

УДК 577.15 : 674.8

ВОЗДЕЙСТВИЕ ГРИБА РОДА *TRICHODERMA* НА ЛИГНИН КОРЫ ДРЕВЕСНЫХ ПОРОД

© 2014 г. **Т.В. Рязанова,**
Н.А. Чупрова, Т.А. Лунева

Сибирский государственный технологический университет,
г. Красноярск

Введение

Утилизация отходов древесины базируется в основном на применении химических и термических способов переработки. Альтернативным вариантом как с экономической, так и экологической точки зрения является их биотехнологическая переработка [1–3].

Немаловажной задачей на сегодняшний день является разработка биологических методов по ограничению развития организмов, наносящих значительный ущерб в сельском и лесном хозяйствах. По распространенности заболеваний возделываемых культур в Средней Сибири и причиняемому ущербу первое место принадлежит грибным заболеваниям, инфекционное начало которых сохраняется в почве и на растительных остатках. Доминирующее положение в успешном регулировании численности популяций фитопатогенов и получении противогрибных препаратов занимают виды *Trichoderma* sp., обладающие высокой антагонистической и гиперпаразитической активностью [4, 5]. На основе различных штаммов этих грибов в нашей стране и за рубежом созданы биопрепараты – триходермины, применяемые для борьбы с широким спектром фитопатогенов растений.

Проблема ресурсов доступного и дешевого сырья для промышленной биотехнологии остается весьма актуальной, поэтому перспективным является использование различных отходов лигноцеллюлозной природы в качестве субстрата при получении биопрепарата на основе гриба рода *Trichoderma* [6, 7].

Немаловажная особенность гриба разлагатьряду с целлюлозой лигниновые вещества ставит его в ряд агентов, способных трансформировать растительное

сырье древесного происхождения. Эту способность можно использовать для создания технологии переработки древесных отходов и получения биопрепаратов защитного действия [8]. Чтобы управлять данным процессом, необходимо выявить механизмы воздействия микромицетов на растительный комплекс, определить возможности интенсификации процесса и оценить влияние свойств субстрата и технологических параметров на качество продуктов.

Способность к глубокому разложению и усвоению лигнина ярко выражена у базидиомицетов [8–12], есть сведения об участии в трансформации лигнина и микромицетов, например *Aspergillus*, *Penicillium* [13]. Авторами [14] показано, что штаммы *Trichoderma* способны не только разлагать целлюлозу, но, возможно, и трансформировать лигнин, так как окисляют галловую кислоту в реакции Бавендамма. Согласно [15] в обесцвечивании RBBR участвуют в первую очередь пероксидазы. У грибов они являются индуцируемыми ферментами. При изучении пероксидазообразующей активности у микромицетов в искусственных условиях в качестве общих закономерностей исследователи отмечают возможность индукции фермента специфическими субстратами пероксидазного окисления (танин, галловая кислота, отвар коры дуба и др.) [16].

Способность штаммов *Trichoderma* проявлять лигнолитическую активность изучалась в работах Маховой Е.Г. [7] и Садыковой В.С. [17]. Об эффективности воздействия ферментативного комплекса штаммов рода *Trichoderma* на лигноуглеводные субстраты (кора и одубина лиственницы сибирской, гидролизный лигнин и кора пихты) судили по изменению содержания полисахаридов и лигнина, а также по накоплению гуминовых веществ. Было показано, что процесс деградации лигноуглеводного комплекса у всех штаммов сопровождается образованием гуминовых веществ.

Рязанова Т.В. – д-р техн. наук, проф. Тел.: (983) 159-97-11.
E-mail: tatyana-htd09@mail.ru

Чупрова Н.А. – канд. техн. наук, доцент. Тел.: (950) 407-16-74.

Лунева Т.А. – канд. техн. наук, доцент. Тел.: (923) 311-56-55.
E-mail: LunyovaT.A.sibgtu@yandex.ru

При культивировании штамма *T. asperellum* «МГ-6» на гидролизном лигнине снижение содержания лигниновых веществ было более значительно по сравнению с другими штаммами, что может быть обусловлено его более высокой фенолоксидазной активностью [7, 17]. Однако утверждать это нельзя, поскольку в составе гидролизного лигнина на долю полисахаридов приходится около 27 %, и снижение содержания лигнина в процессе биодеструкции гидролизного лигнина может быть связано также с деструкцией лигноуглеводного комплекса субстрата под действием целлюлолитических ферментов и переходом низкомолекулярных фрагментов лигнина в растворимое состояние.

В большинстве работ по изучению механизма биодегradации лигнина используют низкомолекулярные модельные субстраты, которые способны проникать внутрь клетки и метаболизироваться в цитоплазме, тогда как дегradация лигнина *in situ* протекает внеклеточно.

Получение препаратов лигнина для его изучения — трудоемкий процесс. К настоящему времени нет способа, позволяющего выделить лигнин количественно и без значительных изменений его состава по сравнению с природным. Наиболее удобными препаратами, вследствие простоты их получения, являются лигнины, полученные экстракцией диоксаном в токе азота по методу Пеппера.

Если целлюлолитические ферменты грибов рода *Trichoderma* исследованы довольно широко, то наличие и активность окислительных ферментов с точки зрения освоения ими растительных субстратов в условиях твердофазного культивирования у представителей грибов этого рода изучены крайне слабо. Известно, что под действием базидиомицетов на лигнины древесных субстратов протекают как деструктивные, так и конденсационные окислительные процессы [18, 19].

Отсутствие данных по поведению лигнина под действием микроскопических грибов способствовало возникновению интереса к изучению воздействия микромицетов, в частности гриба рода *Trichoderma* sp., на диоксанлигнин, наиболее близкий к нативному препарат лигнина, и явилось одной из задач исследования.

Целью настоящей работы было установить, какое действие оказывают микромицеты на лигниновую составляющую коры древесных пород на примере гриба рода *Trichoderma*.

Экспериментальная часть

В качестве биологического объекта выбрали штамм «МГ-97/6» *Trichoderma asperellum* Samuels ВКПМ F-765,

выделенный в 2000 г. Садыковой В.С. и другими под руководством профессора Лихачева А.Н. путем изолирования моноспоровых культур из штамма «МГ-97» [20], выделенного профессором Громовых Т.И. из почвы Маганского лесопитомника в 1997 г. Оптимальная температура развития штамма 20–25 °С. Данный штамм способен активно синтезировать на коре лиственницы, в меньшей степени на лиственничной одубине, лакказу и пероксидазу [7].

Культивирование гриба проводили в чашках Петри (диаметр 9 см). В качестве дополнительных источников минерального питания использовали минеральную часть стандартной среды Чапека (азотнокислый натрий вносили в размере 3 % от а.с.в. растительного сырья). Для засева использовали 72-часовой инокулят, выращенный на сусло-агаровых косяках.

В качестве субстрата использовали кору лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.), луб коры березы повислой (*Betula pendula* Roth.), диоксанлигнины, выделенные из коры лиственницы сибирской и луба коры березы повислой.

В качестве объекта исследования использовали диоксанлигнины, выделенные из исходных и биообработанных субстратов.

Препараты лигнина выделяли по методу Пеппера [21] путем обработки лиственничной коры и луба березовой коры (исходных, а также подвергнутых воздействию гриба *T. asperellum* штамм «МГ-97/6» (биообработанных) в течение 10 сут) смесью диоксан — вода (9 : 1) в присутствии HCl (0,7 %).

Субстраты увлажняли до 80 %, pH 6,5, помещали в чашки Петри (4 г абсолютно сухой массы) и стерилизовали в автоклаве ВК-75 при 1,03·10⁶ Па в течение 30 мин.

Субстрат засевали мицелиальной суспензией гриба в количестве 1·10⁶ спор на 1 г по абсолютно сухой массе субстрата. Гриб культивировали в стационарных условиях в термостате в течение 10 сут при температуре 25–27 °С.

После культивирования численность микроорганизмов в субстратах определяли по стандартной методике с использованием камеры Горяева.

Химический состав лиственничной коры и луба березовой коры, исходных и биообработанных, определяли по методикам, принятым в химии растительного сырья [22].

Содержание метоксильных групп (–ОСН₃) диоксанлигнинов определяли по методу Цейзеля с применением ГЖХ на приборе ЛХМ-80, колонка (3 м) из нержавеющей стали заполнена апиезоном L (15 %) на

хроматоне, температура термостата колонки 110 °С, температура испарителя 150 °С. Для определения общего содержания гидроксильных групп ($-\text{OH}_{\text{общ}}$) использовали метод ацетилирования. Ацетилированию подвергаются как алифатические, так и фенольные гидроксильные группы. Раздельное содержание алифатических гидроксильных ($-\text{OH}_{\text{ал}}$) и карбоксильных групп ($-\text{COOH}$) определяли с помощью метода Энkvиста [23].

Элементный состав диоксанлигнинов определяли с помощью анализатора CHN 628.

Спектрофотометрическое исследование диоксанлигнинов проводили в водно-диоксановом растворе на спектрофотометре СФ-26 при изменении длины волны от 260 до 380 нм с интервалом 5 нм.

ИК-спектры снимали на спектрофотометре марки «ИНФРОЛЮМ ФТ-02» в диапазоне частот 4000–400 см^{-1} . Навески образцов диоксанлигнинов запрессовывали в таблетки с KBr.

Результаты и их обсуждение

Сравнительный анализ показателей количественного содержания лигнина лиственничной коры и луба березовой коры, исходных и биообработанных, позволил установить, что воздействие гриба рода *Trichoderma* штамма «МГ-97/6» в течение 10 сут приводит к снижению содержания в коре лиственницы и лубе березы лигниновых веществ при заметном возрастании количества фракций лигнина, растворимых в диоксане. Так, выход диоксанлигнина биообработанной лиственнич-

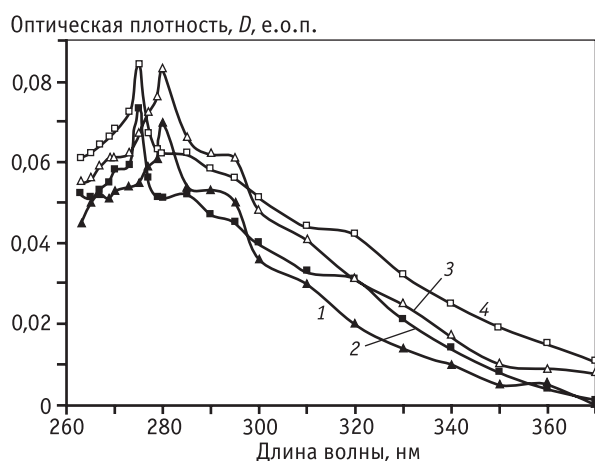


Рис. 1. УФ-спектры поглощения диоксанлигнинов исходных и биообработанных субстратов

1 – кора лиственницы; 2 – луб березы; 3 – биодеструктурированная кора лиственницы; 4 – биодеструктурированный луб березы

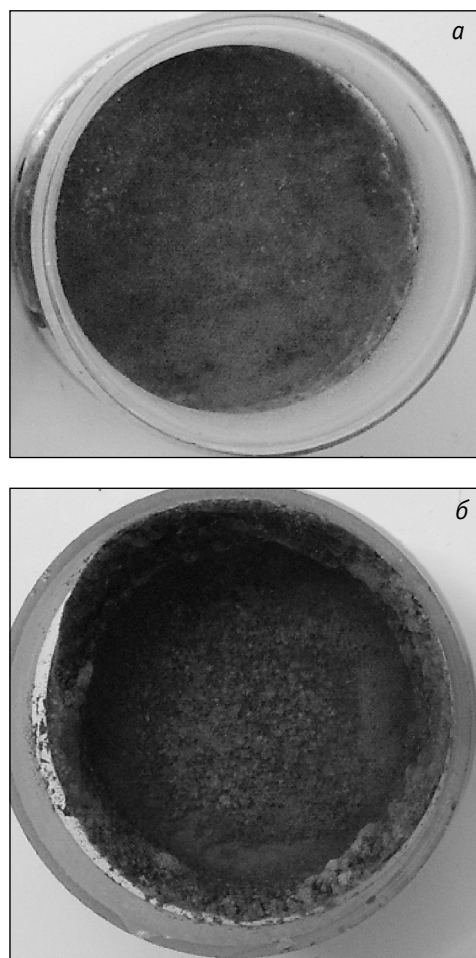


Рис. 2. Твердофазная ферментация штамма «МГ-97/6» *Trichoderma asperellum* на диоксанлигнине, выделенном из коры лиственницы (а) и из луба березы (б)

ной коры по сравнению с выходом до биоконверсии увеличивается в 1,7 раза, луба березы – в 1,4 раза. Увеличение выхода препаратов диоксанлигнинов хорошо коррелирует с результатами, вытекающими из УФ-спектров поглощения диоксанлигнинов исходных и биообработанных субстратов (рис. 1).

Диоксанлигнин коры лиственницы имеет максимум поглощения при 280 нм, луба березы – при 275 нм, что характерно для фенилпропановых структурных единиц лигнина [22].

Увеличение интенсивности поглощения водно-диоксановых растворов биообработанных субстратов препаратов лигнинов в области 275–280 нм указывает на дополнительное появление в диоксанлигнинах низкомолекулярных ароматических соединений.

Процесс биоконверсии препаратов диоксанлигнинов сопровождается образованием конидий (рис. 2).

На 10-е сутки культивирования гриба на диок-

санлигнинах коры лиственницы и луба березы выход конидий составляет $3,21 \cdot 10^9$ и $4,59 \cdot 10^9$ спор/г а.с.с. соответственно, убыль массы биообработанных диоксанлигнинов составляет около 3 %.

Выделенные диоксанлигнины из биообработанных субстратов и биодеструктированные препараты диоксанлигнинов коры лиственницы и луба березы имеют более темную окраску, чем диоксанлигнины исходных субстратов, что является косвенным подтверждением протекания процессов окисления под действием ферментов гриба.

Результаты определения элементного состава диоксанлигнинов (табл. 1) свидетельствуют о том, что исследуемые образцы характеризуются невысоким содержанием атомов кислорода, что указывает на невысокое содержание кислородсодержащих функциональных групп.

Следует отметить высокое содержание углерода (67,83–73,78 % а.с.с.). Соотношение $C : H > 9$ подтверждает ароматическую природу полученных препаратов.

Ферментативное воздействие гриба *T. asperellum* штамм «МГ–97/6» на кору лиственницы и луб березы приводит к увеличению массовой доли кислорода и водорода в диоксанлигнинах при заметном снижении углерода.

Степень деградации лигнина под действием ферментной системы гриба *T. asperellum* штамм «МГ–97/6» характеризуется изменением содержания функциональных групп (см. табл. 1). Процентное содержание метоксильных групп в диоксанлигнинах показало, что под действием микромицета их количество снижается в среднем в 1,4–1,8 раза для диоксанлигнинов коры и

луба березы при увеличении общих гидроксильных групп в 1,3 и 1,4 раза соответственно. По содержанию функциональных групп диоксанлигнин, выделенный из коры лиственницы, отличается от диоксанлигнина луба березы не только меньшим содержанием метоксильных групп, что указывает на принадлежность к хвойным породам, но и большим содержанием карбоксильных, гидроксильных групп, то есть диоксанлигнин коры лиственницы является более окисленным.

На основании полученных данных об элементном и функциональном составе диоксанлигнинов нами вычислена средняя брутто-формула и развернутая эмпирическая формула их мономерного фенилпропаноидного звена (табл. 2).

ИК-спектры исследуемых препаратов диоксанлигнинов (рис. 3, 4) содержат типичный для лигнинов ряд характерных полос поглощения (п. п.) [22] в области: 3200–3600, 2940, 2870, 2860, 1600–1605, 1505–1515, 1370, 1330, 1270–1275, 1125–1135, 1220, 1143, 1075, 1034 см^{-1} . Наиболее интенсивной полосой в спектре всех препаратов диоксанлигнинов является полоса в области 1170 см^{-1} .

Различия в интенсивности полос ИК-спектров при п. п. 1510 и 1600 см^{-1} позволяют дифференцировать полученные диоксанлигнины. Так, интенсивность при п. п. 1510 см^{-1} у диоксанлигнина, выделенного из коры лиственницы (см. рис. 3, а), значительно выше, чем у диоксанлигнина луба березы (см. рис. 4, а), что указывает на принадлежность субстрата к хвойным породам.

В спектре диоксанлигнина луба березы кроме п. п. в области 1220–1170 см^{-1} , отвечающей за колебания гвая-

Таблица 1

Элементный состав и функциональные группы диоксанлигнинов

Объект исследования	Содержание, % а.с.в.							
	C, %	O, %	H, %	–OCH ₃	–OH _{общ}	–OH _{фен}	–OH _{ал}	–COOH
Диоксанлигнин исходного луба березы	73,78	17,94	8,28	8,02	11,77	2,27	8,33	1,46
Диоксанлигнин биообработанного луба березы	72,16	19,82	8,02	4,65	16,21	4,64	11,57	1,68
Подвергнутый биоконверсии диоксанлигнин исходного луба березы	71,62	18,44	9,97	5,58	13,16	4,05	9,71	1,48
Диоксанлигнин исходной коры лиственницы	67,83	24,67	7,50	6,26	10,51	3,44	8,24	2,04
Диоксанлигнин биообработанной коры лиственницы	66,07	26,26	7,20	3,55	13,13	3,60	9,53	2,82
Подвергнутый биоконверсии диоксанлигнин исходной коры лиственницы	65,47	27,04	7,45	3,76	12,47	3,43	9,07	2,32

Таблица 2

Эмпирические формулы диоксанлигнинов

Объект исследования	C ₉ -формула
Диоксанлигнин исходного луба березы	C ₉ H _{7,62} O _{0,18} (OCH ₃) _{0,40} (OH _ф) _{0,20} (OH _а) _{0,74} (COOH) _{0,05}
Диоксанлигнин биообработанного луба березы	C ₉ H _{8,48} O _{0,09} (OCH ₃) _{0,23} (OH _ф) _{0,42} (OH _а) _{1,04} (COOH) _{0,06}
Подвергнутый биоконверсии диоксанлигнин исходного луба березы	C ₉ H _{11,34} O _{0,16} (OCH ₃) _{0,28} (OH _ф) _{0,37} (OH _а) _{0,88} (COOH) _{0,05}
Диоксанлигнин исходной коры лиственницы	C ₉ H _{7,97} O _{1,04} (OCH ₃) _{0,33} (OH _ф) _{0,22} (OH _а) _{0,79} (COOH) _{0,07}
Диоксанлигнин биообработанной коры лиственницы	C ₉ H _{8,70} O _{1,04} (OCH ₃) _{0,19} (OH _ф) _{0,27} (OH _а) _{0,92} (COOH) _{0,10}
Подвергнутый биоконверсии диоксанлигнин исходной коры лиственницы	C ₉ H _{9,16} O _{1,18} (OCH ₃) _{0,20} (OH _ф) _{0,34} (OH _а) _{0,89} (COOH) _{0,12}

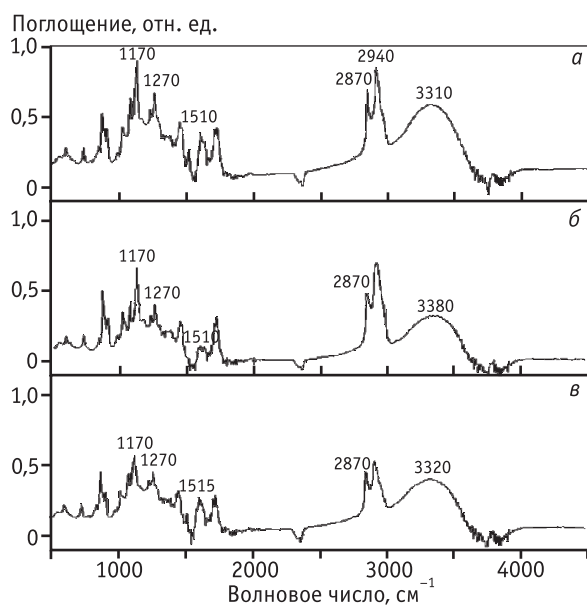


Рис. 3. ИК-спектры поглощения диоксанлигнинов коры лиственницы до (а) и после биоконверсии (б), биодеструктированного препарата диоксанлигнина коры лиственницы (в)

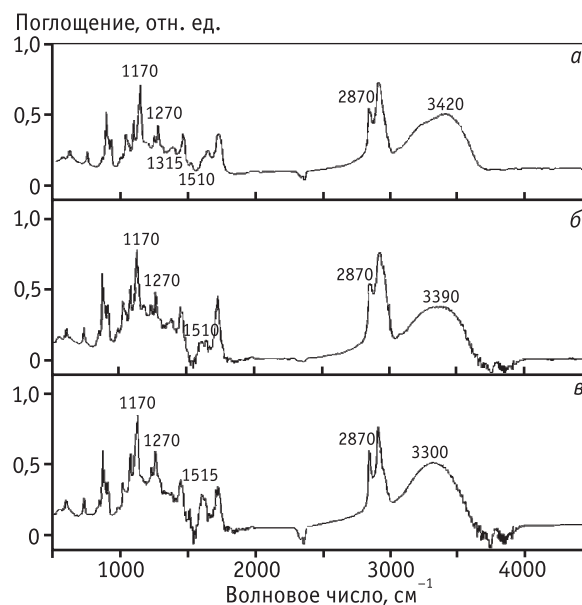


Рис. 4. ИК-спектры поглощения диоксанлигнинов луба березы до (а) и после (б) биоконверсии, биодеструктированного препарата диоксанлигнина луба березы (в)

цильного кольца, наблюдается п. п. при 1315–1312 см⁻¹ [24], указывающая на наличие скелетных колебаний сингильного кольца.

Данные ИК-спектроскопии можно использовать для характеристики функционального состава препаратов диоксанлигнинов. Значения п. п. 1330, 1075 см⁻¹ в ИК-спектрах исследуемых диоксанлигнинов соответствуют деформационным колебаниям алифатических гидроксидов, п. п. в области 3200–3600 и при 1370, 1220 см⁻¹ относятся к колебаниям фенольных гидроксидов. Поглощению карбоксильными группами

соответствуют пики при 2940, 2860 см⁻¹, при этом у диоксанлигнина из коры лиственницы (см. рис. 3, а) интенсивность поглощения выше по сравнению с диоксанлигнином луба березы (см. рис. 4, а), что согласуется с результатами химического анализа (см. табл. 2): содержание COOH-групп в диоксанлигнине из лиственничной коры выше, чем в препарате из луба березы.

О наличии простых эфирных связей в исследуемых диоксанлигнинах можно судить по интенсивности поглощения п. п. 1270 см⁻¹; сложным эфирным связям соответствует п. п. 2870 см⁻¹. Пики в ИК-спектрах ди-

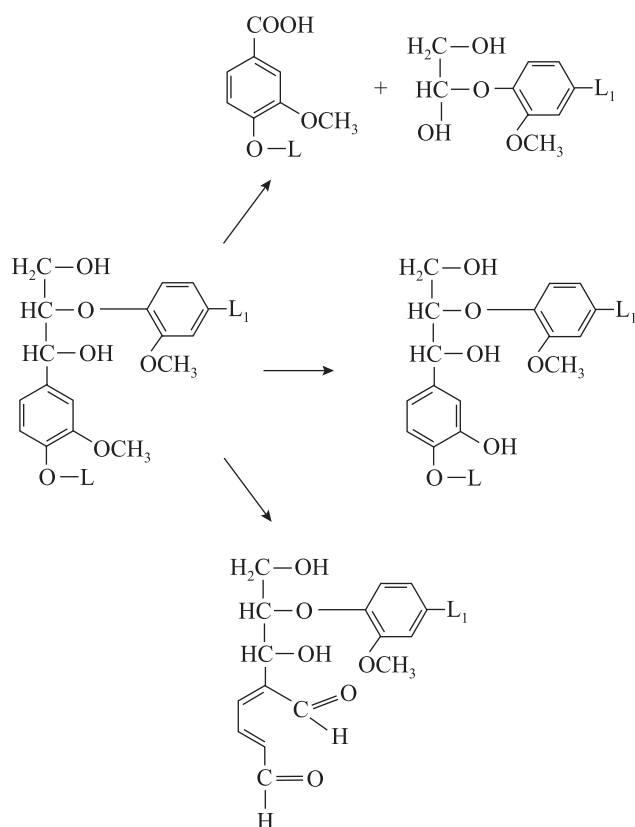


Рис. 5. Схема деструкции лигнина древесных субстратов под действием штамма «МГ-97/6» *T. asperellum*

оксанлигнинов при 1143 и 1034 см^{-1} можно отнести к плоскостным деформационным колебаниям С–Н связи ароматического кольца.

Самым распространенным типом связей в лигнинах хвойных и лиственных пород, как и в модельных дегидрополимерах, является β –O–4 связь, составляющая около 50 % всех связей между мономерами [25].

Структурные единицы со свободными фенольными гидроксильными группами проявляют высокую реакционную способность, например склонны образовывать промежуточные хинонметиды, играющие важную роль при фрагментации лигнина [25, 26].

На основании анализа литературы [9, 16, 19, 27], химического анализа, ГЖ-хроматографии, ИК-, УФ-спектров, можно предполагать, что схема деструкции лигнина древесных субстратов под действием штамма «МГ-97/6» *T. asperellum* аналогична схемам деструкции лигнинов под действием базидиомицетов (рис. 5).

Воздействие гриба рода *T. asperellum* «МГ-97/6» на древесные субстраты сопровождается потерей метоксильных групп с одновременным образованием фенольных гидроксильных групп; это, предположи-

тельно, является начальной стадией ферментативного окисления. Одновременно с этим, возможно, происходит разрыв связи C_α – C_β под действием гриба и окисление первичного гидроксила до карбоксильной группы, о чем свидетельствует увеличение числа карбоксильных групп в исследуемых диоксанлигнинах.

Деструкция субстратов хвойных и лиственных пород под действием ферментативной системы микромицета наряду с деструкцией связи C_α – C_β приводит, вероятно, и к разрыву ароматического кольца в структурах лигнина, что подтверждается снижением степени ароматичности диоксанлигнинов при воздействии гриба и повышенным содержанием кислорода, рассчитанным на фенилпропановую единицу лигнина.

Выводы

Показано, что процесс конверсии лигнина коры березы и лиственницы микромицетами сопровождается:

- деметоксилированием с последующим гидроксилированием макромолекулы лигнина, о чем свидетельствует снижение содержания метоксильных групп в 1,4–1,8 раза и увеличение числа общих гидроксильных групп в 1,2–1,4 раза;
- разрывом связи C_α – C_β и окислением первичного гидроксила до карбоксильной группы;
- разрывом ароматического кольца в структурах лигнина.

По данным химического и физико-химического анализа вычислена средняя брутто-формула и развернутая эмпирическая формула мономерного фенилпропаноидного звена диоксанлигнинов до и после биодеструкции.

На основании полученных результатов предложена схема окислительной деструкции лигнина под действием гриба *T. asperellum* штамм «МГ-97/6».

Результаты исследования микробного разложения лигнина дают основание рекомендовать лигнинсодержащие отходы для создания биопрепаратов типа «Триходермин» или для разрушения и отбеливания древесных волокон с целью их дальнейшего промышленного применения (например, в производстве бумаги и биоэтанола).

Литература

1. Синицын А.П., Гусаков А.В., Черноглазов В.М. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов. М.: МГУ, 1995. 224 с.
2. Медведева С.А., Тимофеева С.С., Волчатова И.В. // Химия растительного сырья. 2013. № 4. С. 5–12.
3. Sadykova V.S., Likhachev A.N., Gromovykh T.I., Kurakov A.V. //

- International symposium «Best practice in disease, pest and weed management», 10–12 May, Berlin. 2007. P. 42–44.
4. Громовых Т.И., Литовка Ю.А., Андреева О.Н. Биологический контроль болезней сеянцев хвойных в лесных питомниках Средней Сибири: монография. Красноярск: СибГТУ, 2005. 264 с.
 5. Yobo, K.S., Laing M.D., Hunter C.H. // African J. Biotechnol. 2011. Vol. 10(44). P. 8746–8756.
 6. Лунева Т.А., Ким Н.Ю., Рязанова Т.В., Чупрова Н.А. // Известия высших учебных заведений. Серия: Химия и химическая технология. 2006. Т. 49. № 6. С. 88–91.
 7. Махова Е.Г., Рязанова Т.В., Чупрова Н.А. // Химия растительного сырья. 2001. № 4. С. 69–72.
 8. Рабинович М.Л., Болобова А.В., Кондращенко В.И. Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Кн. 1. Древесина и разрушающие ее грибы. М.: Наука, 2001. 264 с.
 9. Medvedeva S.A., Kanitskaya L.V., Volchatova I.V., Turchaninov V.K. // Chemistry of Natural Compounds. 2000. Vol. 36. № 4. P. 411–415.
 10. Volchatova I.V., Belovezhets L.A., Medvedeva S.A. // Microbiology. 2002. Vol. 71. № 4. P. 467–470.
 11. Novikova L.N., Medvedeva S.A., Volchatova I.V., Bogatyreva S.A. // Applied Biochemistry and Microbiology. 2002. Vol. 38. № 2. P. 181–185.
 12. Aleksandrova G.P., Petrov A.N., Medvedeva S.A., Babkin V.A. // Applied Biochemistry and Microbiology. 1998. Vol. 34. № 3. P. 245–250.
 13. Бабицкая В.Г. // Прикладная биохимия и микробиология. 1994. Т. 30. Вып. 6. С. 827–835.
 14. Беловежец Л.А., Волчатова И.В., Медведева С.А., Петров А.Н. // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии: мат. междунар. науч. конф., Минск – Раков. 2006. С. 66–68.
 15. Vyas B.R., Molitoris H.P. // Applied and Environmental Microbiology. 1995. Vol. 61. № 11. P. 3919–3927.
 16. Решетникова И.А. Деструкция лигнина ксилотрофными макромицетами. М.: Мир, 1997. 197 с.
 17. Громовых В.С. (Садыкова В.С.), Строй Л.А. // Биотехнология – сельскому хозяйству: сб. мат. Всерос. конф., С-Пб. 2001. С. 54–57.
 18. Шуберт В.Д. Биохимия лигнина. М.: Лесная промышленность, 1968. 136 с.
 19. Gubernatorova T.N., Dolgonosov B.M. // Water Resources. 2010. Vol. 37. № 3. P. 332–346.
 20. Пат. 2171580 РФ. Штамм гриба *Trichoderma* sp. МГ-97, используемый для защиты сеянцев хвойных от фузариозов / Громовых Т.И., Шмарловская С.В., Тюльпанова В.А., Громовых В.С. (Садыкова В.С.). 10.08.2001 г.
 21. Бамбалов Н.Н. // Химия почв. 2001. № 5. С. 549–556.
 22. Рязанова Т.В., Чупрова Н.А., Исаева Е.В. Химия древесины. Красноярск: СибГТУ, 2012. 358 с.
 23. Закис Г.Ф. Функциональный анализ лигнинов и их производных. Рига: Зинатне, 1987. 230 с.
 24. Методы исследования древесины и ее производных / Под ред. Н.Г. Базарновой. Барнаул: изд-во Алт. ун-та, 2002. 160 с.
 25. Dolgonosov B.M., Gubernatorova T.N. // Water Resources. 2010. Vol. 37. № 3. P. 320–331.
 26. Гоготов А.Ф. // Химия растительного сырья. 1999. № 1. С. 39–52.
 27. Беловежец Л.А., Волчатова И.В., Медведева С.А. // Химия в интересах устойчивого развития. 2010. № 1. С. 25–31.