоль : г) (X₁) и продолжительности процесса сульфатирования этаноллигнина пихты (X₂) на содержание серы в сульфатированном этаноллигнине при сульфатировании комплексом триоксида серы с 1,4-диоксаном в 1,4-диоксане (Y'₁) описывается уравнением регрессии:

$$Y_1' = 3.89884 + 0.010204 \cdot X_1 + 0.037988 \cdot X_2 + 0.382653 \cdot X_1^2 + 0.0034864 \cdot X_1 \cdot X_2 - 0.0001667 \cdot X_2^2 \quad (2)$$

Проведен дисперсионный анализ для выходного параметра – содержания серы в сульфатированном этаноллигнине пихты (Y₁') в зависимости от переменных параметров – соотношения ClSO₃H : ЭЛ (ммоль : г) (X₁) и продолжительности процесса (X₂) (табл. 3).

Таблица 2. Дисперсионный анализ для Y₁ в зависимости от X₁ и X₂

Источник дисперсии	Сумма квадратов	Число степеней свободы	Дисперсионные отношения F	Уровни значимости P
A : X ₁	6.44934	1	68.57	0.0037
B : X ₂	3.19196	1	33.94	0.0101
AA	1.68056	1	17.87	0.0242

Таблица 3. Дисперсионный анализ для Y_1' в зависимости от X_1 и X_2

Источник дисперсии	Сумма квадратов	Число степеней свободы	Дисперсионные отношения F	Уровни значимости P
A : X_1	5.18312	1	66.74	0.0038
B : X_2	1.54956	1	19.95	0.0209
AA	1.125	1	14.49	0.0319

Данные дисперсионного анализа (табл. 3) свидетельствуют о хороших прогностических свойствах моделей: высокая эффективность всех компонентов уравнения регрессии, высокий коэффициент детерминации (98.9%), низкие уровни значимости (P – критерий). Влияние источника дисперсии на выходной параметр считается статистически значимым, если уровень значимости меньше 0.05. Оптимальными условиями для данной модели сульфатирования лигнина являются соотношение $ClSO_3H$: ЭЛ (ммоль : г) 20.22 : 1 и продолжительность процесса 153 мин. Поверхность отклика выходного параметра содержание серы в процессе сульфатирования хлорсульфоновой кислотой в 1,4-диоксане (Y_2) от соотношения $ClSO_3H$: ЭЛ (ммоль : г) (X_1) и продолжительности процесса (X_2) представлена на рисунке 2 электронного приложения.

Строение и состав сульфатированного продукта исследовано методами элементного анализа, ИК-спектроскопии и геляпроникающей хроматографии.

Исследование образцов лигнина и его сульфатированного производного методом ИК-спектроскопии показало (рис. 2), что их спектры содержат несколько типичных основных полос поглощения, характерных для лигнинов хвойных пород деревьев [37, 38], а также наблюдаются изменения, происходящие в спектре лигнина после реакции сульфатирования – происходит расширение полос поглощения за счет наложения новых полос поглощения с основными полосами лигнина. Как в ИК-спектре исходного лигнина, так и его сульфатированного производного присутствуют полосы поглощения, соответствующие скелетным колебаниям бензольного кольца с максимумами полос в области 1512–1514 cm^{-1} . В отличие от ИК-спектра лигнина, в котором присутствует полоса поглощения, соответствующая скелетным колебаниям гваяцильного кольца с максимумом при 1270 cm^{-1} , в ИК-спектре его сульфатированного производного наблюдается достаточно широкая полоса поглощения при 1260–1210 cm^{-1} , перекрывающихся полос поглощения скелетных колебаний гваяцильного кольца и ассиметричных валентных колебаний $\nu_{as}(O=S=O)$. Если ИК-спектр аммониевой соли сульфатированного лигнина содержит широкую полосу поглощения в области 3500–2800 cm^{-1} , соответствующих валентным колебаниям O-H и C-H связей и валентным колебаниями N-H связей в катионе аммония, то в ИК-спектре лигнина присутствует как полоса поглощения с максимумом при 3426.75 cm^{-1} , принадлежащая валентным колебаниям OH-связей, вовлеченных в водородную связь OH-групп, так и полоса поглощения при 2934.59 cm^{-1} C-H-связей [39, 40]. Значительное различие в спектрах лигнина и сульфатированного лигнина наблюдается и в области поглощения C=O групп, которые, очевидно, входят в состав неионизированных карбоксильных групп. Так, полоса поглощения валентных колебаний C=O лигнина находится при 1706 cm^{-1} , а в сульфатированном лигнине эта характеристическая полоса карбонильного поглощения исчезает, и вместо нее появляется полоса с максимумом при 1675 cm^{-1} , принадлежащая колебаниям ионизированной карбоксильной группы. Введение сульфатных групп в структуру лигнина подтверждается также появлением в ИК-спектрах полос поглощения в области 803–861 cm^{-1} , соответствующих C–O–S-валентным колебаниям $\nu(C-O-S)$. Следует отметить, что ИК-спектры лигнина, сульфатированного комплексами триоксида серы, незначительно отличаются от спектров лигнина, сульфатированного сульфаминовой кислотой [30]. Небольшое отличие в ИК-спектрах заметно в форме перекрывающихся полос поглощения, принадлежащих скелетным колебаниям гваяцильного кольца и ассиметричным валентным колебаниям группы O=S=O. Так, в спектре, приведенном в работе [31], этим колебаниям соответствует широкая полоса при 1270–1210 cm^{-1} , тогда как в ИК-спектрах сульфатированного лигнина комплексами триоксида серы (рис. 2) происходит ее смещение в область более низких частот, кроме того, в указанной области ИК-спектра (рис. 2) наблюдается меньшее перекрывание полос поглощения этих функциональных групп. Можно различить два максимума поглощения, обусловленных скелетными колебаниями гваяцильного кольца и ассиметричными валентными колебаниями группы O=S=O, соответственно при 1260 и 1220–1212 cm^{-1} .

Сравнение результатов элементного анализа этанолигнина и сульфатированного этанолигнина также подтверждает введение сульфатной группы в макромолекулу лигнина: состав этанолигнина % (масс.) для двух образцов сульфатированного этанолигнина: 1) C – 44.2; H – 6.1; S – 8.0; 2) C – 42.1; H – 5.3; S – 12.5.

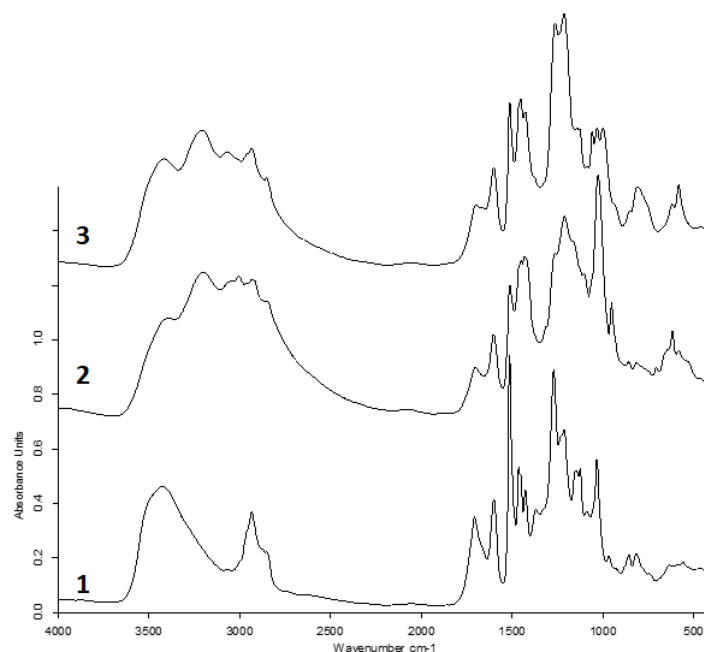


Рис. 2. ИК-спектры: 1 – этаноллигнин пихты, 2 – аммонийной соли сульфатированного комплексом триоксида серы с 1,4-диоксаном этаноллигнина, 3 – аммонийной соли сульфатированного комплексом триоксида серы с пиридином этаноллигнина

Исследование молекулярно-массового распределения образцов исходного этаноллигнина пихты и его сульфатированных производных показало увеличение молекулярной массы образцов и снижение полидисперсности (рис. 3, СЛ 8%). В частности, произошло увеличение M_w с ~ 1.5 кДа до ~ 3.4 кДа в сульфатированном в течение 30 мин лигнине и уменьшение по сравнению с исходным этаноллигнином полидисперсности с 2.59 до 1.22. При увеличении времени сульфатирования профиль кривой молекулярно-массового распределения смещается в высокомолекулярную область, с одновременным увеличением полидисперсности до 1.5, а M_w возрастает до ~ 4.3 кДа. Это является следствием методики эксперимента: продукты реакции с массой менее 3.0 кДа, к которым относится низкомолекулярный сульфатированный лигнин, удаляются при диализе.

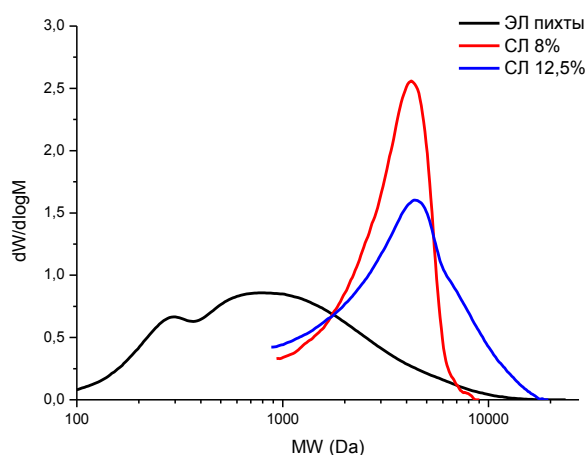


Рис. 3. Кривые молекулярно-массового распределения образцов этаноллигнина пихты и его сульфатированных производных

Заключение

Найдено, что высокое содержание серы 12.0–13.5% (масс.) в полученном сульфате этаноллигнина достигается при соотношении количества хлорсульфоновой кислоты к количеству этаноллигнина, равном 20.22 : 1 ммоль : г, и продолжительности процесса сульфатирования 60–120 мин и не зависит от природы сульфатирующего комплекса.

В результате проведенного исследования показано, что сульфатирование этанолигнина пихты комплексами триоксида серы с 1,4-диоксаном или пиридином позволяет получать сульфатированный лигнин со значительно большим содержанием серы, чем в известном способе [29, 30] при использовании в качестве сульфатирующего реагента сульфаминовой кислоты.

На основании экспериментальных данных проведена математическая оптимизация процесса сульфатирования этанолигнина древесины пихты комплексами триоксида серы с пиридином и 1,4-диоксаном. Данные дисперсионного анализа для полученных математических моделей свидетельствуют о хороших прогностических свойствах: высокая эффективность всех компонентов уравнения регрессии, высокий коэффициент детерминации (95.0–98.9%), низкие уровни значимости. Исходя из полученных уравнений регрессии, оптимальными условиями для процесса сульфатирования этанолигнина пихты комплексом серного ангидрида с пиридином в пиридине являются соотношение $\text{ClSO}_3\text{H} : \text{ЭЛ}$ (ммоль : г) 20.22 : 1 и продолжительность процесса 157 мин и $\text{ClSO}_3\text{H} : \text{ЭЛ}$ (ммоль:г) 20.22 : 1 и продолжительность процесса 153 мин для процесса сульфатирования этанолигнина пихты комплексом серного ангидрида с 1,4-диоксаном в 1,4-диоксане.

Введение сульфатных групп в молекулу лигнина подтверждено результатами элементного анализа, ИК-спектроскопии и гелепроникающей хроматографии.

Согласно данным гелепроникающей хроматографии водорастворимый сульфатированный этанолигнин древесины пихты по сравнению с исходным лигнином с увеличением продолжительности процесса сульфатирования происходит увеличение молекулярной массы, при этом понижается степень полидисперсности.

В работе использованы приборы Красноярского регионального центра коллективного пользования ФИЦ КНЦ СО РАН.

Список литературы

1. Liu Q., Luo L., Zheng L. Lignins: Biosynthesis and Biological Functions in Plants // *International Journal of Molecular Sciences*. 2018. Vol. 19. N2. Pp. 335–341. DOI: 10.3390/ijms19020335.
2. Lourenço A., Pereira H. Compositional variability of lignin in biomass // *Lignin – trends and applications*. IntechOpen, 2018. Pp. 65–98. DOI: 10.5772/intechopen.71208.
3. Brauns F., Hibbert H. Studies on lignin and related compounds: XII. Methanol lignin // *Canadian Journal of Research*. 1935. Vol. 13b(1). Pp. 28–34. DOI: 10.1139/cjr35b-003.
4. Tribot A., Amer G., Alio M.A., Baynast H., Delattre C., Pons A., Mathias J.-D., Callois J.-M., Vial C., Michaud P., Dussap C.-G. Wood-lignin: Supply, extraction processes and use as bio-based material // *European Polymer Journal*. 2019. Vol. 112. Pp. 228–240. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2019.01.007.
5. Danish M., Ahmad T. A review on utilization of wood biomass as a sustainable precursor for activated carbon production and application // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2018. Vol. 87. Pp. 1–21. DOI: 10.1016/j.rser.2018.02.003.
6. Spiridon I. Biological and pharmaceutical applications of lignin and its derivatives: A mini-review // *Cellulose Chemistry and Technology*. 2018. Vol. 52. N7–8. Pp. 543–550.
7. Witzler M., Alzagameem A., Bergs M., Khaldi-Hansen B.E., Klein S.E., Hielscher D., Schulze M. Lignin-Derived Biomaterials for Drug Release and Tissue Engineering // *Molecules*. 2018. Vol. 23. N8. P. 1885. DOI: 10.3390/molecules23081885.
8. Vinardell M.P., Mitjans M. Lignins and Their Derivatives with Beneficial Effects on Human Health // *International Journal of Molecular Sciences*. 2017. Vol. 18. N6. P. 1219. DOI: 10.3390/ijms18061219.
9. Andrei G., Lisco A., Vanpouille C., Introini A., Balestra E., van den Oord J., Cihlar T., Perno C.F., Snoeck R., Margolis L., Balzarini J. Topical tenofovir, a microbicide effective against HIV, inhibits herpes simplex virus-2 replication // *Cell Host Microbe*. 2011. Vol. 10. Pp. 379–389. DOI: 10.1016/j.chom.2011.08.015.
10. Raghuraman A., Tiwari V., Zhao Q., Shukla D., Debnath A.K., Desai U.R. Viral inhibition studies on sulfated lignin, a chemically modified biopolymer and a potential mimic of heparan sulfate // *Biomacromolecules*. 2007. Vol. 8. Pp. 1759–1763. DOI: 10.1021/bm0701651.
11. Saluja B., Thakkar J.N., Li H., Desai U.R., Sakagami M. Novel low molecular weight lignins as potential anti-emphysema agents: In vitro triple inhibitory activity against elastase, oxidation and inflammation // *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics*. 2013. Vol. 26. Pp. 296–304. DOI: 10.1016/j.pupt.2012.12.009.
12. Barapatre A., Aadil K.R., Tiwary B.N., Jha H. In vitro antioxidant and antidiabetic activities of biomodified lignin from *Acacia nilotica* wood // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015. Vol. 75. Pp. 81–89. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.01.012.
13. Hasegawa Y., Kadota Y., Hasegawa C., Kawaminami S. Lignosulfonic acid-induced inhibition of intestinal glucose absorption // *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 2015. Vol. 61. Pp. 449–454. DOI: 10.3177/jnsv.61.449.
14. Pan X., Kadla J.F., Ehara K., Gilkes N., Saddler J.N. Organosolv ethanol lignin from hybrid poplar as a radical scavenger: relationship between lignin structure, extraction conditions, and antioxidant activity // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2006. Vol. 54. Pp. 5806–5813. DOI: 10.1021/jf0605392.
15. Qazi S.S., Li D., Briens C., Berruti F., Abou-Zaid M.M. Antioxidant Activity of the Lignins Derived from Fluidized-Bed Fast Pyrolysis // *Molecules*. 2017. Vol. 22. E372. DOI: 10.3390/molecules22030372.

16. Sun S.N., Cao X.F., Xu F., Sun R.C., Jones G.L. Structural features and antioxidant activities of lignins from steam-exploded bamboo (*Phyllostachys pubescens*) // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014. Vol. 62. Pp. 5939–5947. DOI: 10.1021/jf5023093.
17. Barapatre A., Meena A.S., Mekala S., Das A., Jha H. In vitro evaluation of antioxidant and cytotoxic activities of lignin fractions extracted from *Acacia nilotica* // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2016. Vol. 86. Pp. 443–453. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.01.109.
18. Wang Q., Mu H., Zhang L., Dong D., Zhang W., Duan J. Characterization of two water-soluble lignin metabolites with antiproliferative activities from *Inonotus obliquus* // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2015. Vol. 74. Pp. 507–514. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2014.12.044.
19. Frangville C., Rutkevicius M., Richter A.P., Velev O.D., Stoyanov S.D., Paunov V.N. Fabrication of environmentally biodegradable lignin nanoparticles // *Chemphyschem*. 2012. Vol. 13. Pp. 4235–4243. DOI: 10.1002/cphc.201200537.
20. Richter A., Brown J.S., Bharti B., Wang A., Gangwal S., Houck K., Cohen Hubal E.A., Paunov V.N., Stoyanov S.D., Velev O.D. An environmentally benign antimicrobial nanoparticle based on a silver-infused lignin core // *Nature Nanotechnology*. 2015. Vol. 10. Pp. 817–823. DOI: 10.1038/nnano.2015.141.
21. Prinsen P., Narani A., Hartog A.F., Wever R., Rothenberg G. Dissolving Lignin in Water through Enzymatic Sulfation with Aryl Sulfotransferase // *ChemSusChem*. 2017. Vol. 10. N10. Pp. 2267–2273. DOI: 10.1002/cssc.201700376.
22. Liang A., Thakkar J.N., Hindle M., Desai U.R. Dynamic affinity chromatography in the separation of sulfated lignins binding to thrombin // *Journal of Chromatography B*. 2012. Vol. 908. Pp. 45–51. DOI: 10.1016/j.jchromb.2012.09.036.
23. Henry B.L., Thakkar J.N., Liang A., Desai U.R. Sulfated, low molecular weight lignins inhibit a select group of heparin-binding serine proteases // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2012. Vol. 417. N1. Pp. 382–386. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.11.122.
24. Henry B.L., Desai U.R. Sulfated low molecular weight lignins, allosteric inhibitors of coagulation proteinases via the heparin binding site, significantly alter the active site of thrombin and factor Xa compared to heparin // *Thrombosis Research*. 2014. Vol. 134. N5. Pp. 1123–1129. DOI: 10.1016/j.thromres.2014.08.024.
25. Abdel-Aziz M.H., Mosier P.D., Desai U.R. Identification of the site of binding of sulfated, low molecular weight lignins on thrombin // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2011. Vol. 413. N2. Pp. 348–352. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.08.102.
26. Raghuraman A., Tiwari V., Zhao Q., Shukla D., Debnath A.K., Desai U.R. Viral Inhibition Studies on Sulfated Lignin, a Chemically Modified Biopolymer and a Potential Mimic of Heparan Sulfate // *Biomacromolecules*. 2007. Vol. 8. Pp. 1759–1763. DOI: 10.1021/bm0701651.
27. Thakkar J.N. Discovery of lignin sulfate as a potent inhibitor of HSV entry cells. Theses and Dissertations Graduate School. Virginia Commonwealth University, 2006. 132 p.
28. Raghuraman A., Tiwari V., Thakkar J.N., Gunnarsson G.T., Shukla D., Hindle M., Desai U.R. Structural characterization of a serendipitously discovered bioactive macromolecule, lignin sulfate // *Biomacromolecules*. 2005. Vol. 6. Pp. 2822–2832. DOI: 10.1021/bm0503064.
29. Джильберт Э.Е. Сульфирование органических соединений. М.: Химия, 1969. 416 с.
30. Патент №2641758 (РФ). Способ сульфатирования органосольвентного лигнина / Н.Ю. Васильева, В.А. Левданский, Г.П. Скворцова, А.С. Казаченко, Б.Н. Кузнецов. 2018.
31. Kuznetsov B.N., Vasilyeva N.Yu., Kazachenko A.S., Skvortsova G.P., Levdansky V.A., Lutoshkin M.A. Development of the method of abies wood ethanol lignin sulfonation using sulfamic acid // *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*. 2018. Vol. 1. N11. Pp. 22–130. DOI: 10.17516/1998-2836-0063.
32. Quesada-Medina J., López-Cremades F.J., Olivares-Carrillo P. Organosolv extraction of lignin from hydrolyzed almond shells and application of the d-value theory // *Bioresource Technology*. 2010. Vol. 101. Pp. 8252–8260. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.06.011.
33. Черонис Н.Д., Ма Т.С. Микро- и полумикрометоды органического функционального анализа. М., 1973. 576 с.
34. Sudakova I.G., Garyntseva N.V., Yatsenkova O.V., Kuznetsov B.N. Optimization of aspen wood delignification by H₂O₂ with sulfuric acid catalyst // *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*. 2013. Vol. 6. Pp. 76–84.
35. Calvo-Flores F.G., Dobado J.A., Isac-García J., Martín-Martínez F.J. Lignin and Lignans as Renewable Raw Materials: Chemistry, Technology and Applications. John Wiley & Sons. Chichester, 2015. 506 p.
36. Государственная фармакопея Российской Федерации. 14 изд. М., 2008. Т. 1. 704 с.
37. Закис Г.Ф. Функциональный анализ лигнинов и их производных. Рига: Зинатне, 1987. 230 с.
38. Хергерт Г.Л. ИК-спектры лигнина. М.: Химия, 1975. 632 с.
39. Bellamy L.J. Advances in Infrared Group Frequencies. London: Methuen, 1968. 328 p.
40. Roeges N.P.G. A guide to the complete interpretation of infrared spectra of organic structures. John Wiley & Sons. Chichester, 1995. 340 p.

Поступила в редакцию 10 декабря 2019 г.

После переработки 18 марта 2020 г.

Принята к публикации 22 марта 2020 г.

Для цитирования: Маляр Ю.Н., Васильева Н.Ю., Казаченко А.С., Скворцова Г.П., Королькова И.В., Кузнецова С.А. Сульфатирование этаноллигнина пихты комплексами триоксида серы с 1,4-диоксаном и пиридином // *Химия растительного сырья*. 2020. №3. С. 5–15. DOI: 10.14258/jcrpm.2020036931.

Malyar Yu.N.^{1,2}, Vasilyeva N.Yu.^{1,2}, Kazachenko A.S.^{1,2*}, Skvortsova G.P.¹, Korol'kova I.V.¹, Kuznetsova S.A.¹ SULFATION OF ABIES ETHANOL LIGNIN WITH COMPLEXES OF SULFUR TRIOXIDE WITH 1,4-DIOXANE AND PYRIDINE

¹ Institute of Chemistry and Chemical Technology SB RAS, Federal Research Center "Krasnoyarsk Scientific Center SB RAS", Akademgorodok, 50/24, Krasnoyarsk, 660036 (Russia), e-mail: leo_lion_leo@mail.ru

² Siberian Federal University, Svobodny pr., 79, Krasnoyarsk, 660041 (Russia)

In this work, we optimized the process of sulfating abies ethanol lignin with complexes of sulfuric anhydride with pyridine and 1,4-dioxane. Experimentally found are the conditions for the implementation of the process of sulfation of abies ethanol lignin by complexes of sulfur trioxide with 1,4-dioxane and pyridine, providing a high sulfur content (12.0–12.6%). It was shown that a high sulfur content of 12.0–13.5% (mass.) in the obtained ethanol lignin sulfate is achieved when the ratio of the amount of chlorosulfonic acid to the amount of abies ethanol lignin is 20.22 : 1 mmol : g and the duration of the sulfation process is 60–120 min and independent of the nature of the sulfating complex. The structure and composition of water-soluble sulfated abies ethanol lignin are confirmed by FTIR spectroscopy, gel permeation chromatography and elemental analysis. In the FTIR spectra of sulfated abies ethanol lignin, in comparison with the FTIR spectra of the initial abies ethanol lignin, there are absorption bands in the region of 1270–1260, 1220–1212, 861–803 cm⁻¹, corresponding to vibrations of sulfate groups. Compared to the initial lignin, sulfated abies ethanol lignin has a low degree of polydispersity. In particular, there was an increase in Mw c ~1.5 kDa to ~3.4 kDa in lignin sulfated for 30 min and a decrease in polydispersity from 2.59 to 1.22 compared to the initial abies ethanol lignin. With an increase in the sulfation time, the profile of the molecular mass distribution curve shifts to a high molecular weight region, with a simultaneous increase in polydispersity to 1.5 and Mw increases to ~4.3 kDa.

Keywords: ethanol lignin, abies wood, sulfation, chlorosulfonic acid, dioxane, pyridine, sulfated ethanol lignin, FTIR spectroscopy, gel permeation chromatography, optimization.

References

- Liu Q., Luo L., Zheng L. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, vol. 19, no. 2, pp. 335–341. DOI: 10.3390/ijms19020335.
- Lourenço A., Pereira H. *Lignin – trends and applications*, IntechOpen, 2018, pp. 65–98. DOI: 10.5772/intechopen.71208.
- Brauns F., Hibbert H. *Canadian Journal of Research*, 1935, vol. 13b(1), pp. 28–34. DOI: 10.1139/cjr35b-003.
- Tribot A., Amer G., Alio M.A., Baynast H., Delattre C., Pons A., Mathias J.-D., Callois J.-M., Vial C., Michaud P., Dussap C.-G. *European Polymer Journal*, 2019, vol. 112, pp. 228–240. DOI: 10.1016/j.eurpolymj.2019.01.007.
- Danish M., Ahmad T. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2018, vol. 87, pp. 1–21. DOI: 10.1016/j.rser.2018.02.003.
- Spiridon I. *Cellulose Chemistry and Technology*, 2018, vol. 52, no. 7–8, pp.543–550.
- Witzler M., Alzagameem A., Bergs M., Khaldi-Hansen B.E., Klein S.E., Hielscher D., Schulze M. *Molecules*, 2018, vol. 23, no. 8, p. 1885. DOI: 10.3390/molecules23081885.
- Vinardell M.P., Mitjans M. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, vol. 18, no. 6, p. 1219. DOI: 10.3390/ijms18061219.
- Andrei G., Lisco A., Vanpouille C., Introini A., Balestra E., van den Oord J., Cihlar T., Perno C.F., Snoeck R., Margolis L., Balzarini J. *Cell Host Microbe*, 2011, vol. 10, pp. 379–389. DOI: 10.1016/j.chom.2011.08.015.
- Raghuraman A., Tiwari V., Zhao Q., Shukla D., Debnath A.K., Desai U.R. *Biomacromolecules*. 2007, vol. 8, pp. 1759–1763. DOI: 10.1021/bm0701651.
- Saluja B., Thakkar J.N., Li H., Desai U.R., Sakagami M. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics*, 2013, vol. 26, pp. 296–304. DOI: 10.1016/j.pupt.2012.12.009.
- Barapatre A., Aadil K.R., Tiwary B.N., Jha H. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, vol. 75, pp. 81–89. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2015.01.012.
- Hasegawa Y., Kadota Y., Hasegawa C., Kawiminami S. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 2015, vol. 61, pp. 449–454. DOI: 10.3177/jnsv.61.449.
- Pan X., Kadla J.F., Ehara K., Gilkes N., Saddler J.N. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006, vol. 54, pp. 5806–5813. DOI: 10.1021/jf0605392.
- Qazi S.S., Li D., Briens C., Berruti F., Abou-Zaid M.M. *Molecules*, 2017, vol. 22, E372. DOI: 10.3390/molecules22030372.
- Sun S.N., Cao X.F., Xu F., Sun R.C., Jones G.L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014, vol. 62, pp. 5939–5947. DOI: 10.1021/jf5023093.
- Barapatre A., Meena A.S., Mekala S., Das A., Jha H. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2016, vol. 86, pp. 443–453. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2016.01.109.
- Wang Q., Mu H., Zhang L., Dong D., Zhang W., Duan J. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, vol. 74, pp. 507–514. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2014.12.044.
- Frangville C., Rutkevicius M., Richter A.P., Velev O.D., Stoyanov S.D., Paunov V.N. *Chemphyschem*, 2012, vol. 13, pp. 4235–4243. DOI: 10.1002/cphc.201200537.
- Richter A., Brown J.S., Bharti B., Wang A., Gangwal S., Houck K., Cohen Hubal E.A., Paunov V.N., Stoyanov S.D., Velev O.D. *Nature Nanotechnology*, 2015, vol. 10, pp. 817–823. DOI: 10.1038/nnano.2015.141.
- Prinsen P., Narani A., Hartog A.F., Wever R., Rothenberg G. *ChemSusChem*. 2017, vol. 10, no. 10, pp. 2267–2273. DOI: 10.1002/cssc.201700376.

* Corresponding author.

22. Liang A., Thakkar J.N., Hindle M., Desai U.R. *Journal of Chromatography B*, 2012, vol. 908, pp. 45–51. DOI: 10.1016/j.jchromb.2012.09.036.
23. Henry B.L., Thakkar J.N., Liang A., Desai U.R. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2012, vol. 417, no. 1, pp. 382–386. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.11.122.
24. Henry B.L., Desai U.R. *Thrombosis Research*, 2014, vol. 134, no. 5, pp. 1123–1129. DOI: 10.1016/j.thromres.2014.08.024.
25. Abdel-Aziz M.H., Mosier P.D., Desai U.R. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2011, vol. 413, no. 2, pp. 348–352. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.08.102.
26. Raghuraman A., Tiwari V., Zhao Q., Shukla D., Debnath A.K., Desai U.R.. *Biomacromolecules*, 2007, vol. 8, pp. 1759–1763. DOI: 10.1021/bm0701651.
27. Thakkar J.N. *Discovery of lignin sulfate as a potent inhibitor of HSV entry cells. Theses and Dissertations Graduate School*, Virginia Commonwealth University, 2006, 132 p.
28. Raghuraman A., Tiwari V., Thakkar J.N., Gunnarsson G.T., Shukla D., Hindle M., Desai U.R. *Biomacromolecules*, 2005, vol. 6, pp. 2822–2832. DOI: 10.1021/bm0503064.
29. Dzhil'bert E.Ye. *Sul'firovaniye organicheskikh soyedineniy*. [Dzhil'bert E.E. Sulfonation of organic compounds]. Moscow, 1969, 416 p. (in Russ.).
30. Patent 2641758 (RU). 2018. (in Russ.).
31. Kuznetsov B.N., Vasilyeva N.Yu., Kazachenko A.S., Skvortsova G.P., Levdansky V.A., Lutoshkin M.A. *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*, 2018, vol. 1, no. 11, pp. 22–130. DOI: 10.17516/1998-2836-0063.
32. Quesada-Medina J., López-Cremades F.J., Olivares-Carrillo P. *Bioresource Technology*, 2010, vol. 101, pp. 8252–8260. DOI: 10.1016/j.biortech.2010.06.011.
33. Cheronis N.D., Ma T.S. *Mikro- i polumikrometody organicheskogo funktsional'nogo analiza*. [Micro- and semi-micro-methods of organic functional analysis]. Moscow, 1973, 576 p. (in Russ.).
34. Sudakova I.G., Garyntseva N.V., Yatsenkova O.V., Kuznetsov B.N. *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*, 2013, vol. 6, pp. 76–84.
35. Calvo-Flores F.G., Dobado J.A., Isac-García J., Martín-Martínez F.J. *Lignin and Lignans as Renewable Raw Materials: Chemistry, Technology and Applications*, John Wiley & Sons. Chichester, 2015, 506 p.
36. *Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiyskoy Federatsii. 14 izd.* [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed.]. Moscow, 2008, vol. 1, 704 p. (in Russ.).
37. Zakis G.F. *Funktsional'nyy analiz ligninov i ikh proizvodnykh*. [Functional analysis of lignins and their derivatives]. Riga, 1987, 230 p. (in Russ.).
38. Khergert G.L. *IK-spektry lignina*. [IR spectra of lignin]. Moscow, 1975, 632 p. (in Russ.).
39. Bellamy L.J. *Advances in Infrared Group Frequencies*, London, 1968, 328 p.
40. Roeges N.P.G. *A guide to the complete interpretation of infrared spectra of organic structures*, John Wiley & Sons, 1995, 340 p.

Received December 10, 2019

Revised March 18, 2020

Accepted March 22, 2020

For citing: Malyar Yu.N., Vasilyeva N.Yu., Kazachenko A.S., Skvortsova G.P., Korol'kova I.V., Kuznetsova S.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 3, pp. 5–15. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020036931.

