

ИЗ ФОНДОВ РОССИЙСКОЙ ГОСУДАРСТВЕННОЙ БИБЛИОТЕКИ

Иванов, Александр Анамольевич

1. Химические и структурные превращения
органических компонентов морфов после
механоактивации

1.1. Российская государственная библиотека

Иванов, Александр Анатольевич

Химические и структурные превращения органических компонентов торфов после механоактивации [Электронный ресурс]: Дис. ... канд. хим. наук : 05.17.07 .—М.: РГБ, 2005 (Из фондов Российской Государственной Библиотеки)

Химия и технология топлив и специальных продуктов

Полный текст:

<http://diss.rsl.ru/diss/05/0724/050724046.pdf>

Текст воспроизводится по экземпляру,
находящемуся в фонде РГБ:

Иванов, Александр Анамольевич

Химические и структурные превращения
органических компонентов морфов после
механоактивации

Томск 2005

Российская государственная библиотека, 2005
год (электронный текст).

61: 05-2/599

Российская академия наук
Сибирское отделение
Институт химии нефти

На правах рукописи

Иванов Александр Анатольевич

**ХИМИЧЕСКИЕ И СТРУКТУРНЫЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ
ОРГАНИЧЕСКИХ КОМПОНЕНТОВ ТОРФОВ ПОСЛЕ
МЕХАНОАКТИВАЦИИ**

05.17.07–Химия и технология топлив и специальных продуктов

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата химических наук



Научный руководитель:

кандидат технических наук,
старший научный сотрудник
Юдина Н.В.

ТОМСК – 2005

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
Список сокращений.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	6
1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНОАКТИВАЦИИ ТВЕРДЫХ КАУСТОБИОЛИТОВ.....	11
1.1. Химический состав органического вещества торфа.....	11
1.1.1. Гуминовые полифенольные полимерные вещества.....	13
1.1.2. Углеводы торфов.....	18
1.1.3. Битумы торфов.....	23
1.1.4. Физико-химическое взаимодействие основных органических компонентов торфа.....	25
1.2. Особенности механоактивации твердых тел.....	28
1.3. Изменение физико-химических свойств основных компонентов каустобиолитов при механической обработке.....	32
1.3.1. Превращения гуминовых компонентов торфов и бурых углей при механической обработке.....	32
1.3.2. Превращения углеводных компонентов и битумов торфов.....	34
1.4. Антиоксидантная активность гуминовых веществ и способы ее определения.....	36
1.5. Использование продуктов переработки торфа в качестве стимуляторов роста растений. Сведения о биологически активных веществах торфов.....	41
1.6. Постановка задачи исследования.....	44
2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	48
2.1. Методика проведения механохимической обработки торфов. Материалы.....	48
2.2. Комплексная схема выделения органических соединений из торфов.....	51
2.3. Исследование общетехнических свойств торфов.....	54
2.4. Исследование химического состава, строения и свойств выделенных фракций торфов.....	55

2.4.1. Анализ углеводородного состава битумов.....	55
2.4.2. Гель-проникающая хроматография гуминовых кислот и полисахаридов.....	55
2.4.3. Моносахаридный анализ полисахаридов.....	56
2.4.4. Исследование функционального состава фракций торфов методом ИК-спектроскопии.....	57
2.4.5. Исследование фрагментного состава фракций торфов методом ЯМР ¹³ C-спектроскопии.....	57
2.5. Исследование поведения гуминовых кислот, полисахаридов и полифенолов в процессе электровосстановления кислорода.....	58
2.6. Определение антиоксидантных свойств битумных компонентов торфов.....	60
2.7. Исследование биологической активности продуктов механоактивации торфа.....	62
3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНОХИМИЧЕСКИХ ПРЕВРАЩЕНИЙ ОСНОВНЫХ КОМПОНЕНТОВ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ ИЗ ТОРФОВ.....	67
3.1. Общетехническая характеристика торфов.....	67
3.2. Влияние различных видов добавок на выход водорастворимой фракции верхового механообработанного торфа и обоснование дальнейшего выбора реагентов для технологии получения препаратов торфа	68
3.3. Элементный состав торфов.....	71
3.4. Минеральный состав торфов.....	72
3.5. Химический групповой состав торфов.....	73
3.6. Изменения в составе основных выделяемых компонентов торфов при механохимической обработке.....	76
3.6.1. Изменения в составе гуминовых кислот.....	76
3.6.2. Изменения в составе полифенольных компонентов.....	88
3.6.3. Изменения в составе полисахаридного комплекса.....	92

3.6.4. Изменения в составе битумов.....	104
4. НЕКОТОРЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ МЕХАНОАКТИВИРОВАННОГО ТОРФА.....	110
4.1. Каталитические свойства торфяных препаратов в процессе электровосстановления кислорода.....	110
4.2. Антиоксиданты в битумных компонентах торфов.....	119
4.3. Биостимулирующая активность продуктов механоактивации торфа.....	122
5. ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МЕХАНОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ПЕРЕРАБОТКЕ ТОРФА.....	129
5.1. Технологические рекомендации по производству торфяного стимулятора механохимической активацией.....	129
5.2. Области перспективного применения и преимущества механохимической технологии переработки торфов.....	132
ВЫВОДЫ.....	137
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	139
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	154

Список сокращений

- ОВ – органическое вещество
- ГВ – гуминовые вещества
- ГК – гуминовые кислоты
- ФК – фульвокислоты
- ВР – водорастворимые компоненты
- ПС - полисахариды
- ЛГ – легкогидролизуемые компоненты
- ТГ – трудногидролизуемые компоненты
- РВ – редуцирующие вещества
- МА – механическая активация (механоактивация)
- АО – антиоксиданты
- ЦВ – целловиридин
- ПФ – полифенолы
- ПВ – пектиновые вещества
- Гц – гемицеллюлоза
- УВ – углеводороды
- ТП3 – верховой торф после механохимической активации с добавлением 10% соды
- ТП5 – верховой торф после механохимической активации с добавлением 30% соды

ВВЕДЕНИЕ

Поиск экологически безопасных и экономически эффективных решений в переработке природного органического сырья является на сегодняшний день актуальной задачей для многих отраслей химической технологии. Большие запасы торфа в стране и, особенно, в Западной Сибири, высокая ценность его органической части обуславливают необходимость проведения исследований, направленных на разработку экологически безопасных и экономически эффективных методов комплексной переработки этого сырья. Одной из ключевых задач переработки торфов является интенсификация процессов выделения экстрактивных веществ – гуминовых кислот, фенолов, полисахаридов, битумов и др. соединений, представляющих практический интерес.

Обычно для достижения полноты выделения целевых компонентов из растительного сырья применяют многократную обработку растворителями различной полярности. Недостатками традиционной экстракционной технологии являются: использование токсичных и пожароопасных органических растворителей, низкая степень извлечения, многократное повторение экстрагирования, и как следствие, повышение производственных затрат и загрязнение окружающей среды. Механохимические методы получения биологически активных веществ растительного происхождения основаны на твердофазном превращении этих веществ в растворимые формы путем механической обработки растительного сырья и специально подобранных реагентов [1-3]. Использование предварительной механической активации позволяет достигать максимальной эффективности на стадии последующего экстрагирования. Ударно-сдвиговое воздействие сопровождается измельчением и разупорядочением структуры обрабатываемого материала. Последнее обстоятельство значительно облегчает выделение компонентов.

Существенными преимуществами механохимического подхода является исключение из технологии большого количества химических реагентов, снижение материальных и трудовых затрат на производство. Дополнительно появляется

возможность использовать в качестве источника биологически активных веществ маловостребованные ресурсы – торф, отходы сельскохозяйственного производства и лесной промышленности, сырье с низким содержанием активных веществ [1].

Несмотря на прогресс в области механохимической переработки природного органического сырья, детальным исследованиям механохимии торфа с использованием комплекса современных физико-химических методов проведено не достаточно. Оценка явлений, связанных с химическими превращениями торфов после механической активации сопряжена с рядом трудностей. В первую очередь это определяется тем, что торф представляет собой многокомпонентную полукolloидную систему, отличающуюся большим разнообразием состава и свойств [4, 5]. Посредством интенсивного механического воздействия может быть достигнута принципиальная возможность изменения физико-химических свойств торфа и составляющих его высокомолекулярных соединений. Предполагается, что деформация составляющих торф веществ, может приводить к изменению межатомных и межмолекулярных связей, сопровождающемуся их ослаблением и в предельном случае вызывающему механический разрыв химических связей и образование активных радикалов [6, 7].

В последние 10-15 лет интенсивно ведутся работы по созданию высокоинтенсивных механохимических аппаратов, основное назначение которых не только измельчение, но одновременно придание обрабатываемому веществу особых свойств, которые приводят к увеличению его реакционной способности [8, 9].

Целью данной работы являлось исследование химических превращений основных компонентов органической части торфов после механической активации, изучение антиоксидантной и биологической активности полученных продуктов.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- выделить и определить количественное содержание отдельных групп органического вещества торфов;

- исследовать влияние механического воздействия, введения химических и ферментативных добавок на выход и состав выделяемых органических компонентов торфов;
- исследовать антиоксидантную и иницирующую способность продуктов механоактивации торфов;
- провести оценку биологической активности водорастворимой части препаратов из механоактивированных торфов;
- определить условия проведения механоактивации торфов, обеспечивающие максимальный выход водорастворимых компонентов для получения стимуляторов роста растений, предложить рекомендации по технологическому использованию механохимической активации торфа.

Научная новизна работы заключается в получении новых данных о механохимических превращениях органических компонентов торфов. Впервые проведено исследование состава и свойств органических компонентов торфов после механоактивации в присутствии ряда реагентов:

- Установлены изменения в содержании основных органических компонентов торфов после механохимической активации: повышается содержание водорастворимых компонентов и гуминовых кислот и снижается количество битумов. С помощью комплекса аналитических методов (гель-фильтрация, ИК-, ЯМР-спектроскопия) изучен молекулярный состав гуминовых кислот, полисахаридов и полифенолов механоактивированных торфов и установлено, что механохимические превращения характеризуются разрывом химических и гликозидных связей, уменьшением размера полимерных молекул и изменением количества функциональных групп в составе выделяемых фракций.

- Исследованы изменения каталитических свойств выделенных фракций механоактивированных торфов в процессе электровосстановления кислорода. Показано повышение ингибирующей активности водорастворимых фракций торфа и увеличение иницирующих свойств гуминовых кислот. В битумах

механоактивированных торфов обнаружены два типа антиоксидантов с повышенной реакционной способностью.

- Изучено биостимулирующее действие продуктов механохимической обработки торфов на клеточном и тканевом уровне *in vitro* и на уровне целого растительного организма в вегетационных опытах, что позволило адекватно оценить степень биологической активности вещества. Полученные водорастворимые вещества проявили способность к регулированию процессов роста и развития растений.

Практическая значимость работы определяется следующим:

Предложены технологические рекомендации по производству торфяного биостимулятора механохимической активацией, включающей совместную обработку торфа и химического реагента в мельнице-активаторе проточного типа. Преимущества этого процесса состоят в исключении из технологии большого количества химических реагентов, сокращении времени перевода твердых компонентов торфа в растворенное состояние, повышении их выхода, снижении материальных и трудовых затрат, повышении экологической и промышленной безопасности при переработке, хранении и транспортировке. Полученные результаты и сделанные выводы важны для решения задач, связанных с использованием торфа в сельском хозяйстве. Показана эффективность применения механохимической технологии переработки торфа для получения экологически чистых препаратов с высокой биологической активностью, которые могут быть использованы в сельском хозяйстве в качестве стимуляторов роста растений, а также в биотехнологии в качестве фитогормонов для инициации морфогенетических процессов *in vitro*. Практическое использование торфяных препаратов в растениеводстве будет способствовать усилению роста и развитию сельскохозяйственных растений, что в конечном итоге обеспечит получение более высоких урожаев.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Результаты определения количественного содержания и химического состава основных органических компонентов торфов до и после механоактивации в различных условиях.

2. Результаты исследования антиоксидантной и биостимулирующей активности продуктов механоактивации торфов с помощью физико-химических методов и биотестирования.

3. Технологические рекомендации по производству биостимулятора из верхового сфагнового торфа путем механохимической обработки.

Работа выполнялась в рамках Интеграционного проекта СО РАН № 35 «Химические и структурные превращения трудногидролизующих компонентов торфов в процессах механоактивации и получение эффективных регуляторов роста растений и микроорганизмов».

Апробация работы. Основные положения работы докладывались на Международной научно-практической конференции «Высокие технологии добычи, глубокой переработки и использования озерно-болотных отложений», Томск, 2003; International Conference «Mechanochemical Synthesis and Sintering», Новосибирск, 2004; IV съезде Докучаевского общества почвоведов «Почвы – национальное достояние России», Новосибирск, 2004, III Всероссийской конференции «Гуминовые вещества в биосфере», Санкт-Петербург, 2005.

Публикации. По материалам диссертационной работы опубликовано 8 научных работ: 4 статьи, 4 тезисов докладов.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, пяти глав, выводов, списка литературы из 168 наименований. Работа изложена на 154 страницах, содержит 28 таблиц и 23 рисунка.

Автор считает приятным долгом выразить благодарность научному руководителю кандидату технических наук Наталье Васильевне Юдиной и доктору химических наук Олегу Ивановичу Ломовскому за неоценимую помощь в работе над диссертацией.

1. СОВРЕМЕННЫЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О МЕХАНОАКТИВАЦИИ ТВЕРДЫХ КАУСТОБИОЛИТОВ

Повышение продуктивности сельскохозяйственного производства является неотъемлемым условием устойчивого развития общества. Перспективы роста в растениеводстве связывают с рядом факторов, в частности с широким использованием регуляторов роста растений. Современные синтетические регуляторы роста, как правило, не являются экологически чистыми и имеют высокую стоимость, что ограничивает их применение. Создание новых экономичных и экологически чистых технологий выделения биологически активных веществ из растительного сырья на сегодняшний день является актуальной проблемой.

Изучение изменений в составе и свойствах основных компонентов торфов при механохимической обработке представляет самостоятельный интерес с точки зрения их использования как источника биологически активных веществ и создания препаратов физиологического действия [10-13]. Существует ряд интересных работ, резюмируя которые можно оценить состояние исследований в области механохимии природных каустобиолитов и получить сведения о биологически активных веществах торфов.

1.1. Химический состав органического вещества торфа

Согласно современным представлениям торф - самое молодое полезное ископаемое, открывающее генетическую ветвь природных каустобиолитов - твердых топлив: торф - бурые угли - каменный уголь - антрацит.

Торф – это полукolloидная высокомолекулярная многокомпонентная полифракционная гидрофильная система [4, 5, 14, 15]. Он образуется в результате биохимического превращения растительных остатков в переувлажненных условиях при ограниченном доступе кислорода. Для образования торфа необходимо

накопление и сохранение большого количества растительных веществ. Основным источником торфообразования являются болотные растения. Почти сразу же после отложения остатков отмерших растений на поверхности земли начинаются их биохимические и геохимические изменения, а также механическое измельчение и уплотнение. На поверхности земли эти изменения происходят в окислительных условиях, но после того, как ранее отложившиеся растительные остатки перекрываются позже отлагающимися органическими остатками, окислительная обстановка сменяется восстановительной. Реакция среды обычно нейтральная или слабокислая на поверхности, становится все более кислой по мере увеличения глубины погружения [14].

В разных геохимических обстановках встречаются разные популяции бактерий и грибов. Бактерии избирательно разлагают углеводную и белковую части растительных клеток. Более устойчивые ее компоненты относительно накапливаются или же, вступая в реакции меланообразования, конденсации и другие, дают начало гуминовым веществам торфа [16].

Разнообразие условий формирования торфяной залежи и участие в этом процессе всевозможной болотной флоры приводит к образованию торфов различного химического состава, в нем содержится большое количество весьма ценных органических и неорганических соединений. В химическом составе торфа сочетаются соединения растительного происхождения, продукты их распада и вторичного микробного и биохимического синтеза. В торфообразованиях содержится много различных гликозидов, алколоидов, сапонинов, дубильных веществ, эфирных масел и других физиологически активных соединений. Учитывая, что в торфообразовании активное участие принимают низшие грибы, антиномицеты и бактерии, то к выше перечисленным веществам следует добавить еще антибиотики, ферменты, витамины.

Однако в пределах любого вида торфа прослеживается зависимость: чем глубже протекает процесс торфообразования, тем больше накапливается в его составе

гуминовых веществ и тем меньше сохраняется органических соединений углеводного характера [17].

Состав и свойства торфа во многом определяются химическими особенностями исходного растительного материала. Растения-торфообразователи разных видов (сфагновые мхи, осоки, кустарники, лиственные и хвойные деревья) существенно отличаются по химическому составу и свойствам [4, 14]. В зависимости от условий образования, состава исходных растений-торфообразователей, особенностей питания все торфы делят на три типа: низинные, верховые и переходные [4, 5, 14, 18]. Верховой торф образуется в верховых болотах, увлажняется преимущественно атмосферными осадками, он почти полностью органический, неминерализованный. Здесь поселяются растения, нуждающиеся в минимальном количестве питательных веществ: пушица, сфагновые мхи, клюква, багульник и др. Низинные торфа образуются на богатых питательными веществами пониженных местах рельефа, увлажняются подземными, грунтовыми водами. Растительность низинных торфяников весьма разнообразна, в них встречаются заросли тростника, хвощей, осоки, зеленые мхи, ольха, береза. Переходные торфа занимают среднее положение между низинным и верховым торфом [19].

Состав органических компонентов торфов и их генезис рассмотрен в многочисленных трудах различных исследователей [4, 5, 11, 14, 15, 20- 23].

Традиционно в составе органического вещества (ОВ) торфа различают следующие основные группы веществ: битумы, углеводный комплекс, лигнин и гуминовые кислоты [4, 5].

1.1.1. Гуминовые полифенольные полимерные вещества

Гуминовые вещества (ГВ) торфа представляют собой высокомолекулярные органические азотсодержащие кислоты нерегулярного строения и отличаются большой сложностью состава. Источником их образования являются органические соединения растений [4, 16, 24]. Образование ГВ происходит в две стадии. На первой

стадии растительное вещество механически разрушается и деполимеризуется с помощью микроорганизмов, разлагаясь на ароматические, фенольные и карбоксилсодержащие фрагменты. На второй стадии происходит нерегулярная полимеризация и поликонденсация молекулярных фрагментов, в результате чего образуются гетерополиконденсаты гуминовых кислот (ГК) [4, 17, 24, 25].

По современным взглядам ГВ составляют группу соединений торфа, угля, почв и некоторых других горных пород, обладающих способностью растворяться в щелочи и осаждаться кислотами в виде аморфных веществ. Из трех групп ГВ – ГК, фульвокислот (ФК) и гумина; относительно детально изучены ГК, а наименее – гумин (нерастворимый остаток) [17, 26].

Как выше отмечалось, ГК составляют одну из основных частей компонентного состава органического вещества торфов. В настоящее время все предложенные формулы ГК построены на основе данных по изучению продуктов деструкции. Разные же методы деструкции дают и разные фрагменты структур. Поэтому все формулы позволяют говорить лишь о вероятной средней формуле структурной ячейки [4, 27, 28]. На рисунке 1.1. приведена блок-схема, предложенная Мистерски и Логиновым, и гипотетическая формула ГК по Орлову, отражающие известные сегодня данные по составу и свойствам ГК [28, 29].

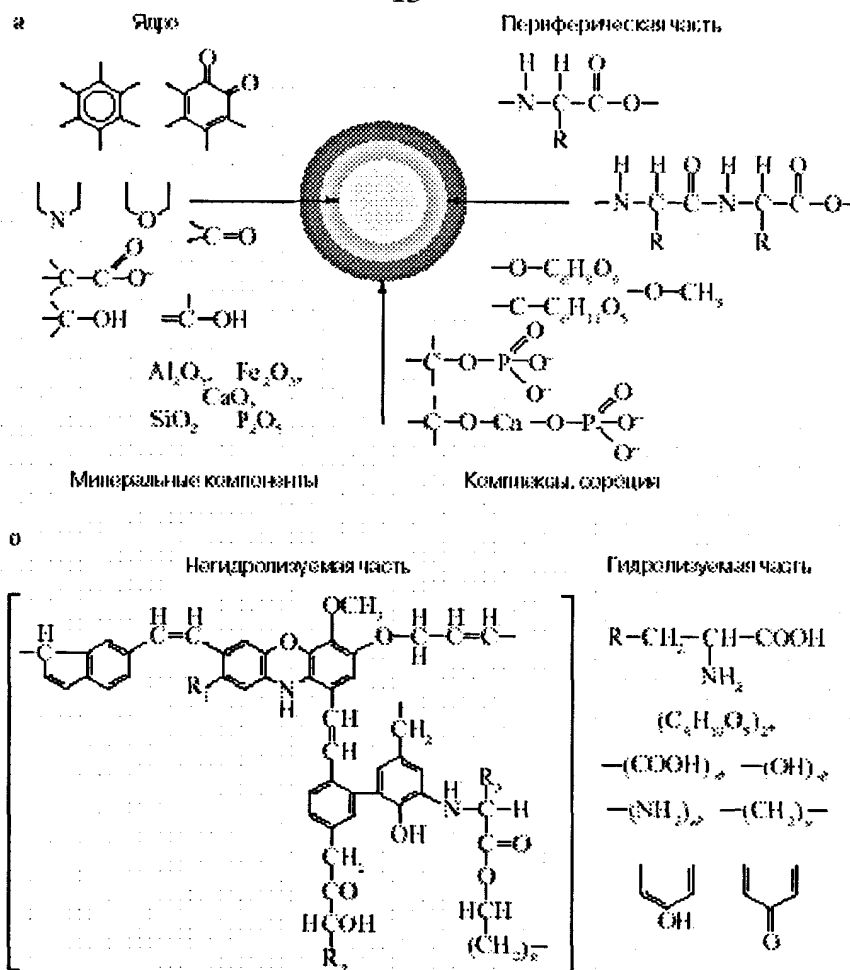


Рисунок 1.1. Блок-схема гуминовой кислоты по Мистерски и Логинову (а), гипотетическая формула гуминовой кислоты по Орлову (б).

Общепризнанной структуры макромолекул ГК до настоящего времени нет. Бесспорно в структурных единицах установлено наличие упорядоченной конденсированной и неупорядоченной составляющих.

Молекулярные параметры ГВ необходимо рассматривать как фундаментальную важнейшую характеристику, необходимую как для решения задачи строения ГК. Вопрос о молекулярных массах (ММ) ГК не решен, что связано с их полидисперсностью, ограниченной растворимостью, переменным составом и сильной окраской. Для ГК ММ, найденные химическими методами, находятся в пределах 1300 – 13000, физические методы осмометрии, криоскопии, вискозиметрии дают величины 700 – 26000, методы центрифугирования и светорассеяния – 30000 – 80000 [27, 28, 30, 31].

В зависимости от вида торфа, степени разложения и способов выделения ГК имеют элементный состав в следующих пределах: С = 46 + 61%, О = 31 + 40%, Н = 2,8 + 6,6 %, сера и фосфор находятся конституционно, последний частично связан и с Fe. Элементный состав ФК несколько иной: : С = 40 + 52 %; Н = 4 + 6%; N = 2 + 6%; О = 40 + 48% [4]. Важную информацию о структуре ГВ несут отношения С/Н, С/О, С/Н, которые выражают степень конденсированности структуры, ее окисленности и включенности азота в молекулу, соответственно. Первое и последнее отношения наибольшие в ГК, второе – в ФК [24].

Максимально стабильный фрагмент структуры ГК – это ароматический каркас, который составляет в ядерной части в среднем 35 %. Ароматические кольца связаны эфирными связями и алифатическими мостиками. При ядре и алифатической периферийной части макромолекул содержатся различные функциональные группы, обуславливающие разнообразие их химических свойств [16, 18, 27, 32]. Функциональные группы являются наиболее динамической частью структуры ГК. Многочисленные данные функционального анализа и ИК-спектроскопии свидетельствуют о наличии в структуре ГК фенольных гидроксидов и карбонильных групп [16, 17, 28]. О фенольном характере химической структуры ГК позволяют судить продукты их расщепления, среди которых обнаружены: резорцин, флороглюцин, пирогаллол – возможные компоненты растительных флавоноидов, а также ванилиновая, сиреневая, протокатехиновая кислоты – возможные компоненты лигнина [24, 33]. Наличие в ГК значительного числа фенольных гидроксидов, а также хиноидных групп, определяет их биохимическую устойчивость, склонность к окислительно-восстановительным превращениям и высокую комплексообразующую способность [16].

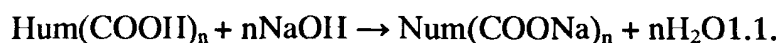
В верхних горизонтах залежей торфов ГК наиболее окислены, следовательно, имеют повышенное содержание кислородсодержащих групп и высокую реакционную активность. В нижних слоях залежи ГК не только менее окислены, но более ароматизированы и характеризуются большей химической устойчивостью.

Одной из важных характеристик ГК является высокое содержание в них парамагнитных центров, природа которых может быть обусловлена наличием стабильных свободных радикалов [34].

Высокая реакционная способность ГК обуславливает некоторые полезные практические свойства этого класса соединений. ГВ выполняют очень важные биогеохимические и физиологические функции, определяемые их составом и свойствами. Установлена высокая сорбционная и фиксирующая способность ГК по отношению к металлам. Присутствие остаточной кислотности в органоминеральных комплексах свидетельствует о неполном участии кислых функциональных групп в связывании металлов [4, 35, 36]. Важная роль ГВ заключается в фиксации азота в почве. Установлено, что формы азота в ГВ отличаются большим разнообразием [37, 38]. Среди них – аммонийный, гетероциклический, аминокислотный. В составе ГВ в торфах накапливается до 90-99% всего азота почвы. В этой же форме аккумулируются и сохраняются длительное время фосфор, сера, калий, кальций, магний, железо и практически все необходимые микроорганизмам микроэлементы.

ГВ – известные стимуляторы роста растений и активные сорбенты гербицидов различных химических классов [11, 38, 39]. ГВ принимают участие в регулировании практически всех важнейших почвенных свойств. От количества и свойств ГК в торфах зависят емкость катионного обмена, ионно-солевая и кислотно-основная буферность торфов, некоторые проявления окислительно-восстановительных режимов.

Основной особенностью ГВ является их способность образовывать соли; на этом свойстве основано выделение ГК из торфа, угля, почв. Так, обработка торфа раствором NaOH дает растворимые гуматы Na [4, 17]:



Фульвиновые кислоты (ФК) – низкомолекулярная часть гуминовых кислот. Строение ФК отличается меньшей ароматичностью, значительным преобладанием алифатических заместителей. Качественный состав функциональных групп такой же, что и у ГК, но количество гидроксильных и метоксильных групп в ФК больше. В

целом, состав ФК изучен гораздо хуже, чем ГК, поэтому до сих пор нет достаточной ясности в отношении их структуры [4, 24].

Содержание ГК в торфе колеблется от 5 до 52%, при этом оно увеличивается от моховых к древесным видам и от верхового к низинному типам торфа. Среднее содержание ГК составляет 39,1; 37,7 и 24,5% для низинного, переходного и верхового типов торфа. Такое различие обусловлено режимом минерального обмена торфяных месторождений. В то же время содержание ФК находится в обратной зависимости: 16,8; 17 и 17,9% (низинный, переходный, верховой). Кислая реакция способствует гидролизу ГК и снижает активность микроорганизмов, разлагающих ГВ. В условиях высокой биологической активности ФК, как менее устойчивые вещества, разлагаются быстрее, и их количество уменьшается. Было отмечено, что с увеличением глубины залегания и степени разложения увеличивается содержание ГК. Повышение количества ГК в торфе сопровождается обязательным снижением количества водорастворимых, легкогидролизуемых веществ [4, 14].

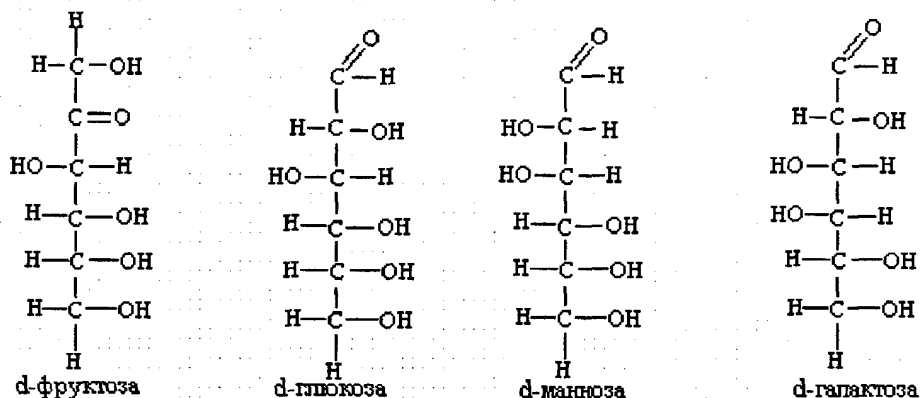
Таким образом, гуминовые вещества торфов характеризуются чрезвычайным химическим разнообразием и широким спектром биологического действия. Изучение общих закономерностей формирования состава и свойств гуминовых веществ под воздействием внешней среды и генетических факторов позволяет углубить представления о возможностях этого ценного органического сырья.

1.1.2. Углеводы торфов

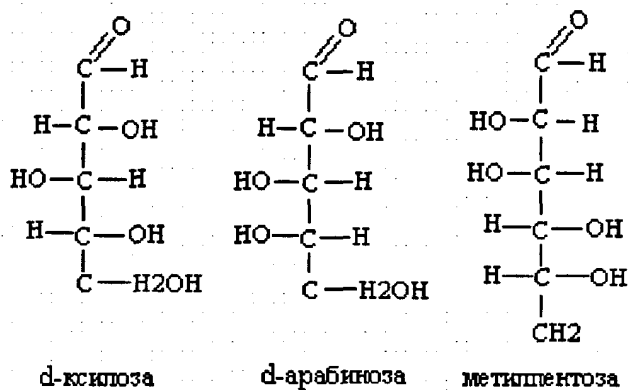
Углеводный комплекс торфа представлен тремя группами: водорастворимые, легкогидролизуемые и трудногидролизуемые соединения. Углеводы составляют основу веществ, выделяемых из торфа горячей водой или растворяющихся в ней после гидролиза в присутствии минеральных кислот [4, 14].

Большую группу соединений торфа представляют водорастворимые и легкогидролизуемые углеводы. Среди водорастворимых (ВР) углеводов, сосредоточенных преимущественно в растительных остатках торфа, различают

простые углеводы (моносахариды) и сложные – дисахариды и полисахариды (ПС). К важнейшим моносахаридам торфа относятся гексозы, пентозы. Гексозы представлены фруктозой, глюкозой, маннозой, галактозой [4, 40]:



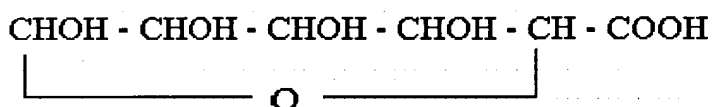
Наиболее распространенными пентозами являются ксилоза, арабиноза и метилпентоза:



Кроме моносахаридов в торфе находятся растворимые в холодной воде дисахариды, построенные из гексоз: сахароза, лактоза, мальтоза, целлобиоза.

ПС торфа представляют собой высокомолекулярные соединения, образующиеся при поликонденсации моносахаридов. Чаще всего в составе ПС встречается D-глюкоза. Нередко ПС имеют заместители неуглеводной природы (остатки органических кислот и др.). Их молекулярная масса колеблется в широких пределах – от нескольких тысяч до нескольких миллионов [41].

К группе веществ торфа, растворимых в горячей воде до образования коллоидных растворов, относятся полисахариды типа крахмала, пектиновые вещества, склеивающие отдельные волокна растительного материала [4]. Пектиновые вещества представляют собой сложный химический комплекс пентоз, гексоз и уроновых кислот (галактуроновая, глюкуроновая и др.) типа:



Молекулярная масса пектиновых веществ колеблется от 3000 до 28000. Отличительной особенностью их является высокая гидрофильность и клеящая способность.

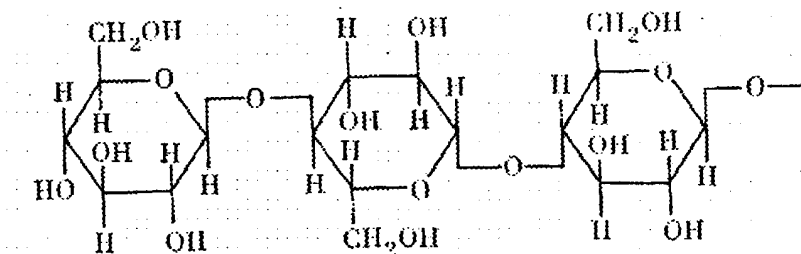
К соединениям, растворимым в воде только после гидролиза слабыми кислотами, относятся легкогидролизуемые соединения (ЛГ) или гемицеллюлозы [42]. Эту группу веществ образуют пентозаны (ксилан, арабан), гексозаны (маннан, глюкан, галактан) и уроновые кислоты (глюкуроновая кислота, галактуроновая кислота) [4]. Гидролиз этих соединений приводит к получению пентоз ($\text{C}_5\text{H}_{10}\text{O}_5$) и гексоз ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$):



Гемицеллюлозы входят в состав клеточных неразложившихся остатков растений и как полисахариды (пентозаны и гексозаны) могут сохраняться в залежах десятками тысячелетий, придавая прочность растительным остаткам. При гидролизе пентозанов $(\text{C}_5\text{H}_8\text{O}_4)_x$ получают α -ксилозу или l-арабинозу. При нагревании с минеральными кислотами умеренной концентрации пентозы в результате дегидратации переходят в фурфурол. Из пентозанов наибольшее значение имеет ксилан – полисахарид, дающий при гидролизе α -глюкозу.

В состав ЛГ соединений торфа входят также азотосодержащие вещества белковой природы, прежде всего α -аминокислоты, которые начинают отщепляться от органических компонентов в самых мягких условиях гидролиза (1%-ной H_2SO_4) [40].

Гидролизуемая в присутствии концентрированной серной кислоты (трудногидролизуемая) (ТГ) часть органического вещества торфа представлена высокомолекулярными производными углеводов и отождествляется с целлюлозой [4, 14]. Целлюлоза – наиболее распространенный природный полимер с молекулярной массой 30000 – 600000, состоящий из Д-глюкозидных остатков. Общеизвестная структурная формула молекулы целлюлозы имеет вид:



Она составляет основную массу клеточных стенок, а также является запасным питательным веществом растений. Под действием концентрированных кислот происходит гидролиз целлюлозы с образованием α-глюкозы (C₆H₁₀O₅) [5].

Молекулярные взаимодействия в целлюлозе осуществляются в основном водородными связями и в отдельных случаях силами химической природы. Целлюлоза торфа, как и другие природные целлюлозы, имеет фибриллярную структуру. Макромолекулы в фибриллах расположены параллельно друг другу и вдоль фибрилл. Они образуют по направлению главной оси чередующиеся уплотненные ТГ участки. В торфяных системах через неупорядоченные образования происходит, прежде всего, взаимодействие целлюлозы с другими органическими соединениями и продуктами их распада. В процессе распада растений-торфообразователей содержание целлюлозы существенно уменьшается. Причем особенно быстро и наиболее полно протекает этот процесс в низинных торфах. Различные виды и типы торфа значительно отличаются по содержанию целлюлозы. Чем больше степень разложения торфа, тем меньше в нем целлюлозы. Наибольшее количество целлюлозы находится в древесине (40- 50%) и сфагновых мхах (17- 32%).

Состав углеводного комплекса торфов различен, что, прежде всего, определяется типом болотной растительности. Изменение условий минерального

питания приводит к смене растительных ассоциаций, а, следовательно, и к изменению соотношений в компонентах углеводного комплекса и биохимической устойчивости в целом [14].

Общее количество сахаров в продуктах гидролиза принято характеризовать показателем «редуцирующие вещества» (РВ). В первом приближении можно считать, что РВ составляют примерно 50% от ВР+ЛГ и более 90% от ТГ. Выход РВ зависит от условий проведения гидролиза. Для торфа, в целом, содержание ВР+ЛГ находится в пределах 6,9-63% и уменьшается с увеличением степени разложения и при переходе от торфа моховой группы к древесной. Целлюлоза биохимически непрочна, поэтому в процессе торфообразования количество ее закономерно снижается с увеличением степени разложения [4, 40, 43].

Углеводы торфов являются исходным сырьем для получения этилового спирта, фурфурола, многоатомных спиртов, α -аминокислот, белковых дрожжей и других ценных продуктов [15].

Следует отметить, что растительные ПС обладают широким спектром биологического действия [44, 45]. По-видимому, роль сахаридов не сводится к участию в процессах усвоения энергии, накопления и транспорта питательных веществ. В настоящее время активно исследуется физиологическая активность неусваиваемых ПС в организмах животных и в отношении к микроорганизмам. Маннанолигосахариды рассматриваются как экологически безопасная альтернатива кормовым антибиотикам [46].

Развитие современного сельскохозяйственного производства ориентируется на расширение использования регуляторов роста растений, которые повышают всхожесть семян, способствуют формированию здоровых, крепких всходов и сокращают время их появления, что, в конечном счете, ведет к повышению урожайности сельскохозяйственных культур [47, 48]. Активными регуляторами роста и развития растений являются не только фитогормоны агликоновой природы (гибберелины, абсцизовая кислота и др.), рост-регулирующей активностью обладают

гликозиды растительного происхождения, содержащие в своем составе сахараиды [49]. Практически мало известно о биологическом действии торфяных ПС.

1.1.3. Битумы торфов

Большой класс органических соединений торфа и растений-торфообразователей, извлекаемых органическими растворителями (бензолом, бензином, спиртом, эфиром, ацетоном, хлороформом и др.) относятся к битумным системам [42].

Битумы наиболее богаты водородом в сравнении с другими компонентами, входящими в состав торфа. Элементный состав битумов, экстрагированных из торфа, следующий: C=70,4 (65-75); H=10 (9-12) и N=0,53 (0,36-0,67)% [5]. Битумные соединения являются химически и биологически наиболее устойчивой частью растений и мало изменяются при переходе от органической массы в горючее ископаемое. Химический состав битумов растений-торфообразователей низинных и верховых болот, а также таковых типов торфа различен [14]. В состав битумов входит ряд соединений, которые объединяют по сходным признакам в группы (воска, парафины, масла, асфальтены) [41]. Верховые торфообразователи содержат наиболее стойкие битумные соединения (воск, предельные углеводороды и их производные) и продуцируют высокобитуминозные виды торфа [50]. Не менее богатые битумами растения низинных болот образуют малобитуминозные виды торфа, частично вследствие наличия биохимических неустойчивых индивидуальных компонентов (хлорофилла, кислородсодержащих и ненасыщенных соединений). В состав битумообразователей растений входят жиры и растительные масла, представляющие собой смесь сложных эфиров глицерина и высокомолекулярных жирных кислот; воски. К этим основным группам выделяемых битумов в зависимости от употребляемого экстрагента примешиваются углеводороды парафинового ряда, высшими членами которого являются твердые парафины, циклические терпеновые

углеводороды и другие соединения. Наибольшую практическую ценность представляют воска, составляющие основу бензинового экстракта [51]. Основной частью восков являются свободные и связанные (в виде сложных эфиров) карбоновые кислоты, в основном нормального строения с числом углеродных атомов $C_4 - C_{28}$. В восках установлено также наличие предельных углеводородов (тритриаконтан, пентатриаконтан) и оксикислот [18, 52].

Следует отметить, что все входящие в состав битумов соединения сами по себе отличаются большой сложностью [41].

Битумы составляют гидрофобную часть торфа и могут в нем присутствовать как в свободном, так и в связанном состоянии. По современным представлениям битумы – олеофильная дисперсная система. Элементарной структурной единицей битумов является мицелла, состоящая из конденсированного асфальтенового ядра со стабилизирующей пленкой смол. Дисперсной средой в битумах служат масла. Смолы придают битумам вязкость и пластичность [5].

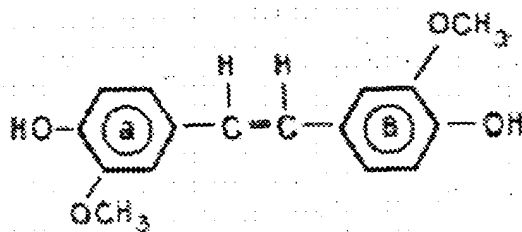


Рисунок 1.2. Схема молекулярной группировки смолистой части битумов [14].

Торфяные битумы следует рассматривать как кристаллизационные структуры, проявляющие пластические свойства в силу высокой пластичности слагающих кристаллов. К кристаллическим составляющим битумов относятся парафины, воска и большая часть индивидуальных составляющих восков, а к аморфным – масла и асфальтены. В состав торфяных битумов входят и минеральные вещества. Зольность битумов мала и составляет 0,12-0,94% [53].

Количество выделяемых битумов зависит от вида растворителя и природы торфа [4]. Содержание битумов, растворимых в бензоле, колеблется в пределах от 1,2 до 17,7%. Их состав представлен асфальтенами (40-50%), восками (около 20%), парафинами (около 15%) и маслами (15-20%). Из растений-торфообразователей

наибольшее количество битумов содержат вересковые кустарники, а наименьшее – мхи. Можно отметить для всех типов торфов общую тенденцию роста битуминозности с увеличением степени разложения. Содержание битумов в торфе верхового типа увеличивается от моховых видов к древесным. Различная битуминозность объясняется разным начальным содержанием битумов в растениях и вторичными процессами, протекающими в торфе. Наиболее битуминозными являются пушицевые, сосново-пушицевые, пушицево-сфагновые виды торфа верхового типа. В торфе низинного типа содержание битумов тесно связано с составом золы, в первую очередь с содержанием кальция. Увеличение в торфе концентрации кальция влечет уменьшение содержания битумов.

Изучение изменений в составе и свойствах битумов торфов, подвергнутых механохимической обработке, представляет самостоятельный интерес с точки зрения их использования как источника биологически активных веществ и создания препаратов физиологического действия. Выявлено кардинальное значение битумов как активных компонентов биологических мембран [41]. Внимание привлекают антиоксидантные свойства битумов, их способность тормозить радикальные, в том числе окислительные процессы [10, 54, 55]. Широкое применение в народном хозяйстве получил торфяной воск, используемый для производства обувных кремов, эмульсий, технических бумаг. На основе физиологически активных соединений торфяного воска – стеринов разработаны фармакологические и косметические препараты [11, 56].

1.1.4. Физико-химическое взаимодействие основных органических компонентов торфа

Основу торфа составляют остатки твердых полимеров целлюлозной природы и продукты их распада, находящиеся в равновесии с водным раствором низко- и высокомолекулярных органических веществ [4]. Неорганическая часть представлена в торфе нерастворимыми минералами разной природы, адсорбционными

образованиями минералов с гуминовыми веществами, неорганическими компонентами торфяной воды, ионообменными гетерополярными органо-минеральными комплексами.

Основными кинетическими единицами торфяных систем являются проницаемые для молекул воды и ионов агрегаты-ассоциаты макромолекул компонентов [57, 58].

В торфе следует различать макро- и микроструктуры. Из неразложившихся остатков растений-торфообразователей образованы легкодеформируемые структуры переплетения. Степень их развития определяется глубиной биохимического распада торфообразователей. Ячейки структур переплетения заполняют микроструктуры торфа, формирующиеся из надмолекулярных образований продуктов распада, а также индивидуальных органических и минеральных соединений. Посредством сил различной природы эти соединения объединяются в ассоциаты (агрегаты), образуя внутри- и межагрегатные структуры различной компактности. В пределах ассоциатов могут сосуществовать волокна, обрывки растительных тканей разной дисперсности, битумные частицы, продукты распада и минеральные включения. Все эти компоненты образуют гамму нестабильных комплексов, компактность определяется природой торфа, энергией и характером межмолекулярных сил. Основу последних составляют взаимодействия между активными функциональными группами (COOH, OH и др.) посредством водородных связей, межмолекулярные Ван-дер-ваальсовские взаимодействия, кулоновские взаимодействия ионов.

Гидрофильность торфа обусловлена наличием в структуре его компонентов активных функциональных групп (COOH, OH и др.), способных удерживать молекулы воды за счет водородных связей. Гидрофобные составляющие торфа, в основном битумы, термодинамически неустойчивы и сосуществуют с другими компонентами торфа. Наличие в торфе гидрофильных полукolloидов, стабилизированных гидрофобных включений, а также растворов и дисперсий высокомолекулярных соединений придает ему специфические свойства, отличающие его от типичных коллоидных гетерогенных систем.

Основными компонентами торфа, определяющими его практическое использование, являются гуминовые вещества и, в частности, гуминовые кислоты, которые отличаются большой сложностью состава [17, 32, 33]. В результате взаимодействия гуминовых веществ с минералами образуются органо-минеральные комплексы, которые составляют основную часть торфяной массы. В этом взаимодействии проявляется одна из специфических сторон торфообразования как особого природного процесса. Свойства минерально-гумусовых образований отличаются от свойств исходных компонентов и определяют многие важнейшие признаки торфа. Глинистые минералы сорбируют широкий набор органических соединений, включая простые кислоты, спирты, альдегиды, кетоны, амиды, пептиды, различные физиологически активные вещества

Гуминовые кислоты, экстрагированные из торфа, с физико-химической точки зрения можно рассматривать как термодинамически неравновесные высокомолекулярные системы типа полиэлектролитов [27]. Кинетическими единицами таких систем являются рыхлые физически и химически неоднородные ассоциаты – глобулы, состоящие из макромолекул гуминовых кислот, агрегатов белковой и полиозной компонент. Вследствие гибкости макромолекул отдельные мозаичные участки ассоциатов могут быть определенным образом ориентированы вследствие взаимодействия с участием ионов многовалентных металлов. Упорядоченные области могут образовываться также в результате образования водородных связей и межмолекулярных взаимодействий.

Другой важной группой органических соединений торфа являются углеводы. Мономеры углеводов (гексозы, пентозы, уроновые кислоты) включают ряд активных функциональных групп (карбоксил, гидроксил и др.), за счет которых посредством водородных связей, донорно-акцепторного взаимодействия, химических и межмолекулярных сил образуются сложные органические комплексы полисахаридов, сосуществующие с другими компонентами торфа.

Наличие разнообразных функциональных групп и радикалов (аминных, карбоксильных, гидроксильных, сульфидных и др.) обуславливает огромное

разнообразие структур органических веществ торфа и различную природу связей с компонентами растений-торфообразователей и продуктами распада. Макромолекулы гуминовых веществ и углеводов посредством функциональных групп, а также через молекулы воды и ионы многовалентных металлов, образуют самостоятельные комплексы между собой и с другими компонентами органического вещества торфа [4, 17].

Таким образом, с физико-химической точки зрения торф можно отнести к классу сложных многокомпонентных полидисперсных полукolloидно-высокомолекулярных систем [4].

1.2. Особенности механоактивации твердых тел

Перестройка промышленности с ориентировкой на самокупаемость, повышение требований к качеству продукции, интенсификация технологических процессов, переход на ресурсосберегающее производство неразрывно связаны с научно-техническим прогрессом и ускорением внедрения достижений науки в практику.

Активация измельчением, или механическая активация (МА), как новый способ ускорения физико-химических процессов находит все более широкое применение. В ее основе лежит изменение реакционной способности твердых веществ под действием механических сил [7, 8]. Поскольку в большинстве случаев химическая переработка твердых материалов без их предварительного измельчения практически невозможна, механическая обработка с целью диспергирования и активации является одной из важнейших технологических операций. Она уже используется как средство ускорения технологических процессов или способ улучшения технологических параметров режима обработки сырья [59].

Известно, что вещества в тонкодисперсном состоянии характеризуются не совсем обычными свойствами: они становятся химически более активными, плавятся при более низких температурах, лучше спекаются и т.д. Так же известно, что

физические процессы трения или измельчения, связанные с приложением механических сил, становятся причиной химических реакций. Особый класс химических процессов, обусловленных приложением механических сил, был выделен В. Освальдом в 1887г.; им же введен в литературу термин «механохимия». В этом названии отражается причинная зависимость химической реакции от способа ее инициирования [60].

Механохимией называется наука, изучающая химические и физико-химические процессы, протекающие под действием механической энергии. Основными задачами механохимии являются изучение механизма реакций, происходящих под действием механического воздействия на вещество и выяснение причин, в силу которых реакционная способность твердых веществ изменяется после механического воздействия [7, 61].

Детальные исследования в этой области проводятся с 1960-х годов. За это время были предложены различные гипотезы, объясняющие изменение свойств и реакционной способности веществ после механического воздействия, и механизмы механохимических реакций. Экспериментальные данные наиболее хорошо согласуются с моделью МА [7]. Она заключается в том, что в результате механического воздействия в некоторой области твердого тела создаются поля напряжений. Последующая релаксация поля напряжений может происходить разными путями: может выделяться тепло, могут образовываться новые поверхности, дефекты в решетке кристаллов, могут возбуждаться химические реакции в твердой фазе. Преимущественное направление релаксации зависит от свойств материала (вещества), условий воздействия и свойств частицы. От этих же параметров зависит и направление возбуждаемой химической реакции.

Основными способами механического воздействия на твердые тела при измельчении являются удар и трение [8, 59].

Экспериментально при механическом воздействии на твердые вещества наблюдались разнообразные физические эффекты:

- выделение тепла, вызывающего разогрев измельчаемого материала;

- увеличение свободной поверхности вещества;
- нарушение сплошности измельчаемого материала, сопровождаемое разрывом химических связей вещества (механолиз, механокрекинг и т.п.), образование некомпенсированных химических связей или свободных радикалов, обладающих запасом «избыточной» энергии;
- медленная релаксация деформаций и остаточных напряжений в твердых телах при невысокой температуре, приводящее к тому, что обработанное вещество какое-то время обладает запасом «избыточной» энергии;
- искажение кристаллической решетки, приводящее к возникновению точечных дефектов и линейных дислокаций, также несущих соответствующий запас «избыточной» энергии;
- частичная или полная аморфизация кристаллических веществ;
- излучение электромагнитных волн в широком диапазоне, в том числе звуковых и световых;
- эмиссия электронов и возникновение разности потенциалов между отдельными участками твердого вещества [6, 59, 62, 63].

Для реализации эффекта активации химических реакций предварительной механической обработкой твердых кристаллических веществ наиболее важными оказались процессы образования и превращения дефектов кристаллов. В механохимических превращениях полимеров основную роль играют разрыв внутримолекулярных связей. В гетерогенных реакциях особенно важно развитие поверхностей, доступных для превращения, а в реакциях, контролируемых диффузией, – возможность перемешивания компонентов реагентов вплоть до «молекулярного» или «ионного» перемешивания.

Современное научное направление в области изучения тонкодисперсных систем и физико-химических процессов создано трудами ряда ведущих ученых: П.А.Ребиндера, В.В. Болдырева, Б.В. Дерягина, П.Ю.Бутягина, Е.Г.Аввакумова, Н.А. Кротовой, В.Д. Кузнецова и др. [59].

Развитие механохимии связано с конструированием измельчающей техники и ростом потребностей промышленности в тонкодисперсных материалах. Как в промышленности, так и в лаборатории для механической обработки твердых веществ, приводящей к химическим последствиям, используются различные специальные измельчительные аппараты – мельницы. Существует два типа мельниц – свободного и стесненного удара. К первому типу относятся дезинтеграторы различных разновидностей, а ко второму – шаровые вибрационные и планетарные мельницы.

Устройство и характеристика аппаратов, используемых для МА, подробно описаны в ряде работ российских исследователей [7, 8, 59, 64]. В настоящее время создано большое количество планетарных, виброцентробежных и других механохимических реакторов, обеспечивающих высокую концентрацию энергии в единице рабочего объема и значительную производительность аппаратов при их относительно малых габаритах. Исторически сложилось так, что основными объектами механохимии являются неорганические вещества и полимеры. Механохимия этих соединений уже вышла из рамок лабораторных исследований и нашла применение в различных отраслях промышленности [8, 59, 63, 65]. Ежегодно выходят сотни статей из области механохимии, из которых крайне незначительная часть приходится на исследования по механоактивации природных каолинитов [1, 7, 8, 59, 62, 66, 67].

Уже сейчас можно определить перспективы использования МА в целом ряде областей науки и производства. Активация измельчением позволяет усовершенствовать существующие способы переработки полезных ископаемых и наметить пути создания совершенно новых технологических схем химического обогащения руд, вскрытия минерального сырья и комплексного (малоотходного) использования природных ресурсов. Существуют широкие возможности применения МА в производстве удобрений (фосфоритовая мука), строительных материалов (силикальцит), в технологии угля и других горючих ископаемых [6, 59]. Активированные измельчением вещества характеризуются высокой сорбционной

способностью, что позволяет использовать их в качестве катализаторов или для очистки промышленных вод, для улавливания ценных (вредных) компонентов. Кроме того, МА широко используется в ряде технологических процессов фармацевтической и медицинской промышленности [67, 68].

1.3. Изменение физико-химических свойств основных компонентов каустобиолитов при механической обработке

Использование твердых горючих ископаемых в различных технологических процессах во многих случаях предполагает их измельчение. При этом в процессе диспергирования происходит не только изменение геометрических размеров отдельных зерен и изменение их удельной поверхности, но и деструкция отдельных химических связей, образование макрорадикалов, которые инициируют развитие различных химических реакций и позволяют изменять как химические, так и физические свойства исходного сырья [63, 69].

1.3.1. Превращения гуминовых компонентов торфов и бурых углей при механической обработке

Большая часть исследований по МА твердых природных каустобиолитов посвящена углям [6]. Ранее считалось, что при диспергировании угля вследствие наложения механической нагрузки, увеличение его активности происходит за счет образования новых и раскрытия ранее недоступных пор, с увеличением внешней и внутренней поверхности угля. Однако, результаты последних работ показывают, что помимо увеличения удельной поверхности, наблюдается целый ряд физико-химических явлений: появление свободных радикалов; химические изменения, связанные с разрывом химических связей органических веществ угля, а также с изменением молекулярно-массового распределения, образованием растворимых продуктов и летучих веществ [70, 71].

В работах [72, 73] приведены данные по изменению химического состава торфов при диспергировании. Рассмотрены изменения количественных и качественных характеристик компонентов торфа (битумы, углеводный комплекс, ГВ) при механоактивации в атриторном устройстве и шаровой мельнице. Проведенные исследования свидетельствовали, что механохимические превращения, происходящие при диспергировании торфа в шаровой мельнице, значительно уступают таковым при обработке торфа в атриторном устройстве. Сверхтонкий помол в атриторном устройстве существенно увеличивал выход гуминовых веществ в зависимости от продолжительности воздействия. По данным ИК-спектров ГК, выделенных из механоактивированных образцов торфов, наблюдалось увеличение содержания алифатических и ароматических фрагментов. Показано, что при МА интенсивно протекают окислительные процессы – ГК обогащаются кислородсодержащими группами.

Важная характеристика ГК – их молекулярно-массовое распределение. Данные гель-фильтрации свидетельствовали о том, что при МА торфа происходят значительные изменения молекулярно-массового распределения ГК, которые во многом зависят от продолжительности и среды измельчения. При размоле влажных образцов в составе ГК увеличивалась доля низкомолекулярных фракций. Это, видимо, связано с тем, что образующиеся в результате разрыва химических связей при механическом воздействии радикалы взаимодействуют во влажных образцах с молекулами воды, что приводит к уменьшению длины молекулярной цепи и накоплению гидроксилсодержащих веществ. Напротив, при размолу сухих образцов есть возможность развития рекомбинационных процессов, приводящих к увеличению длины молекулярной цепи [6, 72 -76].

В работе показано [6], что обработка углей в щелочной среде в диспергаторах различной конструкции приводит к увеличению выхода гуминовых кислот из угля. Так, диспергирование подмосковного бурого угля в щелочной среде позволило повысить выход гуминовых кислот с 22,3 до 47,2 %. Механическая обработка углей в

среде жидкого щелочного реагента увеличивает скорость выделения ГК и снижает температуру выделения.

Строение образовавшихся гуминовых кислот характеризовалось высокими значениями отношений кислорода и водорода к углероду, увеличением количества метиленовых и хиноидных групп. Особого внимания заслуживает факт появления растворимости каменного угля в результате вибропомола в щелочных реагентах. Состав и структура полученных гуминовых кислот свидетельствуют о том, что в процессе механодиспергирования газового угля в среде щелочных реагентов происходят окислительно-гидролитические превращения его органических веществ, а полученные кислоты являются продуктами механохимических превращений угля.

Таким образом, исследования ГК, выделенных из образцов механоактивированных углей и торфов, свидетельствуют о преобразовании их химического состава под действием механических сил, что открывает перспективы для направленного регулирования свойств препаратов, получаемых на основе гуминового комплекса твердых горючих ископаемых.

1.3.2. Превращения углеводных компонентов торфов и битумов

Сведения об изменении состава и свойств гуминовых кислот торфа и углей достаточно полно отражены в литературе [6, 71-76], а информация об углеводах и битумах довольно ограничена и встречается крайне редко в работах, посвященных механодеструкции твердых горючих ископаемых.

Интенсивное механическое воздействие приводит к изменению выхода углеводных компонентов торфов. Так, в составе углеводного комплекса мохового торфа диспергированного в атриторе, уменьшается содержание ТГ соединений [72]. Механодеструкция целлюлозных молекул увеличивает их растворимость и сопровождается ростом количества редуцирующих веществ в составе ЛГ фракции. При обработке сухих образцов общее содержание редуцирующих веществ в составе торфа возрастает, как и содержание водорастворимых веществ.

Эффективность измельчения зависит от структуры вещества, вида и интенсивности механического воздействия [77]. Регулируя интенсивность, продолжительность и среду измельчения, можно в несколько раз увеличить выход щелочных, хлороформных экстрактов из угля, интенсифицировать процессы ожигения, изменить состав получаемых при этом продуктов.

Механическое воздействие на угли вызывает увеличение выхода битумов, в которых были идентифицированы *n*-алканы [6]. Исследование характера распределения алкановых углеводородов *n*-строения, выделенных из контрольных и механоактивированных образцов углей, показало, что воздействие переменных механических полей приводит к возрастанию в их составе углеводородов с меньшей молекулярной массой. Действие знакопеременных динамических нагрузок на образцы сапропелевых и гумусовых углей в водной среде, привело к изменению компонентного состава хлороформных битумов. В них уменьшалось содержание асфальто-смолистых компонентов, при этом увеличилось содержание компонентов меньшей молекулярной массы – бензольных смол и масел. В спиртобензольных битумах, экстрагированных из углей после удаления хлороформных экстрактов, по данным ИК-спектров, наблюдали снижение количества карбоксильных, кетонных, сложноэфирных групп и метиленовых структур [77]. В работе [78] показано, что асфальтены, выделенные из экстрактов бурых углей, при механохимической обработке подвергаются деструкции с образованием как относительно низкомолекулярных соединений (масел), так и более сложных (предасфальтенов).

Авторами работы [79] исследовано изменение битумов при интенсивном диспергировании торфа в атриторном устройстве. Показано, что МА торфа как в воздушной среде, так и в присутствии органического растворителя, приводит к уменьшению выхода бензинового экстракта в результате протекания гидролитических окислительно-полимеризационных процессов. Методом препаративной тонкослойной хроматографии установлено, что в полученных экстрактах присутствуют все классы соединений, характерные для торфяных битумов: углеводороды, кислоты, спирты, сложные эфиры жирных кислот.

Механодеструкция твердых горючих ископаемых приводит к изменению содержания и состава высших жирных кислот [80]. Их состав, в большей степени, изменяется при вибропомоле торфа. Установлено, что механизм окисления при механохимической активации включает образование промежуточных продуктов, которые содержат остатки жирных кислот с разной длиной углеродной цепи.

Таким образом, приведенные сведения по МА твердых природных каустобиолитов свидетельствуют об изменении и возможности регулирования состава и свойств их основных компонентов.

1.4. Антиоксидантная активность гуминовых веществ и способы ее определения

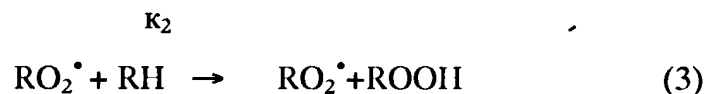
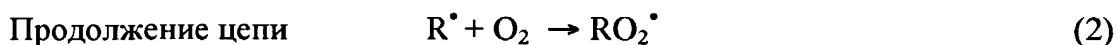
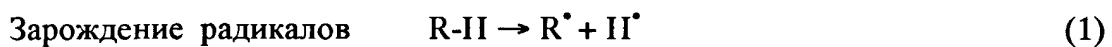
В связи с проблемами охраны здоровья, повышения и сохранения качества пищевых продуктов, увеличение сроков их хранения возрос интерес к антиоксидантам (АО), в том числе торфяного происхождения. Это связано с изучением природы и механизмов процессов окисления в химических и биологических системах и ролью антиокислителей, как факторов, повышающих их устойчивость к неблагоприятным воздействиям. Отдельным важным направлением исследований является поиск соединений с антиоксидантной активностью, изучение их физико-химических свойств, функциональной активности в различных химических средах. Основная часть АО являются фенольными соединениями и имеют растительное происхождение. Установлено, что АО проявляют адаптогенные, иммуностимулирующие, противоопухолевые, кардиопротекторные свойства [81].

Гуминовые препараты из торфов, углей, сапропелей обладают биологической активностью и оценка их антиоксидантных свойств представляет несомненный интерес. Выраженные антиоксидантные свойства будут иметь соединения, имеющие подвижный атом водорода и тормозящие процессы свободно-радикального окисления. Механизм действия АО различных классов и синергизм их действия рассматривается в работах [81, 82]. Физиологическое действие ГВ обусловлено их

влиянием на интенсивность фотосинтеза, активацию кислородного, белкового, углеводного обмена [83, 84]. Биологическую активность пытаются связать с реакционной способностью по отношению к свободным радикалам, со структурными особенностями веществ, например, соотношением в молекуле ГК гидрофильных и гидрофобных составляющих [29, 85-87]. Однако полученные разными авторами результаты не всегда согласуются между собой из-за неоднородности химического состава и свойств ГК, что, в значительной мере, может зависеть от исходного сырья, способов получения, очистки препаратов и методов оценки их биологической активности.

Большинство методов определения антиоксидантной активности основаны на изучении кинетики поглощения кислорода при ингибированном окислении [82, 88]. Активность АО пропорциональна скорости поглощения кислорода в реакционных средах. Оценка эффективности действия ингибиторов и исследование механизма их действия проводится кинетическим методом, основанным на детальном изучении кинетики модельной реакции окисления кумола [89]. При окислении органических веществ в качестве первичных продуктов реакции образуются гидропероксиды, которые распадаются на радикалы, способные зарожать цепи окисления [81, 82]. Если принять, что скорость генерации активных радикалов сохраняется постоянной, давление кислорода в системе достаточно велико, антиоксидант расходуется только в реакции (7) и феноксильные радикалы реагируют только с RO_2^\bullet , то кинетическая схема ингибированного окисления будет иметь вид:

Инициирование цепи





где PhOH - ингибитор, PhO[•] - радикал, образующийся из ингибитора.

Главный результат конечной стадии – нейтрализация радикалов и прекращение цепной реакции окисления – достигается благодаря наличию в системе обратимого равновесия окисленной и восстановленной формы антиоксиданта, которое поддерживается за счет окисления среды.

В условиях стационарности концентрации радикалов получаем следующее выражение для скорости реакции:

$$W = d[\text{O}_2]/dt = -d[\text{RH}]/dt = W_i k_3[\text{RH}]/fnk_7[\text{PhOH}]. \quad (10)$$

Здесь k_7 -константа скорости ингибирования в расчете на одну ингибирующую группу; n -число эквивалентных (с одинаковым значением k_7) ингибирующих групп в молекуле ингибитора; f -коэффициент ингибирования, равный числу цепей обрываемых одной ингибирующей группой ингибитора. Коэффициент f в зависимости от соотношения скоростей реакций (8) и (9) меняется от 1 до 2.

Константа скорости ингибирования для каждого антиоксиданта (л/моль·с) находится из тангенса угла наклона характеризующего его участка по формуле.

$$k_7 = (2,3k_3V) / (\text{tg}\alpha \cdot 5,74 \cdot 10^{-3}) \quad (11)$$

Здесь V -объем реакционной смеси в миллилитрах. Величина $5,74 \cdot 10^{-3}$ - переводной коэффициент.

Содержание АО ($fn[\text{PhOH}]$) в смеси находится из соотношения:

$$fn[\text{PhOH}] \text{ (моль/кг)} = W_i \text{ (моль/л с)} \cdot \tau \text{ (с)} / P \text{ (кг/л)} \quad (12)$$

где W_i – скорость инициирования, τ – экспериментально определенный период индукции, P - концентрация анализируемой пробы (навеска вещества, растворенная в 10 мл кумола).

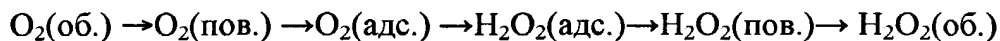
Концентрацию ингибирующих групп можно определить, зная скорость инициирования и экспериментально определяемый период индукции.

Соответствующие измерения проводятся преимущественно с использованием газометрических установок [90]. Принцип действия установки основан на автоматической компенсации перепада давления, возникающего в процессе поглощения реакционной смесью, эквивалентным количеством кислорода в виде отдельных пузырьков определенного объема [89]. Этот способ позволяет определять группы АО в сложной многокомпонентной смеси в широком диапазоне их активности, различающиеся константами скорости ингибирования, характеризуется высокой точностью и чувствительностью. Однако он применим для жирорастворимых веществ [75, 91].

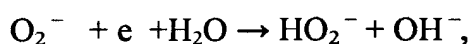
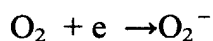
Жизненные функции всего живого на Земле связаны с протеканием окислительно-восстановительных процессов в клетках организмов и, практически, все они происходят с участием кислорода. Реакция электровосстановления кислорода является уникальной моделью важных реакций в организмах и, поэтому, это – объект многочисленных исследований.

Кислород в основном состоянии содержит два неспаренных электрона. Они имеют параллельные спины, что придает молекуле парамагнитные свойства. Более важно то, что эта параллельность спинов электронов запрещает непосредственное взаимодействие со спаренными электронами. В результате такого спинового запрета кислород в основном состоянии как окислитель гораздо менее активен, чем этого можно было ожидать. Инициирование процесса окисления может быть связано с внешним воздействием: УФ-облучением, нагреванием, введением инициаторов. Восстановление кислорода вызывает протекание ряда процессов одноэлектронного переноса, в ходе которого возникают чрезвычайно реакционноспособные интермедиаты: супероксидный радикал O_2^- , пероксидный H_2O_2 и гидроксидный

радикал OH^- . Общая схема механизма электровосстановления кислорода, включая все типы электродной поляризации может быть выражена следующим образом:



Направление протекания процесса электровосстановления кислорода зависит от pH среды. Авторами работы [92] был установлен механизм восстановления в щелочной среде:



где лимитирующей стадией является последняя реакция. Введение в систему поверхностно-активных органических веществ осложняют и изменяют процесс электровосстановления кислорода. В работе [93] изучена кинетика данного процесса и показано, что наибольший эффект иницирования окисления достигается в щелочной среде.

Способность интермедианта H_2O_2 окислять органические соединения сильно повышается в присутствии солей железа [94, 95].

ГК торфов обладают необходимыми элементами, чтобы изменить скорость электровосстановления кислорода - в них содержатся необходимые функциональные группы, железо также присутствует в качестве обычной примеси.

Вопрос о механизме реакции катодного восстановления кислорода в присутствии гуминовых препаратов представляет интерес с различных точек зрения [96, 97]. Ингибирующая способность препарата в данной реакции определяет важное практическое свойство – антиоксидантную активность. Принято считать, что препараты с высокой антиоксидантной активностью можно применять для предотвращения окислительных процессов, приводящих к старению полимеров, осмолению топлив, прогорканию жиров, возможно – к старению живых организмов и образованию опухолей. Биостимулирующая активность ростовых препаратов сельскохозяйственного назначения коррелирует с их антиоксидантной активностью.

В последнее время появились немногочисленные данные по использованию методов вольтамперометрии при измерении скорости поглощения кислорода антиоксидантами в органических средах [98, 99]. Перспективность и достоинства данного метода в определении активности АО не вызывают сомнения. Однако многие вопросы в этой области остаются нерешенными и требуют дальнейших исследований.

Таким образом, расширение классов соединений, применяемых в качестве ингибиторов или инициаторов процессов окисления, является важной научно-прикладной задачей. Механохимически получаемые препараты из торфа представляются перспективными для практического использования. Необходимым этапом развития этого направления является изучение антиоксидантной активности препаратов из торфа и определение путей повышения активности препаратов в результате механохимической обработки. В качестве основных методов определения антиоксидантной активности может быть использованы измерение ингибирующей активности препаратов в модельных реакциях окисления кумола и электровосстановления кислорода.

1.5. Использование продуктов переработки торфа в качестве стимуляторов роста растений. Сведения о биологически активных веществах торфов

Ежегодно в мире синтезируются сотни соединений, обладающих высокой биологической активностью в очень малых концентрациях. Отсутствие хорошо разработанной теории направленного синтеза биологически активных соединений привело к тому, что из 5-10 тыс. вновь создаваемых препаратов только один оказывается биологически, экологически и экономически эффективным [100]. Особенно сильно отстает поиск и синтез новых регуляторов роста в России, уступая зарубежным масштабам в десятки раз [101].

Основным фактором, определяющим целесообразность использования отдельных категорий торфа и его компонентов в сельском хозяйстве, медицине является наличие в нем биологически активных веществ той или иной химической природы, оказывающих положительное влияние на рост и развитие растений.

Отдельные компоненты ОВ торфа неравноценны по биологической активности. В наибольшей степени исследована активность гуминовых препаратов [38]. Имеется очень много информации о биологическом действии ГК и использовании их в качестве удобрений [11, 13, 102, 103]. Однако, поступление ГК в неизменном виде в растение маловероятно из-за больших размеров их молекул [104], вследствие чего ГК, по-видимому, не усваиваются растением и могут влиять на него косвенно через изменение физических и химических свойств почвы [105], регулирование обмена ионов между клеткой и почвенным раствором.

Непосредственно на растение оказывают действие фрагменты ГВ, которые образуются при биохимическом и химическом разложении. Среди них ведущая роль по физиологическому влиянию принадлежит низкомолекулярным фракциям – ФК, а также различным фенолам, при этом возможен синергизм их действия. Авторы работы [106] также считают, что ГК не способны проникать через мембраны и не оказывают прямого воздействия на метаболизм, рост и развитие растений. Ими показано, что при 18-дневном эксперименте ГК частично распадались до низкомолекулярных веществ, которые способны диффундировать через мембраны в раствор. Это свидетельствует о том, что на метаболизм растений влияют главным образом низкомолекулярные соединения. По мнению Драгунова С.С. [107] наибольшей физиологической активностью обладают более ароматизированные фракции торфяных ГК, содержащие больше фенольных гидроксидов и хиноидных группировок. Другие исследователи отмечают повышенную физиологическую активность гумусовых соединений из торфа, содержащих большее количество периферических полисахаридных компонентов [108].

Использование различных методов гидролиза торфов позволяет получить биостимуляторы микроорганизмов и растений, которые могут быть использованы в качестве активных добавок к различным питательным средам [109]. В случае образования больших количеств углеводов такое действие вполне объяснимо. Известно, что введение в рацион сельскохозяйственных животных углеводных добавок повышает продуктивность кормов и привесы [11]. В настоящее время потребности сельского хозяйства в углеводных добавках удовлетворяются лишь частично, в основном за счет использования мелассы. Торфяную мелассу получают механохимическим гидролизом верхового низкоразложившегося торфа концентрированной серной кислотой. Она состоит из различных моносахаридов (60-80 % РВ) и других соединений, легко усваиваемых организмами животных и птиц. В моносахаридах торфяной мелассы присутствуют как гексозные (глюкоза, манноза), так и пентозные (ксилоза, арабиноза, рибоза) сахара, а также уроновые кислоты.

Уроновые кислоты оказывают определенное, свойственное только им положительное воздействие на физиологические процессы в организме животного. В торфяной мелассе содержатся и другие физиологически активные вещества, благотворно влияющие на живые организмы, - аминокислоты, органические кислоты, ГВ, гормоны, витамины и др.

Другое направление, также, в конечном счете, сельскохозяйственное, связано с использованием торфяной мелассы в микробиологической промышленности в качестве питательного субстрата для выращивания белковых, липидообразующих и каротинообразующих дрожжей.

Таким образом, биологически активные вещества являются новыми видами продукции из торфа. К известным препаратам относятся гуматы натрия, нитрогуматы, торфяные биостимуляторы и оксигуматы [11].

Создание новых торфяных препаратов, обладающих физиологической активностью, включает решение двух задач: увеличение выхода и повышение активности препаратов. Для развития современных производств особое значение приобретает разработка принципиально новых и экологически безопасных способов

воздействия на вещество, таких как методы механохимии. Происходящие при интенсивном механическом воздействии на торф существенные изменения в химическом составе его основных компонентов могут привести к повышению качества стимуляторов роста, получаемых на основе торфа. В настоящее время существует большое количество химических синтетических стимуляторов роста растений, и создание для них альтернативы в виде наиболее экономически выгодных и экологически безопасных препаратов растительного происхождения является важной задачей для сельского хозяйства. Применение современных эффективных технологий переработки, создание на их основе новых продуктов и материалов, необходимых народному хозяйству при минимальных затратах сырья и труда позволит значительно повыситься эффективность торфяной продукции.

1.6. Постановка задачи исследования

В последние годы большое внимание уделяется разработке технологических процессов, направленных на более эффективную и рациональную переработку природных каустобиолитов нетрадиционными методами с использованием ультразвука, радиационного облучения. Одним из таких способов является механическая активация исходного торфа (МА). Обзор литературы позволяет говорить об актуальности и перспективности данного направления переработки топлив. Более детальные исследования проведены в случае твердых горючих ископаемых – углей. Показано, что предварительная МА природных каустобиолитов приводит как к существенному повышению их растворимости в различных растворителях, так и к значительному изменению состава растворимых фракций. В проведенных исследованиях МА использована как метод повышения эффективности известных технологических процессов.

В литературе имеется ряд работ, свидетельствующих о том, что механическое воздействие приводит к изменению химического состава торфов: содержания функциональных групп, выхода и состава продуктов экстракции. Значительная часть

этих работ выполнена белорусскими учеными Кашинской Т. Я., Гаврильчик А. П., Шевченко Н. В. и др. Полученные ими результаты с помощью различных физико-химических методов исследования (гель-фильтрация, ИК-, ЭПР-спектроскопия) свидетельствуют о преобразовании химического состава основных компонентов торфов, подвергнутых диспергированию в шаровой мельнице и атриторном устройстве. Так, в составе углеводного комплекса верхового мохового торфа диспергированного в атриторе, уменьшается содержание ТГ соединений и увеличивается выход ВР и ЛГ веществ. Механохимические превращения, происходящие при диспергировании торфа в шаровой мельнице, значительно уступали таковым при обработке в атриторном устройстве. Показано, что длительное механическое воздействие снижает выход битумов. Согласно опубликованным данным, МА увеличивает выход ГК торфов. В зависимости от продолжительности (5-120 мин) и среды размола в атриторе выход ГК для мохового торфа возрастал в 1,13 – 1,85 раза. Проведенные исследования свидетельствовали о более глубоких преобразованиях в составе ГК при МА в щелочной среде.

Ограниченные возможности использования для проведения механохимической активации специального оборудования заставили искать для этой цели аппараты с высокой энергонапряженностью и создать высокоинтенсивные аппараты такие, как планетарные и виброцентробежные мельницы. Эти мельницы характеризуются высоким ускорением воздействующих тел – шаров до 200 м/с^2 и позволяют повысить уровень энергии, подводимой к частицам обрабатываемого вещества, что, в свою очередь, сократит время обработки и приведет к более глубоким изменениям в составе торфов и выделяемых компонентов. Проведение МА в щелочной среде будет, несомненно, влиять на выход гуминовых веществ, но подбор оптимальных, эффективных условий обработки требует дальнейших исследований с использованием щелочных и других видов реагентов.

Современные синтетические регуляторы роста растений, как правило, нельзя назвать экологически чистыми. Химическая опасность и высокая стоимость ограничивают их широкое применение. Поэтому перспективы дальнейшего роста в

растениеводстве связывают с рядом новых факторов, в частности, широким использованием природных регуляторов роста растений – фитогормонов на основе продуктов переработки торфа. МА дает возможность получения торфяных препаратов с заданными свойствами. Это перспективный путь синтеза биологически активных веществ с различающейся растворимостью, биодоступностью, активностью. Механохимические методы повышения биологической активности веществ растительного происхождения основаны на твердофазном превращении этих веществ в растворимые формы. Осуществлять такие превращения представляется возможным при механической обработке растительного сырья и специально подобранных реагентов.

Исследования в области механохимической обработки торфов в присутствии ряда химических и ферментативных реагентов не проводились, а изучение свойств полученных продуктов таких, как антиоксидантная и биостимулирующая активность, имеет большое практическое значение. Это и предопределило интерес к постановке экспериментов по изучению влияния различных условий обработки торфов на механохимические превращения их органических компонентов.

На основании вышеизложенной проблемы, в данной работе были поставлены следующие задачи:

- выделить и определить количественное содержание отдельных групп органического вещества торфов;
- исследовать влияние механического воздействия, введения химических и ферментативных добавок на выход и состав выделяемых органических компонентов торфов;
- исследовать антиоксидантную и иницирующую способность продуктов механоактивации торфов;
- провести оценку биологической активности водорастворимой части препаратов из механоактивированных торфов;
- определить условия проведения механоактивации торфов, обеспечивающие максимальный выход водорастворимых компонентов для получения

стимуляторов роста растений, предложить рекомендации по технологическому использованию механохимической активации торфа.

Решение перечисленных проблем представляет собой сложную задачу и имеет не только теоретическое значение, связанное с углублением знаний о механохимических превращениях органических компонентов торфов, но и представляет практический интерес для разработки технологии получения водорастворимых биологически активных препаратов. Проведенные исследования позволят наметить пути увеличения эффективности и целесообразности применения МА для обработки торфа.

2. МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Методика проведения механохимической обработки торфов. Материалы

МА торфов проводили в мельницах-активаторах двух типов: в проточной виброцентробежной мельнице ВЦМ-10 и планетарной мельнице АПФ-4 (разработка Института химии твердого тела и механохимии СО РАН, г. Новосибирск, <http://www.solid.nsc.ru>). Тип той или иной установки, а также особенности проведения конкретного исследования указывается далее.

Используемые нами мельницы-активаторы ВЦМ-10 и АПФ-4 различаются по характеру и интенсивности воздействия. Вне зависимости от аппаратного оформления процесса МА можно представить как сочетание ударной и сдвиговой деформации на контактах между воздействующими телами и частицами твердого вещества [7, 8]. Обработка в ВЦМ характеризуется более выраженным сдвиговым воздействием – истиранием, а в мельнице АПФ-4 — ударным воздействием. Технические характеристики мельниц приведены в таблице 2.1.

Таблица 2.1 – Технические характеристики мельниц-активаторов АПФ-4 и ВЦМ-10

Технические характеристики	АПФ-4	ВЦМ-10
Режим работы	дискретный	непрерывный
Максимальный исходный размер частиц материала, мм	8-10	5
Размер частиц материала после обработки, мкм	1	1-10
Количество барабанов	4	2
Мелющие тела	стальные шары 8-10 мм	стальные шары 10мм, стержни
Центробежное ускорение, развиваемое мелющими телами, м/с ²	200	180

Помольные барабаны мельницы ВЦМ выполнены в виде двух труб, которые разделяются на три секции (рис. 2.1 а). Секции разделены между собой решетками и две из них заполнены мелющими элементами – металлическими шарами, а третья – стержнями. Для обеспечения вибрации под барабанами расположена механическая система, приводящая в симметричное самоуравновешенное движение две трубы реактора таким образом, что центры труб описывают круговые траектории малого радиуса. Подача обрабатываемого вещества или смеси в помольные барабаны осуществляется с помощью дозатора, обеспечивающего непрерывный режим работы.

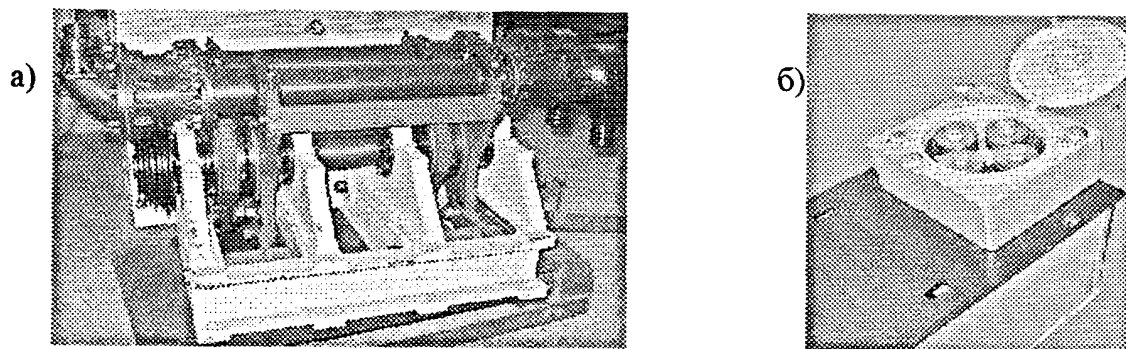


Рисунок 2.1 – Общий вид виброцентробежной мельницы ВЦМ-10 (а) и планетарной мельницы АПФ-4 (б)

В конструкции планетарной мельницы-активатора АПФ-4 с периодической загрузкой используются четыре барабана, вращающихся вокруг центральной и собственной оси. Передача вращения осуществляется фрикционным путем (рис. 2.1 б). Для охлаждения барабанов-реакторов и смазывания используется холодная вода. Каждый барабан представляет из себя стальной полый цилиндр, загруженный в приведенных опытах, приблизительно на $1/3$ своего объема стальными шарами, на $1/3$ исследуемым веществом и оставшаяся $1/3$ приходилась на свободное пространство, заполненное воздухом.

Торф предварительно измельчался в дезинтеграторе Nossen 8255 до размера частиц 1-3 мм (частота вращения измельчающих частей 3000 оборотов/мин.).

Измельченный торф и реагенты взвешивались на аналитических весах, затем смешивались в барабанах. Время пребывания обрабатываемых веществ в зоне обработки – 2 минуты при комнатной температуре.

Нами была сделана попытка повлиять на эффективность выделения компонентов торфов, совместив МА со щелочным и ферментативным гидролизом. Проведение МА в присутствии щелочи позволяло надеяться на прохождение химических реакций кислотных компонентов с образованием ВР соединений. Ферментативный гидролиз проводился с целлюлозолитическим ферментом целловиридином (ЦВ). Ферменты целлюлозолитического действия расщепляют межклеточное вещество растительного сырья и этим способствуют повышению биодоступности внутриклеточных питательных компонентов, в частности углеводов [110, 111]. Под действием ЦВ происходит расщепление сложных углеводов на простые сахара путем разрыва гликозидных связей, а также отщепление углеводных остатков от других компонентов торфа, главным образом, от гуминовых веществ. Обоснование выбора реагентов будет приведено ниже. Концентрация реагентов, время обработки подбирались опытным путем для разных видов растительного сырья. Условия механохимической обработки торфов приведены в таблице 2.2.

Таблица 2.2 – Условия механохимической обработки торфов

Тип мельницы-активатора	Условия обработки
ВЦМ-10, АПФ-4	Исходный торф (без механообработки)
	Механообработка без добавок
	Механообработка с 0,5% ЦВ
	Механообработка с 3% NaOH

Использовался различный торф, тип торфа указывается далее в каждом обсуждаемом случае. Квалификация других реагентов, в частности, щелочей – «ч» и «чда». Фермент целловиридин – марки Г-20Х производства Бердского завода биологических препаратов, активность - 2000 ед./г.

2.2. Комплексная схема выделения органических соединений из торфов

Известно несколько методов анализа группового химического состава торфа, среди которых можно выделить методы Инсторфа, Драгунова, аммиачный метод [5, 42].

Однако при определении группового состава растительного сырья методами с использованием концентрированных кислот, щелочей и нагревания происходят значительные изменения в структуре веществ. Это, в первую очередь, касается ГК, которые из-за жесткости методов выделения, претерпевают глубокие структурные превращения. Поэтому выделение органических соединений из образцов проводили по комплексной схеме, описанной в работе Стадникова Г.Л. [21] для растительного сырья (рис. 2.2). Из данных образцов выделяли ВР вещества, липиды и ГК последовательно методом экстракции по схеме, представленной на рисунке 2.2.

Для анализа торфа использовали навеску массой 10 г. Исходный, необработанный торф предварительно измельчался на дезинтеграторе. ВР компоненты выделяли горячей водой при температуре 95⁰С в соотношении 1:12, два раза в течение двух часов и двадцати минут соответственно. Раствор упаривали до 1/5 объема, ПС осаждали 96 %-ным этанолом в соотношении 1:5, далее из раствора с полифенолами (ПФ) спирт удалялся в роторном испарителе. ПС и ПФ высушивали в чашках Петри в вакуумном шкафу до постоянного веса. После выделения ВР веществ хлороформом экстрагировали битумы, холодным способом в соотношении 1:3 при перемешивании в течение 20 минут три раза. Растворитель удалялся при температуре 30⁰С и остаточном давлении 0.5 Па в роторном испарителе [112]. ГК определяли в остатке образца после выделения ВР компонентов и липидов, обрабатывая его 0,1н NaOH при температуре 25⁰С из расчета 150 мл раствора на 1 г навески при постоянном перемешивании на механической мешалке в течение 2 часов. Экстракцию повторяли два раза, экстракты объединяли, щелочной раствор обрабатывали 10% HCl до pH 2. Выпавший бурый аморфный осадок ГК отделяли центрифугированием.

Осадок отмывали дистиллированной водой до нейтрального pH и высушивали в чашке Петри в вакуумном шкафу до постоянного веса.

Опыты по выделению органических соединений из торфов проводились в двух повторностях и далее в результатах приведены усредненные значения.

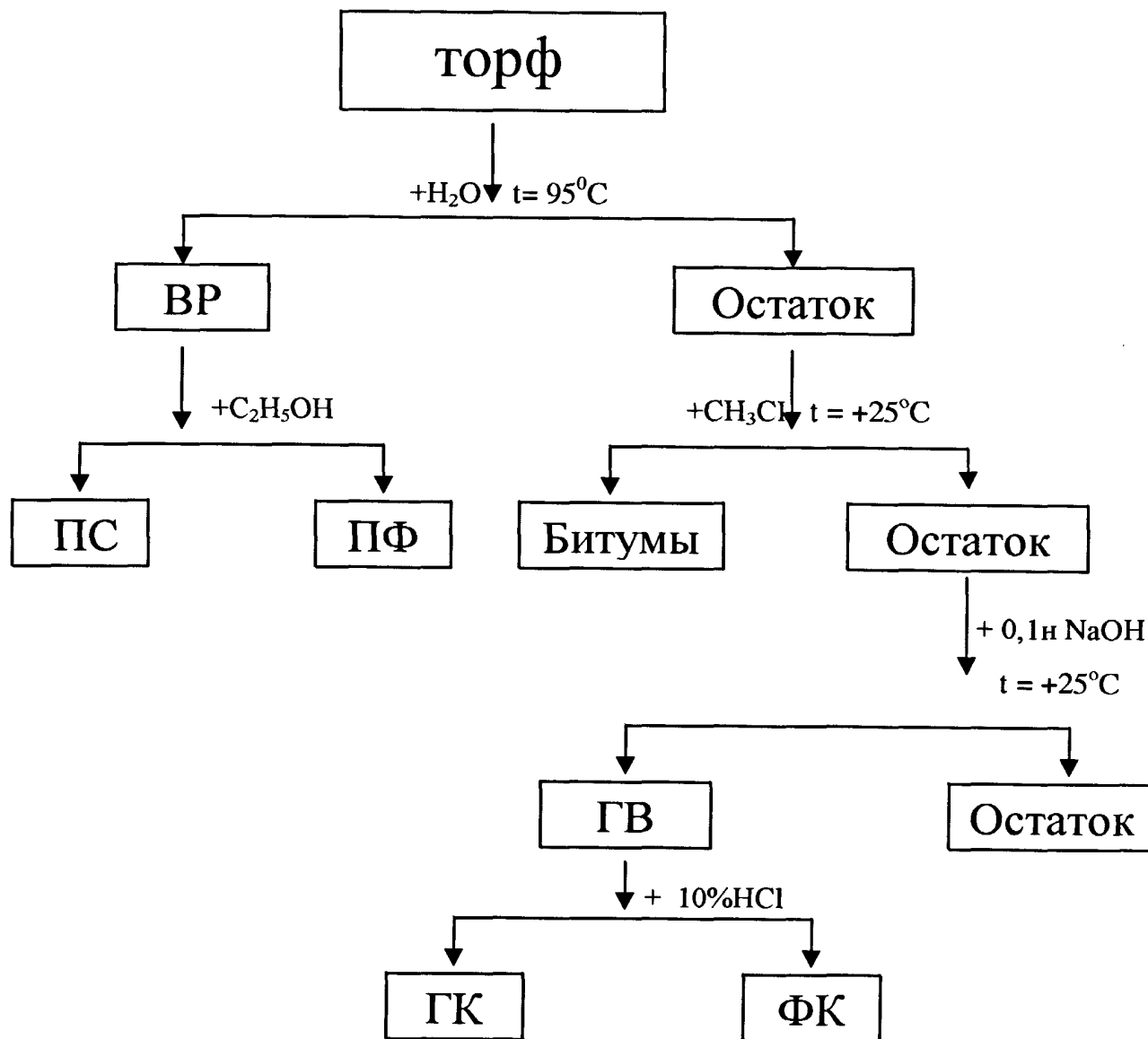


Рисунок 2.2 – Схема выделения органических соединений из торфа.

Балансовые опыты по исследованию химического группового состава органического вещества торфа проводили по методу Инсторфа [42]. Для анализа брали навеску торфа массой 10 г и последовательно выделяли битумы (бензолом), ВР и легкогидролизуемые (ЛГ) вещества (нагреванием с 4 %-ной соляной кислотой), ГВ

(нагреванием с гидроксидом натрия 0,1 моль/дм³) и трудногидролизуемые соединения (ТГ) (80 %-ной серной кислотой). Негидролизуемый остаток после выделения ТГ соединений считают лигнином торфа.

Выделение и количественное определение водорастворимых полисахаридов, пектиновых веществ и гемицеллюлозы в торфе.

Согласно литературным данным [113-116] ПС из растительного сырья выделяются тремя фракциями: водорастворимые полисахариды (ВРПС), пектиновые вещества (ПВ) и гемицеллюлоза (ГЦ).

Выделение ПС из торфа проводили по следующей схеме [117]: 10,0 г сырья заливали 200 мл дистиллированной воды при перемешивании магнитной мешалкой в течение 1,5 часов при 20 °С, экстракцию повторяли вновь и сырье с экстрагентом оставляли на 12 часов. После фильтрации экстракт упаривали до 1/5 объема и осаждали ВРПС двукратным объемом 96 %-ного этанола. Раствор декантировали, осадок центрифугировали, высушивали в вакуум-сушильном аппарате и взвешивали (фракция I – ВРПС).

Остаток сырья обрабатывали экстрагентом (50 мл кипящей дистиллированной воды с 0,2 мл концентрированной соляной кислоты) на кипящей водяной бане в течение 30 мин. После фильтрации и охлаждения раствора ПВ осаждали двукратным объемом 96 %-ного этанола. Раствор декантировали. Осадок промывали концентрированным этанолом, а после центрифугирования высушивали в вакуум-сушильном аппарате и взвешивали (фракция II – ПВ).

Остаток сырья экстрагировали 50 мл 10 %-ного водного раствора натрия гидроксида при 20 °С с магнитной мешалкой в течение 24 часов. После фильтрации к извлечению прибавляли 20 мл 50 %-ной кислоты уксусной для осаждения ГЦ, осадок отфильтровывали, а в фильтрате двукратным объемом 96 %-ного этанола снова осаждали ГЦ. Раствор декантировали, осадок промывали этанолом,

центрифугировали и высушивали в вакуум-сушильном аппарате до постоянного веса (фракция III – ГЦ).

Выделение и количественное определение фенольных соединений в торфе

Для хроматографического определения фенольных соединений в торфе брали 1,0 г сырья, заливали сырье 100 мл воды, нагревали на водяной бане 20-30 минут, процеживали через вату, и полученное извлечение использовали. 1мл водно-спиртового извлечения на 40 % этаноле, упаривали до объема 0,2 мл и наносили на хроматографическую бумагу марки «ЛМ». Хроматографировали в двух направлениях: 1 - 15% уксусная кислота; 2 – в системе бутанол : уксусная кислота : вода (БУВ) (4:1:2). Детектирование пятен проводили по свечению в УФ-свете [118-119].

Для выделения фенольного комплекса измельченный торф дважды обрабатывали 80 % этанолом по 60 минут на водяной бане с обратным холодильником (соотношение сырья 1 : 10). Из объединенного экстракта под вакуумом отгоняли этанол при температуре 50 °С. Полученный водный остаток последовательно обрабатывали хлороформом, этилацетатом и н-бутанолом [118-120]. Растворители отгоняли под вакуумом на роторном испарителе.

2.3. Исследование общетехнических свойств торфов

При изучении общетехнических свойств торфов использовали стандартные методики. Ботанический состав и степень разложения анализировались микроскопическим методом [121]. Влажность торфов определяли весовым методом [5]. Элементный состав торфяных образцов исследовался на СНN-анализаторе «Carlo Erba Strumentazione» модель 1106 (Италия). Количество золы определяли по ГОСТ 11306-83 [122]. Содержание минеральных макро- и микроэлементов анализировалось рентгенофлуоресцентным методом [123].

2.4. Исследование химического состава, строения и свойств выделенных фракций торфов

2.4.1. Анализ углеводородного состава битумов

Для исследования состава битумов торфов из них были выделены нормальные и изопреноидные углеводороды (УВ) методом тонкослойной хроматографии [124, 125]. Деление проводилось на пластинке Silufol 150 : 150 мм марки UV-254 (Чехия), в качестве подвижной фазы использовалась смесь гексан : хлороформ в соотношении 95 : 5. Полученные хроматографические фракции смывали с сорбента хлороформом. Состав УВ определялся методом газожидкостной хроматографии [125-127]. Съемка хроматограмм была выполнена на газожидкостных хроматографах МОЗ «Хроматограф» (Модель 3700С) и Perkin-Elmer Sigma 2В с применением газо-ионизационного детектора, в качестве газа-носителя использовали гелий. Расшифровку полученных хроматограмм проводили при помощи реперных соединений с учетом индексов удерживания, опубликованных в литературе [112, 125-128].

2.4.2. Гель-проникающая хроматография гуминовых кислот и полисахаридов

С помощью гель-хроматографического разделения на сефадексе G-75 с использованием 0,1н NaOH в качестве растворителя и элюирующего раствора было получено молекулярно-массовое распределение ГК торфов [125, 128-130]. Исходную навеску ГК после проведения реакции декальцинирования [128] массой 10 мг растворяли в 10 мл 0,1н NaOH. Затем 2 мл раствора ГК переносили в колонку ($d=40\text{мм}$, $l=50\text{см}$) на бумажный фильтр, покрывающий гель. После впитывания ГК на поверхность геля к колонке подключали постоянный приток элюента, скорость

протекания которого 40 мл в час. Элюат собирали в пробирки по 2 мл. Оптическую плотность регистрировали на спектрофотометре SPEKOL-21 при длине волны 465 нм, при которой не проявляются примеси неспецифических соединений.

На сефадексе G-25 с использованием 0,1н уксусной кислоты в качестве элюирующего раствора было получено молекулярно-массовое распределение ПС верхового торфа [125, 128, 131]. Исходную навеску ПС массой 0,01 г растворяли в 10 мл дистиллированной воды. Затем 2 мл раствора ПС переносили в колонку ($d=40\text{мм}$, $l=50\text{см}$) с гелем, который набухал в 0,1 н уксусной кислоте. После впитывания ПС на поверхность геля к колонке подключали постоянный приток элюента, скорость протекания которого 40 мл в час. Элюат собирали в пробирки по 2 мл. Оптическую плотность регистрировали на спектрофотометре SPEKOL-21 при длине волны 465нм.

2.4.3. Моносахаридный анализ полисахаридов

Для определения мономерного состава ПС фракции верхового сфагнового торфа проводился кислотный гидролиз по следующей схеме: в ампулы помещали 0,1 г фракции ПС, добавляли 5 мл 2 % HCl, ампулы запаивали и нагревали на песчаной бане при 120 °С в течение 4 часов. Затем ампулы охлаждали, раствор фильтровали и количественно переносили в мерную колбу на 25 мл, объем доводили до метки. 10 мл раствора разбавляли 5 мл дистиллированной воды и нейтрализовали по универсальной индикаторной бумаге сухим BaCO_3 . Затем раствор отфильтровывали через плотный бумажный фильтр, промывали водой. Полученный фильтрат упаривали в сушильном шкафу до сухого остатка [115, 116].

Гидролизаты ПС фракции исследовали методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе Bruker LC-21. Использовалась колонка Zorbax NH₂ (4,6/150mm) и рефрактометрический детектор. Подвижная фаза – ацетонитрил : вода (78% : 22%). Скорость элюирования 0,8 мл/мин. Объем пробы – 20 мкл. Анализируемые образцы предварительно пропускали через концентрирующий патрон «Диапак-амин».

Калибровочную смесь моносахаридов готовили из стандартных образцов фруктозы, глюкозы, рамнозы, ксилозы, арабинозы, сахарозы.

2.4.4. Исследование функционального состава фракций торфов методом ИК-спектроскопии

Методом инфракрасной спектроскопией была дана качественная и количественная характеристика фракций торфов [125, 132]. Регистрацию спектров осуществляли на ИК-фурье-спектрометре Vector-22 фирмы Bruker (Германия). Анализ образцов проводили по методу прессования с KBr в соотношении 1:300 соответственно, в интервале значений частот от 4000 до 500 см⁻¹. Для количественной оценки интенсивности полос поглощения применен метод базовых линий и относительных оптических плотностей [132]. Относительное содержание функциональных групп оценивали с помощью расчета оптической плотности по формуле Бугера-Бера: $D = \lg J_0 / J$, где J_0 – интенсивность излучения, падающего на образец, J – интенсивность излучения, прошедшего через образец.

2.4.5. Исследование фрагментного состава фракций торфов методом ЯМР ¹³C-спектроскопии

С целью получения информации о содержании структурных фрагментов в отдельных фракциях торфов был использован метод ЯМР ¹³C-спектроскопии. Количественная спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) дает уникальную информацию о содержании структурных фрагментов исследуемых соединений, недоступную другим химическим и физическим методам исследования [29, 125, 133]. Регистрацию спектров осуществляли на радиоспектрометре ЯМР фирмы Bruker (Германия), имеющем рабочую частоту по углероду 125 МГц, с использованием методики Фурье-преобразования с накоплением. Время накопления изменялось от нескольких часов до суток.

Исследуемые образцы ГК растворяли в 0,5-н дейтерированной щелочи, а образцы ПС – в дейтерированной воде, концентрация препарата составляла 3,7–6,1%. Раствор с исследуемым образцом помещали в ампулу с внешним диаметром 5 мм. Систематическая погрешность количественного ЯМР анализа является незначимой в соответствии с многочисленными литературными данными по анализу индивидуальных органических веществ. Для исключения ядерного эффекта Оверхаузера запись спектров ЯМР ^{13}C проводилась с подавлением протонов в режиме INVGATE. В качестве внешнего стандарта использовали ТМС. Спектры снимали с задержкой 1 секунда между импульсами. Обработку спектров проводили с использованием программы WINNMR фирмы Bruker. Кроме регистрации спектров ЯМР осуществляли запись интеграла, что позволило определить относительное содержание магнитных ядер углерода, принадлежащих к той или иной группе атомов.

Регистрацию ИК- и ЯМР ^{13}C - спектров проводили в Новосибирском институте органической химии имени академика Н.Н. Ворожцова СО РАН.

2.5. Исследование поведения гуминовых кислот, полисахаридов и полифенолов в процессе электровосстановления кислорода

Реакционная активность фракций определялась вольтамперометрическим методом катодного восстановления кислорода [92, 96].

Экспериментальные исследования проводились на серийном полярографе ПУ-1, который имеет несколько режимов полярографии: постоянно-токовый, переменноточный и дифференциальный импульсный. Запись вольтамперограмм осуществлялась на лабораторном компенсационном двухкоординатном приборе типа ЛКД-4. Измерение величин поляризующего напряжения осуществляли электронным вольтметром с точностью 0,5 мВ.

Перемешивали растворы при помощи магнитной мешалки М-25, со скоростью от 50 до 100 оборотов/мин.

В работе для проведения экспериментальных исследований использовали ячейку со сменным стеклянным стаканчиком объемом 10 мл с фторопластовой крышкой, индикаторный ртутный пленочный электрод с серебряным контактом, рабочая поверхность электрода $0,157 \text{ см}^2$. В качестве электрода сравнения использовался хлорид-серебряный электрод, заполненного насыщенным раствором КСl.

Вода, используемая в работе, очищалась тройной перегонкой. Для приготовления фонового раствора использовалась соль Na_2SO_4 . Стандартные растворы с концентрацией 0,1 мг/л готовили растворением навесок в тридистилляте (ВР фракция) и 0,1н растворе NaOH (ГК).

Аликвоту 5 мл исследуемого раствора известной концентрации помещали в электрохимическую ячейку, ставили на магнитную мешалку и перемешивали раствор в течение 5 минут со скоростью 100 оборотов/мин в открытой ячейке для полного его насыщения кислородом воздуха. Затем закрывали ячейку крышкой, вставляли рабочий электрод, электрод сравнения и газовую трубочку для подачи азота. Давали две минуты для успокоения раствора и снимали катодную вольтамперограмму тока ЭВ O_2 в постоянно-токовом режиме. Диапазон потенциалов 0 – 2,0 В, скорость развертки потенциала равна 20 мВ/с, чувствительность прибора 10^{-6} А. Далее исследуемый раствор снова перемешивали в течение 60 секунд уже в закрытой ячейке со скоростью 100 оборотов/мин и давали 60 секунд для его успокоения. Съемку катодной вольтамперограммы тока ЭВ O_2 повторяли. Всю операцию повторяли не менее 5 раз. Затем, вылив исследованный фоновый раствор и залив новый, проводили исследование приготовленного раствора.

По данным анализа определяли значения: $I = f(C)$, где I-ток ЭВ O_2 , C – концентрация приготовленного раствора исследуемого вещества в электрохимической ячейке и строили графики зависимостей $I/I_d - I_{\text{ост}} = f(C)$, где I – текущее значение тока в присутствии антиоксидантов, I_d – предельный

диффузионный ток ЭВ O_2 , $I_{ост}$ – остаточный ток фонового электролита в отсутствие O_2 в растворе. По графикам данной зависимости определяем наличие антиоксидантов в исследуемых фракциях и рассчитываем константы антиокислительной активности (K) по формуле [92]:

$$K = \frac{\Delta(I/I_d - I_{ост})}{\Delta C},$$

где ΔI – изменение текущего значения плотности тока кислорода при добавках исследуемого вещества, I_d – предельный ток восстановления кислорода в отсутствие исследуемого вещества, $I_{ост}$ – остаточный ток в отсутствие кислорода в растворе при постоянном потенциале, ΔC – изменение концентрации исследуемых веществ.

Метод катодной вольтамперометрии позволяет определить концентрации веществ в диапазоне: $10^{-6} - 10^{-7}$ мг/л. Ошибка измерений не превышает 10 %.

2.6. Определение антиоксидантных свойств битумных компонентов торфов

Количественный анализ антиоксидантов в битумах проведен с помощью модельной реакции инициированного окисления кумола [89]. Этот способ позволяет с высокой точностью определять группы антиоксидантов в сложной многокомпонентной смеси в широком диапазоне их активности ($1 \cdot 10^{-3} \div 1 \cdot 10^{-5}$, л/моль·с), различающиеся константами скорости ингибирования [75, 82, 91]. Эксперименты проводились при температуре 60 °С на автоматизированной газометрической установке для измерения микрорасхода кислорода, принцип действия которой основан на компенсации перепада давления эквивалентным количеством кислорода в виде отдельных пузырьков определенного объема (10+15 мкл). Погрешность измерения объема пузырька не превышает 1%. В качестве инициатора использовался динитрил азоизомасляной кислоты, дающий скорость инициирования $6,8 \cdot 10^{-8}$ моль/л·с при температуре 60 °С. Очищенные образцы кумола имеют стабильную скорость окисления $W = (98-116)$ мм³/мин. Зависимость

количества поглощенного кислорода от времени реакции обрабатывается с помощью специальной компьютерной программы и представляется в виде интегральной кинетической кривой. На рисунке 2.3 приведены кинетические кривые окисления кумола в присутствии липидов, состоящие из 2 участков: 1 – участок линейного обрыва цепи, 2 – участок неингибированного окисления. Концентрацию ингибирующих групп можно определить, зная скорость инициирования и экспериментально определяемый период индукции. Период индукции определяется точкой перехода с одного участка на другой. В полулогарифмических координатах первый участок представляет собой прямую линию с периодом индукции t . Константа скорости ингибирования для каждого антиоксиданта и концентрация антиоксиданта находится из соотношений (11) и (12), приведенных в главе 1.4.

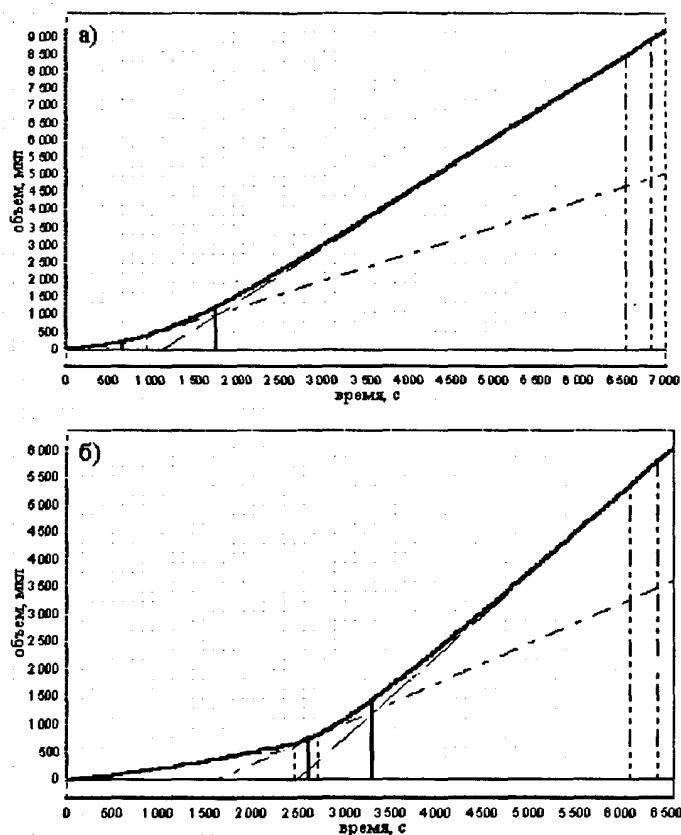


Рисунок 2.3 – Кинетические кривые инициированного окисления кумола в присутствии битумов верхового торфа: а) необработанного, б) обработанного с 3 % NaOH в АПФ-4.

2.7. Исследование биологической активности продуктов механоактивации торфа

Для исследования биологической активности продуктов механоактивации торфа испытывались следующие препараты: верховой сфагновый торф Темного месторождения Томской области после механохимической активации в виброцентрифужной мельнице-активаторе проточного типа ВЦМ-10 с добавлением: 10% Na_2CO_3 – ТПЗ, 30% Na_2CO_3 – ТП5.

Проводилось изучение влияния растворов (настоев) механоактивированных продуктов торфа, инкрустации ими семян и их влияние на развитие растений *in vitro*.

Исследование влияние растворов механоактивированных продуктов торфа на развитие проростков пшеницы.

Навески препаратов настаивали в дистиллированной воде не менее 24 часов при комнатной температуре в концентрации 150 мг/л. Объектами исследований послужили семена пшеницы сорта Новосибирская 15. Семена в рулонах с фильтровальной бумагой (по 30 семян на рулон) проращивали в стаканах с 50 мл настоя изучаемых веществ в течение 7 суток при 22°C, после чего измеряли высоту побегов, длину корней, сырую массу проростков. Объем выборки составлял 90 семян на каждый вариант опыта. Результаты статистически обработаны методом дисперсионного анализа и с помощью непараметрических критериев статистики [134].

Влияние инкрустации механоактивированными препаратами на развитие проростков рапса

Объектами исследований послужили семена ярового рапса сорта СибНИИК 198. Семена, смоченные слабым раствором вяжущего - клея ПВА (поливинилацета), перемешивали с навеской испытуемого препарата (инкрустировали) в соотношении 10 мг на 1 г семян и подсушивали. В чашки Петри с фильтровальной бумагой, смоченной дистиллированной водой, раскладывали по 30-50 семян и проращивали в течение 5-8 дней при комнатной температуре, после чего измеряли высоту побега, длину корней и массу проростка. Объем выборки составлял 90-150 семян на каждый вариант опыта, результаты обрабатывали методом дисперсионного анализа.

Исследование влияния продуктов механоактивации торфа на рост и развитие растительных тканей рапса in vitro

Для изучения влияния продуктов механоактивации торфа, как новых регуляторов роста растений, проведена серия экспериментов *in vitro*, где в качестве контроля использовали отработанные методики, а в опытных вариантах в состав питательных сред вводили изучаемое вещество в разных концентрациях [135-137].

Использование культивируемых тканей и органов растений *in vitro* для изучения механизмов регуляции роста является наиболее перспективным и методически верным направлением исследований [138, 139]. Растения рассматривают как открытую неравновесную систему с множеством связей [140]. Растение *in vitro* можно считать системой с уменьшенным числом внешних связей, легко поддающихся учету и контролю. Поэтому изучение факторов, регулирующих развитие, удобнее проводить с использованием тест-объектов *in vitro*.

Дополнительным преимуществом исследований такого типа является экологическая безопасность. Лабораторное изучение *in vitro* новых препаратов

позволяет избежать загрязнения почвы и переноса мутантной генетической информации в другие популяции растений [100, 101, 141].

Механизмы регуляции роста и развития затрагивают разные уровни, начиная от субмолекулярного; некоторые из них функционируют на клеточном или тканевом уровне, в ряде случаев регуляторные процессы реализуются на уровне органов или целого организма [100, 138, 142, 143]. Условия культивирования *in vitro* позволяют провести исследования физиологической активности фактора как на уровне изолированных клеток, тканей, органов растения, так и на уровне целого организма. Такой подход способствует системному исследованию особенностей воздействия на процессы роста того или иного фактора.

В качестве тест-объектов использовали культуру тканей важной сельскохозяйственной культуры ярового рапса сорта СибНИИК 198 (*Brassica napus L.*). Рапс – ценное масличное и кормовое растение, широко возделываемое в умеренных широтах [138].

Для успешной пролиферации растительных клеток *in vitro* в большинстве случаев необходимы экзогенные регуляторы роста (фитогормоны) [142]. При культивировании клеток растений используются обычно вещества, принадлежащие к двум типам фитогормонов: ауксины и цитокинины. Ауксины способствуют увеличению размеров клеток, а цитокинины вызывают их деление.

Культура тканей рапса является удобным «биотестером» для определения биологической активности ауксинового и цитокининового типа. Исследования включают 2 этапа:

1. Тест на ауксин. Экспланты молодых листьев следует поместить в пробирки на поверхность агаризованной питательной среды MS (питательная среда на минеральной основе Мурасиге и Скуга) с добавкой ауксина 2,4-Д (2,4-дихлорфеноксисукусная кислота, синтетический ауксин) в концентрации 1 мг/л (контроль) или изучаемого вещества в разных концентрациях. Через 1-2 недели у листовых эксплантов на контрольной среде формируется каллусная ткань. Если

изучаемое вещество обладает активностью ауксинового типа, то на опытной среде также появляется каллусная ткань. В противном случае каллус не образуется.

2. Тест на цитокинин. Экспланты каллусной ткани переносятся на среду для регенерации, содержащую цитокинин БАП (6-бензиламинопурин, синтетический цитокинин) в концентрации 1 мг/л (контроль) или изучаемое вещество в разных концентрациях. Через 2-4 недели в каллусной ткани на контрольной среде начинают формироваться побеги растений-регенерантов. Если изучаемое вещество обладает активностью цитокининового типа, то на опытной среде также появляются регенеранты, в противном случае регенерация не происходит.

Многие регуляторы роста, не проявляя выраженной активности того или иного типа, оказывают стимулирующее действие на процессы *in vitro* в присутствии ауксина или цитокинина либо ускоряют рост побегов и корней при микроклональном размножении.

Типичная схема гормонального контроля органогенеза описана Скугом и Миллером [142]: образование побегов стимулируется при условии преобладания концентрации цитокинина по отношению к ауксину, тогда как обратное соотношение способствует образованию корней. Эта модель приемлема для большинства видов растений, но не универсальна: концентрация гормонов широко варьирует и для каждого вида или сорта определяется эмпирически.

В экспериментальных вариантах в состав питательных сред вводили изучаемое вещество в разных концентрациях, контрольные варианты сред готовили по базовым методикам на минеральной основе Мурасиге и Скуга (MS) или Гамборга В5 половинной концентрации (1/2 В5) [145, 146]. Образование каллуса на эксплантах из листовых тканей рапса происходит при добавлении в агаризованную среду MS ауксина 2,4-Д; регенерация побегов начинается после переноса каллусной ткани на среду MS с добавлением цитокинина БАП [147].

В качестве тест-функций использовали параметры морфогенеза: частоту образования каллуса, корней, побегов (% от числа эксплантов), объем каллуса, высоту побегов, количество листьев и корней, длину корней.

Навески изучаемого препарата растворяли в горячей дистиллированной воде, добавляли в готовую питательную среду и тщательно перемешивали. Среда разливалась в колбы и автоклавировалась 30 минут при 1,25 атм. В каждом варианте опыта культивировали 30 эксплантов при 16-часовом фотопериоде, дополнительной освещенности 3000 люкс, температуре 18-24°C. Опыты имели 3 повторности во времени, результаты статистически обработаны методами дисперсионного анализа [134].

В этой части работы применяются следующие специальные термины:

Ауксины – регуляторы роста растений, стимулирующие рост клеток.

Цитокинины – регуляторы роста растений, стимулирующие деление клеток.

In vitro – “в стекле” (лат.), культивирование тканей, органов или организмов в пробирках или колбах.

2,4-Д – 2,4-дихлорфеноксиуксусная кислота, синтетический ауксин, гербицид.

БАП – 6-бензиламинопурин (6-бензиладенин), синтетический цитокинин.

Экспериментальная часть биологических опытов проводилась в ГНУ Сибирского НИИ кормов СО РАСХН, Новосибирская область, п. Краснообск, под общим руководством заведующей лабораторией генетики и биотехнологии, кандидата биологических наук Рожанской О.А.

3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕХАНОХИМИЧЕСКИХ ПРЕВРАЩЕНИЙ ОСНОВНЫХ КОМПОНЕНТОВ, ВЫДЕЛЯЕМЫХ ИЗ ТОРФОВ

3.1. Общетехническая характеристика торфов

Источником физиологически активных веществ может служить различное природное и вторичное сырье – торф, угли различной степени химической зрелости, отходы сельскохозяйственного производства и лесной промышленности.

Исследованы торфы Темного и Таганского месторождений Томской области, которые относятся к верховому и низинному типам, соответственно. В таблице 3.1 приведена общая характеристика торфов, представленных сфагновой (моховой) и древесной группами. Преимущественное развитие определенных растительных ассоциаций обуславливает накопление разного по химическому составу органического вещества торфа, обладающего различной сохранностью [4, 5, 14]. Из таблицы 3.1 видно, что степень разложения возрастает при переходе от верхового торфа к низинному и от мохового к древесному от 5 до 30 %.

Таблица 3.1 – Общая характеристика торфов

Месторождение	Тип торфа	Ботанический состав	Степень разложения, R, %	Зольность, A ^c , % мас.	Влажность, W ^p , % мас.
Темное	Верховой	Сфагновый	0 – 5	3,7	9,2
Таганское	Низинный	Древесный	30	25,5	10,2

Генетический показатель торфов – зольность. Содержание золы в верховом сфагновом малоразложившемся торфе низкое и составляет 3,7 %. Низинный торф характеризуется высокой зольностью, достигающей 25,5 %. Влажность исследуемых образцов торфов небольшая и составляет 9,2 и 10,2 %.

3.2. Влияние различных видов добавок на выход водорастворимой фракции верхового механоактивированного торфа и обоснование выбора реагентов для технологии получения препаратов торфа

Кислотность торфа относится к одной из основных агрохимических характеристик и определяется наличием в нем свободных кислот. В верховых торфах свободных кислот больше, чем в низинных. Повышенная кислотность отрицательно воздействует на сельскохозяйственные растения, культивируемые в присутствии торфа. В исходных и механоактивированных торфах определяли активную кислотность в водных вытяжках.

Как ясно из литературного обзора, биологическая активность торфов связывается с присутствием ГК, возможно – других высокомолекулярных кислот и ПФ. Все эти соединения малорастворимы в воде, растворимость солевых форм существенно выше. Поэтому в качестве реагентов для механохимических превращений выбраны твердые щелочи. В ряду гидрокарбонат натрия (пищевая сода) – карбонат натрия (сода) – гидроксид натрия щелочность соединений повышается.

С другой стороны, известно, что высокомолекулярные соединения могут гидролизываться под действием кислот с образованием низкомолекулярных фрагментов, также обладающих повышенной по сравнению с исходными веществами растворимостью. В качестве твердой кислой добавки для механохимической обработки выбран кислый сульфат натрия. Для сравнения проведены эксперименты с добавкой жидкой серной кислоты в количестве 5 %, которое не приводит к формированию отдельной фазы жидкости в системе.

Добавки различных реагентов при механообработке торфа по-разному влияют на количество ВР веществ. При обработке торфа в ВЦМ-10 и дальнейшей экстракции ВР компонентов холодной водой (24 °С) наибольший выход ВР веществ обеспечила добавка высоких концентраций соды (табл. 3.2), но при этом сильно возросла щелочность торфа.

Препараты торфа для биологических применений не должны иметь высокую кислотность или щелочность, поскольку в таком случае они не совместимы с живыми тканями. Как видно из таблицы 3.2, образцы исходного торфа, обработанного без добавок и в присутствии небольших концентраций реагентов – 3–5 % имеют реакцию среды близкую к нейтральной. Среди них наиболее эффективной оказалась обработка торфа с 5% NaHSO_3 , 5% NaOH и 5 % H_2SO_4 .

Таблица 3.2 – Изменение выходов ВР компонентов верхового торфа, обработанного в ВЦМ-10, при экстракции холодной водой

Условия обработки	Содержание, % мас. на ОВ		рН водной среды	
	Σ ВР	Водорастворимые (ВР)		
		ПС		ПФ
Исходный	0,4	0,2	0,2	5
без добавок	0,7	0,3	0,4	5
3 % Na_2CO_3	2,7	1,3	1,4	6
5 % Na_2CO_3	4,0	0,8	3,2	7
10 % Na_2CO_3	6,7	2,9	3,8	8
20 % Na_2CO_3	15,8	2,1	13,7	11
30 % Na_2CO_3	21,0	7,5	13,5	12
40 % Na_2CO_3	35,7	4,0	31,7	12
50% Na_2CO_3	41,3	22,4	18,9	12
5% NaHCO_3	4,0	0,4	3,6	6
5% NaHSO_3	5,1	1,1	4,0	7
5% NaOH	8,6	0,3	8,3	8
5 % H_2SO_4	6,5	3,7	2,8	4

При экстракции веществ горячей водой (95 °С) из верхового торфа, обработанного в АПФ-4, выходы ВР возросли (табл. 3.3). Но повышение температуры экстракции мало отразилось на выходах ВР компонентов из образцов торфа, обработанных в присутствии реагентов. Эти образцы дают слабощелочную реакцию среды, за исключением добавок 12 % NaHCO_3 и 12 % NaHCO_3 + 0,5% ЦВ с щелочной

реакцией. Более приемлемыми в этом случае оказались добавки 3% NaOH и 6% NaHCO₃.

Обработка торфа в ВЦМ-10 повысила выходы ВР компонентов и оказалась более эффективной, по сравнению с АПФ-4 (табл. 3.3).

Таблица 3.3 – Изменение выходов ВР компонентов верхового торфа, обработанного в АПФ-4 и ВЦМ-10, и экстракции их горячей водой

Условия обработки	Содержание, % мас. на ОВ			рН водной среды
	Σ ВР	ВР		
		ПС	ПФ	
АПФ-4				
Исходный	1,3	0,2	1,1	5
без добавок	3,5	1,0	2,5	5
2% NaOH	4,0	1,7	2,3	7
3% NaOH	4,6	1,6	3,0	7
0,5 % ЦВ	3,2	1,8	1,4	7
6% NaHCO ₃	5,1	3,9	1,2	7
6% NaHCO ₃ + 0,5%ЦВ	2,8	2,0	0,8	7
12 %NaHCO ₃	8,2	5,7	2,5	8
12 %NaHCO ₃ + 0,5%ЦВ	11,6	8,3	3,3	9
ВЦМ-10				
без добавок	5,8	2,4	3,4	5
3% NaOH	7,1	4,4	2,7	7
0,5 % ЦВ	9,1	3,0	6,1	7
3% NaOH + 0,5%ЦВ	5,0	0,7	4,3	7

По степени кислотности торф, обработанный с реагентами, можно расположить в ряд: среднекислый (рН-4, 5 % H₂SO₄), слабокислый (исходный, диспергированный без добавок), нейтральный (рН- 6, 3 % Na₂CO₃), слабощелочной (рН-7, 0,5 % ЦВ, 5% NaHSO₃, 5 % Na₂CO₃, 2% NaOH, 3% NaOH, 6% NaHCO₃, 6% NaHCO₃ + 0,5%ЦВ) и щелочной (10 % Na₂CO₃, 20 % Na₂CO₃, 12 % NaHCO₃ и 12 %

$\text{NaHCO}_3 + 0,5\%$ ЦВ). Увеличение концентрации щелочи, карбоната и бикарбоната натрия приводит к щелочным и сильнощелочным условиям.

Таким образом, для дальнейших детальных исследований и перспективного применения в технологии мы решили использовать добавку реагента – 3 % NaOH, которая дает слабощелочную реакцию водной вытяжки торфа и позволяет повысить выход ВР веществ при малом расходе щелочи.

Представляет интерес изучить влияние целлюлозолитического фермента ЦВ в низкой концентрации. Экспериментальное обнаружение того факта, что введение ЦВ приводит к увеличению выхода ВР веществ, и, прежде всего ПС, существенно расширяет перспективы механохимического метода переработки торфов и другого целлюлозосодержащего сырья.

3.3. Элементный состав торфов

Сведения об элементном составе вещества позволяют получить значительную информацию о строении соединений и их свойствах. Элементный состав исследованных торфов, обработанных в ВЦМ-10, изменяется в зависимости от условий обработки (табл. 3.4), в том числе в экспериментах без введения химических реагентов. По-видимому, это связано с протеканием при механохимической обработке реакций, сопровождающихся выделением газообразных продуктов, и частичном окислении компонентов торфа. Как показал анализ элементного состава, содержание углерода в торфах находится в пределах 46,7 – 53,7%, водорода в интервале 5,7 – 7,4%, количество азота в торфе колеблется в значительных пределах 0,3 – 4,2%, кислорода – 37,6 – 46,3%.

В низинном торфе после обработки возрастает количество углерода и уменьшается – азота, а в верховом торфе увеличивается содержание кислорода (табл. 3.4).

Для оценки процессов превращения органического вещества использовались отношения H/C ; O/C ; N/C (табл. 3.4). Отношение H/C уменьшается в образцах торфов

после обработки без добавок по сравнению с исходными значениями. Как показано в работе [72], при диспергировании воздушно-сухих образцов происходят процессы, приводящие к образованию отдельными компонентами торфа конденсированных структур. Проведение МА со щелочью и ЦВ снижают вероятность протекания процессов, приводящих к образованию более конденсированных молекул. Значения отношений Н/С для верхового торфа при этом увеличиваются. После обработки верхового торфа со щелочью увеличилось значение отношения О/С, что свидетельствует о повышении в его составе доли кислородсодержащих соединений. В низинном торфе после обработки в присутствии реагентов уменьшилась доля азотистых соединений, о чем можно судить по изменениям отношений Н/С.

Таблица 3.4 – Элементный состав торфов, обработанных в ВЦМ-10

Условия обработки	Содержание, % мас. на ОВ				Атомное отношение		
	С	Н	Н	О	Н/С	Н/С	О/С
Верховой торф							
Исходный торф	48,1	5,9	0,7	44,2	1,5	0,01	0,7
без реагента	48,1	5,7	0,6	44,6	1,4	0,01	0,7
0,5% ЦВ	47,1	6,7	0,3	45,8	1,7	0,006	0,7
3% NaOH	46,7	6,6	0,3	46,3	1,7	0,01	0,9
Низинный торф							
Исходный торф	50,6	7,2	4,2	37,9	1,7	0,07	0,6
без реагента	52,6	6,5	3,1	37,8	1,5	0,05	0,5
0,5% ЦВ	53,7	7,4	1,2	37,6	1,7	0,02	0,5
3% NaOH	50,8	7,3	3,3	38,6	1,7	0,05	0,6

3.4. Минеральный состав торфов

Для изучения изменения минерального состава торфа под воздействием механохимической обработки был проведен рентгенофлуоресцентный анализ проб верхового и низинного торфов, обработанных в ВЦМ-10. Важным показателем при

МА является содержание железа в образцах торфов, влияющее на реакционную способность фракций. По литературным данным известно, что при длительной обработке (30-180 мин) в механохимическом реакторе другого типа - атриторе в составе торфа значительно увеличивается содержание железа, способного встраиваться в структуру ГК [72]. Рентгенофлуоресцентным анализом показано, что изменение в содержании металлов и микроэлементов в исходных и обработанных торфах изменяется в пределах ошибки при обработке в мельнице ВЦМ-10, т.е. его минералогический состав практически не изменяется (табл. 3.5). Следовательно, в течение 2 минут не происходит взаимодействия органического вещества торфа с материалом механоактиватора.

Таблица 3.5 – Изменение минерального состава торфов при механохимической обработке в ВЦМ-10.

Условия обработки	Содержание элементов, % мас.			
	Fe	Mn	Ti	Si
Верховой торф				
Исходный торф	1,2	0,07	0,10	Следы
Без добавок	1,2	0,07	0,11	Следы
0,5% ЦВ	1,2	0,07	0,10	Следы
3% NaOH	1,1	0,06	0,10	Следы
Низинный торф				
Исходный торф	6,7	0,19	0,13	6,8
Без добавок	6,8	0,16	0,27	6,7
0,5% ЦВ	6,7	0,15	0,28	6,4
3% NaOH	7,5	0,15	0,28	6,7

3.5. Химический групповой состав торфов

Механическое воздействие в присутствии реагентов приводит к изменению выхода и качественных характеристик основных компонентов торфов.

Анализ результатов показал, что для образцов верхового торфа, обработанных в разных условиях, выходы битумов существенно различаются (табл. 3.6). Обработка верхового и низинного торфов в ВЦМ снизила содержание битумов, причем в случае верхового торфа эта тенденция проявилась более четко. Низинный древесный торф характеризуется низким содержанием жирорастворимых компонентов, незначительно уменьшающимся при разных условиях обработки. Повышение количества битумов в торфе после ударного воздействия (в АПФ-4) в присутствии ЦВ может быть связано с разрушением связующего целлюлозного и гемицеллюлозного каркаса в частицах растительного сырья и улучшения взаимодействия с растворителем. При обработке верхового и низинного торфов с NaOH общее количество жирорастворимых компонентов снижается за счет образования и удаления из их состава ВР веществ. Объяснить это можно исходя из строения битумных молекул, представляющих собой гликоглицеролипиды. В их состав входят, с одной стороны, длинные гидрофобные углеводородные остатки, а с другой – более компактные гидрофильные фрагменты в виде спиртов, углеводов, кислот, фенолов [41]. Подобные амфифильные молекулы образуют ассоциаты, разрушающиеся в зависимости от типа реагентов и механического воздействия.

Содержание ГК в торфе увеличивается при переходе от моховых к древесным видам и от верхового к низинному типам торфа [5, 14]. Кроме того, известно, что МА торфа влияет на выход ГК, который зависит от типа устройства, среды обработки и вида торфа [72, 74]. Прирост выхода ГК возможен за счет деструкции трудногидролизуемых веществ и уменьшения молекулярной массы компонентов. Обработка верхового торфа в ВЦМ-10 приводит во всех случаях к повышению выхода ГК (табл. 3.6). При обработке низинного торфа в ВЦМ-10 и верхового в АПФ-4 в щелочной среде происходит резкое снижение количества ГК за счет образования ВР гуматов. Максимальный выход ГК торфов наблюдался при обработке с ферментом в ВЦМ-10 тогда, как в АПФ-4 наиболее эффективной оказалась обработка верхового торфа без добавок.

Таблица 3.6 – Изменение выходов битумов, гуминовых кислот, полисахаридов и полифенолов после обработки верхового торфа в ВЦМ-10 и АПФ-4

Условия обработки	Содержание, % мас. на ОВ				
	Битумы	ГК	ВР		Σ ВР
			ПС	ПФ	
Верховой торф, ВЦМ-10					
Исходный торф	2,8	22,4	0,2	1,1	1,3
Без добавок	1,9	28,1	2,4	3,4	5,8
0,5% ЦВ	1,9	29,9	3,0	6,1	9,1
3% NaOH	1,1	25,6	4,4	2,7	7,1
Низинный торф, ВЦМ-10					
Исходный торф	0,8	28,3	0,1	0,3	0,4
Без добавок	0,6	35,7	0,4	1,7	2,1
0,5% ЦВ	0,6	37,1	1,0	1,5	2,5
3% NaOH	0,5	21,5	0,7	8,1	8,8
Верховой торф, АПФ-4					
Без добавок	1,2	25,7	1,0	2,5	3,5
0,5% ЦВ	3,5	19,1	1,8	1,4	3,2
3% NaOH	2,1	16,3	1,6	3,0	4,6

В процессе обработки изменяется соотношение выделенных ВР фракций – ПС и ПФ (табл. 3.6). Максимальное количество ПФ отмечено в условиях щелочного гидролиза низинного торфа в присутствии NaOH и при ферментативном с ЦВ – верхового торфа в ВЦМ-10. Обработка верхового торфа со щелочью в ВЦМ-10 уменьшает выход ПФ и способствует повышению количества ПС. При обработке верхового торфа в АПФ-4 максимальное суммарное количество ПФ и ПС отмечено при щелочном гидролизе. Суммарное содержание ВР веществ, в том числе и ПС в древесном торфе низинного типа значительно меньше, чем в верховом. Сравнение результатов, полученных в аналогичных условиях в разных мельницах, показало, что эффективность выделения данных компонентов из верхового торфа при

диспергировании, ферментативном и щелочном гидролизе в АПФ-4 ниже, чем в ВЦМ-10.

Для верхового сфагнового торфа, обработанного в различных условиях в мельнице АПФ-4, были проведены балансовые опыты по исследованию химического группового состава органического вещества (табл. 3.7). Балансовый анализ проводили по методу Инсторфа [42]. Так, в составе углеводного комплекса верхового торфа, диспергированного в АПФ, уменьшается содержание трудногидролизуемых соединений (ТГ), за исключением обработки в присутствии щелочи. Механодеструкция целлюлозных молекул сопровождается ростом количества легкогидролизуемых (ЛГ) и ВР веществ. Также повысился выход ГК, а содержание фульвокислот (ФК) в механоактивированных образцах торфа резко снизилось. При механическом воздействии в АПФ-4 наблюдается снижение содержания негидролизуемого остатка – лигнина.

Таблица 3.7 – Изменение химического группового состава органического вещества верхового сфагнового торфа после обработки в АПФ-4

Условия обработки	Содержание, % мас. на ОВ						
	Битумы	ВР	ЛГ	ГК	ФК	ТГ	Лигнин
Исходный торф	2,8	1,3	8,7	20,5	21,8	18,0	24,8
Без добавок	1,2	3,5	28,6	26,2	10,8	10,2	20,4
0,5% ЦВ	3,5	3,2	20,2	28,3	12,6	10,4	21,7
3% NaOH	2,1	4,6	16,0	26,7	9,2	19,1	22,3

3.6. Химические превращения органических компонентов торфов при обработке в разных условиях

3.6.1. Изменения в составе гуминовых кислот

Основными по содержанию и по значимости компонентами торфов являются гуминовые вещества, определяющие их практическое использование. Среди них

особое место занимают ГК, участвующие во многих разнообразных процессах экосистемного и биосферного уровней [16]. С помощью гель-хроматографии, результатов ИК- и ЯМР-спектроскопии нами охарактеризованы химические превращения ГК верхового и низинного торфов.

Гель-хроматография гуминовых кислот

Исследования ГК с применением колоночной жидкостной хроматографии в основном связано с гель-проникающей хроматографией на сефадексе, обеспечивающей разделение по молекулярным массам [128]. Методом гель-фильтрации было получено молекулярно-массовое распределение ГК исходных торфов и обработанных в ВЦМ-10 (рис. 3.1 и 3.2). Для ГК более показательным и характерным свойством является характер молекулярно-массового распределения частиц, чем средние значения молекулярных масс или число фракций. Наиболее отчетливое фракционирование по молекулярной массе достигается при фильтрации растворов ГК через сефадекс G-75. Для регистрации оптической плотности выбрана длина волны 465 нм, при которой не проявляются примеси неспецифических соединений.

Методом гель-хроматографии получены результаты, свидетельствующие о механохимических преобразованиях компонентов торфов. Этот факт отражается также на процессе набухания и растворения механоактивированных ГК в щелочном растворе, которые значительно сокращаются по времени.

По кривым элюирования ГК характеризуются полимодальным распределением молекул по размерам (рис. 3.1 и 3.2). В ГК исходных торфов преобладающей является высокомолекулярная фракция. После механоактивации верхового торфа в ВЦМ-10 снижается оптическая плотность, что свидетельствует об уменьшении сопряженных структур, при этом возрастает полидисперсность. На кривых молекулярно-массового распределения ГК, выделенных из верхового торфа после механоактивации с

целловиридином, появляется 1 пик, смещенный в область более низких молекулярных масс (рис. 3.1).

Для ГК низинного торфа (рис. 3.2.) молекулярно-массовое распределение характеризуется одним пиком. Диспергирование и обработка с целловиридином снижают оптическую плотность и молекулярную массу фракций ГК.

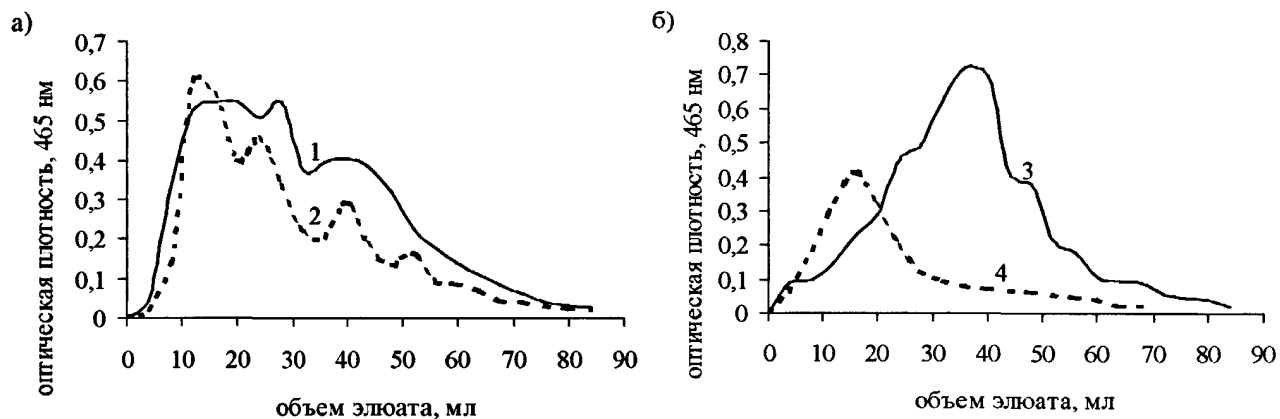


Рисунок 3.1 – Молекулярно-массовое распределение ГК верхового торфа: а) 1 – исходный, 2 – обработанный без добавок; б) 3 – обработанный с ферментом, 4 – обработанный со щелочью.

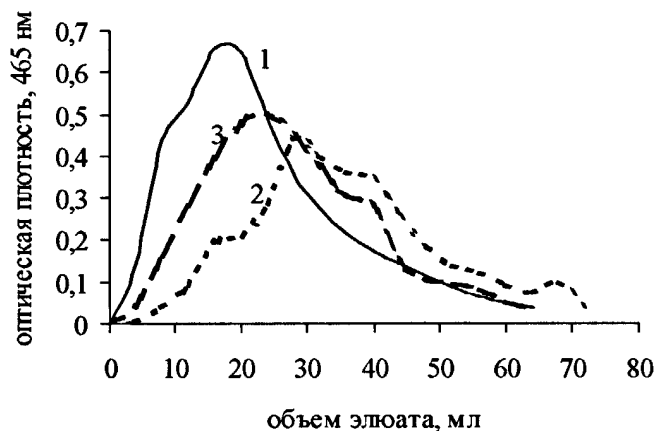


Рисунок 3.2 – Молекулярно-массовое распределение ГК низинного торфа: 1 – исходный, 2 – обработанный без добавок, 3 – обработанный с ферментом.

Метод ИК-спектроскопии широко используется для анализа ГК [148]. Преимуществами метода являются информативность по функциональному составу, экспрессность и возможность анализа веществ без дополнительного фракционирования. Это позволяет получать более достоверную информацию о строении макромолекул ГК, чем при любом химическом воздействии на вещество, приводящем к необратимым структурным изменениям. Проведенная в [17] с привлечением химических и физических методов исследования идентификация спектров ГК из почв позволила интерпретировать функциональный состав ГК исследуемых торфов.

Для количественной оценки интенсивности полос поглощения применен метод базовых линий и относительных оптических плотностей [132]. Относительное содержание функциональных групп определяли по отношению оптических плотностей полос поглощения гидрофильных групп к оптической плотности ароматических полисопряженных связей (1610 см^{-1}), что позволяет судить о содержании в них гидрофильно-гидрофобных компонентов.

В ИК-спектрах ГК исследуемых торфов присутствуют полосы поглощения, отвечающие гидроксильным группам (3400 см^{-1}), алкильным заместителям CH_2 - и CH_3 -группам (2920 и 2860 см^{-1}), карбонильным CO -группам (1720 см^{-1}), ароматическим $\text{C}=\text{C}$ (1610 см^{-1}) фрагментам, COOH - карбоксильным (1270 см^{-1}) и CON спиртовым группам (1070 см^{-1}). Для всех образцов ГК верхового торфа ИК-спектры имели одинаковый набор полос поглощения, отличающихся только их интенсивностью и небольшим смещением (рис. 3.3).

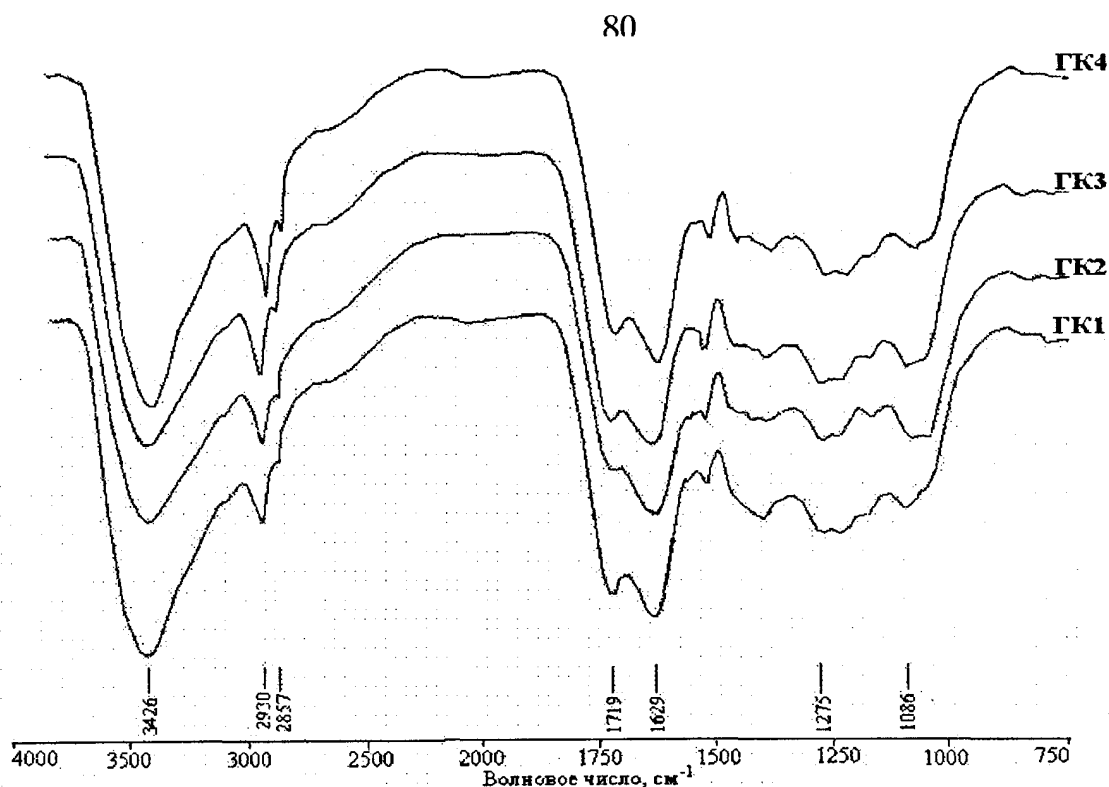


Рисунок 3.3 – ИК-спектры ГК верхового торфа: ГК1 – исходный торф; ГК2 – обработанный без добавок торф; ГК3 – обработанный торф с 0,5 %ЦВ; ГК4 – обработанный торф с 3 % NaOH.

Существенные структурные изменения в ГК торфов, обработанных в ВЦМ, отражаются в изменении относительного содержания гидроксильных, карбонильных, спиртовых групп и алкильные заместителей (табл. 3.8).

Уменьшение значений соотношений D_{2920}/D_{1610} для ГК верхового торфа, обработанного в АПФ, может быть связано с повышением количества ароматических полисопряженных структур и снижением количества алкильных заместителей. Сравнение функционального состава ГК верхового и низинного торфов при обработке в ВЦМ показало одинаковую направленность в изменении функционального состава: увеличение содержания карбонильных, спиртовых групп и алкильных заместителей.

Таблица 3.8 – Отношение оптических плотностей полос поглощения в ИК-спектрах гуминовых кислот торфов при различных условиях обработки в ВЦМ-10 и АПФ-4

Условия обработки	D_{3400}/D_{1610}	D_{2920}/D_{1610}	D_{1720}/D_{1610}	D_{1270}/D_{1610}	D_{1070}/D_{1610}
Верховой торф, ВЦМ-10					
Исходный	0,79	0,60	0,88	0,93	0,63
Без добавок	1,09	0,84	0,94	0,72	0,78
0,5% ЦВ	1,08	0,85	0,94	0,74	0,72
3% NaOH	0,87	0,95	1,00	0,75	0,71
Верховой торф, АПФ-4					
Без добавок	0,79	0,57	0,82	0,81	0,75
0,5% ЦВ	0,81	0,57	0,84	0,84	0,75
3% NaOH	1,03	0,61	0,80	0,79	0,70
Низинный торф, ВЦМ-10					
Исходный	0,84	0,66	0,71	0,77	0,48
Без добавок	1,02	0,71	0,82	0,73	0,68
0,5% ЦВ	1,02	0,72	0,87	0,78	0,65
3% NaOH	0,83	0,73	0,73	0,71	0,70

¹³C- ЯМР-спектроскопии гуминовых кислот

С целью получения дополнительной информации о содержании структурных фрагментов в составе ГК механообработанных торфов был использован метод ¹³C-ЯМР-спектроскопии. Хорошее разрешение сигналов позволило сделать детальное их отнесение к определенным фрагментам структуры. В таблице 3.9 приведены диапазоны химических сдвигов (ХС) отдельных фрагментов ГК, установленные по аналогии с модельными соединениями и литературным данным [29, 133, 148].

Таблица 3.9 – Диапазоны химических сдвигов отдельных фрагментов ГК

ХС, м.д.	Обозначение	Отнесение сигналов
220-185	>C=O	Атомы углерода карбонильных групп
186-180	Схин	Атомы углерода хиноидных групп
180-168 162-160	-COOH	Атомы углерода карбоксильных групп
168-162	Снеорг	Атомы углерода неорганических карбонатов
160-140	>CарО	Ароматические атомы углерода, связанные с атомами кислорода
140-106	>Cар-С,Н	С- и Н-замещенные ароматические атомы углерода
106-93, 80-58	>СалкО	Атомы углерода -CH ₂ -O-, - CH ₂ -OH, CH-O- фрагментов
93-80	-C _{αβ} O-4	Атомы углерода в α-O-4 и β-O-4 связях "лигнинных" компонентов
58-54	CH ₃ O-	Атомы углерода метоксильных групп
54-0	-Салк	Атомы углерода алкильных фрагментов
160-106	<i>f</i> _a	Степень ароматичности

В соответствии с детальной расшифровкой в спектрах отмечено отчетливое проявление алифатических и ароматических углеродных атомов, связанных с кислородом и представляющих разнообразные функциональные группы – гидроксильные, карбоксильные, фенольные, спиртовые, углеводные (рис. 3.4).

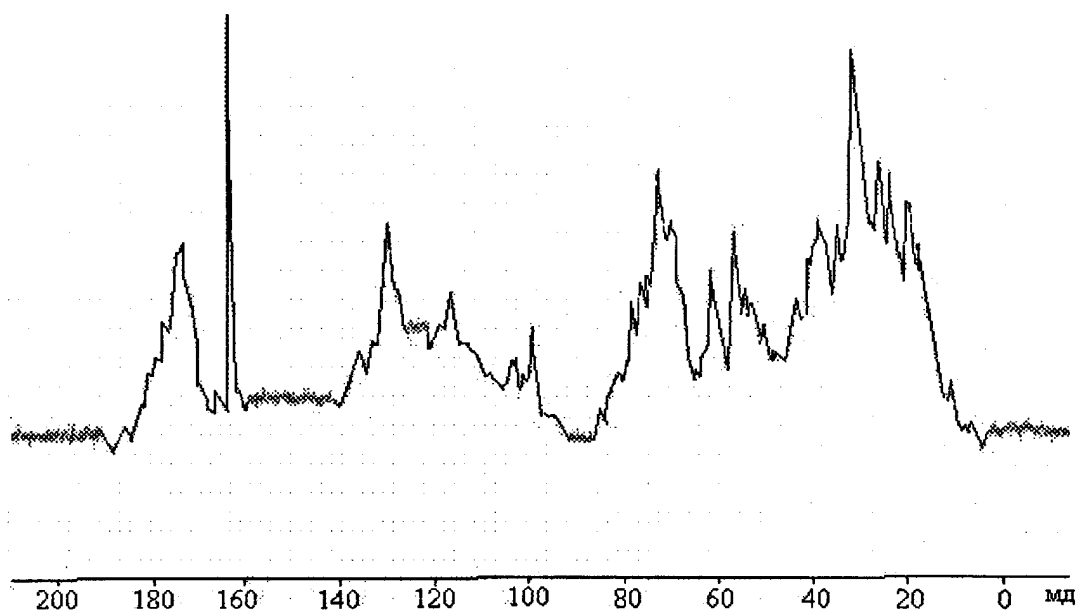


Рисунок 3.4 – ¹³C- ЯМР-спектр ГК необработанного верхового торфа.

В таблице 3.10 представлены расчеты структурных параметров ГК, свидетельствующие об изменениях их фрагментного состава при механохимической обработке торфов. Для обоих типов торфов, механоактивированных в ВЦМ-10, в ГК отмечено снижение доли алкильных заместителей и повышение количества кислородсодержащих фрагментов $C_{алк}O$. В большей степени это характерно для верхового торфа после механического диспергирования и обработки с ЦВ. В образцах, полученных при щелочном гидролизе в ВЦМ-10, интенсивность процесса деалкилирования ниже.

Таблица 3.10 – Фрагментный состав гуминовых кислот механоактивированных торфов (по данным ^{13}C -ЯМР-спектроскопии)

Условия обработки	Содержание атомов углерода в структурных фрагментах (относит. интенсивности, % отн.)							
	C=O 220-160мд	C _{ар} O 160-140мд	C _{ар} C _н 140-113мд	C _{алк} O 106-93мд	C α , β -O-4 93-66 мд	C _{алк} O, CH ₃ O 66-54 мд	C _{алк} 54 –0 мд	f _a , степень ароматичности
Верховой торф, ВЦМ-10								
Исходный торф	12,1	2,3	18,5	6,5	14,1	11,3	35,1	21
Без добавок	12,9	4,7	16,1	6,1	20,8	14,6	27,5	21
0,5% ЦВ	11,0	2,1	16,9	11,0	17,4	12,0	29,6	19
3% NaOH	8,9	2,2	19,0	6,4	18,8	12,2	32,5	21
Низинный торф, ВЦМ-10								
Исходный торф	11,0	4,5	30,8	3,5	5,5	7,7	37,4	35
Без добавок	13,2	5,6	30,1	3,9	4,0	12,1	29,1	35
0,5% ЦВ	13,7	4,8	31,6	5,3	4,5	12,8	27,3	36
3% NaOH	10,5	5,8	29,5	4,0	4,5	8,5	35,2	35
Верховой торф, АПФ-4								
Без добавок	11,9	8,6	16,9	14,5	15,4	11,0	21,7	25
0,5% ЦВ	12,6	10,9	17,4	15,0	11,6	10,6	21,9	28
3% NaOH	12,2	11,2	22,2	8,3	14,8	10,8	24,2	33

В зависимости от условий обработки торфов в ВЦМ-10 в составе ГК меняется состав кислородсодержащих групп (табл. 3.10). В образцах верхового торфа, обработанного в ВЦМ, повышается количество углеводных фрагментов, что может быть связано с разрывом гликозидных связей. Практически на одном уровне поддерживается содержание в ГК метоксильных групп. После механоактивации с реагентами в ВЦМ-10 незначительно снижается доля $C_{аром}$ в составе ГК торфов. Увеличение количества окисленных ароматических структур отмечено в ГК из торфа, диспергированного без добавок. Это же можно сказать и об изменении в содержании карбоксильных групп. Количество карбоксильных групп в составе ГК при диспергировании и механообработке с ЦВ повышается. Для образцов подвергнутых щелочному гидролизу характерно более значительное снижение доли карбоксильных групп в составе ГК за счет образования карбоксилат- ионов.

В ароматической структуре ГК после обработки верхового торфа в АПФ-4 повышается доля атомов углерода, связанных с атомами кислорода (табл. 3.10). Количество кислородсодержащих алкильных фрагментов $C_{алк}O$ повышается, в большей степени – после механического диспергирования без добавок и обработки с ЦВ. Снижается количество метоксильных групп и алкильных заместителей. Обработка в АПФ с ферментом снижает количество углеводных фрагментов, а диспергирование без добавок увеличивает их количество в структуре ГК.

Органические вещества, из которых в результате гумификации тем или иным путем образуются ГК, имеют исключительно биологическое происхождение. Большинство биологических макромолекул относятся к амфифильным соединениям, проявляющим гидрофильные и гидрофобные свойства. Амфифильность макромолекул обусловлена наличием в их составе как гидрофильных групп, так и гидрофобных фрагментов. Поскольку ГК имеют сложный химический состав, их структурные фрагменты можно условно разделить на гидрофильные (функциональные группы и $C_{алк}O$ -фрагменты) и гидрофобные (водород- и углеродзамещенные ароматические и алифатические фрагменты). Соотношение

гидрофильных и гидрофобных компонентов обуславливает растворимость ГК, пространственную организацию и разнообразие функциональных свойств [29, 86].

По результатам исследования фрагментного состава рассчитано соотношение содержания гидрофильных фрагментов к гидрофобным (табл. 3.11). В ГК необработанных торфов оно ниже 1, а в ГК более преобразованного низинного торфа в 2 раза меньше, чем в ГК верхового торфа. Образование и накопление устойчивых органических соединений с гидрофобными свойствами является следствием трансформации ГВ. Образующиеся при обработке торфов ГК характеризуются повышенной долей гидрофильных фрагментов. Диспергирование и обработка с ЦВ приводит к увеличению в 1,5 раза содержания гидрофильных соединений, а, следовательно, ведет к увеличению растворимости гуминовых препаратов. Количество гидрофильных компонентов в составе ГК после обработки торфа в АПФ увеличивается и достигает значений 1,15-1,59.

Таблица 3.11 – Влияние условий механообработки верхового торфа на отношение содержания в ГК гидрофильных фрагментов к гидрофобным

Условия обработки	Отношение содержания гидрофильных фрагментов к гидрофобным		
	Верховой торф, ВЦМ	Верховой торф, АПФ	Низинный торф, ВЦМ
Исходный торф	0,86	0,86	0,47
Без добавок	1,35	1,59	0,65
0,5% ЦВ	1,15	1,54	0,70
3% NaOH	0,94	1,15	0,51

ГК торфов представляют собой группу природных высокомолекулярных органических кислот, молекулы которых содержат ароматические группировки. Многообразие молекулярных форм ГК определяется различиями в природе источников их образования, механизмом биохимических реакций, условиями геохимической трансформации [17, 29]. Существуют лишь условные модели строения

ГК, которые можно разделить на группы: блок-схемы, условные структурные формулы, фрагментный состав. Все они предполагают, что в состав ГК входят гидролизуемые углеводные компоненты типа моно- и полисахаридов и негидролизуемая часть, которая представлена конденсированными бензольными фрагментами, азотистыми и кислородными гетероциклами (рис. 3.5)

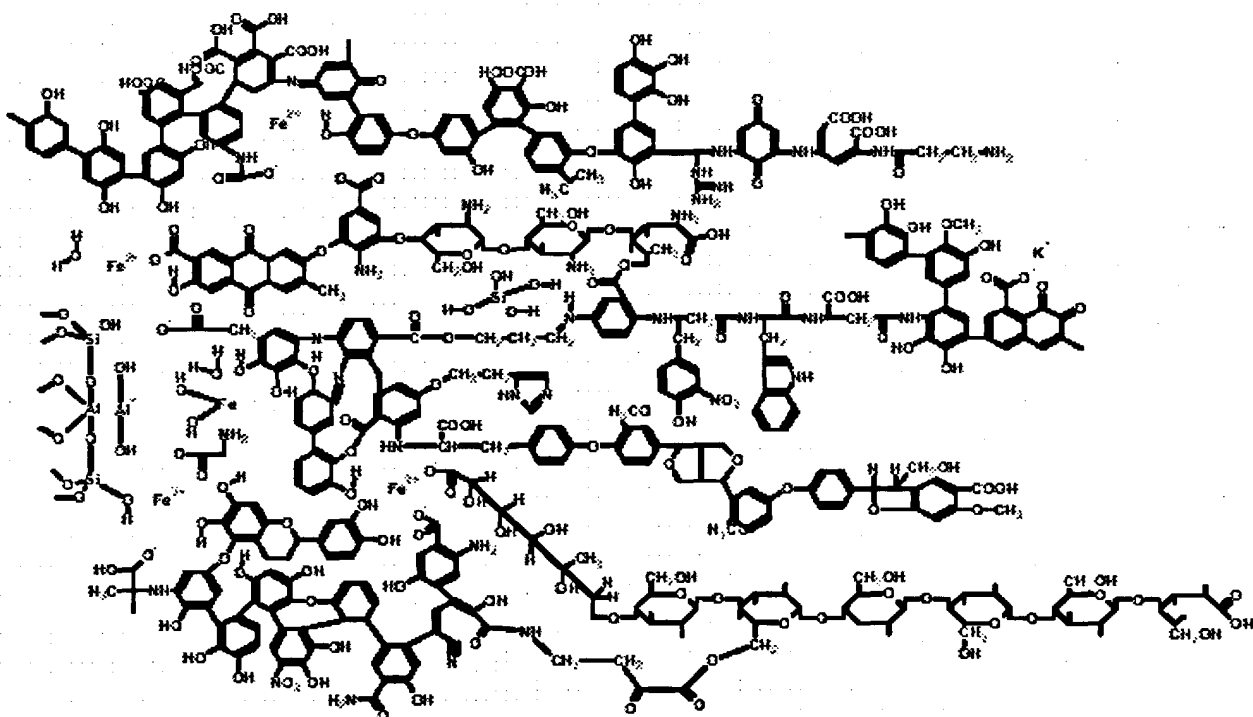


Рисунок 3.5. Гипотетический структурный фрагмент гуминовых кислот [149]

Исходя из изложенного выше можно заключить, что химические превращения ГК при механоактивации характеризуются разрывом химических связей: С-О различного типа, С-С и изменением количества функциональных групп ГК. Повышение общего содержания кислородсодержащих групп в составе препаратов после механической обработки показывает существенную роль процессов окисления кислородом воздуха в процессах механохимической обработки. Кроме того, немаловажную роль играет разрыв С-О гликозидных связей (основной тип связи в углеводсодержащих биополимерах) при механоактивации торфа, в связи с чем происходит отрыв углеводных компонентов от макромолекулы ГК и, как следствие – дальнейшее повышение выхода ПС.

Таким образом, по данным ИК- и ^{13}C - ЯМР-спектров торфов установлено, что при механохимической обработке происходит структурная перестройка, приводящая к изменению отдельных фрагментов макромолекул и количества функциональных групп в составе ГК. Повышения количества гидрофильных фрагментов при механохимической обработке торфов является причиной повышения растворимости препаратов из торфа. Существенное влияние на состав ГК оказывают не только химические реагенты, но и вид механического воздействия.

3.6.2. Изменения в составе полифенольных компонентов

В составе органической части торфов вещества с фенольной функцией находятся в значительных количествах, вследствие того, что растения-торфообразователи содержат множество фенолов, а также благодаря активной деятельности торфяных микроорганизмов, которые продуцируют фенольные соединения. Фенольные соединения – особый класс органических веществ. По своей химической природе они принадлежат к разным классам соединений: флавонам, катехинам, кумаринам, лигнинам, оксибензолам и другим [119]. Наличие в их структуре активной функциональной группы – ОН, связанной с ароматическим кольцом, а также других групп: карбоксильных – COOH , нитро – NO_2 , амино – NH_2 , галогенов, позволяют им активно взаимодействовать с ферментами, белками, углеводами и другими биологически активными веществами [24]. Из особенностей фенолов следует отметить их повсеместную распространенность, химическое разнообразие, многообразие их биологической активности. Одно из значений фенолов в биосфере состоит в том, что их своеобразная реакционная способность ведет к формированию специфических гумусовых веществ почв, торфов, углей. Другая важнейшая их биосферная функция – физиологическая. Фенолы регулируют рост и развитие растений, выполняют защитную роль при повреждении растений, участвуют в репродукции. Они обладают широким спектром фармакологического

действия. Изучение химии фенольных соединений представляет большой интерес для специалистов разных профилей.

Инфракрасная спектроскопия полифенолов

Характеристика функциональных групп ПФ фракций торфов, обработанных в ВЦМ-10, дана на основании ИК-спектроскопии. В ИК-спектрах ПФ торфов присутствуют полосы поглощения, отвечающие гидроксильным группам с широкой интенсивной полосой поглощения (3400 см^{-1}), алкильным заместителям CH_2 - и CH_3 -группам ($2920, 2870\text{ см}^{-1}$), карбонильным COOH -группам (1720 см^{-1}), CO -спиртовым и эфирным (1270 см^{-1}), CO -углеводным (1070 см^{-1}) и ароматическим $\text{C}=\text{C}$ (1610 см^{-1}) фрагментам. В таблице 3.12 приведены спектральные коэффициенты, отражающие соотношение оптических плотностей полос поглощения функциональных групп всех типов к оптическим плотностям полос поглощения ароматических полисопряженных связей (1610 см^{-1}), при разных условиях обработки.

Отмечена одинаковая направленность превращений ПФ фракций верхового и низинного торфов. Интенсивность полос поглощения для фракций верхового торфа выше, чем в спектрах низинного торфа, что свидетельствует об их большей насыщенности функциональными группами. Диспергирование и ферментативный гидролиз вызывают уменьшение интенсивности полос поглощения при 1610 см^{-1} и увеличение количества гидроксильных и углеводных групп верхового и низинного торфов. Количество кислородсодержащих функциональных групп в ПФ исходного и механоактивированного верхового торфа выше, чем в полифенолах низинного. Существенные изменения отмечены в содержании эфирных CO -групп после обработки с ферментом, характеризуемые повышением данного соотношения - D_{1270}/D_{1610} , по-видимому, за счет расщепления гликозидных связей.

Таблица 3.12 – Отношение оптических плотностей полос поглощения определенных функциональных групп полифенолов торфов при различных условиях обработки в ВЦМ-10

Условия обработки	D_{3500}/D_{1610}	D_{1720}/D_{1610}	D_{2920}/D_{1610}	D_{1270}/D_{1610}	D_{1070}/D_{1610}
Верховой торф					
Исходный торф	1,52	0,71	0,49	0,71	0,91
Без реагента	2,04	1,35	0,96	0,92	1,87
0,5% ЦВ	2,19	1,15	1,00	0,88	1,84
3% NaOH	1,08	1,19	1,41	0,72	1,00
Низинный торф					
Исходный торф	1,00	0,59	0,37	0,57	0,45
Без реагента	1,22	0,58	0,58	0,71	0,64
0,5% ЦВ	1,42	0,75	0,88	0,68	1,21
3% NaOH	1,02	0,63	0,81	0,47	0,59

Количественный состав полифенольного комплекса верхового торфа, обработанного в ВЦМ-10

Из ПФ фракций верхового торфа, обработанного в ВЦМ-10, методом избирательной экстракции растворителями выделены кумарины, фенолкарбоновые кислоты и флавоноиды (табл. 3.13). Для обнаружения ПФ использовалась их способность флуоресцировать при УФ-освещении и давать окрашенные растворы. При хроматографическом исследовании было подтверждено присутствие в торфе веществ фенольной природы: кумаринов, флавоноидов и фенолкарбоновых кислот.

Флавоноиды – фенольные соединения, в основе структуры которых лежит скелет, состоящий из $C_6 - C_3 - C_6$ – углеродных единиц. Большинство флавоноидов можно рассматривать как производные 2 – фенилхромана (флавана) или 2 – фенилхромона (флавона) [119]. Флавоноиды существуют в природе преимущественно

в виде гликозидов путем соединения с молекулами углеводов. Присоединение сахаров происходит обычно по месту расположения гидроксильных групп. Возникающая связь во всех случаях замыкается через атом кислорода. Этот класс соединений носит название О-гликозидов. При ферментативном гидролизе эта связь разрывается. Флавоноиды очень чувствительны к действию щелочей. В результате взаимодействия флавоноида со щелочью идет расщепление в ядре флавоноида.

Кумарины – природные соединения, в основе строения которых лежит 9,10 – бензо – α – пирон. В щелочных растворах они образуют фенолкарбоновые кислоты.

В исходном верховом торфе указанные группы ПФ находятся приблизительно в равных количествах (табл. 3.13). При щелочном гидролизе в торфе отмечено резкое падение количества флавоноидов и возрастание – фенолкарбоновых кислот. В условиях диспергирования без добавок и ферментативного гидролиза также наблюдается увеличение количества фенолкарбоновых кислот и снижение – флавоноидов.

Таблица 3.13 – Содержание фенольных соединений в верховом торфе, обработанном в ВЦМ-10

Условия обработки	Содержание, % мас.			
	Фенолкарбоновых кислот, кумаринов		Флавоноидов	
	на ПФ фракцию	в торфе	на ПФ фракцию	в торфе
Исходный	4,5	0,05	6,5	0,07
Без реагентов	13,5	0,46	1,6	0,05
0,5 % ЦВ	7,8	0,48	4,5	0,27
3 % NaOH	22,7	0,61	0,8	0,02

Таким образом, обработка верхового торфа в ВЦМ-10 повышает выход фенолкарбоновых кислот и кумаринов, в значительной мере, в результате щелочного гидролиза.

3.6.3. Изменения в составе полисахаридного комплекса

Среди природных соединений особый интерес приобретают углеводы, которые участвуют в процессах жизнедеятельности клетки. Углеводы относятся к числу наиболее распространенных компонентов растительных остатков, участвующих в формировании ГК торфов и почв. Большую группу углеводов торфа составляют ПС [4]. На углеводные компоненты в ГК может приходиться до 20-30% углерода. Наиболее распространены целлюлоза и гемицеллюлоза, при гидролизе которых образуются глюкоза, манноза, галактоза, фруктоза, ксилоза, арабиноза. Углеводы могут входить в состав гидролизуемых и негидролизуемых веществ торфа и дополнительно извлекаться с помощью механохимических методов. При наличии большого числа функциональных групп углеводов решение вопроса об их структурных превращениях оказывается сложным делом [41].

Согласно нашим исследованиям, которые согласуются с данными других исследований [4, 5, 14 и др.], установлено, что по мере увеличения степени разложения и при переходе от торфа моховой группы к древесной происходит уменьшение содержания ВР веществ и, в частности, ПС. Таким образом, представляет интерес изучение ПС верхового сфагнового торфа, с целью расширения знаний по изменению их состава и свойств в процессе механообработки торфа. В этом разделе представлены результаты исследований химического состава и свойств водорастворимых полисахаридов (ВР ПС) верхового сфагнового торфа после механообработки.

Количественный состав полисахаридного комплекса верхового торфа, обработанного в АПФ-4

Большую группу соединений торфа представляют водорастворимые и легкогидролизуемые углеводы, такие как ВР ПС, пектиновые вещества (ПВ) и гемицеллюлозы (Гц). В таблице 3.14 представлены результаты количественного

определения ВР ПС, ПВ и Гц в верховом сфагновом торфе, обработанном в АПФ. Содержание ВР ПС находится в пределах от 0,04 % до 0,57 % мас., ПВ – 0,16 – 0,61 % мас., Гц – 1,33 – 3,63 % мас. Данные таблицы 3.13 показывают, что в ПС комплексе верхового торфа преобладает Гц (1,33 % мас.), выход которой повышается после диспергирования. Наибольшее содержание ВР ПС и Гц находится в торфе, обработанном со щелочью. Диспергирование и ферментативный гидролиз увеличивают выход ПВ.

Таблица 3.14 – Содержание полисахаридного комплекса в верховом торфе, обработанном в АПФ-4

Условия обработки	ВР ПС, % мас.	ПВ, % мас.	ГЦ, % мас.
Исходный торф	0,04	0,16	1,33
Без реагента	0,13	0,24	1,59
0,5 % ЦВ	0,28	0,61	1,87
3 % NaOH	0,57	0,55	3,63

Молекулярно-массовое распределение фракций полисахаридов механообработанного верхового торфа по данным гель-хроматографии

Методом гель-хроматографии получены результаты, свидетельствующие о механохимических преобразованиях ПС верхового сфагнового торфа. Для ПС характерны высокие значения оптической плотности.

Как видно из полученных данных, ПС из необработанного торфа характеризуются наличием нескольких фракций. Последние представлены в значительных количествах в высоко- и низкомолекулярной областях и отражают полидисперсность исходного торфа (рис. 3.6, 3.7).

При обработке в АПФ без добавок происходит смещение максимума основной фракции в более низкомолекулярную область.

Обработка торфа в присутствии реагентов изменяет молекулярно-массовое распределение ПС (рис. 3.6). Из данных о распределении ПС, полученных в результате воздействия фермента можно заключить, что произошли процессы модификации структуры, которые привели к образованию, в основном, одной фракции с высокой оптической плотностью, что может говорить о большой насыщенности функциональными группами. Из полученных данных также следует, что ПС во всех четырех образцах в большем количестве представлены полимерами близкой молекулярной массы. В разных условиях обработки происходит разрыв цепи макромолекулы с отрывом высоко- или низкомолекулярной фракции.

При обработке торфа со щелочью также образуется одна фракция ПС, но с меньшей оптической плотностью.

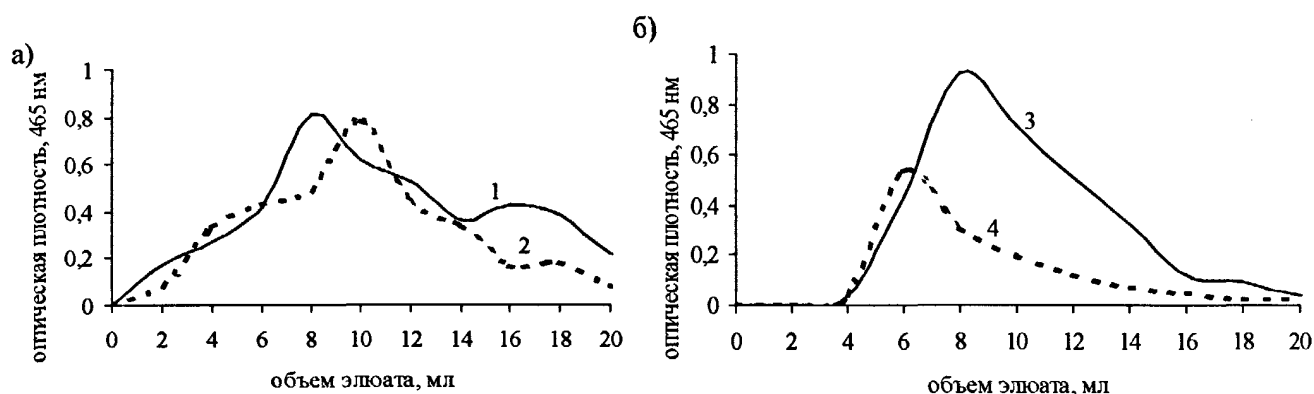


Рисунок 3.6 – Молекулярно-массовое распределение ПС верхового сфагнового торфа, обработанного в АПФ-4: а) 1 – исходный торф, 2 – торф, обработанный без добавок; б) 3 – торф, обработанный с 0,5 %ЦВ, 4 – торф, обработанный с 3 % NaOH.

После механообработки верхового торфа в ВЦМ изменился характер кривых молекулярно-массового распределения ПС (рис. 3.7). Это отличие заключается как в изменении степени дисперсности фракций, так и оптической плотности. Последнее свидетельствует о том, что при механическом воздействии происходят химические изменения. Однако большую часть ПС составляют полимеры также с близкой молекулярной массой, как в случае обработки торфа в АПФ, что указывает на одновременное протекание процессов химической модификации мономерных звеньев без разрыва цепи. Можно сделать вывод, что увеличение выхода ПС в обработанных

торфах происходит за счет углеводных фрагментов близкой молекулярной массы из трудногидролизуемых веществ.

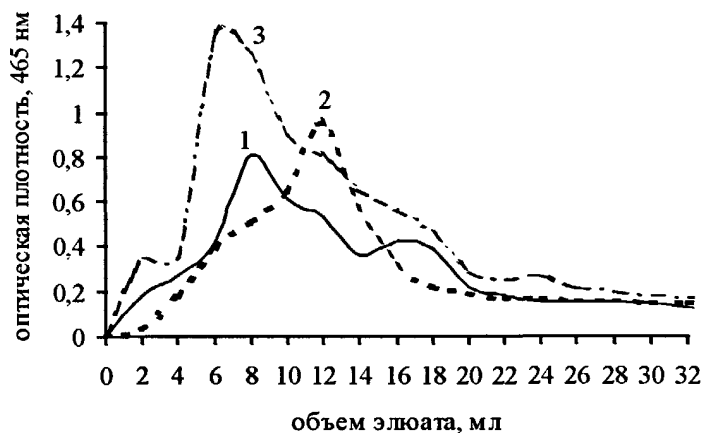


Рисунок 3.7 – Молекулярно-массовое распределение ПС верхового сфагнового торфа, механообработанного в ВЦМ-10: 1 – исходный торф; 2 – торф, обработанный с 0,5 % ЦВ; 3 – торф, обработанный с 3 % NaOH.

Таким образом, характер молекулярно-массового распределения ПС торфов свидетельствует о химической модификации макромолекул и зависит от исходного состава сырья и от условий механохимического воздействия. Количество выделяемых низкомолекулярных ПС существенно увеличивается в результате щелочного гидролиза и ферментативного гидролиза в присутствии ЦВ.

Инфракрасная спектроскопия полисахаридов верхового торфа

Механохимические превращения в ПС фракциях верхового торфа охарактеризованы по данным ИК-спектроскопии. В ИК-спектрах полисахаридов идентификация полос поглощения проведена по литературным данным [17, 150] для ПС фракций почв. Характерными функциональными группами ПС в ИК-спектрах являются О-Н гидроксильная (3400), С-Н алифатическая (2920), С=О альдегидов или кетонов – карбонильная (1630-1650), С-О эфиров (1220-1250), С-О углеводов (1030-

1070). Для всех образцов выделенных ПС ИК-спектры имеют практически одинаковый набор полос поглощения, отличающихся от образца к образцу только их интенсивностью и небольшим смещением (рис. 3.8).

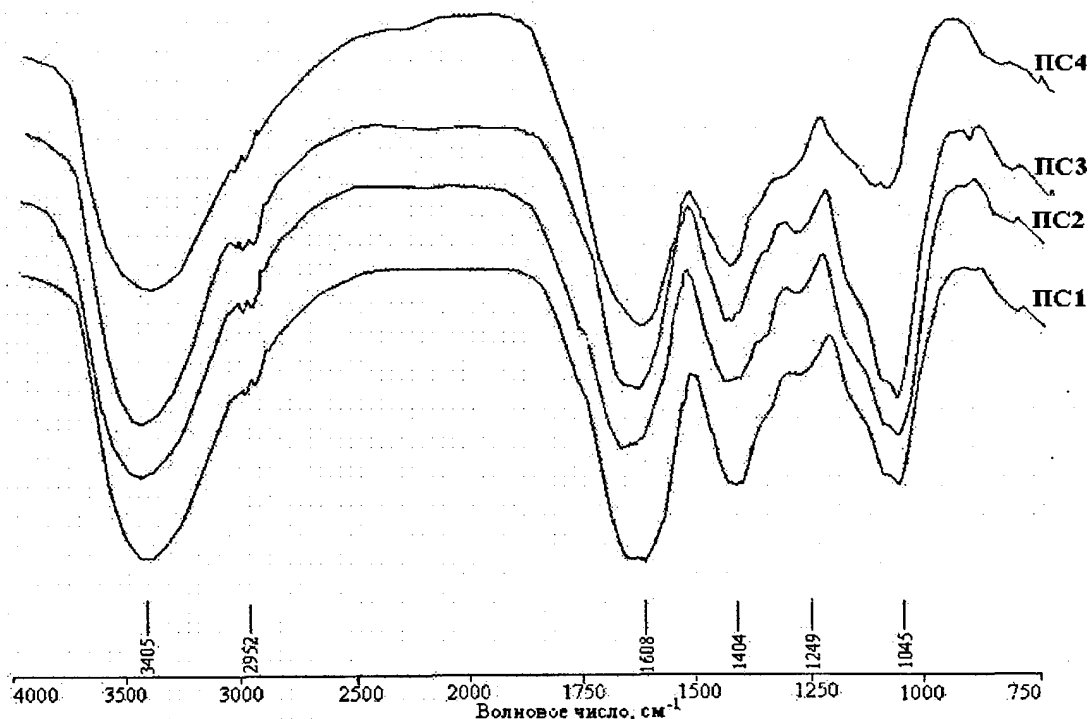


Рисунок 3.8 – ИК-спектры ПС фракций верхового торфа: ПС1 – исходный торф; ПС2 – обработанный без добавок торф; ПС3 – обработанный торф с 0,5 % ЦВ; ПС4 – обработанный торф с 3 % NaOH.

Для оценки изменений интенсивности полос рассчитаны коэффициенты, представляющие отношение оптической плотности полос поглощения при определенной длине волны к оптической плотности при длине волны 1650 см^{-1} (табл. 3.15).

Показано влияние способа выделения ПС на функциональный состав. Обработка торфа горячей водой способствует протеканию гидролиза легкогидролизуемых фракций. За счет этого возрастает количество гидроксильных групп и углеводных фрагментов в исходном торфе. По соотношению оптических плотностей полос поглощения (табл. 3.15) видно, что гидролиз горячей водой приводит к снижению количества эфирных и альдегидных групп. После обработки в

сходных условиях в ВЦМ, но при разных способах выделения ПС существенные изменения происходят в соотношении гидроксильных и альдегидных групп.

Таблица 3.15 – Влияние различных условий обработки на функциональный состав полисахаридов верхового торфа (по данным ИК-спектроскопии)

Условия обработки	Соотношение оптических плотностей полос поглощения			
	D_{3400}/D_{1650}	D_{2920}/D_{1650}	D_{1250}/D_{1650}	D_{1050}/D_{1650}
Обработка в ВЦМ, выделение холодной водой				
Исходный торф	0,73	0,45	1,07	0,54
Без добавок	0,83	0,45	0,95	0,61
3% NaOH	0,81	0,74	0,67	0,85
Обработка в ВЦМ, выделение горячей водой				
Исходный торф	0,90	0,48	0,74	0,79
Без добавок	1,57	0,88	1,00	0,61
3 % NaOH	1,18	0,57	0,79	0,97
Обработка в АПФ, выделение горячей водой				
Исходный торф	0,90	0,48	0,74	0,79
Без добавок	1,18	0,92	0,68	1,02
0,5% ЦВ	0,94	0,54	0,73	1,03
3 % NaOH	0,99	0,57	0,73	0,58

Обработка торфа в АПФ без реагентов характеризуется снижением в ПС доли альдегидов и увеличением алкильных заместителей, а при обработке в ВЦМ помимо уменьшения количества альдегидов наблюдается повышение доли групп О-Н и С-О-С в кольце (табл. 3.15).

При обработке торфа со щелочью в АПФ и выделении ПС горячей водой в их составе возрастает количество альдегидов и эфирных групп. По результатам обработки торфа в сходных условиях, но в разных установках, видно, что в ПС близки значения всех структурных параметров, за исключением группировок С-О-С в кольце.

Фрагментный состав полисахаридов

Направленность и интенсивность изменений в составе углеводного комплекса при механохимической обработке обусловлены преимущественно устойчивостью различных групп соединений в легко- и трудногидролизуемых веществах. Количественную оценку этих изменений можно проводить на основании сравнительного анализа спектров ЯМР¹³С. Набор параметров фрагментного состава и структуры углеводов торфа может быть существенно расширен с использованием данных спектроскопии ЯМР¹³С [151].

При анализе спектров ЯМР¹³С ПС обработанных торфов на основании величин химических сдвигов соответствующих сигналов были сделаны выводы о присутствии определенных групп в составе веществ. В спектрах ПС фракции выделены основные интервалы, соответствующие резонансному поглощению ядер углерода следующих групп атомов [149,151,152, 153].

Анализ и расчет спектров показал сходство и отличие во фрагментном составе ПС торфов, полученных разными способами в мельницах АПФ и ВЦМ (рис. 3.9, табл. 3.16). Для ПС, выделенных из сфагнового торфа после обработки в АПФ, спектры выглядят относительно просто, что характерно для регулярных ПС. ПС из исходного и обработанного без добавок торфов характеризуются плохой растворимостью в воде. Очевидно, за счет полимеризации в этих образцах образуются более крупные молекулы. Спектры указанных образцов имеют плохое разрешение. В них практически отсутствуют сигналы в области метильных заместителей (0-40 м.д.), аномерных атомов углерода (80-106 м.д.), ароматических фрагментов (106-140 м.д.) и ароматических атомов углерода, связанных с кислородом (140-160 м.д.). Зато в ПС исходного торфа присутствуют сигналы в области 46-47 м.д., отвечающие алкильным атомам углерода, связанным с полярными заместителями.

В интервале химических сдвигов 61-110 м.д. выделена область поглощения ядер углерода, входящих в углеводные структуры, эфирные, гетероциклические

аминокислотные фрагменты. Для образцов ПС торфа, обработанного с реагентами и без, спектры в области основных сигналов атомов углерода сахарных звеньев C_2-C_6 идентичны. Атомам углерода C_2-C_5 соответствуют химические сдвиги 68-71 м.д., C_6 - 61 м.д. и C_1 -92-110 м.д. Во всех фракциях присутствуют метоксильные группы.

В ПС, полученных при обработке торфа с ЦВ и щелочью, величина сигналов алкильных атомов углерода возрастает. По сравнению с остальными фракциями, ПС торфа, обработанного с ЦВ, характеризуется повышенной долей ароматического и карбоксильного углерода. В образце ПС, обработанного со щелочью, напротив, слабее проявляются сигналы аномерного и ароматического углерода.

Большие отличия наблюдаются во фрагментном составе ПС, выделенных из сфагнового торфа после обработки с реагентами в ВЦМ (табл. 3.16). В макромолекулах снижается доля гликозидных остатков и повышается содержание агликонов. Содержание ароматического и карбоксильного углерода значительно выше, а алкильных заместителей и метоксигрупп значительно ниже, чем в аналогичных условиях обработки в АПФ.

ПС древесного торфа со степенью разложения 25% отличаются большим содержанием алкильных, ароматических и карбоксильных заместителей. При обработке с ЦВ в ПС снижается доля алкильных и метоксильных групп.

Таблица 3.16 – Содержание атомов углерода в структурных фрагментах полисахаридов торфов по данным ЯМР ^{13}C – спектроскопии

Условия обработки	Содержание атомов углерода в структурных фрагментах (относит. интенсивности, % отн.)							
	-CH ₃	-CH ₂ -	-OCH ₃ ,	-CH ₂ -OH, CH-OH, -CH ₂ -N	-COO-	Ag-H, Ag-C	Ag-O	COOH
	0-20 м.д.	20-40 м.д.	50-58 м.д.	60-80 м.д.	80-110 м.д.	110-135 м.д.	135-165 м.д.	168-180 м.д.
ПС верхового сфагнового торфа (АПФ)								
Исходный торф	4,5	4,4	3,5	82,7	-	2,1	1,6	1,1
Без добавок	7,1	9,6	5,8	59,5	9,3	3,2	2,9	2,6
0,5 % ЦВ	6,0	14,9	4,1	55,9	4,8	8,7	1,8	3,6
3 % NaOH	7,0	14,4	5,6	63,0	3,6	3,9	1,2	1,1
ПС верхового сфагнового торфа (ВЦМ)								
0,5 % ЦВ	6,4	-	2,7	49,4	17,9	6,1	11,4	6,4
3 % NaOH	11,4	8,2	4,3	35,7	8,8	5,6	15,5	10,3
ПС низинного древесного торфа (ВЦМ)								
Исходный торф	19,4	16,1	8,1	32,9	10,7	6,1	3,0	3,6
0,5 % ЦВ	6,9	9,0	2,7	58,2	12,3	5,1	3,3	2,9
Гидролизованные ПС верхового сфагнового торфа (АПФ)								
Исходный торф	6,0	3,5	-	66,4	14,2	3,3	3,7	2,8
Без добавок	3,7	5,1	0,4	72,2	14,4	1,7	0,9	1,9
0,5 % ЦВ	1,9	2,6	-	77,3	15,5	0,9	0,5	1,2
3 % NaOH	4,4	3,3	-	75,0	15,9	-	-	1,3
Гидролизованные ПС верхового сфагнового торфа (ВЦМ)								
0,5 % ЦВ	3,3	1,2	0,5	71,0	14,7	4,5	3,1	1,7
3 % NaOH	5,2	4,9	-	65,5	12,6	3,3	4,9	3,2
Гидролизованные ПС низинного древесного торфа								
Исходный торф	8,2	7,1	2,1	62,0	12,2	4,1	2,5	2,4
0,5 % ЦВ	4,9	6,0	1,7	68,4	14,6	2,1	1,1	1,1

Предварительный гидролиз ПС с последующим анализом продуктов становится необходимым этапом в случае их малой растворимости. Гидролиз ПС обеспечивает лучшее разрешение спектров ввиду разрыва гликозидных связей, после чего ПС лучше растворяются. Анализ и расчет спектров ^{13}C -ЯМР гидролизованных сахаров (табл. 3.16) показал, что они более сложные по сравнению со спектрами ПС. При уменьшении молекулярной массы ПС спектр усложняется за счет сигналов атомов углерода концевых групп 80-106 м.д. Сигналы основных атомов углерода во всех спектрах гидролизованных ПС идентичны, но существуют и отличия между ними. В спектре ПС исходного торфа присутствует метоксигруппа (57,3 м.д.), отсутствующая в других сахарах. Отмечено также смещение химических сдвигов атомов углерода C_6 в область 63,6 м.д. Спектр характеризуется большей величиной химических сдвигов неосновных пиков.

Наибольшей схожестью структур отличаются ПС торфа, обработанного без добавок и в присутствии ЦВ. В спектре образца ПС торфа, обработанного с NaOH, отмечены изменения в соотношении величин химических сдвигов основных атомов углерода C_2 - C_6 . При гидролизе во всех обработанных образцах исчезает метоксигруппа и агликон в виде ароматического фрагмента, снижается доля алкильных заместителей.

Гидролизованные сахара древесного торфа отличаются большей долей алкильных метоксильных и ароматических фрагментов.

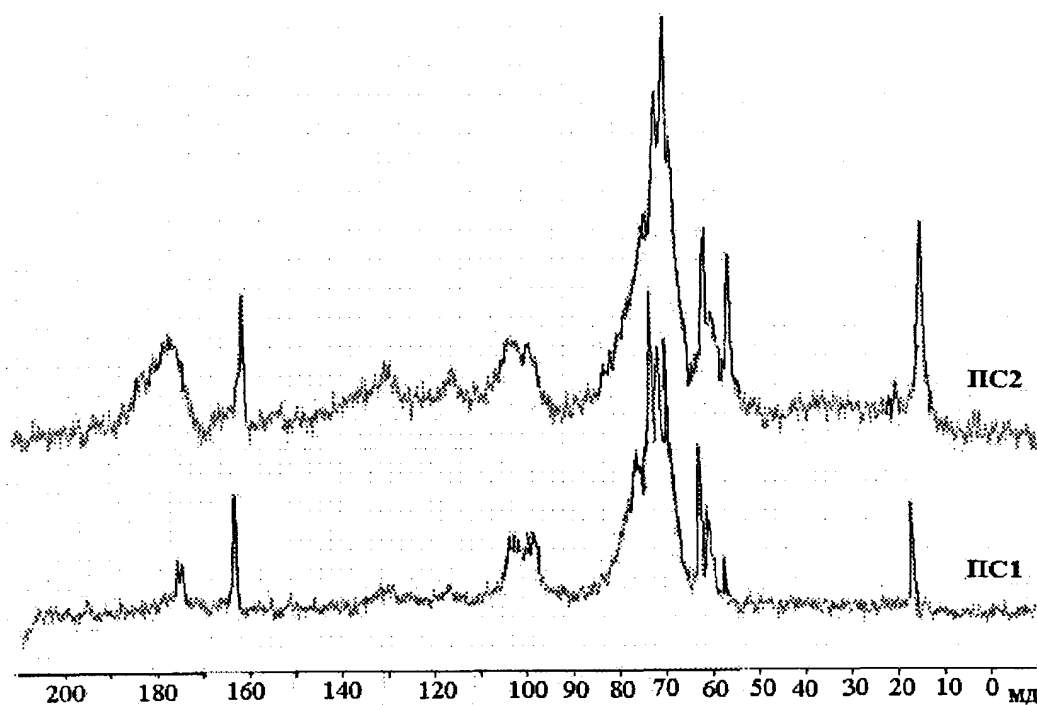


Рисунок 3.9 – Спектры ЯМР¹³С полисахаридов верхового торфа, обработанного в ВЦМ-10: ПС1 – обработанный торф с 0,5 %ЦВ; ПС2 – обработанный торф с 3 % NaOH.

Моносахаридный состав полисахаридной фракции верхового сфагнового торфа, обработанного в АПФ-4

Методом ВЭЖХ получены данные о моносахаридном составе ПС верхового сфагнового торфа, обработанного в АПФ-4. Предварительно, образцы ПС подвергали кислотному гидролизу 2 % соляной кислотой в течение 4 часов.

Условия гидролиза влияют не только на выход нейтральных сахаров, но и на мономерный состав ПС фракции торфа (табл. 3.17). Образец ПС верхового торфа, обработанного без добавок, гидролизировался в данных условиях (2 % HCl, 4 часа), практически полностью – на 100 %. Другие образцы ПС гидролизировались не полностью, что требует дальнейшего подбора оптимальных условий гидролиза и, поэтому, наблюдаются существенные изменения в количестве и составе моносахаров

(табл. 3.17). Качественный моносахаридный состав водорастворимых ПС верхового сфагнового торфа определяют: глюкоза, галактоза, ксилоза, рамноза, арабиноза, фруктоза.

Содержание глюкозы, галактозы и фруктозы значительно выше, чем других моноз. В зависимости от условий обработки в ПС меняется соотношение указанных моносахаров.

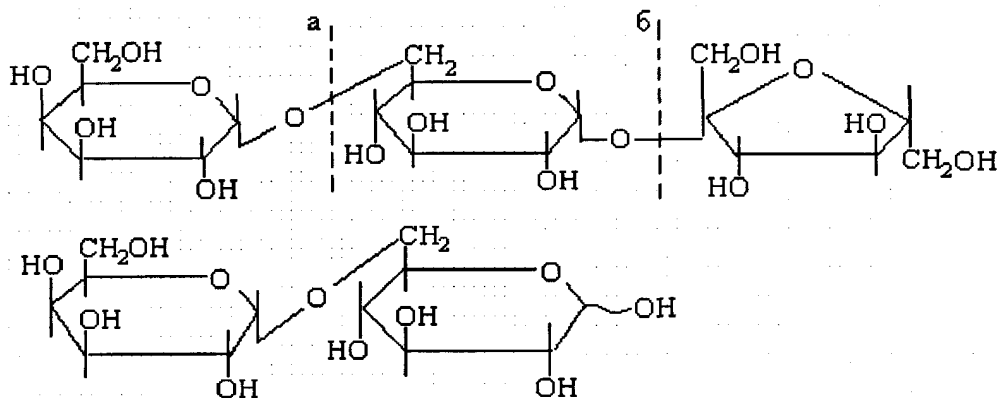
Таблица 3.17 – Моносахаридный состав гидролизованных полисахаридов верхового сфагнового торфа, обработанного в АПФ-4

Условия обработки	Степень гидролиза, %	Моносахарид	Концентрация, мг/мл*
Без обработки	45,3	Рамноза	0,41
		Ксилоза	0,98
		Арабиноза	0,51
		Глюкоза	0,80
		Галактоза	0,91
Без добавок	100	Рамноза	0,38
		Ксилоза	0,76
		Арабиноза	0,36
		Глюкоза	1,18
		Галактоза	1,18
0,5% ЦВ	51,2	Рамноза	Следы
		Ксилоза	Следы
		Глюкоза	3,20
		Галактоза	Следы
3% NaOH	58,7	Рамноза	Следы
		Ксилоза	Следы
		Арабиноза	Следы
		Фруктоза	6,22
		Глюкоза	Следы

* – в том случае, если концентрация моносахарида не указана, он присутствует в следовых количествах.

Рассматривая имеющиеся результаты, можно сделать основной вывод о том, что при механоактивации торфа основным является процессы гидролиза, приводящий к разрыву гликозидной связи и снижению молекулярной массы исходных полимеров, главным образом, очевидно, за счет образования олигосахаридных фракций. Образующиеся в результате гидролитического расщепления моносахариды вовлекаются в процесс аномеризации.

В настоящее время трудно предложить полностью обоснованную схему механохимической деструкции ПС торфа. На примере трисахарида – раффинозы можно показать условную схему разрыва гликозидной цепи (рис. 3.10). При гидролизе раффинозы образуются дисахариды – сахароза и мелибиоза – и моносахариды – глюкоза, галактоза и фруктоза, являющиеся ее



составными частями:

Рисунок 3.10 – Схема разрыва гликозидной цепи при гидролизе раффинозы.

Таким образом, главным актом механохимических превращений ПС торфа является разрыв гликозидных связей и образование полимеров более низкого молекулярного веса.

3.6.4. Изменения в составе битумов

Растительное сырье, в том числе торф – сложный структурированный комплекс химических веществ, содержащий жиро- и водорастворимые соединения. С целью разработки эффективной технологии выделения биологически активных компонентов необходимо учитывать, в первую очередь, особенности сырья. Оболочки клеток в структуре растений состоят в основном из липидов. Для разрушения и растворения разделяющих липидных структур используют обработку органическими растворителями.

Механическая обработка позволяет существенно нарушить липидные структуры и повысить эффективность выделения водорастворимых компонентов. При

механохимической обработке достигается не только разрушение липидных структур, но и обеспечивается предварительный транспорт реагента непосредственно в клетки [51, 154].

Нами проведено исследование влияния механохимической обработки на углеводородный состав битумов торфов.

Углеводородный состав битумов

В состав битумов могут входить спирты, жирные кислоты, углеводороды, пигменты, азотистые основания, фосфорная кислота, углеводы, фенолы. Однако, несмотря на структурное многообразие, битумы построены по единому принципу. В состав молекул битумов входят, с одной стороны, длинные углеводородные остатки, отличающиеся низким сродством к воде, т.е. гидрофобные, а с другой – более компактные гидрофильные группы в виде спиртов, углеводов, кислот, фенолов [41]. В качестве примера на рисунке 3.11 показан представитель липидов растений – фосфолипид фосфатидилглицерин.

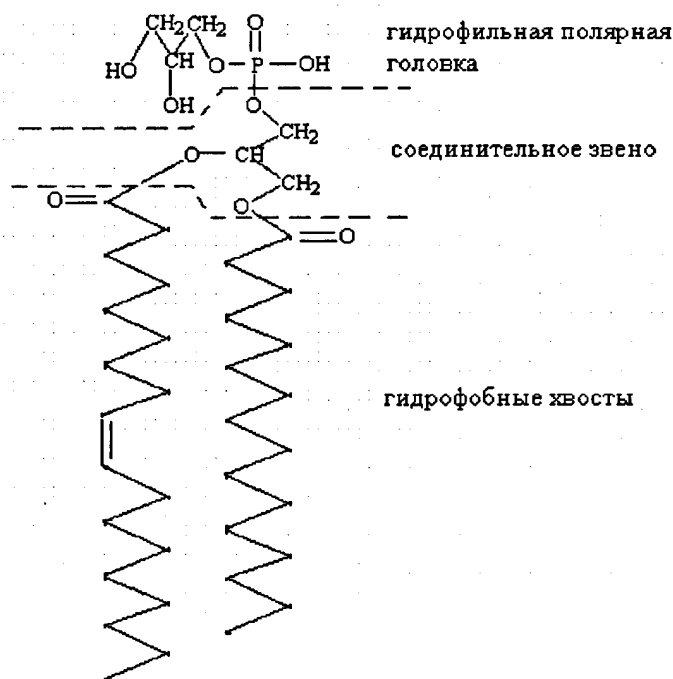


Рисунок 3.11 – Фосфатидилглицерин (1-пальмитоил-2-олеоил-*sn*-глицеро-3-фосфо-1'-*sn*-глицерин)

Подобные амфифильные молекулы проявляют значительную тенденцию к агрегации. При механическом воздействии длинные углеводородные цепи в составе битумов являются неустойчивыми фрагментами ассоциатов, т.е. наиболее подвержены процессам деструкции.

Методом ГЖХ в битумах торфов идентифицированы нормальные алканы гомологического ряда C_{15} - C_{33} с преобладанием нечетных УВ в диапазоне C_{23} - C_{33} . Изопреноидные УВ в основном представлены пристаном (и- C_{19}) и фитаном (и- C_{20}). Содержание УВ и молекулярно-массовое распределение УВ в битумах зависят от вида торфа и условий обработки. На рисунке 3.12 приведено распределение УВ в битумах исходных торфов и торфов, обработанных в ВЦМ-10, свидетельствующее о значительных изменениях в их составе. Хорошо заметно, что для образцов, полученных из обработанных торфов, на кривой распределения происходит смещение максимума содержания УВ в сторону менее длинноцепочечных и появление второго максимума, приходящегося на C_{17} . Эти алканы формируются в результате разрыва С-С связи длинных алифатических цепей.

Для количественной оценки изменений в составе УВ в процессе механообработки рассчитаны соответствующие соотношения содержания низко- и высокомолекулярных УВ (табл. 3.18). Снижение показателя нечетности, увеличение отношения C_{17}/C_{27} и суммы нормальных алканов C_{15} - C_{17} свидетельствуют о степени механохимической деструкции [154, 155]. В низинном торфе в большей степени деструкции подвержены парафины C_{31} - C_{33} . За счет этого существенно возрастает сумма алканов C_{15} - C_{17} . Обработка низинного торфа с NaOH привела к значительным изменениям состава УВ (табл. 3.18). В 10 раз повысилось содержание алканов C_{15-17} и отношение C_{17}/C_{27} . Значения показателей н- C_{17} /и- C_{19} и н- C_{18} /и- C_{20} для УВ активированных торфов снизились, что свидетельствует о возрастании содержания УВ изо-строения: пристана и фитана, особенно последнего, в результате реакций изомеризации. Общее содержание УВ в липидах торфов после обработки снижается.



Рисунок 3.12 – Распределение углеводородов n-строения в битумах а) верхового и б) низинного торфов, обработанных в ВЦМ-10.

■ - исходный, □ - обработанный без добавок, ▨ - обработанный с ферментом.

Таблица 3.18 – Распределение углеводородов в битумах торфов, обработанных в ВЦМ-10

Условия обработки	Содержание УВ на битумную фракцию, % мас.	н-С ₁₇ / н-С ₂₇	Сумма С ₁₅ – С ₁₇	н-С ₁₇ / и-С ₁₉	н-С ₁₈ / и-С ₂₀	Коэффициент нечетности
Верховой торф						
Исходный торф	5,2	0,17	4,2	1,66	1,09	3,14
Без добавок	4,3	0,43	8,4	1,33	0,80	2,87
0,5% ЦВ	4,4	0,51	8,8	1,25	0,80	2,80
3 % NaOH	4,2	0,60	8,9	1,14	0,75	2,73
Низинный торф						
Исходный торф	5,7	0,06	1,5	2,54	4,20	2,70
Без добавок	5,2	0,62	12,8	1,56	0,73	1,94
0,5% ЦВ	5,2	0,79	13,7	1,49	0,85	1,88
3 % NaOH	5,0	0,83	13,9	1,36	0,80	1,51

Таким образом, в результате исследования влияния механохимической обработки на углеводородный состав битумов торфов установлено:

- направление и глубина механохимических превращений зависит от видового состава торфа, степени разложения и типа реагента в реакционной смеси: в большей степени механохимической деструкции подвержены высокомолекулярные углеводороды битумов низинного торфа, обработанного в условиях преимущественно сдвигового воздействия;

- высокомолекулярные нормальные алканы С₂₇-С₃₃ в битумах обоих торфов подвержены механохимической деструкции с образованием углеводородов меньшей молекулярной массы (С₁₅-С₁₇) посредством разрыва углерод-углеродных связей. На рисунке 3.13 приведена схема возможных разрывов длинных алифатических цепей С₃₁ и С₃₃:

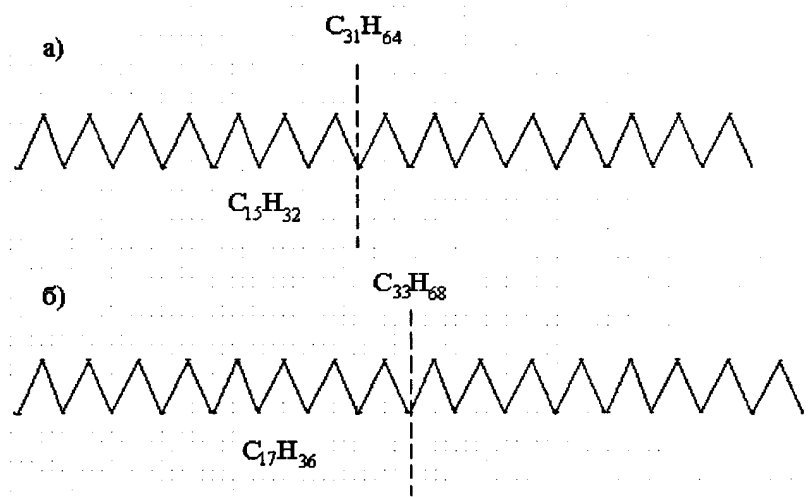


Рисунок 3.13 – Схема образования алканов $C_{15}H_{32}$ (а) и $C_{17}H_{36}$ (б) в результате механохимической деструкции $C_{31}H_{64}$ и $C_{33}H_{68}$ соответственно.

4. НЕКОТОРЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И БИОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ПРЕПАРАТОВ МЕХАНОАКТИВИРОВАННОГО ТОРФА

4.1. Каталитические свойства торфяных препаратов в процессе электровосстановления кислорода

Важным направлением исследований является поиск соединений с антиоксидантной активностью, изучение их физико-химических свойств. Соединения в ПС, ПФ, ГК, представляющие собой полисопряженные системы с широким спектром функциональных групп [75], должны характеризоваться высокой реакционной способностью. При введении их в модельную систему для изучения электровосстановления они играют роль инициаторов или ингибиторов реакции и изменяют скорость процесса электровосстановления кислорода. Параметры протекания процесса электровосстановления кислорода зависят от рН среды, присутствия солей металлов, структурных особенностей компонентов и их межмолекулярного взаимодействия.

Как показал анализ химического состава исследуемых торфов, проведение механообработки позволяет повысить выход основных органических компонентов торфов. Кроме того, при механохимической обработке происходит разрыв химических связей и изменение количества функциональных групп, что может способствовать и повышению реакционной способности веществ. Поэтому оценка ингибирующих-иницирующих свойств фракций в окислительно-восстановительных процессах представляет несомненный интерес.

В данной работе изучалось влияние гуминовых препаратов, полученных механохимическим способом, на процесс электровосстановления кислорода с целью оценки их реакционной способности.

Проанализировано влияние исходного типа торфа, условий обработки и концентрации фракции на процесс электрохимического восстановления кислорода. Реакционная активность фракций определялась вольтамперметрическим методом катодного восстановления кислорода [96].

По результатам проведенных анализов построены зависимости относительного изменения плотности предельного тока электровосстановления кислорода ($i/i_{нач} - i_o$) от концентрации вещества в объеме раствора. Полученные зависимости представлены экспоненциальными кривыми, как правило, с двумя участками, отвечающими разным по активности группам (рис. 4.1). По тангенсу угла наклона касательной к этим участкам рассчитаны коэффициенты активности фракций (K_1 и K_2), катализирующие или тормозящие процесс электровосстановления кислорода.

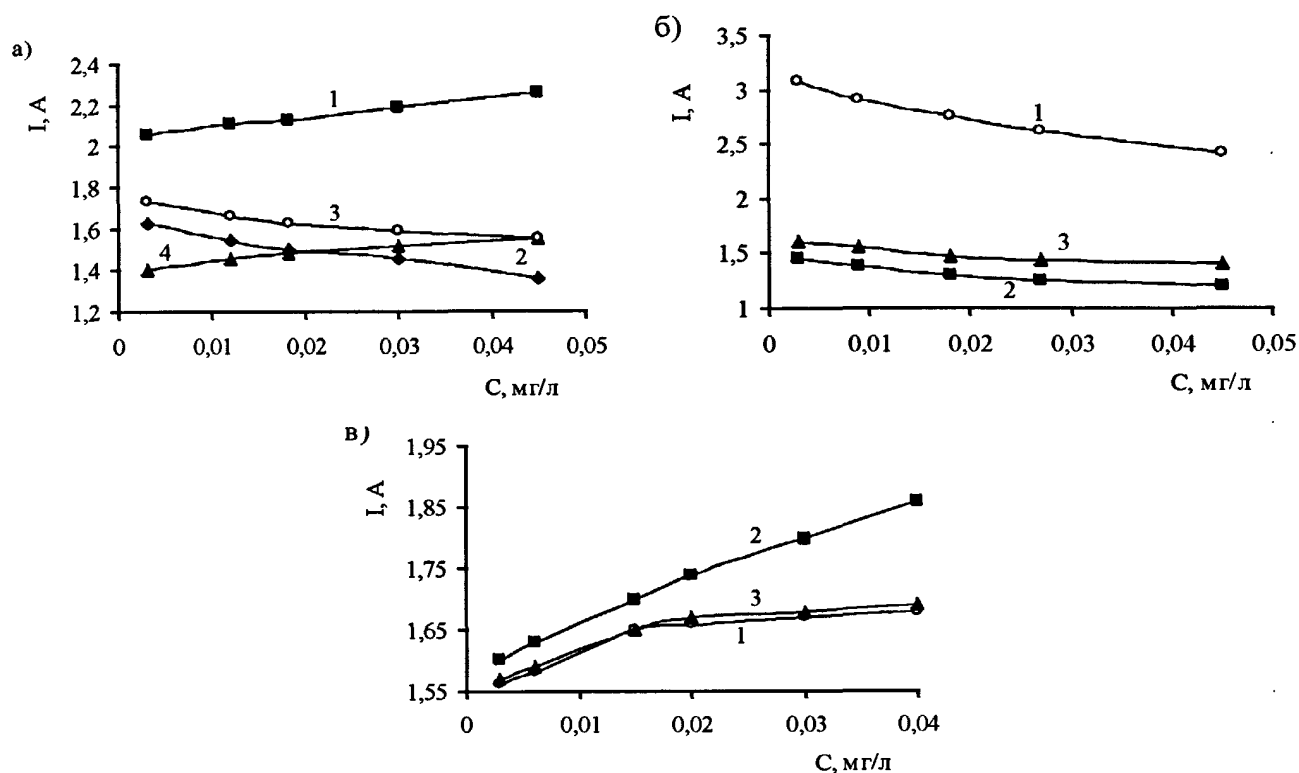


Рисунок 4.1 – Зависимости относительного изменения плотности тока электровосстановления кислорода от концентрации а) – полисахаридов б) – полифенолов, в) – гуминовых кислот: 1 – исходный образец, 2 – обработанный в отсутствие реагентов образец, 3 – образец после обработки с целловиридином, 4 – образец ПС после обработки со щелочью.

Как видно из рисунка 4.1 ПС, ПФ фракции и ГК по-разному влияют на величину катодного тока в процессе электровосстановления кислорода. ПС фракции из исходных и обработанных со щелочью торфов (рис. 4.1 а) и все фракции ГК (рис. 4.1 в) его увеличивают, а компоненты ПФ (рис. 4.1 б), напротив, снижают. В области концентраций 0,01-0,02 мг/л проявляются наиболее сильные иницирующие или ингибирующие свойства фракций. Повышение концентрации вещества в растворе снижает рост величины катодного тока. По-видимому, в разбавленных растворах уменьшается степень внутри- и межмолекулярных взаимодействий. За счет этого высвобождаются активные группы, участвующие в окислительно-восстановительных реакциях.

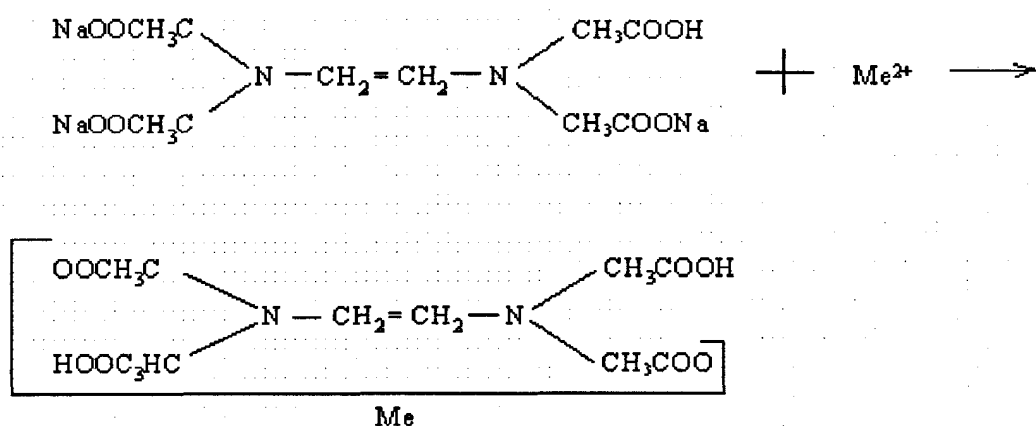
В таблице 4.1 приведены коэффициенты каталитической активности для гуминовых препаратов, выделенных из исходных и механоактивированных торфов. Максимальная иницирующая активность исходных фракций отмечена для ПС из низинного торфа. Отрицательные значения для ПС исходных торфов свидетельствуют об иницировании ими процессов окисления.

В зависимости от условий обработки поведение ПС в данном процессе меняется. Диспергирование торфа и обработка с ЦВ вызывают превращения ПС в формы, характеризующиеся антиоксидантными свойствами. Причем, активность ПС из диспергированного верхового торфа значительно превышает антиоксидантную активность полифенольных соединений.

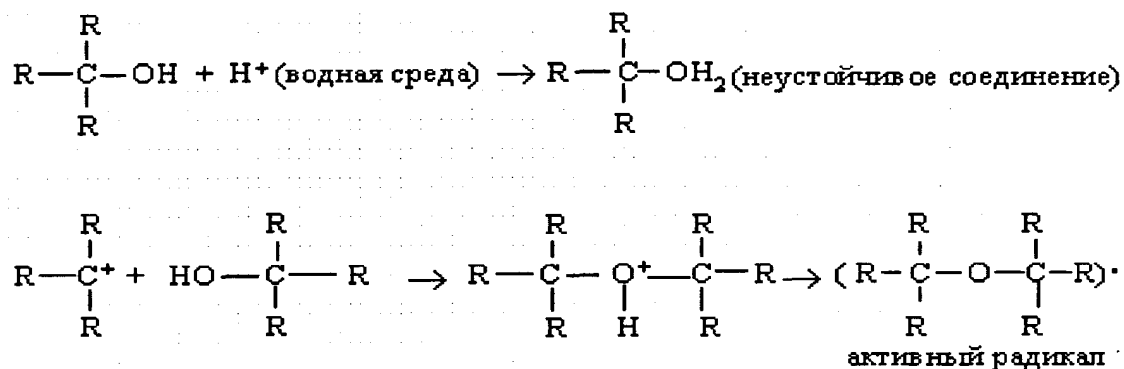
Каталитические свойства ПС могут быть связаны с наличием в них металлов, в частности ионов железа. При механохимической обработке торфа происходит перераспределение железа между группами соединений. Однако еще в работе [157] было показано, что снижение содержания соединений железа в 2-10 раз кислотной обработкой не повлияло на величину коэффициентов каталитической активности ГК.

Для выяснения роли железа в формировании каталитической активности ПС фракции обрабатывались комплексообразующим компонентом – этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА). Предполагается, что в результате такой обработки железо переходит в прочный комплекс и теряет каталитическую

активность. После обработки исходных фракций ПС комплексообразующим компонентом ЭДТА, последние проявили ярко выраженные ингибирующие свойства. Реакция с натриевой солью ЭДТА в водном растворе, приводящая к связыванию в комплекс ионов железа, имеет следующий вид:



Удаление ионов железа разрушает ассоциаты в ПС фракциях освобождая функциональные группы, которые обеспечивают максимальную антиоксидантную активность ПС по сравнению с другими образцами (табл. 4.1). Реакция образования радикалов протекает по механизму гликозилирования следующим образом:



Структурные преобразования в ПС после щелочной обработки торфов, напротив, активизируют их иницирующие свойства в окислительных процессах.

Известно, что большинство природных антиоксидантов имеют фенольную природу [24]. К ним относятся замещенные фенолы, флавоноиды и т.д. Ингибиторами

процесса окисления в составе полученных препаратов выступают суммарные ВР и ПФ фракции, выделенные из обоих торфов. Коэффициенты антиоксидантной активности выше у ПФ верхового торфа. Диспергирование и обработка торфов с ЦВ приводит не только к снижению выхода ПФ, но и отмечается снижение их антиоксидантной активности. Очевидно, за счет того, что при механоактивации со щелочью увеличивается выход ПФ, а среди них растет количество фенолкарбоновых кислот и кумаринов, антиоксидантная активность получаемых препаратов увеличивается. В суммарных ВР фракциях, включающих ПС и ПФ, проявляется синергический эффект, в результате чего при различных условиях обработки антиоксидантная активность выше, чем у ПФ. Суммарные ВР фракции верхового торфа обладают большей антиоксидантной активностью, чем ВР вещества низинного торфа.

Фракции ГК проявляют независимо от условий обработки только иницирующие свойства. Для большинства образцов ГК максимальная каталитическая активность отмечена при их концентрации в растворе 0,001-0,003% мас. При увеличении количества ГК выше указанного предела наблюдается незначительное изменение величины катодного тока (рис. 4.1 в).

Во всех случаях, за исключением щелочного гидролиза, отмечен рост коэффициентов активности ГК. Максимальной каталитической активностью характеризуются ГК диспергированных торфов.

Анализ данных по реакционной активности торфяных фракций и их химическому составу, показал, что антиоксидантные свойства определяются повышенными концентрациями ВР компонентов: ПС и ПФ, а каталитические – ГК. Наиболее активные препараты с антиоксидантной активностью получают из ПС фракций верхового торфа после диспергирования без добавок.

Таблица 4.1 – Коэффициенты активности ПС, ПФ и ГК в процессе электровосстановления кислорода ($K \cdot 10^3$)

Условия обработки	ПС		ПФ		ВР вещества		ГК	
	К ₁	К ₂	К ₁	К ₂	К ₁	К ₂	К ₁	К ₂
Верховой торф								
Исходный	-6,0	-	+22,8	+1,0	+6,0	+1,3	-5,1	-2,6
Без добавок	+33,3	+18,8	+9,7	+2,0	+11,9	+7,4	-40,0	-6,7
0,5 % ЦВ	+14,3	+2,8	+8,5	+2,6	+10,0	+2,8	-9,8	-5,0
3 % NaOH	-4,0	-1,5	+22,0	+6,7	+8,0	+1,4	-6,5	-2,8
ЭДА	+7,4	+2,8						
Низинный торф								
Исходный	-15,0	-5,0	+5,6	+2,8	+5,6	+1,1	-2,5	-1,5
Без добавок	+3,0	+1,4	+5,6	-	+2,2	+0,2	-15,0	-0,3
0,5 % ЦВ	+15,0	-	+4,9	+3,5	+2,6	+1,6	-7,7	-1,7
3 % NaOH	-12,0	-1,8	+26,2	+11,7	+6,6	+3,3	-8,1	-3,5
ЭДА	+70,0							

Влияние ГК, ПС, ПФ на процесс электровосстановления кислорода связано с наличием в них фенольных, карбоксильных, карбонильных и других группировок, а также с особенностями конденсированных ароматических структур. Однако все фракции, характеризующиеся диаметрально противоположными свойствами, содержат весь набор перечисленных функциональных групп и фрагментов. Объяснить подобное явление для природных биополимеров можно исходя из ассоциативной природы антиоксидантов и оксидантов.

Корреляционный анализ данных

На основе корреляционного анализа установлены устойчивые и значимые взаимосвязи между коэффициентом активности ($K_{вос}$), характеризующим иницирующую способность ГК при электровосстановлении кислорода, и структурными параметрами молекул ГК, приведенными на рисунке 4.2. $K_{вос}$ находится в прямой зависимости от количества углеводных фрагментов ($R=0,81$), ароматических атомов углерода, связанных с кислородом $C_{арО}$ ($R=0,98$), наличия метоксильных групп ($R=0,97$) и отношения Φ гидрофильных/гидрофобных компонентов ($R=0,89$). При увеличении в составе ГК доли ароматических ($R=-0,81$) и алкильных ($R=-0,81$) фрагментов наблюдается уменьшение величины $K_{вос}$.

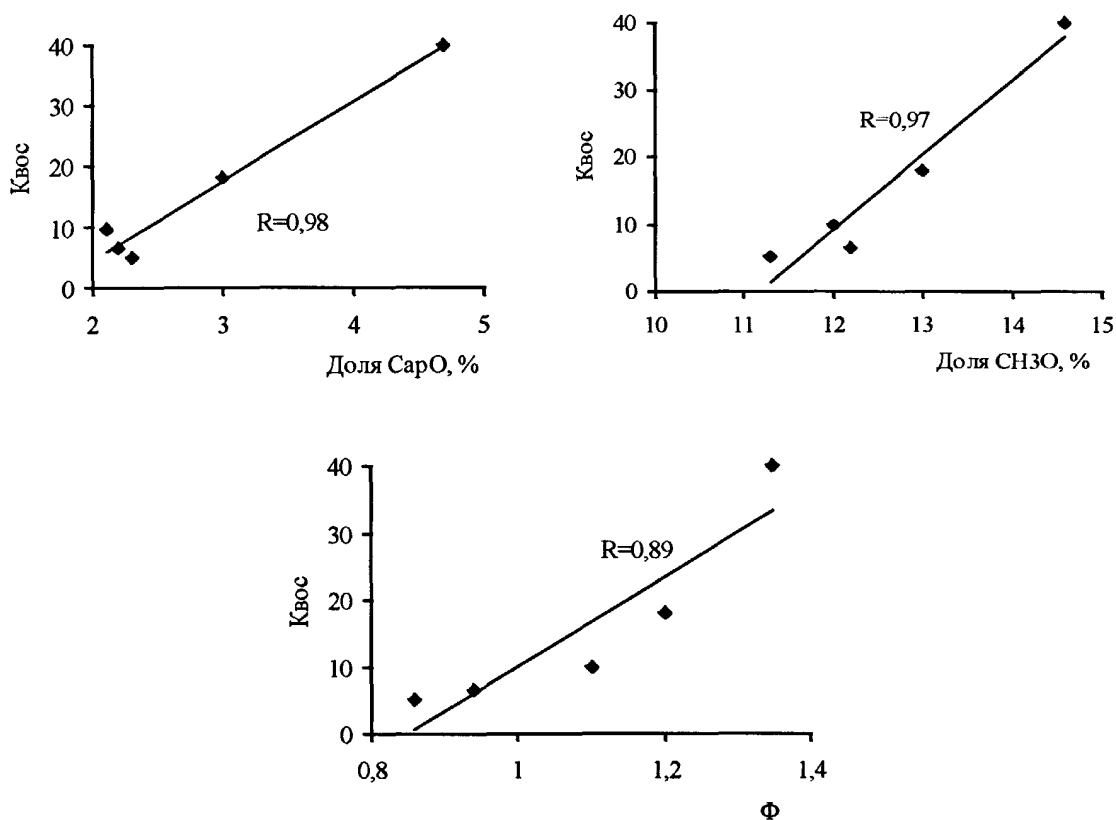


Рисунок 4.2 – Взаимосвязь структурных параметров ГК: (а) CaO , (б) CH_3O , (в) Φ - отношение гидрофильных/гидрофобных с коэффициентом электровосстановления

Для ПФ и суммарных ВР фракций, обладающих антиоксидантными свойствами и тормозящими процесс электровосстановления, установлены высокие коэффициенты корреляции между функциональным составом и $K_{вос}$ (рис. 4.3). Для данной группы соединений коэффициент электровосстановления находится в прямой зависимости от количества гидроксильных и С-О-групп.

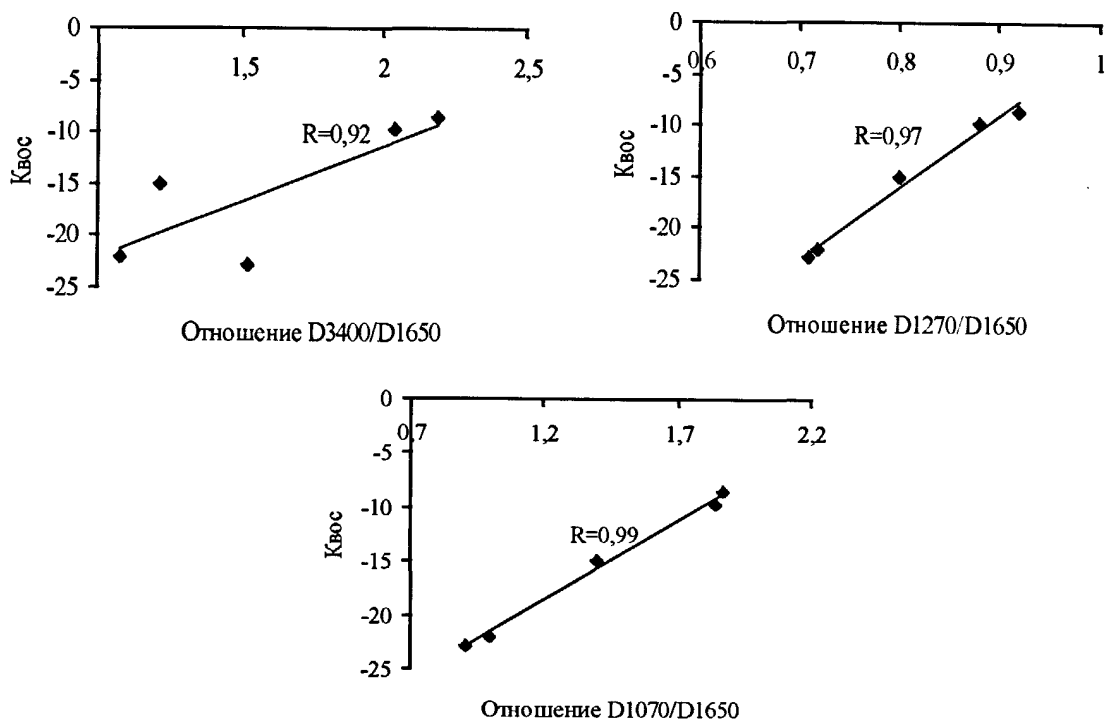


Рисунок 4.3 – Взаимосвязь функционального состава ПФ и суммарных ВР фракций: (а) ОН-, (б) С-О, (в) С-ОН групп с коэффициентом электровосстановления

При механообработке торфов в ПС происходят значительные структурные преобразования, вызывающие изменение каталитических свойств. Корреляционный анализ показал, что $K_{вос}$ находится в прямой связи с количеством метоксильных групп ($R=0,81$, рис. 4.4) и С-О-С ($R=0,84$).

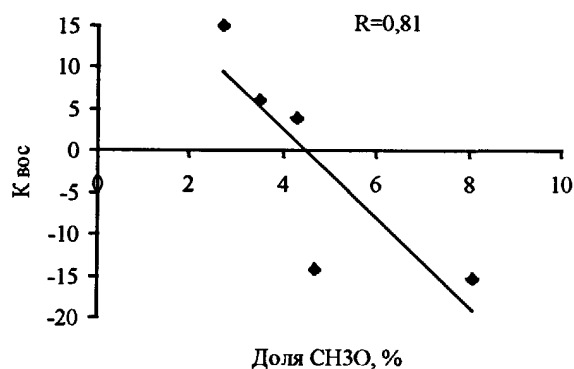


Рисунок 4.4 – Взаимосвязь функционального состава ПС: СН₃О-групп с коэффициентом электровосстановления.

Таким образом, результаты исследования активности продуктов механообработки торфов в процессе электровосстановления кислорода показывают, что функциональный состав выделенных торфяных фракций является одним из факторов их активности.

4.2. Антиоксиданты в битумных компонентах торфов

Известно, что многие соединения в живых организмах обладают антиокислительной активностью и выполняют защитную функцию, ингибируя перекисное окисление липидов в клеточных мембранах [54]. Наибольшей антиокислительной активностью обладают фенолы высших растений и различные хиноидные пигменты [24, 158]. В процессе отмирания организмов антиоксиданты (АО), вероятно, наследуются осадочным органическим веществом и тормозят радикальные, в том числе окислительные процессы его биогеохимической трансформации. Бурковой В.Н. и др. [55] было рассмотрено распределение антиоксидантов в липидах биопродуцентов, а также в иловых сульфидных и сапропелевых осадках некоторых озер Западной Сибири и установлена прямая зависимость между антиокислительной и биологической активностью изученных объектов. Важный результат такого исследования – накопление АО в восстановительной среде и расходование их в окислительной по сравнению с исходными биопродуцентами.

Битумы торфов отличаются высоким содержанием функциональных групп, унаследованных от растений-торфообразователей и преобразованных в результате биохимических процессов в торфяной залежи [54, 55]. Определенные фрагменты и функциональные группы молекул имеют подвижный атом водорода, определяя тем самым их антиоксидантные свойства. Антиокислительную активность липидным фракциям растений и битумам торфов придают присутствующие в их составе фенолы, каротиноиды, фосфолипиды, стеринны, жирные кислоты, спирты, тетрапиррольные пигменты [159]. Характеристика битумов, данная на основании

содержания в них АО и констант скоростей окисления, свидетельствовала об изменении при механоактивации их функционального состава [75].

Из рисунка 2.3 (глава 2.6) видно, что на кинетических кривых инициированного окисления кумола в присутствии битумов торфов выделяются два периода индукции с разными скоростями окисления. Следовательно, в битумах обоих торфов присутствуют две группы антиоксидантов – АО₁ и АО₂, отличающиеся между собой по реакционной способности, причем более высокое содержание АО характерно для низинного торфа [54]. В таблице 4.2 приведены константы скорости ингибирования ¹K₇ и ²K₇, отражающие реакционную способность АО₁ и АО₂ (ошибка определения составляет 10 %).

Анализ результатов исследования ингибирующих свойств свидетельствует о том, что в битумах необработанных торфов антиоксиданты АО₁ и АО₂ характеризуются близкими значениями ¹K₇ и ²K₇. При различных условиях механоактивации образцов в ВЦМ-10 количество АО₁ и константа скорости ингибирования ¹K₇ в битумах верхового и низинного торфов возросли, а содержание АО₂ и их реакционная способность в большинстве случаев – снизились (табл. 4.2).

Отличительной особенностью обработки верхового торфа в АПФ-4 является существенное повышение общего количества АО в битумах, причем за счет увеличения содержания АО₂ (табл. 4.2). Максимальное количество АО содержится в торфе, обработанном со щелочью. Реакционная способность указанных АО ниже, чем в случае обработки торфа в ВЦМ, об этом свидетельствуют более низкие значения констант скорости ингибирования ¹K₇ и ²K₇.

Отмечено изменение конечной скорости инициированного окисления кумола после расходования АО. Обычно большинству торфяных битумов присуща пониженная скорость реакции окисления после выхода из индукционного периода [91]. Для липидов из верхового и низинного торфов, обработанных в ВЦМ (табл. 4.2.1.), характерно некоторое дополнительное инициирование процесса окисления после расходования АО. При обработке верхового торфа в АПФ, как следует из данных таблицы 4.2, битумы понижают конечную скорость окисления. Отмеченные

факты свидетельствуют об изменении структуры битумов и формирование новых ассоциативных комбинаций, различающихся антиоксидантными свойствами.

В целом, характеристика реакционной активности АО битумов механоактивированных торфов приводит к следующему заключению: при обработке в условиях преимущественно сдвигового воздействия (в мельнице ВЦМ) возросло количество антиоксидантных групп АО₁, отличающихся более высокой реакционной способностью, а обработка в условиях преимущественно ударного воздействия (в АПФ) повышает содержание АО₂, характеризующихся меньшей реакционной способностью.

Таблица 4.2 – Кинетические параметры антиоксидантов битумов механообработанных торфов

Условия обработки	Содержание антиоксидантов в битумах, 10 ⁻² моль/кг		Реакционная активность, 10 ⁴ л/моль•с		Конечная скорость реакции, мл/мин *
	АО ₁	АО ₂	¹ К ₇ , 10 ⁴	² К ₇ , 10 ⁴	
Верховой торф, ВЦМ-10					
Исходный торф	24,1	14,9	0,7	0,6	95
Без добавок	31,0	15,0	1,8	0,8	125
0,5% ЦВ	29,2	22,8	0,8	0,3	115
3% NaOH	28,3	19,7	1,4	0,6	108
Низинный торф, ВЦМ-10					
Исходный торф	27,5	30,5	0,8	0,6	112
Без добавок	39,4	17,2	0,8	0,4	123
0,5% ЦВ	31,1	18,3	1,3	0,5	120
3% NaOH	30,2	17,0	1,3	1,1	123
Верховой торф, АПФ-4					
Без добавок	29,2	37,8	0,53	0,40	90
0,5% ЦВ	28,0	40,0	0,77	0,50	85
3% NaOH	37,5	37,5	0,70	0,45	90

*- скорость инициированного окисления кумола (фона) – 100 мл/мин

Таким образом, механохимическая обработка торфов позволяет регулировать качественный состав антиоксидантных функциональных групп в битумах. Увеличение общего количества антиоксидантных групп, можно объяснить изменением структуры битумов после механообработки, в частности, разрывом связей между гидрофильной частью макромолекулы и углеводородными остатками и увеличением количества $-OH$, $-NH_2$, $-SH_2$ и других функциональных групп с подвижным атомом водорода.

4.3. Биостимулирующая активность продуктов механоактивации торфа

Использование достижений биологии и химии в практике растениеводства является определяющим условием роста эффективности аграрного сектора экономики. Перспективы дальнейшего развития в растениеводстве связывают с рядом новых факторов, в частности с широким использованием регуляторов роста растений.

Проблема регуляции роста и развития растений, с одной стороны, вплотную связана с центральным вопросом биологии о механизмах регуляции онтогенеза и дифференциальной активности генов [160, 161]. С другой стороны, хозяйственное использование регуляторов роста позволяет значительно повысить продуктивность посевов и сохранность урожая, упростить технологии возделывания и переработки сельскохозяйственной продукции [138, 139].

Для изучения характеристик тех или иных внешних факторов используются биологические объекты с хорошо изученными свойствами – биотесты [141, 162]. Наиболее распространенными методами оценки различных стимуляторов роста растений являются исследования, направленные на регистрацию повышения продуктивности под действием изучаемого фактора на ранних стадиях вегетационных опытов.

Для исследования биологической активности продуктов механоактивации торфа использовались образцы, обработанные в присутствии 10% Na_2CO_3 и 30% Na_2CO_3 , которые обеспечили высокие выходы ВР компонентов при экстракции их

холодной водой (табл. 3.2), что позволяло надеяться на высокие положительные результаты в биологических опытах. Использование соды в этом случае также экономически эффективно: она дешевле NaOH и других щелочей. Испытывались следующие препараты: верховой торф после механохимической активации с добавлением: соды 10% - ТПЗ, соды 30% - ТП5.

Для получения препаратов биостимулирующего действия использовался верховой сфагновый торф Темного месторождения, обработанный в виброцентробежной мельнице-активаторе проточного типа ВЦМ-10, которая позволяет проводить непрерывную (проточную) обработку торфа в значительных количествах, что важно для ее практического применения.

Проводилось изучение влияния растворов ВР веществ механоактивированных продуктов верхового торфа, инкрустации ими семян и их влияние на развитие растений *in vitro*.

Влияние растворов ВР веществ механоактивированных продуктов торфа на развитие проростков пшеницы

Растворы ВР веществ механоактивированного верхового торфа в концентрации 150 мг/л стимулируют рост корневой системы проростков пшеницы (табл. 4.3). Особенно активен в этом отношении ТП5, увеличивающий длину корней на 14%, а массу проростка на 9% по сравнению с контролем.

Таблица 4.3 – Влияние растворов ВР веществ механоактивированных продуктов торфа в концентрации 150 мг/л на развитие проростков пшеницы (средний % относительно контроля)

Показатели	Контроль без добавок	ТПЗ	ТП5
Высота побега	100	97	98
Длина корней	100	111	114
Масса проростка	100	106	109

В целом можно говорить о стабильном стимулирующем воздействии торфяных препаратов на развитие корневой системы проростков пшеницы.

Влияние инкрустации механоактивированными препаратами торфа на развитие проростков пшеницы

Поставлена серия опытов по проращиванию семян пшеницы, инкрустированных сухими продуктами механоактивации торфа в соотношении 10 мг на 1 г семян. Инкрустация проводилась путем обработки семян смесью веществ – связкой клея ПВА (поливинилацета) и испытуемых препаратов.

Обработка семян раствором клея ПВА в среднем не оказала достоверного негативного влияния на прорастание, что говорит о пригодности этого вещества в качестве связующего для инкрустации (табл. 4.4). Наиболее стабильный положительный эффект имел препарат ТП5, который повышал высоту побега в среднем на 29%, длину корней на 18%, массу проростка на 16%.

Таблица 4.4 – Влияние инкрустации регуляторами роста на прорастание пшеницы (средний % относительно контроля)

Параметр	Контроль (без обработки)	Связка ПВА	ТПЗ	ТП5
Высота побега	100	105	97	129
Длина корней	100	102	98	118
Масса проростка	100	104	102	116

Таким образом установлено, что инкрустация семян пшеницы торфяным продуктом ТП5 в количестве 10 мг на 1 г семян значительно стимулирует рост и развитие проростков.

Влияние продуктов механоактивации торфа на рост и развитие растительных тканей in vitro

Для более адекватной и системной оценки биостимулирующего действия торфяных стимуляторов на основе ВР веществ верхового торфа после обработки в ВЦМ-10 с содой (ТПЗ и ТП5) были проведены опыты *in vitro*.

Изучено стимулирующее действие торфяных препаратов ТПЗ и ТП5 из верхового торфа в концентрации 1 мг/л на процессы морфогенеза *in vitro* в культуре изолированных почек рапса (табл. 4.5). Контролем являлась среда 1/2 В5 (питательная среда Гамборга В5 половинной концентрации) без добавок.

В 1-ю неделю культивирования отмечен рост побегов у всех эксплантов во всех вариантах опыта. Побеги в вариантах с торфяным стимулятором были более крупными. Через 3 недели многие побеги в вариантах с торфяным препаратом имели достаточное развитие для высадки в почву. На 4 - ой неделе из каждого экспланта (отрезка стебля с почкой) сформировался побег с листьями и корнями.

По облиственности побегов установлен стимулирующий статистически достоверный эффект торфяных стимуляторов. Выявлено стимулирующее действие ТП5 на высоту побегов. Влияние торфяных продуктов на корневой морфогенез не установлено.

Таблица 4.5 – Влияние стимуляторов роста на морфогенез стеблевых узлов рапса *in vitro* на среде 1/2 В5

Параметры	Инкубация, недель	½ В5 контроль	½ В5+ ТПЗ 1 мг/л	½ В5+ ТП5 1 мг/л
Число побегов на эксплант	5	1,0	1,0	1,0
	8	1,0	1,0	1,0
Высота побега, см	5	4,9	5,4	6,1
	8	8,8	9,9	10,5
Количество листьев	5	3,8	4,1	3,8
	8	6,5	7,9	7,7
Количество корней	5	4,4	5,8	5,8
	8	14,3	14,6	14,3
Длина корней, см	5	3,4	3,2	3,0
	8	-	-	-
Частота ризогенеза, %	5	90	100	87
	8	97	100	100

С целью определения активности ауксинового типа торфяных препаратов ТПЗ и ТП5 изучали их влияние на образование недифференцированной ткани (каллуса) рапса в культуре изолированных тканей листа в концентрациях 25 и 50 мг/л. Изолированная листовая ткань рапса в контрольном варианте приступала к недифференцированному росту (каллусообразованию) в течение первой недели культивирования. Каллус желтого цвета зернистой структуры и плотной консистенции формировался вдоль надрезов и постепенно покрывал всю площадь экспланта.

В присутствии экзогенного ауксина препараты торфяного происхождения ТПЗ, ТП5 в концентрации 25 мг/л ингибировали процесс, а в концентрации 50 мг/л оказали незначительное положительного действия на образование каллуса (табл. 4.6). Варианты с добавками (50 мг/л) без 2,4-Д характеризовались полным отсутствием роста тканей, экспланты обесцветились и погибли.

Результаты опыта свидетельствуют о том, что природа влияния торфяных препаратов на рост изолированных тканей не сходна с действием ауксина, поскольку изучаемые вещества не могут заменить 2,4-Д в качестве индуктора каллусообразования.

Таблица 4.6 – Влияние регуляторов роста на каллусообразование в культуре изолированных тканей листа рапса (3 недели инкубации)

Показатели	MS + 2,4Д 1 мг/л + добавки, 25 мг/л			MS + 2,4Д 1 мг/л + добавки, 50 мг/л		ТПЗ 50 мг/л	ТП5 50 мг/л
	Контроль	ТПЗ	ТП5	ТПЗ	ТП5		
Частота каллусообразования, %	100	100	100	100	100	0	0
Средний объем каллуса, % к контролю	100	79	82	115	104	0	0

Активность цитокининового типа торфяных стимуляторов определялась в сравнении с цитокинином БАП. Для этого изучалось влияние препаратов на регенерацию побегов рапса. Каллусные ткани рапса объемом около 100 мм³ были перенесены на свежие среды для регенерации, содержащие цитокинин БАП (контроль), или изучаемые регуляторы роста (табл. 4.7).

Во всех вариантах опыта каждый каллус продолжил рост и приступил к ризогенезу в виде белого опушения. Все изучаемые препараты оказали стимулирующее действие на рост каллусной ткани. Препарат ТП5 в дозе 25 мг/л ненамного уступал цитокинину в качестве индуктора регенерации, но в дозе 50 мг/л уступал вчетверо (табл. 4.7). Препарат ТПЗ не вызывал регенерацию в обеих дозах. Таким образом, в отсутствие экзогенного ауксина изучаемые препараты способны стимулировать рост каллуса, а ТП5 – выполнять функцию цитокинина по индуцированию органогенеза и регенерации каллуса рапса, но высокоэффективная концентрация в несколько раз выше, чем обычно применяемая концентрация БАП.

Таблица 4.7 – Влияние торфяных стимуляторов на регенерацию побегов из каллусной ткани ярового рапса

Показатели	MS + добавки, 25 мг/л			MS + добавки, 50 мг/л	
	БАП 1 мг/л	ТПЗ	ТП5	ТПЗ	ТП5
Объем каллуса, % от контроля	100	125	150	161	196
Частота регенерации, % от числа каллусов	13	0	10	0	3

Таким образом, продукты механохимической активации торфа различались по характеру биологической активности в зависимости от химического состава. Максимальной биостимулирующей активностью обладает препарат, полученный при механоактивации верхового торфа с содой 30%, характеризующийся максимальным выходом ВР веществ – ПС и ПФ. Растворы данных веществ и инкрустация семян механоактивированным препаратом стимулировали развитие проростков пшеницы. Установлено, что ВР вещества торфа, механоактивированного с содой 30%, стимулируют развитие побегов рапса при микроклонировании, индуцируют регенерацию побегов из каллусной ткани рапса и, таким образом, способны выполнять функцию цитокинина и использоваться в качестве фитогормонов.

5. ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ МЕХАНОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В ПЕРЕРАБОТКЕ ТОРФА

5.1. Технологические рекомендации по производству торфяного стимулятора механохимической активацией

Механохимическая обработка торфа в современных мельницах-активаторах позволяет при уменьшении расхода щелочи получить биологически активные препараты с высокой реакционной активностью. По результатам наших исследований показано, что выход ВР веществ из механоактивированного торфа возрастает в несколько раз за счет разрыва гликозидных связей высокомолекулярных биополимеров. Перспективность получения из торфа биологически активных веществ и стимуляторов роста растений подтверждается их применением в небольших дозах по отношению к важным сельскохозяйственным культурам.

Проведенные исследования позволяют заключить, что интенсивную механическую обработку торфа совместно с твердыми реагентами можно рассматривать как перспективную операцию подготовки сырья для получения биологически активных препаратов. При этом необходимо осуществлять индивидуальный подбор условий МА. Практическое использование торфяных препаратов в растениеводстве будет способствовать усилению роста и развития сельскохозяйственных растений, что в конечном итоге обеспечит получение более высоких урожаев.

Выработка технологических рекомендаций по использованию МА в переработке торфа и получении препаратов различного назначения требует дальнейших исследований на новых видах торфов, с использованием других химических реагентов. Должно быть проведено исследование на фунгицидное действие ВР фракций, необходимо уточнить условия использования продуктов МА торфа для повышения стабильности стимулирующего эффекта.

В настоящее время можно предложить технологическую схему производства торфяного биостимулятора механохимической активацией. Сырьем для препаратов может служить широко распространенный в Томской области верховой торф низкой степени разложения. В основу производства препаратов заложены доступная технология, стандартное оборудование, дешевые и малотоксичные химические реагенты. Готовая продукция может быть использована в сельском хозяйстве в качестве стимуляторов роста растений (замачивание семян), а также в сельскохозяйственной биотехнологии в качестве фитогормонов для инициации морфогенетических процессов *in vitro*. Нерастворимая часть торфа может служить активатором структуры почвы или использоваться в других целях.

Технология производства торфяного стимулятора механохимическим способом предусматривает подготовку исходного сырья – сушку торфа до влажности 10-30 %, его измельчение, смешивание торфа с химическим реагентом, активацию полученной смеси в мельнице-активаторе проточного типа и упаковку готовой продукции (рис. 5.1).

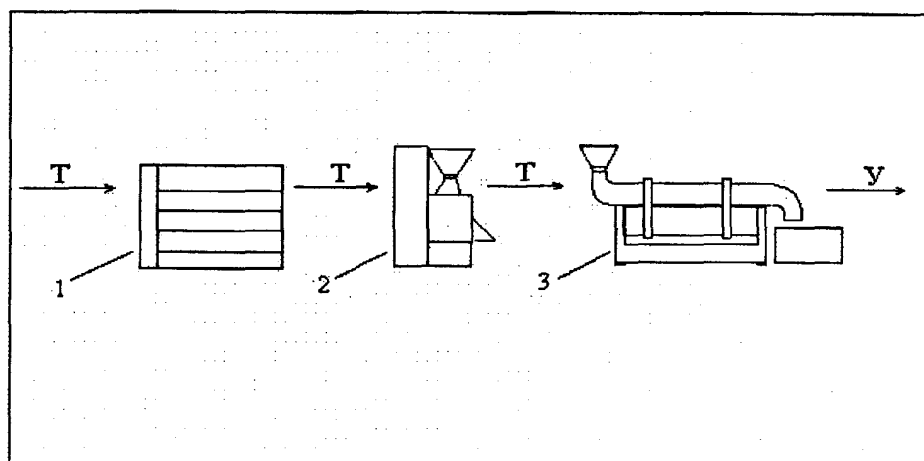


Рисунок 5.1 – Блок-схема производства торфяного биостимулятора механохимической активацией: Т – торф; 1 – сушильная установка; 2 – дезинтегратор-измельчитель; 3 – мельница-активатор проточного типа; У – упаковка.

Для производства торфяного стимулятора используют верховой торф с низкой степенью разложения (0 – 5 %) и зольностью (3 – 4 %). Торф со склада помещают в сушильную установку для сушки до влажности 10-30% (можно проводить сушку

добытого торфа естественным путем: под навесом, в помещении и т.д.). Сухой торф измельчают в дезинтеграторе (до размера частиц 1-3 мм). Подготовленный химический реагент смешивают с измельченным торфом и проводят механохимическую обработку в мельнице-активаторе (ускорение мелющих тел – 20 g, время обработки – 2 мин при комнатной температуре). Полученный продукт расфасовывают в упаковки. В качестве упаковки можно использовать полиэтиленовые пакеты.

Торфяной стимулятор представляет собой коричневый порошок с размером частиц 1 – 10 мкм с влажностью не более 30 % и содержанием щелочи 3 – 20%.

В таблице 5.1 приведены основные условные технико-экономические показатели производства торфяного стимулятора механохимической активацией.

Таблица 5.1 – Основные условные технико-экономические показатели производства торфяного стимулятора механохимической активацией

Наименование технико-экономического показателя	Численное выражение технико-экономического показателя
Количество сырья на производство 1 кг готовой продукции	0,71 кг торфа, 0,3 кг натрия карбоната марки ч
Количество энергии на производство 1 тонны продукта (исключая затраты на сушку торфа)	75 кВт
Производительность и потребляемая мощность аппаратов	Дезинтегратор 200 кг/час, 5 кВт Активатор 200 кг/час, 10 кВт
Производительность процесса при работе 8 час/сутки	1,6 тонны продукта в сутки
Объем производственных помещений (без склада)	30 кв ² (90 м ³)
Численность промышленно-производственного персонала и производительность труда	1 оператор, 200 кг/ час чел
Себестоимость продукта	3 – 5 руб. за кг готовой продукции в зависимости от стоимости сырья

5.2. Области перспективного применения и преимущества механохимической технологии переработки торфов

Большие запасы торфа в стране и, особенно, в Западной Сибири, высокая ценность его органической части обуславливают необходимость комплексного подхода к использованию торфа. Торф широко используется в сельском хозяйстве как в нативном виде, так и в виде продуктов его переработки. В настоящее время выявлены его большие возможности как источника органического сырья и показана высокая эффективность его переработки для получения органических и органоминеральных удобрений, биостимуляторов и ростовых веществ [11, 19, 38].

В настоящее время нет четкой прямой зависимости эффективности применения органических удобрений и стимуляторов роста растений, в том числе торфяных, от определенной группы веществ, принятой за действующее вещество [163]. Так, например, в органических удобрениях важным критерием качества служит содержание валовых форм элементов питания [164], в торфяных удобрениях – содержание валовых, подвижных форм элементов питания, а также водорастворимых гуминовых кислот в пределах 0,19 – 0,21 % на а.с.в. [165]. Авторы работы [166] считают, что водные экстракты из аммонизированного торфа обуславливают эффективность его применения. И все же основными носителями биологической активности в торфе являются ГК, содержание и свойства которых зависят от природы исходного сырья и технологии получения препаратов [109, 167]. Сами по себе, являясь высокомолекулярными полимерными соединениями, они нерастворимы в воде и малоподвижны. Для их использования в растениеводстве и животноводстве необходимо максимально перевести гуминовые препараты в растворимое состояние, уменьшить молекулярную массу, повысить реакционную активность, т.е. частично деструктировать, что можно достичь различными физическими и химическими методами воздействия на органическое вещество, такими как механохимическая активация.

Поскольку торф представляет собой полуколлоидно-высокомолекулярную многокомпонентную полифракционную гидрофильную систему, связанную в микро- и макроструктуры с прочными связями, то выделение экстрактивных веществ из него затруднено и для его переработки, выделения требуемых фракций необходима разработка новых высокоэффективных технологий. Механохимическая активация позволяет многократно ускорить перевод твердых компонентов в растворенное состояние. При введении в технологическую схему переработки торфа современных методов механохимической обработки, энергетические затраты на переработку и экстракцию окупаются экономией времени и более полным извлечением растворимых компонентов. Это позволяет добиться значительной экономии сырья и энергии. Активация измельчением позволяет усовершенствовать существующие способы переработки полезных ископаемых и наметить пути создания совершенно новых технологических схем химического обогащения сырья и комплексного (малоотходного) использования ресурсов. Активированные измельчением вещества характеризуются высокой сорбционной способностью, что позволяет использовать их в качестве катализаторов или для очистки промышленных вод, для улавливания ценных (вредных) компонентов [59].

Ограниченные возможности использования для проведения механохимической активации обычного измельчительного оборудования заставили искать для этой цели аппараты с высокой энергонапряженностью и создавать специальные машины – активаторы. Из машин, специально сконструированных для проведения механохимической активации, наибольшее распространение получили планетарные и виброцентробежные мельницы. Планетарные мельницы представляют собой машины типа барабанных шаровых мельниц, где воздействие гравитационного поля на рабочее тело заменено центробежной силой. Это позволяет увеличить уровень энергии, подводимой к частицам обрабатываемого вещества, при сохранении преимуществ барабанных машин (работа в различных режимах от ударного до сдвигового в одном и том же аппарате, большое время контакта частиц, проведение механохимических процессов между несколькими твердыми реагентами

непосредственно в аппарате). Недостатками планетарных мельниц является невысокий коэффициент полезного действия и конструктивные сложности в изготовлении машин большой производительности. Это ограничивает их применение для крупнотоннажных процессов [7, 8]. Наиболее удачные в этом плане – виброцентробежные мельницы. Создание современных проточных механохимических реакторов типа виброцентробежных мельниц активаторов, характеризующихся ускорением воздействующих тел – шаров до 200 м/с^2 и производительностью по твердым материалам до 5 тонн в час, позволяет применить механохимические подходы для развития таких достаточно масштабных технологий, как приготовление гуминовых препаратов из торфа.

Известные способы получения гуматов щелочным гидролизом, тепловой обработкой торфа и разбавленными растворами минеральной кислоты, щелочи, окислением воднощелочной суспензии основаны на процессе гидролиза органической массы торфа в присутствии значительного количества щелочи [11, 19, 167, 168]. Исходное сырье экстрагируют в щелочной среде при соотношении торф : щелочь 1 : 0,5-1 (50-100% мас.) при рН 10-12. С помощью биологических тестов показано, что гуминовые препараты и составляющие их гуминового комплекса оказывают ростостимулирующее действие на растения. Причем, модифицированные ГК препарата более активны, чем ГК исходного торфа. При этом есть свои недостатки при использовании гуматов, полученных щелочным гидролизом. Препараты с высокой щелочностью оказывают вредное влияние на физиологию растений и животных, вызывая язвенную болезнь желудка у последних. Поэтому гуматы, полученные этими способами, требуют использования в разбавленном виде.

Преимуществом диспергирования или МА, несомненно, является то, что в результате данного воздействия происходят изменения в пористой надмолекулярной структуре, физическом состоянии и свойствах торфов, а также увеличивает эффективность экстракции. Это позволяет в некоторых случаях отказаться от многостадийных технологических процессов, так как существенную роль в этом случае играет тот факт, что в ходе механической обработки разрушаются липидные

оболочки клеточных структур. Они перестают быть препятствием для проникновения растворителя в частицы растительного сырья, что облегчает экстракцию. Также снимаются диффузные затруднения, наблюдающиеся при взаимодействии больших частиц с экстрагентом, поскольку механохимическая технология одновременно с измельчением исходного сырья вызывает изменения в пористой надмолекулярной структуре. Осуществление твердофазных механохимических реакций в торфах с пониженным количеством щелочи приводит к уменьшению размера частиц и образованию микрокомпозитов “частицы торфа – частицы щелочи” с развитой поверхностью контакта фаз компонентов. Добавление воды к такому композиту приводит к преимущественному растворению низкомолекулярной фракции и повышенной активности препарата. Полученный в результате твердофазного процесса препарат может рассматриваться как готовая сухая форма гуматного продукта, обладающая улучшенным биологическим эффектом и потребительскими свойствами.

Гуматы, полученные механохимическим способом, содержат 3-20% щелочи. Использовать их можно в сухом гранулированном или растворенном виде. Нерастворимая часть торфа может служить активатором структуры почвы. Готовая продукция удобна в транспортировке, поэтому география ее применения обширна. Продукт в виде водорастворимых гуматов обладает высокой реакционной способностью и биологической активностью, что обеспечивает снижение требуемой нормы для обработки растений и уменьшение его себестоимости в 2-3 раза по сравнению с существующими аналогами.

Разработанные торфяные стимуляторы можно использовать в растениеводстве и животноводстве, в качестве фитогормонов для стимулирования роста растений.

Внедрение в производство технологии получения торфяного стимулятора механохимической активацией обеспечивает получение нового вида сельскохозяйственной продукции с заданными свойствами и низкой себестоимостью, организацию рабочих мест на экологически чистом производстве. Применение

механохимической переработки торфа может сделать регуляторы роста растений доступными для массового использования.

ВЫВОДЫ

1. В зависимости от условий проведения механохимической обработки торфов возможно получение препаратов, содержащих повышенные концентрации отдельных выделяемых компонентов: гуминовых кислот, полифенолов, полисахаридов.

2. Интенсивная механическая обработка торфов с целлюлозолитическим ферментом или щелочью повышает эффективность экстрагирования водорастворимых компонентов в 5-7 раз за счет увеличения выхода полифенольных и полисахаридных соединений. Выход гуминовых кислот в результате механохимической обработки увеличивается в 1,5 раза.

3. Механохимические превращения гуминовых кислот характеризуются разрывом химических связей: С-О различного типа, С-С, протеканием процессов окисления кислородом воздуха и повышением количества гидрофильных групп в составе, вызывающих увеличение растворимости препаратов.

4. В составе полифенольной фракции верхового сфагнового механоактивированного торфа увеличивается количество фенолкарбоновых кислот и кумаринов.

5. За счет разрыва С-О гликозидных связей в макромолекулах гуминовых веществ происходит увеличение выхода полисахаридов. Главным результатом механохимических превращений полисахаридов торфа является уменьшение их молекулярного веса вследствие разрыва связей.

6. Механоактивация торфов с реагентами приводит к снижению выходов битумов и изменению их антиоксидантных свойств. В битумах торфов обнаружены два типа антиоксидантов, реакционная активность которых после механохимической обработки повышается. Увеличение общего количества антиоксидантных групп объясняется разрывом связей между гидрофильной частью макромолекулы и углеводородными остатками и увеличением количества функциональных групп с подвижным атомом водорода.

7. Показаны изменения реакционной способности, инициирующих-ингибирующих свойств продуктов механоактивации торфов в процессе электровосстановления кислорода. Антиоксидантные свойства характерны для водорастворимых компонентов: полисахаридов и полифенолов, а каталитические – гуминовых кислот. Высокую антиоксидантную активность проявляют препараты полисахаридных фракций верхового торфа, обработанного с целловиридином.

8. Биостимулирующая активность продуктов механохимической активации торфа зависит от их химического состава. Установлено, что ВР вещества механоактивированного верхового торфа, характеризующиеся максимальной концентрацией полисахаридов и полифенолов, стимулируют развитие проростков пшеницы на ранних стадиях вегетационного опыта и развитие побегов рапса при микроклонировании. Установлено, что данные вещества индуцируют регенерацию побегов из каллусной ткани рапса и, таким образом, способны выполнять функцию цитокинина и использоваться в качестве фитогормонов.

9. Предложены технологические рекомендации по производству экологически чистого торфяного биостимулятора. Сущность процесса состоит в механической обработке верхового торфа совместно с химическим реагентом в мельнице-активаторе проточного типа. Преимущество этого процесса состоит в исключении из технологии большого количества химических реагентов, сокращении времени перевода твердых компонентов торфа в растворенное состояние, повышении их выхода, снижении материальных и трудовых затрат, повышении экологической и промышленной безопасности при переработке.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ломовский О.И., Белых В.Д. Механохимическая экстракция водорастворимых компонентов из растительного липидсодержащего сырья // Периодический сборник научных трудов «Обработка дисперсных материалов и сред» Одесса, НПО «Вотум». – 2000. – №10. – С. 71-75.
2. Chuev V.P., Kameneva O.D., Chikalo T.M. Use of mechanochemical activation to modify properties of bioactive compounds // Сибирский химический журнал. – 1991. – Вып. 5. – С. 156-157.
3. Vedernikov N., Karlivans V., Roze I., Rolle A. Mechanochemical destruction of plant raw materials – polysaccharides in presence of small amounts of concentrated sulfuric acid // Сибирский химический журнал. – 1991. – Вып. 5. – С. 67-72.
4. Лиштван И.И. Базин Е.Т. Гамаюнов Н.И., Терентьев А.А. Физика и химия торфа. – М.: Недра, 1989. – 304 с.
5. Король Н.Т., Лиштван И.И. Основные свойства торфа и методы их определения. – Минск: Наука и техника, 1975. – 319 с.
6. Хренкова Т.М. Механохимическая активация углей. – М.: Недра, 1993. – 176 с.
7. Болдырев В.В. Экспериментальные методы в механохимии твердых неорганических веществ. – Новосибирск: Наука, 1983. – 64 с.
8. Аввакумов Е.Г. Механические методы активации химических процессов. – Новосибирск: Наука, 1986. – 305 с.
9. Lomovsky O.I., Denisov M.G., Avvakumov E.G. Mechanochemical equipment of the Institute of Solid State Chemistry // INCOME-2. 2-nd Intern. Conf. On Mechanochemistry and Mechanical Activation. Abstracts. – Novosibirsk, 1997. – P. 140-141.
10. Юдина Н.В., Писарева С.И., Саратиков А.С. // Липиды гумусовой природы: состав, свойства и биологическая активность. Междунар. научн. конф. «Поиск, разработка и внедрение новых лекарственных средств». Томск, 27-29 июня 2000. – Томск: Томский ЦНТИ, 2000. – С. 72-74.

11. Соколов Б.Н., Колесин В.Н., Ямпольский А.Л. и др. Торф в народном хозяйстве. – М.: Недра, 1988. – 268 с.
12. Патент РФ 1793578. / Буркова В.Н., Матис Е.Я., Кураколова Е.А. и др. Способ получения БАВ, обладающих противовоспалительным действием. 1996.
13. Рожанская О.А., Юдина Н.В. Использование стимуляторов роста на основе торфа для культивирования растительных тканей *in vitro* // Тезисы докладов междунар. научно-практич. конф. «Высокие технологии добычи, глубокой переработки и использования озерно-болотных отложений», 12-15 марта 2003 г. – Томск. – 2003. – С. 163-164.
14. Раковский В.Е., Пигулевская Л.В. Химия и генезис торфа. – М.:Недра, 1978.–231 с.
15. Spedding P.J. Peat // Fuel. – 1988. – V. 67. – №6. – P. 883-893.
16. Орлов Д.С. Гуминовые вещества в биосфере. – М.: Наука, 1993. – 238 с.
17. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв и общая теория гумификации. – М.: МГУ, 1990. – 325 с.
18. Камнева А. И. Химия горючих ископаемых. – М.: Химия, 1974. – 272 с.
19. Титова Э.В. Почва, растение, удобрение. – Томск: Изд-во Том. ун-та, 2000. – С. 136-142.
20. Бамбалов Н.Н. Баланс органического вещества торфяных почв и методы его изучения. – Минск: Наука и техника, 1984. – 175 с.
21. Стадников Г.Л. Химия торфа. 2-е изд. – М.: АН СССР, 1932. – 68с.
22. Инишева Л.И., Архипов В.С., Маслов С.Г. Торфяные ресурсы Томской области и их использование. – Новосибирск: СО РАСХН, 1995. – 88 с.
23. Торф в сельском хозяйстве: Сборник научных трудов, выпуск 4 / РАСХН. Сибирское отделение. ГНУ СибНИИТ. Ред. кол.: Титова Э.В., Бурмистрова Т.И., Перфильева В.Д. – Томск, 2002. – 207 с.
24. Елин Е.С. Фенольные соединения в биосфере. – Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2001. – 392 с.
25. Кононова М. М. Проблема органического вещества на современном этапе // Органическое вещество целинных и освоенных почв. – М.: Наука, 1972. – С. 7-30.

26. Тюрин И.С. Вопросы генезиса и плодородия почв. – М.: Наука, 1966. – 213 с.
27. Лиштван И.И., Круглицкий Н.Н., Третинник В.Ю. Физико-химическая механика гуминовых веществ. – Минск: Наука и техника. 1976. – 264 с.
28. Орлов Д.С. Гуминовые вещества в биосфере // Соросовский образовательный журнал. – 1997. – №2. – С. 56-63.
29. Калабин Г.А., Каницкая Л.В., Кушнарев Д.Ф. Количественная спектроскопия ЯМР природного органического сырья и продуктов его переработки. – М.: Химия, 2000. – 407 с.
30. Каспаров С.В., Русина Т.В. Молекулярная организация гумусовых кислот от чернозема и дерново-подзолистой почвы // Тр. 5 Науч. конф. мол. Ученых фак. почвовед. МГУ, Москва, 3-4 февр. 1982. – М., 1982. – С. 62-63.
31. Комиссаров И.Д. Особенности «скелетной» структуры гуминовых кислот. Труды международного симпозиума по торфу. – Минск, 1982. – С. 63-65
32. Steelink C. Investigating humic acids in soils // Analytical chemistry. – 2002. – June 1. – P. 327-333.
33. Burges N., Hurst H., Walkden B. The phenolic constituents of humic acid and their relation to the lignin of plant cover // Geochim. And Cosmochim. Acta. – 1964. – V. 28. – №10. – P. 2015-2022.
34. Кухаренко Т.А. Об определении понятия и классификации гуминовых кислот // Химия твердого топлива. – 1979. – №5. – С. 3-11.
35. Лиштван И.И., Дудка А.Л., Евдокимова Г.А. Изучение комплексных соединений железа с гуминовыми веществами сапропелей // Весці АН БССР. Сер. хім. навук. – 1986. – №2. – С. 101-103.
36. Dkhar G.D., Prasad D., Sinha M.K., Pandeya S.B. Interaction of metal ions with fulvic and isolated from forest and cultivated soils Meghalaya State // Ind. J. Forest. – 1985. – V. 8. – №3. – P. 213-219.
37. Александрова И.В. Органическое вещество почвы и процессы его трансформации. – Л.: Наука, 1980. – 287 с.

38. Алиев С.А. Азотфиксация и физиологическая активность органического вещества почв. – Новосибирск: Наука, 1988. – 145 с.
39. Спиридонов Ю.Я., Шестаков В.Г., Матвеев Ю.М. и др. Сорбция гербицидов основными компонентами почвы. Сообщение 2. Исследование сорбции – десорбции пиклорама фракциями органического вещества почвы // Агрохимия. – 1981. – №3. – С. 121-127.
40. Маль С.С. Углеводы и азотсодержащие вещества торфа. – Минск: Наука и техника, 1982. – 231 с.
41. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. – М.: Просвещение, 1987. – С.515.
42. Базин Е.Т., Копенкин В.Д. Технический анализ торфа. – М.:Недра, 1992. – 472с.
43. Скобеева Е.И. Особенности химического состава растений-торфообразователей и торфов. – В кн.: Химия и химическая технология, вып. III (XVI). – М.: Недра, 1967. – С. 115-123.
44. Оводов Ю.С. Полисахариды цветковых растений: структура и физиологическая активность // Биоорганическая химия. – 1998. – Т. 24. – №7. – С. 483-501.
45. Анисимов М.М., Петрова О.М., Логачев В.В. и др. Влияние водно-этанольного экстракта из *Caulophillum robustum* Maxim. на рост корня проростков *Cucumis sativus* L. // Растительные ресурсы. – 2000. – Вып. 4. – С. 100-105.
46. Pagan J., Seerley B., Cole D., Lowe J., Tangtrongpiros J. На горячей линии. Альтернативы антибиотикам // Feeding times. – Вып. 4. – № 1. – 2001. – С. 4-21.
47. Патент 2032301, Россия, МКИ А 01 № 65/00. Способ предпосевной обработки семян / Кабиров Р.Р., Садыков О.Ф. Морозов А.П., Попков А.Ю. №5019288/15. Заявл. 24.07.1991. Оpubл. 10.04.1995.
48. Патент 2059727, Россия, МКИ С 12 Р 39/00. Регулятор роста растений / Чекакина Е.В., Кандыба Е.В., Булгакова Г.М., Литвинова М.Н. и др. №92015205/13. Заявл. 30.12.1992. Оpubл. 10.05.1996.
49. Давидянц Э.С., Нешина Л.П., Нешин И.В. Влияние тритерпеновых гликозидов *Silphium perfoliatum* L. на рост проростков гороха и пшеницы // Растительные ресурсы. – 2001. – Вып. 3. – С. 93-97.

50. Батуро В.А. Химический состав торфообразователей и начальная стадия торфообразования // Доклады АН БССР.– Минск, 1957. – №2. – С.62-67.
51. Белькевич П.И., Гайдук К.А., Зуев Т.Т. и др. Торфяной воск и сопутствующие продукты. – Минск.: Наука и техника, 1977. – 232 с.
52. Наумова Г.В. Торф в биотехнологии. – Минск: Наука и техника, 1987. – 150 с.
53. Белькевич П.И., Голованов Н.Г., Долидович Е.Ф. Битумы торфа и бурого угля. – Минск: Наука и техника, 1989. – 63 с.
54. Юдина Н.В., Буркова В.Н., Опалинская А.М. Антиоксиданты в органическом веществе растений-торфообразователей и торфов Западной Сибири // Химия твердого топлива. – 1991. – №4. – С.42-46.
55. Буркова В.Н., Венгеровский А.И., Опалинская А.М., Писарева С.И. Антиоксидантные свойства и биологическая активность липидов современных озерных осадков различного генезиса. Препринт №37. Томск: Томский филиал СО АН СССР, 1988. – 39 с.
56. Наумова Г.В., Райцина Г.И., Лях В.В. Применение торфа и продуктов его химической переработки в народном хозяйстве. – Калинин: КГУ, 1980. – 120 с.
57. Лиштван И.И., Базин Е.Т., Косов В.И. Физические свойства торфа и торфяных залежей. – Минск: Наука и техника, 1985. – 238 с.
58. Базин Е.Т., Лиштван И.И., Попов М.В. Курс физики торфа. – Калинин: КГУ, 1977. – ч.1. – 77 с., ч.2. – 102 с.
59. Молчанов В.И., Селезнева О.Г., Жирнов Е.Н. Активация минералов при измельчении. – М.: Недра, 1988. – 208 с.
60. Ostwald W. Handbuch der allgemeine Chemie. – В. I. Leipzig, 1919. – S.70.
61. Барамбойм Н.К. Механохимия полимеров. – М.: Химия, 1971. – 363с.
62. Хайнике Г. Трибохимия / Пер. с англ. М.Г. Гольдфельда. – М.: Мир, 1987. – 582 с.
63. Барамбойм Н.К. Механохимия высокомолекулярных соединений. – М.: Химия, 1978. – 384 с.
64. Жирнов Е.Н. Современные измельчительные аппараты, основанные на принципе планетарного движения, и их классификация // Физико-химические исследования

- механически активированных минеральных веществ. – Новосибирск, 1975. – С. 4–12.
65. Симовеску К., Опра К.В. Механохимический синтез // Успехи химии. – Т. 47. – 1988. – С. 502-525.
66. Dubinskaya A. M. Transformations of organic compounds under the action of mechanical stress // Russian Chemical Reviews. – 1999. – V. 68. – №8. – P. 637-652.
67. Dubinskaya A.M. Mechanochemical transformations in organic substances // Chemistry Reviews. – 1998. – V. 23. P. 201-261.
68. Boldyrev V.V. Reactivity of solids: past, present and future. Blackwell Science, Oxford, 1996, p. 267-285.
69. Хоняк В.П., Мазина О.П. Влияние диспергирования на свойства торфа и активных углей // Химия твердого топлива. – 1987. – №3. – С. 86-92.
70. Кирда В.С. Хренкова Т.М. Физико-химические превращения при механическом воздействии на остаточный уголь // Тез. докладов 11 Всес. симпоз. по механохимии и механоэмиссии твердых тел, 11-14 сент. 1990. – Чернигов, 1990. – Т. 1. – С. 106.
71. Бутюгин А.В. Иванов А.С. Изучение влияния механохимической активации на процесс извлечения гуминовых веществ из землистых бурых углей // Материалы научно-технического семинара стран содружеств, 21-23 окт. 1992. – Могилев, 1992. – С. 26-28.
72. Кашинская Т.Я., Гаврильчик А.П., Калилец Л.П. и др. Изменение химического состава торфа при диспергировании // Химия твердого топлива. – 1997. – №6. – С.14-24.
73. Кашинская Т.Я., Гаврильчик А.П., Шевченко Н.В. и др. Механохимические превращения гуминовых веществ торфа // Химия твердого топлива. – 2003. – №1. – С. 21-29.
74. Кашинская Т.Я., Шевченко Н.В., Цынкалова Л.Ю. и др. Механохимические превращения гуминовых кислот торфа // Весці АН Беларусі. Сер. хім. навук. – 2001. – №1. – С. 89-92.

75. Юдина Н.В., Зверева А.В., Ломовский О.И. Механохимические превращения в торфах различных типов // Химия твердого топлива. – 2002. – №5. – С. 3-10.
76. Гаврильчик А.П., Кашинская Т.Я., Калилец Т.А. и др. Изменение физико-химических свойств торфа при влагоудалении и механическом диспергировании // Весці АН Беларусі. Сер. хім. навук. – 1995. – №2. – С. 109-114.
77. Гирина Л.В., Лукьяненко Л.В., Аммосова Я.М. и др. Изменение физико-химических свойств бурого угля при механических воздействиях различного характера // Химия твердого топлива. – 1991.- №5. – С. 37-42.
78. Пройдаков А.Г., Полубенцев А.В., Бачин Д.Е. и др. Механохимические превращения угольных асфальтенов // Химия твердого топлива. – 1994. – №4-5. – С. 40-44.
79. Гаврильчик А.П., Кашинская Т.Я., Пискунова Т.А. Изменение выхода и химического состава битумов при механоактивации торфа // Природопользование. – Минск: АН Беларуси, 2001, – Вып. 7, – С. 161-163.
80. Гонцов А.А., Гонцова С.А., Пахомова О.В. Механохимические превращения высших жирных кислот твердых горючих ископаемых // Химия твердого топлива. – 1992. – №4. – С. 11-17.
81. Сорокина И.В., Крысин А.П., Хлебникова Т.Б. и др. Роль фенольных антиоксидантов в повышении устойчивости органических систем к свободно-радикальному окислению: Анал. обзор. – Новосибирск: ГПНТБ СО РАН, 1987. – Сер. Экология. – Вып. 46. – 68 с.
82. Рогинский В.А. Фенольные антиоксиданты: Реакционная способность и эффективность. – М.: Наука, 1988. – 247 с.
83. Христева Л.А. Гуминовые удобрения: Теория и практика их применения. – Днепропетровск, 1977. – Т.6. – С. 3-15.
84. Юдина Н.В., Писарева С.И., Филипова Т.А. Гуминовые стимуляторы роста растений // Химия твердого топлива. – 1997. – №3. – С. 108-115.
85. Алиев С.А., Касимов Р.М. Парамагнитные свойства гуминовых кислот почв Азербайджанской ССР // Почвоведение. – 1971. – №1. – С. 77-84.

86. Федорова Т.Е. Количественная спектроскопия ЯМР ^{13}C , ^{17}O и физиологическая активность гуминовых кислот: Автореф. ... канд. хим. наук. – Иркутск, 2000. – 23 с.
87. Кушнарев Д.Ф., Чеченина Т.Е., Пройдаков А.Г., Калабин Г.А. Новые подходы спектроскопии ЯМР к анализу состава и свойств гуматов // Тез. докл. XVI Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. – Санкт-Петербург, 1998. – С.124.
88. Ершов В.В., Никифоров Г.А., Володькин А.А. Пространственно-затрудненные фенолы. – М.: Химия, 1972. – 351 с.
89. Эмануэль Н.М., Гладышев Г.П., Денисов Е.Т. и др. Порядок тестирования химических соединений как стабилизаторов полимерных материалов. Препринт №12. Черноголовка, 1976. – 35 с.
90. Писарева С.В. Нефтяные ингибиторы радикально-цепных процессов окисления: Дисс. ... канд. хим. наук. – Томск, 1987. – 220 с.
91. Буркова В.Н., Писарева С.И., Юдина Н.В. Распределение антиоксидантов в биологических и геоорганических объектах // Геохимия. – 1998. – №11. – С. 1164-1171.
92. Короткова Е.И. Закономерности процесса электровосстановления кислорода, осложненного адсорбцией поверхностно-активных веществ, и их использование в аналитической практике: Дис. ... канд. хим. наук. – Томск, 1995. – 234 с.
93. Lu J.T., Tryk D., Yeager E. The formation of the oxygen radical ion during electroreduction in alkaline solution. // Extend. Abstr. – Erlangen, 1983. – №5. – P.19.
94. Походенко В.Д., Белодед А.А., Кошечко В.Г. Окислительно-восстановительные реакции свободных радикалов. – Киев.: Наукова думка, 1977. – 277 с.
95. Прайор У. Свободные радикалы в биологии. – М.: Мир, 1979. – 314 с.
96. Короткова Е.И. Вольтамперометрический способ определения активности антиоксидантов. // Жур. физ. химии. – 2000. – Т. 74. – № 9. – С. 1704-1707.

97. Савельева А.В. Характеристика гуминовых кислот торфов олиготрофных ландшафтов и особенности их изменения в процессе гумификации: Дис. ... канд. биол. наук. – Томск, 2003. – 116 с.
98. Тара А.А., Лавиксар А.А., Тенно Т.Т. Определение активности оксидазы L-аминокислот с помощью преобразователя концентрации кислорода // Тез. докл. Всес. конф.: Электрохимические средства анализа и охрана окружающей среды. – 25-27 июня 1989. – Тарту.: ТГУ, 1989. – с. 146-147.
99. Кошкин В.В. Генерация супероксидного радикала и перекисное окисление липидов (ПОЛ) в скелетных мышцах // Биохимия. – 1985. – Т. 50. – Вып. 9. – С. 1406-1410.
100. Шевелуха В.С. Рост растений и его регуляция в онтогенезе. – М.: Колос, 1992. – 594 с.
101. Муромцев Г.С., Данилина Е.Э. Состояние исследований по регуляторам роста в России. // Физиол. раст. – 1994. – Вып. 41. – №5. С. 779-787.
102. Христева Л.А. Роль гуминовых кислот в питании растений и гуминовые удобрения. Труды почвенного института. – М.: Изд-во АН СССР, 1951. – Т. 38. – С. 108.
103. Христева Л.А. О природе действия физиологически активных форм гуминовых кислот и других стимуляторов роста растений. Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. – Киев: Изд-во Урожай, 1968. – Ч.3. – с. 15-28.
104. Пивоваров Л.Р. О природе физиологической активности гуминовых кислот в связи с их строением // Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. – Киев: Днепропетр. Сельхозинститут, 1962. – С. 101-123.
105. Александрова И.В. О физиологической активности гумусовых веществ и продуктов метаболизма микроорганизмов // Органическое вещество целинных и освоенных почв. – М.: Наука, 1972. – С. 30-70.
106. Поспишил Ф., Цвикрова М., Грубцова М. и др. Растворимые фенольные и гуминовые вещества почв и их влияние на общий метаболизм у растений // Рост растений и дифференцировка. – М.: Наука, 1981. – С. 150-162.

107. Драгунов С.С. Химическая характеристика гуминовых кислот и их физиологическая активность // Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. – Днепропетровск, 1980. – Т.7. – С. 5-22.
108. Корбанюк Р.А., Кравченко Р.А., Кравченко Р.Н. и др. Сравнительная характеристика физиологически активных препаратов гумусовой природы методом инфракрасной спектроскопии // Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. – Днепропетровск, 1980. – Т.7. – С. 22-31.
109. Наумова Г.В. Возможные направления использования торфа в биотехнологии. – Торфяная промышленность, 1987. – №2. – С. 13-16.
110. Цыперович А.С. Ферменты (основы химии и технологии). – Киев: Техніка, 1971, – 360 с.
111. Глемжа А.А, Людзьос Л.Л, Петрова Л.И. Микробные ферменты в народном хозяйстве. – Вильнюс: Мокслас, 1985. – 188 с.
112. Кейтс М. Техника липидологии. – М.: Мир, 1985. – 320 с.
113. Гончаров А.И., Исакова Т.И., Халеева Л.Д. Исследование растительного полисахаридного комплекса. Тез. докл. респ. науч. конф. «Актуальные вопросы поиска и технологии лекарств». – Харьков, 1981. – С. 238.
114. Горин А.Г. Получение и химическое исследование полисахаридов из лекарственных растений. Материалы 3-го Всерос. съезда фармацевтов. Тез. докл. – Свердловск, 1975. – С. 313-314.
115. Милентьева Д.Г., Гуллыев Н.Г., Доветмуродов К.Д. Изучение полисахаридов некоторых видов водорослей Каспийского моря. Тез. VIII Всесоюз. конф. «Химия и биохимия углеводов». – Пущино, 1987. – С. 105.
116. Методы химии углеводов. Пер. с англ. Ред. Краснова Р.И. – М.: Мир, 1967. – 322 с.
117. Кочетков Н.К. Химия биологически активных природных соединений. – М.: Химия, 1970. – 387 с.

118. Гурьев А.М. Фармакогностическое исследование аира болотного и перспективы создания на его основе новых лекарственных средств: Дис. ... канд. фармацевт. наук. – Томск, 2004. – 133 с.
119. Георгиевский В.П., Комиссаренко Н.Ф., Дмитрук С.Е. Биологически активные вещества лекарственных растений. – Новосибирск: Наука, Сиб. отд-е, 1990. – 333 с.
120. Ковалев В.Н., Комиссаренко Н.Ф. Кумарины и флавоноиды *Coronilla varia* // Химия природных соединений. – 1983. – № 2. – С. 235.
121. ГОСТ 28245.2-89. Методы определения ботанического состава и степени разложения. Введен 01.07.90 М.: изд. стандартов. 1989 г.
122. ГОСТ 11306-83. Методы определения зольности. Введен 01.01.85. Взамен ГОСТ 7302-73. М.: изд. стандартов. 1984 г.
123. Лосев Н.Х. Смагунова А.Н. Основы рентгеноспектрального флуоресцентного анализа. – М.: Химия, 1982. – 208 с.
124. Успенский В.А., Радченко О.А., Шишкова А.П. Методы битуминологических исследований. Задачи исследований и пути их разработки. – Л.: Недра, 1975. – 207 с.
125. Гордон А., Форд Р. Спутник химика. Физико-химические свойства, методики, библиография. Пер. с англ. – М.: Мир, 1976. – 542 с.
126. Шляхов А.Ф. Газовая хроматография в органической геохимии. – М.: Недра, 1978. – 222 с.
127. Березкин В.Г. Химические методы в газовой хроматографии. – М.: Химия, 1980. – 256 с.
128. Березкин В.Г. Хроматографический анализ окружающей среды. – М.: Химия, 1979. – 608 с.
129. Степаненко Л.С., Ребачук Н.М., Максимов О.Б. Использование хроматографии на гелях для изучения состава и реакционной способности гуминовых кислот // Новые методы исследования гуминовых кислот. – Владивосток, 1972. – С.124-126.

130. Дубин В.Н., Фильков В.А. Фракционирование гуминовых кислот некоторых почв Молдавии фильтрацией через сефадексы. // Почвоведение. – 1968. – № 5. – С. 21-29.
131. Кочетков Н.К., Кудряшов Л.И., Членов М.А. Радиационная химия углеводов. – М.: Наука, 1978. – 288 с.
132. Бабушкин А.А., Бажулин П.А., Королев Ф.А., Левшин Л.В., Прокофьев В.К., Стриганов А.Р. Методы спектрального анализа. – Изд-во МГУ, 1962. – С. 172–193.
133. Preston C.V. Applications of NMR to soil organic matter analysis history and prospects // Soil Sci. – 1996. – V. 161. – P. 1-21.
134. Зайцев Г.Н. Математика в экспериментальной ботанике. – М.: АН СССР, Гл. ботан. Сад, 1990. – 295 с.
135. Рожанская О.А., Козиенко Г.Н. Опыт культивирования *in vitro* рапса ярового // Сиб. вест. с.-х. науки, 1989. – №3. – С. 42-45.
136. Рожанская О.А., Свежинцева Е.А. Получение и отбор соматоклональных вариаций для селекции рапса. Метод. Рекомендации. СО РАСХН, СибНИИкормов. – Новосибирск. – 1991. – 28 с.
137. Рожанская О.А., Клеблеева Н.Г. Соматический эмбриогенез и соматоклональная изменчивость эспарцета песчаного // Сб. науч. тр. РАСХН Сиб. отд-ние. – СибНИИкормов, 1999. – С. 141-148.
138. Дерфлинг К. Гормоны растений. Системный подход. – М.: Мир, 1985. – 303 с.
139. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. – М.: Наука, 1964. – 272 с.
140. Белоусов Л.В. Биологический морфогенез. – М.: Изд-во Моск. Ун-та, 1987. – 239 с.
141. Атанасов А. Биотехнология в растениеводстве. – Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 1993. – 242 с.
142. Skoog F., Miller C.O. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured *in vitro* // Simp. Soc. Exptl. Biol., 1957. – No 11. – P. 118.

143. Grove D.M. et al. Brassinolide, a new plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* L. pollen // *Nature*. – 1979. – V. 281. – №5728. – P. 216-217.
144. Осипова Г.М. Рапс в Сибири. – Новосибирск: РАСХН, Сиб. отд-ние, 1998. – 168с.
145. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures // *Physiol. plant*, – 1962. – V. 15. – P. 473-497.
146. Gamborg O.L., Miller R.A., Ojima K. Nutrient requirement of suspension cultures of soybean root cell // *Exp.Cell Res.*, – 1968. – V. 50. – P. 151-158.
147. Муромцев Г.С. Основы сельскохозяйственной биотехнологии. – М.: Агропромиздат, 1990. – 384 с.
148. Орлов Д.С. Гумусовые кислоты почв. – М.: МГУ, 1974. – 236 с.
149. Перминова И.В. Анализ, классификация и прогноз свойств гумусовых кислот: Автореф. ... дисс. д-ра хим. наук. – Москва, 2000. – 50 с.
150. Кочетков Н.К., Бочков А.Ф., Дмитриев Б.А. и др. Химия углеводов. – М.: Химия, 1967. – 672 с.
151. Паперно Т.Я., Поздняков В.П., Смирнова А.А. и др. Физико-химические методы исследования в органической и биологической химии. – М.: Просвещение, 1977. – 176 с.
152. Степаненко Б.Н. Химия и биохимия углеводов (моносахариды). – М.: Высш. школа, 1977. – 224 с.
153. Шашков А.С., Чижов О.С. Спектроскопия ^{13}C ЯМР в химии углеводов и родственных соединений // *Биоорганическая химия*. – М.: Наука, 1976. – Т.2. – № 4. – С.437-497.
154. Белькевич П.И., Голованов Н.Г., Долидович Е.Ф. Химия экстрактивных смол торфа и бурого угля. – Минск: Наука и техника, 1985. – 134 с.
155. Тиссо Б., Вельте Д. Образование и распространение нефти. – М.: Мир, 1981. – 501 с.
156. Петров А.А. Углеводороды нефти. – М.: Наука, 1984. – 252 с.

157. Юдина Н.В., Зверева А.В., Короткова Е.И., Аврамчик О.А. Гуминовые кислоты в процессе электровосстановления кислорода. // Известия высших учебных заведений. Сер. Химия и химическая технология. – 2002. – Т. 45. – № 3. – С. 106-108.
158. Брехман И.И. Человек и биологически активные вещества. – М.: Наука, 1980. – 119 с.
159. Вирясов Г.П., Иванова Л.А., Кухарчик В.В. и др. Компонентный химический состав липидов некоторых органических и смешанных сапропелей Беларуси // Природопользование. – Минск: АН Беларуси, 1996. – Вып. 1. – С. 32-36.
160. Муромцев Г.С. Основы химической регуляции роста и продуктивности растений. – М.: Агропромиздат, 1987. – 384 с.
161. Thomas T.H. Plant Growth Regulators. Potential and Practice. – BCPC Publications, London. – 1982. – 271 p.
162. Диагностика устойчивости растений к стрессовым воздействиям (Методическое руководство). – Л.: ВИР, 1988. – 228 с.
163. Касимова Л.В., Кравец А.В. Оценка физиологической активности водных экстрактов из исходных и активированных торфов // Торф в сельском хозяйстве: Сб. науч. тр. РАСХН. СО. ГНУ СибНИИТ. – Томск, 2002. – С. 77-84.
164. Артюшин А.М., Державин Л.М. Краткий справочник по удобрениям. – М.: Колос, 1984. – 208 с.
165. А.с. 143034 (СССР) С 05 Д 11/02, С 05 Д 01/00. Способ получения органоминеральных гуминовых удобрений, например, гумофоска / Л.А. Христова, С.С. Драгунов, И.И. Ярчук и др. Оpubл. 20.01.87 г. Б.И. № 2. 1987.
166. Галактионова А.А., Кузнецова Л.М. Гуминовые вещества верхового торфа и их влияние на урожай ячменя // Гуминовые удобрения. Теория и практика их применения. – Днепропетровск, 1973. – Т. IV. – С. 155-159.
167. Наумова Г.В., Райцина Г.И., Косоногова Л.В. и др. Гуминовые препараты торфа и их эффективность при сельскохозяйственном использовании // Химия твердого топлива. – 1991. – №1. – С.95-100.

168. Гаврилов Ю.Ф. Перспективы использования в сельском хозяйстве физиологически активных веществ. – Торфяная промышленность, 1980. – №9. – С. 28-29.



ПРИЛОЖЕНИЕ



РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
СИБИРСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ КОРМОВ

630501, п. Краснообск,
Новосибирская область
СибНИИ кормов

тел. 48-34-09 факс 48-39-11
E-mail: korma@online.nsk.su
Для телеграмм: Краснообск,
Новосибирской, СибНИИк

№ _____ от _____

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ПО ИСПЫТАНИЯМ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОДУКТОВ
МЕХАНОАКТИВАЦИИ ТОРФА

В Сибирском НИИ кормов в течение 2002 – 2004 гг. проводились испытания гуминовых препаратов, переданных из Института химии нефти СО РАН (г. Томск) Н.В. Юдиной и А.А. Ивановым. Препараты были получены из торфа после механохимической активации в виброцентробежной мельнице.

Лабораторные испытания, проведенные сотрудниками лаборатории генетики и биотехнологии, показали значительное и статистически достоверное увеличение (на 20-50%) темпов роста, высоты, облиственности, количества и длины корней, фитомассы растений пшеницы, люцерны и рапса под действием опытных образцов биостимуляторов.

Особое значение имеет возможность применения гуминовых препаратов в биотехнологии в составе питательных сред, где они проявили себя как перспективные заменители фитогормонов, усиливающие регенерацию побегов и образование каллусных тканей в 1,5-2 раза, вдвое сокращающие время укоренения растений при микроклональном размножении. Гуминовые препараты в концентрации 1 мг/л способны стимулировать развитие побегов при микроклонировании, а в концентрациях до 25 мг/л в отсутствие экзогенных фитогормонов стимулируют рост каллуса и выполняют функцию цитокинина по индуцированию органогенеза и регенерации побегов.

Полевые испытания показали эффективность препарата из торфа ТТ 24, внесенного в почву в дозах 1 и 10 кг/га при посеве ценной зернобобовой культуры нута. Этот препарат стимулировал адаптивные возможности нута в условиях повышенной влажности и, как следствие, повысил его семенную продуктивность и качество семян.

Результаты работы Н.В. Юдиной и А.А. Иванова имеют широкие перспективы для внедрения как на крупных сельскохозяйственных предприятиях, так и на частных земельных участках.

Зам. директора по научной работе, канд. с.-х. наук



В.П. Данилов

В.П. Данилов