ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ ИНСТИТУТ ХИМИИ ТВЕРДОГО ТЕЛА И МЕХАНОХИМИИ СИБИРСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

БЫЧКОВ АЛЕКСЕЙ ЛЕОНИДОВИЧ

МЕХАНОХИМИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА ПРИРОДНЫХ ПОЛИМЕРОВ И ЕЁ ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Специальность: 02.00.21 – Химия твёрдого тела

Диссертация на соискание ученой степени
доктора химических наук

Научный консультант:
доктор химических наук, профессор
Ломовский Олег Иванович

Новосибирск – 2020

Оглавление

Введение....4
Глава 1. Обзор литературы....26
1.1. Структура и свойства основных полимеров, входящих в состав природного сырья....26
1.2. Структурообразующая функция полимеров природного сырья....40
1.3. Физико-химические параметры, отвечающие за реакционную способность полимеров природного сырья....46
1.4. Методы увеличения реакционной способности полимеров природного сырья. Механохимические методы....55
1.5. Механохимические аппараты, используемые для измельчения и активации полимеров природного сырья....75
Заключение по главе 1....91
Глава 2. Используемые в работе материалы и методы исследования....92
Глава 3. Фундаментальные аспекты механохимической переработки природных полимерных материалов....102
3.1. Денатурация и разрыв цепи белков при механическом и термическом воздействии....102
3.2. Влияние химического состава на свойства природных полимерных материалов....120
3.3. Влияние механической активации на свойства поверхности природных полимерных материалов....134
3.4. Влияние механической активации на кристаллическую структуру частично упорядоченных природных полимеров....144
3.5. Влияние механической активации на супрамолекулярную организацию полимеров в природном сырье....165
3.6. Механохимические реакции, протекающие с участием полифенольных полимеров (на примере окисления гуминовых кислот)....176
Заключение по главе 3....191
Глава 4. Прикладные аспекты механохимической переработки природных полимерных материалов....195
4.1. Механохимическое получение твердого порошкового топлива с различной дисперсностью и химическим составом....195
4.2. Механически активированный ферментативный гидролиз полимеров растительного сырья212
4.3. Механически активированный ферментативный гидролиз полимеров биомассы дрожжей221
4.4. Механохимическое получение модифицированных гуминовых кислот и сорбентов на их основе....241
4.5. Практическое использование результатов исследования....255
4.6. Применение полученных результатов в учебном процессе....261
Заключение по главе 4....262

Заключение 265
Список литературы 269
Благодарности 297
ПРИЛОЖЕНИЕ А 298
ПРИЛОЖЕНИЕ Б 300

Введение

Ниже приведена общая характеристика работы, обоснована ее актуальность, приведены формулировки цели и задач исследований, представлены теоретическая и практическая значимость, научная новизна работы, сформулированы защищаемые положения.

Актуальность темы исследования

В настоящее время в областях химии, связанных с химической технологией, наблюдается рост интереса к использованию в уже существующих и вновь разрабатываемых технологических процессах возобновляемого сырья – молекул-платформ, получаемых из полимеров природного происхождения [Melero, 2016; Luterbacher, 2014; Bomtempo, 2017; Han, 2017; Taran, 2018]. Например, гидролизом полимерных углеводов можно получить глюкозу – одну из наиболее распространенных молекул-платформ – и тем самым открыть путь к синтезу широкого спектра востребованных продуктов [Galbe, 2002; Lynd, 2002; Taherzadeh, 2008; Makarova, 2014; Kuznetsov, 2018; Talebi, 2019]. Постепенный переход на возобновляемые типы сырья активно поддерживается на законодательном уровне разных стран. Так, комиссия Евросоюза поставила цель к 2020 году до 20 % энергии получать из возобновляемых источников [Pacesila, 2016]. Правительство Российской Федерации стремится достичь сопоставимых показателей (к 2030 году производить из возобновляемых источников до 100 миллиардов киловатт*часов электроэнергии в год) [Tynkkynen, 2014]. Активно проводится государственная политика по обеспечению населения РФ продуктами питания, обогащенными функциональными добавками из возобновляемого растительного сырья, содержащего биологически активные вещества: витамины, пищевые волокна, антиоксиданты, нейрорегуляторы, микроэлементы.

Для достижения поставленных целей идёт поиск новых видов полимерного сырья, создаются новые процессы его переработки [Su, 2015; Markin, 2015; Bazarnova, 2017; Gaurav, 2017; Brinkman, 2017; Levdansky, 2018; Gismatulina, 2018; Thangavelu, 2018]. В ряде случаев проводится модернизация и расширение сферы применения классических методов. Для разных регионов мира подбирается подходящее природное сырьё, включая биомассу произрастающих в регионе растений, невостребованные отходы сельского хозяйства, вторичное использование полимеров городского мусора, биомассу быстрорастущих растений [Klass, 2004; Barz, 2011; Tan, 2012; Hussin, 2013; Tarabanko, 2017; Sakovich, 2018]. Проиллюстрирована энергетическая и экологическая эффективность внедрения различных видов биотоплива [Wyman, 1999; Borrion, 2012].

Некоторые технические решения после масштабирования и подбора соответствующих высокопроизводительных аппаратов находят применение на практике. Например, термомеханические процессы выделения лигнина, до недавнего времени применявшиеся в бумажной промышленности, с некоторыми модификациями используются для отделения лигнина от целлюлозы и повышения скорости последующего ферментативного гидролиза, получения биоэтанола и компонентов корма для животных [Larsen, 2008; Barbier, 2011].

Однако экономически эффективная переработка полимеров, а иногда и просто утилизация, растительного сырья осложняется недостатком фундаментальных знаний о протекающих гетерогенных превращениях, ультраструктуре полимеров, о многоуровневой организации растительного сырья, имеющего не только разупорядоченные и реакционноспособные, но и упорядоченные, нуждающиеся в активации фрагменты [Синицын, 1995; Boldyreva, 2013; Politov, 2014].

С точки зрения нагрузки на окружающую среду, наличия на рынке промышленного оборудования и простоты операций для повышения реакционной способности природных полимеров привлекательными выглядят механические методы [Anastas, 2003; Lomovsky, 2011]. Механохимические технологии в большинстве случаев не используют жидкофазные стадии (растворение, перекристаллизация, выщелачивание, упаривание) и получают продукты в твердом порошкообразном состоянии, что сильно упрощает процесс переработки сырья, хранения и транспортировки продуктов.

Увеличение реакционной способности путём механоактивации осуществляется благодаря так называемым активным состояниям твёрдого тела. В настоящее время считается, что релаксация поля механических напряжений, а значит и энергии, переданной материалу, протекает, главным образом, за счет измельчения (образования новой поверхности), упругой и пластической деформации, образования дефектов кристаллической структуры, локального роста давления и температуры, ускорения процессов массопереноса. В ряде случаев механическое нагружение приводит к образованию метастабильных полиморфных модификаций, которые сохраняются и после прекращения механического воздействия [Болдырев, 2006; Balaz 2013; Boldyreva, 2013; Urakaev, 2014 и 2017].

В данной работе проведены исследования процессов, протекающих при механохимической обработке полимеров природного происхождения – белков, углеводов, полифенолов, их комплексов и растительного сырья в целом. Актуальность работы обусловлена необходимостью более глубокого понимания возможностей и ограничений механохимических методов для повышения эффективности их использования в современных технологических процессах переработки природного полимерного сырья.

Высокая степень актуальности развиваемого направления и востребованности конкретных научных результатов работы подтверждается успешным выполнением её различных этапов в рамках грантов и договоров: НИР № 06-10 «Механохимическое получение заменителей кормовых антибиотиков для животных» (руководитель – Бычков А.Л., заказчик - Департамент промышленности, инноваций и предпринимательства мэрии города Новосибирска); ФЦП № 16.512.11.2165 «Исследование биокаталитических механоферментативных реакций деполимеризации и гидролиза полисахаридов в составе непищевого биовозобновляемого сырья» (руководитель – Ломовский О.И., заказчик – Минобрнауки России); НИР № 2165/2 «Разработка рекомендаций для практической реализации новой технологии производства маннанолигосахаридных кормовых препаратов и состава малотоннажной линии для экологически чистой переработки биомассы дрожжей. Наработка экспериментальных партий» (руководитель – Ломовский О.И, заказчик – ООО ПО «Сиббиофарм»); НИР № 06У/01-11 «Изучение физико-химических процессов, протекающих при механической активации и ферментативном гидролизе полимеров биомассы дрожжей» (руководитель – Бычков А.Л., заказчик – ООО «Ветросети»); ОКР «Масштабирование технологии получения и наработка опытной партии экологически чистых заменителей антибиотиков для сельского хозяйства» (руководитель – Бычков А.Л., заказчик – Министерство образования, науки и инновационной политики Новосибирской области); ФЦП № 14.516.11.0048 «Проведение проблемно-ориентированных исследований и разработка технических решений экологически чистых энергоустановок, использующих мелкодисперсное твердое топливо из растительного сырья» (руководитель – Бурдуков А.П., заказчик – Минобрнауки России); НИР № 06У/04-12 «Экспериментальная оптимизация условий механоферментативного гидролиза полимеров биомассы дрожжей, приводящего к получению маннанолигосахаридных препаратов» (руководитель – Бычков А.Л., заказчик – ООО «Ветросети»); НИР № МГ-2016/04/2 «Механохимическое получение новых видов твёрдого биотоплива из возобновляемого растительного сырья» (руководитель – Бычков А.Л., заказчик – НП «Глобальная энергия»); НИР № 16-13-10200 "Контролируемое изменение структуры и состава растительного сырья механохимическими методами для интенсификации экстракции биологически активных соединений" (руководитель – Ломовский О.И., заказчик – РНФ); НИР № 17-73-10223 «Изучение процессов, протекающих при механической активации и ферментативном гидролизе полимеров растительного сырья и направленных на получение низкомолекулярных компонентов функционального питания» (руководитель – Бычков А.Л., заказчик – РНФ); НИР № 18-29-24028 «Научные основы механохимического получения и сжигания композитного порошкового топлива из угля и отходов деревообрабатывающих, целлюлозно-бумажных производств и сельского хозяйства» (руководитель – Ломовский О.И.,

заказчик – РФФИ); НИР № 19-03-00065 «Изучение физико-химических свойств поверхности природных полимеров и композитов на их основе» (руководитель – Бычков А.Л., заказчик – РФФИ), НИР № 19-73-10074 «Энергетические аспекты механохимической переработки полимеров растительного сырья» (руководитель – Бычков А.Л., заказчик – РНФ).

Степень разработанности темы исследования

Механохимические методы хорошо зарекомендовали себя в обработке синтетических полимеров [Симионеску, 1970; Барамбойм, 1971; Радциг, 2004], опубликовано большое количество работ, рассматривающих процессы, происходящие в полимерах и промышленно получаемых композитах при механическом воздействии [Prut, 2009; Tyun'kin, 2011; Akopova, 2012; Drebushchak, 2014; Bazhenov, 2015; Kuznetsov, 2017; Dabral, 2017; Doi, 2017; Sammon, 2017]. Однако в случае переработки полимеров природного происхождения имеет место недостаточная глубина физико-химических исследований, сдерживающая прогресс в данной области. Несмотря на значительное развитие инструментальных методов анализа [Schmidt, 2014; Halasz, 2014; Julien, 2017; Michalchuk, 2018], для описания процессов, протекающих при механохимической переработке природных полимеров, не созданы современные модели, а описываемые в литературе на качественном уровне процессы носят спекулятивный характер, показывающий состояние материала «до» и «после» обработки.

Значительным препятствием для развития механохимических технологий переработки природного полимерного сырья является трудность масштабирования разработок с лабораторного до промышленного уровня, переход к более производительным аппаратам непрерывного действия [Akhtar, 2000; Masarin, 2009]. Большинство исследований в настоящее время проводятся в лабораторном масштабе и нацелены на сверхтонкий помол сырья [Millett, 1979; Lin, 2010; Silva, 2012; Hilgert, 2013; Zhang, 2016; Zhai, 2019], либо достижение максимально возможной реакционной способности полимеров [Alekseeva 1997; Prusov 2002; Mayer-Laigle 2018; Zhang 2019], что позволяет получать новые фундаментальные данные, но с технологической точки зрения невыгодно по энергозатратам [Spence, 2011; Silva, 2012; Kokko, 2012; Ballantyne, 2014]. Такой подход не позволяет чётко сформулировать требования к конструкции (полу-) промышленных аппаратов для механохимической обработки сырья, строение которого крайне осложнено многоуровневой иерархией «растение – ткани растения – клетки – клеточные стенки – супрамолекулярные структуры – полимеры – упорядоченные и разупорядоченные участки» [Raven, 1986].

С позиций химии твёрдого тела, главными факторами, отвечающими за реакционную способность в гетерогенных реакциях, являются: химический состав; свойства вновь образованной поверхности, являющейся границей раздела «твердое тело – жидкость»;

дефектность структуры [Gama 1997; Zhu 2009; Yeh 2010; Hall 2010; Corbett 2018; Li 2018; Wang 2018]. Сведения о более тонких структурных изменениях полимеров и их комплексов, также отвечающих за наблюдаемые эффекты, носят отрывочный и несистемный характер.

Таким образом, изучение процессов, протекающих при механической обработке полимеров природного происхождения, является актуальной и востребованной задачей с точки зрения современной науки и технологии. Знания, получаемые в области изменения структуры и свойств природных полимеров, востребованы в химии твёрдого тела и необходимы для решения прикладных задач современной химической технологии.

Объект и предмет исследований

Объектами исследований являются полимеры и композитные материалы природного происхождения (белки, углеводы, полифенолы, их супрамолекулярные комплексы, растительное сырьё в целом).

Предметом исследований являются физико-химические превращения, происходящие в природных полимерах, их супрамолекулярных комплексах и материалах при механохимической обработке в лабораторных, полупромышленных и промышленных условиях.

Цель и задачи исследований

Целью работы являлось изучение физико-химических процессов, протекающих при механохимической обработке твердофазных полимеров природного происхождения, их супрамолекулярных комплексов и материалов на их основе, а также создание технологий механохимической переработки природного полимерного сырья в востребованные продукты.

Для достижения цели решался ряд задач:

1. Изучить физико-химические процессы, происходящие в природных полимерах, их супрамолекулярных комплексах и биологических материалах при механохимической обработке в лабораторных, полупромышленных и промышленных условиях.

2. Изучить влияние химического состава, свойств поверхности, кристаллической и супрамолекулярной структуры углеводных, белковых и полифенольных полимеров на их реакционную способность в гетерогенных реакциях, следующих за механохимической обработкой.

3. Определить условия механохимической обработки белковых макромолекул, обеспечивающие устойчивость белков, и приводящие к образованию реакционноспособных композитов с углеводными полимерами и растительным сырьём в целом.

4. Изучить недиффузионное перераспределение полимеров в супрамолекулярной структуре растительного сырья в процессе термомеханической обработки. Выявить роль механического воздействия в совокупном термомеханическом процессе.

5. Изучить процесс механохимического гидролиза бета-глюкана в присутствии ограниченного количества воды. Выдвинуть предположение о механизме, выявить роль механического воздействия в совокупном механохимическом процессе.

6. Исследовать механизм окислительной механохимической модификации гуминовых кислот при твердофазной обработке бурого угля с перкарбонатом натрия. Определить условия, при которых реализуется механизм радикального окисления, обусловленный наличием пероксида водорода в кристаллической структуре окислителя.

7. Реализовать на полупромышленном и промышленном уровне способы механохимической переработки природного полимерного сырья в востребованные продукты: компоненты биотоплива, заменители синтетических антибиотиков, комплексные сорбенты тяжелых металлов.

Научная новизна работы

- С помощью комплекса современных химических и инструментальных методов были впервые изучены физико-химические процессы (изменение морфологии, ультраструктуры, химического состава, свойств поверхности, кристаллической структуры), происходящие в природных полимерах, их супрамолекулярных комплексах и биологических материалах при механохимической обработке в лабораторных, полупромышленных и промышленных условиях.

- Впервые было систематически изучено влияние механохимической обработки на ультраструктурную организацию природных полимеров. Изучено влияние разупорядочения супрамолекулярной структуры природных полимеров на их реакционную способность в реакциях ферментативного гидролиза.

- Предложен механизм недиффузионного удаления лигнина из супрамолекулярной структуры материала в процессе термомеханической обработки растительного сырья. Выдвинуто предположение о ключевой роли механического воздействия в совокупном термомеханическом процессе.

- Впервые определены условия совместной механической обработки гидролитических ферментов и природного полимерного сырья, обеспечивающие устойчивость ферментов и приводящие к образованию реакционноспособных композитов.

- Впервые осуществлён механоферментативный гидролиз глюкана клеточных стенок, протекающий в присутствии ограниченного количества воды. Предложен автолокализационный механизм протекающего процесса.

- Впервые исследован механизм механохимической модификации структуры гуминовых кислот при обработке бурого угля с перкарбонатом натрия. Установлен вклад в твердофазную реакцию щелочной и пероксидной составляющей перкарбоната натрия. Определены условия, при которых реализуется механизм радикального окисления, обусловленный наличием пероксида водорода в структуре перкарбоната натрия.

- Впервые предложены и реализованы на полупромышленном и промышленном уровне способы механохимической переработки природного полимерного сырья в востребованные продукты: биологически активные маннанолигосахаридные заменители антибиотиков из дрожжевой биомассы, компоненты высоколигнифицированного порошкового биотоплива из растительного сырья, модифицированные гуминовые кислоты из бурого угля, комплексные сорбенты состава *«лигноцеллюлозное ядро – гуминовая оболочка»* из растительного сырья и бурого угля.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы заключается в расширении фундаментальных знаний о природе физико-химических процессов, происходящих в природных полимерах (белках, углеводах и полифенолах), их супрамолекулярных комплексах и реальных материалах при механохимической обработке в лабораторных, полупромышленных и промышленных условиях.

Практическая значимость работы: результаты исследований вносят вклад в область прикладной механохимии, занимающейся переработкой полимеров природного сырья в востребованные продукты: сорбенты техногенных загрязнений, компоненты биотоплива, добавки к кормам животных, компоненты продуктов питания человека.

Конкретные практические результаты диссертационной работы:

1) разработана технология механохимического получения из полимеров биомассы дрожжей экологически чистых маннанолигосахаридных заменителей кормовых антибиотиков; результаты исследований защищены патентами РФ и внедрены на ООО ПО «Сиббиофарм» (г. Бердск), получаемые продукты испытаны на сельскохозяйственных животных;

2) разработана технология механохимического получения компонентов порошкового биотоплива из высоколигнифицированного растительного сырья; образцы испытаны на 5 МВт огневом стенде Института теплофизики СО РАН и признаны пригодными для использования в качестве топлива для вихревых горелок, внедрение которых позволит повысить эффективность работы серийно выпускаемых газо-мазутных котлов (например, котёл «ДЕ–10–14 ГМ» Бийского котельного завода);

2) разработана технология механохимического получения из бурого угля и механохимически обработанной лигноцеллюлозы ряда гуминсодержащих порошкообразных

продуктов, обладающих высокой сорбционной и почвовосстанавливающей активностью; результаты исследований защищены патентом РФ, а продукты испытаны в натурных условиях, в том числе при очистке пластовых вод метаноугольных скважин ООО «Газпром добыча Кузнецк» (г. Кемерово) и в рекультивации поврежденных почв вдоль крупных автомагистралей (г. Новосибирск);

3) разработана технология механохимического гидролиза белковых и углеводных полимеров растительного сырья в биологически доступные компоненты продуктов питания специального, лечебно-профилактического и функционального назначения; результаты исследований защищены патентами РФ и используются на кафедре Технологии и организации пищевых производств НГТУ при разработке новых продуктов питания, а также в образовательном процессе;

4) установленные для целлюлозолитических ферментов пределы термической и механохимической стабильности использованы на ООО ПО «Сиббиофарм» (г. Бердск) для корректировки технологических условий получения препарата «ЦеллоЛюкс-А».

Методология и методы исследования

Для исследования физико-химических процессов, протекающих при механохимической обработке полимеров и композитных материалов природного происхождения, использовали ряд объектов, характеризующихся различиями в химическом составе, морфологии и строении: порошковую целлюлозу, бета-глюкан и лигнин; искусственно полученные композиты из полимеров природного происхождения; биомассу растений (например, солому пшеницы, тростника и кукурузы, пустые гроздья масличных пальм, шелуху риса и т.п.) дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*); ферментные препараты, обладающие целлюлазной, протеазной и амилазной активностью. Для механохимической обработки использовались лабораторные (ножевая, щековая и планетарные мельницы, аттритор, дезинтегратор, центробежно-роликовая мельница), полупромышленные (дезинтегратор, молотковая, центробежно-роликовая и центробежно-эллиптическая мельницы) и промышленные (дезинтегратор, центробежно-роликовая и пневматическая мельницы) аппараты.

При выполнении работы использовали ресурсы и оборудование ИХТТМ СО РАН, НГУ, НГТУ, Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН, Института неорганической химии СО РАН, Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, Института ветеринарии Сибири и Дальнего Востока СО РАСХН, Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор», Института катализа им. Г.К. Борескова, Всероссийского научно-исследовательского института физиологии, биохимии и питания животных (г. Боровск, Россия). Для изучения морфологии и

ультраструктуры объектов исследования использовали оптический микроскоп «Leica DM 2500» (Германия), сканирующий электронный микроскоп Hitachi TM-1000 Tabletop Microscope (Япония) и просвечивающие электронные микроскопы «Hitachi H-600» и «Jem-1400» (Япония). Дифракционные исследования проводили с помощью рентгеновских дифрактометров D8 ADVANCE (Bruker AXS, Германия) и ДРОН-3 (Россия). Обработку рентгенограмм по методу Ритвельда проводили в программе TOPAS 4.2 (Bruker, Германия). Для определения концентрации низкомолекулярных и высокомолекулярных веществ использовали хроматографы «Миллихром А-02» (колонка с неподвижной фазой Nucleosil C-18) и «Agilent 1200» (колонки с неподвижной фазой PL-aquagel-OH 30 и PL-aquagel-OH 40), соответственно. Спектры в УФ-видимом диапазоне длин волн регистрировались на спектрофотометре «Unico 2800». Спектры ^{13}C-ЯМР исследуемых образцов были получены с помощью спектрометра «DRX-500 Bruker» на частоте 125,76 МГц. Элементный анализ проводился при помощи анализатора "Euro EA 3000" (Италия), микроэлементный анализ осуществлялся при помощи атомно-эмиссионного спектрометра PGS-2 (Karl Zeiss, Германия). Определение концентрации тяжелых металлов осуществлялось при помощи атомно-эмиссионного спектрометра с индуктивно связанной плазмой "iCAP 6000" (США). При анализе кислотно-основных свойств изучаемых веществ использовался pH-метр "Анион 4100" (Россия) с комбинированным электродом "Mettler Toledo InLab 409/120" (Швейцария). Доверительные интервалы значений измеряемых величин были рассчитаны для доверительной вероятности 0,95.

Положения, выносимые на защиту

1. Особую роль в механохимическом увеличении реакционной способности полимеров растительного сырья играет не только рост удельной площади поверхности и снижение кристалличности, но и более тонкие структурные и ультраструктурные изменения – перераспределение полимеров по объёму и на поверхности частиц.

2. В процессе термомеханического воздействия на растительное сырьё происходит недиффузионное выделение лигнина на поверхность частиц, при этом ключевую роль в перераспределении лигнина играет механическое воздействие.

3. При осуществлении механоферментативного гидролиза глюкана клеточных стенок в условиях ограниченного количества воды реализуется автолокализационный механизм процесса, в котором клетки, разрушенные на стадии механической активации, играют роль центров локализации гидролиза.

4. Определены условия совместной механической обработки гидролитических ферментов и природного полимерного сырья, обеспечивающие устойчивость ферментов и приводящие к образованию реакционноспособных композитов. Данные условия

предусматривают предварительную сорбцию ферментов на аморфизованном сырье и последующую механохимическую обработку в аппаратах, позволяющих контролировать интенсивность механохимического воздействия.

5. В условиях низкого содержания воды роль свободнорадикального окисления является ведущей во взаимодействии органического вещества бурого угля с перкарбонатом натрия.

6. Современные механохимические аппараты применимы для реализации на полупромышленном и промышленном уровне эффективных способов переработки природного полимерного сырья в востребованные продукты: биологически активные маннанолигосахаридные заменители антибиотиков из дрожжевой биомассы, компоненты высоколигнифицированного порошкового биотоплива из растительного сырья, модифицированные гуминовые кислоты из бурого угля, комплексные сорбенты состава *«лигноцеллюлозное ядро – гуминовая оболочка»* из механохимически обработанного растительного сырья и бурого угля.

Соответствие паспорту научной специальности

Диссертация соответствует паспорту специальности 02.00.21 – Химия твёрдого тела – по формуле специальности и следующим пунктам области исследования:

3. Изучение твердофазных химических реакций, их механизмов, кинетики и термодинамики, в том числе зародышеобразования и химических реакций на границе раздела твердых фаз, а также топохимических реакций и активирования твердофазных реагентов;

5. Изучение пространственного и электронного строения твердофазных соединений и материалов;

6. Изучение динамики и диффузии молекул, ионов и атомов в твердофазных соединениях и материалах;

7. Установление закономерностей «состав – структура – свойство» для твердофазных соединений и материалов;

8. Изучение влияния условий синтеза, химического и фазового состава, а также температуры, давления, облучения и других внешних воздействий на химические и химико-физические микро- и макроскопические свойства твердофазных соединений и материалов;

10. Структура и свойства поверхности и границ раздела фаз.

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность представленных результатов диссертационной работы определяется использованием современных методов анализа состава и структуры изучаемых материалов,

воспроизводимостью результатов, применением стандартных методик статистической обработки полученных данных, соответствием результатов, полученных различными методами в контрольных экспериментах, а также согласованностью сделанных выводов с опубликованными в научной литературе современными представлениями о природе процессов, протекающих при механохимической обработке полимеров и композитных материалов природного происхождения.

Результаты работы апробировались и обсуждались на научных семинарах ИХТТМ СО РАН, а также на всероссийских и международных форумах: Научно-практическая конференция с международным участием «Нанотехнологии и наноматериалы для биологии и медицины» (Новосибирск, Россия, 2007); Международная конференция «Техническая химия. От теории к практике» (Пермь, Россия, 2008); Международная конференция «Mechanochemistry and Mechanical Alloying» (Джамшетпур, Индия, 2008); III, IV и V международная конференция «Fundamental Bases of Mechanochemical Technologies» (Новосибирск, Россия, 2009, 2013 и 2018); IV, V, VI и VII Всероссийская конференция «Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья» (Барнаул, Россия, 2009, 2012, 2014 и 2017); Международная конференция «Создание новых материалов для эксплуатации в экстремальных условиях» (Якутск, Россия, 2009); II, IV и VI Российско-Корейская конференция «Current Issues of Natural Products Chemistry and Biotechnology» (Новосибирск, Россия, 2010, 2012 и 2015); Международная конференция «Catalysis for Renewable Sources» (Санкт-Петербург, Россия 2010); Российский семинар с международным участием «Горячие точки химии твёрдого тела: химия молекулярных кристаллов и разупорядоченных фаз» (Новосибирск, Россия, 2010); Всероссийская научно-практическая конференция «Лесной и химический комплексы – проблемы и решения» (Красноярск, Россия, 2010); Международная научно-практическая конференция «XXXIX Неделя науки СПбГПУ» (Санкт-Петербург, Россия, 2010); IV, V и VII Международная конференция «Физикохимия растительных полимеров» (Архангельск, Россия, 2011, 2013 и 2017); VII и VIII Международная конференция по механохимии и механохимическому сплавлению “INCOME” (Herceg Novi, Montenegro, 2011 и Cracow, Poland, 2014); XIII Международная конференция “YUCOMAT 2011” (Herceg Novi, Montenegro, 2011); IV Всероссийская конференция по химической технологии «Химическая технология» (Москва, Россия, 2012); VII Международная научно-техническая конференция «Современные проблемы экологии» (Тула, Россия, 2012); X научно-практическая конференция с международным участием «Технологии и продукты здорового питания. Функциональные пищевые продукты» (Москва, Россия, 2012); Международный научный форум «Пищевые инновации и биотехнологии» (Кемерово, Россия, 2013); II Международный симпозиум по зеленой химии “Renewable Carbon and Eco-efficient Processes” (La Rochelle, France, 2013); I международный форум «Возобновляемая энергетика. Пути повышения энергетической и экономической

эффективности REENFOR-2013» (Москва, Россия, 2013); Национальный конгресс по энергетике (Казань, Россия, 2014); VI Всероссийская научная конференция с международным участием «Гуминовые вещества в биосфере» (Сыктывкар, Россия, 2014); Всероссийская конференция «Новые материалы и технологии в условиях Арктики» (Якутск, Россия, 2014); II Всероссийская конференция с международным участием «Горячие точки химии твёрдого тела: механизмы твердофазных процессов» (Новосибирск, Россия, 2015); IX и X Всероссийская конференция с международным участием «Горение топлива: теория, эксперимент, приложения» (Новосибирск, Россия, 2015 и 2018); V Международная конференция-школа по химической технологии (Волгоград, Россия, 2016); III Международная научно-практическая конференция «Интеллектуальные информационные и коммунальные технологии – средство осуществления третьей индустриальной революции в свете стратегии «Казахстан-2050» (Астана, Казахстан, 2016); IX, XI и XII Всероссийская научно-практическая конференция студентов, аспирантов и молодых учёных с международным участием «Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности» (Бийск, Россия, 2016, 2018 и 2019); XIII Международная научная конференция «Молодежь в науке – 2016» (Республика Беларусь, Минск, 2016); VII Всероссийской научно-практической конференции «Добыча, подготовка, транспорт нефти и газа» (Томск, Россия, 2016); XI семинар «Термодинамика и материаловедение» (Екатеринбург, Россия, 2016); XIIX International Conference of International Humic Substances Society (Kanazawa, Japan, 2016); III Международная Российско-Казахстанская научно-практическая конференция «Химические технологии функциональных материалов» (Новосибирск, Россия, 2017); XXXIII «Сибирский теплофизический семинар» (Новосибирск, Россия, 2017); Международный симпозиум «Power and chemical engineering» (Sofia, Bulgaria, 2018); Всероссийская конференция «Химия твердого тела и функциональные материалы» (Санкт-Петербург, Россия, 2018); Международная научная конференция “Энерго-ресурсоэффективность в интересах устойчивого развития» (Томск, Россия, 2018).

Личный вклад автора

Диссертационная работа обобщает результаты теоретических и экспериментальных исследований, проведенных непосредственно автором и в сотрудничестве с коллегами в период с 2004 по 2019 гг. Личный вклад автора заключается в постановке целей и задач исследований, участии в планировании и проведении экспериментов, анализе полученных закономерностей, обработке и обобщении результатов, формулировке выводов и подготовке рукописей публикаций.

Электронно-микроскопическое исследование образцов проводилось совместно с д.б.н. Е.И. Рябчиковой (ИХБФМ СО РАН). Рентгенофазовый анализ проведен совместно с к.ф.-м.н. Н.В. Булиной (ИХТТМ СО РАН). Определение содержания водорастворимых форм кремния проводилось совместно с к.х.н. Е.Г. Шаполовой (ИХТТМ СО РАН). Анализ полимеров эксклюзионной гель-хроматографией проводился совместно с к.х.н. Деменковой Л.И. (ИХТТМ СО РАН). Испытание гуминовых сорбентов проводилось совместно с к.х.н. Смоляковым Б.С. (ИНХ СО РАН). Термический анализ проводился к.х.н. Герасимовым К.Б. (ИХТТМ СО РАН). Диэлектрическая проницаемость определялась к.х.н. Улихиным А.С. (ИХТТМ СО РАН). Запись ЯМР спектров и элементный анализ проводились к.х.н. Тиховой В.Д. (НИОХ СО РАН), ИК спектры регистрировались Дерябиной Ю.М. (НИОХ СО РАН).

Эксперименты по механохимической модификации структуры гуминовых кислот, а также по получению гуминовых сорбентов проводились под руководством соискателя аспирантом Скрипкиной Т.С. (ИХТТМ СО РАН). Изучение механоферментативной обработки высоколигнифицированного растительного сырья, включая цикл работ по дифракционным исследованиям структуры целлюлозы, проводилось под руководством соискателя аспирантом Подгорбунских Е.М. (ИХТТМ СО РАН). Влияние механической активации на гидролиз белков, содержащихся в растительном сырье; конструирование композитов, состоящих из полимеров растительного происхождения; эксперименты по масштабированию механохимических технологий получения гуминовых кислот и хелатированных форм кремния проводилось под руководством Бычкова А.Л. студентами: Орловым Д.В (НГУ), Ивановым И.В. (НГУ), Манузиной Г.М. (НГТУ) и Ивановой В.В. (НГТУ).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 73 работы, из них 40 статей в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах данных *Web of Science*/*Scopus*, а также журналах, входящих в список ВАК, 1 монография и 2 главы в монографиях, 30 статей в прочих изданиях.

Получено 9 патентов Российской Федерации на изобретения.

Структура и объем работы

Диссертация состоит из введения, четырёх глав, заключения, списка литературы из 448 наименований и двух приложений. Общий объем диссертации составляет 301 страницу, включая 150 рисунков и 58 таблиц.

Публикации, в которых представлены основные результаты диссертационной работы

Монографии и главы в монографиях:

1. Уразова, Т. С. Механохимическое получение гуминовых сорбентов тяжёлых металлов : в монографии: Экология Российской Федерации: обзор проблем, динамики, текущего состояния и перспектив / Т. С. Уразова, А. Л. Бычков, О. В. Шуваева, О. И. Ломовский. – Пермь: Изд-во ООО «Стиль-МГ» по заказу ФГБУ «Центральное бюро информации Минприроды России», 2013. – С. 132-150. ISBN 978-5-8131-0120-5

2. Lomovsky, O. Mechanical Pretreatment / O. Lomovsky, A. Bychkov, I. Lomovsky // In: S. I. Mussatto (Ed.) Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery, Elsevier, 2016. – Pp. 23–55. ISBN: 9780128023235

3. Аширова, Н. Н. Разработка новых рецептур и технологий, оценка качества и пищевой ценности продукции из нетрадиционного сырья : монография / Н. Н. Аширова, Е. С. Бычкова, А. Л. Бычков, О. В. Дерюшева, С. М. Карпачева, О. И. Ломовский, И. О. Ломовский, И. В. Мацейчик, Л. Н. Рождественская. – Новосибирск: изд-во НГТУ, 2018. – 232 с. ISBN 978-5-7782-3787-2

Статьи в рецензируемых научных изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science/Scopus, а также журналах, входящих в список ВАК:

1. Podgorbunskikh, E.M. The effect of thermomechanical pretreatment on the structure and properties of lignin-rich plant biomass / E. M. Podgorbunskikh, A. L. Bychkov, E. I. Ryabchikova, O. I. Lomovsky // Molecules. – 2020. – V. 25. – P. 995.

2. Dome, K. Changes in the crystallinity degree of starch having different types of crystal structure after mechanical pretreatment / K. Dome, E. Podgorbunskikh, A. Bychkov, O. Lomovsky // Polymers. – 2020. – V. 12. – P. 641.

3. Podgorbunskikh, E. M. Determination of surface accessibility of the cellulose substrate according to enzyme sorption / E. M. Podgorbunskikh, A. L. Bychkov, O. I. Lomovsky // Polymers. – 2019. – V. 11. – N. 7. – # 1201.

4. Bychkov, A. Current achievements in the mechanically pretreated conversion of plant biomass / A. Bychkov, E. Podgorbunskikh, E. Bychkova, O. Lomovsky // Biotechnology and Bioengineering. – 2019. – V. 116. – N. 5. – P. 1231-1244.

5. Gavrilova, K.V. Mechanically activated hydrolysis of plant-derived proteins in food industry / K. V. Gavrilova, A. L. Bychkov, E. S. Bychkova, Z. A. Akimenko, A. A. Chernonosov, Y. A. Kalambet, O. I. Lomovskii // Food and Raw Materials. – 2019. – V. 7. N. 2. – P. 255-263.

6. Skripkina, T. S. Changes in phytoplankton production after the introduction of heavy metals into ecosystem with subsequent cleaning by humic sorbent / T. S. Skripkina, A. L. Bychkov, B. S. Smolyakov, O. I. Lomovsky // Water Resources. – 2019. – V. 46. – N. 2. – P. 242-248.

7. Abdikerimova, G. B. The analysis of textural images on the basis of orthogonal transformations / G. B. Abdikerimova, F. A. Murzin, A. L. Bychkov, X. Wei, E. I. Ryabchikova, T. Ayazbayev // Journal of Theoretical and Applied Information Technology. – 2019. – V. 91. – N. 1. – P. 15-22.

8. Podgorbunskikh, E. M. Revisiting the thermal recrystallization of mechanically amorphized lignocellulose / E. M. Podgorbunskikh, A. L. Bychkov, N. V. Bulina, O. I. Lomovsky // IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. – 2019. – V. 479. – N. 1. – # 012005.

9. Bychkov, A. L. Fractionation and hydrolysis of proteins of plant raw materials obtaining functional nutrition products / A. L. Bychkov, K. V. Gavrilova, E. S. Bychkova, Z. A. Akimenko, A. A. Chernonosov, Y. A. Kalambet, O. I. Lomovskii // IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. – 2019. – V. 479. – N. 1. – # 012001.

10. Bychkov, A. L. The role of mechanical action in the process of the thermomechanical isolation of lignin / A. L. Bychkov, E. M. Podgorbunskikh, E. I. Ryabchikova, O. I. Lomovsky // Cellulose. – 2018. – V. 25. – N. 1. – P. 1-5.

11. Skripkina, T. S. Mechanochemically oxidized brown coal and the effect of its application in polluted water / T. S. Skripkina, A. L. Bychkov, V. D. Tikhova, B. S. Smolyakov, O. I. Lomovsky // Environmental Technology and Innovation. – 2018. – V. 11. – P. 74-82.

12. Burdukov, A. P. The effective use of straw crops as feedstock for the complex processing into biofuel / A. P. Burdukov, O. I. Lomovsky, A. L. Bychkov, M. Yu. Chernetskiy, G. V. Chernova // Journal of Siberian Federal University. Engineering and Technologies. – 2018. – V.11. – N. 2. – P. 229-241.

13. Скрипкина, Т. С. Твердофазные механохимические реакции гуминовых кислот бурого угля с перкарбонатом натрия / Т. С. Скрипкина, А. Л. Бычков, В. Д. Тихова, О. И. Ломовский // Химия твердого топлива. – 2018. – № 6. – С. 16-20.

14. Подгорбунских, Е.М. Разупорядочение кристаллической структуры целлюлозы при механической активации / Е. М. Подгорбунских, Н. В. Булина, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Журнал структурной химии. – 2018. – Т. 59:1 – С. 204-211.

15. Abdikerimova, G. B. Software tools for cell walls segmentation in microphotography / G. B. Abdikerimova, F. A. Murzin, A. L. Bychkov, J. Tussupov, S. Khayrulin, W. Xinyu, E. I. Rybchikova // Journal of Theoretical and Applied Information Technology. – 2018. – V. 96. – N. 15. – P. 4783-4793.

16. Trofimova, E. G. Scaling of the mechanochemical process of production of silicon chelates / E. G. Trofimova, E. M. Podgorbunskikh, T. S. Skripkina, A. L. Bychkov, O. I. Lomovsky // Bulgarian Chemical Communications. – 2018. – V. 50. – N. K. – P. 45-48.

17. Подгорбунских, Е. М. Изменения структуры полимеров клеточной стенки при термомеханическом воздействии на высоколигнифицированное растительное сырьё / Е. М. Подгорбунских, Е. И. Рябчикова, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Доклады Академии наук. – 2017. – Т. 473. – № 2. – С. 181-184.

18. Ушаков, Д. Е. Получение топливных брикетов из неиспользуемых материалов растительного происхождения / Д. Е. Ушаков, Д. В. Карелин, А. Л. Бычков, О. П. Коробейничев, А. Г. Шмаков // Химия твёрдого топлива. – 2017. –№ 4. – С. 46-50.

19. Бычков, А. Л. Современные достижения в механоферментативной переработке растительного сырья / А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Химия растительного сырья. – 2017. – № 2. – С. 35-47.

20. Bychkov, A. Mechanochemical modification of the composition and structure of plant raw materials to control the combustion of alternative fuel / A. Bychkov, E. Podgorbunskikh, T. Skripkina, A. Burdukov, O. Lomovsky // MATEC Web of Conferences. – 2017. – V. 115. – P. 06003.

21. Bychkov, A. L. Prediction of higher heating values of plant biomass from ultimate analysis data / A. L. Bychkov, A. I. Denkin, V. D. Tikhova, O. I. Lomovsky // Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. – 2017. – V. 130. – P. 1399-1405.

22. Подгорбунских, Е. М. Предобработка рисовой лузги в полупромышленной мельнице для последующего ферментативного гидролиза / Е. М. Подгорбунских, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Катализ в промышленности. – 2016. – № 2. – С. 57-61.

23. Подгорбунских, Е. М. Механическая активация ферментативного гидролиза высоколигнифицированного растительного сырья / Е. М. Подгорбунских, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Химия в интересах устойчивого развития. – 2016. – Т. 24:2 – С. 269-275.

24. Бычков, А. Л. Механически активированный ферментативный гидролиз дрожжевой биомассы / А. Л. Бычков, Е. И. Рябчикова, К. Г. Королёв, Т. Ф. Ломовская, О. И. Ломовский // Катализ в промышленности. – 2016. – Т. 16. – № 3. – С. 76-83.

25. Lomovsky, O. Mechanochemical production of lignin-containing powder fuels from biotechnology industry waste: A review / O. Lomovsky, A. Bychkov, I. Lomovsky, V. Logvinenko, A. Burdukov // Thermal Science. – 2015. – V. 19. –N. 1. – P. 219-229.

26. Бухтояров, В. А. Влияние лигноцеллюлозного субстрата на денатурацию ферментов при совместной механической активации / В. А. Бухтояров, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2015. – № 4. – С. 948-951.

27. Бычков, А. Л. Стабилизация целлюлозолитических ферментов сорбцией на поверхности растительного сырья / А. Л. Бычков, В. А. Бухтояров, О. И. Ломовский // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2015. – № 5. – С. 1189-1191.

28. Уразова, Т. С. Сорбционная ёмкость лигноцеллюлозных материалов по отношению к гуминовым кислотам / Т. С. Уразова, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2015. – № 5. – С. 1183-1188.

29. Smolyakov, B. S. Humic-modified natural and synthetic carbon adsorbents for the removal of Cd(II) from aqueous solutions / B. S. Smolyakov, A. K. Sagidullin, A. L. Bychkov, I. O. Lomovsky, O. I. Lomovsky // Journal of Environmental Chemical Engineering. – 2015. – V. 3. – N. 3. – P. 1939-1946.

30. Уразова, Т. С. Механохимическая модификация структуры гуминовых кислот бурого угля для получения сорбента тяжёлых металлов / Т. С. Уразова, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Журнал прикладной химии. – 2014. – Т. 87: 5. – С. 664-668.

31. Bychkov, A. L. Mechanical pretreatment of corn straw in a centrifugal roller mill / A. L. Bychkov, V. A. Buchtoyarov, O. I. Lomovsky // Cellulose Chemistry and Technology. – 2014. – V. 48. – N. 5-6. – P. 545-551.

32. Бычков, А. Л. Расчёт теплоты сгорания лигноцеллюлозы на основании данных элементного анализа / А. Л. Бычков, А. И. Денькин, В. Д. Тихова, О. И. Ломовский // Химия растительного сырья. – 2014. – № 3. – С. 99-104.

33. Сагидуллин, А. К. Сорбция ионов кадмия из водных растворов на нанопористых модифицированных углеродных сорбентах / А. К. Сагидуллин, Б. С. Смоляков, Л. М. Левченко, А. А. Галицкий, А. Л. Бычков // Журнал прикладной химии. – 2013. – Т. 86. – № 12. – С. 1919-1924.

34. Bychkov, A.L. Ultrastructural changes of cell walls under intense mechanical treatment of selective plant raw material / A.L. Bychkov, E.I. Ryabchikova, K.G. Korolev, O.I. Lomovsky // Biomass and Bioenergy. – 2012. – V. 47. – P. 260-267.

35. Шаполова, Е. Г. Механическая активация процесса ферментативного осахаривания углеводов рисовой шелухи / Е. Г. Шаполова, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Химия в интересах устойчивого развития. – 2012. – Т. 20. – №5. – С. 639-644.

36. Бычков, А. Л. Денатурация целлюлозолитических ферментов в присутствии воды / А. Л. Бычков, В. А. Бухтояров, О. И. Ломовский // Химия в интересах устойчивого развития. – 2011. – № 19. – С. 479-483.

37. Бычков, А. Л. Изменения клеточной стенки при механической активации растительной и дрожжевой биомассы / А. Л. Бычков, К. Г. Королев, Е. И. Рябчикова, О. И. Ломовский // Химия растительного сырья. – 2010. – № 1. – С. 49-56.

38. Бычков, А. Л. Влияние механической обработки на активность целлюлозолитического препарата / А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Журнал прикладной химии. – 2010. – Т. 83. – № 6. – С. 1051-1053.

39. Bychkov, A. L. Obtaining mannanoligosaccharide preparations by means of the mechanoenzymatic hydrolysis of yeast biomass / A. L. Bychkov, K. G. Korolev, O. I. Lomovsky // Applied Biochemistry and Biotechnology. – 2010. – V. 162. – P. 2008-2014.

40. Бычков, А. Л. Изменение супрамолекулярной структуры клеточной стенки Saccharomyces cerevisiae при механоферментативной обработке / А. Л. Бычков, Е. И. Рябчикова, К. Г. Королев, О. И. Ломовский // Химия в интересах устойчивого развития. – 2009. – № 5. – С. 479-486.

Патенты:

1. Пат. 2406516 C1 Российская Федерация, МПК A61K 36/064, A61P 1/00. Профилактический антибактериальный препарат и способ его получения / О. И. Ломовский, К. Г. Королёв, А. Л. Бычков, С. Г. Колдыбаев; заявитель и патентообладатель ООО «Фитолокомотив». – № 2006122130/15; заявл. 09.06.2009; опубл. 20.12.2010, Бюл. № 35. – 13 с.

2. Пат. 2460771 C1 Российская Федерация, МПК C12N 1/12, A23K 1/00, A61K 8/00. Способ извлечения биологически активных веществ из биомассы одноклеточной водоросли рода Chlorella / С. С. Березин, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский; заявитель и патентообладатель С. С. Березин. – № 2011128468/10; заявл. 08.07.2011; опубл. 10.09.2012, Бюл. № 25. – 8 с.

3. Пат. № 2504384 Российская Федерация, МПК A61K 31/715, A61K 31/716, A61K 36/06. Способ получения водорастворимых фракций маннопротеинов и бета-глюкана / А. Л. Бычков, О. И. Ломовский; заявитель и патентообладатель ИХТТМ СО РАН. – № 2011146264/15; заявл. 14.11.2011; опубл. 20.01.2014, Бюл. № 2. – 12 с.

4. Пат. 2514408 C1 Российская Федерация, МПК C13K 1/02. Способ ферментативного осахаривания лигноцеллюлозных материалов / А. Л. Бычков, О. И. Ломовский; заявитель и правообладатель ИХТТМ СО РАН. – № 2012136770/13; заявл. 28.08.2012; опубл. 27.04.14, Бюл. № 12. – 10 с.

5. Пат. 2528747 C1 Российская Федерация, МПК A61K36/064, A61P1/00, C12N1/16. Способ получения препарата для профилактики инфекций пищеварительного тракта у сельскохозяйственной птицы и препарат, полученный способом / А. Л. Бычков, О. И. Ломовский, М. А. Ефимов, Т. Ф. Ломовская; заявитель и патентообладатель ООО «Сиббиофарм». – № 2013124385/10; заяв. 27.05.2013; опубл. 20.09.2014, Бюл. № 26. – 10 с.

6. Пат. 2541800 C2 Российская Федерация, МПК B09B 5/00, B82B 3/00, C10B/ 53/02. Способ использования и утилизации соломы злаковых культур / А. П. Бурдуков, А. Л. Бычков,

О. И. Ломовский, В. И. Попов, Ю. С. Попов; заявитель и патентообладатель ИТ СО РАН. – № 2013132236/13; заявл. 11.07.2013; опубл. 20.02.2015, Бюл. № 5. – 11 с.

7. Пат. № 2629774 C1 Российская Федерация, МПК A23K10/04, A23K10/30, A23K50/75. Способ получения кормовой добавки и способ повышения продуктивности сельскохозяйственной птицы с её использованием / М. А. Леонова, В. Ю. Коптев, Н. А. Шкиль, И. С. Онищенко, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский; заявитель и патентообладатель 1. ИХТТМ СО РАН, 2. СФНЦА РАН. – № 2016121333; заявл. 30.06.2016, опубл. 04.09.2017, Бюл. № 25. – 11 с.

8. Пат. № 2639484 C1 Российская Федерация, МПК A61K 31/715, A61K 36/064, A61P 1/00, C12N 9/28. Способ получения препарата для профилактики инфекций пищеварительного тракта у сельскохозяйственной птицы и препарат, полученный способом / А. Л. Бычков, О. И. Ломовский; заявитель и патентообладатель ИХТТМ СО РАН. – № 2016139917; заявл. 10.10.2016; опубл. 21.12.2017, Бюл. № 36. – 15 с.

9. Пат. № 2623475 Российская Федерация, МПК C05F11/02. Способ получения гуминсодержащего порошкообразного продукта на основе бурого угля и продукт, полученный данным способом / Т. С. Скрипкина, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский; заявитель и патентообладатель ИХТТМ СО РАН. – № 2016139851/13, заявл. 10.11.2016; опубл. 26.06.2017, Бюл. 18. – 11 с.

Статьи в прочих изданиях:

1. Бухтояров, В. А. Влияние влажности на эффективность механохимической переработки растительного сырья / В. А. Бухтояров, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский, Е. С. Бычкова // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2017. – № 7. – С. 16-19.

2. Бычков, А.Л. Изменения влажности продуктов механохимической обработки из растительного сырья при хранении / А.Л. Бычков, В.А. Бухтояров, Е.М. Подгорбунских, С.Ю. Абрамов, О.И. Ломовский, Е.С. Бычкова // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2016. – № 8. – С. 5-9.

3. Уразова, Т. С. Влияние механохимической обработки бурого угля на молекулярно-массовое распределение гуминовых кислот в его составе / Т. С. Уразова, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Приволжский научный вестник. 2015. – № 10:50 – С. 16-19.

4. Рожанская, О. А. Гуминовый механокомпозит как средство управления морфогенезом нута (Cicer Arietinum L.) in vitro / О. А. Рожанская, О. И. Ломовский, Т. С. Скрипкина, А. Л. Бычков // Успехи современной науки и образования. – 2016. – № 11. – Т. 6. – С.117-121.

5. Бурдуков, А. П. Использование мелкодисперсного лигноцеллюлозного сырья в качестве твёрдого топлива / А. П. Бурдуков, В. А. Попов, М. Ю. Чернецкий, А. А. Дектерев, О. И. Ломовский, А. Л. Бычков // Ползуновский вестник. –2013. – № 4/3. – С. 16-27.

6. Коптев, В. Ю. Влияние кормовой добавки, полученной методом механоферментации гороха, на клеточный иммунитет и продуктивность цыплят / В. Ю. Коптев, И. С. Онищенко, М. А. Леонова, Н. А. Шкиль, Н. Ю. Балыбина, А. Л. Бычков // Ветеринария, Зоотехния и Биотехнология. – 2018. – № 6. – С. 69-75.

7. Бычкова, Е. С. Оценка пищевой ценности хлебцев из нетрадиционных видов муки / Е. С. Бычкова, Д. В. Госман, А. Л. Бычков, З. А. Акименко, О. И. Ломовский, Т. Я. Гусельникова, А. А. Черноносов, Н. Ф. Бейзель // Пищевая промышленность. – 2017. – № 7. – С. 22-25.

8. Рождественская, Л. Н. Выявление сегментов потенциальных потребителей супов-пюре специализированного назначения / Л. Н. Рождественская, В. Д. Погорова, Е. С. Бычкова, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Пищевая промышленность. – 2017. – № 8. – С. 20-25.

9. Бычкова, Е. С. Разработка рецептур супов-пюре на основе горохового гидролизата. Часть I. Механоферментативный гидролиз белкового растительного сырья для получения специализированных продуктов питания / Е. С. Бычкова, А. Л. Бычков, И. В. Иванов, О. И. Ломовский, А. Г. Огиенко // Пищевая промышленность. – 2016. – № 10. – С. 38-42.

10. Бычкова, Е. С. Разработка рецептур супов-пюре на основе горохового гидролизата. Часть II. Оценка качества супов-пюре специализированного назначения / Е. С. Бычкова, В. Д. Погорова, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский, А. Г. Огиенко, Н. Ф. Бейзель, А. П. Зубарева, А. А. Черноносов // Пищевая промышленность. – 2016. – № 11. – С. 50-52.

11. Коптев, В. Ю. Влияние кормового средства, содержащего маннанолигосахариды, на уровень бактерионосительства микроорганизмов рода Salmonella и прирост живой массы сельскохозяйственной птицы / В. Ю. Коптев, Н. А. Шкиль, М. А. Леонова, И. С. Онищенко, Н. Ю. Балыбина, А. Л. Бычков // Достижения науки и техники АПК. – 2015. – Т. 29. – № 1. – С. 46-48.

12. Коптев, В. Ю. Сорбционная активность маннанолигосахаридов в отношении микроорганизмов рода Salmonella в опытах in vitro и in vivo / В. Ю. Коптев, Н. А. Шкиль, М. А. Титова, И. С. Онищенко, Н. Ю. Балыбина, А. Л. Бычков // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2014. – № 2. – С. 47-52.

13. Самошкин, С. П. Супы-пюре лечебно-профилактического назначения с питательными веществами в легкоусвояемой форме / С. П. Самошкин, Е. С. Бычкова, А. Л.

Бычков, О. И. Ломовский, Н. Ф. Бейзель, А. А. Черноносов // Пищевая промышленность. – 2013. – № 8. – С. 26-27.

14. Бычкова, Е. С. Технологические особенности и перспективы использования растительных белков в индустрии питания. Часть 1. Анализ пищевой и биологической ценности высокобелковых продуктов растительного происхождения / Е. С. Бычкова, Л. Н. Рождественская, В. Д. Погорова, Д. В. Госман, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2018. – № 2. – С. 53-57.

15. Рождественская, Л. Н. Систематизация методов получения животных белков на основе особенностей используемых технологических решений и традиционности источников. Часть 1. Анализ динамики производства животных протеинов и существующие вызовы / Л. Н. Рождественская, Е. С. Бычкова, О. С. Даниленко, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Пищевая промышленность. – 2018. – № 10. – С. 15-19.

16. Шкиль, Н. А. Профилактическая эффективность маннаноолигосахаридов при желудочно-кишечных болезнях телят / Н. А. Шкиль, В. Ю. Коптев, М. А. Леонова, Н. Ю. Балыбина, А. Л. Бычков // Достижения науки и техники АПК. – 2017. – Т. 31. – № 2. – С. 63-65.

17. Bychkov, A. L. Thermal and mechanical denaturation of cellulase in solution and in solid phase / A. L. Bychkov, V. A. Buchtoyarov, O. I. Lomovsky // Journal of International Scientific Publications: Materials, Methods and Technologies. – 2011. – V. 5. – N. 1. – P. 4-10.

18. Bychkov, A. L. Perspectives of using yeast biomass mechanochemical hydrolysis for recycling of alcohol industry wastes / A. L. Bychkov, O. I. Lomovsky // Journal of International Scientific Publications: Ecology and Safety. – 2011. – V. 5. – N. 1. – P. 4-11.

19. Shapolova, E. S. Mechanoenzymatic treatment of rice husk / E. S. Shapolova, A. L. Bychkov, O. I. Lomovsky // Journal of International Scientific Publications: Materials, Methods and Technologies. – 2012. – V. 6. – N. 1. – P. 196-206.

20. Bychkov, A. L. Mechanoenzymatic hydrolysis of yeast biomass / A. L. Bychkov, E. I. Ryabchikova, O. I. Lomovsky // Journal of International Scientific Publications: Ecology and Safety. – 2012. – V. 6. – N. 1. – P. 25-36.

21. Shapolova, E. S. Mechanochemical processing of agricultural wastes into complex feed additives for animals / E. S. Shapolova, A. L. Bychkov, O. I. Lomovsky // Journal of International Scientific Publications: Ecology and Safety. – 2012. – V. 6. – N. 3. – P. 65-77.

22. Bychkov, A. L. Preparation of silver nanoparticles stabilized with products of mechanoenzymatic hydrolysis of yeast cell walls / A. L. Bychkov, E. I. Ryabchikova, O. I. Lomovsky // Journal of International Scientific Publications: Materials, Methods and Technologies – 2013. – V. 7. – N. 2. – P. 439-446.

23. Бычков, А. Л. Влияние супрамолекулярной структуры полимеров дрожжевых клеточных стенок на их реакционную способность / А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Горячие точки химии твёрдого тела: химия молекулярных кристаллов и разупорядоченных фаз: Тез. докл. Российского семинара с международным участием 4-7 октября 2010 г. – Новосибирск, 2010. – С. 32-33.

24. Бычков, А. Л. Инактивация целлюлазных ферментов при совместной механической обработке с целлюлозным субстратом / А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Лесной и химический комплексы – проблемы и решения: Сб. статей по материалам Всероссийской научно-практической конференции с международным участием 21-22 октября 2010 г. – Красноярск, 2010. – Т. 2. – С. 50-53.

25. Бычков, А. Л. Изучение агрегационной устойчивости наночастиц серебра и создание антимикробных препаратов на их основе / А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // XXXIX Неделя науки СПбГПУ: Материалы Международной научно-практической конференции 6-11 декабря 2010 г. – Санкт-Петербург, 2010. – Т. XVI. – С. 48-49.

26. Бычков, А. Л. Электронномикроскопическое изучение изменений структуры клеточных стенок растений и одноклеточных дрожжей при механической активации / А. Л. Бычков, Е. И. Рябчикова, О. И. Ломовский // Физикохимия растительных полимеров: Сб. материалов IV Международной конференции 14-17 июня 2011 г. – Архангельск, 2011. – С. 87.

27. Бычков, А. Л. Механохимия в комплексной переработке биовозобновляемого сырья / А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Химическая технология: Сб. тезисов докладов IV Всероссийской конференции по химической технологии 18-23 марта 2012 г. – Москва, 2012. – Т. 1. – С. 33-35.

28. Бычков, А. Л. Микромеханика измельчения лигноцеллюлозных материалов / А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: Тез. докл. Материалы V Всероссийской конференции с международным участием 24-26 апреля 2012 г. – Барнаул, 2012. – С. 376-378.

29. Бычков, А. Л. Возможности механохимической переработки растительного сырья с точки зрения концепции зеленой химии / А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Новые материалы и технологии в условиях Арктики: Материалы международного симпозиума 25-27 июня 2014 г. – Якутск, 2014. – С. 249-253.

30. Бычков, А. Л. Влияние лигноцеллюлозного субстрата на стабильность целлюлозолитических ферментов при совместной механической обработке / Бычков А. Л., В. А. Бухтояров, О. И. Ломовский // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности: Материалы IX Всероссийской научно-практической конференция 18-20 мая 2016 г. – Бийск, 2016. – С. 210-212.

Глава 1. Обзор литературы

Ниже представлен обзор современной научной и научно-технической литературы, касающейся предмета исследования диссертационной работы. Особое внимание уделено структуре и физико-химическим свойствам природных полимеров, а также методам обработки, позволяющим управлять реакционной способностью веществ природного происхождения. Проведено сравнение механохимических аппаратов, имеющих, по мнению автора, наибольший потенциал в измельчении и активации полимеров природного сырья.

1.1. Структура и свойства основных полимеров, входящих в состав природного сырья

Возобновляемое природное сырье обладает сложным составом и строением, отличительной особенностью которого является наличие клеток, ограниченных специализированной композитной структурой – клеточной стенкой. Растительная, грибная и микробная клеточные стенки обеспечивают механическую прочность и определяет морфологию ткани, защищают от патогенов, факторов окружающей среды. Одним из немногих биополимеров, материалы, состоящие из которого не имеют клеточного строения, являются гуминовые вещества, которые, тем не менее, являются продуктом химико-биологической трансформации растительного сырья.

Основными компонентами растительной клеточной стенки являются целлюлоза, гемицеллюлозы и лигнин, содержание которых варьируется в зависимости надмолекулярной структуры и вегетативной стадии [Алешина, 2014; McFarlane, 2014,]. В дрожжевой и микробной клеточной стенке содержатся альфа- и бета-глюканы, белки, гликопротеины, хитин. К минорным компонентам, в частности, относят пектины, неорганические вещества, липиды, воска, суберин, мономеры и олигомеры лигнина, структурные ферменты клеточных стенок.

Аморфно-кристаллические углеводные полимеры – целлюлоза и β-глюкан

Целлюлоза является одним из самых распространенных и быстро возобновляемых биополимеров в природе. Синтезировать целлюлозу могут высшие и низшие растения, некоторые водоросли, бактерии и грибы. Основным источником целлюлозы для химической промышленности выступает биомасса различных видов высших растений. С химической точки зрения целлюлоза – линейный гомополимер, состоящий из глюкозы, находящейся в пиранозной форме и соединенной между собой β-1-4-гликозидной связью (Рисунок 1.1). Мономерные

звенья глюкозы повернуты между собой вокруг продольной оси молекулы [Бейнарт, 1972; Горшкова, 2007].

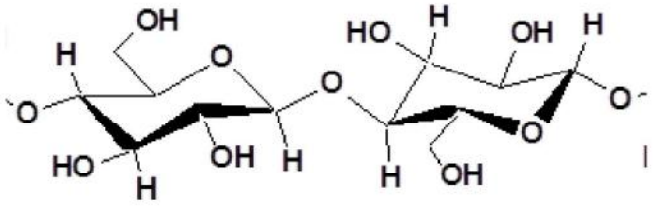


Рисунок 1.1 – Структурная формула димера целлюлозы – целлобиозы.

Целлюлоза из различных растительных источников характеризуются различной степенью полимеризации, в некоторых случаях достигающей 10000-15000, зависящей, в том числе, от фазы роста растения. Для широко применяемой и изученной хлопковой целлюлозы характерны высокие значения степени полимеризации (около 9000), в то время как для травянистых растений данный показатель обычно не превышает 1500.

Целлюлоза обладает многоуровневой структурной организацией, благодаря наличию гидроксильных групп происходит образование внутри- и межмолекулярных водородных связей, которые определяют конформацию макромолекул, формируют кристаллическую структуру, обуславливают физико-химические свойства материалов.

Основываясь на данных, полученных с помощью электронной микроскопии и рентгеноструктурных исследований, были сформулированы многочисленные модели надмолекулярной структуры целлюлозы. Большинство авторов сходятся во мнении, что целлюлоза имеет аморфно-кристаллическое строение [Прусов; 2014]. Предположение о том, что целлюлоза является кристаллическим веществом, впервые было выдвинуто еще в 1858 году Карлом Вильгельмом фон Нэгели. Впоследствии, при помощи рентгеноструктурных исследований Майером и Мишем была предложена модель структуры целлюлозы, в основу пространственной решетки которой был положен элементарный параллелепипед в виде моноклинной ячейки с параметрами a = 8,35 Å; b = 10,38 Å; c = 7,95 Å; β = 84°. Вследствие того, что период элементарной ячейки *b* меньше, чем длина полностью вытянутого целлобиозного остатка, предположили, что он изогнут примерно на 115°. С появлением новых рентгеноструктурных и микроскопических данных, модель Майера-Миша подвергалась критике и уточнялась, появились гипотезы о параллельной и антипараллельной ориентации цепочек.

Простейшим элементом супрамолекулярной структуры целлюлозы являются элементарные фибриллы, содержащие от 600 до 1500 макромолекул. Элементарные фибриллы соединяются между собой водородными связями в более крупные микрофибриллы с диаметром

от 2 до 200 нм и диной примерно 60 нм, которые являются основным структурообразующим элементом супрамолекулярной структуры целлюлозы.

Полимерные цепи целлюлозы формируют упорядоченные (кристаллиты) и разупорядоченные (аморфные) зоны. Кристаллическим участкам присущ трехмерный дальний порядок, который поддерживается за счет межмолекулярных Ван-дер-Ваальсовых сил и водородных связей. В аморфных участках трехмерный дальний порядок отсутствует, наблюдается лишь продольный мотив в направлении цепей. Установлено, что длина кристаллитов варьирует от 20 до 85 нм для искусственных целлюлозных волокон и от 65 до 220 нм для природной (нативной) целлюлозы. Также у целлюлозы из различных источников отличается форма кристаллитов. Природным источникам свойственна анизотропия кристаллитов с отношением длины к ширине 5 к 16, для искусственных волокон (например, для вискозы) нередкой является более сферическая форма с отношением длины к ширине всего 1:3.

К настоящему моменту в литературе описаны шесть полиморфных модификаций целлюлозы, различающихся кристаллической решеткой. Наиболее изученными полиморфами целлюлозы являются природные (нативные) *целлюлоза I* и *целлюлоза II* (позднее в работе [VanderHart, 1984] при изучении нативной *целлюлозы I* методом ЯМР ^{13}C было показано, что все нативные целлюлозы имеет гетерогенную кристаллическую структуру и представляют собой смесь двух кристаллических фаз –*Iα* и *Iβ*). Остальные модификации целлюлозы разделяют на те, которые подобны нативной *целлюлозе I* (III_I, IV_I), и те, которые подобны *целлюлозе II* (III_{II}, IV_{II}). При этом из природной *целлюлозы I* путём различной физико-химической обработки можно получить все остальные полиморфные модификации, различающиеся не только параметрами элементарной ячейки, но и физико-химическими свойствами, например, реакционной способностью. Например, более термодинамически устойчивая *целлюлоза II* может быть получена регенерацией (растворение в кадоксене с последующей кристаллизацией) менее термодинамически устойчивой *целлюлозы I*.

Следующим представителем частично упорядоченных полимеров (подобно целлюлозе) являются комплексы *β-1,3-* и *β-1,6*-глюкана, играющие важную структурообразующую роль в дрожжевых и микробных клеточных стенках.

β-1,3-Глюкан – полимер, состоящий из соединённых *β-1,3*-связью мономеров глюкозы (Рисунок 1.2). Бо́льшая часть его не экстрагируется ни кислотами, ни щелочами [Manners, 1973; Muller, 1997], но селективно гидролизуется ферментами, проявляющими *1,3*-глюканазную активностью [Hunter, 1987; Liu, 1988]. При помощи ^{13}C-ЯМР и химического анализа, было установлено, что *β-1,3*-глюкан уложен в спирали и содержит около 1500 глюкозных мономеров [Krainer, 1994].

β-1,6-Глюкан – полисахарид, который тоже состоит из мономеров глюкозы, но связанных между собой посредством *β-1,6* связи. В среднем, молекула *β-1,6*-глюкана линейна и содержит 130-140 глюкозных мономеров [Manners, 1973].

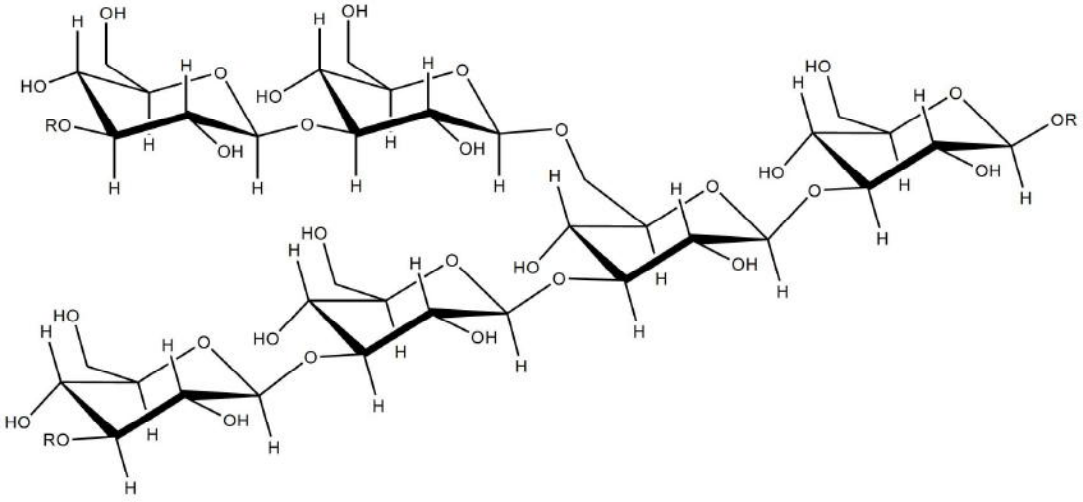


Рисунок 1.2 – Участок молекулы β-1-3-глюкана с 1-6 боковой ветвью [Калебина, 2001].

Комплекс *β-1,3-* и *β-1,6*-глюкана в большей степени, нежели остальные компоненты (хитин, маннопротеины, белки) обеспечивает жёсткость и прочность дрожжевой клеточной стенки, устойчивость её к воздействиям окружающей среды [Smith, 2000; Klis, 2002]. В частности, клетка может терять до 60 % от своего первоначального объёма, а также восстанавливать свои размеры без ущерба для жизнедеятельности [Morris, 1986; Harthmann, 2004].

Устойчивость комплекса *β-1,3-* и *β-1,6*-глюкана к механическим нагрузкам связывают с его структурой. Подобно целлюлозе, данный полимер имеет аморфно-кристаллическую структуру [Kreger, 1975], которая за счёт кристалличных зон придаёт клеточной стенке механическую прочность, а за счёт некоторой доли аморфной части – гибкость и физиологическую функциональность. Большинство исследователей считают, что кристаллические области *β*-глюкана состоят только из *β-1,3*-соединённых глюкозных остатков, а аморфные зоны появляются благодаря *β-1,6*-ответвлениям.

Сравнивая строение комплекса *β*-глюкана и целлюлозы, можно предположить, что при механической обработке в дрожжевой клеточной стенке будут протекать аналогичные процессы, способствующие разупорядочению (аморфизации) структуры *β*-глюкана.

Неупорядоченные углеводные полимеры. Гемицеллюлозы

Гемицеллюлозы, также как целлюлоза, являются углеводным структурообразующим компонентом растительной клеточной стенки, состоящим из целого набора мономеров таких, как глюкоза, ксилоза, галактоза, манноза, арабиноза, а также их производных, соединенных в

основном *β-(1-4)* и *β-(1-3)* гликозидной связью в главной цепи. Гемицеллюлозы, в отличие от целлюлозы, имеют разветвленную структуру (Рисунок 1.3). Боковые цепи присоединяются к основной в *α-* и в *β-* положение *(1-2)*, *(1-3)* и *(1-6)* связями [Азаров, 1999].

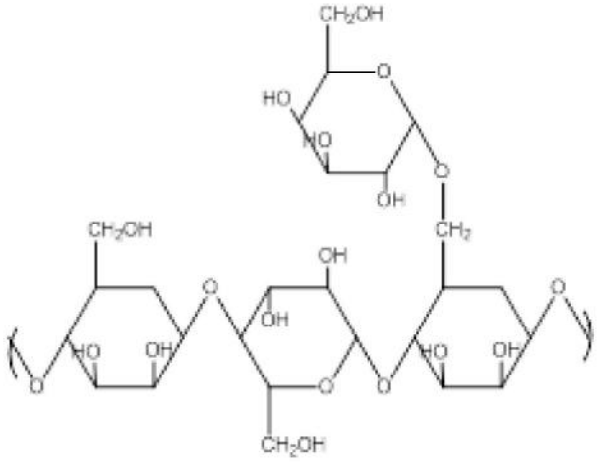


Рисунок 1.3 – Строение гемицеллюлоз на примере фрагмента галактоглюкоманнана.

На основании первичной структуры полимера (состава моносахаридов) выделяют три основных класса гемицеллюлоз: ксиланы (глюкуроноксиланы, арабоксиланы, арабоглюкуроноксиланы), маннаны (глюкоманнаны, галактоглюкоманнаны) и галактаны (арабогалактаны) [Азаров, 1999].

Гемицеллюлозы различаются между собой не только составом мономеров, но и степенью полимеризации, обычно не превышающей 200-300 единиц [Sun, 2004; Thomas, 2011], степенью разветвленности, растворимостью и другими физико-химическими свойствами. Содержание гемицеллюлоз в клеточной стенке растений сильно варьирует и в редких случаях может достигать 50 %. Так, лиственные и хвойные породы древесины содержат 20-30 % и 15-20 % гемицеллюлоз, соответственно [Никитин, 1978].

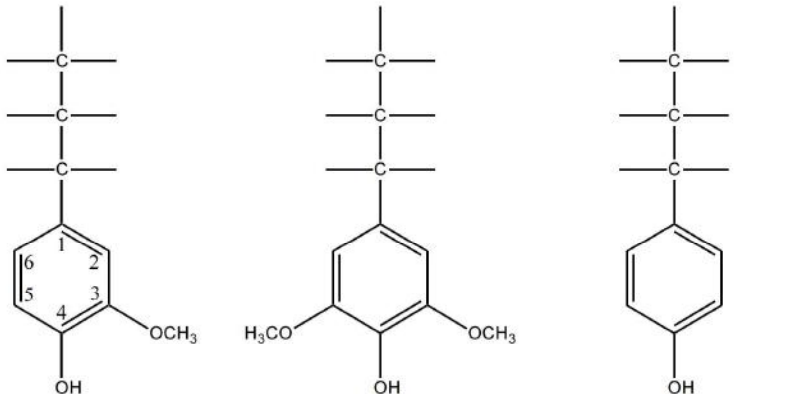
Благодаря разветвленному и нерегулярному строению гемицеллюлозы обладают аморфным строением и не образуют упорядоченных участков, хотя, будучи выделенными в специальных условиях, могут кристаллизоваться. Важная структурообразующая функция гемицеллюлоз состоит в том, чтобы связываться с целлюлозой и лигнином, образуя единый лигноцеллюлозный комплекс.

Полифенольные полимеры – лигнин и гуминовые вещества

Лигнин является одним из наиболее распространённых высокомолекулярных органических веществ, уступая только целлюлозе, при этом, отдельно от целлюлозы в природе не встречается. Содержание лигнина в растениях сильно варьирует в зависимости от вида сырья и фазы его роста (созревания). Так, для хвойных и лиственных пород содержание лигнина

варьирует от 20 до 29 % и от 20 до 28 %, соответственно. Травянистые растения содержат от 5 до 40 % лигнина.

Лигнин – трехмерный гетерополимер, состоящий из трёх фенилпропановых мономеров (Рисунок 1.4): гваяцилпропановых (G-единица), сирингилпропановых (S-единица), n-фенилпропановых (H-единица). У хвойных пород лигнин в основном состоит из гваяцилпропановых, а у лиственных пород – из гваяцилпропановых и сирингилпропановых единиц. Лигнин травянистых и злаковых растений, с материалом которых проведено бо́льшее число экспериментов в данной диссертационной работе, представлен относительно равномерно всеми видами фенилпропановых единиц [Горшкова, 2007; Боголицын, 2010].



а) б) в)

Рисунок 1.4 – Гваяцилпропановая *(а)*, сирингилпропановая *(б)* и n-фенилпропановая *(в)* структурная единица лигнина.

Связывание структурных единиц в лигнине осуществляется эфирными (две трети всех связей) и углерод-углеродными (одна треть) связями. При этом *β-O-4'* связи менее устойчивы, нежели углерод-углеродные, и в большей степени подвергаются разрыву в процессе химической и технологической обработки, например, варки и отбеливания. Содержание свободных фенолов – мономеров и реже олигомеров – обычно не превышает 10 % от общего количества полимера [Bajpai, 2017].

Высокомолекулярные аморфные полимеры, в частности лигнин, при определенных температурах (диапазонах температур) претерпевают фазовые переходы. При температуре ниже точки стеклования в стеклообразном состоянии колебательные движения атомов происходят около положения равновесия, следовательно, движение цепей полимеров практически отсутствует. При расстекловывании осуществляется переход в высокоэластичное состояние, звенья полимера могут осуществлять вращательные колебания, основная цепь полимера получает возможность изгибаться. В дальнейшем, при переходе в вязкотекучее состояние, макромолекулы приобретают способность двигаться как единое целое. Многие исследователи изучали термические свойства компонентов растительной клеточной стенки и

показали снижение температуры стеклования полимеров в присутствии воды. Значения температур стеклования и плавления полимеров варьируют в зависимости от предыстории получения образов и условий проведения эксперимента; лигнин характеризуется следующим диапазоном температурного перехода 121-193°C [Chow, 1971; Kubo, 1996; Ol'hov, 2001].

Исследования лигнина затруднено из-за сложности строения его макромолекул, наличия связей с другими компонентами клеточной стенки, легкостью окисления при выделении и очистке. Однако, развитие методов выделения нативного лигнина позволило исследовать строение, функциональный состав, виды связей между мономерами, физико-химические свойства, реакционную способность и превращения данного полимера. Основными методами, ставшими классическими и позволившими изучить структуру нативного лигнина, являются органосольвентные методы Браунса, Бьеркмана и Пеппера.

Впервые попытку построить модель структурной формулы лигнина предпринял Фрейденберг в 1964-1965 гг. на основе экспериментальных данных. Им был построен фрагмент макромолекулы елового лигнина, включающий восемнадцать структурных единиц (Рисунок 1.5) [Freudenberg, 1965].

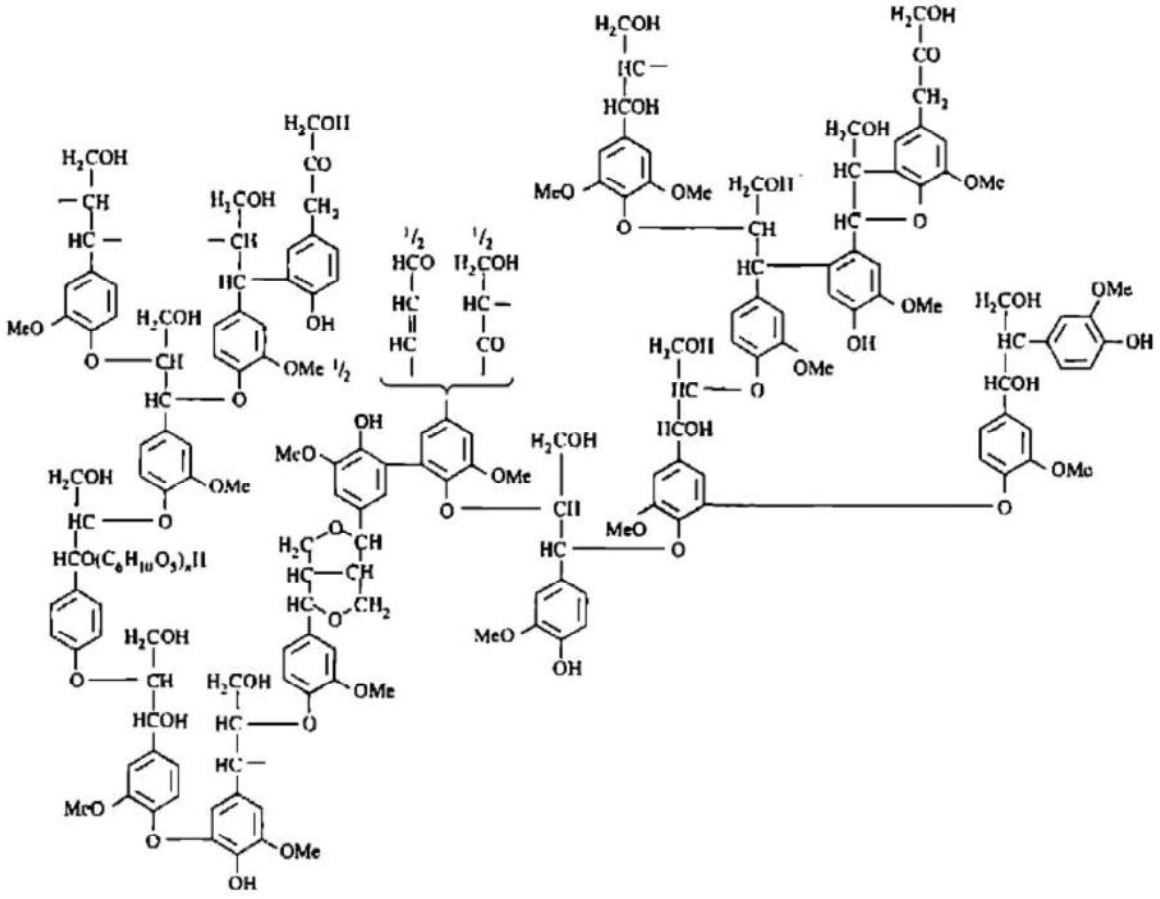


Рисунок 1.5 – Модель структуры лигнина по Фрейнденбергу [Freudenberg, 1965].

Для построения модели использовались следующие данные:

– информация о строении лигнина Бьеркмана – элементный анализ, количество и соотношение функциональных групп и различных типов эфирных связей между ними;

– исследования димерных и олигомерных структурных фрагментов лигнина, полученных при полимеризации коричных спиртов.

Еще одна распространенная модель строения лигнина была предложена Акира Сакакибара в 1991 г. уже для 28 структурных единиц (Рисунок 1.6), и включала ряд альтернативных структурных элементов [Sakakibara, 2000]. Модель была основана на данных изучения продуктов мягкого гидролиза и гидрогенолиза.

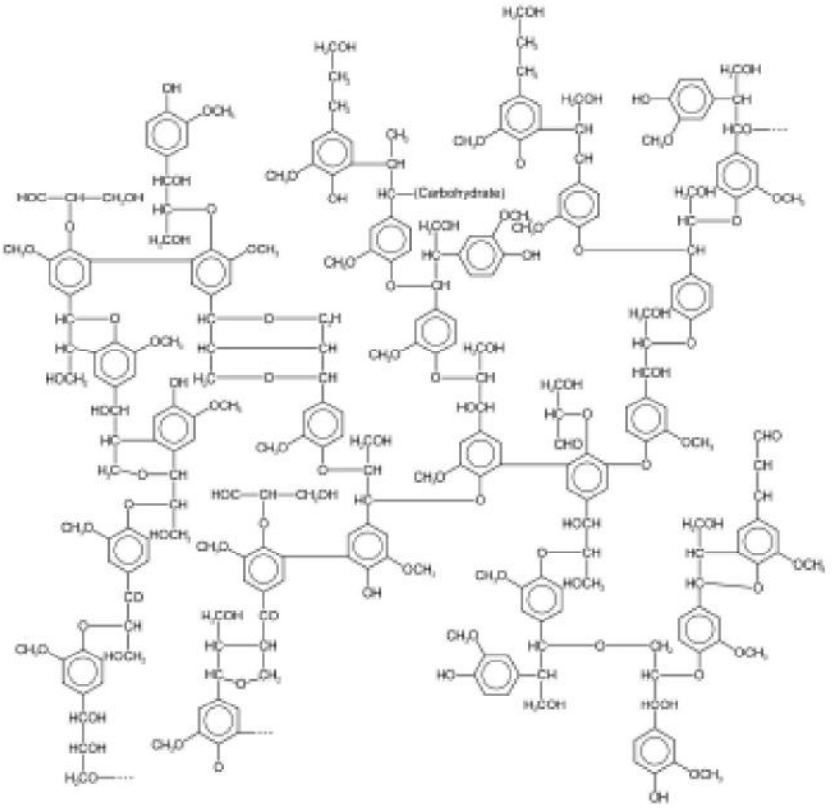


Рисунок 1.6 – Модель структуры лигнина по Сакакибара [Sakakibara, 2000].

Основным недостатком всех имеющихся на данное время моделей можно считать небольшое число (до 18-28) структурных единиц в представленных фрагментах, тогда как степень полимеризации нативного лигнина, по оценкам, доходит до 60. Помимо представленных моделей существуют схемы, изложенные другими авторами, но в силу меньшей информативности они не получили широкого распространения [Ludwig, 1964; Nimz, 1974].

Несомненно, дальнейший прогресс в описании строения и свойств лигнина связан с компьютерным моделированием макромолекул и последующим сравнением их с экспериментально выделенными препаратами. В частности, первые шаги в этом направлении были предприняты А.П. Кармановым с сотрудниками, изучающими при помощи современных

математических алгоритмов (таких как вейвлет-анализ и теория графов), хаотичность биосинтеза лигнина в клеточной стенке [Карманов, 2015 и 2017].

Следующей группой веществ, обладающих значительным сходством с лигнином, в свойства которых вносят большой вклад полифенольные компоненты, являются гуминовые вещества – класс природных полифункциональных соединений, не имеющих постоянного химического состава и образующихся из растительных и микробных остатков в результате многолетней окислительно-биологической трансформации в естественных природных условиях [Орлов, 1992; Попов, 2004]

Наиболее важным компонентом растительной биомассы, участвующим в процессе гумификации, является лигнин. Меньшая роль отводится полисахаридам, меланину, белкам, нуклеиновым кислотам и другим компонентам растительных и микробных объектов [Zech, 1997]. Стохастическая природа процесса гумификации приводит к естественному отбору устойчивых структур [Перминова, 2000], во многом инертных к внешним воздействиям и обладающим невысокой реакционной способностью в процессах переработки. По общепринятой классификации гуминовых веществ [Schnitzer, 1978], основанной на растворимости в растворителях различной природы, выделяют фульвокислоты (гуминовые вещества, растворимые при любых значениях pH); гуминовые кислоты (гуминовые вещества, растворимые в щелочной и нейтральной средах и выпадающие в осадок при подкислении среды до значений pH < 2); гумин (нерастворимый остаток). Из перечисленных групп наибольший интерес исследователей и технологов вызывают гуминовые кислоты.

Поскольку, так же как и в случае лигнина, не может существовать какой-то определенной молекулы гуминовой кислоты, на основании накопленных данных ЯМР-, ИК-спектроскопии, а также химического анализа, создаются модели гипотетических структурных фрагментов молекул гуминовых кислот (Рисунок 1.7) [Яговкин, 2009]. Общим мотивом для большинства моделей является наличие двух составляющих: ароматический углеродный каркас (относительно упорядоченный скелет, замещенный функциональными группами), и неупорядоченная периферийная часть, включающая полисахаридно- полипептидные и другие фрагменты [Wilson, 1987; Smernik, 2004]. Подобные модели находят применение не только в качестве иллюстрации строения изучаемых гуминовых веществ, но и в качестве базовых для математического моделирования структуры (Рисунок 1.8) [Jansen, 1996; Sein, 1999; Мамылов, 2010]

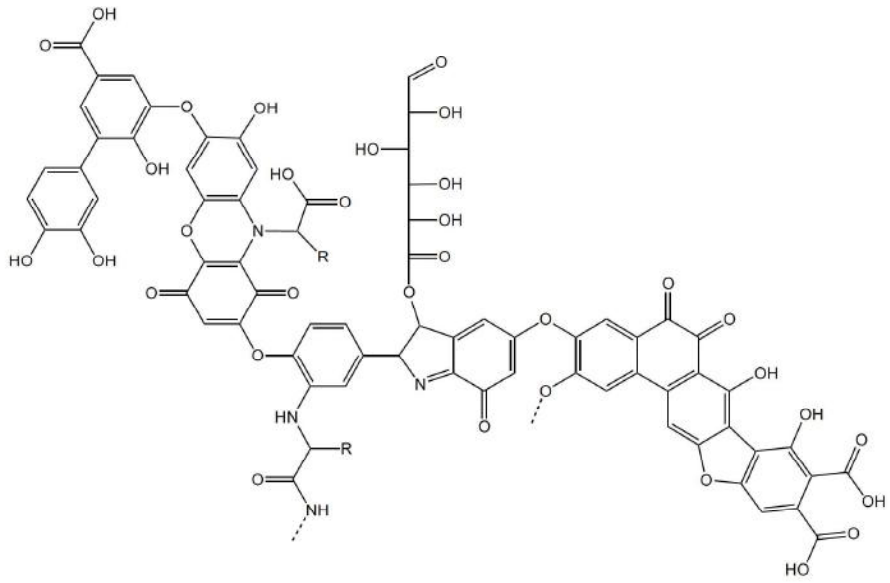


Рисунок 1.7 – Модель гипотетического структурного фрагмента гуминовых кислот по Стевенсену [Stevenson, 1994].

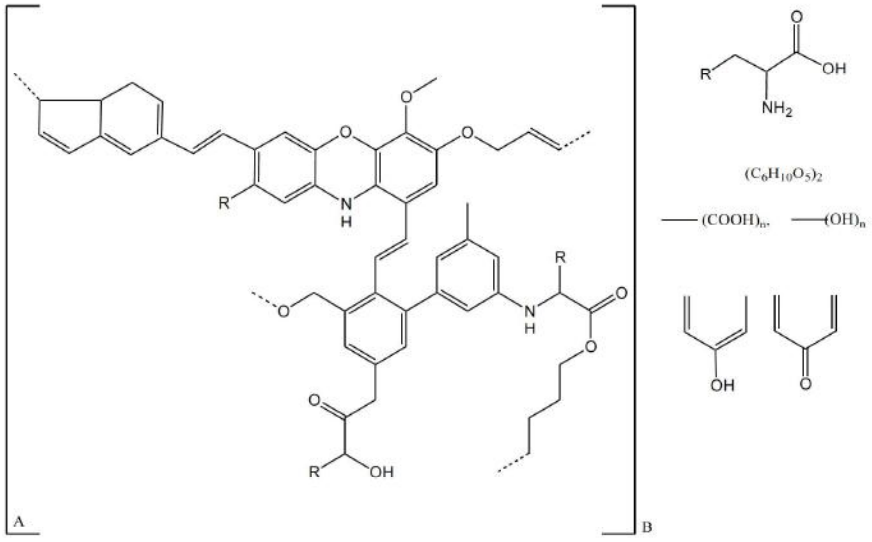
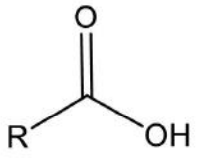


Рисунок 1.8 – Модель гипотетического структурного фрагмента гуминовых кислот по Орлову. А – углеродный каркас, В – неупорядоченная периферия [Орлов, 1990].

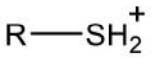
Определение молекулярной массы гуминовых веществ является одной из главных проблем их изучения. Относительная молекулярная масса – до нескольких сотен дальтон. Подобные расхождения не раз становились темой научных дискуссий, в ряде обзоров указывается, что не существует соответствия между значениями, полученными различными методами, применяемыми для измерения молекулярной массы гуминовых веществ, различия которых достигают нескольких порядков [Clapp, 1989; Swift, 1989].

Изучению состава функциональных групп отводится особое место в химии гуминовых веществ, так как они большей частью отвечают за реакционную способность гуминовых молекул. Известно о присутствии в гуминовых кислотах более десяти различных типов

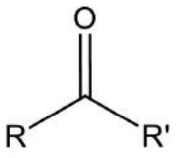
кислород-, азот-, и серосодержащих функциональных групп (фенольные, карбоксильные и гидроксильные, хинонные, метоксильные, карбонильные, эфирные, енольные, амино-, амидогруппы, тиольные и дисульфидные и др.) [Schnitzer, 1978].



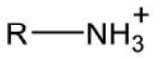
карбоксильные



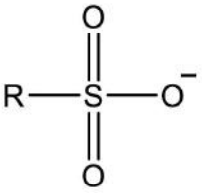
сульфгидрильные



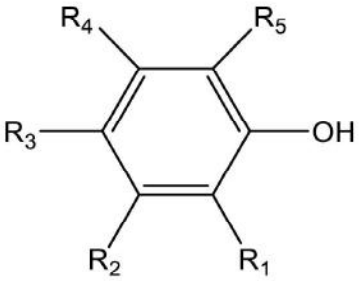
карбонильные



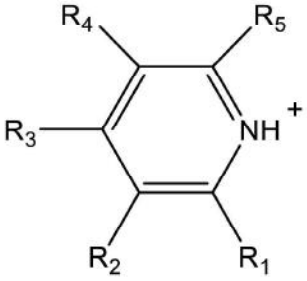
аминогруппы



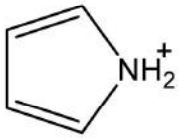
сульфоновые



фенольные



группы N-гетероциклов



имидо-группы

Кислородсодержащие группы входят в состав как каркасной, так и периферической части гуминовых кислот и, по оценкам Орлова, могут составлять до трети всех функциональных групп [Орлов, 1990; Savel'eva, 2015]. Наиболее распространены среди кислородсодержащих групп карбоксильные и гидроксильные группы. Будучи связаны с ароматическими фрагментами, данные группы способны образовывать комплексы гуминовых кислот с тяжелыми металлами [Sein, 1999].

В свою очередь хинонные и семихинонные группы определяют способность гуминовых кислот вступать в свободнорадикальные реакции, например, реакции декарбоксилирования отдельных фрагментов макромолекулы. Азотсодержащие группы (амины, аминокислоты, гетероциклы) способны влиять на комплексообразующие свойства по отношению к тяжелым металлам [Орлов, 1992].

Благодаря наличию большого количества функциональных групп, гуминовые вещества выполняют ряд важных жизнеобеспечивающих функций в биосфере –накопление химических элементов, формирование геохимических потоков различных веществ, влияние на совокупность обменных процессов в природных телах, связывание токсикантов и т.п. [Орлов, 1993]. Гуминовые вещества вовлечены во многие процессы, протекающие в почве, природных водах: поддержание почвенного микроклимата, участие в питании растений, pH буферизация, снижение мобильности и токсичности тяжелых металлов и других токсикантов, транспорт

гидрофобных органических веществ, продукция гетеротрофных смесей в экосистемах сточных вод. Следует отметить, что перечисленные процессы во многом зависят от состава и структуры гуминовых веществ. Так, увеличение доли углеродного каркаса увеличивает гидрофобные свойства и способность к выведению органических загрязнений, например, нефтей и углеводородов [Haitzer, 1999; Perminova, 2001; Иванов, 2007]. Функциональные группы и состав неупорядоченной периферийной части гуминовой молекулы отвечает за связывание тяжёлых металлов [Tipping, 2002].

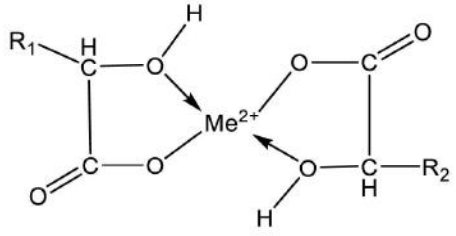
Несмотря на то, что гуминовые кислоты по структуре в большой степени схожи с лигнином, они намного превосходят его по способности к сорбции. Например, способность к сорбции пестицидов, напрямую связанная с гидрофобно-гидрофильным балансом макромолекулы, для лигнина, с его более низким содержанием карбоксильных групп, ниже на несколько порядков [Lee, 1989].

Переработка бурого угля и торфа – самого крупнотоннажного гуминового сырья – в востребованные препараты гуминовых кислот и гумин-содержащие продукты является альтернативой его использованию в энергетике и относится к области глубокой переработки и комплексного использования угля [Пройдаков, 2009]. Это является одним из приоритетных направлений Программы развития угольной промышленности России на период до 2030 года (распоряжение правительства РФ от 21.06.2014 г.) [Исмагилов 2012].

Активно ведутся работы по изучению связывания тяжёлых металлов в солевую или хелатную форму [Karlsson, 2006; Pan, 2017]. Хотя комплексообразование присуще всем карбоновым кислотам, в наибольшей мере оно проявляется у гуминовых молекул, в ароматических фрагментах которых рядом с карбоксильной группой находятся электронодонорные группы:

$$-NH_2 \quad -OH \quad >C=O \quad -COOH \quad -SH \quad >NH \quad \equiv N$$

В таких случаях образуются хелатные соединения, с замкнутыми пяти- или шестичленными циклами, и включающими ион металла-токсиканта, донорный атом и гидроксильный кислород карбоксильной группы [Попов, 2004].



Опубликованы работы по модификации состава гуминовых веществ, направленной на увеличение их способности стабилизировать нефтяные загрязнения. Создаются гумино-

минеральные комплексы, проводится обогащение гуминовых веществ алкоксильными фрагментами [Perminova 1999 и 2001; Smith, 2009].

Таким образом, модификация состава и структуры гуминовых кислот с целью увеличения сорбционной емкости по отношению к неорганическим и органическим материалам (в том числе токсикантам) на сегодняшний день является перспективным и актуальным направлением.

Минорные компоненты природного полимерного сырья

Кроме описанных выше биополимеров, в состав природного растительного, микробного и животного сырья входит множество других соединений и их комплексов, имеющих меньшее распространение или содержание в сырье. Так, к нецеллюлозным полисахаридам, которые принято не считать гемицеллюлозами, относят водорастворимые полисахариды: пектиновые вещества, камеди, резервные вещества, главным образом крахмал.

Основным структурообразующим мономером пектина является галактуроновая кислота, соединенная между собой *α-(1-4)*-связью (Рисунок 1.9). Кроме галактуроновой кислоты в состав пектиновых веществ входят рамноза, арабиноза, галактоза. Различают нейтральные и кислые фракции пектинов. Нейтральная фракция состоит из арабинозы (41 %) и галактозы (46 %), кислая фракция содержит до 98 % уроновых кислот. Растворы кислых и нейтральных пектинов сильно различаются по вязкости и способности к желатинизации [Бейнарт, 1979]. Содержание пектиновых веществ в древесине невелико, обычно около 0,5-1,5 % пектинов, но в коре различных пород может достигать 18 %.

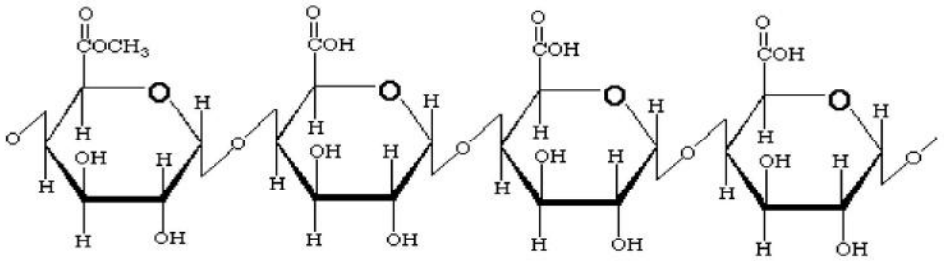


Рисунок 1.9 – Фрагмент основной цепи молекулы пектина.

Крахмал – полимер глюкозы – состоит из двух видов полисахаридов: амилозы и амилопектина, состоящих из D-глюкозных остатков с *α-(1-4)*-связями в линейных цепочках амилозы и *α-(1-4)* линейного с *α-(1-6)* связями в амилопектине (Рисунок 1.10 и 1.11). Подобно целлюлозе крахмал образует фибриллярную (гранулярную) структуру, которая является частично кристаллической. Крахмал производится растениями для хранения энергии в течение длительного времени, являясь резервным полимером [Perez, 2010]. Так, в наиболее часто

используемом сырье для получения крахмала содержится от 24 % (клубни картофеля), и до 64 % (зёрна пшеницы), 75 % (зерна риса).

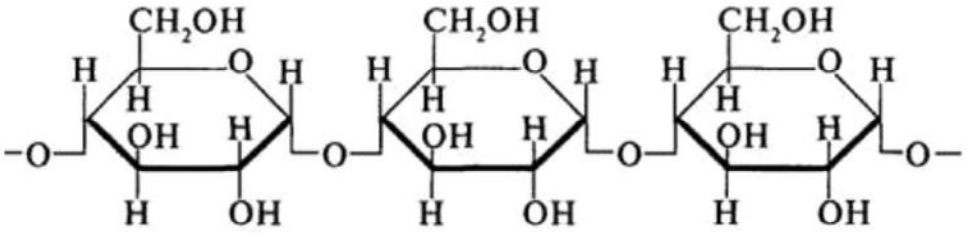


Рисунок 1.10 – Фрагмент цепи амилозы.

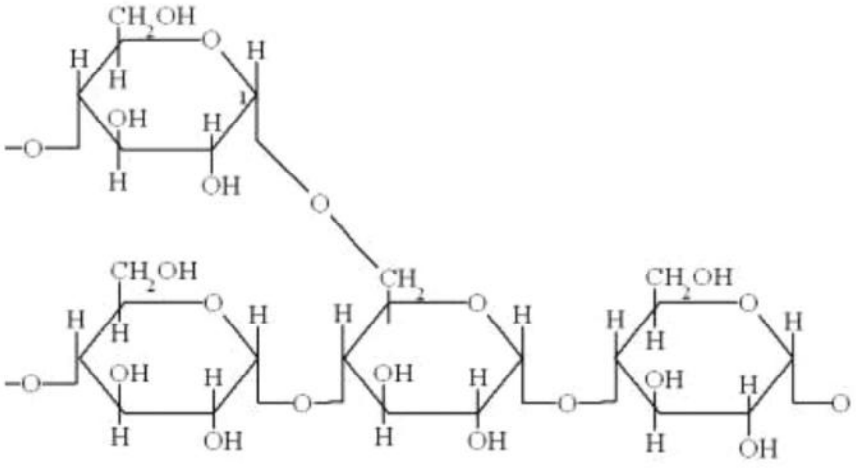


Рисунок 1.11 – Гипотетический фрагмент цепи амилопектина.

Воска – сложные эфиры жирных кислот и одно-, двухатомных спиртов с числом углеродных атомов от 16 до 22. Воска практически нерастворимы в воде, а также в минеральных кислотах, растворимость в органических растворителях зависит от температуры и полярности растворителя. На состав и свойства восков основное влияние оказывают тип растения и ткани, являющимися источником воска [Tinto, 2017].

В некоторых растениях в клеточной стенке накапливаются неорганические вещества, например, в рисовой лузге накапливается диоксид кремния, образуя на поверхности материала кремнезёмную мембрану [Chandrasekhar, 2003]. Также обогащены неорганической компонентой лузга овса, биомасса бамбука. Наличие кремнеземной оболочки придает растению механическую прочность, устойчивость к обработке (физико-химическому и ферментативному воздействию), экранируя основные структурообразующие компоненты клеточной стенки.

Таким образом, возобновляемое биогенное сырье обладает многоуровневым комплексным строением, что существенно усложняет химическую переработку сырья и обуславливает необходимость всестороннего изучения биополимеров не только с точки зрения отдельных макромолекул, но и как супрамолекулярного ансамбля в целом.

1.2. Структурообразующая функция полимеров природного сырья

Определение химического состава является отправной точкой для проведения фундаментальных исследований и практического применения возобновляемого природного сырья. Сложный состав, являющийся комбинацией структурообразующих полимеров и минорных компонентов, определяет свойства сырья и конечных продуктов, сферу применения, и во многом – метод предобработки материалов в совокупном процессе переработки.

Химический состав древесины хвойных и лиственных пород, а также травянистых растений, значительно отличается друг от друга. Так, в составе хвойных пород высоко содержание лигнина (до 20-30 %) и всего 20-27 % гемицеллюлоз, обогащённых пентозами. Содержание гемицеллюлоз в древесине лиственных пород выше – до 18-35 %, а состав данного полимера обогащён пентозами. Содержание целлюлозы в хвойных и лиственных породах сопоставимо – 25-50 % [Азаров, 1999; Синицын, 1995].

Содержание структурообразующих полимеров в биомассе травянистых растений варьирует в широких приделах не только в зависимости от вида растений, но и периода (стадии) роста. Среднее содержание целлюлозы оценивается в 25-50 %, гемицеллюлоз – 20-40 %, лигнина – 10-30 % [Sun, 2002; Iqbal, 2013; Anwar, 2014; Bajpai, 2016].

В таблице 1.1 представлено процентное содержание основных структурообразующих компонентов лигноцеллюлозного сырья.

Таблица 1.1 – Химический состав лигноцеллюлозного растительного сырья

Материал	Целлюлоза, %	Гемицеллюлозы, %	Лигнин, %	Ссылка
Хвойные породы	37-50	15-35	20-35	[Синицын, 1995; Sun, 2002; Iqbal, 2013; Anwar, 2014; Bajpai, 2016]
Лиственные породы	25-55	20-40	18-28	
Травянистые растения	25-50	18-50	5-40	
Конкретные примеры				
Обрезка оливкового дерева	28	12,9	31,9	[Chiaramonti, 2011]
Солома пшеницы	42	26,4	22	[Borrion, 2012]
Солома кукурузы	50,7	19,4	16,9	[Cheng, 2010]
Солома кукурузы	36,8	21,5	17,5	[Lin, 2010]
Ананас (листья)	73,4	80,5	10,5	[Khalil, 2006]
Банан (стебли)	63,9	65,2	18,6	
Кенаф (стебли)	53,8	87,7	21,2	[Khalil, 2010]

Химический состав дрожжевой клеточной стенки – типичного представителя биотехнологически получаемой биомассы [Калебина, 2001; Klis, 2002], включает примерно 60 % из β-глюкана – структурного аналога целлюлозы – и 40 % из маннопротеинов – структурного

аналога лигнин-гемицеллюлозного матрикса. Отмечается незначительное (около 2 %) содержание минорного вещества – хитина.

Содержание гуминовых веществ (продукта окислительно-биологической трансформации биополимеров) также сильно зависит от источника: речные воды содержат до 20 мг/л; болотные воды – до 300 мг/л; почвы – до 12 %; торфа – до 40 %; бурый уголь – до 85-90 % [Schnitzer, 1978; Орлов, 1992].

Таким образом, химический состав является волатильным свойством биогенных объектов, определяющим необходимость тщательного изучения объектов и перерабатываемого сырья.

Супрамолекулярная организация полимеров в составе природного сырья

Представления о строении растительной и микробной клеточной стенки главным образом основываются на данных оптической и просвечивающей электронной микроскопии, позволяющей сделать вывод о неоднородной, слоистой структуре данного образования.

Просвечивающая электронная микроскопия широко используется в изучении структуры клеточных стенок и распределения лигнина [Khalil, 2006 и 2010; Ghaffar, 2013]. Дополнительная процедура контрастирования образца позволяет повысить разрешающую способность, дать информацию о распределении и концентрации тех или иных компонентов (например, лигнина), выявить дефекты. В частности, для селективного окрашивания (контрастирования) лигнина применяют обработку перманганатом калия, тетраокисью осмия или ацетатом уранила. Дефекты углеводной природы визуализируют при помощи декорирования наночастицами серебра [Donohoe, 2008; Ma, 2011; Reza 2015].

Слои клеточной стенки различаются по содержанию структурообразующих полимеров и упорядоченности микрофибрилл (Рисунок. 1.12 и 1.13). Выделяют первичную клеточную стенку, срединную пластину и вторичную клеточную стенку, которая, в свою очередь, подразделяется на слои S_1, S_2 и S_3. Толщина первичной клеточной стенки относительно невелика 0,1-1 мкм, а толщина вторичной стенки изменяется в широких пределах, составляя в среднем от 1 до 10 мкм [Горшкова, 2007]. Показано, что срединная пластина сильно лигнифицирована, содержание лигнина иногда доходит до 90 %, что соответствует 60 % всего лигнина клеточной стенки [Khalil, 2010]. Это определяет механическую прочность данного структурного слоя. Вторичная клеточная стенка содержит основной массив целлюлозы – до 95 %, и большую часть гемицеллюлоз [Бейнарт, 1979].

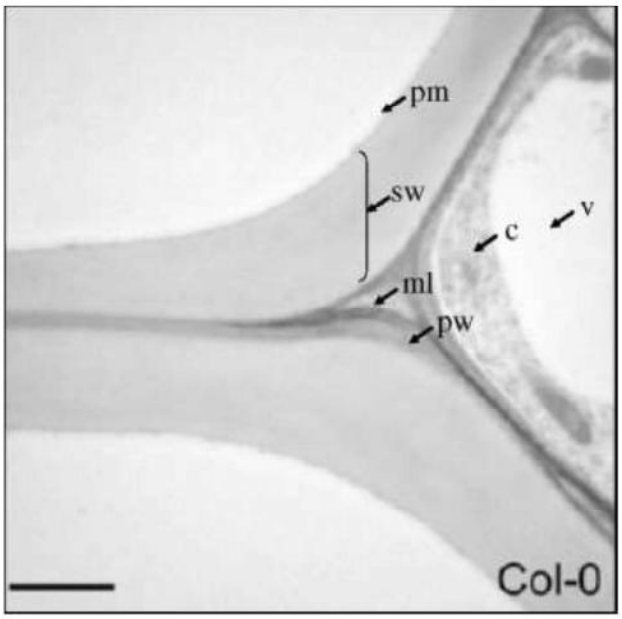


Рисунок 1.12 – Клеточные стенки *Arabidopsis thaliana,* просвечивающая электронная микроскопия: *ml* – серединная пластинка, *pw* – первичная клеточная стенка, *sw* – вторичная клеточная стенка, *pm* – цитоплазматическая мембрана, *c* – цитозоль, *v* – вакуоль. Масштабная линейка – 2 мкм [Caffall, 2009].

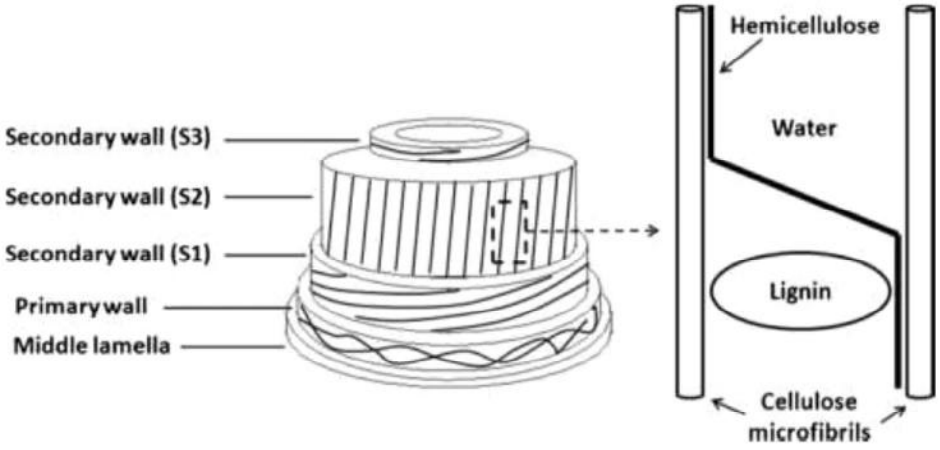


Рисунок 1.13 – Схема строения клеточной стенки [Deng, 2012].

Все полимеры в растительной клеточной стенке связаны между собой водородными связями, причем гемицеллюлоза и лигнин также связываются прочными ковалентными (межатомными) связями в единый супрамолекулярный ансамбль (Рисунок 1.14), обеспечивающий механические и химические свойства материала.

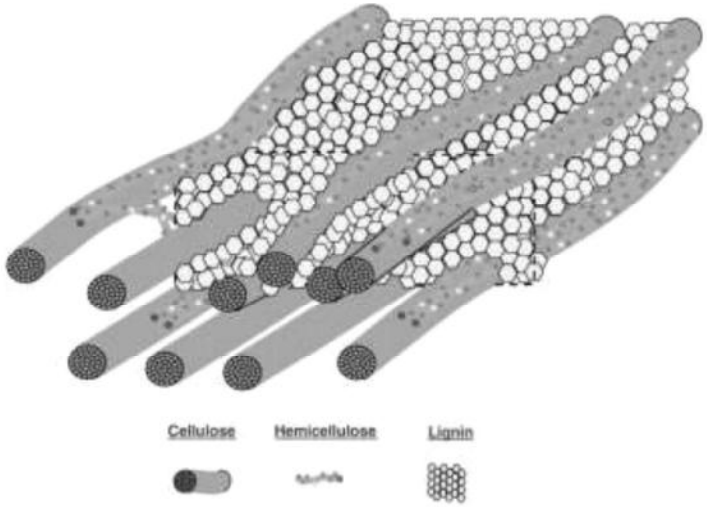


Рисунок 1.14 – Схематическая модель фибрилл лигнифицированной клеточной стенки [Loque, 2015].

Аналогичная ситуация наблюдается в строении дрожжевой клеточной стенки, все компоненты (β-глюкан, белки, хитин и др.) объединяются во взаимосвязанный ансамбль посредством ковалентных и Ван-дер-Ваальсовых связей. Суммарно, схема супрамолекулярных взаимодействий выглядит следующим образом (Рисунок 1.15) [Калебина, 2001; Klis, 2002]: с одной стороны, белки клеточной стенки, при помощи GPI-якоря крепятся к цитоплазматической мембране, а с другой стороны, через промежуточные ветви низкомолекулярного β-1,6-глюкана, прикрепляются к структурообразующему высокомолекулярному β-1,3-глюкану. Также к β-1,3-глюкану непосредственно прикрепляются белки, не связанные с цитоплазматической мембраной, а также хитин.

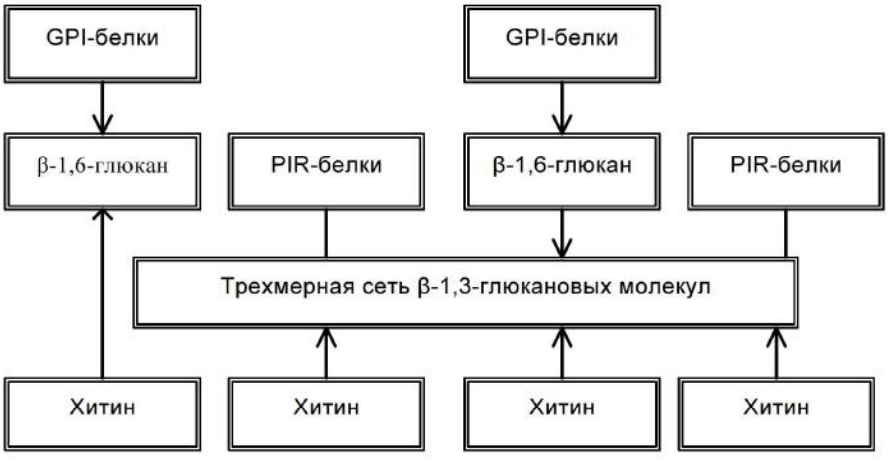


Рисунок 1.15– Супрамолекулярная организация биополимеров дрожжевой стенки [Калебина, 2001]. PIR-белки – белки, экстрагируемые щёлочью. Стрелками указано направление от нередуцирующего конца молекулы к редуцирующему.

Описанные взаимодействия служат основой для построения макроструктурных моделей, например, опубликованных в обзоре [Калебина, 2001]. Из рисунка 1.16 видно, что дрожжевая клеточная стенка имеет 3 слоя: внешний, внутренний и средний. Во внешний слой входит комплекс маннопротеинов, которые защищают глюкановый остов от всевозможных глюканаз. В состав этих маннопротеинов входят в основном N-маннопротеины, которые также трудно гидролизуются.

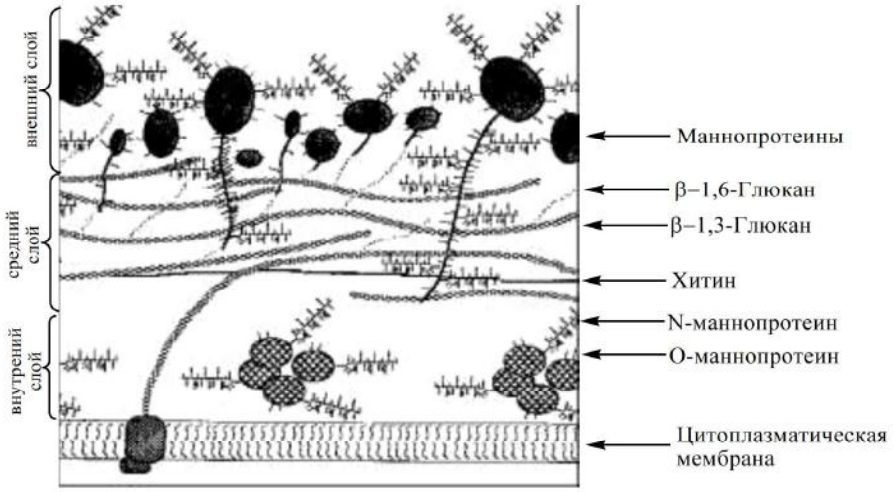


Рисунок 1.16 – Схематическое изображение надмолекулярной структуры клеточной стенки [Калебина, 2001].

В средний слой входит сеть β-глюкановых молекул, которые обеспечивают механическую прочность клеточной стенки. С внешней стороны, при помощи β-1,6-глюкана, к β-1,3-глюкану прикреплены маннопротеины. Внутренний слой преимущественно состоит из О-маннопротеинов, прикреплённых к цитоплазматической мембране. Можно предположить, что реакционная способность β-глюкана зависит от экранирующего влияния внешнего маннопротеинового слоя и для увеличения реакционной способности β-глюкана необходимо сделать его доступным для реагентов.

Супрамолекулярная структура гуминовых веществ во многом определяет их реакционную способность в продуктах переработки, почве и окружающей среде. В частности, молекулярная масса гуминовых кислот колеблется, достигая нескольких сотен дальтон *(Da)*. Традиционной считается концепция гуминовых веществ как системы полимеров, предложенная Кононовой в 1961 году [Kononova, 1966]. Используя эту концепцию, различные фракции гуминовых веществ, имеющие различную растворимость, можно представить как части гетерогенной смеси молекул, проявляющих непрерывность химических свойств на макроуровне.

На смену концепции Кононовой пришла теория о мицеллярном устройстве [Piccolo, 1996], основанная на предположении, что гуминовые вещества представляют собой агломераты относительно коротких молекул, связанных Ван-дер-Ваальсовыми, π–π, CH–π и водородными

связями. Данная теория постоянно подвергалась критике, поскольку методологической особенностью экспериментов, на которых она базировалась, являлся низкий pH, при котором протекает взаимодействие гуминовых кислот с электролитом, искажающее результаты фракционирования и, как следствие, измерение молекулярных масс [Perminova, 2003]. После всесторонних исследований была сформулирована современная теория о супрамолекулярном строении гуминовых веществ, авторы которой предложили свои способы выделения (путем разрыва межмолекулярных взаимодействий, эфирных и сложноэфирных связей) и анализа отдельных фракций гуминовых веществ [Nebbioso, 2011]. Подобное фракционирование является грубым вмешательством в ультраструктуру, и на сегодняшний день наиболее принят подход к представлению гуматов в виде молекулярного ансамбля из более простых молекул [Бамбалов, 1998].

Таким образом, биогенные природные объекты, такие как растительная и дрожжевая клеточная стенка, молекулярные ансамбли гуминовых веществ, необходимо рассматривать как супрамолекулярный комплекс биополимеров различной химической (углеводной, белковой, полифенольной) природы. Это обуславливает необходимость особого подхода к механохимической обработке систем, структурными элементами которых являются биополимеры в целом, и ферменты, клеточные стенки в частности. Так, следует учитывать, что химические свойства белковых молекул, например, каталитическая активность ферментов, зависит от их пространственной структуры, которая, в свою очередь, зависит от множества параметров, таких как температура, pH, полярность, ионная сила раствора. Углеводные полимеры – целлюлоза и крахмал – могут иметь упорядоченные участки со слабой реакционной способностью. Полифенольные компоненты, в свою очередь, имеют свойство взаимодействовать с веществами белковой природы, что может негативно сказаться на эффективности ферментативных процессов. При работе с полимерами клеточной стенки дрожжей стоит обращать особое внимание на их пространственную структуру и взаимосвязь компонентов. В частности, ферментативный гидролиз целлюлозы и β-глюкана протекает более эффективно, если устранить экранирующее влияние лигнина и маннопротеинового слоя, соответственно.

1.3. Физико-химические параметры, отвечающие за реакционную способность полимеров природного сырья

Важным аспектом изучения и использования природного полимерного сырья является установление закономерностей между структурой и химическими свойствами, в частности реакционной способностью полимеров в процессах переработки. С точки зрения кинетики гетерогенных процессов, составляющих большую часть из применяемых технологических процедур, на реакционную способность полимеров должны влиять такие факторы, как химический состав сырья, удельная (и доступная для реагентов) площадь поверхности частиц, степень полимеризации и кристалличности обрабатываемых полимеров[1]. В данной главе рассмотрено влияние каждого из перечисленных физико-химических параметров.

Химический состав природного сырья

Пожалуй, самый важный фактор, определяющий выбор объекта и метода исследования и переработки – это химический состав материала. Даже не вдаваясь в сложное супрамолекулярное строение клеточной стенки, можно понять, что на конверсию углеводов, содержащихся в лигноцеллюлозном сырье, влияет содержание лигнина, гемицеллюлозы, ацетильных групп и белков. В случае кислотного гидролиза лигнин экранирует целлюлозу от воздействия, а в случае ферментативного – взаимодействует с ферментами, чаще всего необратимо.

Аналогичная ситуация наблюдается при гидролизе дрожжевого бета-глюкана. Маннопротеины, обладающие значительной устойчивостью к глюкан-гидролизующим ферментам, защищают целевой субстрат от сорбции ферментов и протекания процесса. Только проведение комплексной обработки, включающей предварительное удаление белково-маннопротеинового слоя, позволяет осуществлять процесс с достаточной эффективностью.

Как уже упоминалось, присутствие лигнина в составе растительного сырья снижает скорость и выход щелочного, кислотного и ферментативного гидролиза, в большей степени за счет экранирования целлюлозы и, для биотехнологических процессов, за счёт ингибирования ферментов [Mooney, 1998; Nakagame, 2011; Zhao, 2012]. Данные взаимодействия сильно зависят от структуры лигнина и типа его связывания с гемицеллюлозами. За счет образования сложноэфирных связей с гемицеллюлозами лигнин обеспечивает механическую прочность клеточной стенки, одновременно с этим создавая гидрофобный барьер – лигнин-гемицеллюлозный матрикс, препятствующий сорбции целлюлозолитических ферментов.

---

[1] Bychkov, A. Current achievements in the mechanically pretreated conversion of plant biomass / A. Bychkov, E. Podgorbunskikh, E. Bychkova, O. Lomovsky // Biotechnology and Bioengineering. – 2019. – V. 116 – P. 1231-1244.

Предварительная активация субстрата кислотами, проведение автогидролиза, ферментативной, химико-ферментативной или комбинированной с автогидролизом ферментативной обработки значительно увеличивает скорость и выход реакции гидролиза [Yoshida 2008, Kumar, 2009-b; Rafiqul, 2017]. Однако, если сравнивать удаление гемицеллюлоз с удалением лигнина, последний оказывает более сильное влияние [Jorgensen, 2007].

Кроме образования защитного «барьера/слоя», экранирующего целлюлозу, лигнин имеет высокую сорбционную способность по отношению к белковым молекулам, в частности к целлюлозолитическим ферментам. Точный механизм, объясняющий природу взаимодействия лигнина и белков, до сих пор не найден, но в настоящее время предполагают гидрофобное взаимодействие, ионный и водородный типы связывания [Nakagame, 2011]. Данные предположения базируются на экспериментах, показывающих, что гидрофобные и гидрофильные характеристики некоторых участков молекул целлюлаз и субстрата в большей степени определяют степень адсорбции ферментов. Изучение смачивания и морфологии накопления лигнина на различных волокнах растительного происхождения указывают на его б*о*льшую гидрофобность, чем у целлюлозы. Таким образом, повышенное содержание лигнина в сырье, особенно на поверхности, приводит к росту гидрофобности субстрата [Hodgson, 1988; Maximova, 2004].

Изменение гидрофобных свойств поверхности путём добавления анионных и неионогенных ПАВ или белков приводит к снижению сорбции ферментов на лигнине и, как следствие, повышению скорости гидролиза. Данный эффект связывают с гидрофобным взаимодействием ПАВ или белков с лигнином, которое высвобождает обратимо связанные молекулы фермента. Так, для бычьего сывороточного альбумина (BSA) показана сорбция лигнина на гидрофобных участках [Eriksson, 2002].

Некоторую роль во взаимодействии белков с поверхностью лигнина отводят ионным взаимодействиям [Berlin, 2006]. Так, поверхность растительного сырья имеет заряженные карбоксильные, амино-, фосфатные и имидазольные группы. В растворе данные группы приобретают заряд, зависящий от условий среды (pH, ионной силы, добавления ПАВ). Если молекула фермента и поверхность субстрата имеют равнозначный заряд – взаимодействия не происходит. В случае разных зарядов протекает сорбция. Поверхность лигноцеллюлозного сырья в растворе чаще всего заряжена отрицательно благодаря ионизации кислых и гидроксильных групп в гемицеллюлозах и лигнине.

Роль водородных связей в сорбции ферментов на лигнине полагают незначительной, а само изучение данного вида взаимодействий весьма затруднено. Считается, что фенольные гидроксильные группы участвуют в связывании целлюлаз, отрицательно влияя на скорость гидролиза [Berlin, 2006]. Однако, данный эффект проявляется не всегда, ряд исследователей

отмечает отсутствие корреляции между содержанием фенольных групп и сорбцией белков [Kawamoto, 1992].

Снизить, а в ряде случаев и полностью убрать, влияние лигнина на скорость и выход гидролиза можно проведением предварительной обработки сырья, а также подбором подходящего комплекса ферментов. В общем случае при удалении лигнина из структуры частиц увеличивается площадь целлюлозы доступная для ферментов, деполимеризация происходит более эффективно, но встречаются и исключения, связанные, скорее всего, с волатильностью химического состава и супрамолекулярной структуры сырья. Так, в статье [Rollin, 2011] показано, что высокая степень удаления лигнина необязательно приводит к повышению скорости гидролиза и выхода низкомолекулярных углеводов. Изменение химического состава перерабатываемого материала не является единственным фактором, определяющим скорость, выход и, как следствие, экономическую эффективность гидролиза.

Кроме лигнина на протекание ферментативного гидролиза негативно влияют ацетилированные гемицеллюлозы, содержащие до 5-6 % ацетильных групп в зависимости от сырья [Zhao 2012]. Ацетильные группы могут образовывать с ферментами водородные связи, но данный эффект незначителен по сравнению с сорбцией белков на лигнине [Zhu, 2008]. Удаление ацетильных групп в результате процесса предобработки сырья может привести к понижению pH и гидролизу макромолекул. С одной стороны, это негативно сказывается на процессе гидролиза, с другой стороны, на повышении собственной кислотности сырья базируются многие автогидролитические методы разрушения полисахаридов.

Таким образом, можно заключить, что химический состав является важным фактором, определяющим реакционную способность биополимеров и их природных комплексов. При этом электростатическое взаимодействие ферментов с лигнином играет решающую роль в непродуктивной сорбции ферментов на поверхности сырья.

Свойства поверхности полимерного природного сырья

С точки зрения кинетики гетерогенных реакций, эффективность гидролиза во многом определяется свойствами поверхности субстрата. На первом этапе ферментативного гидролиза целлюлозы до более коротких углеводов требуется сорбция целлюлозолитических ферментов на поверхности субстрата, следовательно, увеличение доступной для ферментов площади на поверхности нерастворимого субстрата приводит к повышению скорости и выхода реакции [Mooney, 1999; Zhu, 1999]. Путем предварительной механохимической активации можно добиться увеличения удельной поверхности не только за счёт уменьшения размеров частиц, но и из-за образования большого количества трещин и пор [Silva, 2012].

Однако, доступная площадь поверхности не всегда напрямую зависит от размера частиц и пористости материала. Ещё в ранних работах [Синицын, 1984 и 1995] было отмечено, что размер частиц сам по себе не является параметром, влияющим на скорость гидролиза, но уменьшение среднего размера частиц, например, при измельчении, может приводить к увеличению удельной площади поверхности, а также образованию трещин и пор [Shewale, 1979; Клесов, 1981; Sinitsyn, 1991]. В работе [Yeh, 2010] для более простого объекта, нежели растительное сырьё – для микрокристаллической целлюлозы – показано, что уменьшение размеров частиц до субмикронного размера приводит к увеличению удельной площади поверхности и, как следствие, к увеличению скорости гидролиза. Но в случае более сложно организованного растительного сырья предварительная механическая активация может приводить к образованию агрегатов и связанному с этим увеличению размера частиц и к снижению скорости гидролиза.

Удельная площадь поверхности растительного сырья – объектов со сложной текстурой поверхности – зависит не только от размера частиц материала, но и от количества и объема пор. Материалы растительного происхождения имеют два типа площади поверхности: внешнюю и внутреннюю. Внешняя поверхность, связанная с размером и формой лигноцеллюлозных частиц, может быть оценена по данным дифракции лазерного луча (LDS). Внутренняя поверхность, обусловленная капиллярной структурой целлюлозных фибрилл, количеством пор и трещин, может быть определена методом тепловой десорбции газов. При этом, для целлюлозы внутренняя поверхность может быть на 1-2 порядка больше, чем внешняя поверхность [Fan, 1980].

Многими исследователями отмечается, что с точки зрения ферментативного гидролиза вклад внутренней поверхности растительного сырья превосходит вклад внешней поверхности. До 90 % конверсии субстрата проходит с поверхности доступных пор [Wang, 2012].

Доступность пор для сорбции ферментов также носит значительный вклад в эффективность процессов. Стоит отметить, что не вся поверхность лигноцеллюлозного субстрата эффективна для адсорбции целлюлозолитических ферментов. Целлюлозные фибриллы в высушенном состоянии обычно имеют небольшие размеры и большую внешнюю поверхность, поскольку при сушке материала происходит коллапс крупных – доступных для ферментов – пор и создания большего числа мелких пор, что обуславливает снижение каталитической активности ферментов [Esteghlalian, 2001].

Самым простым, на первый взгляд, методом определения удельной площади поверхности можно считать оптическое наблюдение за размерами частиц исследуемого материала. Гранулометрический анализ с помощью микроскопа позволяет построить распределение частиц по размерам. Полученные данные пересчитываются в значения (или распределения) удельной

площади поверхности с рядом серьёзных допущений, таких, как идеальная форма частиц (кубические, сферические, стержни, пластины), гладкая поверхность и отсутствие пор.

Возможность применения метода Брунауэра-Эммета-Теллера (уравнение БЭТ), разработанного ещё в 1938 г., для оценки удельной поверхности целлюлозосодержащих материалов путем обработки изотерм сорбции азота начала рассматриваться с 1950-х годов [Thode, 1958; Тагер, 1958]. Проверка применимости данного подхода проводилась и в нашей стране группой Каргина [Берестнев, 1960]. Несмотря на более чем полувековую историю, исследователи до сих пор занимаются уточнением и модификацией классического уравнения БЭТ [Staud, 2013; Zhang, 2018].

Более корректно можно определять площадь лигноцеллюлозных материалов, применяя приближение Грэга и Синга [Gregg, 1982], в основе которого лежит замечание о том, что вблизи температуры кипения азота его пары отличаются от идеального газа даже при низких парциальных давлениях из-за собственного межмолекулярного взаимодействия, тормозящего адсорбционный процесс. Близкие результаты демонстрирует метод Гаркинса и Юра, однако, требующий для вычисления данные по площади поверхности схожих по структуре адсорбентов, определенные независимыми методами [Дубинин, 1953].

При изучении структуры и сорбционных свойств целлюлозы и материалов на ее основе часто исследуют изотермы адсорбции различных газов и смесей с переменным составом (азот, вода, бензол и др.) [Роговин, 1972]. Описание изотерм адсорбции может быть проведено с использованием термодинамических уравнений. Применяемые модели описания различных типов адсорбционных равновесий не всегда оказывались термодинамически корректными, но позволяли выводить уравнения, хорошо описывающие изотермы адсорбции в определенных системах и (или) получать важные характеристики адсорбционных систем [Дмитриева, 2012].

Поскольку природные полимерные материалы являются специфическим адсорбентом, обладающим разветвленной капиллярно-пористой системой и аморфно-кристаллическим строением, на поверхности которого располагаются различные сорбционные центры, основная часть исследований проводится на выделенных в индивидуальном виде полимерах или на их производных [Атаханов, 2012; Грунин, 2013].

Для прогнозирования скорости гидролиза многие авторы применяют метод тепловой десорбции газа, например, азота по методу БЭТ, однако, полученные данные из-за различий в размерах и формах молекул азота и гидролизующих агентов не могут точно описать взаимодействие последних с поверхностью субстрата.

В работе [Клесов, 1981] для установления удельной поверхности целлюлозного субстрата использовались построения изотерм адсорбции пероксидазы. Изучена взаимосвязь величины поверхности, доступной для сорбции ферментов. Коэффициенты корреляции между удельной

площадью поверхности и скоростью гидролиза на линейном участке кинетической кривой, а также с выходом глюкозы в конце гидролиза, равнялись 0,89 и 0,84, соответственно. В настоящее время установлено, что минимальный размер пор, ограничивающий сорбцию ферментов, составляет 5,1 нм, что соответствует размерам каталитического ядра эндоглюканазы Trichoderma reesei [Grethlein, 1985; Esteghlalian, 2001, Wang, 2012].

Хотя удельная площадь вместе с химическим составом поверхности во многом определяет доступность целлюлозы для гидролизующих агентов, факторы, связанные со структурой целлюлозы, например, кристалличность целлюлозы и степень полимеризации, также влияют на ее реакционную способность. В ряде случаев эти факторы становятся доминирующими и ограничивают скорость и степень гидролиза даже для образцов с развитой площадью поверхности, доступной для взаимодействия с гидролизующими агентами.

Степень упорядоченности аморфно-кристаллических полимеров

Одним из основных факторов, влияющих на реакционную способность растительного сырья, является степень упорядоченности аморфно-кристаллических полимеров – целлюлозы, дрожжевого бета-глюкана и крахмала. Данные полимеры содержат кристаллические (упорядоченные) и аморфные (разупорядоченные) области [O'Sullivan, 1997; Thygesen, 2005; Алешина, 2014].

Наличие водородных связей между микрофибриллами углеводов придаёт всей ультраструктуре жесткость, прочность, способность образовывать кристаллические участки, и обуславливает сниженную реакционную способность кристаллитов в химических процессах. Так, гидролиз разупорядоченных аморфных участков целлюлозы ферментами происходит до 30 раз быстрее, чем кристаллических при сопоставимых значениях удельной площади поверхности [Zhao, 2012]. Большинство исследователей также отмечают зависимость между повышением реакционной способности и снижением степени кристалличности в процессе предварительной аморфизации, например, механохимическим путём [Fan, 1980; Yoshida, 2008; Zhu, 2009; Sahare, 2012; Barakat, 2014]. Но в ряде случаев было зафиксировано, что предварительная активация также может приводить к обратному эффекту. В присутствии небольшого количества воды часть аморфных областей целлюлозы частично упорядочивается (рекристаллизуется) [Hermans, 1946]. Степень протекания рекристаллизации зависит от множества факторов: начальной степени разупорядоченности целлюлозы, свойств растворителя, температуры. Более аморфные образцы сильнее подвержены рекристаллизации [Байклз, 1974; Ago, 2007]. Но стоит отметить, что подавляющее число работ по изучению рекристаллизации было проведено на выделенной целлюлозе или образцах, значительно обогащённых целлюлозой. Публикаций, в которых бы изучалась рекристаллизация целлюлозы

в составе растительного сырья, практически не встречается, а в наиболее цитируемой из них напрямую указано, что восстановление аморфизованной целлюлозы в структуре сырья идёт незначительно из-за лигнин-гемицеллюлозного матрикса [Liang, 1993].

Нельзя не упомянуть о ранних работах, в которых показывается отсутствие зависимости между степенью кристалличности и степенью гидролиза растительного сырья [Puri, 1984; Grethlein 1985].

Для определения степени кристалличности к настоящему времени разработаны методы, основанные на дифракции рентгеновских лучей (наиболее распространены в научно-технических публикациях), ИК-спектроскопии или твердофазном ЯМР ^{13}C [Avolio, 2012]. Большинство исследователей применяют данные методы для изучения относительных изменений, а не для определения абсолютного значения (соотношения) кристаллической или аморфной части целлюлозы. Во многом это определяется высокой погрешностью методов при разных условиях проведения экспериментов. Так, наличие лигнина и гемицеллюлоз, не имеющих упорядоченных участков, может приводить к занижению значений степени кристалличности образца. Предварительное растворение и отмывка неупорядоченных компонентов, наоборот, приводит к росту степени кристалличности. Сушка материалов перед проведением дифракционных исследований также приводит к значительным изменениям кристаллической структуры целлюлозы и, как следствие, изменению степени кристалличности материала. Стоит упомянуть, что, несмотря на большие достижения в данной области, работы по созданию и модификации методов определения степени кристалличности ведутся и в настоящее время [Hall, 2010; Чухчин, 2016].

Самым распространенным и уже ставшим «классическим» методом определения степени кристалличности (crystallinity index) целлюлозы является метод, основанный на порошковой дифракции рентгеновских лучей и эмпирической формуле (1), предложенной Сегалом [Segal, 1959; Ant-Wuorinen, 1960].

$$\text{Степень кристалличности} = (I_{кр.} - I_{ам.})/ I_{кр.} \quad (1)$$

Формула связывает интенсивность рефлекса (002) (так называемый «пик кристалличности») и интенсивность минимума при величине угла $2\theta = 18°$ («пик аморфности»). Отмечается, что в некоторых случаях данный подход даёт завышенные (по сравнению с другими методами определения) значения степени кристалличности [Park, 2010]. Несмотря на развитие более современных методов, формула Сегала повсеместно используется в качестве экспрессного метода сравнения образцов не только в технологических, но и научно-исследовательских работах.

Вторым по распространенности можно назвать метод расчета степени кристалличности по Ритвельду. Полнопрофильный анализ Ритвельда использует метод наименьших квадратов для приближения экспериментально полученных дифрактограмм к их теоретическому профилю. Уточняются экспериментально полученные данные о кристаллической структуре, проводится сравнение с теоретической структурой до достижения наилучшего согласования. Данный метод получил широкое распространение после расшифровки структуры целлюлозы (для его применения требуются сведения о параметрах элементарной ячейки, пространственной группе симметрии, координатах атомов). Под степенью кристалличности понимается отношения площади кристаллической фазы к общей площади кривой между профилем рентгенограммы и базовой линией (2).

$$\text{Степень кристалличности} = S_{кр.} / S_{общ.} \quad (2)$$

По ещё одному широко применяемому способу определения степени кристалличности из данных рентгеновской дифракции – методу деконволюции – проводится разложение рентгенограммы на несколько пиков, обычно на четыре или пять, с использованием приближения Лоренца, Войта и др. В данном способе учитывается то, что кроме доли аморфных участков в уширение пика вносит вклад размер и неравномерность деформации внутри кристаллитов. Размер кристаллитов определяется по формуле Шерера по ширине рефлекса (002) на его полувысоте. Широкий пик в области углов 18-19° считается «пиком аморфной фазы», а индекс кристалличности рассчитывается как отношение площадей «кристаллических» пиков к общей площади кривой между профилем дифрактограммы и базовой линией [Silva, 2012].

Существуют также реже применяемые методы оценки степени кристалличности по вычитанию вклада аморфной части материала (запись дифрактограмм для заведомо аморфного образца сходной природы) из дифракционных данных. Задача осложняется сложностью и неоднозначностью выбора аморфного образца сравнения. Обычно используются целлюлоза, предварительно разупорядоченная в бисерной мельнице, химически регенерированная целлюлоза, ксиланы, арабиногалактан или лигнин.

Для определения степени кристалличности очищенных целлюлозных материалов часто используют ИК-спектроскопию. Наличие лигнина и гемицеллюлоз может сильно влиять на интенсивность полос поглощения/отражения, что накладывает ограничения на применимость метода в анализе объектов с нативным составом. В спектре целлюлозы характерными являются отношения (индексы О'Коннора) полос поглощения D_{1430} / D_{900} и D_{1372} / D_{2900}. Полоса поглощения с частотой ~1430 $см^{-1}$ (колебания CH_2-группы) называется «полосой кристалличности», а полоса поглощения ~900 $см^{-1}$ (колебания ОН-групп атома C^1 в спектрах β-

гликозидных связей) – полосой аморфности. При уменьшении количества кристаллитов, интенсивность полосы при 1430 $см^{-1}$ снижается, а при 900 $см^{-1}$ растет [Котенёва, 2011].

Соотношение интенсивностей полос при ~1370 $см^{-1}$ (деформационные колебания СН-группы) и при ~2900 $см^{-1}$ (валентные колебания СН-связей в метиленовых и метиловых группах) называют индексом О'Коннора-Нельсона. Подход основан на том, что интенсивность поглощения при 2900 $см^{-1}$ не зависит от кристалличности целлюлозы, в отличие от деформационных колебаний СН-группы [Кочева, 2008].

Для определения соотношения полиморфов целлюлозы Iα- к Iβ-, а также индекса кристалличности целлюлозы также применяется ^{13}C ЯМР. Область химического сдвига между 86 и 92 м.д. относят к упорядоченным участкам, а более широкую область от 79 до 92 м.д. – к неупорядоченным [Liitia, 2003; Bommarius, 2008; Hall, 2010]. Индекс кристалличности определяется как соотношение площадей упорядоченных и разупорядоченных областей сигнала от углерода С-4 (3-4):

$$\text{Степень кристалличности} = A_{86\text{-}92} / (A_{79\text{-}86} + A_{86\text{-}92}) \quad (3)$$

$$\text{Степень кристалличности} = A_{86\text{-}92} / (A_{79\text{-}86} + A_{86\text{-}92}) \quad (4)$$

Для разложения ЯМР-спектров используют метод деконволюции с приближением функций Лоренца или Гаусса, чтобы форма и количество пиков согласовались с теоретической моделью Аталла и Вандерхарта [Atalla, 1984 и 1999].

Степень полимеризации макромолекул природного сырья

Зависимость скорости и выхода кислотного или ферментативного гидролиза целлюлозы от степени её полимеризации практически отсутствует [Knappert, 1980; Клесов, 1981]. Активация сырья перед переработкой сопровождается значительным изменением таких свойств материала, как удельная площадь поверхности, пористость, степень кристалличности, что делает незначительным вклад от разрыва полимерной цепи, безусловно, имеющего место. Значительное влияние степени полимеризации на реакционную способность можно наблюдать лишь в модельных экспериментах с чистым целлюлозным субстратом и индивидуальной целлобиогидролазой или экзоглюкозидазой [Синицын, 1995; Hallac, 2011].

Следует подчеркнуть, что перечисленные в данной главе физико-химические параметры (химический состав, удельная площадь поверхности, пористость, степень кристалличности и полимеризации) тесно взаимосвязаны и при использовании какого-либо типа предварительной активации сопровождают друг друга, приводя к комплексному повышению реакционной способности.

1.4. Методы увеличения реакционной способности полимеров природного сырья. Механохимические методы

Технологическая и экономическая эффективность использования растительного сырья в том или ином технологическом процессе обусловлена реакционной способностью материала, доступностью целевых компонентов (например, экстрактивных веществ, целлюлозы, крахмала, дрожжевого бета-глюкана) для растворителей или реагентов. Данные параметры во многом определяются эффективностью предварительной подготовки (активации) сырья. Выбор метода предобработки осуществляют, исходя из оптимального сочетания эффективности последующего (активируемого) процесса, затрат энергии и реагентов, количества ингибирующих или побочных веществ.

Обзор методов активации полимеров природного сырья

В обзорных работах [Синицын, 1995; Kumar 2009-a; Fang, 2013; Galbe, 2007] приведены и систематизированы общепринятые подходы к предварительной активации лигноцеллюлозных материалов. Вся совокупность методов может быть разделена на химические, физико-химические, физические и биологические блоки. Так, наиболее распространенными из химических методов являются кислотный или щелочной гидролиз [Lloyd, 2005; Yu, 2014], растворение органическими растворителями [Pan, 2006]. Из физических методов можно выделить механическую активацию (измельчение) [Barakat 2014], обработку ультразвуком [Nakayama, 2013], микроволновым излучением [Moretti, 2014], облучение электронами и гамма-излучением [Bak, 2009; Yin, 2016]. К физико-химическим относят автогидролиз [Ertas, 2014], обработку перегретым паром, взрывной аммиачный автогидролиз [Teymouri, 2005]. К биологическим методам относят делигнификацию микроорганизмами и гидролиз грибами Trichoderma [Saritha, 2012].

Аналогичная классификация приведена в обзоре [Middelberg, 1995], посвященном разрушению микроорганизмов. Наиболее распространённые методы обработки микроорганизмов делятся на 2 группы, которые в свою очередь можно разбить на подгруппы:

I. Механические методы с использованием:

а) шаровых и бисерных мельниц [Heim, 2007],

б) гомогенизаторов и дезинтеграторов [Sucher, 1975; Попова, 1989; Kim, 2006],

в) ультразвука [Feliu, 1994].

II. Немеханические методы.

1. Физические методы, основанные на:

а) декомпрессии [Lin, 1991 и 1992],

б) осмотическом шоке [Neu, 1965],

в) термолизе [Пучков, 1983].

2. Химические методы с использованием:

а) антибиотиков и клеточных ядов [Дамберг, 1983; Nikaido, 1985],

б) хелатирующих агентов [Marvin, 1989],

в) органических растворителей [Ames, 1984],

г) детергентов [Laouar, 1992],

д) хаотропных реагентов [Данилевич, 2007].

3. Ферментативные методы с использованием:

а) гидролитических ферментов [Божков, 2004; Milic, 2007],

б) автолиза [Kitamura, 1982; Kanegae, 1989].

Каждый из перечисленных методов нуждается в использовании энергии в виде механического воздействия, нагрева, излучения, перемешивания и т.д. Баланс затрат энергии и достигаемой реакционной способности (скорости реакции, выхода целевых веществ) определяет эффективность активации. Часто, для комплексного воздействия на сырьё и достижения наилучших показателей, используют последовательно несколько видов активации, например, механическую активацию и последующий кислотный гидролиз, обработку паром и последующий автогидролиз [Kumakura, 1982; Chaturvedi, 2013]. В таблице 1.2 в обобщенном виде представлено влияние основных методов активации на свойства растительного и микробиологически полученного сырья.

.

Таблица 1.2 – Влияние основных методов активации на свойства растительного сырья: *"high"* – высокий эффект; *"medium"* – умеренный эффект; *"low"* – низкий эффект; *"no"* – не определено или нет эффекта [Kumar, 2009-a; Alvira, 2010; Brodeur, 2011; Mood, 2013; Громов, 2016; Madadi, 2017]

Метод активации	Свойство (параметр) сырья				Преимущества (+) и недостатки (-) метода активации
	Удельная площадь поверхности	Аморфизация кристаллитов	Удаление лигнина	Удаление гемицеллюлоз	
Механическая активация	high	high	no	no	(+) увеличение удельной площади поверхности; снижение размера частиц, степени кристалличности, степени полимеризации; возможность проведения совместных химических реакций или образования механокомпозитов; (+) разрушение клеточной структуры микробиологического и растительного сырья; (-) высокие энергетические затраты; сложность масштабирования до полупромышленного уровня;
Кислотный гидролиз	high	no	medium	high	(+) растворение гемицеллюлоз (или дрожжевого бета-глюкана) до сбраживаемых моносахаридов; увеличение пористости материала; (+) разрушение связей между гуминовыми кислотами и минеральными компонентами торфов и углей; (-) высокая стоимость коррозионностойкого оборудования; образование побочных продуктов – ингибиторов ферментативного гидролиза; частичная деградация углеводов;
Щелочной гидролиз	high	no	high	high	(+) увеличение доступной площади поверхности благодаря растворению лигнин-гемицеллюлозного матрикса; низкое количество побочных продуктов (ингибиторов); (+) легкая экстракция дрожжевых маннопротеинов;

					(+) растворение гуминовых кислот торфов и углей; (-) большие времена проведения процесса; образование (в ряде случаев) нерастворимых солей кальция и магния; высокая стоимость регенерации реагентов;
Органосольвентная обработка (за исключением ионных жидкостей)	high	no	high	high	(+) удаляется значительная часть лигнина и гемицеллюлоз; относительная простота регенерации растворителей; (+) экстракция липидной компоненты микробного и торфяного сырья; (-) высокая пожаро-взрывоопасность растворителей; остаточные количества растворителей в сырье снижают эффективность ферментативных процессов; высокая стоимость растворителей; образование побочного продукта – лигнина;
Обработка ионными жидкостями	high	high	medium	medium	(+) удаляется лигнин и гемицеллюлозы; относительно «мягкие» условия обработки (низкие температуры и давления); (-) высокая стоимость и трудность регенерации ионных жидкостей;
Озонолиз	high	no	high	no	(+) окисление большой части лигнина; побочные продукты, как правило, не ингибируют ферментативные процессы; (-) высокая стоимость и большое потребление озона;
Паровой взрыв	high	no	medium	high	(+) снижение степени полимеризации и увеличение растворимости гемицеллюлоз и лигнина; хорошо сочетается со многими другими методами активации; (+) высокая степень разрушения клеток микробного сырья; (-) частичная деградация гемицеллюлоз; необходимость в катализаторе при обработке высоколигнифицированного

					сырья; большое количество побочных продуктов – ингибиторов ферментов и микроорганизмов; высокая стоимость оборудования, работающего под давлением;
Взрывной аммиачный автогидролиз	high	high	high	medium	(+) значительное увеличение удельной площади поверхности материала; значительная аморфизация целлюлозы; расщепление связей между лигнином и углеводами; удаление лигнина и гемицеллюлоз; низкое количество ингибирующих побочных продуктов; (-) низкая эффективность для высоколигнифицированного сырья; необходимость регенерации аммиака; высокие требования по уровню безопасности производства, использующего аммиак;
Взрыв сверхкритического CO_2	high	no	no	high	(+) значительное увеличение удельной площади поверхности материала; по сравнению со взрывным аммиачным автогидролизом экономически более эффективный процесс; низкие требования по коррозионной стойкости оборудования; малое количество побочных ингибирующих веществ; (-) практически не изменяет лигнин или гемицеллюлозы; высокая стоимость оборудования, работающего под давлением;
Гидротермальная обработка	high	no	medium	high	(+) высокая степень гидролиза; низкое количество ингибирующих побочных продуктов; (+) высокая степень разрушения клеток микробного сырья; (-) высокое потребление энергии и воды; использование высоких давлений и температуры;
Окисление в атмосфере влажного	high	medium	high	high	(+) высокая степень удаления лигнина и гемицеллюлоз; низкое количество побочных ингибирующих продуктов; (-) использование высоких давлений; высокая стоимость

кислорода					катализаторов процесса;
Микроволновое излучение	high	high	low	medium	(+) высокая скорость процесса; однородность продукта обработки; низкое количество побочных продуктов; (-) частичная деградация углеводов; высокие энергетические затраты; высокая стоимость проточного оборудования с большой производительностью;
Биологические методы	high	medium	high	medium	(+) удаление лигнина и гемицеллюлоз; низкие энергетические затраты; мягкие условия предобработки; отсутствие химических реагентов; высокая экологичность процесса; (-) очень низкая скорость процесса; потребность в больших площадях и постоянном мониторинге параметров, отвечающих за деятельность микроорганизмов.

Микроволновое излучение по большинству изучаемых параметров является альтернативой традиционному нагреву внешними источниками энергии. Увеличение температуры образца происходит быстрее и равномернее по объему при меньших затратах энергии. Из химических аспектов процесса можно выделить то, что диэлектрическая поляризация вызывает интенсивные колебания молекул и, как результат, частичное расщепление полимеров – целлюлозы, гемицеллюлоз, лигнина, увеличение удельной площади поверхности, аморфизацию упорядоченных участков целлюлозы и крахмала. Наблюдаемые изменения структуры полимеров растительного сырья повышают реакционную способность сырья и эффективность последующих химических процессов [Ma, 2009; Moretti, 2014].

Следующим по распространенности физическим методом активации является ультразвуковая обработка. В результате кавитационных процессов увеличивается удельная площадь поверхности сырья, становится менее упорядоченной структура целлюлозных фибрилл (снижение степень кристалличности и полимеризации). Введение кислотных или щелочных реагентов приводит к частичному гидролизу целлюлозы и увеличению доступности субстрата для сорбции ферментов [Nakayama, 2013; Wu, 2014]. К негативным эффектам можно отнести частичную инактивацию ферментов.

Среди химических методов активации, получивших повсеместное распространение благодаря относительной простоте процесса, можно отдельно выделить кислотный гидролиз концентрированными и разбавленными кислотами (чаще всего – серной), щелочной гидролиз (гидроксидами натрия, калия, кальция), растворение классическими органическими растворителями или ионными жидкостями и т.д.

Кислотный гидролиз осуществляется в двух крайних вариантах: с низкой концентрацией кислоты при высокой температуре, или с высокой концентрацией кислоты при низкой температуре. Наиболее перспективной считается обработка разбавленной кислотой (менее 4 %), поскольку данные условия не предъявляют жестких требований к коррозионной устойчивости оборудования, но приводят к достаточно высокому увеличению реакционной способности растительного сырья без образования большого количества побочных ингибиторов [Schell, 1992]. Кроме серной кислоты, наиболее распространенной в научных работах, гидролиз проводят при помощи азотной, соляной или фосфорной кислот [Israilides, 1978; Skiba, 2017].

Щелочной гидролиз является наиболее эффективным химическим методом удаления лигнина, отщепления ацетильных групп и уроновых кислот, снижающих доступность целлюлозы для сорбции ферментов. Действие щелочного гидролиза, прежде всего, заключается в разрыве межмолекулярных эфирных связей между лигнином и гемицеллюлозами. Идущие параллельно реакции, приводящие к разрыву поперечных связей между молекулами гемицеллюлоз, обуславливают увеличение пористости и набухание биомассы [Sun, 2002; Mood,

2013]. Наиболее часто используемый реагент – гидроксид натрия, но иногда применяют более дорогой гидроксид калия или известь. Недостатками щелочной обработки растительного сырья являются относительно высокая продолжительность процесса (вплоть до нескольких дней) и необходимость последующей нейтрализации. Метод широко применяется для обработки низколигнифицированного растительного сырья, но сталкивается с трудностями в виде большого количества отходов при использовании высоколигнифицированных объектов.

На способности гуминовых кислот растворяться в щелочах основаны наиболее изученные и широко применяемые на практике методы выделения гуминовых кислот из торфов и углей. Один из классических методов, используемых для препаративного выделения гуминовых кислот, заключается в обработке сырья щелочным раствором пирофосфата натрия и последующей экстракцией раствором гидроксида натрия [Бамбалов, 1998]. Щелочной раствор пирофосфата натрия способен извлекать связанные с минеральными компонентами гуминовые кислоты даже без предварительного кислотного гидролиза. При этом метод экстракции гуминовых кислот щелочным раствором пирофосфата натрия позволяет, по мнению многих исследователей, получить гуминовые кислоты со структурой, близкой к естественной [Hayes, 1975].

Следующим по распространенности химическим методом является применение органических растворителей (метиловый и этиловый спирт, ацетон, этиленгликоль, тетрагидрофуран) с добавлением катализатора – органических или неорганических кислот (чаще всего H_2SO_4 или HCl), оснований (чаще всего NaOH, $Ca(OH)_2$). Органосольвентный метод применяется для высоколигнифицированных материалов, обработка которых щелочами не целесообразна, при этом лигнин выделяется в чистом виде, что открывает возможность его дальнейшего использования [Mesa, 2011]. Широко используемый в лабораторных условиях метод не находит заметного применения на практике из-за пожаро- и взрывоопасности растворителей.

Технологический недостаток пожаро- и взрывоопасных органических растворителей отчасти снижен в процессах, использующих ионные жидкости – соли, состоящие, как правило, из крупных органических катионов и небольших неорганических анионов. Из-за сильного связывания между ионами солей и гидроксильными протонами углеводов разрушается супрамолекулярная сеть водородных связей между целлюлозой, гемицеллюлозами и лигнином; некоторые ионные жидкости позволяют даже селективно растворять целлюлозу или лигнин [Swatloski, 2002; Lee, 2009]. Безусловное преимущество данного метода заключаются в использовании «зеленых» растворителей с высокой термической и химической стабильностью. Однако, остатки ионных жидкостей инактивируют ферменты, а высокая дороговизна и большие

затраты на регенерацию реагентов делают практически невозможным применение данного метода в промышленном масштабе.

Широко исследуются комплексные методы, являющиеся комбинацией физического и химического воздействия. К наиболее распространённым подходам можно отнести паровой взрыв, взрывной аммиачный автогидролиз, взрыв CO_2, обработку горячей водой, обработку ультразвуком и микроволновым излучением. Например, авторы работы [Sire, 2009] показали, что комбинация щелочной обработки с кавитационной и электроразрядной обработкой приводит к большим выходам, нежели традиционная щелочная экстракция, но сопровождается значительным изменением структуры гуминовых кислот.

Принцип действия парового взрыва заключается в обработке растительного сырья водяным паром, находящимся под высоким давлением (7-47 атм) и температуре (140 до 270 °С). Спустя некоторое время – от нескольких секунд до нескольких минут – давление резко сбрасывается и происходит так называемый «паровой взрыв», сопровождающийся гидролизом гемицеллюлоз до олигомеров и мономеров при помощи органических кислот, которые высвобождаются во время обработки паром. Некоторые изменения в структуре претерпевает и лигнин – снижается молекулярная масса, часть лигнина «вытапливается» из структуры – в результате чего, повышается поверхность целлюлозы, доступная для сорбции ферментов [Pan, 2005]. В настоящее время ведутся работы по подбору технологических условий, позволяющих снизить выход побочных процессов деградации гемицеллюлоз и возможной рекристаллизации целлюлозы, а также повысить степень удаления лигнина.

Взрывной аммиачный гидролиз (аммиачный автогидролиз, AFEX) проводится по технологии схожей с паровым взрывом, но с использованием жидкого аммиака, находящегося под давлением 20-30 атм. и умеренно высокой температуре (50-130 °С). Отличительной особенностью метода является то, что продукт обработки получается в твердом виде, что снижает глубину прохождения побочных реакций и, соответственно, долю ингибирующих веществ, препятствующих последующей ферментативной обработке [Sun, 2002; Gollapalli, 2002; Galbe, 2007].

Ещё одним широко изучаемым вариантом предварительной обработки является обработка сверхкритическим углекислым газом (31°С и 7,38 МПа). Сверхкритическая двуокись углерода обладает высокой проникающей способностью, не требует поддержания высоких температур, не образует при обработке растительного сырья токсичных и воспламеняющихся соединений, а также обладает значительно меньшей коррозионной активностью, нежели аммиак. Такая обработка приводит к растворению лигнина, гидролизу гемицеллюлоз, нарушению супрамолекулярной структуры целлюлозы и гемицеллюлоз. Самыми цитируемыми

примерами работ, имеющих большой прикладной потенциал, являются статьи по сравнению взрыва двуокиси углерода с взрывом пара и аммиака [Zheng, 1998; Kim, 2001].

Обработка горячей водой (гидротермолиз, LHW) – другой метод воздействия, не использующий быстрой декомпрессии или взрыва, но требующий поддержания высокой температуры (160-240°C) и давления. Метод главным образом рассчитан на растворение, частичный гидролиз до олигомеров и удаление гемицеллюлоз. В результате несложного фракционирования отделяется твердая фракция, обогащённая целлюлозой, и жидкая фракция с растворёнными олигомерами гемицеллюлоз, а также продуктами частичного разложения лигнина. Данный подход широко применяется для повышения реакционной способности растительного сырья [Perez, 2008; Rogalinski, 2008], но высокая энергоёмкость сдерживает широкомасштабное внедрение на практике.

Группа окислительных методов предобработки, использующих в качестве реагента пероксид водорода, кислород, воздух или озон, осуществляется при температуре от 120 до 200 °C и давлении от 5-20 атм. за относительно короткое время до 15-40 минут. При протекании окислительно-восстановительных реакций, приводящих к деструкции лигнина, также образуются органические кислоты, которые частично гидролизуют и повышают растворимость гемицеллюлоз. Добавление некоторого количества щелочей или карбоната натрия повышает выход моносахаридов и снижает образование ингибирующих соединений путем поддержания оптимального pH [Varga, 2003; Martin, 2007]. Главными ограничениями применимости метода является высокая стоимость коррозионностойкого оборудования и иногда применяемых катализаторов [Bogolitsyn, 2010; Popova, 2014].

Особое место среди методов предварительной обработки растительного сырья занимают биологические методы, чаще всего основанные на делигнификации и деградации гемицеллюлоз грибами белой, коричневой, мягкой гнили *Phanerochaete sordida, Pleurotus ostreaus, Pycnoporus pulverulentum, Stereum hirsutum* [Kumar, 2009]. Биологические методы не используют высоких температур и давлений, но нуждаются в больших площадях для культивации микроорганизмов, а также требует много времени. Эффективность обработки сильно зависит от выбранной микробной культуры (чаще всего – совокупности нескольких культур), параметров исходного субстрата (размер частиц, содержание воды) и температура обработки.

Перспективным направление развития биологических методов можно назвать комбинацию обработки микроорганизмами с последующей химической или физико-химической обработкой. Так, воздействие гриба *Pleurotus ostreatus* на рисовую лузгу с последующим аммиачным гидролизом приводит к более высокой конверсии целлюлозы и позволяет использовать более мягкие условия гидролиза [Balan, 2008].

Механохимическая активация полимеров природного сырья и её химико-технологическое применение

Цель любой предобработки, включая механохимическую, заключается в повышении скоростей и выходов последующих процессов и, как следствие, в повышении рентабельности производства. С точки зрения переработки растительного и микробиологического сырья способ предобработки должен увеличивать реакционную способность и выход целевых продуктов (низкомолекулярных углеводов, белков, гуминовых кислот), снижать степень деградации целевых продуктов в побочных реакциях; являться экологически безопасным, повышать экономическую эффективность процесса переработки в целом.

Как уже упоминалось в главе 1.3, реакционная способность растительного сырья связана с размером частиц и, как следствие, с площадью поверхности, а также с соотношением между упорядоченной (кристаллической, нереакционноспособной) и разупорядоченной (аморфной, реакционноспособной) частью целлюлозы, крахмала, бета-глюкана, органического вещества угля. Механохимическое диспергирование (увеличение площади) и разупорядочение структуры (образование дефектов) твердых биополимеров приводят к увеличению площади контакта между реагентами и к снижению энергии активации в последующих гетерогенных реакциях, например, «твёрдое тело – жидкость» или «твёрдое тело – газ» [Болдырев, 1983 и 2006].

На качественном уровне в процессе механической активации из-за воздействия рабочих тел на частицы обрабатываемых материалов, в последних возникают локальные напряжения [Болдырев, 1983]. Возникшее поле напряжений нуждается в релаксации, и высвобождение запасённой энергии может проходить по нескольким каналам релаксации:

- нагревание (повышение температуры);
- измельчение (образование новой поверхности);
- пластическая деформация (иногда сопровождается образованием метастабильных полиморфных модификаций);
- дефектообразование (в том числе полная аморфизация) [Болдырев, 2006].

Запасенная в процессе механической активации энергия главным образом расходуется на хрупкое измельчение или пластическую деформацию, образование линейных и точечных дефектов. Также при нагружении в материале может происходить обрыв связей, что для ковалентно-связанных веществ приводит к образованию свободных радикалов, а для упорядоченных супрамолекулярных структур – к аморфизации.

Высокомолекулярным соединениям, рассматриваемым в данной диссертационной работе, свойственно наличие и прочных ковалентных связей внутри молекул, и развитых сеток из слабых межмолекулярных взаимодействий. В связи с этим, под действием механических сил в биополимерах (и их супрамолекулярных комплексах) происходят следующие процессы:

изменения трехмерной структуры (конформации); разупорядочение кристаллитов (аморфизация); разупорядочение супрамолекулярной структуры; разрыв межмолекулярных связей, а также образование свободных радикалов и протекание химических реакций, обусловленных деформацией углов и разрывом связей. В результате измельчения происходит образование новой поверхности, но после достижения предела измельчения увеличение удельной поверхности прекращается и в большей мере протекает пластическая деформация, которая может приводить к агрегации частиц продукта.

В условиях, предусматривающих одновременное механическое воздействие мелющих тел на смесь реагентов, в ряде случаев удается получать механокомпозиты – реакционноспособные полупродукты, молекулы реагентов в которых распределены по поверхности субстрата, что приводит к высоким локальным концентрациям, уменьшению диффузионных путей и, как следствие, повышению скорости последующих реакций.

В работах группы В.А. Радцига (Институт химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва) методом ЭПР установлено, что механическая активация полимеров сопровождается разрывом связей с энергией около 340 кДж/моль, что соответствует разрыву С-С и С-О связей полимеров, входящих в состав биогенного сырья [Радциг, 2004]. При этом скорость разрыва связей зависит от природы полимера. Так, скорость образования свободных радикалов выше для жесткоцепочных полимеров с высокой молекулярной массой и ниже для хаотичной глобулы и относительно коротких молекул с меньшей молекулярной массой [Дубинская, 1999].

Установлено, что бо́льшая часть энергии, затраченной на механическую активацию, переходит в тепловую, и только незначительная часть (3-5 %) расходуется на процессы, приводящие к активации материала. Количество запасенной обрабатываемым веществом энергии зависит как от условий механической активации (тип оборудования и параметры единичного механического воздействия, интенсивность воздействия, температура и продолжительность активации), так и от физико-химических свойств материала. В настоящее время разработан широкий спектр оборудования (более подробно в главе 1.5), реализующего в качестве механического воздействия свободный или стесненный удар, сдвиг, сжатие или расширение, и другие типы механического воздействия. С учётом того, что полимеры, входящие в состав биогенного природного сырья, относятся к термопластичным и термореактивным, изучение процессов, протекающих при высоких интенсивностях обработки, представляет особый интерес для механохимии.

Механохимические методы управления реакционной способностью твердых тел имеют ряд преимуществ перед другими методами, охарактеризованными ранее, благодаря безотходности и экологической безопасности производства [Ломовский, 2006]. Активация сырья осуществляется в твердой фазе без использования растворителей, высоких давлений или

температур, что значительно снижает вероятность протекания побочных реакций, разложения целевых веществ. Безрастворное осуществление химических процессов в полной мере соответствует принципам «зеленой химии» [Anastas, 2003], и всё чаще используется в промышленности не только при переработке растительного сырья [Рязанова, 2000; Ефанов 2001 и 2002; Politov, 2010; Татаринова, 2014], но и, например, при получении керамических материалов, катализаторов [Wieczorek-Ciurowa, 2007].

Механохимическая обработка сырья, имеющего клеточную организацию

Механическая активация позволяет снимать диффузионные затруднения и повышать доступность целлюлозы в последующих гетерогенных реакциях, например, при гидролизе [Алтунина, 2002; Zhu, 2009; Голязимова, 2009; Yeh, 2010; Silva, 2012; Barakat, 2014]. Факторы, отвечающие за эффективность гетерогенного гидролиза, обсуждались выше: разупорядочение лигнин-гемицеллюлозного матрикса, увеличение площади поверхности, аморфизация кристаллитов целлюлозы или крахмала, увеличение доступности целлюлозы для реагентов. Но для сырья, имеющего клеточную организацию – микробная и грибная биомасса, растительное и животное сырьё – можно выделить ещё ряд факторов, связанных с многоуровневым структурированием «сырьё – ткани – клетки – клеточные стенки – супрамолекулярные комплексы полимеров – полимеры – кристаллические/аморфные участки полимеров».

Для начала рассмотрим процессы, связанные с разрушением клеточных стенок и широко применяемые в химии биотехнологически получаемого сырья, например, дрожжевой биомассы.

Механические методы обработки дрожжевой биомассы, такие как обработка в шаровых или бисерных мельницах, проточных дезинтеграторах, гомогенизаторах высокого давления и др. чаще всего применяются для переработки больших объёмов биомассы. Преимущества механических методов состоят в коротких периодах обработки и связанной с этим незначительной деградацией компонентов клеток, малыми экономическими затратами, по сравнению с химическими и ферментативными методами. Однако механические методы не лишены недостатков, к которым относятся: неспецифическое разрушение клеток, образование слишком мелких осколков клеток, которые трудно отделить от основной биомассы, сложность масштабирования процессов при переходе от лабораторных установок к полупромышленным и промышленным аналогам.

Основная цель ранних работ по механической дезинтеграции микроорганизмов, выполненных ещё в начале 40-х годов, состояла в том, чтобы добиться максимальной эффективности разрушения клеток в суспензии. К настоящему времени эта цель успешно достигнута благодаря использованию высоконапряжённых аппаратов, например, вихревых

мельниц. Для разрушения 90-95 % клеток большинства культур достаточно нескольких минут обработки в подобных аппаратах [Касаткина, 1999].

Число целых клеток в процессах механической дезинтеграции изменяется по закону, близкому к экспоненциальному [Кудрявцев, 1988; Heim, 2007]

$$N=N_o \exp(-t/\tau),$$

где N – текущее число целых клеток в объёме дезинтегратора; No – начальное число клеток; t – время дезинтеграции; τ – постоянная.

Разрушение, как правило, не является конечной целью процесса. Часто дезинтеграцию проводят для выделения внутриклеточных компонентов. Эта цель наиболее полно достигается в процессах, в которых высокая эффективность сочетается с небольшой скоростью инактивации их содержимого.

Обычно выделяемые внутриклеточные структуры или молекулы слабо связаны механически с остальным содержимым клетки и легко выходят наружу после разрушения стенки. Поэтому можно считать, что для полной дезинтеграции клетки достаточно разрушить её клеточную стенку как наиболее прочный её компонент. Избыточная обработка содержимого клеток может привести к дополнительной инактивации их содержимого. Учитывая это свойство «ступенчатости» процесса дезинтеграции, необходимо стремиться к режимам, обеспечивающим не более чем однократное воздействие разрушающего тела на клетку. После разрушения клетка должна быть выведена из объёма дезинтегратора.

Например, в работе [Аливердиева, 2005] автор предлагает использовать обработку дрожжевой суспензии в проточном дезинтеграторе с целью получения фракции клеточных оболочек. Показано, что при определённых условиях клетка испытывает однократное механическое воздействие и разрушается без сильного нарушения супрамолекулярной структуры клеточной стенки.

Эффективное применение вихревой мельницы в разрушении клеток дрожжевой биомассы показано ранее в работе [Касаткина, 1999]. Аминокислотный состав дрожжей близок к аминокислотному составу молока, в связи с чем стоит вопрос извлечения внутриклеточных белков дрожжей с целью получения заменителей молока для животных. Суть предложенного метода заключается в том, что суспензия дрожжевых клеток разгоняется до высоких скоростей, а затем сталкивается с неподвижной стенкой вихревой камеры, степень разрушения клеток достигает 90 % за 1 цикл обработки, что делает метод пригодным для промышленного применения.

Несмотря на наметившийся прогресс в использовании механических методов обработки дрожжевой биомассы, немеханические методы остаются самыми широко используемыми.

Наиболее популярными среди немеханических методов обработки дрожжевой биомассы являются химические и ферментативные методы, включающие обработку щелочами, кислотами, органическими растворителями и гидролитическим ферментами. Такие подходы хороши тем, что позволяют не только разрушить клетку, но и выделить различные целевые компоненты в чистом виде.

Для растительного сырья, объектов более глубоко структурированных, применение механической активации может приводить к изменению таких физико-химических свойств, как растворимость, вязкость, и биологическая активность (биодоступность, способность проникать сквозь клеточные мембраны, токсичность) биополимеров и супрамолекулярных композитов на их основе. Например, в работе [Иващенко, 2002] при помощи механической активации авторам удалось увеличить степень замещения функциональных групп в хитине, что привело к получению новых производных с повышенной растворимостью в воде. Аналогично, механическая активация аморфного диоксида кремния с растительными катехинами увеличивает выход реакции хелатообразования кремния, что позволяет получить новый продукт, содержащий кремний в растворимой форме [Шаполова, 2010-2012].

В ряде случаев особенности строения материала, например, присутствие фазы балластных веществ (как диоксид кремния в рисовой шелухе), накладывает ограничения на выбор механического воздействия и, как следствие, используемого оборудования[2]. Так, рисовая лузга содержит 20-30 % диоксида кремния, который образует отдельную фазу поверхности частиц материала и придаёт высокую устойчивость к механическому и химическому воздействию [Сергиенко, 2004; Johar, 2012; Phaiboonsilpa, 2013]. Ударное воздействие, реализуемое в пневматических мельницах или дезинтеграторах не способно с адекватной экономической эффективностью измельчить данный материал, плюс, провести механохимическую реакцию. Но при сдвиговом воздействии, реализующемся в шаровых, планетарных (некоторые режимы работы) или центробежных мельницах, возможно достигнуть заданной тонины помола и прохождения хелатообразования [Шаполова, 2012; Shapolova, 2012].

Противоположный пример иллюстрирует работа [Кузнецов, 2012], где показано, что механическая обработка древесины осины – пористый и неплотный материал – в ножевых и струйных активаторах приводит к изменению супрамолекулярной структуры материала, увеличению скорости и выхода последующего гетерогенного гидролиза древесины. При этом наблюдаются изменения химического состава: повышается содержание легкогидролизуемых полисахаридов, снижается количество трудногидролизуемых полисахаридов и лигнина.

---

[2] Шаполова, Е. Г. Механическая активация процесса ферментативного осахаривания углеводов рисовой шелухи / Е. Г. Шаполова, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Химия в интересах устойчивого развития. – 2012. – №5. – С. 639-644.

Некоторые успехи достигнуты в области масштабирования механоферментативных процессов. В работе [Tassinari, 1980] показано, что степень ферментативной конверсии лигноцеллюлозы в глюкозу коррелирует со временем механической активации, а, следовательно, с энергией, подведенной к материалу. Авторам удалось добиться повышения выхода низкомолекулярных углеводов от 36 до 90 %, в зависимости от типа сырья и интенсивности активации. Похожие результаты продемонстрированы в [Hideno, 2012]. Сочетание «мокрого» измельчения на дисковой мельнице с последующей гидротермальной обработкой рисовой лузги позволило достигнуть 90 % выхода глюкозы и значительно снизить загрузку фермента.

Уменьшение выхода гидролиза отмечается и в работах [Lin, 2010; Hilgert, 2013], в которых механическая активация была совмещена с обработкой разбавленными щелочами, кислотами или катализатором (Ru на углероде). Обработка соломы кукурузы в шаровой мельнице в присутствии кислот и щелочей приводила к увеличению выхода на 160 % из-за делигнификации сырья. А механокаталитическая обработка – наиболее эффективный из изученных режимов – приводила к 94 % конверсии спирта.

Механохимическая обработка сырья, не имеющего клеточной организации

В качестве примеров механохимической обработки сырья, не имеющего клеточного строения, можно привести обширный список общеизвестных классических работ по механохимии синтетических полимеров [Симионеску, 1970; Барамбойм, 1971; Sohma, 1989; Ramirez, 2013; Craig, 2017] или по механосинтезу [Tanaka, 2010; Achar, 2017; Ohn, 2018], но в контексте данной диссертационной работы, имеющей цель сфокусироваться на промышленно применимых аспектах механохимии природного сырья, автору кажется более уместным привести обзор состояния дел в наиболее крупнотоннажной области механохимии – процессах извлечения и модификации гуминовых кислот.

Механическая активация торфов и бурых углей в присутствии реагентов различной природы (щелочей, окислителей, ферментов) приводит к изменению выхода и структуры гуминовых веществ в зависимости от типа сырья, используемого механохимического оборудования и условий обработки [Иванов, 2006; Ломовский, 2008]. Механически активированные угли имеют высокую реакционную способность при последующей обработке различными реагентами, что отражается в увеличении выхода, состава и структуры экстрагируемых веществ, повышении степени конверсии органического вещества при термическом воздействии, газификации и сверхкритическом растворении [Полубенцев, 1992; Proidakov, 2009; Буркова, 2016].

В первую очередь увеличение реакционной способности углей в процессе механической активации (и даже просто при измельчении) объясняется увеличением площади поверхности, интенсивной электризацией и увеличению числа парамагнитных центров [Хренкова, 1993]. Методом ЭПР-спектроскопии зафиксировано, зависящее от интенсивности воздействия, изменение свойств реакционной среды органического вещества угля: повышение количества парамагнитных центров при измельчении и механической активации угля [Полубенцев, 1991 и 1999]. На основании данных ЭПР- и ИК- спектроскопии предложены вероятные реакции преобразования С-О и С-С связей, протекающие в результате механохимической обработки (Рисунок 1.17) [Хренкова, 1983].

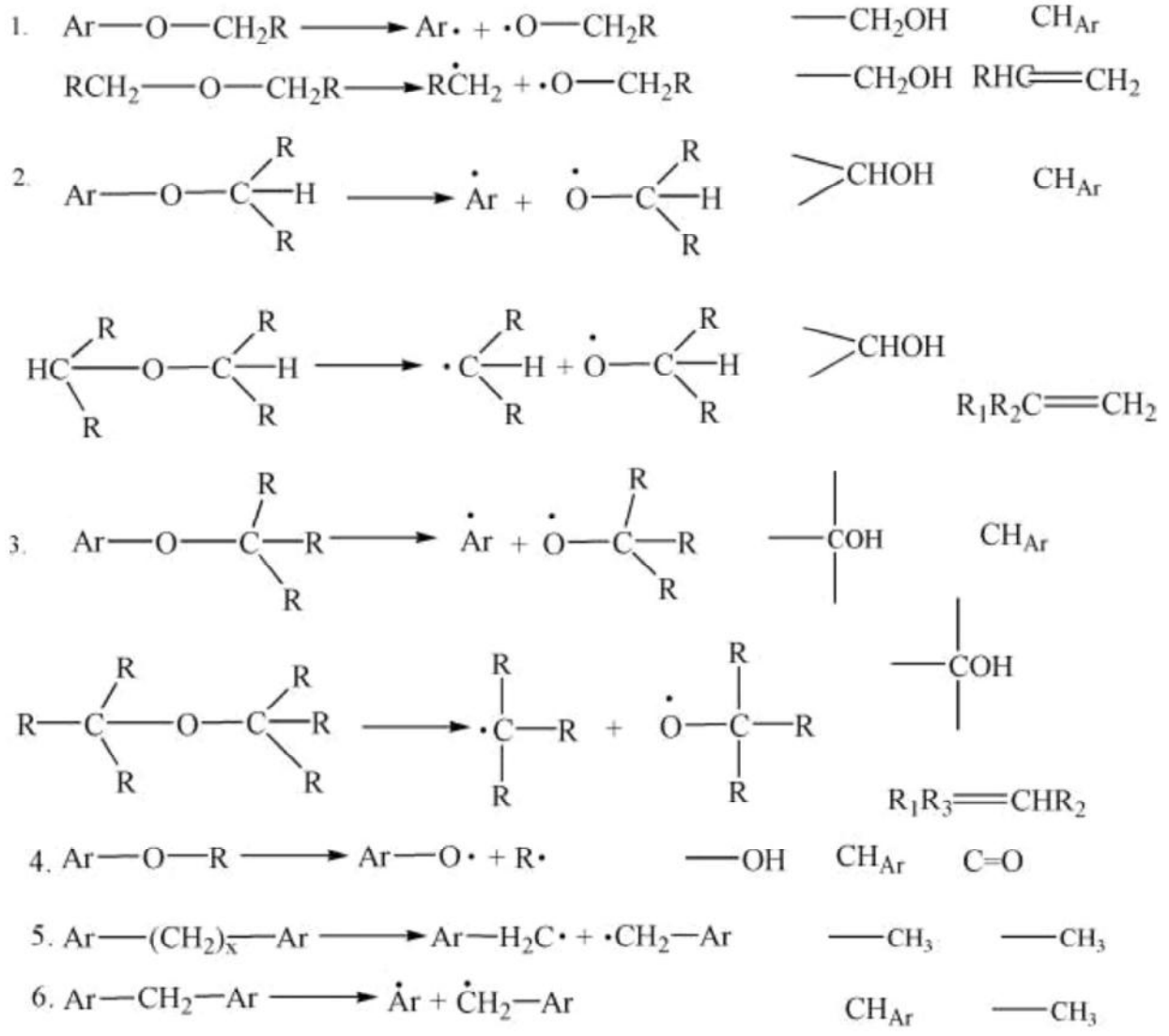


Рисунок 1.17 – Возможные реакции преобразования С-О и С-С связей, протекающие в углях в процессе механической активации [Хренкова, 1983].

Образование радикалов на поверхности в процессе мехактивации приводит к ускорению процесса окисления. При этом выход гуминовых веществ растёт сильнее при механической активации, совмещённой с протеканием окислительно-восстановительных превращений, из-за

рекомбинации парамагнитных центров. О существенном вкладе радикалов в окисление угля говорит то, что увеличение констант скоростей окисления не соответствует (опережает на два порядка) росту удельной поверхности угля в ходе механактивации [Полубенцев, 1993].

Таким образом, можно сделать вывод, что гуминовые вещества поддаются окислению с образованием новых кислородсодержащих групп, что открывает широкие возможности их использования, например, в качестве сорбентов. Для использования в механохимических реакциях наиболее технологически привлекательным выглядит твердофазный окислитель – перкарбонат натрия 2 Na_2CO_3*3 H_2O_2 – соединение, широко применяемое в органическом синтезе, характеризующееся высокой стабильностью, доступностью и низкой стоимостью [McKillop, 1995; Жубриков, 2009; Doskoc, 2014].

В прикладных работах, направленных на извлечение гуминовых веществ, максимальный выход наблюдался при механохимической обработке торфа и бурого угля с некоторым количеством щелочных реагентов (гидроксид натрия, карбонат натрия) [Иванов, 2008; Мамылов, 2010]. При этом гуминовые кислоты переводятся в солевую форму, что подтверждается гравиметрическими методами (эта форма гумата натрия более растворима, нежели протонированная форма) и термическим анализом [Мамылов, 2014].

На сегодняшний день механохимия позволяет не только увеличивать выход при извлечении гуминовых веществ из сырья, но и химически модифицировать структуру получаемых молекул для обеспечения необходимых функциональных свойств [Skybova, 2007; Mirzobekzoda, 2015]. К сожалению, большинство подобных исследований проведено на лабораторном оборудовании или на модельных системах (выделенных и очищенных гуминовых кислотах), поэтому весьма актуальной задачей для механохимиков и углехимиков является обобщение результатов, перенос фундаментальных работ в прикладную плоскость.

В связи со спецификой объекта (многолетнее пребывание сырья в геологических структурах), большинство функциональных групп гуминовых кислот находятся не в протонированной форме, а задействовано в различных химических взаимодействиях [Aiken, 1985]. При помощи механохимической обработки удается разрушить данные взаимодействия и освободить функциональные группы, плюс, дополнительно увеличить их количество. Этим обусловлен интерес к механохимическим методам модификации гуминового сырья; проведение механохимических реакций в твёрдой фазе позволяет модифицировать молекулы гуминовых кислот по определенным видам функциональных групп и получать продукты, содержащие гуминовые кислоты с контролируемым содержанием необходимых функциональных групп [Lomovsky, 2004; Savel'eva, 2013].

Контроль протекания перечисленных процессов, их осуществление в проточных активаторах позволяет получать в промышленном масштабе гуминовые продукты –

мелиоранты, компоненты удобрений, сорбенты – с высоким содержанием наиболее активных фенольных и карбоксильных групп.

В частности, в работе [Юдина, 2002] продемонстрирована возможность протекания в торфе твердофазных механохимических реакций, приводящих к образованию реакционных микрокомпозитов с щелочами и ферментами. В [Иванов, 2005] представлены результаты по сравнению механохимических процессов, протекающих в виброцентробежном активаторе ВЦМ-10 и планетарном активаторе АПФ – 4 (при сопоставимом ускорении мелющих тел 180 и 200 м/с^2) в присутствии NaOH и фермента «Целловиридин ГзХ». Показано, что подбором параметров механохимической обработки можно получить продукт, с повышенным в пять-семь раз содержанием экстрагируемых веществ: гуминовых кислот (в 1,5 раза), полисахаридов, полифенолов и битумов. Делается предположение, что выход гуминовых кислот увеличивается благодаря разрыву химических связей (например, С-О гликозидных), окисления кислородом во время механической обработки и закономерного увеличения количества гидрофильных групп. В работе [Savel'eva, 2015] опубликованы результаты по механохимической обработке бурого угля марки 2б Барандатского месторождения Канско-Ачинского угольного бассейна с 5 % NaOH и 3 % перкарбоната натрия в планетарном активаторе АГО-2 (при ускорении мелющих тел 600 м/с^2). Механохимическая обработка в данных условиях приводит к росту выхода гуминовых кислот в 2,4 раза, что соотносится с результатами экспериментов, проведенных с окисленными бурыми углями месторождений Монголии (увеличение выхода в 1.9-2.5 раза).

Авторы [Шкуратник, 2009; Шульгин, 2010] изучали роль воды при ступенчатой механической активации гуминовых кислот с гидроксидом натрия. На первом этапе в смесителе проводилось смачивание угля. При последующем добавления гидроксида натрия смесь нагревалась, благодаря чему происходили плавление битумов в составе угля и реакция гуминовых кислот с щелочью.

Механохимическая обработка бурого угля со щелочами изучается в научных учреждениях Кемеровской области [Федорова 2009 и 2010; Исмагилов 2012]; показана эффективность мехактивации бурого угля, приводящей к росту выхода гуминовых кислот, увеличению концентрации кислородсодержащих групп и появлению парамагнитных центров.

Была проведена механохимическая обработка бурого угля Бородинского месторождения Канско-Ачинского бассейна (планетарный активатор АГО-2, 1-60 минут) в присутствии высококипящего растворителя и без него [Kuznetsov, 2003]. Рентгеноструктурные исследования показали, что механохимическая обработка в течение 60 минут приводит к двукратному уменьшению доли графитоподобной фракции, хотя состав слоев (3.1-3.3 слоя) и межслоевое расстояние практически не изменяются. Также было продемонстрированно, что частично разрушаются не только слабые межмолекулярные взаимодействия, но и сильные перекрестные

связи в органическом веществе. Это приводит к значительному увеличению подвижности полимерных цепей, скорости набухания и выходу экстрагируемых веществ.

В статье [Skybova, 2007], посвященной модификации структуры гуминовых кислот, представлены результаты по механической активации бурого угля в низкоинтенсивной планетарной мельнице «Pulverisette 6» (частота вращения 400 об./мин, 10-60 минут). Показано, что мехактивация в атмосфере аргона незначительно увеличивает выход гуминовых кислот, а аналогичная обработка на воздухе приводит к увеличению выхода на 14,3 %. В более ранних работах этих авторов [Turčániová, 2000; Baláž, 2001] продемонстрирована эффективность механической активации бурого угля с раствором щелочи в аттриторе, приводящая к росту выхода гуминовых кислот при более низком расходе щелочи.

Однако, несмотря на большой массив опубликованных работ по механохимии гуминовых кислот, разнообразие применяемых условий обработки, таких как интенсивность механического воздействия, добавляемые реактивы, присутствие воды и т.д., показывает необходимость проведения и исследования механохимической обработки источников гуминовых кислот в широком диапазоне варьируемых параметров.

Таким образом, применение механохимических методов предварительной активации растительного сырья имеет весомые преимущества по сравнению с жидкофазными методами. Правильно подобранный тип механохимического воздействия (и оборудования) позволяет энергетически и экономически эффективно увеличивать реакционную способность твердофазных полимеров путём увеличения эффективной поверхности доступной для реагентов, снижения доли кристаллических участков, уменьшения коэффициентов диффузии, разупорядочения супрамолекулярной структуры материала, а также осуществления механохимических реакций с целевыми веществами.

Стоит отдельно отметить, что подавляющее большинство опубликованных работ выполнено на лабораторном оборудовании с целью получения фундаментальных результатов (чаще всего они были нацелены на достижение максимальных скоростей и выходов механохимических реакций) [Lin, 2010; Silva, 2012; Hilgert, 2013]. Перенос же лабораторных результатов на полу- и промышленное оборудование сопряжен с рядом сложностей, требующих проведения дополнительных исследований технологической направленности [Masarin 2009; Skiba 2017-b]. Очевидно, что экономическая эффективность комплексных процессов, включающих стадии измельчения или механическую активацию, определяется именно затратами на механическую обработку.

1.5. Механохимические аппараты, используемые для измельчения и активации полимеров природного сырья

Измельчение – один из самых распространенных и в то же время энергозатратных процессов в химической технологии. Например, в процессах добычи рудных полезных ископаемых измельчительное оборудование может составлять до 60 % стоимости и вносить до 40 % в себестоимость продукции (за счет потребляемой энергии, обслуживания и замены расходных частей) [Ballantyne, 2012 и 2014]. В случае переработки растительного сырья, имеющего меньшую твердость, оборудование для механической предобработки оборудование может составлять до 15 % стоимости и потреблять около 10 % энергии всего производства [Kwiatkowski, 2006]. При этом количество энергии, затрачиваемое на измельчение до одного и того же размера, может отличаться в несколько раз, в зависимости от типа выбранного оборудования [Repellin, 2010; Spence, 2011]. Поэтому именно выбор подходящего оборудования для измельчения и механохимической обработки может сыграть ключевую роль в снижении конечной стоимости продукции.

В настоящее время существует много моделей разрушения единичных и, как правило, крупных твердых тел [Broek, 1982]. Однако все они недостаточно учитывают нюансы взаимодействия с мелющими телами, а также не рассматривают процессы при механической обработке большого массива частиц [Zhao, 2001]. Поэтому в рассмотрении измельчительных и механохимических аппаратов используют классификацию по виду механического воздействия на частицы: раздавливание, раскалывание, разламывание, резание, распиливание, истирание, стесненный удар, свободный удар. Очевидно, что в большинстве аппаратов реализуется не один механизм воздействия, и, характеризуя какой-либо из них, обычно подразумевают только тот вид воздействия, вклад которого максимальный.

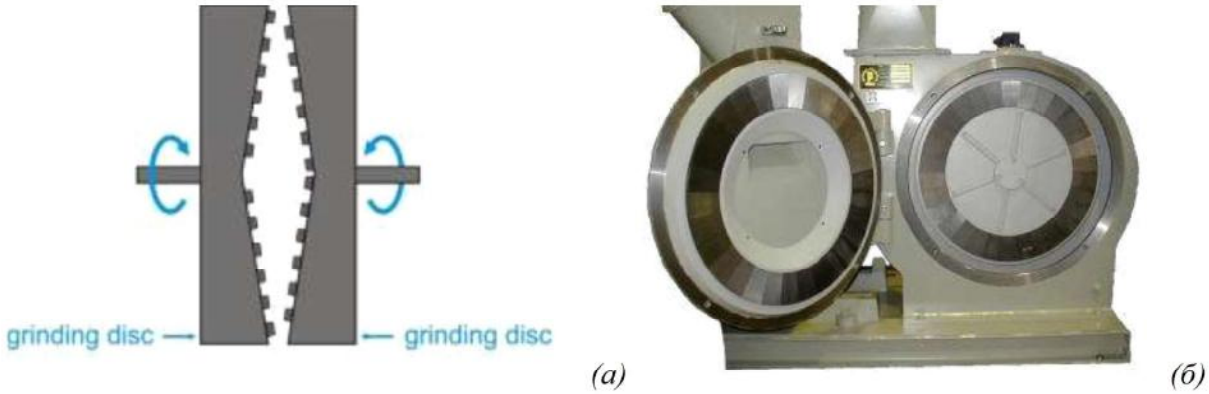
Для осуществления раскалывания, разламывания и распиливания необходимо, чтобы размер частиц был сопоставим с размером рабочих тел аппарата. Данные способы могут использоваться только для первичной подготовки сырья, имеющего размер в несколько сантиметров и более. Способ раздавливания подходит только для хрупких материалов, к которым природное биогенное сырье (за исключением бурого угля) не относится. Поэтому для измельчения растительного сырья практическое применение нашло оборудование, использующее резание, истирание, а также удар.

Данная глава не претендует на исчерпывающий обзор измельчительного и механохимического оборудования, так как его ассортимент на современном рынке исчисляется

сотнями[3]. В обзоре будут рассмотрены аппараты с различными видами механического воздействия, имеющие большой потенциал в механохимической переработке растительного сырья.

Дисковые мельницы

Дисковые мельницы являются, наверное, самым древним видом измельчительного оборудования на Земле. Принцип работы оборудования состоит в том, что материал проходит между двумя движущимися относительно друг друга дисками, что приводит к трению частиц материала о диски и к его измельчению (Рисунок 1.19-*а*). Для повышения эффективности размола применяют аппараты с изменяемым зазором между дисками, а также диски с нанесенными насечками. (Рисунок 1.19-*б*). В настоящее время известно большое число видов насечек для дисков, но общее мнение о наиболее «правильном» виде пока не выработано.



(а) *(б)*

Рисунок 1.19 – Схематический принцип действия *(а)* и пример реального образца дисковой мельницы «PolyGrinder PKM»[4] *(б)*

Данный вид мельниц, наряду с роликовыми, является основным при размоле зерна пшеницы, кукурузы и других сельскохозяйственных культур. Обычно размер частиц продукта варьирует от 300 до 200 мкм. Так же дисковые мельницы хорошо себя зарекомендовали при размоле волокнистых материалов, например, на стадиях подготовки пульпы на целлюлозо-бумажных производствах [Карбышев, 2012; Смирнов, 2012].

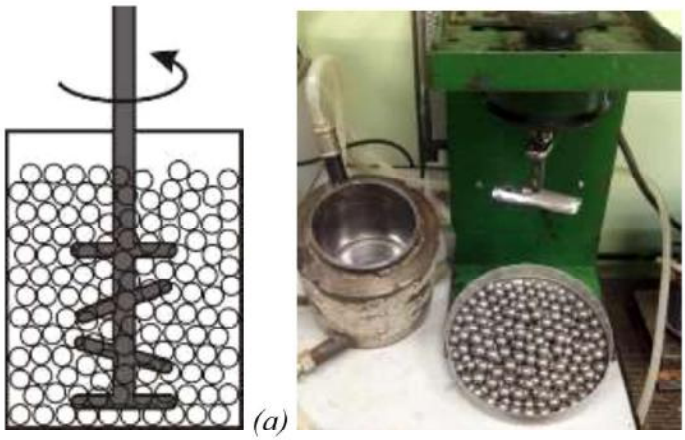
Данное оборудование выгодно отличается от аналогов очень узким распределением частиц по размеру, во многом определяющимся зазором между дисками. Основным недостатком является то, что сырьё обрабатывается в тонком слое между дисками, то есть зона, в которой проводится обработка, мала. Это приводит к технологическим трудностям, препятствующим созданию аппаратов с производительностью более 500 кг/час. При этом

[3] Lomovsky, O. Mechanical Pretreatment / O. Lomovsky, A. Bychkov, I. Lomovsky // In: S. I. Mussatto (Ed.) Biomass Fractionation Technologies for a Lignocellulosic Feedstock Based Biorefinery, Elsevier, 2016. Pp. 23–55.
[4] Home page – Pallman Industries: [сайт] URL: www.pallmannindustries.com (дата обращения: 01.09.2019)

затраты на размол древесины до размера пульпы (десятки микрометров) оцениваются в 4,2 МВт*ч/тонну [Francis, 2002], что в несколько раз превышает энергозатраты других мельниц. Для увеличения производительности нецелесообразно увеличивать скорость вращения или радиус диска. Этих действия приведут к росту сдвиговой деформации, скачку температуры в зоне обработки и, как следствие, к разложению целевых веществ.

Аттриторы и бисерные мельницы

Аттриторы – это вид оборудования, состоящий из сосуда, практически полностью заполненного мелющими телами, и водила, погруженного в них (Рисунок 1.20). При вращении водило приводит в движение мелющие тела, измельчающие сырьё, находящееся между ними.



(а) *(б)*

Рисунок 1.20 – Схематический принцип действия *(а)* и пример реального образца аттритора конструкции ИХТТМ СО РАН *(б)*.

Основное преимущество данного вида оборудования – это то, что у измельчаемых частиц нет возможности уйти из зоны контакта между мелющими телами. При достаточно мелком размере мелющих тел (стальной или керамический бисер с диаметром 300 мкм и менее) возможно получение частиц нано-размера. Именно технологическая возможность получения мелющих тел с размером в несколько сотен микрометров обеспечила возможность сделать прорыв в получении современных ультрадисперсных пигментов для лазерных принтеров и красок.

Основной недостаток аттриторов – сложность в отделении продукта измельчения от мелющих тел. В настоящее время это осуществимо только в случае, когда обработка проводится в присутствии жидкости, ток которой организует транспорт материала внутри зоны измельчения. Для сухого измельчения промышленные аттриторы используются крайне редко. Кроме того, данное оборудование отличается высокой степенью износа мелющих тел при обработке, что удорожает эксплуатацию аппаратов и вносит загрязнение в продукт.

Шаровые мельницы

Шаровые мельницы – одно из наиболее простых и распространенных видов механохимического оборудования (Рисунок 1.21). Во многих исследованиях по механохимии данная мельница используется как стандарт для сравнения.



Рисунок 1.21 – Шаровая мельница.

Принцип работы шаровой мельницы основан на том, что внутри сосуда, который вращается вокруг своей центральной оси, находится достаточно большое количество мелющих тел и измельчаемый материал. За счет сил трения между стенками сосуда и мелющими телами последние приходят в движение, измельчая сырьё.

В зависимости от скорости вращения изменяется основной вид механического воздействия (Рисунок 1.22). При небольших скоростях мелющие тела перекатываются, основным видом механического воздействия является истирание. При увеличении скорости вращения мелющие тела начинают отрываться от стенки в верхней точке траектории движения и падают, создавая тем самым ударные воздействия. При дальнейшем увеличении скорости вращения мелющие тела распределяются вдоль стенок и катятся, приводя к истиранию сырья [Mishra, 2003].

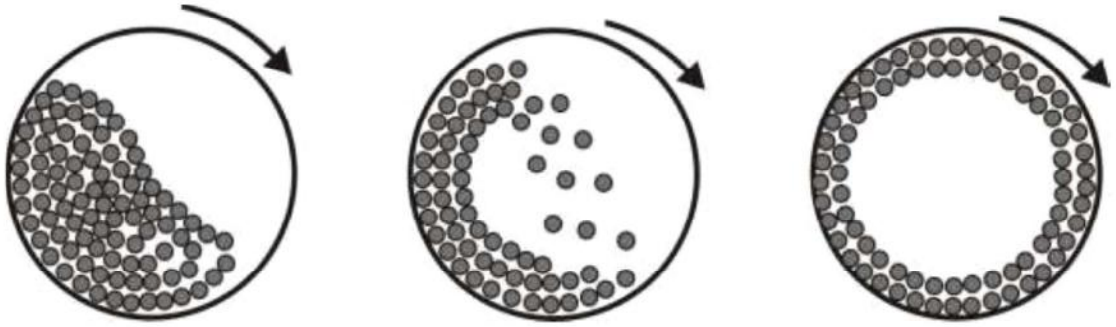


Рисунок 1.22 – Типы движения шаров в шаровой мельнице: *a* – перекатывание; *b* – падение; *c* – качение.

Считается, что наиболее выгодным с энергетической точки зрения является режим падения, поэтому многие промышленные шаровые мельницы имеют на внутренней поверхности специальные выемки, которые при более низкой скорости вращения могут поднимать мелющие тела на нужную высоту, обеспечивая ударный режим измельчения. Но данный подход эффективен в основном для хрупких неорганических материалов. В случае волокнистого растительного сырья или синтетических полимеров следует выбирать активаторы с гладкими внутренними стенками и проводить обработку в режиме перекатывания с преобладанием истирающего воздействия. Таким образом, выбор скорости вращения является критическим параметром данного типа оборудования.

Размер, количество и форма мелющих тел также влияют на эффективность механохимических процессов в шаровой мельнице, оптимизация данных параметров во многом обуславливает энергозатраты на процесс. Для работы в лаборатории, особенно когда стоят поисковые задачи по измельчению множества разнообразных материалов, данный вид оборудования оптимален. Даже в случае использования неэффективных условий обработки измельчение будет происходить, хоть и займет значительное время (десятки, а иногда и сотни часов). В общем случае рекомендуется использовать в качестве мелющих тел стальные шары с размером в 2 раза больше начального размера измельчаемого сырья, загрузка мелющих тел должна быть около 30 % от общего объема мельницы для минимизации неэффективных столкновений.

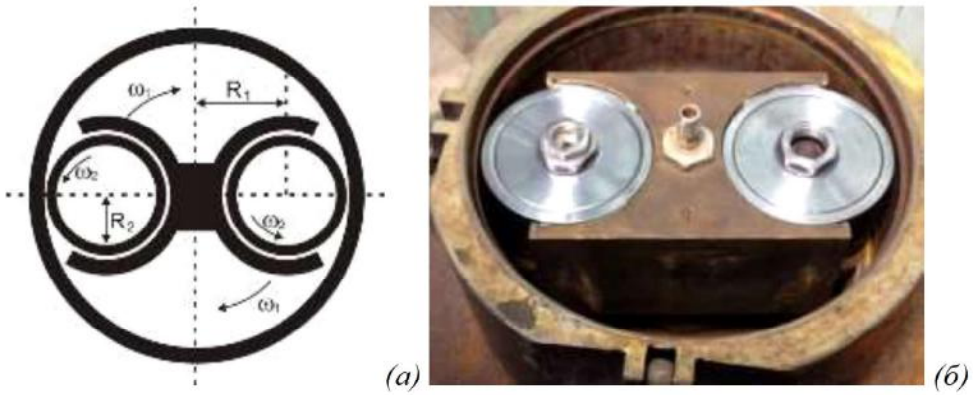
Данный вид оборудования имеет ряд недостатков, которые затрудняют его использование в переработке растительного сырья. Во-первых, это низкая производительность (по сравнению с другими аппаратами). Частично это проблема решается благодаря тому, что шаровые мельницы хорошо масштабируются и могут быть значительно увеличены в размере. Так, для промышленных цементных мельниц производители обычно заявляют следующие параметры: максимальный диаметр около 5 метров, максимальную длину – 15 метров, потреблением энергии – до 4 МВт, производительность (по песку) – 120 тонн в час. В случае растительного сырья, значительно отличающегося от песка по насыпной плотности и затрачиваемому на измельчение времени, производительность аналогичной мельницы не будет превышать 5-15 тонн в час.

Вторым фактором, усложняющим использование данного оборудования, является то, что при работе шаровая мельница генерирует частые механические колебания, направленные вниз. Из-за этого приходится устанавливать данное оборудование на фундаменте, развязанном с остальным строением и выполненным из специального бетона. Данный факт практически удваивает стоимость промышленного оборудования.

Именно неэффективность использования стандартных шаровых мельниц, широко применяемых, например, в цементной промышленности, является причиной разработки новых видов оборудования, способных перерабатывать растительное сырьё.

Планетарные мельницы

Планетарные мельницы-активаторы являются оригинальным развитием идеи шаровых мельниц. В данном виде оборудования реакторы, в которых проводится измельчение, закреплены в водиле и вращаются вокруг общей оси. При этом за счет силы трения между реакторами и обечайкой (или при помощи механического привода), происходит вращение реакторов вокруг своей оси в сторону, противоположенную вращению водила (Рисунок 1.23).



(а) *(б)*

Рисунок 1.23 – Планетарная мельница: *а* – принципиальная схема планетарной мельницы; *б* – фотография реального оборудования ЗАО «НОВИЦ».

Измельчение реализуется за счет взаимодействия сырья и мелющих тел, движущихся под воздействием центробежной силы, силы Кориолиса и силы тяжести; принципиально движение мелющих тел не отличается от более простой шаровой мельницы [Rosenkranz, 2011]. В большинстве случаев планетарные мельницы работают в ударном режиме.

Для характеристики аппаратов и сравнения схожего оборудования различных производителей, планетарные мельницы характеризуют особым параметром – ускорением, воздействующим на мелющее тело в момент отрыва от стенки. Планетарный тип вращения позволяет придавать мелющим телам ускорение до 2000 м/с^2 и более [Fokina, 2004], но наиболее распространенными условиями являются режимы от 200 до 600 м/с^2. Из-за высокой интенсивности единичного механического воздействия и большой плотностью подводимой энергии в целом в планетарных активаторах происходит не только измельчение, но и более сложные процессы. Так, в случае металлов высокая интенсивность обработки позволяет не только измельчать частицы до наноразмерного состояния, но и получать композитные материалы и механические сплавы. Появление энергонапряженных аппаратов привело к

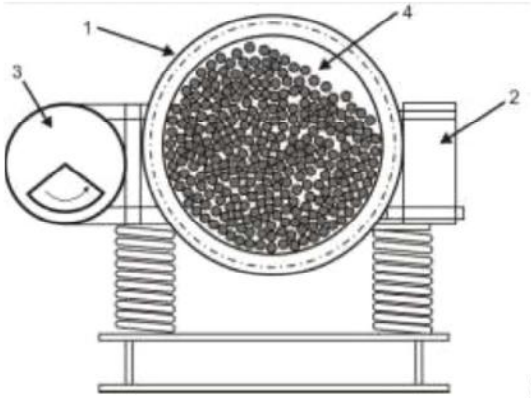
всплеску работ в области химических реакций и процессов, индуцируемых при механическом нагружении [Balaz, 2013].

Важной особенностью высокоинтенсивной механической обработки является то, что в локальной области воздействия мелющего тела с сырьём происходит значительное повышение температуры. При ускорении мелющих тел выше 200 м/с^2 повышение температуры может составлять несколько сотен градусов. [Suryanarayana, 2001]. Для растительного сырья такое повышение температуры может приводить к разложению низкомолекулярных соединений, обугливанию полимеров и другим нежелательным процессам. Поэтому для механохимии органических молекул и переработки растительного сырья обычно применяются режимы с ограничением по ускорению мелющих тел 50-200 м/с^2.

К сожалению, сложность организации равномерной подачи сырья и выгрузки продукта из зоны обработки приводят к тому, что в настоящий момент ассортимент коммерчески доступных образцов планетарных мельниц проточного действия крайне ограничен[5].

Вибрационные мельницы

Вибрационные мельницы – распространенный класс оборудования для тонкого и сверхтонкого измельчения и проведения механохимических процессов. Принципиальное отличие вибрационных мельниц от шаровых состоит в том, что вместо кругового движения реактор совершает колебания в вертикальном направлении (Рисунок 1.24). Получается, что в системе отсчета реактора мелющие тела находятся в переменном поле силы тяжести. В шкале ускорений величина этого поля может достигать 200 м/с^2.



(а)



(б)

Рисунок 1.24 – Вибрационная мельница: *а* – принципиальная схема [Gock, 1999]; *б* – фотография реального оборудования ЗАО «НОВИЦ».

(*1* – механохимический реактор; *2* – противовес; *3* – привод; *4* – мелющие тела).

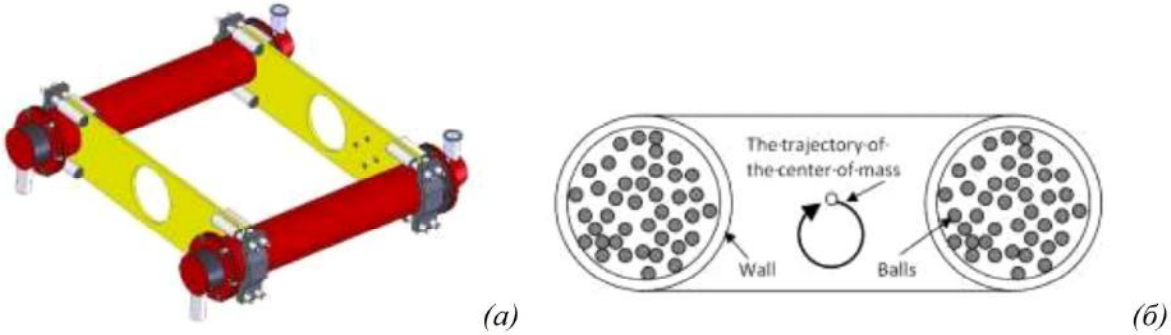
[5] Техника и технологии дезинтеграции: [сайт]. URL: www.ttd.spb.ru (дата обращения: 01.09.2019).

Амплитуда колебаний реактора обычно составляет не более 20 мм, что соответствующим образом ограничивает траекторию движения мелющих тел и позволяет увеличить загрузку оборудования мелющими телами и сырьём (по сравнению с шаровыми и планетарными мельницами).

Лабораторное вибрационное оборудование, состоящее из небольшого реактора и закрепляемого на вибрирующей платформе, можно охлаждать различными хладагентами, вплоть до температуры жидкого азота, что позволяет получать ультрадисперсные образцы плохо размалываемых материалов (полимеры, растительное сырье, торф, биологические пробы, грунт). Как и в случае промышленных шаровых мельниц, главным ограничением промышленного применения вибрационного оборудования является необходимость в специальном фундаменте, развязанном с фундаментом помещения и по массе в несколько раз превышающим массу оборудования.

Виброцентробежные мельницы

Для минимизации проблем с вибрацией и уменьшения нагрузки на несущие части мельниц вибрационные мельницы подверглись следующим изменениям: привод-дебаланс заменен вторым реактором, двигающимся в противофазе, а вертикальные колебания заменены на круговые. Такой тип оборудования называется виброцентробежными мельницами (Рисунок 1.25).



(а) *(б)*

Рисунок 1.25 – Виброцентробежная мельница: *а* – схематический вид, *б* – схематичный вид в разрезе[6].

В системе отсчета реактора движение мелющих тел в данном оборудовании такое же, как в шаровой мельнице. Считается, что виброцентробежные мельницы являются наиболее приближенным проточным аналогом планетарных мельниц [Ballantyne, 2012].

Достоинством данного оборудования является высокая плотность энергии, что позволяет получать частицы с размером, значительно меньшим, чем в шаровой мельнице. Однако, в

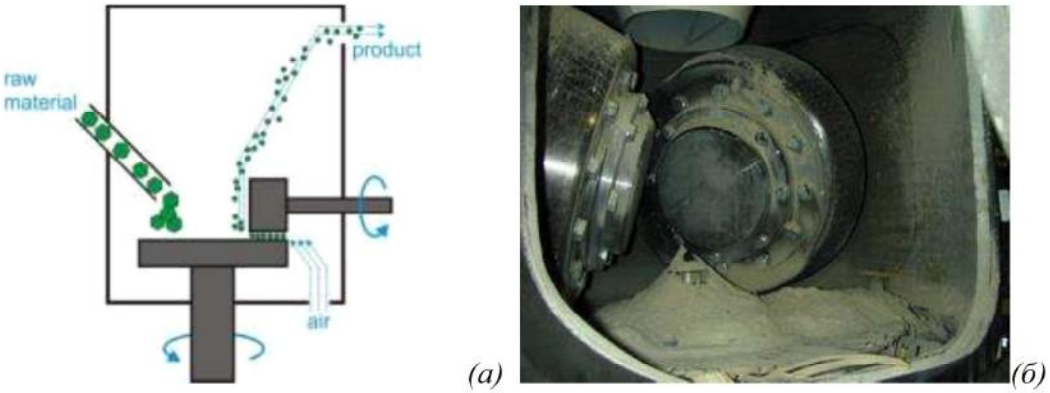
[6] ЗАО «НОВИЦ». Мельница для цемента, песка [сайт]. URL: www.novic-mill.ru (дата обращения: 01.09.2019)/

случае термически неустойчивых органических молекул и компонентов растительного сырья, данное свойство влечет за собой повышение температуры в зоне размола и нежелательные процессы окисления, разложения, деполимеризации.

Потребность мелющих тел в некотором пространстве для перемещения приводит к большому (относительно вибрационных мельниц) пустому объёму внутри мельницы. Обрабатываемое сырьё с низкой плотностью (пигменты, растительное сырьё, торф, пластики) при достижении определенного размера образуют внутри мельницы лёгкую и подвижную взвесь, что снижает вероятность столкновения мелющих тел с частицами сырья и негативно сказывается на эффективности процесса.

Роликовые и центробежно-роликовые мельницы

Роликовые мельницы – класс оборудования, в котором одновременно реализуется два типа воздействия на сырьё – истирание и раздавливание (Рисунок 1.26).



(а) *(б)*

Рисунок 1.26 – Роликовая мельница: а – схема принципа действия; б – образец реального оборудования "STEFANIA"[7].

Более ранние образцы оборудования конструировались без удаления продуктов измельчения и были мельницами периодического действия. Современные аналоги отличаются тем, что в мельнице организован поток воздуха, который подхватывает измельченные частицы и удаляет их из зоны измельчения. Благодаря этому удается добиться высокой производительности оборудования, но пневматически удаляемые частицы обычно имеют широкое распределение по размеру. Для сужения распределения роликовые мельницы рекомендуют комплектовать блоком сепарации, возвращающим крупные частицы в зону обработки.

В настоящее время роликовые мельницы постепенно вытесняют шаровые мельницы из производства цемента и других строительных смесей. Достоинством данного оборудования

[7] CEMTEC – Cement and Mining Technologies: [сайт]. URL: www.cemtec.at (дата обращения: 01.09.2019).

является хорошая масштабируемость (вплоть до производительности 1000 т/час). Однако, при измельчении полимеров или растительного сырья проблема получения узких фракций является нерешенной. Так же стоит упомянуть, что в роликовых мельницах такого типа сложно контролировать температуру в зоне измельчения, что приводит к перегреву растительного сырья.

Современной разновидностью роликовой мельницы является центробежно-роликовое оборудование (Рисунок 1.27), в котором оси роликов расположены вертикально, а сырьё обрабатывается, попадая между роликом и статором [Avvakumov, 2001].

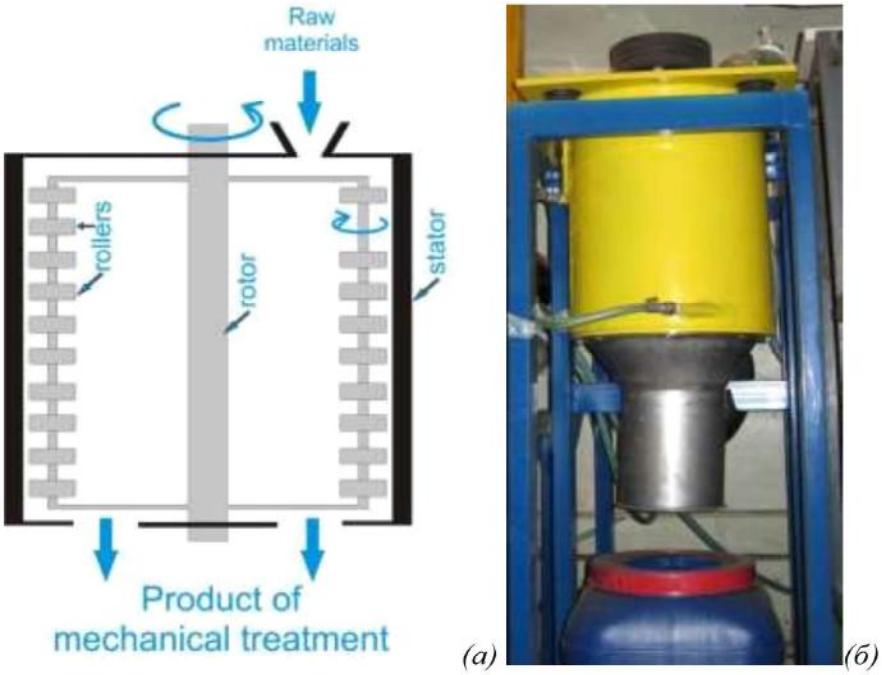


Рисунок 1.27 – Центробежно-роликовая мельница: *а* – схематичное изображение; *б* – образец реального оборудования КБ ИХТТМ СО РАН.

Данный вид оборудования характеризуется более узким распределением частиц продукта по размеру. Кроме того, для такой конструкции легко организовать охлаждение статора и контроль температуры в зоне измельчения. В настоящее время созданы образцы центробежно-роликовых мельниц с производительностью 50-150 кг/час, но конструкторская работа продолжается, и некоторые производители заявляют об оборудовании с производительностью до 5 т/ч.

Таким образом, весь представленный спектр оборудования, основанный на стесненном ударе мелющего тела по сырью, имеет проблемы, снижающие вероятность применения в промышленном измельчении растительного сырья, биомассы микроорганизмов, полимеров, торфов, термолабильных веществ. Применение оборудования со стесненным ударом или истирающим воздействием оправдано в тех случаях, когда необходимо обеспечить контакт частиц в твердой фазе для образования композитов или протекания механохимических реакций.

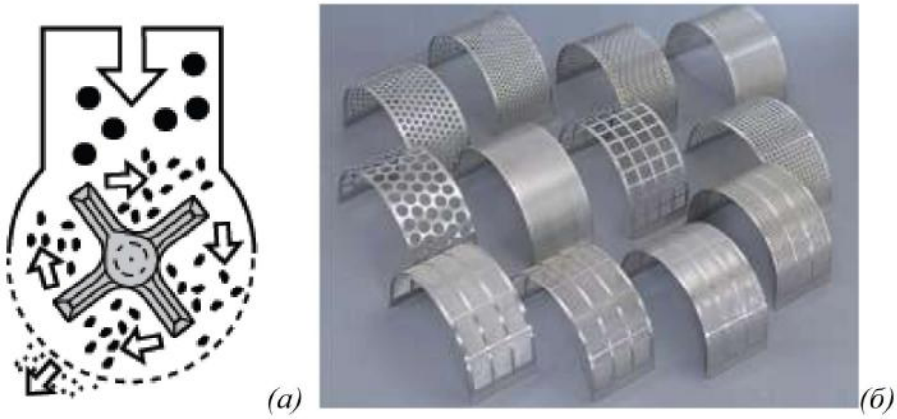
Наиболее перспективным из перечисленного оборудования является мельницы роликового и центробежно-роликового типа, совмещающие в себе высокую производительность с относительно низкими энергозатратами.

Во всех перечисленных выше мельницах частица сырья для измельчения или реакции должна попасть между мелющими телами. В оптимально подобранном режиме вероятность этого оценивается как 50-70 %, что приводит к перерасходу 30-50 % затраченной энергии. Поэтому для целей измельчения без разупорядочения клеточной структуры и без протекания механохимических процессов более перспективным является оборудование, в котором мелющие тела не взаимодействуют со стенками или друг с другом – мельницы со свободным ударом, описанные ниже.

Молотковые, ножевые и пальцевые мельницы, дезинтеграторы

Данный тип оборудования не имеет общепринятого названия отчасти из-за распространенности несколько модификаций, незначительно отличающихся в деталях. Общей чертой данного типа оборудования является то, что мелющим телом является диск (или два диска) с закрепленными на его поверхности измельчающими элементами. Сырье обычно попадает в зону обработки из центра диска, затем центробежной силой раскидывается по периферии камеры, где попадает под воздействие измельчающих элементов.

Наиболее распространенными являются разновидности молотковой и ножевой мельниц. Основное отличие данных мельниц от других – большой размер мелющих тел (молотков и ножей соответственно) и их малое количество (обычно 4-8 штук на диск). Вторым отличием является то, что на торцевой стороне зоны измельчения устанавливается экран – сито (Рисунок 1.28). Измельчение происходит в две стадии. Сначала происходит измельчение частиц во время удара о мелющие тела. Далее происходит продавливание частиц движущимися частями ротора через экран, что приводит к раздавливанию и истиранию.



(а) *(б)*

Рисунок 1.28 – Молотковая мельница: *а* – схема мельницы; *б* – сменные экраны – сита.

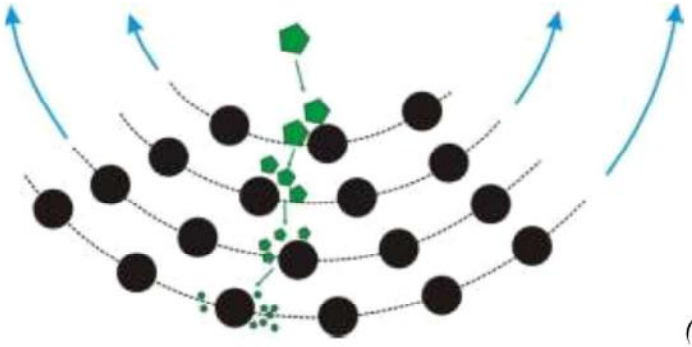
Данный вид оборудования может обладать высокой производительностью (десятки тонн в час) и низкими удельными затратами энергии. Благодаря наличию экрана распределение частиц продукта по размеру значительно уже, нежели при измельчении в другом оборудовании со свободным типом удара.

Основным фактором, сдерживающим развитие молотковых мельниц, является падение производительности при уменьшении размера ячеек экрана, а также дороговизна сит с размером ячеек менее 1 мм, способных выдерживать высокие механические нагрузки. В связи с этим, молотковые мельницы обычно применяются как средство для предварительного измельчения сырья, уменьшения размера частиц с десятка сантиметров до нескольких миллиметров.

Следующий вид оборудования, основанный на вращении дисков с измельчающими элементами – дезинтеграторы (в случае, когда один диск вращается, а второй неподвижный, оборудование иногда называют дисмембратором) (Рисунок 1.29). В данном виде оборудования сырьё подается в зону обработки из центра диска и подвергается множественному ударному воздействию о быстродвижущиеся (до 300 м/с) «пальцы» ротора во время движения от центра к краям.



(а)



(б)

Рисунок 1.29 – Дезинтегратор DESI-15[8] *(а)* и схема движения частиц в дезинтеграторе[9] *(б)*.

Обычно частица подвергается 2-4 ударам за время движения. Малое среднее число воздействий приводит к тому, что существует высокая вероятность нанесения частице от 2 до 6 ударов. Это приводит к широкому распределению частиц продукта по размеру. Вращение роторов дезинтегратора создает интенсивный воздушный поток через оборудование, что приводит к быстрому удалению частиц из оборудования, что так же плохо сказывается на качестве измельчения. В связи с этим дезинтеграторы часто используются совместно с системой классификации продукта для возврата крупных частиц обратно в зону обработки.

---

[8] Desi-15. Desintegraator Tootmise OU: [сайт]. URL: www.desi.ee/products/disintegrators/desi15-15c (дата обращения: 01.09.2019).

[9] Ударная шаровая мельница «Трибокинетика»: [сайт]. URL: www.tpribor.ru/tribokinet.html (дата обращения: 01.09.2019).

Стоит отметить несколько общих особенностей молотковых мельниц и дезинтеграторов. Во-первых, растительные материалы зачастую сохраняют свое внутреннее строение после измельчения; волокнистые материалы после измельчения остаются волокнистыми, конечно если размер частиц больше размера волокна. Данный факт активно используется при создании композитов, деревопластиков. Во-вторых, для эффективного измельчения требуется достижение определенной силы удара. Большая скоростью вращения дисков позволяет этого достичь, что после некоторой скорости на торце мелющих элементов образуется область уплотненного воздуха, что приводит к тому, что мелкие частицы, не ударяются о мелющее тело, а облетают его.

Минимально возможный размер частиц, который можно получить на таком виде оборудования в несколько раз выше, чем для мельниц со стесненным ударом. Так, для растительного сырья редко удается достигнуть размера частиц менее 75 мкм. Энергопотребление мельниц со свободным ударом оценивается в 1,5-0,7 МВт*ч/тонну продукта, что значительно меньше, чем для мельниц со стесненным ударом.

Основной недостаток данного класса оборудования – истирание мелющих деталей. Износ мелющих тел – неизбежный процесс при измельчении, но износ шаров в планетарной мельнице влияет лишь на эффективность помола. В то же время износ «пальца» дезинтегратора может привести к его обламыванию, лавинообразному воздействию на большое число соседних «пальцев» и выходу мельницы из строя. Поэтому для дезинтеграторов и молотковых мельниц требуется обязательное проведение ревизии, что на 10-20 % снижает суточную производительность линии.

Пневматические мельницы

Пневматические (струйные) мельницы – весьма интересный подход к измельчению, который предусматривает движение не мелющих тел, а сырья (с последующим столкновением с неподвижным телом) (Рисунок 1.30). Разгон частиц сырья до необходимых скоростей осуществляют потоком газа. Первые пневматические мельницы были разработаны относительно недавно – в 60 годах XX века, но их использование было затруднено из-за высокой стоимости компрессорного оборудования для подготовки сжатого газа/воздуха. И только в начале 1990-х годов удешевление процесса сжатия газа дало толчок для использования пневматических мельниц в промышленности.

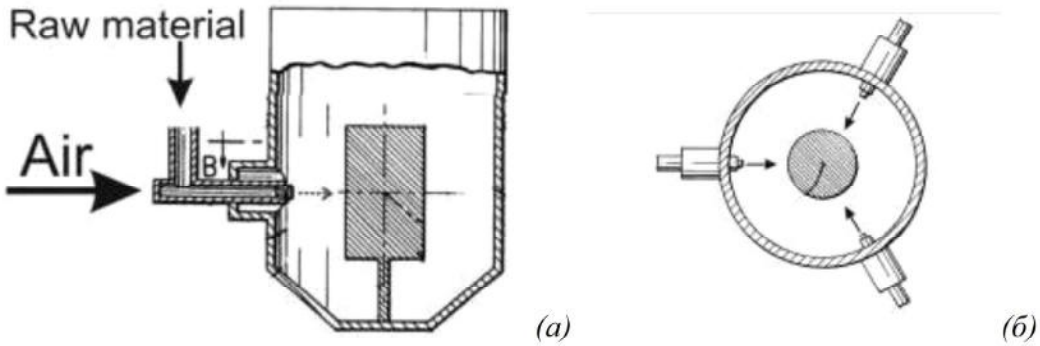


Рисунок 1.30 – Пневматическая мельница, схема устройства: *а* – вид сбоку; *б* – вид сверху [Smith, 1991, упрощенный вид].

Некоторой модификацией, когда частицы сырья ударяются не о неподвижную мишень, а друг об друга, что достигается пересечением потоков, являются вихревые (циклонные) мельницы (Рисунок 1.31).

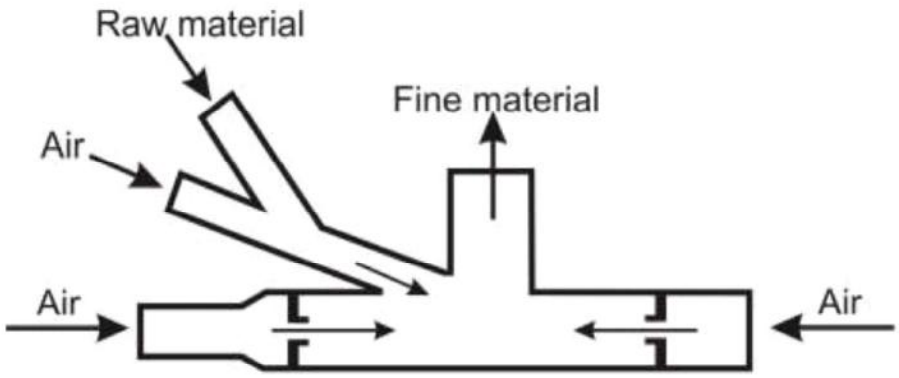


Рисунок 1.31 – Схема вихревой мельницы [Flynn, 2013, упрощенный вид].

Главным преимуществом данного оборудования является низкий износ. Изнашивается либо только мишень, которую можно сделать из устойчивого материала, а в случае вихревых мельниц изнашиваемых частей вообще нет. Это позволяет применять пневматические мельницы в особо ответственных областях – измельчении компонентов фармацевтических препаратов. Кроме того, при выходе сжатого газа из сопла происходит его охлаждение, что позволяет измельчать сырье, даже настолько чувствительное к температуре как ферментные препараты. Размер частиц, получаемых в данной мельнице, сопоставим с показателями шаровых мельниц, и достигает нескольких микрометров.

Важной особенностью мельниц являются высокие требования к размеру частиц сырья. Чтобы частицы увлекались потоком и не оседали внутри мельницы необходимо, чтобы сырье было, обычно, менее 1 мм. Следовательно, пневматические мельницы нуждаются в мельнице предварительного измельчения.

Главным недостатком пневматических мельниц является сложность настройки и отладки, а также плохая масштабируемость. Увеличение размеров и производительности мельницы требует значительного увеличения скорости потока и расхода воздуха. В настоящее время коммерческие пневматические мельницы имеют производительность не более 1 т/час. Так же стоит отметить, что в пневматических мельницах, равно как и в других аппаратах со свободным ударом, протекание механохимических реакций между двумя веществами или образование механокомпозитов не происходит. Обычно, частицы взаимодействуют только небольшой частью поверхности и разлетаются, что сильно ограничивает массоперенос внутри частиц, протекание реакций и образование механокомпозитов.

Экструдеры

Экструдеры – один из немногих классов оборудования, в которых проходит механическая обработка, однако далеко не всегда протекает измельчение. Рабочей частью экструдера является архимедов винт (обычно один или два) (Рисунок 1.32). При вращении винт захватывает материал и проталкивает его вдоль зоны обработки. При достаточно больших загрузках сырьё при проталкивании сильно взаимодействует со стенками экструдера за счет трения, что приводит к значительной пластической деформации сырья. На конце экструдера обычно находится отверстие, диаметр отверстия подбирается таким образом, чтобы материал, проходя через него, также сильно деформировался.



Рисунок 1.32 – Экструдер, пример реального оборудования[10].

Несмотря на то, что экструдеры были разработаны для смешения пластиков, в настоящее время они активно используются для переработки растительного сырья [Riaz, 2011], получения гомогенных смесей [Guy, 2001], композитов [Акопова, 2013].

Во время обработки полимерных материалов сильная пластическая деформация приводит к высокому трению макромолекулярных цепей, что приводит к нагреву, зачастую до

[10] AgroTechnology ATLAS: [сайт]. URL: http://agro-technology-atlas.eu/ (дата обращения: 01.09.2019).

нескольких сотен градусов. Если в сырье содержится вода, а в растительном сырье она содержится практически всегда, нагрев материала приводит к вскипанию воды и созданию условий, подобным автоклавным. Это значительно усложняет конструкцию экструдеров, в которых возможно проводить экструдирование растительного сырья. При прохождении материала через выходное отверстие происходит резкое падение давления, растительное сырье претерпевает, по сути, паровзрывную обработку.

Таким образом, экструдирование – это объединение сильной пластической деформации, кратковременной автоклавной обработки и паровзрывной обработки. Стоит отметить, что экструзия – один из методов, при котором гарантированно обеспечивается протекание массопереноса внутри твердых частиц, что позволяет получать механокомпозиты и проводить реакции.

Плюсами экструзии является возможность проведения обработки материалов с большим содержанием воды, большой размер частиц исходного материала (до десятков миллиметров) [Giles, 2013]. Одним из основных недостатком экструдеров является высокая механическая нагрузка, прилагаемая к винтам, что создает большие затруднения при конструировании аппаратов с производительностью более 100 кг/ч.

Заключение по главе 1

Комплексное строение природного полимерного сырья существенно усложняет его химическую переработку и обуславливает необходимость всестороннего изучения биополимеров не только в изолированном состоянии, но и в виде супрамолекулярного комплекса макромолекул различной химической (углеводной, белковой, полифенольной) природы. При планировании механохимических экспериментов следует особо тщательно учитывать химические свойства полимеров. Например, углеводные полимеры – целлюлоза, бета-глюкан и крахмал – могут иметь упорядоченные участки со слабой реакционной способностью. Свойства белков зависят от пространственной структуры, которая, в свою очередь, определяется множеством параметров, таких как температура, pH, полярность, ионная сила раствора. Полифенольные компоненты, в свою очередь, имеют свойство взаимодействовать с веществами белковой природы, что может негативно сказаться на эффективности ферментативных процессов.

На эффективность гетерогенных процессов переработки природного полимерного сырья влияют такие физико-химические параметры, как химический состав сырья, удельная (и доступная для реагентов) площадь поверхности частиц, степень полимеризации и кристалличности реагирующих полимеров. При этом перечисленные факторы взаимосвязаны и при предварительной активации сырья сопровождают друг друга, приводя к комплексному повышению реакционной способности.

Применение механохимических методов увеличения реакционной способности полимеров природного сырья имеет весомые преимущества по сравнению с другими физико-химическими методами активации. Правильно подобранный тип механохимического воздействия и оборудования позволяет энергетически и экономически эффективно увеличивать реакционную способность твердофазных полимеров путём увеличения эффективной поверхности доступной для реагентов, снижения доли кристаллических участков, уменьшения коэффициентов диффузии, разупорядочения супрамолекулярной структуры материала, а также осуществления механохимических реакций с целевыми веществами.

Перенос лабораторных результатов на реальное полу- и промышленное оборудование сопряжен с рядом затруднений, требующих проведения дополнительных исследований. Оценка энергозатрат на измельчение и механическую активацию делает очевидным, что экономическая эффективность комплексных процессов, включающих данные операции, во многом определяется именно затратами на механическую обработку.

Глава 2. Используемые в работе материалы и методы исследования

В работе использовались следующие реактивы и материалы: D(+)-глюкоза (99 %, «Acros organics»), D(+)-манноза (99 %, «Acros organics»); уксусная кислота (х.ч., ГОСТ 19814-74), карбазол (95 %, «Sigma Aldrich»), этиловый эфир п-аминобензойной кислоты (95 %, ООО «Органика»), цианоборгидрид натрия (99 %, «Johnson Matthey Company»), глицерин (98 %, ГОСТ 6824-96), акриламид (95 %, ООО «Хеликон»), бисакриламид (95 %, ООО «Хеликон»), трис(гидроксиметил)аминометан (99 % «Sigma Aldrich»), L(+)-арабиноза (ч., «Реахим»), 7-амино-1,3-дисульфонафталин (99 %, «Sigma Aldrich»), карбонат натрия (х.ч., ГОСТ 83-79), гидроксид натрия (ч.д.а., ГОСТ 4328-77), H_2SO_4 (о.с.ч., ГОСТ 4204-77), дигидрофосфат натрия (ч.д.а., 245-76), нитрат серебра (х.ч. ТУ 6-09-3703-74), соляная кислота (х.ч. ГОСТ 3118-77), спирт этиловый (высшей очистки, ГОСТ 51652-2000), спирт метиловый (х.ч., ГОСТ 6995-77), изо-пропанол (о.с.ч., ТУ 6-09-50-2655-94), изо-бутанол (о.с.ч., ГОСТ 6016-77), вода бидистиллированная (ГОСТ 6709-72), азид натрия (99 %, «Sigma Aldrich»), аммиак (х.ч. ГОСТ 3760-79, «Реахим»), аскорбиновая кислота (ч.д.а., ГОСТ 4815, «Химреактив»), ацетат аммония (ч., ГОСТ 3117-75, «Реахим»), ацетат натрия (х.ч., ГОСТ 199-78, «Химреактив»), бромид калия (для спектроскопии, CAS 7758-02-3, «Panreac»), н-гексан (х.ч., ТУ COMP 2-008-06, «Компонент-Реактив»), гексацианоферрат (III) калия (х.ч., ГОСТ 4206-75, «Реахим»), молибдат аммония (х.ч., ГОСТ 3765-78, «Реахим»), перекись водорода (3 %, ООО «Тульская фармацевтическая фабрика»), пирокатехин (99 %, «Alfa Aesar»), силикат натрия (х.ч., ГОСТ Р 50418-92, «Реахим»), щавелевая кислота (х.ч., ГОСТ 22180-76, «Химреактив»), перкарбонат натрия ($2Na_2CO_3*3H_2O_2$, ОАО "Перкарбонат", г. Новочебоксарск), карбонат натрия (х.ч., "Реахим"), натрий пирофосфорнокислый (ч.д.а., "Реахим"), нитрат калия (ч., «Реахим»), тетраборат натрия 10-водный (стандарт-титр, «Уралхиминвест»).

В качестве полимерных материалов и объектов биологического происхождения для исследования использовались: α-целлюлоза (высокочистая, CAS 9004-34-6, «Sigma Aldrich»), гуминовые кислоты (тех., CAS 1415-93-6, «Sigma Aldrich»), лигнин (тех., CAS 8068-05-1, «Sigma Aldrich»), крахмал (высокочистый, CAS 9005-25-8, «Sigma Aldrich»), солома пшеницы (*Triticum durum L.,* сбор – сентябрь 2013-2016 г., Искитимский район Новосибирской области), стебли тростника (*Phrágmites austrális L.,* сбор – сентябрь 2013-2015 г., Искитимский район Новосибирской области, Кожевниковский район Томской области), шелуха риса (*Oryza sativa L.,* сбор – сентябрь 2014-2016 г., сорт «Лиман», Крымский район Краснодарского края*)*, зеленый чай (*Camelia sinensis L.,* ТУ 9191-003-00570186-04, ООО «Дагомысчай», Краснодарский край, Россия), бурый уголь (Итатское месторождение Канско-Ачинского угольного бассейна), дрожжевая биомасса (*Saccharomyces cerevisiae,* ГОСТ 171-81, ЗАО

«Новосибирский дрожжевой завод», ООО «Курганский дрожжевой завод» и ООО «Воронежский дрожжевой завод»), пустые гроздья масличной пальмы *Elaeis guineensis* (Empty Fruit Bunches, EFB, происхождение – Малайзия), солома кукурузы *(Zea mais L.*, сбор – август-сентябрь 2013-2015 г., Кожевниковский район Томской области).

Исходные растительные материалы высушивали до влажности 5 % и измельчали на ножевой мельнице до частиц с размерами 5-7 мм в условиях, исключающих протекание сопутствующей механической активации. Подготовленные таким образом материалы хранили в герметичной пластиковой таре и использовали для дальнейшего изучения.

Ферментативные комплексные препараты «ЦеллоЛюкс-А», «Протосубтилин Г3х», «АмилоЛюкс-А», «Фидбест VGPro» и «Фидбест-Р» получены от ООО ПО «Сиббиофарм» (г. Бердск, Новосибирская область).

Проведение механохимической обработки

Лабораторные эксперименты по механохимической обработке проводились с использованием следующего оборудования: активаторы планетарного типа «АГО-2» и «АПФ» (ЗАО «НОВИЦ», Новосибирск), лабораторный активатор типа «аттритор» (конструкции ИХТТМ СО РАН), дезинтегратор «Desi 11» («Desintegraator Tootmise OÜ», Эстония), и шаровая мельница «Spex 8000» (США).

Эксперименты по масштабированию механохимических процессов проводились с использованием комплекса центробежно-роликовых мельниц серии РМ (ИХТТМ СО РАН, производительность от 3 до 50 кг/час), центробежно-роликовой мельницы «ТМ-3» (ЗАО «НОВИЦ», Новосибирск), центробежно-эллиптической мельницы ЦЭМ-20 (ИХТТМ СО РАН), дезинтегратора «Desi 16» («Desintegraator Tootmise OÜ», Эстония) и пневматической мельницы «ВМ».

В качестве вспомогательного оборудования для предварительного измельчения материалов использовались: ножевые и щёковая мельницы (конструкции ИХТТМ СО РАН), дисмембратор (скорость вращения диска 3000 об./мин, Nossen 8255 VEB Maschinen, Германия). Для гомогенизации малых количеств вещества перед дифракционными или спектроскопическими исследованиями использовали микромельницу АГО-6 (объем реактора 4,5 мл, частота вращения 1550 об./мин).

В большинстве случаев, если иное не указано в тексте диссертации, механическая активация проводилась в следующих условиях. В планетарном активаторе АГО-2 обработка осуществлялась с частотой вращения реакторов 630 об./мин (ускорение мелющих тел – 200 м/с^2), при охлаждении проточной водопроводной водой с температурой 10-15 ^{o}C. Масса мелющих тел (стальных шаров диаметром 5 мм) составляла 200 грамм, масса активируемого

материала – 10 грамм. Время воздействия – от 10 секунд до 30 минут. В лабораторном активаторе типа «аттритор» обработка проводилась с частотой вращения ротора 600 об/мин. Масса мелющих тел (стальных шаров диаметром 15 мм) составляла 2,0 кг, масса активируемого растительного материала – 100 г. Обработка проводилась в течение 10 и 20 минут при различной температуре термостатируемого контура: -196 °С; 10 °С; 100 °С; 180 °С.

Механическая активация в центробежно-роликовых мельницах серии «РМ» и «ТМ», оснащенных водяным охлаждением, проводилась при следующих режимах: скорость подачи сырья 3-70 кг/ч, частота вращения ротора 900-1500 об/мин. Температура продукта на выходе из мельницы – 65-70 °С. Мелющие тела – стальные ролики, зафиксированные на ведущих валах, внешний диаметр 45 мм, внутренний диаметр 26 мм, толщина 20 мм.

Механическая активация в центробежно-эллиптической мельнице «ЦЭМ-20» производительностью 10 кг/час проводилась при варьировании частот вращения двигателя от 420 до 1400 об/мин.

Общелабораторные методы исследования

Содержание воды в образцах (влажность) определялось с помощью автоматического анализатора Radwag WPS 50 SX (Польша) при температуре 130 °С до достижения постоянной массы согласно ИСО 18134-3:2015. Содержание неорганических компонентов (зольность) в образцах определялось по гравиметрической методике ГОСТ Р 54185-2010 по весу остатка после озоления образца при 600 °С.

Элементный анализ проводился при помощи автоматического элементного анализатора "Euro EA 3000" («Eurovector», Италия) в НИОХ СО РАН по методу [Fadeeva, 2008]. Содержание углерода, водорода, азота и кислорода было пересчитано на беззольную навеску.

Теплота сгорания (высшая теплотворная способность, HHV) определялась при помощи адиабатического калориметра АБК-1 по ISO 1928:2009-06.

Анализ химического состава растительного сырья определялся по стандартным гравиметрическим методикам: целлюлоза по Кюшнеру и кислотонерастворимый лигнин по методике [Оболенская, 1991], содержание пентозанов – согласно ГОСТ 10820-75. Определение экстрактивных и водорастворимых веществ проводилось согласно методике “Determination of Extractives in Biomass” государственной лаборатории министерства энергетики США (NREL). Результаты трёх параллельных измерений усреднялись. Содержание гуминовых кислот определялось согласно ГОСТ 9517-94.

Хроматографический анализ (ВЭЖХ) моносахаридов осуществлялся на хроматографе «Миллихром А-02» (ЗАО Институт хроматографии «ЭкоНова», Россия) с обращённо-фазовой

колонкой (неподвижная фаза «Prontosil 120-5-C-18 AQ», размер частиц 5 мкм, эффективность 5600 теоретических тарелок). Регистрация пиков производилась при помощи УФ-детектора на длинах волн 220 и 360 нм. Хроматограммы обрабатывались в программе «Мультихром» (ООО «Амперсенд», Россия).

Хроматографический анализ (гель-хроматография) гуминовых кислот проводился при помощи хроматографа «Agilent 1200» (США). Регистрация проводилась на длинах волн 230, 262, 280, 300 нм, а также параллельно с помощью рефрактометрического детектора.

Содержание восстанавливающих углеводов определяли спектрофотометрическим методом Хагедорна-Йенсена [Шапиро, 1976].

Фотометрический анализ в ультрафиолетовой и видимой областях спектра выполнялся на спектрофотометрах «Ломо СФ 2000» (Россия) и «Unico-2800» (США) в диапазоне длин волн 190-1100 нм.

Гранулометрический анализ порошков проводился на вибрационном грохоте «Analysette-3 PRO», оснащенном набором сит от 20 до 2000 мкм («Fritsch», Германия), и при помощи лазерного анализатора размера частиц «Микросайзер 201» (АО «Научные приборы», Россия) с He-Ne лазером.

Удельная площадь поверхности изучаемых материалов определялась в рамках теории БЭТ и приближения Грегга и Синга по тепловой десорбции азота на приборе «Сорбтометр М» (ООО «Катакон», Россия), а также при помощи лабораторной установки (ИХТТМ СО РАН) для определения удельной поверхности по десорбции аргона.

Рентгенофазовый анализ проводился на порошковых дифрактометрах ДРОН-3 (АО «Инновационный Центр «Буревестник», Россия) «D8 Advance» («Bruker», Германия) с CuKα-излучением в геометрии Брэгга-Брентано на отражение. Для анализа рентгенограмм использовалась база данных порошковых рентгенограмм ICDD PDF-2 (2008 г.). Уточнение параметров элементарной ячейки и размера кристаллитов целлюлозы осуществлялись методом Ритвельда (программный комплекс «Topas 4.2» (Bruker, Германия) на основании структурных данных (CIF-файлов).

Регистрация ИК-спектров осуществлялась на ИК-Фурье-спектрометре "Vector-22" («Bruker», Германия) в таблетках KBr (150:1) в диапазоне от 400 до 4000 $см^{-1}$.

ЯМР-С13 спектры гуминовых кислот регистрировались с помощью спектрометра DRX-500 («Bruker», Германия) на частоте 125,76 МГц. Образец для съёмки представлял собой раствор 50 мг гуминовых кислот в 0,5 мл 0,1 М $NaOH/D_2O$. Ядерный эффект Оверхаузера исключался подавлением протонов в режиме «INVGATE». Внешний стандарт – тетраметилсилан.

Специализированные методы исследования

Определение моносахаридного состава методом ВЭЖХ. К аликвотам растворов моносахаридов (40 мкл) с суммарным содержанием углеводов около 20 мг/мл добавляли реагенты: эквимолярное количество раствора флюорофора и 50 мкл 3,0 М раствора боргидрида натрия. Реакционную смесь термостатировали при 95 °С в течение 5 часов. Полученный раствор углеводов, меченых флюорофором, охлаждали до комнатной температуры и центрифугировали. Супернатант использовали в качестве пробы для анализа методом ВЭЖХ при следующих условиях: объём пробы 2 мкл, температура колонки 30°С, скорость потока элюента 300 мкл/мин, продолжительность анализа 10 минут. Элюирование проводилось в изократическом режиме 25 % смесью этилового, пропилового и изо-пропилового спиртов (4:2:1). Хроматографические пики регистрировались при помощи УФ-детектора на длинах волн 220 нм и 360 нм.

Определение содержания глюкозы в образцах. Для селективного определения концентрации глюкозы в экстрактах использовали метод селективного ферментативного окисления глюкозы до глюконовой кислоты с выделением перекиси водорода, которая вступает во взаимодействие с фенолом и 4-аминоантипирином с образованием окрашенных при 510 нм соединений. Для определения концентрации глюкозы к пробе (20 мкл), содержащей углеводы (порядка 1 мг/мл) добавляли 1,0 мл рабочего раствора, содержащего глюкозоксидазу, пероксидазу, фенол и 4-аминоантипирин. Реакционную смесь выдерживали в термостате при 37 °С и перемешивании 1200 об./мин в течение 25 минут. Оптическую плотность измеряли при 510 нм против рабочего реагента.

Определение содержания растворимых углеводов, несвязанных с белками. К экстрактам исходных дрожжей и продуктов обработки добавляли этиловый спирт до концентрации 70 % и оставляли при температуре 2 °С на ночь. Осадок белков и гликопротеинов отделяли центрифугированием в течение 15 мин при 7000 об/мин. Осадок отбрасывали, а супернатант использовали для определения концентрации растворимых углеводов, несвязанных с белками, модифицированным фенол-сернокислым методом. По разнице между общим содержанием углеводов и содержанием углеводов, несвязанных с белками, находили содержание растворимых гликопротеинов.

Определение общего содержания глюкозы и маннозы модифицированным фенол-сернокислым методом. К 300 мкл растворов, содержащих углеводы, добавляли 5 мл 85 % серной кислоты, интенсивно перемешивали. После охлаждения смеси до комнатной температуры добавляли 300 мкл спиртового раствора карбазола, интенсивно встряхивали и инкубировали на кипящей водяной бане в течение 10 мин. После охлаждения до комнатной

температуры растворы фотометрировали при длинах волн 440 нм и 540 нм. Коэффициенты экстинции определяли из калибровочных графиков.

Определение молекулярной массы белков. В электрофоретическую ячейку «Helicon VE-20» заливали разделяющий гель, содержащий 20 % акриламида, 3 % бисакриламида. Сверху на гель наслаивался слой изо-бутанола. После застывания разделяющего геля (около 30 мин), изо-бутанол оттягивался шприцем с длинной иглой, поверхность геля сушилась фильтровальной бумагой, и заливался концентрирующий гель, содержащий из 5 % акриламида и 1 % бисакриламида. Сразу после заливки геля в него вставлялась гребёнка, формирующая лунки для нанесения проб, и наслаивался слой н-бутанола. После застывания концентрирующего геля (около 25 мин) гребёнка осторожно извлекалась, и заливался электродный буфер. При помощи автоматического дозатора в каждую лунку наносилась проба (1-5 мкл), содержащая белки. Ячейка подключалась к источнику тока, и проводился электрофорез при следующих начальных условиях: сила тока 20 мА, падение напряжения 109 В, мощность 2,2 Вт, температура буфера и геля 25 ^{o}C. Молекулярная масса белков определялась сравнением со стандартными образцами. Погрешность определения молекулярной массы около 10 %.

Морфология и ультраструктура изучаемых образцов изучалась методами световой (в ИЦиГ СО РАН на «Axioplan-40» и в ИХБФМ СО РАН на «Leica DM 2500»); сканирующей электронной микроскопии («Hitachi TM-1000», Япония) и просвечивающей электронной микроскопии при ускоряющем напряжении 75 кВ (в ГНЦ ВБ «Вектор» на «Hitachi H-600» и в ИХБФМ СО РАН на «Jem-1400»); фотосъемку проводили цифровой камерой «Veleta» (SIS, Германия). Сканирующая электронная микроскопия исследуемых материалов проводилась с предварительным нанесением золота на установке для магнетронного напыления «Jeol JFC-1600 AutoFine coater» (время напыления 1 мин, ионный ток 30 mA). Полутонкие срезы для световой микроскопии окрашивали 1 % раствором азура-2 и изучали в микроскопе, снабженном цифровой камерой «AxioCam HRc» («Carl Zeiss», Германия).

Исследование ультраструктуры и дефектности полимеров клеточных стенок методами электронно-микроскопического анализа проводилось с использованием химических реакций компонентов клеточных стенок со специальными реагентами. Такие реакции и соответствующие реагенты традиционно используются в препаративной микроскопии для решения аналитических задач [Adams, 1960; Lombardi, 1971; Hanker, 1976; Nielson, 1979; Franc, 1984; Guimaraes, 2003; Yamaguchi, 2005; Барыкина 2004]. В результате реакций полифенольных, белковых либо углеводных компонентов с реагентами – осмиевой кислотой и солями серебра, структура клетки «декорируется» выделяющимися частицами, которые хорошо различимы при электронно-микроскопическом исследовании.

Для контрастирования осмиевой кислотой образцы исходных и механохимически обработанных материалов фиксировали 1 % раствором тетраоксида осмия. В качестве буфера использовали раствор Хенкса. Обезвоживание проводили в растворах этилового спирта возрастающей концентрации (с 50 до 98%) и ацетоне, заливали в смесь эпон-аралдит. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме «Ultracut E6» (Австрия). Исследование препаратов проводили на электронном микроскопе «Hitachi-600» и «Jem-1400» при ускоряющем напряжении 75 кВ.

Для контрастирования солями серебра к 200 мг исходных и механохимически обработанных материалов добавляли 1,00 мл рабочего раствора, приготовленного из 10,0 мл воды, 1,00 мл 1,0 мМ раствора $AgNO_3$, 300 мкл концентрированного раствора аммиака. Затем суспензии выдерживали при комнатной температуре в течение суток, затем готовили препараты для электронно-микроскопического исследования. Других электронно-плотных веществ, кроме образовавшегося металлического серебра, в системе не было. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме «Ultracut E6» (Австрия). Исследование препаратов проводили на электронном микроскопе «Hitachi-600» при ускоряющем напряжении 75 кВ

Модельные образцы твердого биотоплива с содержанием лигнина 10-80 % получались смешением навесок соломы пшеницы с рассчитанным количеством чистой целлюлозы и лигнина. Для усреднения состава смеси компонентов тщательно перемешивались и перетирались в агатовой ступке в течение 5 минут. Образцы с содержанием лигнина 0 и 100 % не содержали соломы пшеницы и представляли собой α-целлюлозу и лигнин соответственно.

Определение целлюлозолитической активности ферментных препаратов. К навескам фильтровальной бумаги Whatman № 1 (по 100 мг) добавляли 4,0 мл раствора ферментов (1,0 мг/мл). Реакционную смесь выдерживали при температуре 50 °С в течение 1 ч и охлаждали до 5 °С на льду. Нерастворившийся остаток фильтровальной бумаги удаляли центрифугированием в течение 10 мин при 7000 об./мин, а надосадочную жидкость использовали для определения суммарного количества восстанавливающих углеводов. За единицу активности препарата принимали количество глюкозы (в миллиграммах), полученной при гидролизе хроматографической бумаги ферментативным препаратом (массой 1 г в течение 1 ч).

Денатурация целлюлозолитических ферментов в твёрдой фазе. Навеску (100 г) ферментативного препарата (исходная влажность 2 %) выдерживали при температуре 60-115 °С. Через определённые промежутки времени отбирали пробы для определения целлюлозолитической активности.

Денатурация целлюлозолитических ферментов в растворе. Водные растворы ферментного препарата (2 мг/мл) выдерживали при температуре 50-70 °С. Через определённые промежутки времени отбирали пробы для определения целлюлозолитической активности.

Денатурация целлюлозолитических ферментов при различной влажности. Навеска исходного ферментного препарата помещалась в эксикатор над слоем дистиллированной воды. Через каждые 3 часа препарат тщательно перемешивался. Спустя 3-20 ч (в зависимости от требуемой влажности), полученные образцы денатурировались в условиях, используемых при исследовании денатурации в твёрдой фазе.

Определение начальной скорости гидролиза продуктов механической обработки проводился в условиях недостатка ферментов. Для этого к навескам 100 мг исходного или механически обработанного растительного сырья добавляли по 4,0 мл раствора комплексного ферментного препарата «ЦеллоЛюкс-А» с концентрацией 1,0 мг/мл. Суспензию выдерживали при температуре 50 °С в течение 1 часа, затем охлаждали до 5 °С на льду и центрифугировали для отделения нерастворившегося остатка лигноцеллюлозы (10 минут при 7000 об./мин). Надосадочную жидкость отбирали и использовали для определения суммарного количества восстанавливающих углеводов.

Ферментативный гидролиз растительного сырья. К навеске 10,0 г исходного или механически активированного растительного сырья добавляли 200 мл ацетатного буфера с pH 4,6 и 4,0 мл раствора ферментного комплекса «ЦеллоЛюкс-А» (20 мг/мл). Реакционную смесь консервировали азидом натрия и выдерживали при 50 °С и перемешивании 120 встряхиваний в минуту. Для определения выхода углеводов на анализ отбирали по 0,5 мл суспензии каждый час (до 4 часов включительно), затем каждые два часа.

Определение максимальной начальной скорости гидролиза (ёмкости сырья по отношению к целлюлолитическим ферментам). К навеске 0,1 г исходного или механически активированного растительного сырья добавляли 2,0 мл ацетатного буфера с pH 4,6 и 2,0 мл раствора ферментного комплекса «ЦеллоЛюкс-А» с концентрацией от 100 до 500 мг/мл. Реакционная смесь выдерживалась в термостатируемом шейкере при 50 °С со скоростью перемешивания 120 об/мин в течение 30 минут. Инактивация ферментов проводилась термостатированием при 98 °С в течение 10 минут, затем полученные пробы охлаждались до 5 °С на льду и центрифугировались при скорости 7000 об./мин в течение 10 минут. Надосадочную жидкость использовали для определения выхода восстанавливающих углеводов спектрофотометрическим методом Хагедорна-Йенсена. Из полученных значений выхода ферментативного гидролиза вычитались поправки на содержание высокомолекулярных сахаров в ферментативном препарате и водорастворимых веществ в лигноцеллюлозном субстрате, определенные в параллельных экспериментах.

Получение модельных фракций гуминовых кислот. Навеску (300 г) бурого угля экстрагировали 1,0 л раствора пирофосфата натрия в ультразвуковой ванне 15 минут. После экстракции суспензию центрифугировали в течение 5 минут при 7000 об./мин. Надосадочную жидкость декантировали в отдельный стакан, где гуминовые кислоты осаждали добавлением 10 % раствора соляной кислоты и отделяли центрифугированием (5 минут при 7000 об./мин). Процедуру экстракции повторяли дважды для полного извлечения гуминовых кислот, растворимых в пирофосфате натрия (Фракция 1). Затем в аналогичных условиях дважды проводили экстракцию 0,1 М раствором гидроксида натрия (Фракция 2). Далее в аналогичных условиях дважды проводили экстракцию дистиллированной водой (Фракция 3 и 4). Полученные фракции сушились при 105°С до постоянной массы.

Определение содержания тяжелых металлов осуществляли при помощи атомно-эмиссионного спектрометра с индуктивно связанной плазмой (ИСП АЭС) "iCAP 6000" (США). Пробоподготовка заключалась в добавлении к 0,1 мл исследуемых растворов по 0,25 мл концентрированной азотной кислоты и раствора внутреннего стандарта (ScIII). Объём полученного раствора доводили до 10 мл деионизованной водой. Концентрация ScIII в пробах равнялась 0,5 мг/л.

Изучение сорбции ионов кадмия гуминовыми кислотами. В круглодонные колбы, содержащие по 100 мл раствора хлорида кадмия с различной концентрацией (100, 200 и 400 мг/л) добавлялись навески гуминовых кислот (100 мг), полученная смесь термостатировалась при 25 °С и встряхивании с частотой 130 мин$^{-1}$, по истечении каждого часа, а так же в момент добавление гуминовых кислот, были отобраны пробы для определения содержания в них остаточного количества кадмия методом ИСП АЭС.

Для изучения десорбции ионов кадмия с гуминовых кислот навеска гуминовых кислот, полученных в экспериментах по сорбции ионов кадмия, помещалась в буфер с pH 8, инкубировалась при 25°С и встряхивании 130 с$^{-1}$. Измерение количества десорбировавшегося кадмия проводили методом ИСП АЭС.

Буферные характеристики бурого угля до и после механохимической обработки определяли путем изучения отклика раствора с предварительно установленным pH на введение навески исследуемого образца. Для этого в химических стаканах с 50 мл раствора электролита (0,01 М KNO_3) были установлены значения pH от 2 до 12. Затем в каждый стакан вносилась навеска (50 мг) гуминового образца. Полученная смесь инкубировалась в герметичном боксе в атмосфере азота при перемешивании в течение суток, после чего измерялось равновесное значение pH.

Содержание групп кислотно-основного характера на поверхности бурого угля проводили кондуктометрическим титрованием водной суспензии исследуемых образцов

азотной кислотой и гидроксидом калия. Навеску исследуемого образца (0,500 г) помещали в 50,00 мл 0,02 М раствора KNO_3 (фоновый электролит). После установления равновесия (1-2 часа) при перемешивании на магнитной мешалке со скоростью 200-300 об./мин проводили титрование раствором 1М HNO_3 в одном случае и 1М KOH в другом с шагом титрования 0,025 мл. Измерение удельной электропроводности X (мS/м), выполняли с использованием кондуктометра ELWFO 5711 с погрешностью 0,001. Для предотвращения влияния CO_2 воздуха осуществляли продувку суспензий азотом высокой чистоты.

Содержание функциональных групп определяли методом обратного потенциометрического титрования. К навеске механохимически обработанного бурого угля (порядка 0,05 г) добавляли 11,0 мл 0,1 М гидроксида натрия, 20,0 мл 3 М раствора хлорида калия и после установления равновесия проводили титрование полученной суспензии 0,1 М раствором соляной кислоты. По обнаруженным на кривой титрования трем точкам эквивалентности и соответствующим им объемам V_1, V_2, V_3 рассчиталось число интересующих групп для каждой фракции по формуле:

$$E_{1,2,3} = \frac{C \cdot (V_0 - V_{1,2,3})}{m}$$

где С – концентрация соляной кислоты (0,1 моль/л); m – масса гуминовых кислот; V_i –объемы, соответствующие 1-3 точкам эквивалентности (в мл). E_i – содержание групп, ммоль/г (ГК) Значению V_0 соответствует точка эквивалентности титрования 0,1 М раствора гидроксида натрия 0,1 М раствором соляной кислоты. Точке 1 (при pH в интервале 10-11) соответствуют фенольные группы, точке 2 (при pH в интервале 6,9-9,5) – карбоксильные группы при ароматическом кольце, точке 3 (при pH в интервале 2,5-6,0) – карбоксильные группы углеводородных цепей.

Глава 3. Фундаментальные аспекты механохимической переработки природных полимерных материалов

В данной главе представлены результаты исследований, касающихся влияния химического состава, свойств поверхности, кристаллической и супрамолекулярной организации на реакционную способность механически активированных полимеров, их супрамолекулярных комплексов и растительного сырья в целом.

3.1. Денатурация и разрыв цепи белков при механическом и термическом воздействии

Далее представлены данные изучения деполимеризации и денатурации белков при механическом и термическом воздействии. В качестве объектов изучения выступали как очищенные молекулы белков (сывороточный альбумин, белки биомассы семян гороха), так и комплексные объекты (биомасса семян гороха, ферментный целлюлозолитический препарат). Вопросы сохранения вторичной и третичной структуры белковых макромолекул, определяющих активность ферментных препаратов, занимают центральное место при расчёте экономической эффективности технологий комплексной переработки растительного сырья[11]. Кроме параметров механохимической обработки, снижающих каталитическую активность ферментов, были найдены полупромышленные условия обработки, приводящие к стабилизации макромолекул на поверхности растительного сырья и увеличению эффективности последующего ферментативного гидролиза.

Механохимический разрыв цепи белков

Для изучения процессов, протекающих при механической активации белковых полимеров в индивидуальном виде, были проведены работы по разделению выбранного белкового сырья (биомассы семян гороха) на фракции. Фракционирование проводили по методике, описанной в [Talab, 2015]. Целевые вещества экстрагировали из сырья гидроксидом натрия различной концентрации, затем осаждали, отмывали от солей и растирали в трет-бутаноле для проведения лиофильной сушки (Рисунок 3.1), позволяющей выделить белки без протекания побочных реакций. Таким образом в твердой фазе были получены три фракции экстрактов и одна фракция нерастворимого остатка.

[11] Разработка новых технологий, оценка качества и пищевой ценности продукции из нетрадиционного сырья : монография / Н.Н. Аширова, Е.С. Бычкова, А.Л. Бычков, О.В. Дерюшева, С.М. Карпачева, О.И. Ломовский, И.О. Ломовский, И.В. Мацейчик, Л.Н. Рождественская. – Новосибирск: НГТУ, 2018. – 232 с.



Рисунок 3.1 – Замороженные перед лиофильной сушкой пасты выделенных фракций в трет-бутаноле (цифрами *1-4* указаны номера фракций).

Содержание белка (Таблица 3.1) в выделенных фракциях было определено по методу Лоури (с контролем по методу Къельдаля)[12].

Таблица 3.1 – Содержание белка во фракциях, выделенных из биомассы семян гороха

Образец	Содержание белка, %
Фракция 1	97,1
Фракция 2	86,7
Фракция 3	45,7
Фракция 4 (нерастворимый остаток)	следовые количества

Выделенные фракции значительно отличались по химическому составу. Постепенно, по ходу процедуры выделения, содержание белка снижается, а низкомолекулярные углеводы становятся растворимыми. Фракции № 1 и 2, благодаря высокому содержанию белка можно считать белковыми, фракцию № 3 – белково-углеводной, а фракцию № 4 – углеводной, состоящей из крахмала, не растворимого в данных условиях. Можно предполагать, что для данных фракций будет отличаться характер процессов, протекающих при механическом воздействии.

Методом гель-электрофореза (Рисунок 3.2) в полиакриламидном геле было показано, что молекулы белков всех выделенных фракций имеют молекулярную массу от 5 кДа до 135 кДа, что соответствует длине цепи от 50 до 1350 мономеров. Преобладают молекулы с достаточно

[12] Bychkov, A. L. Fractionation and hydrolysis of proteins of plant raw materials obtaining functional nutrition products / A. L. Bychkov, K. V. Gavrilova, E. S. Bychkova, Z. A. Akimenko, A. A. Chernonosov, Y. A. Kalambet, O. I. Lomovskii // IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. – 2019. – V. 479. – N. 1. – # 012001.

высокой молекулярной массой от 24 кДа до 135 кДа (от 240 до 1350 мономеров), что делает дальнейшее изучение процессов механокрекинга удобным, поскольку исследование разрушения молекул с низкой молекулярной массой было бы затруднительно.

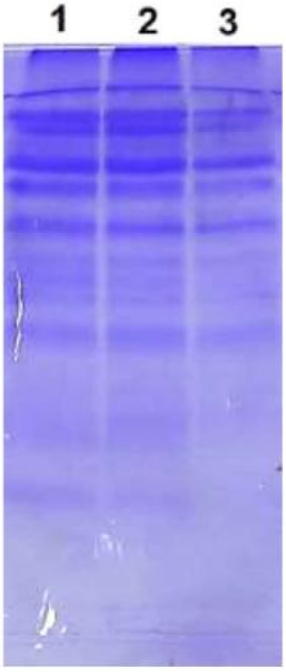


Рисунок 3.2 – Гель электрофорез в полиакриламидном геле белков фракций 1-3.

Дальнейшее изучение процессов, протекающих при механохимической обработке белковых полимеров, проводили с нарастающим увеличением сложности объектов:

- модельный белок – бычий сывороточный альбумин и его димер;
- белки в составе выделенных фракций 1-3;
- белки в составе растительного сырья – биомассы семян гороха.

Методом гель-электрофореза и формольного титрования, также показано значительное увеличение количества концевых аминогрупп, свидетельствующих о разрушении цепей макромолекул (Рисунок 3.3 и 3.4).

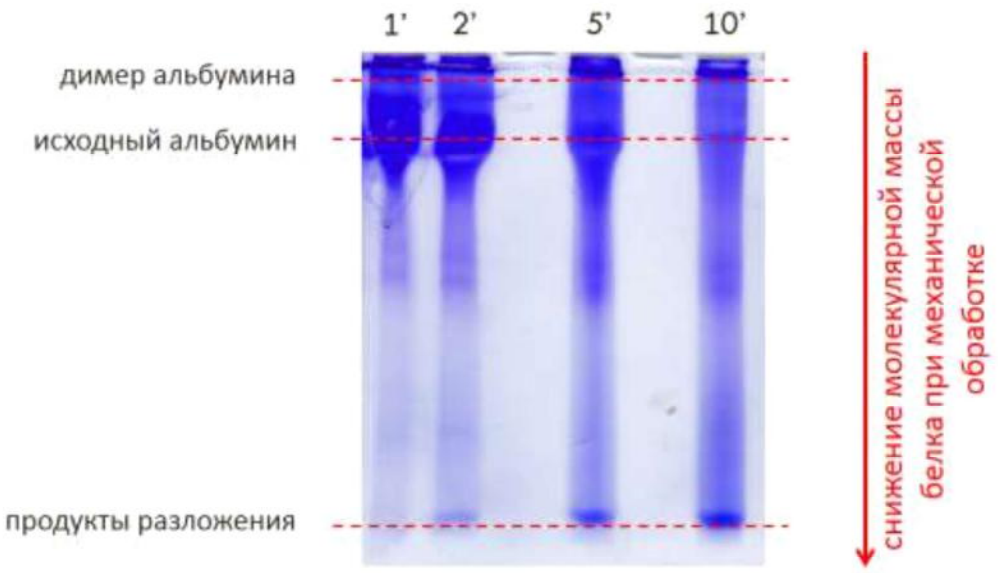


Рисунок 3.3 – Гель электрофорез бычьего сывороточного альбумина после механохимической обработки в течение 1, 2, 5 и 10 минут.

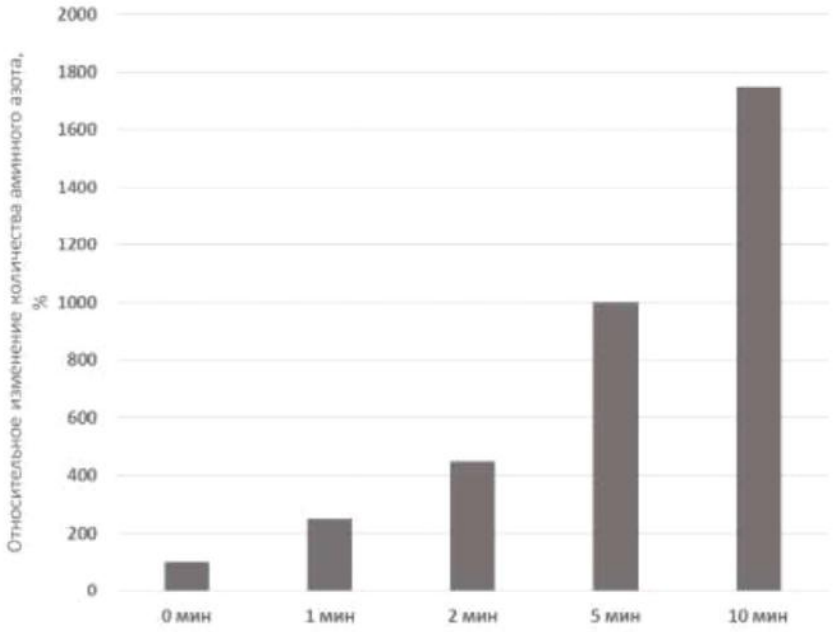


Рисунок 3.4 – Относительное изменение количества аминного азота в ходе после механохимической обработки в течение 1, 2, 5 и 10 минут.

Аналогичные результаты наблюдали[13] при механохимической обработке белков в составе выделенных фракций и в составе растительного сырья (Рисунок 3.5). Формольное титрование и гель-электрофорез показали разрушение полипептидных цепей даже при малых временах обработки. Однако, стоит отметить, что за технологически приемлемое время порядка

[13] Gavrilova, K.V. Mechanically activated hydrolysis of plant-derived proteins in food industry / K. V. Gavrilova, A. L. Bychkov, E. S. Bychkova, Z. A. Akimenko, A. A. Chernonosov, Y. A. Kalambet, O. I. Lomovskii // Food and Raw Materials. – 2019. – V. 7. N. 2. – P. 255-263.

30-60 секунд – столько времени находится растительное сырьё в зоне обработки в проточных промышленных механоактиваторах – процесс механокрекинга белков протекает незначительно и, вероятно, не может, в отличие от процесса денатурации, оказывать значительного влияния на последующие процессы.

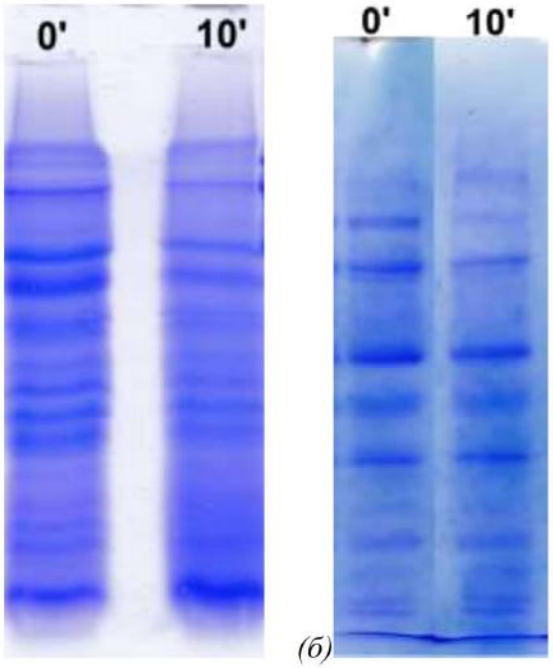


Рисунок 3.5 – Гель электрофорез исходного (0') и механохимически обработанного в течение 10 минут (10') белка в составе: *а* – изолированной фракции 1; *б* – растительного сырья.

С учётом того, что механохимическая обработка позволяет реализовать в виде химических и структурных превращений не более 5 % от затраченной энергии [Бутягин, 2006], полный механокрекинг белковых молекул вряд ли можно признать технологически целесообразным, а роль механохимической обработки сводится к увеличению площади поверхности, доступной для реагентов, снижению степени кристалличности крахмала и разупорядочению структурной организации растительного сырья.

Термическая денатурация белков в твердой фазе и в растворе

С целью изучения денатурация белков, входящих в технологически используемые ферментные препараты, при нагревании в растворе и твердой фазе проведены эксперименты, в которых целлюлозолитический препарат «ЦеллоЛюкс-А» выдерживался при температурах 50-115 °С с последующим определением каталитической активности[14]. Видно, что ферменты в растворённом виде обладают чрезвычайно узкой зоной стабильности (Рисунок 3.6). При 50 °С (наиболее часто используемые в технологии условия) активность ферментов за технологически

[14] Бычков, А. Л. Денатурация целлюлозолитических ферментов в присутствии воды / А. Л. Бычков, В. А. Бухтояров, О. И. Ломовский // Химия в интересах устойчивого развития. – 2011. – № 19. – С. 479-483.

приемлемые времена уменьшается незначительно. Повышение температуры всего до 60-65 °С приводит к быстрой денатурации макромолекул (3 и 1.5 ч соответственно), а при температурах выше 65 °С денатурация протекает практически мгновенно.

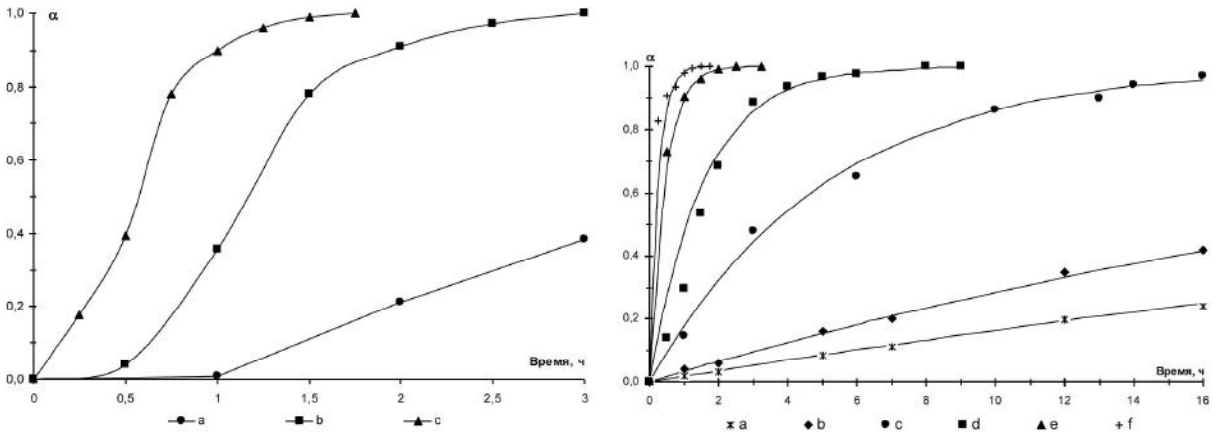


Рисунок 3.6 – Денатурация целлюлозолитических ферментов в растворе *(слева)* и в сухой форме *(справа)* при нагревании, °С: слева – 55 *(a)*, 60 *(b)*, 65 *(c)*; справа – 60 *(a)*, 65 *(b)*, 80 *(c)*, 90 *(d)*, 100 *(e)*, 110 *(f)*. α – степень протекания процесса денатурации.

Ферментные препараты в твердой фазе обладают большей стабильностью при нагревании. При температурах ниже 80 °С снижение активности незначительно и лишь при температурах выше 100 °С денатурация протекает почти мгновенно.

Суммарный процесс денатурации ферментов описывается в рамках кинетических уравнений первого порядка [Козлов, 1980; Можаев, 1982; Ковалёва, 2003; Чешкова, 2007]

(1)

При этом процесс можно разложить на стадии

$$N \xleftrightarrow{k_i} N_i \xleftrightarrow{k_{ij}} D_j \xleftrightarrow{k_j} D \qquad (2)$$

где N – исходная, активная форма ферментов; N_i – сумма переходных состояний ферментов, способных катализировать реакции деполимеризации; D_j – сумма переходных состояний, не способных катализировать реакции; D – конечная денатурированная форма ферментов.

В этом случае для нахождения эффективных термодинамических параметров процесса можно воспользоваться уравнениями

(3)

(4)

где α – степень превращения суммарного процесса (1); k – эффективная константа скорости реакции; t – время протекания реакции; E_a – эффективная энергия активации; T – температура, при которой протекает процесс; A – предэкспоненциальный множитель; R – универсальная газовая постоянная.

В таблице 3.2 представлены вычисленные эффективные константы, сравнение которых показывает, что ферменты в твердой фазе на два порядка стабильнее при нагревании, чем в растворе. Расчетные эффективные энергии активации составляют 118 кДж/моль для процесса в твёрдой фазе и 251 кДж/моль для процессов в растворе.

Таблица 3.2 – Кинетические параметры процесса инактивации ферментов в растворе и в твердой фазе

Температура, °C	Эффективная константа скорости, с–1	
	В растворе	В твёрдой фазе
≤50	Ферменты устойчивы длительное время	Ферменты устойчивы длительное время
55	$6.5*10^{-5}$	
60	$4.0*10^{-4}$	$5.0*10^{-6}$
65	$1.0*10^{-3}$	$9.4*10^{-6}$
70	Ферменты инактивируются практически мгновенно	$1.7*10^{-5}$
80		$5.5*10^{-5}$
90		$1.8*10^{-4}$
100		$6.3*10^{-4}$
110		$1.1*10^{-3}$
>110		Ферменты инактивируются практически мгновенно

Бо́льшую энергию активации (при меньшей стабильности) для ферментов в растворе можно объяснить следующим образом. Во-первых, молекулы воды сольватируют белки и образуют развитую сеть водородных связей, в результате чего увеличивается потенциальный барьер, через который должна пройти система в ходе элементарного акта химического превращения. Однако в растворённом виде увеличивается и подвижность отдельных фрагментов белковой молекулы друг относительно друга, что приводит к уменьшению термической стабильности при увеличении энергии активации. Во-вторых, суммарный процесс (1) денатурации ферментов можно разбить на ряд стадий (2), в которых между исходной и денатурированной формой белковые молекулы проходят через ряд промежуточных состояний

N_i и D_j, способных с разной эффективностью катализировать реакции. О протекании такого каскада превращений можно судить по периоду индукции, наблюдаемому на начальном отрезке кинетических кривых (см. Рисунок 3.6). Отсутствие на кинетических кривых денатурации ферментов в сухой форме периода индукции может говорить о том, что при высушивании растворов ферментов белки приобретают конформацию N_i, в большей степени похожую на денатурированную, чем исходная N. Очевидно, что при нагревании белков в такой конформации для завершения каскада превращений необходима меньшая энергия.

Для определения влияния воды на скорость инактивации были приготовлены образцы с различной влажностью, прогрев которых при 80 °С показал (Рисунок 3.7), что эффективная константа скорости экспоненциально растёт при увеличении влажности. Наиболее устойчивыми оказались образцы с содержанием воды не более 8 %. При повышении влажности выше 10 % денатурация протекает быстро, а при влажности около 30 % константа скорости в твёрдой фазе сравнивается с таковой в растворе.

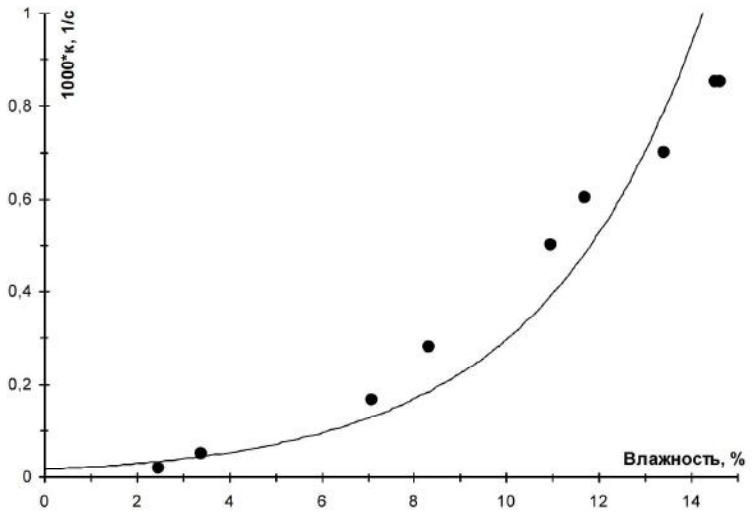


Рисунок 3.7 – Зависимость эффективной константы скорости денатурации от содержания воды.

Таким образом, изучение процессов инактивации в растворе и твердой фазе показало, что содержание воды в образцах ферментов влияет на скорость денатурации. Исходя из представленных данных, для осуществления механоферментативных процессов можно рекомендовать условия, предусматривающие работу с сухими смесями сырьё/фермент либо с растворами ферментов при температуре не выше 50-55 °С.

Влияние механической обработки на каталитическую активность ферментов

С целью определения механической устойчивости ферментов проведен эксперимент, в котором навеска целлюлозолитического препарата подвергалась механической обработке (лабораторный активатор АГО-2, ускорение мелющих тел 200 м/с^2) без добавления

растительного сырья. Показано (Рисунок 3.8, кривая 1), что в процессе механической обработки наблюдается постепенное снижение каталитической активности. За 20 секунд механической обработки активность снижается на 10%, а за 3 минуты – на 80%.

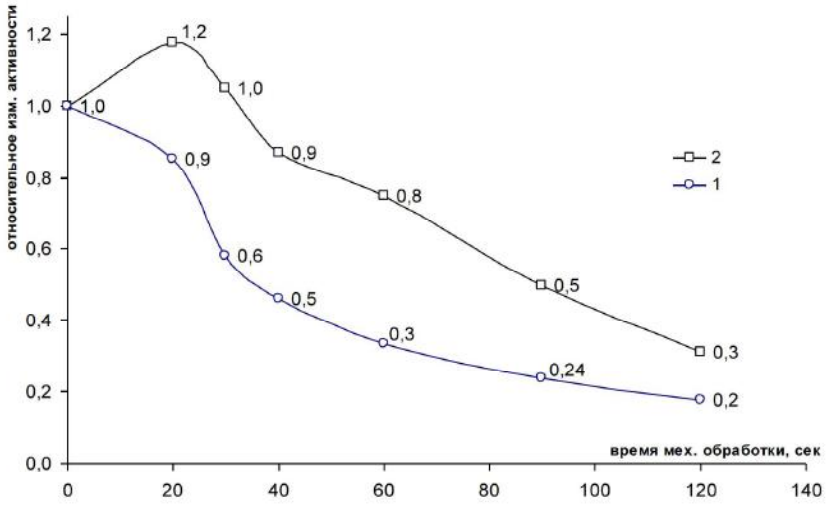


Рисунок 3.8 – Изменение каталитической активности ферментов при механической обработке: *1* – обработка ферментов без сырья, *2* – совместная обработка ферментов и микрокристаллической целлюлозы.

Снижение активности можно объяснить тем, что ферменты, представляющие собой молекулу белка, способны катализировать реакцию гидролиза только в определенной пространственной конфигурации. При подведении энергии к образцу происходят нарушения третичной (возможно, вторичной) структуры белка, которые препятствуют молекуле фермента образовывать нужную для катализа конфигурацию активного центра. Часть образца, попавшая под воздействие высокоинтенсивных мелющих тел, теряет свою каталитическую активность и не участвует в реакции.

Для определения стабильности ферментов при механической обработке в присутствии субстрата провели механическую обработку препарата с микрокристаллической целлюлозой (МКЦ). Показано, что в присутствии МКЦ первоначально происходит повышение каталитической активности, а затем ее снижение. При этом наблюдаемое снижение носит более медленный характер, чем в случае обработки ферментов без целлюлозы.

Результаты измерения каталитической активности обработанных препаратов и форма кривой 2 (Рисунок 3.8) позволяют предположить, что во время механического воздействия могут протекать следующие процессы: недиффузионное распределение ферментов по поверхности целлюлозы , увеличение реакционной способности МКЦ за счет снижения степени кристалличности и снижение каталитической активности ферментативного препарата за счет механического подведения энергии и денатурации белка.

Для определения вклада аморфизации субстрата в наблюдаемый суммарный эффект проведен эксперимент, в котором предварительно механически активированную МКЦ гидролизовали при помощи необработанного ферментативного препарата (Рисунок 3.9, кривая 3). Показано, что в результате механической обработки реакционная способность целлюлозы в последующем ферментативном гидролизе увеличивается более чем в 2 раза. Увеличением реакционной способности МКЦ, по-видимому, можно объяснить более высокие значения активности и более медленное падение активности (Рисунок 3.9 кривая 2) по сравнению с кривой 1.

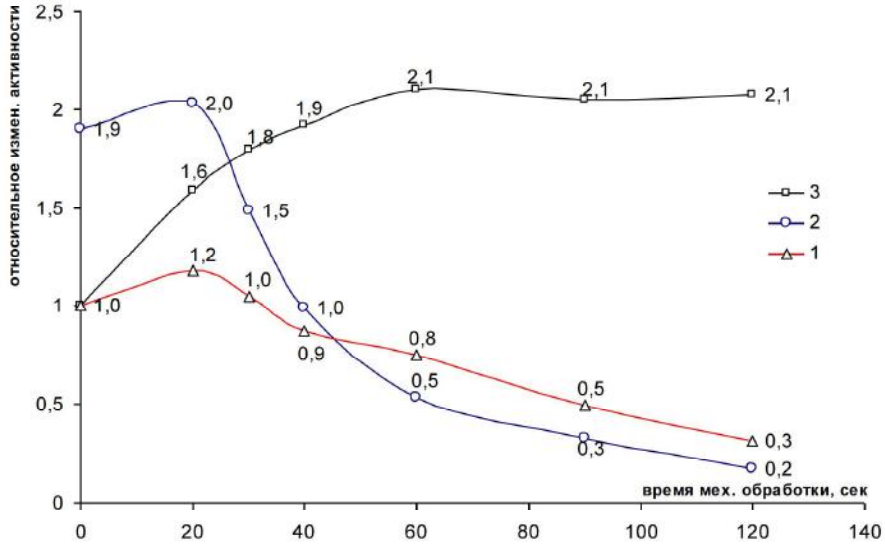


Рисунок 3.9 – Изменение каталитической активности ферментов при механической обработке: *1* – обработка ферментов с МКЦ, *2* – совместная обработка ферментов и предварительно аморфизованной МКЦ, *3* – ферментативный гидролиз предварительно активированной МКЦ.

Таким образом, на модельных веществах показано, что при проведении механической обработки ферментативного комплекса “ЦеллоЛюкс-А” в планетарной мельнице происходит снижение каталитической активности ферментов[15]. При механической обработке смеси ферментативного препарата с субстратом (микрокристаллической целлюлозой) наблюдается первоначальное увеличение, а затем снижение активности ферментов за счет денатурации. Возможной причиной начального повышения активности является аморфизация субстрата и распределение ферментов в его объеме.

[15] Бычков, А. Л. Влияние механической обработки на активность целлюлозолитического препарата / А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Журнал прикладной химии. – 2010. – Т. 83. – № 6. – С. 1051-1053.

Влияние растительного сырья на денатурацию белков при совместной механической обработке

Исследовано влияние интенсивности обработки на денатурацию белковых молекул целлюлозолитических ферментов в центробежной роликовой мельнице ТМ-3 при совместной обработке с растительным сырьём различного типа. Из данных на рисунке 3.10-a видно, что механическая обработка ферментного комплекса без растительного сырья приводит к потере каталитической активности вне зависимости от интенсивности воздействия. В то же время при обработке смеси ферментного комплекса с соломой кукурузы (Рисунок 3.10-b) наблюдается увеличение скорости последующего ферментативного гидролиза примерно в 1,3-2 раза по сравнению с неактивированными образцами.

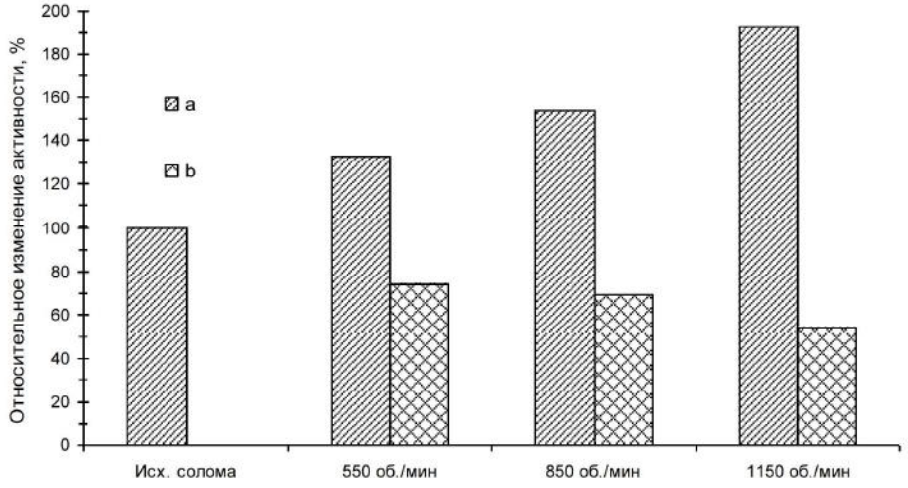


Рисунок 3.10 – Относительное изменение активности ферментов при обработке в центробежной роликовой мельнице без субстрата *(a)* и с соломой кукурузы *(b)*.

По-видимому, как было установлено в случае микрокристаллической целлюлозы, в ходе совместной механической обработки идут два параллельных процесса: активация лигноцеллюлозного субстрата, обусловленная аморфизацией целлюлозы, и денатурация молекул фермента. Чтобы достичь максимальной реакционной способности растительное сырьё (солому кукурузы) подвергли многократной механической активации в одинаковых условиях.

Определение скорости ферментативного гидролиза (активности ферментного комплекса) показало, что при трехкратной механической обработке реакционная способность субстрата увеличивается примерно на 50-70 % за цикл (Рисунок 3.11). После этого реакционная способность не увеличивается. Максимально достигнутое увеличение составляет примерно 270 % по сравнению с показателями исходной, не активированной соломы. Полученный продукт использовали для изучения кинетики денатурации ферментов и определения эффективных кинетических констант скорости.

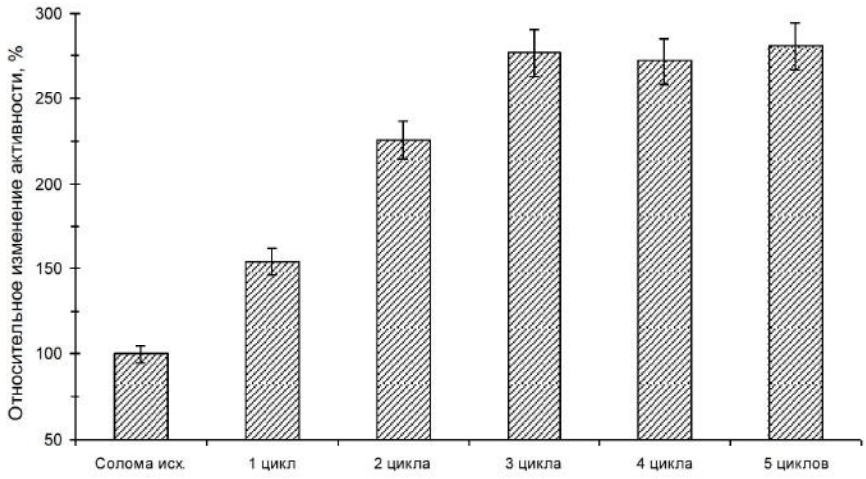


Рисунок 3.11 – Увеличение реакционной способности соломы кукурузы в зависимости от глубины обработки (количества циклов) в центробежной роликовой мельнице.

Для изучения кинетики денатурации ферментного комплекса при разной интенсивности механического воздействия, определения эффективных констант скорости без субстрата и в присутствии предварительно активированного субстрата была использована лабораторная шаровая мельница-аттритор.

Показано (Рисунок 3.12), что даже в самых щадящих условиях обработки фермент необратимо теряет свою активность. В то же время, присутствие субстрата (Рисунок 3.13) повышает стабильность ферментного комплекса, что даёт возможность проводить обработку при высоких энергонапряжённостях, сохраняя значительную долю ферментов.

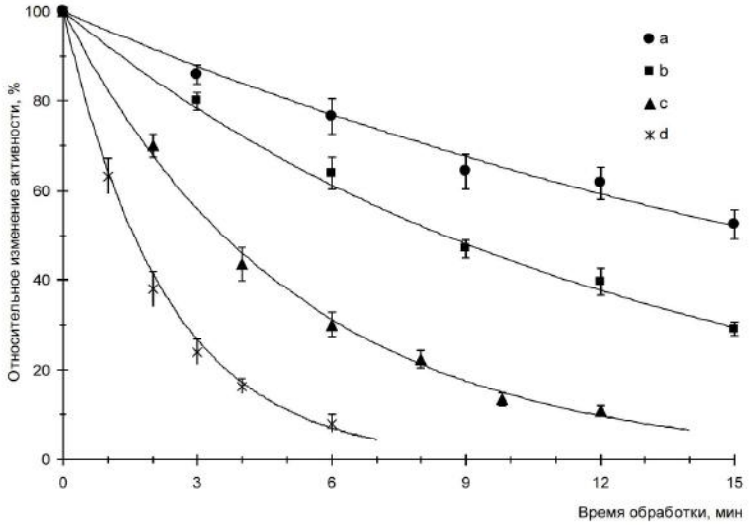


Рисунок 3.12 – Кинетика изменения каталитической активности ферментов при обработке в аттриторе без субстрата и со скоростью вращения ротора 280 об./мин *(a)*, 420 об./мин *(b)*, 560 об./мин *(c)*, 700 об./мин *(d)*.

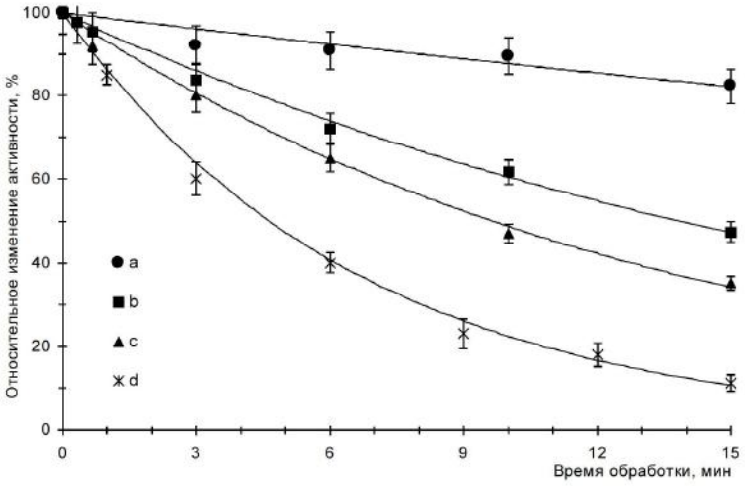


Рисунок 3.13 – Кинетика изменения каталитической активности ферментов при обработке в аттриторе в присутствии субстрата и со скоростью вращения ротора 280 об./мин *(a)*, 560 об./мин *(b)*, 850 об./мин *(c)*, 1150 об./мин *(d)*.

Для сравнения процессов денатурации без субстрата и в присутствии предварительно активированной лигноцеллюлозы были проведены расчёты эффективных констант скоростей реакции. Рассчитанные значения констант скорости в зависимости от интенсивности механической обработки в аттриторе, определяемой скоростью вращения ротора, в полулогарифмических координатах приведены на рисунке 3.14.

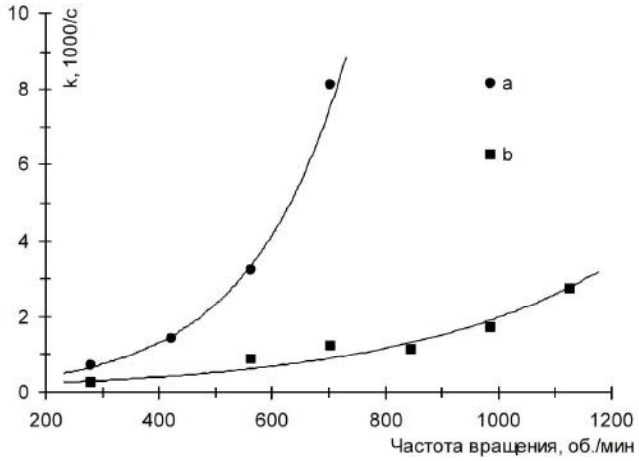


Рисунок 3.14. Зависимость эффективной константы скорости реакции денатурации ферментов от интенсивности механической обработки в атритторе без субстрата *(a)* и в присутствии предварительно активированной соломы кукурузы *(b)*.

Установлено, что константы скоростей (Рисунок 3.14) экспоненциально зависят от частоты вращения ротора – параметра, характеризующего энергонапряжённость механического воздействия. Из этого можно сделать следующие важные выводы:

- денатурация ферментов протекает при всех исследованных значениях интенсивности механической обработки, даже в присутствии субстрата, что накладывает ограничения на время и интенсивность механической обработки;

- смесь ферментного комплекса с лигноцеллюлозным субстратом можно подвергать механической обработке в ограниченном диапазоне интенсивности без значительного снижения каталитической активности.

Для определения устойчивости ферментного комплекса при механической обработке с предварительно активированным субстратом использована центробежная роликовая мельница ТМ-3. Частота вращения ротора фиксирована (850 об./мин), заполненность мельницы варьировали при помощи питателя (3 до 25 кг/час). Обрабатываемая смесь пребывает в зоне обработки примерно 50 секунд.

Полученные результаты показали (Рисунок 3.15), что при увеличении загрузки активатора степень денатурации ферментов снижается. В таких условиях может быть сохранена большая часть активности фермента. Причиной сохранения активности фермента при совместной механической обработке с лигноцеллюлозным субстратом, по-видимому, является снижение твёрдости матрицы при аморфизации кристаллической части целлюлозы, составляющей около 40 % от массы всего материала.

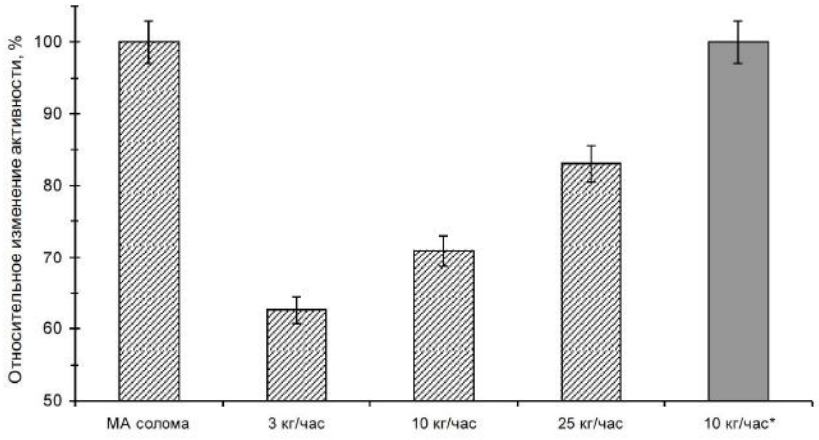


Рисунок 3.15 – Зависимость активности ферментов от скорости прохождения через зону механической обработки в центробежной роликовой мельнице в присутствии предварительно активированной соломы кукурузы (образец 10/кг/час* обрабатывался в мельнице с уменьшенной в 4 раза зоной воздействия).

При уменьшении длины рабочей зоны мельницы-активатора в 4 раза время обработки пропорционально уменьшается, что положительно сказывается на сохранности ферментного препарата. При такой обработке фермент практически не денатурирует под воздействием механической энергии.

На основании полученных результатов могут быть сформулированы требования к механохимическому оборудованию, пригодному для механоферментативной переработки растительного сырья. Аппараты должны состоять из двух секций: в первой секции с мелющими телами с высокой интенсивностью воздействия проводится активация лигноцеллюлозы, во второй секции, куда вводится ферментный препарат – мелющими телами с пониженной интенсивностью воздействия осуществляется распределение ферментов по активированному субстрату.

Таким образом, при совместной обработке лигноцеллюлозного субстрата и ферментного комплекса значительно увеличивается устойчивость ферментов к механическому воздействию[16]. Во время механической обработки ферментных препаратов с лигноцеллюлозным субстратом наблюдается два параллельных процесса: денатурация ферментов и активация лигноцеллюлозы. Для сохранения каталитической активности в результате обработки в центробежной роликовой мельнице-активаторе смесей субстрата и фермента необходимо максимально уменьшить время пребывания ферментного препарата в зоне обработки при одновременном увеличении степени заполнения аппарата.

Стабилизация ферментов на поверхности твердофазного растительного сырья

Изучение процесса совместной механической обработки ферментных комплексов с лигноцеллюлозным сырьём осложняется протеканием двух параллельных процессов: разупорядочением структуры лигноцеллюлозы и денатурацией ферментов. Первый процесс приводит к увеличению выхода при последующем ферментативном гидролизе, а второй – к замедлению или даже полному прекращению процесса.

Лигноцеллюлозное сырьё – солома пшеницы – было подвергнуто исчерпывающей механической активации в центробежной роликовой мельнице. Реакционная способность полученного материала при дальнейшей механической обработке не изменяется.

Из предварительно активированной лигноцеллюлозы и ферментативного комплекса «ЦеллоЛюкс-А», взятых в соотношении 99:1, было приготовлено две серии образцов:

– смесь лигноцеллюлозы с ферментным комплексом;

– лигноцеллюлоза с сорбированным на поверхности ферментным комплексом.

После проведения механической обработки и проведения последующего ферментативного гидролиза определена относительная реакционная способность образцов (Рисунок 3.16).

[16] Бухтояров, В. А. Влияние лигноцеллюлозного субстрата на денатурацию ферментов при совместной механической активации / В. А. Бухтояров, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2015. – № 4. – С. 948-951.

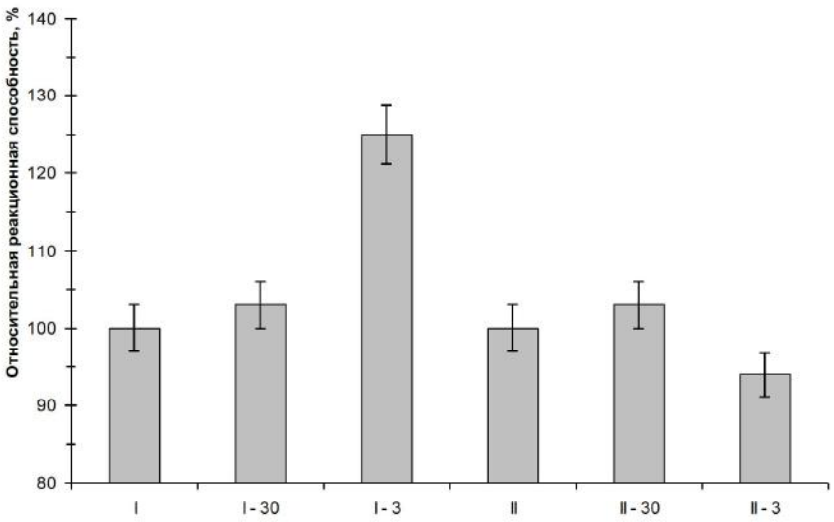


Рисунок 3.16 – Реакционная способность ферментов спустя 1 час гидролиза (I и II – обозначены ферменты сорбированные и смешанные с лигноцеллюлозой, соответственно. Индекс 30 и 3 обозначает проведение механической обработки образца при скорости подачи сырья 30 и 3 кг/час, соответственно).

Видно, что при большой скорости подачи сырья (30 кг/ч) не происходит значимого изменения реакционной способности как для порошкообразной смеси компонентов, так и для лигноцеллюлозы с ферментами, распределенными по поверхности (Рисунок 3.16, столбец I-30).

Уменьшение скорости подачи сырья до 3 кг/ч приводит к значительному увеличению реакционной способности ферментов, сорбированных на поверхности (Рисунок 3.16, столбец I-3). В тех же условиях лигноцеллюлоза не стабилизирует целлюлазы, не взаимодействующие с поверхностью и находящиеся в виде смеси (Рисунок 3.16, столбцы II).

Поскольку скорость подачи сырья в зону обработки определяет удельную дозу механической энергии, полученной образцом, можно сказать, что для повышения реакционной способности необходимо подведение к материалу определенной дозы механической энергии. Можно предположить, что наблюдаемое увеличение связано с механическим внедрением сорбированных молекул фермента в поры и приповерхностные слои лигноцеллюлозы, разупорядоченной в результате обработки. В подобной ситуации можно ожидать уменьшение диффузионных затруднений для массопереноса ферментов и, как следствие, увеличение скорости гидролиза.

Перечисленные эффекты ярче проявляются спустя 5 ч протекания ферментативного гидролиза (Рисунок 3.17). Сорбированные ферменты стабильны и на 30-40 % активнее гидролизуют углеводы растительного сырья. Выход углеводов при обработке смеси ферментов и лигноцеллюлозы на 15-20 % ниже, чем для контрольных образцов. Сорбция целлюлозолитического комплекса на поверхности лигноцеллюлозного сырья приводит к

стабилизации ферментов; механическая смесь ферментов и лигноцеллюлозы стабильностью не обладает[17].

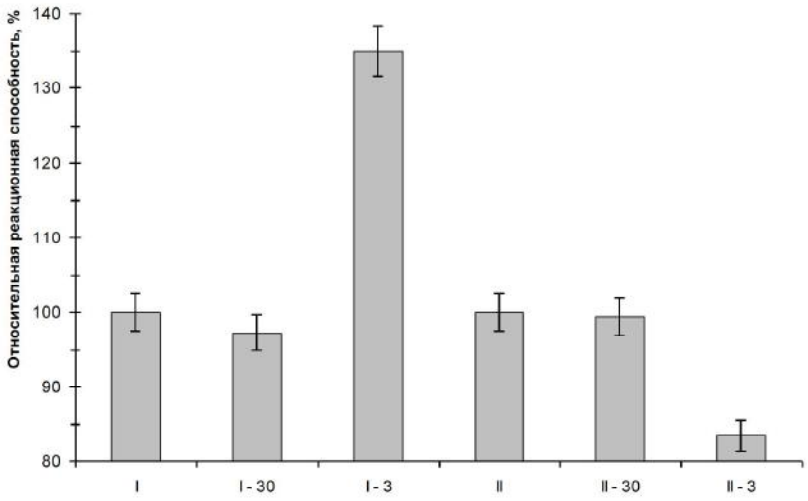


Рисунок 3.17 – Реакционная способность ферментов спустя 5 ч гидролиза (I и II – обозначены ферменты сорбированные и смешанные с лигноцеллюлозой, соответственно. Индекс 30 и 3 обозначает проведение механической обработки образца при скорости подачи сырья 30 и 3 кг/ч, соответственно).

При большой скорости подачи сырья в зону обработки (малая удельная доза механической энергии) реакционная способность сорбированных ферментов сохраняется на прежнем уровне. Уменьшение скорости подачи материала приводит к увеличению дозы подводимой энергии и росту реакционной способности на 30-40 %, что можно объяснить распределением молекул ферментов по порам и приповерхностному слою разупорядоченной лигноцеллюлозы.

Таким образом, изучение процессов деполимеризации в ходе механической активации показало, что белковые макромолекулы обладают низкой стабильностью по отношению к механическому воздействию. Однако, за время обработки, сопоставимое со временем пребывания сырья в зоне воздействия промышленных механохимических аппаратов, процесс деполимеризации протекает незначительно и, вероятно, не может, в отличие от процесса денатурации, оказывать значительного влияния на последующие процессы.

Изучение термической инактивации ферментов в растворе и твердой фазе показало, что содержание воды в образцах сильно влияет на скорость денатурации. Наибольшую стабильность проявляют образцы с содержанием воды не более 8 %. При повышении

[17] Бычков, А. Л. Стабилизация целлюлозолитических ферментов сорбцией на поверхности растительного сырья / А. Л. Бычков, В. А. Бухтояров, О. И. Ломовский // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2015. – № 5. – С. 1189-1191.

влажности выше 8 % скорость денатурации значительно возрастает, а при влажности около 30 % константа скорости в твёрдой фазе сравнивается с таковой в растворе.

При совместной обработке лигноцеллюлозного субстрата и белковых молекул-ферментов значительно увеличивается устойчивость последних к механическому воздействию. При этом, для сохранения каталитической активности в результате совместной механической обработки необходимо максимально уменьшить время пребывания нестабильных белков в зоне обработки при одновременном увеличении степени заполнения аппарата.

Сорбция белковых молекул-ферментов на поверхности лигноцеллюлозного сырья приводит к их дополнительной стабилизации при последующей механической обработке. При большой скорости подачи сырья в зону обработки (малая удельная доза механической энергии) реакционная способность сорбированных ферментов сохраняется на прежнем уровне. Уменьшение скорости подачи материала приводит к увеличению дозы подводимой энергии и росту реакционной способности на 30-40 %, что можно объяснить распределением белковых молекул по порам и приповерхностному слою разупорядоченной лигноцеллюлозы.

3.2. Влияние химического состава на свойства природных полимерных материалов

В настоящее время во многих регионах мира исследуются подходящие для химической переработки источники молекул-платформ из возобновляемого природного сырья [Godin, 2013], включающие биомассу растений, отходы сельского хозяйства, микробную биомассу, торф [Tynkkynen, 2014]. Проводятся работы, направленные на оптимизацию сжигания высоколигнифицированного топлива, в том числе лигниновые отходы ЦБК (Black Liquor), а также смесевых топлив из растительного сырья и различных сортов торфа и угля [Mesfun, 2014; Lomovsky, 2015].

В таблице 3.3 представлены данные о содержании основных структурообразующих полимеров в сырье, относящемся к слабо используемым растительным материалам[18].

Таблица 3.3 – Химический анализ сырья (в пересчете на сухое вещество)

Образец	Экстрактивные вещества, %	Целлюлоза, %	Лигнин, %	Гемицеллюлозы, %
Соломенные отходы растениеводства				
Солома пшеницы	3,7 (±0,2)	45,7 (±0,9)	19,9 (±0,31)	25,9 (±0,05)
Солома овса	2,2 (±0,01)	40,0 (±0,5)	20,0 (±0,68)	25,8 (±0,07)
Солома кукурузы	4,8 (±0,2)	41,4 (±0,3)	17,8 (±0,05)	26,7 (±0,02)
Солома ячменя	1,7 (±0,04)	38,2 (±0,5)	19,3 (±0,36)	25,0 (±0,02)
Костра льна	1,4 (±0,05)	39,2 (±0,6)	25,0 (±0,11)	20,8 (±0,03)
Различная шелуха, лузга				
Шелуха риса	1,6 (±0,07)	47,0 (±0,7)	32,8 (±0,30)	19,6 (±0,09)
Шелуха гречки	0,6 (±0,01)	29,3 (±0,6)	26,6 (±0,65)	17,2 (±0,02)
Лузга подсолнечника	30,5 (±0,9)	25,2 (±,04)	37,4 (±0,94)	11,6 (±0,03)
Лузга тыквенная	4,5 (±0,7)	38,2 (±0,4)	29,5 (±0,44)	3,9 (±0,02)
Лузга кедровых орехов	1,9 (±0,5)	32,3 (±0,8)	38,3 (±0,21)	16,1 (±0,03)
Шелуха кедровых шишек	14,1 (±0,3)	19,2 (±0,7)	47,6 (±1,02)	5,8 (±0,1)
Початки кукурузы	1,4 (±0,25)	30,1 (±0,9)	12,9 (±0,67)	28,6 (±0,04)
Дикорастущие растения, образующие плантации				
Тростник	2,6 (±0,03)	36,1 (±0,7)	21,5 (±0,90)	20,4 (±0,02)
Осока	2,2 (±0,1)	29,8 (±1,0)	22,8 (±0,74)	15,3 (±0,11)
Ветки облепихи	2,2 (±0,2)	20,3 (±0,6)	42,0 (±0,77)	11,8 (±0,4)
Отходы лесозаготовок				
Затопленная древесина сосны	2,1 (±0,1)	44,8 (±0,5)	29,2 (±0,51)	11,2 (±0,02)
Сосновые ветки	6,6 (±0,2)	30,5 (±0,8)	31,4 (±0,60)	8,5 (±0,03)
Березовые ветки	5,0 (±0,3)	27,0 (±0,6)	27,9 (±0,53)	18,9 (±0,05)
Кора сосны	5,1 (±0,2)	26,3 (±0,9)	50,0 (±0,12)	7,3 (±0.03)
Кора лиственницы	5,9 (±0,3)	17,5 (±0,6)	61,7 (±0,82)	2,8 (±0,01)

Природные полимеры при различных температурах претерпевают фазовые переходы из одного состояния (стеклообразное, высокоэластичное, вязкотекучее) в другое. Например, для

[18] Бычков, А. Л. Расчёт теплоты сгорания лигноцеллюлозы на основании данных элементного анализа / А. Л. Бычков, А. И. Денькин, В. Д. Тихова, О. И. Ломовский // Химия растительного сырья. – 2014. – № 3. – С. 99-104.

наиболее хорошо изученного лигнина характерен диапазон температур перехода из высокоэластичного в вязкотекучее состояние 121-193°С [Chow, 1971; Kubo, 1996]. У целлюлозы температура расстекловывания около 165°С и температура молекулярного течения 240-244°С. Температура плавления гемицеллюлоз не превышает 167-181°С [Sakakibara, 2000; Ol'hov, 2001].

На основании опубликованных данных определены условия эксперимента, представляющие наибольший интерес с точки зрения изучения влияния температуры на эффективность измельчения растительного сырья (- 196 °С; 10 °С; 100 °С; 180 °С). Охлаждение сырья до температуры кипения жидкого азота позволяет заморозить все степени свободы полимеров и осуществить мехактивацию в условиях хрупкого измельчения. Температура 10 °С соответствует интервалу температур до начала плавления низкоплавкой кристаллической модификации блока лигнина. Температура 100 °С соответствует точке перегиба кривой зависимости влажности от температуры механической обработки. Температура 180 °С соответствует температуре начала плавления самой тугоплавкой фракции полимеров (лигнина и гемицеллюлоз).

Были проведены эксперименты с четырьмя видами растительного сырья: соломой пшеницы (традиционное сырьё для сравнения), стебли тростника (высоколигнифицированное сырьё), рисовая лузга (высокоминерализованное сырьё) и биомасса топляка (низкое содержание экстрактивных веществ и лигнина) (Рисунок 3.18).

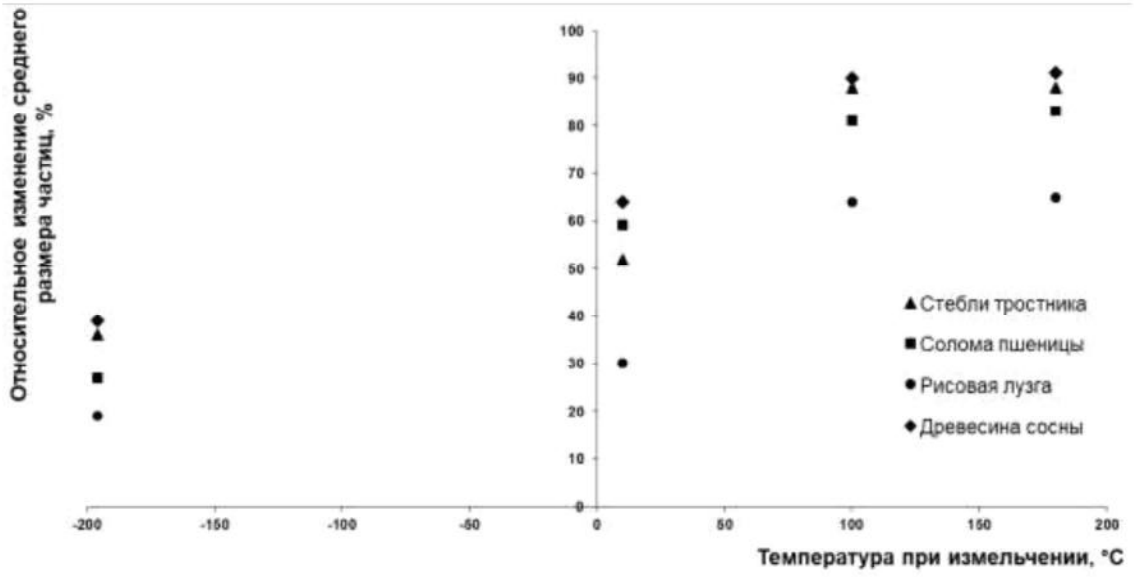


Рисунок 3.18 – Влажность продукта механической активации растительного сырья в зависимости от температуры при механической активации.

Видно, что для сырья, характеризующегося различным химическим составом, дисперсность получаемого продукта механической активации значительно меняется при изменении температуры. В условиях, когда все полимеры находятся в застеклованном

состоянии, реализуется лишь процесс хрупкого разрушения. При последовательном расстекловывании полимеров возрастает вклад пластической деформации, тем больше, чем большая доля неупорядоченных полимеров находится в сырье.

Следующим физико-химическим свойством, зависящим от химического состава, является удельная теплота сгорания – величина, повсеместно используемая при расчёте эффективности сжигания биотоплива в энергоустановках.

Наиболее точным методом определения теплоты сгорания твёрдого топлива является сжигание навески образца в калориметрической бомбе. Однако для случаев, когда это невозможно, разрабатываются косвенные методы расчёта теплоты сгорания на основании данных химического, технического и элементного анализа. Теплота сгорания связана с химическим составом растительного сырья, в частности, с долей основных структурных полимеров клеточных стенок (лигнина, целлюлозы, гемицеллюлоз) и экстрактивных веществ. Вследствие разнообразия используемых на практике методов определения структурных компонентов и высокой вариативности химического состава лигноцеллюлозных материалов применение уравнений, оперирующих содержанием биополимеров, не обеспечивает достижения достаточно точных результатов.

С другой стороны, при наличии брутто-формулы материала, экспериментально определяемой методом элементного анализа, необходимость в данных о химическом составе сырья отпадает, а вариативность методов определения структурных компонентов не влияет на точность расчёта теплоты сгорания. Эмпирические корреляции, использующие данные технического анализа (содержание летучих веществ, связанного углерода и золы) по точности занимают промежуточное положение между уравнениями, базирующимися на элементном и химическом анализе.

Для представленных выше (в Таблице 3.3) образцов растительного сырья были определены теплоты сгорания и проверены отобранные из литературы корреляции, связывающие теплоту сгорания с элементным составом. Результаты элементного и технического анализа образцов представлены в таблицах 3.4 и 3.5. При анализе модельных образцов с различным содержанием лигнина видно, что увеличение доли полифенолов приводит к значительному росту количества основного элемента состава – углерода. В то же время увеличение зольности лигноцеллюлозного материала обедняет его органический состав, что должно негативно сказываться на теплотворной способности. Наибольшей зольностью обладает рисовая лузга, которая может содержать до 20 % аморфного диоксида кремния [Shapolova, 2013]. Минимальной зольностью обладает лузга кедровых орехов (менее 1 %), что позволяет получать из данного вида сырья низкозольное твердое топливо, в частности топливные пеллеты класса «Премиум» по стандарту PFI.

Таблица 3.4 – Элементный анализ сырья (в пересчете на сухое вещество)

Образец	C, %	H, %	N, %	S, %
Модельные образцы с различным содержанием лигнина				
0 % лигнина	45.09 (±0.17)	5.28 (±0.07)	-	-
10 % лигнина	45.68 (±0.43)	5.02 (±0.15)	0.21 (±0.00)	-
20 % лигнина	46.80 (±0.09)	4.56 (±0.64)	0.45 (±0.01)	< 0.3
40 % лигнина	48.72 (±0.20)	5.20 (±0.29)	0.55 (±0.03)	0.84 (±0.07)
60 % лигнина	54.27 (±0.77)	4.85 (±0.21)	0.64 (±0.05)	1.34 (±0.46)
80 % лигнина	59.35 (±0.41)	4.92 (±0.07)	0.61 (±0.07)	1.75 (±0.28)
100 % лигнина	65.54 (±0.03)	5.21 (±0.09)	0.48 (±0.01)	1.45 (±0.12)
Соломенные отходы растениеводства				
Солома пшеницы	46.74 (±0.39)	5.44 (±0.03)	0.55 (±0.06)	-
Солома овса	45.50 (±0.24)	4.92 (±0.03)	0.65 (±0.00)	-
Солома кукурузы	46.24 (±0.04)	5.20 (±0.06)	0.87 (±0.00)	-
Солома ячменя	45.71 (±0.01)	5.15 (±0.05)	0.86 (±0.05)	-
Костра льна	49.70 (±0.10)	5.41 (±0.03)	0.67 (±0.04)	-
Различная шелуха, лузга				
Шелуха риса	41.55 (±0.04)	4.45 (±0.02)	0.67 (±0.00)	-
Шелуха гречки	51.23 (±0.39)	4.91 (±0.26)	0.87 (±0.19)	-
Лузга подсолнечника	58.93 (±0.02)	7.25 (±0.15)	0.71 (±0.06)	-
Лузга тыквенная	49.79 (±0.10)	5.69 (±0.13)	2.92 (±0.10)	-
Лузга кедровых орехов	52.76 (±0.25)	5.16 (±0.09)	0.53 (±0.08)	-
Шелуха кедровых шишек	56.13 (±1.69)	5.34 (±0.01)	0.88 (±0.15)	-
Початки кукурузы	46.54 (±0.16)	5.31 (±0.03)	1.08 (±0.10)	-
Дикорастущие растения, образующие плантации				
Тростник	46.02 (±0.20)	5.20 (±0.20)	1.60 (±0.01)	-
Осока	47.83 (±0.05)	5.26 (±0.15)	1.76 (±0.13)	-
Ветки облепихи	51.67 (±0.44)	5.38 (±0.10)	2.17 (±0.08)	-
Отходы лесозаготовок				
Затопленная древесина сосны	50.52 (±0.21)	5.46 (±0.18)	-	-
Сосновые ветки	52.56 (±0.04)	5.88 (±0.11)	0.57 (±0.06)	-
Березовые ветки	51.09 (±0.49)	5.95 (±0.07)	0.40 (±0.06)	-
Кора сосны	53.82 (±1.27)	4.74 (±0.01)	0.39 (±0.03)	-
Кора лиственницы	57.35 (±0.14)	5.27 (±0.03)	0.36 (±0.01)	-

Таблица 3.5 – Технический анализ сырья (в пересчете на сухое вещество)

Образец	Зола, %	Летучие вещества, %	Связанный углерод, %
Модельные образцы с различным содержанием лигнина			
0 % лигнина	0.26 (± 0,03)	94,47 (±0,10)	5,27 (±0,10)
10 % лигнина	6.60 (±0,41)	81,31 (±0,21)	12,09 (±0,21)
20 % лигнина	6,09 (±0,06)	75,17 (±0,11)	18,74 (±0,11)
40 % лигнина	7,91 (±0,45)	72,86 (±0,10)	19,23 (±0,10)
60 % лигнина	6,63 (±0,42)	68,20 (±0,14)	25,17 (±0,14)
80 % лигнина	5,35 (±0,19)	64,13 (±0,12)	30,52 (±0,12)
100 % лигнина	4,07 (±0,04)	57,52 (±0,09)	38,41 (±0,09)
Соломенные отходы растениеводства			
Солома пшеницы	6,09 (±0,06)	75,17 (±0,11)	18,74 (±0,11)
Солома овса	9,71 (±0,07)	71,04 (±0,51)	19,25 (±0,51)
Солома кукурузы	6,86 (±0,06)	75,15 (±0,11)	17,99 (±0,11)
Солома ячменя	8,46 (±0,06)	72,11 (±0,20)	19,43 (±0,20)

Костра льна	2,87 (±0,04)	77,20 (±0,12)	19,93 (±0,12)
Различная шелуха, лузга			
Шелуха риса	16,94 (±0,03)	64,52 (±0,12)	18,54 (±0,12)
Шелуха гречки	1,93 (±0,03)	73,74 (±0,11)	24,33 (±0,11)
Лузга подсолнечника	2,85 (±0,04)	81,25 (±0,24)	15,90 (±0,24)
Лузга тыквенная	5,19 (±0,09)	73,97 (±0,22)	20,84 (±0,22)
Лузга кедровых орехов	0,78 (±0,05)	76,92 (±0,11)	22,30 (±0,11)
Шелуха кедровых шишек	1,87 (±0,03)	73,86 (±0,21)	24,28 (±0,21)
Початки кукурузы	4,73 (±0,06)	75,05 (±0,13)	20,22 (±0,13)
Дикорастущие растения, образующие плантации			
Тростник	8,50 (±0,03)	73,34 (±0,19)	18,16 (±0,19)
Осока	6,68 (±0,13)	72,87 (±0,12)	20,48 (±0,14)
Ветки облепихи	2,77 (±0,03)	71,50 (±0,12)	25,73 (±0,12)
Отходы лесозаготовок			
Затопленная древесина сосны	1,94 (±0,01)	83,34 (±0,11)	14,72 (±0,11)
Сосновые ветки	2,06 (±0,01)	80,48 (±0,22)	17,46 (±0,22)
Березовые ветки	2,65 (±0,03)	81,37 (±0,13)	15,98 (±0,13)
Кора сосны	2,72 (±0,07)	71,16 (±0,14)	26,12 (±0,14)
Кора лиственницы	2,90 (±0,01)	69,19 (±0,16)	27,91 (±0,15)

Проанализировано более 150 опубликованных уравнений, позволяющих рассчитать теплоту сгорания лигноцеллюлозных материалов, исходя из данных элементного (содержание C, H, N, O, S, Cl, P), технического (летучие вещества, нелетучий углерод, зольность), химического (лигнин, целлюлоза, экстрактивные вещества) анализа, а также данных о плотности и вязкости [Vargas-Moreno, 2015]. Часть этих формул универсальна и подходит для работы с широким спектром материалов, но обладает меньшей точностью, часть – предназначена для специфичных групп сырья (например, для муниципальных отходов, отходов сельского хозяйства, донных осадков, угольного и торфяного топлива) или даже для отдельных типов биомассы (древесина, солома злаковых, растительные масла и т.д.).

В связи с этим, отбор уравнений для дальнейшей работы был проведён согласно следующим критериям:

– спектр подходящих природных материалов должен быть достаточно широк;

– в качестве переменных должны использоваться данные о содержании элементов C, H, N, S, получаемые экспериментально и в рутинном режиме, а также зольность материала;

– неоднозначно трактуемые уравнения (при недостатке необходимой информации, предоставляемой авторами) должны быть исключены.

Перечисленные требования позволили исключить из рассмотрения уравнения, предназначенные для работы с каменным углем и другими специфичными видами сырья. Ограничение набора элементов углеродом, водородом, азотом и серой позволило исключить из рассмотрения кислород, хлор и фосфор, либо присутствующие в биомассе в незначительных количествах, либо точное определение которых в рутинном режиме затруднено.

Отобранные уравнения представлены в таблице 3.6 по возрастанию сложности. Уравнения (1) и (2) предполагают, что в среднем обеззоленное растительное сырьё выделяет при горении 19,91 и 18,96 МДж/кг соответственно, а добавление золы линейно снижает количество энергии.

Таблица 3.6 – Отобранные уравнения для расчёта теплоты сгорания

Номер уравнения	Уравнение	Ссылка
Уравнения, учитывающие только зольность сырья		
1	$Q = 19.914 - 0.2324 \cdot Ash$	[Sheng, 2005]
2	$Q = 18.96016 - 0.22527 \cdot Ash$	[Huang, 2008]
Уравнения, учитывающие только содержание углерода и водорода		
3	$Q = 0.4373 \cdot C - 1.6701$	[Tillman, 1978]
4	$Q = 0.293 \cdot C + 5.205$	[Ebeling, 1985]
5	$Q = 0.3259 \cdot C + 3.4597$	[Sheng, 2005]
6	$Q = 0.2949 \cdot C + 0.8250 \cdot H$	[Yin, 2011]
Уравнения, учитывающие комплекс параметров		
7	$Q = 0.00355 \cdot C^2 - 0.232 \cdot C - 2.230 \cdot H + 0.0512 \cdot C \cdot H + 0.131 \cdot N + 20.600$	[Friedl, 2005]
8	$Q = 0.328 \cdot C + 1.4306 \cdot H - 0.0237 \cdot N + 0.0929 \cdot S - \left(1 - \frac{Ash}{100} \cdot \frac{40.11 \cdot H}{C}\right)$	[Grabovsky, 1981]

Уравнения (3)-(6) учитывают лишь долю углерода и водорода – основных горючих элементов растительного топлива. Зависимости от перечисленных элементов линейные и различаются коэффициентами, подобранными авторами эмпирически.

Многопараметрические уравнения (7) и (8) включают в качестве переменных не только основные горючие элементы – углерод и водород, но и учитывают долю азота (7 и 8), серы (8), а также содержат поправку на содержание золы (8).

При подстановке в уравнения (Таблица 3.6) данных элементного анализа и зольности (Таблица 3.4 и 3.5) рассчитаны[19] значения теплоты сгорания, представленные в таблице 3.7.

[19] Bychkov, A. L. Prediction of higher heating values of plant biomass from ultimate analysis data / A. L. Bychkov, A. I. Denkin, V. D. Tikhova, O. I. Lomovsky // Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. – 2017. – V. 130. – P. 1399-1405.

Таблица 3.7 – Измеренные и вычисленные значения теплоты сгорания лигноцеллюлозных материалов

Образец	Измерено, МДж/кг	Рассчитано по уравнению, МДж/кг							
		(1) Sheng	(2) Huang	(3) Tilman	(4) Jenkins	(5) Sheng	(6) Yin	(7) Friedl	(8) Grabovsky
Модельные образцы с различным содержанием лигнина									
0 % лигнина	17.44 (±0.05)	19.85 (13.9 %)	18.90 (8.4 %)	18.05 (3.5 %)	18.42 (5.6 %)	18.16 (4.1 %)	17.65 (1.2 %)	17.77 (1.9 %)	17.66 (1.3 %)
10 % лигнина	18.13 (±0.06)	18.38 (1.4 %)	17.47 (-3.6 %)	18.30 (1.0 %)	18.59 (2.5 %)	18.35 (1.2 %)	17.61 (-2.8 %)	17.98 (-0.8 %)	18.04 (-0.5 %)
20 % лигнина	18.55 (±0.10)	17.93 (-3.3%)	17.03 (-8.2 %)	18.79 (1.3 %)	18.92 (2.0 %)	18.71 (0.9 %)	17.56 (-5.3 %)	18.33 (-1.1 %)	18.29 (-1.4 %)
40 % лигнина	19.74 (±0.05)	18.08 (-8.4 %)	17.18 (-13.0 %)	19.63 (-0.6 %)	19.48 (-1.3 %)	19.34 (-2.1 %)	18.66 (-5.5 %)	19.17 (-2.9 %)	19.54 (-1.0 %)
60 % лигнина	22.24 (±0.08)	18.37 (-17.4 %)	17.47 (-21.4 %)	22.06 (-0.8 %)	21.10 (-5.1 %)	21.14 (-4.9 %)	20.01 (-10.0 %)	21.21 (-4.6 %)	21.50 (-3.3 %)
80 % лигнина	24.34 (±0.11)	18.67 (-23.3 %)	17.76 (-27.1 %)	24.28 (-0.2 %)	22.59 (-7.2 %)	22.80 (-6.3 %)	21.56 (-11.4 %)	23.39 (-3.9 %)	23.51 (-3.4 %)
100 % лигнина	26.87 (±0.09)	18.97 (-29.4 %)	18.04 (-32.9 %)	26.99 (0.4 %)	24.41 (-9.2 %)	24.82 (-7.6 %)	23.62 (-12.1)	26.57 (-1.1 %)	26.01 (-3.2 %)
Соломенные отходы растениеводства									
Солома пшеницы	18.50 (±0.07)	18.44 (-0.3 %)	17.53 (-5.2 %)	18.77 (1.5 %)	18.90 (2.2 %)	18.69 (1.0 %)	18.27 (-1.2 %)	18.47 (-0.2 %)	18.73 (1.2 %)
Солома овса	17.87 (±0.06)	17.54 (-1.9 %)	16.66 (-6.8 %)	18.23 (2.0 %)	18.54 (3.7 %)	18.29 (2.3 %)	17.48 (-2.2 %)	17.97 (0.5 %)	18.06 (1.0 %)
Солома кукурузы	18.14 (±0.03)	18.25 (0.6 %)	17.34 (-4.4 %)	18.55 (2.2 %)	18.75 (3.4 %)	18.53 (2.1 %)	17.92 (-1.2 %)	18.29 (0.8 %)	18.40 (1.4 %)
Солома ячменя	17.87 (±0.02)	17.86 (-0.1 %)	16.97 (-5.1 %)	18.32 (2.5 %)	18.60 (4.1 %)	18.36 (2.7 %)	17.73 (-0.8 %)	18.09 (1.2 %)	18.22 (1.9 %)
Костра льна	19.75 (±0.06)	19.21 (-2.7 %)	18.28 (-7.5 %)	20.06 (1.6 %)	19.77 (0.1 %)	19.66 (-0.5 %)	19.12 (-3.2 %)	19.63 (-0.6 %)	19.79 (0.2 %)
Различная шелуха, лузга									
Шелуха риса	16.20 (±0.18)	15.77 (-2.6 %)	14.95 (-7.7 %)	16.50 (1.9 %)	17.38 (7.3 %)	17.00 (5.0 %)	15.93 (-1.7 %)	16.72 (3.2 %)	16.45 (1.6 %)
Шелуха гречки	19.87 (±0.09)	19.44 (-2.2 %)	18.50 (-6.9 %)	20.73 (4.3 %)	20.22 (1.7 %)	20.16 (1.4 %)	19.16 (-3.6 %)	20.08 (1.0 %)	20.04 (0.9 %)
Лузга подсолнечника	25.73 (±0.12)	19.24 (-25.2 %)	18.30 (-28.9 %)	24.10 (-6.3 %)	22.47 (-12.7 %)	22.67 (-11.9 %)	23.36 (-9.2 %)	25.05 (-2.6 %)	24.89 (-3.3 %)
Лузга тыквенная	20.05 (±0.14)	18.66 (-6.9 %)	17.75 (-11.5 %)	20.10 (0.3 %)	19.79 (-1.3 %)	19.69 (-1.8 %)	19.38 (-3.3 %)	20.05 (0.0 %)	20.06 (0.1%)
Лузга кедровых орехов	20.94 (±0.02)	19.72 (-5.8 %)	18.77 (-10.3 %)	21.40 (2.2 %)	20.66 (-1.3 %)	20.66 (-1.3 %)	19.81 (-5.4 %)	20.74 (-0.9 %)	20.78 (-0.7 %)
Шелуха кедровых шишек	22.36 (±0.06)	19.45 (-13.0 %)	18.51 (-17.2 %)	22.87 (2.3 %)	21.65 (-3.2 %)	21.75 (-2.7 %)	20.95 (-6.3 %)	22.31 (-0.2 %)	22.28 (-0.3 %)
Початки кукурузы	18.10 (±0.05)	18.78 (3.7 %)	17.86 (-1.3 %)	18.68 (3.2 %)	18.84 (4.1 %)	18.63 (2.9 %)	18.11 (+0.0 %)	18.44 (1.9 %)	18.48 (2.1 %)
Дикорастущие растения, образующие плантации									
Тростник	18.18 (±0.09)	17.86 (-1.8 %)	16.97 (-6.7 %)	18.46 (1.5 %)	18.69 (2.8 %)	18.46 (1.5 %)	17.86 (-1.8 %)	18.31 (0.7 %)	18.36 (1.0 %)
Осока	18.77 (±0.08)	18.29 (-2.5 %)	17.39 (-7.4 %)	19.25 (2.5 %)	19.22 (2.4 %)	19.05 (1.5 %)	18.45 (-1.7 %)	19.01 (1.3 %)	19.07 (1.6 %)
Ветки облепихи	20.74 (±0.08)	19.24 (-7.2 %)	18.31 (-11.7 %)	20.92 (0.9 %)	20.34 (-1.9 %)	20.30 (-2.1 %)	19.67 (-5.1 %)	20.61 (-0.6 %)	20.53 (-1.0 %)
Отходы лесозаготовок									
Затопленная древесина (сосна)	19.92 (±0.08)	19.45 (-2.4 %)	18.51 (-7.1 %)	20.42 (2.5 %)	20.01 (0.4 %)	19.93 (+0.0 %)	19.40 (-2.6 %)	19.89 (-0.2 %)	20.13 (1.1 %)
Сосновые ветки	21.09 (±0.07)	19.42 (-7.9 %)	18.48 (-12.4 %)	21.32 (1.1 %)	20.61 (-2.3 %)	20.59 (-2.4 %)	20.35 (-3.5 %)	21.00 (-0.4 %)	21.25 (0.8 %)
Березовые ветки	20.42 (±0.08)	19.28 (-5.6 %)	18.35 (-10.2 %)	20.67 (1.2 %)	20.17 (-1.2 %)	20.11 (-1.5 %)	19.98 (-2.2 %)	20.36 (-0.3 %)	20.72 (1.4 %)
Кора сосны	20.71 (±0.02)	19.24 (-7.1 %)	18.31 (-11.6 %)	21.87 (5.6 %)	20.97 (1.3 %)	21.00 (1.4 %)	19.79 (-4.5 %)	20.94 (1.1 %)	21.00 (1.4 %)
Кора лиственницы	22.73 (±0.05)	19.20 (-15.5 %)	18.27 (-19.6 %)	23.41 (3.0 %)	22.01 (-3.2 %)	22.15 (-2.6 %)	21.26 (-6.5 %)	22.74 (+0.0%)	22.77 (0.2 %)

Максимальную теплоту сгорания имеет лузга подсолнечника (25,7 МДж/кг), немного меньшую – кора лиственницы (22,7 МДж/кг), что близко к показателям высоколигнифицированных модельных образцов. Данный факт для нативного природного сырья можно связать с особенностями его состава. Например, подсолнечная лузга содержит некоторое количество липидов, оставшихся после удаления семени и обладающих высокой теплотой сгорания. Значительно снижает теплоту сгорания зольность материала (рисовая лузга, солома овса) и малое содержание лигнина, например, у початков кукурузы [Ashour, 2013].

Сравнение полученных результатов с теплотами сгорания, экспериментально определенными с помощью калориметрической бомбы позволяет сделать вывод о применимости уравнений к различным видам лигноцеллюлозного сырья. Уравнения (1) и (2) (по Таблице 3.6), содержащие только зольность в качестве переменной, можно признать недостаточно точными для работы с лигноцеллюлозными материалами. Особенностью данных уравнений является чрезмерное (до 30 %) занижение теплоты сгорания для высоколигнифицированных модельных образцов и материалов, содержащих смолы, масла и летучие вещества (лузга подсолнечника, сосновые и кедровые отходы). С некоторой долей допущения можно использовать уравнение (1) в экспериментах с соломенными отходами сельского хозяйства для получения полуколичественных, оценочных значений.

Из зависимостей, оперирующих содержанием основных горючих элементов, можно рекомендовать уравнение (3), дающее расхождение с эталонным значением менее 6 %. Причём с увеличением степени лигнификации (доли углерода) точность расчёта увеличивается, и отличие от эталона снижается до величины менее 1 %. Уравнения (4-6), как и в случае (1), удовлетворительно описывают обыкновенное растительное сырьё, но для образцов с повышенной долей лигнина, золы и летучих компонентов искажают результаты на 5-12 %.

Выбранные многопараметрические уравнения (7) и (8) можно, наравне с (3), признать подходящими для всех видов исследованного лигноцеллюлозного топлива. Отличия от эталона для (7) не превышают 5 % даже для высокозольных и серосодержащих образцов. Уравнение (8), оперирующее наибольшим количеством переменных, включая серу и зольность, позволяет рассчитывать теплоту сгорания с отличием от эталона менее чем на 4 %.

Влияние влажности растительного сырья на эффективность измельчения

Механохимические методы переработки растительного сырья, основывающиеся на тонком измельчении материала, разрушении клеточных стенок, разупорядочении полимеров и проведении механически индуцированных химических взаимодействий, хорошо зарекомендовали себя в получении порошковых биологически активных препаратов или экстрактов [Lomovsky, 2011; Бычкова, 2014]. Однако, высокая дисперсность частиц,

дефектность структуры и увеличенная реакционная способность механохимически обработанного сырья приводит к ускорению нежелательных процессов – гидролизу, окислению, микробиологическим процессам.

Наиболее важным параметром, отвечающим за эффективность процесса переработки сырья и хранения продуктов, является содержание воды [Севернев, 1980; Воробьев, 2002]. От соблюдения правил сушки во многом зависит сохранность целевых веществ, переведённых механохимической обработкой в биологически доступную форму.

Обычно, в свежесобранном растительном сырье содержание воды составляет 60-80 %. При снижении влажности до 20 % скорость биохимических реакций и активность ферментов значительно уменьшается, а при влажности менее 14 % процессы, ведущие к разложению действующих веществ, практически останавливаются, прекращается развитие микроорганизмов [Севернев, 1980; Федосеева, 2008].

Таким образом, изучение изменений влажности растительного сырья в ходе механохимической обработки является актуальной задачей, решение которой позволит улучшить качество и стабильность получаемых продуктов переработки и функциональных пищевых добавок на их основе.

Для исследования выбрано три типа растительных материалов, моделирующих большинство видов сырья, используемого в технологии, фармацевтике и получении функциональных пищевых добавок. Солома пшеницы выбрана в качестве недревесного лигноцеллюлозного материала, состоящего преимущественно из полимерных веществ и содержащего малое количество экстрактивных веществ. Рисовая лузга также практически не содержит экстрактивных веществ, но обогащена неорганической частью. Зольность данного материала составляет около 20 %. Побеги (ветки) облепихи, содержащие значительное количество экстрактивных веществ, включая серотонин, моделировали поведение одревеснев шего растительного сырья.

Из рисунков 3.19-3.20 видно, что при хранении растительного сырья и продуктов их механохимической переработки содержание воды в материалах изменяется в пределах 4-8 %, что ниже предельных значений норм. При понижении влажности воздуха доля воды снижается ниже 5 %[20]. Во всех перечисленных случаях растительное сырьё стабильно и может использоваться как для научно-исследовательских целей, так и для механохимической переработки.

[20] Бухтояров, В. А. Влияние влажности на эффективность механохимической переработки растительного сырья / В. А. Бухтояров, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский, Е. С. Бычкова // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2017. – № 7. – С. 16-19.

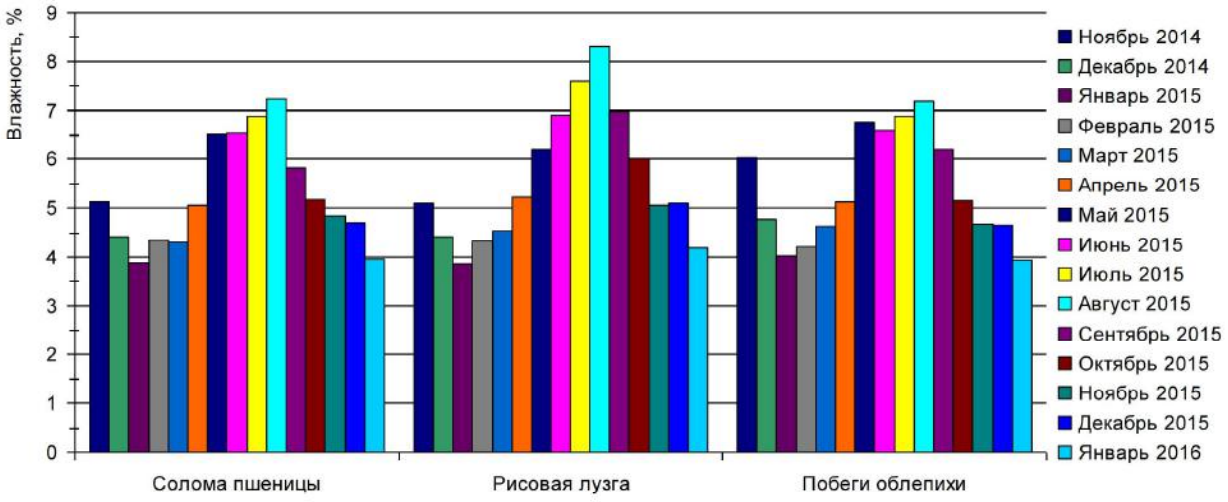


Рисунок 3.19 – Содержание воды в растительном сырье при выдерживании в условиях с пониженной влажностью воздуха.

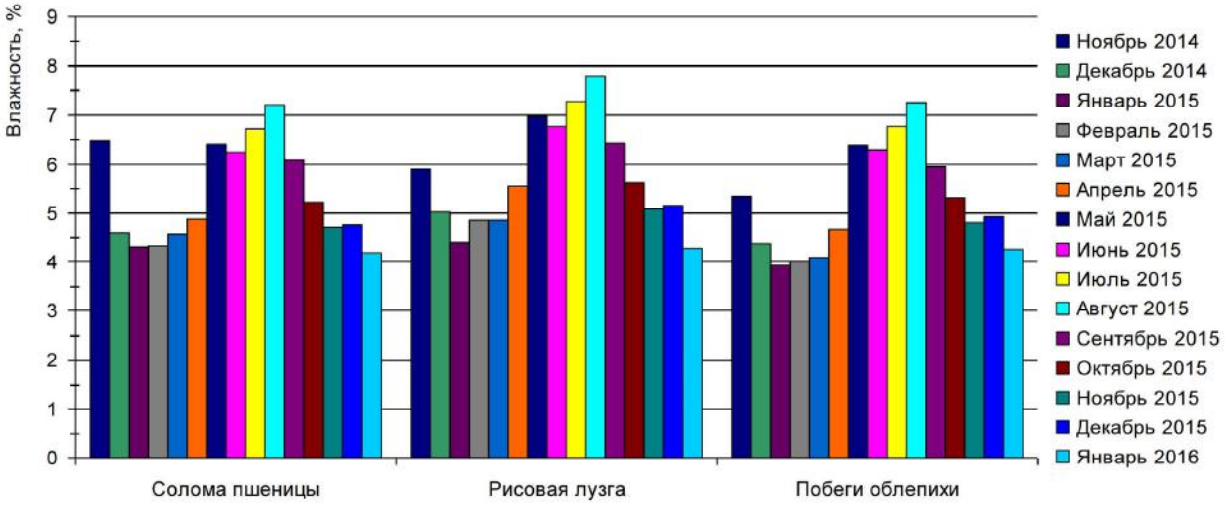


Рисунок 3.20 – Содержание воды в продуктах механохимической переработки растительного сырья при выдерживании в условиях с пониженной влажностью воздуха.

При помещении воздушно-сухих (5-6 %) растительных материалов в условия с естественной влажностью, образцы на протяжении двух месяцев быстро сорбируют из воздуха до 3-5 % воды (Рисунок 3.21 и 3.22). Дальнейшее увеличение влажности протекает более медленно. Динамика изменения влажности незначительно зависит от типа выбранного сырья, но практически во всех случаях содержание воды превышает 9-10 %, доходя до 13%. В таких условиях свойства сырья и получаемых из него продуктов не могут считаться стабильными, возможно развитие микроорганизмов, разложение действующих биологически активных веществ.

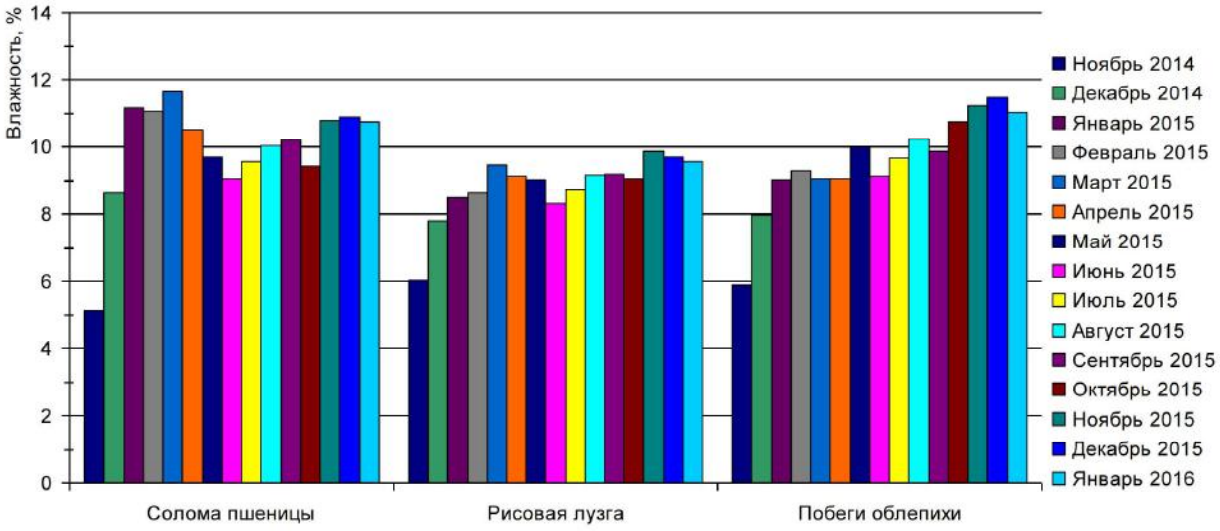


Рисунок 3.21 – Содержание воды в растительном сырье при выдерживании в условиях с естественной влажностью воздуха.

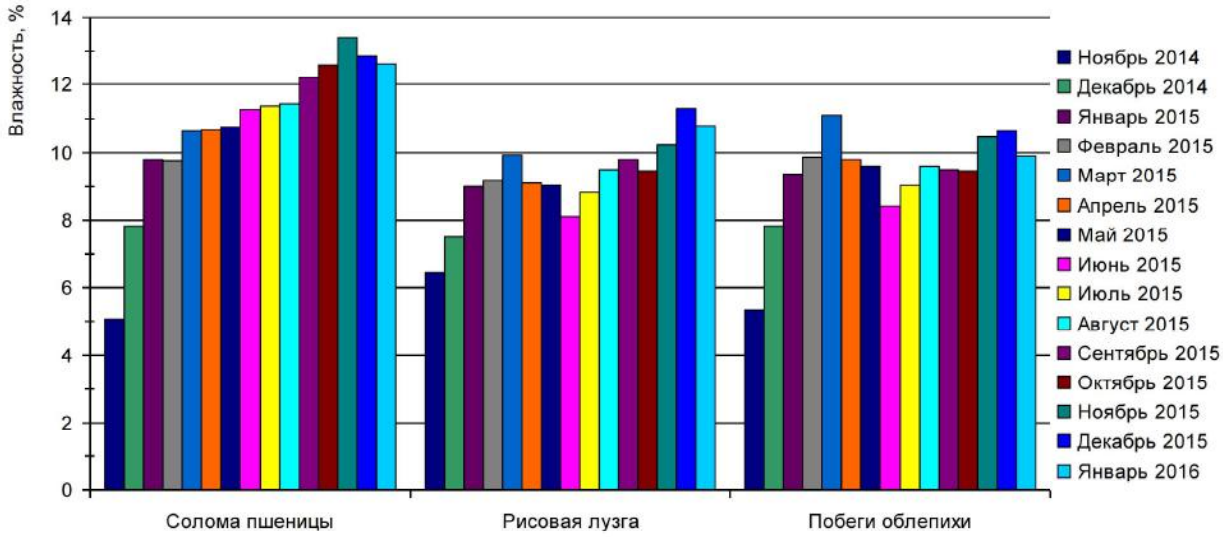


Рисунок 3.22 – Содержание воды в продуктах механохимической переработки растительного сырья при выдерживании в условиях с естественной влажностью воздуха.

Дальнейшее ***изучение влияния содержания воды на эффективность измельчения*** было проведено с использованием в качестве сырья соломы пшеницы – материала, имеющего регулярную волокнистую структуру и содержащего малое количество водорастворимых веществ.

Гранулометрический и микроскопический анализ продукта механохимической переработки (центробежно-роликовый активатор РМ-20, ИХТТМ СО РАН) сырья в разных условиях показал, что размер и морфология частиц продукта частиц зависит не только от интенсивности воздействия, но и от влажности обрабатываемого материала (Рисунок 3.24).

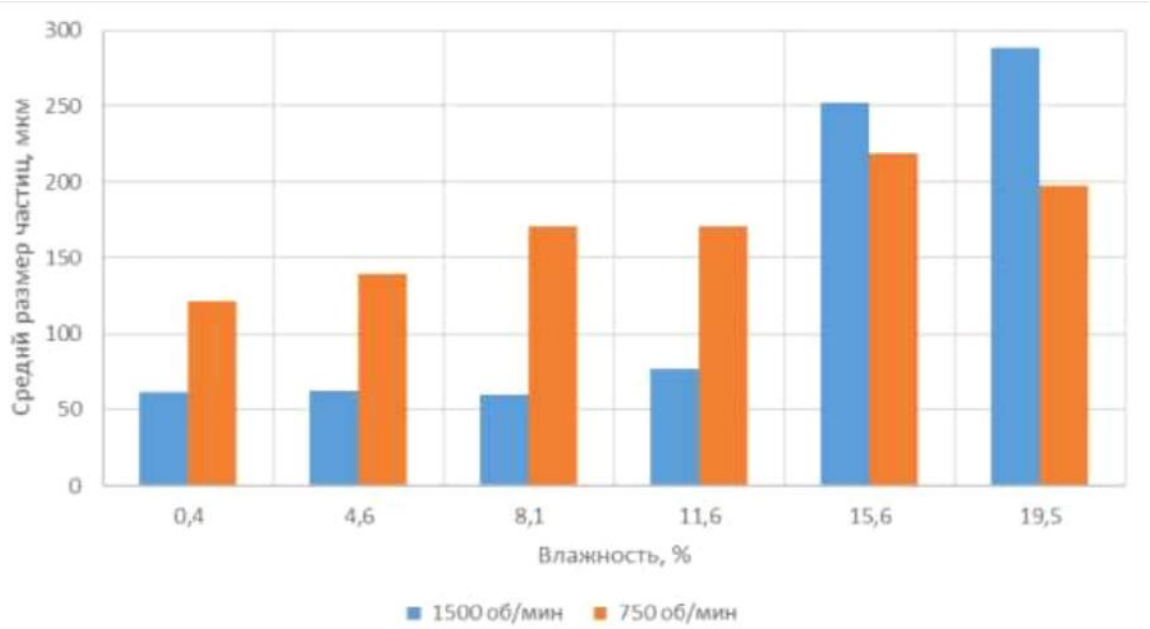


Рисунок 3.24 – Зависимость размера частиц от влажности сырья при низкой (750 об./мин) и высокой (1500 об./мин) интенсивности механохимической обработки.

При низкой интенсивности механического воздействия (скорость вращения ротора 750 об./мин) эффективность переработки сырья равномерно снижается при увеличении содержания воды. При этом морфология частиц сходна для всех исследуемых образцов. В результате высокоинтенсивного воздействия (скорость вращения ротора 1500 об./мин) наблюдаются процессы другого характера – средний размер частиц продукта практически не изменяется вплоть до значения влажности около 12 %. При содержании воды в сырье больше 12% наблюдается резкое снижение эффективности измельчения, связанное с образованием крупных агрегатов из более мелких частиц продукта (Рисунок 3.25).

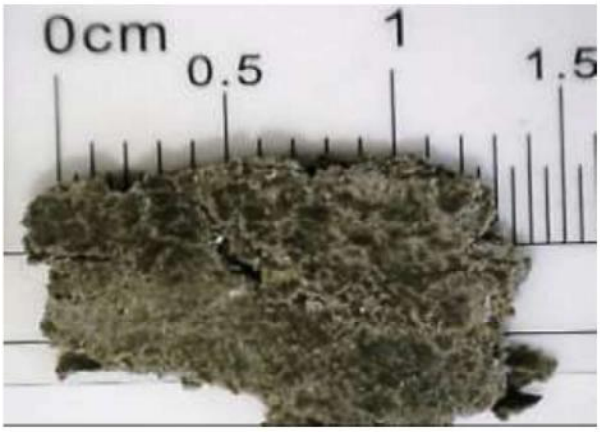


Рисунок 3.25 – Пример агрегата, обобранного из пробы продукта механической обработки (сырьё с влажностью 19,5 %, скорость вращения ротора 1500 об/мин).

При увеличении влажности перерабатываемого сырья снижается эффективность переработки во всех изученных технологических режимах[21]. При низкоинтенсивных условиях происходит равномерное увеличение размера образующихся частиц, а в случае высокоинтенсивной обработки – резкая смена морфологии продукта с появлением большого количества агрегатов при влажности сырья около 12 %. Данные закономерности делают необходимым контроль влажности растительного сырья, поступающего на механохимическую переработку.

Для изучения изменения содержания воды в зависимости от температуры механической обработки, проводились эксперименты в термостатируемом аттриторе. Сырьё обрабатывалось в течение 10 минут с шагом по температуре в 5 градусов. Сразу после обработки в активированных образцах измерялось содержание воды.

Зависимость влажности воздушно-сухой (исходная влажность – 4,3 %) соломы пшеницы в процессе механической активации нелинейна (Рисунок 3.26), что свидетельствует об изменении характеристик исходного материала.

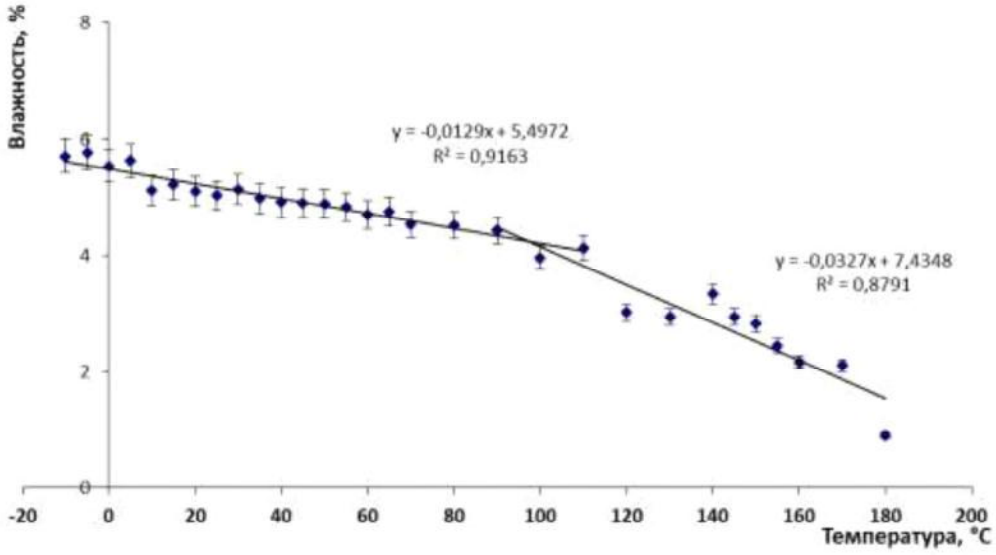


Рисунок 3.26 – Влажность продукта механической активации соломы пшеницы в зависимости от температуры при механической активации в аттриторе.

Зависимость можно разделить на два участка. Вплоть до 100 °С происходит равномерное снижение количества воды в сырье вследствие частичного испарения. Перегиб в районе 100 °С свидетельствует о начале более интенсивного удаления воды из материала. Высокотемпературный режим обработки позволяет снизить содержание воды в растительном сырье до 1 %. Контрольные эксперименты, в которых исходное растительное сырьё

[21] Бычков, А.Л. Изменения влажности продуктов механохимической обработки из растительного сырья при хранении / А.Л. Бычков, В.А. Бухтояров, Е.М. Подгорбунских, С.Ю. Абрамов, О.И. Ломовский, Е.С. Бычкова // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2016. – № 8. – С. 5-9.

выдерживалось 10 минут при определенной температуре, показали, что без проведения механической обработки потеря воды существенно меньше. Данный факт говорит о том, в области механического воздействия происходит локальное увеличение температуры материала, сопровождающееся удалением воды. Суперпозиция локального перегрева с объемной температурой обрабатываемого материала, задаваемой при помощи термостатируемого контура, приводит к наблюдаемому эффекту, когда при температуре выше 100 °C происходит резкое снижение влажности материала.

Таким образом, химический состав во многом обуславливает эффективность использования природного полимерного сырья в процессах переработки. Высокое содержание полифенольных веществ (лигнина и низкомолекулярных экстрактивных веществ) делает растительное сырьё пригодным для использования в качестве биотоплива, причём теплота сгорания может быть определена по формулам

$$Q = 0.4373 \cdot C - 1.6701$$

$$Q = 0.00355 \cdot C^2 - 0.232 \cdot C - 2.230 \cdot H + 0.0512 \cdot C \cdot H + 0.131 \cdot N + 20.600$$

$$Q = 0.328 \cdot C + 1.4306 \cdot H - 0.0237 \cdot N + 0.0929 \cdot S - \left(1 - \frac{Ash}{100} \cdot \frac{40.11 \cdot H}{C}\right),$$

где C, H, N, S и Ash – содержание (в процентах) углерода, водорода, азота, серы и золы, соответственно, в пересчёте на сухое вещество.

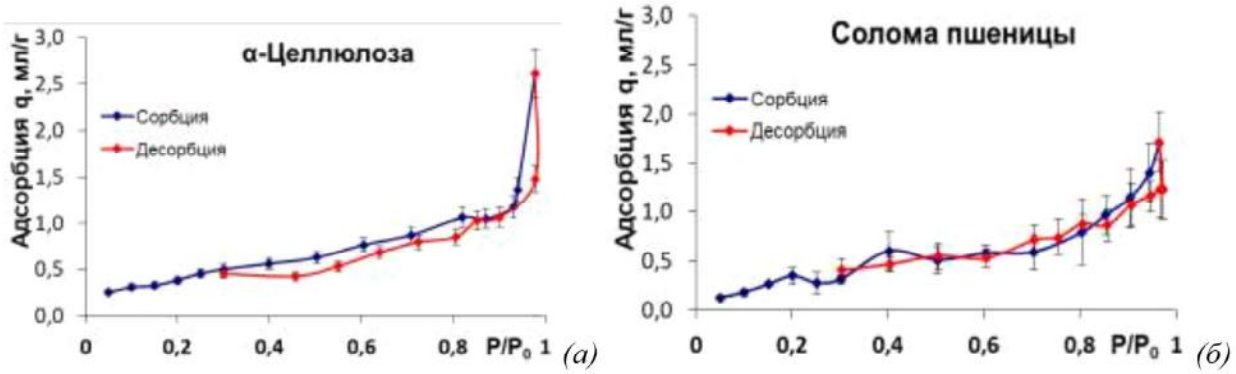
Полученные результаты будут использованы для решения важной прикладной задачи – создания новых видов порошкового твердого топлива, пригодного для сжигания в вихревых горелках (более подробно в Главе 4.1).

Содержание воды в образцах растительного сырья заметно влияет на эффективность измельчения. Так, при влажности сырья выше 12 % наблюдается увеличение среднего размера частиц в продукте измельчения, в том числе из-за образования крупных агрегатов. Снижение эффективности измельчения более заметно для высокоэнергетичных режимов механической обработки.

3.3. Влияние механической активации на свойства поверхности природных полимерных материалов

В случаях механохимической обработки в режиме с низким вкладом пластической деформации, в результате механического воздействия обрабатываемые материалы подвергаются измельчению. Это обуславливает снижение размеров частиц, и, как следствие, увеличение поверхности раздела в последующих гетерогенных процессах. Рассмотрим влияние механической активации на изменения свойств поверхности α-целлюлозы и растительного сырья.

Методы тепловой сорбции-десорбции газов с приближением Брунауэра-Эммета-Теллера являются распространёнными способами определения удельной площади поверхности для материалов различной природы. Путем построения изотерм сорбции-десорбции азота найдена зависимость удельной площади поверхности изучаемых объектов от времени активации (активатор АГО-2, ускорение 200 м/с^2). Вид изотермы соответствует полимолекулярной адсорбции на непористых или макропористых твёрдых телах (Рисунок 3.27).



(а) *(б)*

Рисунок 3.27 – Изотерма сорбции азота на образцах α-целлюлозы *(а)*, соломы пшеницы *(б)*.

Удельная площадь поверхности измеряется на начальных участках изотерм сорбции в области до начала капиллярной конденсации (для азота при 77 К обычно измеряется область P/P_0 от 0,05 до 0,35). Для определения констант ёмкости монослоя (a_m) энергетической константы уравнения БЭТ (C) уравнение приводят в линейном виде:

$$\frac{P/P_0}{a(1-P/P_0)} = \frac{1}{a_m C} + \frac{C-1}{a_m C} * \frac{P}{P_0}, \quad (8)$$

где P – парциальное давление адсорбата; P_0 – давление насыщенного пара адсорбата при температуре кипения жидкого азота (-196 °С), a – количество адсорбированного газа на 1 г изучаемого образца; C – безразмерная энергетическая константа.

Расчёт удельной площади поверхности осуществляется по формуле:

$$S_{уд} = a_m * N_A * \omega, \quad (9)$$

где a_m – ёмкость монослоя (моль/г); N_A – число Авогадро; ω – площадь, занимаемая молекулой адсорбата на поверхности адсорбента (для молекулы азота равно 0,162 нм^2).

На рисунке 3.28 в линейных координатах представлена изотерма адсорбции азота на α-целлюлозе. Прямая отсекает на оси ординат отрезок равный $(a_m*C)^{-1}$, а тангенс угла наклона данной кривой равен отношению $(C-1)/(a_m*C)$. Найдя величину энергетической константы (C), достаточно просто рассчитать ёмкость монослоя и удельную площадь поверхности (Таблица 3.8 и 3.9).

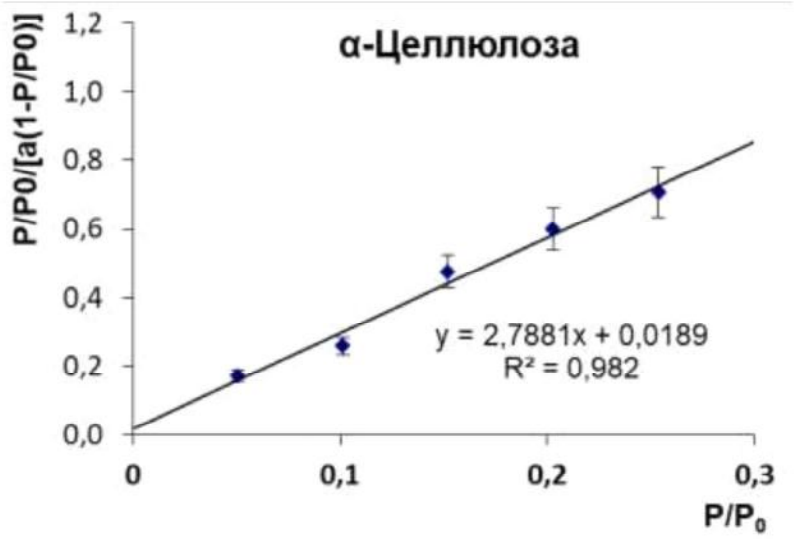


Рисунок 3.28 – Спрямлённая изотерма сорбции азота на образце α-целлюлозы.

Таблица 3.8 – Свойства поверхности и дисперсность частиц α-целлюлозы, обработанной на планетарном активаторе АГО-2

Время обработки, мин	Энергетическая константа *(C)*	a_m, мл/г	$S_{уд}$, м^2/г	Средний размер частиц, мкм
0 (образец до обработки)	148	0,357	1,6 ± 0,2	71 ± 4
2	28	0,349	1,4 ± 0,1	76 ± 4
5	41	0,469	2,0 ± 0,2	56 ± 3
10	42	0,551	2,4 ± 0,2	37 ± 2
20	62	0,700	3,0 ± 0,3	30 ± 2
25	62	0,644	2,8 ± 0,3	29 ± 1
30	40	0,653	2,8 ± 0,3	29 ± 1

Таблица 3.9 – Свойства поверхности и дисперсность частиц соломы пшеницы, обработанной на планетарном активаторе АГО-2

Время обработки, мин	Энергетическая константа *(C)*	a_m, мл/г	$S_{уд}$, $м^2/г$	Средний размер частиц, мкм
0 (образец до обработки)	8	0,514	2,2 ± 0,2	236 ± 12
2	21	0,427	1,9 ± 0,2	189 ± 10
5	25	0,571	2,4 ± 0,2	54 ± 3
10	23	0,991	4,3 ± 0,4	15 ± 1
15	23	1,025	4,6 ± 0,5	19 ± 2
20	41	0,891	4,5 ± 0,5	18 ± 1
25	29	0,782	3,9 ± 0,4	21 ± 1
30	8	0,514	3,4 ± 0,3	21 ± 1

Из полученных данных (Рисунок 3.29) видно, что основные изменения дисперсности и площади поверхности происходят за первые 10 минут механической обработки. При этом для α-целлюлозы дальнейшая обработка не приводит к изменению значений, а для растительного сырья – соломы пшеницы – удельная площадь поверхности спустя 20 минут обработки снижается, что свидетельствует об агрегации частиц, и может приводить к снижению реакционной способности.

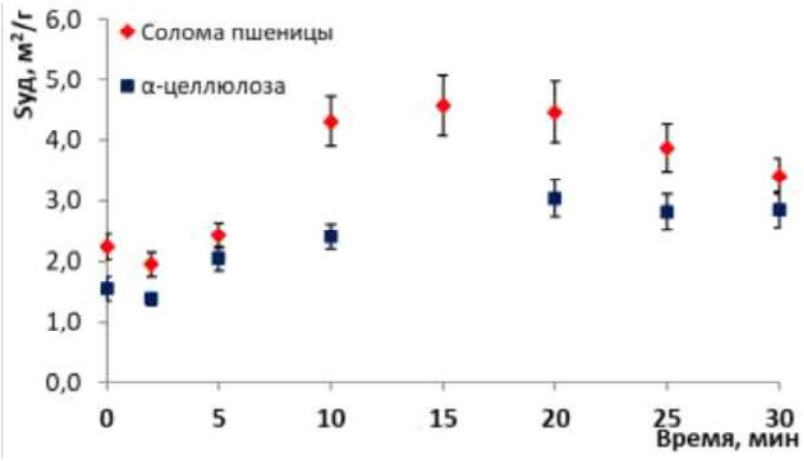


Рисунок 3.29 – Зависимость удельной площади поверхности α-целлюлозы и соломы пшеницы от времени активации на планетарном активаторе АГО-2.

Лабораторный планетарный активатор АГО-2 с ударно-сдвиговым типом воздействия является классическим оборудованием для изучения закономерностей в механохимии твёрдых веществ и материалов. В свою очередь, проточные аппараты со сдвиговым типом воздействия, реализующимся в центробежно-роликовых активаторах, являются наиболее перспективными для механической активации сырья в полупромышленных и промышленных процессах. Для определения влияния сдвигового режима механической активации на свойства материала были проведены эксперименты в проточном центробежно-роликовом активаторе РМ-20.

Механическая обработка α-целлюлозы в центробежно-роликовом активаторе РМ-20 приводит к снижению удельной площади поверхности и увеличению среднего размера частиц (Таблица 3.10). Наблюдаемые изменения объясняются образованием крупных (до 2-4 мм) слоистых агрегатов частиц (Рисунок 3.30).

Таблица 3.10 – Свойства поверхности и дисперсность частиц α-целлюлозы, обработанной в проточном центробежно-роликовом активаторе РМ-20

Режим активации, об./мин	Энергетическая константа (С)	a_m, мл/г	$S_{уд}$, $м^2/г$	Средний размер частиц, мкм
0 (образец до обработки)	148	0,357	1,6 ± 0,2	71 ± 4
600	5	0,454	2,0 ± 0,2	90 ± 5
900	39	0,197	0,9 ± 0,1	99 ± 5
1200	24	0,217	0,9 ± 0,1	89 ± 4



Рисунок 3.30 – Агрегаты, состоящие из частиц α-целлюлозы, после обработки в центробежно-роликовом активаторе РМ-20.

Механическая обработка природного образца сравнения – соломы пшеницы – характеризующейся более сложным строением, приводит в тех же условиях к повышению удельной площади поверхности (Таблица 3.11), а также к отсутствию агрегатов.

Таблица 3.11 – Свойства поверхности и дисперсность частиц соломы пшеницы, обработанной в проточном центробежно-роликовом активаторе РМ-20

Режим активации, об/мин	Энергетическая константа (С)	a_m, мл/г	$S_{уд}$, $м^2/г$	Средний размер частиц, мкм
0 (образец до обработки)	8	0,514	2,2 ± 0,2	236 ± 12
600	21	0,456	2,0 ± 0,2	165 ± 8
900	37	0,517	2,3 ± 0,2	47 ± 2
1200	29	0,621	2,7 ± 0,3	38 ± 2

Можно сделать вывод, что механическая обработка в проточном центробежно-роликовом активаторе, в котором реализуется сдвиговое воздействие, является более подходящей для лигноцеллюлозных материалов с нативным составом и структорой, нежели для индивидуальной целлюлозы, для измельчения которой требуется ударно-сдвиговое механическое воздействие.

Высоколигнифицированное растительное сырье – биомасса стеблей тростника – обладает повышенным содержанием лигнина. В зависимости от температуры механической обработки, лигнин претерпевает фазовые переходы, в том числе, может выходить на поверхность. В связи с этим изучалось влияние условий механической активации (времени и температуры обработки) на характер измельчения материала. Значения удельной площади поверхности, определённые методом тепловой десорбции азота, для образцов, активированных в течение 10 и 20 минут при различных температурах в атритторе, представлены в таблицах 3.12 и 3.13.

Таблица 3.12 – Свойства поверхности и дисперсность частиц тростника, обработанного в атриторе в течение 10 минут

Температура активации, °С	Энергетическая константа (С)	$S_{уд}$, $м^2/г$	Средний размер частиц, мкм
Образец до обработки	13	0,10 ± 0,01	0,5-1 мм
-196 °С	33	0,7 ± 0,1	88 ± 4
10 °С	6	1,1 ± 0,1	126 ± 6
100 °С	36	0,3 ± 0,1	215 ± 11
180 °С	16	0,4 ± 0,1	215 ± 11

Таблица 3.13 – Свойства поверхности и дисперсность частиц тростника, обработанного в атриторе в течение 20 минут

Температура активации, °С	Энергетическая константа (С)	$S_{уд}$, $м^2/г$	Средний размер частиц, мкм
Образец до обработки	13	0,10 ± 0,01	0,5-1 мм
-196 °С	47	2,5 ± 0,3	44 ± 4
10 °С	65	2,0 ± 0,2	53 ± 4
100 °С	19	2,3 ± 0,2	65 ± 6
180 °С	19	3,2 ± 0,3	62 ± 7

Режим хрупкого измельчения, реализующийся при термостатировании реактора жидким азотом, позволяет значительно понизить дисперсность продукта при соответствующем увеличении удельной площади поверхности. Повышение температуры активации переводит характер измельчения в пластический режим деформации, что снижает эффективность

измельчения. Однако механическая активация в низкоэнергонапряженном активаторе типа «аттритор» не обеспечивает за 10 минут глубоких изменений, достаточных для наглядной демонстрации превращений полимеров высоколигнифицированного растительного сырья. В связи с этим время активации было увеличено до 20 минут.

Из таблицы 3.13 видно, что в результате хрупкого измельчения материала происходит 25-кратное увеличение удельной площади поверхности. Измельчение при 10 и 100°C сопровождается образованием агрегатов частиц, обусловленным расстекловыванием части полимеров, что негативно сказывается на изменениях площадей удельной поверхности и средних размеров частиц. Механическая активация в при 180°C обеспечивает переход полимеров в вязкотекучее состояние, измельчение осуществляется в пластическом режиме, однако, образец высоколигнифицированного сырья имеет максимальную удельную площадь поверхности, что объясняется частичным разложением лигнина и образованием большого количества внутренних пор, наблюдаемых при помощи просвечивающей электронной микроскопии (см. Главу 3.5).

Значения удельной площади поверхности могут не совпадать со значениями доступной поверхности. Доступность для реагентов поверхности сложноструктурированного растительного сырья зависит от целого ряда параметров: от капиллярной структуры фибрилл, количества микро- и макро-трещин и пор. Кроме того, в процессе механической обработки может происходить не только увеличение площади, но и изменение химического состава поверхности. Таким образом, материалы с одинаковой удельной площадью поверхности, измеренной, к примеру, по методу БЭТ, будут иметь различную доступную поверхность и по-разному реагировать в последующих гетерогенных реакциях (Рисунок 3.31). Так, в случае ферментативного гидролиза поверхность чистой аморфной целлюлозы будет подвергаться конверсии, а поверхность частицы, покрытой слоем лигнина, будет взаимодействовать с ферментами, инактивировать их и не приводить к реакции.

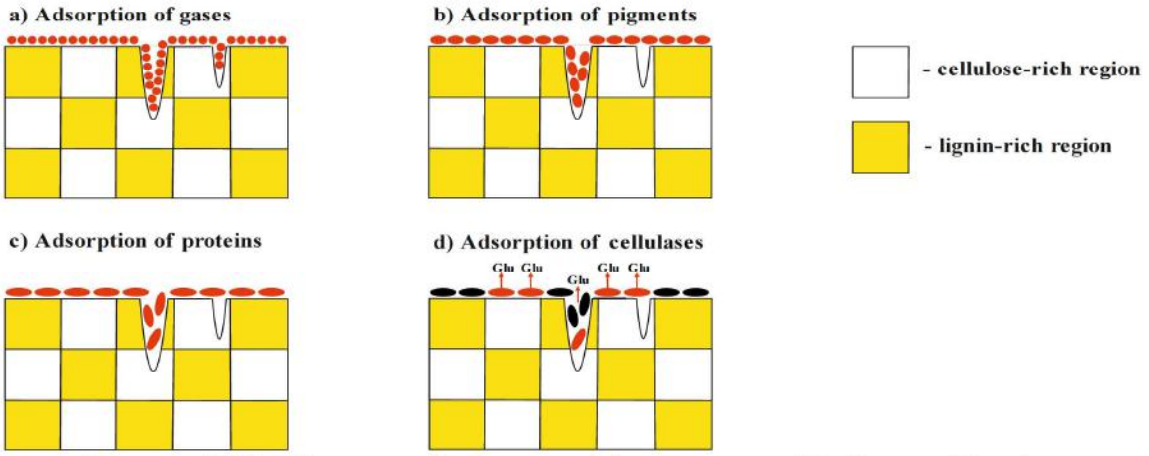
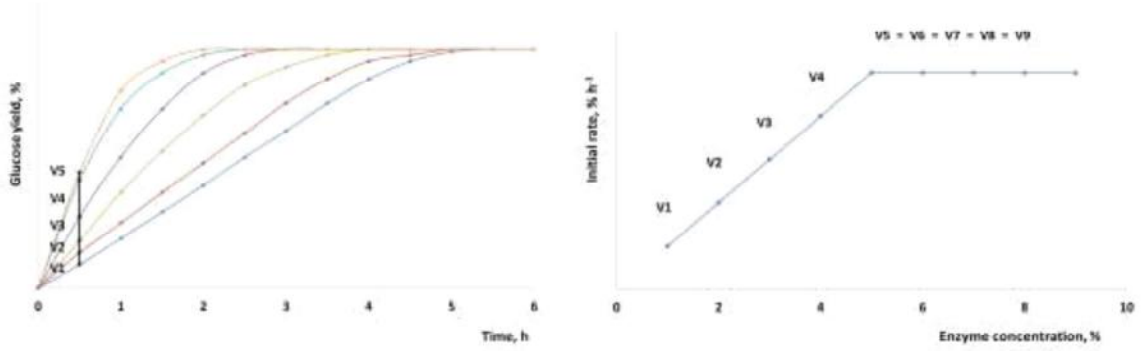


Рисунок 3.31 – Схема сорбции газов *(a)*, пигментов *(b)*, белков *(c)* и ферментов *(d)* на поверхности лигноцеллюлозного материала.

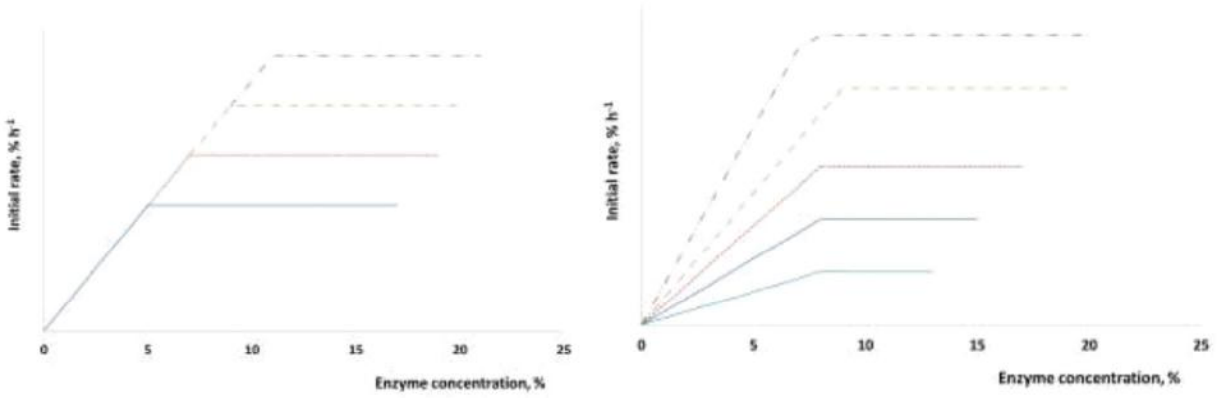
Для определения относительных изменений в количестве доступной (для целюлозолитических ферментов) поверхности проводили ферментативный гидролиз активированных образцов и определяли выход углеводов спустя 30 минут реакции. Время реакции выбрано на линейном участке кинетической кривой ферментативного гидролиза, на котором наклон кривой пропорционален количеству ферментов, сорбировавшихся на поверхности целлюлозы.

Для каждого образца проводилась серия экспериментов (с разным количеством ферментов) и строилась зависимость скорости (выход углеводов за 30 минут) от концентрации фермента[22]. Гипотетический пример, иллюстрирующий принцип нахождения условий, в которой вся доступная поверхность занята молекулами ферментов, представлен на рисунках 3.31-3.32. Очевидно, что в данной точке скорость гидролиза целлюлозы максимальная.



(a) *(b)*

Рисунок 3.32 – Определение максимальной начальной скорости гидролиза: a – набор кинетических кривых с различным соотношением «субстрат-фермент», b – начальная скорость гидролиза как функция от концентрации ферментов.



(a) *(b)*

Рисунок 3.33 – Изменения начальной скорости гидролиза после механической активации целлюлозы (a) и растительного сырья.

[22] Podgorbunskikh, E. M. Determination of surface accessibility of the cellulose substrate according to enzyme sorption / E. M. Podgorbunskikh, A. L. Bychkov, O. I. Lomovsky // Polymers. – 2019. – V. 11. – N. 7. – # 1201.

Из данных, представленных на рисунке 3.34, видно, что в случае, когда поверхность представлена только целлюлозой, положение точки с максимальной скоростью зависит от времени активации, то есть от подведенной энергии к веществу.

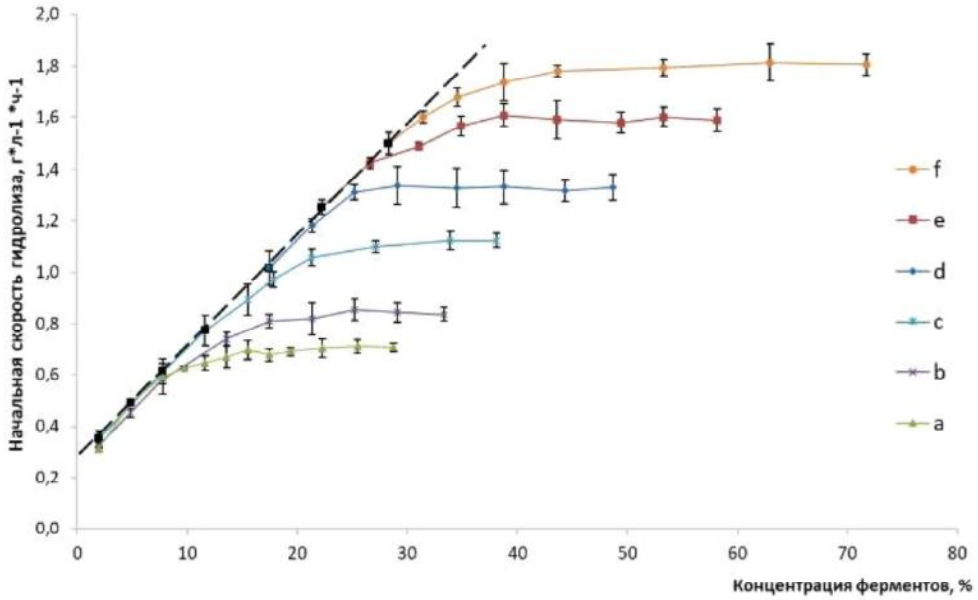


Рисунок 3.34 – Начальная скорость гидролиза а-целлюлозы до *(a)* и после механической активации в течение 2 мин. *(b)*, 5 мин. *(c)*, 10 мин. *(d)*, 20 мин. *(e)* и 30 мин.

Механическая активация позволяет высвободить дополнительную поверхность за счет измельчения материала. Однако в проведенном эксперименте даже после 20-30 минут активации не удалось достигнуть предела реакционной способности α-целлюлозы, хотя основные изменения физико-химических свойств происходят в первые 10 минут механической обработки. Даже после достижения предела измельчения, образования максимально развитой поверхности и полной аморфизации кристаллических участков целлюлозы наблюдается увеличение площади, доступной для сорбции ферментов. Полученные данные свидетельствуют о более глубоком разупорядочении супрамолекулярной структуры рентгеноаморфной целлюлозы. Безусловно, предел реакционной способности существовать должен, но в нашем эксперименте нецелесообразно проводить дальнейшую механическую активацию из-за загрязнения продукта материалом реактора и значительному удалению от технологически приемлемых режимов (30 минут при 200 м/с^2 в планетарном активаторе сложно перенести на промышленное оборудование с сохранением экономической эффективности).

Растительное сырьё обладает более сложным надмолекулярным строением, чем индивидуальные полимеры. На процессы сорбции ферментов на поверхности лигноцеллюлозы могут оказывать влияние поры. При этом ферментам доступны только мезопоры размером более 5,1 нм [Grethlein, 1985].

Изменения угла наклона прямой в координатах «скорость реакции – концентрация фермента», позволяет определить характер образующейся в процессе механической активации поверхности лигноцеллюлозного материала (Рисунок 3.35).

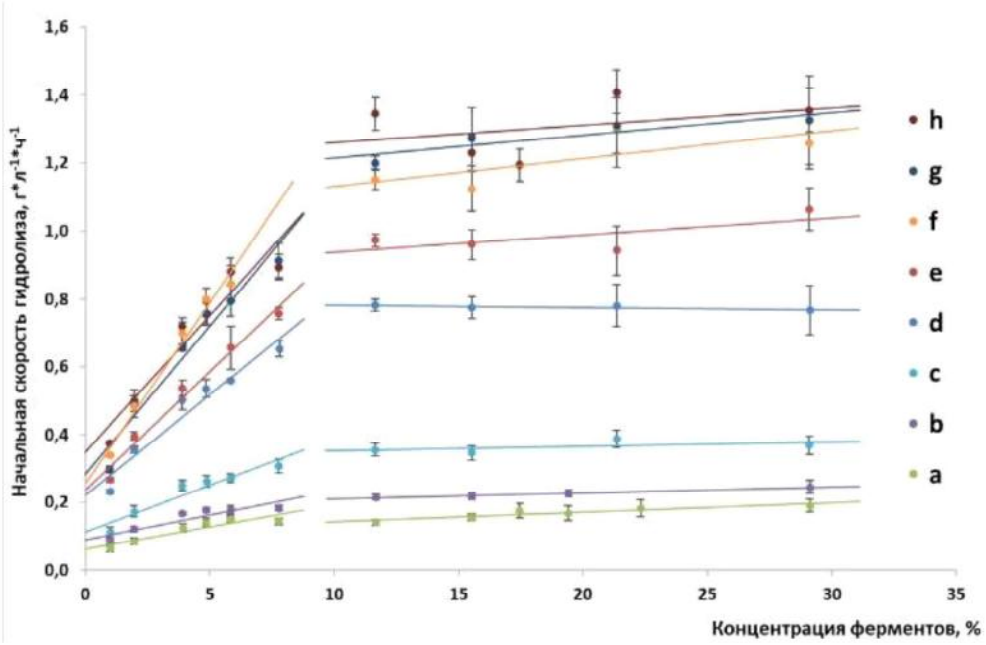


Рисунок 3.35 – Начальная скорость гидролиза соломы пшеницы до *(a)* и после механической активации в течение 2 мин. *(b)*, 5 мин. *(c)*, 10 мин. *(d)*, 15 мин. *(e)*, 20 мин. *(f)*, 25мин. *(g)* и 30 мин *(h)*.

Изменение угла наклона свидетельствует об изменении природы сорбции ферментов на поверхности сырья. Например, уменьшение угла наклона кривой указывало бы на рост количества лигнина на поверхности частиц. В нашем случае наблюдается увеличение угла наклона, что говорит об увеличении доли целлюлозных сорбционных центов на поверхности.

В случае экспериментов с соломой пшеницы (Рисунок 3.35) был достигнут предел реакционной способности, когда дальнейшая механическая активация не приводит к росту скорости гидролиза при каком угодно большой концентрации ферментов (25-30 минут на планетарном активаторе АГО-2). Найденные условия, позволяющие максимально быстро гидролизовать растительное сырьё далеки от технологически приемлемых, но дают ориентир, которого можно придерживаться при усовершенствовании полупромышленных процессов.

Таким образом, показано, что механическая обработка, в зависимости от типа выбранного оборудования и режима активации (типа воздействия, интенсивности и температуры), приводит к значительному изменению свойств поверхности природных полимеров и растительного сырья в целом. Помимо уменьшения размера частиц, а в некоторых случаях образования агрегатов, происходит возрастание удельной площади поверхности материалов, а также качественное изменение состава поверхности, образующейся в процессе

активации. Изменение температуры обработки обеспечивает переход полимеров через возможные фазовые состояния, что может объяснить существенное снижение средних размеров частиц, например, от нескольких миллиметров до нескольких десятков микрометров в результате хрупкого измельчения, и увеличение значений удельной поверхности (вплоть до 25-30 раз), связанное с пластической деформацией.

В случае механической обработки чистой а-целлюлозы и модельного растительного сырья (соломы пшеницы) в планетарной мельнице АГО-2 основные изменения дисперсности и площади поверхности происходят за первые 10 минут механической обработки. Дальнейшая обработка α-целлюлозы не приводит к изменению значений, а в случае растительного сырья удельная площадь поверхности спустя 20 минут обработки снижается, что свидетельствует об агрегации частиц и может приводить к снижению реакционной способности.

При механической обработке α-целлюлозы в полупромышленном центробежно-роликовом активаторе РМ-20 происходит снижение удельной площади поверхности и образование крупных (до 2-4 мм) слоистых агрегатов частиц. Механическая обработка соломы пшеницы в тех же условиях не приводит к образованию агрегатов.

В случае высоколигнифицированного растительного сырья отмечена разница результатов механической обработки при различных условиях. Режим хрупкого измельчения, реализующийся при охлаждении реактора жидким азотом, позволяет значительно понизить дисперсность продукта при соответствующем увеличении удельной площади поверхности. Повышение температуры обработки до 100 и 180 °С переводит характер измельчения в режим пластической деформации, что снижает эффективность измельчения и приводит к образованию дополнительного количества пор.

Изменения состава поверхности, доступной для целюлозолитических ферментов, были оценены при помощи методики, основанной на сорбции целлюлаз и определении начальной скорости гетерогенной реакции гидролиза. В случае, когда поверхность обрабатываемого материала представлена только целлюлозой, начальная скорость монотонно возрастает при увеличении времени активации, то есть зависит от подведенной энергии к веществу. В случае реального растительного сырья изменение характера зависимости начальной скорости гидролиза от времени механической обработки свидетельствует об изменении химического состава поверхности, а именно об увеличении доли целлюлозных сорбционных центров на поверхности. Найденные условия позволяют гидролизовать растительное сырьё с максимальной начальной скоростью, но, несомненно, нуждаются в технологической оптимизации и дают ориентир, которого можно придерживаться при усовершенствовании процесса.

3.4. Влияние механической активации на кристаллическую структуру частично упорядоченных природных полимеров

Строение аморфно-кристаллических полимеров (целлюлозы, дрожжевого бета-глюкана, крахмала, органического вещества бурого угля) оказывает значительное влияние на реакционную способность природного полимерного сырья с точки зрения эффективности протекания химических процессов. Наличие упорядоченных участков повышает устойчивость полимеров в реакциях гидролиза, экстракции. Проведение предварительной обработки такого сырья позволяет повысить реакционную способность, главным образом за счёт процесса аморфизации кристаллических участков. Однако следует подбирать такие условия механической активации, например, такой тип механического воздействия, чтобы избежать возможных процессов разложения целевых веществ и рекристаллизации – процесса, обратного аморфизации.

Для характеристики степени упорядочения аморфно-кристаллических полимеров используют понятие «степень кристалличности» – величину, характеризующую долю молекулярных фрагментов, имеющих регулярную упаковку и обеспечивающих появление брэгговских отражений на дифракционной картине, от доли хаотически расположенных молекулярных фрагментов, рассеивающих рентгеновское излучение диффузно.

В данной главе продемонстрировано влияние механической активации различного типа на кристаллическую структуру таких аморфно-кристаллических полимеров как целлюлоза (индивидуальная и в составе растительного сырья), бета-глюкан, крахмал, органическое вещество бурого угля.

Изучение кристаллической структуры целлюлозы в индивидуальном виде (α-целлюлозы) и в составе растительного сырья проводилось по данным порошковой дифракции рентгеновских лучей[23]. На рентгенограммах (Рисунок 3.36), на примере механически активированных образцов α- целлюлозы и соломы пшеницы, показаны качественные изменения кристаллической части целлюлозы. Наблюдается уменьшение интенсивности рефлексов кристаллической фазы и уширение пика, относящегося к аморфной фазе (положение указано пунктирной линией), прослеживается образование диффузного аморфного гало, что свидетельствует о протекании процесса аморфизации.

[23] Подгорбунских, Е.М. Разупорядочение кристаллической структуры целлюлозы при механической активации / Е. М. Подгорбунских, Н. В. Булина, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Журнал структурной химии. – 2018. – Т. 59:1 – С. 204-211.

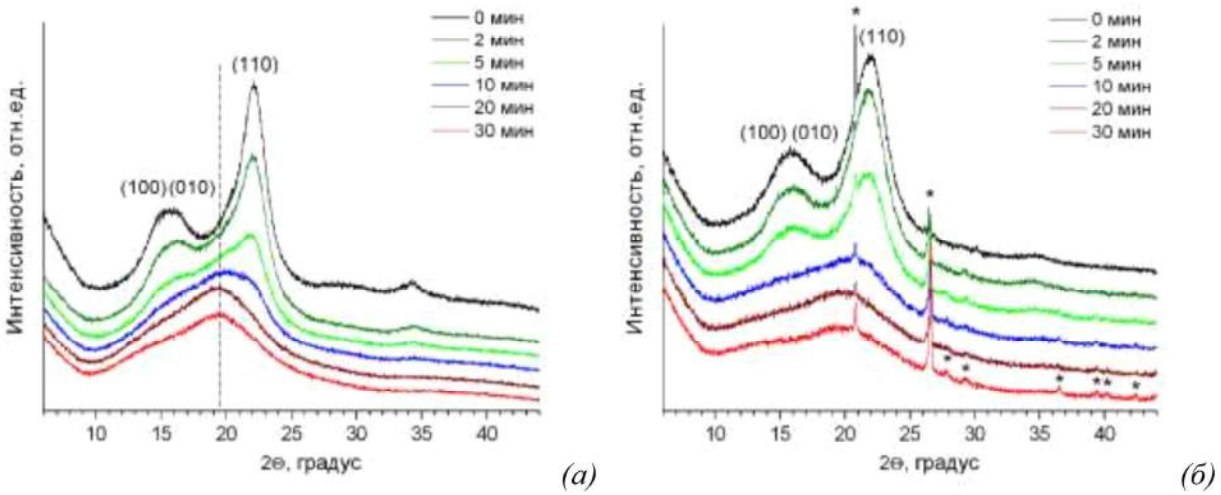


Рисунок 3.36 – Рентгенограммы α-целлюлозы *(а)* и соломы пшеницы *(б)* после механической активации на планетарном активаторе АГО-2. (* – рефлексы фазы кварца SiO_2 № 01-077-1060 по PDF-2, 2008).

Качественное сравнение рентгенограмм α-целлюлозы и соломы пшеницы позволяет отметить, что структура целлюлозы в составе растительного сырья имеет идентичную кристаллическую структуру. В результате сравнения профилей экспериментальных рентгенограмм с теоретическими, основанными на структурных данных, полученных с помощью синхротронной рентгеновской дифракции и нейтронографии [Nishiyama, 2002 и 2003], было установлено, что кристаллическая структура исходной целлюлозы соломы пшеницы преимущественно описывается моделью строения целлюлозы Iα.

Целлюлоза Iα, является метастабильной фазой с одноцепочечной триклинной элементарной решеткой (Рисунок 3.37). Реакционная способность низкосимметричной фазы Iα выше, чем у фазы Iβ.

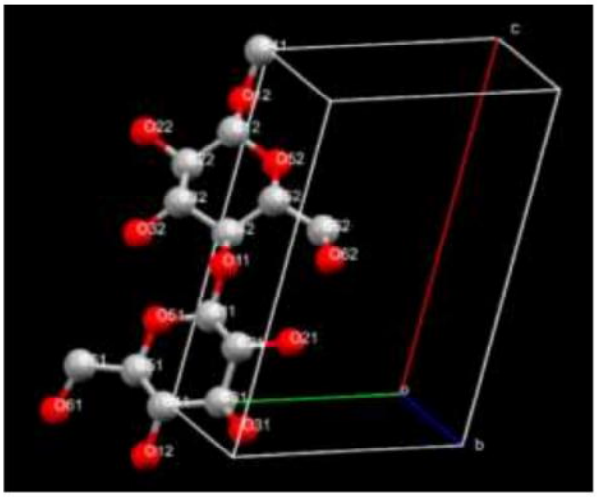


Рисунок 3.37 – Одноцепочечная модель структуры фрагмента целлюлозы-Iα.

Параметры и углы элементарной ячейки α-целлюлозы и целлюлозы в составе растительного сырья (соломы пшеницы), уточненные методом Ритвельда (Таблице 3.14), соответствуют литературным данным [Wada, 2008; French, 2014].

Таблица 3.14 – Параметры элементарной ячейки индивидуальной α-целлюлозы и целлюлозы в составе соломы пшеницы

Параметр	α-целлюлоза	в составе соломы пшеницы
a, Å	6,760 ± 0,011	6,805 ± 0,020
b, Å	5,919 ± 0,009	5,825 ± 0,020
c, Å	12,257 ± 0,022	12,148 ± 0,044
α°	116,54 ± 0,13	117,43 ± 0,024
β°	112,40 ± 0,17	110,80 ± 0,40
γ°	81,19 ± 0,14	80,82 ± 0,026
V, $Å^3$	405,56 ± 1,34	399,55 ± 0,28
χ^2	1,92	2,09
R_b	0,87	1,24

Методом Ритвельда проведено моделирование профилей рентгенограмм индивидуальной α-целлюлозы и целлюлозы в композитной структуре клеточной стенки растительного сырья, инструментальный вклад рассчитывался методом фундаментальных параметров (рис. 3.38). Для определения степени кристалличности и размеров кристаллитов активированных образцов методом Ритвельда с использованием программного комплекса Topas 4.2 (Bruker, Германия) параметры решетки α-целлюлозы были зафиксированы. Аморфная фаза моделировалась широким рефлексом с фиксированным максимумом на 19,47°. Вклад размера кристаллитов моделировался при помощи функции Лоренца, изменяющейся с углом 2θ как 1/cos(θ).

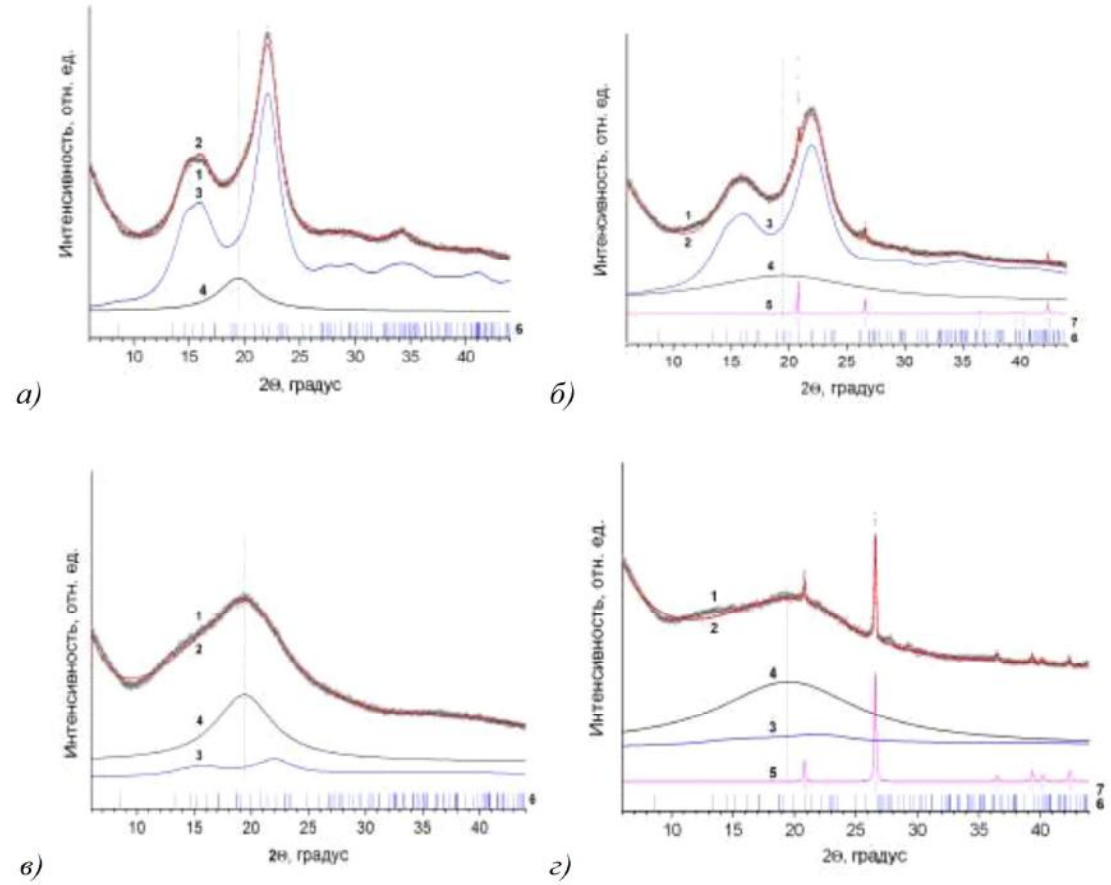


Рисунок 3.38 – Моделирование экспериментальных рентгенограмм методом Ритвельда: α-целлюлоза исходная *(а)* и после механической активации на активаторе АГО-2 в течение 30 мин. *(в)*, солома пшеницы исходная *(б)* и после механической активации на активаторе АГО-2 в течение 30 мин. *(г)* (*1* - экспериментальный профиль; *2* – расчетный итоговый профиль; *3* – расчетный профиль α-целлюлозы; *4* – расчетный профиль аморфной фазы; *5* – расчетный профиль кварца; *6* – положение рефлексов α-целлюлозы; *7* – положение рефлексов кварца).

На рисунке 3.39 представлены данные обработки экспериментальных рентгенограмм методами Сегала и деконволюции с приближением Лоренца на примере α-целлюлозы.

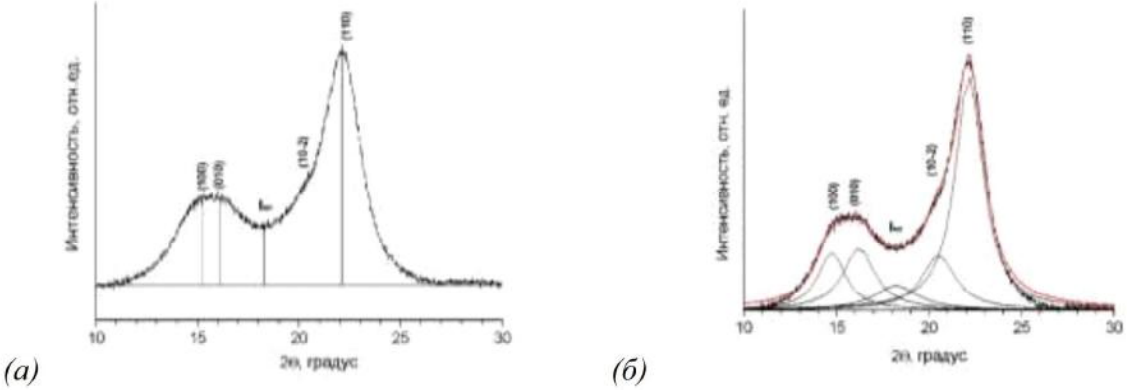


Рисунок 3.39 – Обработка рентгенограмм α-целлюлозы по методу Сегала *(а)* и методом деконволюции (по Лоренцу) *(б)*.

Из данных таблиц 3.14 и 3.15 следует, что с увеличением времени активации происходит постепенная аморфизация целлюлозы как в индивидуальном виде, так и в составе растительного сырья: уменьшается размер кристаллитов, увеличивается доля аморфной фазы, что отражается в уширении дифракционных максимумов кристаллических областей. Основное изменение степени кристалличности и размеров частиц происходит в начальный период времени, в течение первых 10 минут активации на планетарном активаторе АГО-2. Глубина протекания аморфизации пропорционально зависит от времени механического воздействия на материал.

Таблица 3.14 – Степень кристалличности и размер кристаллитов α-целлюлозы, активированной на планетарном активаторе АГО-2

Время активации, мин	Степень кристалличности, %			Размер кристаллитов, нм
	по Сегалу	по Лоренцу	по Ритвельду	
0 (образец до обработки)	73 ± 1	92 ± 4	94 ± 2	3,7 ± 0,2
2	59 ± 3	84 ± 4	79 ± 2	3,4 ± 0,2
5	38 ± 4	83 ± 4	70 ± 3	2,8 ± 0,3
10	18 ± 5	79 ± 3	66 ± 5	2,7 ± 0,3
20	13 ± 2	80 ± 3	43 ± 5	2,6 ± 0,5
30	14 ± 5	79 ± 3	29 ± 6	2,4 ± 0,6

Таблица 3.15 – Степень кристалличности и размер кристаллитов целлюлозы в составе соломы пшеницы, активированной на планетарном активаторе АГО-2

Время активации, мин	Степень кристалличности, %			Размер кристаллитов, нм
	по Сегалу	по Лоренцу	по Ритвельду	
0 (образец до обработки)	69 ± 1	92 ± 4	82 ± 2	2,7 ± 0,2
2	68 ± 3	92 ± 4	78 ± 2	2,6 ± 0,2
5	56 ± 4	87 ± 4	71 ± 3	2,5 ± 0,3
10	25 ± 5	80 ± 3	39 ± 5	1,9 ± 0,4
20	18 ± 2	73 ± 3	27 ± 5	1,5 ± 0,5
30	13 ± 5	72 ± 3	21 ± 6	1,3 ± 0,6

Для реализации процессов переработки растительного сырья в промышленных масштабах наиболее перспективным режимом предварительной обработки является сдвиговый

режим механической активации материала, реализующийся в проточном центробежно-роликовом оборудовании. Эксперимент на центробежно-роликовом активаторе РМ-20, показал, что при смене типа механического воздействия с ударно-сдвигового на сдвиговый изменяются процессы, протекающие в обрабатываемом материале (Таблица 3.16 и 3.17).

Таблица 3.16 – Степень кристалличности и размер кристаллитов α-целлюлозы, активированной на проточном центробежно-роликовом активаторе РМ-20

Режим активации, об/мин	Степень кристалличности, %			Размер кристаллитов, нм
	по Сегалу	по Лоренцу	по Ритвельду	
0	73 ± 1	92 ± 4	94 ± 2	3,7 ± 0,2
600	64 ± 3	90 ± 4	89 ± 2	2,9 ± 0,2
900	48 ± 4	86 ± 4	85 ± 2	2,3 ± 0,2
1200	45 ± 5	84 ± 3	82 ± 2	2,0 ± 0,2

Таблица 3.17 – Степень кристалличности и размер кристаллитов целлюлозы в составе соломы пшеницы, активированной в проточном центробежно-роликовом активаторе

Режим активации, об/мин	Степень кристалличности, %			Размер кристаллитов, нм
	по Сегалу	по Лоренцу	по Ритвельду	
0	69 ± 1	92 ± 4	82 ± 2	2,7 ± 0,2
600	58 ± 3	82 ± 3	64 ± 2	2,3 ± 0,2
900	54 ± 2	74 ± 3	61 ± 2	2,1 ± 0,2
1200	47 ± 3	77 ± 3	65 ± 5	1,9 ± 0,4

Менее глубокое протекание процесса аморфизации целлюлозы в проточном центробежно-роликовом активаторе в сравнение с обработкой на планетарном активаторе АГО-2, может быть объяснено меньшей продолжительностью нахождения материала в зоне действия мелющих тел (~ 1 мин) вместо 2-30 минут активации. Размеры кристаллитов в обоих случаях закономерно снижаются в зависимости от увеличения времени и интенсивности воздействия. Наибольшее снижение размеров кристаллитов наблюдается при сдвиговом воздействии на α-целлюлозу в центробежно-роликовом активаторе.

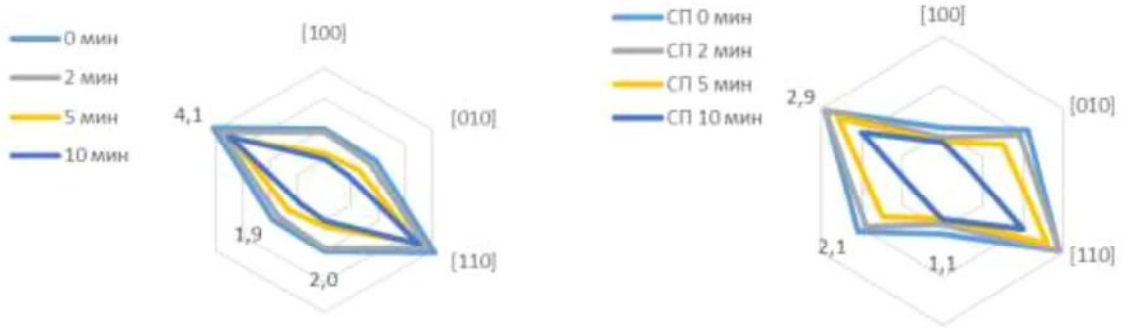
Механическая активация растительного сырья в проточном центробежно-роликовом активаторе является более подходящей обработкой для лигноцеллюлозных материалов. Такая

обработка приводит к более глубокому измельчению растительного сырья и к большей аморфизации кристаллитов целлюлозы, чем при активации чистой α-целлюлозы. Обработка приводит к более глубокому разупорядочению структуры растительных материалов, о чем свидетельствует снижение размеров частиц и кристаллитов целлюлозы полученных образцов, а также отсутствие агрегации частиц. Для достижения более глубокого разупорядочения кристаллической структуры целлюлозы в составе растительного сырья и достижения предела аморфизации необходимо увеличивать энергонапряженность механического воздействия.

Целлюлоза является ориентированным полимером (ориентация цепочки целлюлозы Iα вдоль оси *c*), что обеспечивает анизотропию строения и, как следствие, анизотропию рассеяния рентгеновских лучей. Ожидается, что разрушение кристаллических участков целлюлозы также будет происходить анизотропно.

Размеры областей когерентного рассеяния (ОКР) в направлениях [100], [010] и [110] способны охарактеризовать толщину элементарных фибрилл целлюлоз. Погрешность определения размеров кристаллитов около 10 %.

Солома пшеницы характеризуется меньшими размерами поперечного сечения элементарных фибрилл целлюлозы, по сравнению с α-целлюлозой (Рисунок 3.40). Для образцов α-целлюлозы, активированных на планетарном активаторе АГО-2, разрушение элементарных фибрилл целлюлозы происходит по направлениям [100] и [010]. Разрушение элементарных фибрилл целлюлозы растительного сырья преимущественно идёт вдоль направления [010]. Свыше 10 минут активации на планетарном активаторе АГО-2 на дифракционных картинах образцов наблюдается образование диффузного аморфного гало, то есть происходит размытие рефлексов, что не позволяет корректно оценить размеры кристаллитов целлюлозы.



а) *б)*

Рисунок 3.40 – Форма поперечного сечения элементарных фибрилл целлюлозы в образцах α-целлюлозы *(а)* и соломы пшеницы *(б)*, активированных планетарном активаторе АГО- 2.

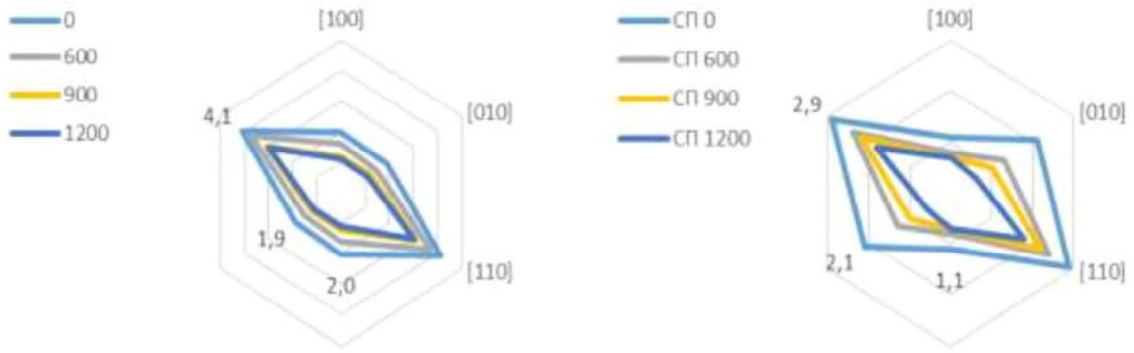
В таблице 3.18 приведены сводные данные ОКР в сравнении со степенью кристалличности, рассчитанной методом Ритвельда, для целлюлозы в индивидуальном виде и в

составе растительного сырья, активированных на планетарном активаторе АГО-2 и на проточном центробежно-роликовом активаторе РМ-20.

Таблица 3.18 – Степень кристалличности и размер кристаллитов целлюлозы в зависимости от времени и типа механической активации

Режим активации	Степень кристалличности по Ритвельду, %	Размер кристаллитов в направлениях, нм		
		[100]	[010]	[110]
α-Целлюлоза АГО-2				
Исходный образец	94 ± 2	2,0 ± 0,1	1,9 ± 0,4	4,1 ± 0,1
2, мин	79 ± 2	1,9 ± 0,1	1,7 ± 0,1	3,8 ± 0,1
5, мин	70 ± 3	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,2	3,4 ± 0,1
10, мин	66 ± 5	1,0 ± 0,1	0,9 ± 0,1	3,5 ± 0,3
α-Целлюлоза РМ-20				
Исходный образец	94 ± 2	2,0 ± 0,1	1,9 ± 0,2	4,1 ± 0,1
600, об/мин	89 ± 2	1,6 ± 0,1	1,5 ± 0,2	3,7 ± 0,1
900, об/мин	85 ± 2	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,2	3,1 ± 0,1
1200, об/мин	82 ± 2	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,3	3,0 ± 0,1
Целлюлоза в составе соломы пшеницы АГО-2				
Исходный образец	82 ± 2	1,1 ± 0,1	2,1 ± 0,2	2,9 ± 0,1
2, мин	78 ± 2	0,9 ± 0,1	1,9 ± 0,1	2,9 ± 0,1
5, мин	71 ± 3	0,8 ± 0,1	1,5 ± 0,2	2,6 ± 0,1
10, мин	39 ± 5	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1	2,0 ± 0,1
Целлюлоза в составе соломы пшеницы РМ-20				
Исходный образец	82 ± 2	1,1 ± 0,1	2,1 ± 0,2	2,9 ± 0,1
600, об/мин	64 ± 2	0,8 ± 0,2	1,3 ± 0,1	2,4 ± 0,1
900, об/мин	61 ± 2	0,7 ± 0,1	1,0 ± 0,1	2,2 ± 0,1
1200, об/мин	65 ± 5	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,8 ± 0,2

Данные изменения размеров ОКР могут быть связаны с равномерным воздействием на материал, характеризующийся более регулярным строением. Однако, из сравнения основных физико-химических параметров образцов α-целлюлозы с изменением формы поперечного сечения элементарных фибрилл (Рисунок 3.41-а) можно заключить, что сдвиговый тип воздействия в роликовых активаторах является неподходящим типом активации выделенной в индивидуальном виде целлюлозы.



а) *б)*

Рисунок 3.41 – Форма поперечного сечения элементарных фибрилл целлюлозы в образцах α-целлюлозы *(а)* и соломы пшеницы *(б)*, активированных на проточном центробежно-роликовом активаторе РМ-20.

При смене механохимического оборудования с планетарного активатора АГО-2 на проточный центробежно-роликовый активатор РМ-20 разрушение элементарных фибрилл целлюлозы соломы пшеницы, как и в случае активации при ударно-сдвиговом типе воздействия, преимущественно происходит вдоль направления [010]. Наблюдается разрушение кристаллической структуры целлюлозы и уменьшение поперечного сечения элементарных фибрилл, что указывает на возможность использования центробежно-роликовых активаторов для активации лигноцеллюлозных материалов.

Инфракрасная спектроскопия используется для исследования состава и кристаллической структуры целлюлозы. На рисунке 3.42 представлены ИК-спектры поглощения α-целлюлозы. В таблице 3.19 приведены характеристические частоты ИК-спектров образцов α-целлюлозы.

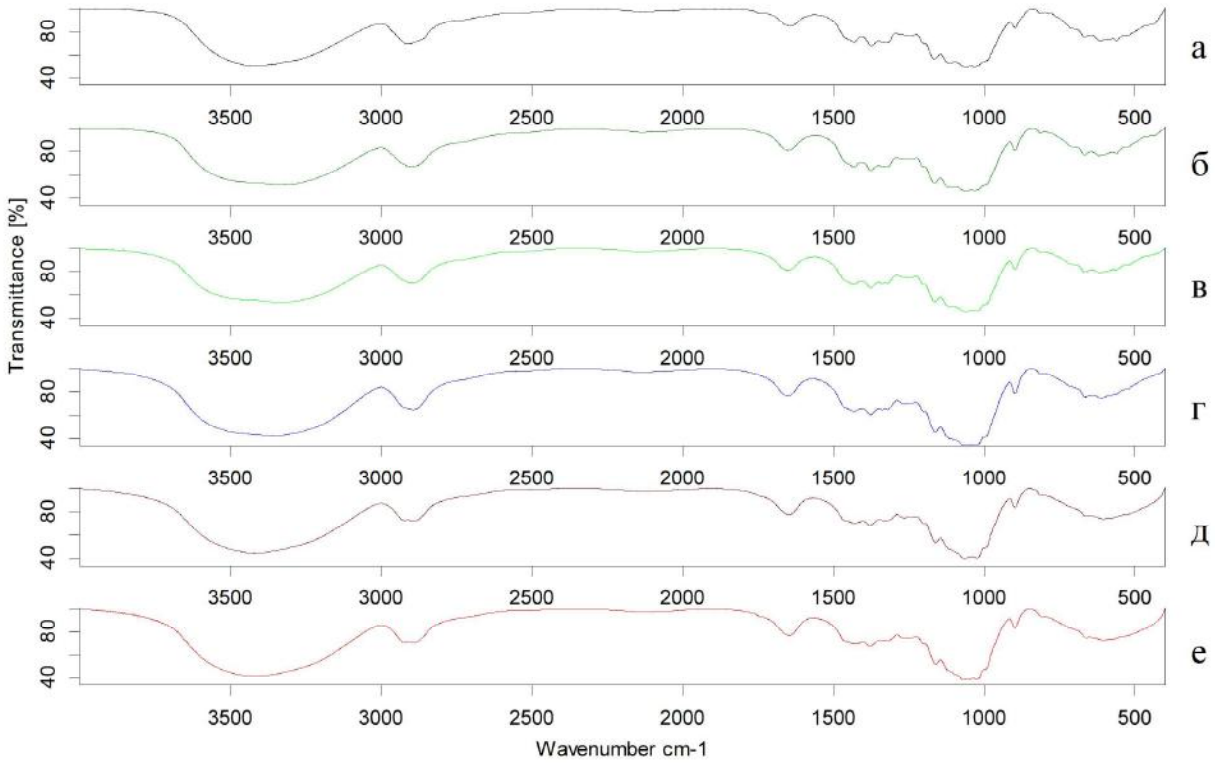


Рисунок 3.42 – ИК-спектры пропускания образов исходной α-целлюлозы *(а)*, активированных на планетарном активаторе АГО-2 в течение 2 минут *(б)*, 5 минут *(в)*, 10 минут *(г)*, 20 минут *(д)* и 30 минут *(е)*.

Таблица 3.19 – Полосы поглощения ИК-спектров α-целлюлозы

Максимум полосы поглощения, $см^{-1}$	Отнесение полос поглощения
3700-3100	Валентные колебания О–Н-связей целлюлозы, участвующие в меж- и внутримолекулярных водородных связях
3000-2800	Валентные колебания С–Н-связей в CH_2- и CH= - группах, часто используются в качестве внутреннего стандарта
1741	Валентные колебания С=О-связей карбонильных групп гемицеллюлоз
1652-1641	Деформационные колебания адсорбированной воды, интенсивность связана с влажностью образца
1460	Асимметричные деформационные колебания С–Н-связей в CH_2- и CH_3-группах целлюлозы и лигнина
1433-1127	Ножничные колебания CH_2-группы, полоса «кристалличности»
1374-1378	Деформационные колебания С–Н-связи
1336	Деформационные колебания О–Н-связи в плоскости
1319	Деформационные веерные колебания С–Н-связи
1202	Симметричные валентные колебания гликозидной связи
1165-1160	Асимметричные валентные колебания С–О–С, либо валентные колебания С–О или деформационные колебания О–Н-связи в С–ОН
1114	Валентные колебания С–О-связи вторичной спиртовой группы C^2H–ОН
1060	Валентные колебания С–О-связи в C^3H–ОН
1030, 995	Валентные колебания С–О-связи в C^1H–ОН
897	Асимметричные колебания кольца и растяжение С–О–С в β-1-4-гликозидных структурах, полоса «аморфности» (критерий О`Коннора)
840-400	Колебания пиранозного кольца и деформационные колебания С–Н-связей и ОН-групп

Широкой полосе поглощения в области 3700-3100 $см^{-1}$ соответствуют валентные колебания гидроксильных групп, вовлеченных во внутримолекулярные и межмолекулярные водородные связи. Из-за наложения в данной спектра области поглощения адсорбированной воды, содержание которой увеличивается при увеличении времени и интенсивности механической активации, область валентных колебаний ОН-групп не представляется информативной для количественных измерений. Однако форма и положение максимума полосы поглощения часто применяется для оценки степени замещения ОН-групп при модификации целлюлозы. Для образцов механически активированных в течение 2, 5 и 10 минут, максимум полосы поглощения ОН-групп находится в области более низких частот, что указывает на большую выраженность внутримолекулярного характера водородных связей и упорядоченность структуры (Рисунок 3.43). Максимум полосы ОН-групп для образцов α-целлюлозы, активированной более 10 минут, смещается в область высоких частот, что указывает на разупорядочение сетки водородных связей и кореллирует с данными рентгенофазового анализа.

Область 1652-1641 $см^{-1}$ отвечает за деформационные колебания О-Н-группы адсорбированной воды. Смещение максимума в сторону больших волновых чисел связано с увеличением содержания воды в образцах после механической обработки.

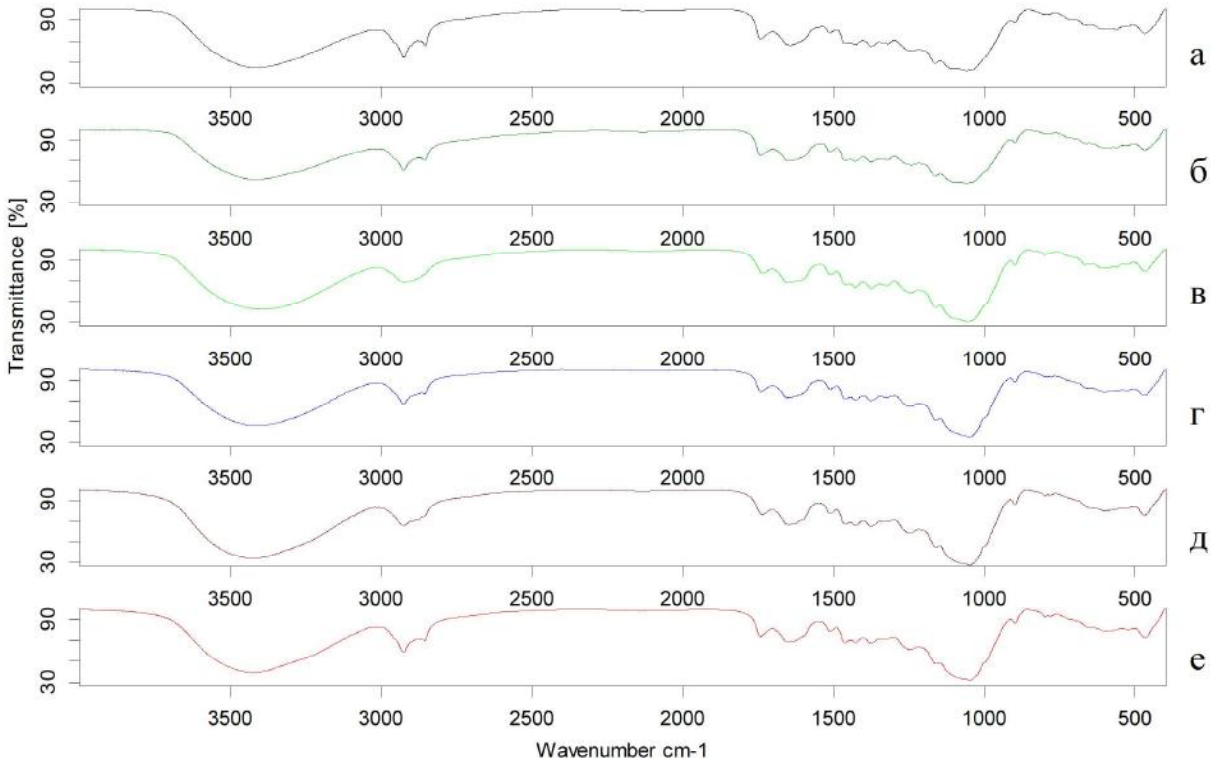


Рисунок 3.43 – ИК-спектры пропускания образов исходной соломы пшеницы *(а)*, активированных на планетарном активаторе АГО-2 в течение 2 минут *(б)*, 5 минут *(в)*, 10 минут *(г)*, 20 минут *(д)* и 30 минут *(е)*.

В некоторых условиях (повышенная температура, содержание воды) активированные образцы могут кристаллизоваться. Изучение рекристаллизации целлюлозы, входящей в состав растительного сырья, производилось на предварительно аморфизованной соломе пшенице[24]. Активированное в течение 20 минут на планетарном активаторе АГО-2 растительное сырьё подвергали 10 циклам термоциклирования при температурах кипения жидкого азота (-196 °С) и 180 °С в лабораторном сушильном шкафу. Представленные в таблице 3.20 данные свидетельствуют о незначительности степени рекристаллизации без механического воздействия и при влажности 5,8 %.

Таблица 3.20 – Термоциклирование соломы пшеницы, предварительно аморфизованной на планетарном активаторе АГО-2 в течение 20 минут

Температура обработки, °С	Индекс кристалличности, %
Исходный образец	69 ± 1
Предварительно аморфизованный образец	18 ± 2
После циклирования	19 ± 1

Влияние времени и температуры механической обработки на кристаллическую структуру целлюлозы в составе высоколигнифицированного растительного сырья также изучались методом порошковой дифракции.

В результате сравнения профиля экспериментальных рентгенограмм биомассы тростника с теоретическими данными было установлено, что кристаллическая структура исходной биомассы тростника описывается моделью строения целлюлозы Iα с пространственной группой симметрии P_1. Параметры и углы элементарной ячейки целлюлозы в составе высоколигнифицированного растительного сырья, уточненные методом Ритвельда (Таблица 3.21), согласуются с литературными [French, 2014].

Таблица 3.21 – Параметры элементарной ячейки целлюлозы высоколигнифицированного растительного сырья – биомассы тростника

a, Å	6,906 ± 0,019
b, Å	5,942 ± 0,014
c, Å	12,372 ± 0,034
α°	117,69 ± 0,18
β°	112,31 ± 0,28
γ°	81,25 ± 0,20
V, Å^3	415,70 ± 0,22
χ^2	2,38
R_b	0,59

[24] Podgorbunskikh, E. M. Revisiting the thermal recrystallization of mechanically amorphized lignocellulose / E.M. Podgorbunskikh, A. L. Bychkov, N. V. Bulina, O. I. Lomovsky // IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. – 2019. – V. 479. – N. 1. – # 012005.

Аналогично предыдущим случаям, увеличение времени механической активации приводит к возрастанию степени аморфизации кристаллической части целлюлозы в составе растительного сырья[25]. Определение значений степени кристалличности осуществлялось по методам Сегала и Ритвельда. Механическая активация в течение 10 минут не привела к значительным изменениям степени кристалличности. Эффекты, вызванные влиянием температуры механической обработки на процесс измельчения, наиболее ярко выражены при более длительных временах активации – в течение 20 минут. Данные представлены в таблице 3.22.

При повышении температуры обработки (100 и 180 °С) осуществляется переход полимеров растительного сырья в высокоэластичное, а затем в вязкотекучее состояние. Расстекловывание полимеров сопровождается повышением подвижности молекулярной цепи и повышением затрат энергии на пластическую деформацию материала, что снижает степень аморфизации кристаллитов целлюлозы, а также увеличивает эффект экранирования целлюлозы лигнином и продуктами его разложения в процессе термомеханической активации (см. главу 3.5). Оптимальной из исследованных температур обработки, приводящей к значительной аморфизации целлюлозы высоколигнифицированного растительного сырья, является температура 10 °С (Таблица 3.22). В данных условиях материал подвергается разупорядочению структуры клеточной стенки без протекания фазового перехода полифенольной компоненты.

Таблица 3.22 – Степень кристалличности биомассы тростника, активированной в атриторе в течение 10 и 20 минут

Температура активации, °С	Степень кристалличности, %		
	10 минут активации	20 минут активации	
	Сегал	Сегал	Ритвельд
Исходный образец	69 ± 6	69 ± 6	72 ± 3
-196 °С	62 ± 5	48 ± 5	60 ± 5
10 °С	61 ± 6	42 ± 5	61 ± 5
100 °С	65 ± 6	57 ± 7	66 ± 5
180 °С	67 ± 7	59 ± 5	67 ± 5

Методом Ритвельда не удается достоверно отследить изменения степени кристалличности целлюлозы высоколигнифицированного сырья. Значения степени кристалличности целлюлозы изменяются в пределах погрешности. Однако из сравнения рентгенограмм (Рисунок 3.44) видны качественные изменения кристаллической структуры

[25] Podgorbunskikh, E.M. The effect of thermomechanical pretreatment on the structure and properties of lignin-rich plant biomass / E. M. Podgorbunskikh, A. L. Bychkov, E. I. Ryabchikova, O. I. Lomovsky // Molecules. – 2020. – V. 25. – P. 995.

целлюлозы. Данный метод базируется на уточнении экспериментально полученной рентгенограмм относительно теоретической структуры и в основном применим для описания кристаллической структуры чистых образцов целлюлозы с высокой степенью упорядоченности целлюлозы.

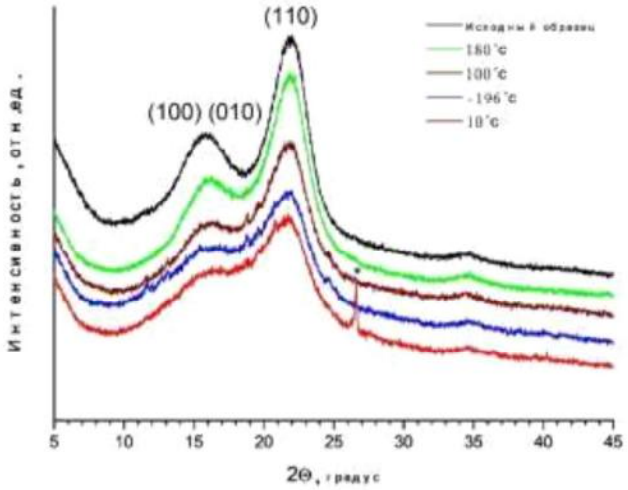


Рисунок 3.44 – Изменение рентгенограмм биомассы тростника и продуктов механической активации в лабораторной мельнице-активаторе типа «аттритор» в течении 20 минут (символом * отмечен рефлекс кварца SiO_2 (01-077-1060 PDF-2, 2008).

Размеры областей когерентного рассеяния (ОКР) исходного и активированных образцов биомассы тростника представлены в таблице 3.23. Погрешность определения размеров кристаллитов около 10 %.

Биомасса тростника характеризуется большими размерами поперечного сечения элементарных фибрилл целлюлозы по сравнению с α-целлюлозой и соломой пшеницы (Рисунок 3.44 и Таблица 3.23).



Рисунок 3.44 – Форма поперечного сечения элементарных фибрилл целлюлозы в образцах биомассы тростника.

Таблица 3.23 – Степень кристалличности и размер кристаллитов целлюлозы биомассы тростника, активированной в лабораторной мельнице-активаторе типа «аттритор» в течении 20 минут

Температура активации, °С	Степень кристалличности по Сегалу, %	Размер кристаллитов в направлениях, нм		
		[100]	[010]	[110]
Биомасса тростника после ножевой мельницы	69 ± 6	2,0 ± 0,1	4,3 ± 0,2	3,3 ± 0,1
-196 °С	48 ± 5	2,3 ± 0,2	7,0 ± 0,7	3,3 ± 0,1
10 °С	42 ± 5	2,4 ± 0,1	5,3 ± 0,5	3,3 ± 0,1
100 °С	57 ± 7	2,8 ± 0,1	4,6 ± 0,3	3,1 ± 0,1
180 °С	59 ± 5	3,3 ± 0,1	3,7 ± 0,1	3,3 ± 0,1

Для высоколигнифицированного растительного сырья было изучено влияние температуры механического воздействия на режим деформации кристаллической стуктуры целлюлозы. Установлено, что биомасса тростника подвергается наибольшей аморфизации при 10 °С. При повышении температуры активации до 100 °С и 180 °С изменения степени кристалличности не значительны, что можно объяснить переходом к пластическому измельчению ввиду расстекловывания полимеров клеточной стенки биомассы тростника.

Кроме целлюлозы в растительном сырье могут присутствовать другие полимеры, характеризующиеся аморфно-кристаллическим строением, например, крахмал и бета-глюкан. Частично упорядоченные графитовые плоскости выделяют в дифрактограммах бурых углей. Как правило, кристаллическая структура данных полимеров менее упорядочена, что выражается в менее четких дифракционных картинах, но, тем не менее, данный фактор вносит вклад в реакционную способность материала.

С точки зрения переработки полимеров, содержащихся в зерновом растительном сырье, например, биомассе семян гороха, важным фактором является степень кристалличности крахмала, локализованного в супрамолекулярных образованиях – крахмальных зёрнах. Сравнение полученной дифракционной картины биомассы семян гороха (Рисунки 3.47-3.49 находятся ниже по тексту) с данными литературы [Cheethem, 1998; Dankar, 2018] показало, что основной вклад в дифракционную картину вносит крахмал, конкретно амилазная фракция.

Согласно работе [Singh, 1995] ячейка крахмала имеет гексагональную сингонию с параметрами: a = 1.85 *нм*; b = 1.85 *нм*; c = 1.04 *нм*; углы альфа и бета равны 90 градусам; угол гамма – 120 градусов. На рентгенограмме (Рисунок 3.45) видны уширенные рефлексы (140), (131), (103) и (132).

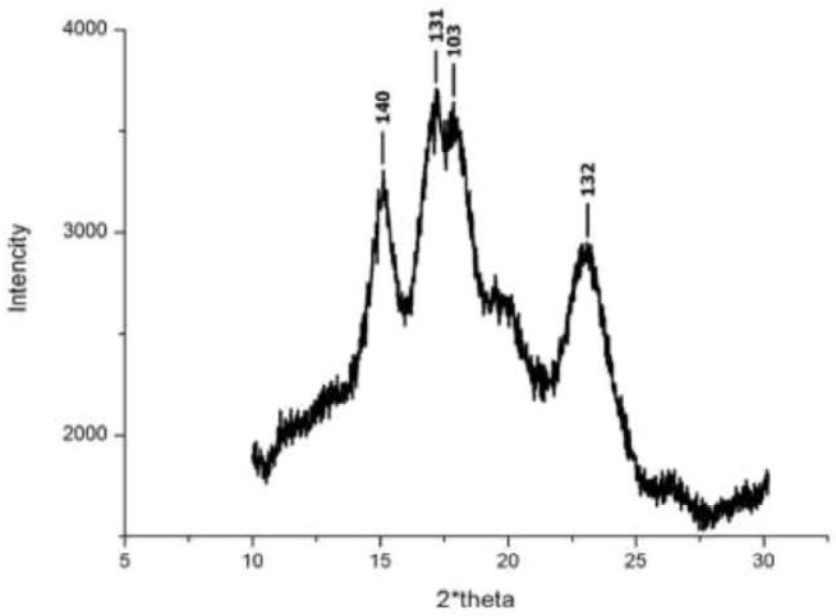


Рисунок 3.45 – Рентгеновская дифрактограмма картофельного крахмала [Singh, 1995].

Однако, в отличие от целлюлозы, для которой существуют методики расчёта степени кристалличности (из данных РФА, из данных ИК- и ЯМР-спектроскопии), для крахмала отсутствуют общепринятые способы определения данного параметра. Ключевая особенность основного используемого подхода [Cheethem, 1998; Dankar, 2018] заключается в соотнесении разностей суммы интенсивности кристаллической и аморфной фазы к кристаллической фазе (Рисунок 3.46).

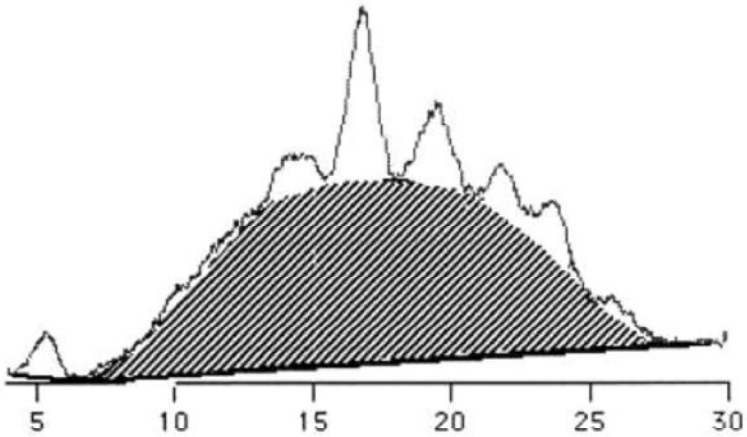


Рисунок 3.46 – Обработка рентгенограммы кукурузного крахмала [Cheethem, 1998].

По данной методике были расчитаны степени кристалличности различных образцов крахмала, а также биомассы гороха до и после механохимической обработки[26]. Из анализа образцов сравнения (Таблица 3.24) видно, что крахмал, содержащийся в растительном сырье, а также выделенный и модифицированный для дальнейшего применения, может обладать степенью кристалличности в широком диапазоне значений и может быть разупорядочен

[26] Dome, K. Changes in the crystallinity degree of starch having different types of crystal structure after mechanical pretreatment / K. Dome, E. Podgorbunskikh, A. Bychkov, O. Lomovsky // Polymers. – 2020. – V. 12. – P. 641.

различными методами, в том числе механохимически. По аналогии с целлюлозой для аморфизованного крахмала можно прогнозировать более высокие скорости последующего ферментативного гидролиза.

Таблица 3.24 – Значение степеней кристалличности для различных образцов крахмала

Образец	Степень кристалличности, %
Кукурузный крахмал	38
Картофельный крахмал	27
Тапиоковый крахмал	42
Крахмал «по Зулковскому»	0
Крахмал–индикатор	50
Крахмал гороховый	26

Из полученных рентгенограмм (Рисунки 3.47-3.49) видно, что аморфизация крахмала протекает довольно быстро в течение первой минуты механохимической обработки, а дальнейшее проведение обработки не приводит к значительным изменениям дифракционной картины.

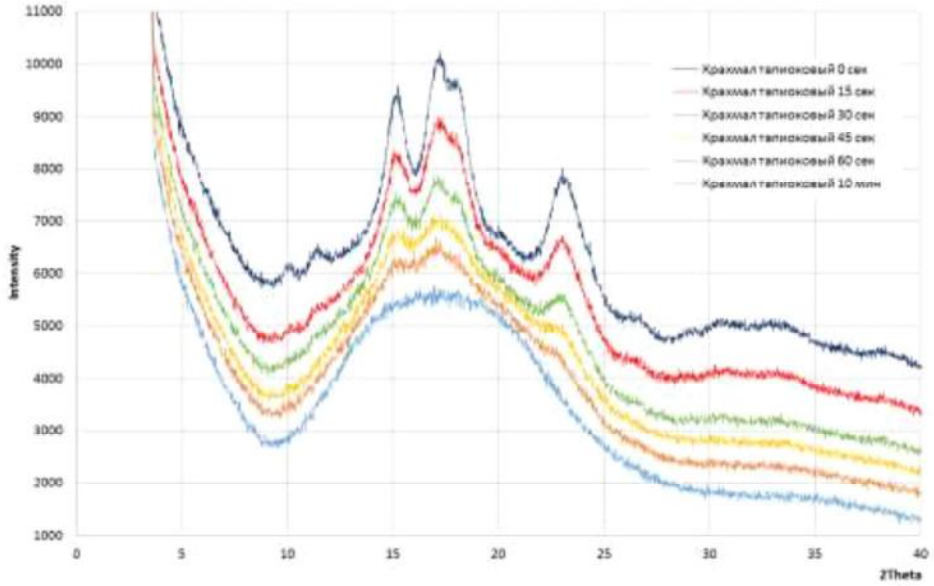


Рисунок 3.47 – Пример рентгенограмм исходного и механохимически обработанного тапиокового крахмала (для наглядности рентгенограммы разнесены вдоль оси Y).

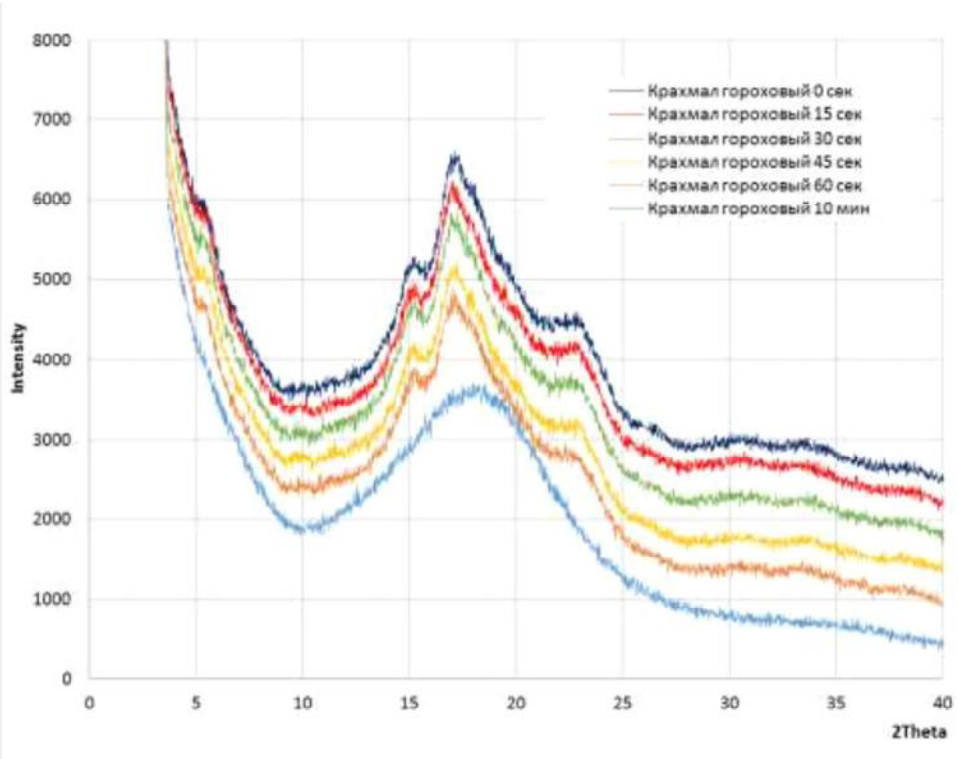


Рисунок 3.48 – Рентгенограммы исходного и механохимически обработанного горохового крахмала (для наглядности рентгенограммы разнесены вдоль оси Y).

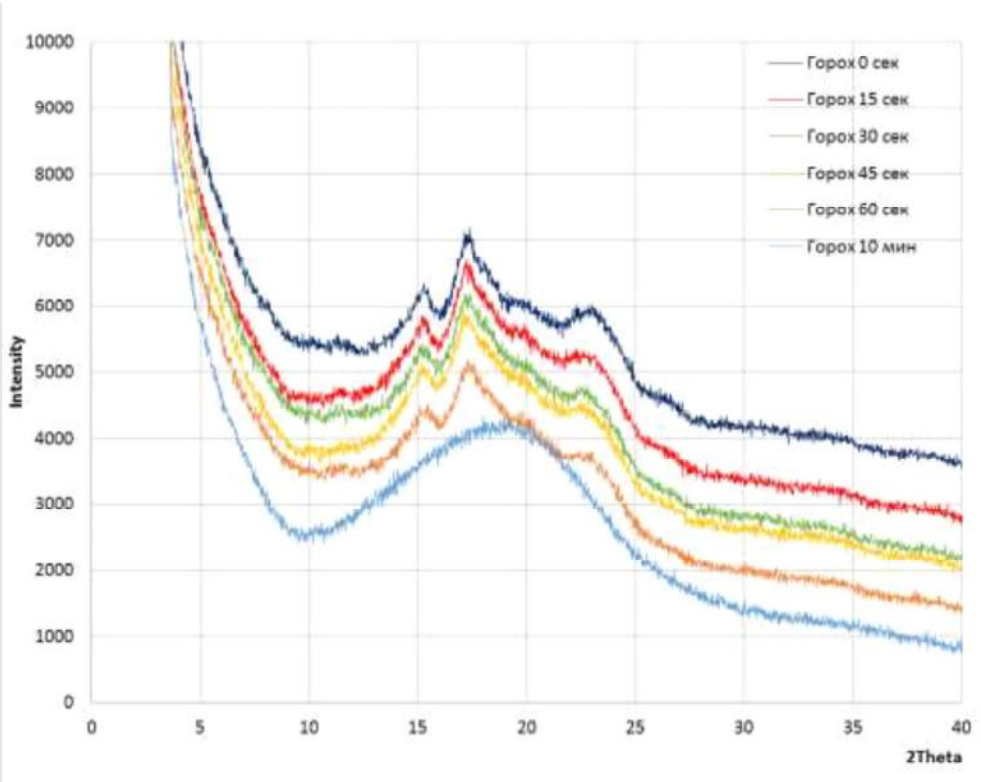


Рисунок 3.49 – Рентгенограммы исходной и механохимически обработанной биомассы семян гороха (для наглядности рентгенограммы разнесены вдоль оси Y).

Степень кристалличности тапиокового крахмала (самого кристалличного из изученных образцов сравнения) за 60 секунд снизилась с 42 до 10 %. Степень кристалличности горохового

крахмала и биомассы семян гороха снизилась с 26 до 21 % и с 25 до 14 %, соответственно. Подобные изменения степени кристалличности, протекающие за технологически приемлемое время, дают основание прогнозировать высокую эффективность процесса механоферментативной переработки белкового растительного сырья. В сочетании с тем, что удельная площадь поверхности при измельчении биомассы семян гороха за 60 секунд увеличилась с 0,1 до 1,7 м2/г (предел измельчения в 21 мкм достигнут за 5 минут обработки, по данным LDS), для изученных образцов следует прогнозировать высокую реакционную способность в процессе гидролиза.

По аналогии с экспериментами, проведенными с целлюлозой и крахмалом, предпринята попытка увеличить активность выделенного в индивидуальном виде дрожжевого бета-глюкана при помощи механического разупорядочения супрамолекулярной структуры[27].

На рисунке 3.50 представлена рентгенограмма щёлоченерастворимого β-глюкана. В диапазоне углов 2θ от 10° до 30° наблюдается заметное снижение интенсивности рефлекса с максимумом при 2θ равном 20°.

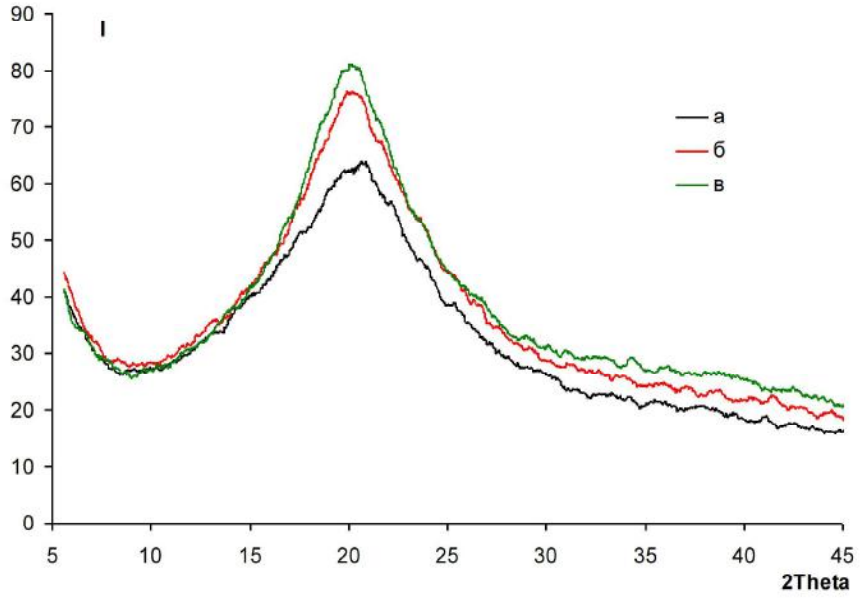


Рисунок 3.50 – РФА щёлоченерастворимого β-глюкана: а – β-глюкан после 5 минут механической обработки, б – β-глюкан после 2 минут механической обработки, в – β-глюкан до механической обработки.

Из данных, приведённых в таблице 3.25 видно, что механическая обработка на протяжении 5 минут (ускорение мелющих тел 20 g) приводит к увеличению реакционной способности щёлоченерастворимого β-глюкана.

[27] Бычков, А. Л. Изменения клеточной стенки при механической активации растительной и дрожжевой биомассы / А. Л. Бычков, К. Г. Королев, Е. И. Рябчикова, О. И. Ломовский // Химия растительного сырья. – 2010. – № 1. – С. 49-56.

Таблица 3.25 – Активность ферментативного комплекса "ЦеллоЛюкс-А" по отношению к глюкановым полимерам

Полимер	Активность «ЦеллоЛюкс-А», ед./г
Щёлочерастворимый β-1,3-глюкан	250
Щёлоченерастворимый β-глюкан	14
Щёлоченерастворимый β-глюкан после 5’ МА	26

В случае ещё более разупорядоченного объекта – бурого угля, содержащего гуминовые вещества – при обработке рентгенограмм выделяют линии графита [Китайгородский, 1952]. Рефлекс (002) связан с дифракцией на равноудаленных графитовых слоях. В случае высокоуглеродистых углей типа антрацита дифрактограммы наиболее приближены к дифрактограммам графита и характеризуются хорошо различимыми отдельными рефлексами графита. С понижением степени углефикации, например, от антрацита к лигниту, дифракционные картины становятся все более размытыми и рефлекс (002) сдвигается в сторону уменьшения дифракционных углов [Haenel, 1992].

На рисунке 3.51 представлены рентгенограммы исходного и механохимически активированного (2 минуты, 200 м/с^2) образцов бурого угля. Хорошо разрешенные рефлексы соответствуют фазе кварца. После удаления фона при сопоставлении рентгенограмм хорошо видно, что в результате механоактивации бурого угля на рентгенограмме обработанного образца уменьшается пик 002 (в районе 2θ 24-25°), соответствующий графитовым слоям, происходит аморфизация бурого угля.

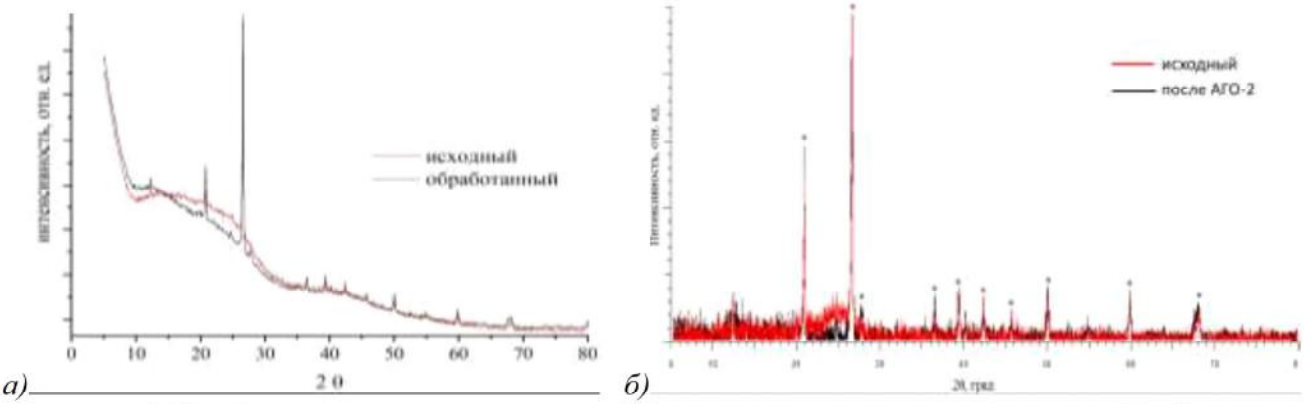


Рисунок 3.51 – Рентгенограммы исходного *(а)* и механически активированного *(б)* образцов бурого угля (* – рефлексы кварца по PDF № 01-070-7344).

Таким образом, показано, что механическая обработка приводит к разупорядочению кристаллических участков природных полимеров, имеющих аморфно-кристаллическое строение: целлюлоза в индивидуальном виде и в составе растительного сырья, крахмал, дрожжевой бета-глюкан, органическое вещество бурого угля.

Установлены закономерности изменения режима деформации от температуры механического воздействия, а также изучен вопрос о термомеханической рекристаллизации целлюлозы, входящей в состав растительного сырья.

Отдельно отмечена важность выбора механохимического оборудования для разупорядочения кристаллической структуры полимеров. Например, при смене типа механического воздействия с ударно-сдвигового, реализующегося в планетарном активаторе, на сдвиговый в проточном центробежно-роликовом активаторе, происходит изменение характера разрушения элементарных фибрилл целлюлозы. В случае ударно-сдвигового воздействия размеры ОКР уменьшаются не во всех направления, определяющих толщину элементарных фибрилл, разрушение происходит неизотропно. При сдвиговом воздействии разрушение элементарных фибрилл преимущественно происходит вдоль всех направлений поперечного сечения фибрилл.

Можно заключить, что механическая активация в центробежно-роликовом активаторе является более подходящей обработкой для лигноцеллюлозных материалов, приводящей к более глубокому измельчению растительного сырья и к большей аморфизации кристаллитов целлюлозы, о чем свидетельствует снижение размеров частиц и кристаллитов, а также отсутствие агрегации.

3.5. Влияние механической активации на супрамолекулярную организацию полимеров в природном сырье

Клеточная стенка растений и микроорганизмов является комплексом полимеров, существенная часть которых объединена в сложный, структурированный на супрамолекулярном уровне композит, состоящий из целлюлозы, бета-глюкана, гемицеллюлозы, лигнина, белков, маннанолигосахаридов, пектина и других, менее распространенных веществ. Сложное супрамолекулярное строение полимеров клеточной стенки обуславливает необходимость предварительной механической обработки (активации) сырья с целью повышения его реакционной способности благодаря не только увеличению площади поверхности, снижению степени кристалличности или модификации химического состава материала, но и более тонким ультраструктурным изменениям. Ниже представлены данные об ультраструктурных изменениях полимеров растительного сырья во время механической активации. Проведены параллели, позволяющие сопоставить продемонстрированные выше физико-химические изменения, протекающие при механическом воздействии при различных температурах, с изменениями морфологии и ультраструктуры материалов.

Проводилось сравнительное изучение низколигнифицированного материала (волокна пустых гроздей масличной пальмы *(EFB)*, содержание лигнина 10 %), материала со «средней» степенью лигнификации (солома кукурузы, содержание лигнина 20 %) и высоколигнифицированного материала (стебли тростника, содержание лигнина 40 %)[28].

На рисунке 3.52 (a, b) представлены микрофотографии, характеризующие исходное растительное сырьё, солому кукурузы и волокна пустых гроздей масличной пальмы, а также сырьё, предварительно измельчённое на дезинтеграторе, но не подвергнутое интенсивной механической активации. Строение тканей использованных растений соответствует опубликованным данным [Raven, 1986; Law, 2007] и имеет ряд сходных между собой черт. Так, центральные части образцов представлены полиморфными сосудистыми клетками разных размеров (до 100 мкм) с тонкими стенками, а периферийные области – округлыми клетками размером менее 50 мкм с более толстыми стенками. Периферические клетки образуют основную массу подвергающегося обработке сырья и вносят основной вклад в суммарные эффекты, наблюдаемые в последующих химических реакциях, поэтому далее в работе будут рассматриваться процессы, протекающие в стенках этих клеток.

---

[28] Bychkov, A.L. Ultrastructural changes of cell walls under intense mechanical treatment of selective plant raw material / A.L. Bychkov, E.I. Ryabchikova, K.G. Korolev, O.I. Lomovsky // Biomass and Bioenergy. – 2012. – V. 47. – P. 260-267.

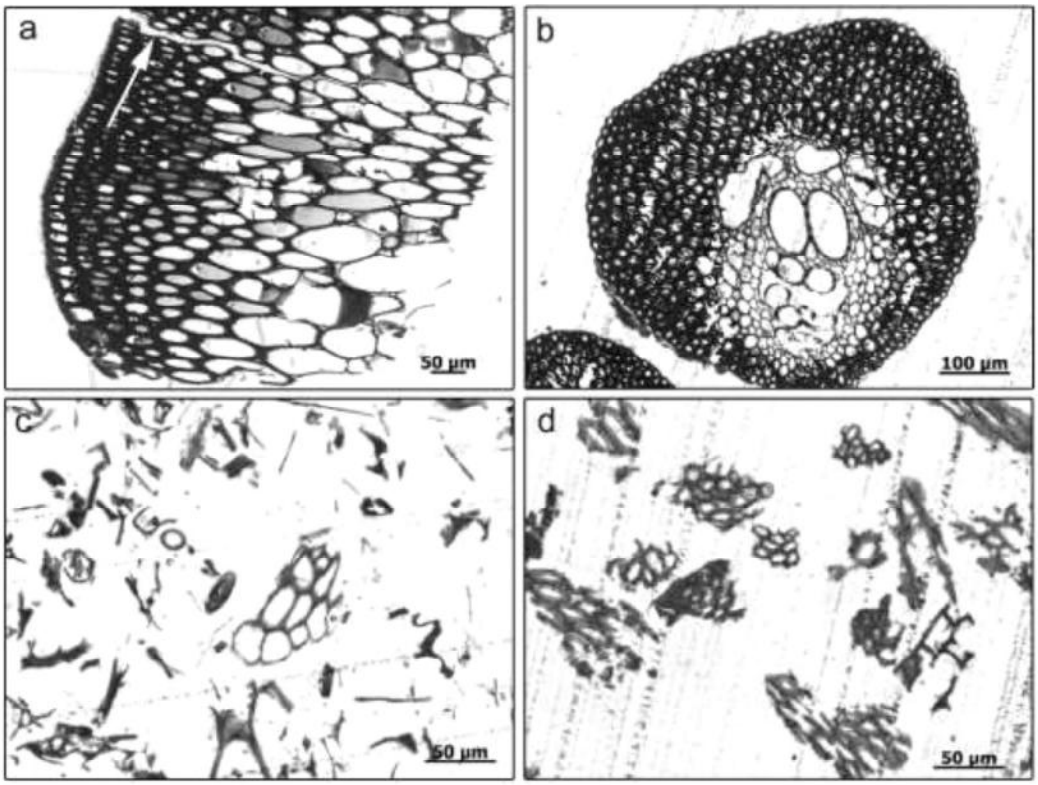


Рисунок 3.52 – Светооптическая микроскопия поперечных срезов исходного растительного сырья (*a* – участок соломины кукурузы; *b* – волокно пустых гроздей масличной пальмы). Видна зона периферических клеток с толстыми ярко окрашенными стенками и центральная зона, клетки которой имеют более тонкие стенки. Стрелкой указано распространение трещины по границам клеточных стенок. Растительное сырье после измельчения на дезинтеграторе (*c* – частицы соломы кукурузы; *d* – частицы волокон гроздей масличной пальмы).

В условиях предварительного измельчения на дезинтеграторе растительное сырьё измельчается до частиц со средними размерами 30-60 мкм в случае соломы кукурузы, и до 50-100 мкм – низколигнифицированных волокон гроздей масличной пальмы. Изучение этих препаратов выявило частицы разнообразной формы и размеров (Рисунок 3.52 c и d), аналогичных определенным методом лазерного светорассеяния. Возможно, измельчение гроздей пальмы проходит менее эффективно из-за большей механической прочности клеточных стенок и волокнистой структуры тканей. Разрушение тканей соломы кукурузы развивается путём образования и роста трещин по границам клеточных стенок (Рисунок 3.52 a).

Ткань высоколигнифицированных стеблей тростника представлена в основном большими и малыми проводящими (сосудистыми) пучками (Рисунок 3.53), окруженными замыкающими клетками. Морфология соответствует ранее опубликованным данным [Яковлев, 1990; Liu, 2012]. Клетки различаются по размерам, но имеют схожую округлую форму. Хорошо видно, что разрушение тканей под действием механических напряжений происходит вдоль крупных проводящих сосудов.

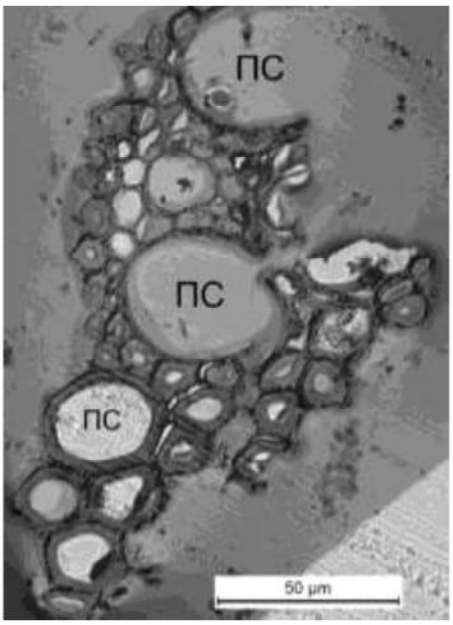


Рисунок 3.53 – Светооптическая микроскопия поперечного среза стеблей тростника после предварительного измельчения на дезинтеграторе (ПС – проводящие сосуды).

На снимках, полученных методом просвечивающей электронной микроскопии (ПЭМ), клеточные стенки соломины кукурузы имеют толщину 2,7-3,3 мкм и отчетливую слоистую структуру с толщиной слоёв 90-150 нм, которая формируется за счет преобладания в том или ином слое лигнина и гемицеллюлоз (слой имеет среднюю электронную плотность), либо целлюлозы (электронно-прозрачный слой) (Рисунок 3.54 a и b). Слои не имеют четких границ и наиболее хорошо прослеживаются на участках строго перпендикулярного среза. Данная ультраструктура соответствует ранее описанной [Leppard, 1971; Joseleau, 1997; Frankenstein, 2006; Donohoe, 2008]. В процессе измельчения структура соломы претерпевает значительные изменения. Клеточные стенки разрушаются по областям, соответствующим локализации лигнина, что может быть обусловлено их хрупкостью. Ультраструктура клеточных стенок частиц, попавших под ударно-сдвиговое воздействие мелющих тел, нарушается: слои целлюлозы расширяются и местами взаимопроникают в диффузные слои лигнин-гемицеллюлозного матрикса (Рисунок 3.54 c, d)[29]. По-видимому, слои в таких частицах в результате механического воздействия смещаются (скользят) относительно друг друга. Согласно общепринятой концепции поведения полимеров под механической нагрузкой, подобное смещение вначале вызывает разрыв внутри- и межмолекулярных водородных связей в лигнино-гемицеллюлозном матриксе и снижение кристалличности целлюлозных молекул. Разрушение β-1,4-гликозидных связей целлюлозы при этом незначительно [Casale, 1979; Prut, 2001]. При дальнейшей деформации происходит разрыв β-1,4-гликозидных связей в целлюлозе.

[29] Abdikerimova, G. B. Software tools for cell walls segmentation in microphotography / G. B. Abdikerimova, F. A. Murzin, A. L. Bychkov, J. Tussupov, S. Khayrulin, W. Xinyu, E. I. Rybchikova // Journal of Theoretical and Applied Information Technology. – 2018. – V. 96. – N. 15. – P. 4783-4793.

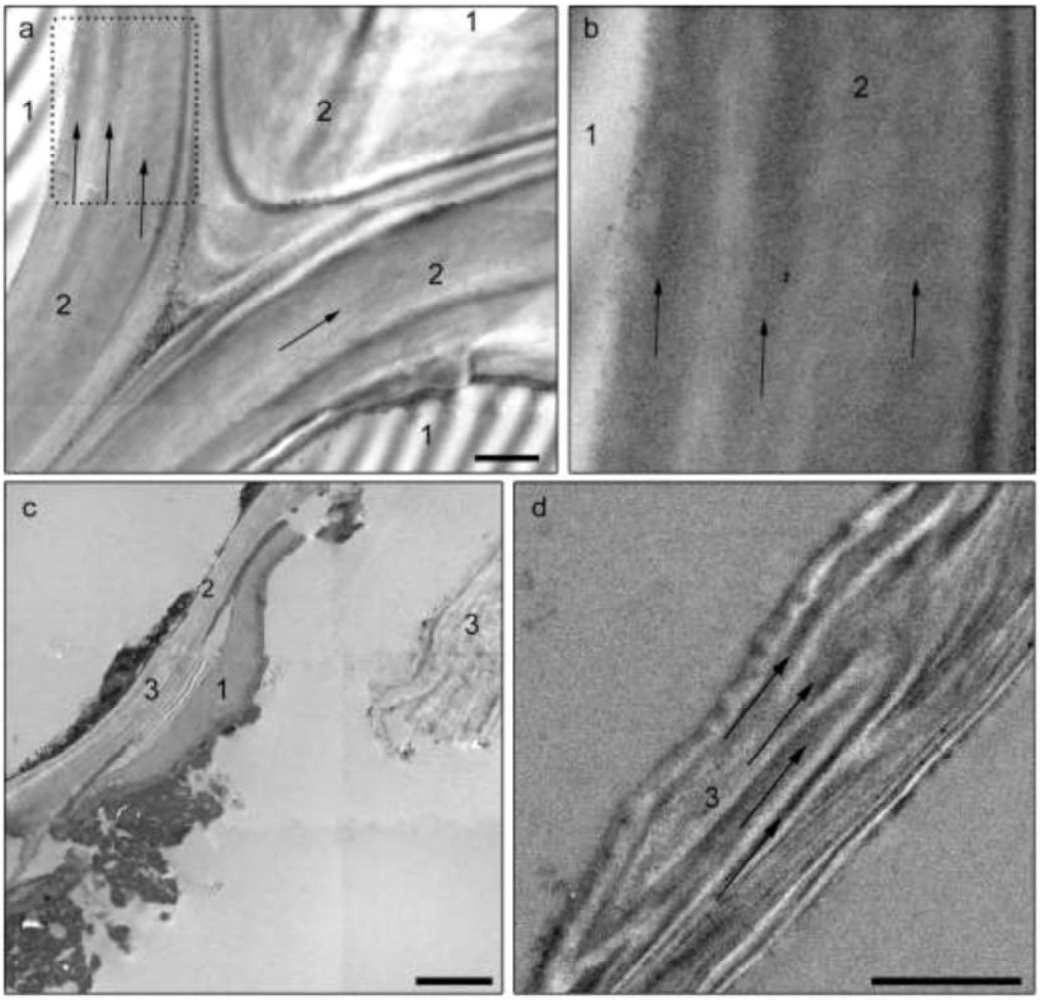


Рисунок 3.54 – *a* - клеточные стенки соломины кукурузы до механической обработки, *b* – фрагмент стенки, выделенный на снимке *«a»*: *1* – полости, соответствующие локализациям клеток в живом растении; *2* – клеточные стенки. *c, d* – фрагменты клеточных стенок соломы кукурузы после интенсивной механической обработки в активаторе планетарного типа АГО-2 в течение 2 минут: *1* – клеточный детрит, *2* – участок клеточной стенки, сохранивший упорядоченную структуру, *3* – фрагменты стенок с разупорядоченной структурой. Ультратонкие срезы, просвечивающая электронная микроскопия. Стрелками показаны слои лигнин-гемицеллюлозного матрикса. Длина масштабных линий соответствует 1,5 мкм.

Частицы, ультраструктура которых полностью изменена подобным образом, имеют высокую площадь поверхности, низкую степень кристалличности целлюлозы и, как следствие, повышенную, по сравнению с исходным материалом, реакционную способность, показанную нами ранее. Благодаря уменьшению плотности слоёв, вызванной увеличением объёма активированных слоёв, также должны увеличиваться коэффициенты диффузии реагентов (в том числе ферментов) в материале активированных клеточных стенок.

Ультраструктура низколигнифицированных клеточных стенок волокон масличной пальмы имеет ряд особенностей влияющих на характер процессов, происходящих при тонком измельчении (Рисунок 3.55). Клеточные стенки имеют толщину около 2,9-3,5 мкм и, как и в

случае соломы кукурузы, имеют слоистую структуру, образованную целлюлозными и лигнин-гемицеллюлозными слоями, расстояние между которыми составляет 100-180 нм.

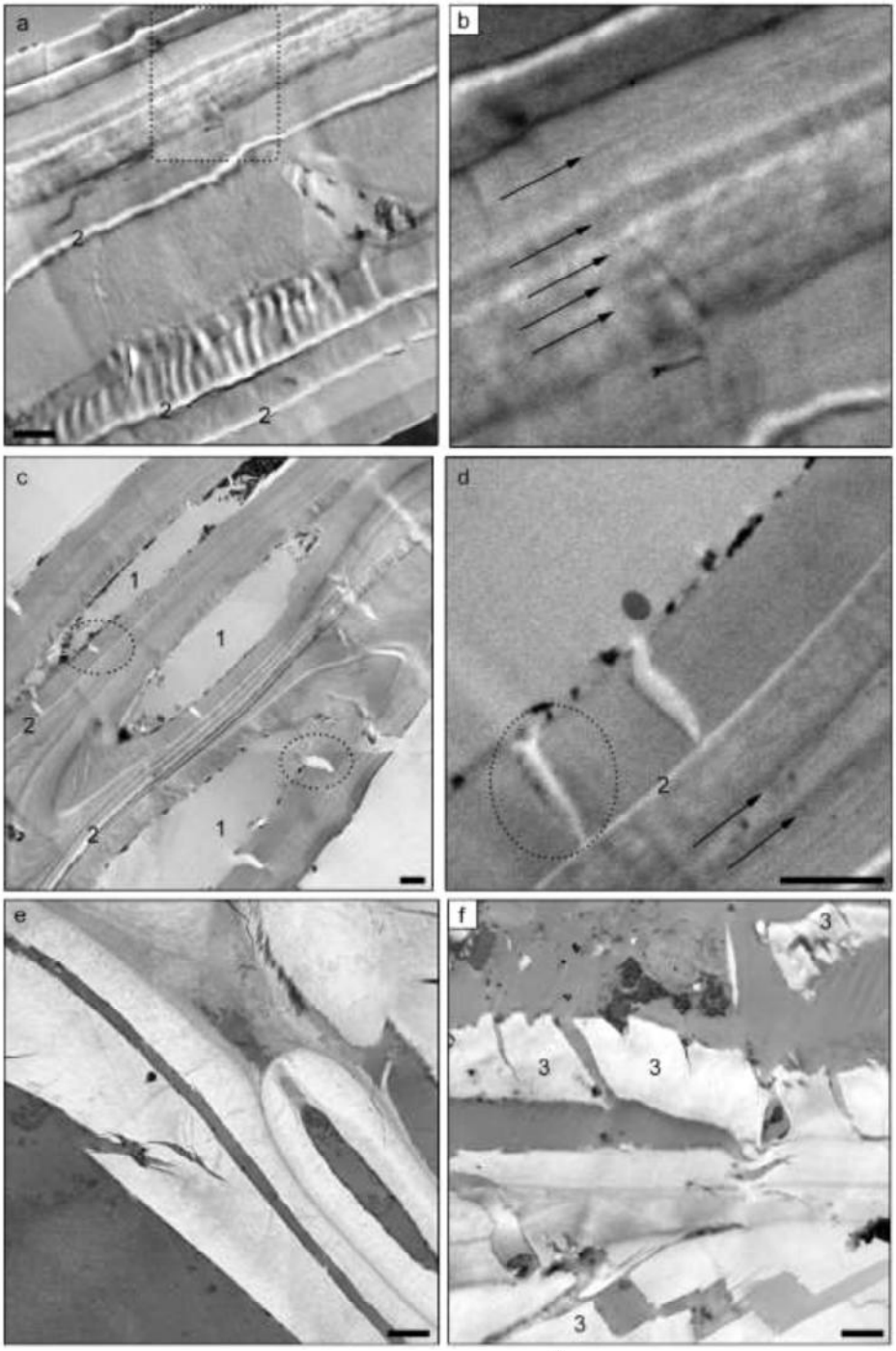


Рисунок 3.55 – *a* – клеточные стенки волокна масличной пальмы до механической обработки, *b* – фрагмент стенки, выделенный на снимке *«a»*. *c, d, e* – участки клеточных стенок волокна масличной пальмы после интенсивной механической обработки в активаторе планетарного типа АГО-2 в течение 2 мин; окружностями указаны некоторые трещины в клеточной стенке. *f* – дальнейшая фрагментация клеточной стенки после интенсивной механической обработки в течение 3 мин. *1* – полости, соответствующие локализации клеток в живом растении, *2* – транспортные «силикатные» каналы, *3* – отслоившиеся фрагменты клеточных стенок. Ультратонкие срезы, просвечивающая электронная микроскопия. Стрелками показаны слои лигнин-гемицеллюлозного матрикса. Длина масштабных линий соответствует 1,5 мкм.

По сравнению с соломой кукурузы, на ультратонких срезах гроздей масличной пальмы наблюдается более высокая контрастность *(рельефность)* структурных слоёв, и выявляются электронно-прозрачные каналы, отвечающие, по-видимому, за транспорт кремния в тканях (Рисунок 3.55 a и b) [Gama, 1997]. Очевидно, наибольший вклад в различия морфологии клеточных стенок соломин кукурузы и волокон масличной пальмы и, следовательно, различия происходящих процессов дезинтеграции, вносит значительная разница в содержании лигнина.

Анализ и сопоставление полученных результатов с известными данными [Prut 2001; Casale 1979] позволяет предположить последовательность процессов разрушения материала масличной пальмы: на первой стадии перпендикулярно клеточным стенкам образуются трещины, которые распространяются до ближайшего транспортного канала (Рисунок 3.55 c, d). По-видимому, данный характер образования трещин обусловлен тем, что для последовательного разрыва волокон целлюлозы в EFB необходимо затратить меньшее количество энергии, чем на продольное расслоение [Casale, 1979].

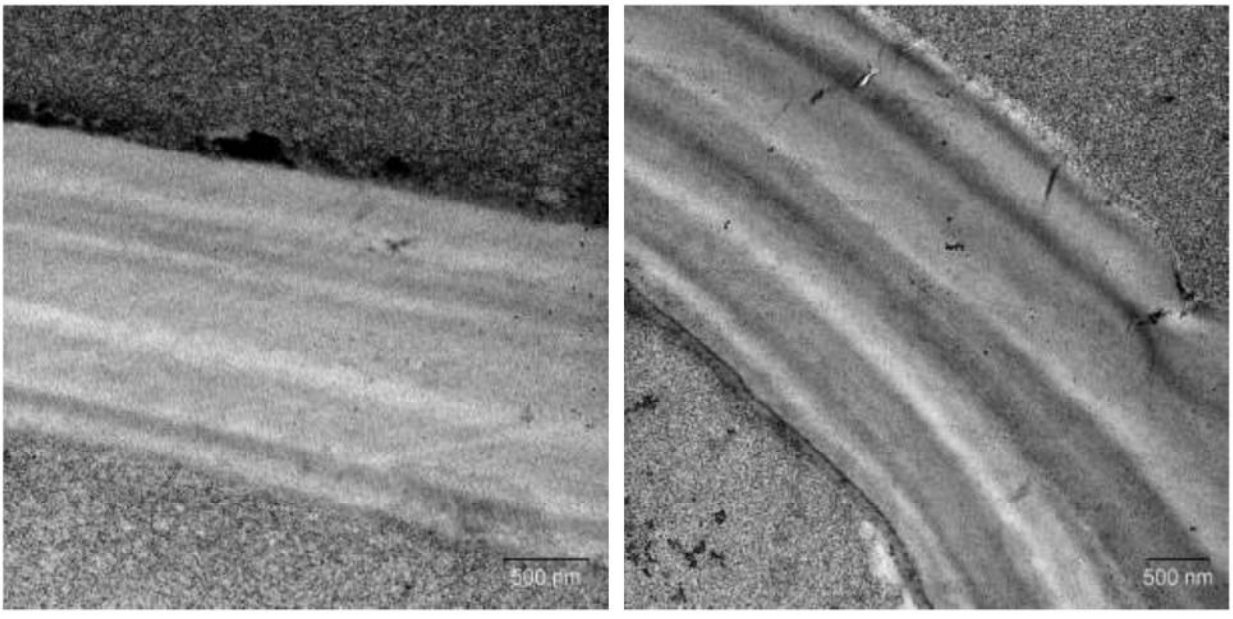
Затем происходит образование и распространение новых, более протяжённых трещин вдоль каналов и обусловленное этим расслоение клеточных стенок (Рисунок 3.55 e). При дальнейшем механическом воздействии происходит фрагментация расслоившихся клеточных стенок по распространяющимся перпендикулярно трещинам с образованием мелких частиц (Рисунок 3.55 f). Для распространения трещин в этом направлении необходимы хрупкие слои с повышенным содержанием лигнина. Химический состав стенок EFB (низкое содержание лигнина) не позволяет трещинам распространяться вдоль структурных слоёв клеточной стенки. По-видимому, роль таких хрупких слоёв в стенках EFB играют транспортные каналы, вдоль которых и распространяются продольные трещины.

Следует отметить, что структурные целлюлозные слои клеточных стенок EFB не претерпевают заметных изменений при интенсивной механической обработке. Вероятно, взаимосвязь между целлюлозными слоями и гемицеллюлозным макриксом в клеточных стенках EFB значительно сильнее, чем в стенках соломы кукурузы. При сопоставимой интенсивности механического воздействия высоколигнифицированные стенки соломы кукурузы фрагментируются с разупорядочением структуры, а низколигнифицированные стенки EFB сохраняют ультраструктуру неизменной и способны образовывать лишь перпендикулярно-направленные трещины в целлюлозных слоях и в участках с локальным повышением хрупкости (транспортные каналы).

Проведенное сравнение низколигнифицированного и лигнифицированного сырья показывает, что строение клеточных стенок определяет характер процессов, сопутствующих разрушению растительного материала с разным содержанием лигнина. Лигнифицированные клеточные стенки соломы кукурузы при измельчении фрагментируются на частицы размером 40-

60 мкм, нарушается их тонкая структура. Можно предположить, что полученные частицы обладают высокой реакционной способностью благодаря не только повышению площади доступной поверхности, но и разупорядочению структуры. Низколигнифицированные клеточные стенки материала EFB масличной пальмы при сопоставимых механических воздействиях фрагментируются на частицы 50-100 мкм. При этом наблюдается образование трещин перпендикулярно клеточным стенкам и вдоль транспортных каналов. Фрагментация сырья масличной пальмы не сопровождается видимым нарушением ультраструктуры клеточных стенок. По-видимому, увеличение реакционной способности биомассы EFB после интенсивной механической обработки обусловлено главным образом увеличением площади поверхности, а для увеличения значимости вклада от разупорядочения структуры необходимо повышение эффективности механической обработки.

Изучение термомеханических превращений высоколигнифицированного растительного сырья показало ряд отличий, обусловленных повышенным содержанием лигнина в клеточных стенках[30]. На рисунке 3.56 представлены микрофотографии высоколигнифицированных клеточных стенок исходного сырья, предварительно измельченного на дезинтеграторе. Отчетливо видно, что клеточные стенки состоят из упорядоченных слоев: электронно-плотные слои обогащены лигнин-гемицеллюлозным матриксом, слои с низкой электронной плотностью – целлюлозой. Можно отметить, что лигнифицированные слои имеют большую электронную плотность, нежели в случае низколигнифицированных объектов.



[30] Подгорбунских, Е. М. Механическая активация ферментативного гидролиза высоколигнифицированного растительного сырья / Е. М. Подгорбунских, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Химия в интересах устойчивого развития. – 2016. – Т. 24:2 – С. 269-275.

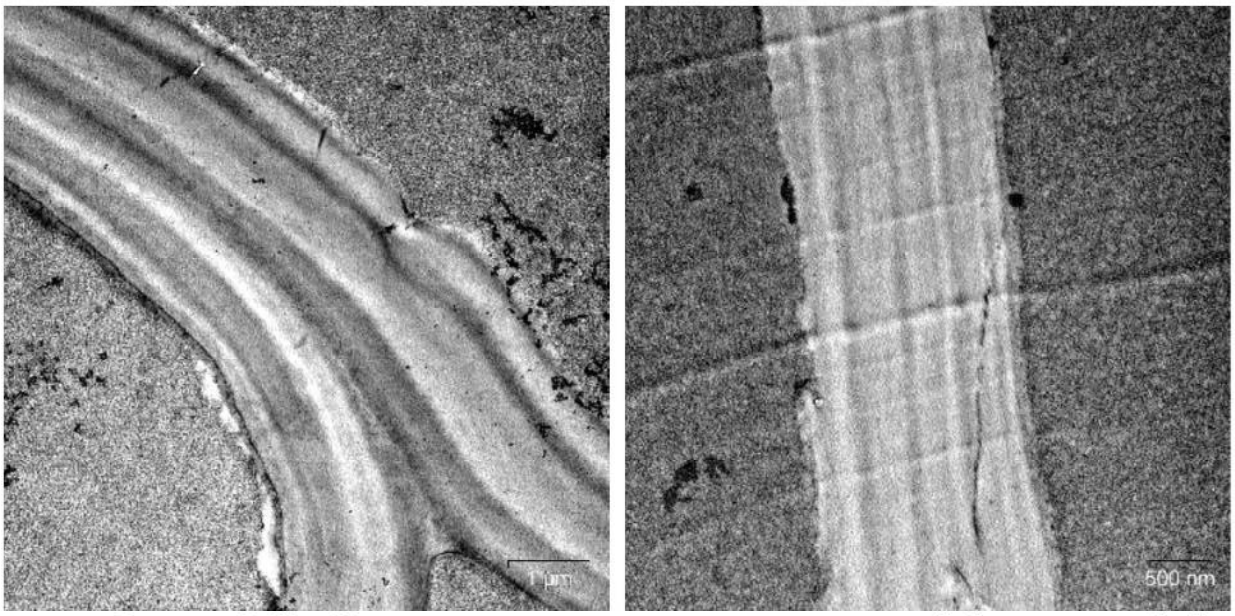


Рисунок 3.56 – Ультраструктура клеточных стенок исходной биомассы стеблей тростника. Ультратонкие срезы, просвечивающая электронная микроскопия.

В результате нагрева образца до температуры 180 ºС происходят значительные изменения структуры, связанные с повышением подвижности расстеклованного лигнина (Рисунок 3.57). Слоистая структура перестаёт прослеживаться, расплавленный лигнин вместо наблюдаемых на рисунке 3.56 протяжённых слоёв образует локальные электроноплотные скопления внутри клеточной стенки. Наблюдаемые поры диаметром 100-400 нм можно связать с разрушением материала при выделении воды и летучих соединений во время превращения исходного лигнина в «псевдолигнин» [Sannigrahi, 2011; Meng, 2017].

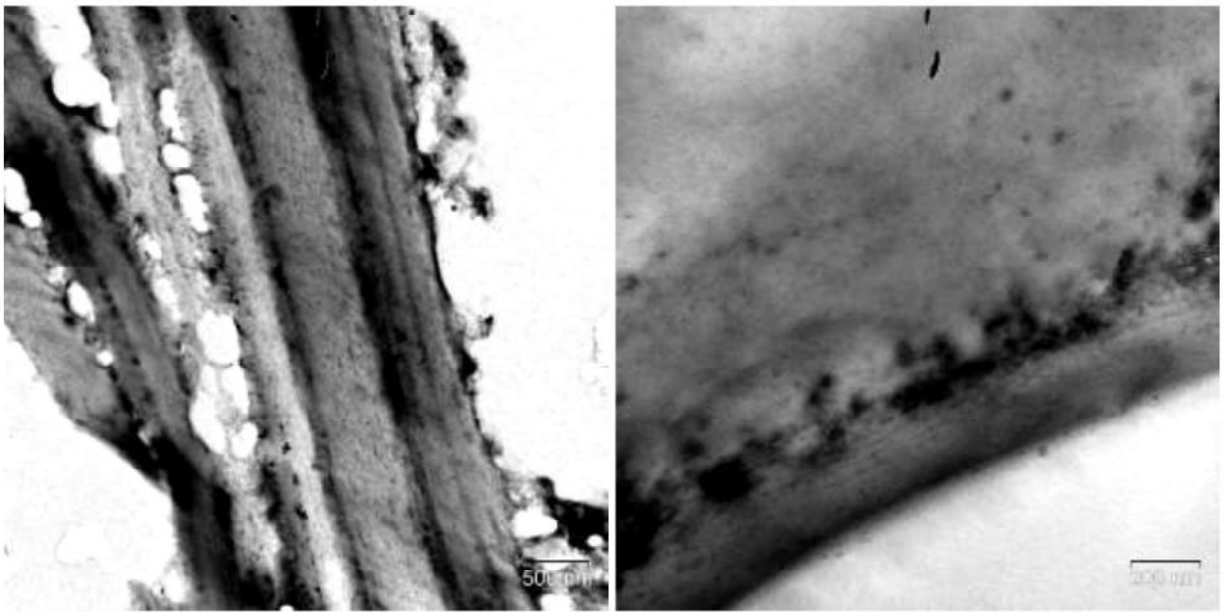
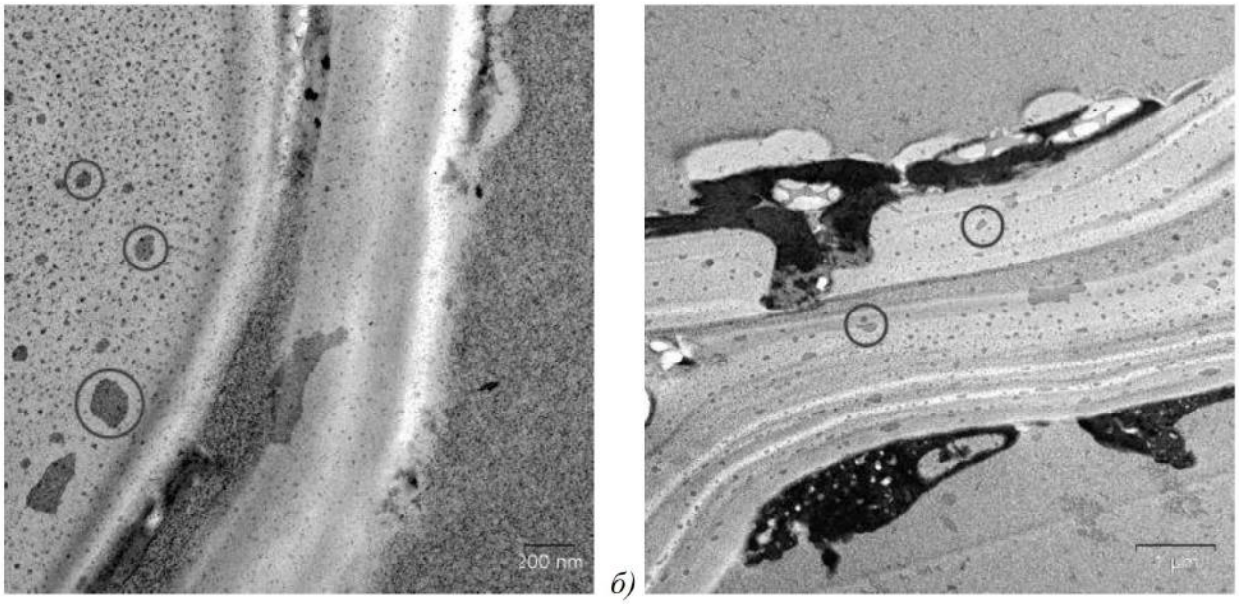


Рисунок 3.57 – Ультраструктура клеточных стенок биомассы тростника, выдержанной при 180 ºС без механической обработки (ультратонкие срезы, просвечивающая электронная микроскопия).

Механическая обработка в условиях сдвигового воздействия при 180°С приводит к значительным изменениям ультраструктуры клеточной стенки (Рисунок 3.58). Расплавленный лигнин покидает структуру клеточных стенок, частично разлагается и образует скопления «псевдолигнина» на поверхности частиц (Рисунок 3.58-б). Частично делигнифицированный материал выглядит на микрофотографиях менее контрастным, внутри клеточных стенок наблюдается множество пор диаметром 10-20 нм, в редких случаях 50-200 нм[31].



а) *б)*

Рисунок 3.58 – Морфология клеточных стенок биомассы тростника после механической обработки при 180°С. Ультратонкие срезы, просвечивающая электронная микроскопия: *а* – общий вид разупорядоченной клеточной стенки; *б* – электронно-плотные участки и поры клеточных стенок.

На первой стадии, при нагревании исходного образца до температуры выше температуры расстекловывания лигнина, происходит локальное перераспределение лигнина в структуре клеточных стенок, образуются разобщённые скопления лигнина. Слои, наблюдаемые в исходных образцах, становятся менее контрастными. Выделение воды и летучих соединений при частичном термолизе лигнина может вызвать разрушение материала и образование макроскопических неоднородностей: пор и трещин. Наблюдаемые изменения супрамолекулярной структуры дают возможность представить процесс термомеханической делигнификации как совокупность стадий[32] (Рисунок 3.59).

---

[31] Подгорбунских, Е. М. Изменения структуры полимеров клеточной стенки при термомеханическом воздействии на высоколигнифицированное растительное сырьё / Е. М. Подгорбунских, Е. И. Рябчикова, А.Л. Бычков, О. И. Ломовский // Доклады Академии наук. – 2017. – Т. 473. – № 2. – С. 181-184.

[32] Bychkov, A. L. The role of mechanical action in the process of the thermomechanical isolation of lignin / A.L. Bychkov, E. M. Podgorbunskikh, E. I. Ryabchikova, O. I. Lomovsky // Cellulose. – 2018. – V. 25. – N. 1. – P. 1-5.

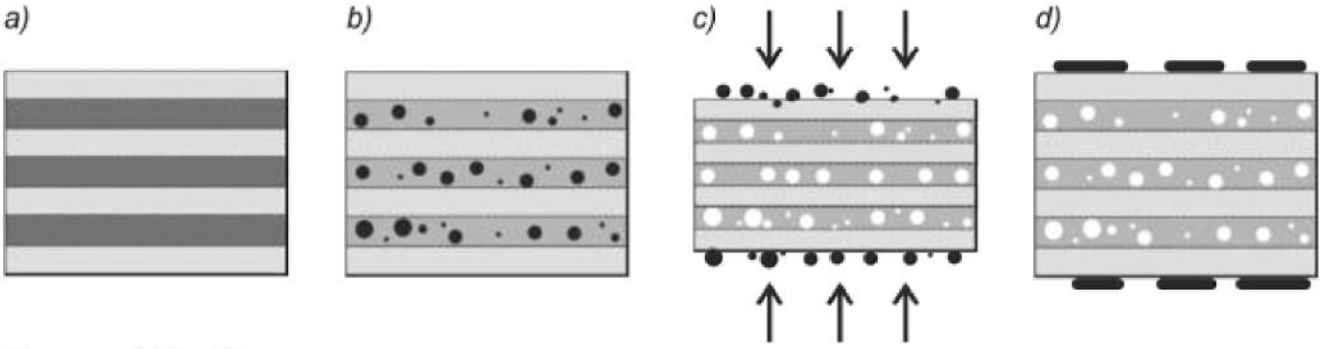


Рисунок 3.59 – Схема, иллюстрирующая протекание термомеханического выделения лигнина: *a* – структура исходной клеточной стенки (более тёмные участки соответствуют лигнифицированным слоям); *b* – структура клеточной стенки при нагреве выше температуры расстекловывания лигнина (чёрными точками показаны скопления расплавленного лигнина); *c* – покидание лигнином клеточной стенки при механическом воздействии (стрелками указано направление прикладываемых сил), *d* – структура клеточной стенки после снятия механического напряжения (лигнин распределен по поверхности частиц).

При кратковременном механическом воздействии на нагретый образец (Рисунок 3.59-*c*) происходит удаление лигнина из структуры, в том числе через макроскопические неоднородности в материале. После снятия механического напряжения в ультраструктуре клеточной стенки появляются поры, а лигнин и продукты его разложения распределяются по поверхности. Можно заключить, что механическое воздействие играет решающую роль в недиффузионном удалении лигнина из структуры, в то время как нагревание способствует повышению подвижности макромолекул и предварительному перераспределению лигнина в клеточных стенках.

Таким образом, обнаруженные морфологические изменения предполагают изменение реакционной способности в последующих гетерогенных процессах, не только благодаря рассмотренному выше увеличению удельной площади поверхности и снижению доли кристаллических участков целлюлозы, но и благодаря ультраструктурным изменениям, таким как перераспределение полимеров по объему частиц, разложение полифенольных макромолекул, образование новой поверхности с иным химическим составом.

При этом строение клеточных стенок определяет характер процессов, сопутствующих разрушению растительного материала с разным содержанием лигнина. Лигнифицированные клеточные стенки при измельчении фрагментируются на мелкодисперсные частицы (средний размер размером 40-60 мкм), нарушается их тонкая структура. Можно предположить, что полученные частицы обладают высокой реакционной способностью благодаря не только повышению площади доступной поверхности, но и разупорядочению структуры. Низколигнифицированные клеточные стенки при сопоставимых механических воздействиях

фрагментируются на более крупные частицы (средний размер 50-100 мкм). При этом фрагментация не сопровождается значимым нарушением ультраструктуры клеточных стенок.

В случае обработки высоколигнифицированных материалов наблюдается перераспределение полифенолов в структуре клеточных стенок, частичное разложение лигнина и образование большого количества пор, обуславливающих высокие значения удельной площади поверхности, не доступной для реагентов из-за ингибирующего слоя лигнина.

3.6. Механохимические реакции, протекающие с участием полифенольных полимеров (на примере окисления гуминовых кислот)

В данной главе представлены результаты исследования механизма реакций, протекающих при механохимической модификации гуминовых кислот бурого угля в присутствии твердофазного окислительного реагента – перкарбоната натрия, а также изменений состава и свойств гуминовых кислот, происходящих в результате реакций. В первую очередь было исследовано воздействие механической обработки на перкарбонат натрия и бурый уголь по отдельности.

Влияние механического воздействия на перкарбонат натрия

Перкарбонат натрия является твердофазным пероксидным соединением, широко применяемым в органическом синтезе в качестве окислителя благодаря исключительной стабильности при хранении и отсутствию ударной чувствительности, доступности и низкой стоимости. Вещество является нетоксичным, а продукты его восстановления (карбонаты) считаются неопасными для окружающей среды [McKillop, 1995; Westerhoff, 1999]. Хотя наиболее частым применением перкарбоната натрия является использование в качестве источника перекиси водорода в растворах при отбеливании [Жубриков, 2009], растет число работ, в которых реагент применяется в органическом синтезе в качестве окислителя функциональных групп.

Название «перкарбонат натрия» не отражает реальной структуры данного реагента. На самом деле, состав вещества описывается формулой $2Na_2CO_3*3H_2O_2$. Вещество формирует бесцветные кристаллы ромбической сингонии, в кристаллической решетке которых между слоями, образованными сольватными молекулами H_2O_2, связанными с ионами CO_3^{2-} водородными связями, находятся ионы Na^+ [Carrondo, 1977]. Размеры элементарной ячейки a = 9.183, b = 15.745 (1), c = 6.730 (1) Å, пространственная группа Aba2, Z = 8. В связи с тем, что перекись водорода связана слабыми водородными связями, она довольно легко замещается водой, что приводит к разрушению кристаллической структуры.

Разложение перкарбоната натрия в присутствии воды является автокаталитическим процессом и может быть представлено уравнениями [Liu, 2004]:

$$Na_2CO_3 \cdot 1.5H_2O_2 \xrightarrow{H_2O} NaHCO_3 + OH^- + 1.5H_2O_2 \quad (1)$$

$$OH^- + H_2O_2 \rightarrow H_2O + OOH^- \quad (2)$$

$$OOH^- \rightarrow [O] + OH^- \quad (3)$$

$$2[O] \rightarrow O_2 \qquad (4)$$

Изменения структуры перкарбоната натрия, происходящие в результате механического воздействия в мельнице-активаторе планетарного типа АГО-2 были исследованы при помощи рентгенофазового анализа и термогравиметрии.

По виду рентгенограмм перкарбоната натрия, представленных на рисунке 3.60, можно сделать вывод, что в результате механической обработки перкарбоната натрия в данных условиях не происходит образования новых кристаллических фаз. Уменьшение всех пиков, присутствующих в рентгенограмме вещества до обработки, может свидетельствовать о частичной аморфизации вещества. Эти выводы подтверждаются результатами термогравиметрического исследования исходного и прошедшего механическую обработку твердофазных образцов перкарбоната натрия, представленного на рисунке 3.61.

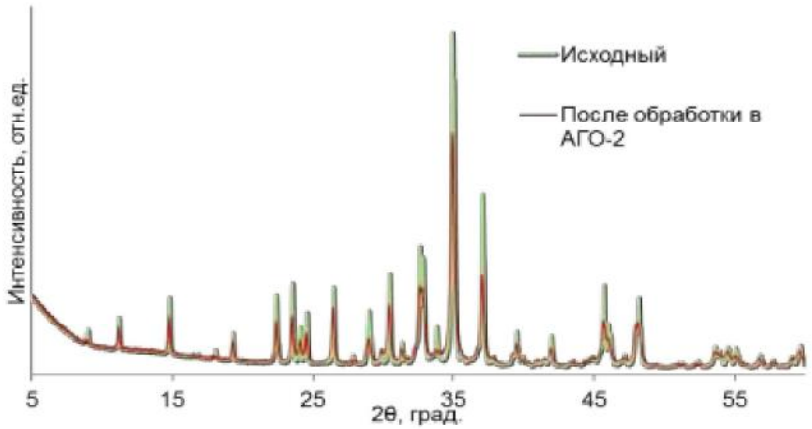


Рисунок 3.60 – Рентгенограммы исходного и механически активированного перкарбоната натрия

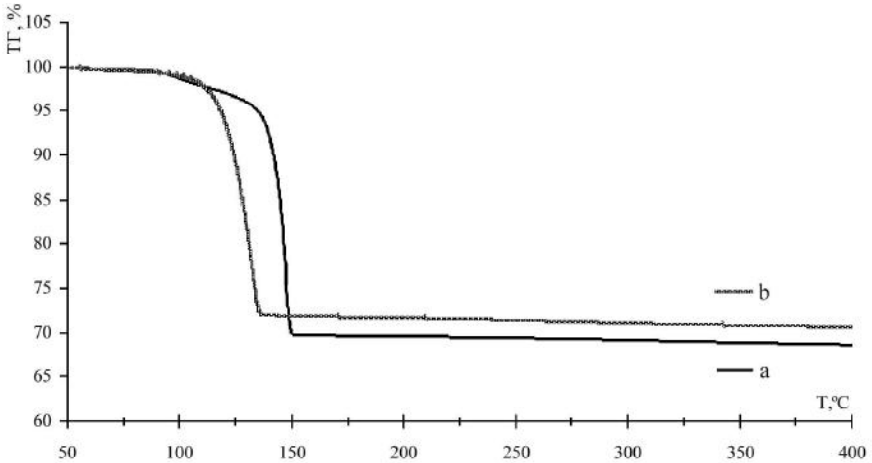


Рисунок 3.61 – Результаты термогравиметрического анализа перкарбоната натрия до *(a)* и после твердофазной механической обработки *(b)*.

Термическое разложение перкарбоната натрия проходит согласно уравнению:

$$4Na_2CO_3 \cdot 1.5H_2O_2 \xrightarrow{140^{\circ}} 4Na_2CO_3 + 6H_2O + 3O_2$$

Из рисунка 3.61 видно, что для механически обработанного образца температура начала разложения и потеря массы меньше, чем в случае исходного соединения, что может говорить о том, что во время механической обработки происходит увеличение реакционной способности и частичное разложение перкарбоната натрия.

Исследование твердофазной реакции гуминовых кислот с перкарбонатом натрия

Ниже представлены результаты механохимической обработки бурого угля с перкарбонатом натрия в лабораторной мельнице-активаторе планетарного типа АГО-2 в сравнении с другими реагентами[33]. О прохождении твердофазной реакции в результате механической активации в первую очередь свидетельствуют изменения кислотно-щелочных свойств смесей до и после обработки, представленные в таблице 3.26.

Таблица 3.26 – Изменение pH смеси реагентов в результате механической активации (МА)

	pH суспензии (1:10 в воде)	
	до МА	после МА
Бурый уголь без добавок	5,4	5,4
Бурый уголь + Na_2CO_3	10,5	7,0
Бурый уголь + NaOH	11,7	8,7
Бурый уголь + $2Na_2CO_3*3H_2O_2$	10,4	7,3

Видно, что присутствующие в смеси щелочные реагенты существенно повышают pH, причем они расходуются в процессе обработки, что отражается в более низком показателе кислотности мехактивированной смеси.

Проведение дополнительных экспериментов позволяет определить роль механической активации в прохождении реакции, вклад щелочной и окислительной компонент перкарбоната натрия в увеличение выхода гуминовых кислот, сформулировать основы процесса, приводящего к увеличению содержания функциональных групп.

Работы по механохимической обработке бурого угля и торфа с целью увеличения экстрагируемости гуминовых кислот обычно основаны на использовании твердофазной реакции со щелочами, главным образом, с гидроксидом натрия. Эффект такой обработки заключается в переводе гуминовых кислот в форму гумата натрия, обладающего более высокой растворимостью по сравнению с протонированной формой гуминовых кислот.

[33] Скрипкина, Т. С. Твердофазные механохимические реакции гуминовых кислот бурого угля с перкарбонатом натрия / Т. С. Скрипкина, А. Л. Бычков, В. Д. Тихова, О. И. Ломовский // Химия твердого топлива. – 2018. – № 6. – С. 16-20.

Для проверки вклада щелочной составляющей перкарбоната натрия были проведены параллельные эксперименты, в которых бурый уголь механохимически обрабатывался в присутствии эквивалентного количества перкарбоната и карбоната натрия. Зависимость выхода водорастворимых гуминовых кислот от влажности бурого угля в данных экспериментах, построенная на рисунке 3.62, позволяет сделать некоторые выводы о различиях в механизме протекающих процессов.

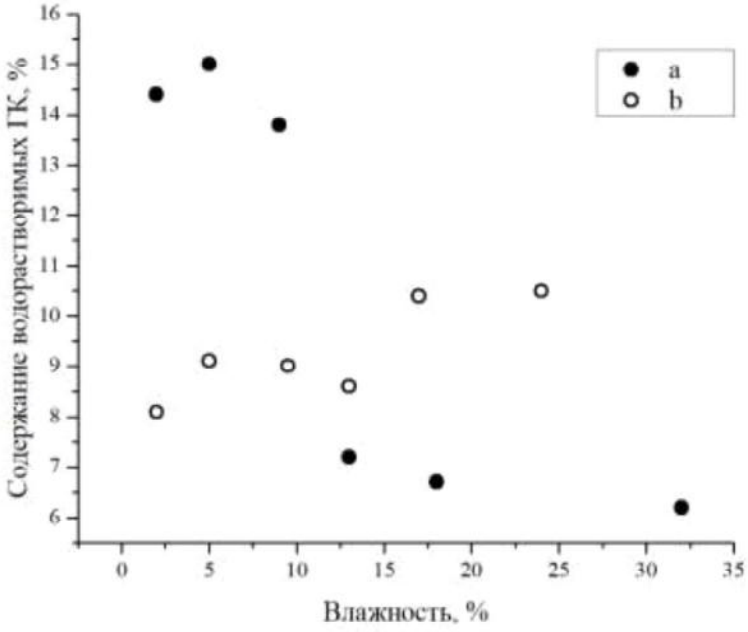


Рисунок 3.62 – Увеличение выхода водорастворимых гуминовых кислот в результате реакции бурого угля с *a)* перкарбонатом натрия, *b)* карбонатом натрия, в зависимости от содержания воды в смеси перед механообработкой.

При влажности угля в районе 13 % реакции с перкарбонатом и карбонатом натрия приводят к одинаковым выходам водорастворимых гуминовых кислот. В случае карбоната натрия увеличение влажности смеси приводит к увеличению выхода. В то же время при обработке бурого угля с перкарбонатом натрия эффект противоположный: увеличение влажности угля до 13% практически не влияет на результат обработки, а снижение влажности приводит к существенному повышению выхода водорастворимых гуминовых кислот.

Фаза воды играет важную роль в протекании твердофазных механохимических реакций. С увеличением влажности вещества вода меняет форму со связанной на свободную, обладающую физико-химическими свойствами воды, одним из которых является высокая диэлектрическая проницаемость. Для определения влажности угля, при которой вода меняет форму со связанной на свободную, были проведены эксперименты, в которых бурый уголь разной влажности был спрессован в таблетки, которые можно представить в виде конденсатора и измерить его ёмкость, которая пересчитывается в единицы диэлектрической проницаемости. Экспериментально исследована ёмкость конденсатора, заполненного исследуемым веществом,

в зависимости от влажности образца в различных диапазонах частот. На рисунках 3.63 и 3.64 представлена зависимость относительной диэлектрической проницаемости бурого угля в зависимости от влажности.

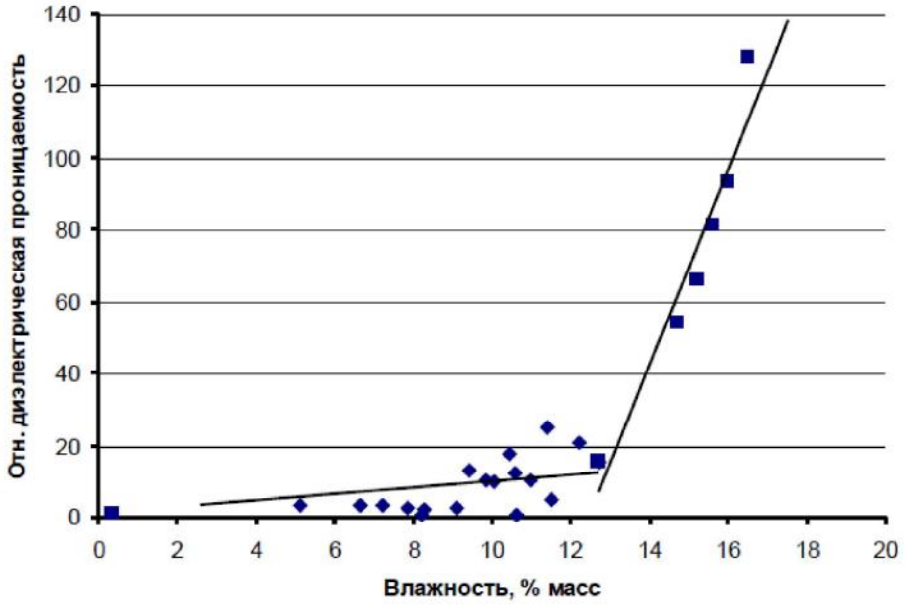


Рисунок 3.63 – Относительная диэлектрическая проницаемость образцов бурого угля в зависимости от содержания воды. Частота электромагнитного поля 100 Гц.

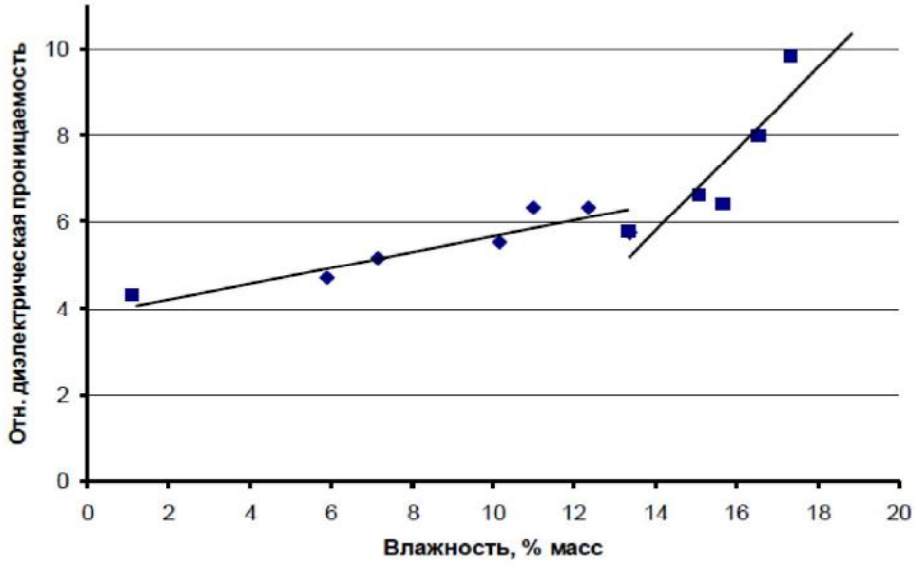


Рисунок 3.64 – Относительная диэлектрическая проницаемость образцов бурого угля в зависимости от содержания воды. Частота электромагнитного поля 1 МГц.

Диэлектрическая проницаемость образцов, вычисленная при режиме частоты электромагнитного поля 100 Гц, растет при росте влагосодержания от 0 до 13 % от 1 до 15 единиц. В районе 13 % происходит ускорение роста диэлектрической проницаемости, отражающее как изменение подвижности диполей воды в образце, так и образование агломератов молекул воды. Для исключения влияния поляризационных эффектов и

геометрического строения образца проведены контрольные измерения при частоте 1МГц (Рисунок 3.64).

Значения диэлектрической проницаемости системы лежат в интервале 4-10 единиц. Полученная зависимость так же имеет точку перегиба в районе значения влажности 13 %. Можно сделать вывод, что при влажности от 13% и выше в реагирующей смеси появляется фаза воды, которая способствует прохождению реакции при обработке с карбонатом натрия и, напротив, препятствует прохождению реакции с перкарбонатом натрия. Данное различие показывает, что присутствие в смеси окислителя – перекиси водорода в составе перкарбоната натрия изменяет механизм прохождения реакции и приводит к увеличению выхода водорастворимых гуминовых кислот.

Окисление органических соединений перекисью водорода проходит главным образом по радикальному механизму с участием радикалов ·OH, HO_2·, которые активно взаимодействуют с органическими соединениями. Для определения вклада радикального окисления в прохождение процесса проведены эксперименты с добавлением аскорбиновой кислоты, являющейся ловушкой радикалов [Bendich, 1986; Deutsch, 1998].

Снижение выхода гуминовых кислот в экспериментах с добавлением ловушки радикалов (Таблица 3.27) свидетельствует о существенном вкладе механизма радикального окисления в прохождение реакции органического вещества угля с перкарбонатом натрия.

Таблица 3.27 – Результаты обработки бурого угля с перкарбонатом натрия в присутствии аскорбиновой кислоты

Условия обработки	Выход гуминовых кислот, %
МА без добавки аскорбиновой кислоты	16 ± 1
МА с аскорбиновой кислотой	6,3 ± 0,5

Таким образом, показан преимущественный вклад окислительных процессов, идущих по радикальному механизму, в прохождение твердофазной реакции перкарбоната натрия с органическим веществом бурого угля при влажности исходного угля менее 12%. При большей влажности угля основной вклад в увеличение растворимости вносит образование солей гуминовых кислот.

Изменение структуры гуминовых кислот в результате щелочного и окислительного воздействия

В таблице 3.28 приведены результаты элементного анализа гуминовых кислот, выделенных из угля до и после механохимической обработки с перкарбонатом натрия. Результаты элементного анализа показывают повышенные содержания кислорода в образцах гуминовых

кислот по отношению к исходному бурому углю, однако, значения соотношений H/C, O/C и H/O, используемые для оценки степени окисления гуминовых кислот, перекрываются в области доверительных интервалов, в связи с чем метод элементного анализа оказался малоинформативным для изучаемых образцов. Повышенная зольность образцов ГК исходного угля может свидетельствовать о наличии в исходном угле комплексов металлов, которые не полностью удаляются при процедуре выделения гуминовых кислот и их очистке катионитом.

Таблица 3.28 – Результаты элементного анализа бурого угля и гуминовых кислот бурого угля

Показатель	Образцы бурого угля		Гуминовые кислоты, выделенные из бурого угля	
	Исходного	МА с перкарбонатом	Исходного	МА с перкарбонатом
C	65,0 ± 0,1	64,3 ± 0,3	59,2±0,6	60,4±0,7
H	4,4 ± 0,3	4,5 ± 0,2	4,26±0,09	4,1±0,1
N	0,76 ± 0,08	0,7± 0,1	0,6±0,4	0,7±0,4
O	25,5±0,1	27,2 ± 0,4	32,0±0,1	29,6±0,1
Зола	11,3±0,6	12,5±0,5	7±1	1,8±0,2
H/C	0,8 ± 0,1	0,8±0,1	0,86±0,08	0,81±0,08
O/C	0,29±0,01	0,31±0,01	0,40±0,02	0,37±0,02
H/O	2,8±0,4	2,6±0,6	2,1±0,1	2,2±0,1

ИК-спектры гуминовых кислот, выделенных из бурого угля до и после механохимической обработки, представлены на рисунке 3.65.

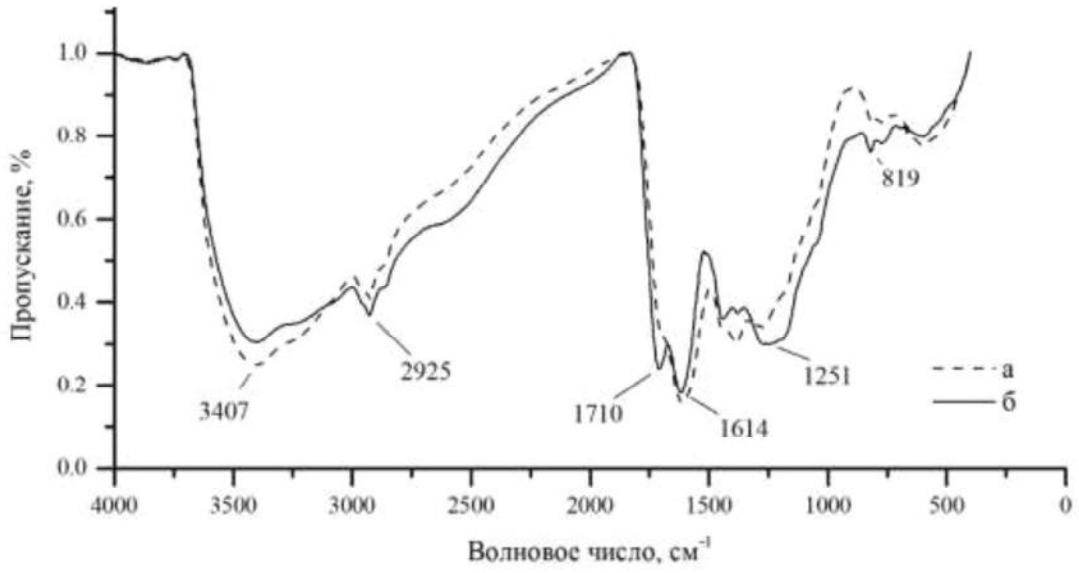


Рисунок 3.65 – ИК-спектры гуминовых кислот, выделенных из бурого угля: *а* – исходного, *б* – МА с перкарбонатом натрия.

Основные три характерные полосы ИК-спектров гуминовых кислот в полной мере присутствуют в исследованных образцах: 3400 $см^{-1}$ (валентные колебания OH, связанных водородной связью), 1710-1725 $см^{-1}$ (валентные колебания C=O карбоксильных групп) и 1610-1615 $см^{-1}$ (плоскостные колебания C=C сопряженных групп в ароматических структурах).

Для всех гуминовых кислот характерны полосы валентных колебаний алифатических CH_2-групп - 2926 и 2853 $см^{-1}$, причем метиленовые цепочки (-CH_2-) недлинные, т.к. при n больше 4 должно быть сильное поглощение при 720 $см^{-1}$, но оно не было обнаружено ни в одном образце гуминовых кислот. Во всех исследованных образцах обнаруживаются и концевые CH_3 группы, их полосы 2962 и 2872 $см^{-1}$ меньшей интенсивности частично перекрываются полосами метиленовых групп.

Полоса 1610-1625 $см^{-1}$, соответствующая валентным колебаниям C=C сопряженных групп в ароматических структурах, включающих кислородсодержащие группировки типа хинонов, гидроксилхинонов и др., а также азотсодержащие гетероциклы, практически не зависит от происхождения, обработки, зольности ГК, она не исчезает при гидролизе. Возможно, эта полоса отвечает за устойчивое к различного рода воздействиям «ядро» ГК, поэтому данную полосу иногда используют для нормирования ИК-спектра, и определения соотношений между отдельными группировками атомов. Применение данного приема является весьма спорным, поскольку для ИК спектров (в отличие от ЯМР) высота (площадь) полосы и количество групп атомов соотносятся с разными коэффициентами. Исследованные образцы гуминовых кислот имеют слабо развитую часть спектра в области 1000-1150 $см^{-1}$, колебания в этой области обычно относят к С-О связям различного происхождения (спирты, полисахариды, простые и циклические эфиры и т.п).

Для гуминовых кислот угля, подвергнутого механохимической обработке, наблюдается увеличение поглощения вблизи 1250 $см^{-1}$, которое, в сочетании с полосой 1400 $см^{-1}$, относится к деформационным колебаниям ОН и валентным колебаниям С-О в фенольных и ароматических группах, соответственно [Тайц, 1983; Zherebtsov, 2017].

Образец гуминовых кислот, выделенных из механохимически обработанного бурого угля, характеризуется выраженной полосой 1710-1725 $см^{-1}$ (С=О-группа преимущественно в карбоксильных группах). Данная полоса у образца, выделенного из бурого угля, не прошедшего механохимическую обработку, отдельно не обнаруживается, сливаясь с полосой 1610-1612 $см^{-1}$ и присутствуя на ней в виде плеча. Это свидетельствует о том, что образцы, выделенные из исходного бурого угля, ближе к гуматам металлов, чем к гуминовым кислотам.

Карбоксильные группы гуминовых кислот исходного угля частично находятся в форме прочных комплексов, которые не диссоциируют в водном растворе, не вступают в реакции с гидроксидом натрия и не обмениваются на ионы H^+ на катионите. Карбоксильные и фенольные группировки гуминовых кислот, расположенные в соседних положениях на ароматических структурах гуминовых молекул, обладают высокой способностью к комплексообразованию со многими металлами. Данные о комплексообразующей способности гуминовых кислот свидетельствуют о широком диапазоне констант устойчивости комплексов металлов с

гуминовыми кислотами [Abate, 2001; Ghabbour, 2006]. Можно заключить, что металлы, обеспечивающие высокую зольность образцам из необработанного угля, связаны с карбоксильными группами гуминовых кислот. Механохимическая обработка в присутствии перкарбоната натрия приводит к разрушению этих комплексов, очистке карбоксильных групп гуминовых кислот бурого угля и появлению новых групп.

Таким образом, увеличение экстрагируемости гуминовых кислот в результате твердофазной механохимической реакции бурого угля с перкарбонатом натрия достигается при участии механизма радикального окисления полифенольных структур, в результате которого также происходит образование новых фенольных и карбоксильных групп и разрушение устойчивых комплексов с металлами[34].

Механохимическая обработка угля с щелочным и щелочно-окислительным реагентами в различных условиях

Для определения оптимальной добавки окисляющего реагента проводили механохимические эксперименты при фиксированной влажности бурого угля (13%) и времени обработки (2 минуты)[35]. Выходы экстрагируемых раствором гидроксида натрия и водой гуминовых кислот, по которым оценивалась эффективность обработки, представлены в таблице 3.29.

Таблица 3.29. Результаты механохимической обработки бурого угля с варьируемым количеством добавки перкарбоната натрия, время воздействия 2 минуты

Доля $Na_2CO_3 \cdot 1{,}5H_2O_2$ в реакц. смеси, %	Щелочерастворимые ГК, (%)	Водорастворимые ГК, (%)
0	35 ± 1	2,8 ± 0,1
2	56 ± 2	3,0± 0,1
3,5	55 ± 2	6,3 ± 0,2
5	59 ± 2	9,8 ± 0,5
7	59 ± 2	8,4 ± 0,4
10	60 ± 2	8,9± 0,4

Максимальная эффективность обработки в этих условиях достигается при добавке перкарбоната, равной 5%. Дальнейшее увеличение добавки перкарбоната является излишним. Аналогично определяли оптимальное время обработки (Таблица 3.30).

---

[34] Уразова, Т. С. Механохимическая модификация структуры гуминовых кислот бурого угля для получения сорбента тяжёлых металлов / Т. С. Уразова, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Журнал прикладной химии. – 2014. – Т. 87: 5. – С. 664-668.

[35] Skripkina, T. S. Mechanochemically oxidized brown coal and the effect of its application in polluted water / T.S. Skripkina, A. L. Bychkov, V. D. Tikhova, B. S. Smolyakov, O. I. Lomovsky // Environmental Technology and Innovation. – 2018. – V. 11. – P. 74-82.

Таблица 3.30 – Результаты механохимической обработки бурого угля с варьируемым временем воздействия

Бурый уголь + 5% $Na_2CO_3 \cdot 1{,}5H_2O_2$, Время обработки	Выход водорастворимых гуминовых кислот, %
1 минута	6,8
2 минуты	9,9
3 минуты	4,2
5 минут	2,8

Данные, представленные в таблице 3.30, показывают, что максимальная эффективность при добавке перкарбоната натрия (5 %) и исходной влажности угля (13 %) достигается при времени воздействия около 2 минут. Дальнейшее увеличение времени обработки снижает выход гуминовых кислот в конечном продукте (по-видимому, из-за избыточного окисления и частичного разложения гуминовых кислот) и приводит к излишним потерям энергии на обработку.

В эксперименте по определению оптимальной влажности обрабатываемого бурого угля было установлено, что в диапазоне от 10 до 15 % влажности находится значение, при котором происходит резкое снижение эффективности обработки бурого угля при исследуемых условиях (Рисунок 3.66). Исходный уголь имеет влажность 13 %. Лучшим результатом экспериментов при фиксированной влажности, полученным в первых двух пунктах (зависимость от добавки реагента и зависимость от времени) является 10% выход водорастворимых гуминовых кислот. Предварительная сушка бурого угля позволяет увеличить этот показатель до 15%.

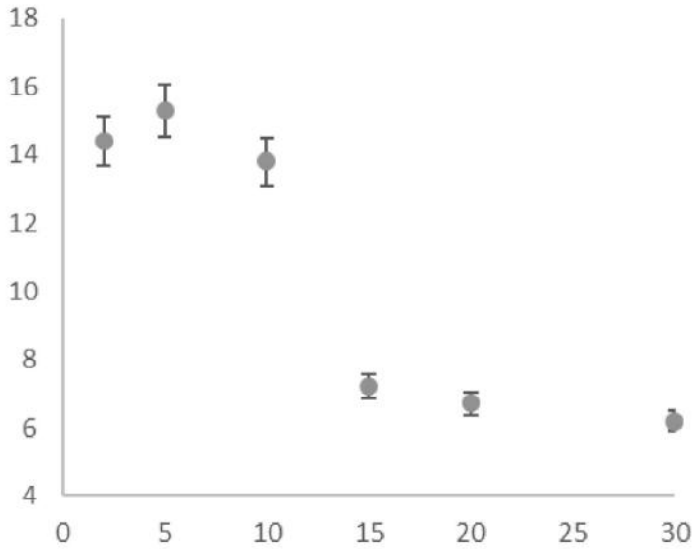


Рисунок 3.66 – Зависимость эффективности прохождения механохимической реакции от влажности исходного угля.

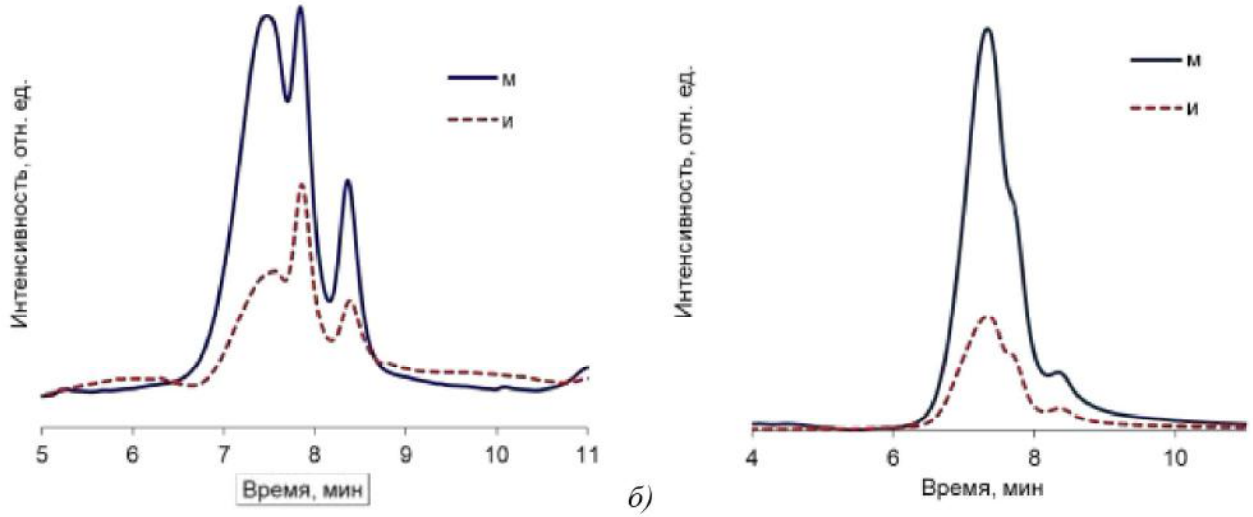
Таким образом, оптимальными условиями обработки бурого угля с перкарбонатом натрия являются: влажность исходного угля, лежащая в диапазоне от 2 до 10 %, добавка

щелочно-окислительного реагента, равная 5 %, время обработки, равное 2 минутам. При обработке в данных условиях удаётся достичь максимальной эффективности прохождения реакции при минимальных затратах реагентов и подведенной механической энергии.

Результаты механохимической модификации структуры гуминовых кислот в буром угле в оптимальных условиях

Проведены эксперименты по проведению механохимической реакции бурого угля с перкарбонатом натрия в описанных в предыдущей главе оптимальных условиях обработки.

Для проверки отсутствия разрушений гуминовых кислот в результате обработки получены кривые молекулярно-массового распределения гуминовых кислот в исходном и обработанном буром угле, представленные на рисунке 3.67.



а) *б)*

Рисунок 3.67 – Молекулярно-массовое распределение гуминовых кислот образцов бурого угля: *м* – после механохимической обработки с Na2CO3·1.5H2O2, *и* - исходного угля. *а)* рефрактометр, *б)* УФ-детектор.

Кривые молекулярно-массового распределения гуминовых кислот образцов схожи и отличаются интенсивностями трёх максимумов, соответствующих молекулярным массам в 22,6; 9,7 и 3,6 кДа[36]. Это даёт подтверждение того, что механохимическая обработка в выбранных условиях не приводит к разрушению макромолекул гуминовых кислот.

Увеличение степени извлечения подтверждено химическим анализом. В результате механохимической обработки бурого угля повышается выход как экстрагируемых щелочными растворами, так и водорастворимых гуминовых веществ (Таблица 3.31).

[36] Уразова, Т. С. Влияние механохимической обработки бурого угля на молекулярно-массовое распределение гуминовых кислот в его составе / Т. С. Уразова, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Приволжский научный вестник. 2015. – № 10:50 – С. 16-19.

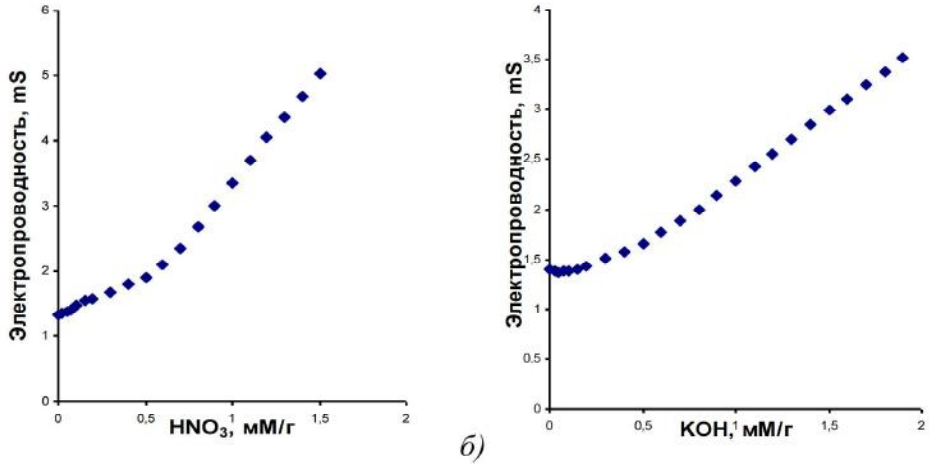
Таблица 3.31 – Содержание гуминовых кислот в буром угле до и после механохимической обработки с различными реагентами

Образец	Содержание растворимых в щелочи гуминовых веществ, % от массы угля	Содержание водорастворимых гуминовых веществ, % от массы угля
Исходный уголь	23,6 ± 0,4	1,6 ± 0,2
Обработка с NaOH	55 ± 4	13 ± 1
Обработка с $Na_2CO_3 \cdot 1{,}5H_2O_2$	70 ± 3	15 ± 0,5

Использование в качестве реагента гидроксида натрия увеличивает выход гуминовых веществ за счёт превращения гуминовых кислот в более растворимую форму – гумат натрия. В случае использования перкарбоната натрия $Na_2CO_3 \cdot 1{,}5H_2O_2$ наблюдается повышенное увеличение растворимости гуминовых кислот бурого угля. Вероятно, оно достигается за счет дополнительного окисления полифенольных фрагментов гумата натрия перекисью водорода из состава перкарбоната натрия.

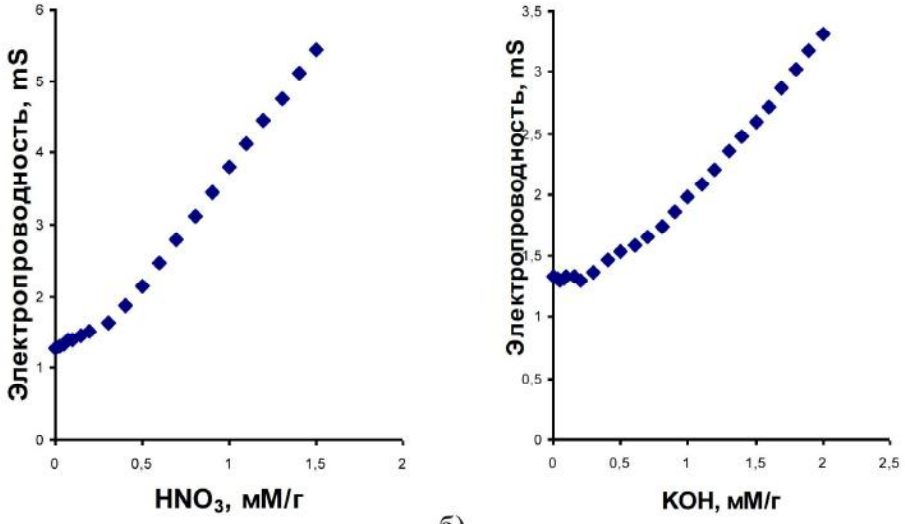
Оценка содержания групп кислотного и щелочного характера

Для определения способных к ионному обмену функциональных групп проводили кондуктометрическое титрование сорбентов (Рисунки 3.68-3.69 и Таблица 3.32).



а) *б)*

Рисунок 3.68 – Кондуктометрическое титрование бурого угля, обработанного с гидроксидом натрия.



а) б)

Рисунок 3.69 – Кондуктометрическое титрование бурого угля, обработанного с перкарбонатом натрия.

Таблица 3.32 – Обще содержание групп кислотного и щелочного характера согласно результатам кондуктометрического титрования

Образец	Количество групп, титруемых HNO_3, ммоль/г	Количество групп, титруемых KOH, ммоль/г
Уголь, обработанный с NaOH	11,6 ± 0,6	12,5 ± 0,6
Уголь, обработанный с $Na_2CO_3 \cdot 1,5H_2O_2$	7,5 ± 0,4	16,5 ± 0,8

Приведенные данные отражают высокое содержание функциональных групп в исследуемых образцах механохимически обработанного бурого угля. У сорбента на основе гумата натрия кислотные и основные функциональные группы сопоставимы по содержанию. В составе бурого угля, окисленного перкарбонатом натрия, преобладают кислотные группы, титруемые щелочью. Разное соотношение кислотных и основных групп для исследуемых образцов так же отражено ниже на кривых потенциометрического титрования.

Определение содержания функциональных групп в образцах бурого угля до и после окислительной механохимической обработки было проведено при помощи обратного потенциометрического титрования[37]. На рисунке 3.70 представлены кривые титрования, по которым были рассчитаны содержания функциональных групп кислотного характера, представленные в таблице 3.33

[37] Уразова, Т. С. Механохимическое получение гуминовых сорбентов тяжёлых металлов : в монографии: Экология Российской Федерации: обзор проблем, динамики, текущего состояния и перспектив / Т. С. Уразова, А. Л. Бычков, О. В. Шуваева, О. И. Ломовский. – Пермь: Изд-во ООО «Стиль-МГ» по заказу ФГБУ «Центральное бюро информации Минприроды России», 2013. – С. 132-150.

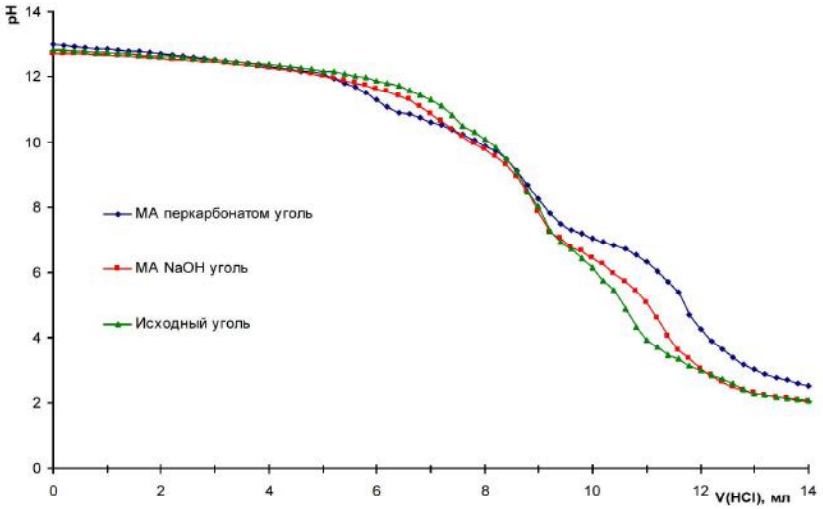


Рисунок 3.70 – Кривые потенциометрического титрования препаратов углей.

Таблица 3.33 – Содержание функциональных групп в буром угле до и после механохимической обработки с различными реагентами

Образец	Содержание функциональных групп, ммоль/г		
	Ar-OH	Ar-COOH	Alk-COOH
Исходный уголь	5,8 ± 0,7	2,2 ± 0,3	0,9 ± 0,1
Уголь, обработанный с NaOH	6,6 ± 0,7	2,2 ± 0,2	2,6 ± 0,3
Уголь, обработанный с $Na_2CO_3 \cdot 1{,}5H_2O_2$	9,0 ± 0,9	2,7 ± 0,3	3,6 ± 0,4

Так, процесс механохимического перевода гуминовых кислот бурого угля в форму гумата натрия, который происходит при обработке гуминсодержащего сырья с гидроксидом натрия, не сопровождается образованием новых функциональных групп. В то же время обработка угля с перкарбонатом натрия увеличивает содержание фенольных и карбоксильных функциональных групп, что подтверждает прохождение реакции, указанной выше. Бурый уголь, прошедший механохимическую обработку с перкарбонатом натрия, содержит на 55% больше фенольных (Ar-OH) и на 103% больше карбоксильных (сумма *Ar-COOH и R-Cn-COOH*) групп по сравнению с исходным углем. Повышенное содержание функциональных групп обеспечивает бурому углю хорошую сорбционную ёмкость по отношению к ионам тяжёлых металлов.

Таким образом, что механохимическая обработка в присутствии перкарбоната натрия приводит к увеличению содержания гуминовых кислот за счет окисления бурого угля, и сопровождается увеличением содержания фенольных и карбоксильных групп гуминовых кислот. Для сравнения, механохимическая обработка бурого угля со щелочным реагентом приводит к увеличению выхода гуминовых кислот за счет перевода в форму гумата натрия, при этом не происходит увеличения содержания функциональных групп.

Увеличение выхода гуминовых кислот в результате механохимической реакции бурого угля с перкарбонатом натрия реализуется благодаря механизму радикального окисления полифенольных структур, в результате которого также происходит образование новых фенольных и карбоксильных групп. Продемонстрирован вклад свободнорадикального окисления в суммарном воздействии перкарбоната натрия на органическое вещество бурого угля. Ведущий вклад свободнорадикального окисления сохраняется вплоть до влажности исходного угля 12 %. При большем содержании воды основной вклад вносит образование солей гуминовых кислот.

Оптимальными условиями механохимической обработки бурого угля в окислительных условиях являются: содержание воды 2-10 %, добавка перкарбоната натрия 5%, время обработки 2 минуты. В данных условиях удаётся достичь максимальной эффективности процесса при минимальных затратах реагентов и энергии.

Заключение по главе 3

Химический состав во многом обуславливает направление и эффективность использования природного полимерного сырья. Например, высокое содержание лигнина и низкомолекулярных экстрактивных веществ делает растительное сырьё пригодным для использования в качестве твердого биотоплива, а низколигнифицированные материалы могут быть переработаны в углеводы, востребованные в химической технологии. При этом, механическая обработка при верном выборе оборудования и режима активации (тип воздействия, интенсивность, температура) приводит к значительному изменению свойств природных полимеров и растительного сырья в целом.

Изучение процессов, приводящих к разрыву полимерной цепи, показало, что белковые молекулы обладают низкой стабильностью по отношению к механическому воздействию. Однако, за время обработки, сопоставимое со временем пребывания сырья в зоне воздействия промышленных механохимических аппаратов, процесс деполимеризации протекает незначительно и не может, в отличие от процесса денатурации (изменение пространственной конфигурации молекулы), оказывать значительное влияние на реакционную способность молекулы белка.

Скорость денатурации белков значительно зависит от содержания воды в образцах. Белки в твердой фазе обладают большей стабильностью при нагревании, нежели в растворе; эффективная константа скорости денатурации экспоненциально растёт при увеличении влажности. Наиболее устойчивыми являются образцы с содержанием воды не более 8 %, что обуславливает условия проведения механохимических экспериментов с участием белков и ферментов.

Проведение механической обработки белковых молекул совместно с растительным сырьём позволяет дополнительно увеличить устойчивость белковых молекул ферментов к механическому воздействию. При этом, отмечается разница между обработкой физической смеси «фермент-сырьё» и систем, где ферменты сорбированы на поверхности растительного сырья. В случае физической смеси для сохранения активности ферментов необходимо максимально уменьшить дозу энергии, передаваемой обрабатываемому материалу. Для ферментов, сорбированных на поверхности сырья, обработка в высокоэнергетичном режиме приводит к росту реакционной способности на 30-40 %, что можно объяснить распределением молекул белков приповерхностному слою разупорядоченной лигноцеллюлозы.

Изучение процессов, сопровождающих измельчение природных полимерных материалов, позволяет заключить, что уменьшение размера частиц, в некоторых случаях

сопровождающееся образованием агрегатов, приводит не только к возрастанию удельной площади поверхности, но и к изменению химического состава новообразующейся поверхности.

В случае механической обработки чистой а-целлюлозы растительного сырья в планетарном активаторе с ударно-сдвиговым воздействием основные изменения в дисперсности и количестве площади поверхности происходят за первые 10 минут механической обработки. При этом дальнейшая обработка α-целлюлозы не приводит к изменению значений, а в случае растительного сырья удельная площадь поверхности снижается из-за агрегации частиц. Смена типа воздействия на сдвиговый (центробежно-роликовый активатор) приводит к появлению агрегатов и в случае а-целлюлозы.

Анализ начальной скорости гидролиза показал, что при измельчении растительного сырья в условиях, соответствующих режимам работы промышленных центробежно-роликовых активаторов, доля целлюлозных сорбционных центров на поверхности увеличивается. Однако, для этого требуется тщательный контроль температуры в зоне обработки.

Отмечена разница в результате механической обработки растительного сырья при различных температурах (на примере специально отобранного сырья с высоким содержанием лигнина). Режим хрупкого измельчения, реализующийся при охлаждении активатора жидким азотом, позволяет значительно понизить дисперсность продукта при соответствующем увеличении удельной площади поверхности. Повышение температуры обработки до 100 и 180 °С переводит характер измельчения в режим пластической деформации, что снижает эффективность измельчения и приводит к образованию дополнительного количества пор за счёт перераспределения и частичного разложения расплавленного лигнина. Предполагается, что продукт, состоящий из частиц с лигнином на поверхности, будет проявлять повышенное сродство с механохимически модифицированными гуминовыми кислотами, что перспективно в получении комплексных сорбентов тяжелых металлов.

Изучение изменений кристаллической структуры аморфно-кристаллических полимеров (целлюлоза, крахмал, бета-глюкан, гуминовые кислоты) показало, что степень упорядочения полимера (степень кристалличности) значительно зависит от типа, времени, температуры и напряженности механического воздействия на выбранные объекты.

Так, при смене типа механического воздействия с ударно-сдвигового, реализующегося в планетарном активаторе, на сдвиговый в центробежно-роликовом активаторе, происходит изменение характера разрушения элементарных фибрилл целлюлозы. В случае ударно-сдвигового воздействия размеры ОКР уменьшаются во всех направления, определяющих толщину элементарных фибрилл, разрушение происходит изотропно. При сдвиговом

воздействии разрушение элементарных фибрилл происходит неизотропно, наблюдается уменьшение поперечного сечения элементарных фибрилл.

С увеличением времени активации происходит постепенная аморфизация кристаллитов целлюлозы, крахмала и бета-глюкана, как в индивидуальном виде, так и в составе сырья: уменьшается размер кристаллитов, увеличивается доля аморфной фазы, что отражается в уширении дифракционных максимумов кристаллических областей. При обработке в планетарном активаторе основное изменение степени кристалличности происходит в начальный период времени (менее 10 минут), что коррелирует с наблюдаемыми изменениями свойств поверхности.

Электронно-микроскопические исследования полимеров и композитов с различной структурой и химическим составом позволяют заключить, что изменение реакционной способности в результате механической активации, происходит не только благодаря увеличению удельной площади поверхности и снижению доли кристаллических участков, но и благодаря более тонким ультраструктурным изменениям, таким как перераспределение полимеров по объему частиц, частичное разложение полифенольных макромолекул, образование новой поверхности с иным химическим составом. При этом химический состав клеточных стенок определяет характер процессов, сопутствующих разрушению растительного материала. Лигнифицированные клеточные стенки при измельчении фрагментируются на частицы размером порядка 40-60 мкм, нарушается их тонкая структура. Низколигнифицированные клеточные стенки при сопоставимых механических воздействиях фрагментируются на более крупные частицы (размер порядка 50-100 мкм). При этом фрагментация не сопровождается значимым нарушением ультраструктуры клеточных стенок. В случае обработки высоколигнифицированных материалов при повышенной температуре наблюдается перераспределение лигнина в структуре клеточных стенок, частичное разложение лигнина и образование большого количества пор, обуславливающих высокие значения удельной площади поверхности, не доступной для реагентов из-за ингибирующего слоя лигнина и закрытости пор.

С точки зрения механохимических реакций, которые имеют большой практический потенциал, показано, что механохимическая модификация гуминовых кислот сопровождается увеличением содержания фенольных и карбоксильных групп гуминовых кислот. Это делает перспективным получение комплексных сорбентов состава «ядро-оболочка», где в качестве ядра могут выступать частицы механохимически подготовленной лигноцеллюлозы, а в качестве оболочки – гуминовые кислоты с улучшенными сорбционными характеристиками.

Увеличение выхода гуминовых кислот в результате механохимической реакции бурого угля с перкарбонатом натрия реализуется благодаря механизму радикального окисления полифенольных структур, в результате которого также происходит образование новых фенольных и карбоксильных групп. Продемонстрирован вклад свободнорадикального окисления в суммарном воздействии перкарбоната натрия на органическое вещество бурого угля. Ведущий вклад свободнорадикального окисления сохраняется вплоть до влажности исходного угля 12 %. При большем содержании воды основной вклад вносит образование солей гуминовых кислот.

Определено, что оптимальными условиями механохимической обработки бурого угля в окислительных условиях являются: содержание воды 2-10 %, добавка перкарбоната натрия 5%, время обработки 2 минуты. В данных условиях удаётся достичь максимальной эффективности процесса при минимальных затратах реагентов и энергии.

Влияние обсуждаемых физико-химических процессов (разрыв полимерной цепи, увеличение удельной площади поверхности, снижение степени кристалличности, перераспределение полимерных компонентов по объёму супрамолекулярных композитов) на решение прикладных задач, связанных с переработкой природного полимерного сырья, будут обсуждаться в следующей главе.

Глава 4. Прикладные аспекты механохимической переработки природных полимерных материалов

Ниже представлены результаты прикладных работ по механохимической переработке природных полимерных материалов. Основное внимание уделено тому, как фундаментальные знания об изменении физико-химических свойств (химический состав, свойства поверхности, кристаллическая и супрамолекулярная организация полимеров природного сырья) позволяют эффективно решать ориентированные на практику задачи: получение биотоплива, компонентов функционального питания и кормов, дизайн и получение комплексных сорбентов.

4.1. Механохимическое получение твердого порошкового топлива с различной дисперсностью и химическим составом

В данном разделе обсуждаются результаты цикла работ, нацеленного на создание нового вида твердого порошкового биотоплива с различной дисперсностью и химическим составом, пригодного для сжигания в современном теплофизическом оборудовании – котлах с факельными (вихревыми) горелками.

Работы по данному направлению базируются на представленных выше фундаментальных знаниях о влиянии химического состава на свойства природных полимерных материалов (Глава 3.2) и об изменении свойств природных полимерных материалов при механической активации (Глава 3.3 и 3.5).

Исследования выполнены при поддержке гранта ФЦП «Проведение проблемно-ориентированных исследований и разработка технических решений экологически чистых энергоустановок, использующих мелкодисперсное твердое топливо из растительного сырья» совместно с сотрудниками *ИТ СО РАН* и гранта фонда Глобальная энергия «Механохимическое получение новых видов твёрдого биотоплива из возобновляемого растительного сырья».

Получение твердого порошкового топлива с различной дисперсностью и химическим составом

Выбор сырья, подходящего для получения образцов порошкового топлива, был сделан на основе содержания основных структурных полимеров в сырье, в первую очередь лигнина, во

многом определяющего теплотворную способность материала (Таблица 4.1)[38][39]. Из спектра возобновляемых лигноцеллюлозных ресурсов был отобран ряд отходов сельского хозяйства: костра льна, солома пшеницы и кукурузы, стебли и листья тростника. Данные материалы компактно собираются в местах переработки, в дальнейшем не используются и лишь иногда утилизируются сжиганием в котлах традиционной конструкции.

Таблица 4.1. – Групповой химический состав лигноцеллюлозных материалов

Компонент	Содержание компонента, %				
	Костра льна	Солома пшеницы	Солома кукурузы	Стебли тростника	Листья тростника
Зольность	6,2	8,2	4,6	8,0	8,3
Влажность	8,8	5,9	3,5	3,9	5,6
Экстрактивные вещества	0,13	0,10	0,04	0,01	0,54
Водорастворимые вещества	3,4	9,3	8,4	14,3	8,3
Гемицеллюлозы	23,7	33,6	35,4	25,4	37,4
Целлюлоза	53,7	32,9	38,6	40,2	25,5
Лигнин	10,3	18,3	17,8	16,8	22,7

Видно, что выбранное лигноцеллюлозное сырьё весьма разнородно по химическому составу. Так, кажущаяся перспективной по объёму производства, костра льна содержит всего 10,3 % лигнина, что можно считать недостаточным для создания эффективных топлив. Наиболее пригодным сырьём являются солома злаковых и отходы переработки тростника. С точки зрения доступности для большинства регионов России в качестве основного сырья для проведения дальнейших экспериментов была выбрана солома пшеницы, характеризующаяся удовлетворительным содержанием лигнина.

Для получения экспериментальных образцов порошкового топлива использована центробежно-роликовая мельница РМ-50 (ИХТТМ СО РАН). Скорость подачи сырья равнялась 50 кг/час, скорость вращения ротора равнялась 3500, 3150 и 2800 об./мин (Таблица 4.2). Из данных гранулометрического анализа были рассчитаны средневесовые размеры частиц (Таблица 4.3). Видно, что с увеличением энергонапряжённости, уменьшается размер частиц в продукте, что делает его более пригодным для использования в качестве мелкодисперсного топлива.

---

[38] Ушаков, Д. Е. Получение топливных брикетов из неиспользуемых материалов растительного происхождения / Д. Е. Ушаков, Д. В. Карелин, А. Л. Бычков, О. П. Коробейничев, А. Г. Шмаков // Химия твёрдого топлива. – 2017. –№ 4. – С. 46-50.

[39] Burdukov, A. P. The effective use of straw crops as feedstock for the complex processing into biofuel / A.P. Burdukov, O. I. Lomovsky, A. L. Bychkov, M. Yu. Chernetskiy, G. V. Chernova // Journal of Siberian Federal University. Engineering and Technologies. – 2018. – V.11. – N. 2. – P. 229-241.

Таблица 4.2. Режимы работы центробежно-роликовой мельницы РМ-50 при получении образцов порошкового топлива с различной дисперсностью

Параметры узла подачи сырья		Параметры узла механической обработки	
Скорость подачи сырья, кг/ч	Затраты электроэнергии на подачу сырья, кВт/ч	Скорость вращения ротора, об./мин	Затраты э.-энергии на мех. обработку, кВт/ч
50	0,18	2800	10,5
50	0,18	3150	14,5
50	0,18	3500	18,5

Таблица 4.3. – Средние значения размеров частиц в продукте механической обработки соломы пшеницы

Шифр образца	Скорость вращения ротора, об./мин	Средневесовой размер частиц, мкм
СП2800	2800	141
СП3150	3150	118
СП3500	3500	77

Чтобы подробнее изучить распределение наиболее реакционноспособных частиц по размерам был проведён ряд экспериментов по дифракции лазерного луча *(LDS)*. Для этого от полученных порошкообразных продуктов механической обработки были отброшены частицы более 250 мкм, а фракция менее 250 мкм изучена при помощи прибора Микросайзер 201. Результаты, представленные на рисунке 4.1, показывают, что при увеличении энергонапряжённости возрастает доля продукта с размером частиц менее 30 мкм, в том числе и доля частиц диаметром менее 15 мкм, которые могут быть отнесены к наиболее реакционноспособным.

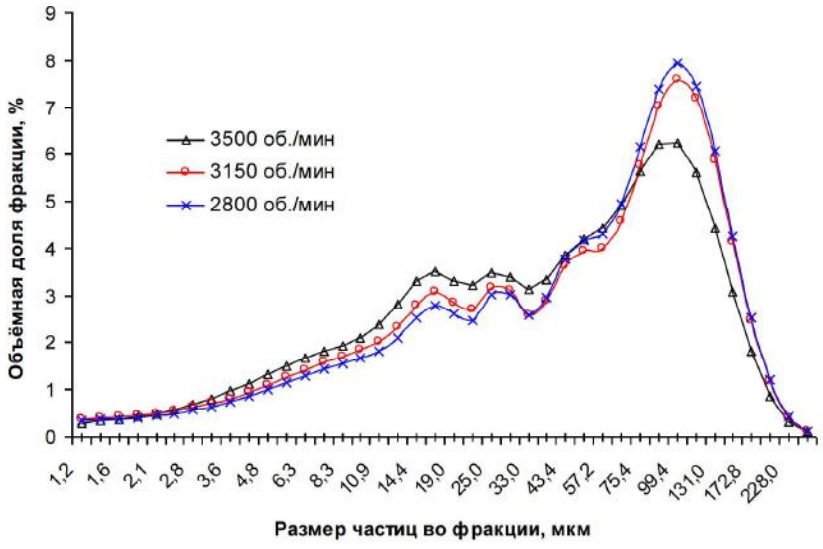


Рисунок 4.1 – Результаты гранулометрического анализа МА-продукта соломы пшеницы.

Для получения образцов порошкового топлива с различным химическим составом (содержанием лигнина) было предложено использовать другой перспективный тип измельчительного оборудования – струйную (пневматическую) мельницу. Режимы работы мельницы были выбраны следующие: производительность 50 кг/час, расход воздуха 20 $м^3$/кг. При этом затраты электроэнергии на создание давления воздушной струи и помол составили 1,2 кВт/час.

В качестве образцов были выбраны следующие лигноцеллюлозные материалы:

- солома пшеницы без дополнительной модификации. Содержание лигнина, по данным химического анализа 18,3 % (шифр образца «СП0»);

- солома пшеницы после частичного гидролиза ферментами и отделения части углеводов. Содержание лигнина при 45 %-ой глубине протекания гидролиза углеводов, по данным химического анализа 30,2 % (шифр образца «СПГ»);

- солома пшеницы после частичного гидролиза ферментами с дополнительным введением лигнина – отхода целлюлозо-бумажной промышленности в количестве 0,75 кг лигнина на 1,0 кг остатка гидролиза. Содержание лигнина, по данным химического анализа 60,1 % (шифр образца «СПГЛ»). Характеристика образцов, полученных после механической обработки перечисленных материалов на пневматической мельнице, представлены в таблице 4.4.

Таблица 4.4 – Характеристики образцов порошкового дисперсного топлива с различным содержанием лигнина

Шифр образца	Средневесовой размер частиц, мкм	Содержание лигнина, %
СП0	46	18,3
СПГ	44	30,2
СПГЛ	48	60,0
СП3500 (для сравнения)	*77*	*18,3*

Представленные данные показывают, что измельчение лигноцеллюлозных материалов при помощи струйной мельницы протекает с гораздо большей интенсивностью, чем в центробежно-роликовой при максимальной энергонапряжённости; средневесовые размеры частиц равны 46-48 мкм и 77 мкм, соответственно. Уменьшение размеров частиц позволяет предполагать улучшенные характеристики сгорания данных продуктов, а повышенное содержание лигнина – повышение теплотворной способности.

Полученные экспериментальные образцы порошкового дисперсного топлива из растительного сырья с различным содержанием лигнина (3 образца по 20 кг) были изготовлены

и переданы для проведения испытаний на огневых стендах в Институт теплофизики им. С.С. Кутателадзе Сибирского отделения РАН (ИТ СО РАН).

Физико-химические характеристики твердого порошкового топлива с различной дисперсностью и различным химическим составом

Главным параметром, позволяющим в экспрессном режиме оценить качество порошкового топлива, является его дисперсность, химический состав и зависящая от него теплота сгорания. Результаты анализа полученных образцов приведены в сводной таблице 4.5.

Таблица 4.5 – Физико-химические характеристики твердого порошкового биотоплива с различной степенью дисперсности и различным содержанием лигнина

Тип образца	Образцы с различной дисперсностью			Образцы с различным содержанием лигнина		
Шифр образца	СП2800	СП3150	СП3500	СП0	СПГ	СПГЛ
Средневесовой размер частиц, мкм	141	118	77	46	44	48
Влажность	5,9	5,9	5,9	5,9	9,25	5,3
Зольность	8,2	8,2	8,2	8,2	4,1	2,3
Содержание экстрактивных веществ	0,1	0,1	0,1	0,1	0,2	0,1
Содержание водорастворимых веществ	9,3	9,3	9,3	9,3	0,3	0,2
Содержание гемицеллюлоз	33,6	33,6	33,6	33,6	23,1	13,2
Содержание лигнина	18,3	18,3	18,3	18,3	30,2	60,0
Содержание целлюлозы	32,9	32,9	32,9	32,9	37,3	21,3

Для оптимизации параметров и режимов сжигания в сотрудничестве с В.А. Логвиненко (ИНХ СО РАН) был проведён ряд работ по исследованию кинетических характеристик образцов полученного топлива[40]. Сжигание проводилось при помощи термовесов Netzsch Termokinetics в условиях: температура от 150 до 600 °С, атмосфера аргон/кислород в соотношении 80/20.

На эффективность сжигания мелкодисперсного топлива влияют два основных фактора – скорость горения, обратнопропорционально связанная с размером частиц, и энергия активации, связанная с химическим составом топлива. Исследована кинетика окисления образцов мелкодисперсного топлива, характеризующихся различной дисперсностью и различным

[40] Lomovsky, O. Mechanochemical production of lignin-containing powder fuels from biotechnology industry waste: A review / O. Lomovsky, A. Bychkov, I. Lomovsky, V. Logvinenko, A. Burdukov // Thermal Science. – 2015. – V. 19. –N. 1. – P. 219-229.

содержанием лигнина[41]. Для того чтобы влияние перечисленных параметров складывалось, случаи с различной дисперсностью и различным содержанием лигнина были рассмотрены по отдельности. На рисунках 4.2 и 4.3 представлены кривые потери массы, регистрируемые при окислении лигноцеллюлозного топлива со средневесовым размером частиц 58 и 141 мкм, соответственно.

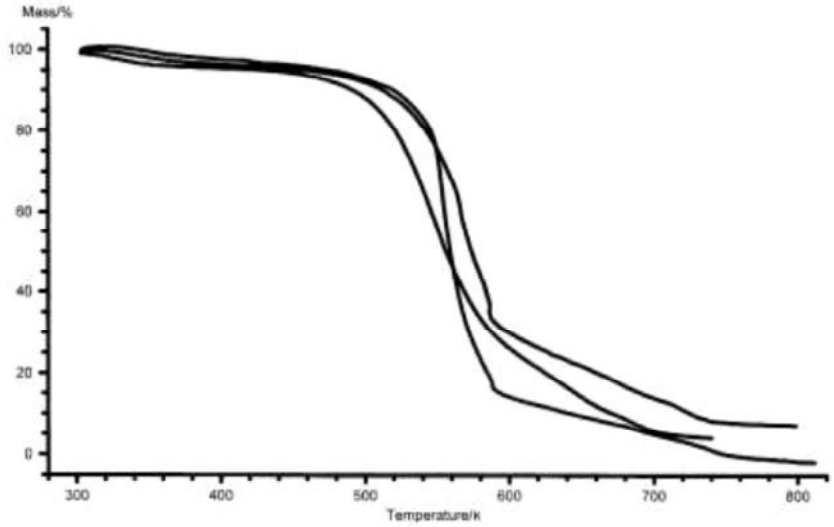


Рисунок 4.2 – Кривые потери массы при окислении образца топлива со средневесовым размером частиц 58 мкм (скорость нагрева 5, 20 и 40 К/мин).

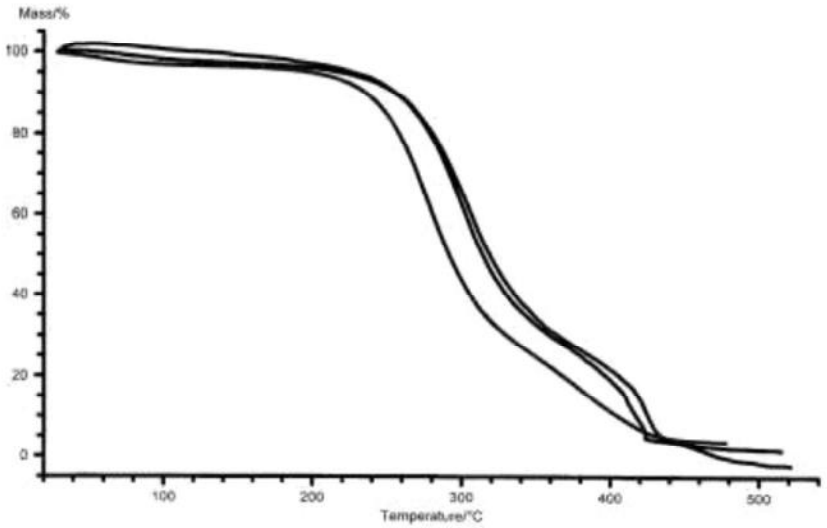


Рисунок 4.3 – Кривые потери массы при окислении образца топлива со средневесовым размером частиц 141 мкм (скорость нагрева 5, 20 и 40 К/мин).

Из формы кривых (Рисунок 4.2-4.3) видно, что принципиально характер процесса окисления не меняется в зависимости от дисперсности, в обоих случаях основная потеря массы наблюдается при 540-580 К с небольшим «плечом» при 600-660 К. Эти процессы соответствуют

[41] Bychkov, A. Mechanochemical modification of the composition and structure of plant raw materials to control the combustion of alternative fuel / A. Bychkov, E. Podgorbunskikh, T. Skripkina, A. Burdukov, O. Lomovsky // MATEC Web of Conferences. – 2017. – V. 115. – P. 06003.

реакциям горения гемицеллюлозы и целлюлозы (реакция горения лигнина отдельно от углеводов методами термогравиметрии не выявляется, на кривой потери массы образует широкое гало в диапазоне температур 520-770 К) [Yang, 2009].

Скорость (угол наклона касательной к оси) для образца с дисперсностью 58 мкм примерно равна таковой для образца с 141 мкм. Это позволяет предположить, что после некоторого предела (более 141 мкм), размер частиц не лимитирует скорость горения и определяется, прежде всего, химическим составом. Данное заключение чрезвычайно важно для экономической составляющей получения дисперсного лигноцеллюлозного топлива, так как механохимическое измельчение растительного сырья до частиц с размерами менее 150 мкм требует затраты большого количества энергии.

На кривых потери массы, представленных на рисунках 4.4 и 4.5 проиллюстрированы процессы окисления образцов мелкодисперсного топлива с содержанием лигнина 20 и 70 %, соответственно. Видно, что повышение доли лигнина в топливе меняет характер процесса окисления. Так, для образца с содержанием лигнина 20 % характерна кинетика, представленная ранее для образцов с дисперсностью 58 и 141 мкм – основная потеря массы при 500-580 К и «плечо» при 600-660 К. В то же время для образца с содержанием лигнина 70 % основная потеря массы приходится на высокотемпературное «плечо», что, по-видимому, свидетельствует о смещении «лигнинового» гало в высокотемпературную область. Логично предположить, что горение лигнина при высоких температурах выгодно отличает данный образец топлива от низколигнифицированных образцов.

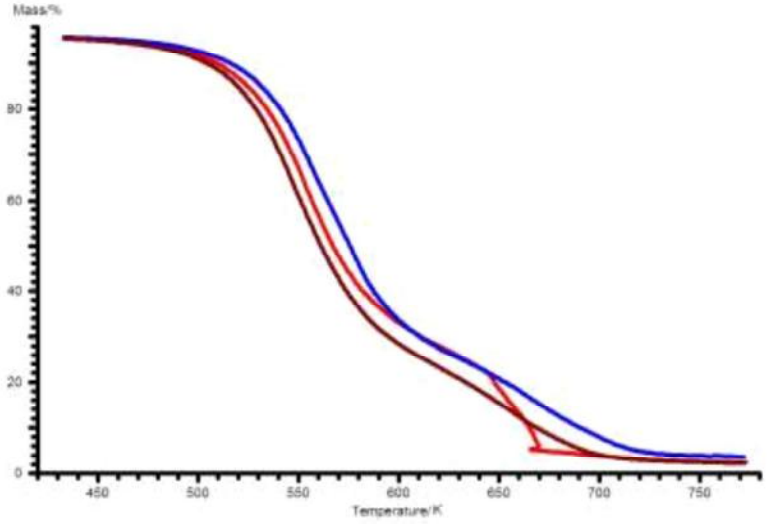


Рисунок 4.4 – Кривые потери массы при окислении образца топлива с содержанием лигнина 20 % (скорость нагрева 5, 10 и 20 К/мин).

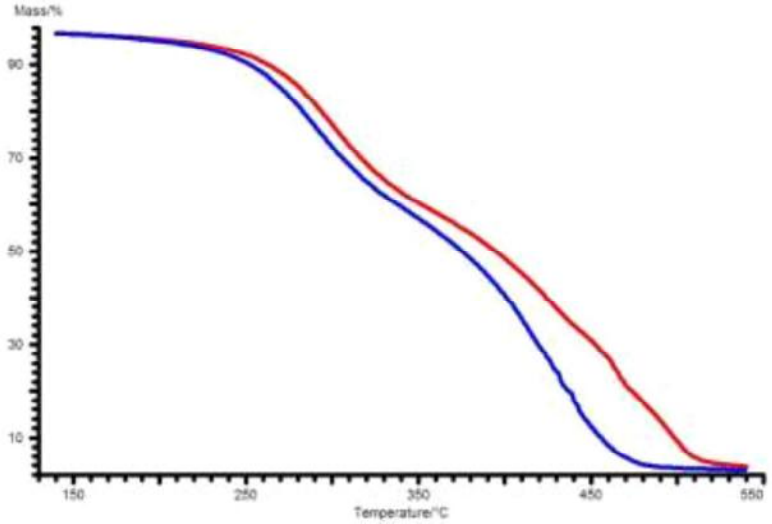


Рисунок 4.5 – Кривые потери массы при окислении образца лигноцеллюлозного топлива с содержанием лигнина70 % (скорость нагрева 5, 10 К/мин).

Сравнение двух случаев (Рисунок 4.6) показывает, что увеличение лигнинового фона на кривой потери массы также сказывается на скоростях окисления каждой стадии. Так, скорость первой стадии (500-580 К) уменьшилась в 1,10 раза, а скорость второй стадии (плечо при 600-680 К) увеличилась в 1,07 раза. Подобное изменение скоростей горения приводит к заключению, что в высоколигнифицированном образце топлива лимитирующей стадией может стать процесс горения целлюлозы, в то время как лигнин сгорает в высокотемпературной области достаточно быстро. Следовательно, необходимо таким образом подбирать условия сжигания топлива, чтобы частицы как можно быстрее прогревались до высокотемпературного диапазона и полнее использовали теплотворные характеристики лигнина для дожигания углеводных полимеров.

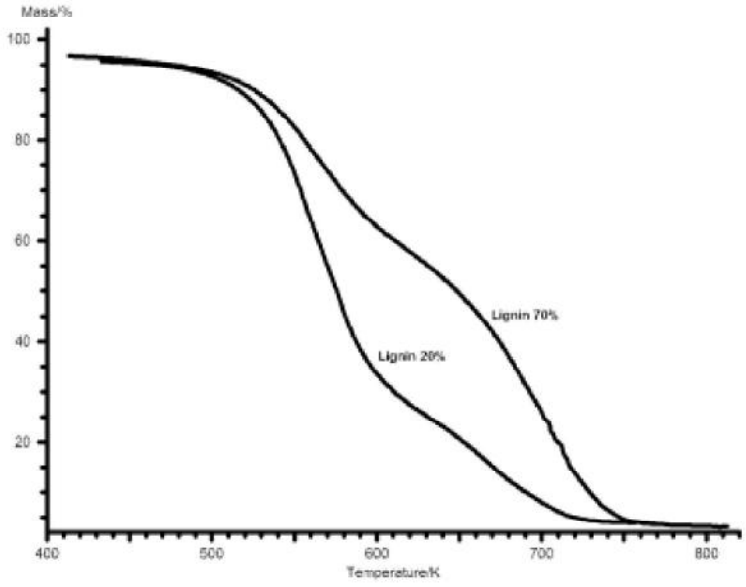


Рисунок 4.6 – Сравнение кривых потери массы при окислении образцов топлива с содержанием лигнина 20 и 70 % (скорость нагрева 10 К/мин).

Для определения вклада энергии активации на протекание процесса горения была проведена математическая обработка кривых потери массы, полученных при сжигании топлива с различной дисперсностью и содержанием лигнина.

На рисунке 4.7 представлены кривые потери массы образца биотоплива с 20 % лигнина. Для расчёта принимали, что протекают две параллельные реакции (1) горения – гемицеллюлозы и целлюлозы (лигнин окисляется в широком диапазоне и не проявляется в виде отдельного пика при сжигании совместно с углеводными полимерами).

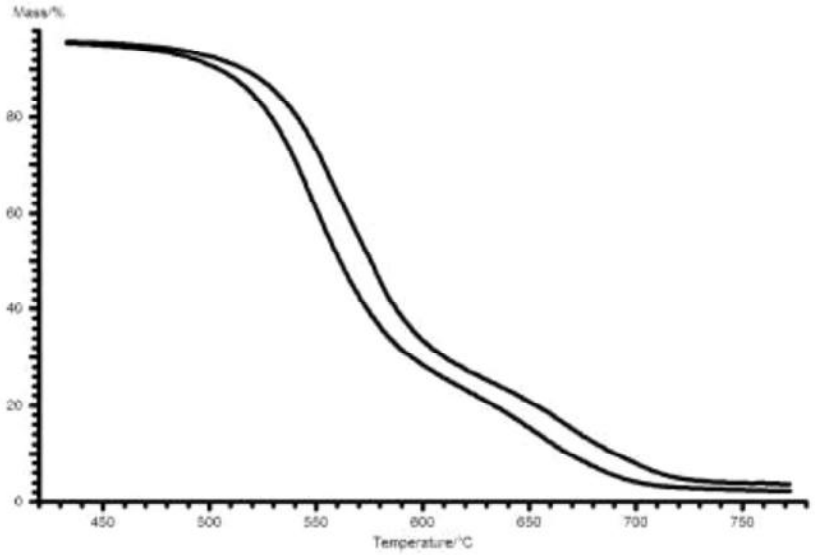


Рисунок 4.7 – Кривых потери массы при окислении образцов топлива с содержанием лигнина 20 % (скорость нагрева 5 и 20 К/мин).

$$A \longrightarrow B$$
$$C \longrightarrow D \qquad (1)$$

Анализ по Фридману (Рисунок 4.8) и методу нелинейной регрессии (Рисунки 4.9-4.10) показывает справедливость сделанных предположений. Сплошные линии, полученные математическим путём, хорошо совпадают с точками, полученными экспериментально.

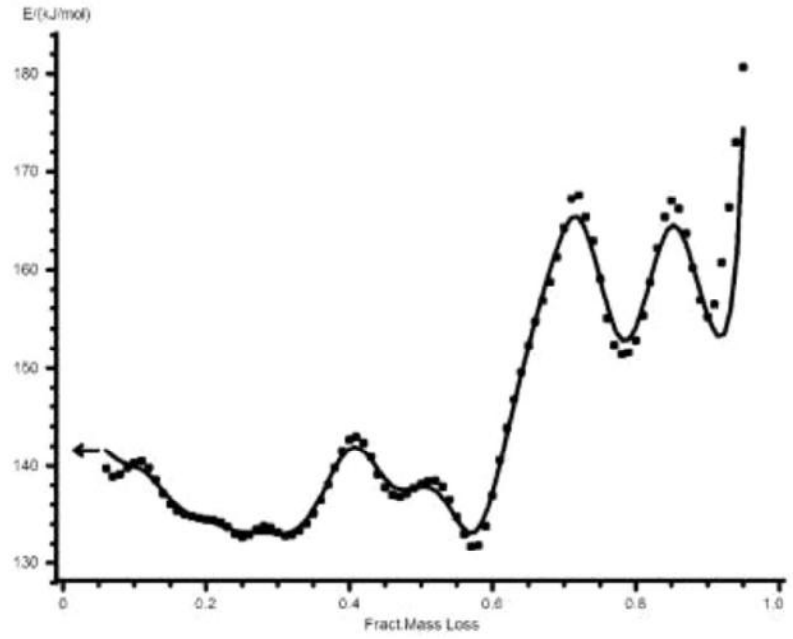


Рисунок 4.8 – Анализ по Фридману кинетики окисления топлива с содержанием лигнина 20 % (точки – экспериментальные значения, линии – расчет).

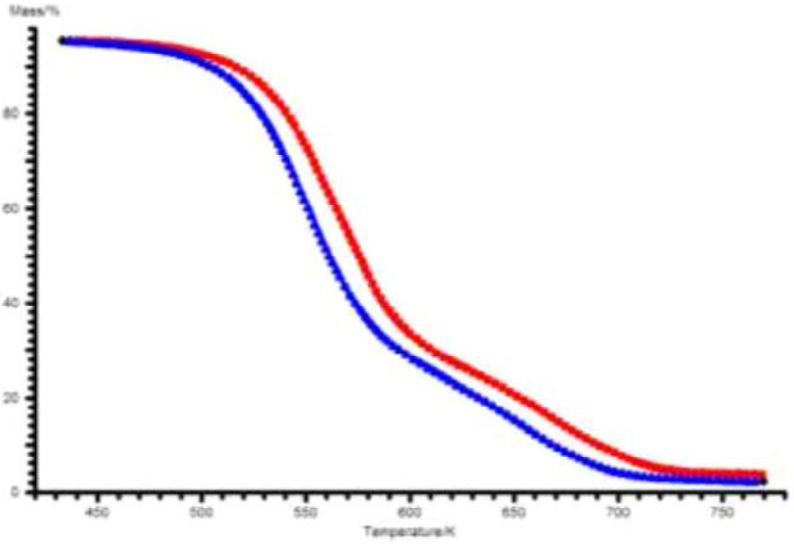


Рисунок 4.9 – Анализ по методу нелинейной регрессии кинетики окисления топлива с содержанием лигнина 20 % (зависимость от температуры).

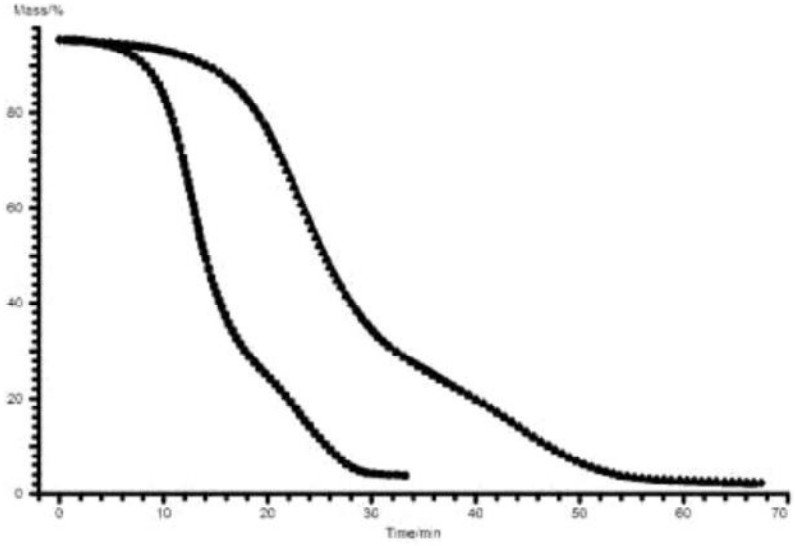


Рисунок 4.10 – Анализ по методу нелинейной регрессии кинетики окисления топлива с содержанием лигнина 20 % (зависимость от времени).

Расчёты показали, что лучше всего кинетику параллельно протекающих реакций горения гемицеллюлозы и целлюлозы описывают уравнения Авраамии-Ерофеева (2) и (3), или совокупность порядкового (4) и диффузионно-лимитированного (5) уравнений.

$$f_1(\alpha) = \frac{1-\alpha}{[-\ln(1-\alpha)]^{0.28}} \tag{2}$$

$$f_2(\alpha) = \frac{1-\alpha}{[-\ln(1-\alpha)]^{1.22}} \tag{3}$$

$$f_1(\alpha) = (1-\alpha)^1 \tag{4}$$

$$f_2(\alpha) = \frac{1}{(1-\alpha)^{-0.33} - 1} \tag{5}$$

Кинетические параметры, характеризующие данные процессы горения лигноцеллюлозного топлива с 20 % лигнина представлены в таблице 4.6.

Таблица 4.6. Кинетические параметры, характеризующие процесс горения образцов топлива с 20 % лигнина

№ уравнения	Энергия активации, кДж/моль	lg(A)
(2)	134 ± 2	10.3 ± 0.2
(3)	155 ± 4	10.1 ± 0.3
(4)	111 ± 2	8.0 ± 0.2
(5)	97 ± 1	4.1 ± 0.1

Аналогичные данные можно привести для образца лигноцеллюлозного топлива с содержанием лигнина 70 %. На рисунках 4.11-4.14 представлены кинетические кривые и их обработка по Фридману и методу нелинейной регрессии.

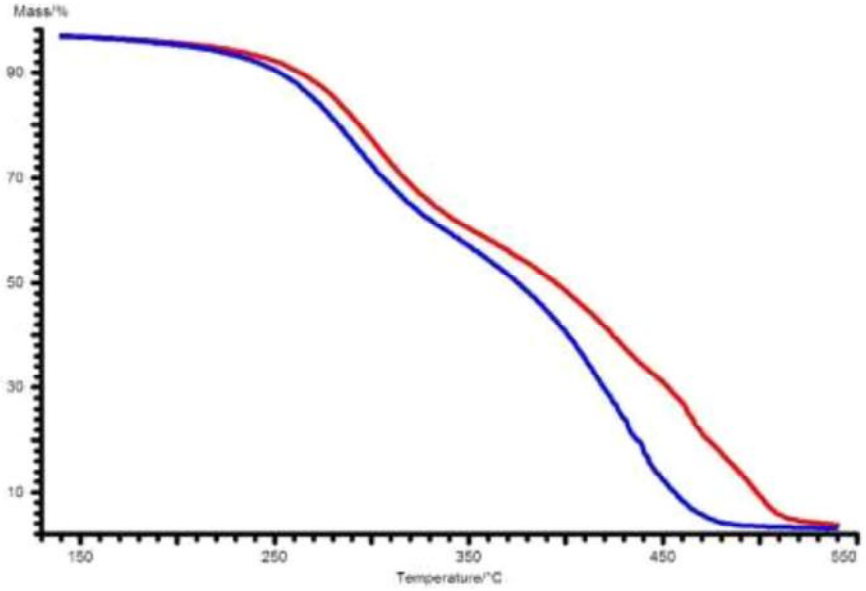


Рисунок 4.11 – Кривых потери массы при окислении образцов топлива с содержанием лигнина 70 % (скорость нагрева 10 и 20 К/мин).

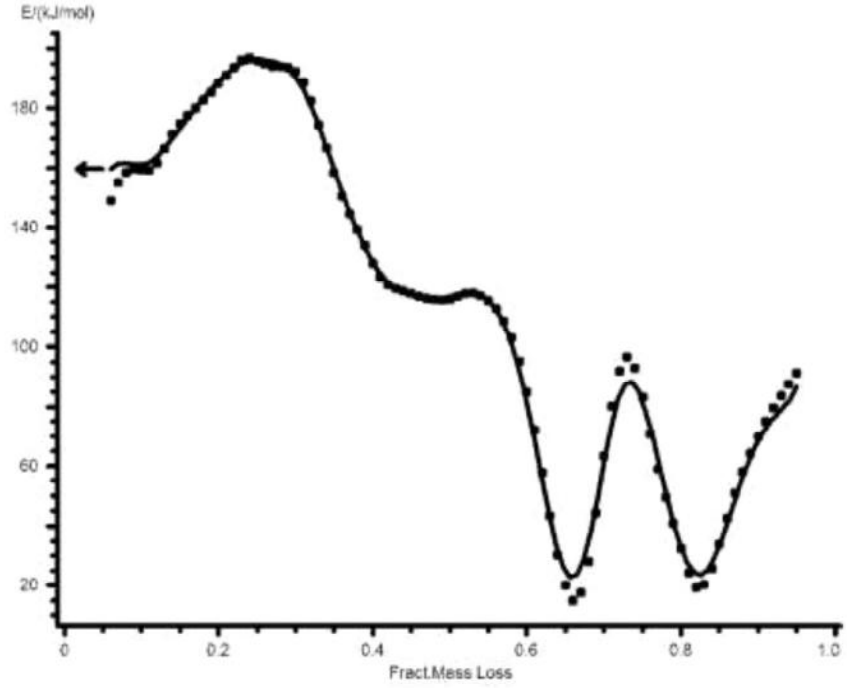


Рисунок 4.12 – Анализ по Фридману кинетики окисления топлива с содержанием лигнина 70 % (точки – экспериментальные значения, линии – расчет).

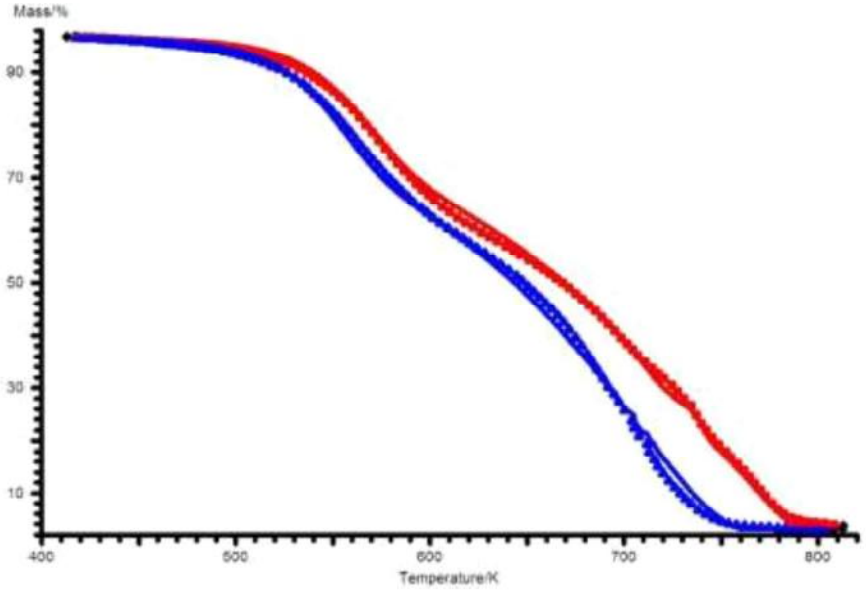


Рисунок 4.13 – Анализ по методу нелинейной регрессии кинетики окисления топлива с содержанием лигнина 70 % (зависимость от температуры).

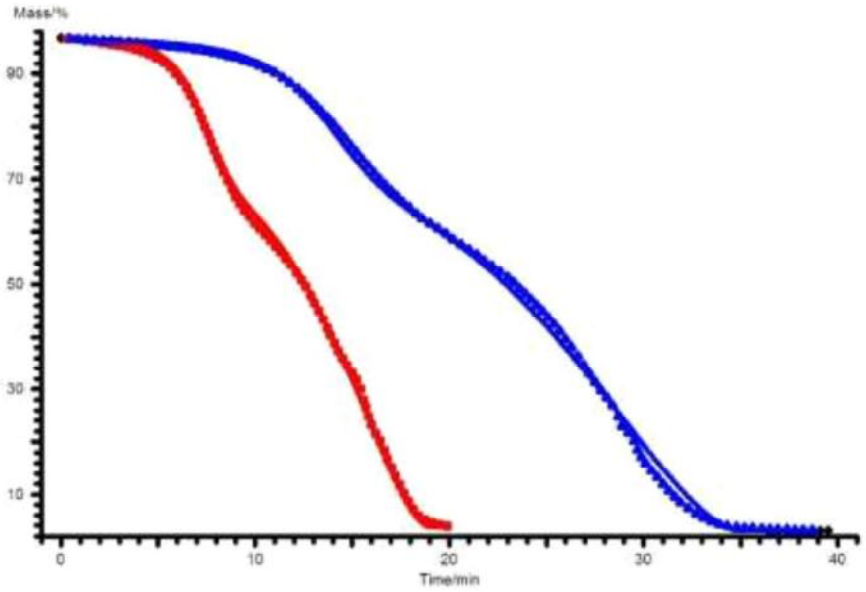


Рисунок 4.14 – Анализ по методу нелинейной регрессии кинетики окисления топлива с содержанием лигнина 70 % (зависимость от времени).

В случае сжигания образца лигноцеллюлозного топлива с 70 % лигнина математическая обработка кривых потери массы даёт два варианта. Первый вариант отличается от описания образца с 20 % лигнина и позволяет описать процесс при помощи трёх параллельных реакций с уравнениями Авраамии-Ерофеева (6), порядкового (7) и диффузионного (8).

$$f_1(\alpha) = \frac{1-\alpha}{[-\ln(1-\alpha)]^{5.7}} \quad (6)$$

$$f_2(\alpha) = (1-\alpha)^{0.56} \quad (7)$$

$$f_3(\alpha) = \frac{1}{(1-\alpha)^{-0.33} - 1} \quad (8)$$

Во втором случае описание сходно с описанием образца с 20 % лигнина и описывает процесс порядковым (9) и диффузионным (10) уравнением.

$$f_1(\alpha) = (1-\alpha)^{1.3} \quad (9)$$

$$f_2(\alpha) = \frac{1}{(1-\alpha)^{-0.33} - 1} \quad (10)$$

Кинетические параметры, характеризующие данные процессы горения топлива с 70 % лигнина представлены в таблице 4.7.

Таблица 4.7. Кинетические параметры, характеризующие процесс горения образцов топлива с 70 % лигнина

№ уравнения	Энергия активации, кДж/моль	lg(A)
(6)	427 ± 8	32 ± 1
(7)	75 ± 2	2.9 ± 0.1
(8)	143 ± 1	10.1 ± 0.1
(9)	132 ± 12	10 ± 1
(10)	91 ± 2	3.3 ± 0.1

Сравнивая полученные результаты для образцов с 20 и 70 % лигнина, можно сделать вывод, что описание горения топлива с помощью уравнений Авраамии-Ерофеева (2), (3) в первом случае и Авраами-Ерофеева (6) порядкового (7) и диффузионного (8) типов во втором случае некорректно и не отражает реальных химических процессов.

Во-первых, энергия активации в уравнении (6) составляет величину 427 кДж/моль, что слишком много для окисления органических веществ, которыми являются компоненты лигноцеллюлозы. Кроме того, наиболее корректно процессы сжигания лигноцеллюлозы описываются двумя реакциями, одна из которых – горение целлюлозы – лимитируется диффузией.

Таким образом, для корректного описания реакций горения лигноцеллюлозного топлива с 20 и 70 % лигнина подходят уравнения (4) (5) и (9) (10), соответственно. Причём горение гемицеллюлоз описывается порядковыми уравнениями (4) и (9), а диффузионные уравнения (5)

и (10) отвечают горению целлюлозы. Для наглядности, энергии активации отобранных уравнений сведены в таблицу 4.8.

Таблица 4.8 – Энергии активации реакций горения гемицеллюлоз и целлюлозы в образцах топлива с 20 и 70 % лигнина

Окисляемый полимер	содержание лигнина в топливе, %	Энергия активации, кДж/моль
гемицеллюлозы	20	111 ± 2
	70	132 ± 12
целлюлоза	20	97 ± 1
	70	91 ± 2

Как видно из приведённых данных, при увеличении содержания лигнина энергия активации горения гемицеллюлоз (низкотемпературная реакция) увеличивается на 21 кДж/моль, что приводит к незначительному замедлению реакции. С другой стороны, уменьшение энергии активации горения целлюлозы (высокотемпературная реакция) на 6 кДж/моль объясняет увеличение скорости данной реакции. Это подкрепляет высказанное ранее утверждение, что для оптимизации процесса горения топлива необходимо как можно быстрее разогревать частицы до температуры горения целлюлозы.

Анализ кривых потери массы при окислении образцов с различной дисперсностью (58 и 141 мкм) не выявил значительной разницы в энергии активации (Рисунок 4.15). Вычисленные, в рамках изложенных выше представлений о кинетике протекания реакций, энергии активации представлены в таблице 4.9.

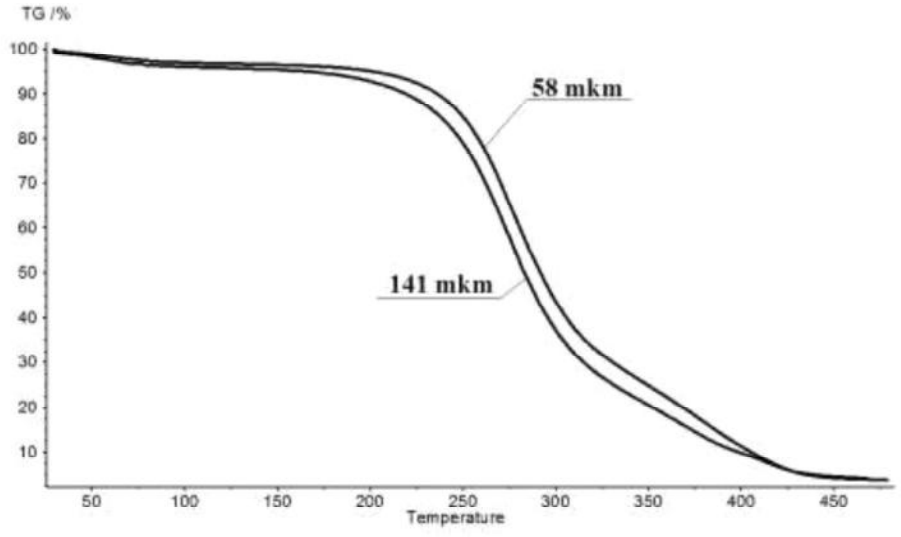


Рисунок 4.15 – Кривые потери массы при окислении топлива (дисперсность 58 и 141 мкм).

Таблица 4.9 – Энергии активации реакций горения гемицеллюлозы и целлюлозы в образцах топлива с дисперсностью 141 и 58 мкм

Окисляемый полимер	содержание лигнина в топливе, %	Энергия активации, кДж/моль
гемицеллюлоза	141	114 ± 5
	58	110 ± 4
целлюлоза	141	102 ± 3
	58	98 ± 4

Как видно, разница в энергиях активации незначительна и не может влиять на процессы горения лигноцеллюлозного топлива. Данный факт ранее отмечался в литературе. Так, в работе [Haykiri-Acma, 2006] приведена зависимость энергии активации от размера частиц лигноцеллюлозы. Данная зависимость имеет экспоненциальный характер и при уменьшении размеров частиц стремится к константе, которая, судя по всему, характеризует энергию активации горения отдельных молекул-реагентов.

Результаты, полученные при исследовании образцов биотоплива в калориметрической бомбе, представлены в таблице 4.10. Увеличение содержания лигнина с 10 до 80 % увеличивает теплоту сгорания до 23,2 МДж/кг, что близко к теплоте сгорания чистого лигнина, которую можно считать максимальной для растительных материалов.

Таблица 4.10 – Теплоты сгорания биотоплива с различным содержанием лигнина

Содержание лигнина, %	Теплота сгорания	
	МДж/кг	кал/г
10	17,0	4071
20	17,5	4169
40	18,6	4450
60	21,1	5039
80	23,2	5546

На огневых стендах ИТ СО РАН (тепловая мощность до 5Мвт, рис.4.16) выполнены исследования по сжиганию порошкового топлива с различным содержанием лигнина[42]. Испытания показали устойчивое автотермическое горение продуктов переработки растительного сырья с содержанием лигнина 18-60 % при приемлемых значениях температур факела в горелочном устройстве. Таким образом, показана возможность сжигания

[42] Бурдуков, А. П. Использование мелкодисперсного лигноцеллюлозного сырья в качестве твёрдого топлива / А. П. Бурдуков, В. А. Попов, М. Ю. Чернецкий, А. А. Дектерев, О. И. Ломовский, А. Л. Бычков // Ползуновский вестник. –2013. – № 4/3. – С. 16-27.

механоактивированного порошка с различным содержанием лигнина в объеме топочной камеры, близкой по размеру к газомазутному котлу.

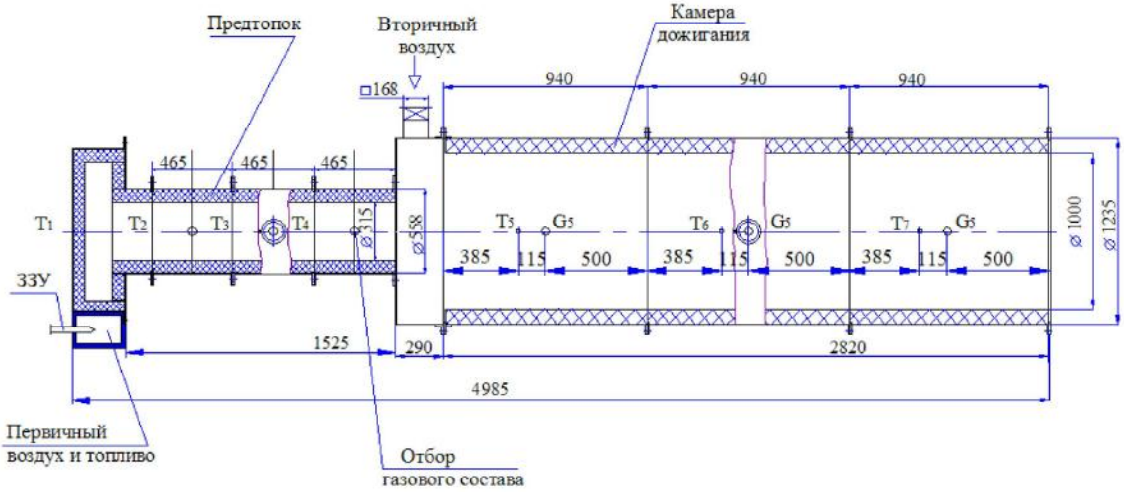


Рисунок 4.16 – Схема огневого стенда ИТ СО РАН мощностью 5 МВт [Бурдуков, 2010].

Таким образом, при помощи механохимической обработки возобновляемого растительного сырья были получены образцы нового вида твердого порошкового биотоплива с различной дисперсностью и химическим составом. Показано, что *в зависимости от дисперсности частиц* (в изученном диапазоне 150-50 мкм) характер процесса окисления принципиально не меняется. Для всех полученных образцов основная потеря массы наблюдается при 540-580 К с небольшим «плечом» при 600-660 К. Это позволяет предположить, что после некоторого предела, размер частиц не лимитирует скорость горения.

Повышение доли лигнина в топливе меняет характер процесса окисления. Так, для образца с содержанием лигнина 20 % наблюдаемая кинетика окисления характеризуется потерей массы при 500-580 К. В то же время для образца с содержанием лигнина 70 % основная потеря массы приходится на высокотемпературное «плечо» при 600-660 К, что свидетельствует о смещении процесса сжигания в высокотемпературную область.

Показана пригодность полученного топлива для использования в современном оборудовании – котлах с факельными (вихревыми) горелками. Указанное топливо может быть использована как экологически чистая замена мазутному топливу в котлах «ДЕ–10–14 ГМ» Бийского котельного завода.

4.2. Механически активированный ферментативный гидролиз полимеров растительного сырья

В данном разделе обсуждаются результаты работ по механоферментативному гидролизу углеводных полимеров растительного сырья и получению низкомолекулярных углеводов, пригодных для дальнейшей переработки в компоненты жидкого биотоплива и другие востребованные продукты. Основными сложностями в эффективном осуществлении ферментативного гидролиза были, во-первых, химический состав (наличие лигнина значительно затрудняет протекание ферментативного гидролиза); во-вторых, сложная супрамолекулярная структура сырья (целлюлоза, лигнин и гемицеллюлозы в рамках растительной клеточной стенки связаны друг с другом в единый ансамбль), а в-третьих – аморфно-кристаллическая структура целлюлозы (наличие кристаллических областей с низкой реакционной способностью). В результате обобщения полученной информации был сформулирован ряд требований к созданию новых (и модификации уже известных) центробежно-роликовых мельниц.

В работе по данному направлению активно использовались представленные выше данные о денатурации белков при механохимической обработке (Глава 3.1), о влиянии механической активации на свойства поверхности, кристалличность и супрамолекулярную структуру природных полимерных материалов (Глава 3.3-3.5).

Работы были выполнены при поддержке гранта ФЦП «Исследование биокаталитических механоферментативных реакций деполимеризации и гидролиза полисахаридов в составе непищевого биовозобновляемого сырья» и гранта фонда Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере «Механохимическая технология гидролиза полимеров дрожжевой биомассы с целью получения новых олигосахаридных материалов».

На примере механически активированного гидролиза соломы кукурузы проиллюстрировано влияние механической активации реакционную способность растительных полимеров. В проведенном эксперименте растительное сырьё подвергалось многократной (4 цикла обработки) активации на центробежной роликовой мельнице РМ-3 (с уменьшенной зоной обработки), чтобы постепенно повышать реакционную способность и характеризовать процессы, протекающие в более крупном оборудовании.

Морфология исходного сырья и полученных продуктов

Важным параметром, позволяющим качественно оценить эффективность процесса измельчения лигноцеллюлозных материалов, является морфология частиц продукта. На

рисунке 4.17 представлены микрофотографии исходной биомассы (предварительно измельчённой на дезинтеграторе) и биомассы после многократной обработки на центробежной роликовой мельнице[43]. Видно (Рисунок 4.17-а), что исходный материал представлял собой частицы с размерами 0,3-1,0 мм. Морфология частиц чёткая, свойственная тканям исходной соломы кукурузы. Наблюдается несколько типов частиц, соответствующих различным тканям растения.

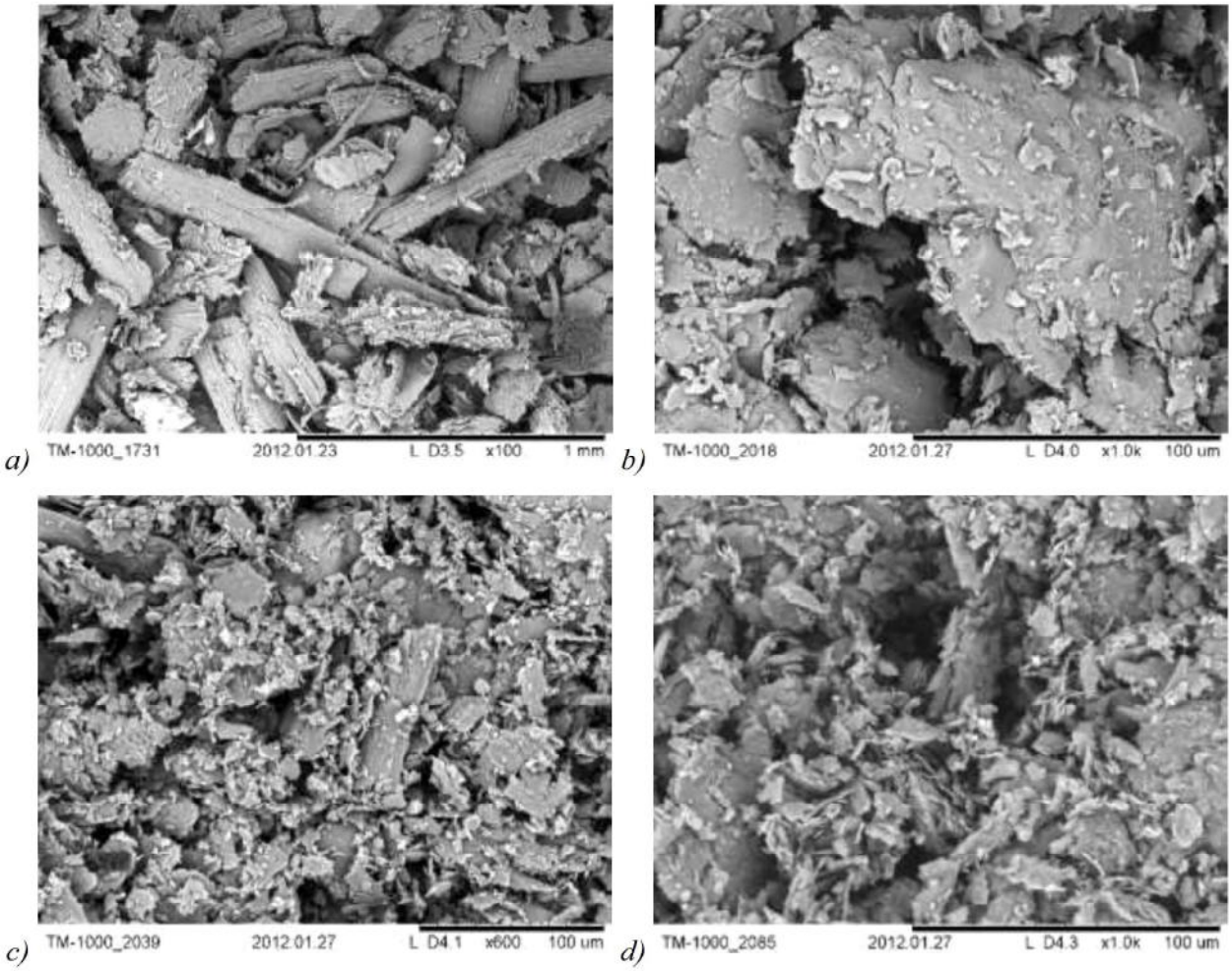


Рисунок 4.17 – Морфология исходного материала *(a)* и продуктов одно- *(b)*, двух- *(c)*, трехкратной *(d)* механической обработки. Сканирующая электронная микроскопия.

После однократной обработки в центробежно-роликовой мельнице размер частиц полученного продукта значительно уменьшается (средний размер частиц равен 43 мкм), а морфология частиц кардинально меняется. Становится невозможно дифференцировать частицы по принадлежности к тканям, все частицы имеют вид спрессованных или пластично «раскатанных» композитов. Агрегаты, обнаруженные в образце в большом количестве (Рисунок 4.17-*b*), свидетельствуют о сдвиговом типе воздействия, заложенном в конструкцию

[43] Bychkov, A. L. Mechanical pretreatment of corn straw in a centrifugal roller mill / A. L. Bychkov, V.A. Buchtoyarov, O. I. Lomovsky // Cellulose Chemistry and Technology. – 2014. – V. 48. – N. 5-6. – P. 545-551.

мельницы. Данные агрегаты имеют плотную слоистую структуру, образовавшуюся путём спрессовывания множества частиц с меньшим размером.

При последующей механической обработке (Рисунок 4.17-*d*) наблюдается дальнейшее измельчение лигноцеллюлозного материала и, что наиболее важно, практически полное разрушение агрегатов. Средний размер частиц составляет 25 мкм. После трёх- и четырёхкратной обработки агрегаты в продукте не обнаруживаются, средний размер частиц около 16 мкм в обоих случаях, продукт выглядит гомогенным.

Можно предположить, что добавление к мелющим телам (ролики без смещения центра масс) некоторого количества роликов с эксцентриситетом позволит ударным воздействием на материал разрушать агрегаты, предотвращать их образование и эффективнее измельчать сырьё.

Для детального изучения процесса измельчения выделена и проанализирована фракция с размерами частиц менее 150 мкм. На кривых (Рисунок 4.18) можно отметить несколько областей: до 7 мкм; 7-10 мкм; 12-16 мкм; 20-30 мкм; 30-75 мкм; и более 75 мкм. В перпендикулярном сечении стебель кукурузы состоит из нескольких типов клеток. На периферии волокон клетки имеют диаметры, лежащие в интервалах: 6-10 мкм, 10-18 мкм, 20-30 мкм, 30-75 мкм, а диаметры клеток в центре волокон от 75 мкм до 150-180 мкм.

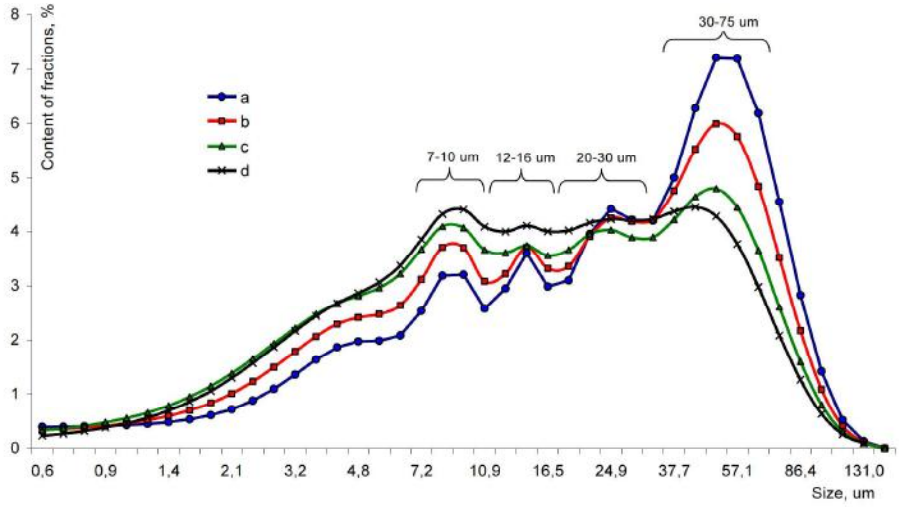


Рисунок 4.18 – Кривые гранулометрического анализа продуктов одно- *(a)*, двух- *(b)*, трех- *(c)* и четырёхкратной *(d)* механической обработки.

Полученные данные подтверждают предположение о том, что лигноцеллюлозные материалы с высоким содержанием лигнина разрушаются путём разделения вдоль клеточных стенок. Можно предположить, что клетки с диаметром выше 30 мкм более неустойчивы при механическом воздействии из-за недостаточно толстой клеточной стенки, разрушаются при измельчении и вносят вклад во фракции частиц с меньшими размерами. В свою очередь, клетки с меньшим диаметром относительно устойчивы к механическому воздействию.

Изменение параметров, отвечающих за реакционную способность

Удельная площадь поверхности – это особо важный параметр, так как ферментативный гидролиз лигноцеллюлозы является гетерогенным процессом. Из данных в таблице 4.11 видно, что ступенчатая механическая активация приводит к значительному увеличению удельной площади поверхности материала, при этом б*о*льшую часть площади составляет площадь пор с диаметром 1,7-300 нм, что соответствует диаметрам белковых молекул наиболее часто используемых ферментных комплексов [Grethlein, 1985].

Таблица 4.11 – Зависимость удельной площади поверхности от числа циклов механической обработки

Образец	Удельная площадь поверхности, м2/г	Удельная поверхность пор диаметром 1,7-300 нм, м2/г
Исходная солома кукурузы	0,5	0,2
Механическая обработка 1 раз	1,4	1,0
Механическая обработка 2 раза	1,8	1,2
Механическая обработка 3 раза	2,1	1,5
Механическая обработка 4 раза	2,4	1,7

Для обеспечения полноты протекания гидролиза необходимо как можно более полно разупорядочить кристаллические участки целлюлозы. В результате обработки в центробежной роликовой мельнице индекс кристалличности целлюлозы снижается с 64 % для исходной соломы кукурузы до 31 % после четырёхкратной активации, что должно приводить к значительному увеличению степени превращения.

На рисунке 4.19 представлена диаграмма, отражающая относительное изменение реакционной способности исследуемых материалов (под реакционной способностью здесь подразумевается начальная скорость ферментативного гидролиза). Видно, что реакционная способность наиболее эффективно возрастает за первые три цикла механической обработки. Дальнейшее измельчение не приводит к значительной активации. Исходя из этого, определяются требования к конструкции центробежных роликовых мельниц. Так, необходимо увеличить длину зоны измельчения у активатора примерно в три раза при сохранении прочих размеров.

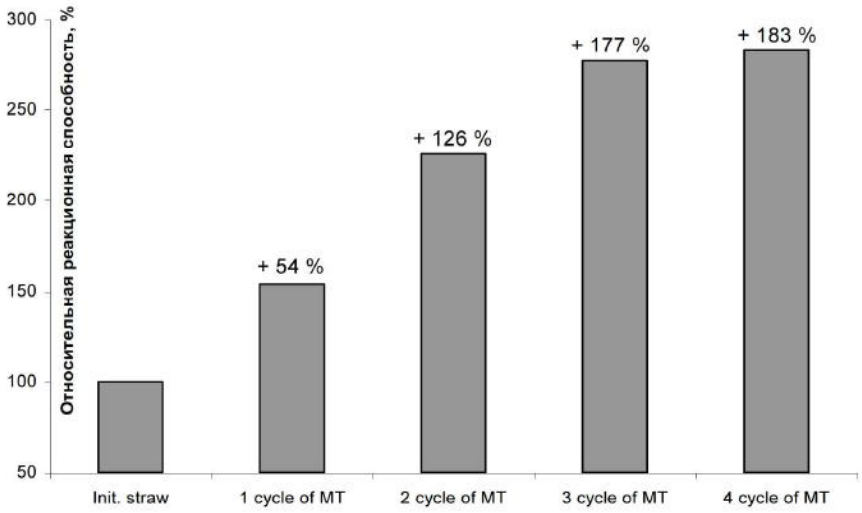


Рисунок 4.19 – Зависимость реакционной способности соломы кукурузы от числа циклов механической обработки.

Для определения времени, в течение которого ферментативный гидролиз протекает эффективно, а затем замедляется из-за накопления гелеобразных продуктов реакции, проведены кинетические исследования (Рисунок 4.20). Навеску трижды активированной соломы гидролизовали 1 % целлюлолитического комплекса «ЦеллоЛюкс-А».

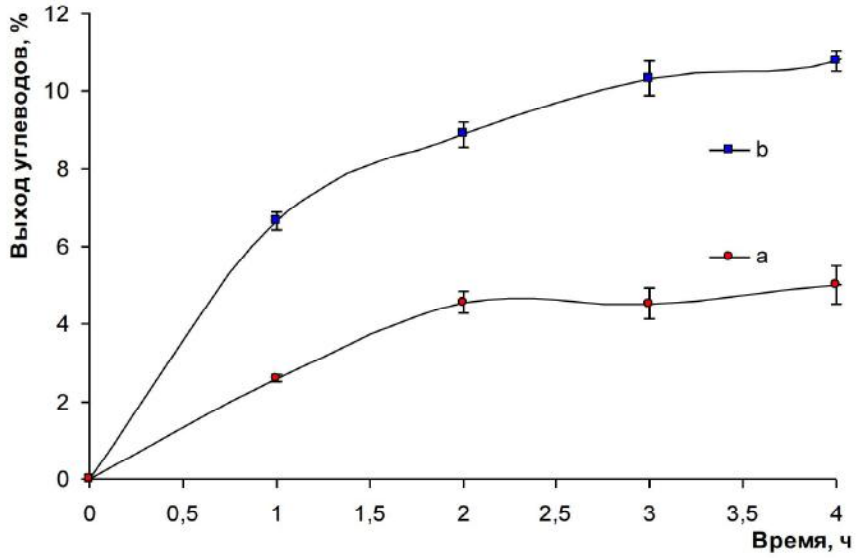


Рисунок 4.20 – Кинетика гидролиза исходной *(a)* и механически активированной *(b)* соломы кукурузы.

В то время как процесс гидролиза исходной соломы кукурузы начинает замедляться уже спустя два часа из-за расходования реакционноспособного субстрата, гидролиз механически активированной биомассы замедляется спустя четыре часа, а полностью выходит на плато спустя 6 часов. Это говорит о том, что необходимо "перезапускать" гидролиз как минимум каждые 4-6 часов, для чего предложено использовать обработку реакционной суспензии в

специально сконструированном аппарате-эмульгаторе для удаления с поверхности частиц лигноцеллюлозного сырья продуктов гидролиза.

Рабочий объём эмульгатора представляет собой камеру, в которой на центральном валу соосно вращаются два перфорированных вложенных друг в друга цилиндра. При прохождении реакционной суспензии через рабочий объём аппарата частицы смеси подвергаются воздействию вихревых потоков жидкости, вызванных вращением цилиндров. При этом растворяется гелеобразный слой промежуточных продуктов гидролиза, окружающий частицы лигноцеллюлозы, и тем самым облегчаются доступ ферментов к поверхности субстрата и отвод низкомолекулярных продуктов из зоны реакции. Эти процессы приводят к тому, что скорость гидролиза снова возрастает, вплоть до накопления нового слоя гелеобразных продуктов (Рисунок 4.21)[44].

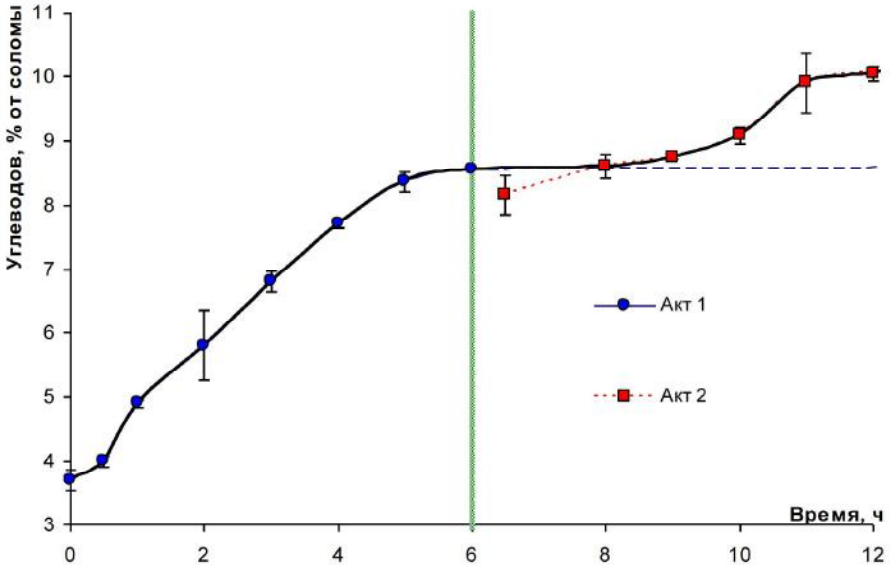


Рисунок 4.21 – Кинетика гидролиза активированной соломы с "перезапуском" гидролиза спустя 6 часов после начала реакции.

Для осуществления биоконверсии соломы в укрупненном варианте был сконструирован экспериментальный стенд, состоящий из термостатируемого реактора с устройством перемешивания и блоком механической обработки суспензии[45]. Объем реактора и производительность активатора позволяет проводить гидролиз реакционных смесей объемом от 5 до 50 литров непрерывно в течение нескольких суток. Результаты, полученные при биоконверсии укрупненной партии, представлены на рисунках 4.22 и 4.23. Механический

[44] Отчёт о НИР (промежуточный) «Исследование биокаталитических механоферментативных реакций деполимеризации и гидролиза полисахаридов в составе непищевого биовозобновляемого сырья». № госрегистрации 01201165617. 12 апреля 2012 г. ИХТТМ СО РАН

[45] Бычков, А. Л. Современные достижения в механоферментативной переработке растительного сырья / А.Л. Бычков, О. И. Ломовский // Химия растительного сырья. – 2017. – № 2. – С. 35-47.

"перезапуск" гидролиза проводился раз в 24 часа. Суммарный выход углеводов составил около 60-65 %.

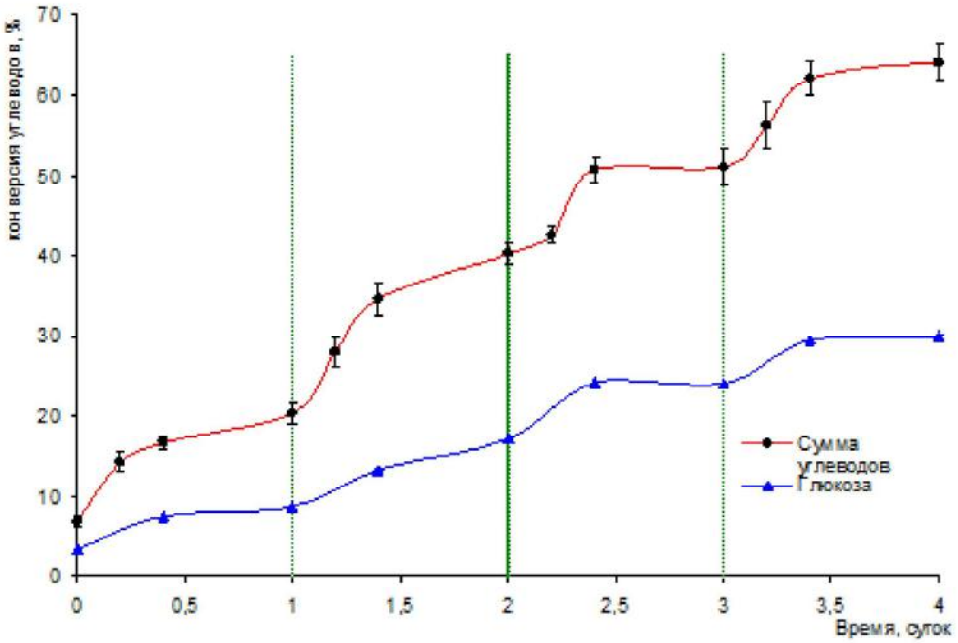


Рисунок 4.22 – Кинетика гидролиза укрупненной партии соломы кукурузы[46].

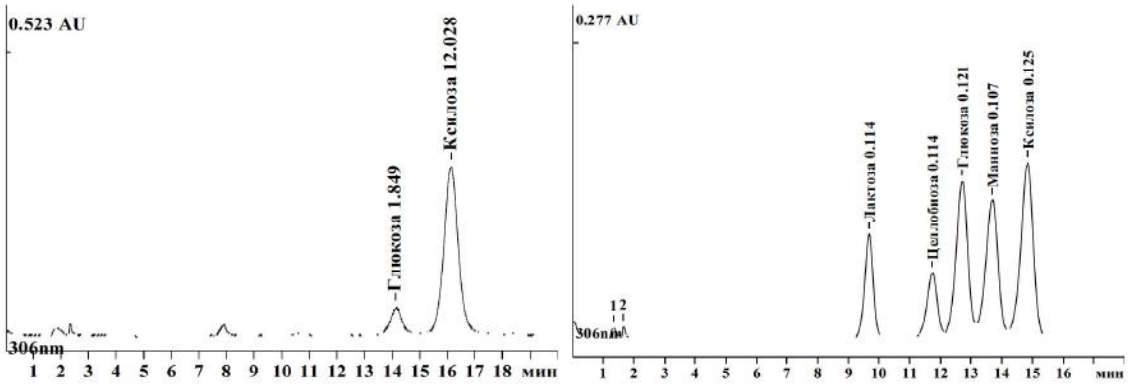


Рисунок 4.21 – Хроматографическое (ВЭЖХ) разделение углеводов (слева – гидролизат соломы кукурузы, справа – искусственная смесь углеводов).

Анализ опубликованных источников показал, что углеводы из лигноцеллюлозного сырья невозможно получить ферментативным гидролизом с выходом, близким к 100 %. Это связано с тем, что часть углеводов химически связана с лигнином в нереакционноспособный лигнин-углеводный комплекс. Можно предположить, что выход углеводов около 60-65 % от общей массы углеводов весьма близок к максимальному и дальнейшее увеличение выхода без крайне затратной дополнительной операции химического разрушения лигнин-углеводных комплексов

[46] Отчёт о НИР (промежуточный) «Исследование биокаталитических механоферментативных реакций деполимеризации и гидролиза полисахаридов в составе непищевого биовозобновляемого сырья». № госрегистрации 01201165617. 12 апреля 2012 г. ИХТТМ СО РАН

(например, перекисями в щелочных растворах или крепкими кислотами) окажется экономически неэффективным.

Полученные углеводы были подвергнуты биоконверсии в этанол с целью наработки опытной партии биотоплива. Проведено три серии экспериментов с различными условиями сбраживания. В первой серии сбраживанию подвергался лишь раствор, содержащий моно- и олигосахариды (твёрдый остаток лигноцеллюлозы был отделён фильтрованием). Во второй серии гидролизат сбраживался без разделения на раствор и твёрдый остаток. В третьей (контрольной) серии сбраживался 20 % раствор сахарозы.

Для оценки пригодности полученного этанола для использования в качестве топлива для двигателей внутреннего сгорания был проведён обзор современных научно-технических и патентных источников. В нашей стране качество биотоплива, содержащего этанол, регулируется ГОСТ Р 52201-2004 «Топливо моторное этанольное для автомобильных двигателей с принудительным зажиганием. Бензанолы». Согласно документу, доля этанола в биотопливе должна быть в диапазоне 5-10 %. При этом большинство параметров качества, таких как концентрация серы, доля кислорода, бензола, свинца, фракционный состав, октановое число во многом зависят от бензина, используемого для создания смеси.

Методом ГЖХ-МС (Таблица 4.12) показано, что в полученных образцах этанола не содержится запрещённых в ГОСТ примесей. Это позволяет сделать вывод о пригодности образцов к дальнейшему кондиционированию (прежде всего – удалению воды) и для создания смесей с бензином, предназначенных для двигателей внутреннего сгорания.

Таблица 4.12 – Результаты анализа (ГЖХ-МС) образцов обезвоженного спирта, полученных в экспериментах по сбраживанию

Компонент (в порядке выхода из хроматографической колонки)	Доля компонента, %		
	Сбраживание без осадка	Сбраживание с осадком	Контроль
ацетальдегид	-	0,18	-
этилацетат	0,06	0,04	0,10
метанол	1,22	1,02	-
бутан-2-ол	-	0,19	-
этанол	97,17	95,68	99,47
пропан-1-ол	0,17	0,92	-
2-метил-пропан-1-ол	0,50	0,79	0,15
2-пропен-1-ол	0,10	0,21	-
3-метил-бутан-1-ол	0,51	0,82	0,28
уксусная кислота + фурфурол	0,27	0,15	-

Таким образом, исследованы процессы, протекающие при многократной механической обработке соломы кукурузы в центробежной роликовой мельнице. Приведены данные, иллюстрирующие изменение морфологии порошкового продукта, влияние удельной площади поверхности, степени кристалличности целлюлозы на реакционную способность обработанного материала. На первом этапе механической обработки наблюдается образование плотных агрегатов, состоящих из измельчённых частиц. При увеличении времени обработки агрегаты разрушаются на составные частицы.

Ступенчатая механическая активация приводит к значительному увеличению удельной площади поверхности материала, при этом бо́льшую часть площади составляет площадь пор с диаметром 1,7-300 нм.

Проведенный ступенчатый ферментативный гидролиз активированного растительного сырья позволил перевести в мономерную форму 65 % углеводов, содержащихся в соломе кукурузы. Последующим сбраживанием гидролизата получены образцы этилового спирта, пригодные для дальнейшего кондиционирования в компонент моторного топлива.

Полученные результаты позволяют дать ряд рекомендаций, касающихся модификации существующих и создания новых центробежных роликовых мельниц, предназначенных для переработки растительного сырья. В зоне измельчения необходимо чередовать ударное воздействие со сдвиговым воздействием, что позволит предотвратить образование излишне больших агрегатов. Для соблюдения экономически важного баланса «затраченная энергия – увеличение реакционной способности» необходимо подбирать величину зоны измельчения под каждый тип лигноцеллюлозного сырья.

4.3. Механически активированный ферментативный гидролиз полимеров биомассы дрожжей

В данном разделе представлены результаты работ по механохимическому получению из дрожжевой биомассы нового вида экологически чистых заменителей кормовых антибиотиков – препаратов на основе маннанолигосахаридов. Основными сложностями в получении данного продукта были, во-первых, супрамолекулярная структура сырья (целевые маннанолигосахариды экранированы слоем инертного и частично кристаллического бета-глюкана), а во-вторых, низкая термическая стабильность целевых веществ, склонных к денатурации при высоких температурах.

В работе по данному направлению активно использовались представленные выше данные о денатурации белков при механохимической обработке (Глава 3.1), о влиянии механической активации на свойства поверхности, кристалличность и супрамолекулярную структуру природных полимерных материалов (Глава 3.3-3.5).

Исследования выполнены при поддержке гранта ФЦП «Исследование биокаталитических механоферментативных реакций деполимеризации и гидролиза полисахаридов в составе непищевого биовозобновляемого сырья», гранта фонда Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере «Механохимическая технология гидролиза полимеров дрожжевой биомассы с целью получения новых олигосахаридных материалов», гранта администрации г. Новосибирска «Механохимическое получение заменителей кормовых антибиотиков для животных» и гранта Правительства Новосибирской области «Масштабирование технологии получения и наработка опытной партии заменителей антибиотиков для сельского хозяйства».

Влияние механической обработки на дефектность структуры клеточной стенки и эффективность щелочного гидролиза

Исследовано влияние механической обработки дрожжевой биомассы на эффективность щелочной экстракции маннанолигосахаридов[47]. В качестве механического воздействия была использована обработка в активаторе АГО-2 в течение 2 минут. Методом, основывающимся на различной сорбции красителя живыми и мёртвыми клетками, определена степень разрушения клеток биомассы в процессе механической обработки. Данные представлены на рисунке 4.22. Из хода кривой видно, что в течение сорока секунд после начала механической обработки,

[47] Bychkov, A. L. Obtaining mannanoligosaccharide preparations by means of the mechanoenzymatic hydrolysis of yeast biomass / A. L. Bychkov, K. G. Korolev, O. I. Lomovsky // Applied Biochemistry and Biotechnology. – 2010. – V. 162. – P. 2008-2014.

энергия, подведённая к образцу, расходуется в основном на измельчение частиц биомассы до определённого предела. Примерно при сорока секундах обработки на кривой наблюдается перегиб, который можно связать с прекращением измельчения частиц биомассы и началом эффективного механического разрушения отдельных клеток.

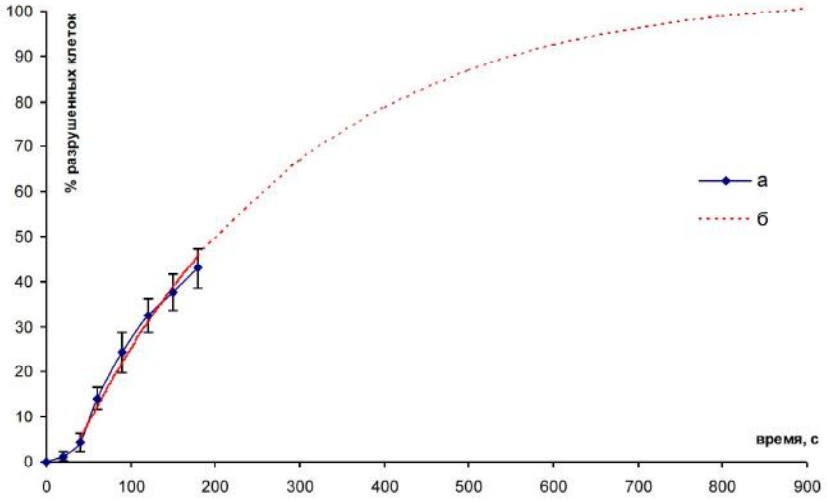


Рисунок 4.22 – Зависимость количества разрушенных клеток в зависимости от времени механической обработки: *а* – экспериментальные данные, *б* – теоретическое описание экспоненциальным законом.

Характер кривой разрушения микроорганизмов наиболее точно описывается экспоненциальным законом

$$N=N_o \exp(-t/\tau),$$

где N – текущее число целых клеток в объёме активатора; N_o – начальное число клеток; t – время обработки; τ – эмпирическая постоянная [Кудрявцева, 1988]. Подстановка экспериментальных данных в приведённое уравнение показала удовлетворительную степень аппроксимации и позволила оценить (при времени обработки более двух минут непосредственное измерение степени разрушения затруднено) время, необходимое на разрушение всех клеток биомассы (Рисунок 4.22).

Необходимое для полного разрушения клеток биомассы время равняется 15 минутам. Особого подхода требует определение оптимальных условий механической обработки. С одной стороны, увеличение времени обработки приводит к денатурации целевых компонентов при перегревании рабочего объёма активатора. С другой стороны, для протекания механически активированного ферментативного гидролиза необходимо некоторое количество разрушенных клеток.

Для дрожжевой биомассы, подвергнутой механической обработке в течение двух минут, измерен выход щёлочерастворимых маннанолигосахаридов. Результаты анализа представлены в таблице 4.13.

Таблица 4.13 – Результаты механической обработки *S. cerevisiae*

Вид обработки	Выход глюкана, % от сухих *S. cerevisiae*	Выход маннанолигосахаридов, % от сухих *S. cerevisiae*
Щелочная экстракция исходной биомассы	15.2	1.3
Щелочная экстракция биомассы после мех. обработки	22,3	2,1

Приведённые результаты демонстрируют, что механическая обработка способствует увеличению выхода маннанолигосахаридов вследствие разупорядочения супрамолекулярной структуры клеточной стенки. Даже механическая обработка без добавления реагентов позволяет достичь уровня извлечения маннанолигосахаридов, который в жидкой фазе мог обеспечить только ферментативный гидролиз (с последующей щелочной экстракцией).

Часть экстрагируемых олигосахаридов присоединена к белковому фрагменту – является маннопротеином. Пользуясь различной растворимостью белков и олигосахаридов в концентрированных растворах этилового спирта, удалось разделить экстракт на маннопротеиновую и маннанолигосахаридную фракции. Химический анализ показал, что в экстракт переходит 1,1 % индивидуальных маннанолигосахаридов, в то время как 1,0 % маннанолигосахаридов переходят в раствор в виде маннопротеинов.

Эти данные коррелируют с повышением выхода растворимых белков. Методом химического анализа и электрофореза показано, что после механической обработки дрожжевой биомассы содержание белков в растворе повышается до 8,6 % (с 0,2 % белков в экстракте исходной биомассы).

Качественный анализ белков представлен на рисунке 4.23. Из гель-хроматограммы видно, что экстракт исходной биомассы содержит всего пять групп белков различной молекулярной массы. Экстракт механически обработанной биомассы содержит около двадцати четырёх групп белков с разными молекулярными массами.

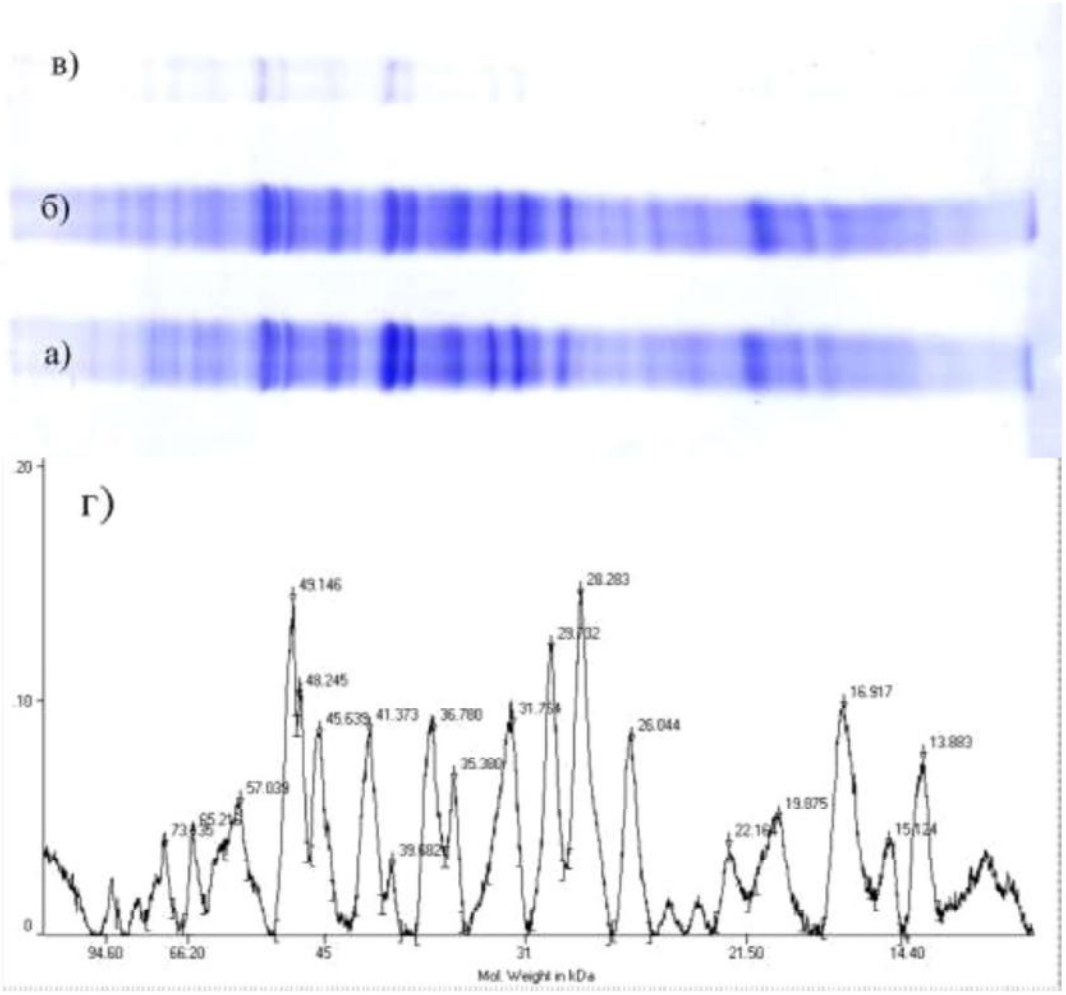


Рисунок 4.23 – Молекулярная масса белков экстракта механически обработанной дрожжевой биомассы; *а, б* – экстракты механически обработанной биомассы, *в* – экстракт исходной биомассы, *г* – профилограмма экстракта обработанной биомассы.

Из приведённых выше данных можно сделать следующие выводы:

- в процессе механической обработки происходит разрушение клеток биомассы,
- для полного разрушения клеток необходимо проводить механическую обработку около 15 минут, что может приводить к перегреву образца и денатурации целевых компонентов и ферментов,
- за наиболее приемлемые времена механической обработки (порядка двух минут) разрушаются около 30-40 % дрожжевых клеток,
- в результате механической обработки дрожжевой биомассы значительно увеличивается выход в щелочной раствор маннопротеинов.

Эффекты повышения выхода растворимых продуктов при механической обработке смесей дрожжевой биомассы с твёрдыми веществами могут быть связаны с влиянием следующих основных факторов:

- механическое разрушение клеточных стенок твёрдыми частицами,
- выделение низкомолекулярных компонентов, уже имевшихся в составе макроструктуры клетки или новообразованных,
- собственно химическая реакция твёрдого компонента с полимерами клетки.

Для оценки величины вклада указанных процессов в общий эффект проведены специальные эксперименты с химическими реагентами и нейтральной абразивной добавкой – кварцевым песком.

Механическая обработка с химически нейтральной абразивной добавкой приводит к сильному разрушению субстрата (Рисунок 4.24). На микрофотографиях отчётливо видны исходные клетки дрожжей, а также разрушенная клеточная масса (тёмно-серые островки).

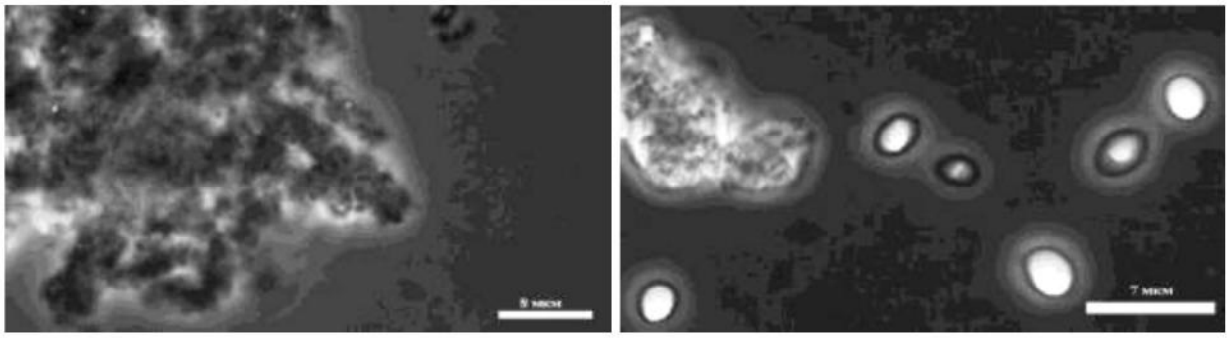


Рисунок 4.24 – Микрофотографии продукта механической обработки *S. cerevisiae* с песком.

Чёрный цвет образцов, позволяет предположить, что при механической обработке дрожжевой биомассы с абразивными материалами происходит термическое разложение полимеров клеточной стенки. Физико-химический анализ также показал (Таблица 4.14) уменьшение выхода маннанолигосахаридов, что подтверждает гипотезу о разложении целевых компонентов.

Таблица 4.14. Результаты механической обработки биомассы *S. cerevisiae*

Вид обработки	Выход глюкана, % от сухих *S. cerevisiae*	Выход маннанолигосахаридов, % от сухих *S. cerevisiae*
Щелочная экстракция исходной биомассы	15.2	1.3
Щелочная экстракция биомассы после мех. обработки	22,34	2,05
Обработка с песком	13,2	0,66
Обработка с NaOH	23,8	2,5
Обработка с ферментом	25,5	2,05

Механическая обработка с ферментативным препаратом практически не повысила уровень извлечения β-глюкана и маннанолигосахаридов. Эффект гораздо ниже, нежели при жидкофазном гидролизе клеточной стенки. Это связано с тем, что механохимическая обработка проводилась без добавления воды и реакция гидролиза полимеров в момент механической обработки протекать не могла. К тому же молекулы фермента могут денатурировать при механической обработке.

Механическая обработка с гидроксидом натрия позволила увеличить выход маннанолигосахаридов по сравнению со щелочным экстрактом из биомассы, механически обработанной без реагентов. Увеличение выхода можно объяснить образованием механокомпозита – продукта, в котором в результате механической обработки среди клеток биомассы равномерно распределены измельчённые частицы реагента. При экстракции к композиту добавляется вода и в местах расположения частиц реагента образуются локальные пересыщенные концентрации гидроксида натрия. В этих условиях процесс щелочной экстракции протекает полнее.

В результате проведённых экспериментов можно заключить, что:

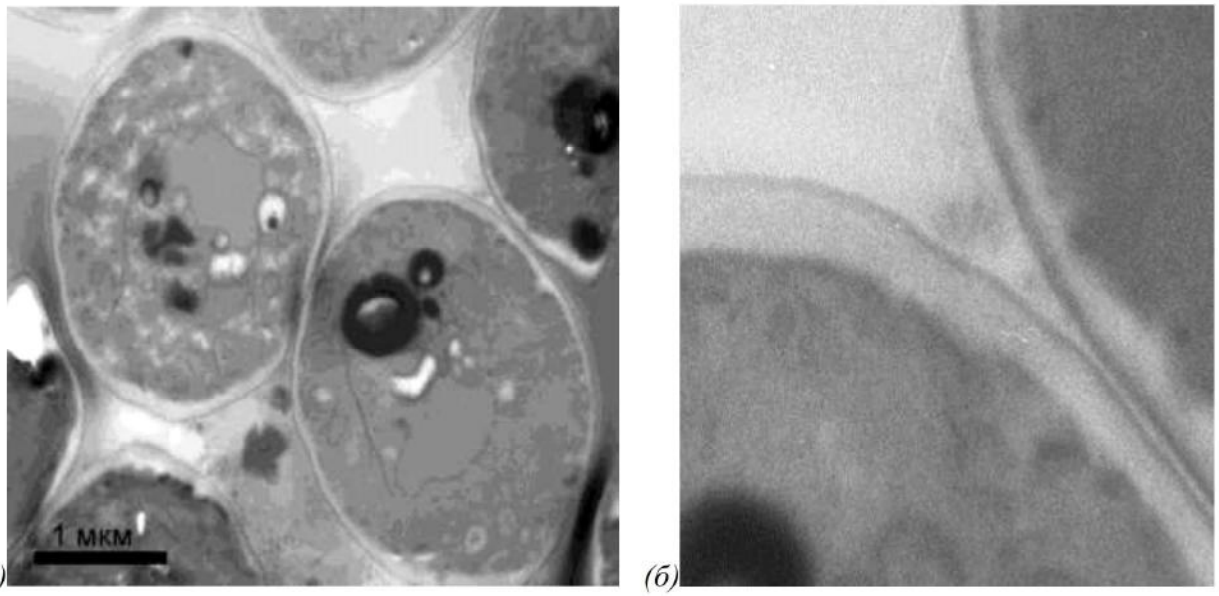
- повышение выхода растворимых продуктов при механической обработке дрожжевой биомассы с добавками зависит от физико-химической природы добавки,
- при механической обработке биомассы с твёрдыми химически нейтральными добавками (песок, ферменты без добавления воды) происходит выделение компонентов, уже имевшихся в составе макроструктуры клетки или новообразованных,
- при механической обработке с гидроксидом натрия наблюдается образование композита, характеризующегося повышенным выходом маннанолигосахаридов,
- повышение выхода маннанолигосахаридов объясняется локальными повышениями концентрации гидроксида натрия при последующей экстракции.

Изменение структуры и дефектности полимеров клеточной стенки

С помощью просвечивающей электронной микроскопии проведены исследования изменений структуры дрожжевых клеточных стенок вследствие механической обработки[48]. На рисунке 4.25 представлена микрофотография исходных клеток. Ультраструктура клеточных стенок имеет следующие характерные особенности: β-глюкан образует электронопрозрачный слой в центре клеточной стенки; маннопротеины, благодаря декорированию осмиевой

[48] Бычков, А. Л. Изменение супрамолекулярной структуры клеточной стенки Saccharomyces cerevisiae при механоферментативной обработке / А. Л. Бычков, Е. И. Рябчикова, К. Г. Королев, О. И. Ломовский // Химия в интересах устойчивого развития. – 2009. – № 5. – С. 479-486.

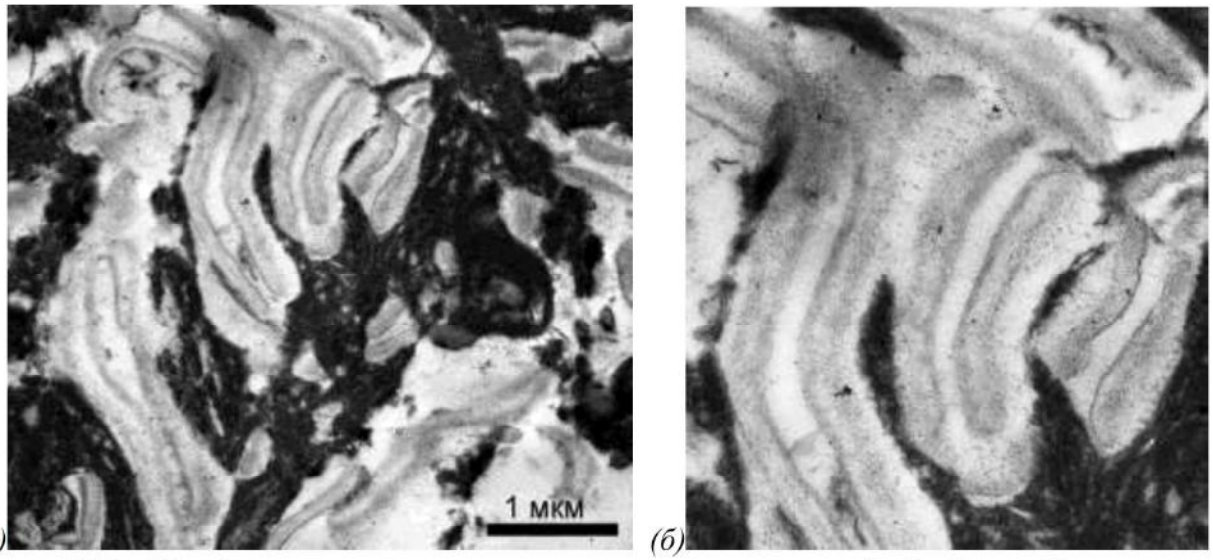
кислотой, образуют два электроноплотных слоя на внешней и внутренней поверхности глюкана.



(а) *(б)*

Рисунок 4.25 – Морфология дрожжевых клеток до механической обработки. Ультратонкие срезы препаратов, фиксированных осмиевой кислотой. *а* – исходные дрожжевые клетки, *б* – увеличенный фрагмент микрофотографии клеточных стенок.

Из рисунка 4.26 видно, что механическая обработка дрожжевой биомассы приводит к выраженному повреждению дрожжевых клеток, при этом наблюдается деформация и разрыв стенок. Основная часть препарата представлена внутриклеточным веществом, имеющим вид электронно-плотной массы, в которой просматриваются мембраноподобные структуры различного размера и остатки клеточной стенки. Последние имеют вид, как отдельных фрагментов, так и сплющенных клеток с разорванными стенками.



(а) *(б)*

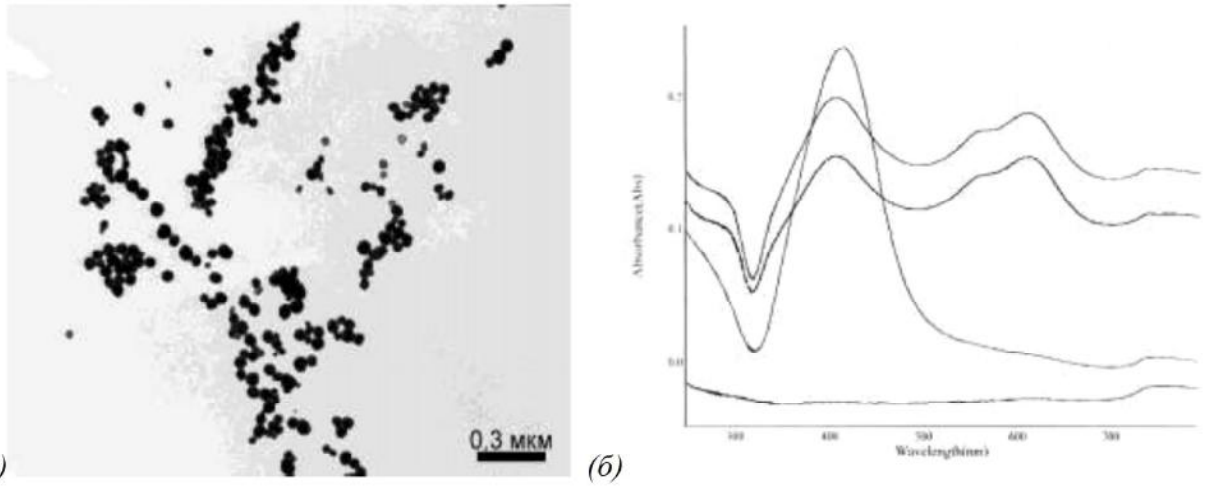
Рисунок 4.26 – Морфология дрожжевых клеток после механической обработки. Ультратонкие срезы препаратов. *а* – дрожжевые клетки после механической обработки, *б* – увеличенный фрагмент микрофотографии клеточных стенок.

По сравнению с клетками исходного препарата структура клеточной стенки разупорядочена, стенка выглядит гомогенной. Чётко разделявшиеся в исходных клеточных стенках слои маннопротеинов и β-глюкана становятся размытыми и диффузными. Подобные нарушения супрамолекулярной структуры полимеров позволяют прогнозировать повышенную реакционную способность механически обработанной биомассы при последующем гидролизе.

Для выявления дефектов β-глюкана использована реакция восстановления аммиачного комплекса нитрата серебра. Из механизма образования частицы элементного серебра восстановлением из ионов [Стрижко, 2003] понятно, что для образования частицы необходимо достаточное количество восстановителя, роль которого в данном случае играют концевые альдегидные группы углеводов. При помощи УФ-спектроскопии и просвечивающей электронной микроскопии установлено образование в данных условиях наночастиц серебра[49]. Размер, форма и свойства образующихся наночастиц зависят от условий получения.

Для наночастиц серебра, в диапазоне их диаметров от 20 нм до 100 нм, наблюдается линейная зависимость между их размером и положением пика на УФ-спектре. Например, увеличение размеров частиц с 25 нм (390 нм) до 50 нм приводит к смещению пика к длине волны 420 нм [Chandran, 2006; Mouxing, 2006; Panacek, 2006; Хлебцов, 2007; Huang, 2007].

Проведённые эксперименты подтверждают опубликованные данные. Частицы, полученные в растворе восстановлением глюкозой, имеют сферическую форму (рис. 4.27) и устойчивы непродолжительное время (около 3-5 часов). Далее частицы образуют более крупные агрегаты и выпадают в осадок. Первоначально образование агрегатов проявляется на УФ-спектре в виде уширения исходного пика в длинноволновую область, а впоследствии – в виде образования широких пиков в области 500 – 600 нм.



(а) *(б)*

Рисунок 4.27 – Частицы серебра, полученные в растворе восстановлением глюкозой: *а* – электронная микрофотография частиц, *б* – УФ-спектр раствора наночастиц.

[49] Bychkov, A. L. Preparation of silver nanoparticles stabilized with products of mechanoenzymatic hydrolysis of yeast cell walls / A. L. Bychkov, E. I. Ryabchikova, O. I. Lomovsky // Journal of International Scientific Publications: Materials, Methods and Technologies – 2013. – V. 7. – N. 2. – P. 439-446.

На рисунке 4.28 продемонстрирована микрофотография и УФ-спектр наноструктурированных дендритных структур, синтезированных в присутствии растворимых биополимеров, выделенных из клеточной стенки дрожжей. Пик в области 420 нм, приписываемый частицам с размерами около 50 нм, свидетельствует о том, что данные макроструктуры несмотря на их сложность и видимую протяжённость являются наноструктурированными. Отсутствие уширения и дополнительных пиков в длинноволновой области спектра свидетельствует об отсутствии агрегатов, а, следовательно, о стабильности полученных частиц.

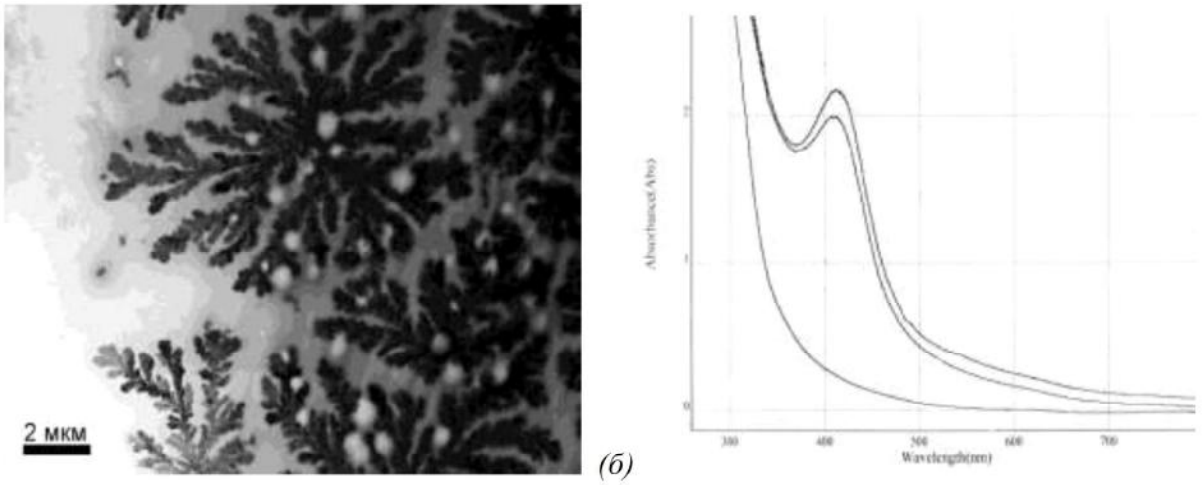
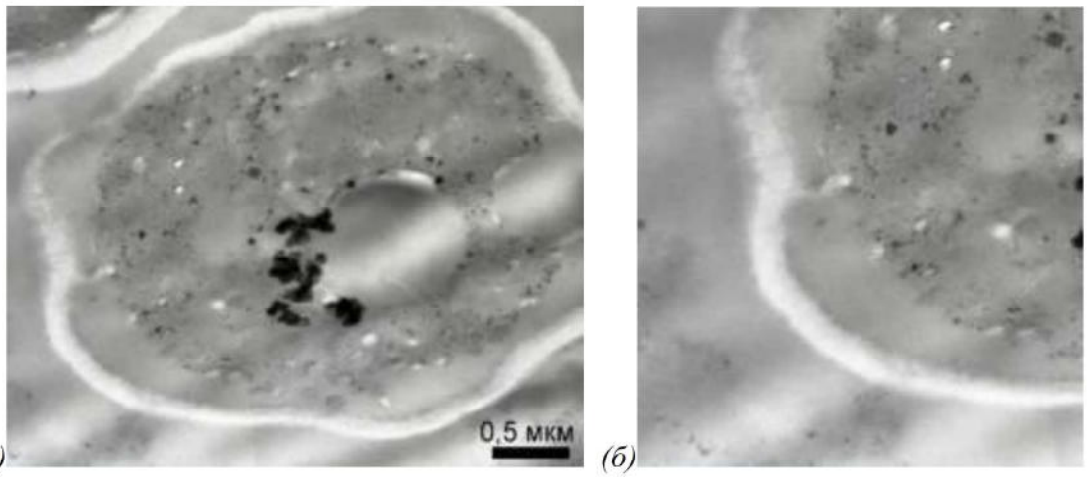


Рисунок 4.28 – Наноструктурированные дендритные образования серебра, полученные в растворе биополимеров: *а* – электронная микрофотография, *б* – УФ-спектр раствора.

Получение стабилизированных биополимерами наночастиц серебра можно использовать в декорировании дефектов структуры клеточной стенки. Показано, что частицы, полученные в присутствии дрожжевой биомассы, локализуются в местах скопления дефектов структуры β-глюкана.

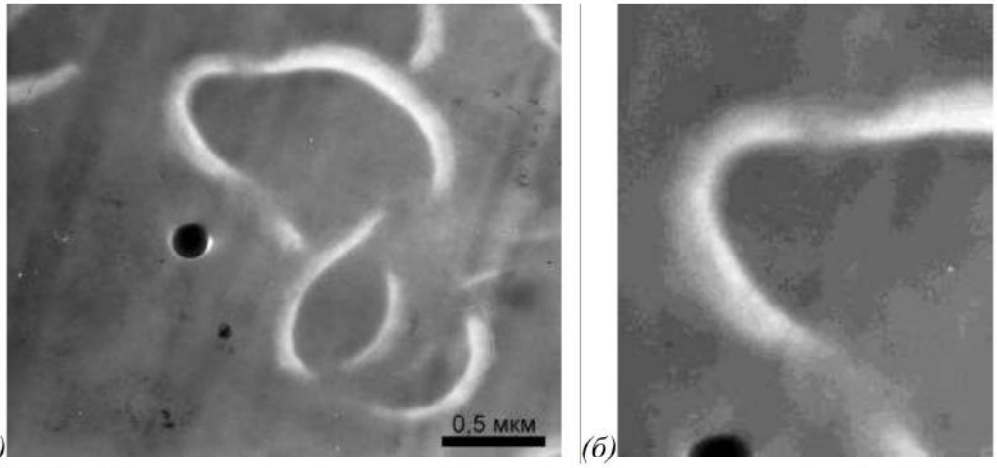
На рисунке 4.29 представлена микрофотография ультратонкого среза исходной дрожжевой клетки, обработанной аммиачными комплексами серебра. Электронно-плотные частицы локализуются внутри клетки, что говорит о внутриклеточной локализации восстанавливающих центров. Поскольку в нативной клеточной стенке полисахариды формируют устойчивые структуры, в которых содержание доступных восстанавливающих центров невелико, клеточная стенка контрастирована слабо. Ввиду незначительного содержания экстрактивных углеводов в водорастворимой части (подтверждено химическим анализом) восстановление серебра в околоклеточном пространстве протекает незначительно, и электронно-плотный продукт не образуется.



(а) *(б)*

Рисунок 4.29 – Препарат исходных клеток дрожжей: *а* – ультратонкий срез исходной клетки, *б* – увеличенный фрагмент микрофотографии клеточной стенки.

Механическая обработка биомассы (Рисунок 4.30) сопровождается разрывами клеточных стенок, при этом структура фрагментов носит диффузный характер. Клеточная стенка не взаимодействует с комплексами серебра ввиду низкой концентрации восстанавливающих альдегидных групп. Таким образом, видно, что механическая обработка в отсутствие реагентов не приводит к существенному повышению реакционной способности глюкана клеточной стенки.



(а) *(б)*

Рисунок 4.30 – Препарат клеток дрожжей, подвергнутых механической обработке: *а* – ультратонкий срез обработанных клеток дрожжей, *б* – увеличенный фрагмент микрофотографии клеточной стенки.

Для подтверждения данных электронной микроскопии об устойчивости компонентов клеточных стенок при механической обработке без реагентов, проведён эксперимент, в котором компоненты клеточной стенки (Таблице 4.15) были выделены, очищены, охарактеризованы методами физико-химического анализа и подвергнуты механической обработке в активаторе АГО-2. Измерены активности целлюлозолитического препарата «ЦеллоЛюкс-А» по отношению к исходным и механически обработанным компонентам клеточной стенки.

Таблица 4.15 – Активность ферментативного комплекса "ЦеллоЛюкс-А" по отношению к глюкановым полимерам

Полимер	Активность «ЦеллоЛюкс-А», ед./г
Щёлочерастворимый β-1,3-глюкан	250
Щёлоченерастворимый β-глюкан	14
Щёлоченерастворимый β-глюкан после 5 минут механической обработки	26

Показано, что все глюкановые полимеры клеточной стенки способны гидролизоваться ферментами препарата «ЦеллоЛюкс-А». Однако, реакционная способность супрамолекулярных комплексов, состоящих из этих полимеров, гораздо ниже реакционной способности индивидуальных компонентов. Например, комплекс щёлоченерастворимого β-глюкана ферментами практически не гидролизуется, несмотря на довольно высокую реакционную способность входящих в его состав кислоторастворимого β-1,6-глюкана и кислотонерастворимого β-1,3-глюкана.

Сравнение результатов экспериментов по взаимодействию с аммиачными комплексами серебра и экспериментов по определению активностей растворов ферментов показывает, что наблюдаемая в данном случае степень разупорядочения слабо отражается на электронно-микроскопических снимках, но заметна при проведении кинетических исследований.

Таким образом, при механической обработке, по данным ультраструктурных исследований, нарушается целостность дрожжевых клеток, а также изменяется супрамолекулярная структура полимеров клеточной стенки. Структурные слои клеточной стенки разупорядочиваются и носят диффузный характер. Механическая обработка дрожжевой биомассы увеличивает доступность маннанолигосахаридов для щелочной экстракции.

Механическая обработка *S. cerevisiae* позволяет получать реакционноспособные механокомпозиты, последующая экстракция из которых проходит эффективнее, чем экстракция из биомассы без механической обработки. В частности, механохимическая обработка с гидроксидом натрия в твёрдой фазе позволяет равномерно рассредоточить частицы NaOH среди клеток и достигать высоких локальных концентраций щёлочи при экстракции.

В реакциях ферментативного гидролиза наиболее реакционноспособным является щёлочерастворимый β-1,3-глюкан. Однако, механическая обработка наименее активного щёлоченерастворимого β-глюкана позволяет увеличивать его реакционную способность.

Влияние механической обработки на структуру клеточной стенки и эффективность ферментативного гидролиза составляющих её полимеров

Для повышения эффективности ферментативного гидролиза β-глюкана была предложена схема, названная механоферментативной обработкой, в которой стадии ферментативного

гидролиза предшествует стадия механической обработки смеси субстрата и фермента[50]. С целью увеличить реакционную способность, изменить химические, физические свойства образца на первой стадии дрожжевая биомасса *S. cerevisiae* подвергается механической обработке с ферментативным препаратом «ЦеллоЛюкс-А». При помощи этой стадии осуществляется недиффузионное распределение ферментов по объёму образца, механическое разрушение некоторой части клеток, а также разупорядочение супрамолекулярной структуры полимеров клеточной стенки, приводящее к повышению их реакционной способности.

Вторая стадия включает в себя компактирование полученного порошка. Это позволяет повысить объёмную концентрацию фермента, а также предотвратить потерю воды, которая необходима для гидролиза.

Третья стадия – прогрев компакта при оптимальной температуре действия ферментов (45-50 °С) необходима для протекания гидролиза β-глюкана. Образовавшиеся на первой стадии разрушенные клетки служат центрами локализации последующего гидролиза. Вода (влажность дрожжей около 5 %), вытекшая из клеток, растворяет фермент. Ферменты сорбируются на субстрате и начинают катализировать реакцию гидролиза.

Ферментативный гидролиз в компакте протекает только при реализации первых двух стадий: диспергирование реагента, образование центров локализации, обеспечение непрерывности среды и повышение объёмных концентраций.

Чтобы проследить морфологические изменения в процессе обработки, было проведено микроскопическое исследование (светооптическая микроскопия) следующих образцов:

- исходная биомасса дрожжей *S. cerevisiae*,
- биомасса после механической обработки с ферментом,
- компакт, подвергнутый прогреву на третьей стадии.

На рисунке 4.31-*а* представлена микрофотография исходных дрожжей S. cerevisiae – видны овальные клетки диаметром около 5 мкм без видимых повреждений. Микроскопическое исследование образцов дрожжевой биомассы до и после ферментативного гидролиза показало, что часть клеток в результате механической активации разрушается и, по-видимому, играет роль центров локализации реакции гидролиза при последующем прогреве компакта (Рисунок 4.32). На микрофотографии прогретой дрожжевой массы отчётливо виден фронт реакции, центральная зона погибших клеток с вытекшим содержимым, а также периферическая зона клеток, до которых реакционный фронт не дошёл, и которые сохраняют структуру интактных клеток.

---

[50] Bychkov, A. L. Mechanoenzymatic hydrolysis of yeast biomass / A. L. Bychkov, E. I. Ryabchikova, O. I. Lomovsky // Journal of International Scientific Publications: Ecology and Safety. – 2012. – V. 6. – N. 1. – P. 25-36.

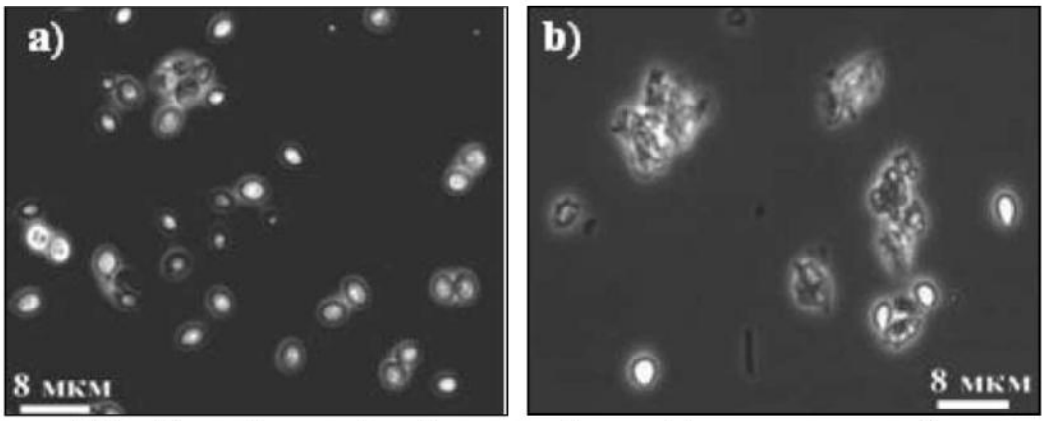


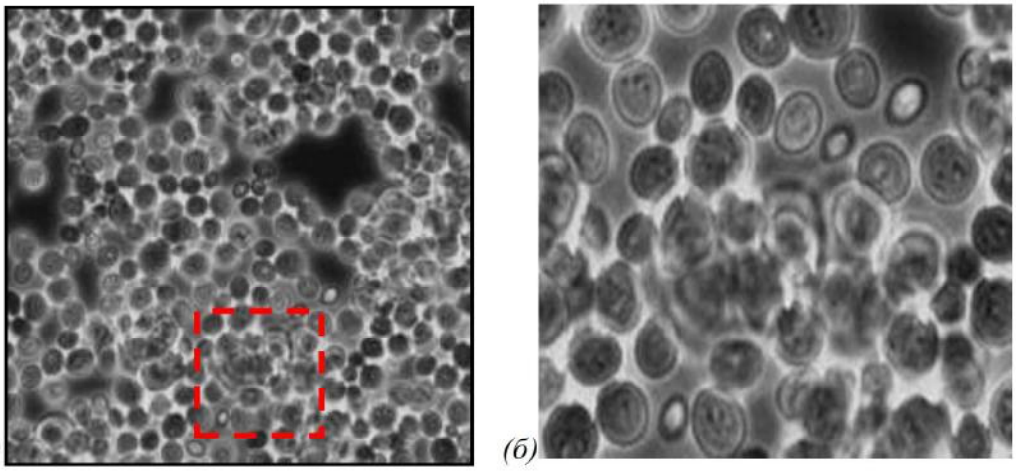
Рисунок 4.31 – Микрофотографии биомассы *S. cerevisiae*: *a* – исходная биомасса, *b* – разрушенные клетки после механической обработки с ЦеллоЛюкс-А.



Рисунок 4.32 – Схема протекания автолокализированного ферментативного гидролиза: *a* – механически разрушенная клетка, *b* – исходная клетка, *c* – гидролизованные клетки, *d* – частицы не реагирующих ферментов, *e* – частицы реагирующих ферментов.

Протекание ферментативного гидролиза иллюстрируется рисунке 4.32. Видно, что реакция протекает в объёме автолокализованно, то есть путём образования и постепенного продвижения зоны превращения. На микрофотографии отчётливо виден фронт реакции, центральная зона погибших клеток с вытекшим содержимым, а также периферическая зона клеток, до которых реакционный фронт ещё не дошёл (Рисунок 4.33 и 4.34). Центральная часть представляет собой клетки, которые подверглись гидролизу. Клеточное содержимое находится вне клеток, которые потеряли форму. Клетки, которые не участвовали в реакции, не отличаются от исходных. Химический анализ щелочного экстракта продукта механоферментативной обработки показал, что выход глюкана равен 22 %, а выход маннанолигосахаридов – 3,8 % (1,1 % в виде маннанолигосахаридов и 2,7 % в виде маннопротеинов) от массы исходной биомассы *S. cerevisiae*. Видно, что выход маннанолигосахаридов выше, чем при одностадийной механической обработке с ферментами и выше, чем при двухстадийной жидкофазной обработке «фермент – щелочная экстракция».

Приведённые данные о выходе щёлочедоступных маннанолигосахаридов свидетельствуют об эффективности предложенной механохимической технологии в получении антибактериальных препаратов для животноводства.



(а) *(б)*

Рисунок 4.33 – Микрофотография дрожжевой биомассы после механической обработки: *а* – клетки обработанной биомассы, *б* – увеличенный фрагмент *«а»* с центром локализации реакции на месте разрушенных клеток.

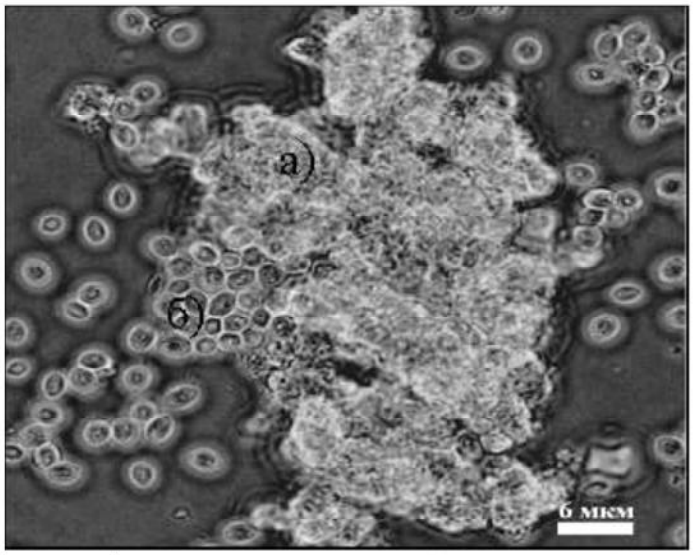


Рисунок 4.34 – Микрофотография автолокализованной реакционной зоны гидролиза β-глюкана *S. cerevisiae*: *а* – гидролизованные клетки, *б* – исходные клетки.

Для исследования изменений супрамолекулярной структуры компонентов клеточной стенки использован способ декорирования дефектов белков и β-глюкана клеточной стенки с помощью реакций с осмиевой кислотой и солями серебра, соответственно.

На рисунке 4.36 приведена микрофотография ультратонкого среза дрожжевой биомассы, подвергнутой механоферментативной обработке. Клеточные стенки повреждены, цитоплазма и органеллы разрушены и образуют электроноплотную осмиофильную массу, локализованную между клеточными стенками. В клеточных стенках обнаружены зернистые структуры размером 12-25 нм, которые предположительно являются комплексами гликопротеинов с осмиевой кислотой (Рисунок 4.37). Таким образом, ферментативный гидролиз глюкана приводит к

снятию диффузионных ограничений, в результате чего появляется возможность образования осмиофильных зернистых структур.

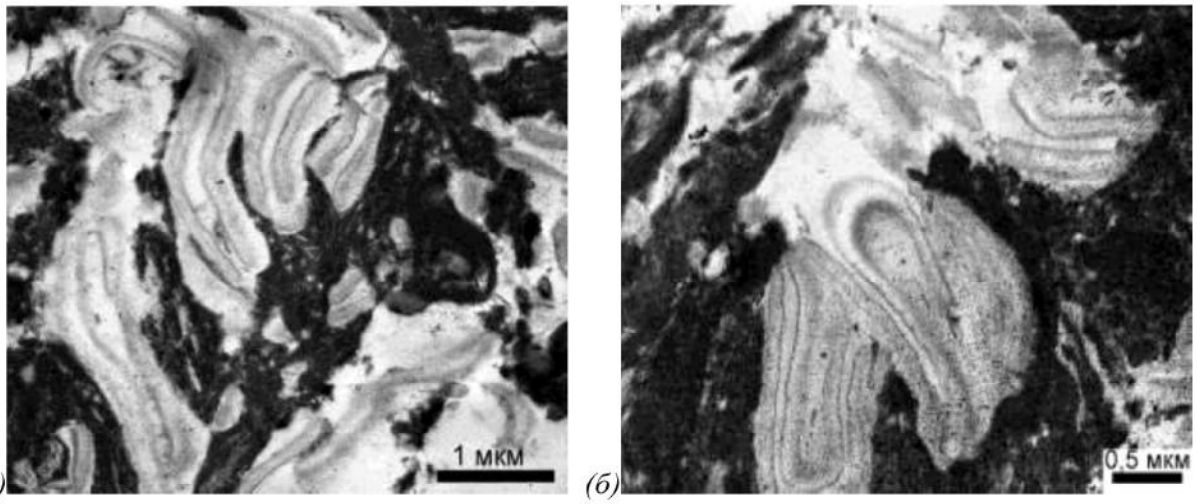


Рисунок 4.36 – Морфология дрожжевых клеточных стенок после механической *(а)* и ферментативной обработки *(б)*.

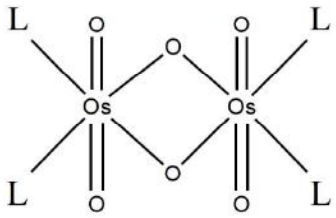


Рисунок 4.37 – Схема комплексов осмиевой кислоты с белками клеточной стенки. L – лизин, метионин, триптофан, гистидин, цистеин [Nielson, 1979].

Для выявления изменений β-глюкана использована реакция восстановления аммиачного комплекса нитрата серебра. Из фотографии (Рисунок 4.38-а) исходных *S. cerevisiae*, обработанных нитратом серебра, видно, что основная масса серебра (чёрная область) восстанавливается углеводами внутри клетки. Восстановление на клеточной стенке и в околоклеточном пространстве протекает незначительно. Это говорит о слабой восстановительной активности клеточной стенки, а также о бедной углеводной составляющей водорастворимой части, что было ранее подтверждено методом ВЭЖХ. На микрофотографии видны каналы в клеточной стенке, по которым ионы серебра поступали внутрь клеток и восстанавливались клеточным содержимым. Ферментативная обработка механически обработанной биомассы приводит к заметному увеличению реакционной способности клеточной стенки по отношению к аммиачным комплексам нитрата серебра. При исследовании в просвечивающем электронном микроскопе целых дрожжевых клеток, они представляют собой электрононепроницаемые структуры (Рисунок 4.38-б), образовавшиеся благодаря тому, что гидролиз полисахаридов сопровождается значительным накоплением в

стенке восстанавливающих альдегидных групп – центров зародышеобразования металлического серебра.

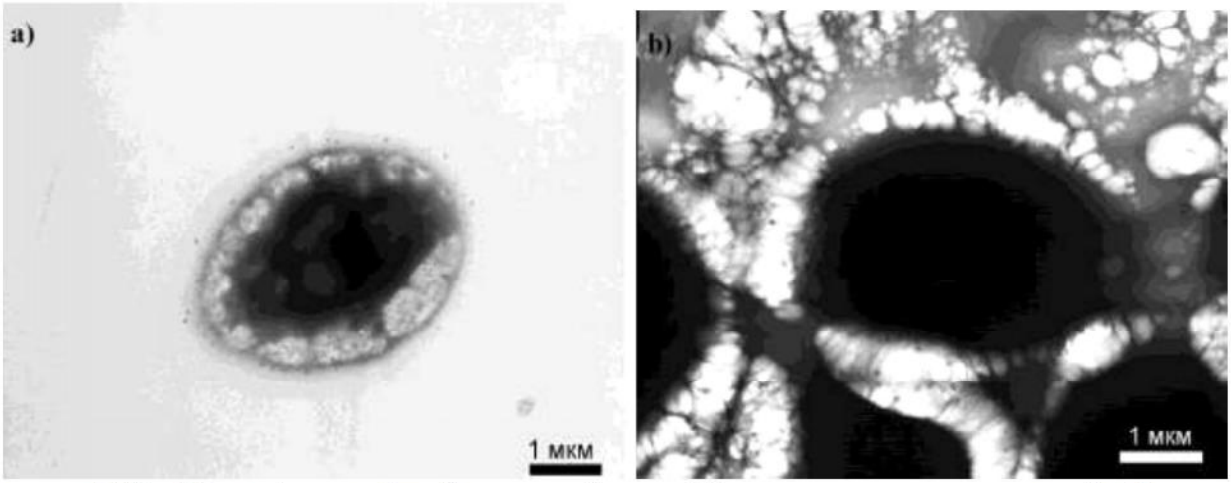
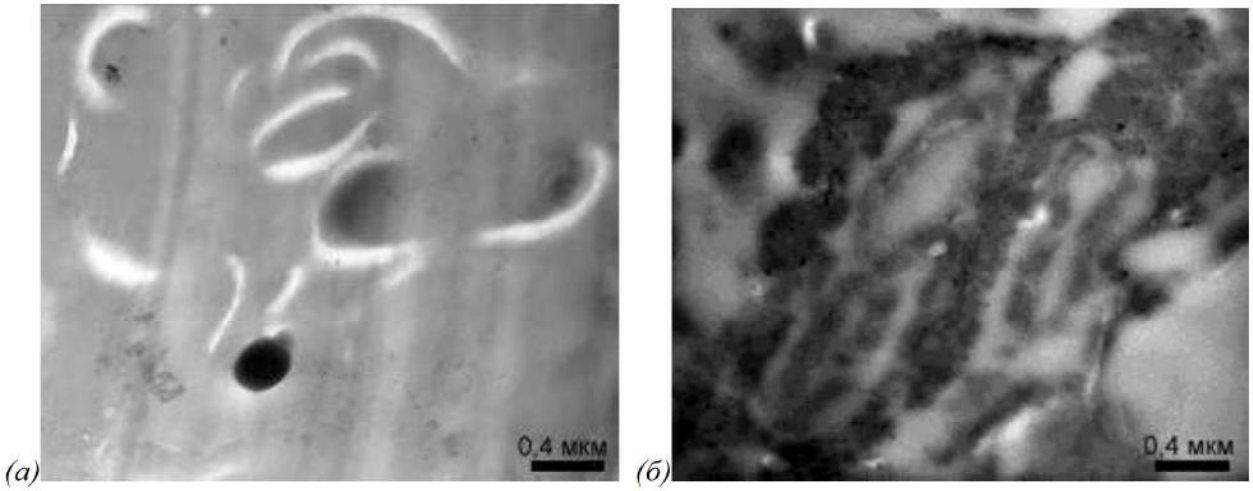


Рисунок 4.38 – Микрофотографии биомассы S. cerevisiae и продукта гидролиза, обработанных серебром: *a* – исходная биомасса с частицами серебра, *b* – продукт механоферментативного гидролиза с частицами серебра.

Поскольку использованный ферментативный комплекс помимо эндоглюканазной активности проявляет экзоглюканазную активность, в системе накапливается значительное количество восстанавливающих углеводов, обеспечивающих рост зародышей фазы серебра. Благодаря этим факторам на поверхности клеток образуется плотный, почти сплошной слой серебра.

На ультратонких срезах (Рисунок 4.39) внутри и на поверхности клеточных стенок отмечается накопление наночастиц серебра, очевидно обусловленное наличием изолированных неподвижных центров зародышеобразования, а также благодаря накоплению в системе достаточного для роста зародышей количества углеводов.



(а) *(б)*

Рисунок 4.39 – Препарат дрожжевой биомассы, подвергнутой механоферментативной обработке: *а* – клеточные стенки после механической обработки, *б* – фрагменты мембраноподобных структур после механической обработки и ферментативного гидролиза.

Приведённые данные свидетельствуют в пользу того, что в ходе ферментативного гидролиза происходит деполимеризация β-глюкана, приводящая к разупорядочению супрамолекулярной структуры полимеров клеточной стенки. В результате наблюдаемого разупорядочения клеточная стенка практически не теряет своей целостности, но происходит уменьшение её плотности. Следствием этого является увеличение коэффициентов диффузии для реагентов или экстрагентов.

В результате реакции образуются олигосахариды, которые переходят в водную фазу. Эти обстоятельства позволяют создать на основе предложенной механоферментативной обработки технологические схемы, позволяющие получать из *S. cerevisiae* антибактериальные препараты, сорбенты с развитой поверхностью, продукты, содержащие компоненты макромолекул её клеточной стенки.

Сопоставление данных электронной микроскопии и данных химического анализа говорит о том, что предложенная механоферментативная обработка дрожжевой биомассы позволяет достичь основной цели – разупорядочения структуры полимеров клеточной стенки, а также увеличения доступности маннанолигосахаридов. Наличие в полученном препарате водорастворимых маннанолигосахаридов и маннанолигосахаридов, связанных с поверхностью клеточной стенки, позволяет использовать его как гетерогенный сорбент патогенных микроорганизмов, а также как источник растворимых маннанолигосахаридов. При этом уровень извлечения маннанолигосахаридов превосходит их уровень извлечения из препаратов, полученных по классической жидкофазной технологии.

Исходя из представленных данных, можно сформулировать основные положения физико-химической модели, описывающей процесс механоферментативной обработки. На стадии механической обработки происходит разрушение клеток и увеличение реакционной способности полимеров клеточной стенки, связанное с разупорядочением их супрамолекулярной структуры. На стадии компактирования происходит уплотнение образца, что позволяет повысить концентрацию фермента в зоне реакции, обеспечивает постоянный тесный контакт между реагентами и способствует быстрому продвижению реакционного фронта. На стадии прогрева происходит ферментативный гидролиз клеточной стенки *S. cerevisiae*, причём реакция протекает в режиме автолокализации. Разрушенные при механической обработке клетки служат центрами автолокализации гидролиза. В результате протекания механически активированного ферментативного гидролиза образуется продукт, представляющий собой частично гидролизованные клеточные стенки, содержащие доступные маннанолигосахариды.

Технологическая схема механоферментативного способа получения препаратов с повышенным содержанием маннанолигосахаридов и результаты их испытания

Предложенный в данной работе способ механоферментативного гидролиза дрожжевой биомассы может быть положен в основу новой механохимической технологии получения маннанолигосахаридных препаратов[51].

Предложенная механохимическая технология (Рисунок 4.40) отличается рядом достоинств:

- простота в эксплуатации и обслуживании производства,
- применение в технологическом процессе только экологически чистых, биовозобновляемых компонентов,
- доступность и низкая цена используемого сырья (отходы спиртовой промышленности),
- возможность использования оборудования в составе технологических линий в кормопроизводстве.

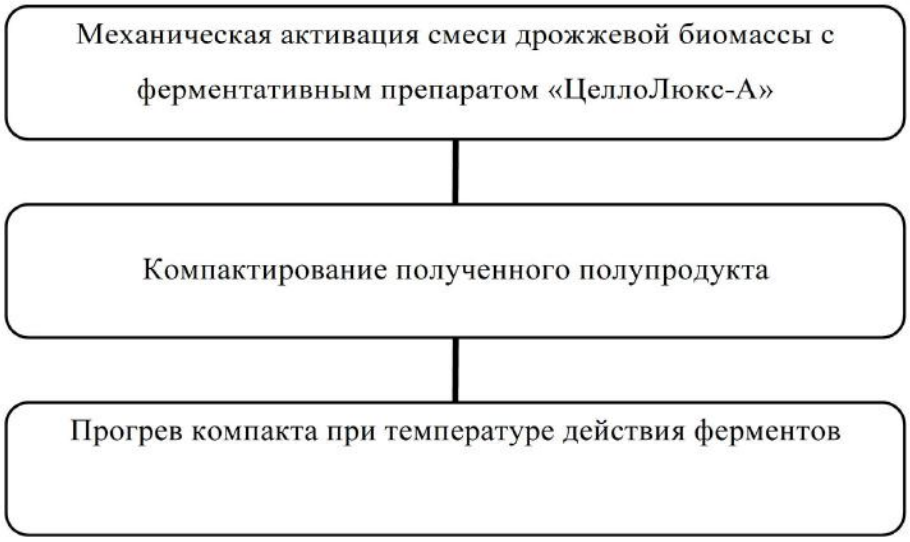


Рисунок 4.40 – Схема механохимической технологии получения маннанолигосахаридных препаратов.

Испытана линейка из трёх центробежных роликовых мельниц марки РМ (производства ИХТТМ СО РАН) с производительностью 1-2, 7-10 и 40-50 кг/час. Испытания проводились с использованием коммерчески доступной дрожжевой биомассы и ферментного комплекса ЦеллоЛюкс-А (ООО ПО «Сиббиофарм») (Таблица 4.15). Наиболее эффективной является полупромышленная мельница с заявленной скоростью подачи 40-50 кг/ч. Обладая наибольшей из представленных образцов энергонапряжённостью, данный аппарат способен активировать дрожжевую биомассу без значительных колебаний качества продукта последующего автолокализованного ферментативного гидролиза.

---

[51] Бычков, А. Л. Механически активированный ферментативный гидролиз дрожжевой биомассы / А. Л. Бычков, Е. И. Рябчикова, К. Г. Королёв, Т. Ф. Ломовская, О. И. Ломовский // Катализ в промышленности. – 2016. – Т. 16. – № 3. – С. 76-83.

Таблица 4.15 – Выход биодоступных МОС в зависимости от оборудования и режима обработки

Производительность, кг/ч	Мельница-активатор № 1	Мельница-активатор № 2	Мельница-активатор № 3
	Выход биодоступных МОС, % от теоретического		
1	35,6	-	-
1,5	27,4		
2	20,7		
7	-	42,1	
8,5		40,7	
10		38,9	
40		-	45,3
45			43,8
50			40,2

Совместно с ООО ПО «Сиббиофарм» проведена наработка опытной партии продукта, содержащего маннанолигосахариды, с использованием на стадии механической активации промышленной мельницы-активатора с производительностью 400 кг/час. Полученный продукт, содержащий до 3,8 % биологически доступных маннанолигосахаридов, прошёл биологически испытания и показал эффективность в борьбе с сальмонеллёзом и в увеличении привесов опытных животных [см. Главу 5.2]. Ведутся работы по сертификации продукта под торговой маркой «Кормомикс-МОС». Акт об промышленном внедрении результатов диссертационной работы представлен в Приложении А.

Таким образом, применение механической активации позволило значительно разупорядочить ультраструктуру клеточных стенок дрожжей, и увеличить реакционную способность аморфно-кристаллического бета-глюкана для последующего ферментативного гидролиза. При помощи механически активированного частичного ферментативного гидролиза часть бета-глюкана была удалена, тем самым переведя экранированные маннанолигосахариды в биологически активную форму.

Показано, что в процессе механической обработки происходит разрушение клеток биомассы. Механического разрушения 30-40 % дрожжевых клеток достаточно для протекания автолокализованного твердофазного ферментативного гидролиза. Кроме того, при механической обработке изменяется супрамолекулярная структура полимеров дрожжевой биомассы; структурные слои клеточных стенок разупорядочиваются и носят диффузный характер.

В связи с этим, основные положения модели, описывающей процесс механоферментативной обработки и автолокализованного твердофазного ферментативного гидролиза, сводятся к тому, что:

– на стадии механической обработки происходит разрушение клеток и увеличение реакционной способности полимеров клеточной стенки, связанное с разупорядочением их супрамолекулярной структуры;

– на стадии компактирования происходит уплотнение образца, что позволяет повысить концентрацию фермента в зоне реакции и способствует быстрому продвижению реакционного фронта;

– на стадии прогрева происходит ферментативный гидролиз бета-глюкана клеточных стенок, причём реакция протекает в режиме автолокализации. Разрушенные при механической обработке клетки служат центрами автолокализации гидролиза;

– в результате протекания гидролиза образуется продукт, представляющий собой частично гидролизованные клеточные стенки, содержащие доступные маннанолигосахариды.

Технология получения маннанолигосахаридов была масштабирована с лабораторного до промышленного уровня и внедрена на предприятии ООО ПО «Сиббиофарм» (г. Бердск). Проведена наработка опытной партии с использованием на стадии механической активации промышленной мельницы-активатора с производительностью 400 кг/час.

4.4. Механохимическое получение модифицированных гуминовых кислот и сорбентов на их основе

В данной главе представлены результаты экспериментов по механохимическому получению комплексных сорбентов с составом «гуминовая оболочка – лигноцеллюлозное ядро». В качестве фундаментальной базы для прикладных работ были использованы выявленные в твердофазном механохимическом окислении закономерности, изложенные в главе 3.4. Процесс получения модифицированных гуминовых кислот был масштабирован с лабораторного до промышленного уровня. Получаемые гумин-содержащие продукты наработаны в укрупненном объеме и успешно испытаны в натурных условиях.

Работы проведены при поддержке гранта администрации города Новосибирска «Проверка эффективности нового гуматного продукта для восстановления почв вдоль крупных автомагистралей города Новосибирска».

Масштабирование механохимического получения модифицированных гуминовых кислот из бурого угля

Одним из подготовительных этапов перед механохимической активацией бурого угля являлось проведение экспериментов по аналогичной обработке гуминовых кислот, выделенных из бурого угля. Механохимическую обработку гуминовых кислот проводили в двух вариантах: со щелочным реагентом – гидроксидом натрия, и щелочно-окислительным реагентом – перкарбонатом натрия $Na_2CO_3 \cdot 1{,}5H_2O_2$

Был изучен фрагментный состав гуминовых кислот до и после механохимической обработки при помощи спектроскопии ЯМР ^{13}C. Полученные спектры представлены на рисунке 4.40. Количественный анализ ЯМР ^{13}C спектров затруднен из-за особенностей строения, высокой полидисперсности гуминовых кислот и длительного накопления сигнала, связанного также с низкой растворимостью (до 50 г/л в растворах щелочей) гуминовых кислот. Спектры гуминовых кислот характеризуются низким отношением сигнал/шум, что сопровождается размытием базовой линии и сложностью интегрирования площадей пиков [Перминова, 2000]. В связи с этим, рассчитанные по ЯМР-спектрам относительные содержания фрагментов гуминовых кислот, представленные в таблице 4.16, носят оценочный характер.

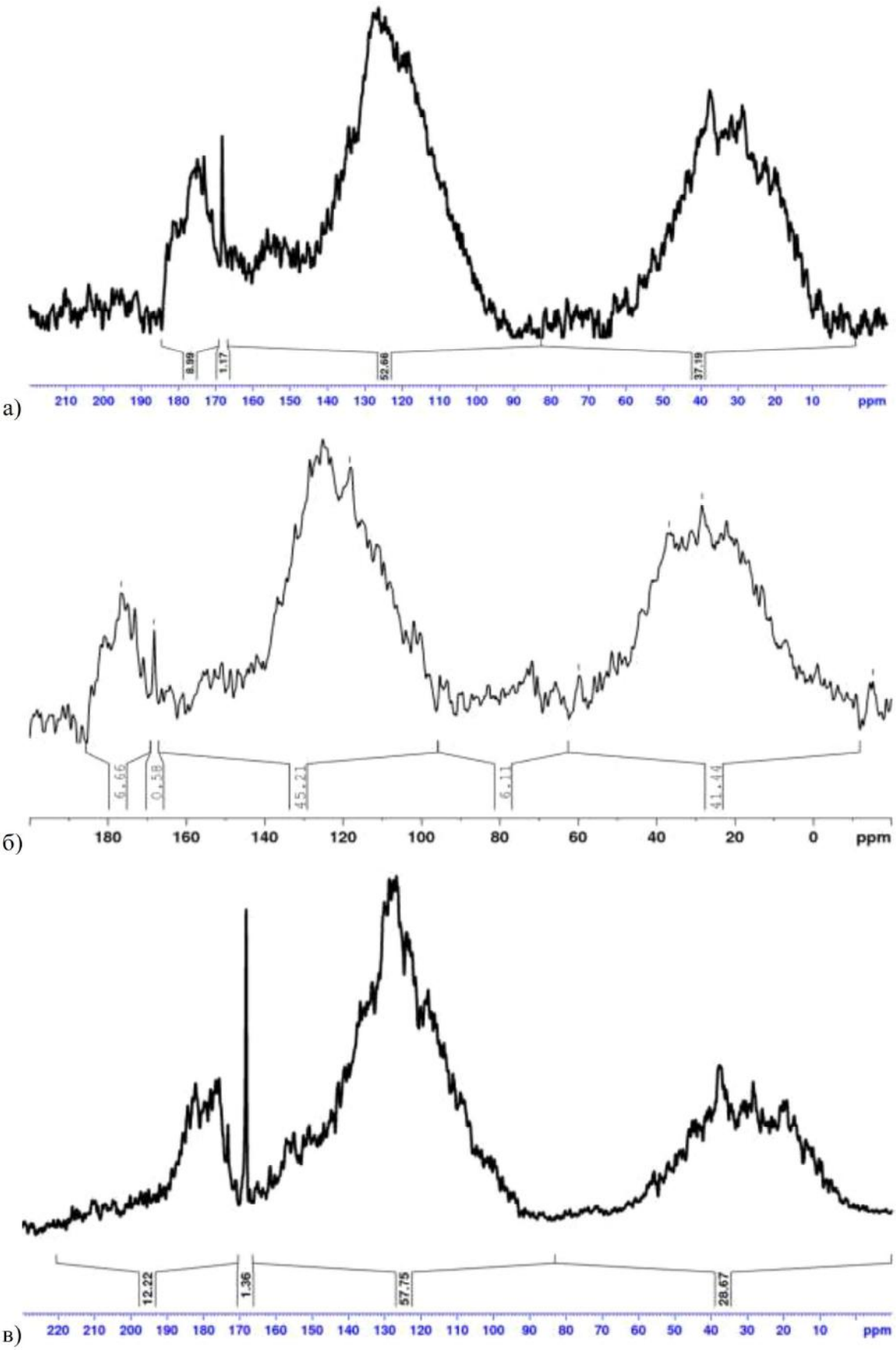


Рисунок 4.40 – ЯМР ^{13}C спектры гуминовых кислот *а)* до обработки, *б)* после механохимической обработки с NaOH, *в)* после обработки с $Na_2CO_3 \cdot 1{,}5H_2O_2$

Таблица 4.16 – Фрагментный состав гуминовых кислот бурого угля до и после механохимической обработки по данным ЯМР ^{13}C (отн. %)

Гуминовые кислоты	Карбоксильный, 160-200 м.д.	Ароматический, 110-160 м.д.	Алифатический, 0-65 м.д.
До обработки	9	53	37
Обработка с NaOH	7	45	29
Обработка с Na_2CO_3*1,5H_2O_2	12	58	29

Полученные результаты показывают, что обработка с перкарбонатом натрия вызывает б*о*льшие изменения по сравнению с обработкой с гидроксидом натрия. В случае использования перкарбоната натрия в качестве реагента, механохимическая обработка гуминовых кислот, предварительно выделенных из бурого угля, приводит к уменьшению количества алифатических фрагментов гуминовых молекул и увеличению содержания карбоксильных групп[52].

Представляется перспективной механохимическая модификация гуминовых кислот в составе бурого угля в присутствии щелочно-окислительного реагента – перкарбоната натрия. Масштабирование технологии проводили на проточном центробежно-эллиптическом активаторе К-7 фирмы «Новиц» (Новосибирск, Россия) производительностью 10 кг/час при варьировании частот вращения двигателя от 420 до 1400 об/мин. Испытания проводили с использованием бурого угля Итатского месторождения и перкарбоната натрия. Результаты приведены в таблице 4.17. В качестве показателя эффективности обработки исследовался выход водорастворимых гуминовых кислот. Расход реагента – перкарбоната натрия $Na_2CO_3 \cdot 1.5H_2O_2$ оценивался по pH суспензии продукта в дистиллированной воде.

Таблица 4.17 – Результаты обработки бурого угля с перкарбонатом натрия в проточном центробежно-эллиптическом активаторе К-7

Частота вращения двигателя, об/мин	Выход водорастворимых гуминовых кислот, %	pH
Бурый уголь исходный	< 1%	10
420	< 1%	9.5
560	3.2	8.5
840	3.6	6.6
1120	5.8	6.3
1400	6.8	6.5

[52] Skripkina, T. S. Mechanochemically oxidized brown coal and the effect of its application in polluted water / T. S. Skripkina, A. L. Bychkov, V. D. Tikhova, B. S. Smolyakov, O. I. Lomovsky // Environmental Technology and Innovation. – 2018. – V. 11. – P. 74-82.

По значениям pH можно сделать вывод, что при частоте до 560 об/мин не происходит механохимической реакции между органическим веществом бурого угля и перкарбонатом, поскольку последний не расходуется, остается в конечной смеси и повышает значение водородного показателя. Поскольку pH суспензии продукта обработки для образцов, полученных в интервале от 840 до 1400 об/мин, не являются завышенными, можно сказать, что перкарбонат расходовался и образцы, полученные при данных частотах, являются продуктами механохимической реакции между органическим веществом угля и перкарбонатом натрия. При масштабировании поставленной на лабораторном оборудовании технологии окислительной обработки бурого угля удалось достичь увеличения экстрагируемости водорастворимых гуминовых кислот с 1 до 7 %. Технология, поставленная на лабораторном оборудовании, позволяла достичь повышения данного показателя до 14%. Такое соотношение эффективности обработки бурого угля на лабораторном и полупромышленном оборудовании можно назвать положительным результатом масштабирования.

Проведена наработка опытной партии продукта (100 кг) с использованием на стадии механической активации промышленной мельницы-активатора с производительностью 50 кг/час. Наработанная партия прошла испытания по применению в качестве продуктов для восстановления почв и регуляторов роста растений[53].

Получение сорбентов, нанесение модифицированных гуминовых кислот на различные материалы

Разработанная методика механохимической модификации гуминовых кислот бурого угля использовалась при создании эффективных сорбентов-частиц, содержащих гуминовую оболочку и носитель-ядро, предназначенное задавать частице необходимые эксплуатационные характеристики, будь то дополнительная гидрофобность, упрощение утилизации отработанного сорбента или флотационные способности[54]. Подобран ряд материалов-носителей неорганической и органической природы. К неорганическим носителям относятся активированный уголь, наноуглеродный модифицированный сорбент (НУМС), гранулы и порошок силикагеля. Органические носители были представлены спектром лигноцеллюлозных материалов различного химического состава и морфологии, включая выделенные лигнин и

[53] Skripkina, T. S. Changes in phytoplankton production after the introduction of heavy metals into ecosystem with subsequent cleaning by humic sorbent / T. S. Skripkina, A. L. Bychkov, B. S. Smolyakov, O. I. Lomovsky // Water Resources. – 2019. – V. 46. – N. 2. – P. 242-248.
Рожанская, О. А. Гуминовый механокомпозит как средство управления морфогенезом нута (Cicer Arietinum L.) in vitro / О. А. Рожанская, О. И. Ломовский, Т. С. Скрипкина, А. Л. Бычков // Успехи современной науки и образования. – 2016. – № 11. – Т. 6. – С.117-121.

[54] Сагидуллин, А. К. Сорбция ионов кадмия из водных растворов на нанопористых модифицированных углеродных сорбентах / А. К. Сагидуллин, Б. С. Смоляков, Л. М. Левченко, А. А. Галицкий, А. Л. Бычков // Журнал прикладной химии. – 2013. – Т. 86. – № 12. – С. 1919-1924.

целлюлозу, частично делигнифицированную солому пшеницы, биомассу затопленной древесины (топляк) и рисовую шелуху.

Для материалов растительного происхождения определили химический состав, представленный в таблице 4.18.

Таблица 4.18 – Состав исследуемых лигноцеллюлозных материалов

	зольность, %	экстрактивные вещества, %	целлюлоза, %	гемицеллюлозы, %	лигнин, %
микрокристаллическая целлюлоза	< 0,05	0,10 ± 0,01	92,0 ± 0,9	2,1 ± 0,1	< 0,05
частично делигнифицированная солома пшеницы	2,1 ± 0,1	0,20 ± 0,01	89,0 ± 0,9	1,1 ± 0,1	3,0 ± 0,1
затопленная древесина сосны (топляк)	1,8± 0,1	1,8 ± 0,1	74,0 ± 1,0	18,4 ± 0,5	11,9 ± 0,7
рисовая шелуха	17,1 ± 0,3	8,6 ± 0,2	44,0 ± 2,0	23,2 ± 0,7	21,0 ± 2,0
гидролизный лигнин	6,5 ± 0,1	5,0 ± 0,1	0,20 ± 0,01	3,0 ± 0,1	80,0± 0,9

Изначально линейку растительных материалов для носителя подбирали таким образом, чтобы охватить больший диапазон содержания основных составляющих: лигнина, целлюлозы и гемицеллюлоз. Содержание лигнина максимально для гидролизного лигнина, минимально для α -целлюлозы и делигнифицированной соломы пшеницы (что является её основным отличием от топляка, по остальным компонентам, имеющим с ней схожий состав). Содержание целлюлозы минимально для гидролизного лигнина и максимально для α-целлюлозы, делигнифицированной соломы пшеницы и чуть меньше для биомассы топляка. Поскольку целлюлоза служит «каркасом» растительного сырья, для материалов, в которых изначальная структура не разрушена, можно прогнозировать сетчатую структуру и большое количество пор. Для подтверждения этого предположения проводилось изучение морфологии исследуемых материалов.

Морфологический анализ материалов растительного происхождения показал их сложную многоуровневую организацию, исключение составили изолированные лигнин и микрокристаллическая целлюлоза. В целом лигнин представляет собой мелкодисперсный порошок и его микрофотографии схожи с опубликованными ранее. Из микрофотографий (Рисунок 4.41-*а*) видно, что материал представляет собой агрегаты, образованные из более мелких частиц. Целлюлоза (Рисунок 4.41-б) представляет собой волокнистые фрагменты, сложенные из фибрилл длиной до 500 мкм и шириной 10-20 мкм.

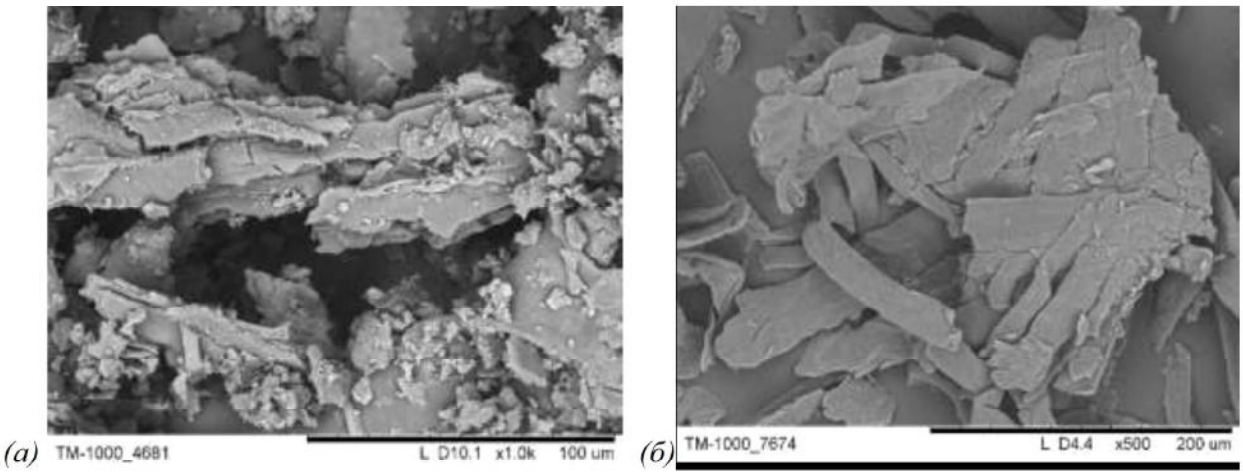


Рисунок 4.41 – Микрофотографии: *а* – лигнин, *б* – целлюлоза.

Делигнифицированная солома пшеницы (Рисунок 4.42-*б*) включает волокна, схожие по виду с волокнами исходной соломы пшеницы, участки сетчатой структуры с большим количеством пор, волокна неплотно уложены параллельно друг другу таким образом, что частицы имеют большое количество крупных пустот.

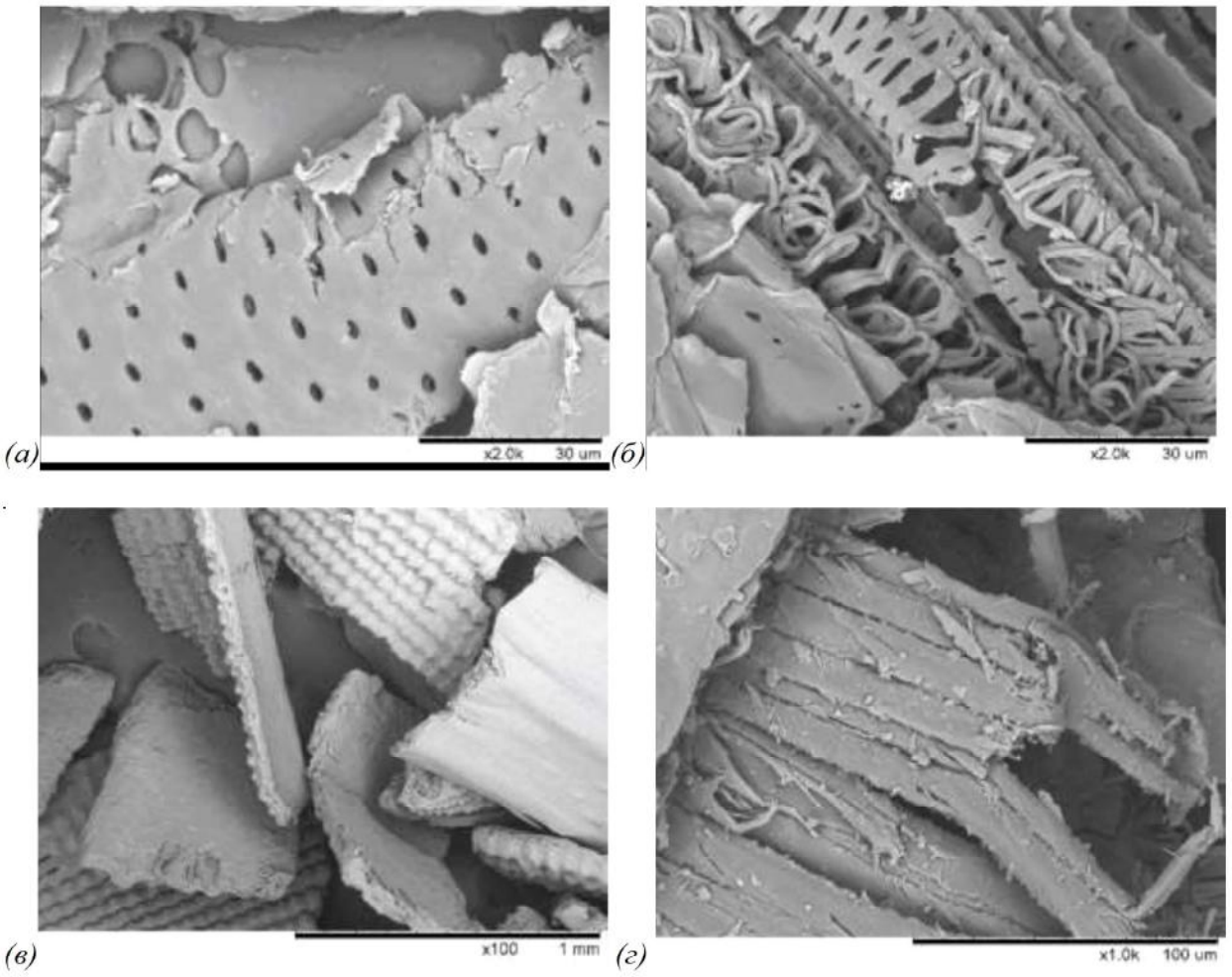


Рисунок 4.42 – Микрофотографии: *а* – лигноцеллюлоза после водной экстракции (топляк); *б* – делигнифицированная солома пшеницы; *в, г* – рисовая шелуха

Лигноцеллюлоза после водной экстракции (Рисунок 4.42-*а*) сходна с морфологией делигнифицированной соломы пшеницы, но обладает большей пористостью. Оба образца характеризуются наличием ярко выраженных пор (3-6 мкм). Это объясняется экстракцией части растворимых веществ и освобождением жесткого сетчатого каркаса, потенциально перспективного для связывания гуминовых веществ за счет физической сорбции.

Строение рисовой шелухи является интересной с точки зрения комплексности строения. Внешняя сторона частиц покрыта целлюлозно-кремнезёмной мембраной, внутренняя сторона – с гладкой поверхностью (Рисунок 4.42-*в*). На сломе частицы видны волокна (Рисунок 4.42-*г*), подобные волокнам рассмотренной ранее целлюлозы[55].

Для материалов, подобранных для изучения в качестве «ядра» методом тепловой десорбции азота, определены величины удельной поверхности (Таблица 4.19).

Таблица 4.19 – Значения удельной площади поверхности для материалов «ядра»

Образец	$S_{уд}$, $м^2/г$
НУМС	350 ± 10
Силикагель порошок	309 ± 9
Силикагель гранулы	207 ± 7
Лигнин	9,9 ± 0,5
Биомасса затопленной древесины	8,6 ± 0,5
Делигниф. солома пшеницы	16,0 ± 0,9
Рисовая шелуха	13,1 ± 0,7
Целлюлоза	6,5 ± 0,3

Высокие значения площадей удельной поверхности для материалов неорганической природы вполне ожидаемы и объясняются тем, что данные материалы создавали для их эксплуатации в качестве сорбентов, целенаправленно увеличивая поверхность. Следует учитывать, что данные значения соответствуют сорбции небольших молекул газа и не несут информации о том, что будет происходить с макромолекулами гуминовых кислот.

Молекулярно-массовое распределение гуминовых кислот, использованных в этой серии экспериментов, представлено на рисунке 4.43. Основной пик гуминовых кислот, детектируемых на времени 7,14 минуты, соответствует 34,4 кДа.

---

[55] Подгорбунских, Е. М. Предобработка рисовой лузги в полупромышленной мельнице для последующего ферментативного гидролиза / Е. М. Подгорбунских, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Катализ в промышленности. – 2016. – № 2. – С. 57-61.
Trofimova, E. G. Scaling of the mechanochemical process of production of silicon chelates / E. G. Trofimova, E. M. Podgorbunskikh, T. S. Skripkina, A. L. Bychkov, O. I. Lomovsky // Bulgarian Chemical Communications. – 2018. – V. 50. – N. K. – P. 45-48.

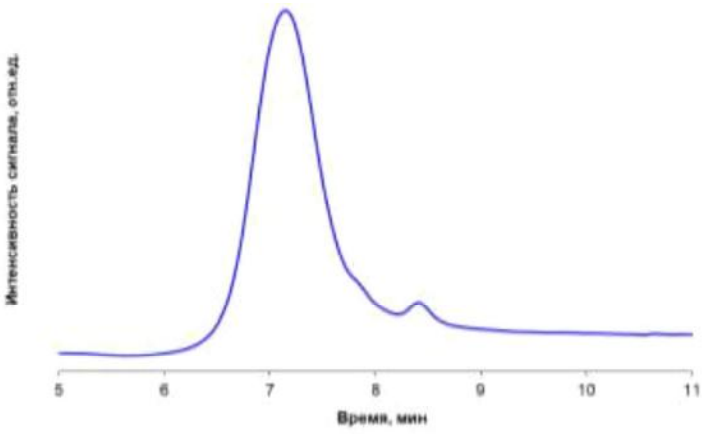


Рисунок 4.43 – Кривая элюирования гуминовых кислот, используемых для нанесения на ядро (колонка с разрешающей способностью от 0.1 от 60 кДа, рефрактометр).

Результаты экспериментов по сорбции и десорбции гуминовых кислот на неорганических материалах приведены в таблице 4.20.

Таблица 4.20 – Показатели сорбции гуминовых кислот на неорганических материалах

	Сорбция, мг (ГК)/г(сухого сорбента)	Десорбция, мг (ГК)/г(сухого сорбента)	Ёмкость, мг (ГК)/г(сухого сорбента)	Относительная ёмкость, мг(ГК)/м^2 поверхности
Силикагель порошок	6,3	1,7	4,6	0,014
Силикагель гранулы	5,7	0,83	4,9	0,02
Активированный уголь	6,9	0,00	6,9	0,02
НУМС 70-30	13	0,25	13	0,04

Из приведённых данных видно, что углеродные материалы проявляют лучшую сорбционную способность по отношению к гуминовым кислотам, чем силикагели. Наибольшее количество гуминовых кислот способен вывести из раствора НУМС, что объясняется меньшим размером его частиц и более высокой площадью поверхности по отношению к обычному активированному углю. Гранулы силикагеля показали меньшую ёмкость, чем порошок, что может объясняться большей удельной поверхностью частиц порошка силикагеля.

Таким образом, среди неорганических материалов углеродные сорбенты показали лучшие результаты. Стоит учитывать, что активированный уголь является гораздо более доступным сырьем, чем НУМС, при этом разница по ёмкости не является существенной. Всё это, в совокупности с удобством работы с активированным углем, ставит его на первое место среди неорганических материалов.

Результаты экспериментов по сорбции и десорбции гуминовых кислот на лигноцеллюлозных материалах приведены в таблице 4.21 и на рисунке 4.44.

Таблица 4.21 – Показатели сорбции гуминовых кислот на органических материалах

	Сорбция, мг (ГК)/г(сорбента)	Десорбция, мг (ГК)/г(сорбента)	Ёмкость, мг (ГК)/г(сорбента)	$S_{уд}$, $м^2/г$	Отн. ёмкость, мг(ГК)/$м^2$ поверхности
Целлюлоза	1,4	1,2	0,2	6,5	0,03
Делигниф. солома пшеницы	2,4	1,5	0,9	16	0,06
Лигноцеллюлоза после водной экстракции	2,4	0,98	1,4	8,6	0,16
Рисовая шелуха	2,0	0,66	1,3	13	0,10
Лигнин	4,6	1,3	3,3	9,9	0,33

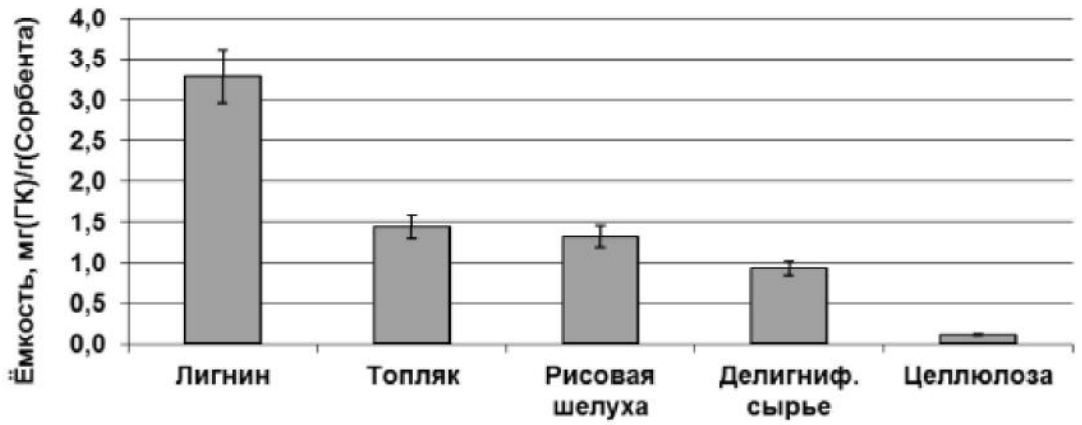


Рисунок 4.44 – Ёмкость органических материалов по отношению к гуминовым кислотам, с учётом десорбции.

В ряду лигноцеллюлозных материалов сорбционная способность увеличивается по мере увеличения содержания лигнина[56]. При этом, для лигноцеллюлозы после водной экстракции, обладающей вдвое меньшей площадью удельной поверхности, чем делигнифицированное сырьё, значение сорбции достигает такого же значения за счёт большего содержания в нём лигнина, что говорит о химической природе сорбции, заключающейся в связывании функциональных группировок лигнина с соответствующими функциональными группировками гуминовых кислот. Одновременно с этим, делигнифицированное сырьё характеризуется максимальной величиной десорбции.

[56] Уразова, Т. С. Сорбционная ёмкость лигноцеллюлозных материалов по отношению к гуминовым кислотам / Т. С. Уразова, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2015. – № 5. – С. 1183-1188.

Материалы, содержащие лигнин, обладают повышенной по сравнению с целлюлозой адсорбционной способностью. Сорбционная ёмкость по отношению к гуминовым кислотам линейно (Рисунок 4.45) повышается при увеличении в сырье доли лигнина, что говорит о химической природе сорбции, заключающейся в образовании водородных связей функциональных группировок лигнина с соответствующими функциональными группировками гуминовых кислот.

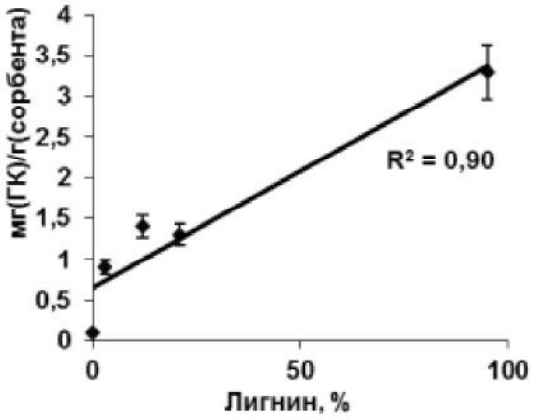


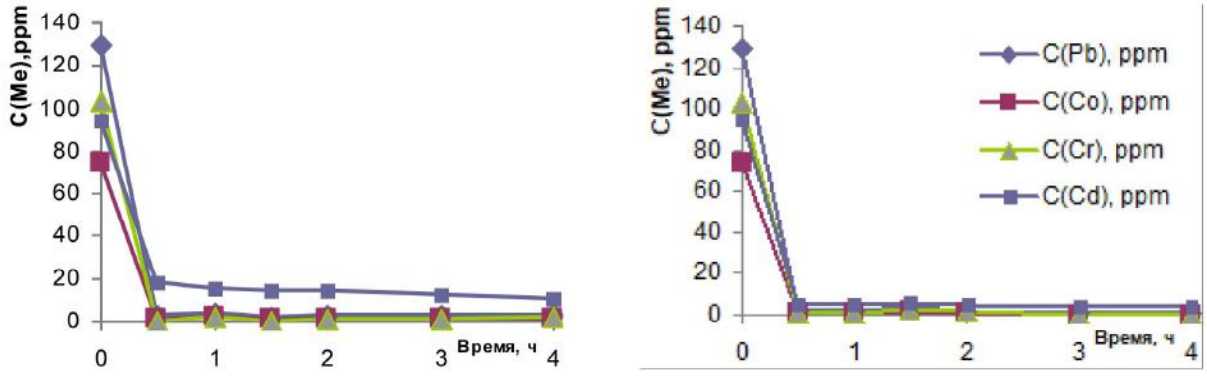
Рисунок 4.45 – Зависимость ёмкости лигноцеллюлозных материалов по отношению к гуминовым кислотам от содержания лигнина.

Таким образом, способность природного растительного сырья к связыванию гуминовых кислот обусловлена наличием лигниновой составляющей. Для изученного растительного сырья максимальное значение ёмкости достигает 3,3 мг гуминовых кислот на 1 грамм сухого сорбента. Высокая степень сродства гуминовых кислот к лигнину объясняется присутствием в гуминовых кислотах и лигнинах групп сходной природы, например ортофенольных фрагментов. Подобное сходство эволюционно обосновано, гуминовые кислоты являются продуктами глубоких превращений лигнинов. Связывание гуминовых кислот с фрагментами лигнина осуществляется за счёт полярных взаимодействий, катионных мостиков, ван-дер-вальсовых сил и водородных связей. Спиртовые гидроксильные группы гуминовых кислот могут взаимодействовать с лигнином за счёт образования р-гидроксибензил-эфирных химических связей.

Исследование эффективности применения гуминовых кислот окисленного бурого угля в качестве сорбента тяжелых металлов и продукта для восстановления почвы

С целью оценки эффективности применения гуминовых кислот окисленного бурого угля в качестве сорбента тяжёлых металлов провели эксперименты по изучению сорбции из

растворов, содержащих смесь микроэлементов[57]. Для этого к раствору, содержащему ионы кадмия, хрома, кобальта и свинца (по 20 мг/л и 100 мг/л) добавляли навески гуминовых кислот и проводили сорбцию. Динамика выведения тяжелых металлов из раствора представлена на рисунке 4.46 и таблице 4.21. Во всех случаях концентрации металлов резко уменьшались через первые 30 минут пребывания препаратов в смеси.



a – исходный уголь *b* - уголь МА с Na_2CO_3*1,5H_2O_2

Рисунок 4.46 – Сорбция металлов бурым углем до и после механохимической обработки (исходная концентрация металлов 100 мг/л)

Таблица 4.21 – Результаты сорбции смеси металлов продуктами механохимической обработки бурого угля

Металл	C_0(Me), мг/л	$C_{остат}$(Me), мг/л		
		Исходный уголь	уголь МА с NaOH	уголь МА с Na_2CO_3*1,5H_2O_2
Pb	130 ± 20	3,2 ± 0,4	1,4 ± 0,2	0,69 ± 0,08
Co	74 ± 8	1,1 ± 0,1	0,64 ± 0,07	0,21 ± 0,02
Cr	100 ± 10	1,4 ± 0,2	0,9 ± 0,1	0,16 ± 0,02
Cd	90 ± 10	10,0 ± 0,9	4,5 ± 0,5	3,5 ± 0,4

Таким образом, после проведения исследований по изучению сорбционных свойств сорбентов, полученных с помощью механохимической обработки бурого угля с добавлением щелочного и щелочно-окислительного реагентов, установлено, что сорбенты эффективно удаляют тяжёлые металлы из раствора, содержащего смесь микроэлементов (Cd, Cr, Co, Pb). Лучшие показатели характерны для сорбента, полученного при активации со щелочно-окислительным реагентом, что коррелирует с его химическим составом.

Ниже представлены результаты серии экспериментов по исследованию поведения гуминовых препаратов из окисленного бурого угля в качестве сорбента в условиях реального

[57] Smolyakov, B. S. Humic-modified natural and synthetic carbon adsorbents for the removal of Cd(II) from aqueous solutions / B. S. Smolyakov, A. K. Sagidullin, A. L. Bychkov, I. O. Lomovsky, O. I. Lomovsky // Journal of Environmental Chemical Engineering. – 2015. – V. 3. – N. 3. – P. 1939-1946.

водоема, проведенных при помощи методики мезомоделирования в акватории Новосибирского водохранилища. Для проведения эксперимента, максимально приближенного к условиям водоёма, у борта плавучей лаборатории были установлены четыре мезокосма, в которых проводили эксперимент согласно методике, описанной выше.

Выведение тяжелых металлов. Металлы, введенные в мезокосм, распределяются между фрагментами гидроэкосистемы. Часть металлов сорбируется на взвеси, часть аккумулируется живыми организмами, часть остается в растворе. Динамика выведения тяжелых металлов из толщи воды представлена на рисунке 4.47. На графиках a, d, g представлена остаточная концентрация тяжелого металла в воде, на b, e, h – концентрация тяжелых металлов на взвеси, на c, f, i – суммарная концентрация тяжёлых металлов, находящаяся в толще воды на взвесях и в жидком состоянии.

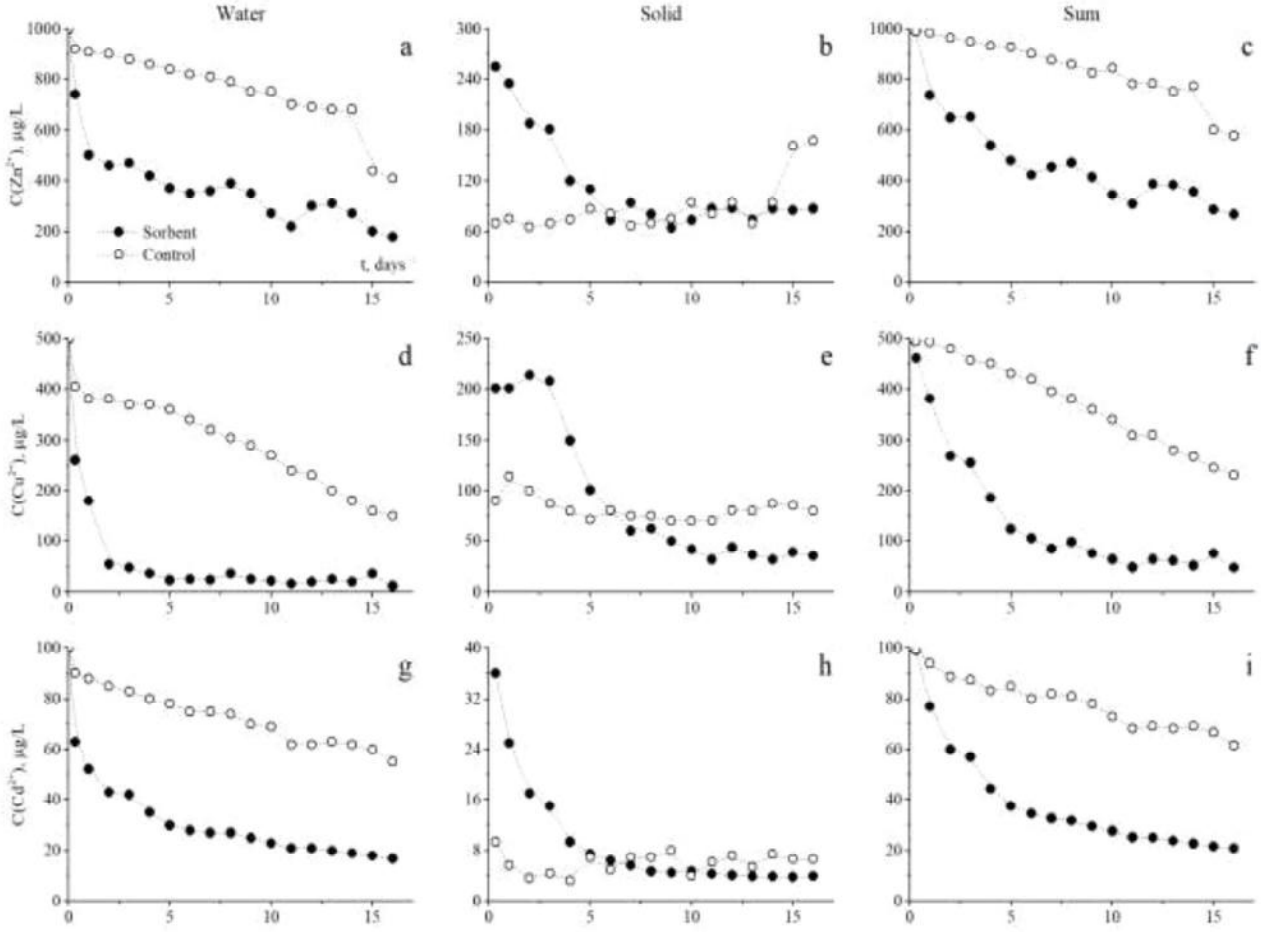


Рисунок 4.47 – Концентрации тяжелых металлов в мезокосмах: *a, d, g* – в воде; *b, e, h* – на взвеси; *c, f, i* – суммарная концентрация в толще воды.

Во всех трех случаях видно, что суммарная концентрация тяжелых металлов уменьшается с течением времени и в отсутствие сорбента, однако действие сорбента значительно ускоряет данный процесс. Можно разделить действие сорбента на 2 этапа: первые шесть дней эксперимента (до осаждения сорбента) и оставшиеся десять дней. Сопоставление графиков

распределения металлов между водой и взвесью свидетельствует о высокой сорбционной способности сорбента по отношению ко всем трем металлам. Хорошо прослеживается резкое сокращение содержания всех трех металлов в воде в первые шесть дней. То, что они связываются введенным сорбентом, подтверждается повышенным содержанием металлов на взвесях в первые дни эксперимента. Для меди можно отметить наиболее равномерное снижение концентрации в воде на протяжении всего времени присутствия сорбента в растворе, что объясняется большей устойчивостью комплексов меди с гуминовыми кислотами.

В случае цинка наиболее заметен скачок сорбции на естественной взвеси в последние два дня эксперимента. Это объясняется наиболее активным разрастанием цианобактерий в этот период. Данный эффект не наблюдается для мезокосма с введением сорбента, поскольку исследуемый сорбент подавляет цветение воды.

Итак, отличие динамики выведения ионов тяжелых металлов в мезокосмах с сорбентом (по сравнению с контролем) выражается в более резком падении концентрации в объеме воды в начальной стадии эксперимента. Очевидно, что динамика остаточной концентрации металлов в воде обусловлена их сорбцией на взвешенных частицах, постепенно оседающих на дно. Введение в воду гуминового сорбента на основе механохимически окисленного бурого угля способствовало быстрому и эффективному снижению остаточной концентрации металлов-поллютантов в объеме воды.

Испытания эффективности гуминового продукта механохимического окисления бурого угля с точки зрения восстановления плодородия почв проводилось на почве участка придорожного озеленения г. Новосибирска (Каменская магистраль). Результаты определения состояния травяного покрова в конце вегетационного сезона представлены в таблице 4.22.

Таблица 4.22 – Среднее покрытие травостоя опытного участка (% от площади почвы)

Вариант	Общее проективное покрытие	В т.ч. злаки	В т.ч. сорные и разнотравье
1. Контроль	68	38	30
2. Добавка окисленного бурого угля 10 г/м^2	75	40	35
3. Добавка окисленного бурого угля 30 г/м^2	78	48	30
4. Добавка окисленного бурого угля 10 г/м^2 + $N_{120}P_{60}K_{60}$ + злаковая смесь	82	50	32

Доля поверхности почвы, покрытая травой (проективное покрытие травостоя), по краям контрольных делянок не превышала 30 %, в среднем по повторностям варьировала от 60 до

80%. В варианте № 2 с внесением продукта 10 г/м^2 трава покрывала 70-80% почвы, в варианте № 3 с внесением продукта 30 г/м^2 – столько же, а в варианте № 4 с внесением продукта 10 г/м^2, с удобрением и подсевом злаков – 80 %. Тенденция к росту проективного покрытия сопровождалась увеличением доли злакового компонента на экспериментальных вариантах № 3 и № 4 на 10 и 12% по сравнению с контролем.

Результаты определения высоты и продуктивности травостоя опытного участка представлены в таблице 4.23. Внесение модифицированного гумата привело к достоверному увеличению высоты и массы травы в экспериментальных вариантах опыта по сравнению с контролем. Подсев злаков не привел к значительному преобладанию злакового компонента. Эффект продукта возрастал с увеличением дозы. Внесение удобрений и подсев злаков способствовали увеличению высоты и массы травы.

Таблица 4.23 – Высота и продуктивность травостоя опытного участка

Вариант	Средняя высота, см	Продуктивность, г/м^2 (абс.сух.)
1. Контроль	12,8	94,8
2. Добавка окисленного бурого угля, 10 г	14,4	114,0*
3. Добавка окисленного бурого угля, 30 г	18,2*	117,6*
4. Добавка окисленного бурого угля, 10 г/м^2 + $N_{120}P_{60}K_{60}$ + злаковая смесь	22,8*	120,8*

Таким образом, проведено масштабирование технологии получения модифицированных гуминовых кислот с лабораторного до полупромышленного уровня, удалось достичь увеличения экстрагируемости водорастворимых гуминовых кислот с 1 до 7 %. Проведена наработка опытной партии (100 кг) с использованием на стадии механической активации промышленного активатора с производительностью 50 кг/час.

При дизайне и получении комплексных частиц-сорбентов состава «лигноцеллюлозное ядро – гуминовая оболочка» показано, что сорбционная ёмкость по отношению к гуминовым кислотам линейно повышается при увеличении в материале лигноцеллюлозного ядра доли лигнина.

Испытание полученных сорбентов в натурных условиях показало, что продукты эффективно удаляют тяжёлые металлы из раствора, содержащего смесь микроэлементов (Cd, Cr, Co, Pb), а также увеличивают продуктивность травостоя опытных участков, что коррелирует с их химическим составом.

4.5. Практическое использование результатов исследования

Далее представлена концепция комплексной механохимической переработки полимеров природного сырья (растительной и дрожжевой биомассы, бурого угля) в востребованные продукты (маннанолигосахаридные заменители синтетических антибиотиков для животноводства, компоненты биотоплива, гуминовые кислоты, комплексные сорбенты состава «лигноцеллюлозное ядро – гуминовая оболочка»), а также электрическую и тепловую энергию, пар.

Концепция комплексной механохимической переработки растительной и дрожжевой биомассы, бурого угля

Изображенную на рисунке 4.48 концепцию комплексной переработки природного сырья можно представить в виде трех основных линий *(переработка растительной биомассы, переработка дрожжевой биомассы, переработка бурого угля)*, а также двух вспомогательных линий *(получение ферментов, получение твердого биотоплива)*, которые призваны обеспечивать безотходность переработки и удовлетворять собственные потребности производства, но при необходимости могут выдавать товарный продукт: ферментные препараты, мелкодисперсное твердое биотопливо, электроэнергию.

В ходе подготовки диссертационной работы соискателем с соавторами были масштабированы и реализованы на практике наиболее важные стадии представленной концепции:

- технология переработки дрожжевой биомассы (стадии *СТ. 101-103* по схеме на рис. XX) в маннанолигосахаридные препараты реализована в промышленном масштабе на ООО ПО «Сиббиофарм». Препараты испытаны на лабораторных и сельскохозяйственных животных, составлены методические рекомендации к применению;

- технология переработки растительного сырья (стадии *СТ. 301-304*) отработаны в ИХТТМ СО РАН в пилотном варианте (объём гидролизата – 50 л). Полученный биоэтанол проанализирован современными физико-химическими методами и признан пригодным для дальнейшего кондиционирования в добавку к моторному топливу;

- технология переработки бурого угля в гуминовые кислоты и комплексные сорбенты *(стадии СТ. 501-504)* была масштабирована в ИХТТМ СО РАН до полупромышленных масштабов. Продукт – комплексный гуминовый сорбент – был испытан в реальных условиях на метан-угольной шахте ООО «Газпром-добыча Кузнецк», а также в восстановлении поврежденных почв города Новосибирска;

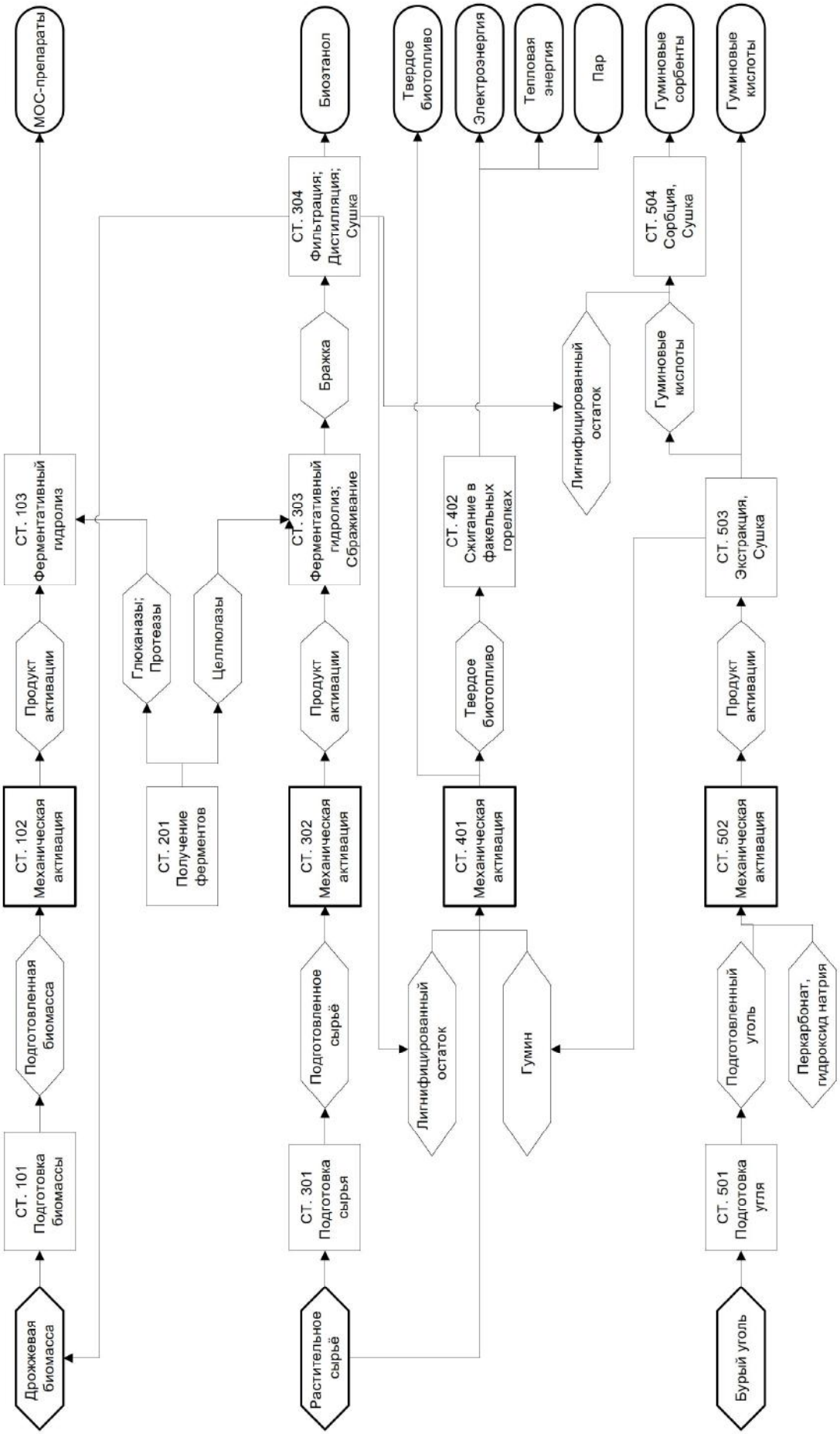


Рисунок 4.48 – Схема комплексной переработки растительного и дрожжевого сырья, угля.

- технология получения твердого биотоплива *(СТ. 401-402)*, пригодного для сжигания в современных факельных устройствах, масштабирована в ИХТТМ СО РАН и ИТ СО РАН. Опытные партии биотоплива были наработаны в ИХТТМ СО РАН и протестированы в ИТ СО РАН на экспериментальном огневом стенде, моделирующем энергоустановку мощностью 5 МВт. Показано, что полученное биотопливо способно сгорать в самоподдерживающемся автотермическом режиме и пригодно для использования в качестве топлива для вихревых горелок, которыми целесообразно модифицировать серийно выпускаемые газо-мазутные котлы (например, котёл «ДЕ–10–14 ГМ» Бийского котельного завода);

Данные по термической и механохимической устойчивости ферментных комплексов, представленные в Главе 4.1, использованы ООО ПО «Сиббиофарм» для корректировки технологического процесса и улучшения качества выпускаемых ферментных препаратов.

В упрощенном виде (без учета потоков воды, пара, энергии) схема комплексной переработки природного сырья может быть разделена на операции (стадии):

- подготовка сырья *(СТ 101, 301, 501)* – проводится подготовка и кондиционирование исходного сырья, доведение до влажности и дисперсности, пригодной для проведения последующей механохимической обработки;

- механическая активация *(СТ. 102, 302, 402, 502)* – проводится механохимическая обработка, призванная увеличить реакционную способность полимеров природного сырья посредством изменения химического состава, увеличения площади поверхности, снижения упорядоченности частично упорядоченных компонентов, разупорядочения супрамолекуляной организации, протекания механохимических реакций и образования механокомпозитов;

- ферментативный гидролиз *(СТ. 103, 303)* – проводится полная или частичная (в случае переработки полимеров биомассы дрожжей) деполимеризация компонентов белковой и углеводной природы;

- вспомогательные операции *(СТ. 201, 304, 503, 504)* – проводится комплекс операций, призванных синтезировать ферментные комплексы, экстрагировать целевые компоненты (гуминовые кислоты), разделить бражку на компоненты (этанол, дрожжевую биомассу, лигнифицированный остаток), сорбировать гуминовые кислоты на лигноцеллюлозных носителях

Представленная концепция переработки природного полимерного сырья при привлечении специалистов из смежных областей (биотехнологов, генных инженеров, материаловедов и химиков-технологов) и практической реализации способна в безотходном режиме перерабатывать в востребованные продукты такие маловостребованные в настоящее время сырьевые ресурсы, как отходы сельского и лесного хозяйства, отходы целлюлозо-бумажной промышленности, неэнергетические отходы добычи окисленного бурого угля.

Проведенные работы по масштабированию ряда технологических процессов с лабораторного до полупромышленного и промышленного уровня подтверждают практический потенциал и реализуемость представленной схемы в полном или частичном варианте.

Антибактериальные свойства получаемых механохимически маннанолигосахаридных препаратов

Для изучения влияния маннанолигосахаридов (МОС) на уровень бактерионосительства микроорганизмов рода *Salmonella* и показатели привесов на базе ИЭВСиДВ СО РАСХН были использованы суточные цыплята яичного направления, из которых по принципу аналогов было сформировано 5 групп (n=25). Цыплятам опытных групп в рацион вводили в различных дозировках кормовое средство, содержащее МОС и полученное путем механоферментативного гидролиза дрожжевой биомассы. В качестве основного корма использовали стартовый комбикорм для кур-несушек. Для моделирования заражения сальмонеллезом всем цыплятам ежедневно орально вводили суточные культуры *Salmonella enterica* и *Salmonella infantis,* в дозах согласно их возрасту.

В результате проведенной работы было установлено, что у цыплят опытных групп к 30-дневному возрасту уровень контаминации внутренних органов и тканей микроорганизмами рода *Salmonella* был ниже аналогичного показателя контрольной группы.

Прослеживается выраженная зависимость между дозой МОС-препарата, вводимых в корм, и уровнем бактерионосительства сальмонелл[58]. У цыплят, получавших МОС-препарат в дозах от 0,1 % до 1 % от массы корма (1-я, 2-я и 3-я опытные группы) наблюдалось незначительное снижение уровня бактерионосительства по сравнению с показателями контрольной группы – максимальная разница прослеживается в пробах мышц цыплят первой группы и составляет 33,34% по сравнению с контролем. Наилучшие результаты наблюдались в группе, получавшей МОС в дозе 2% от массы корма.

Так у цыплят 4-ой опытной группы, *Salmonella* из печени выделялась в 5 % проб, в то время как в контроле данный показатель составил 86,67%. В содержимом толстого кишечника цыплят опытной группы, а также в пробах мышечной ткани микроорганизмы рода *Salmonella* присутствовала в 15 % проб, при аналогичном показателе контрольной группы – 93,34 %.

---

[58] Коптев, В. Ю. Влияние кормового средства, содержащего маннанолигосахариды, на уровень бактерионосительства микроорганизмов рода Salmonella и прирост живой массы сельскохозяйственной птицы / В. Ю. Коптев, Н. А. Шкиль, М. А. Леонова, И. С. Онищенко, Н. Ю. Балыбина, А. Л. Бычков // Достижения науки и техники АПК. – 2015. – Т. 29. – № 1. – С. 46-48.
Коптев, В. Ю. Сорбционная активность маннанолигосахаридов в отношении микроорганизмов рода Salmonella в опытах in vitro и in vivo / В. Ю. Коптев, Н. А. Шкиль, М. А. Титова, И. С. Онищенко, Н. Ю. Балыбина, А. Л. Бычков // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. – 2014. – № 2. – С. 47-52.

Исходя из полученных данных можно сделать вывод о том, что кормовое средство, содержащее МОС, введенное в рацион цыплят в дозе 2 % от массы корма, позволяет снизить уровень бактериальной обсемененности тушек птиц эпидемиологически значимыми штаммами микроорганизмов рода *Salmonella* на 76,6 % по сравнению с контролем.

Для определения влияния МОС на прирост живой массы еженедельно производили контрольное взвешивание цыплят опытных и контрольной групп. Установлено, что в группе цыплят получавших МОС в дозе 2 % от массы корма, наблюдается устойчивое увеличение массы тела по сравнению с контролем. К 28-дневному возрасту среднесуточный привес цыплят опытной группы составлял 19,37 г., при аналогичном показателе в контрольной группе – 12,42 г.

Анализируя полученные результаты, можно сделать вывод о том, что применение МОС-препарата с кормом новорожденным цыплятам в дозе 2 % от массы корма, позволяет повысить среднесуточный привес к 28 дню на 58,85 % по сравнению с контролем. Живая масса цыпленка опытной группы составляет 356,6 г., при аналогичном показателе в контроле – 273,6 г.

Для изучения лечебно-профилактического действия кормового средства, содержащего маннанолигосахариды, были сформированы две группы телят профилакторного возраста (n=40). Телятам опытной группы, с первого дня жизни, в рацион вводили кормовое средство, содержащее маннанолигосахариды, в дозе 4 г/сут., в течение 30 дней. Телята второй группы служили контролем.

В ходе исследований было установлено, что кормовое средство, содержащее маннанолигосахариды, оказывает выраженное профилактическое действие при желудочно-кишечных заболеваниях новорожденных телят: в опытной группе заболело 9 голов (22,5 %), а в контрольной 16 голов (40,0 %). При этом средняя продолжительность заболевания в опытной группе составила 2,4 суток, а в контрольной группе - 3,5 суток.

Анализ микрофлоры кала телят опытной и контрольной групп показал, что при применении кормового средства, содержащего маннанолигосахариды, у больных животных опытной группы снижается количество условно-патогенных представителей семейства *Enterobacteriaceae* на $37,92*10^7$ по сравнению с контролем. Аналогическая картина прослеживается и в отношении кокковой микрофлоры – разница с контролем составила $4,96*10^7$.

Морфологические и биохимические показатели крови в опытной группе, как и в контрольной, находились в пределах физиологической нормы, это указывает на то, что кормовое средство, содержащее маннанолигосахариды, не оказывает выраженного действия на систему крови.

Для изучения влияния кормового средства, содержащего маннанолигосахариды, на прирост живой массы телят, произведены ежемесячные контрольные взвешивания в течение трех месяцев. Установлено, что применение кормового средства, содержащего маннанолигосахариды, положительно сказывается на динамике прироста живой массы телят. Через 30 суток после начала применения, разница в весе между телятами опытной и контрольной групп составила 15,58 %, через 60 суток – 10,77 %

Экономическая эффективность при применении кормового средства, содержащего маннанолигосахариды, в качестве лечебно-профилактического средства при желудочно-кишечных болезнях молодняка составляет 18,80 руб. на 1 рубль затрат.

Полученные данные свидетельствуют о положительном влиянии изучаемой добавки, полученной механоферментативным способом из дрожжевой биомассы. Добавка обладает антибактериальными свойствами, стимулирует обмен веществ, улучшает использование питательных веществ корма и повышает экономическую эффективность животноводческих предприятий.

4.6. Применение полученных результатов в учебном процессе

Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе в Новосибирском государственном техническом университете при реализации образовательных программ в области разработки новых технологий переработки растительного сырья в компоненты специального, лечебно-профилактического и функционального питания (курсы «Организация исследований в индустрии питания», «Современные методы исследований сырья и продукции питания», «Управление качеством и безопасностью в индустрии питания»).

Также результаты диссертационной работы используются при создании лекций, которые соискатель читал в качестве приглашенного лектора-специалиста для студентов Новосибирского государственного университета в рамках курса «Основы химической технологии».

Акт об использовании результатов диссертационной работы в учебном процессе представлен в Приложении Б.

Заключение по главе 4

При помощи механохимической обработки возобновляемого растительного сырья получены образцы нового вида твердого порошкового биотоплива с различной дисперсностью и химическим составом. Повышение доли лигнина в топливе меняет характер процесса окисления. Для образца с содержанием лигнина 20 % наблюдаемая кинетика окисления характеризуется потерей массы при 500-580 К. В то же время для образца с содержанием лигнина 70 % основная потеря массы приходится на 600-660 К, что свидетельствует о смещении процесса сжигания в высокотемпературную область.

С помощью комплекса физико-химических методов (химический и термический анализ, дифракция рентгеновских лучей, сжигание на огневых стендах) показана пригодность полученного топлива для использования в современном теплофизическом оборудовании – котлах с факельными (вихревыми) горелками. Указанное топливо может быть использована как экологически чистая замена мазутному топливу в уже производимых котлах «ДЕ–10–14 ГМ» Бийского котельного завода.

Исследованы процессы, протекающие при многократной механической обработке соломы кукурузы в полупромышленной центробежной роликовой мельнице. Приведены данные, иллюстрирующие изменение морфологии порошкового продукта, влияние удельной площади поверхности, степени кристалличности целлюлозы на реакционную способность обработанного материала. На первом этапе механической обработки наблюдается образование плотных агрегатов, состоящих из измельчённых частиц. При увеличении времени обработки агрегаты разрушаются на составные частицы.

Ступенчатая механическая активация приводит к значительному увеличению удельной площади поверхности материала при этом, б***О***льшую часть площади составляет площадь пор с диаметром 1,7-300 нм. Клетки с диаметром более 30 мкм менее устойчивы при механическом воздействии из-за недостаточно толстой клеточной стенки, разрушаются при измельчении и вносят вклад в наиболее реакционноспособные фракции частиц с меньшими размерами. В свою очередь клетки с меньшим диаметром относительно устойчивы к механическому воздействию.

Проведенный ступенчатый ферментативный гидролиз активированного растительного сырья позволил перевести в мономерную форму 65 % углеводов, содержащихся в соломе кукурузы. Последующим сбраживанием гидролизата получены образцы этилового спирта, которые, согласно данным газовой хроматографии, пригодны для дальнейшего кондиционирования в компонент моторного топлива.

Сформулированы рекомендации, касающиеся модификации существующих и создания новых центробежных роликовых мельниц, предназначенных для переработки растительного сырья. В зоне измельчения необходимо чередовать ударное воздействие со сдвиговым воздействием, что позволит предотвратить образование излишне больших агрегатов. Для соблюдения экономически важного баланса «затраченная энергия – увеличение реакционной способности» необходимо подбирать величину зоны измельчения под каждый тип лигноцеллюлозного сырья.

Применение механической активации позволило значительно разупорядочить ультраструктуру клеточных стенок дрожжей, и увеличить реакционную способность аморфно-кристаллического бета-глюкана для последующего ферментативного гидролиза. При помощи механически активированного частичного ферментативного гидролиза часть бета-глюкана была удалена, тем самым переводя экранированные маннанолигосахариды в биологически активную форму.

Показано, что в процессе механической обработки происходит разрушение клеток биомассы. За технологически приемлемое время механической обработки (порядка двух минут) разрушаются около 30-40 % дрожжевых клеток, что достаточно для протекания автолокализованного твердофазного ферментативного гидролиза. При механической обработке изменяется супрамолекулярная структура полимеров дрожжевой биомассы, структурные слои клеточных стенок разупорядочиваются и носят диффузный характер.

Основные положения физико-химической модели, описывающей процесс механоферментативной обработки и автолокализованного твердофазного ферментативного гидролиза:

– на стадии механической обработки происходит разрушение клеток и увеличение реакционной способности полимеров клеточной стенки, связанное с разупорядочением их супрамолекулярной структуры;

– на стадии компактирования происходит уплотнение образца, что позволяет повысить концентрацию фермента в зоне реакции и способствует быстрому продвижению реакционного фронта;

– на стадии прогрева происходит ферментативный гидролиз бета-глюкана клеточных стенок, причём реакция протекает в режиме автолокализации. Разрушенные при механической обработке клетки служат центрами автолокализации гидролиза;

– в результате протекания гидролиза образуется продукт, представляющий собой частично гидролизованные клеточные стенки, содержащие доступные маннанолигосахариды.

Технология получения маннанолигосахаридов масштабирована с лабораторного до промышленного уровня и внедрена на предприятии ООО ПО «Сиббиофарм» (г. Бердск). Проведена наработка опытной партии с использованием на стадии механической активации промышленной мельницы-активатора с производительностью 400 кг/час.

Проведено масштабирование технологии получения модифицированных гуминовых кислот с лабораторного до полупромышленного уровня, удалось достичь увеличения экстрагируемости водорастворимых гуминовых кислот с 1 до 7 %. Проведена наработка опытной партии (100 кг) с использованием на стадии механической активации промышленной мельницы-активатора с производительностью 50 кг/час. При помощи ЯМР 13С-спектроскопии проведено изучение изменений функциональных групп гуминовых кислот при реакции окисления. Обработка с перкарбонатом натрия приводит к уменьшению в гуминовых кислотах алифатических фрагментов и увеличению содержания карбоксильных групп.

При получении комплексных частиц-сорбентов состава «лигноцеллюлозное ядро – гуминовая оболочка» показано, что сорбционная ёмкость по отношению к гуминовым кислотам линейно повышается при увеличении в материале лигноцеллюлозного ядра доли лигнина. Высокая степень сродства гуминовых кислот к лигнину объясняется присутствием в гуминовых кислотах и лигнинах групп сходной природы, например, ортофенольных фрагментов.

Испытание полученных сорбентов в натурных условиях показало, что продукты эффективно удаляют тяжёлые металлы из раствора, содержащего смесь микроэлементов (Cd, Cr, Co, Pb), а также увеличивают продуктивность травостоя опытных участков.

Заключение

В ходе выполнения диссертационной работы были исследованы закономерности физико-химических процессов, протекающих при механохимической обработке твердофазных полимеров природного происхождения, их супрамолекулярных комплексов и материалов на их основе.

Особое внимание было уделено изучению таких физико-химических параметров, как изменение морфологии, ультраструктуры, химического состава, свойств поверхности, кристаллической структуры природных полимеров, их супрамолекулярных комплексов и нативных материалов при механохимической обработке в лабораторных, полупромышленных и промышленных условиях. На примере окислительной модификации гуминовых кислот были исследованы особенности протекания механохимических реакций свободнорадикального окисления органического вещества бурого угля.

Продемонстрировано, что механохимическая обработка в зависимости от типа выбранного оборудования и режима активации (типа воздействия, интенсивности и температуры) приводит к значительному изменению свойств поверхности природных полимеров и растительного сырья в целом. Помимо уменьшения размера частиц, а в некоторых случаях - образования агрегатов, происходит возрастание удельной площади поверхности материалов, а также качественное изменение состава поверхности, образующейся в процессе активации. Изменение температуры обработки обеспечивает переход полимеров через все фазовые состояния, что может объяснить существенное снижение средних размеров частиц, например, от нескольких миллиметров до нескольких десятков микрометров в результате хрупкого измельчения, и увеличение значений удельной поверхности (вплоть до 25-30 раз), связанное с пластической деформацией.

Системный анализ влияния механохимической обработки на ультраструктурную организацию природных полимеров проведено впервые. В частности, предложен механизм недиффузионного удаления лигнина из супрамолекулярной структуры материала в процессе термомеханической обработки растительного сырья; выдвинуто предположение о ключевой роли механического воздействия в совокупном термомеханическом процессе.

Полученные знания были применены при создании технологий механохимической переработки природного полимерного сырья в востребованные продукты: маннанолигосахаридные заменители кормовых антибиотиков для сельского хозяйства, компоненты биотоплива, комплексные сорбенты тяжелых металлов.

Полученные результаты позволили сделать следующие выводы:

1. Механическая обработка ферментов в смеси с растительным сырьём приводит к снижению реакционной способности ферментов из-за денатурации их макромолекул. При этом

более глубокие превращения - разрыв полимерной цепи – вносят заметный вклад в реакционную способность только при обработке очищенных белковых материалов.

Сорбция ферментов на поверхности растительного сырья, приводит к стабилизации белков по отношению к механической обработке и к росту начальной скорости последующего гидролиза углеводов до 40 %, что можно объяснить распределением молекул белков по приповерхностному слою растительного сырья.

2. Тип механического воздействия определяет эффективность измельчения растительных полимерных материалов:

- в случае ударно-сдвигового воздействия разрушение материалов протекает до достижения предела измельчения и соответствующего ему максимального значения удельной площади поверхности. После достижения предела измельчения растительное сырьё, содержащее лигнин, образует агрегаты;

- в случае сдвигового воздействия разрушение материалов сопровождается образованием агрегатов даже для образцов очищенной целлюлозы, не содержащей лигнин.

3. В зависимости от условий механической обработки кроме увеличения удельной площади происходит изменение химического состава поверхности. Характер процессов разрушения определяется химическим составом материала и фазовым состоянием структурообразующих полимеров:

- в случае, когда все полимеры растительного сырья находятся в застеклованном состоянии, материал измельчается хрупко, без значимых изменений ультраструктуры;

- при температуре обработки ниже температуры расстекловывания высокомолекулярной фракции лигнина увеличивается доля целлюлозы на поверхности из-за хрупкого разрушения клеточных стенок преимущественно вдоль целлюлозных волокон;

- при температуре обработки выше температуры расстекловывания высокомолекулярной фракции лигнина увеличивается доля полифенолов на поверхности из-за недиффузионного выделения на поверхность лигнина и продуктов его разложения;

- увеличение количества лигнина в материале меняет характер процессов разрушения с хрупкого на вязкий.

4. При смене типа механического воздействия с ударно-сдвигового на сдвиговый, происходит изменение характера аморфизации кристаллитов целлюлозы. В случае ударно-сдвигового воздействия изменение размеров ОКР происходит неизотропно: преимущественно вдоль направлений [010] и [110], незначительно вдоль [100]. При сдвиговом воздействии разрушение элементарных фибрилл происходит изотропно во всех направлениях, характеризующих толщину элементарных фибрилл.

5. На механизм механохимической реакции гуминовых кислот бурого угля с окислителем – перкарбонатом натрия $Na_2CO_3*1,5H_2O_2$ – наибольшее влияние оказывает наличие свободной воды:

- при отсутствии свободной воды в системе реализуется свободнорадикальное окисление гуминовых веществ пероксидом водорода;

- при наличии свободной воды в системе гуминовые кислоты переводятся из протонированной в солевую форму в ходе кислотно-основного взаимодействия с карбонатом натрия.

6. Механически активированный ферментативный гидролиз бета-глюкана биомассы дрожжей в твердофазном интерфейсе (компакте) протекает в режиме автолокализации. Роль центров локализации реакции играют дрожжевые клетки, разрушенные на стадии механической активации, а продвижение фронта реакции обеспечивается выделением внутриклеточной жидкости из гидролизованных клеток.

7. Содержание полифенольных молекул выше 30 % позволяет проводить процесс сжигания мелкодисперсного биотоплива в автотермическом режиме. Снижение размеров частиц топлива приводит к уменьшению размера факела и позволяет использовать для сжигания современное теплофизическое оборудование – котлы с вихревыми факельными горелками.

8. Масштабирование технологии получения модифицированных гуминовых кислот с лабораторного до полупромышленного уровня приводит к шестикратному увеличению выхода целевых водорастворимых гуминовых кислот, пригодных для нанесения на частицы растительного сырья со слоем лигнина на поверхности. Испытание полученных сорбентов в натурных условиях показало, что продукты эффективно удаляют тяжёлые металлы из загрязненных природных вод.

9. Для эффективной переработки растительного сырья требуется модификация существующих центробежных роликовых аппаратах. Во-первых, требуется чередовать ударное воздействие со сдвиговым, что позволит предотвратить образование излишне больших агрегатов. Во-вторых, требуется улучшить существующую систему охлаждения статора для предотвращения перегрева обрабатываемого материала и выделения лигнина на поверхность частиц.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Исследования физико-химических процессов, протекающих при механохимической обработке твердофазных полимеров природного происхождения, их супрамолекулярных комплексов и материалов на их основе, выполненные в рамках данной диссертационной работы, находятся в русле направления, активно развиваемого в настоящее время в России и за

рубежом. В связи с общей переориентацией на более экологичные принципы зелёной химии в последние годы возобновился интерес к изучению механизмов безрастворных процессов, происходящих при механическом нагружении полимеров, специфичном направленном разрушении ковалентных связей, контролю кинетики процессов [Leibfarth, 2011; Do, 2017]. Индикаторами повышенного интереса к механохимическим методам переработки являются публикации последних лет [Akopova, 2012; Balaz, 2013; Jones, 2014; Streletskii, 2017; Dabral, 2017-2018; Xu, 2018; Bardakova, 2019; Zhang, 2019], диссертационные работы [Сучков, 2012; Акопова, 2013; Туманов, 2014] и конференции, посвященные данной тематике. В 2013 году в одном из самых высокорейтинговых журналов в области химии Chemical Society Reviews (импакт-фактор 24.9) опубликован тематический номер по механохимии. В 2016 и 2017 годах вышли тематические номера по механохимии в журналах Molecules и Beilstein Journal of Organic Chemistry, соответственно. Из представленных обзоров, посвящённых фундаментальным основам механохимических процессов, можно заключить, что механохимические подходы становятся общемировым трендом, но для широкого использования разрабатываемых технологий ещё недостаточно фундаментальных данных.

Развитие методов механохимической обработки, комплексное изучение физико-химических процессов, протекающих при механохимическом воздействии на природные полимеры и растительное сырьё, определение энергии, требующейся для протекания механохимических процессов, является актуальной задачей не только с точки зрения фундаментальной науки, но и с точки зрения Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации, Указов Президента РФ №№ 642 и 204. Внедрение прорывных механохимических технологий сдерживается отсутствием общей теории механохимических процессов, в частности – общей теории механохимических процессов переработки растительного сырья. В литературе отмечается, что этап разработки механохимических технологий методом проб и ошибок заканчивается, необходимо установление основополагающих закономерностей в данной области [Boldyreva, 2013].

Список литературы

Аввакумов Е.Г., Тумашев А.С. Патент № 62841. Центробежная мельница непрерывного типа. МПК B02C15/08. заявл. 01.12.2006; № 2006142714/22; опубл. 10.05.2007, 8 с.

Азаров, В. И. Химия древесины и синтетических полимеров. Учебник для вузов / В. И. Азаров, А. В. Буров, А. В. Оболенская. – СПб: СПбЛТА, 1999. – 628 с.

Акопова, Т. А. Твердофазный синтез, структура, свойства и перспективы применения материалов на основе полисахарида хитозана: дис. … д-ра хим. наук: 02.00.06 / Акопова Татьяна Анатольевна. – М., 2013. – 284 с.

Алешина, Л. А. Структура и физико-химические свойства целлюлоз и нанокомпозитов на их основе / Л. А. Алешина, Е. Н. Власова, Л. Ю. Грунин, Ю. Б. Грунин, В. А. Гуртов, К. А. и др.; под ред. Л. А. Алешиной, В. А. Гуртова, Н. В. Мелех. – Петрозаводск: Изд-во ПетрГУ, 2014. – 240 с.

Аливердиева, Д. А. Выделение оболочек клеток дрожжей / Д. А. Аливердиева // Биотехнология: состояние и перспективы развития: Материалы третьего московского международного конгресса. 14-18 марта 2005 г. Москва, 2005. – С. 269.

Алтунина, Л. К. Исследование структуры целлюлозосодержащих материалов в процессе механической активации / Л. К. Алтунина, Л. П. Госсен, Л. Д. Тихонова // Журнал прикладной химии. – 2002. – Т. 75. – С. 166-167.

Атаханов, А. А. Сравнительные исследования сорбционных свойств и капиллярно-пористой структуры целлюлозы, микрокристаллической целлюлозы и наноцеллюлозы / А. А. Атаханов, М. Ю. Юнусов, А. А. Сарымсаков, С. Ш. Рашидова // Химия растительного сырья. – 2012. – № 3. – С. 45-48.

Байклз, Н. Целлюлоза и ее производные: в 2 т. / Н. Байклз, Л. Сегал; под ред. З. А. Роговин. – М: Мир, 1974. Т 1. –199 с.

Бамбалов, Н. Н. Фракционно-групповой состав органического вещества целинных и мелиорированных торфяных почв / Н. Н. Бамбалов, Т. Я. Беленькая // Почвоведение. – 1998. – № 12. – С. 1431–1437.

Барамбойм, Н. К. Механохимия высокомолекулярных соединений / Н. К. Барамбойм – 3-е изд. – М.: Химия, 1971. – 364 с.

Барыкина, Р. П. Справочник по ботанической микротехнике. Основы метода / Р. П. Барыкина, Т. Д. Веселова, А. Г. Девятов, Х. Х. Джалилова, Г. М. Ильина, Н. В. Чубатова. – М.: Изд-во МГУ, 2004. – 312 с.

Берестнев, В. А. Исследование структурных изменений волокон путем определения их удельной поверхности / В. А. Берестнев, Т. В. Гатовская, В. А. Каргин // Высокомолекулярные соединения. – 1960. – Т. 2. – С. 916-925.

Бейнарт, И. И. Клеточная стенка древесины и ее изменение при химическом воздействии / И. И. Бейнарт, Н. А. Ведерников, В. С. Громов и др. – Рига: Зинатне, 1972. – 509 с.

Боголицын, К. Г. Физическая химия лигнина / К. Г. Боголицын, В. В. Лунин, Д. С. Косяков, А. П. Карманов, Т. Э. Скребец, Н. Р. Попова, А. В. Малков, Н. С. Горбова, А. Н. Пряхин, А. Н. Шкаев, Н. Л. Иванченко – М.: Академкнига / Учебник, 2010. – 492 с.

Божков, А. И. Удаление клеточных стенок Saccharomyces cerevisiae ферментным комплексом Chaetomium globossum / А. И. Божков, И. С. Леонова, В. И. Облак // Биотехнология. – 2004. – № 6. – С. 46-53.

Болдырев, В. В. Экспериментальные методы в механохимии твердых неорганических веществ / Болдырев В. В. – Новосибирск: Наука, 1983. – 64 с.

Болдырев, В. В. Механохимия и механическая активация твердых веществ / В. В. Болдырев // Успехи химии. – 2006. – Т. 75. – № 3. – С. 203-216.

Бурдуков, А. П. Использование механоактивированных углей микропомола в энергетике / А. П. Бурдуков, В. И. Попов, В. А. Фалеев, Т. С. Юсупов // Ползуновский вестник. – 2010. – № 1. – С. 93-98.

Буркова, В. Н. Влияние механоактивации бурых и окисленных углей на состав и свойства водорастворимых гуминовых комплексов / В. Н. Буркова, Е. В. Мальцева, А. В. Савельева, Н. В. Юдина // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 5-2. – С. 219-223.

Бутягин П.Ю. Химическая физика твердого тела. – М.: Изд-во МГУ, 2006. – 272 с.

Бычкова, Е. С. Разработка новых продуктов питания с использованием добавок из механохимически обработанного сырья / Е. С. Бычкова, И. О. Ломовский, О. И. Ломовский // Пищевая промышленность. – 2014. – № 11. – С. 42-44.

Воробьев Н. П. Проблемы контроля параметров технологических процессов АПК и пути их решения / Н. П. Воробьев, О. К. Никольский // Ползуновский вестник. – 2002. – № 1. – С. 65-78.

Голязимова, О. В. Увеличение эффективности измельчения лигноцеллюлозного растительного сырья с помощью химической обработки / О. В. Голязимова, А. А. Политов, О. И. Ломовский // Химия растительного сырья. – 2009. – № 2. – С. 53-57.

Голязимова, О. В. Механическая активация ферментативного гидролиза лигноцеллюлозы / О. В. Голязимова, А. А. Политов, О. И. Ломовский // Химия растительного сырья. – 2009. – № 2. – С. 59-63.

Горшкова, Т. А. Растительная клеточная стенка как динамическая система / Т. А. Горшкова – М.: Наука, 2007. – 429 с.

Громов, Н. В. Новые методы одностадийной переработки полисахаридных компонентов лигноцеллюлозной биомассы (целлюлозы и гемицеллюлоз) в ценные продукты. Часть 1. Методы активации биомассы / Н. В. Громов, О. П. Таран, К. Н. Сорокина, Т. И. Мищенко, Ш. Утанди, В. Н. Пармон // Катализ в промышленности. – 2016. – Т. 16. – № 1. – С. 74-83.

Грунин, Ю. Б. Особенности процессов сорбции паров воды и азота на целлюлозе / Ю. Б. Грунин, Л. Ю. Грунин, Е. А. Никольская, В. И. Таланцев, Г. Ш. Гогелашвили // Журнал физической химии. – 2013. – Т. 87. – № 1. – С. 84-88.

Дамберг, Б. Э. О токсическом действии цистеина на клетки Saccharomyces cerevisiae, растущие на средах различного состава / Б. Э. Дамберг, Я. Э. Блумберг // Микробиология. – 1983. – № 1. – Т. 52. – С. 68-72.

Данилевич, В. Н. Получение и характеристика ДНК-содержащих микромумий дрожжей и грамположительных бактерий с увеличенной проницаемостью клеточной стенки: применение в ПЦР / В.Н. Данилевич, Н.Е. Сузина, Е.В. Гришин // Микробиология. – 2007. – Т. 76. – № 1. – С. 72-82.

Дмитриева, З. Т. Метод определения удельной поверхности полимерных адсорбентов / З. Т. Дмитриева, В. Г. Бондалетов, А. А. Троян // Известия Томского политехнического университета. – 2012. – Т. 320 – № 3. – С. 134-136.

Дубинин, М. М. Методы исследования структуры высокодисперсных и пористых тел / М. М. Дубинин – М.: Академия наук СССР, 1953. – 165 с.

Дубинская, А. М. Превращение органических веществ под действием механических напряжений / А. М. Дубинская // Успехи химии. – 1999. – Т. 68. – № 8. – С. 708-724.

Ефанов, М. В. О превращениях древесины осины и ее основных производных компонентов в реакции О-ацилирования / М. В. Ефанов // Химия природных соединений. – 2001. – Т. 5. – С. 410-421.

Ефанов, М. В. Нитрование механохимически активированной лузги подсолнечника / М. В. Ефанов, А. В. Забелина // Химия природных соединений. – 2002. – Т. 6. – С. 482-487.

Жубриков, А. В. Исследование перкарбоната натрия, гранулированного силикатом натрия, методом рентгенофотоэлетронной спектроскопии / А. В. Жубриков, Е. А. Легурова, В. Гуткин, В. Уваров, Н. В. Хитров, Т. А. Трипольская, П. В. Приходченко // Журнал неорганической химии. – 2009. – Т. 54. – № 9. – С. 1526-1529.

Иванов, А. А. Химические и структурные превращения органических компонентов торфов после механоактивации: автореферат дис. … канд. хим. наук: 05.17.07 / Иванов Александр Анатольевич. – Томск, 2005 – 22 с.

Иванов, А. А. Влияние механохимической активации на состав и свойства гуминовых кислот торфов / А. А. Иванов, Н. В. Юдина, О. И. Ломовский // Известия Томского политехнического университета. – 2006. – Т. 309. – № 5. – С. 73–77.

Иванов, А. А. Исследование биостимулирующих и детоксицирующих свойств гуминовых кислот различного происхождения в условиях нефтезагрязненной почвы / А. А. Иванов, Н. В. Юдина, Е. В. Мальцева // Химия растительного сырья. – 2007. – № 1. – С. 99-103.

Иванов, А. А. Механохимическая модификация торфа с целью получения наноразмерных молекул гуминовых кислот / А. А. Иванов, Н. В. Юдина, О. И. Ломовский, С. Г. Мамылов // Материалы форума Rusnanotech-2008, Москва. – 2008.

Иващенко, Г. Л. Механическая активация, как способ получения водорастворимых форм хитина и хитозана в твердой фазе / Г. Л. Иващенко, Т. П. Шахтшнейдер, В. В. Болдырев, Н. Г. Базарнова // Химия в интересах устойчивого развития. – 2002 – Т. 10 – № 1-2. – С. 69-76.

Исмагилов, З. Р. Институт углехимии и химического материаловедения СО РАН / З. Р. Исмагилов // Химия твердого топлива. – 2012. – № 6. – С. 3-7.

Калебина, Т. С. Роль белков в формировании молекулярной структуры клеточной стенки дрожжей / Т. С. Калебина, И. С. Кулаев // Успехи биологической химии. – 2001. – Т. 41. – С. 105-130.

Карбышев, М. А. Размол волокнистых полуфабрикатов в целлюлозно-бумажном производстве при использовании гарнитуры с пространственным расположением ножей / М. А. Карбышев, В. А. Кожухов, Ю. Д. Алашкевич // Химия растительного сырья. – 2012. – № 3. – С. 213-217.

Карманов, А. П. Теоретическое и экспериментальное моделирование биосинтеза лигнина / А. П. Карманов, С. М. Полещиков, Л. С. Кочева // Бутлеровские сообщения. – 2015. – Т. 41. № 3. – С. 147-151.

Карманов, А. П. Экспериментальное и квантово-химическое исследование биосинтетических моделей лигнина – дегидрополимеров / А. П. Карманов, М. М. Ишанходжаева, О. Ю. Деркачева // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2017. – № 4 – С. 643-647.

Касаткина, Н. С. Дезинтеграция микроорганизмов в вихревой мельнице / Н. С. Касаткина, Г. М. Левагина // Обработка дисперсных материалов и сред. – 1999. – Вып. 9. – С. 66-68.

Китайгородский, А. И. Рентгеноструктурный анализ мелкокристаллических и аморфных тел / А. И. Китайгородский – Москва-Ленинград: Государственное издательство технико-теоретической литературы, 1952. – 589 с.

Клесов, А. А. Ферментативный гидролиз целлюлозы. Часть IV. Влияние физико-химических и структурных факторов субстрата на эффективность ферментативного гидролиза / А. А. Клесов, А. П. Синицын // Биоорганическая химия. – 1981. – Т. 7 – № 12. – С. 1801-1812.

Ковалева, Т. А. Исследование процесса термической инактивации глюкоамилазы / Т. А. Ковалева, О. М. Кожокина, Л. А. Битюцкая, Т. Г. Меньшикова // Вестник ВГУ. Серия химия, биология, фармация. – 2003. – № 1. – С. 57-60.

Козлов, Л. В. Термодинамические основы стабилизации иммобилизованных ферментов / Л. В. Козлов // Биоорганическая химия. – 1980. – Т. 6. – № 8. – С. 1243-1254.

Котенева, И. В. Анализ модифицированной целлюлозы методом ИК-спектроскопии / И. В. Котенева, В. И. Сидоров, И. А. Котлярова // Химия растительного сырья. – 2011. – Т. 1. – С. 21-24.

Кочева, Л. С. Структурная организация и свойства лигнина и целлюлозы травянистых растений семейства злаковых: автореф. дис. … д-ра. хим. наук: 05.21.03 / Кочева Людмила Сергеевна. – Архангельск, 2008. – 42 с.

Кудрявцев, А. А. Механические свойства микробных оболочек / А. А. Кудрявцев, Г. А. Гуревич, Б. А. Фихте – Пущино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1988. – 152 с.

Кузнецов, Б. Н. Влияние активирующих воздействий на состав, строение и реакционную способность древесины осины / Б. Н. Кузнецов, В. И. Шарыпов, С. А. Кузнецова, С. Б. Барышников, В. Г. Данилов, О. В. Яценкова, Н. М. Иванченко // Химия в интересах устойчивого развития. – 2012. – Т. 20. – № 5. – С. 555-567.

Ломовский, О. И. Механохимия в решении экологических проблем / О. И. Ломовский, В. В. Болдырев. – Новосибирск: ГПНТБ СО РАН, 2006. – 221 с.

Ломовский, О. И. Перспективные адсорбенты и поглотители из торфа и растительного сырья, получаемые механохимическим методом / О. И. Ломовский, А. А. Политов, Н. В. Юдина // Материалы круглого стола «Охрана окружающей среды при разработке нефтяных и газовых месторождений» в рамках 4-го Сибирского форума недропользователей и предприятий ТЭК «Нефть. Газ. Геология – 2008» 21-22 мая 2008 г. – Томск, 2008. – С. 75-77.

Мамылов, С. Г. Моделирование состояния полифенольной системы при механохимической обработке / С. Г. Мамылов, О. И. Ломовский, Н. В. Юдина // Гуминовые вещества в биосфере: Материалы V Всероссийской конференции с международным участием 1-4 марта 2010 г. – Санкт-Петербург, 2010. – С. 277-281.

Мамылов, С. Г. Термический анализ механохимически активированных гуминовых кислот / С. Г. Мамылов, В. Д. Тихова, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Новые достижения в химии и химической технологии растительного сырья: Материалы VI Всероссийской конф. с международным участием 22-24 апреля 2014 г. – Барнаул, 2014. – С. 107-109.

Можаев, В. В. Инактивация и реактивация белков (ферментов) / В. В. Можаев, К. Мартинек // Молекулярная биология. – 1982. – Т. 16. – № 4. – С. 676-694.

Никитин, В. М. Химия древесины и целлюлозы. Учебное пособие / В. М. Никитин, А. В. Оболенская, В. П. Щеголев. – М.: Лесная промышленность, 1978. – 368 с.

Оболенская, А. В. Лабораторные работы по химии древесины и целлюлозы. Учебник для вузов / А. В. Оболенская, З. П. Ельницкая, А. А. Леонович. – М.: Экология, 1991. – 320 с.

Орлов, Д. С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации / Д. С. Орлов. – М.: Издательство МГУ, 1990. – 325 с.

Орлов, Д. С. Свойства и функции гуминовых веществ / Д. С. Орлов // В кн. под ред. Д. С. Орлова Гуминовые вещества в биосфере М.: Наука, 1993. – С. 16-27.

Орлов, Д. С. Химия почв / Д. С. Орлов. – М.: Издательство МГУ, 1992. – 259 с.

Перминова, И. В. Анализ, классификация и прогноз свойств гумусовых кислот: дис. … д-ра хим. наук: 02.00.02 / Перминова Ирина Васильевна. – М., 2000. – 359 с.

Полубенцев, А. В. Ожижение механически активированных углей / А. В. Полубенцев, А. Г. Пройдаков, Л. А. Кузнецова, Л. В. Каницкая // Сибирский химический журнал. – 1991. – Т. 5. – С. 105-114.

Полубенцев, А. В. Влияние механоактивации на состав продуктов экстракции бурых углей различных месторождений / А. В. Полубенцев, А. Г. Пройдаков, Л. А. Кузнецова, Л. В. Каницкая, Т. В. Чебунина // Химия твердого тела. – 1992. – Т. 2. – С. 24-27.

Полубенцев А.В., Пройдаков А.Г., Чемерилова В.Г., Синников А.О. Механодеструкция углей в присутствии воздуха. // Коллоидная химия и физико-химическая механика: Тез. докл. Всероссийской конференции 19-23 сентября 1993 г. – Одесса, 1993. – С. 56.

Полубенцев, А. В. Интенсификация процессов ожижения бурых и каменных углей методами механического воздействия / А. В. Полубенцев, А. Г. Пройдаков, Л. А. Кузнецова // Химия в интересах устойчивого развития. – 1999. – Т. 7. – № 3. – С. 203-217.

Попов, А. И. Гуминовые вещества. Свойства, строение, образование / А. И. Попов. – Санкт-Петербург: Издательство СПбГУ, 2004. – 248 с.

Попова, В. А. Влияние предварительной обработки кормовых дрожжей на выход щелочной белковой фракции / В. А. Попова, О. И. Игнатьева, А. Н. Тюманок // Биотехнология. – 1989. – Т. 5 – № 2. – С. 194-198.

Пройдаков, А. Г. Гуминовые кислоты из механообработанных углей / А. Г. Пройдаков // Химия твердого топлива. – 2009. – Т. 1. – С. 13-19.

Прусов, А. Н. Взаимодействие целлюлоз и лигноцеллюлозных полимеров с водой и водными системами / А. Н. Прусов, С. М. Прусова, А. Г. Захаров // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2014. – Т. 9. – С. 1926-1945.

Пучков, Е. О. Действие шока, вызванного низкой температурой и внеклеточного образования льда на внешнюю и цитоплазматическую мембраны клеток Escherichia coli / Е. О. Пучков, И. Г. Говорунов, Ю. В. Евтодиенко, Н. В. Косарев // Микробиология. – 1983. – Т. 52 – № 1. – С. 136-139.

Радциг, В. А. Механохимия полимеров глазами методом ЭПР (Обзор) / В. А. Радциг // Химическая физика. – 2004. – Т. 23. – № 10. – С. 70-109.

Роговин, З. А. Химия целлюлозы / З. А. Роговин. – М.: Химия, 1972. – 519 с.

Рязанова, Т. В. Об интенсификации процесса экстракции коры лиственницы сибирской в дезинтеграторе / Т. В. Рязанова, Н. А. Чупрова, Н. Ю. Ким // Химия растительного сырья. – 2000. – Т. 1. – С. 95-100.

Севернев, М. М. Механическое обезвоживание и термическая сушка высоковлажных кормов / М. М. Севернев, К. Ф. Терпиловский, В. В. Майонов; под ред. М. М. Севернева. – М.: Колос, 1980 – 149 с.

Сергиенко, В. И. Возобновляемые источники химического сырья: комплексная переработка отходов производства риса и гречихи / В. И. Сергиенко, Л. А. Земнухова, А. Г. Егоров, Е. Д. Шкорина, Н. С. Василюк // Российский химический журнал. – 2004. – Т. 48. – № 3. – С. 116-124.

Симионеску, К. Механохимия высокомолекулярных соединений / К. Симионеску, К. Опереа: Пер. с румын. – Москва: Мир, 1970. – 360 с.

Синицын, А. П. Сравнительное изучение влияния различных видов предобработки на скорость ферментативного гидролиза природных целлюлозосодержащих материалов / А. П. Синицын, Г. В. Ковалев, // Химия древесины. – 1984. – № 5. – С. 60-71.

Синицын, А. П. Биоконверсия лигноцеллюлозных материалов / А. П. Синицын, А. В. Гусаков. – М.: Издательство МГУ, 1995. – 224 с.

Смирнов, К. А. Определение угла скрещивания режущих кромок окружных ножей размольной гарнитуры / К. А. Смирнов, Ю. Д. Алашкевич, В. И. Ковалев // Химия растительного сырья. – 2012. – № 1. – С. 199-203.

Стрижко, Л. С. Биосорбенты для извлечения благородных металлов из промышленных растворов / Л. С. Стрижко // Цветные металлы. – 2003. – № 2. – С. 40-44.

Сучков, В. П. Механохимическая активация природного и техногенного сырья при производстве гипсовых строительных материалов и изделий: дис. … д-ра техн. наук: 05.23.05 / Сучков Владимир Павлович. – Самара, 2012. – 271 с.

Тагер, А. А. Определение удельной поверхности и объема пор твердых полимерных сорбентов / А. А. Тагер, М. В. Цилипоткина, А. И. Суворова // Доклады Академии наук СССР. – 1958. – Т. 120. – С. 570-572.

Тайц, Е. М. Методы анализа и испытания углей / Е. М. Тайц, И. А. Андреева. – М.: Недра, 1983. – 301 с.

Татаринова Л.В. Использование геля из гомогенизированных бурых морских водорослей для диетического (лечебно-профилактического) питания: Пособие для врачей». Под ред. А.Н. Разумов, И.П. Бобровницкий, В.К. Козлов, С.В. Супрун, Т.А. Князева, В.И. Михайлов, С.М. Мостового А.Г. Одинец – М.: Раритет, 2014. – 68 с.

Туманов, И. А. Изучение влияния различных видов механической обработки на реакции в смесях молекулярных кристаллических веществ: дис. … канд. хим. наук: 02.00.21 / Туманов Иван Андреевич. – Новосибирск, 2014. – 143 с.

Федорова, Н.И. Влияние механоактивационной обработки углей на процесс получения углеродных сорбентов на их основе / Н.И. Федорова, Ю.Ф. Патраков // Вестник Кузбасского государственного технического университета. – 2009. – Т. 72. – №. 2. – С. 181-185.

Федорова, Н. И. Изменение физико-химических свойств углей при механическом воздействии / Н. И. Федорова, Ю. Ф. Патраков, В. П. Бервено // Вестник Кузбасского государственного технического университета. – 2010. – Т. 82. – № 6. – С. 137-140.

Федосеева, Г. М. Товароведческий анализ лекарственного растительного сырья. Методические рекомендации / Г. М. Федосеева, В. М. Миронович, Н. Н. Головных. – Иркутск: ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России, 2008. – 87 с.

Хлебцов, Н. Г. Золотые наноструктуры с плазмонным резонансом для биомедицинских исследований / Н. Г. Хлебцов, В. А. Богатырев, Л. А. Дыкман, Б. Н. Хлебцов // Российские нанотехнологии. – 2007. – Т. 2. – № 3-4. – С. 69-86.

Хренкова, Т.М. Химические превращения углей при механическом диспергировании: автореф. дис. д-ра. хим. наук: 02.00.04 / Хренкова Татьяна Михайловна. Москва, 1983. 48 с.

Хренкова, Т. М. Механо-химическая активация углей / Т. М. Хренкова – М.: Недра, 1993. – 176 с.

Чешкова, А. В. Ферменты и технологии для текстиля, моющих средств, кожи, меха. / А. В. Чешкова – Иваново: Издательство ИГХТУ, 2007. – 280 с.

Чухчин, Д. Г. Способ дифрактометрического определения степени кристалличности веществ / Д. Г. Чухчин, А. В. Малков, И. В. Тышкунова, Л. В. Майер, Е. В. Новожилов // Кристаллография. – 2016. – Т. 61. – № 3. – С. 375-379.

Шапиро, Д. К. Практикум по биологической химии / Д. К. Шапиро; под ред. А. С. Вечера. – 2е изд. Минск: Вышэйшая школа, 1976. – 288 с.

Шаполова, Е. Г. Механохимическое взаимодействие диоксида кремния с хелатирующими полифенольными соединениями и получение растворимых молекулярных форм кремния / Е. Г. Шаполова, К. Г. Королев, О. И. Ломовский // Химия в интересах устойчивого развития. – 2010. – Т. 18. – С. 663-668.

Шаполова, Е. Г. Механохимическая солюбилизация диоксида кремния полифенольными соединениями в составе растительного сырья / Е. Г. Шаполова, О. И. Ломовский // Химия растительного сырья. – 2011. – №. 4. – С. 145-152.

Шаполова, Е. Г. Механическая активация процесса ферментативного осахаривания углеводов рисовой шелухи / Е. Г. Шаполова, А. Л. Бычков, О. И. Ломовский // Химия в интересах устойчивого развития. – 2012. – Т. 20. – С. 639-644.

Шкуратник, В. Л. Активация буроугольных гуминовых кислот для обезвреживания и утилизации токсичных отходов / В. Л. Шкуратник, А. А. Шульгин // Горный информационно-аналитический бюллетень. – 2009. – № 7. – С. 23-32.

Шульгин, А. А. Разработка метода активации гуминовых кислот и битумов бурого угля с целью их использования для обезвреживания и утилизации токсичных отходов: автореф. дис. … канд. техн. наук: 25.00.36 / Шульгин Антон Александрович. – Москва, 2010. – 23 с.

Юдина, Н. В. Механохимические превращения в торфах различных типов / Н. В. Юдина, А. В. Зверева, О. И Ломовский // Химия твердого топлива. – 2002. – № 5. – С. 3-10.

Яговкин, А. К. Развитие представлений о молекулярной организации сложных органических систем – гуминовых кислот / А. К. Яговкин, Ю. В. Миронова, А. В. Миронов // Вестник Югорского государственного университета. – 2009. – Т. 3. – № 3. – С. 80-60.

Яковлев, Г. П. Ботаника / Г. П. Яковлев, В. А. Челомбитько; под ред. И. В. Грушвицкого. – М.: Высшая школа, 1990. – 367 с.

Abate, G. Acid-basic and complexation properties of a sedimentary humic acid. A study on the Barra Bonita reservoir of Tiete River, Sao Paulo State, Brazil / G. Abate, J. C. Masini // Journal of the Brazilian Chemical Society. – 2001. – V. 12. – N 1. – P. 109-116.

Achar T.K., Bose A., Mal P. Mechanochemical synthesis of small organic molecules // Beilstein Journal of Organic Chemistry. – 2017. – V. 13. – P. 1907-1931.

Adams, C. W. M. Osmium tetroxide and the Marchi method: reactions with polar and non-polar lipids, proteins and polysaccharide // The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. – 1960. – V. 8. – N. 4. – P. 262-267.

Ago, M. Effect of solvent on morphological and structural change of cellulose under ball-milling / M. Ago, T. Endo, K. Okajima // Polymer Journal. – 2007. – V. 39. – N. 5. – P. 435-441.

Aiken, G. R. Humic Substances in Soil, Sediment, and Water: Geochemistry, Isolation, and Characterization / G. R. Aiken. – Wiley-interscience publications, 1985. – 692 p.

Akhtar, M. Biomechanical pulping: a mill-scale evaluation / M. Akhtar, M. J. Lentz, E. G. Horn // Resources, Conservation and Recycling. – 2000. – V. 28. – P. 241-252.

Akopova, T. A. Amphiphilic systems based on polysaccharides produced by solid-phase synthesis - A review / T. A. Akopova, T. S. Demina, A. N. Zelenetskii // Fibre Chemistry. – 2012. – V. 44. – N. 4. – P. 217-220.

Alekseeva, O. V. Effect of the conditions of mechanical treatment on the reactivity of cellulose / O. V. Alekseeva, O. V. Rozhkova, A. N. Prusov // Fibre Chemistry. – 1997. – V. 29. – N. 2. – P. 103-105.

Alvira, P. Pretreatment technologies for an efficient bioethanol production process based on enzymatic hydrolysis: a review / P. Alvira, E. Tomas-Pejo, M. Ballesteros, M.J. Negro // Bioresource Technology. – 2010. – V. 101. – P. 4851-4861.

Ames, G. F. Simple, rapid, and quantitative release of periplasmic proteins by chloroform / G. F. Ames, C. Prody, S. Kustu // Journal of Bacteriology. – 1984. – N. 160. – P. 1181-1183.

Anastas, P. T. Design through the 12 principles of green engineering / P. T. Anastas, J. B. Zimmerman // Environmental Science and Technology. – 2003. – V. 37. – N. 5. – P. 94A-101A.

Ant-Wuorinen, O. Correspondence regarding Segal et al. paper / O. Ant-Wuorinen // Textile Research Journal. – 1960. – V. 30. – N. 5. – P. 402-403.

Anwar, Z. Agro-industrial lignocellulosic biomass a key to unlock the future bio-energy: a brief review / Z. Anwar, M. Gulfraz, M. Irshad // Journal of Radiation Research and Applied Sciences. – 2014. – V. 7. – N. 2. – P. 163-173.

Ashour, A. Corncobs as a potential source of functional chemicals / A. Ashour, M. Amer, A. Marzouk, K. Shimizu, R. Kondo, S. El-Sharkawy // Molecules. – 2013. – V. 18. – N. 11. – P. 13823-13830.

Atalla, R. H., VanderHart, D. L. Native cellulose: a composite of two distinct crystalline forms / R. H. Atalla, D. L. VanderHart // Science. – 1984. – V. 223. – N. 4633. – P. 283-285.

Atalla, R. H. The role of solid state 13C NMR spectroscopy in studies of the nature of native celluloses / R. H. Atalla, D. L. VanderHart // Solid State Nuclear Magnetic Resonance. – 1999. – V. 15. – P. 1-19.

Avolio, R. A multitechnique approach to assess the effect of ball milling on cellulose / R. Avolio, I. Bonadies, M. E. Errico, G. Gentile, M. Avella // Carbohydrate polymers. – 2012. – V. 87. – P. 265-273.

Avvakumov, E. Soft Mechanochemical Synthesis: A Basics for New Chemical Technologies / E. Avvakumov, M. Senna, N. Kosova. – New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow: Kluwer Academic Publishers, 2001. – 208 p.

Bajpai, P. Pretreatment of lignocellulosic biomass for biofuel production – Singapore: Springer, 2016. – 87 p.

Bajpai, P. Lignin / P. Bajpai // In: Carbon Fibre from Lignin. SpringerBriefs in Materials. Springer, Singapore. – 2017. – V. 2. – Pp. 11-15.

Bak, J. S. Improved enzymatic hydrolysis yield of rice straw using electron beam irradiation pretreatment / J. S. Bak, J. K. Ko, Y. H. Han, B. C. Lee, I. G. Choi, K. H. Kim // Bioresource Technology. – 2009. – V. 100. – N. 3. – P. 1285-1290.

Balan, V. Mushroom spent straw: A potential substrate for an ethanol-based biorefinery / V. Balan, L. da Costa Sousa, S. P. S. Chundawat, R. Vismeh, A. D. Jones, B. E. Dale // Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology. – 2008. – V. 35. – N. 5. – P. 293-301.

Balaz, P. Chemical treatment of coal by grinding and aqueous caustic leaching / P. Balaz, R. B. LaCount, D. G. Kern, L. Turcaniova // Fuel. – 2001. – V. 80. – P. 665-671.

Balaz, P. Hallmarks of mechanochemistry: from nanoparticles to technology / P. Balaz, M. Achimovicova, M. Balaz, P. Billik, Z. Cherkezova-Zheleva, J. M. Criado, F. Delogu, E. Dutkova, E.

Gaffet, F. J. Gotor, R. Kumar, I. Mitov, T. Rojac, M. Senna, A. K. Streletskii, Wieczorek-Ciurowam // Chemical society reviews. – 2013. – V. 42. – P. 7571-7637.

Ballantyne, G. R. Proportion of Energy Attributable to Comminution / G. R. Ballantyne, M. S. Powell, M. Tiang // Proc. 11th AusIMM Mill Operators' Conference 2012, Hobart, Tas, 2012. – P. 25-30.

Ballantyne, G.R. Benchmarking comminution energy consumption for the processing of copper and gold ores / G.R. Ballantyne, M.S. Powell // Minerals Engineering. – 2014 – V. 65. P. 109-114.

Barakat, A. Mechanical pretreatments of lignocellulosic biomass: towards facile and environmentally sound technologies for biofuels production / A. Barakat, C. Mayer-Laigle, A. Solhy, R. A. D. Arancon, H. Vries, R. Luque // Royal Society of Chemistry. – 2014. – V. 4. – P. 48109-48127.

Barbier, J. Method for producing intermediate material intended for ethanol production, and resulting intermediate material / J. Barbier, F. Bataille, A. Briand, S. Soum // EP Patent 2364364 A1, 2011.

Bardakova, K. N. From aggregates to porous three-dimensional scaffolds through a mechanochemical approach to design photosensitive chitosan derivatives / K. N. Bardakova, T. A. Akopova, A. V. Kurkov, G. P. Goncharuk, D. V. Butnaru, V. F. Burdukovskii, A. A. Antoshin, I. A. Farion, T. M. Zharikova, A. B. Shekhter, V. I. Yusupov, P. S. Timashev, Y. A. Rochev // Marine Drugs. – 2019. – V. 17. – N. 1. – P. 48-66.

Barz, M. Agricultural residues as promising biofuels for biomass power generation in Thailand / M. Barz, M. K. Delivand // Journal of Sustainable Energy and Environment Special issues. – 2011. – P. 21-27.

Bazarnova, N. G. Isolation and analysis of extractives from white cinquefoil (*Potentilla alba* L.) grown under different conditions / N. G. Bazarnova, L. I. Tikhomirova, N. S. Frolova, I. V. Mikushina // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2017. – V. 43. – N. 7. – P. 752-759.

Bazhenov, S. L. The influence of preliminary rolling on the mechanical properties of polyethylene terephthalate / S. L. Bazhenov, A. V. Efimov, A. V. Bobrov, A. S. Kechek'yan, T. E. Grokhovskaya // Polymer Science, Series A. – 2015. – V. 57. – N. 3. – P. 285-295.

Bendich, A. The antioxidant role of vitamin C / A. Bendich, L. J. Machlin, O. Scandurra, G. W. Burton, D. D. M. Wayner //Advances in Free Radical Biology and Medicine. – 1986. – V. 2. – N. 2. – P. 419-444.

Berlin, A. Inhibition of cellulase, xylanase and β-glucosidase activities by softwood lignin preparations / A. Berlin, M. Balakshin, N. Gilkes, J. Kadla, V. Maximenko, S. Kubo, J. Saddler // Journal of Biotechnology. – 2006. – V. 125. – P. 198-209.

Bogolitsyn K.G., Aizenshtadt M.A., Pryakhin A.N., et al. Kinetics of the catalytic oxidation of model compounds of lignin with hydrogen peroxide in the presence of peroxidase from horse-radish // Russian Journal of Physical Chemistry A. – 2010. – V. 84(9). – P. 1511-1515.

Boldyreva, E. Mechanochemistry of inorganic and organic systems: what is similar, what is different? / E. Boldyreva // Chemical society reviews. – 2013. – V. 42. – P. 7719-7738.

Bommarius, A. S. Cellulase kinetics as a function of cellulose pretreatment / A. S. Bommarius, A. Katona, S. E. Cheben, A. S. Patel, A. J. Ragauskas, K. Knudson, Y. Pu // Metabolic Engineering. – 2008. – V. 10. – P. 370-381.

Bomtempo, J. V. Developing new platform chemicals: What is required for a new bio-based molecule to become a platform chemical in the bioeconomy? / J. V. Bomtempo, F. C. Alves, F. de Almeida Oroski // Faraday Discussions. – 2017. – V. 202. – P. 213-225.

Borrion, A. L. Environmental life cycle assessment of bioethanol production from wheat straw / A.L. Borrion, M.C. McManus, G.P. Hammond // Biomass and bioenergy. – 2012. – V.47. P. 9-19.

Brinkman, M. L. J. Low-ILUC-risk ethanol from Hungarian maize / M. L. J. Brinkman, B. Wicke, A. P. C. Faaij // Biomass and Bioenergy. – 2017. – V. 99. – P. 57-68.

Brodeur, G. Chemical and physicochemical pretreatment of lignocellulosic biomass: A review / G. Brodeur, E. Yau, K. Badal, J. Collier, K. B. Ramachandran, S. Ramakrishnan // Enzyme Research. – 2011. – V. 2011. – P. 1-17.

Broek, D. Elementary engineering fracture mechanics / D. Broek. – Springer Netherlands, 1982, – 469 p.

Caffall, K. H. The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides / K. H. Caffall, D. Mohnen // Carbohydrate Research. – 2009. – V. 344. – P. 1879-1900.

de C. T. Carrondo M. A. A. F. X-Ray crystal structure of the industrial bleaching agent 'sodium percarbonate' [sodium carbonate–hydrogen peroxide (2/3)] / M. A. A. F. de C. T. Carrondo, W. P. Griffith, D. P. Jones, A. C. Skapski //Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions. – 1977. – N. 23. – P. 2323-2327.

Casale, A. Polymer stress reaction / A. Casale, R. S. Porter. – New York: Academic Press, V. 2. 1979. – 468 p.

Chandran, S. P. Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using Aloe vera plant extract / S. P. Chandran, M. Chaudhary, R. Pasricha, A. Ahmad, M. Sastry // Biotechnology Progress. – 2006. – V. 22. – P. 577-583.

Chandrasekhar, S. Processing, properties and applications of reactive silica from rice husk – an overview / S. Chandrasekhar, K. G. Satyanarayana, P. N. Pramada, P. Raghavan, T. N. Gupta // Journal of Materials Science. – 2003. – V. 38. – N. 15. – P. 3159-3168.

Chaturvedi, V. An overview of key pretreatment processes employed for bioconversion of lignocellulosic biomass into biofuels and value added products / V. Chaturvedi, P. Verma // 3 Biotech. – 2013. – V. 3. – N. 5. – P. 415-431.

Cheng, H. Alkali extraction of hemicellulose from depithed corn stover and effects on soda-AQ pulping / H. Cheng, H. Zhan, S. Fu, A. Lucia // Bioresources. – 2010. – V. 11. – P. 196-206.

Cheethem, N. W. H. Variation in crystalline type with amylose content in maize starch granules: an X-ray powder diffraction study / N. W. H. Cheethem, L. Tao // Carbohydrate Polymers. – 1998. – V. 36. – P. 277-284.

Chiaramonti, D. 2nd generation lignocellulosic bioethanol: is torrefaction a possible approach to biomass pretreatment? / D. Chiaramonti, A. M. Rizzo, M. Prussi, S. Tedeschi, F. Zimbardi, G. Braccio, E. Viola, P. T. Pardelli // Biomass conversion and Biorefinery. – 2011. – V. 1. – P. 9-15.

Chow, S.-Z. Thermal softening and degradation of wood and bark / S.-Z. Chow, K. J. Pickles // Wood and fiber science. – 1971. – V. 3. – P. 166-178.

Clapp, C. E. Sizes and shapes of humic substances by viscosity measurements / C. E. Clapp, W. W. Emerson, A. E. Olness // In: M. H. B. Hayes, P. MacCarthy, R. L. Malcom, R. S. Swift (Eds.) Humic substances II: in search of structure, New York: Wiley-Interscience publication, 1989. – Pp. 497-514.

Corbett, D. B. Effect of mechanical refining energy on the enzymatic digestibility of lignocellulosic biomass / D. B. Corbett, R. Venditti, H. Jameel, S. Park // Industrial and Engineering Chemistry Research. – 2018. – V. 57. – N. 43. – P. 14648-14655.

Craig, S. L. Polymer mechanochemistry. Up another ring // Nature Chemistry. – 2017. – V. 9. – P. 1154-1155.

Dabral, S. Mechanochemical lignin-mediated strecker reaction / S. Dabral, M. Turberg, A. Wanninger, C. Bolm, J. G. Hernandez // Molecules. – 2017. – V. 22. – N. 1. – P. 146-156.

Dabral, S. Mechanochemical Oxidation and Cleavage of Lignin b-O-4 Model Compounds and Lignin / S. Dabral, H. Wotruba, J. G. Hernandez, C. Bolm // ACS Sustainable Chemistry and Engineering. – 2018. – V. 6. – N. 3. – P. 3242-3254.

Dankar, I. Characterization of food additive-potato starch complexes by FTIR and X-ray diffraction / I. Dankar, A. Haddarah, F. E. L. Omar, M. Pujola, F. Sepulcre // Food Chemistry. – 2018. – V. 260. – P. 7-12.

Deng, Q. Mechanical properties and failure mechanism of wood cell wall layers / Q. Deng, S. Li, Y. Chen // Computational Materials Science. – 2012. – V. 62. – P. 221-226.

Deutsch, J. C. Ascorbic acid oxidation by hydrogen peroxide / J. C. Deutsch // Analytical Biochemistry. – 1998. – V. 255. – N 1. – P. 1-7.

Do, J. L. Mechanochemistry: a force of synthesis / J. L. Do, T. Frisccic // ACS Central Science. – 2017. – V. 3. – N. 1. – P. 13-19.

Doi, N. Kinetic analysis of mechanoradical formation during the mechanolysis of dextran and glycogen / N. Doi, Y. Sasai, Y. Yamauchi, T. Adachi, M. Kuzuya, S.-I. Kondo // Beilstein Journal of Organic Chemistry. – 2017. – V. 13. – P. 1174-1183.

Donohoe, B.S. Visualizing lignin coalescence and migration through maize cell walls following thermochemical pretreatment / B.S. Donohoe, S.R. Decker, M.P. Tucker, M.E. Himmel, T.B. Vinzant // Biotechnology and bioengineering. – 2008. – V. 101. – N. 5. – P. 913-925.

Doskoc, L. Hydrogen peroxide oxidation of humic acids and lignite / L. Doskoc, L. Grasset, D. Valkova, M. Pekar // Fuel. – 2014. – V. 134. – P. 406-413.

Drebushchak, V. A. Thermal properties of betulin dipropionate and its mixtures with polymers / V. A. Drebushchak, M. A. Mikhailenko, T. P. Shakhtshneider, T. N. Drebushchak, S. A. Kuznetsova, J. N. Malyar // Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. – 2014. – V. 115. – N. 3. – P. 2521-2525.

Ebeling, J. M. Physical and chemical properties of biomass fuels / J. M. Ebeling, B. M. Jenkins // Transactions of the ASAE. – 1985. – V. 28. – N. 3. – P. 898-902.

Eriksson, T. Mechanism of surfactant effect in enzymatic hydrolysis of lignocellulose / T. Eriksson, J. Borjesson, F. Tjerneld // Enzyme and microbial technology. – 2002. V.31. P. 353-364.

Ertas, M. Enzymatic hydrolysis of autohydrolyzed wheat straw followed by refining to produce fermentable sugars / M. Ertas, Q. Han, H. Jameel, H. M. Chang // Bioresource Technology. – 2014. – V. 152. – P. 259-266.

Esteghlalian, A. R. Do enzymatic hydrolyzability and Simons' stain reflect the changes in the accessibility of lignocellulosic substrates to cellulase enzymes? / A. R. Esteghlalian, M. Bilodeau, S. D. Mansfield, J. N. Saddler // Biotechnology progress. – 2001. – V. 17. – P. 1049-1054.

Fadeeva, V. P. Elemental analysis of organic compounds with the use of automated CHNS analyzers / V. P. Fadeeva, V. D. Tikhova, O. N. Nikulicheva // Journal of Analytical Chemistry. – 2008. – V. 63. – N. 11. – P. 1094-1106.

Fan, L.T. Mechanism of the enzymatic hydrolysis of cellulose: effects of major structure features of cellulose on enzymatic hydrolysis / L.T. Fan, Y.H. Lee, D.H. Beardmore // Biotechnology and bioengineering. – 1980. – V. 22. – P. 177-199.

Fang, Z. Pretreatment techniques for biofuels and biorefineries / Z. Fang. Berlin, 2013. – 457 p.

Feliu, J. X. An optimized ultrasonic protocol for bacterial cell disruption and recovery of beta-galactosidase fusion proteins / J. X. Feliu, A. Vilaverde // Biotechnology Technique. – 1994. – V. 8. – N. 7. – P. 509-514.

Flynn, H. E. Jet for use in a jet mill micronizer / H. E. Flynn, R. O. Martin, C. A. Natalle // US Patent 8387901 B2, 2013.

Fokina, E. L. Planetary mills of periodic and continuous action / E. L. Fokina, N. I. Budim, V. G. Kochnev, G. G. Chernik // Journal of Materials Science. – 2004. – V. 39. – N. 16. – P. 5217-5221.

Franc, S. A routine method for contrasting elastin at the ultrastructural level / S. Franc, R. Garrone, A. Bosch, J.M. Franc // The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. – 1984. – V. 32. – N. 2. – P. 251-258.

Francis, D. W. Energy cost reduction in the pulp and paper industry - an energy benchmarking perspective : Monograph / D. W. Francis, M. T. Towers, T. C. Browne. – Ottawa - Ontario : Natural Resources Canada, 2002. – 30 p.

Frankenstein, C. Topochemical studies on modified lignin distribution in the xylem of Poplar (*Populus* spp.) after wounding / C. Frankenstein, U. Schmitt, G. Koch // Annals of Botany. – 2006. – V. 97. – N. 2. – P. 195-204.

French, A. D. Idealized powder diffraction patterns for cellulose Polymorphs / A. D. French // Cellulose. – 2014. – V. 21. – P. 885-896.

Freudenberg, K. Lignin: its constitution and formation from p-hydroxycinnamyl alcohols: lignin is duplicated by dehydrogenation of these alcohols; intermediates explain formation and structure / K. Freudenberg // Science. – 1965. – V. 148. – N. 3670. – P. 595-600.

Friedl, A. Prediction of heating values of biomass fuel from elemental composition / A. Friedl, E. Padouvas, H. Rotter, K. Varmuza // Analytica Chimica Acta. – 2005. – V. 544. – P. 191-198.

Galbe, M. A review of the production of ethanol from softwood / M. Galbe, G. Zacchi // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2002. – V. 59. – P. 618-628.

Galbe, M. Pretreatment of lignocellulosic materials for efficient bioethanol production / M. Galbe, G. Zacchi // Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology. – 2007. – V. 108. – P. 41-65.

Gama, F.M. Enzymatic hydrolysis of cellulose (I): relationship between kinetics and physico-chemical parameters / F. M. Gama, M. Mota // Biocatalysis and Biotransformation. – 1997. – V. 15. – N. 3. – P. 221-236.

Gaurav, N. Utilization of bioresources for sustainable biofuels: A Review / N. Gaurav, S. Sivasankari, G. S. Kiran, A. Ninawe, J. Selvin // Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2017. – V. 73. – P. 205-214.

Ghabbour, E. A. Thermodynamic of metal cation binding by a solid soil-derived humic acid: Binding of Fe(III), Pb(II), and Cu(II) / E. A. Ghabbour, M. Shaker, A. El-Toukhy, I. M. Abid, G. Davies // Chemosphere. – 2006. – V. 63. – N. 3. – P. 477-483.

Ghaffar, S. H. Structural analysis for lignin characteristics in biomass straw / S. H. Ghaffar, M. Fan // Biomass and Bioenergy. – 2013. – V. 57. – P. 264-279.

Giles, Jr H. F. Extrusion: the definitive processing guide and handbook / H. F. Giles Jr, E. M. Mount III, J. R. Wagner Jr. – 2nd ed. New York: William Andrew, 2013. – 363 p.

Gismatulina, Y. A. Nitrocellulose Synthesis from Miscanthus Cellulose / Y.A. Gismatulina, V.V. Budaeva, G.V. Sakovich // Propellants, Explosives, Pyrotechnics. – 2018. – V. 43. – P. 96-100.

Gock, E. Eccentric vibratory mills - theory and practice / E. Gock, K.-E. Kurrerb // Powder Technology. – 1999. – V. 105. – N. 1-3. – P. 302-310.

Godin, B. Chemical composition and biofuel potentials of a wide diversity of plant biomasses / B. Godin, S. Lamaudiere, R. Agneessens, T. Schmit, J. P. Goffart, D. Stilmant, P. A. Gerin, J. Delcarte // Energy and Fuels. – 2013. – V. 27. – P. 2588-2598.

Gollapalli, L. E. Predicting digestibility of ammonia fiber explosion (AFEX)-treated rice straw / L. E. Gollapalli, B. E. Dale, D. M. Rivers // Applied Biochemistry and Biotechnology. – 2002. – V. 98. – N. 1-9. – P. 23-35.

Grabovski, M. Properties of biomass relevant to gasification / M. Grabovski, R. Bain // In: T. B. Reed (Ed.) Biomass gasification – principles and technology, New Jersey: Noyes Data Corporation, 1981. – Pp. 41-69.

Gregg, S. Adsorption, surface area and porosity / S. Gregg, K. Sing. – 2nd ed. London: Acad. Press, 1982. – 303 p.

Grethlein, H. E. The effect of pore size distribution on the rate of enzymatic hydrolysis of cellulosic substrates / H. E. Grethlein // Nature Biotechnology. – 1985. – V. 3. – P. 155-160.

Guimaraes, E. V. An alternative technique to reveal polysaccharides in Toxoplasma gondii tissue cysts / E. V. Guimaraes, L. Carvalho, H. S. Barbosa // Memorias do Institute Oswaldo Cruz. – 2003. – V. 98. – N. 7. – P. 915-917.

Guy, R. Extrusion Cooking Technologies and Applications / R. Guy. – Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2001. – 216 p.

Haenel, M. W. Recent progress in coal structure research / M. W. Haenel //Fuel. – 1992. – V. 71. – N. 11. – P. 1211-1223.

Haitzer, M. Effects of humic substances on the bioconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons: correlations with spectroscopic and chemical properties of humic substances / M. Haitzer, G. Abbt-Braun, W. Traunspurger, C. E. W. Steinberg //Environmental Toxicology and Chemistry. – 1999. – V. 18. – N. 12. – P. 2782-2788.

Halasz, I. Quantitative in situ and real-time monitoring of mechanochemical reactions / I. Halasz, T. Friscic, S. A. J. Kimber, K. Uzarevic, A. Puskaric, C. Mottillo, P. Julien, V. Strukil, V. Honkimaki, R. E. Dinnebier // Faraday Discussions. – 2014. – V. 170. – P. 203-221.

Hall, M. Cellulose crystallinity – a key predictor of the enzymatic hydrolysis rate / M. Hall, P. Bansal, J. H. Lee, M. J. Realff, A. S. Bommarius // FEBS Journal. – 2010. – V. 277. – P. 1571-1582.

Hallac, B. B. Analyzing cellulose degree of polymerization and its relevancy to cellulosic ethanol / B.B. Hallac, A.J. Ragauskas // Biofuels, Bioproducts and Biorefining – 2011. – V. 5. P. 215-225.

Han, J. Process systems engineering studies for catalytic production of bio-based platform molecules from lignocellulosic biomass / J. Han // Energy Conversion and Management. – 2017. – V. 138. – P. 511-517.

Hanker, J. S. Tissue fixation and osmium black formation with nonvolatile octavalent osmium compounds / J. S. Hanker, D. K. Romanovicz, H. A. Padykula // Histochemistry. – 1976. – V. 49. – P. 263-291.

Harthmann, C. Numerical simulation of the mechanics of a yeast cell under high hydrostatic pressure / C. Harthmann, A. Delgado // Journal of Biomechanics. – 2004. – V. 37. – P. 977-987.

Hayes, M. H. B. Humic materials from an organic soil: A comparison of extractants and of properties of extracts / M. H. B. Hayes, R. S. Swift, R. E. Wardle, J. K. Brown // Geoderma. – 1975. – V. 13. – N. 3. – P. 231-245.

Haykiri-Acma, H. The role of particle size in the non-isothermal pyrolysis of hazelnut shell / H. Haykiri-Acma // Journal of Analytical and Applied Pyrolysis. – 2006. – V. 75 – P. 211-216.

Heim, A. The effect of microorganism concentration on yeast cell disruption in a bead mill / A. Heim, U. Kamionowska, M. Solecki // Journal of Food Engineering - 2007. – V. 83. – P. 121-128.

Hermans, P. H. On the recrystallization of amorphous cellulose / P. H. Hermans, A. Weidinger // Journal of American Chemical Society. – 1946. – V. 68. – P. 2457-2552.

Hideno, A. Combination of hot compressed water treatment and wet disk milling for hight sugar recjvery yield in enzymatic hydrolysis of rice straw / A. Hideno, H. Inoue, T. Yanagida, K. Tsukahara, T. Endo, S. Sawayama // Bioresource Technology. – 2012. – V. 104. – P. 743-748.

Hilgert, J. Mechanocatalytic depolymerization of cellulose combined with hydrogenolysis as a highly efficient pathway to sugar alcohols / J. Hilgert, N. Meine, R. Rinaldi, F. Schuth // Energy and Environmental Science. – 2013. – V. 6. – P. 92-96.

Hodgson, K. T. Dynamic wettability properties of single wood pulp fibers and their relationship to absorbency / K.T. Hodgson, J.C. Berg // Wood and Fiber Science. – 1988. – V. 20 – N. 1 – P. 3-17.

Huang, C. J. Models predicting calorific value of straw from the ash content / C.J. Huang, L.J. Han, X. Liu, Z. Yang // International Journal of Green Energy. – 2008. – V. 5 – P. 533-539.

Huang, J. Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried Cinnamomum camphora leaf / J. Huang, L. Qingbao, D. Sun, L. Yinghua // Nanotechnology. – 2007. – V. 18. – P. 1-11.

Hunter, J. B. Kinetics of enzymatic lysis and disruption of yeast cell: I. Evaluation of two lytic systems with different properties / J. B. Hunter, J. A. Asenjo // Biotechnology and Bioengineering. – 1987. – V. 30. – N. 1. – P. 471-480.

Hunter, J. B. Kinetics of enzymatic lysis and disruption of yeast cell: II. A simple model of lysis kietics / J. B. Hunter, J. A. Asenjo // Biotechnology and Bioengineering. – 1987. – V. 30. – N. 2. – P. 481-490.

Hussin, A. S. M. Characterisation of lignocellulosic sugars from municipal solid waste residue / A. S. M. Hussin, S. R. A. Collins, Z. Merali, M. L. Parker, A. Elliston, N. Wellner, K. Waldron // Biomass and Bioenergy. – 2013. – V. 51. – P. 17-25.

Iqbal, H. M. N. Advances in valorization of lignocellulosic materials by bio-technology: an overview / H. M. N. Iqbal, G. Kyazze, T. Keshavarz // BioResources. – 2013. – V. 8. – N. 2. – P. 3157-3176.

Istrailides, C. J. Sugar level, fermentability, and acceptability of straw treated with different acids / C. J. Istrailides, G. A. Grant, Y. W. Han // Applied and Environmental Microbiology. – 1978. – V. 36. – N. 1. – P. 43-46.

Jansen, S. A. Structural modeling in humic acids / S. A. Jansen, M. Malaty, S. Nwabara, E. Johnson, E. Ghabbour, G. Davies, J. M. Varnum // Materials Science and Engineering C. – 1996. – V. 4. – N. 3. – P. 175-179.

Johar, N. Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk / N. Johar, I. Ahmad, A. Dufresne // Industrial crop and products. – 2012. – V. 37. – P. 93-99.

Jones, W. Introductory Lecture: Mechanochemistry, a versatile synthesis strategy for new materials / W. Jones, M. D. Eddleston // Faraday Discussion. – 2014. – V. 170. – P. 9-34.

Jorgensen, H. Enzymatic conversion of lignocellulose into fermentable sugars: challenges and opportunities / H. Jorgensen, J. B. Kristensen, C. Felby // Biofuels Bioproducts and Biorefining. – 2007. – V. – 1. N. 2. – P. 119-134.

Joseleau, J. P. Study of lignification by noninvasive techniques in growing maize internodes. An investigation by Fourier transform infrared cross-polarization-magic angle spinning 13C-nuclear magnetic resonance spectroscopy and immunocytochemical transmission electron microscopy / J. P. Joseleau, K. Ruel // Plant Physiology. – 1997. – V. 114. – N. 3. – P. 1123-1133.

Julien, P. A. The effect of milling frequency on a mechanochemical organic reaction monitored by in situ Raman spectroscopy / P. A. Julien, I. Malvestiti, T. Friscic // Beilstein Journal of Organic Chemistry. – 2017. – V. 13. – P. 2160-2168.

Kanegae, Y. Method for producing yeast extract / Y. Kanegae, Y. Sugiyama, K. Minami // US Patent 4810509, 1989.

Karlsson, T. Complexation of copper(II) in organic soils and in dissolved organic matter - EXAFS evidence for chelate ring structures / T. Karlsson, P. Persson, U. Skyllberg // Environmental Science Technology. – 2006. – V. 40. – N. 8. – P. 2623-2628.

Kawamoto, H. Protein-adsorbing capacities of lignin samples / H. Kawamoto, F. Nakatsubo, K. Murakami // Mokuzai Gakkaishi. – 1992. – V. 38. – N. 1. – P. 81-84.

Khalil, H. P. S. A. Chemical composition, anatomy, lignin distribution, and cell wall structure of Malaysian plant waste fibers / H. P. S. A. Khalil, M. S. Alwani, A. K. M. Omar // Bioresources. – 2006. – V. 1. – N. 2. – P. 220-232.

Khalil, H. P. S. A. Cell wall ultrastructure, anatomy, lignin distribution, and chemical composition of Malaysian cultivated kenaf fiber / H. P. S. A. Khalil, A. F. I. Yusra, A. H. Bhat, M. Jawaid // Industrial crops and products. – 2010. – V. 31. – P. 113-121.

Kim, K. H. Supercritical CO2 pretreatment of lignocellulose enhances enzymatic cellulose hydrolysis / K. H. Kim, J. Hong // Bioresource Technology. – 2001. – V. 77. – N. 2. – P. 139-144.

Kim, K. S. Production of soluble β-glucan from the cell wall of Saccharomyces cerevisiae / K. S. Kim, H. S. Yun // Enzyme and Microbial Technology. – 2006. – V. 39. – N. 3. – P. 496-500.

Kitamura, K. Physiologically active polysaccharides, production and use thereof / K. Kitamura, S. Matsuki, K. Tanabe // US Patent 4313934, 1982.

Klass, D. L. Biomass for renewable energy and fuels / D. L. Klass // Encyclopedia of Energy. – 2004. – V. 1. – P. 193-212.

Klis, F. M. Dynamics of cell wall structure in Saccharomyces cerevisiae / F. M. Klis, P. Mol, K. Hellingwerf, S. Brul // FEMS Microbiology Reviews. – 2002 – V. 26 – P. 239-256.

Knappert, D. Partial acid hydrolysis of cellulosic materials as a pretreatment for enzymatic hydrolysis / D. Knappert, H. Grwthlein, A. Converse // Biotechnology and biongineering. – 1980. – V. 22. – P. 1449-1463.

Kokko, L. Comparing the energy required for fine grinding torrefied and fast heat treated pine / L. Kokko, H. Tolvanen, K. Hamalainen, R. Raiko // Biomass and Bioenergy. – 2012. – V. 42. – P. 219-223.

Kononova, M. M. Soil organic matter: Its nature, its role in soil formation and in soil fertility / M. M. Kononova. – 2nd ed. Pergamon Press, 1966. – 544 p.

Krainer, E. Direct observation of cell wall glucans in whole cells of Saccharomyces cerevisiae by magic-angle spinning C13-NMR / E. Krainer, R. E. Stark, F. Naider, K. Alagramam, J. M. Becker // Biopolymers. – 1994. – V. 34. – N. 12. – P. 1627-1635.

Kreger, D.R. On the nature and formation of the fibrial nets produced by protoplasts of Saccharomyces cerevisiae in liquid media: an electronmicroscopic, X-ray diffraction and chemical study / D.R. Kreger, M. Kopecka // Journal of General Microbiology – 1975 – V. 92. – P.207-220.

Kubo, S. Thermomechanical analysis of isolated lignins / S. Kubo, Y. Uraki, Y. Sano // Holzforschung. – 1996. – V. 50. – N. 2. – P. 144-150.

Kumakura, M. Pretreatment of lignocellulosic wastes by combination of irradiation and mechanical crushing / M. Kumakura, T. Kojima, I. Kaetsu // Biomass. – 1982. – V. 2. – N. 4. – P. 299-308.

Kumar, P. Methods for pretreatment of lignocellulosic biomass for efficient hydrolysis and biofuel production / P. Kumar, D. M. Barrett, M.J. Delwiche, P. Stroeve // Industrial and Engineering Chemistry Research. – 2009. – V. 48. – N. 8. – P. 3713-3729.

Kumar, R. Effects of cellulase and xylanase enzymes on the deconstruction of solids from pretreatment of poplar by leading technologies / R. Kumar, C. E. Wyman // Biotechnology progress. – 2009. – V. 25. – N. 2. – P. 302-314.

Kuznetsov, B. N. The Raman Spectroscopy, XRD, SEM, and AFM Study of Arabinogalactan Sulfates Obtained Using Sulfamic Acid / B. N. Kuznetsov, N. Yu. Vasilyeva, A. V. Levdansky, A. A.

Karacharov, A. S. Krylov, E. V. Mazurova, G. N. Bondarenko, V. A. Levdansky, A. S. Kazachenko // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2017. – V. 43. – N. 7. – P. 722-726.

Kuznetsov, B. N. Green biorefinery of larch wood biomass to obtain the bioactive compounds, functional polymers and nanoporous materials / B. N. Kuznetsov, I. G. Sudakova, N. V. Garyntseva, V. A. Levdansky, N. M. Ivanchenko, A. V. Pestunov, L. Djakovitch, C. Pinel // Wood Science and Technology. – 2018. – V. 52. – N. 5. – P. 1377-1394.

Kuznetsov, P. N. Effect of mechanochemical treatment on supramolecular structure of brown coal / P. N. Kuznetsov, L. I. Kuznetsova, A. N. Borisevich, N. I. Pavlenko // Chemistry for Sustainable Development. – 2003. – V. 11. – P. 715-721.

Kwiatkowski, J. R. Modeling the process and costs of fuel ethanol production by the corn dry-grind process / J. R. Kwiatkowski, A. J. McAloon, F. Taylor, D. B. Johnston // Industrial Crops and Products. – 2006. – V. 23. – N. 3. – P. 288-296.

Laouar, L. Yeast permeabilization with surfactants / L. Laouar, B. J. Mulligan, K. C. Lowe // Biotechnology Letters. – 1992. – V. 14. – N. 8. – P. 719-720.

Larsen, J. The IBUS process – lignocellulosic bioethanol close to a commercial reality / J. Larsen, M. O. Petersen, L. Thirup, H. W. Li, F. K. Iversen // Chemical Engineering Technology. – 2008. – V. 31. – P. 765-772.

Law, K. N. Morphological and chemical nature of fiber strands of oil palm empty-fruit-bunch (OPEFB) / K. N. Law, W. R. W. Daud, A. Ghazali // BioResources. – 2007. – V. 2. – N. 3. – P. 351-362.

Lee, J. F. Enhanced retention of organic contaminants by soils exchanged with organic cations / J. F. Lee, J. R. Crum, S. A. Boyd // Environmental Science and Technology. – 1989. – V. 23. – N. 141. – P. 1365-1372.

Lee, S. H. Ionic liquid-mediated selective extraction of lignin from wood leading to enhanced enzymatic cellulose hydrolysis / S. H. Lee, T. V. Doherty, J. S. Linhardt // Biotechnology and Bioengineering. – 2009. – V. 102. – N. 5. – P. 1368-1376.

Leibfarth, F. A. Chemistry. Mechanically throwing a reaction into reverse / F. A. Leibfarth, C. J. Hawker // Science. – 2011. – V. 333. – P. 1582-1583.

Leppard, G.G. Lignofibrils on the external cell wall surface of cultured plant cells / G.G. Leppard, J.R. Colvin, D. Rose, S.M. Martin // The Journal of Cell Biology. – 1971. – V. 50. – P. 63-80.

Levdansky, A. V. Synthesis and study of copper-containing polymers of microcrystalline cellulose sulfates from larch wood / A. V. Levdansky, N. Y. Vasilyeva, N. G. Maximov, A. A. Karacharov, V. A. Levdansky, G. P. Skvortsova, B. N. Kuznetsov, L. Djakovitch, C. Pinel // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2018. – V. 44. – N. 7. – P. 834-838.

Li, X. Inhibitory effects of lignin on enzymatic hydrolysis: The role of lignin chemistry and molecular weight / X. Li, M. Li, Y. Pu, A. J. Ragauskas, A. S. Klett, M. Thies, Y. Zheng // Renewable Energy. – 2018. – V. 123. – P. 664-674.

Liang, X. H. Recrystallization behavior of cellulose and lignocellulose from Pinus massoniana / X. H. Liang, L. Z. Gu, E.Y. Ding // Wood Science and Technology. – 1993. – V. 27. – P. 461-467.

Liitia, T. Cellulose crystallinity and ordering of hemicelluloses in pine and birch pulps as revealed by solid-state NMR spectroscopic methods / T. Liitia, S. L. Maunu, B. Hortling, T. Tamminen, O. Pekkala, A. Varhimo // Cellulose. – 2003. – V. 10. – P. 307-316.

Lin, H. M. Desintegration of yeast cells by pressurized carbon dioxide / H. M. Lin, E. C. Chan, C. Chen, L. F. Chen // Biotechnology Progress. – 1991. – V. 7. – P. 201-204.

Lin, H. M. An improved method for disruption of microbial cells with pressurized carbon dioxide / H. M. Lin, Z. Yang, L. F. Chen // Biotechnology Progress. – 1992. – V. 8. – P. 165-166.

Lin, Z. Ball milling pretreatment of corn stover for enhancing the efficiency of enzymatic hydrolysis / Z. Lin, H. Huang, H. Zhang, L. Zhang, L. Yan, J. Chen // Applied biochemistry and biotechnology. – 2010. – V. 162. – P. 1872-1880.

Liu, L. C. Optimization of enzymatic lysis of yeast / L. C. Liu, G. J. Prokopakis, J. A. Asenjo // Biotechnology and Bioengineering. – 1988. – V. 32. – N. 9. – P. 1113-1127.

Liu, Y. Stabilization of percarbonate with inorganic materials / Y. Liu, B. Sun // Chemistry Journal on the Internet. – 2004. – V. 6. – N. 12. – P. 99.

Liu, Y. Responses of three different ecotypes of reed (*Phragmites communis Trin.*) to their natural habitats: Leaf surface micro-morphology, anatomy, chloroplast ultrastructure and physio-chemical characteristics / Y. Liu, X. Li, M. Liu, B. Cao, H. Tan, J. Wang, X. Li // Plant Physiology and Biochemistry. – 2012. – V. 51. – P. 159-167.

Lloyd, T. A. Combined sugar yields for dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover followed by enzymatic hydrolysis of the remaining solids / T. A. Lloyd, C. E. Wyman // Bioresource Technology. – 2005. – V. 96. – N. 18. – P. 1967-1977.

Lombardi, L. Electron staining with uranyl acetate. Possible role of free amino groups / L. Lombardi, G. Prenna, L. Okolicsanyi, A. Gautier // The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. – 1971. – V. 19. – N. 3. – P. 161-168.

Lomovsky, O. I. Variation of the composition and properties of the water-soluble components of peat during mechanochemical treatment /O.I. Lomovsky, A.A. Ivanov, O.A. Rozhanskaya, N.V. Yudina, K.G. Korolev // Chemistry for Sustainable Development. – 2004. – V. 12. – P. 353-359.

Lomovsky, O. I. Mechanochemically assisted extraction / O. I. Lomovsky, I. O. Lomovsky // In: N. Lebovka, E. Vorobiev, F. Chemat (Eds.) Enhancing Extraction Processes in the Food Industry, Boca Raton, London, New York: CRC Press, Taylor & Francis Group, 2011. – Pp. 61-398.

Lomovsky, O. Mechanochemical production of lignin-containing powder fuels from biotechnology industry waste / O. Lomovsky, A. Bychkov, I. Lomovsky, V. Logvinenko, A. Burdukov // Thermal Science. – 2015. – V. 19. – P. 219-229.

Loque, D. Engineering of plant cell walls for enhanced biofuel production / D. Loque, H.V. Scheller, M. Pauly // Current Opinion in Plant Biology. – 2015. – V. 25. – P. 151-161.

Ludwig, C. H. Lignin. XII. The high resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy of protons in compounds related to lignin / C. H. Ludwig, B. J. Nist, J. L. McCarthy // Journal of the American Chemical Society. – 1964. – V. 86. – N. 6. – P. 1186-1196.

Luterbacher, J. S. Targeted chemical upgrading of lignocellulosic biomass to platform molecules / J. S. Luterbacher, D. Martin Alonso, J. A. Dumesic // Green Chemistry. – 2014. – V. 16. – P. 4816-48838.

Lynd, L. R. Microbial cellulose utilization: fundamental and biotechnology / L. R. Lynd, P. J. Weimer, W. H. Zyl, I. S. Pretorius // Microbiology and Molecular Biology Reviews. – 2002. – V. 66. – N. 3. – P. 506-577.

Ma, H. Enhanced enzymatic saccharification of rice straw by microwave pretreatment / H. Ma, W. W. Liu, X. Chen, Y. J. Wu, Z. L. Yu // Bioresource Technology. – 2009. – V. 100. – P. 1279-1284.

Ma, J. Ultrastructural topochemistry of cell wall polymers in Populus nigra by transmission electron microscopy and Raman imaging / J. Ma, Z. Zhang, G. Yang, J. Mao, F. Xu // BioResources. – 2011. – V. 6. – N. 4. – P. 3944-3959.

Madadi, M. Pretreatment of lignocelollusic biomass based on improving enzymatic hydrolysis / M. Madadi, Y. Tu, A. Abbas // International Journal of Applied Sciences and Biotechnology. – 2017. – V. 5. – N. 1. – P. 1-11.

Makarova, E. I. Enzymatic hydrolysis of celluloses obtained via the hydrothermal processing of Miscanthus and oat hulls / E. I. Makarova, V. V. Budaeva, E. A. Skiba, G. V. Sakovich // Catalysis in Industry. – 2014. – V. 6. – N. 1. – P. 67-71.

Manners, D. J. The structure of a β-(1-3)-D-glucan from yeast cell walls / D. J. Manners, A. J. Masson, J. C. Patterson // Biochemical Journal. – 1973 – V. 135 – P. 19-30.

Manners, D. J. The structure of a β-(1-6)-D-glucan from yeast cell walls / D. J. Manners, A. J. Masson, J. C. Patterson // Biochemical Journal. – 1973 – V. 135 – P. 31-36.

Markin, V. I. General areas of the use of a microwave radiation for processing of plant raw materials (review) / V. I. Markin, M. Yu. Cheprasova, N. G. Bazarnova // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2015. – V. 41. – N. 7. – P. 686-699.

Martin, C. Wet oxidation pretreatment of lignocellulosic residues of sugarcane, rice, cassava and peanuts for ethanol production / C. Martin, A. B. Thomsen // Journal of Chemical Technology and Biotechnology. – 2007. – V. 82. – N. 2. – P. 174-181.

Marvin, H. J. Release of outer membrane fragments from wild type Esherichia coli and from several E. coli lipopolysaccharide mutants by EDTA and heat shock treatments / H. J. Marvin, M. B. Beest, B. Witholt // Journal of Bacteriology. – 1989. – V. 171. – N. 10. – P. 5262-5267.

Masarin, F. Laboratory and mill scale evaluation of biopulping of Eucalyptus grandis Hill ex Maiden with Phanerochaete chrysosporium RP-78 under non-aseptic conditions / F. Masarin, P. C. Pavan, M. P. Vicentim, P. B. Souza-Cruz, C. Loguercio-Leite, A. Ferraz // Holzforschung. – 2009. – V. 63. – P. 259-263.

Maximova, N. The wetting properties and morphology of lignin adsorbed on cellulose fibres and mica / N. Maximova, M. Osterberg, J. Laine, P. Stenius // Colloids and surfaces A: physicochemical and engineering aspects. – 2004. – V. 239. – N. 1-3. – P. 65-75.

Mayer-Laigle, C. Comminution of dry lignocellulosic biomass: Part II. technologies, improvement of milling performances, and security issues / C. Mayer-Laigle, R. K. Rajaonarivony, N. Blanc, X. Rouau // Bioengineering. – 2018. – V. 5. – N. 3. – P. 1-17.

McFarlane, H. E. The cell biology of cellulose synthesis / H. E. McFarlane, A. Doring, S. Persson // Annual Review of Plant Biology. – 2014. – V. 65. – P. 69-94.

McKillop, A. Sodium perborate and sodium percarbonate: cheap, safe and versatile oxidising agents for organic synthesis / A. McKillop, W. R. Sanderson // Tetrahedron. – 1995. – V. 51. – N. 22. – P. 6145-6166.

Melero, J. A. 13 Chemical routes for the conversion of cellulosic platform molecules into high-energy-density biofuels / J. A. Melero, J. Iglesias, G. Morales, M. Paniagua // In: Luque R., Lin C. S. K., Wilson K., (Eds.) Handbook of Biofuels Production, Elsevier, 2016. – V. 13. – Pp. 359-388.

Meng, X. Pseudo-lignin formation during dilute acid pretreatment for cellulosic ethanol / X. Meng, A. J. Ragauskas // Recent Advances in Petrochemical Science. – 2017. – V. 1:555551.

Mesa, L. The effect of organosolv pretreatment variables on enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse / L. Mesa, E. Gonzalez, C. Cara, M. Gonzalez, E. Castro, S. I. Mussattoc // Chemical Engineering Journal. – 2011. – V. 168. – N. 3. – P. 1157-1162.

Mesfun, S. Black liquor fractionation for biofuels production – A techno-economic assessment / S. Mesfun, J. Lundgren, C. E. Grip, A. Toffolo, R. L. Nilsson, U. Rova // Bioresource Technology. – 2014. – V. 166. – P. 508-517.

Michalchuk, A. A. L. Ball-free mechanochemistry: in situ real-time monitoring of pharmaceutical co-crystal formation by resonant acoustic mixing / A. A. L. Michalchuk, K. S. Hope, S. R. Kennedy, M. V. Blanco, E. V. Boldyreva, C. R. Pulham // Chemical Communications. – 2018. – V. 54. – P. 4033-4036.

Middelberg, A. P. Process-scale disruption of microorganisms / A. P. Middelberg // Biotechnology Advances. – 1995. – V. 13. – N. 3. – P. 491-551.

Milic, T.V. Utilization of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) for production of yeast extract: effects of different enzymatic treatments on solid, protein and carbohydrate recovery / T.V. Milic, M. Rakin, S. Silver-Marinkovic // Journal of the Serbian Chemical Society. – 2007. – V. 72. – N. 5. – P. 451-457.

Millett, M. A. Influence of fine grinding on the hydrolysis of cellulosic materials – acid as. enzymatic / M. A. Millett, M. J. Effland, D. F. Caulfield // In: R. D. Brown, L. Jurasek (Eds.) Hydrolysis of Cellulose: Mechanisms of Enzymatic and Acid Catalysis. Washington, D. C.: American Chemical Society, 1979. – Pp. 71-89.

Mirzobekzoda, M. P. Analysis of structural features of humic acids fractions after mechanochemical modification / M. P. Mirzobekzoda, E. V. Maltseva, N. S. Shekhovtsova // Advanced Materials Research. – 2015. – V. 1085. – P. 3-6.

Mishra B. K. A review of computer simulation of tumbling mills by the discrete element method: Part II – Practical applications / B. K. Mishra // International Journal of Mineral Processing. – 2003. – V. 71. – N. 1-4. – P. 95-112.

Mood, S. H. Lignocellulosic biomass to bioethanol, a comprehensive review with a focus on pretreatment / S.H. Mood, A.H. Golfeshan, M. Tabatabaei, G.S. Jouzani, G.H. Najafi, M. Gholami, M. Ardjmand // Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2013. – V. 27. – P. 77-93.

Mooney, C. A. The effect of initial pore volume and lignin content on the enzymatic hydrolysis of softwoods / C. A. Mooney, S. D. Mansfield, M. G. Touhy, J. N. Saddler // Bioresource Technology. – 1998. – V. 64. – P. 113-119.

Mooney, C. A. The effect of fiber characteristics on hydrolysis and cellulase accessibility to softwood substrates / C. A. Mooney, S. D. Mansfield, R. P. Beatson, J. N. Saddler // Enzyme and Microbial Technology. – 1999. – V. 25. – P. 644-650.

Moretti, M. M. S. Pretreatment of sugarcane bagasse with microwaves irradiation and its effects on the structure and on enzymatic hydrolysis / M. M. S. Moretti, D. A. Bocchini-Martins, C. C. C. Nunes, M. A. Villena, O. M. Perrone, R. Silva, M. Boscolo, E. Gomes // Applied Energy. – 2014. – V. 122. – P. 189-195.

Morris, G. J. Effect on osmotic stress on the ultrastructure and viability of the yeast Saccharomyces cerevisiae / G. J. Morris, L. Winters, G. E. Coulson, K. J. Clarke // Journal of General Microbiology. – 1986. – V. 132. – P. 2023-2034.

Mouxing, F. Rapid preparation process of silver nanoparticles by bioreduction and their characterization / F. Mouxing, L. Qingbiao, S. Daohua, L. Yinghua, H. Ning, D. Xu, W. Huixuan, H. Jiale // Chinese Journal of Chemical Engineering. – 2006. – V. 14. – N. 1. – P. 114-117.

Muller, A. The application of various protic acids in the extraction of (1-3)-β-D-glucan from Saccharomyces cerevisiae / A. Muller, H. Ensley, H. Pretus, R. McNamee, E. Jones, E. McLaughlin, W. Chandley, W. Browder, D. Lowman, D. Williams // Carbohydrate Research. – 1997 – V. 299 – P. 203-208.

Nakagame, S. The influence of lignin on the enzymatic hydrolysis of pretreated biomass substrates / S. Nakagame, R. P. Chandra, J. N. Saddler // In: Zhu J.Y., Zhang X., Pan X. (Eds.) Sustainable production of fuels, chemicals, and fibers from forest biomass. American Chemical Society, 2011. – Pp. 145-167.

Nakayama, R. Promising ultrasonic irradiation pretreatment for enzymatic hydrolysis of Kenaf / R. Nakayama, M. Imai // Journal of Environmental Chemical Engineering. – 2013. – V. 1. – N. 4. – P. 1131-1136.

Nebbioso, A. Basis of a humeomics science: chemical fractionation and molecular characterization of humic biosuprastructures / A. Nebbioso, A. Piccolo // Biomacromolecules. – 2011. – V. 12. – N. 4. – P. 1187-1199.

Neu, H. C. The release of enzymes from Esherichia coli by osmotic shock during the formation sheroplasts / H. C. Neu, L. A. Heppel // The Journal of Biological Chemistry. – 1965. – V. 240. – P. 3685-3692.

Nielson, A. J. Tissue fixation by osmium tetroxide. A possible role for proteins / A. J. Nielson, W. P. Griffith // The Journal of Histochemistry and Cytochemistry. – 1979. – V. 27. – P. 997-999.

Nikaido, H. Molecular basis of outer membrane permeability / H. Nikaido, M. Vaara // Microbiological Reviews. – 1985. – V. 49. – P. 1-32.

Nimz, H. Beech lignin – proposal of a constitutional scheme / H. Nimz // Angewandte Chemie International Edition in English. – 1974. – V. 13. – N. 5. – P. 313-321.

Nishiyama, Y. Crystal structure and hydrogen-bonding system in cellulose Iβ from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction / Y. Nishiyama, P. Langan, H. Chanzy // Journal of the American Chemical Society. – 2002. – V. 124. – N. 31. – P. 9074-9082.

Nishiyama, Y. Crystal structure and hydrogen bonding system in cellulose Iα from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction / Y. Nishiyama, J. Sugiyama, H. Chanzy, P. Langan // Journal of the American Chemical Society. – 2003. – V. 125. – N.47. – P. 14300-14306.

Ohn N., Jeung G.K. Mechanochemical Post-Polymerization Modification: Solvent-Free Solid-State Synthesis of Functional Polymers // ACS Macro Letters. – 2018. – V. 7:5. – P. 561-565.

Ol'hov, Yu. A. Solutionless analysis of molecular-mass distributions in vegetable polymers of lignin, cellulose and wood by the thermomechanical method / Yu. A. Ol'hov, S. S. Chernikov, A. I. Mikhajlov // Chemistry of Plant Raw Material. – 2001. – N. 2. – P. 83-95.

O'Sullivan, A. C. Cellulose: the structure slowly unravels / A. C. O'Sullivan // Cellulose. – 1997. – V. 4. – P. 173-207.

Pacesila, M. Analysis of renewable energies in European Union / M. Pacesila, S. G. Burcea, S. E. Colesca // Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2016. – V. 56. – P. 156-170.

Pan, C. Effect of humic acid on the removal of chromium(VI) and the production of solids in iron electrocoagulation / C. Pan, L. D. Troyer, P. Liao, J. G. Catalano, W. Li, D. E. Giammar // Environmental Science and Technology. – 2017. – V. 51. – N. 11. – P. 6308-6318.

Pan, X. Strategies to enhance the enzymatic hydrolysis of pretreated softwood with high residual lignin content / X. Pan, D. Xie, N. Gilkes, D. J. Gregg, J. N. Saddler // Applied Biochemistry and Biotechnology. – 2005. – V. 124. – P. 1069-1079.

Pan, X. Bioconversion of hybrid poplar to ethanol and co-products using an organosolv fractionation process: optimization of process yields / X. Pan, N. Gilkes, J. Kadla, K. Pye, S. Saka, D. Gregg, K. Ehara, D. Xie, J. Saddler // Biotechnology and Bioengineering. – 2006. – V. 94. – N. 5. – P. 851-861.

Panacek, A. Silver colloid nanoparticles: synthesis, characterization, and their antibacterial activity /A. Panacek, L. Kvitek, R. Prucek, M. Kolan, R. Vecerova, N. Pizurova, V. K. Sharma, T. Nevecna, R. Zboril // The Journal of Physical Chemistry. B. – 2006. – V. 110. – P. 16248-16253.

Park, S. Cellulose crystallinity index: measurement techniques and their impact on interpreting cellulase performance / S. Park, J. O. Baker, M. E. Himmel, P. A. Parilla, D. K. Johnson // Biotechnology for Biofuels. – 2010. – V. 3. – N. 10. – P. 1-10.

Perez, J. A. Optimization liquid hot water pretreatment conditions to enhance sugar recovery from wheat straw for fuel–ethanol production / J. A. Perez, I. Ballesteros, M. Ballesteros, F. Saez, M. J. Negro, P. Manzanares // Fuel. – 2008. – V. 87. – P. 36403647.

Perez, S. The molecular structures of starch components and their contribution to the architecture of starch granules: A comprehensive review / S. Perez, E. Bertoft // Starch. – 2010. – V. 62. – P. 389-420.

Perminova, I. V. Relationships between structure and binding affinity of humic substances for polyaromatic hydrocarbons: relevance of molecular descriptors / I. V. Perminova, N. Yu. Grechichsheva, V. S. Petrosyan // Environmental Science and Technology. – 1999. – V. 33. – P. 3781-3787.

Perminova, I. V. Quantification and prediction of detoxifying properties of humic substances to polycyclic aromatic hydrocarbons related to chemical binding / I. V. Perminova, N. Yu. Grechichsheva, D. V. Kovalevskii, A. V. Kudryavtsev, V. S. Petrosyan, D. N. Matorin Environmental Science and Technology. – 2001. – V. 35. – P. 3841-3848.

Perminova, I. V. Impact of humic substances on the toxicity of polycyclic aromatichydrocarbons and herbicides / I. V. Perminova, N. Yu Grechishcheva, V. S. Petrosyan, M. A. Anisimova, N. A. Kulikova, G. F. Lebedeva, D. N. Matorin, P. S. Venediktov // In: C. E. Clapp, M. H. B. Hayes, N. Senesi, P. R. Bloom, P. M. Jardine (Eds.) Humic substances and chemical contaminants, Madison, WI: Soil Science Society of America, 2001. – Pp. 275-287.

Perminova, I. V. Molecular weight characteristics of humic substances from different environments as determined by size exclusion chromatography and their statistical evaluation / I. V. Perminova, F. H. Frimmel, A. V. Kudryavtsev, N. A. Kulikova, G. Abbt-Braun, S. Hesse, V. S. Petrosyant // Environmental Science and Technology. – 2003. – V. 37. – N. 11. – P. 2477-2485.

Phaiboonsilpa, N. Two-step hydrolysis of rice (Oryza sativa) husk as treated by semi-flow hot-compressed water / N. Phaiboonsilpa, M. Ogura, K. Yamauchi, H. Rabemanolontsoa, S. Saka // Industrial crop and products. – 2013. – V. 49. – P. 484-491.

Piccolo, A. Micelle-like conformation of humic substances as revealed by size exclusion chromatography / A. Piccolo, S. Nardi, G. Concheri // Chemosphere. – 1996. – V. 33. – N. 4. – P. 595-602.

Politov A.L., Golyazimova O.V., Lomovsky O.I., Korolev K.G. Patent WO2012049530A1. Method for utilizing the waste from palm oil production by processing it into lignocellulose powder to be further used for liquid and solid fuel production. 12.10.2010

Politov, A. Increasing the energy yield of mechanochemical transformations selected case studies / A. Politov, O. Golyazimova // Faraday discussions. – 2014. – V. 170. – P. 345-356.

Popova N.R., Beloglazova A.L., Bogolitsyn K.G., et al. Oxidation of model lignin compounds with peracetic acid under homogeneous catalysis with polyoxometalates // Russian Journal of General Chemistry. – 2014. –V. 84(11). –P. 2092-2097.

Proidakov, A. G. Humic acids from mechanically treated coals: A review / A. G. Proidakov // Solid Fuel Chemistry. – 2009. – V. 43. – N. 1. – P. 9-14.

Prusov, A. N. The Effect of Mechanical Treatment on Colloidal and Chemical Properties and Reactivity of Powdered Cellulose / A. N. Prusov, K. N. Zheleznov, O. V. Alekseeva, V. A. Padokhin, O. V. Rozhkova // Colloidal Journal. – 2002. – V. 64. – N. 5. – P. 601-604.

Prut, E. V. Chemical modification and blending of polymer in an extruder reactor / E. V. Prut, A. N. Zelenetskii // Russian Chemical Reviews. – 2001. – V. 70. – N. 1. – P. 72-87.

Prut, E. V. Transformation of polymers under the action of mechanical forces / E. V. Prut // Polymer Science, Series D. – 2009. – V. 2. – N. 1. – P. 1-7.

Puri, V. P. Effect of crystallinity and degree of polymerization of cellulose on enzymatic saccharification / V. P. Puri // Biotechnology and Bioengineering. – 1984. – V. 26. – P. 1219-1222.

Rafiqul, I. S. M. Hydrolysis of lignocellulosic biomass for recovering hemicellulose: state of the art / I. S. M. Rafiqul, A. M. M. Sakinah, A. W. Zularisam // In: Singh L., Kalia V.C. (Eds.) Waste biomass management – A holistic approach, Springer, 2017. – Pp. 73-106.

Ramirez A.L.B., Kean Z.S., Orlicki J.A. Mechanochemical strengthening of a synthetic polymer in response to typically destructive shear forces // Nature Chemistry. – 2013. – V. 5. – P. 757-761.

Raven PH, Evert RF, Eichhorn SE. Biology of plants / P. H. Raven, R. F. Evert, S. E. Eichhorn. – 7th ed. New York: Worth Publishers, 1986. – 686 p.

Repellin, V. Energy requirement for fine grinding of torrefied wood / V. Repellin, A. Govin, M. Rolland, R. Guyonnet // Biomass and Bioenergy. – 2010. – V. 34. – N. 7. – P. 923-930.

Reza, M. Transmission electron microscopy for wood and fiber analysis – a review / M. Reza, E. Kontturi, A. S. Jaaskelainen, T. Vuorinen, J. Ruokolainen // BioResources. – 2015. – V. 10. – N. 3. – P. 6230-6261.

Riaz, M. N. Extrusion Problems Solved Food, Pet Food and Feed / M. N. Riaz, G. J. Rokey, Hardbound: Woodhead Publishing, 2011. – 184 p.

Rogalinski, T. Hydrolysis of lignocellulosic biomass in water under elevated temperatures and pressures / T. Rogalinski, T. Ingram, G. Brunner // Journal of Supercritical Fluids. – 2008. – V. 47. – P. 54-63.

Rollin, J. A. Increasing cellulose accessibility is more important than removing lignin: a comparison of cellulose solvent-based lignocellulose fractionation and soaking in aqueous ammonia / J. A. Rollin, Z. Zhu, N. Sathitsuksanoh, Y. H. Zhang // Biotechnology and Bioengineering. – 2011. – V. 108. – N. 1. – P. 22-30.

Rosenkranz, S. Experimental investigations and modelling of the ball motion in planetary ball mills / S. Rosenkranz, S. Breitung-Faes, A. Kwade // Powder Technology. – 2011. – V. 212. – P. 224-230.

Sahare, P. Effect of alkali pretreatment on the properties and enzymatic hydrolysis of corn cob / P. Sahare, R. Singh, R. S. Laxman, M. Rao // Applied Biochemistry and Biotechnology. – 2012. – V. 168. – N. 7. – P. 1806-1819.

Sakakibara, A. Chemistry of lignin / A. Sakakibara, Y. Sano // In: D. N. S. Son, N. Shiraiski (Eds.) Wood and cellulosic chemistry, 2nd ed., New York, Basel: Marcel Dekker, 2000. – Pp. 109-175.

Sakovich, G. V. Cellulose Nitrates from Unconventional Feedstocks / G. V. Sakovich, Y. M. Mikhailov, V. V. Budaeva, A. A. Korchagina, Y. A. Gismatulina, N. V. Kozyrev // Doklady Chemistry. – 2018. – V. 483. – N. 1. – P. 287-291.

Sammon, M. S. Theoretical simulation of the infrared signature of mechanically stressed polymer solids / M. S. Sammon, M. Oncak, M. K. Beyer // Beilstein Journal of Organic Chemistry – 2017. – V. 13. – P. 1710-1716.

Sannigrahi, P. Pseudo-lignin and pretreatment chemistry / P. Sannigrahi, D. H. Kim, S. Jung, A. Ragauskas // Energy and Environmental Science. – 2011. – V. 4. – N. 4. – P. 1306-1310.

Saritha, M. Biological pretreatment of lignocellulosic substrates for enhanced delignification and enzymatic digestibility / M. Saritha, A. Arora, N. Lata // Indian journal of microbiology. – 2012. – V. 52. – N. 2. – P. 122-130.

Savel'eva, A. V. Influence of the conditions of mechanical activation of lignite on the composition and sorption properties of humic acids isolated from it / A. V. Savel'eva, A. A. Ivanov, N. V. Yudina, O. I. Lomovsky, Dzh. Dugarzhav // Russian Journal of Applied Chemistry. – 2013. – V. 86. – N. 4. – P. 552-557.

Savel'eva, A. V. Composition and properties of humic acids from natural and mechanochemically oxidized brown coal / A. V. Savel'eva, A. A. Ivanov, N. V. Yudina, O. I. Lomovskii // Solid Fuel Chemistry – 2015. – V. 49. – N. 4. – P. 201-205.

Schell, D. J. Dilute sulfuric acid pretreatment of corn stover at high solids concentrations / D. J. Schell, P. J. Walter, D. K. Johnson // Applied Biochemistry and Biotechnology. – 1992. – V. 34. – N. 1. – P. 659-665.

Schmidt, S.W. Mechanically induced silyl ester cleavage under acidic conditions investigated by AFM-based single-molecule force spectroscopy in the force-ramp mode / S. W. Schmidt, M. F. Pill, A. Kersch, H. Clausen-Schaumann, M. K. Beyer // Faraday Discussions. – 2014. – V. 170. – N. 1. – P. 357-367.

Schnitzer, M. Humus Substances: Chemistry and Reactions / M. Schnitzer, S. U. Khan // Soil Organic Matter Development of Soil Science. – 1978. – N. 8. – P. 1-64.

Segal, L. An empirical method for estimating the degree of crystallinity of native cellulose using the X-ray diffractometer / L. Segal, J. J. Creely, A. E. Jr. Martin, C. M. Conrad // Textile Research Journal. – 1959. – V. 29. – N. 10. – P. 786-794.

Sein, L. T. Conformational modeling of a new building block of humic acid: approaches to the lowest energy conformer / L. T. Sein, J. M. Varnum, S. A. Jansen // Environmental science and technology. – 1999. – V. 33. – N. 4. – P. 546-552.

Shapolova, E. G. Mechanoenzymatic treatment of rice husk / E. G. Shapolova, A. L. Bychkov, O. I. Lomovsky // Journal of International Scientific Publications: Materials, Methods and Technologies. – 2012. – V. 6. – N. 1. – P. 196-206.

Shapolova, E. G. Mechanochemical Solubilization of Silicon Dioxide with Polyphenol Compounds of Plant Origin / E. G. Shapolova, O. I. Lomovsky // Russian Journal of Bioorganic Chemistry. – 2013. – V. 39. – N. 7. – P. 765-770.

Sheng, C. Estimating the higher heating value of biomass fuels from basic analysis data / C. Sheng, J. L. T. Azevedo // Biomass and Bioenergy. – 2005. – V. 28. – N. 5. – P. 499-507.

Shewale, J. G. Enzymatic hydrolysis of cellulosic material by Sclerotium rolfsii culture filtrate for sugar production / J. G. Shewale, J. C. Sadana // Canadian Journal of Microbiology. – 1979. – V. 25. – P. 773-783.

Silva, G. G. D. Effects of grinding processes on enzymatic degradation of wheat straw / G. G. D. Silva, M. Couturier, J. G. Berrin, A. Buleon, X. Rouau // Bioresource Technology. – 2012. – V. 103. – N. 1. – P. 192-200.

Singh, V. X-ray analysis of different starch granules / V. Singh, R. G. Urs, H. Somashekarappa, S. Z. Ali, R. Somashekar // Bulletin of Material Sciences. – 1995. – V. 18. – N. 5. – P. 549-555.

Sinitsyn, A. P. Effect of structural and physico-chemical features of cellulosic substrates on the efficiency of enzymatic hydrolysis / A. P. Sinitsyn, A. V. Gusakov, E. Y. Vlasen // Applied Biochemistry and Biotechnology. – 1991. – V. 30. – N. 1. – P. 43-59.

Sire, J. Impact of the process of isolating humic acids from peat on their properties / J. Sire, M. Klavins, J. Kreismanis, S. Jansone // Canadian Journal of Civil Engineering. – 2009. – V. 36. – N. 2. – P. 345-355.

Skiba, E. A. Dilute nitric-acid pretreatment of oat hulls for ethanol production / E. A. Skiba, V. V. Budaeva, O. V. Baibakova, V. N. Zolotukhin, G. V. Sakovich // Biochemical Engineering Journal. – 2017-a. – V. 126. – P. 118-125.

Skiba, E. A. Pilot technology of ethanol production from oat hulls for subsequent conversion to ethylene / E. A. Skiba, O. V. Baibakova, V. V. Budaeva, I. N, Pavlov, M. S. Vasilishin, E. I.

Makarova, G. V. Sakovich, E. V. Ovchinnikova, S. P. Banzaraktsaeva, N. V. Vernikovskaya, V. A. Chumachenko // Chemical Engineering Journal. – 2017-b. – V. 329. – P. 178-186.

Skybova, M. Humus Mechanochemical activation of humic acids in the brown coal / M. Skybova, L. Turcaniova, S. Dolinska, A. Zubrik, S. Hredzak, L. Hudymacova // Journal of alloys and compounds. – 2007. – V. 434. – P. 842-845.

Smernik, R. J. Quantitative solid-state 13C NMR spectroscopy of organic matter fractions in lowland rice soils / R. J. Smernik, D. C. Olk, N. Mahieu // European journal of Soil Science. – 2004. – V. 55. – P. 367-379.

Smith, A. E. The mechanical properties of Saccharomyces cerevisiae / A. E. Smith, Z. Zhang, C. R. Thomas, K. E. Moxham, A. P. J. Middelberg // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2000. – V. 97. – N. 18. – P. 9871-9874.

Smith, K. E. Sorption to humic acids enhances polycyclic aromatic hydrocarbonbiodegradation / K. E. Smith, M. Thullner, L. Y. Wick, H. Harms // Environmental Science and Technology. – 2009. – V. 43. – N. 19. – P. 7205-7211.

Smith, L. S. A fluidized bed jet mill / L. S. Smith, H. T. Mastalski // EP Patent 0488637 A2, 1991.

Sohma J. Mechanochemistry of polymers // Progress in Polymer Science. – 1989. – V. 14:4. –P. 451-596.

Spence K. L. A comparative study of energy consumption and physical properties of microfibrillated cellulose produced by different processing methods / K. L. Spence, R. A. Venditti, O. J. Rojas, Y. Habibi, J. J. Pawlak // Cellulose. – 2011. – V. 18. – N. 4. – P. 1097-1111.

Staud, P. B. A new method for predicting sorption isotherms at different temperatures using the BET model / P. B. Staud, C. P. Kechinski, L. D. F. Marczak, R. D. E. P. Soares, N. S. M. Cardozo // Journal of Food Engineering. – 2013. – V. 114. – P. 139-145.

Stevenson, F. J. Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions / F. J. Stevenson – 2nd ed., New York, John Wiley and Sons, 1994. – 443 p.

Streletskii, A. N. Nature of high reactivity of metal/solid oxidizer nanocomposites prepared by mechanoactivation: A Review / A. N. Streletskii, M. V. Sivak, A. Y. Dolgoborodov // Journal of Materials Science. – 2017. – V. 52. – N. 20. – P. 11810-11825.

Su, Y. An overview of biofuels policies and industrialization in the major biofuel producing countries / Y. Su, P. Zhang, Y. Su // Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2015. – V. 50. – P. 991-1003.

Sucher, R. W. Yeast glycan and process of making same / R. W. Sucher, E. A. Robbins, D. R. Sidoti, E. H. Schuldt, R. D. Seeley // US Patent 3867554, 1975.

Sun, X. F. Acetylation of sugarcane bagasse hemicelluloses under mild reaction conditions by using NBS as a catalyst / X. F. Sun, R. C. Sun, L. Zhao, J. X. Sun // Journal of applied polymer science. – 2004. – V. 92. – P. 53-61.

Sun, Y. Hydrolysis of lingocellulosic materials for ethanol production: a review / Y. Sun, J. Chang // Bioresource technology. – 2002. – V. 83. – N. 1 – P. 1-11.

Suryanarayana, C. Mechanical alloying and milling / C. Suryanarayana // Progress in Materials Science. – 2001. – V. 46. – N. 1-2 – P. 1-184.

Swatloski, R. P. Dissolution of cellose with ionic liquids / R. P. Swatloski, S. K. Spear, J. D. Holbrey, R. D. Rogers // Journal of the American Chemical Society. – 2002. – V. 124. – N. 18. – P. 4974-4975.

Swift, R. S. Molecular weight, size, shape, and charge characteristics of humic substances: some basic considerations / R. S. Swift // In: M. H. B. Hayes, P. MacCarthy, R. L. Malcolm, R. S. Swift, (Eds.) Humic substances II: In search of structure, New York: Wiley-Interscience publication, 1989. – Pp. 449-465.

Taherzadeh, M. J. Pretreatment of lignocellulosis wastes to improve ethanol and biogas production: a review / M. J. Taherzadeh, K. Karimi // International Journal of Molecular Sciences. – 2008. – V. 9. – P. 1621-1651.

Talab H.A. Starch-protein extraction and separation it from green pea // European Online Journal of Natural and Social Sciences. – 2015. – V. 5:4. 4742.

Talebi Amiri, M. Fractionation of lignocellulosic biomass to produce uncondensed aldehyde-stabilized lignin / M. Talebi Amiri, G. R. Dick, Y. M. Questell-Santiago, J. S. Luterbacher // Nature Protocols. – 2019. – V. 14. – P. 921-954.

Tan, Z. Current and potential sustainable corn stover feedstock for biofuel production in the United States / Z. Tan, S. Liu, N. Bliss, L. L. Tieszen // Biomass and Bioenergy. – 2012. – V. 47. – P. 372-386.

Tanaka, K. Solvent-free organic synthesis / K. Tanaka, F. Toda // Chemical Reviews. – 2000. – V. 100. – N. 3. – P. 1025-1074.

Tarabanko, V. E. Processing Pine Wood into Vanillin and Glucose by Sequential Catalytic Oxidation and Enzymatic Hydrolysis / V. E. Tarabanko, K. L. Kaygorodov, E. A. Skiba, N. Tarabanko, Y. V. Chelbina, O. V. Baybakova, B. N. Kuznetsov, L. Djakovitch // Journal of Wood Chemistry and Technology. – 2017. – V. 37. – N. 1. – P. 43-51.

Taran, O. P. Chapter 2: Catalytic Processes and Catalyst Development in Biorefining / O. P. Taran, N. V. Gromov, V. N. Parmon // In: F. Frusteri, D. Aranda, G. Bonura (Eds.) Sustainable Catalysis for Biorefineries, Cambridge: RSC Green Chemistry, 2018. – V. 56. – Pp. 25-64.

Tassinari, T. Energy requirements and process design consideration in compression-milling pretreatment of cellulosic wastes for enzymatic hydrolysis / T. Tassinari, C. Macy, L. Spano // Biotechnology and Bioengineering. – 1980. – V. 22. – P. 1689-1705.

Teymouri, F. Optimization of the ammonia fiber explosion (AFEX) treatment parameters for enzymatic hydrolysis of corn stover / F. Teymouri, L. P. Laureano, H. Alizadeh, B. E. Dale // Bioresource Technology. – 2005. – V. 96. – N. 18. – P. 2014-2018.

Thangavelu, K. Delignification of corncob via combined hydrodynamic cavitation and enzymatic pretreatment: Process optimization by response surface methodology / K. Thangavelu, R. Desikan, O. P. Taran, S. Uthandi // Biotechnology for Biofuels. – 2018. – V. 11. – N. 1 – Article 203.

Thode, E. F. Nitrogen adsorption of solvent-exchanged wood cellulose fibers: indications of "total" surface area and pore size distribution / E. F. Thode, J. W. Swanson, J. J. Becher // Journal of Physical Chemistry. – 1958. – V. 62. – P. 1036-1039.

Thomas, S. Natural fibres: structure, properties and applications. / S. Thomas, S. A. Paul, L. A. Pothan, B. Deepa // In: S. Kalia, B. S. Kaith, I. Kaur (Eds.) Cellulose fibers: bio- and nano-polymer composites: Green chemistry and technology, New York: Springer Science & Business Media, 2011. – V. 1. – Pp. 3-42.

Thygesen, A. On the determination of crystallinity and cellulose content in plant fibres / A. Thygesen, J. Oddershede, H. Lilholt, A. B. Thomsen, K. Stahl // Cellulose. – 2005. – V. 12. – P. 563-576.

Tillman, D. A. Wood as an energy resource. / D. A. Tillman – New York: Academic Press, 1978. – 252 p.

Tinto, W. F. Waxes / W. F. Tinto, T.O. Elufioye, J. Roach // In: S. Badal, R. Delgoda (Eds.) Pharmacognosy. Fundamentals, Applications and Strategy, New York: Academic Press, 2017. – V. 22. – Pp. 443-455.

Tipping, E. Cation Binding by Humic Substances. / E. Tipping – Cambridge: Cambridge University Press, 2002. – 434 p.

Toumi, K. H. Computational study of acid blue 80 dye adsorption on low cost agricultural Algerian olive cake waste: Statistical mechanics and molecular dynamic simulations / K. H. Toumi, M. Bergaoui, M. Khalfaoui, Y. Benguerba, A. Erto, G. L. Dotto, A. Amrane, S. Nacef, B. Ernst // Journal of Molecular Liquids. – 2018. – V. 271. – P. 40-50.

Turcaniova, L. Reactivity of coal activated by mechanochemical treatment / L. Turcaniova, P. Balaz // Journal of Materials Synthesis and Processing. – 2000. – V. 8. – N. 5-6. – P. 365-367.

Tynkkynen, V. P. Russian bioenergy and the EU's renewable energy goals: perspectives of security / V. P Tynkkynen // In: S. Oxenstierna, V. P. Tynkkynen (Eds.) Russian Energy and Security up to 2030, Routledge, London, 2014. – V. 6. – Pp. 95-113.

Tyunk'in, I. V. The effect of orientation on the mechanism of deformation of polymers / I.V. Tyunkin, S. L. Bazhenov, A. V. Efimov, A. S. KechekYan, S. A. Timan // Polymer Science, Series A. – 2011. – V. 53 – N. 8. – P. 715-726.

Urakaev, F. K. Resonance and it application to a vibratory mill / F. K. Urakaev // Minerals Engineering. – 2014. – V. 61. – P. 88-91.

Urakaev, F. K. Numeric Evaluation of Kinematic and Dynamic Characteristics of Mineral Treatment in Disintegrator / F. K. Urakaev, T. S. Yusupov // Journal of Mining Science. – 2017. – V. 53 – N. 1. – P. 133-140.

VanderHart, D. L. Studies of microstructure in native celluloses using solid-state 13C NMR / D. L. VanderHart, R. H. Atalla // Macromolecules. – 1984. – V. 17. – N. 8. – P. 1465-1472.

VanderHart, D. L. Native cellulose: a composite of two distinct crystalline forms / D. L. VanderHart, R. H. Atalla // Sience. – 1984. – V. 223. – N. 4633. – P. 283-285.

Varga, E. Pretreatment of corn stover using wet oxidation to enhance enzymatic digestibility / E. Varga, A. S. Schmidt, K. Reczey, A. B. Thomsen // Applied Biochemistry and Biotechnology. – 2003. – V. 104. – N. 1. – P. 37-50.

Vargas-Moreno, J. M. A review of the mathematical models for predicting the heating value of biomass materials / J. M. Vargas-Moreno, A. J. Callejon-Ferre, J. Perez-Alonso, B. Velazquez-Marti // Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2012. – V. 16. – N. 5. – P. 3065-3083.

Wada, M. The structure of celluloses / M. Wada, Y. Nishiyama, H. Chanzy, T. Forsyth, P. Langan // Powder Diffraction. – 2008. – V. 23. – N. 2. – P. 92-95.

Wang, Q. Q. Evaluations of cellulose accessibility to cellulase of lignocelluloses by solute exclusion and protein adsorption techniques / Q. Q. Wang, Z. He, Z. Zhu, Y. H. P. Zhang, Y. Ni, X. L. Luo, J. Y. Zhu // Biotechnology and Bioengineering. – 2012. – V. 109. – N. 2. – P. 381-389.

Wang, Z. Chemical and structural factors influencing enzymatic saccharification of wood from aspen, birch and spruce / Z. Wang, S. Winestrand, T. Gillgren, L. J. Jonsson // Biomass and Bioenergy. – 2018. – V. 109. – P. 125-134.

Westerhoff, P. Relationships between the structure of natural organic matter and its reactivity towards molecular ozone and hydroxyl radicals / P. Westerhoff, G. Aiken, G. Amy, J. Debroux // Water Research. – 1999. – V. 33. – N. 10. – P. 2265-2276.

Wieczorek-Ciurowa, K. Mechanochemical synthesis as an example of green processes / K. Wieczorek-Ciurowa, K. Gamrat // Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. – 2007. – V. 88. – N. 1. – P. 213-217.

Wilson, M. A. NMR Techniques and applications in geochemistry and soil chemistry / M. A. Wilson. – Oxford: Pergamon Press, 1987. – 353 p.

Wu, Y. Influence of sonomechanical treatment on the structure of cellulose micro/nano fibrils / Y. Wu, Z. H. Wu, X. J. Zhang, J. L. Zhang, X. Y. Yan // Key Engineering Materials. – 2014. – V. 609. – P. 526-530.

Wyman, C. E. Biomass ethanol: technical progress, opportunities, and commercial challenges / C.E. Wyman // Annual Review of Energy and the Environment. – 1999. – V. 24. – P. 189-226.

Xu, W. Mechanochemical preparation of kaempferol intermolecular complexes for enhancing the solubility and bioavailability / W. Xu, M. Wen, J. Yu, Q. Zhang, N. E. Polyakov, A. V. Dushkin, W. Su // Drug Development and Industrial Pharmacy. – 2018. – V. 44 – N. 12. – P. 1924-1932.

Yamaguchi, M. Repeated use of uranyl acetate solution in section staining in transmission electron microscopy / M. Yamaguchi, M. Shimizu, T. Yamaguchi, M. Ohkusu, S. Kawamoto // Plant morphology. – 2005. – V. 17. – P. 57-59.

Yang, Q. Thermogravimetric characteristics of wheat straw lignin / Q. Yang, S. Wu // Cellulose Chemistry and Technology. – 2009. – V. 43. – P. 133-139.

Yeh, A. I. Effect of particle size on the rate of enzymatic hydrolysis of cellulose / A. I. Yeh, Y. C. Huang, S. H. Chen // Carbohydrate Polymers. – 2010. – V. 79. – N. 1. – P. 192-199.

Yin, C. Y. Prediction of higher heating values of biomass from proximate and ultimate analyses / C. Y. Yin // Fuel. – 2011. – V. 90. – N. 3. – P. 1128-1132.

Yin, Y. Enhancement of enzymatic hydrolysis of wheat straw by gamma irradiation–alkaline pretreatment / Y. Yin, J. Wang // Radiation Physics and Chemistry. – 2016. – V. 123. – P. 63-67.

Yoshida, M. Effects of cellulose crystallinity, hemicellulose, and lignin on the enzymatic hydrolysis of Miscanthus sinensis to monosaccharides / M. Yoshida, Y. Liu, S. Uchida, K. Kawarada, Y. Ukagami, H. Ichinose, S. Kaneko, K. Fukuda // Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. – 2008. – V. 72 – N. 3. – P. 805-810.

Yu, M. Optimization of ethanol production from NaOH-pretreated solid state fermented sweet sorghum bagasse / M. Yu, J. Li, S. Chang, R. Du, S. Li, L. Zhang, G. Fan, Z. Yan, T. Cui, G. Cong, G. Zhao // Energies. – 2014. – V. 7. – N. 7. – P. 4054-4067.

Zech, W. Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics / W. Zech, N. Senesi, G. Guggenberger, K. Kaiser, J. Lehmann, T. M. Miano, G. Schroth // Geoderma. – 1997. – V. 79. – N. 1-4. – P. 117-161.

Zhai, Q. Ultrafine grinding of poplar biomass: effect of particle morphology on the liquefaction of biomass for methyl glycosides and phenolics / Q. Zhai, F. Li, F. Wang, J. Feng, J. Jiang, J. Xu // Cellulose. – 2019. – V. 26. – N. 6. – P. 3685-3701.

Zhang, D. Modifying the BET model for accurately determining specific surface area and surface energy components of aggregates / D. Zhang, R. Luo // Construction and Building Materials. – 2018. – V. 175. – P. 653-663.

Zhang, H. A novel film-pore-surface diffusion model to explain the enhanced enzyme adsorption of corn stover pretreated by ultrafine grinding / H. Zhang, L. Chen, M. Lu, J. Li, L. Han // Biotechnology for Biofuels. – 2016. – V. 9. – N. 1. – P. 181.

Zhang, H. A comparative study on enzyme adsorption and hydrolytic performance of different scale corn stover by two-step kinetics / H. Zhang, Z. Fan, J. Li, L. Han // Bioresource Technology. – 2019. – V. 282. – P. 384-389.

Zhang, Q. Preparation, physicochemical and pharmacological study of curcumin solid dispersion with an arabinogalactan complexation agent / Q. Zhang, L. Suntsova, Y. S. Chistyachenko, V. Evseenko, M. V. Khvostov, N. E. Polyakov, W. Su // International Journal of Biological Macromolecules. – 2019. – V. 128. – P. 158-166.

Zhao, M. X. Dynamics and stability of milling process / M. X. Zhao, B. Balachandran // International Journal of Solids and Structures – 2001. – V. 38. – N 10-13. – P. 2233-2248.

Zhao, X. Biomass recalcitrance. Part I: the chemical compositions and physical structures affecting the enzymatic hydrolysis of lignocellulose / X. Zhao, L. Zhang, D. Liu // Biofuels, Bioproducts and Biorefining. – 2012. – V. 6. – N. 4. – P. 465-482.

Zheng, Y. Pretreatment for cellulose hydrolysis by carbon dioxide explosion / Y. Zheng, H. Lin, G. T. Tsao // Biotechnology Progress. – 1998. – V. 14. – N. 6. – P. 890-896.

Zherebtsov, S. Spectral study of modified humic acids from lignite / S. Zherebtsov, N. Malyshenko, L. Bryukhovetskaya, Z. Ismagilov // E3S Web of Conferences, EDP Sciences. – 2017. –V. 21.– P. 02022.

Zhu, J. Y. Specific surface to evaluate the efficiencies of milling and pretreatment of wood for enzymatic saccharification / J. Y. Zhu, G. S. Wang, X. J. Pan, R. Gleisner // Chemical Engineering Science. – 2009. – V. 64. – N. 3. – P. 474-485.

Zhu, L. Structural features affecting biomass enzymatic digestibility / L. Zhu, J. P. O'Dwyer, V. S. Chang, C. B. Granda, M. T. Holtzapple // Bioresource Technology. – 2008. – V. 99. – N. 9. – P. 3817-3828.

Благодарности

Выражаю благодарность моим коллегам, принимавшим участие в данной работе на различных её этапах:

- сотрудникам ИХТТМ СО РАН, Новосибирск, к.х.н. Королёву К.Г., к.х.н. Политову А.А., к.х.н. Ломовскому И.О., к.х.н. Трофимовой Е.Г., к.х.н. Подгорбунских Е.М., к.х.н. Скрипкиной Т.С., к.х.н. Михайленко М.А., д.х.н. Герасимову К.Б., к.ф.-м.н. Булиной Н.В., к.х.н. Жданку А.А., к.х.н. Улихину А.С., вед. инж. Бухтоярову В.А., вед. инж. Абрамову С.Ю., Нестеровой Г.Н., Березину В.И., Дикаеву Р.А., Деменковой Л.И.

- сотрудникам ИХБФМ СО РАН, Новосибирск, д.б.н. Рябчиковой Е.И., к.б.н. Григорьевой А.Е., ст. лаб. Тупицыной А.В.

- сотрудникам ООО ПО «Сиббиофарм», в особенности заместителю генерального директора по развитию и инновациям Ломовской Т.Ф.

- сотрудникам ИЭВСиДВ, Новосибирск, д.в.н. Шкилю Н.А., к.в.н. Коптеву В.Ю., к.в.н. Титовой М.А.

- сотрудникам ИТ СО РАН, Новосибирск, д.т.н. Бурдукову А.П., д.т.н. Попову В.И., к.т.н. Черновой Г.В.

- сотрудникам НИОХ СО РАН, Новосибирск д.х.н Тиховой В.Д. и Дерябиной Ю.М.

- сотрудникам ИНХ СО РАН, Новосибирск, д.х.н. Шуваевой О.В., д.х.н. Смолякову Б.С., к.х.н. Сагидуллину А.К.

- сотрудникам Новосибирского государственного технического университета, Новосибирск, к.т.н. Бычковой Е.С., к.э.н. Рождественской Л.Н.

Отдельную благодарность выражаю научному консультанту и наставнику д.х.н. Олегу Ивановичу Ломовскому (ИХТТМ СО РАН) за всестороннюю поддержку проводимых исследований, а также уникальный научный, технологический и организационный опыт, которым Олег Иванович не скупится делиться с коллегами.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

АКТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ В ООО ПО «Сиббиофарм»

Общество с ограниченной ответственностью
Производственное объединение "СИББИОФАРМ"
Россия, 633004, г. Бердск, Новосибирская область, ул. Химзаводская,11
Приёмная: телефон +7(38341) 5-80-00, факс 5-80-23
Отдел продаж: телефон/факс +7(38341) 5-80-64, 2-96-17
E-mail: sibbio@sibbio.ru http://www.sibbio.ru
ИНН 5445114509 КПП 544501001 в Сибирском филиале АО «Райффайзенбанк», г. Новосибирск
БИК 045004799, к/сч 30101810300000000799, р/сч (рубли) 40702810907000020403

27.11.2019 № 2145

На № _____ от _____

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ООО ПО «Сиббиофарм»
_____ М.И. Ефимов
«27» 11 2019 г.

АКТ

использования результатов диссертационной работы

Бычкова А.Л. на ООО ПО «Сиббиофарм»

На протяжении многих лет ПО «Сиббиофарм» сотрудничает с ИХТТМ СО РАН по вопросам механохимической переработки растительных и дрожжевых полимеров в биологически активные препараты, в частности, в экологически чистые маннанолигосахаридные заменители синтетических антибиотиков для животноводства.

На сегодняшний день разработка первой отечественной технологии механохимического получения маннанолигосахаридных препаратов доведена Бычковым А.Л. до внедрения на нашем предприятии. Определены параметры механохимической обработки, приводящие к повышению выхода целевых компонентов и сохранению активности используемых ферментов. Определен спектр пригодного механохимического оборудования и условия его эффективной работы. Проведены биологические испытания получаемых продуктов.

С использованием результатов исследований, проведенных Бычковым А.Л., на нашем предприятии удалось расширить номенклатурный ассортимент выпускаемой продукции, зарегистрирована и поставлена на производство новая кормовая добавка Кормомикс-МОС, которая пользуется спросом и имеет хорошие отзывы потребителей.

Технический директор Захарова Л.Т.

Главный бухгалтер Манернова Е.В.

ПРИЛОЖЕНИЕ Б

АКТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ В УЧЕБНОМ ПРОЦЕССЕ

УТВЕРЖДАЮ
Первый проректор
Новосибирского
государственного
технического университета
д.т.н., профессор
_____ Г.И. Расторгуев
«__09__» ___11___ 2019 г.

АКТ

использования результатов диссертационной работы
Бычкова А.Л. в учебном процессе

В ходе подготовки диссертационной работы Бычковым А.Л. выполнены исследования физико-химических процессов, протекающих при механохимической обработке твердофазных полимеров природного происхождения, их супрамолекулярных комплексов и материалов на их основе. Полученных знания широко применялись при создании технологий механохимической переработки природного полимерного сырья в востребованные продукты, в том числе в компоненты функциональных продуктов питания на кафедре ТОПП НГТУ. Результаты работы опубликованы в журналах из списка ВАК РФ, а также в зарубежных изданиях, входящих в базы данных Web of Science и Scopus.

Научные и методологические результаты, полученные Бычковым А.Л. на стыке химии и технологии, используются в учебном процессе Новосибирского государственного технического университета при реализации образовательных программ (курсы «Современные методы исследования сырья и продукции питания», «Организация исследований в индустрии питания», «Управление качеством и безопасностью в индустрии питания»).

Декан факультета бизнеса
д.э.н., профессор Хайруллина М.В.