

УДК 661.728.892:537.635

## ТВЕРДОТЕЛЬНАЯ ЯМР $^{13}\text{C}$ СПЕКТРОСКОПИЯ В АНАЛИЗЕ ПОЛИСАХАРИДОВ

© С.Г. Кострюков\*, П.С. Петров

*Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва, ул. Большевистская, 68, Саранск, 430005 (Россия), e-mail: kostryukov\_sg@mail.ru*

Полисахариды – высокомолекулярные соединения, представляющие длинные линейные и/или разветвленные цепочки моносахаридных остатков, соединенных гликозидной связью. В настоящее время наблюдается огромный и быстро нарастающий интерес к химии полисахаридов, обусловленный их широким применением в различных сферах жизнедеятельности человека. Исследование строения полисахаридов – сложная и нетривиальная задача, для решения которой в последние годы стала активно использоваться твердотельная ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопия. В обзоре проанализированы возможности твердотельной ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии для исследования полисахаридов и природных объектов, содержащих в своем составе полисахариды. Показана эволюция методов твердотельной ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии, причем основное внимание уделено использованию техники кросс-поляризации (CP) при вращении исследуемого образца под магическим углом (MAS), так как в этом случае получают наиболее разрешенные спектры с лучшим отношением сигнал/шум, не имеющие артефактных сигналов. Главное внимание в обзоре уделено целлюлозе как наиболее распространенному полисахариду, кроме того, рассмотрена применимость CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии для исследования других полисахаридов, а также материалов растительного происхождения. Представленные примеры наглядно показывают, что CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопия представляет собой наиболее мощный экспериментальный метод, позволяющий получать информацию как о строении, так и о структуре полисахаридов, а также о составе различных растительных материалов. Кроме того, сочетание доступного оборудования и разнообразных методик твердотельного ЯМР  $^{13}\text{C}$  эксперимента, безусловно, будут способствовать прогрессу дальнейших исследований в химии полисахаридов и их производных.

*Ключевые слова:* твердотельная ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопия, CP-MAS, полисахариды, целлюлоза, крахмал, эфиры целлюлозы, хитозан, хитин, растительные материалы, древесина.

*Сокращения:* MAS – вращение под магическим углом ( $54.7^\circ$ ); CP – кросс-поляризация, техника, позволяющая переносить намагниченность на слабополяризованные ядра с расположенным рядом сильно поляризованных ядер; CP-MAS – кросс-поляризация при вращении под магическим углом; SP-MAS – одноимпульсная поляризация при вращении под магическим углом; TMS – тетраметилсилан; INADEQUATE – двумерный эксперимент, позволяющий получить информацию о строении углеродного скелета молекулы на основании значений констант спин-спинового взаимодействия первого порядка  $^{13}\text{C}$ – $^{13}\text{C}$ ; MAS-J-HMQC – двумерный эксперимент при вращении под магическим углом, позволяющий получить информацию о строении углеродного скелета молекулы на основании значений констант спин-спинового взаимодействия первого порядка  $^1\text{H}$ – $^{13}\text{C}$ ; [Emim][Cl] – 1-этил-3-метилимидазолий хлорид; PRE – усиления парамагнитной релаксации; HPC – гидроксипропилцеллюлоза; HEC – гидроксипропилцеллюлоза; 2DPASS – двумерный поэтапный скорректированный спиннинг боковых полос; FIREMAT – двумерный эксперимент высокого разрешения с использованием техники подстройки магического угла, позволяющий получать тензорный набор химических сдвигов для порошкообразных образцов; CPPI, CPNQS, LCPD, CPPI-DEP, 1Q-Filter – импульсные последовательности, позволяющие редактировать спектры путем селективного подавления или изменения полярности различных групп  $\text{CH}_x$ .

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-13-50396 «Твердотельная ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопия в анализе полисахаридов»*

### Введение

Аналитические возможности спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) за последние десятилетия существенно расширились благодаря совершенствованию аппаратного и программного обеспечения исследований.

*Кострюков Сергей Геннадьевич – доцент кафедры органической химии, e-mail: kostryukov\_sg@mail.ru*

*Петров Павел Сергеевич – доцент кафедры органической химии, e-mail: petrovps83@gmail.com*

В отличие от таких распространенных инструментальных методов как хроматография, масс-спектрометрия и др., метод ЯМР

\* Автор, с которым следует вести переписку.

является неразрушающим, что позволяет сохранять целостность объекта исследования, а также отличается высокой воспроизводимостью и надежностью, минимальными требованиями к пробоподготовке и возможностью получения как структурной, так и количественной информации [1].

Спектроскопия ЯМР  $^{13}\text{C}$  в твердом состоянии с использованием кросс-поляризации (СР) и вращения под магическим углом (MAS) представляет мощный экспериментальный метод, используемый для сбора прямой информации о структуре и конформации полисахаридов [2–5]. Преимуществами данного метода является возможность регистрации спектров для образцов нерастворимых в применяемых для ЯМР исследований растворителях, кроме того, значительный диапазон химических сдвигов в спектроскопии ЯМР  $^{13}\text{C}$  позволяет получать большую информацию по сравнению со спектроскопией ЯМР  $^1\text{H}$ .

В настоящее время во всем мире наблюдается лавинообразный всплеск публикаций по использованию СР-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии в анализе полисахаридов, тогда как в отечественной литературе данный вопрос освещается крайне мало. В данном обзоре нами предпринята попытка анализа современного состояния этой проблемы с целью показать огромный потенциал метода твердотельной ЯМР спектроскопии для получения структурной и количественной информации.

Полисахариды – высокомолекулярные соединения, мономерными звеньями которых являются моносахариды. Молекулы полисахаридов представляют собой как линейные, так и разветвленные цепочки моносахаридных остатков, соединенных гликозидными связями. Свойства полисахаридов значительно отличаются от свойств их мономеров и зависят не только от состава, но и от строения, например, разветвленности молекул. Полисахариды могут быть как кристаллическими, так и аморфными веществами с различной способностью растворяться в воде. В настоящее время наблюдается огромный и быстро нарастающий интерес к химии полисахаридов и особенно к химии целлюлозы. Общеизвестно огромное техническое значение полисахаридов как дешевого самовоспроизводящегося сырья [6].

Исследование строения полисахаридов – сложная и нетривиальная задача. Классические химические методы основаны на расщеплении молекулы биополимера на небольшие фрагменты, анализе их структуры и на основании этих данных воссоздании структуры исходного полимера [7]. В последние 10–20 лет все большее значение в этой области получили физико-химические методы, которые позволяют значительно быстрее и экономичнее получать данные о строении полисахаридов или их фрагментов, например, [8, 9].

В разное время авторы исследовали полисахариды при помощи доступных на тот момент твердотельных экспериментов ЯМР и зачастую решали достаточно узкие задачи, которые не всегда имеет смысл сравнивать между собой. Наша задача – показать в обзоре эволюцию методов твердотельной ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии, причем основной акцент будет сделан на применении метода кросс-поляризации при вращении под магическим углом (СР-MAS), как наиболее перспективному и чаще всего применяемому.

### ***Общие сведения о СР-MAS ЯМР $^{13}\text{C}$ спектроскопии***

На типичном твердотельном спектре ЯМР, по сравнению с обычными спектрами ЯМР растворов, наблюдаются более широкие линии, так как в твердом состоянии присутствует множество сильных взаимодействий ядерных спинов, таких как: прямое диполь-дипольное взаимодействие, анизотропия химического сдвига, квадрупольное взаимодействие, которые зависят от их взаимной ориентации и ориентации по отношению к внешнему магнитному полю. На самом деле эти анизотропные, ориентационно-зависимые взаимодействия присутствуют и в спектрах жидкостей, но в этом случае данные взаимодействия усредняются за счет хаотичного движения, что приводит к наблюдению узких хорошо разрешенных линий в спектрах. Однако при замедлении скорости движения молекул, например, при повышении вязкости, понижении температуры или в случае с крупными молекулами, происходит уширение линий и в спектрах растворов.

Некоторые анизотропные взаимодействия могут быть частично подавлены путем введения искусственного движения образца – вращения вокруг оси наклоненной под углом  $\Theta = \cos^{-1}(1/\sqrt{3}) = 54.7356^\circ$  ( $54^\circ 44'$ ) по отношению к внешнему магнитному полю (рис. 1). Этот метод известен как вращение под магическим углом (Magic Angle Spinning – MAS), причем его эффективность проявляется только при вращении образца с частотой порядка десятков и даже сотен кГц [10].

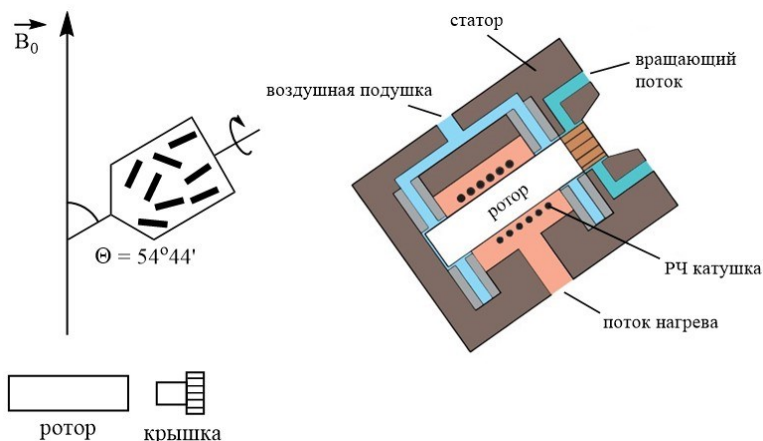


Рис. 1. Схема устройства ротора и статора в MAS датчике

Современные коммерчески доступные MAS датчики позволяют вращать образец с частотой от 10 до 110 кГц [11]. Для этого образец помещают в специальный ротор, изготовленный из диоксида циркония, и плотно закрывают. Используются роторы с различными диаметрами от 1.3 до 7 мм. Меньшие диаметры роторов позволяют достигать больших частот вращения и лучшего разрешения. Наиболее распространенный 4 мм ротор обладает объемом 80 мкл. В случаях с малыми количествами образца объем ротора может быть уменьшен при помощи различных вставок, которые позволяют упаковывать 50 и 12 мкл вещества и расположить образец в центре радиочастотной катушки. Важно, чтобы образец был плотно упакован, так как при вращении ротор должен быть хорошо сбалансирован, поскольку в случае разбалансировки ротор может разрушиться, что приведет к повреждению статора, катушки и, возможно, других частей датчика.

В случае, когда скорость вращения меньше амплитуды анизотропных взаимодействий, на спектре появляются дополнительные артефактные линии, находящиеся друг от друга на расстояниях, пропорциональных частоте вращения в Гц, эти линии называются боковыми полосами вращения (spinning sidebands). В публикациях их обычно отмечают звездочками, чтобы отличить от настоящего сигнала. Существует ряд методов, позволяющих избавиться от этих артефактов, однако в некоторых исследованиях они оказываются полезными и даже существенными, например, [12].

В случае твердотельной ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии регистрация спектра осложняется низким гиромагнитным отношением по сравнению с протонами, что приводит к меньшему Зеймановскому расщеплению энергетических уровней. В связи с этим отношение сигнал/шум на спектрах зачастую оказывается неудовлетворительным. Более того, спин-решеточная ( $T_1$ ) релаксация в твердых телах может быть очень длительной, достигая нескольких минут и более. В целях усиления сигнала от редких ядер используется импульсная последовательность кросс-поляризации (CP – Cross Polarization). Она использует эффект переноса намагниченности от ядер с высокой поляризацией (чаще всего  $^1\text{H}$ ) на низкополяризованные ядра через дипольное взаимодействие, что приводит к увеличению интенсивности сигнала и улучшению отношения сигнал/шум [10].

Другое преимущество метода кросс-поляризации состоит в том, что частота выборки данных зависит от времени релаксации того ядра, с которого переносится намагниченность, что оказывается удобным в случае с  $^1\text{H}$  ядрами, поскольку обычно их релаксация протекает намного быстрее, чем в случае с другими ядрами со спином 1/2. Это позволяет совершать больше сканов, по сравнению с простым одноимпульсным экспериментом, в котором напрямую наблюдается редкое ядро.

Применению твердотельной ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии для исследования макромолекул, в том числе и полисахаридов, посвящен целый ряд зарубежных обзоров [13–16].

### **Целлюлоза, крахмал и их производные**

Первые работы по исследованию целлюлозы и крахмала с помощью CP-MAS  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопии были опубликованы в начале 80-х гг. [17–19]. Были подобраны условия регистрации спектров и получены спектры различных полиморфных модификаций целлюлозы. Показаны характерные отличия аморфной и кристаллической целлюлозы (рис. 2). При этом использовали спектрометр JEOL FX-60Q [17, 18] и Nicolet NT 150 рабочая частота 37.735 МГц (для  $^{13}\text{C}$ ) [19].

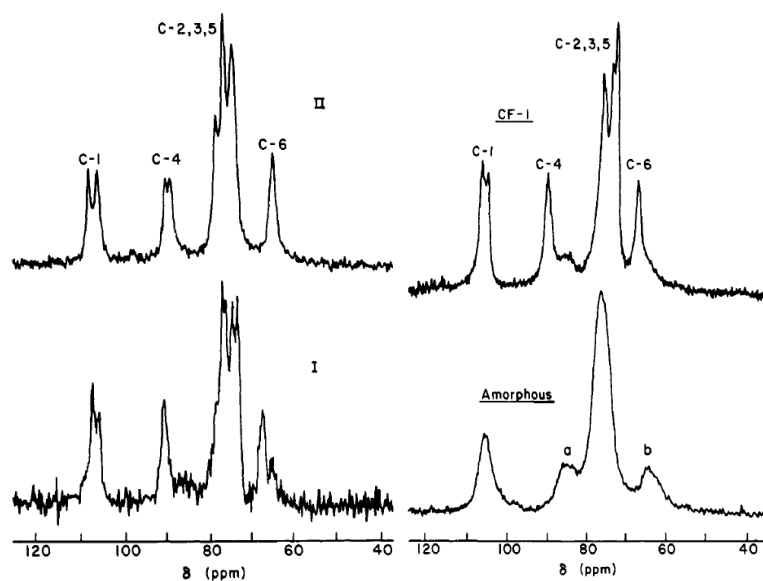


Рис. 2. CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  микрокристаллической целлюлозы высокой степени кристалличности I и II, спектры природной (CF-1) и аморфной целлюлозы (amorphous). Шкала химических сдвигов в м.д. относительно ТМС. Отнесение сигналов C1, C4 и C6 проведено в соответствии с аналогичными сигналами спектров в растворе. Параметры регистрации общие для всех спектров: длительность импульса 1 мс, время насыщения протонов 127 мс, частота вращения 2.2 кГц и различные для конкретного образца: I – 13000 сканов, объем образца 0.35 см<sup>3</sup>; II – 12342 скана, объем образца 0.7 см<sup>3</sup>; CF-1 – 12000 сканов, объем образца 0.7 см<sup>3</sup>; Amorphous – 8116 сканов, объем образца 0.7 см<sup>3</sup> (полную интерпретацию и соотнесение сигналов можно найти в работе [17])

Как следует из приведенного рисунка, спектры микрокристаллической и аморфной целлюлозы имеют отличие в положении и форме сигнала атома C-4. Для отнесения сигналов в твердотельном спектре целлюлозы в работе [20] было проведено сравнение ее спектра со спектрами олигомеров, содержащих в составе от 2 (целлобиоза) до 6 (целлодексоза) ангидроглюкозных звеньев. В данной работе был использован ЯМР спектрометр Bruker CXP-100 рабочая частота 22.6 МГц (для  $^{13}\text{C}$ ), оснащенный самодельным зондом.

Немного позднее стал исследоваться крахмал [21–23]. Так, в работе [21] были получены CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектры образцов крахмала, источниками которого являлись маниока (крахмал А) и картофель (крахмал В), при этом использовался спектрометр Bruker CXP 100. При этом были обнаружены различия в спектрах различных крахмалов, более высокое разрешение в гидратированном крахмале по сравнению с высушенным. Была предпринята попытка с помощью CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии изучить пространственное строение крахмала [22, 23] путем сравнения данных твердотельного ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектра и данных рентгеновской дифракции. Обнаружено резкое сужение резонансных сигналов  $^{13}\text{C}$  при гидратации крахмала из-за увеличения ближнего порядка в кристаллических областях и, соответственно, потеря интенсивности для сигналов, возникающих из некристаллических областей. Спектры CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  показывают характерные отличия для двух природных форм крахмала А и В. Гидратация крахмалов с высоким содержанием амилозы приводит к увеличению количества менее кристаллического материала, в сравнении с крахмалами с высоким содержанием амилопектина, что подтверждает концепцию, согласно которой амилопектин является преобладающим кристаллическим компонентом в крахмалах.

В дальнейшем была изучена гидратированная амилоза картофельного и кукурузного крахмала [24–26]. При этом, как и в предыдущих работах [21–23], обнаружено, что спектр влажного образца имеет более узкие и четко выраженные резонансные сигналы, чем сухого полисахарида. В работе [24] для регистрации CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  использовался спектрометр JEOL JNM-FX 200 и изготовленный из поли(хлортрифторэтилена) ротор, частота вращения которого составляла 3.2–3.5 кГц. В работе [25] методом CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии были исследованы комплексы включения амилозы с ДМСО и бутанол-1, при этом использовали ЯМР спектрометр Bruker CXP-100. В спектрах всех комплексов наблюдаются более широкие резонансные сигналы, что объясняется уменьшением ближнего и дальнего порядка в макромолекулах. В работе

[26] были исследованы гранул увлажненного крахмала. Твердотельные ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектры получали на спектрометре Varian Unity 500 МГц, образцы помещали в 5-мм роторы, вращающиеся с частотой 5 кГц. Условия регистрации спектров были подобраны таким образом, чтобы обнаружить сигналы атомов углерода, принадлежащих аморфным областям. Аморфные области в гранулах увлажненного крахмала являются подвижными и обладают свойствами, похожими на каучукоподобный полимер. Было найдено, что в составе пшеничного крахмала присутствуют три области: высококристаллические, образованные из двухспиральных цепочек крахмала, твердоподобные, образованные из липидных комплексов включения крахмала, и полностью аморфные области, связанные с ветвящимися структурами амилопектинового компонента крахмала. Все это можно наблюдать отдельно, используя различные твердотельные методики ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии.

В последующие годы интерес к использованию твердотельной ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии в анализе полисахаридов стал только возрастать. Так, в работе [27] исследовались различные виды целлюлозы, при этом было обнаружено, что все целлюлозные алломорфы дают сигналы при значениях  $\delta$  104.5 м.д. (С-1) и  $\delta$  88.1–88.5 м.д. (С-4), однако форма и интенсивность сигналов находится в зависимости от упорядоченности структуры полисахарида. Использовался спектрометр Bruker AMX-300 с рабочей частотой 75.43 МГц ( $^{13}\text{C}$ ), ротор из  $\text{ZrO}_2$  при вращении с частотой 5 кГц. В работе [28] на аналогичном спектрометре были изучены структурные особенности ультратонких микрофибрилл, экстрагированных из мякоти сахарной свеклы. Обнаружено, что в зависимости от условий хранения целлюлозные микрофибриллы содержали различные количества полиморфных модификаций целлюлозы, причем кристалличность целлюлозных материалов, измеренная с помощью твердотельной ЯМР спектроскопии, увеличивается по мере очистки, что в первую очередь связано с удалением нецеллюлозных полисахаридов в процессе различных обработок.

СР-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопия использовалась для мониторинга структурных изменений, происходящих в крафт-процессе [29]. Твердотельные спектры регистрировались на ЯМР спектрометре Bruker AMX-300 с использованием ротора из  $\text{ZrO}_2$  при вращении с частотой 4–5 кГц. В работах [30, 31] была исследована супрамолекулярная структура полусинтетических вязкозных волокон: лиоцелл, фортизан, купро, модал. В работе использовался спектрометр Bruker AVANCE (75 МГц для  $^{13}\text{C}$ ). Методом подбора ограниченных кривых, огибающих резонансные сигналы атомов С-4, являющихся суммой вкладов сигналов С-4 различных форм целлюлозы, определено содержание упорядоченных, частично упорядоченных и неупорядоченных полиморфов, имеющих различное пространственное расположение гидроксиметильных и гидроксильных групп. Проведена количественная оценка содержания различных форм целлюлозы.

В работе [32] с помощью твердотельной ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии изучали эффекты среды на процесс коагуляции целлюлозы из ионной жидкости (ацетат 1-этил-3-метилимидазолия). Обнаружено, что при коагуляции в воде преимущественно образуется целлюлоза II, в то время как в спиртах в основном генерируется некристаллическая форма. Последующая сушка регенерированных целлюлозных пленок инициирует процессы ороговения в виде необратимой агрегации. Это проявляется в твердотельных ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектрах увеличением интенсивности сигнала, принадлежащего кристаллической структуре, и уменьшением интенсивности сигнала аморфной формы целлюлозы. Все твердотельные спектры получены на спектрометре Varian Inova-600 для ротора диаметром 3.2 мм при вращении с частотой 15 кГц.

Следующим шагом в исследованиях пространственной структуры целлюлозы стало использование 2D  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$ -корреляционной спектроскопии. Так, в работе [33] впервые описана регистрация двумерных твердотельных спектров на ЯМР спектрометре Bruker AV 300 с использованием техники INADEQUATE (корреляция напрямую связанных ядер  $^{13}\text{C}$ ) и MAS-J-HMQC (корреляция между протонами и ядрами  $^{13}\text{C}$ ) для мерсеризованной целлюлозы, которая была получена биосинтетически с использованием штамма *Acetobacter xylinum* ATCC 10245 из равномерно меченых атомов  $^{13}\text{C}$  глюкозы. В двумерном спектре целлюлозы четко наблюдались два набора напрямую связанных атомов  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  от С-1 до С-6, что позволило провести точное отнесение резонансных сигналов в одномерном СР-MAS  $^{13}\text{C}$  спектре. Похожее исследование проведено в работе [34], в которой сообщается о твердотельных 2D  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  ЯМР-корреляционных экспериментах на различных образцах целлюлозы. Однако в этой работе был использован ЯМР спектрометр с большей рабочей частотой (800.2 МГц для  $^1\text{H}$  и 200.05 МГц для  $^{13}\text{C}$ ). На основании спектров СР-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  и квантово-химических расчетов была предложена скрученная структура для аморфной целлюлозы, имеющая более гидрофильную поверхность, чем у кристаллической целлюлозы. На рисунке 3 представлены 2D  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  INADEQUATE и ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектры  $^{13}\text{C}$ -целлюлозы.

В работе [35] сообщается о твердотельных 2D  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  ЯМР-корреляционных экспериментах на различных образцах целлюлозы с использованием ЯМР спектрометра Varian Inova-600 с рабочей частотой 600 МГц и вращением образца с частотой 15 кГц. В результате удалось получить спектры с разрешением, позволяющим различить 4 различных типа конформаций ангидроглюкозных звеньев. На основе анализа области твердотельного спектра ЯМР  $^{13}\text{C}$ , отвечающей атомам С-4, можно количественно оценить содержание различных форм целлюлозы (рис. 4).

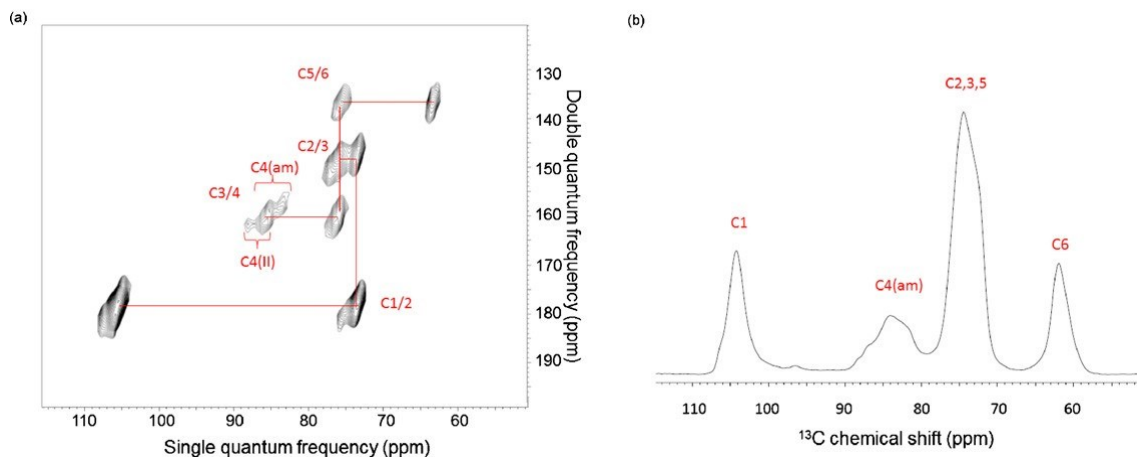


Рис. 3: а) корреляционный  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  INADEQUATE спектр образца целлюлозы, обработанной [Emim][Cl]. Линиями показаны корреляции между близлежащими атомами углерода, указан сигнал аморфной целлюлозы. Небольшое количество целлюлозы II установлено по химическому сдвигу при 88.2 м.д. в области корреляций C3/4; б) твердотельный ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектр целлюлозы, обработанной [Emim][Cl] (полную интерпретацию и соотнесение сигналов можно найти в работе [34])

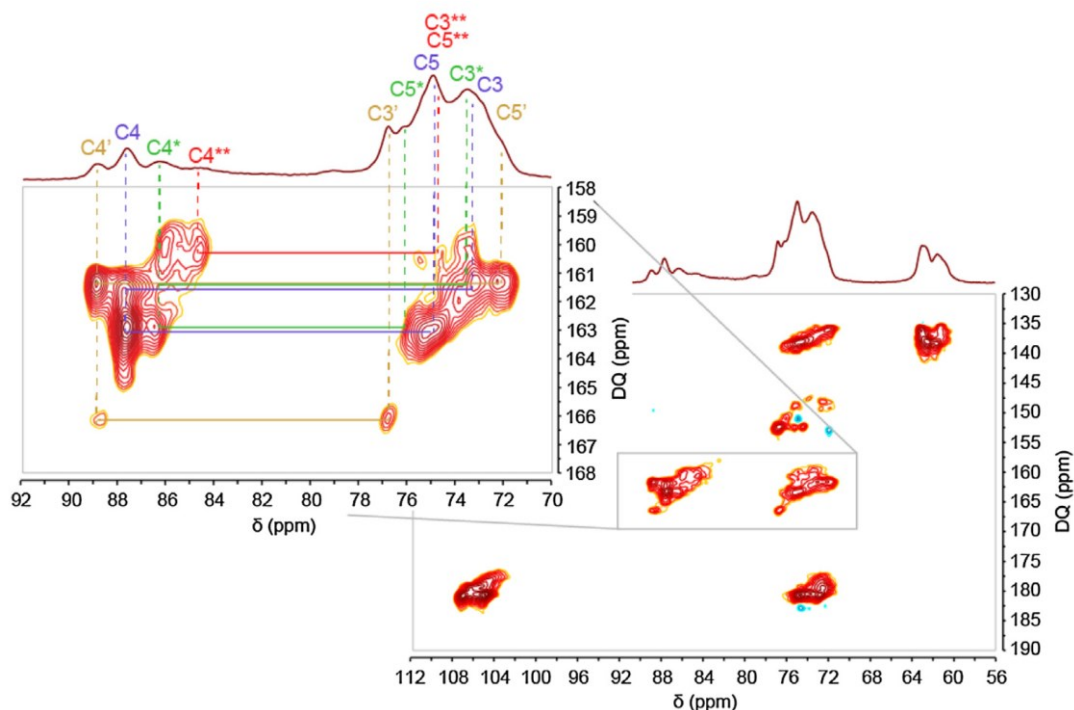


Рис. 4. Корреляционный  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$  INADEQUATE спектр обогащенного изотопом  $^{13}\text{C}$  твердого образца регенерированной целлюлозы. Показаны C3-C4-C5 корреляции в ангидроглюкозных остатках А (синий), В (оранжевый), С (зеленый) и D (красный) (полную интерпретацию и соотнесение сигналов можно найти в работе [35])

Другим современным методом получения большей информации из CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектров может служить метод усиления парамагнитной релаксации (PRE) [36]. В исследовании использовали спектрометр Bruker Avance DPX300 с рабочей частотой 75 МГц ( $^{13}\text{C}$ ), ротор диаметром 4 мм и вращение с частотой 4 кГц. Показано, что сигналы атомов углерода, принадлежащие кристаллической или аморфной формам, имеют различное время релаксации и те области, которые доступны для растворителя при добавлении парамагнитного реагента (водорастворимого нитроксильного радикала 4-ОН-ТЕМРО) релаксируют значительно быстрее. Таким образом, CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопия с усилением парамагнитной релаксации представляет новый способ определения супрамолекулярной структуры целлюлозы.

В последние годы твердотельную ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопию стали активно применять для решения широкого спектра прикладных задач. Так, с помощью твердотельной ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии было изучено влияние различных факторов на высвобождение лекарственного средства в лекарственных формах на основе модифицированного крахмала с высоким содержанием амилозы [37, 38]. С помощью твердотельной ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии получена информация о строении объекта, количественная информация о набухании и диффузионной кинетики.

Для мониторинга физико-химических изменений, происходящих в структуре и микроструктуре крахмала при различных воздействиях, в работе [39] наряду с рентгеновским анализом, ВЭЖХ, оптической и сканирующей электронной микроскопией была использована CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопия (спектрометр Bruker Avance 400, резонансная частота 100.62 МГц для  $^{13}\text{C}$ ,  $\text{ZrO}_2$ -ротор диаметром 4 мм, вращение 5 кГц). Спектры крахмалов, подвергнутых воздействию высокого давления, показали смещение химического сдвига атома С-1, а также изменения интенсивности пиков для С-1, С-4 и С-6, поскольку данная обработка приводит к значительному снижению кристалличности.

Первое исследование эфиров целлюлозы было проведено в 1995 г. [40] с использованием ЯМР спектрометра Bruker MSL 300 P на рабочей частоте 75.5 МГц,  $\text{ZrO}_2$ -ротор диаметром 7 или 4 мм, вращение 1 или 8 кГц при комнатной температуре. Объектами исследования выступили коммерчески доступные ацетат и пропионат целлюлозы. При вращении образца с частотой 1 кГц в спектре наблюдались так называемые сателлиты или боковые полосы вращения (spinning sideband), поскольку скорость вращения меньше амплитуды анизотропных взаимодействий. При вращении образца с частотой 5 кГц данные полосы практически все исчезали. Высококристаллические три-О-замещенные простые эфиры целлюлозы, имеющие в качестве заместителя этил, *n*-пропил, *n*-бутил, аллил и метилл, полученные из низкомолекулярной целлюлозы (DP=15), были исследованы в работе [41]. В работах [42, 43] была изучена метилцеллюлоза с различной степенью замещения. На специально полученных стандартных образцах метилцеллюлозы с полностью однородной структурой замещения: 2-О-метилцеллюлоза, 3-О-метилцеллюлоза и 6-О-метилцеллюлоза были подобраны условия регистрации CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектров и проведено отнесение сигналов [42] (спектрометр Bruker AVANCE 600,  $\text{ZrO}_2$ -ротор диаметром 7 или 2.5 мм, вращение с частотой 6.5 кГц или 12.5 кГц). В работе [43] на примере четырех коммерческих образцов метилцеллюлозы определена общая степень замещения и степень замещения по атомам С-6 и С-2/3. В работе [44] с помощью твердотельной ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии были определены параметры замещения для гидроксиэтилцеллюлозы, гидроксипропилметилцеллюлозы и гидроксиэтилметилцеллюлозы (рис. 5). Вычисления основывались на анализе значений относительных интенсивностей определенных областей в CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектров эфиров целлюлозы и микрокристаллической целлюлозы. Твердотельные ЯМР  $^{13}\text{C}$  регистрировались на спектрометре JEOL JNM-ECX400 (9.39 Т, 100.5 МГц) с использованием 4 мм  $\text{ZrO}_2$ -ротора при вращении с частотой 10 кГц. Вычисленные на основании CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектров результаты были подтверждены данными ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектров продуктов кислотно-катализируемого гидролиза тех же самых эфиров целлюлозы [45].

Методом твердотельной ЯМР  $^2\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  спектроскопии были исследованы гидратационные свойства региоселективно этерифицированных целлюлоз. В качестве объектов исследования выступали 2,3-О-гидроксипропил- (НРС) и 2,3-О-гидроксиэтилцеллюлоза (НЕС) [46]. В данном исследовании наряду с кросс-поляризацией (CP) использовался метод одноимпульсной поляризации (SP). Гидратационные эффекты заключались в уменьшении ширины резонансных сигналов при повышении уровня гидратации и исчезновении сигнала в области 97.3 м.д. принадлежащей менее устойчивой скрученной конформации (рис. 6).

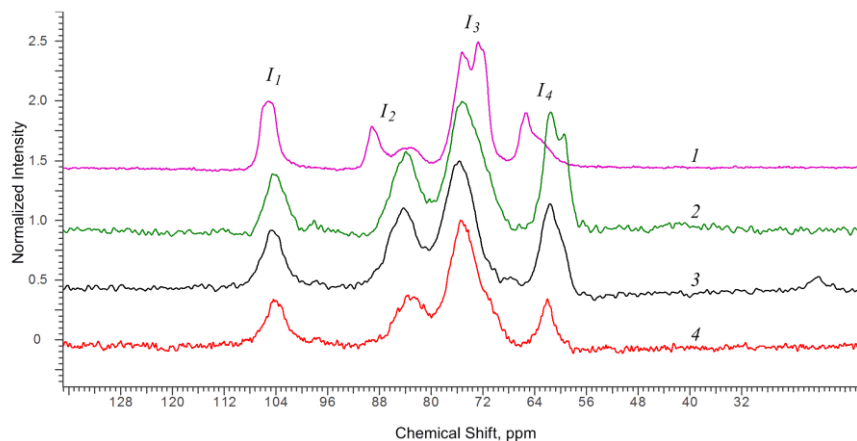


Рис. 5. CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектры микрокристаллической целлюлозы (1), гидроксиэтилметилцеллюлозы (2), гидроксипропилметилцеллюлозы (3) и гидроксиэтилцеллюлозы (4) (полную интерпретацию и соотнесение сигналов можно найти в работе [44])

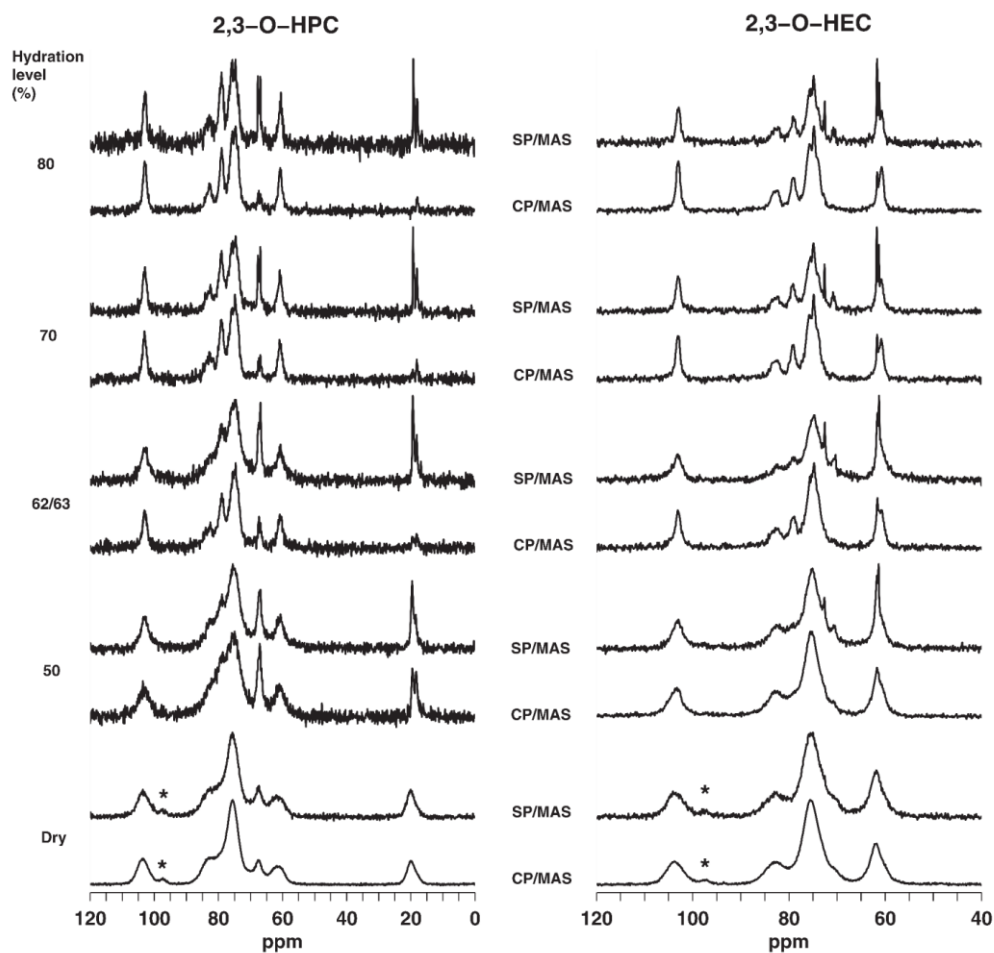


Рис. 6. Спектры  $^{13}\text{C}$  CP-MAS (нижние спектры) и SP-MAS (верхние спектры) НРС (левый столбец) и НЕС (правый столбец) при различных уровнях гидратации. В спектрах сухих образцов резонансный сигнал от С-1 (неустойчивой формы) отмечен звездочкой (полную интерпретацию и соотнесение сигналов можно найти в работе [46])



Как следует из рисунка 6, спектры SP-MAS и CP-MAS идентичны как для гидроксипропил-, так и для гидроксипропилцеллюлозы, за исключением лучшего отношения сигнал/шум. В работах [47, 48] обсуждаются возможности использования CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии для анализа наиболее распространенных фармацевтических наполнителей, используемых в твердых лекарственных формах, в том числе крахмал-гликолята натрия, крахмала различного происхождения, микрокристаллической целлюлозы, гидроксипропилметилцеллюлозы, этилцеллюлозы, метилцеллюлозы, гидроксипропилцеллюлозы и альгината натрия. В исследовании использовался спектрометр Bruker DSX 400 с рабочей частотой 100.13 МГц ( $^{13}\text{C}$ ), стандартный 4 мм  $\text{ZrO}_2$ -ротатор и вращения с частотой 10 кГц и стандартный зонд Bruker PH MAS VTN 400WB BL4.

В работе [49] с помощью CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии осуществлялся контроль степени замещения при получении карбоксиметилцеллюлозы при этерификации бактериальной целлюлозы (рис. 7). Результаты, полученные из CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектров, сравнивали с данными кондуктометрического титрования.

В работе [50] было исследовано периодатное окисление целлюлозы, при этом были получены 2,3-диальдегидцеллюлозы, 2,3-дикарбоксилцеллюлозы и соответствующие натриевые соли. Поскольку химические сдвиги групп  $\text{C}=\text{O}$  и  $\text{COOH}$  являются характерными, то во всех спектрах CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  наблюдаются соответствующие изменения. Исследование, посвященное определению содержания карбоксильных соединений в окисленных целлюлозах методом CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии, представлено в работе [51]. Для проверки точности и воспроизводимости результатов анализа были исследованы образцы с содержанием 0, 4, 8, 12, 16 и 20% карбоксила, приготовленные смешением соответствующих количеств неокисленной целлюлозы и коммерческого окисленного образца 6-карбоксилцеллюлозы с содержанием карбоксила 20%. Полученные результаты сравнивали со значениями, определенными по методу, описанному в Фармакопее США.

Много работ посвящено исследованию изменений, происходящих в целлюлозе в процессе мерсеризации. Так, в работе [52] образцы коммерчески доступной микрокристаллической целлюлозы обрабатывали различными концентрациями водных растворов  $\text{NaOH}$  при различной температуре и затем исследовали с помощью CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии. При этом наблюдались изменения интенсивности и формы сигналов атомов  $\text{C}_1$ ,  $\text{C}_4$  и  $\text{C}_6$ , что связано с изменением конформации целлюлозных цепей, происходящих в результате растворения целлюлозы в растворе  $\text{NaOH}$  и последующим ее осаждением. Похожее исследование описано в работе [53], однако здесь в качестве объекта изучения выступала целлюлоза, выделенная из жома сахарной свеклы. Установлено, что целлюлоза, полученная в результате кислотной очистки, более восприимчива к мерсеризации, чем целлюлоза, полученная при действии щелочи, что объясняется частичной деполимеризацией, произошедшей при кислотной обработке. Поскольку источниками целлюлозы могут различные растительные материалы, представляет интерес работа [54], в которой оболочки кокосового ореха (эпикарп и эндокарп) использовались для получения целлюлозы, ацетата целлюлозы и целлюлоза-кремнеземного композита. Все полученные материалы были охарактеризованы с помощью твердотельной ЯМР  $^{13}\text{C}$  и  $^{29}\text{Si}$  спектроскопии. Твердотельные  $^{13}\text{C}$  и  $^{29}\text{Si}$  ЯМР спектры регистрировались при комнатной температуре с помощью спектрометра Varian/Agilent VNMR 400 МГц (магнитное поле 9.4 Тл, резонансные частоты 100.52 и 79.41 МГц для ядер  $^{13}\text{C}$  и  $^{29}\text{Si}$  соответственно). CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопия использовалась для мониторинга химических изменений целлюлозных волокон в процессе фосфорилирования [55], хотя нужно отметить, что спектры исходных и фосфорилированных целлюлозных волокон отличаются мало.

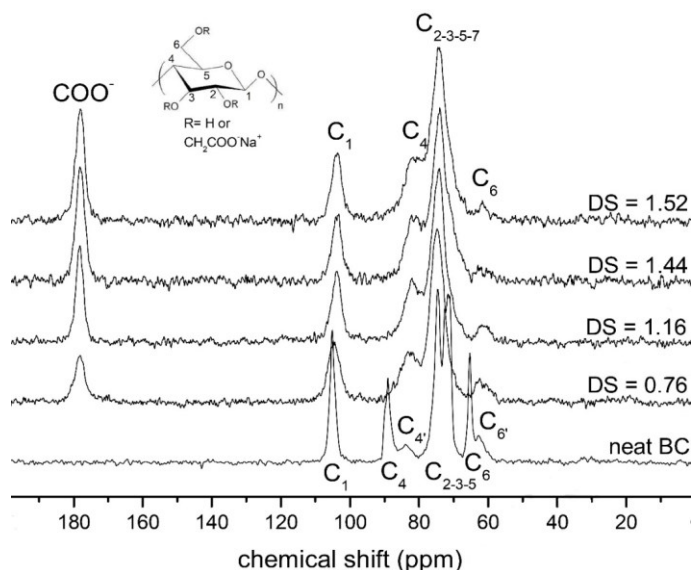


Рис. 7. CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектры исходной бактериальной целлюлозы (BC) и карбоксиметилированных образцов BC с различной степенью замещения (DS) (полную интерпретацию и отнесение сигналов можно найти в работе [49])

### Хитин, хитозан и другие полисахариды

Твердотельная ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопия может с успехом применяться для характеристики и других полисахаридов. Так, в работе [56] с помощью CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии были выявлены различия в строении  $\alpha$ -хитина из креветок и  $\beta$ -хитина из кальмара. Образцы  $\alpha$ - и  $\beta$ -хитина были предварительно очищены от белка обработкой раствором NaOH, а затем пепсином в разбавленной уксусной кислоте. Обе разновидности хитина были растворены в N,N-диметилацетамиде, содержащем 5% LiCl, и осаждены затем водой. Спектры CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$   $\alpha$ -хитина содержат восемь основных резонансных сигналов, что свидетельствует о высокой степени структурной однородности, тогда как в спектре  $\beta$ -хитина сигналы атомов C-3 и C-5 сливаются в один. В следующей работе [57] приводится определение степени ацетилирования хитина и хитозана методом CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии. В исследовании использовался спектрометр Bruker MSL 400 P и техника кросс-(CP) и одноимпульсной (SP) поляризации, причем, как и в работе [46], кросс-поляризация дает более качественные спектры, отличающиеся лучшим отношением сигнал/шум при меньшем числе сканов, что существенно сокращает время регистрации спектров (рис. 8).

Строение и параметры замещения хитина, хитозана и дибутрилхитина были определены методом твердотельной ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии [58], хотя справедливости ради следует отметить, что большее внимание в данной работе было уделено использованию ИК-Фурье спектроскопии. Подобное исследование представлено в работе [59], в которой объектами изучения стали хитозаны из *Euphausia superba* различной степени ацетилирования (42%, 28% и <5%). В этой работе также наряду с CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопией, использовали рентгеновскую дифрактометрию и ИК-Фурье спектроскопию. Новым шагом на пути изучения структуры хитина было использование высокоразрешающей CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии с применением техники двумерного поэтапного скорректированного спиннинга боковых полос (2DPASS) [12]. В работе использовался ЯМР спектрометр JEOL ECX 500. Время спин-решеточной релаксации  $^{13}\text{C}$  измеряли методом Torchia CP, параметры анизотропии химического сдвига восьми химически различных углеродных ядер были определены экспериментом 2D PASS-MAS-ЯМР. Большая величина анизотропии химического сдвига наблюдалась для ядер углерода C-7 карбонильной группы из-за электростатического эффекта, водородных связей и молекулярной магнитной восприимчивости. Другой подход к изучению строения хитина и хитозана состоит в использовании 2D методики FIREMAT, основанной на анализе спутанных сигналов [60]. Определенный интерес представляет работа [61], в которой исследовалось комплексообразование экзополисахарида *Xanthomonas axonopodis* pv. *Citri* с ионами  $\text{Cu}^{2+}$ . В других исследованиях, посвященных хитину, CP-MAS  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопия использовалась как метод мониторинга ферментативного гидролиза хитина [62], для оценки качества хитина, полученного из панциря креветок [63], а взаимосвязи степени ацетилирования с механическими свойствами [64].

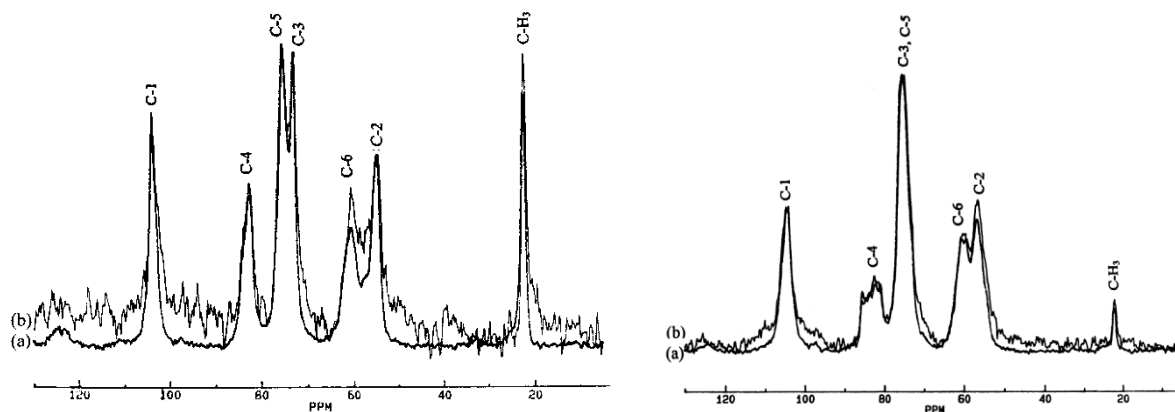


Рис. 8. Твердотельные ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектры (а) CP-MAS и (б) SP-MAS: хитина (слева) и деацетилированного хитина (справа) (полную интерпретацию и отнесение сигналов можно найти в работе [57])

С помощью CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии были изучены некоторые коммерческие пектины [65]. На основании данных спектров было определено содержание галактуроновой кислоты, степени метилирования и ацетилирования. Показано, что найденные таким образом результаты хорошо согласуются со значениями, полученными обычными методами (фотометрия и ВЭЖХ). Структуру смешанно-связанного (1 $\rightarrow$ 3),(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-глюкана, экстрагированного из ячменя, также исследовали с помощью CP-MASS  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопии [66], причем обнаружено, что полисахарид содержит области с двумя различными конформациями: упорядоченной и аморфной. В работе [67] были изучены (1 $\rightarrow$ 3)- $\alpha$ -D-глюканы, синтезированные клонированной из *Streptococcus salivarius* глюкозилтрансферазой с использованием сахарозы в качестве субстрата.

Полиморфизм трех различных форм курдлана и четырех (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-глюканов, синтезированных *in vitro*, был исследован CP-MAS  $^{13}\text{C}$  ЯМР спектроскопией и рентгеновской порошковой дифрактометрией [68]. Было обнаружено, что высушенные образцы курдлана имеют разупорядоченное состояние, в то время как полимер, подвергнутый гидротермальной обработке или набуханию в воде, имеет две гидратированные кристаллические структуры. Образцы, синтезированные *in vitro* детергентными экстрактами плазматических мембран из *Rubus fruticosus* и *Saprolegnia monoica*, а также с помощью мутантной ячменной (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-глюканэндогидролазы, демонстрировали структурную неоднородность. Резонансный сигнал 76 м.д., соответствующий атому C-5, был идентифицирован с помощью CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии. Была обнаружена важность этого пика как маркера степени структурной организации (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -D-глюканов, так как его форма и интенсивность связана с соотношениями различных кристаллических алломорфов в данном полисахариде. Гидраты  $\alpha$ -,  $\beta$ - и  $\psi$ -циклодекстринов [69] также были исследованы с помощью CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии. Обнаружено, что конформационные изменения (1 $\rightarrow$ 4)-гликозидной связи являются важным фактором, определяющим химические сдвиги для атомов C-1 и C-4, в то же время изменения в химических сдвигах атомов C-6 не столь информативны, так как они более чувствительны к наличию водородных связей, о чем свидетельствуют спектральные изменения, происходящие при потере воды из кристаллической структуры.

CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопия может быть использована для исследования строения пектовой кислоты, ее натриевой и кальциевой солей, а также метилового эфира [70]. Было обнаружено, что в кислоте и в ее натриевой форме положения сигналов для атомов углерода C-1 и C-4 сильно зависят от конформации полисахаридной цепи. Альгиновая кислота также явилась объектом исследования твердотельной ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии [71]. В частности, в данной работе на основании ЯМР спектра было определено соотношение маннуриновых и гулуриновых фрагментов, а в работе [72] – изучено взаимодействие двухвалентных катионов  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  бактериальным альгинатом путем определения скоростей спин-решеточной релаксации, а также ширины и формы сигналов  $^{13}\text{C}$  при изменении иона металла. Сообщается также о регистрации CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектров различных каррагинанов, фуцелларана и агарозы, выделенных из водорослей [73], проведено сравнение спектров, полученных в твердом состоянии и в растворе.

### **Применение CP-MAS ЯМР $^{13}\text{C}$ спектроскопии в исследовании материалов растительного происхождения**

Несомненный интерес представляет использование CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии в исследовании растительных материалов. Одна из первых работ была посвящена исследованию полисахаридов, входящих в состав клеточных стенок репчатого лука (*Allium cepa*) [74]. Для регистрации CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектров данных полисахаридов специально были подобраны условия с различной длительностью импульса кросс-поляризации, позволившие получить более качественные спектры. Длительность импульса была увеличена от стандартных 0.5 мс до 2 мс. Такой подход, по мнению авторов, может быть применим к другим мягким, увлажненным тканям растений и животных.

Фракции кутикулы облепихи (*Hippophaë rhamnoides*), черной смородины (*Ribes nigrum*), а также мембраны красной кожуры картофеля (*Solanum tuberosum* var. *Asterix*) также стали объектами исследования CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии [75]. В работе использовался спектрометр Bruker AVANCE-400. Спектральные исследования подтвердили наличие полисахаридов и ароматической лигниноподобной фракции, а также присутствие полимера типа кутана в кутикулярной фракции ягоды. Обнаружено некоторое влияние географической широты произрастания на состав кутикулярных фракций для черной смородины, что было продемонстрировано на примере ягод, выращенных в северной и южной Финляндии. Спектры картофельного суберина похожи на спектры кутикул черной смородины. CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопию использовали при исследовании экстрактов шелухи сои и определения входящих в ее состав полисахаридов [76]. Похожее

исследование проведено на примере порошков пищевых волокон аронии, черники, черной смородины и яблока [77]. Спектры ЯМР являются сложными из-за суперпозиции резонансов от различных полисахаридов и полифенольных соединений, однако позволяют идентифицировать основные компоненты: микрокристаллическую целлюлозу, пектины, лигнины, кутиноподобные полимеры и конденсированные танины.

Были исследованы волокна целлюлозы, извлеченные из африканских нативных травяных волокон *Napier* [78]. Обнаружено, что извлеченные волокна имели более высокое содержание  $\alpha$ -целлюлозы, кристалличность и термическую стабильность, чем исходные растительные материалы. СР-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектры подтверждают удаление компонентов лигнина и гемицеллюлоз после химической обработки. Аналогичное исследование на примере льна, конопли, кенафа и сорго проведено в работе [79]. Найдены структурные различия, обусловленные присутствием различных форм целлюлозы, что также было подтверждено с помощью рентгеновской дифрактометрии. Обнаружено, что при переходе от льна и конопли к кенафу и сорго содержание кристаллической формы уменьшается. Похожее исследование [80] посвящено определению влияния экстракций на молекулярное строение целлюлозы препарата клеточной стенки двудольного растения *Arabidopsis thaliana*. Влияние термохимических обработок (акватермолиз, пиролиз и их комбинации) на состав соломы пшеницы изучено в работе [81]. В отличие от пиролиза пшеничной соломы, пиролиз акватермолитизированной соломы оставляет следы целлюлозы на угле, а в СР-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектре присутствуют более интенсивные пики метокси-групп лигнина. Все пиролизаты содержат алифатические фрагменты, которые были приписаны кутину или кутиноподобным материалам, макромолекулы которых покрывают поверхность растения. В работе [82] методом СР-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии были охарактеризованы выделенные из шелухи зерен овса и ячменя нерастворимые в воде пищевые волокна. Были получены данные о содержании в них целлюлозы и нецеллюлозных полисахаридов.

Неразрушающий метод быстрого количественного определения целлюлозы в табаке представлен в работе [83]. Для этого образец порошка загружали в ротор, содержащий силиконовую трубку в качестве внутреннего стандарта. Спектры СР-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  образцов табака обработаны методом спектральной деконволюции по сигналам атома С-1 при 105.5 м.д. и внутреннего стандарта при 0 м.д. Результаты разработанного метода хорошо согласуются с результатами химического анализа. С помощью СР-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии исследовали изменения супрамолекулярных свойств целлюлозы I, полученной из древесины лиственных пород в процессе сушки [84]. Обнаружено значительное изменение латеральных размеров агрегата фибрилл. Данный эффект был исследован при различных методах сушки.

Интересные результаты приводятся в работе [85], где описано количественное определение глюканов, маннанов и ксиланов, образовавшихся в процессе распада древесины кипариса (*Cupressus glauca*), подвергшейся воздействию грибов бурой гнили (*Gloeophyllum trabeum*, *Lentinus lepideus*) и белой гнили (*Trametes versicolor*, *Ganoderma applanatum*). С помощью СР-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии было обнаружено, что скорость деградации полисахаридов древесины кипариса находятся в следующей последовательности: маннан > галактан > ксилан > глюкан. СР-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектры показали, что при воздействии грибов бурой гнили на древесину, в первую очередь, происходит удаление углеводов, причем гемицеллюлозы удалялись быстрее, чем целлюлоза. В случае лигнина происходят также процессы деметилирования и окисления. Аналогичное исследование описано в работе [86], посвященной исследованию изменений, происходящих в древесине лайма (*Tilia cordata* Miller) при заражении ее грибами мягкой гнили (*Trichoderma viride* Pers) на различные сроки до 84 дней. Структурные и морфологические трансформации были оценены путем сравнения структурных особенностей образцов гнилой древесины лайма с неизменной. Обнаружено, что степень кристалличности и доля целлюлозы в процессе биодеградации снижаются, тогда как кажущийся латеральный размер кристаллитов и доля внутренних цепей кристаллитов увеличиваются при длительных процессах биодеградации.

Объектом изучения СР-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии служили высушенные иглы австралийской сосны [87]. Используя различные методики спектрального редактирования СР-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектров, удалось получить субспектры четвертичных, третичных, вторичных и первичных атомов углерода.

С помощью СР-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии можно изучать процесс увлажнения бумажной массы [88]. Образцы бумажной массы обрабатывали циклами сушки и смачивания перед ЯМР анализом, а произошедшее укорочение полимерной цепи регистрировалось по спектральным изменениям сигналов атомов С-4. Увеличение сигнала, принадлежащего кристаллической форме и уменьшение сигналов, соответствующих доступным аморфным доменам, было обнаружено как для бумажной массы, так и для модельной нанокристаллической целлюлозы. Эти спектральные изменения усиливались при повторяющихся циклах сушки и смачивания. Ис-

следование ретроградации крахмала в процессе хранения лепешек описано в работе [89]. Происходящие изменения фиксировали с помощью ИК, Раман- и СР-MAS ЯМР <sup>13</sup>C спектроскопии. Исследовано влияние соотношений целлюлозы и гемицеллюлоз на ультраструктуру волокон в трех различных образцах, полученных при различных методах крафт-варки [90]. Ультраструктура волокон была изучена с помощью сканирующей электронной микроскопии с полевой эмиссией (FE-SEM), а также с помощью СР-MAS <sup>13</sup>C ЯМР спектроскопии, в результате удалось получить данные об объемных свойствах волокон целлюлозы. Так, образцы с высоким содержанием гемицеллюлоз имели пористую поверхностную структуру, а с низким содержанием – более компактную. В спектрах СР-MAS ЯМР <sup>13</sup>C это изменение отражалось в области сигналов для атома С-4. Результаты FE-SEM и СР-MAS ЯМР <sup>13</sup>C хорошо коррелируют между собой.

Строение клеточной стенки сахарной свеклы и картофеля было исследовано на примере щелочных экстрактов с помощью твердотельной ЯМР <sup>13</sup>C спектроскопии [91]. Установлено влияние двух параметров экстракции: концентрации NaOH (0.05, 0.275, 0.5 М) и температуры (40, 65, 90 °С) на состав (нейтральный и кислый сахар) извлеченных остатков. При повышении концентрации щелочи и температуры постепенно вымываются нецеллюлозные полисахариды. В щелочных экстрактах стенок сахарной свеклы содержание пектинов выше, чем в материале клеточной стенки картофеля. Твердотельная ЯМР <sup>13</sup>C показала наличие двух фракций боковых цепей арабинана и галактана.

СР-MAS ЯМР <sup>13</sup>C спектроскопия идеально подходит для изучения строения клеточных стенок растений на молекулярном уровне [92]. На примере модельных растений *Arabidopsis thaliana*, *Brachypodium distachyon* и *Zea mays* было обнаружено, что целлюлоза, гемицеллюлозы и пектины образуют единую сеть в первичной клеточной стенке; в клеточных стенках двудольных растений белок экспансин связан с обогащенной гемицеллюлозами областью микрофибрилл целлюлозы; целлюлоза первичной стенки содержит полиморфные структуры, которые отличаются от структур бактериальной целлюлозы. Изучение изменения состава клеточной стенки плодов киви при созревании проведено в работе [93].

На примере сельдерея с помощью твердотельной ЯМР <sup>13</sup>C спектроскопии проведено первое сравнительное изучение клеточных стенок колленхимы и паренхимы [94]. Было найдено, что клеточные стенки колленхимы содержат меньше пектина, но больше гемицеллюлоз по сравнению с паренхимой. Твердотельные ЯМР <sup>13</sup>C спектры показали, что в спектре колленхимы более интенсивны арабиновые сигналы, в то время как в спектре паренхимы больше галактанов. В исследовании [95] твердотельная ЯМР <sup>13</sup>C спектроскопия была использована для сравнения различий в составе полисахаридов, содержащихся в кожуре яблок «Scifresh» и «Royal Gala». Полученные твердотельные спектры ЯМР <sup>13</sup>C высокого разрешения позволили понять, как физические свойства зависят от полисахаридного состава объектов исследования.

Химическая структура и взаимодействие полисахаридов клеточной стенки красных морских водорослей *Palmaria palmata* были изучены методом ЯМР <sup>13</sup>C спектроскопии в твердом состоянии. Спектры СР-MAS ЯМР <sup>13</sup>C регидратированного порошка водорослей выявили присутствие β-(1→4)/β-(1→3)-связанного D-ксилана [96]. Получение и исследование агарозы из красной водоросли *Gracilaria dura* приводится в работе [97], а в работе [98] приведено сравнительное исследование состава клеточных стенок пресноводных (*Chlamydomonas reinhardtii*) и морских (*Pavlova lutheri* and *Nannochloropsis oculata*) микроводорослей.

Интересный подход для изучения процесса торрефикации различных типов биомассы предложен в работе [99]. Торрефикация была исследована с помощью термогравиметрического анализа и твердотельной ЯМР <sup>13</sup>C спектроскопии на примере четырех растительных объектов: сосны, мискантуса, ясеня и соломы пшеницы. Потеря массы и изменения в химическом составе и строении твердой фазы изучалась, соответственно, в зависимости от температуры и времени. Было обнаружено, что образцы, содержащие большие количества ксилана, теряют массу быстрее. Лигнин показал защитную роль по отношению к целлюлозе, поскольку скорость его дегградации выше, и он подвергает дегградации в первую очередь.

В работах [100–102] показано, что СР-MAS ЯМР <sup>13</sup>C спектроскопия высокого разрешения стала полезным методом исследования структурных особенностей археологических предметов. Так, в работе [100] приводится общая стратегия качественного анализа древесины, включающая следующие подходы: 1) получение и ЯМР исследования модельных соединений, являющихся основными компонентами древесины (лигнин, целлюлоза и гемицеллюлозы); 2) исследование компонентов древесины, подвергшихся различным воздействиям; 3) разработка техники 1D, 2D и даже 3D экспериментов в ЯМР исследованиях. На рисунке 9 представлены типичные спектры, полученные с использованием различных импульсных последовательностей, позволяющие регистрировать резонансные сигналы различных типов атомов углерода.

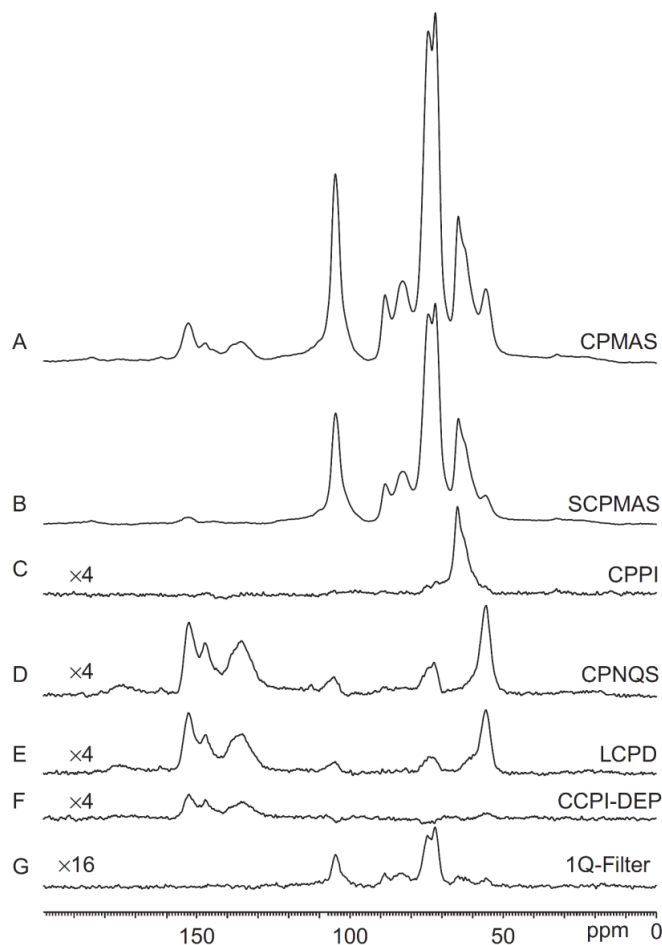


Рис. 9. Сравнительные спектры ЯМР  $^{13}\text{C}$  образца археологической древесины с использованием различных техник эксперимента для отнесения сигналов четвертичных (безводородных) атомов углерода и  $\text{CH}_x$ -фрагментов: (a) CPMAS, (b) SCPMAS, (c) CPPI, (d) CPNQS, (e) LCPD, (f) CCPI-DEP, (g) одноквантовая фильтрация (1Q-Filter) (полную интерпретацию и соотнесение сигналов можно найти в работе [100])

В следующей работе [101] рассмотрено применение ЯМР-анализа для исследования изменений, происходящих в окаменелой древесине в процессах окаменения, углефикации, минерализации и мумификации. Представлены общие принципы, необходимые для получения надежных и воспроизводимых результатов анализа ископаемого дерева с помощью CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии.

Не менее важной является работа [102], в которой с помощью ЯМР  $^1\text{H}$  релаксации и CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопии были охарактеризованы античные листы бумаги. Было обнаружено, что полукристаллическая волокнистая целлюлоза, богатая водой, присутствует в I $\alpha$  и I $\beta$  формах. Аморфная целлюлоза с низким содержанием воды содержит большее количество парамагнитных примесей и характеризуется довольно короткими  $^1\text{H}$  спин-решеточными релаксациями и  $^{13}\text{C}$  резонансами. Специальные последовательности импульсов способны генерировать CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектры, в которых четко наблюдается присутствующая в бумаге аморфная целлюлоза.

### Заключение

Представленный в обзоре материал наглядно показывает, что в последние годы твердотельная ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопия при вращении под магическим углом вращения (MAS) и в особенности техника кросс-поляризации (CP) находит все большее и разнообразное применение, позволяя определять как качественный, так и количественный состав анализируемого образца. Важнейшим преимуществом метода кросс-поляризации является более высокое разрешение спектра при меньшем количестве сканов, чем при использовании других техник. Опубликованные исследования показывают, что CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектроскопия позволяет получать качественную и количественную информацию о составе и строении полисахаридов на

коммерчески доступном оборудовании. Для того чтобы получить количественно правильные CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектры, можно рекомендовать использовать максимально доступную на приборе скорость вращения образца и широкополосную развязку от протонов. При этом качественные 1D спектры можно получать на стандартных ЯМР спектрометрах с частотой от 300 МГц (для  $^1\text{H}$ ) и 75.5 МГц (для  $^{13}\text{C}$ ); для получения 2D спектров желательнее использовать спектрометры с большей частотой и магнитном полем, при этом возможно получение 2D  $^{13}\text{C}$ - $^{13}\text{C}$ -корреляционных спектров с использованием техники INADEQUATE (гомо-ядерная корреляция ядер  $^{13}\text{C}$  через одну и более связей) и 2D  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ -корреляционных спектров с использованием техники MAS-J-HMQC (гетероядерная корреляция первого порядка между протонами и ядрами  $^{13}\text{C}$ ). Важно отметить, что регистрация CP-MAS ЯМР  $^{13}\text{C}$  спектров в настоящее время стала рутинной процедурой. Следует подчеркнуть, что сочетание доступного оборудования и разнообразных методов ЯМР эксперимента способствуют прогрессу дальнейших исследований в области исследования строения и состава полисахаридов и их производных.

### Список литературы

1. Roberts J.D. Organic Chemistry Application // Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance. John Wiley & Sons, 2003. Vol. 1–9. 8603 p.
2. Katoh E., Ando I. High Resolution Solid State NMR,  $^{13}\text{C}$  // Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Third Edition). Academic Press, 2017. Pp. 75–85. DOI: 10.1016/B978-0-12-803224-4.00283-1.
3. Tongyin Yu., Mingming G. Recent developments in  $^{13}\text{C}$  solid state high-resolution NMR of polymers // Progress in Polymer Science. 1990. N15 (6). Pp. 825–908. DOI: 10.1016/0079-6700(90)90024-U.
4. Mao J., Cao X., Olk D.C., Chu W., Schmidt-Rohr K. Advanced solid-state NMR spectroscopy of natural organic matter // Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. 2017. N100. Pp. 17–51. DOI: 10.1016/j.pnmrs.2016.11.003.
5. Conte P., Spaccini R., Piccolo A. State of the art of CPMAS  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy applied to natural organic matter // Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. 2004. N44(3–4). Pp. 215–223. DOI: 10.1016/j.pnmrs.2004.02.002.
6. Heinze T., Liebert T. 10.05 – Celluloses and Polyoses/Hemicelluloses // Polymer Science: A Comprehensive Reference. Elsevier, 2012. Vol. 10. Pp. 83–152. DOI: 10.1016/B978-0-444-53349-4.00255-7.
7. Cui S.W. Structural Analysis of Polysaccharides // Food Carbohydrates. Taylor & Francis Group, LLC, 2005. Pp. 105–160. DOI: 10.1201/9780203485286.ch3.
8. Mischnick P., Momcilovic D. Chemical Structure Analysis of Starch and Cellulose Derivatives // Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry. 2010. N64. Pp. 118–210. DOI: 10.1016/S0065-2318(10)64004-8.
9. Guo N., Bai Z., Jia W., Sun J., Wang W., Chen S., Wang H. Quantitative Analysis of Polysaccharide Composition in *Polyporus umbellatus* by HPLC–ESI–TOF–MS // Molecules. 2019. N24(14). Article 2526. DOI: 10.3390/molecules24142526.
10. Xu J., Wang Q., Li S., Deng F. Solid-State NMR Principles and Techniques // Solid-State NMR in Zeolite Catalysis. 2019. Pp. 1–55. DOI: 10.1007/978-981-13-6967-4\_1.
11. Deschamps M. Ultrafast magic angle spinning nuclear magnetic resonance // Annual reports on NMR spectroscopy. 2014. Vol. 81. Pp. 109–144. DOI: 10.1016/b978-0-12-800185-1.00003-6.
12. Ghosh M., Sadhukhan S., Dey K.K. Elucidating the internal structure and dynamics of  $\alpha$ -chitin by 2DPASS-MAS-NMR and spin-lattice relaxation measurements // Solid State Nuclear Magnetic Resonance. 2019. N97. Pp. 7–16. DOI: 10.1016/j.ssnmr.2018.11.001.
13. Gidley M.J. High-resolution solid-state NMR of food materials // Trends in Food Science & Technology. 1992. N3. Pp. 231–236. DOI: 10.1016/0924-2244(92)90197-5.
14. Mohammad R.K. Determination of the degree of N-acetylation for chitin and chitosan by various NMR spectroscopy techniques: A review // Carbohydrate Polymers. 2010. N79 (4). Pp. 801–810. DOI: 10.1016/j.carbpol.2009.10.051.
15. Foston M. Advances in solid-state NMR of cellulose // Current Opinion in Biotechnology. 2014. N27. Pp. 176–184. DOI: 10.1016/j.copbio.2014.02.002.
16. Zhu F. NMR spectroscopy of starch systems // Food Hydrocolloids. 2017. N63. Pp. 611–624. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.10.015.
17. Atalla R.H., Gast J.C., Sindorf D.W., Bartuska V.J., Maciel G.E. Carbon-13 NMR spectra of cellulose polymorphs // Journal of the American chemical society. 1980. N102(9). Pp. 3249–3251. DOI: 10.1021/ja00529a063.
18. Earl W.L., VanderHart D.L. High resolution, magic angle sampling spinning carbon-13 NMR of solid cellulose I // Journal of the American chemical society. 1980. N102(9). Pp. 3251–3252. DOI: 10.1021/ja00529a064.
19. Maciel G.E., Kolodziejewski W.L., Bertran M.S., Dale B.E. Carbon-13 NMR and order in cellulose // Macromolecules. 1982. N15 (2). Pp. 686–687. DOI: 10.1021/ma00230a097.
20. Dudley R.L., Fyfe C.A., Stephenson P.J., Deslandes Y., Hamer G.K., Marchessault R.H. High-resolution carbon-13 CP/MAS NMR spectra of solid cellulose oligomers and the structure of cellulose II // Journal of the American chemical society. 1983. N105(8). Pp. 2469–2472. DOI: 10.1021/ja00346a059.
21. Marchessault R.H., Taylor M.G., Fyfe C.A., Veregin R.P. Solid-state  $^{13}\text{C}$ -c.p.-m.a.s. n.m.r. of starches // Carbohydrate Research. 1985. N144 (1). Pp. C1–C5. DOI: 10.1016/0008-6215(85)85019-9.

22. Gidley M.J., Bociek S.M. Molecular organization in starches: a carbon 13 CP/MAS NMR study // *Journal of the American chemical society*. 1985. N107 (24). Pp. 7040–7044. DOI: 10.1021/ja00310a047.
23. Veregin R.P., Fyfe C.A., Marchessault R.H., Taylor M.G. Characterization of the crystalline A and B starch polymorphs and investigation of starch crystallization by high-resolution carbon-13 CP/MAS NMR // *Macromolecules*. 1986. N19 (4). Pp. 1030–1034. DOI: 10.1021/ma00158a016.
24. Horii F., Hirai A., Kitamaru R. CP/MAS carbon-13 NMR spectroscopy of hydrated amyloses using a magic-angle spinning rotor with an O-ring seal // *Macromolecules*. 1986. N19 (3). Pp. 930–932. DOI: 10.1021/ma00157a079.
25. Veregin R.P., Fyfe C.A., Marchessault R.H. Investigation of the crystalline «V» amylose complexes by high-resolution carbon-13 CP/MAS NMR spectroscopy // *Macromolecules*. 1987. N20(12). Pp. 3007–3012. DOI: 10.1021/ma00178a010.
26. Morgan K.R., Furneaux R.H., Larsen N.G. Solid-state NMR studies on the structure of starch granules // *Carbohydrate Research*. 1995. N276 (2). Pp. 387–399. DOI: 10.1016/0008-6215(95)00173-Q.
27. Larsson P.T., Wickholm K., Iversen T. A CP/MAS <sup>13</sup>C NMR investigation of molecular ordering in celluloses // *Carbohydrate Research*. 1997. N302 (1–2). Pp. 19–25. DOI: 10.1016/S0008-6215(97)00130-4.
28. Heux L., Dinand E., Vignon M.R. Structural aspects in ultrathin cellulose microfibrils followed by <sup>13</sup>C CP-MAS NMR // *Carbohydrate Polymers*. 1999. N40(2). Pp. 115–124. DOI: 10.1016/S0144-8617(99)00051-X.
29. Larsson P.T., Hult E.-L., Wickholm K., Pettersson E., Iversen T. CP/MAS <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy applied to structure and interaction studies on cellulose I // *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*. 1999. N15(1). Pp. 31–40. DOI: 10.1016/S0926-2040(99)00044-2.
30. Ibbett R., Domvoglu D., Fasching M. Characterisation of the supramolecular structure of chemically and physically modified regenerated cellulosic fibres by means of high-resolution Carbon-13 solid-state NMR // *Polymer*. 2007. N48(5). Pp. 1287–1296. DOI: 10.1016/j.polymer.2006.12.034.
31. Ibbett R., Domvoglu D., Wortmann F., Schuster K.C. Carbon-13 solid state NMR investigation and modeling of the morphological reorganization in regenerated cellulose fibres induced by controlled acid hydrolysis // *Cellulose*. 2010. N17(2). Pp. 231–243. DOI: 10.1007/s10570-010-9397-7.
32. Östlund Å., Idström A., Olsson C., Larsson P.T., Nordstierna L. Modification of crystallinity and pore size distribution in coagulated cellulose films // *Cellulose*. 2013. N20(4). Pp. 1657–1667. DOI: 10.1007/s10570-013-9982-7.
33. Kono H., Numata Y., Erata T., Takai M. <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H resonance assignment of mercerized cellulose II by two-dimensional MAS NMR spectroscopies // *Macromolecules*. 2004. N37. Pp. 5310–5316. DOI: 10.1021/ma030465k.
34. Mori T., Chikayama E., Tsuboi Y., Ishida N., Shisa N., Noritake Y., Moriya S., Kikuchi J. Exploring the conformational space of amorphous cellulose using NMR chemical shifts // *Carbohydrate Polymers*. 2012. N90(3). Pp. 1197–1203. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.06.027.
35. Idström A., Schantz S., Sundberg J., Chmelka B.F., Gatenholm P., Nordstierna L. <sup>13</sup>C NMR assignments of regenerated cellulose from solid-state 2D NMR spectroscopy // *Carbohydrate Polymers*. 2016. N151. Pp. 480–487. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.05.107.
36. Zuckerstätter G., Terinte N., Sixta H., Schuster K.C. Novel insight into cellulose supramolecular structure through <sup>13</sup>C CP-MAS NMR spectroscopy and paramagnetic relaxation enhancement // *Carbohydrate Polymers*. 2013. N93(1). Pp. 122–128. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.05.019.
37. Thérien-Aubin H., Zhu X.X. NMR spectroscopy and imaging studies of pharmaceutical tablets made of starch // *Carbohydrate Polymers*. 2009. N75(3). Pp. 369–379. DOI: 10.1016/j.carbpol.2008.08.010.
38. Thérien-Aubin H., Janvier F., Baille W.E., Zhu X.X., Marchessault R.H. Study of hydration of cross-linked high amylose starch by solid state <sup>13</sup>C NMR spectroscopy // *Carbohydrate Research*. 2007. N342(11). Pp. 1525–1529. DOI: 10.1016/j.carres.2007.04.014.
39. Błaszczak W., Fornal J., Valverde S., Garrido L. Pressure-induced changes in the structure of corn starches with different amylose content // *Carbohydrate Polymers*. 2005. N61(2). Pp. 132–140. DOI: 10.1016/j.carbpol.2005.04.005.
40. Nunes T., Burrows H.D., Bastos M., Feio G., Gil M.H. <sup>13</sup>C nuclear magnetic resonance studies of cellulose ester derivatives in solution, powder and membranes // *Polymer*. 1995. N36(3). Pp. 479–485. DOI: 10.1016/0032-3861(95)91556-M.
41. Isogai A., Kato T., Uryu T., Atalla R.H. Solid-state CP/MAS <sup>13</sup>C-NMR analysis of cellulose and tri-O-substituted cellulose ethers // *Carbohydrate Polymers*. 1993. N21(4). Pp. 277–281. DOI: 10.1016/0144-8617(93)90059-D.
42. Karrasch A., Jäger C., Karakawa M., Nakatsubo F., Potthast A., Rosenau T. Solid-state NMR studies of methyl celluloses. Part 1: regioselectively substituted celluloses as standards for establishing an NMR data basis // *Cellulose*. 2008. N16(1). Pp. 129–137. DOI: 10.1007/s10570-008-9247-z.
43. Karrasch A., Jäger C., Saake B., Potthast A., Rosenau T. Solid-state NMR studies of methyl celluloses. Part 2: Determination of degree of substitution and O-6 vs. O-2/O-3 substituent distribution in commercial methyl cellulose samples // *Cellulose*. 2009. N16(6). Pp. 1159–1166. DOI: 10.1007/s10570-009-9304-2.
44. Кострюков С.Г., Арасланкин С.В., Петров П.С. Определение степени замещения (DS) и молекулярного замещения (MS) простых эфиров целлюлозы методом твердотельной ЯМР <sup>13</sup>C спектроскопии // *Химия растительного сырья*. 2017. №4. С. 31–40. DOI: 10.14258/jcrpm.2017041860.
45. Арасланкин С.В., Калязин В.А., Кострюков С.Г., Петров П.С. Определение строения эфиров целлюлозы ЯМР <sup>13</sup>C спектроскопией продуктов кислотно-катализируемого гидролиза // *Химия растительного сырья*. 2019. №1. С. 51–62. DOI: 10.14258/jcrpm.2019014127.



46. Larsen F.H., Schöbitz M., Schaller J. Hydration properties of regioselectively etherified celluloses monitored by  $^2\text{H}$  and  $^{13}\text{C}$  solid-state MAS NMR spectroscopy // *Carbohydrate Polymers*. 2012. N89 (2). Pp. 640–647. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.03.067.
47. Pisklak D.M., Zielińska-Pisklak M.A., Szeleszczuk Ł., Wawer I.  $^{13}\text{C}$  solid-state NMR analysis of the most common pharmaceutical excipients used in solid drug formulations. Part I: Chemical shifts assignment // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2016. N122. Pp. 81–89. DOI: 10.1016/j.jpba.2016.01.032.
48. Pisklak D.M., Zielińska-Pisklak M., Szeleszczuk Ł., Wawer I.  $^{13}\text{C}$  solid-state NMR analysis of the most common pharmaceutical excipients used in solid drug formulations, Part II: CP kinetics and relaxation analysis // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2016. N122. Pp. 29–34. DOI: 10.1016/j.jpba.2016.01.030.
49. Casaburi A., Montoya Rojo Ú., Cerrutti P., Vázquez A., Foresti M.L. Carboxymethyl cellulose with tailored degree of substitution obtained from bacterial cellulose // *Food Hydrocolloids*. 2018. N75. Pp. 147–156. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2017.09.002.
50. Varma A.J., Chavan V.B., Rajmohan P.R., Ganapathy S. Some observations on the high-resolution solid-state CP-MAS  $^{13}\text{C}$ -NMR spectra of periodate-oxidised cellulose // *Polymer Degradation and Stability*. 1997. N58 (3). Pp. 257–260. DOI: 10.1016/S0141-3910(97)00049-9.
51. Kumar V., Yang T. Analysis of carboxyl content in oxidized celluloses by solid-state  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR spectroscopy // *International Journal of Pharmaceutics*. 1999. N184 (2). Pp. 219–226. DOI: 10.1016/S0378-5173(99)00098-8.
52. Miura K., Nakano T. Analysis of mercerization process based on the intensity change of deconvoluted resonances of  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR: Cellulose mercerized under cooling and non-cooling conditions // *Materials Science and Engineering: C*. 2015. N53. Pp. 189–195. DOI: 10.1016/j.msec.2015.04.006.
53. Dinand E., Vignon M., Chanzy H., Heux L. Mercerization of primary wall cellulose and its implication for the conversion of cellulose I→cellulose II // *Cellulose*. 2002. N9 (1). Pp. 7–18. DOI: 10.1023/A:1015877021688.
54. Amaral H.R., Cipriano D.F., Santos M.S., Schettino M.A., Ferreti J.V.T., Meirelles C.S., Pereira V.S., Cunha A.G., Emmerich F.G., Freitas J.C.C. Production of high-purity cellulose, cellulose acetate and cellulose-silica composite from babassu coconut shells // *Carbohydrate Polymers*. 2019. N210. Pp. 127–134. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.01.061.
55. Rol F., Sillard C., Bardet M., Yarava J.R., Emsley L., Gablin C., Léonard D., Belgacem N., Bras J. Cellulose phosphorylation comparison and analysis of phosphate position on cellulose fibers // *Carbohydrate Polymers*. 2020. N229. Article 115294. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115294.
56. Focher B., Naggi A., Torri G., Cosani A., Terbojevich M. Structural differences between chitin polymorphs and their precipitates from solutions—evidence from CP-MAS  $^{13}\text{C}$ -NMR, FT-IR and FT-Raman spectroscopy // *Carbohydrate Polymers*. 1992. N17 (2). Pp. 97–102. DOI: 10.1016/0144-8617(92)90101-U.
57. Duarte M.L., Ferreira M.C., Marvão M.R., Rocha J. Determination of the degree of acetylation of chitin materials by  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR spectroscopy // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2001. N28(5). Pp. 359–363. DOI: 10.1016/S0141-8130(01)00134-9.
58. Van de Velde K., Kiekens P. Structure analysis and degree of substitution of chitin, chitosan and dibutylchitin by FT-IR spectroscopy and solid state  $^{13}\text{C}$  NMR // *Carbohydrate Polymers*. 2004. N58(4). Pp. 409–416. DOI: 10.1016/j.carbpol.2004.08.004.
59. Focher B., Naggi A., Torri G., Cosani A., Terbojevich M. Chitosans from *Euphausia superba*. 2: Characterization of solid state structure // *Carbohydrate Polymers*. 1992. N18(1). Pp. 43–49. DOI: 10.1016/0144-8617(92)90186-T.
60. Webster A., Osifo P.O., Neomagus H.W.J.P., Grant D.M. A comparison of glycans and polyglycans using solid-state NMR and X-ray powder diffraction // *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*. 2006. N30(3–4). Pp. 150–161. DOI: 10.1016/j.ssnmr.2006.07.001.
61. Osiro D., Franco R.W.A., Colnago L.A. Spectroscopic characterization of the exopolysaccharide of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* in  $\text{Cu}^{2+}$  resistance mechanism // *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 2011. N22(7). Pp. 1339–1345. DOI: 10.1590/s0103-50532011000700020.
62. Rajamohan P.R., Ganapathy S., Vyas P.R., Ravikumar A., Deshpande M.V. Solid-state CP/MAS  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy: a sensitive method to monitor enzymatic hydrolysis of chitin // *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 1996. N31(3–4). Pp. 151–163. DOI: 10.1016/0165-022X(95)00033-N.
63. Liu Y., Xing R., Yang H., Liu S., Qin Y., Li K., Li P. Chitin extraction from shrimp (*Litopenaeus vannamei*) shells by successive two-step fermentation with *Lactobacillus rhamnoides* and *Bacillus amyloliquefaciens* // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020. N148. Pp. 424–433. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.124.
64. Montroni D., Fermani S., Morellato K., Torri G., Naggi A., Cristofolini L., Falini G.  $\beta$ -Chitin samples with similar microfibril arrangement change mechanical properties varying the degree of acetylation // *Carbohydrate Polymers*. 2019. N207. Pp. 26–33. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.11.069.
65. Sinitsya A., Copiková J., Pavlíková H.  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR Spectroscopy in the Analysis of Pectins // *Journal of Carbohydrate Chemistry*. 1998. N17(2). Pp. 279–292. DOI: 10.1080/07328309808002328.
66. Morgan K.R., Roberts C.J., Tendler S.J.B., Davies M.C., Williams P.M. A  $^{13}\text{C}$  CP/MAS NMR spectroscopy and AFM study of the structure of Glucagel™, a gelling  $\beta$ -glucan from barley // *Carbohydrate Research*. 1999. N315(1–2). Pp. 169–179. DOI: 10.1016/S0008-6215(99)00005-1.
67. Kobayashi K., Hasegawa T., Kusumi R., Kimura S., Yoshida M., Sugiyama J., Wada M. Characterization of crystalline linear (1→3)- $\alpha$ -D-glucan synthesized in vitro // *Carbohydrate Polymers*. 2017. N177. Pp. 341–346. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.09.003.

68. Pelosi L., Bulone V., Heux L. Polymorphism of curdlan and (1→3)-β-d-glucans synthesized in vitro: A <sup>13</sup>C CP-MAS and X-ray diffraction analysis // *Carbohydrate Polymers*. 2006. N66(2). Pp. 199–207. DOI: 10.1016/j.carbpol.2006.03.003.
69. Heyes S.J., Clayden N.J., Dobson C.M. <sup>13</sup>C-CP/MAS NMR studies of the cyclomalto-oligosaccharide (cyclodextrin) hydrates // *Carbohydrate Research*. 1992. N233. Pp. 1–14. DOI: 10.1016/S0008-6215(00)90916-9.
70. Jarvis M.C., Apperley D.C. Chain conformation in concentrated pectic gels: evidence from <sup>13</sup>C NMR // *Carbohydrate Research*. 1995. N275 (1). Pp. 131–145. DOI: 10.1016/0008-6215(95)00033-p.
71. Salomonsen T., Jensen H.M., Larsen F.H., Steuernagel S., Engelsen S.B. Direct quantification of M/G ratio from <sup>13</sup>C CP-MAS NMR spectra of alginate powders by multivariate curve resolution // *Carbohydrate Research*. 2009. N344(15). Pp. 2014–2022. DOI: 10.1016/j.carres.2009.06.025.
72. Lattner D., Flemming H.-C., Mayer C. <sup>13</sup>C-NMR study of the interaction of bacterial alginate with bivalent cations // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2003. N33(1–3). Pp. 81–88. DOI: 10.1016/s0141-8130(03)00070-9.
73. Rochas C., Lahaye M. Solid state <sup>13</sup>C-NMR spectroscopy of red seaweeds, agars and carrageenans // *Carbohydrate Polymers*. 1989. N10(3). Pp. 189–204. DOI: 10.1016/0144-8617(89)90011-8.
74. Ha M.-A., Evans B.W., Jarvis M.C., Apperley D.C., Kenwright A.M. CP-MAS NMR of highly mobile hydrated biopolymers: Polysaccharides of *Allium* cell walls // *Carbohydrate Research*. 1996. N288. Pp. 15–23. DOI: 10.1016/S0008-6215(96)90771-5.
75. Järvinen R., Silvestre A.J.D., Gil A.M., Kallio H. Solid state <sup>13</sup>C CP-MAS NMR and FT-IR spectroscopic analysis of cuticular fractions of berries and suberized membranes of potato // *Journal of Food Composition and Analysis*. 2011. N24(3). Pp. 334–345. DOI: 10.1016/j.jfca.2010.09.022.
76. Fransen C.T., van Laar H., Kamerling J.P., Vliegenthart J.F. CP-MAS NMR analysis of carbohydrate fractions of soybean hulls and endosperm // *Carbohydrate Research*. 2000. N328(4). Pp. 549–559. DOI: 10.1016/s0008-6215(00)00138-5.
77. Wawer I., Wolniak M., Paradowska K. Solid state NMR study of dietary fiber powders from aronia, bilberry, black currant and apple // *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*. 2006. N30(2). Pp. 106–113. DOI: 10.1016/j.ssnmr.2006.05.001.
78. Reddy K.O., Maheswari C.U., Dhlamini M.S., Mothudi B.M., Kommula V.P., Zhang J., Rajulu A.V. Extraction and characterization of cellulose single fibers from native african napier grass // *Carbohydrate Polymers*. 2018. N188. Pp. 85–91. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.01.110.
79. Focher B., Palma M.T., Canetti M., Torri G., Cosentino C., Gastaldi G. Structural differences between non-wood plant celluloses: evidence from solid state NMR, vibrational spectroscopy and X-ray diffractometry // *Industrial Crops and Products*. 2001. N13(3). Pp. 193–208. DOI: 10.1016/S0926-6690(00)00077-7.
80. Davies L.M., Harris P.J., Newman R.H. Molecular ordering of cellulose after extraction of polysaccharides from primary cell walls of *Arabidopsis thaliana*: a solid-state CP/MAS <sup>13</sup>C NMR study // *Carbohydrate Research*. 2002. N337(7). Pp. 587–593. DOI: 10.1016/S0008-6215(02)00038-1.
81. Habets S., Wild de P.J., Huijgen W.J.J., van Eck E.R.H. The influence of thermochemical treatments on the lignocellulosic structure of wheat straw as studied by natural abundance <sup>13</sup>C NMR // *Bioresource Technology*. 2013. N146. Pp. 585–590. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.07.104.
82. Virkki L., Johansson L., Ylinen M., Maunu S., Ekholm P. Structural characterization of water-insoluble non-starchy polysaccharides of oats and barley // *Carbohydrate Polymers*. 2005. N59(3). Pp. 357–366. DOI: 10.1016/j.carbpol.2004.10.006.
83. Jiang J., Hu Y., Tian Z., Chen K., Ge S., Xu Y., Tian D., Yang J. Development of a rapid method for the quantification of cellulose in tobacco by <sup>13</sup>C CP/MAS NMR // *Carbohydrate Polymers*. 2016. N135. Pp. 121–127. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.08.084.
84. Chunilall V., Bush T., Larsson P.T., Iversen T., Kindness A. A CP/MAS <sup>13</sup>C NMR study of cellulose fibril aggregation in eucalyptus dissolving pulps during drying and the correlation between aggregate dimensions and chemical reactivity // *Holzforschung*. 2010. N64. Pp. 693–698. DOI: 10.1515/HF.2010.097.
85. Okino E.Y.A., Santana M.A.E., Resck I.S., Alves M.V. da S., Falcomer V.A.S., Cunha J.B.M. da, Santos P.H. de O. dos. Liquid chromatography and solid state CP/MAS <sup>13</sup>C NMR techniques for chemical compound characterizations of cypress wood *Cupressus glauca* Lam. exposed to brown- and white-rot fungi // *Carbohydrate Polymers*. 2008. N73(1). Pp. 164–172. DOI: 10.1016/j.carbpol.2007.11.019.
86. Popescu C.-M., Larsson P.T., Tibirna C.M., Vasile C. Characterization of Fungal-Degraded Lime Wood by X-ray Diffraction and Cross-Polarization Magic-Angle-Spinning <sup>13</sup>C-Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy // *Applied spectroscopy*. 2010. N64. Pp. 1054–60. DOI: 10.1366/000370210792434413.
87. Mao S.-H., Mao X.-A., Xu Z.-H., Hu J.-Z., Yang B.-L., Li L.-Y., Ye C.-H., Saffigna P. CP/MAS <sup>13</sup>C spectral editing of dried pine leaves // *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*. 1998. N12(1). Pp. 31–36. DOI: 10.1016/S0926-2040(98)00040-X.
88. Idström A., Brelid H., Nydén M., Nordstierna L. CP/MAS <sup>13</sup>C NMR study of pulp hornification using nanocrystalline cellulose as a model system // *Carbohydrate Polymers*. 2013. N92(1). Pp. 881–884. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.09.097.
89. Flores-Morales A., Jiménez-Estrada M., Mora-Escobedo R. Determination of the structural changes by FT-IR, Raman, and CP/MAS <sup>13</sup>C NMR spectroscopy on retrograded starch of maize tortillas // *Carbohydrate Polymers*. 2012. N87(1). Pp. 61–68. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.07.011.

90. Duchesne I., Hult E., Molin U., Daniel G., Iversen T., Lennholm H. The influence of hemicellulose on fibril aggregation of kraft pulp fibres as revealed by FE-SEM and CP/MAS <sup>13</sup>C NMR // Cellulose. 2001. N8. Pp. 103–111. DOI: 10.1023/A:1016645809958.
91. Zykwinska A., Rondeau-Mouro C., Garnier C., Thibault J.-F., Ralet M.-C. Alkaline extractability of pectic arabinan and galactan and their mobility in sugar beet and potato cell walls // Carbohydrate Polymers. 2006. N65(4). Pp. 510–520. DOI: 10.1016/j.carbpol.2006.02.012.
92. Tuo W., Pyae P., Mei H. Multidimensional solid-state NMR spectroscopy of plant cell walls // Solid State Nuclear Magnetic Resonance. 2016. N78. Pp. 56–63. DOI: 10.1016/j.ssnmr.2016.08.001.
93. Newman R.H., Redgwell R.J. Cell wall changes in ripening kiwifruit: <sup>13</sup>C solid state NMR characterisation of relatively rigid cell wall polymers // Carbohydrate Polymers. 2002. N49 (2). Pp. 121–129. DOI: 10.1016/S0144-8617(01)00323-X.
94. Zujovic Z., Chen D., Melton L.D. Comparison of celery (*Apium graveolens* L.) collenchyma and parenchyma cell wall polysaccharides enabled by solid-state <sup>13</sup>C NMR // Carbohydrate Research. 2016. N420. Pp. 51–57. DOI: 10.1016/j.carres.2015.11.006.
95. Ng J.K.T., Zujovic Z.D., Smith B.G., Johnston J.W., Schröder R., Melton L.D. Solid-state <sup>13</sup>C NMR study of the mobility of polysaccharides in the cell walls of two apple cultivars of different firmness // Carbohydrate Research. 2014. N386. Pp. 1–6. DOI: 10.1016/j.carres.2013.12.019.
96. Lahaye M., Rondeau-Mouro C., Deniaud E., Buléon A. Solid-state <sup>13</sup>C NMR spectroscopy studies of xylans in the cell wall of *Palmaria palmata* (L. Kuntze, Rhodophyta) // Carbohydrate Research. 2003. N338(15). Pp. 1559–1569. DOI: 10.1016/s0008-6215(03)00241-6.
97. Meena R., Siddhanta A. K., Prasad K., Ramavat B.K., Eswaran K., Thirupathi S., Rao P.V.S. Preparation, characterization and benchmarking of agarose from *Gracilaria dura* of Indian waters // Carbohydrate Polymers. 2007. N69(1). Pp. 179–188. DOI: 10.1016/j.carbpol.2006.09.020.
98. Arnold A.A., Genard B., Zito F., Tremblay R., Warschawski D.E., Marcotte I. Identification of lipid and saccharide constituents of whole microalgal cells by <sup>13</sup>C solid-state NMR // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes. 2015. N1848(1). Pp. 369–377. DOI: 10.1016/j.bbmem.2014.07.017.
99. Rodriguez Alonso E., Dupont C., Heux L., Da Silva Perez D., Commandre J.-M., Gourdon C. Study of solid chemical evolution in torrefaction of different biomasses through solid-state <sup>13</sup>C cross-polarization/magic angle spinning NMR (nuclear magnetic resonance) and TGA (thermogravimetric analysis) // Energy. 2016. N97. Pp. 381–390. DOI: 10.1016/j.energy.2015.12.120.
100. Bardet M., Gerbaud G., Giffard M., Doan C., Hediger S., Le Pape L. <sup>13</sup>C high-resolution solid-state NMR for structural elucidation of archaeological woods // Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. 2009. N55(3). Pp. 199–214. DOI: 10.1016/j.pnmrs.2009.02.001.
101. Bardet M., Pournou A. NMR Studies of Fossilized Wood // Annual Reports on NMR Spectroscopy. 2017. Pp. 41–83. DOI: 10.1016/bs.arnmr.2016.07.002.
102. Paci M., Federici C., Capitani D., Perenze N., Segre A.L. NMR study of paper // Carbohydrate Polymers. 1995. N26(4). Pp. 289–297. DOI: 10.1016/0144-8617(95)00011-U.

*Поступила в редакцию 6 апреля 2020 г.*

*После переработки 14 апреля 2020 г.*

*Принята к публикации 7 октября 2020 г.*

**Для цитирования:** Кострюков С.Г., Петров П.С. Твердотельная ЯМР <sup>13</sup>C спектроскопия в анализе полисахаридов // Химия растительного сырья. 2020. №4. С. 7–29. DOI: 10.14258/jcrpm.2020047610.

Kostruykov S.G. \*, Petrov P.S. SOLID-STATE  $^{13}\text{C}$  NMR SPECTROSCOPY IN POLYSACCHARIDE ANALYSIS  
National Research Mordovia State University, ul. Bolshevistskaya, 68, Saransk, 430005 (Russia),  
e-mail: kostruykov\_sg@mail.ru

Polysaccharides are high molecular weight compounds represented by long linear and/or branched chains of monosaccharide residues linked by a glycosidic bond. Currently, there is a huge and rapidly-growing interest in the chemistry of polysaccharides due to their widespread use in various spheres of human life. The study of polysaccharide structure is a complex and non-trivial task, and in this area solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy are widely applied in recent years. The review analyzes the possibilities of solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy for the study of polysaccharides and natural objects containing polysaccharides. The evolution of  $^{13}\text{C}$  solid-state NMR spectroscopy methods is shown with the main focus on the usage of the cross-polarization (CP) technique based on rotating the sample under the magic angle (MAS), since in this case the spectra are obtained without artifacts signals and with the best signal-to-noise ratio and high resolution. The review focuses on cellulose as the most widespread polysaccharide, in addition, the applicability of CP-MAS  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy for the study of other polysaccharides, as well as plant materials, is considered. The represented examples clearly show that CP-MAS  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy is the most powerful experimental method that allows to obtain information on both the composition and structure of polysaccharides, as well as the composition of various plant materials. Moreover, the combination of available equipment and various techniques of solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR experiment will contribute to the progress of further research in the chemistry of polysaccharides and their derivatives.

**Keywords:** solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy, CP-MAS, polysaccharides, cellulose, starch, cellulose ethers, chitosan, chitin, plant materials, wood.

**Acknowledgments:** The reported study was funded by RFBR, project number 19-13-50396 «Solid-state  $^{13}\text{C}$  NMR spectroscopy in polysaccharide analysis».

## References

1. Roberts J.D. *Encyclopedia of Nuclear Magnetic Resonance*, John Wiley & Sons, 2003, vol. 1–9, 8603 p.
2. Katoh E., Ando I. *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Third Edition)*, Academic Press, 2017, pp. 75–85. DOI: 10.1016/B978-0-12-803224-4.00283-1.
3. Tongyin Yu., Mingming G. *Progress in Polymer Science*, 1990, no. 15 (6), pp. 825–908. DOI: 10.1016/0079-6700(90)90024-U.
4. Mao J., Cao X., Olk D.C., Chu W., Schmidt-Rohr K. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2017, no. 100, pp. 17–51. DOI: 10.1016/j.pnmrs.2016.11.003.
5. Conte P., Spaccini R., Piccolo A. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2004, no. 44(3–4), pp. 215–223. DOI: 10.1016/j.pnmrs.2004.02.002.
6. Heinze T., Liebert T. *Polymer Science: A Comprehensive Reference*, Elsevier, 2012, vol. 10, pp. 83–152. DOI: 10.1016/B978-0-444-53349-4.00255-7.
7. Cui S.W. *Food Carbohydrates*, Taylor & Francis Group, LLC, 2005, pp. 105–160. DOI: 10.1201/9780203485286.ch3.
8. Mischnick P., Momcilovic D. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*, 2010, no. 64, pp. 118–210. DOI: 10.1016/S0065-2318(10)64004-8.
9. Guo N., Bai Z., Jia W., Sun J., Wang W., Chen S., Wang H. *Molecules*, 2019, no. 24(14), article 2526. DOI: 10.3390/molecules24142526.
10. Xu J., Wang Q., Li S., Deng F. *Solid-State NMR in Zeolite Catalysis*, 2019, pp. 1–55. DOI: 10.1007/978-981-13-6967-4\_1.
11. Deschamps M. *Annual reports on NMR spectroscopy*, 2014, vol. 81, pp. 109–144. DOI: 10.1016/b978-0-12-800185-1.00003-6.
12. Ghosh M., Sadhukhan S., Dey K.K. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 2019, no. 97, pp. 7–16. DOI: 10.1016/j.ssnmr.2018.11.001.
13. Gidley M.J. *Trends in Food Science & Technology*, 1992, no. 3, pp. 231–236. DOI: 10.1016/0924-2244(92)90197-5.
14. Mohammad R.K. *Carbohydrate Polymers*, 2010, no. 79 (4), pp. 801–810. DOI: 10.1016/j.carbpol.2009.10.051.
15. Foston M. *Current Opinion in Biotechnology*, 2014, no. 27, pp. 176–184. DOI: 10.1016/j.copbio.2014.02.002.
16. Zhu F. *Food Hydrocolloids*, 2017, no. 63, pp. 611–624. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.10.015.
17. Atalla R.H., Gast J.C., Sindorf D.W., Bartuska V.J., Maciel G.E. *Journal of the American chemical society*, 1980, no. 102(9), pp. 3249–3251. DOI: 10.1021/ja00529a063.
18. Earl W.L., VanderHart D.L. *Journal of the American chemical society*, 1980, no. 102 (9), pp. 3251–3252. DOI: 10.1021/ja00529a064.
19. Maciel G.E., Kolodziejski W.L., Bertran M.S., Dale B.E. *Macromolecules*, 1982, no. 15 (2), pp. 686–687. DOI: 10.1021/ma00230a097.
20. Dudley R.L., Fyfe C.A., Stephenson P.J., Deslandes Y., Hamer G.K., Marchessault R.H. *Journal of the American chemical society*, 1983, no. 105 (8), pp. 2469–2472. DOI: 10.1021/ja00346a059.
21. Marchessault R.H., Taylor M.G., Fyfe C.A., Veregin R.P. *Carbohydrate Research*, 1985, no. 144 (1), pp. C1–C5. DOI: 10.1016/0008-6215(85)85019-9.
22. Gidley M.J., Bociek S.M. *Journal of the American chemical society*, 1985, no. 107 (24), pp. 7040–7044. DOI: 10.1021/ja00310a047.
23. Veregin R.P., Fyfe C.A., Marchessault R.H., Taylor M.G. *Macromolecules*, 1986, no. 19 (4), pp. 1030–1034. DOI: 10.1021/ma00158a016.

\* Corresponding author.

24. Horii F., Hirai A., Kitamaru R. *Macromolecules*, 1986, no. 19 (3), pp. 930–932. DOI: 10.1021/ma00157a079.
25. Veregin R.P., Fyfe C.A., Marchessault R.H. *Macromolecules*, 1987, no. 20(12), pp. 3007–3012. DOI: 10.1021/ma00178a010.
26. Morgan K.R., Furneaux R.H., Larsen N.G. *Carbohydrate Research*, 1995, no. 276 (2), pp. 387–399. DOI: 10.1016/0008-6215(95)00173-Q.
27. Larsson P.T., Wickholm K., Iversen T. *Carbohydrate Research*, 1997, no. 302 (1–2), pp. 19–25. DOI: 10.1016/S0008-6215(97)00130-4.
28. Heux L., Dinand E., Vignon M.R. *Carbohydrate Polymers*, 1999, no. 40(2), pp. 115–124. DOI: 10.1016/S0144-8617(99)00051-X.
29. Larsson P.T., Hult E.-L., Wickholm K., Pettersson E., Iversen T. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 1999, no. 15(1), pp. 31–40. DOI: 10.1016/S0926-2040(99)00044-2.
30. Ibbett R., Domvoglou D., Fasching M. *Polymer*, 2007, no. 48(5), pp. 1287–1296. DOI: 10.1016/j.polymer.2006.12.034.
31. Ibbett R., Domvoglou D., Wortmann F., Schuster K.C. *Cellulose*, 2010, no. 17(2), pp. 231–243. DOI: 10.1007/s10570-010-9397-7.
32. Östlund Å., Idström A., Olsson C., Larsson P.T., Nordstierna L. *Cellulose*, 2013, no. 20(4), pp. 1657–1667. DOI: 10.1007/s10570-013-9982-7.
33. Kono H., Numata Y., Erata T., Takai M. *Macromolecules*, 2004, no. 37, pp. 5310–5316. DOI: 10.1021/ma030465k.
34. Mori T., Chikayama E., Tsuboi Y., Ishida N., Shisa N., Noritake Y., Moriya S., Kikuchi J. *Carbohydrate Polymers*, 2012, no. 90(3), pp. 1197–1203. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.06.027.
35. Idström A., Schantz S., Sundberg J., Chmelka B.F., Gatenholm P., Nordstierna L. *Carbohydrate Polymers*, 2016, no. 151, pp. 480–487. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.05.107.
36. Zuckerstätter G., Terinte N., Sixta H., Schuster K.C. *Carbohydrate Polymers*, 2013, no. 93(1), pp. 122–128. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.05.019.
37. Thérien-Aubin H., Zhu X.X. *Carbohydrate Polymers*, 2009, no. 75(3), pp. 369–379. DOI: 10.1016/j.carbpol.2008.08.010.
38. Thérien-Aubin H., Janvier F., Baille W.E., Zhu X.X., Marchessault R.H. *Carbohydrate Research*, 2007, no. 342(11), pp. 1525–1529. DOI: 10.1016/j.carres.2007.04.014.
39. Błaszczak W., Fornal J., Valverde S., Garrido L. *Carbohydrate Polymers*, 2005, no. 61(2), pp. 132–140. DOI: 10.1016/j.carbpol.2005.04.005.
40. Nunes T., Burrows H.D., Bastos M., Feio G., Gil M.H. *Polymer*, 1995, no. 36(3), pp. 479–485. DOI: 10.1016/0032-3861(95)91556-M.
41. Isogai A., Kato T., Uryu T., Atalla R.H. *Carbohydrate Polymers*, 1993, no. 21(4), pp. 277–281. DOI: 10.1016/0144-8617(93)90059-D.
42. Karrasch A., Jäger C., Karakawa M., Nakatsubo F., Potthast A., Rosenau T. *Cellulose*, 2008, no. 16(1), pp. 129–137. DOI: 10.1007/s10570-008-9247-z.
43. Karrasch A., Jäger C., Saake B., Potthast A., Rosenau T. *Cellulose*, 2009, no. 16(6), pp. 1159–1166. DOI: 10.1007/s10570-009-9304-2.
44. Kostryukov S.G., Araslankin S.V., Petrov P.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2017, no. 4, pp. 31–40. DOI: 10.14258/jcprm.2017041860. (in Russ.).
45. Araslankin S.V., Kalyazin V.A., Kostryukov S.G., Petrov P.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2019, no. 1, pp. 51–62. DOI: 10.14258/jcprm.2019014127. (in Russ.).
46. Larsen F.H., Schöbitz M., Schaller J. *Carbohydrate Polymers*, 2012, no. 89 (2), pp. 640–647. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.03.067.
47. Pisklak D.M., Zielińska-Pisklak M.A., Szeleszczuk Ł., Wawer I. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2016, no. 122, pp. 81–89. DOI: 10.1016/j.jpba.2016.01.032.
48. Pisklak D.M., Zielińska-Pisklak M., Szeleszczuk Ł., Wawer I. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2016, no. 122, pp. 29–34. DOI: 10.1016/j.jpba.2016.01.030.
49. Casaburi A., Montoya Rojo Ú., Cerrutti P., Vázquez A., Foresti M.L. *Food Hydrocolloids*, 2018, no. 75, pp. 147–156. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2017.09.002.
50. Varma A.J., Chavan V.B., Rajmohan P.R., Ganapathy S. *Polymer Degradation and Stability*, 1997, no. 58 (3), pp. 257–260. DOI: 10.1016/S0141-3910(97)00049-9.
51. Kumar V., Yang T. *International Journal of Pharmaceutics*, 1999, no. 184 (2), pp. 219–226. DOI: 10.1016/S0378-5173(99)00098-8.
52. Miura K., Nakano T. *Materials Science and Engineering: C*, 2015, no. 53, pp. 189–195. DOI: 10.1016/j.msec.2015.04.006.
53. Dinand E., Vignon M., Chanzy H., Heux L. *Cellulose*, 2002, no. 9 (1), pp. 7–18. DOI: 10.1023/A:1015877021688.
54. Amaral H.R., Cipriano D.F., Santos M.S., Schettino M.A., Ferreti J.V.T., Meirelles C.S., Pereira V.S., Cunha A.G., Emmerich F.G., Freitas J.C.C. *Carbohydrate Polymers*, 2019, no. 210, pp. 127–134. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.01.061.
55. Rol F., Sillard C., Bardet M., Yarava J.R., Emsley L., Gablin C., Léonard D., Belgacem N., Bras J. *Carbohydrate Polymers*, 2020, no. 229, article 115294. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115294.
56. Focher B., Naggi A., Torri G., Cosani A., Terbojevich M. *Carbohydrate Polymers*, 1992, no. 17 (2), pp. 97–102. DOI: 10.1016/0144-8617(92)90101-U.

57. Duarte M.L., Ferreira M.C., Marvão M.R., Rocha J. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2001, no. 28(5), pp. 359–363. DOI: 10.1016/S0141-8130(01)00134-9.
58. Van de Velde K., Kiekens P. *Carbohydrate Polymers*, 2004, no. 58(4), pp. 409–416. DOI: 10.1016/j.carbpol.2004.08.004.
59. Focher B., Naggi A., Torri G., Cosani A., Terbojevich M. *Carbohydrate Polymers*, 1992, no. 18(1), pp. 43–49. DOI: 10.1016/0144-8617(92)90186-T.
60. Webster A., Osifo P.O., Neomagus H.W.J.P., Grant D.M. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 2006, no. 30(3–4), pp. 150–161. DOI: 10.1016/j.ssnmr.2006.07.001.
61. Osiro D., Franco R.W.A., Colnago L.A. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 2011, no. 22(7), pp. 1339–1345. DOI: 10.1590/s0103-50532011000700020.
62. Rajamohanam P.R., Ganapathy S., Vyas P.R., Ravikumar A., Deshpande M.V. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*, 1996, no. 31(3–4), pp. 151–163. DOI: 10.1016/0165-022X(95)00033-N.
63. Liu Y., Xing R., Yang H., Liu S., Qin Y., Li K., Li P. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, no. 148, pp. 424–433. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.124.
64. Montroni D., Fermani S., Morellato K., Torri G., Naggi A., Cristofolini L., Falini G. *Carbohydrate Polymers*, 2019, no. 207, pp. 26–33. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.11.069.
65. Sinitnya A., Copiková J., Pavliková H. *Journal of Carbohydrate Chemistry*, 1998, no. 17(2), pp. 279–292. DOI: 10.1080/07328309808002328.
66. Morgan K.R., Roberts C.J., Tendler S.J.B., Davies M.C., Williams P.M. *Carbohydrate Research*, 1999, no. 315(1–2), pp. 169–179. DOI: 10.1016/S0008-6215(99)00005-1.
67. Kobayashi K., Hasegawa T., Kusumi R., Kimura S., Yoshida M., Sugiyama J., Wada M. *Carbohydrate Polymers*, 2017, no. 177, pp. 341–346. DOI: 10.1016/j.carbpol.2017.09.003.
68. Pelosi L., Bulone V., Heux L. *Carbohydrate Polymers*, 2006, no. 66(2), pp. 199–207. DOI: 10.1016/j.carbpol.2006.03.003.
69. Heyes S.J., Clayden N.J., Dobson C.M. *Carbohydrate Research*, 1992, no. 233, pp. 1–14. DOI: 10.1016/S0008-6215(00)90916-9.
70. Jarvis M.C., Apperley D.C. *Carbohydrate Research*, 1995, no. 275(1), pp. 131–145. DOI: 10.1016/0008-6215(95)00033-p.
71. Salomonsen T., Jensen H.M., Larsen F.H., Steuernagel S., Engelsen S.B. *Carbohydrate Research*, 2009, no. 344(15), pp. 2014–2022. DOI: 10.1016/j.carres.2009.06.025.
72. Lattner D., Flemming H.-C., Mayer C. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2003, no. 33(1–3), pp. 81–88. DOI: 10.1016/s0141-8130(03)00070-9.
73. Rochas C., Lahaye M. *Solid state Carbohydrate Polymers*, 1989, no. 10(3), pp. 189–204. DOI: 10.1016/0144-8617(89)90011-8.
74. Ha M.-A., Evans B.W., Jarvis M.C., Apperley D.C., Kenwright A.M. *Carbohydrate Research*, 1996, no. 288, pp. 15–23. DOI: 10.1016/S0008-6215(96)90771-5.
75. Järvinen R., Silvestre A.J.D., Gil A.M., Kallio H. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2011, no. 24(3), pp. 334–345. DOI: 10.1016/j.jfca.2010.09.022.
76. Fransen C.T., van Laar H., Kamerling J.P., Vliegenthart J.F. *Carbohydrate Research*, 2000, no. 328(4), pp. 549–559. DOI: 10.1016/s0008-6215(00)00138-5.
77. Wawer I., Wolniak M., Paradowska K. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 2006, no. 30(2), pp. 106–113. DOI: 10.1016/j.ssnmr.2006.05.001.
78. Reddy K.O., Maheswari C.U., Dhilamini M.S., Mothudi B.M., Kommula V.P., Zhang J., Rajulu A.V. *Carbohydrate Polymers*, 2018, no. 188, pp. 85–91. DOI: 10.1016/j.carbpol.2018.01.110.
79. Focher B., Palma M.T., Canetti M., Torri G., Cosentino C., Gastaldi G. *Industrial Crops and Products*, 2001, no. 13(3), pp. 193–208. DOI: 10.1016/S0926-6690(00)00077-7.
80. Davies L.M., Harris P.J., Newman R.H. *Carbohydrate Research*, 2002, no. 337(7), pp. 587–593. DOI: 10.1016/S0008-6215(02)00038-1.
81. Habets S., Wild de P.J., Huijgen W.J.J., van Eck E.R.H. *Bioresource Technology*, 2013, no. 146, pp. 585–590. DOI: 10.1016/j.biortech.2013.07.104.
82. Virkki L., Johansson L., Ylinen M., Maunu S., Ekholm P. *Carbohydrate Polymers*, 2005, no. 59(3), pp. 357–366. DOI: 10.1016/j.carbpol.2004.10.006.
83. Jiang J., Hu Y., Tian Z., Chen K., Ge S., Xu Y., Tian D., Yang J. *Carbohydrate Polymers*, 2016, no. 135, pp. 121–127. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.08.084.
84. Chunilall V., Bush T., Larsson P.T., Iversen T., Kindness A. *Holzforschung*, 2010, no. 64, pp. 693–698. DOI: 10.1515/HF.2010.097.
85. Okino E.Y.A., Santana M.A.E., Resck I.S., Alves M.V. da S., Falcomer V.A.S., Cunha J.B.M. da, Santos P.H. de O. dos. *Carbohydrate Polymers*, 2008, no. 73(1), pp. 164–172. DOI: 10.1016/j.carbpol.2007.11.019.
86. Popescu C.-M., Larsson P.T., Tibirna C.M., Vasile C. *Applied spectroscopy*, 2010, no. 64, pp. 1054–60. DOI: 10.1366/000370210792434413.
87. Mao S.-H., Mao X.-A., Xu Z.-H., Hu J.-Z., Yang B.-L., Li L.-Y., Ye C.-H., Saffigna P. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 1998, no. 12(1), pp. 31–36. DOI: 10.1016/S0926-2040(98)00040-X.

88. Idström A., Brelid H., Nydén M., Nordstierna L. *Carbohydrate Polymers*, 2013, no. 92(1), pp. 881–884. DOI: 10.1016/j.carbpol.2012.09.097.
89. Flores-Morales A., Jiménez-Estrada M., Mora-Escobedo R. *Carbohydrate Polymers*, 2012, no. 87(1), pp. 61–68. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.07.011.
90. Duchesne I., Hult E., Molin U., Daniel G., Iversen T., Lennholm H. *Cellulose*, 2001, no. 8, pp. 103–111. DOI: 10.1023/A:1016645809958.
91. Zykwincka A., Rondeau-Mouro C., Garnier C., Thibault J.-F., Ralet M.-C. *Carbohydrate Polymers*, 2006, no. 65(4), pp. 510–520. DOI: 10.1016/j.carbpol.2006.02.012.
92. Tuo W., Pyae P., Mei H. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, 2016, no. 78, pp. 56–63. DOI: 10.1016/j.ssnmr.2016.08.001.
93. Newman R.H., Redgwell R.J. *Carbohydrate Polymers*, 2002, no. 49 (2), pp. 121–129. DOI: 10.1016/S0144-8617(01)00323-X.
94. Zujovic Z., Chen D., Melton L.D. *Carbohydrate Research*, 2016, no. 420, pp. 51–57. DOI: 10.1016/j.carres.2015.11.006.
95. Ng J.K.T., Zujovic Z.D., Smith B.G., Johnston J.W., Schröder R., Melton L.D. *Carbohydrate Research*, 2014, no. 386, pp. 1–6. DOI: 10.1016/j.carres.2013.12.019.
96. Lahaye M., Rondeau-Mouro C., Deniaud E., Buléon A. *Carbohydrate Research*, 2003, no. 338(15), pp. 1559–1569. DOI: 10.1016/s0008-6215(03)00241-6.
97. Meena R., Siddhanta A. K., Prasad K., Ramavat B.K., Eswaran K., Thiruppathi S., Rao P.V.S. *Carbohydrate Polymers*, 2007, no. 69(1), pp. 179–188. DOI: 10.1016/j.carbpol.2006.09.020.
98. Arnold A.A., Genard B., Zito F., Tremblay R., Warschawski D.E., Marcotte I. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 2015, no. 1848(1), pp. 369–377. DOI: 10.1016/j.bbamem.2014.07.017.
99. Rodriguez Alonso E., Dupont C., Heux L., Da Silva Perez D., Commandre J.-M., Gourdon C. *Energy*, 2016, no. 97, pp. 381–390. DOI: 10.1016/j.energy.2015.12.120.
100. Bardet M., Gerbaud G., Giffard M., Doan C., Hediger S., Le Pape L. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 2009, no. 55(3), pp. 199–214. DOI: 10.1016/j.pnmrs.2009.02.001.
101. Bardet M., Pournou A. *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, 2017, pp. 41–83. DOI: 10.1016/bs.arnmr.2016.07.002.
102. Paci M., Federici C., Capitani D., Perenze N., Segre A.L. *Carbohydrate Polymers*, 1995, no. 26(4), pp. 289–297. DOI: 10.1016/0144-8617(95)00011-U.

Received April 6, 2020

Revised April 14, 2020

Accepted October 7, 2020

**For citing:** Kostryukov S.G., Petrov P.S. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 4, pp. 7–29. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprp.2020047610.

