

ТЕХНОЛОГИЯ ХИМИЧЕСКОЙ  
ПЕРЕРАБОТКИ ДРЕВЕСИНЫ И ПРОИЗВОДСТВО  
ДРЕВЕСНО-ПОЛИМЕРНЫХ КОМПОЗИТОВ

Научная статья

УДК 543.632.538

DOI: 10.37482/0536-1036-2023-5-164-183

**Функциональный состав и структурные особенности лигнинов  
высших растений**

*Ю.А. Сыпалова<sup>✉</sup>, мл. науч. сотр.; ResearcherID: [AAF-9372-2021](https://orcid.org/0000-0001-7901-6897),*

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7901-6897>*

*С.Л. Шестаков, канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотр.; ResearcherID: [F-5498-2019](https://orcid.org/0000-0001-9057-5577),*

*ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9057-5577>*

*А.Ю. Кожевников, канд. хим. наук, зам. дир. ЦКП НО «Арктика»;*


*ResearcherID: [Q-9555-2016](https://orcid.org/0000-0002-3453-9229), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3453-9229>*

Северный (Арктический) федеральный университет им. М.В. Ломоносова, Центр коллективного пользования научным оборудованием «Арктика», наб. Северной Двины, д. 17, г. Архангельск, Россия, 163002; [yuliya.popova01@mail.ru](mailto:yuliya.popova01@mail.ru)<sup>✉</sup>, [laston85@mail.ru](mailto:laston85@mail.ru), [akozhevnikov@mail.ru](mailto:akozhevnikov@mail.ru)

*Поступила в редакцию 10.10.22 / Одобрена после рецензирования 14.01.23 / Принята к печати 19.01.23*

**Аннотация.** Одним из эффективных методов исследования растительного сырья является спектроскопия ядерного магнитного резонанса, которая позволяет выявить особенности структуры и функционального состава лигнинов различных видов растительной биомассы. Однако при использовании этого метода существует ряд ограничений – в частности, регистрация спектров ядерного магнитного резонанса на некоторых ядрах ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$  и др.) обычно требует значительных затрат времени. В данной статье предложен подход к снижению продолжительности записи спектров ядерного магнитного резонанса  $^{31}\text{P}$  в 17 раз без потери качества результата. С помощью данного метода и с применением оптимизированных параметров эксперимента проведен функционально-групповой анализ лигнинов некоторых хвойных и лиственных пород, травянистых растений, распространенных на Европейском Севере РФ. Определены типы структурных единиц и характерные для них межструктурные связи в расчете на 100 фенолпропановых единиц методом гетероядерной одноквантовой корреляционной спектроскопии (HSQC) ядерного магнитного резонанса. Выявлены различия функционального состава и особенности структурной организации лигнинов в зависимости от семейства, к которому принадлежит растение. На основе полученного массива экспериментальных данных предложены стратегии переработки конкретных видов растительного сырья. Так, например, лигнины семейств Березовые и Буковые показали наибольшее количество фрагментов  $\beta$ -ариловых эфиров со свободной гидроксильной группой в  $\alpha$ -положении, что говорит о большей реакционной способности данных лигнинов. Соответственно, представители этих семейств являются приоритетным сырьем при разработке способов переработки лигнина. В то же время структура лигнинов представителей семейства Буковые оказалась наиболее устойчивой к гидролитической деструкции, что важно для лигнонаправленных концепций биопереработки.

© Сыпалова Ю.А., Шестаков С.Л., Кожевников А.Ю., 2023

 Статья опубликована в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии CC BY 4.0

**Ключевые слова:**  $^{31}\text{P}$  ЯМР, HSQC ЯМР, лигнин, структура лигнина, функциональный состав лигнина, биопереработка, метод ядерного магнитного резонанса

**Благодарности:** Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ (грант 22-13-20015). Работа Сыпаловой Ю.А. поддержана грантом РФФИ для аспирантов (проект № 20-33-90126). Использовано оборудование ЦКП НО «Арктика» Северного (Арктического) федерального университета им. М.В. Ломоносова.

**Для цитирования:** Сыпалова Ю.А., Шестаков С.Л., Кожевников А.Ю. Функциональный состав и структурные особенности лигнинов высших растений // Изв. вузов. Лесн. журн. 2023. № 5. С. 164–183. <https://doi.org/10.37482/0536-1036-2023-5-164-183>

Original article

## Functional Composition and Structural Features of Higher Plant Lignins

*Yuliya A. Syalova*<sup>✉</sup>, Junior Research Scientist; ResearcherID: [AAF-9372-2021](https://orcid.org/0000-0001-7901-6897),

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7901-6897>

*Semen L. Shestakov*, Candidate of Physical and Mathematical Sciences, Senior Research

Scientist; ResearcherID: [F-5498-2019](https://orcid.org/0000-0001-9057-5577), ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9057-5577>

*Aleksander Yu. Kozhevnikov*, Candidate of Chemistry, Vice director of the Core Facility Center “Arktika” of the Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov;

ResearcherID: [Q-9555-2016](https://orcid.org/0000-0002-3453-9229), ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3453-9229>

Northern Arctic Federal University named after M.V. Lomonosov, Core Facility Center “Arktika”, Naberezhnaya Severnoy Dviny, 17, Arkhangelsk, 163002, Russian Federation; [yuliya.popova01@mail.ru](mailto:yuliya.popova01@mail.ru)<sup>✉</sup>, [laston85@mail.ru](mailto:laston85@mail.ru), [akozhevnikov@mail.ru](mailto:akozhevnikov@mail.ru)

Received on October 10, 2022 / Approved after reviewing on January 14, 2023 / Accepted on January 19, 2023

**Abstract.** NMR spectroscopy is one of the effective methods for the study of plant raw materials, which makes it possible to identify differences in the structure and functional composition of lignins of various types of plant biomass. However, there are a number of limitations in the use of this method – in particular, the registration of NMR spectra at some nuclei ( $^{13}\text{C}$ ,  $^{31}\text{P}$ , etc.) usually requires considerable amount of time. This article proposes an approach to reduce the recording time of  $^{31}\text{P}$  NMR spectra by a factor of 17 without losing the quality of the result. With the help of this method and with the use of optimized experimental parameters, the functional group analysis of lignins of some softwood and hardwood species and herbaceous plants distributed in the European North of the Russian Federation was carried out. The types of structural units and their characteristic interstructural relationships per 100 phenylpropane units were determined by HSQC NMR. Differences in the functional composition and features of the structural organization of lignins were identified depending on the family to which the plant belongs. On the basis of the obtained array of experimental data the strategies of processing of specific types of plant raw materials were proposed. For example, lignins of the Birch and Beech families showed the largest number of  $\beta$ -aryl ether fragments with a free hydroxyl group in the  $\alpha$ -position, which indicates the greater reactivity of these lignins. Accordingly, representatives of these families are priority raw materials in the development of lignin processing methods. At the same time, the structure of lignins of representatives of the Beech family proved to be the most resistant to hydrolytic degradation, which is important for lignin-directed bioprocessing concepts.

**Keywords:**  $^{31}\text{P}$  NMR, HSQC NMR, lignin, lignin structure, functional composition, bioprocessing, nuclear magnetic resonance method

**Acknowledgments:** This study was funded by the Russian Science Foundation (Grant project no. 22-13-20015). The work of Yuliya A. Sypalova was supported by the RFBR Grant for Postgraduate Students (Project no. 20-33-90126). The equipment of the Core Facility Center “Arktika” of the Northern (Arctic) Federal University named after M.V. Lomonosov was used.

**For citation:** Sypalova Yu.A., Shestakov S.L., Kozhevnikov A.Yu. Functional Composition and Structural Features of Higher Plant Lignins. *Lesnoy Zhurnal* = Russian Forestry Journal, 2023, no. 5, pp. 164–183. (In Russ.). <https://doi.org/10.37482/0536-1036-2023-5-164-183>

### Введение

В настоящее время общий запас древесины в России составляет около 80 млрд м<sup>3</sup>. Количество лигнина в растениях колеблется от 15 до 35 % по массе [1, 13, 15]. Благодаря высокой распространенности лигнина в природе его производственный потенциал может достигать ~10 млн т в год, что намного превышает текущий объем рынка продуктов на основе лигнина [12]. Лигнин – ароматический гетерополимер, который находится в клеточной стенке растения вместе с целлюлозой и гемицеллюлозами [8] и обеспечивает жесткость клетки, водонепроницаемость и устойчивость против микробного действия [26]. В основном лигнин получают как отход целлюлозно-бумажной промышленности и затем применяют в качестве топлива для рекуперации энергии [29]. Современные тенденции предполагают комплексное и максимальное использование всех компонентов древесины. Однако такая переработка лигнина ограничена проблемами нерегулярности его строения и сильной модификацией структуры в ходе технологического процесса.

Лигнин представляет собой макромолекулу, состоящую преимущественно из 3 основных мономерных субъединиц: гваяцильные звенья (G) – производные кониферилового спирта, имеющие одну арил-ОСН<sub>3</sub> группу; сирингильные звенья (S) – производные синапового спирта, имеющие две арил-ОСН<sub>3</sub> группы; *n*-гидроксифенильные звенья (H) – не имеют ОСН<sub>3</sub> групп и являются производными *n*-кумарового спирта (рис. 1) [14, 24]. Для макромолекул лигнина характерна поливариантность связей, поэтому однозначно описать макромолекулу лигнина простой комбинацией связей нескольких монолигнолов невозможно [25].

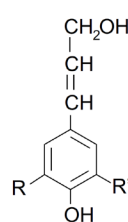
	Заместители	Монолигнол	Тип биомассы
	R = R' = H	<i>n</i> -кумаровый спирт	Травы, компрессионная древесина
	R = H, R' = OCH <sub>3</sub>	Кониферильный спирт	Лиственные и хвойные породы
	R = R' = OCH <sub>3</sub>	Синаповый спирт	Лиственные породы

Рис. 1. Мономерные структурные звенья лигнина

Fig. 1. Monomeric structural units of lignin

Исследование структуры лигнина представляет значительный интерес, как практический (с целью использования лигнина в качестве потенциально-го сырья для более глубокой переработки и получения ценных органических веществ), так и теоретический (например, для изучения путей и особенностей биосинтеза в различных растениях).

Вторичная переработка лигнина должна базироваться на использовании его свойств, обусловленных особенностями строения, наличием и количеством различных функциональных групп, от которых зависят многие полезные свойства конечных продуктов. В связи с этим определение структурных особенностей лигнинов разного происхождения, их функционального состава и продуктов химической модификации лигнинов является актуальным. В наибольшей степени это относится к реакционноспособным гидроксильным группам, которые присутствуют в макромолекуле лигнина в виде заместителей в алифатических цепях, а также в виде фенольных структур гваяцильного, сирингильного и *n*-гидроксифенильного типов [1, 9, 11]. Поэтому знания о точном функциональном составе лигнина необходимы для вовлечения его в процессы вторичной переработки.

Одним из наиболее информативных методов функционального анализа лигнинов является спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) [17]. Спектроскопия  $^{31}\text{P}$  ЯМР лигнина позволяет количественно определять содержание гидроксильных групп различных типов, в частности алифатических, фенольных, гидроксильных, а также карбоксильных [6]. Метод гетероядерной одноквантовой корреляционной спектроскопии ЯМР (HSQC ЯМР) эффективно используется для более глубокого изучения структуры лигнина и связей в макромолекуле. Совокупность методов ЯМР предоставляет достоверную исчерпывающую информацию о типах единиц и характерных для них межструктурных связях [18, 28].

Лигнины, полученные из различных видов растительной биомассы, обладают специфичными структурными особенностями [7, 23, 27], и для более эффективной переработки лигнина необходимо принимать во внимание видовые различия исходного растительного сырья. Следовательно, формирование единых представлений о структурных особенностях лигнинов разного биологического происхождения необходимо как для подбора комплексных решений для эффективной переработки (биорефайнинга), так и для более глубокого понимания процессов биосинтеза полимеров при росте растений.

Цель настоящего исследования – разработать подход к экспрессному определению функционального состава лигнинов методом  $^{31}\text{P}$  ЯМР и изучить структурное разнообразие лигнинов для последующей оптимизации технологий их переработки.

#### *Объекты и методы исследования*

В качестве объектов исследования выбраны диоксанлигнины (ДЛ), выделенные из разных видов растительной биомассы: хвойных и лиственных пород и травянистых растений. При этом взяты наиболее распространенные представители растительности Европейского Севера РФ (табл. 1).

Таблица 1

**Объекты исследования**  
**Objects of study**

Тип растительности	Семейство [2]	Вид	Содержание лигнина Класона, %	Выход ДЛ, % (по Класону)
Хвойные породы	Сосновые	Ель обыкновенная	27,5±0,1	22,2±1,1
		Сосна обыкновенная	29,9±0,7	23,0±1,8
		Пихта сибирская	31,0±0,3	36,4±2,7
Лиственные породы	Березовые	Береза повислая	23,7±0,0	46,8±2,3
		Граб обыкновенный	23,5±0,3	65,1±3,1
		Ольха черная	27,2±0,5	50,7±2,5
	Буковые	Дуб черешчатый	26,9±0,1	44,2±2,6
		Бук европейский	26,4±0,1	50,4±4,5
		Каштан посевной	30,6±0,4	49,0±2,4
	Ивовые	Ива козья	22,1±0,4	46,3±4,1
		Тополь белый	18,1±0,0	38,1±0,9
		Осина обыкновенная	20,7±0,2	54,0±3,2
	Розовые	Малина обыкновенная	24,3±0,0	41,1±2,1
		Рябина обыкновенная	26,2±0,1	37,9±2,3
Яблоня домашняя		23,8±0,6	43,3±3,5	
Травянистые растения	Зонтичные	Тмин обыкновенный	29,0±0,0	14,1±0,7
	Кипрейные	Кипрей узколистный	25,2±0,1	18,7±1,1
	Злаки	Ежа сборная	24,5±0,1	29,4±2,0

Часть образцов отобрана на территории Северо-Западного федерального округа РФ в разных точках Архангельской области (Холмогорский, Красноборский и Шенкурский районы). Дендрологический сад имени И.М. Стратановича в г. Архангельске предоставил образцы лиственных пород деревьев. Для сравнения также были получены дикоросы березы, граба, ольхи, дуба, бука и каштана, произраставшие на территории Краснодарского края. Для репрезентативности растительных проб и объективности информации о содержании основных структурных единиц, входящих в состав лигнина исследуемых пород древесины и травянистых растений, образцы каждого представителя отбирались точно в 3 повторениях и в дальнейшем данные усреднялись.

Средний возраст лиственных деревьев составил 21–38 лет, хвойных – 56–70 лет. В качестве представительного образца древесных растений использовали стволую часть дерева (торцевой спил толщиной 3–4 см). При взятии образцов малины обыкновенной (*Rubus idaeus* L.) выбирали одревесневшие 2-летние ветки и срезали их среднюю часть. При отборе проб травянистых растений извлекали всю надземную часть, листья и цветки удаляли.

Образцы древесины очищали от коры и измельчали в щепу. Ветки малины также зачищали от коры и измельчали. У травянистых растений отделяли стебли. Щепу и стебли высушивали на воздухе и измельчали с использовани-

ем аналитической ножевой мельницы. Влажность воздушно-сухих образцов составляла 3–7 %. Полученные опилки экстрагировали ацетоном в аппарате Сокслета в течение 48 ч для удаления экстрактивных веществ. Все образцы лигнинов выделены по методу Пеппера [21], так как ДЛ считается препаратом, удобным для извлечения и близко отражающим основные структурные особенности природного лигнина. Для извлечения препаратов ДЛ обессмоленные опилки обрабатывали смесью диоксан/вода (объемное соотношение 9:1) при 90 °С в течение 2 ч в токе аргона. Экстракт нейтрализовали  $\text{NaHCO}_3$ , затем раствор отфильтровывали и упаривали в 8 раз на ротационном испарителе. Полученный концентрат по каплям приливали в 8-кратный избыток воды. Осажденный ДЛ-сырец отделяли от раствора центрифугированием и высушивали в вакуумном шкафу. Очистку от примесей проводили путем переосаждения в диэтиловый эфир.

Следует отметить, что ДЛ не является абсолютно нативным и претерпевает изменения в процессе выделения. Тем не менее, так как все образцы лигнина выделены по одной методике, их сравнение корректно и может экстраполироваться на исходные лигнины изучаемых видов. Поэтому при интерпретации результатов структурного анализа необходимо учитывать деструкцию лигнина в ходе ацидолиза.

С целью характеристики исследуемых образцов ДЛ получены данные о молекулярно-массовом распределении (среднемассовые  $M_w$  и среднечисловые  $M_n$  молекулярные массы, индекс полидисперсности  $M_w/M_n$ ), а также об элементном составе (табл. 2). Молекулярные массы выделенных препаратов лигнина и степень полидисперсности определяли методом эксклюзионной хроматографии с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии системы LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) со спектрофотометрическим детектором SPD-20A. Элементный состав ДЛ устанавливали с помощью элементного (CHNS) анализатора EA-3000 (EuroVector, Италия). Содержание кислорода рассчитывали, принимая суммарное содержание С, Н, N, S, О равным 100 %.

Основным аналитическим оборудованием, использованным в данной работе, является импульсный ЯМР-спектрометр AVANCE III™ 600 (Bruker, Германия) с рабочей частотой для протонов 600 МГц. Для анализа лигнинов методом  $^{31}\text{P}$  ЯМР применен подход, предусматривающий фосфитилирование гидроксильных групп лигнина специальным агентом с последующим получением спектров на ядрах  $^{31}\text{P}$  [3–5, 16, 19, 22]. В качестве фосфитилирующего агента использован 2-хлор-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксафосфофан (ТМДР). Спектры регистрировали посредством стандартной 1-импульсной последовательности с длительностью импульса 12 мкс, задержку между импульсами варьировали от 25 до 5 с, число накоплений – от 512 до 128. Массу навески образца изменяли от 15 до 40 мг. Спектры калибровали по сигналу продукта реакции фосфитилирующего агента с водой (химический сдвиг – 132,2 м.д.). Базовую линию корректировали вручную с использованием полиномиальной функции. Отношение «сигнал/шум» измеряли с помощью программного обеспечения спектрометра TopSpin 3.2.



Таблица 2

**Характеристика исследуемых препаратов ДЛ**  
**Characteristics of the studied DLs**

Семейство	Вид	Элементный состав, %			Молекулярно-массовые характеристики		
		С	Н	О	$M_w$ , Да	$M_n$ , Да	$M_w/M_n$
Сосновые	Ель	63,0±0,1	5,93±0,4	31,1±0,7	2900	1600	1,8
	Пихта	63,5±0,3	5,71±0,5	30,8±0,7	7000	2100	3,2
	Сосна	62,6±0,3	5,74±0,6	31,7±0,4	4400	1600	2,7
Березовые	Береза	59,5±0,1	5,79±0,7	34,7±0,8	4900	2400	2,0
	Граб	59,3±0,9	5,75±0,4	35,0±0,9	5200	3000	1,7
	Ольха	60,1±0,3	5,94±0,7	34,0±0,8	5800	1800	3,2
Буковые	Дуб	58,4±0,4	6,11±0,3	35,5±0,3	5700	2100	2,7
	Бук	60,1±0,1	5,89±0,3	34,0±0,7	4100	1750	2,3
	Каштан	57,7±0,2	5,89±0,5	36,4±0,3	4400	1300	3,4
Ивовые	Ива	59,4±0,4	5,89±0,5	34,7±0,2	1300	910	1,4
	Тополь	59,8±0,5	5,93±0,6	34,3±0,5	1300	930	1,3
	Осина	54,4±0,0	5,68±0,9	39,9±0,9	1200	880	1,4
Розовые	Малина	58,6±0,1	5,89±0,7	35,5±0,7	5100	1900	2,7
	Рябина	57,9±0,2	5,86±0,2	36,2±1,1	4600	1800	2,5
	Яблоня	57,1±0,6	5,97±0,3	36,9±1,3	4300	1930	2,2
Зонтичные	Тмин	60,0±1,2	5,83±0,4	34,2±0,9	2900	1600	1,8
Кипрейные	Кипрей	58,4±0,9	5,48±0,5	36,1±0,9	3600	1800	2,0
Злаки	Ежа	58,9±0,4	5,55±0,1	35,6±0,8	2100	1300	1,6

В экспериментах HSQC ЯМР в качестве растворителя лигнина использовали дейтерированный диметилсульфоксид (DMCO-d6). Навеску лигнина 70–80 мг растворяли в 600 мкл DMCO-d6 и тщательно перемешивали. Раствор переносили в ампулу для ЯМР-анализа. Содержание основных типов связей в лигнине определяли полуколичественным методом, основанным на интегрировании соответствующих сигналов на спектрах HSQC. Отнесение сигналов на спектрах проводили путем сравнения экспериментальных химических сдвигов с данными научной литературы.

*Результаты исследования и их обсуждение*

Анализ данных элементного состава (табл. 2) показал, что ДЛ хвойных пород обладают большим содержанием углерода в составе, но меньшим содержанием кислорода по сравнению с остальными образцами. Пониженное содержание кислорода можно объяснить тем, что лигнины хвойных пород построены преимущественно из гваяцилпропановых структурных единиц, тогда как в лигнинах лиственных и травянистых растений преобладает сингилпропановая структурная единица. Кроме того, лигнины хвойных пород, вероятнее всего, более конденсированы, что отражается на значениях содержания углерода и более высоких молекулярных массах.

Представители травянистых растений отличаются низким индексом полидисперсности (табл. 2) и меньшими молекулярными массами. Для ДЛ лиственных пород семейства Ивовые отмечены несколько заниженные значения молекулярных масс по сравнению с остальными рассмотренными ДЛ лиственных пород. Это может быть объяснено тем, что при экстракции в заданных условиях выделяется более низкомолекулярная фракция лигнина и для извлечения препаратов ДЛ из этих пород требуется корректировка методики.

ЯМР-спектроскопия является одним из перспективных методов исследования лигнина в части установления его функционального состава и особенно структур фрагментов, входящих в него. Лигнины разных видов растительной биомассы отличаются по содержанию различных фенилпропановых структур и, следовательно, соответствующих им гидроксильных групп, что приводит к различиям в положении и относительной интенсивности линий спектров  $^{31}\text{P}$  ЯМР.

Перед регистрацией основной серии спектров образцов нами произведен подбор параметров эксперимента для оптимизации рабочего процесса. На рис. 2 представлены спектры  $^{31}\text{P}$  ЯМР лигнина стеблей малины (*Rubus idaeus* L.), зарегистрированные для одинаковых навески образца (15 мг), длительности импульса (12 мкс) и времени регистрации спада свободной индукции (1,13 с). Варьировали время задержки между импульсами (от 25 до 5 с) и число накоплений (от 512 до 128).

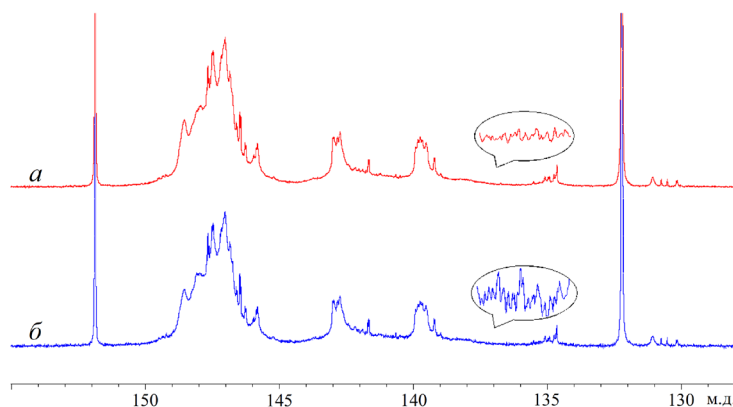


Рис. 2. Спектры  $^{31}\text{P}$  ЯМР лигнина стеблей малины, зарегистрированные при различных параметрах: время задержки – 25 с, число накоплений – 512 (а); время задержки – 5 с, число накоплений – 128 (б)

Fig. 2.  $^{31}\text{P}$  NMR spectra of raspberry stem lignin recorded at different parameters: delay time – 25 s, number of scans – 512 (a); delay time – 5 s, number of scans – 128 (b)

Результаты эксперимента показывают, что уменьшение времени задержки практически не влияет на совокупность наблюдаемых сигналов спектра. Это позволяет утверждать, что время задержки, равное 5 с, является достаточным для полной релаксации образца после воздействия импульса и регистрации отклика. Дальнейшее снижение времени задержки между импульсами может привести к искажению вида спектра, поскольку время релаксации ядер фосфора составляет 4–10 с.



Также установлено, что отношение «сигнал/шум» лучше в спектре, записанном с бóльшим числом накоплений и длительной задержкой, однако в данном случае время проведения эксперимента (около 3,5 ч) существенно увеличивается по сравнению с экспериментом с короткой задержкой и меньшим числом накоплений (около 13 мин). В основной серии экспериментов было решено использовать короткую задержку и меньшее число накоплений, а отношение «сигнал/шум» улучшить путем увеличения навески образца.

На рис. 3 представлены спектры  $^{31}\text{P}$  ЯМР лигнина стеблей малины (*Rubus idaeus* L.), зарегистрированные в одинаковых условиях эксперимента (длительность импульса – 12 мкс; время регистрации спада свободной индукции – 1,13 с; задержка между импульсами – 5 с; число накоплений – 128), но с разной навеской образца (от 15 до 40 мг). Установлено, что при навеске образца 40 мг и числе накоплений 128 отношение «сигнал/шум» достигает значений, получаемых в эксперименте с навеской 15 мг и числом накоплений 512. В итоге в основной серии экспериментов было решено использовать навески образцов в 40 мг.

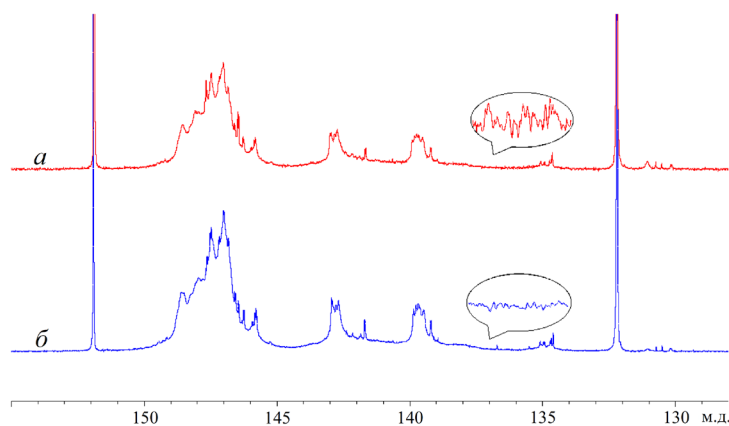


Рис. 3. Спектры  $^{31}\text{P}$  ЯМР лигнина стеблей малины для различных навесок образца: 15 (а) и 40 (б) мг

Fig. 3.  $^{31}\text{P}$  NMR spectra of raspberry stem lignin registered for different sample weights: 15 mg (a) и 40 mg (б)

Таким образом, в результате предварительных экспериментов нами определены параметры регистрации спектров, которые использовались в основной серии опытов: длительность импульса – 12 мкс; задержка между импульсами – 5 с; число накоплений – 128; масса навески – 40 мг.

Оптимизация параметров регистрации спектров  $^{31}\text{P}$  ЯМР позволила снизить время записи одного спектра с изначальных 3 ч 43 мин до 13 мин без потери качества результата, что подтверждается вычислением отношения «сигнал/шум» в спектрах, зарегистрированных при разных параметрах. Измерения амплитуды сигнала и шума во всех спектрах проводили в диапазонах 134,82–134,44 м.д. для сигнала (соответствующего карбоксильным группам) и 134,0–133,0 м.д. для шума. Результаты вычислений представлены в табл. 3.

Таблица 3

**Определение отношения «сигнал/шум» в экспериментах**  
**Signal-to-noise ratio in experiments**

Навеска, мг	Задержка, с	Отношение «сигнал/шум»
15	25	41,33
15	5	19,09
40	5	38,03

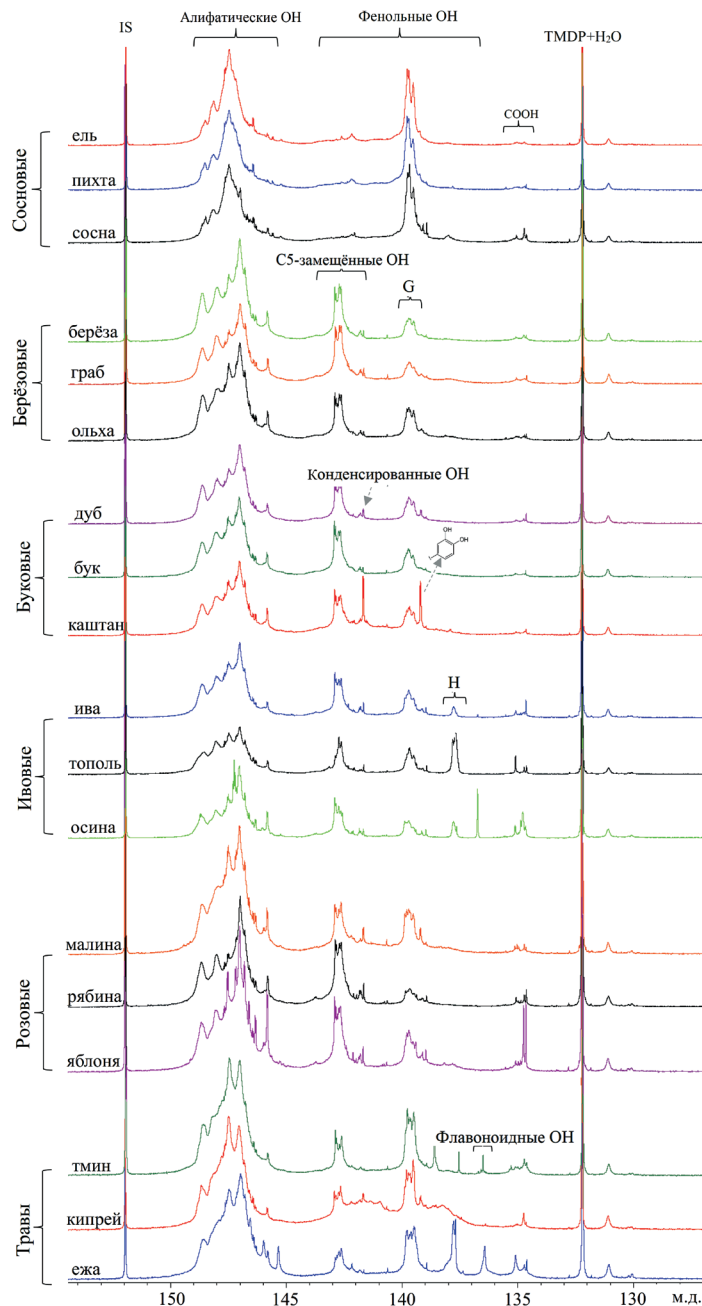
Спектры  $^{31}\text{P}$  ЯМР основной серии экспериментов для всех образцов представлены на рис. 4. Анализ спектров показывает следующее. В области  $\sim 132,2$  м.д. наблюдается сигнал, соответствующий атому фосфора в составе продукта реакции фосфитилирующего агента с водой, по этому пику производится калибровка всего спектра. В диапазоне химических сдвигов  $\sim 152,0$  м.д. проявляется сигнал, отвечающий гидроксильным группам внутреннего стандарта;  $\sim 133,8$ – $136,1$  м.д. – сигналы, соответствующие карбоксильным ОН-группам лигнинов;  $\sim 138,5$ – $136,8$  м.д. – сигнал *n*-оксифенильных групп;  $\sim 138,5$ – $140,3$  м.д. – сигналы гваяцильных ОН-групп;  $\sim 140,3$ – $144,9$  м.д. – сигналы ОН-групп, отвечающие С5-замещенным единицам;  $\sim 144,9$ – $151,4$  м.д. – сигналы алифатических ОН-групп. Кроме того, на некоторых спектрах, в особенности травянистых растений, зафиксированы сигналы, отвечающие ОН-группам флавоноидных структур. Сигнал в области  $\sim 138,4$ – $138,8$  м.д. резонирует от ОН-групп структур пирокатехинового типа, а в области  $\sim 136,1$ – $136,8$  м.д. – от структур флороглюцинового типа в составе флавоноидов.

Обнаружено, что спектры  $^{31}\text{P}$  ЯМР лигнинов различных растений неодинаковы по относительной интенсивности сигналов в указанных выше диапазонах. Таким образом, мы можем наблюдать различие функционального состава лигнинов в зависимости от семейства, к которому принадлежит растение, с помощью спектроскопии ЯМР.

Из спектров  $^{31}\text{P}$  ЯМР ДЛ хвойных пород видно, что наибольшую интенсивность среди сигналов фенольных гидроксильных групп имеют сигналы, соответствующие гваяцильным ОН-группам ( $\sim 139$ – $140$  м.д.). В то же время сигналы, отвечающие С5-замещенным ОН-группам, практически отсутствуют в спектрах, что подтверждают литературные данные [6,19, 23].

Спектры  $^{31}\text{P}$  ЯМР ДЛ, выделенных из древесных растений семейства Ивовые, показывают значительное количество Н-единиц (область на спектре  $\sim 137$ – $138$  м.д.) в отличие от лигнинов других рассмотренных листовых пород деревьев.

Для лигнинов, полученных из древесных растений семейств Розовые и Буковые, характерно преобладание С5-замещенных структурных звеньев в составе. Группы сигналов, соответствующих ОН-группам в гваяцилпропановых звеньях, менее выражены в спектрах, чем у спектров лигнинов других листовых пород деревьев. Интенсивности сигнала алифатических ОН-групп в области  $\sim 146$  м.д. на спектрах семейств Березовые и Розовые увеличены по сравнению с аналогичными сигналами в спектрах остальных проанализированных образцов.

Рис. 4. Сравнительный анализ спектров  $^{31}\text{P}$  ЯМР ДЛFig. 4. Comparative analysis of  $^{31}\text{P}$  NMR DL spectra

В отличие от лигнинов, выделенных из древесины, лигнины трав содержат в заметных количествах все типы гидроксильных групп, распространенных в лигнинах. Помимо этого, на спектрах наблюдается сигнал в области  $\sim 136,4$  м.д., который не отвечает ни одной из распространенных функциональных ОН-групп лигнинов. Этот сигнал относится к ОН-группам флавоноидов, однако механизм включения этих фрагментов в структуру лигнина до конца не выяснен.

Таблица 4

Содержание функциональных ОН-групп, ммоль/г, в исследованных ДЛ по данным спектроскопии <sup>31</sup>P ЯМР  
 Content of functional OH-groups in the studied DL according to <sup>31</sup>P NMR spectroscopy data

Семейство	Вид	Функциональные ОН-группы										Всего
		Алифатические	C5-замещенные	G	H	COOH	Флавоноидные	Фенольные				
Сосновые	Ель	4,39±0,09	0,68±0,01	1,54±0,04	0,06±0,00	0,08±0,00	–	2,28±0,05				6,75±0,14
	Пихта	3,59±0,11	0,73±0,02	1,38±0,01	0,08±0,00	0,08±0,00	–	2,19±0,03				5,86±0,14
	Сосна	3,55±0,10	0,55±0,00	1,48±0,02	0,14±0,02	0,21±0,03	–	2,18±0,04				5,94±0,17
Березовые	Береза	4,62±0,17	1,29±0,03	0,47±0,01	0,09±0,01	0,14±0,01	–	1,85±0,05				6,61±0,23
	Граб	3,89±0,18	1,64±0,01	0,52±0,01	0,18±0,01	0,17±0,01	–	2,34±0,03				6,40±0,22
	Ольха	4,75±0,23	1,21±0,04	0,68±0,02	0,14±0,00	0,13±0,00	–	2,03±0,06				6,91±0,29
Буковые	Дуб	3,91±0,12	1,26±0,01	0,58±0,01	0,09±0,00	0,12±0,01	–	1,92±0,02				5,94±0,15
	Бук	4,09±0,15	1,35±0,01	0,64±0,01	0,08±0,01	0,08±0,00	–	2,07±0,03				6,24±0,18
	Каштан	3,70±0,20	1,73±0,05	0,76±0,02	0,18±0,02	0,13±0,00	–	2,67±0,09				6,50±0,29
Ивовые	Ива	3,62±0,11	1,15±0,01	0,59±0,01	0,13±0,01	0,14±0,01	–	1,86±0,03				5,63±0,15
	Тополь	3,62±0,05	1,00±0,00	0,65±0,01	0,65±0,05	0,13±0,01	–	2,30±0,06				6,05±0,12
	Осина	3,88±0,09	1,12±0,00	0,46±0,01	0,18±0,01	0,37±0,05	–	1,76±0,02				6,01±0,16
Розовые	Малина	4,28±0,13	1,14±0,01	0,69±0,02	0,15±0,01	0,14±0,01	–	1,99±0,04				6,42±0,18
	Рябина	3,60±0,12	1,40±0,03	0,35±0,00	0,07±0,00	0,14±0,01	–	1,82±0,03				5,57±0,16
	Яблоня	4,15±0,13	1,19±0,01	0,65±0,02	0,16±0,02	0,23±0,03	–	2,00±0,05				6,38±0,21
Травы	Тмин	4,34±0,21	0,80±0,02	0,96±0,04	0,10±0,01	0,20±0,03	0,05±0,00	1,91±0,07				6,45±0,30
	Кипрей	3,75±0,14	1,85±0,05	1,15±0,03	0,48±0,05	0,13±0,01	0,06±0,00	3,53±0,13				7,42±0,28
	Ежа	3,84±0,16	0,73±0,01	0,75±0,01	0,47±0,05	0,25±0,05	0,20±0,03	2,16±0,07				6,25±0,31

Заключения по качественному анализу спектров <sup>31</sup>P ЯМР подтверждаются данными количественного анализа содержания функциональных групп различных типов в образцах (табл. 4).

Общее содержание гидроксильных групп, в частности свободных фенольных, преобладает в ДЛ травянистых растений. Это объясняется значительным количеством Н-единиц в структуре, а также вкладом фрагментов флавоноидов. Содержание карбоксильных ОН-групп на уровне 0,2 ммоль/г в травянистых лигнинах говорит о том, что такие лигнины склонны к окислению и требуют более мягких условий извлечения.

Преобладание свободных алифатических ОН-групп в структуре лигнина благоприятствует гидротропным процессам биопереработки при производстве формованных материалов на основе лигнина [15]. Для такой стратегии наиболее подходящими породами древесины являются ель, береза и ольха.

Высокая доля фенольных ОН-групп способствует максимизации конверсии лигнина в биополиолы в одну стадию для прямого производства пенополиуретанов [10]. Необходимыми характеристиками обладают травянистые растения, а также ель и каштан.

Низкомолекулярные травянистые лигнины с *n*-гидроксифенильными группами в структуре (кипрей, ежа) потенциально пригодны для получения свободных фенолов. Удаление *n*-гидроксикоричного спирта и коричневого альдегида из структуры лигнина в условиях кислотного катализа позволит использовать такие модифицированные лигнины, как антиоксиданты, углеродное волокно, наночастицы или сорбенты, для очистки воды [20].

Таким образом, в силу различия функциональных групп лигнина области его применения охватывают широкий спектр, включая производство энергии, биотоплива и продуктов синтез-газа, получение полимерных производных лигнина: пластмасс, полимерных пен, клеев, добавок в биоразлагаемые композиты, мембран и углеродных волокон, антиоксидантов и противомикробных агентов.

Метод HSQC ЯМР является наиболее часто применяемым методом ЯМР спектроскопии для характеристики лигнинов, поскольку предоставляет достоверную исчерпывающую информацию о типах единиц и характерных химических связях между фенилпропановыми единицами (ФПЕ). Молекулярная геометрия основных структур, как области боковой цепи, так и ароматической области, изображена на рис. 5.

В табл. 5 представлены результаты количественного анализа основных типов связей, характерных для всех исследуемых препаратов лигнина.

Анализ полученных данных показывает, что содержание основных мономерных звеньев (S-, G- и H-единиц), а также метоксильных групп в целом соответствует литературным данным. В то же время данные количественного анализа  $\beta$ -O-4-связей сильно разнятся [7]. Это объясняется тем, что в литературе сигнал при  $\delta_{C/\delta H}$  73,7–69,7/5,26–4,65 ошибочно приравнивают к общему содержанию всех  $\beta$ -O-4-связей, тогда как данный сигнал принадлежит только структурам  $\beta$ -ариловых эфиров со свободной гидроксильной группой в  $\alpha$ -положении.

Так, препараты ДЛ семейства Сосновые состоят преимущественно из G-единиц с незначительным присутствием S- и H-единиц. Это подтверждается и количеством метоксильных групп – ~ 95 %. Кроме того, содержание  $\beta$ -O-4-связей со свободными бензильными ОН-группами ( $\beta$ -O-4/ $\alpha$ -ОН) для семейства Сосновые наименьшее из всех рассмотренных препаратов.

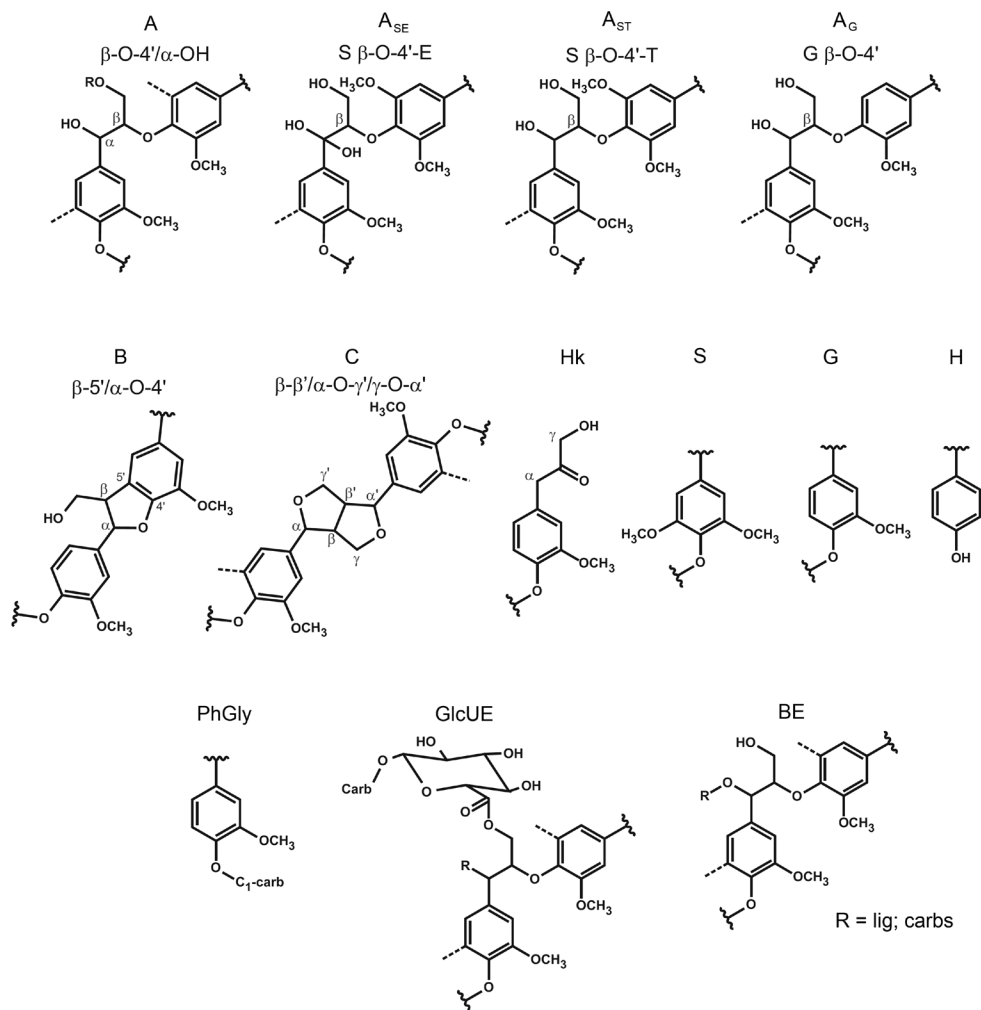


Рис. 5. Основные структурные фрагменты, присутствующие в ДЛ: А –  $\beta$ -ариловые эфиры; A<sub>SE</sub> – эритро-изомеры; A<sub>ST</sub> – трео-изомеры  $\beta$ -ариловых эфиров S-типа; A<sub>G</sub> –  $\beta$ -ариловые эфиры G-типа; В – фенолкупумарановые структуры, образованные  $\beta$ -5'/ $\alpha$ -O-4'-связями; С – структуры резинола, образованные  $\beta$ - $\beta'$ / $\alpha$ -O- $\gamma'$ / $\gamma$ -O- $\alpha'$ -связями; Hk – кетоны Гибберта; S – сирингильная единица; G – гваяцильная единица; H – *p*-гидроксифенильная единица; PhGly – фенолгликозидная связь; GlcUE – сложные эфиры глюконовой кислоты; BE – бензиловые эфиры

Fig. 5. Main structures present in DLs: A –  $\beta$ -aryl ethers; A<sub>SE</sub> – erythro-isomers; A<sub>ST</sub> – S-type  $\beta$ -aryl ethers treo-isomers; A<sub>G</sub> – G-type  $\beta$ -aryl ethers; B – phenylcoumarane structures formed by  $\beta$ -5'/ $\alpha$ -O-4' bonds; C – resinol structures formed by  $\beta$ - $\beta'$ / $\alpha$ -O- $\gamma'$ / $\gamma$ -O- $\alpha'$  bonds; Hk – Hibbert's ketones; S – syringyl unit; G – guaiacyl unit; H – *p*-hydroxyphenyl unit; PhGly – phenylglycoside bond; GlcUE – glucuronic acid ethers; BE – benzyl ethers

Присутствие во всех препаратах фрагментов кетонов Гибберта указывает на то, что часть  $\beta$ -O-4-связей подверглась гидролитической деструкции в ходе ацидолиза. Количество структур Hk для большинства исследованных образцов составило порядка 4–6 на 100 ФПЕ, исключая лигнины представителей семейства Буковые (1–2 на 100 ФПЕ), что говорит о более устойчивой структуре лигнинов данного семейства.



Таблица 5

Количество различных структурных фрагментов ДЛ по данным HSQC ЯМР, на 100 ФПЕ  
Quantification of various structural fragments of DLs according to HSQC NMR data, per 100 PPU

Фрагмент	Образец лигнина															
	Сосновые				Березовые				Буковые							
	Ель	Пихта	Сосна	Береза	Граб	Ольха	Дуб	Бук	Каштан	Сосна	Береза	Граб	Ольха	Дуб	Бук	Каштан
S <sub>2,6</sub>	3,6±0,1	4,6±0,2	4,5±0,1	71,9±1,8	75,8±2,1	62,9±1,3	67,5±1,5	65,0±2,0	62,4±2,2							
G <sub>2</sub>	96,0±3,9	95,0±2,7	87,0±3,3	28,1±0,5	24,2±0,2	37,1±0,9	32,5±1,0	35,0±2,0	37,6±1,8							
H <sub>2,6</sub>	0,8±0,2	0,9±0,1	1,5±0,0	1,5±0,1	1,9±0,1	1,5±0,0	0,7±0,1	0,8±0,1	0,8±0,3							
S/G	0,0	0,0	0,0	2,6±0,1	3,1±0,1	1,7±0,1	2,1±0,1	1,9±0,2	1,7±0,1							
OMe	98,1±3,2	92,4±1,8	93,6±2,5	116,4±3,7	109,7±1,3	110,9±2,2	129,1±5,0	109,2±2,9	122,7±3,7							
β-O-4/α-OH	16,6±0,6	13,9±0,5	12,2±1,0	28,4±0,3	33,6±0,7	36,4±0,5	33,3±0,9	24,3±0,5	33,8±0,2							
S β-O-4 T	2,7±0,1	1,7±0,5	1,5±0,1	13,5±0,5	15,5±1,0	15,3±1,4	13,8±0,5	10,0±0,9	14,4±0,1							
S β-O-4 E	1,4±0,4	1,2±0,1	1,1±0,1	6,8±0,2	8,0±0,5	8,0±0,2	7,8±0,8	5,7±0,5	7,6±0,1							
G β-O-4 E+T	12,0±1,0	9,3±0,5	8,2±0,9	7,5±0,5	8,1±0,1	10,4±0,4	8,5±0,3	7,2±0,4	9,3±0,2							
α-CO/β-O-4	0,1±0,0	0,2±0,1	0,2±0,2	0,8±0,1	1,4±0,0	1,2±0,1	1,3±0,0	0,9±0,1	1,2±0,0							
β-β (резинол)	3,5±0,2	3,5±0,0	2,6±0,1	7,8±0,3	6,4±0,5	7,3±0,2	7,4±0,1	8,1±0,3	7,6±0,1							
β-5 (фенилкумаран)	9,3±0,2	8,3±0,2	7,6±0,3	2,2±0,2	2,3±0,1	4,1±0,1	9,1±0,7	2,8±0,4	3,5±0,0							
Hк	5,2±0,1	5,8±0,0	5,5±0,6	6,0±0,5	4,2±0,2	6,3±0,4	1,0±0,0	1,4±0,1	2,2±0,1							
Ar-CH-CH-CHO	1,2±0,1	1,0±0,1	1,2±0,0	1,2±0,0	1,1±0,0	1,4±0,0	1,3±0,1	1,0±0,1	1,2±0,0							
Ar-CHO	0,3±0,0	0,4±0,1	1,0±0,1	0,4±0,0	0,4±0,0	0,4±0,0	0,2±0,0	0,2±0,2	0,7±0,1							
Ac	0,3±0,0	0,4±0,0	0,8±0,0	1,7±0,1	3,0±0,5	2,0±0,1	3,1±0,1	1,2±0,1	2,7±0,3							
γ-эфиры	0,2±0,0	0,5±0,5	0,5±0,1	1,3±0,1	0,3±0,1	0,8±0,1	0,7±0,0	1,0±0,0	2,7±0,1							
BE	6,0±0,9	6,0±0,7	4,7±0,5	4,6±0,3	5,4±0,1	6,2±0,5	5,8±0,2	5,9±0,9	0,8±0,1							
GlcU	0,2±0,2	0,2±0,0	0,2±0,0	0,3±0,2	0,3±0,0	0,2±0,0	0,2±0,2	0,2±0,0	0,4±0,0							
PhGly	0,9±0,1	1,1±0,0	1,1±0,1	1,4±0,0	1,7±0,3	1,6±0,1	1,3±0,1	1,4±0,1	1,4±0,0							

Продолжение табл. 5

Фрагмент	Образец лигнина											
	Ивовые				Розовые				Травы			
	Ива	Тополь	Осина	Малына	Рябина	Яблоня	Тмин	Кипрей	Ежа			
S <sub>2,6</sub>	60,3±0,9	55,3±1,0	66,6±2,1	56,0±1,8	76,0±1,3	67,0±0,5	42,3±1,2	35,5±0,7	43,5±0,5			
G <sub>2</sub>	39,7±0,5	44,7±0,7	33,4±0,2	44,0±1,8	24,0±0,6	31,9±1,0	56,6±1,8	63,4±2,2	53,3±0,9			
H <sub>2,6</sub>	0,7±0,1	1,7±0,2	0,8±0,1	1,0±0,2	0,6±0,0	2,1±0,1	2,4±0,2	2,3±0,1	6,4±0,2			
S/G	1,5±0,0	1,2±0,0	2,0±0,1	1,3±0,1	3,2±0,1	2,1±0,1	0,7±0,0	0,6±0,0	0,8±0,0			
OMe	109,3±3,1	104,5±2,2	105,3±0,5	89,3±2,9	121,0±3,2	111,9±0,4	92,1±0,5	77,3±0,1	92,1±0,7			
β-O-4/α-OH	23,9±0,7	26,5±0,5	21,5±0,1	36,5±0,5	26,1±0,4	24,7±0,1	26,2±0,2	27,0±0,5	24,2±0,4			
S β-O-4 T	9,6±0,2	7,7±0,1	9,3±0,2	14,9±0,6	12,0±0,5	10,4±0,2	9,4±0,1	9,0±0,1	7,9±0,1			
S β-O-4 E	5,6±0,1	5,4±0,4	5,2±0,0	10,1±0,4	7,2±0,2	6,8±0,0	5,6±0,4	5,3±0,0	5,0±0,0			
G β-O-4 E+T	7,1±0,0	8,8±0,1	8,4±0,9	12,3±1,3	5,2±0,1	6,4±0,1	9,4±0,3	9,6±0,1	7,3±0,1			
α-CO/β-O-4	0,8±0,0	0,5±0,0	0,4±0,0	0,3±0,0	1,0±0,0	0,9±0,0	0,7±0,0	0,4±0,0	2,3±0,0			
β-β (резинол)	7,5±0,2	4,1±0,1	6,7±0,1	8,5±0,6	7,1±0,1	6,9±0,7	8,1±0,1	6,9±0,2	3,6±0,1			
β-5 (фенилкумаран)	3,2±0,1	3,7±0,0	2,2±0,0	4,5±0,1	1,2±0,0	2,5±0,1	5,9±0,2	6,4±0,1	4,8±0,2			
Hк	6,6±0,5	4,8±0,2	2,1±0,0	3,4±0,1	0,9±0,0	6,3±0,2	5,1±0,1	4,4±0,0	4,2±0,0			
Ar-CH=CH-CHO	1,1±0,0	1,2±0,1	1,2±0,1	1,1±0,0	1,0±0,0	1,3±0,0	1,2±0,0	0,8±0,0	0,5±0,0			
Ar-CHO	0,9±0,1	0,6±0,0	0,6±0,0	0,3±0,0	0,6±0,0	0,6±0,0	0,3±0,0	0,3±0,0	0,4±0,0			
Ac	0,8±0,0	0,6±0,1	2,4±0,3	2,5±0,1	1,6±0,1	3,7±0,1	1,0±0,1	1,4±0,1	1,5±0,1			
γ-эфирь	1,2±0,0	6,6±0,4	3,1±0,0	0,5±0,5	1,0±0,0	1,3±0,0	1,9±0,1	1,6±0,1	5,9±0,3			
BE	5,2±0,1	6,7±0,2	4,3±0,1	3,8±0,2	4,6±0,2	4,3±0,3	4,5±0,2	4,1±0,3	4,3±0,1			
GlcU	0,1±0,0	0,3±0,0	0,1±0,0	0,3±0,2	0,1±0,1	0,1±0,0	0,4±0,2	0,5±0,0	0,5±0,1			
PbGly	1,1±0,0	0,8±0,1	2,6±0,0	1,1±0,1	1,6±0,1	2,0±0,1	0,8±0,0	0,3±0,0	6,3±0,2			

Для всех препаратов ДЛ количество *трео*-изомеров  $\beta$ -ариловых эфиров S-типа вдвое больше, чем *эритро*-изомеров, что объясняется стерическими особенностями.

Количество структур резинола для ДЛ из хвойных пород, втрое меньше, чем структур фенилкумарана, тогда как для ДЛ из лиственных пород, наоборот, структур резинола втрое больше, чем структур фенилкумарана. Для ДЛ травянистых растений количество этих структур примерно одинаковое.

Наличие типов связей, характерных для лигноуглеводного комплекса отмечено у всех исследуемых препаратов ДЛ. Наибольшую долю связей «лигнин–углевод» составляют бензиловые эфиры, в которых остаток полисахарида связан с лигнином через  $\alpha$ -положение. Количество бензил-эфирных связей варьировало в диапазоне 3,8–6,7 на 100 ФПЕ. Отмечены также следовые количества сложных эфиров глюкуроновой кислоты. Наибольшее содержание фенил-гликозидных связей зафиксировано для ДЛ ежи (6,3 на 100 ФПЕ). Присутствие некоторого количества остаточных связей лигнина с углеводами характерно для препаратов ДЛ, так как условия ацидолиза считаются относительно мягкими и полной деструкции лигноуглеводного комплекса не происходит.

Соотношение S- и G-единиц сильно варьирует в лигнинах различных пород древесины, что влияет на реакционную способность лигнина. Как правило, лигнин, обладающий большим количеством S-единиц, рассматривается как более предпочтительное сырье для максимизации выхода мономеров при биоконверсии, так как высокое отношение S/G может уменьшить образование неактивных связей C-C, приводящих к нежелательной конденсации лигнина во время деполимеризации. Так, для лиственных пород S/G = 1,5–3,2, тогда как для хвойных пород и травянистых растений S/G = 0,0–0,5. Анализируя соотношение S/G единиц различных лигнинов, можно увидеть, что большинство рассмотренных лигнинов лиственных пород потенциально удобны для последующей переработки. В этом аспекте лигнины трав являются менее перспективным сырьем.

### Заключение

Предложен подход к экспрессной записи спектров ядерного магнитного резонанса  $^{31}\text{P}$  для исследования функционального состава лигнинов. Метод предусматривает фосфитилирование гидроксильных групп лигнина специальным агентом с последующим получением спектров на ядрах фосфора. Предложено увеличение массы исследуемого образца до 40 мг. При записи спектра используется одноимпульсная последовательность с длительностью импульса 12 мкс, задержка между импульсами равна 5 с, число накоплений – 128. На оптимизированных параметрах время записи одного спектра составляет 13 мин.

Составлен подробный структурный профиль для 18 препаратов диоксанлигнинов, выделенных из растений различного биологического происхождения. Отмечена структурная вариабельность лигнинов не только между разными видами растительной биомассы, но и в зависимости от семейства, к которому принадлежит растение. Профиль включает числовые значения количества функциональных групп, связей и фрагментов изученных лигнинов. Также выведено соотношение мономерных звеньев лигнинов.

Полученный массив структурной информации позволяет проанализировать перспективные способы валоризации лигнина в вопросах комплексного использования всех компонентов биомассы. Так, например, лигнины семейств Березовые и Буковые имеют в структуре наибольшее количество фрагментов  $\beta$ -арильных эфиров со свободной гидроксильной группой в  $\alpha$ -положении, что говорит о большей реакционной способности данных лигнинов. Соответственно, представители этих семейств являются приоритетным сырьем при разработке способов переработки лигнина. В то же время структура лигнинов представителей семейства Буковые оказалась наиболее устойчивой к гидролитической деструкции (кетоны Гибберта –  $\sim 1\text{--}2$  на 100 ФПЕ), что важно для лигнонаправленной концепции биопереработки. Соотношение сирингильных/гваяцильных звеньев для лигнинов лиственных пород составило от 1,5 до 3,2 ед., что свидетельствует о высоком потенциале данных лигнинов для последующей переработки. Лигнины трав привлекательны для получения фенолов. Таким образом, выбор исходного сырья для биопереработки зависит от заданных свойств конечных продуктов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Боголицын К.Г., Лунин В.В., Косяков Д.С., Карманова А.П., Скребец Т.Э., Попова Н.Р., Малков А.В., Горбова Н.С., Пряхин А.Н., Шкаев А.Н., Иванченко Н.Л. Физическая химия лигнина / под ред. К.Г. Боголицына и В.В. Лунина. М.: Академкнига, 2010. 489 с. Bogolitsyn K.G. *Physical Chemistry of Lignin*. Moscow, Akademkniga Publ., 2010. 489 p. (In Russ.)
2. Плантариум: Растения и лишайники России и сопредельных стран: открытый онлайн атлас и определитель растений, 2007–2022. Режим доступа: <http://www.plantarium.ru> (дата обращения: 03.08.22). Plantarium. *Plants and Lichens of Russia and Neighboring Countries: Open Online Galleries and Plant Identification Guide*. 2007–2022.
3. Попова Ю.А., Шестаков С.Л., Кожевников А.Ю., Косяков Д.С., Сыпалов С.А. Сравнительный анализ лигнинов различных растительных форм с применением спектроскопии  $^{31}\text{P}$ -ЯМР // Химия растит. сырья. 2019. № 4. С. 57–64. Popova Yu.A., Shestakov S.L., Kozhevnikov A.Yu., Kosyakov D.S., Sypalov S.A. Comparative Analysis of Lignins of Various Plant Forms by  $^{31}\text{P}$ -NMR. *Khimija Rastitel'nogo Syr'ja* = Chemistry of plant raw material, 2019, no. 4, pp. 57–64. (In Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.2019045119>
4. Шестаков С.Л., Косяков Д.С., Кожевников А.Ю., Ульяновский Н.В., Попова Ю.А. Совершенствование методики определения гидроксильных групп лигнина методом ЯМР-спектроскопии // Химия растит. сырья. 2017. № 2. С. 81–88. Shestakov S.L., Kosyakov D.S., Kozhevnikov A.Yu., Ulyanovskiy N.V., Popova Yu.A. The Elaboration of NMR Analysis of Different Types of Hydroxyl groups in the Lignin Samples. *Khimija Rastitel'nogo Syr'ja* = Chemistry of plant raw material, 2017, no. 2, pp. 81–88. (In Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.2017021641>
5. Argyropoulos D.S. Quantitative Phosphorus-31 NMR Analysis of Lignins, a New Tool for the Lignin Chemist. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 1994, vol. 14, iss. 1, pp. 45–63.
6. Balakshin M.Yu., Capanema E.A. On the Quantification of Lignin Hydroxyl Groups with  $^{31}\text{P}$  and  $^{13}\text{C}$  NMR Spectroscopy. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 2015, vol. 35, iss. 3, pp. 220–237. <https://doi.org/10.1080/02773813.2014.928328>

7. Balakshin M.Y., Capanema E.A., Santos R.B., Chang H.M., Jameel H. Structural Analysis of Hardwood Native Lignins by Quantitative  $^{13}\text{C}$  NMR Spectroscopy. *Holzforschung*, 2015, vol. 70, iss. 2, pp. 95–108. <https://doi.org/10.1515/hf-2014-0328>
8. Boerjan W., Ralph J., Baucher M. Lignin Biosynthesis. *Annual Review of Plant Biology*, 2003, vol. 54, iss. 1, pp. 519–546. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.54.031902.134938>
9. Chakar F.S., Ragauskas A.J. Review of Current and Future Softwood Kraft Lignin Process Chemistry. *Industrial Crops and Products*, 2004, vol. 20, iss. 2, pp. 131–141. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.04.016>
10. Duval A., Vidal D., Sarbu A., Rene W., Averous L. Scalable Single-step Synthesis of Lignin-based Liquid Polyols with Ethylene Carbonate for Polyurethane Foams. *Materials Today Chemistry*, 2022, vol. 24, art. no. 100793. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2022.100793>
11. El Mansouri N.E., Salvado J. Analytical Methods for Determining Functional Groups in Various Technical Lignins. *Industrial Crops and Products*, 2007, vol. 26, iss. 2, pp. 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2007.02.006>
12. FAOSTAT Database: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2016–2022. Available at: <https://www.fao.org/faostat/en/#data/FO> (accessed 03.08.22).
13. Fițișău I.F., Peter F., Boeriu C.G. Structural Analysis of Lignins from Different Sources. *International Journal of Chemical, Materials and Biomolecular Sciences*, 2013, vol. 6, iss. 4, pp. 167–172. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1331679>
14. Freudenberg K., Neish A.C. *Constitution and Biosynthesis of Lignin*. New York, Springer Verlag, 1968. 129 p.
15. Gabov K., Gosseling R.J., Smeds A.I., Fardim P. Characterization of Lignin Extracted from Birch Wood by a Modified Hydrotropic Process. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, vol. 62, iss. 44, pp. 10759–10767. <https://doi.org/10.1021/jf5037728>
16. Granata A., Argyropoulos D.S. 2-Chloro-4,4,5,5-tetramethyl-1,3,2-dioxaphospholane, a Reagent for the Accurate Determination of the Uncondensed and Condensed Phenolic Moieties in Lignins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1995, vol. 43, iss. 6, pp. 1538–1544. <https://doi.org/10.1021/jf00054a023>
17. Heitner C., Dimmel D.R., Schmidt J.A. *Lignin and Lignans: Advances in Chemistry*. Florida, CRC Press, 2010. 683 p.
18. Jiang B., Zhang Yu, Guo T., Zhao H., Jin Y. Structural Characterization of Lignin and Lignin-carbohydrate Complex (LCC) from Ginkgo Shells (*Ginkgo biloba* L.) by Comprehensive NMR Spectroscopy. *Polymers*, 2018, vol. 10, iss. 7, pp. 736. <https://doi.org/10.3390/polym10070736>
19. Meng X., Crestini C., Ben H., Hao N., Pu Y., Ragauskas A.J., Argyropoulos D.S. Determination of Hydroxyl Groups in Biorefinery Resources via Quantitative  $^{31}\text{P}$  NMR Spectroscopy. *Nature Protocols*, 2019, vol. 14, iss. 9, pp. 2627–2647. <https://doi.org/10.1038/s41596-019-0191-1>
20. Paulsen Thoresen P., Lange H., Crestini C., Rova U., Matsakas L., Christakopoulos P. Characterization of Organosolv Birch Lignins: Toward Application-Specific Lignin Production. *ACS Omega*, 2021, vol. 6, iss. 6, pp. 4374–4385. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c05719>
21. Pepper J.M., Baylis P.E.T., Adler E. The Isolation and Properties of Lignins Obtained by the Acidolysis of Spruce and Aspen Woods in Dioxane-water Medium. *Canadian Journal of Chemistry*, 1959, vol. 37, iss. 8, pp. 1241–1248. <https://doi.org/10.1139/v59-183>
22. Popova Y.A., Shestakov S.L., Belesov A.V., Pikovskoi I.I., Kozhevnikov A.Y. Comprehensive Analysis of the Chemical Structure of Lignin from Raspberry Stalks (*Rubus idaeus* L.). *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, vol. 164, pp. 3814–3822. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.08.240>

23. Pu Y., Cao S., Ragauskas A.J. Application of Quantitative  $^{31}\text{P}$  NMR in Biomass Lignin and Biofuel Precursors Characterization. *Energy & Environmental Science*, 2011, vol. 4, iss. 9, pp. 3154–3166. <https://doi.org/10.1039/C1EE01201K>
24. Ralph J., Lundquist K., Brunow G., Lu F., Kim H., Schatz P.F., Boerjan W. Lignins: Natural Polymers from Oxidative Coupling of 4-hydroxyphenyl-propanoids. *Phytochemistry Reviews*, 2004, vol. 3, iss. 1, pp. 29–60. <https://doi.org/10.1023/B:PHYT.0000047809.65444.a4>
25. Vanholme R., Demedts B., Morreel K., Ralph J., Boerjan W. Lignin Biosynthesis and Structure. *Plant physiology*, 2010, vol. 153, iss. 3, pp. 895–905. <https://doi.org/10.1104/pp.110.155119>
26. Weng J.K., Chapple C. The Origin and Evolution of Lignin Biosynthesis. *New Phytologist*, 2010, vol. 187, iss. 2, pp. 273–285. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03327.x>
27. Wyman C. *Handbook on Bioethanol: Production and Utilization*. Washington, Routledge, 1996. 444 p.
28. Xu G., Shi Z., Zhao Y., Deng J., Dong M., Liu C., Murugadoss V., Mai X., Guo Z. Structural Characterization of Lignin and its Carbohydrate Complexes Isolated from Bamboo (*Dendrocalamus sinicus*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, vol. 126, pp. 376–384. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.234>
29. Yuan T.Q., Xu F., Sun R.C. Role of Lignin in a Biorefinery: Separation Characterization and Valorization. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 2013, vol. 88, iss. 3, pp. 346–352. <https://doi.org/10.1002/jctb.3996>

**Конфликт интересов:** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов  
**Conflict of interest:** The authors declare that there is no conflict of interest