

ISSN 0023-1118

ХИМИЧЕСКИЕ ВОЛОКНА

Полимеры • Волокна • Текстиль • Композиты

KHIMICHESKIE VOLOKNA

POLYMERS • FIBRES • TEXTILES • COMPOSITS

www.khimvol.su

3

2022

УДК 628.3364:577.15

ВЛИЯНИЕ ФЕРМЕНТА ЛИПАЗЫ НА ДЕЛИГНИФИКАЦИЮ СУЛЬФАТНОЙ ДРЕВЕСНОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ

*В.А. Липин, И.А. Федоскин, О.Ю. Деркачева,
Е.Ю. Демьянцева, М.Н. Тараченкова*

*Санкт-Петербургский государственный университет промышленных технологий и дизайна,
Высшая школа технологии и энергетики*

Изучено влияние дозировки фермента в последовательности делигнификации древесной сульфатной небеленой целлюлозы «обработка ферментом липаза Lixex 200L – отбелка пероксидом водорода». Использование малого количества фермента позволяет снизить число Каппа на 4-5 ед. При увеличении дозировки фермента наблюдается отрицательный эффект, выражающийся в повышении числа Каппа до исходных значений. По данным ИК-спектроскопии, воздействие фермента независимо от его процентного содержания приводит к увеличению адсорбируемой на волокнах воды в 1.2-1.7 раза для лиственной и хвойной целлюлозы.

Отбелка в цикле переработки целлюлозосодержащего сырья предполагает использование большого количества химикатов и, соответственно, связана с большим количеством сбросов и выбросов в окружающую среду. Продукты от использования этих химикатов представляют собой, в том числе, хлорированные органические вещества. Некоторые из них являются токсичными, мутагенными, стойкими и биоаккумулирующимися и вызывают многочисленные нарушения в биологических системах [1-3]. Кроме того, использование хлорсодержащих реагентов приводит к загрязнению получаемой целлюлозы хлором, что существенно снижает ее потребительские свойства как сырья для изготовления нетканых одноразовых материалов, контактирующих с кожей человека или пищевыми продуктами [4, 5].

Для предприятий, рассматривающих переход на отбелку с пониженным использованием хлорсодержащих реагентов, существуют варианты с делигнификацией кислородом, пероксидом водорода и озоном в качестве альтернативы. Большинство из этих вариантов, в том числе реализация бесхлорной технологии TCF, требует модификации процесса и достаточно больших капиталовложений. Установлено, что ферментная обработка позволяет снизить, при равной конечной белизне, потребление хлорсодержащих агентов примерно на 30% или пероксида водорода на 50%, число Каппа, содержание хлорсодержащих соединений в стоках и продукционной целлюлозе [1, 2, 6].

Все это явилось основанием для использования ферментов как простого и экономичного

способа сократить расход хлорсодержащих соединений и других отбеливающих химикатов. Процесс ферментной обработки легко комбинируется со многими последовательными стадиями отбелки целлюлозы.

Преимущества, получаемые при использовании ферментов, зависят как от последовательности стадий химической отбелки, так и от содержания остаточного лигнина в целлюлозе. Наиболее часто ферменты используются для предварительной делигнификации, в том числе ферменты могут быть применены перед пероксидной стадией [7]. H_2O_2 используется в качестве сооксиданта. Сохраняя прочностные характеристики обработанной целлюлозы, можно делигнифицировать сульфатную и сульфитную целлюлозу из древесины мягких и твердых пород, а также целлюлозу из однолетних растений [8, 9].

В настоящее время промышленное применение в отбелке сульфатной целлюлозы и ее делигнификации имеют только гемицеллюлазы (ксилаказы). Промышленно перспективные лигнинолитические ферменты (лакказы) проходят пилотные испытания. Ксиланазы гидролизуют некоторые осажденные ксиланы на волокнах, увеличивая их проницаемость и обеспечивая более легкое и плавное проникание отбеливающих веществ к лигнину. Использование грибных лакказ в присутствии окислительно-восстановительных медиаторов, так называемой системы лакказ-медиатор, предполагает возможность отбеливать целлюлозу в различных последовательностях отбелики из-за способности лакказ разлагать лигнин, в отличие от ксиланаз, которые удаляют лигнин только косвенным путем. Наиболее эффективны-

E-mail: vadim.lipin@mail.ru

Таблица 1. Характеристика исходной небеленой целлюлозы

Образец целлюлозы	Число Каппа, ед.	Влагосодержание, %	Содержание, %	
			целлюлозы, %	лигнина*
Лиственная	48.0	7.4	92	6.7
Хвойная	27.5	8	94	2.8

*Содержание лигнина определялось по ИК-спектрам поглощения.

ми медиаторами для делигнификации пульпы являются вещества, содержащие группу >N-OH, например, 1-гидроксibenзотриазол. Однако процесс отбелики с использованием лакказ еще не полностью разработан из-за наличия эффективных и стабильных в промышленных условиях вариаций фермента, высокой стоимости и потенциальной токсичности медиаторов, а также длительного времени реакции. Другие типы ферментов, в том числе целлюлазы, липазы, маннаназы и пероксидазы марганца, также были протестированы в качестве средств для отбелики целлюлозы, однако в силу разных причин, в том числе недостаточной изученности, нестабильности при использовании в различных условиях и высокой стоимости, не применяются до настоящего времени [2].

Новые биотехнологические исследования направлены на поиск альтернатив используемым в настоящее время препаратам с целью повышения эффективности и стабильности получаемых с помощью ферментов результатов. Такой альтернативой могут быть микробные липазы, получаемые, например, из мицелиальных грибных культур.

В настоящее время липазы широко применяются при производстве биотоплива, парфюмерных изделий и индустрии моющих средств, в фармацевтической, пищевой и текстильной отраслях промышленности [10]. Липазы традиционно используются в целлюлозно-бумажной промышленности для удаления смолистых веществ древесины, очистки сточных вод и других целей [2, 11].

Опыт использования липаз для делигнификации сульфатной целлюлозы показал, что их эффективность выше, чем у ксиланаз. В частности, было доказано, что ферменты липаза могут разлагать гексенуроновые кислоты, образующиеся на ксилане во время сульфатной варки древесины, и отбеливать сульфатную целлюлозу. Липаза улучшает отбеливание в большей степени, чем ксиланаза, и позволяет получать целлюлозу с более низким числом Каппа. Наличие комплекса гексенурановой кислоты и лигнина – это основная причина устойчивости остаточного лигнина. Липаза специфически расщепляет гексенурановую кислоту и, как следствие, удаляет с этой кислотой связанный лигнин [12-14].

Целью данной работы было определение оптимального количества этого фермента при использовании в процессе делигнификации, а также характера его влияния на структуру целлюлозы.

В качестве фермента использовалась липаза Lipex 200L, полученная из *Aspergillus* с активностью 28.3 ед/г (“Novozymes”, Дания). Как отбеливающий агент использовали пероксид водорода, совместно со щелочью. Объектом исследований служила небеленая лиственная сульфатная целлюлоза с содержанием хвойных пород 20% Светогорского ЦБК и хвойная сульфатная целлюлоза, произведенная на Марийском ЦБК. Основные свойства использованных в экспериментах целлюлоз представлены в табл. 1.

Было изучено влияние дозировки фермента в последовательности делигнификации: обработка ферментом липаза (X) – отбелика пероксидом водорода совместно со щелочью (EP).

Делигнификацию целлюлозы проводили по следующей методике. Предварительно готовили рабочий раствор ферментного препарата концентрацией 0.1% путем растворения в дистиллированной воде. Навески небеленой сухой крафт-целлюлозы помещали в стеклянные стаканы и готовили при перемешивании суспензию с концентрацией массы целлюлозы 5%. Образцы целлюлозы обрабатывали разными дозами рабочего раствора ферментного препарата (ФП), варьирующимися от 0 до 10%, что соответствует расходу фермента от 0 до 1800 г/т абсолютно сухой целлюлозы, и выдерживали при температуре 50 °С в течение 60 мин при перемешивании. После этого целлюлозу промывали 2 л дистиллированной воды, суспензию фильтровали и определяли число Каппа. Целлюлозу, не обработанную и обработанную ферментным препаратом, после промывки отбеливали с помощью пероксида водорода с начальной концентрацией 31% и гидрооксидом натрия с начальной концентрацией 10%, в условиях реакции: 0.7% H₂O₂, 1% NaOH, и 5% сухой целлюлозы при 80 °С в течение 120 мин. После отбелики целлюлозу снова тщательно промывали и определяли в ней число Каппа.

После промывки целлюлоз оценивали по числу Каппа. Определение числа Каппа как показателя степени делигнификации целлюлозы

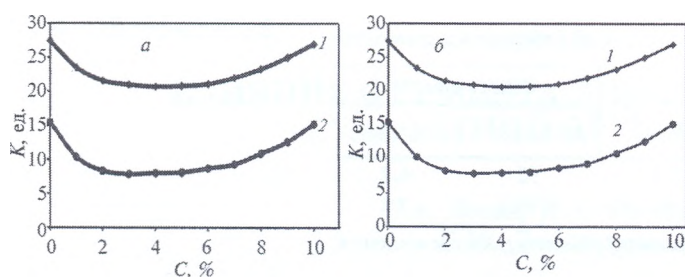


Рис. 1. Число Каппа хвойной (а) и лиственной (б) целлюлозы, обработанной различным количеством фермента с последующей отбелкой H_2O_2 и NaOH :

1 – X; 2 – X-EP.

проводили в соответствии с ISO 302-2015 [15].

Для исследования возможных изменений в составе и структуре небеленых целлюлоз на разных стадиях делигнификации были записаны ИК-спектры поглощения образцов воздушно-сухой целлюлозы на ИК-Фурье спектрометре ФСМ 2201 в диапазоне частот $4000\text{--}400\text{ см}^{-1}$ с разрешением сканирования 2 см^{-1} и количеством накоплений сигнала 16. Образцы для измерения спектров готовили в виде таблеток, полученных в результате прямого прессования волокон в пресс-форме без использования порошка КВг. Спектры нормировались на полосу валентных колебаний связей C-H в области частот $3010\text{--}2750\text{ см}^{-1}$, интегральная интенсивность которой после нормировки становилась равной 100 см^{-1} .

Содержание лигнина, карбонильных и карбоксильных групп, связей C=C и связанной воды по ИК-спектрам поглощения исследованных образцов оценивали в области частот $1450\text{--}1850\text{ см}^{-1}$. По спектральным данным была рассчитана интегральная интенсивность полосы поглощения лигнина при 1510 см^{-1} (параметр I1510 – поглощение в диапазоне частот $1527\text{--}1498\text{ см}^{-1}$). По интенсивности данной полосы, используя калибровочную модель [16, 17], оценивали содержание лигнина в образцах целлюлозы.

По ИК-спектрам были рассчитаны интегральные интенсивности полосы поглощения лигнина и валентных колебаний сопряженных связей C=C и C=O гексенурановых кислот при 1600 см^{-1} (параметр I1600 – поглощение в диапазоне частот $1615\text{--}1565\text{ см}^{-1}$), полосы поглощения связанной с волокнами воды при 1650 см^{-1} (параметр I1650 – поглощение в диапазоне частот $1714\text{--}1616\text{ см}^{-1}$) и полосы поглощения валентных колебаний несопряженных связей C=O при 1740 см^{-1} (параметр I1740 – поглощение в диапазоне частот $1760\text{--}1724.8\text{ см}^{-1}$) [18, 19].

С помощью специальной программы по ИК-спектрам поглощения исходных и обработанных образцов целлюлозы была оценена степень упорядоченности целлюлозы. Этот параметр показывает долю упорядоченных областей (параметр $\text{ЦИ}_{\text{уп}}$), образованных макромолекулами целлюлозы с конформацией ЦI [20, 21].

Спектры каждого образца были записаны для трех проб, что позволило оценить средние значения и погрешности спектральных параметров.

Результаты делигнификации представлены на рис. 1 в виде зависимостей числа Каппа от дозировки раствора ферментного препарата (ФП) после стадий ферментной обработки и отбелки целлюлозы с помощью H_2O_2 в щелочной среде NaOH в последовательности X-EP.

Из полученных зависимостей следует, что использование малого количества рабочего раствора ферментного препарата липазы (1-5%) позволяет снизить число Каппа исходной целлюлозы на 4-5 ед., однако при увеличении дозировки фермента дальнейшего снижения числа Каппа не происходит, а затем наблюдается отрицательный эффект, выражающийся в повышении числа Каппа до исходных значений. Данные явления наблюдаются как у целлюлозы, обработанной только ферментом, так и у целлюлозы, обработанной ферментом с последующей отбелкой пероксидом водорода. Увеличение концентрации фермента, вероятно, приводит к его взаимодействию с экстрактивными веществами целлюлозы, что сопровождается образованием ассоциатов и адсорбцией их на волокнах целлюлозы, удалить которые путем промывки затруднительно.

По ИК-спектрам поглощения обработанных и необработанных волокон целлюлозы был рассчитан параметр надмолекулярной структуры целлюлозы параметр $\text{ЦИ}_{\text{уп}}$, который оценивает долю упорядоченных областей, образованных макромолекулами целлюлозы с конформацией ЦI (табл. 2, 3). Наблюдается незначительное увеличение степени упорядоченности целлюлозы при всех видах воздействия на небеленые волокна. Значение параметра $\text{ЦИ}_{\text{уп}}$ изменялось в пределах $0.280\text{--}0.305$ при погрешности измерения 0.008 . Вероятно, удаление аморфных компонентов волокон за счет прямого действия липазы на смолы и жирные кислоты и косвенного на гемицеллюлозы приводит к увеличению доли упорядоченных областей природной целлюлозы. Наибольшее влияние на этот структурный параметр оказывает отбелка пероксидом водорода с предварительной обработкой ферментом.

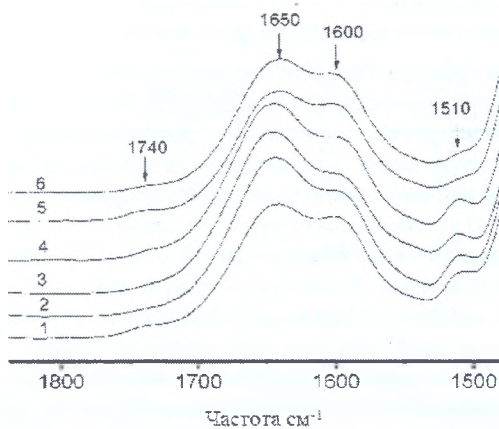


Рис. 2. ИК-спектры поглощения хвойной сульфатной целлюлозы в области 1850-1450 см⁻¹:

1 – исходной; 2, 3, 4 – после обработки раствором ферментного препарата; 5, 6 – после отбеливания пероксидом водорода и пероксидом водорода с ферментом.

Заметные изменения при воздействии фермента наблюдались в области частот 1800-1490 см⁻¹, где лежат полосы поглощения лигнина, связанной с волокнами воды и сопряженных и несопряженных связей С=О и С=C (рис. 2 и 3). Отбеливание целлюлозы направлено на удаление остаточного лигнина и хромофорных групп, имеющих сильное влияние на белизну целлюлозы и ее стабильность. В связи с этим данный диапазон частот является информативным для оценки воздействия фермента и пероксида водорода на сульфатную целлюлозу.

В ИК-спектрах исследованных целлюлоз в диапазоне частот 1850-1450 см⁻¹ присутствуют четыре разрешенные полосы поглощения при 1510, 1600, 1650 и 1740 см⁻¹. Для количественной оценки наблюдаемых изменений для каждой из перечисленных полос вычисляли интегральное поглощение в диапазоне ее полуширины. Значения

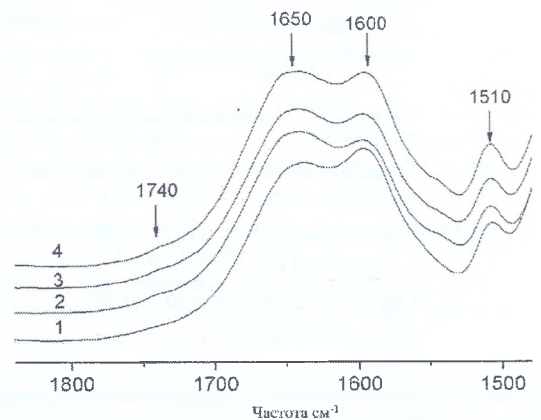


Рис. 3. ИК-спектры поглощения исходной лиственной целлюлозы в области 1850-1450 см⁻¹:

1 – исходной; 2, 3, 4 – после обработки раствором ферментного препарата.

интегральных интенсивностей четырех полос представлены в табл. 2 и 3 (параметры I1510, I1600, I1650 и I1740).

По данным ИК-спектроскопии, содержание остаточного лигнина, оцененное по интенсивности полосы поглощения около 1510 см⁻¹ (параметр I1510), при обработке ферментом не уменьшается, а при больших дозировках фермента увеличивается (табл. 2 и 3). Наименьшее значение интенсивности полосы при 1510 см⁻¹ имеет образец после ферментной обработки при дозировке липазы 5%. Можно сделать вывод о том, что обработка ферментом не приводит к удалению остаточного лигнина.

В отличие от обработки ферментом пероксид водорода сам и в сочетании с ферментом практически полностью удаляет лигнин, так как интенсивность полосы поглощения лигнина при 1510 см⁻¹ становится близкой к нулю. (табл. 2 и 3).

Таблица 2. Спектральные характеристики состава и структуры волокон хвойной сульфатной небеленой целлюлозы с числом Каппа 27.5 до и после воздействия ферментом и отбеливания пероксидом водорода

Образец целлюлозы	Ц _{лп} , отн. ед.	I1510, отн. ед.	I1740, отн. ед.	I1600, отн. ед.	I1650, отн. ед.	Содержание лигнина, %
Исходный	0.280	0.45	0.18	2.1	5.9	2.75
Беленый	0.297	0	0.15	1.9	5.5	0
Обработанный раствором 3%-ным ФП с последующей отбелкой	0.304	0	0.10	1.8	5.4	0
Обработанный 3%-ным раствором ФП	0.293	0.53	0.01	1.8	8.4	3.05
Обработанный 5%-ным раствором ФП	0.285	0.51	0	1.3	9.9	2.98
Обработанный 10%-ным раствором ФП	0.282	0.59	0.01	1.6	9.2	3.27

Таблица 3. Спектральные характеристики состава и структуры волокон лиственной сульфатной небеленой целлюлозы с числом Каппа 48 до и после воздействия ферментом

Образец целлюлозы	Cp_n отн. ед.	11510 отн. ед.	11740 отн. ед.	11600 отн. ед.	11650 отн. ед.	Содержание лигнина, %
Исходный	0.290	1.52	0	4.8	7.6	6.69
Обработанный 3%-ным раствором ФП	0.297	1.50	0.04	3.8	9.9	6.62
Обработанный 5%-ным раствором ФП	0.285	1.48	0.01	3.7	9.4	6.55
Обработанный 10%-ным раствором ФП	0.293	1.65	0	3.9	11.0	7.17

Уменьшение интенсивности этой полосы наблюдалось после обработки стеблей кукурузы и пшеничной соломы щелочью или после использования двухэтапного процесса, основанного на предварительной обработке паровым взрывом с последующей обработкой пероксидом водорода [22, 23]. Частичное или полное удаление лигнина также имело место при обработке сельскохозяйственных отходов, таких как стебли кукурузы и пшеничной соломы, при механическом дефибрировании до и после вымачивания грибковыми культурами или при обработке в смеси уксусной кислоты с водой, доказательством чего являлось уменьшение интенсивности полосы в области 1520 см^{-1} в обработанных целлюлозных волокнах [24, 25].

В полосу поглощения около 1600 см^{-1} вносят вклад как колебания ароматического кольца лигнина, так и валентные колебания сопряженных групп $\text{C}=\text{O}$ и $\text{C}=\text{C}$ гексенурановых кислот [19, 26]. Интенсивность данной полосы уменьшилась под воздействием фермента (табл. 2 и 3). Так как при обработке ферментом интенсивность полосы поглощения лигнина при 1510 см^{-1} не уменьшается, то снижение поглощения вблизи 1600 см^{-1} связано с уменьшением содержания гексенурановых кислот. Наиболее сильное уменьшение интенсивности происходит под воздействием раствора ФП липазы 3-5%, что коррелирует с химически определенным содержанием остаточного лигнина (рис. 1). Отбелка пероксидом водорода в сочетании с ферментной обработкой также позволяет удалить лигнин и вызвать деструкцию гексенурановых кислот, о чем свидетельствует исчезновение полосы 1510 см^{-1} и уменьшение интенсивности полосы поглощения при 1600 см^{-1} .

В области частоты около 1640 см^{-1} в ИК-спектрах исходных и обработанных образцов целлюлозы (рис. 2 и 3) наблюдается интенсивная полоса поглощения. В гидрофильных материалах здесь появляется полоса поглощения деформационных колебаний молекул воды, связанных с материалом [27].

Воздействие фермента приводит к увеличению адсорбируемой на волокнах воды независи-

мо от содержания фермента для обоих типов целлюлозы (табл. 2 и 3). Для сульфатной хвойной целлюлозы интенсивность полосы поглощения воды, связанной с волокнами (параметр I1650) увеличилась в 1.4-1.7 раза (табл. 2). В лиственной сульфатной целлюлозе с большим содержанием остаточного лигнина наблюдалось увеличение интенсивности полосы поглощения связанной воды в 1.2-1.4 раза (табл. 3). Известно, что фермент липаза действует на смолы и жирные кислоты, локализованные на поверхности целлюлозных волокон. Под действием липазы в результате деструкции и изменения компонентов смолы гидрофобность волокон снижается [28]. Ферментная обработка вызывает изменение и удаление расположенных на поверхности волокна гидрофобных компонентов смолы, в результате чего открываются гидрофильные группы и происходит увеличение содержания связанной воды.

При отбелке пероксидом водорода небеленой смешанной целлюлозы такого эффекта не наблюдается. Отбелка целлюлозы оксидом водорода после обработки ферментом не приводит к увеличению гидрофильности сульфатной целлюлозы. Ранее было показано, что внутриклеточная смола при отбелке может освобождаться и выходить на поверхность. То есть происходит обратный процесс – увеличение гидрофобности волокон [11].

Полосы в области частот 1740 см^{-1} в ИК-спектрах связаны с валентным колебанием связей $\text{C}=\text{O}$ в ацетильных группах и урановых кислотах, которые являются характерными группами гемицеллюлоз [29, 30]. В ИК-спектрах исходных образцов эта полоса малоинтенсивна (рис. 2 и 3). Под воздействием фермента полоса около 1740 см^{-1} практически полностью исчезает, т.е. уходят почти все несопряженные группы $\text{C}=\text{O}$. При отбелке целлюлозы пероксидом водорода полоса сохраняет свои значения.

Уменьшение интенсивности этой полосы в ИК-спектрах небеленой сульфатной целлюлозы, обработанной ферментом, свидетельствует о частичном удалении гемицеллюлоз при ферментной обработке.

– Обработка ферментом Lixep 200L сульфатных целлюлозных волокон различных пород древесины способствует удалению аморфных компонентов, в том числе гексенуоновых кислот или их модификаций. Наибольшее воздействие на гексенуоновые кислоты обнаружено при обработке целлюлозы небольшим количеством фермента (в условиях эксперимента 5%), что подтверждается наименьшим значением числа Каппа как после стадии X, так и после последовательности X–EP независимо от пород древесины, а также сравнительным анализом ИК-спектров. При более высокой дозировке фермента степень делигнификации снижается вплоть до исходных значений, что, по-видимому, связано с его взаимодействием с экстрактивными веществами целлюлозы и продуктами их гидролиза с образованием и адсорбцией ассоциатов на волокнах целлюлозы, удалить которые путем промывки невозможно.

– ИК-спектральный анализ показал, что максимальное уменьшение интенсивности полосы при 1600 см⁻¹, характеризующей количество гексенуоновых кислот, наблюдается для волокон с большим содержанием лигнина. Фермент липаза, вызывая деструкцию и изменение поверхностно расположенных компонентов смолы, приводит к увеличению интенсивности поглощения полосы связанной воды. Более сильное увеличение гидрофильности целлюлозы после ферментной обработки наблюдается для целлюлозы с меньшим содержанием остаточного лигнина.

– Отбелка пероксидом вызывает удаление значительной части остаточного лигнина, при этом нет воздействия на гексенуоновые кислоты. При отбелке сульфатной целлюлозы пероксидом водорода с использованием предварительной ферментной обработки идет как удаление остаточного лигнина, так и удаление групп гексенуоновых кислот.

Библиографический список

1. Федоскин И.А., Софронова Е.Д., Липин В.А. // Вестник СПбГУПТД. Сер. 4: Промышленные технологии. 2020. № 3. – С. 90-94. DOI: 10.46418/2619-0729_2020_3_8
2. Vajpai P. *Biotechnology for Pulp and Paper Processing*. – Springer Nature Singapore Pte Ltd. 2018. – 588 p. DOI: 10.1007/978-1-4614-1409-4_18
3. Suess H.U. *Pulp Bleaching Today*. – Berlin: Walter de Gruyter, 2010. – 319 p. DOI: 10.1515/9783110218244
4. Софронова Е.Д., Липин В.А. и др. // Изв. вузов. Лесн. журн. 2021. № 3 (381). – С. 186-195. DOI: 10.37482/0536-1036-2021-3-186-195
5. Софронова Е.Д., Липин В.А. и др. // Изв. СПбЛТА. 2020. Вып. 230. – С. 215-225. DOI: 10.21266/2079-4304.2020.230.215-225
6. Болотова К.С., Новожилов Е.В. // Химия растит. сырья. 2015. № 3. – С. 5-23. DOI: 10.14258/jcrpm.201503575
7. Ferrer A., Rosal A., e. a. // *BioResources* 2011. V. 6. No. 2. – P. 1298-1307. DOI: 10.15376/biores.6.2.1298-1307.
8. Call H.P. // *Progress in Biotechnology* 2002. V. 21. – P. 173-184.
9. Call H.P. Pat. WO/1998/059108, 1998. *Oxidation and bleaching system with enzymatically produced oxidizing agents*.
10. Chandra P., Enespa, e. a. // *Microb. Cell. Fact.* 2020. V. 19. – P. 169. DOI: 10.1186/s12934-020-01428-8
11. Емельянова М.В., Чухчин Д.Г., Новожилов Е.В. // Изв. вузов. Лесн. журн. 2007. № 1. – С. 11-19.
12. Lipin V.A., Fedoskin I.A., Demyantseva E.Yu. // *Fibre Chemistry*. 2021. V. 53. No. 3. – P. 149-154. DOI: 10.1007/s10692-021-10256-4
13. Nguyen D., Zhang Xe. E, e. a. // *Enzyme a. Microbial Tech.* 2008. V. 43. No. 2. – P. 130-136. DOI: 10.1016/j.enzmictec.2007.11.012
14. Rashedi H., Amoabediny Gh., e. a. // *Cell. Chem. a. Tech.* 2008. V. 42. No. 7. – P. 397-402.
15. ISO 302:2015. *Pulps – Determination of Kappa Number*. – Geneva, ISO/TC 6, 2015. 12 p.
16. Деркачева О.Ю., Цыпкин Д.О. // Журн. прикл. спектроскопии. 2017. Т. 84. № 6. – С. 1018-1024.
17. Wang K., Jiang J.X., e. a. // *Polymer Degrad. Stabil.* 2009. V. 94. – P. 1379-1388. DOI: 10.1016/j.polyimdegradstab.2009.05.019
18. Fiskari J., Derkacheva O., e. a. // *Cell. Chem. a. Technol.* 2016. V. 50. No. 2. – P. 213-217.
19. Koksharov A.V., Derkacheva O.Y., e. a. // *Fibre Chemistry*. 2018. V. 50. No. 3. – P. 215-218. DOI: 10.1007/s10692-018-9963-6
20. Сухов Д.А. // Изв. вузов. Технол. лег. пром-сти. 2012. Т. 17. № 3. – С. 53-56.
21. Sukhov D.A., Zhilkin A.N., e. a. // *TAPPI J.* 1991. V. 74. No. 3. – P. 201-204.
22. Sun X.F., Xu F., e. a. // *Carbohydrate Res.* 2005. V. 340. No. 1. – P. 97-106. DOI: 10.1016/j.carres.2004.10.022
23. Xiao B., Sun X. F., Sun R. // *Polymer Degrad. a. Stability.* 2001. V. 74. No. 2. – P. 307-319. DOI: 10.1016/S0141-3910(01)00163-X
24. Sain M., Panthapulakkal S. // *Ind. Crops a. Products.* 2006. V. 23. – P. 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2005.01.006>
25. Xu F., Liu C.F., e. a. // *Polymer Degrad. a. Stabil.* 2006. V. 91. – P. 1880-1886. DOI: 10.1016/j.polyimdegradstab.2005.11.002
26. Li J., Gellerstedt G. // *Carbohydrate Res.* 1997. V. 302. No. 3-4. – P. 213-218. DOI: 10.1016/S0008-6215(97)00125-0
27. Chen L., Wilson R.H., Mc Cann M.C. // *J. Microsc.* 1997. V. 188. – P. 62-71. DOI: 10.1046/j.1365-2818.1997.2470805.x
28. Новожилов Е.В., Емельянова М.В., Канарский А.В. // Вестник технологич. ун-та. 2015. Т. 18. № 13. – С. 146-148.
29. De Carvalho Benini K.C.C., Voorwald H.J.C., e. a. // *J. Natural Fibers.* 2016. V. 14. No. 1. – P. 112-125. DOI:10.1080/15440478.2016.1167647
30. Jonoobi M., Harun J., e. a. // *BioResources*, 2009. V. 4. No. 2. – P. 626-639. DOI: 10.15376/BIORES.4.2.626-639