

ПУЧКОВО-ПЛАЗМЕННЫЙ РЕАКТОР ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ФИТОСТИМУЛЯТОРОВ ИЗ ПРИРОДНЫХ ГЕТЕРОПОЛИСАХАРИДОВ

BEAM-PLASMA REACTOR FOR OBTAINING PHYTOSTIMULANTS FROM NATURAL HETEROPOLYSACCHARIDES

Зау Йе Мьинг / kankaung7492@gmail.com (ORCID:0000-0002-8464-9274)

Т.М.Васильева / tmvasilieva@gmail.com (ORCID: 0000-0001-6103-6195)

И.К.Наумова / irinauma@mail.ru

М.Н.Васильев / vasilev.mn@mipt.ru

Zaw Ye Mint, T.M.Vasilieva, I.K.Naumova, M.N.Vasiliev

¹Московский физико-технический институт Московская обл., Долгопрудный

²Ивановская государственная сельскохозяйственная академия имени Д.К. Беляева,
г.Иваново

Экспериментально исследована возможность получения хитоолигосахаридов с помощью электронно-пучковой плазмы и подтверждение их фитостимулирующей активности.

The possibility of chitooligosaccharides production in electron-beam plasma and their phytostimulating activity were experimentally studied.

Ключевые слова: электронно-пучковая плазма, хитозан, хитоолигосахариды, фитостимуляторы, сельское хозяйство.

Key words: *electron-beam plasma, chitosan, chitooligosaccharides, phytostimulants, agriculture.*

ВВЕДЕНИЕ

Природный возобновляемый и экологически безопасный биополимер хитозан и продукты его деполимеризации - хитоолигосахариды (COS) - представляют интерес для ряда коммерческих применений в биомедицине, пищевой и химической промышленности, а также для разработки материалов, снижающих нагрузку на окружающую среду [1, 2]. В последнее время активно изучается сельскохозяйственное применение хитозана и COS в качестве безопасных и нетоксичных для природы и человека фитостимуляторов и адаптогенов [1-3].

Для получения водорастворимых COS наиболее распространен химический гидролиз хитозана в разбавленных и концентрированных кислотах или щелочах при высокой температуре [4-6], имеющий множество недостатков. В качестве альтернативы химическому гидролизу были предложены ферментативная деструкция, обработка H₂O₂ или NaNO₂ [7, 8] и физические методы (гидротермическая деструкция, воздействие ультразвука и микроволнового излучения, γ -облучение и использование высокоэнергетических ионных и электронных пучков) [9-12]. Многочисленные проблемы этих методов рассмотрены в [9, 13], а также обобщены в наших предыдущих работах [14, 15].

Таким образом, необходима дальнейшая разработка дешевых, энергосберегающих, экологически чистых подходов к деструкции хитозана, способных давать высокие выходы его олигомеров с низкими показателями полидисперсности. Плазмохимические технологии, основанные на воздействии неравновесной низкотемпературной электронно-пучковой плазмы (ЭПП), становятся актуальными и перспективными для эффективной и контролируемой деполимеризации хитозана.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исходный нерастворимый в воде порошок хитозана из панциря краба для дальнейшей ЭПП-обработки был получен от Bioprogress Co. (г. Щелково, Россия) и сертифицирован производителем. Исходное вещество имело среднюю вязкостную молекулярную массу $M_v = 500$ кДа, степень деацетилирования $DD = 90,3 \pm 2,1\%$ (определено $^1\text{H-NMR}$) и индекс полидисперсности 1,5. Полученные в процессе ЭПП-воздействия олигомеры были охарактеризованы методами высокоэффективной гель-проникающей хроматографии (ВЭГПХ), $^1\text{H-NMR}$, ИК-спектроскопии с Фурье-преобразованием (FTIR) [16]. Также проводились биологические испытания фитостимулирующих свойств COS на культурах сельскохозяйственных растений, подробное описание методик которых приведено в [17].

ЭЛЕКТРОННО-ПУЧКОВЫЙ ПЛАЗМОХИМИЧЕСКИЙ РЕАКТОР ДЛЯ ЭПП-СТИМУЛИРОВАННОЙ ПЕРЕРАБОТКИ ХИТОЗАНА

ЭПП возбуждалась путем инъекции электронного пучка (ЭП) в газообразную среду. При типичных условиях генерации ЭПП (среднее давление $0,1 < P_m < 10$ кПа и умеренная мощность ЭП $N_b < 1$ кВт) плазма является сильно неравновесной и холодной. ЭПП была получена в электронно-пучковом плазмохимическом реакторе (ЭППР), основные подсистемы которого представлены на рис. 1.

Электронно-пучковая пушка 1 располагалась в высоковакуумной камере 2 и была соединена с источником питания SR6/60 (Spellmen, США) максимальной мощностью (6) кВт, который генерировал стабилизированное высокое напряжение отрицательной полярности. Пушка образовывала непрерывный или прерывистый ЭП(3), который затем транспортировался в реакционную камеру (9) через выводное окно (ВО) (4). Когда реакционная камера была заполнена некоторым плазмообразующим газом, то в определенной зоне этой камеры образовалось облако ЭПП (11). Контроллер #1 содержал необходимые значения ускоряющего напряжения (E_b) и тока ЭП (I_b), которые можно было варьировать в пределах 20-60 кВ и 1-200 мА соответственно.

Для заполнения реакционной камеры используется автоматическая система получения плазмообразующей среды. Контроллер #3 этой системы поддерживал заданные потоки газа и посылал команды на так называемый "мотыльковый клапан"(12), который мог изменять эффективность откачки газа и, следовательно, поддерживать необходимое давление газа. Порошок хитозана загружали в смеситель 10 и диспергировали по объему смесителя при его вращении. В результате внутри объема смесителя образовывался ЭПП аэрозоля, содержащего дисперсные твердые частицы.

Порошковая загрузка смесителя составляла 10 грамм за цикл, что потребовало решения следующих проблем для успешного масштабирования:

- Увеличение общей мощности, вводимой в зону реакции, для получения требуемой потребляемой мощности на единицу объема зоны реакции;
- Пространственная однородность вкладываемой мощности по объему реакционной зоны;
- Стабильность реакционной зоны. В частности, воспрепятствование выносу частиц порошка на периферию смесительного устройства из-за их электростатической зарядки под действием ЭП.

Рабочая камера предварительно вакуумировалась до давления ~ 1 Па, а затем заполнялась спектроскопическим кислородом (Научно-промышленный центр НПЦ "Курчатовский институт", Россия) при давлении $P_m > 200$ Па. При этих давлениях электростатический заряд твердых частиц в аэрозольной плазме был незначителен, и порошок хитозана не вылетал из реакционной камеры. Экспериментально были найдены точные значения давления P_m в диапазоне 100-1000 Па для каждого заданного ускоряющего напряжения, тока ЭП и режима сканирования. Затем контроллер #3 автоматически сохранял это значение.

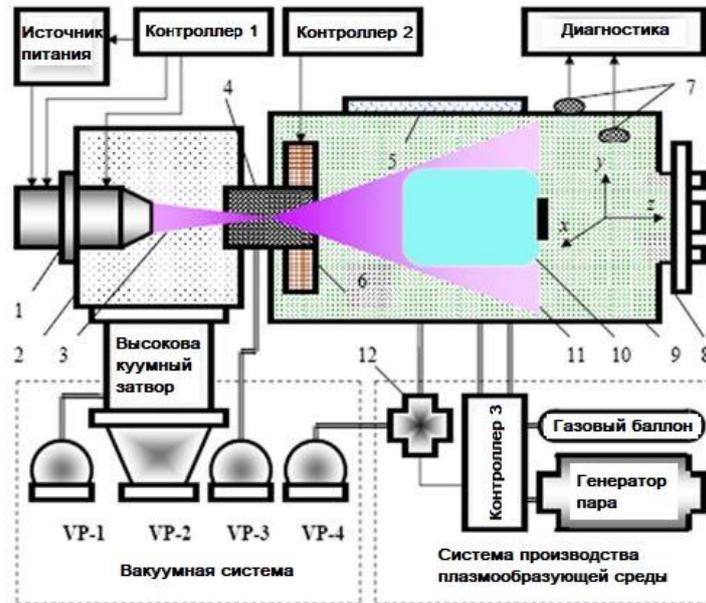


Рис.1. Электронно-пучковый плазмохимический реактор: 1 - электронная пушка; 2 – высоковакуумная камера; 3 – ЭП; 4 – инжекционное окно; 5 – рентгенозащитное окно; 6 - электромагнитные катушки (сканирующая система); 7 – датчики; 8 – многофункциональные герметичные подводящие каналы; 9 – рабочая (реакционная) камера; 10 – смесительное устройство; 11 – облако ЭПП; 12 – “двустворчатый клапан”; ВН – вакуумные насосы.

Двухступенчатое выводное окно специальной конструкции в сочетании со сканирующей системой для ЭП обеспечивало необходимую однородность и стабильность реакционной зоны при достаточно высокой мощности ЭП. Программируемый контроллер #2 сканировал ЭП по поперечному сечению смесительного устройства (независимо по осям x и y) для формирования желаемой растровой формы и изменял начальный угол расхождения ЭП для управления потребляемой мощностью в продольном направлении z .

Таблица 1.

Условия ЭПП-обработки хитозана

Параметр	Значение или характеристики
ЭП тока (I_b)	1,5-2,0 мА
Давление кислорода (P_m)	0,2-1,0 кПа
Режим сканирования ЭП	Концентрические эллипсы
Расстояние между окном впрыска и образцом	250 мм
Время обработки τ	5 и 10 мин
Температура материала (T_s)	40°C

Оптический ИК-пирометр Optris LS (Optris GmbH, Германия) непрерывно контролировал температурный режим процесса обработки путем измерения температуры наружной стенки смесительного устройства. Температура порошка контролировалась путем изменения только значения тока ЭП, тогда как другие параметры работы реактора (ускоряющее напряжение электронной пушки, давление газа, режим ЭП сканирования, частота вращения смесительного устройства) были фиксированными. Контроллер тока ЭП и пирометр имели обратную связь для автоматического поддержания заданной температуры процесса. Оптимизированные условия, используемые для ЭПП-обработки хитозана, приведены в Таблице 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате ЭПП-деструкции хитозана формировались низкомолекулярные хитоолигосахариды, молекулярная масса которых по данным ВЭПХ варьировалась в пределах 570–815 кДа. Таким образом, значения молекулярных масс COS соответствовали степени полимеризации олигомеров хитозана от димера до гептамера. Вероятно, что формирование хитоолигосахаридов связано с действием активных частиц плазмы (особенно активных форм кислорода) на β -1,4-гликозидные связи природного биополимера.

Степень деацетилирования является фундаментальным параметром, влияющим на химические и биологические свойства хитозана и хитоолигосахаридов, включая их фитостимулирующую активность [18]. В результате ЭПП-обработки DD, которую определяли ^1H -ЯМР в соответствии с методологией [19], незначительно увеличивалась и составляла $94,8 \pm 2,6\%$ и $96,0 \pm 1,7\%$ для хитозана, обработанного в течение 5 и 10 мин соответственно. Анализ ИК-спектров поглощения показал, что обработка в ЭПП приводила к некоторому увеличению содержания кислородсодержащих карбонильных $\text{C}=\text{O}$ и карбоксильных $-\text{COOH}$ -групп и разрушению β -1,4-гликозидных связей.

Фитостимулирующие свойства COS, полученных в ЭПП, изучали на ячмене *Hordeum vulgare*, одной из самых распространенных зерновых культур. После полива засеянных в почву семян ячменя 1%-ным водным раствором COS было обнаружено значительное усиление всхожести. Всхожесть увеличилась с 79% (контрольные семена, полив чистой водой) до 91%. Также прорастание семян, обработанных COS, произошло на 3 дня раньше, чем прорастание семян, культивируемых без применения COS.

Применение COS также улучшило формирование зеленой массы ячменя. В контрольной группе площадь поверхности листьев составляла $3,1 \text{ м}^2$ и $9,3 \text{ м}^2$ на фазах кущения и удлинения стебля соответственно, тогда как у растений, обработанных COS, эти значения составляли $4,7 \text{ м}^2$ и $11,6 \text{ м}^2$. Стимулирование прироста сухой биомассы у ячменя, обработанного COS, наблюдалось в течение всего вегетационного периода, при этом самый высокий результат (до $45,8 \text{ г}$ биомассы/100 г растений) отмечался на стадии удлинения стебля.

ОБСУЖДЕНИЕ. ЭНЕРГЕТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПУЧКОВО-ПЛАЗМЕННОЙ ОБРАБОТКИ ХИТОЗАНА

Для повышения эффективности реактора ЭПП обычно рассматриваются три частные проблемы:

- Эффективность преобразования электрической энергии в мощность электронного пучка;
- Потери мощности в инжекционном окне;
- Эффективность утилизации энергии, которую несут электроны, инжектируемые в реакционную камеру, т.е. процент мощности инжектируемого ЭП, используемого в процессах, непосредственно связанных с обработкой материала.

Известно, что современные ускорители электронов и электронные пушки эффективно преобразуют электрическую энергию в мощность электронного пучка. В зависимости от области применения и конструкции они способны преобразовывать до 90% и более подаваемой энергии в энергию потока ускоренных электронов. Пушки с так называемыми "плазменными катодами" предпочтительнее для плазмохимических реакторов, но обычные устройства с термоэмиссионными катодами вполне конкурентоспособны. До сих пор термоэмиссионные пушки остаются более мощными, и они могут генерировать более тонкие пучки. Этот вариант очень ценен, когда пучок транспортируется в реакционную камеру через каналы газодинамических окон, используемых в настоящем исследовании.

Потери мощности электронов в основном зависят от распределения давления, начальной энергии электронов и температуры газа, через который распространяется пучок.

В свою очередь, температура газа зависит от параметров пучка (тока, энергии электронов и диаметра пучка) и давления газа. Таким образом, конструкция каждого ВО должна быть оптимизирована в соответствии с составом плазмообразующего газа, требуемым давлением в реакционной камере и характерной температурой процесса обработки. В типичных экспериментальных условиях (Таблица 1) наши потери мощности в ВО не превышали 25% от первоначальной мощности пучка.

Только 1-2% мощности инжектируемого пучка преобразуется в сопутствующие процессы, такие как излучение оптического и рентгеновского излучения или вторичная электронная эмиссия и некоторые другие. Основная часть мощности инжектируемого пучка используется для получения химически активных частиц плазмы, поддержания желаемой температуры материала и поддержания работы реактора (например, для работы ВО). Таким образом, энергетическая эффективность реакторов достаточно высока и конкурентоспособна по сравнению с лучшими обычными химическими реакторами. Пучково-плазменные реакторы обычно не производят никаких опасных жидких сливов и выбросов токсичных газов, что дает им дополнительные преимущества с точки зрения экологической безопасности.

ВЫВОДЫ

Таким образом, плазмохимические технологии на основе ЭПП можно рассматривать как эффективную, ресурсосберегающую и экологически чистую альтернативу традиционным промышленным методам переработки природных полисахаридов. Полученные данные свидетельствуют о том, что низкомолекулярные олигосахариды, полученные в результате достаточно коротких по времени обработок хитозана в электронно-пучковой плазме, могут стимулировать важные параметры продуктивности растений. Это открывает новые возможности для получения биостимуляторов сельскохозяйственного назначения из природного органического сырья.

БЛАГОДАРНОСТИ

Для характеристики СОС, полученных в ходе настоящего исследования, частично использовалось аналитическое оборудование центра коллективного пользования “Арктика” Северного (Арктического) федерального университета (г. Архангельск).

Работа поддержана грантами РФФИ 20-02-00501_а и 19-38-90009.

ЛИТЕРАТУРА

1. Acid hydrolysis of chitosan to oligomers using hydrochloric acid. N.D. Aljbour, M.D.H. Beg, and J. Gimbut. // Chem. Eng. Technol, Sep. 2019, vol. 42, no. 9, 1741-1746 pages.
2. A reaction-diffusion kinetic model for the heterogeneous N-deacetylation step in chitin material conversion to chitosan in catalytic alkaline solutions. B. Bradić, D. Bajec, A. Pohar, U. Novak, and B. Likozar. // React. Chem. Eng, Oct. 2018, vol. 3, no. 6, 920-929 pages.
3. Olicon-Hernandez D R, Giraud L F Z and Guerra-Sanchez G J. // Drug Des. Res.4, 2017, 1039 page.
4. A future perspective in crop protection: chitosan and its oligosaccharides. Katiyar D, Hemantaranjan A, Singh B, Bhanu A.N. // Adv. Plants Agric. Res, 2014, V. 1, N 1, 00006 page.
5. Chitosan as a promising natural compound to enhance potential physiological responses in plant: a review. // Katiyar D, Hemantaranjan A and Singh B. Ind. J. Plant Physiol, 2014, V. 20, N 1, 1–9 pages.
6. A review of the applications of chitin and its derivatives in agriculture to modify plant-microbial interactions and improve crop yields. Sharp R.G. // Agronomy, 2013, V. 3, N 4, 757–793 pages.

7. Fragmentation of Chitosan by Acids. M.R. Kasaai, J. Arul, and G. Charlet. // *The Sci. World J*, Sep. 2013, vol. 508-540 pages. Available:doi.org/10.1155/2013/508540.
8. Isolation and characterization of chitin and chitosan as potential biomaterials Marine biomaterials: Characterization, isolation and application. NweN, FuruikeT, and TamuraH. // *sed S Kim*(Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor and Francis Group), 2013, 45 page.
9. Chitooligosaccharides: synthesis, characterization and applications. V.K. Mourya, N.N. Inamdar, and Y.M. Choudhari. // *Polym. Sci., Ser. A*, Jul. 2011, vol. 53, no. 7, 583-612 pages,.
10. Chitosan and radiation chemistry. A.G. Chmielewski. // *Radiat. Phys. Chem*, March. 2010, vol. 79, no. 3, 272-275 pages.
11. A new approach for the preparation of chitosan from γ -irradiation of prawn shell: effects of radiation on the characteristics of chitosan. T.U.Rashid, M.M.Rahman, S.Kabir, S.M.Shamsuddin, andM.A. Khan. // *Polym. Int*, Apr.2012, vol. 61, no. 8, 1302-1308 pages.
12. Control of chitosan molecular weight with cyclotron ion beam irradiation. M.S.Kim, Y.J.Choi, and I. Noh. // *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, May-Jun. 2008, vol. 69, no. 5-6, 1577-1580 pages.
13. Physico-chemical conversion of lignocellulose: inhibitor effects and detoxification strategies: A mini review. D. Kim. // *Molecules*, Feb. 2018, vol. 23, 309 page. Available:doi:10.3390/molecules23020309.
14. Formation of low molecular weight oligomers from chitin and chitosan stimulated by plasma-assisted processes. T. Vasilieva, A. Sigarev, D. Kosyakov, N. Ul'yanovskii, E. Anikeenko, D. Chuhchin, A. Ladesov, A.M. Hein, and V. Miasnikov. // *Carbohydr. Polym*, May. 2017, vol. 163, 54-61 pages.
15. Chitin and cellulose processing in low-temperature electron beam plasma. T. Vasilieva, D. Chuhchin, S. Lopatin, V. Varlamov, A. Sigarev, and M. Vasiliev. // *Molecules*, Nov. 2017, vol. 22, no. 11, 1908 page,.
16. Electron-Beam Plasma for Biomass Modification. T. M. Vasilieva, I.K. Naumova, O.V. Galkina, E.V. Udoratina, L.A. Kuvshinova, M.N. Vasiliev, KhinMaungHtay, HtetKoKoZaw. // *IEEE Transactions on Plasma Science*, April 2020, vol. 48, no. 4, 1035-1041 pages, doi: 10.1109/TPS.2020.2980200.
17. Пучково-плазменные технологии получения хитоолигосахаридов с фитостимулирующими свойствами. Хтет Ко Ко Зау, Зау Ёе Мьинт, Т. М. Васильева. // *ТРУДЫ МФТИ*, 2019, Том 11, № 1 140-145 pages.
18. Chitosan effects on plant systems. M. Malerba, and R. Cerana. // *Int. J. Mol. Sci*, Jul. 2016, vol. 14, no. 7, E996,. Available: doi: 10.3390/ijms17070996.
19. Hirai A, Odani H and Nakajima A. // *Polym. Bull*, 1991, 26 87.