

МИКОЛИЗ ДРЕВЕСИНЫ, ЕГО ПРОДУКТЫ И ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

VI. «БЕЛАЯ ГНИЛЬ» ДРЕВЕСИНЫ КАК ВОЛОКНИСТЫЙ ПОЛУФАБРИКАТ И ХИМИЧЕСКОЕ СЫРЬЕ

Г.Н. Кононов[✉], В.А. Липаткин, В.А. Петухов, М.В. Федорова

ФГБОУ ВО «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)» (Мытищинский филиал), Россия, 141005, Московская обл., г. Мытищи, ул. 1-я Институтская, д. 1

kononov@mgul.ac.ru

Рассмотрены возможные пути использования древесины с «белой гнилью» как природного продукта, обогащенного углеводной составляющей. Приведены результаты исследования процесса предварительной делигнификации и обессмоливания древесины с использованием лигниноразрушающих грибов или их ферментных систем в целях ее дальнейшего использования для получения технических целлюлоз и их облагораживания. Изучены области использования микологически разрушенной древесины в качестве волокнистого полуфабриката и поделочного материала и возможность получения из древесины с «белой гнилью» продуктов путем ее гомогенного ацетилирования, карбоксиметилирования и кислотного гидролиза. Данная статья является шестой в цикле «Микелиз древесины, его продукты и их использование», предыдущие опубликованы в журнале «Лесной вестник / Forestry Bulletin»: 2020, т. 24, № 2, № 6; 2021, т. 25, № 1, № 5; 2022, т. 26, № 4.

Ключевые слова: биоделигнификация, обессмоливание, отбелка, мраморный рисунок, ацетилирование, гидролиз

Ссылка для цитирования: Кононов Г.Н., Липаткин В.А., Петухов В.А., Федорова М.В. Микелиз древесины, его продукты и их использование. VI. «Белая гниль» древесины как волокнистый полуфабрикат и химическое сырье // Лесной вестник / Forestry Bulletin, 2024. Т. 28. № 4. С. 118–129.

DOI: 10.18698/2542-1468-2024-4-118-129

В результате микелиза древесины под действием лигнолитических ферментов дереворазрушающих грибов в природных условиях образуется так называемая «белая гниль» [1, 2]. В результате этого процесса происходит биоделигнификация древесины с образованием продукта, обогащенного углеводной составляющей [3]. Образовавшийся продукт обладает сильно разрыхленной гидрофильной волокнистой структурой, что позволяет предположить возможность его использования в качестве волокнистого полуфабриката [4], а большое содержание целлюлозы — в качестве химического сырья для модифицирования с получением полимерных производных и низкомолекулярных продуктов путем гидролиза [5, 6].

Цель работы

Цель работы — анализ процесса биоделигнификации древесины в качестве предварительной стадии получения из нее технических целлюлоз, и изучение возможности использования древесины с «белой гнилью» для получения из нее продуктов путем полимераналогичных превращений и кислотного гидролиза.

Материалы и методы

Биотехнологические методы находят все большее применение в процессах получения и переработки технических целлюлоз. Возможность селективного воздействия на компоненты древесины и технические целлюлозы, проведение реакций без повышения температуры и давления делают различные ферментативные методы перспективными в технологических операциях. Применение ферментов выгодно с точки зрения экологии, так как они расходуются в очень небольшом количестве, снижают загрязненность сточных вод путем токсичных реагентов, не дают вредных побочных продуктов и являются биоразлагаемыми веществами. В производстве целлюлозы для химической переработки возможно использование различных ферментных систем, продуцированных микроорганизмами, в частности, для обработки щепы перед варкой, лигнолитических ферментов для делигнификации, гемицеллюлаз для удаления остаточных гемицеллюлоз, целлюлазы для модифицирования свойств целлюлозы. Возможна предварительная обработка древесины перед химической делигнификацией, так называемая биоварка. В целях снижения расхода реагентов и повышения качества волокнистых полуфабрикатов биоварку можно

проводить с использованием микомицетов или выделенных из них ферментов.

Высокий окислительный потенциал ферментов, содержащихся в лигноразрушающих грибах, открывает различные биохимические способы совершенствования, подготовки и переработки древесного сырья. Положительный эффект действия лигнолитических ферментов основан на их способности разрушать α - β простые эфирные связи в структурах лигнина и деструктировать липофильные, экстрактивные вещества.

Наличие примесей гемицеллюлоз отрицательно сказывается на процессах химической переработки целлюлозы. Гемицеллюлозы вызывают помутнение растворов эфиров целлюлозы и ухудшают их фильтруемость, сильно набухают при мерсеризации и затрудняют удаление щелочи в процессе отжима. Пентозаны и гексозаны интенсивно участвуют в реакциях этерификации, что приводит к снижению степени замещения целлюлозы, увеличению расхода этерифицирующих реагентов, неравномерному распределению заместителей. Кроме того, эфиры гемицеллюлоз могут образовывать слой на поверхности волокон, препятствующий дальнейшему проникновению реагентов, а также формировать гелевые частицы, снижающие фильтруемость растворов. Продукты этерификации гемицеллюлоз окрашены и иногда нерастворимы, они снижают качество растворов целлюлозы и конечных продуктов химической переработки. Эти примеси вызывают снижение прочности вискозных и ацетатных волокон и пленок, ломкость и пожелтение лаков и покрытий, снижение оптической однородности фото- и кинопленок, уменьшение термостойкости нитратов. Содержание гемицеллюлоз особенно строго регламентируется в сырье для получения ацетатов, нитратов, высокопрочных вискозных волокон [3].

Было показано, что препарат ксилоавоморин с основной ксиланазной активностью удалял около 15 % гемицеллюлоз из холоцеллюлозы сосны и 3...8 % гемицеллюлоз из технических целлюлоз. Путем ферментативной обработки удалось извлечь от 8 до 54 % гемицеллюлоз, в зависимости от состава ферментного препарата, характеристик и стадий переработки волокнистой массы и начального содержания гемицеллюлоз в ней [4].

Применение целлюлаз из *Trichoderma koningii* и *Fusarium solani* для снижения вязкости вискозной целлюлозы является весьма перспективным. Эти грибы, разлагающие целлюлозу, синтезируют разнообразные виды ферментов целлюлазного типа, отличающиеся специфичностью действия. Их целлюлазные комплексы способны расщиплять β -1,4-глюкозидные связи в кристаллических формах целлюлозы. Основными ферментами комплекса, отвечающими за



а



б



в

Рис. 1. «Белая гниль» древесины березы и гриб, вызывающий ее образование: а — плодовое тело трутовика настоящего (*Fomes fomentarius*); б — торцевой срез древесины; в — тангенциальный срез древесины.

Fig. 1. «White rot» of birch wood and the fungus that causes its formation: а — the fruiting body of the present tinder fungus (*Fomes fomentarius*); б — end cut; в — tangential cut

деструкцию макромолекул целлюлозы, являются эндоглюканаза и целлобиогидролаза. Эндоглюканаза расщепляет связи произвольно по длине макромолекулы, действуя преимущественно на аморфные участки, целлобиогидролаза осуществляет гидролиз высокоупорядоченных участков фибрилл до целлобиозы [5].

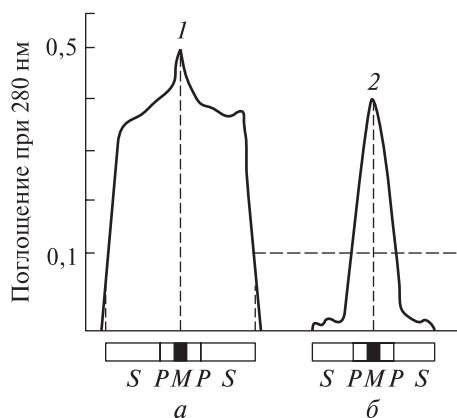


Рис. 2. УФ-микроскопия клеточных стенок смежных клеток волокон либриформа: 1 — здоровой древесины; 2 — пораженной «белой гнилью» древесины березы

Fig. 2. UV-microscopy of cell walls of adjacent cells of libriform fibers: 1 — healthy; 2 — affected by «white rot» of birch wood

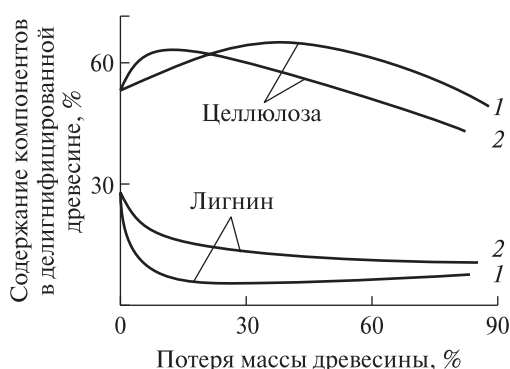


Рис. 3. Изменение компонентного состава лигноуглеводного комплекса древесины при их биоделигнификации: а — ели; б — березы

Fig. 3. Changes in the composition of the ligno-carbohydrate complex of wood: а — spruce; б — birch during their biodelignification

Биообработка технологической щепы ферментными препаратами микомицетов вполне применима как предварительная стадия подготовки древесины к процессу варки целлюлозы. Ее преимущества заключаются в ускорении процесса делигнификации, уменьшении смоляных затруднений, повышении качества целлюлозы, увеличении объемов производства, большой экологической безопасности процессов и уменьшении вмешательства во внешнюю среду при производстве волокнистых полуфабрикатов. Одно из главных препятствий в реализации процесса биоделигнификации — низкая диффузионная способность проникновения достаточно больших макромолекул ферментов в объеме технологической щепы. Делигнификацию древесины целесообразно проводить не ферментными препаратами, а вырабатываемыми их микомицетами и проникающими в массу древесины с помощью грибных гиф на любую глубину. Наблюдаемая на практике

более высокая эффективность биообработки грибами по сравнению с обработкой выделенными препаратами ферментов, вероятно, связана с тем, что в данном случае с компонентами древесины взаимодействует целый набор ферментов, фактически мультиэнзимный комплекс, в котором имеет место синергетический эффект и различные виды ферментов дополняют действия друг друга.

В качестве объекта исследования использовалась «белая гниль» древесины березы конечной стадии развития (рис. 1).

Процессы гомогенного ацетилирования, кислотного гидролиза «белой гнили» и анализ полученных продуктов осуществлялись по методикам, описанным в работе [7].

Экспериментальная часть и обсуждение результатов

Процесс воздействия лигнолитических ферментов на клеточную структуру древесинного вещества протекает с разной скоростью в зависимости от вида ксилофита и глубины проникания его ферментов в толщу клеточной стенки. Данные УФ-микроскопии свидетельствуют о том, что слой вторичной стенки (S) делигнифицируется достаточно быстро, а процессы в сложной срединной пластинке (P-M-P) до определенной степени запаздывают, и даже на глубоких стадиях биоделигнификации она дает интенсивное поглощение, связанное с наличием ароматических ядер, в то время как вторичная стенка почти их не содержит, уже при потере массы древесины в 10 % [8] (рис. 2).

Степень биоделигнификации зависит от вида древесины. В случае хвойной древесины процесс тормозится вследствие наличия в ней определенного количества терпеноидов, выполняющих функцию фунгицидов. Поэтому хотя она и обогащается целлюлозной составляющей на ранней стадии микелизации при потере массы в 10 %, но все же содержит значительно большее количество остаточного лигнина по сравнению с лиственной древесиной. Максимальное содержание целлюлозы достигается лишь на более глубоких стадиях, при потере массы хвойной древесины более 30 % [9] (рис. 3).

Делигнификационная активность у грибов белой гнили может регулироваться содержанием в питательной среде азота и углерода [10]. Изучалось влияние содержания аммонийного азота, вератрового спирта и глюкозы на проявление культурой гриба как лигнинолитической, так и целлюлолитической способности на древесине березы. Установлено, что при содержании азота до 1,8 ммоль/л способность гриба к деструкции лигнина увеличивается. Введение вератрового спирта в питательную среду стимулирует лигнолитическую способность, причем ее увеличение

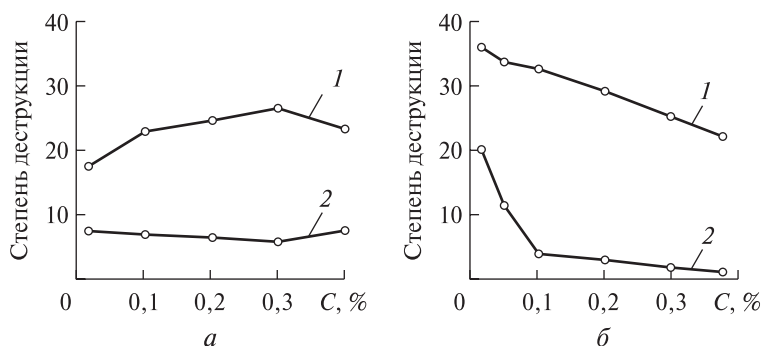


Рис. 4. Влияние добавок вератрового спирта (а), глюкозы (б) на степень деструкции грибом *Ph. Sanguine*: 1 — лигнина; 2 — целлюлозы

Fig. 4. Influence of additives of veratric alcohol (a), glucose (b) on the degree of destruction by *Ph. Sanguine*: 1 — lignin; 2 — cellulose

Т а б л и ц а 1

Влияние микологической обработки лиственной древесины на свойства целлюлозы, получаемой из нее при органосольвентной варке

Influence of mycological treatment of hardwood on the properties of pulp obtained from it during organo-solvent pulping

Вид гриба	Время биообработки, сут.	Потеря массы, %	Выход целлюлозы, %	Жесткость, ед. числа Каппа	Ср. СП
<i>Trametes villosus</i>	0	0	52,7	19,7	7780
	15	4,8	52,8	15,1	7770
	30	5,2	52,1	14,8	7780
	60	13,2	50,0	10,4	7770
<i>Phanerochaete sanguinea</i>	0	0	52,3	19,3	7760
	15	1,7	52,4	14,9	6670
	30	6,4	49,7	10,5	5530
	60	10,9	46,8	10,5	4480
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	0	0	52,5	19,8	7770
	15	8,5	50,7	12,9	4480
	30	16,4	47,4	15,6	4440
	60	27,3	44,5	15,9	4400

достигает максимума при концентрации вератрового спирта 0,3 % (рис. 4, а), а оптимальная концентрация глюкозы, тормозящая деструкцию целлюлозы, составляет 0,1 % (рис. 4, б). Поэтому введением этих соединений можно регулировать разрушение как лигнина, так и целлюлозы в процессе микоза [11].

Для промышленного получения микодревесины предлагалось заготовку лиственных пород размером 0,2...0,3×2 м инфицировать лигниноразрушающими грибами, помещать в инкубационные ямы, где обеспечиваются оптимальные для роста грибов влажность, температура и подача воздуха. В зависимости от условий уже через 2–3 месяца пронизанная гифами грибов древесина без разрушения структуры сильно изменяла свойства — становилась в 3 раза легче, имела очень высокую пористость, легко измельчалась и свободно пропитывалась даже вязкими жидкостями [12].

Предварительная обработка древесины грибами белой гнили позволяет уменьшить жесткость получаемой целлюлозы на 8–9 ед. числа Каппа при сохранении выхода на уровне контрольного

опыта (табл. 1). Наиболее приемлемыми оказались относительно короткие сроки биообработки. Лучшие результаты показало использование гриба *T. villosus*, поскольку целлюлоза получилась менее деструктированной [13]

В производстве целлюлозы для химической переработки изучалась предварительная обработка щепы грибами «белой гнили» (*Ceriporiopsis subvermispora*). При биообработке щепы в течение 5 сут. и последующей сульфитной варке отмечалось снижение содержания лигнина на 5 %, повышение белизны на 11 % без потерь выхода полуфабриката и сохранение высоких качественных показателей целлюлозы. Однако биообработка той же щепы в течение 10 сут. при дальнейшем снижении содержания лигнина приводила к существенным потерям выхода целлюлозы по сравнению с контрольным образцом. [14].

При использовании микроорганизмов в процессе производства целлюлозных полуфабрикатов, необходимо их культивирование на обрабатываемом сырье, что представляет собой достаточно сложную задачу.

В случае использования для биообработки древесины выделенных ферментов задача упрощается, поскольку выполняется аналогично применению катализаторов химического типа. Делигнификация ферментами оксидазного типа — лакказами, пероксидазами — протекает значительно эффективнее, чем грибами, поэтому ферментативная обработка считается более простой, но медленной вследствие низкой скорости диффузии ферментов в глубь древесины в связи с их высокомолекулярной природой [15].

Исходя из этого изучалась возможность биоделигнификации древесины перед ее варкой комплексом ферментов гриба *Trametes Villosus* вместо прямого его культивирования на ней. В ходе исследования было выявлено, что выход целлюлозы и степень ее делигнификации зависят от активности использованного культурального фильтрата и продолжительности обработки. Определяющим фактором при ферментативной обработке щепы является время, необходимое для диффузии фермента в глубь образца [16]. При длительности обработки 6 сут. была подобрана оптимальная активность культурального фильтрата (соотношение лигниназа : лакказа : ксиланаза составило 20:10,5:3,5 единиц активности на 1 г древесины). В этих условиях была получена целлюлоза с выходом 50 % и жесткостью 12 ед. числа Каппа. Предварительная ферментативная обработка позволила сократить продолжительность водно-этанольной варки в 1,5 раза (до 120 мин) для получения полуфабрикатов требуемой степени делигнификации. [17]

Для хвойной древесины интересна микологическая обработка в целях снижения в ней содержания физиологической смолы, вызывающей так называемые смоляные затруднения при ее варке. Культивирование гриба *Ophistoma Piliferum* на свежей древесине является одним из методов биотехнологического контроля смолы в ней. Такая обработка эффективна для обессмоливания щепы свежесрубленной хвойной древесины, при этом происходят быстрый рост грибной культуры, колонизация эпителиальных клеток смоляных ходов и деградация содержащейся в них смолы. Указанный метод борьбы со смолой можно считать разновидностью метода выдерживания древесины, отличающийся его проведением в контролируемых условиях и усилением действием извне внесенных ферментов гриба. После инкубации в течение 2–3 недель содержание экстрактивных веществ в такой древесине снижается на 40...50 % [18].

Древесина, микологически разрушенная в природных условиях под действием грибов «белой гнили», вызывает широкий интерес. Так, на ранних стадиях микелиза, сохраняя свою прочность, она приобретает так называемый мраморный

рисунок и при условии защиты от кислорода воздуха, препятствующего продолжению процесса микелиза, с помощью природных или синтетических пленкообразователей может с успехом использоваться для изготовления стильной мебели и декоративных изделий [19, 20] (рис. 5).

На глубоких стадиях микелиза древесина с «белой гнилью» может быть готовым волокнистым полуфабрикатом и хорошим сырьем для химической переработки. Этому способствует крайне низкая прочность и твердость и, как следствие, низкие энергозатраты на ее измельчение. Повышенная гидрофильность за счет разрушения гидрофобного компонента, каковым является лигнин, способствует хорошей пропитываемости водными растворами и повышенной способности к фибриллированию при размоле. И, наконец, повышенное содержание целлюлозы и крайне низкое содержание лигнина, причем частично разрушенного, дает возможность предположить использование микодревесины в качестве перспективного сырья для химического модифицирования и переработки [21].

Большое количество березовых древостоев в природных условиях подвержено естественному инфицированию спорами дереворазрушающих грибов, в основном вызывающих образование «белой гнили». При сплошных рубках древесина, подверженная такому воздействию, переходит в разряд некондиционной и становится практически непригодной для механической переработки, например при производстве фанеры. Однако биохимические процессы, происходящие при микологическом разрушении, превращают ее в материал, перспективный для использования в качестве волокнистого полуфабриката или даже химического сырья. Использование такой древесины березы является перспективным по следующим причинам:

- береза более продуктивна по сравнению с другими лесообразующими породами и отличается высокой скоростью накопления древесинного вещества;
- подвержена воздействию многих видов грибов «белой гнили» при почти полном отсутствии специфических видов;
- биоделигнификация древесины проходит более полно вследствие отсутствия токсинов, каковыми являются терпеноиды хвойных;
- биоделигнифицированная древесина имеет более высокую белизну по сравнению с аналогичной древесиной хвойных, загрязненной окрашенными продуктами микелиза лигнина вследствие замедления процесса делигнификации токсичными терпеноидами [22] (рис. 6);
- древесина березы, пораженная «белой гнилью» на поздних стадиях имеет очень низкую

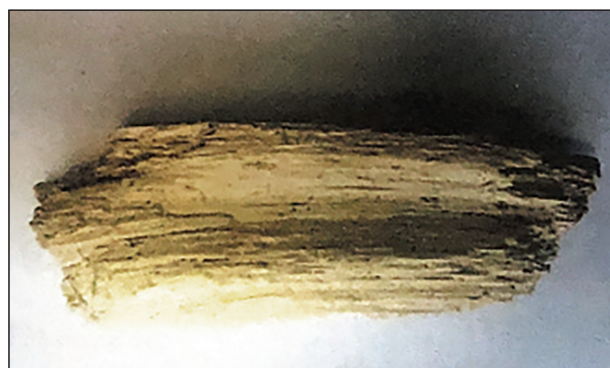


а



б

Рис. 5. Мебель и декоративные изделия из древесины березы с мраморным рисунком
Fig. 5. Furniture and decorative items made of birch wood with marble pattern



а



б

Рис. 6. «Белая гниль» древесины: а — береза; б — ель
Fig. 6. «White rot» of wood: а — birch; б — spruce

прочность, что является положительным фактором при ее измельчении;

– биоделигнификация древесины березы приводит к резкому увеличению ее гидрофильности, способности пропитываться водными растворами при модифицировании, а также легкости фибриллирования при размоле [23] (рис. 7).

Анализ проведенных исследований позволяет сделать предположение о возможности использования биоделигнифицированной древесины березы в природных условиях в качестве активного наполнителя при получении волокнистых композиционных пластиков как с использованием синтетических связующих разной химической природы, так и биопластиков с использованием химически активных компонентов древесины, разрушенной другими биодеструкторами, например грибами «бурой» или «пестрой гнили». Кроме того, такую древесину можно использовать для производства таких листовых материалов,

как определенные виды ДВП, картона и бумаги при замене ею части небеленой целлюлозы или древесной массы в композициях [24].

При использовании пресс-композиции, состоящей из древесины березы с «белой гнилью» и древесины ели с «пестрой гнилью» были получены биопластики с хорошими физико-механическими показателями (табл. 2) [25].

Наблюдается возрастание прочности лигноуглеводных пластиков в 2,5...3,0 раза, снижение водопоглощения и разбухания почти в 2 раза при увеличении содержания «белой гнили» в композиции до 100 %. Это подтверждает возможность реализации химических процессов в частично микологически разрушенной древесине. Резкое снижение водопоглощения и разбухания в случае древесины березы, пораженной «белой гнилью», свидетельствует о большой интенсивности блокирования гидрофильных групп углеводов древесины, которыми она

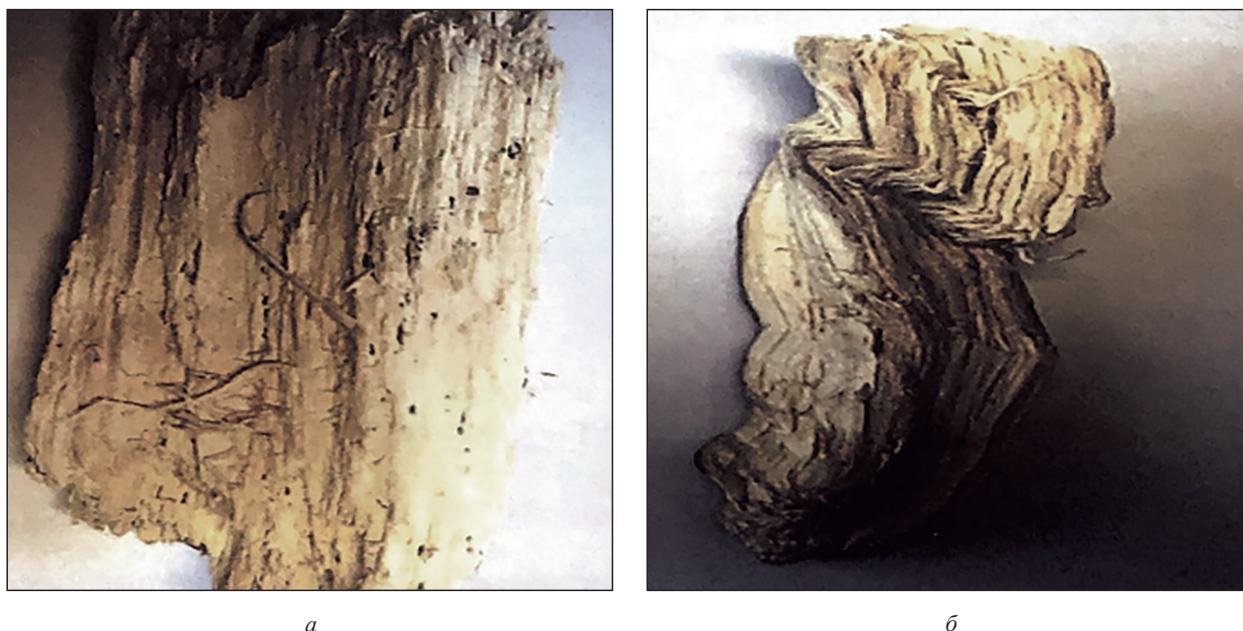


Рис. 7. Древесина березы, пораженная грибами белой гнили: а — в сухом состоянии; б — во влажном состоянии

Fig. 7. Birch wood affected by white rot fungi: а — dry; б — wet

Т а б л и ц а 2

Физико-механические показатели лигноуглеводных пластиков из древесины с «белой» и «пестрой» гнилью ($P = 2,5$ МПа; $t = 170...180$ °С)

Physical and mechanical parameters of lignocarbon plastics from wood with «white» and «motley» rot ($P = 2,5$ МПа; $t = 170...180$ °С)

Древесина	Содержание гнили, %	Плотность, кг/м ³	Влажность, %	Предел прочности при статическом изгибе, МПа	Водопоглощение за 24 ч, %	Разбухание за 24 ч, %
Ель («пестрая гниль»)	0	1170	8,7	15,1	9,8	6,6
	25	1190	9,5	20,1	8,8	7,4
	50	1190	9,6	24,6	8,5	7,6
	75	1200	9,7	29,9	8,4	7,6
	100	1230	9,8	44,0	8,4	7,8
Береза («белая гниль»)	0	1090	4,9	15,0	21,4	17,7
	25	1100	5,1	17,8	20,8	13,8
	50	1130	5,6	22,1	20,2	13,7
	75	1150	6,0	30,5	15,6	13,1
	100	1170	7,1	38,2	11,8	8,7

обогащена при пьезотермической обработке. Эти показатели для пестрой гнили ели скромнее, по-видимому, вследствие большего содержания лигнина, которым обогащена эта древесина, и наличия в ней гидрофобных веществ физиологической смолы.

Высокая степень делигнификации древесины березы с «белой гнилью», содержащей частично разрушенную целлюлозу со сниженной молекулярной массой (медное число 0,6), позволили использовать этот материал для получения функциональных производных и в качестве сырья для кислотного гидролиза.

Методом гомогенного ацетилирования из «белой гнили» древесины березы был получен аце-

тат со степенью замещения $\gamma = 13_4$ и свободной кислотностью 0,32 %, хорошо растворимый в этилацетате (рис. 8).

Кроме того, обработкой монохлорацетатом натрия в щелочной среде из микродревесины была получена Na-карбоксиметилцеллюлоза с выходом 92,5 % и степенью замещения $\gamma = 4_5$, на 46,3 % растворимая в холодной воде.

Методом кислотного гидролиза «белой гнили» древесины березы 1%-м раствором серной кислоты была получена гидроцеллюлоза с выходом 76 %, а при ее обработке 72%-й серной кислотой — глюкоза с выходом 38,7 %, что в 1,5 раза превышает ее выход при гидролизе здоровой древесины.

Ранее предложенные методы использования древесины с «белой гнилью» подразумевали либо искусственное культивирование грибов «белой гнили» на массивной древесине с использованием климатических камер, либо использование ферментативных систем грибов «белой гнили» и обработку ими измельченной древесины. И первый, и второй способы недостаточно эффективны вследствие того, что проницаемость даже сильно измельченной древесины для ферментных препаратов грибов «белой гнили» ограничивается только поверхностными слоями древесины в связи с затруднительным проникновением крупных макромолекул ферментов в ее глубинные слои. Применение автоклавных технологий культивирования грибов «белой гнили» на массивной древесине — трудозатратный и достаточно медленный процесс.

Наиболее эффективно проникновение ферментов грибов «белой гнили» с помощью гифов, их продуцирующих и доставляющих в глубинные слои древесины. Однако базидиомицеты «белой гнили» невозможно культивировать на измельченной древесине с разрушенной анатомией, необходимой для развития грибов. Поэтому использование микологически делигнифицированной древесины березы в естественных условиях имеет ряд преимуществ благодаря возможности регулирования глубины миколиза.

В природных условиях древесина березы подвергается комплексному действию многих видов грибов, одни из которых подготавливают условия для заселения других видов. Этого трудно добиться в искусственных условиях вследствие изменения химического состава срубленной древесины, отсутствующие компоненты в которой служили питанием для микроскопических грибов, подготавливающих древесину к заселению базидиомицетами «белой гнили» в природе.

Интенсивность заражения грибами «белой гнили» можно увеличить искусственно, распыляя суспензию их спор над перестойными массивами березняков.

Регулировать глубину делигнификации, а при необходимости полностью приостанавливать этот процесс можно биологическими методами — путем обработки древостоя спорами грибов, продуцирующих токсины, препятствующие дальнейшей деятельности грибов «белой гнили».

Введением низкомолекулярных продуктов миколиза лигнина, например, ватрового спирта, можно снижать уровень воздействия ферментов грибов «белой гнили» на целлюлозу, а регулировать глубину ее декристализации и деполимеризации — обработкой инфицированного участка древостоя растворами глюкозы разной концентрации.



Рис. 8. Ацетат, полученный из «белой гнили» древесины березы

Fig. 8. Acetate obtained from the «white rot» of birch wood

Таким образом, природная делигнификация древесины березы является наиболее интенсивной, экологически чистой и комплексной «биотехнологией» подготовки данного древесного сырья к использованию.

Выводы

1. Биоделигнификацию древесины искусственным инфицированием грибами «белой гнили» или ее обработкой ферментными препаратами можно применять в качестве предварительной обработки, предшествующей ее химической делигнификации.

2. Природную древесину с «белой гнилью» на ранних стадиях миколиза можно использовать в качестве оригинального декоративного материала, а на поздних — в качестве волокнистого полуфабриката и химического сырья.

3. Природная биоделигнификация древесины является основой перспективной, экологически чистой биотехнологии использования некондиционного древесного сырья.

Список литературы

- [1] Кононов Г.Н., Вережкин А.Н., Сердюкова Ю.В., Зайцев В.Д. Миколиз древесины, его продукты и их использование. I. Экологические аспекты микологического разрушения древесины // Лесной вестник / Forestry Bulletin, 2020. Т. 24. № 2. С. 81–87. DOI: 10.18698/2542-1468-2020-2-81-87
- [2] Семенкова И.Г. Фитопатология. Дереворазрушающие грибы, гнили и патологические окраски древесины. М.: МГУЛ, 2008. 72 с.
- [3] Дудкин М.С., Громов В.С., Ведерников Н.А., Каткевич Р.Г., Чернов Н.К. Гемиллюлозы. Рига: Зинатне, 1991. 488 с.

- [4] Родионова Н.А., Тиунова Н.А., Феникова Р.В. Целлюлолитические ферменты *Geotrichum Candium* // Докл. АН СССР. Серия: Биохимия, 1974. Т. 214. № 5. С. 1206–1209.
- [5] Синицин А.П., Гусаков А.В., Черноглазов В.М. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов. М.: Изд-во МГУ, 1995. 219 с.
- [6] Leonowicz A., Matuszewska A., Luterek J. Biodegradation of lignin by white rot fungi // *Fungal Genet. Biol.*, 1999, v. 27, pp. 175–185.
- [7] Кононов Г.Н. Химия древесины и ее основных компонентов. М.: МГУЛ, 2005. С. 138.
- [8] Озолина Н.Р., Сергеева В.Н., Абрамович И.Л. Аналитические и химические изменения древесины березы, пораженной грибами белой гнили // *Изв. АН ЛатССР*, 1987. № 12. С. 45–52.
- [9] Кононов Г.Н. Химия древесины и ее основных компонентов. М.: МГУЛ, 1999. 247 с.
- [10] Piontek K., Smith A.T., Blodig W. Lignin peroxidase structure and function // *Biochem. Soc. Trans.*, 2001, v. 29, pp. 111–116.
- [11] Александрова О.Н. Совершенствование биологической отбелки сульфитной целлюлозы // *Химия древесины*, 1993. №4. С. 14–17.
- [12] Александрова Г.П., Медведева С.А., Бабкин В.А., Соловьев В.А., Малышева О.Н. Исследование некоторых факторов, влияющих на ферментативную активность гриба *Phanerachaete Saguinea* // *Химия древесины*, 1993. № 4. С. 55–60.
- [13] Голова Л.К. Новое целлюлозное волокно лиоцелл // *Российский химический журнал*, 2002. Т. XLVI. № 1. С. 49–57.
- [14] Ахменова З.Д. Лигнолитические, ксиланолитические, целлюлолитические ферменты некоторых базидальных грибов их взаимосвязь в разложении лигноцеллюлозы. Ташкент: Изд-во АН Республики Узбекистан, Институт микробиологии, 1999. 42 с.
- [15] Екабсоне Я., Крейцберг З.Н., Сергеева В.Н., Кишбаум И.З. Исследование энзиматически разрушенной древесины // *Химия древесины*, 1978. № 2. С. 61–64.
- [16] Harvey P.J., Floris R., Lundell T. Catalytic mechanisms and regulation of lignin peroxidase // *Biochem. Soc. Trans.*, 1992, v. 20, pp. 345–349.
- [17] Соловьев В.А. Кинетика микогенного разложения основных компонентов древесины // *Труды 4-й Междунар. конф. «Фундаментальные исследования в области комплексного использования древесины»*. Рига: Зинатне, 1982. С. 53–55.
- [18] Озолина Н.Р. Анатомические и химические изменения древесины березы, пораженной грибами белой гнили // *Изв. АН ЛатССР*, 1987. № 12. С. 45–52.
- [19] Соловьев В.А., Малышева О.Н., Малева И.Л., Саплин В.И. Изменение химического состава древесины под действием лигнина разрушающих грибов // *Химия древесины*, 1985. № 6. С. 94–100.
- [20] 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.
- [21] Blanchette R.A. Manganese accumulation in wood decayed by white rot fungi // *Phytopathology*, 1984, v. 74, pp. 153–160.
- [22] Болобова А.В., Аскадский А.А., Кондращенко В.И., Рабинович М.Л. Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Книга 2. Ферменты, модели, процессы. М.: Наука, 2002. С. 344.
- [23] D'Souza T.M., Merritt C.S., Reddy C.A. Lignin-modifying enzymes from the white-rot basidiomycete *Ganoderma lucidum* // *Abstracts of the 96th General Meeting of the American Society for Microbiology*. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1996, p. 432.
- [24] Клягина Ю.П., Смирнов И.В., Стручкова А.Н., Трофимов А.Н. Биодеструкция лигнина из древесно-стружечных плит микроскопическими грибами // *Химия растительного сырья*, 2005. № 4. С. 41–44.
- [25] Тютиков С.С., Петри В.Н. Использование гнилостных процессов для облагораживания древесного сырья при производстве древесных пластиков // *Превращение древесины при энзиматическом и микробиологическом воздействиях*. Рига: Зинатне, 1985. С. 209–213.
- [26] Озолина Н.Р., Сергеева В.Н., Хохолко С.В., Абрамович Ц.Л. Изменение лигнина древесины березы при поражении ее грибом *Coriolus Hirsutus* // *Химия древесины*, 1988. № 4. С. 74–79.
- [27] Казарцев И.А., Рошин В.И., Соловьев В.А. Разложение углеводов древесины *Populus Tremula* и *Picea Abies* под действием лигнина разрушающих грибов // *Микология и фитопатология*, 2014. Т. 48. № 2. С. 112–117.
- [28] Aguiar A., Gavioli D., Ferraz A. Extracellular activities and wood component losses during *Pinus taeda* biodegradation by the brown-rot fungus *Gloeophyllum trabeum* // *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2013, v. 82, no. 8, pp. 187–191.
- [29] Nakazawa T., Izuno A., Horii M. Effects of *pex1* disruption on wood lignin biodegradation, fruiting development and the utilization of carbon sources in the white-rot Agaricomycete *Pleurotus ostreatus* and non-wood decaying Coprinopsis cinerea // *Fungal Genetics and Biology*, 2017, v. 82, no. 12, pp. 7–15.
- [30] Wen Xu J., Dong Ding Y., Li Li S., Mao R. Amount and biodegradation of dissolved organic matters leached from tree branches and roots in subtropical plantations of China // *Forest Ecology and Management*, 2021, v. 484, no. 3, pp. 11–28.
- [31] Билай В.И. Трансформация целлюлозы грибами. Киев: Наукова думка, 1982. 295 с.
- [32] Luginina A.A., Kuznetsov S.V., Alexandrov A.A., Gainutdinov R.V., Petukhov D.I., Voronov V.V., Chernova E.V., Fedorov P.P. High lignin content cellulose nanofibrils obtained from thermomechanical pulp // *Nanosystems: Physics, Chemistry, Mathematics*, 2022, t. 13, no. 6, pp. 698–708.
- [33] Bouslimi B., Koubaa A., Bergeron Y. Effects of biodegradation by brown-rot decay on selected wood properties in eastern white cedar (*Thuja occidentalis* L.) // *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2014, v. 87, pp. 87–98.
- [34] Ovejero-Pérez A., Rigual V., Domínguez J.C., Alonso M.V., Oliet M., Rodriguez F. Acidic depolymerization vs ionic liquid solubilization in lignin extraction from eucalyptus wood using the protic ionic liquid 1-methylimidazolium chloride // *International J. of Biological Macromolecules*, 2020, v. 157, pp. 461–469.
- [35] Eller F.J., Kirker G.T., Mankowski M.E., Hay W.T., Palmquist D.E. Effect of burgundy solid extracted from Eastern Red Cedar heartwood on subterranean termites and Wood-decay fungi // *Industrial Crops and Products*, 2020, v. 144, pp. 112–123.
- [36] Du H., Cheng Ju, Wang M., Tian M., Yang X., Wang Q. Red dye extracted sappan wood waste derived activated carbons characterization and dye adsorption properties // *Diamond and Related Materials*, 2020, v. 102, pp. 107–146.

Сведения об авторах

Кононов Георгий Николаевич — канд. техн. наук, доцент ФГБОУ ВО «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)» (Мытищинский филиал), академик РАЕН, ученый секретарь секции «Химии и химической технологии древесины» РХО им. Д.И. Менделеева, kononov@mgul.ac.ru

Липаткин Владимир Александрович — канд. биол. наук, доцент, ФГБОУ ВО «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)» (Мытищинский филиал), lipatkin@mgul.ac.ru

Петухов Владимир Алексеевич — студент, ФГБОУ ВО «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)» (Мытищинский филиал), Porovivviv24@gmail.com

Федорова Мария Вячеславовна — студент, ФГБОУ ВО «Московский государственный технический университет имени Н.Э. Баумана (национальный исследовательский университет)» (Мытищинский филиал), fdrv.mary@mail.ru

Поступила в редакцию 11.10.2023.

Одобрено после рецензирования 05.03.2024.

Принята к публикации 24.05.2024.

WOOD MYCOLYSIS, ITS PRODUCTS AND THEIR USES

VI. «WHITE ROT» OF WOOD AS A FIBROUS SEMI-FINISHED PRODUCT AND CHEMICAL RAW MATERIALS

G.N. Kononov[✉], N.L. V.A. Lipatkin, V.A. Petukhov, M.V. Fedorova

BMSTU (Mytishchi branch), 1, 1st Institutsкая st., 141005, Mytishchi, Moscow reg., Russia

kononov@mgul.ac.ru

The article is devoted to the consideration of possible ways of using wood with «white rot» as a natural product enriched with a carbohydrate component. The results of the study of the process of preliminary delignification and deresining of wood using lignin-destroying fungi or their enzyme systems with the aim of its further use for the production of technical pulps and their refining are presented. Researches on the use of mycologically destroyed wood as a fibrous semi-finished product and ornamental material are given. The possibility of obtaining products from wood with «white rot» by its homogeneous acetylation, carboxymethylation and acid hydrolysis has been studied. This article is the sixth in a series «Wood mycolysis, its products and their use», previous publications in the journal «Lesnoy vestnik / Forestry Bulletin»: 2020, vol. 24, no. 2, no. 6; 2021, vol. 25, no. 1, no. 5; 2022, vol. 26, no. 4.

Keywords: biodelignification, deresining, bleaching, marble pattern, acetylation, hydrolysis

Suggested citation: Kononov G.N., Lipatkin V.A., Petukhov V.A., Fedorova M.V. *Mikoliz drevesiny, ego produkty i ikh ispol'zovanie. VI. «Belaya gnil'» drevesiny kak voloknistyy polufabrikat i khimicheskoe syr'e* [Mycolysis of wood, its products and their uses. VI. «White rot» of wood as a fibrous semi-finished product and chemical raw materials]. *Lesnoy vestnik / Forestry Bulletin*, 2024, vol. 28, no. 4, pp. 118–129. DOI: 10.18698/2542-1468-2024-4-118-129

References

- [1] Kononov G.N., Verevkin A.N., Serdyukova Yu.V., Zaitsev V.D. *Mikoliz drevesiny, ego produkty i ikh ispol'zovanie. I. Ekologicheskie aspekty mikologicheskogo razrusheniya drevesiny* [Wood mycolysis, its products and their use. I. Ecological aspects of mycological wood destruction]. *Lesnoy vestnik / Forestry Bulletin*, 2020, vol. 24, no. 2, pp. 81–87. DOI: 10.18698/2542-1468-2020-2-81-87
- [2] Semenkova I.G. *Fitopatologiya. Derevorazrushayushchie griby gnili i patologicheskie okraski drevesiny* [Plant pathology. Wood-destroying fungi, rot and pathological stains of wood]. Moscow: MGUL, 2008, 72 p.
- [3] Dudkin M.S., Gromov V.S., Vederenikov N.A., Katkevich R.G., Chernov N.K. *Gemitsellyulozy* [Hemicelluloses]. Riga: Zinatne, 1991, 488 p.
- [4] Rodionova N.A., Tiuonova N.A., Feniksova R.V. *Tsellyuloliticheskie fermenty Geotrichum Candidum* [Cellulolytic Enzymes of Geotrichum Candidum]. Dokl. AN SSSR. Ser. Biokhimiya [Report of the USSR Academy of Sciences. Biochemistry series], 1974, v. 214, no. 5, pp. 1206–1209.
- [5] Sinitin A.P., Gusakov A.V., Chernoglazov V.M. *Biokonversiya lignotsellyuloznykh materialov* [Biocoversation of Lignocellulosic Materials]. Moscow: MGU, 1995, 219 p.

- [6] Leonowicz A. Biodegradation of lignin by white rot. *Fungal Genet. Biol.* 1999, v. 27, pp. 175–185.
- [7] Kononov G.N. *Himiya drevesiny i ee osnovnykh komponentov. Laboratorniy praktikum* [Chemistry of Wood and Its Main Components. Laboratory Workshop]. Moscow: MGUL, 2005, 138 p.
- [8] Ozolinya N.R., Sergeeva V.N., Abramovich I.L. *Analiticheskie i khimicheskie izmeneniya drevesiny berezy, porazhennoy gribami beloy gnili* [Analytical and Chemical Changes in Birch Wood Affected by Fungi of White Rot]. *News the Academy of Sciences of the Latvian SSR*, 1987, no. 12, pp. 45–52.
- [9] Kononov G.N. *Himiya drevesiny i ee osnovnykh komponentov* [Chemistry of Wood and Its Main Components]. Moscow: MGUL, 1999, 247 p.
- [10] Piontek K., Smith A.T., Blodig W. Lignin peroxidase structure and function. *Biochem. Soc. Trans.*, 2001, v. 29, pp. 111–116.
- [11] Aleksandrova O.N. *Sovershenstvovanie biologicheskoy otbelki sul'fitnoy tsellyulozy* [Improvement of Biological Bleaching of Sulfite Cellulose] *Khimiya drevesiny* [Wood chemistry], 1993, no. 4, pp. 14–17.
- [12] Aleksandrova G.P., Medvedeva S.A., Babkin V.A., Solov'ev V.A., Malysheva O.N. *Issledovanie nekotorykh faktorov, vliyayushchikh na fermentativnuyu aktivnost' griba Phanerachaete Saguinea* [Study of some factors influencing the enzymatic activity of the fungus *Phanerachaete Saguinea*]. *Khimiya drevesiny* [Wood chemistry], 1993, no. 4, pp. 55–60.
- [13] Golova L.K. *Novoe tsellyuloznoe volokno liotsell* [New Cellulose Fiber Lyocell], 2002, v. XLVI, no. 1, pp. 49–57.
- [14] Akhmenova Z.D. *Lignoliticheskie, ksilanoliticheskie, tsellyuloliticheskie fermenty nekotorykh bazidal'nykh gribov ikh vzaimosvyaz' v razlozhenii lignotsellyulozy* [Lignolytic, xylanolytic, cellulolytic enzymes of some basidial fungi and their relationship in the decomposition of lignocellulose], Tashkent: Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Institute of Microbiology, 1999, 42 p.
- [15] Ekabsone Ya., Kreysberg Z.N., Sergeeva V.N., Kirshbaum I.Z. *Issledovanie enzimaticheskoi razrushennoy drevesiny* [Study of Enzymatically Destroyed Wood]. *Khimiya drevesiny* [Wood chemistry], 1978, no. 2, pp. 61–64.
- [16] Harvey P.J., Floris R., Lundell T. Catalytic mechanisms and regulation of lignin peroxidase. *Biochem. Soc. Trans.*, 1992, v. 20, pp. 345–349.
- [17] Solov'ev V.A. *Kinetika mikogennogo razlozheniya osnovnykh komponentov drevesiny* [Kinetics of Fungal Decay of Wood Components]. *Trudy 4-y mezhdunarodnoy konferentsii «Fundamental'nye issledovaniya v oblasti kompleksnogo ispol'zovaniya drevesiny»* [Proceedings of the 4th international conference «Fundamental research in the field of integrated use of wood»]. Riga: Zinatne, 1982, pp. 53–55.
- [18] Ozolinya N.R. *Anatomicheskie i khimicheskie izmeneniya drevesiny berezy, porazhennoy gribami beloy gnili* [Anatomical and Chemical Changes in Birch Wood Affected by White Rot Fungi]. *News the Academy of Sciences of the Latvian SSR*, 1987, no. 12, pp. 45–52.
- [19] Solov'ev V.A., Malysheva O.N., Maleva I.L., Saplin V.I. *Izmenenie khimicheskogo sostava drevesiny pod deystviem lignin razrushayushchikh gribov* [Changes in the Chemical Composition of Wood Under the Action of Lignin-Destroying Fungi]. *Khimiya drevesiny* [Wood chemistry], 1985, no. 6, pp. 94–100.
- [20] Rabinovich M.L., Bolobova A.V., Kondrashchenko V.I. *Teoreticheskie osnovy biotekhnologii drevesnykh kompozitov. Kn. 1. Drevesina i razrushayushchie ee griby* [Theoretical Foundations of Wood Composites Biotechnology. Book 1. Wood and Its Destructive Fungi]. Moscow: Nauka, 2001, 264 p.
- [21] Blanchette R.A. Manganese accumulation in wood decayed by white rot fungi. *Phytopathology*, 1984, v. 74, pp. 153–160.
- [22] Bolobova A.V., Askadskiy A.A., Kondrashchenko V.I., Rabinovich M.L. *Teoreticheskie osnovy biotekhnologii drevesnykh kompozitov. Kniga 2. Fermenty, modeli, protsessy* [Theoretical Foundations of Wood Composites Biotechnology. Book 2. Enzymes, Models, Processes]. Moscow: Nauka, 2002, 344 p.
- [23] D'Souza T.M., Merritt C.S., Reddy C.A. Lignin-modifying enzymes from the white-rot basidiomycete *Ganoderma lucidum*. Abstracts of the 96th General Meeting of the American Society for Microbiology. American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1996, p. 432.
- [24] Klyagina Yu.P., Smirnov I.V., Struchkova A.N., Trofimov A.N. *Biodestruktsiya lignina iz drevesno-struzhechnykh plit mikroskopicheskimi gribami* [Biodestruction of Lignin from Wood-Chipboards by Microscopic Fungi]. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of plant materials] 2005, no. 4, pp. 41–44.
- [25] Tyutikov S.S., Petri V.N. *Ispol'zovanie gnilotnykh protsessov dlya oblagorazhivaniya drevesnogo syr'ya pri proizvodstve drevesnykh plastikov* [Using Decay Processes for Processing Wood Raw Materials in the Production of Wood Plastics]. *Prevrashchenie drevesiny pri enzimaticheskoy i mikrobiologicheskoy vozdeystviyakh* [Transformation of wood under enzymatic and microbiological influences]. Riga: Zinatne, 1985, pp. 209–213.
- [26] Ozolinya N.R., Sergeeva V.N., Khokholko S.V., Abramovich Ts.L. *Izmenenie lignina drevesiny berezy pri porazhenii ee gribom Coriolus Hirsutus* [Changes in lignin in birch wood when it is infected with the fungus *Coriolus Hirsutus*]. *Khimiya drevesiny* [Wood Chemistry], 1988, no. 4, pp. 74–79.
- [27] Kazartsev I.A., Roshchin V.I., Solov'ev V.A. *Razlozhenie uglevodov drevesiny Populus Tremula i Picea Abies pod deystviem ligninrazrushayushchikh gribov* [Decomposition of wood carbohydrates *Populus Tremula* and *Picea Abies* under the influence of lignin-degrading fungi]. *Mikologiya i fitopatologiya* [Mycology and Phytopathology], 2014, t. 48, no. 2, pp. 112–117.
- [28] Aguiar A., Gavioli D., Ferraz A. Extracellular activities and wood component losses during *Pinus taeda* biodegradation by the brown-rot fungus *Gloeophyllum tradeum*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2013, v. 82, no. 8, pp. 187–191.
- [29] Nakazawa T., Izuno A., Horii M. Effects of *pep1* disruption on wood lignin biodegradation, fruiting development and the utilization of carbon sources in the white-rot Agaricomycete *Pleurotus ostreatus* and non-wood decaying *Coprinopsis cinerea*. *Fungal Genetics and Biology*, 2017, v. 82, no. 12, pp. 7–15.
- [30] Wen Xu J., Dong Ding Y., Li Li S., Mao R. Amount and biodegradation of dissolved organic matters leached from tree branches and roots in subtropical plantations of China. *Forest Ecology and Management*, 2021, v. 484, no. 3, pp. 11–28.
- [31] Bilay V.I. *Transformatsiya tsellyulozy gribami* [Transformation of cellulose by fungi]. Kyiv: Naukova Dumka, 1982, 295 p.
- [32] Luginina A.A., Kuznetsov S.V., Alexandrov A.A., Gainutdinov R.V., Petukhov D.I., Voronov V.V., Chernova E.V., Fedorov P.P. High lignin content cellulose nanofibrils obtained from thermomechanical pulp. *Nanosystems: Physics, Chemistry, Mathematics*, 2022, t. 13, no. 6. C. 698–708.

- [33] Bouslimi B., Koubaa A., Bergeron Y. Effects of biodegradation by brown-rot decay on selected wood properties in eastern white cedar (*Thuja occidentalis* L.). *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2014, v. 87, pp. 87–98.
- [34] Ovejero-Pérez A., Rigual V., Domínguez J.C., Alonso M.V., Oliet M., Rodríguez F. Acidic depolymerization vs ionic liquid solubilization in lignin extraction from eucalyptus wood using the protic ionic liquid 1-methylimidazolium chloride. *International J. of Biological Macromolecules*, 2020, v. 157, pp. 461–469.
- [35] Eller F.J., Kirker G.T., Mankowski M.E., Hay W.T., Palmquist D.E. Effect of burgundy solid extracted from Eastern Red Cedar heartwood on subterranean termites and Wood-decay fungi. *Industrial Crops and Products*, 2020, v. 144, pp. 112–123.
- [36] Du H., Cheng Ju, Wang M., Tian M., Yang X., Wang Q. Red dye extracted sappan wood waste derived activated carbons characterization and dye adsorption properties. *Diamond and Related Materials*, 2020, v. 102, pp. 107–146.

Authors' information

Kononov Georgiy Nikolaevich ✉ — Cand. Sci. (Tech.), Associate Professor of the BMSTU (Mytishchi branch), Academician of the Russian Academy of Natural Sciences, the Scientific Secretary of section «Chemistry and engineering chemistry of wood» RHO of D.I. Mendeleev, kononov@mgul.ac.ru

Lipatkin Vladimir Aleksandrovich — Cand. Sci. (Biology), Associate Professor of the BMSTU (Mytishchi branch), lipatkin@mgul.ac.ru

Petukhov Vladimir Alekseevich — student of the BMSTU (Mytishchi branch), Popovivviv24@gmail.com

Fedorova Mariya Vyacheslavovna — student of the BMSTU (Mytishchi branch), fdrv.mary@mail.ru

Received 11.10.2023.

Approved after review 05.03.2024.

Accepted for publication 24.05.2024.

Вклад авторов: все авторы в равной доле участвовали в написании статьи

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Authors' Contribution: All authors contributed equally to the writing of the article

The authors declare that there is no conflict of interest