ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИИ НАУКИ ИНСТИТУТ ХИМИЧЕСКОЙ ФИЗИКИ ИМ. Н.Н. СЕМЕНОВА РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

МИХАЛЕВА МАРИЯ ГЕННАДЬЕВНА

СУПЕРСПИРАЛИЗОВАННЫЕ АНИЗОМЕТРИЧЕСКИЕ ФАЗЫ В СИСТЕМАХ БИОМИМЕТИКОВ И ЦЕЛЛЮЛОЗЕ

03.01.02 - биофизика, 03.01.08 - биоинженерия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени

кандидата физико-математических наук

Научные руководители: доктор физико-математических наук Стовбун Сергей Витальевич,

кандидат биологических наук Зленко Дмитрий Владимирович

Москва – 2017

Оглавление

Введение	5
Глава 1. Обзор литературы	10
1.1 О хиральности и гомохиральности	10
1.2 Синергетический принцип в биологических системах	13
1.3 Отдельные биомиметические системы	14
1.3.1 Основные структурные элементы	15
1.3.2 Физические аспекты структурообразования	21
1.4 Холестерин и эргостерол	22
1.5 Целлюлоза	24
1.5.1 Морфологическая организация целлюлозного волокна	24
1.5.2 Целлюлоза для химической переработки	26
1.5.3 Проблема организации лесных запасов РФ	28
Глава 2. Материалы и методы	32
2.1 Материалы	32
2.1.1 Трифторацетилированные аминоспирты	32
2.1.2 Целлюлоза	32
2.1.3 Холестерин и эргостерол	33
2.2 Методы	35
2.2.1 Оптическое микроскопирование	35

2.2.2 Электронное микроскопирование	35
2.2.3 Атомно-силовое микрокопирование	35
2.2.4 Рентгенофазовый (РФА) анализ образцов целлюлозы	36
2.2.5 Спектры комбинационного рассеяния (КР)	36
2.2.6 Малоугловое синхротронное рассеяние	37
2.2.7 Динамическая вязкость облагороженной целлюлозы	38
2.2.8 Молекулярно-массовое распределение (ММР)	38
2.2.9 Весовой метод определения содержания альфа-целлюлозы	38
2.2.10 Определение содержания азота	39
2.2.11 Облагораживание	41
2.2.12 Расчёты молекулярной динамики (МД)	41
2.2.13 Анализ конформационной подвижности по данным МД	43
Глава 3. Принципы организации хиральных фаз	45
3.1 Суперпирализация и смена знака хиральности в биомиметиках	46
3.2 Суперпирализация и смена знака хиральности в природных	
системах	52
3.3 Особенности специфического хирального взаимодействия молекул	62
3.4 Возникновение анизометрических структур в модельных системах	
на примере холестерина и эргосетрола	75
Глава 4. Химическая физика нитрования целлюлозы	85

4.1 Введение	85			
4.2 Супрамолекулярная структура целлюлозы	88			
4.3 Кинетика нитрования целлюлозы	90			
4.4 Физические оценки	94			
4.5 Реорганизация структуры нанофибрилл	97			
4.6 Взаимодействие фибрилл	99			
4.7 Оценка характерных времен нитрования	102			
4.8 Малоугловое рассеяние синхротронного излучения	106			
4.9 Модель нитрования целлюлозы	110			
4.10 Реализация биофизической модели в инженерно-технологической				
схеме	112			
4.10.1 Диспергирование	113			
4.10.2 Облагораживание	114			
4.10.3 Физико-химическая модификация целлюлозы	118			
4.10.4 Обезвоживание и сушка	119			
4.11 Биосинтез целлюлозы	119			
Результаты и выводы	122			
Список сокращений	123			
Список литературы	125			

Введение

Системной основой молекулярной биологии являются хиральные соединения (углеводы, аминокислоты и липиды). Гомохиральность этих веществ определяет стереоспецифичность межмолекулярных взаимодействий в процессах преобразования вещества, энергии и информации. Этот важнейший естественно-научный феномен выражает наиболее общий биофизический формализм, известный в настоящее время не только для молекулярной биологии, но и для биологии в целом.

Структурный каркас, составляющий основу любого живого организма состоит из сильно вытянутых, анизометрических элементов, таких как, например, актиновые филаменты и микротрубочки в клетке, кости в организме человека или стебли растения. В силу хиральности биомолекул анизометрические элементы в клетке имеют выраженную тенденцию к образованию суперспиралей, как это имеет место в случае, например, актина или коллагена, а во многих случаях наблюдается смена знака хиральных фаз [1]. Четким примером многоуровневой хиральной системы, составленной из множества анизометрических элементов, является клеточная стенка высших растений, в которой целлюлоза образует четыре структурных суперспиральных уровня.

Появление анизометрических структур является очевидно необходимым этапом в становлении жизни, причем появление таких структур должно было произойти на самых ранних этапах эволюции. При этом в период появления анизометрических структур еще не существовало ферментов в их нынешнем виде, так как еще не существовало живой клетки, необходимой для отбора и эволюции белков. Таким образом, появление анизометрических структур не было связанно с "целенаправленной" деятельностью специальных биологических систем, а явилось следствием особенностей строения тех молекул, которые в те времена были в природе.

Процессы спонтанного структурообразования в бинарных смесях наблюдаются в двух случаях: либо для сильно анизометричных молекул, в которых выделенное направление задается неравенством размеров молекулы по разным осям, либо в растворах хиральных веществ. Механика процесса формирования анизометрических структур куда менее очевидна.

Важным примером спонтанного структурообразования в растворе хиральных изодиаметрических молекул является образование гелей в N-трифторацетилированных разбавленных гомохиральных растворах α-аминоспиртов (ТФААС) с небольшим объемом заместителей хирального атома, что позволило в чистом виде выявить эффекты хиральности. При растворов формируются сильно анизометрические остывании этих супрамолекулярные агрегаты, получившие название "струны" [2]. Струны несколькими иерархическими уровнями, начиная представлены ОТ молекулярно-тонких, последовательно скручивающихся в более толстые суперспирализованные струны, которые видны под микроскопом. Более того, толстых струн экспериментально был обнаружен процесс ДЛЯ макроскопического раскручивания, который лег в основу физико-химической модели процесса нитрования суперспирализованной целлюлозной матрицы.

Лля описания процесса формирования молекулярно тонкой, элементарной струны ранее была сформулирована модель стопочного взаимодействия [3], согласно которой в струне молекулы уложены так, что тетраэдры, образованные заместителями хирального атома ("хиральные тетраэдры"), вложены друг в друга. При этом хиральность диктует комплементарный способ укладки, единственный что и приводит к формированию анизометрической структуры (струны). Эта модель феноменологически объясняет быстрый рост струны в длину и отсутствие роста в толщину, так как выгодным является только комплементарное взаимодействие в стопке, которое невозможно на боковой поверхности такой стопки. В рамках представленной работы эта модель была существенно уточнена с помощью метода молекулярной динамики. Так, было прямо

показано, что молекулы ТФААС в растворе могут взаимодействовать основаниями хиральных тетраэдров, либо в соответствии со стопочной моделью так, что они оказываются вложены друг в друга. Методом молекулярной динамики были оценены энергии дисперсионного взаимодействия в таких парах, что в дальнейшем позволило использовать аналогичный подход для оценки энергии комплементарного взаимодействия глюкопиранозных колец целлюлозы.

Особое место в ряду хиральных гелаторов занимают холестерин и его производные (важнейшие компоненты биомембран). Экспериментально было показано, что холестерин, агрегируя по мере испарения растворителя (метанола), формирует анизометрические структуры, которые не наблюдаются в случае эргостерола. Наблюдаемые различия, вероятно, отражают фундаментально разные роли холестерина и эргостерола в мембранах эукариот. В самом деле, тело гриба, в отличие от тела животных, представлено системой ветвящихся нитей (гиф), не взаимодействующих друг с другом латерально, а животные ткани представлены трехмерными сетками клеток, в которой у каждой клетке множество соседей. Если предположить, что на ранних этапах эволюции в основе межклеточной коммуникации лежали холестериновые "пилли", то становится понятным, почему эволюция строения тела этих групп эукариот пошла по столь различным путям. Молекулярно-динамический подход позволил выявить различия В характерных временах внутримолекулярных движений, что объясняет наблюдаемые различия в характере структурообразования.

Наиболее крупномасштабным и сложно организованным хиральным объектом, рассмотренным в работе, безусловно является клеточная стенка высших растений. Теоретический анализ структуры целлюлозы, основанный на понимании принципов организации хиральных супеспирализованных структур, позволил предложить биофизическую модель процесса промышленного нитрования древесной целлюлозы. Понимание принципов супрамолекулярных взаимодействий в супеспирализованных структурах позволило выявить

лимитирующую роль макроскопического процесса раскручивания суперспирализованных целлюлозных фибрилл в кинетике ее нитрования. Поскольку фибриллы целлюлозы имеют суперспиральную структуру, сила внутри фибриллы трения отдельных элементов делает раскручивание единственным мыслимым механизмом, обеспечивающим доступ нитрующего агента внутрь микрокристаллических областей. Полученный результат имеет большое практическое значение, так как позволяет оптимизировать процесс промышленного нитрования прежде всего древесной целлюлозы.

Таким образом, изучение структуры хиральных суперспирализованных систем имеет значительный потенциал как для понимания основных принципов структурной самоорганизации на начальных этапах добиологической эволюции, так и для построения моделей, позволяющих оптимизировать технологические процессы, такие как нитрование целлюлозы.

Цель и задачи исследования

Выявление структурно-динамических особенностей и механизмов формирования анизометрических суперспирализованных структур в системах биомиметиков и целлюлозе.

Для достижения указанной цели были поставлены следующие задачи:

- Методом молекулярной динамики исследовать специфику взаимодействий в гомохиральной паре молекул ТФААС;
- Экспериментально и методом молекулярной динамики исследовать особенности внутримолекулярной динамики и надмолекулярной самоорганизации молекул холестерина и эргостерола;
- Экспериментально и теоретически исследовать связь иерархической спиральной морфологии целлюлозного волокна с кинетикой его нитрования;

Научная новизна исследований

В работе систематизирована структурная и динамическая роль анизометрических суперспирализованных структур на различных масштабах биосистем от молекулярного до клеточного. Разработан классификатор соответствующих макроскопических супрамолекулярных конструкций, наглядно позволяющий выявлять хиральную специфику сложной системы. Экспериментально исследованы биомиметические системы ТФААСрастворитель, в которых выявлены ранее не наблюдавшиеся макроскопические вихревые структуры, демонстрирующие зависимость макроскопического угла закрутки от знака использованного в экспериментах энантиомера.

Методом молекулярной динамики (МД) исследовано взаимодействие в паре молекул ТФААС в растворе. Продемонстрированы молекулярные основы феноменологической стопочной модели роста струны. Методом ΜД внутримолекулярная подвижность молекул холестерина и эргостерола, и показана ее связь со структурообразованием в модельных системах. Выдвинуто предположение о различной роли эргостерола и холестерина в клетках грибов и животных, определяющее топологию строения тела этих организмов. Впервые рассмотрена взаимосвязь спиральной структуры нанофибрилл нативной целлюлозы и процесса ее нитрования. Построена качественная модель нитрования, основанная на физических механизмах взаимодействия суперспирализованных целлюлозных фибрилл.

Научная и практическая значимость

Построена биофизическая модель процесса нитрования целлюлозного волокна, позволяющая оптимизировать технологические процессы переработки древесного сырья и получены образцы с заданными свойствами. Разработана новая методика определения содержания азота в нитроцеллюлозе – гравиметрический метод. Создан классификационный атлас для экспериментального выявления хиральных структур.

Глава 1

Обзор литературы

1.1. О хиральности и гомохиральности

Вопрос возникновения хиральности в природе и её сохранении при образовании из простых молекул сложных соединений является одним из ключевых в понимании путей зарождения и развития жизни на Земле. Остается загадочным факт появления в процессе эволюции абсолютной хиральной чистоты. У живых существ в молекулах белков содержатся только L-аминокислоты, а в нуклеиновых кислотах — исключительно D-углеводы. Подобное явление могло возникнуть только вследствие утраты предбиологической средой первично рацемического состава, так как неживой природе присуща тенденция к установлению зеркальной симметрии [4].

Нерасторжимость понятий симметрии и асимметрии, составивших звенья цепи биологической эволюции, делает принципиально важным выделить отдельный класс хиральных объектов, встречающихся на всех уровнях организации живых систем. В соответствии с классическим определением Кельвина [5], к хиральным веществам относятся соединения, включающие асимметричный атом углерода с четырьмя различными заместителями, образующими с ним ковалентные связи. Они образуют зеркальные изомеры энантиомеры, обладающие оптической активностью — способностью вращать плоскость поляризации света [5].

В первичной атмосфере Земли под действием грозовых разрядов и солнечного ультрафиолета могли образовываться аминокислоты [6]. Традиционная гипотеза [4] гласит, что изначально правых и левых энантиомеров было поровну. Потом, при формировании механизмов естественного отбора, одна из сторон при какой-то флуктуации, получила незначительно преимущество. Развив этот успех за счет более эффективного самовоспроизведения, левые аминокислоты полностью вытеснили правые.

Известно [4], что только в гомохиральных растворах могло возникнуть биологически значимое удлинение цепочки полинуклеотидов и процесс саморепликации. Рацемический полинуклеотид не способен к самовоспроизведению, так как его основания направлены в разные стороны, и у него нет спиральной организации [4]. Поэтому все живые организмы поддерживают свою хиральную чистоту.

Таким образом, одним из важнейших свойств живых систем является гомохиральность, которая В общем смысле представляет собой упорядоченность. Необходимо подчеркнуть роль хиральности в процессах самоорганизации систем. Для того, чтобы система могла быть устойчивой и самодостаточной необходимы следующие два принципа: 1. Иерархичность системы, каждый из уровней которой представляет собой активную среду, и смена знака хиральности при переходе от одного уровня к другому, в отличие от фрактального представления, состоящего в автоматическом копировании нижнего уровня системы на верхний [1]. 2. Тесные множественные связи всех уровней со всеми [7]. Такой системой можно считать биосферу в целом. Снизу она опирается на таблицу Менделеева, сверху поступают в нее кванты света, и в итоге мы имеем устойчивую, функционирующую и самодостаточную систему.

Биомакромолекулы благодаря своей гомохиральности приобретают стереоспецифичность уникальную И соответствующий функционал. Отклонение от принципа «хиральной чистоты» может быть связано с важнейшими регуляторными процессами в организме. Например, в организме функции энантиомеров аминокислот разделяются по двум направлениям: L-аминокислоты — в синтез белков, а D-аминокислоты — в регуляцию процессов [8]. Экспериментально **D**-аминокислоты были клеточных обнаружены в составе половых клеток и органов центральной нервной системы животных и человека, что позволило говорить об их участии в регуляторных процессах [8]. D-аспарагин является одним из ключевых факторов, влияющих на развитие центральной нервной системы, особенно в период внутриутробного

развития и вскоре после рождения. Важно, что D-аспарагин практически исчезает из нервной ткани взрослых животных, но содержание его увеличивается в эндокринных железах [8]. Этот факт указывает на участие D-аспарагина в деятельности эндокринной системы [8]. Таким образом, «хиральная чистота биосферы» состоит не в полном исключении энантиомеров одного знака из эволюционного процесса, а в разделении их по иерархическим уровням и функциям. Поэтому разумно считать, что гомохиральность живого является не артефактом эволюции, а неизбежным её следствием [7].

Согласно одной из гипотез [9] к первичным молекулам, отвечающим за биологическую память и отличие живого от неживого на этапах добиологической эволюции, относятся именно молекулы на основе сахаров. Они могли образоваться в результате реакции Бутлерова — автокаталитической реакции синтеза различных сахаров из альдегидов в слабощелочных водных растворах в присутствии ионов металлов [10]. Она является очень перспективным кандидатом на роль одного из ключевых процессов биогенеза [11], поскольку в ходе этой реакции синтезируется сложнейшая смесь, включающая практически всевозможные молекулы сахаров во всех их стереохимических вариантах [12]. Именно она является источником хиральности, поскольку в ней происходит образование sp³ атома углерода, входящего в состав всех хиральных биологических молекул.

Ввиду особых свойств атома углерода, способного образовывать хиральные соединения, живые системы на Земле, по-видимому, и получили свою углеродную основу и развитие через последовательность хиральных бифуркаций [1]. Следует, однако, отметить, что центром хиральности могут быть и другие атомы, например, атом кремния. Он схож по строению с углеродом, однако, радиус атома углерода значительно меньше радиуса атома кремния, поэтому ковалентные неполярные связи в углеродных цепочках намного более прочны, чем в кремниевых. Это приводит к неустойчивости сложных молекул с кремниевой цепью [13] и ограничению его роли в химии

живого. Очевидно, это и послужило причиной отсутствия эволюции хирального ряда соединений на основе кремния [14].

1.2. Синергетический принцип биологических систем

Целесообразность хиральности биологических структур разного уровня состоит в том, что процесс разделения энантиомеров становится универсальным, а иерархические уровни дистанцированными и устойчивыми [15]. Термодинамически правые и левые энантиомеры не отличаются друг от друга, и в экспериментах, при отсутствии энантиоспецифичных факторов, всегда образуется рацемат. Определено [16], что в процессах формирования протоклеток происходит разделение правых и левых аминокислот, которые синтезируются в различных процессах из неорганических веществ, по хиральности и один из энантиомеров по какой-то причине начинает доминировать и запускает дальнейший процесс формирования того состава клетки, который известен нам сейчас.



Рисунок 1.2.1. Знакопеременные хиральные иерархии структурных уровней ДНК и белков [1].

Профессором В.А. Твердисловым [1] был сформулирован универсальный синергетический принцип, в соответствии с которым формируются все системы — от клетки до биосферы. Он гласит, что развивающаяся система внутри одного иерархического уровня имеет элементы одного знака хиральности, а при переходе на более высокий иерархический уровень происходит смена знака хиральности. Получается, что хиральность — это физическая основа детерминированности и дискретности иерархических уровней. Наиболее наглядно это подтверждается в структурно-функциональной организации белковых структур и ДНК (рисунок 1.2.1). Так для биосинтеза белка прослеживается следующая иерархия: аминокислоты, формирующие полипептидные цепи белков, «левые», тогда как α-спирали (вторичная структура белка) — «правые». Дезоксирибоза, входящая в состав ДНК, является D-изомером, тогда как включающие её нуклеотиды существует преимущественно L-изомером, а формируют в свою очередь правую двойную спираль ДНК [7].

1.3. Отдельные биомиметические системы

При рассмотрении важнейших начальных этапов предбиологической эволюции важно понять, при каких условиях могла возникнуть ранее описанная «хиральная чистота» биосферы и в какой мере она повлияла на развитие живых систем. Важно, что хиральность играет определяющую роль в процессах самоорганизации при формировании вторичных, третичных и четвертичных макромолекулярных структур. Ввиду невозможности непосредственного изучения процессов предбиологической эволюции, представляется необходимым изучать процессы в модельных системах на объектах более простых, но имитирующих поведение биомакромолекул — биомиметиках [17], то есть соединений, которые по своему поведению аналогичны биомолекулам, но имеют по отношению упрощенную Поскольку к ним структуру. хиральность кардинальным образом влияет на процессы самоорганизации, связанные с образованием биологических различных структур, представляется необходимым исследование и выявление принципиальных закономерностей в процессах структурообразования на примере упрощенных модельных систем,

которыми и являются N-трифторацетилированные α-аминоспирты. Данный класс биомиметиков является наиболее подходящим для изучения процессов структурообразования по причине своей простоты, изометричности и наблюдаемых в для них эффектов [18].

1.3.1. Основные структурные элементы

Основные структурные элементы в низкоконцентрированных хиральных растворах были определены при исследовании растворов ТФААС-1 – ТФААС-8 в органических растворителях и в воде [19]. При этом наблюдалось образование хаотической системы с большим количеством супрамолекулярных анизометрических структур с постоянным диаметром на длине до 0.5 см — струн, которые формируют нерегулярные решетки, заполняющие весь объём (рисунок 1.3.1) [3].



Рисунок 1.3.1. Оптическая микрофотография системы супрамолекуляных струн. Штрих 200 мкм, ТФААС-4 в циклогексане, 1 мг/мл [3]

Образование струн в хиральных низкомолекулярных системах возможно имеет общие молекулярные механизмы с образованием таких структур в живой клетке, как цитоскелет и элементы межклеточной коммуникации [3].

Было установлено, что струны формируются группами по несколько десятков штук при характерном масштабе области, в которой происходит коррелированное формирование струн, в несколько сотен микрометров. Предполагается, что основной вклад в энтальпию образования струны вносит энергия дисперсионных взаимодействий между молекулами ТФААС [20]. Из-за достаточно большого дипольного момента молекул ТФААС ($d \sim 3.5 - 4.5 \, Д$) диполь-дипольное взаимодействие молекул друг с другом так же оказывает существенное влияние на процесс формирования анизометрических структур. Сама структура стабилизируется посредством ван-дер-ваальсовых сил и водородных связей, локализованных внутри струны [3].



Рисунок 1.3.2. Оптическая микрофотография уединённой струны в капилляре. Штрих 100 мкм, ТФААС-5 в изопропаноле, 1 мг/мл [3].

В застывшем геле при концентрациях 0.1 – 1.0 мг/мл на масштабах порядка нескольких миллиметров и более структура вещества однородна и может рассматриваться как гель. На меньших масштабах система ведёт себя как вязкая жидкость с дискретными струнами [19]. Эти струны, как выяснилось [20], формируются путем роста в длину, поскольку отношение длины струны к её диаметру оказывается $\sim 10^4$. Это означает, что скорость роста в длину гораздо больше скорости роста в ширину [20]. Струну можно рассматривать как дискретное физическое явление в связи с тем, что наблюдается формирование уединённой струны в капилляре (рисунок 1.3.2). При этом формирование может происходить как вдоль оси капилляра, так и поперёк [3].

На основании полученных данных [3] была построена модель уединённой струны: осевая и трансляционная симметрия говорит о том, что струна на всей длине имеет постоянный диаметр; отсутствие на поверхности струны водородных связей и полярных функциональных групп указывает на то, что боковая поверхность струны инертна; экспериментально наблюдаемая шероховатость струны не превышала 10 нм, что означает, что струна характеризуется идеальной гладкостью; струна прямолинейна на масштабах до 10^{-2} см и более (рисунок 1.3.1 и 1.3.2), что свидетельствует о её упругости [3].



1.3.3. микрофотография, Рисунок Оптическая штрих 10 мкм. ахирального ТФААС-2 В Изометрические гранулы **шиклогексане** В наборе исследуемых хиральных веществ помимо молекул присутствовало ахиральное соединение. Оно необходимо для сравнения и результаты микроскопирования ЭТОГО образца показали, что В нем

формируются изометрические гранулы, которые имеют достаточно много свободных связей и могут образовывать изометрические конгломераты (рисунок 1.3.3) [21].

При исследовании с помощью атомно-силовой микроскопии (ACM) выяснилось, что струны имеют спиральную структуру, обусловленную особенностями взаимодействия хиральных молекул ТФААС (например, пространственным распределением плотности зарядов) [22].

Экспериментальные данные оптической и атомно-силовой микроскопии свидетельствуют о том, что формирование структуры струн подчиняется двум принципам: хиральность и иерархичность [3]. Поэтому наиболее важные особенности рассматриваемых хиральных систем являются спиральность, определяемая хиральностью каждой отдельной струны, и суперспирализация, определяемая особенностью формирования более толстых струн из более тонких (рисунок 1.3.4) [3].



Рисунок 1.3.4 Оптическая микрофотография ксерогеля раствора хирального ТФААС4 в гептане при различном приближении, 0.4 мг/мл [3].

Получается, что данная система биомиметиков отражает общие синергетические закономерности, характерные молекулярно-ДЛЯ биологических систем. В частности в системах ТФААС явно наблюдается подтверждение выдвинутого В.А. Твердисловым синергетического принципа (раздел 1.2, [1]).

В работах С.В. Стовбуна [20,23–25] экспериментально были получены три различных режима формирования струн:

1. Формирование структуры в виде правильного идеального цилиндра с постоянным диаметром. Торец диаметра при этом перемещается с постоянной скоростью.

2. Формирование структуры путём сборки тонких струн в обратный конус. Точка сборки с быстро растущими тонкими струнами перемещается скачками однонаправленно.

3. Формирование струн в воде происходит сначала по модели цилиндра, затем наблюдается остановка торца струны и интенсивное ветвление струн.

Помимо всего перечисленного, при испарении микроскопических капель модельного гомохирального раствора ТФААС на твердой поверхности наблюдались кольцеобразные структуры (рисунок 1.3.5) [26]. Они формируются независимо от линейных структур при испарении микрокапель и вполне могут служить моделью формирования гомохиральных структур макроскопического масштаба как фундаментального свойства предбиологического мира. Таким образом, можно предположить, ЧТО смоделирован возможный механизм формирования кольцевых структур предбиологических матриц, напоминающих ДНК и РНК, независимого от формирования соответствующих линейных полимеров [26].

Микроскопическая модель элементарной струны такова: в струне молекулы связаны межмолекулярными связями диполь-дипольного и ван-дерваальсова взаимодействий; стереоспецифичность приводит к упаковке молекул с дальним порядком; симметрия упаковки молекул определяет спиральность струны; внутренние водородные связи в струне помогают стабилизировать структуру, а внешняя поверхность струны инертна; струны взаимодействуют между собой посредством ван-дер-ваальсовых сил и образуют таким образом суперспирали [22].



Рисунок 1.3.5 Оптическая микрофотография кольцевой струны в ксерогеле ТФААС-4 в гептане, 0.4 мг/мл. Штрих 100 мкм [26].

Исследование особенностей структурообразования в биомиметических системах ТФААС позволило продемонстрировать возможный сценарий возникновения гомохиральной среды, характерной для живой природы [3]. Явление физико-химической аннигиляции антиподов путем их агрегации в изометрическую фазу было обнаружено экспериментально при исследовании ксерогелей рацемических растворов ТФААС [27]. Экспериментально было установлено, что энантиомеры противоположного знака в растворе образуют конденсат, а раствор при этом становится гомохиральным с хиральностью энантиомера в избыточной концентрации [27]. Данное явление отражает процесс формирования одноуровневой гомохиральности в рацемическом мире, что может служить моделью некоторых этапов предбиологической эволюции [3]:

4. Аннигиляциия энантиомеров противоположного знака приводит к тому, что небольшой флуктуационный перевес энантиомера одного из знаков

начинает накапливаться, что приводит к формированию практически гомохиральной среды;

5. Процессы структурообразования в гомохиральной среде, в соответствии с экспериментально наблюдавшимися явлениями в низкоконцентрированных хиральных растворах ТФААС, моделируют процессы, наблюдаемые в живых клетках.

В системе, случайно слабо отклонившейся от рацемичности, процесс аннигиляции может послужить толчком для перехода её в гомохиральное состояние. Таким образом получается, что хиральность обладает фундаментальной структурообразующей ролью и уже на начальных стадиях предбиологической эволюции обеспечивает формирование гомохиральных структур [28].

1.3.2. Физические аспекты структурообразования

При исследовании взаимодействий ориентированных и хиральных молекул зачастую используются модели, опирающиеся на геометрические образы, которые отражают тип симметрии или характер нарушения симметрии, существенные для физической интерпретации [29].

Коагуляция коллоидных частиц, имеющих обычно размеры от нескольких нанометров до нескольких микрометров, означает, что частицы притягиваются друг к другу силами, действующими на расстояниях порядка размеров самих частиц. Дисперсионные взаимодействия обеспечивают стабильность молекулярных группировок и отвечают за их плотноупакованный характер упорядочивания [30]. Структурные особенности молекул ТФААС таковы, что они устанавливают не только трансляционный порядок, но и ориентационный [3].

Аналогичное поведение демонстрируют жидкие кристаллы из сильно анизотропных молекул [35]. Возможность стерических взаимодействий, дающих ориентационное упорядочивание, обеспечивается особенностью построения молекулы, в которой чаще всего внутренняя часть жёсткая, а гибкая. Примером таких жидких кристаллов являются внешняя часть цианобифенилы [31] — важнейшие материалы, используемые для изготовления жидкокристаллических дисплеев. обладающие высокой оптической И

диэлектрической анизотропией. Концевая цианогруппа этих соединений обеспечивает молекуле большой продольный дипольный момент (~4 Д), и из-за сильных диполь-дипольных взаимодействий молекулы образуют антипараллельные конфигурации (рисунок 1.3.6). Молекулярный вес этих молекул составляет порядка 200 Да.



Рисунок 1.3.6 Антипараллельное дипольное расположение молекул цианобифенила 8СВ [31].

Если молекулы или агрегаты в жидком кристалле хиральны, то его структура имеет закрутку [30]. Это обусловлено тем, что в плотности свободной энергии деформации жидкого кристалла Франка-Осеена, связанной с деформациями вектора (директора), описывающего направление оптической оси кристалла, появляется дополнительное слагаемое. Оно меняет знак при изменении направления директора и отражает роль хиральности подобно «полю», которое является внутренним источником деформации [30].

1.4. Холестерин и эргостерол

Известно, что плазматические мембраны животных клеток содержат в качестве значимого компонента холестерин (ХЛ), в то время как в клеточных мембранах грибов присутствует эргостерол (ЭЛ). Стеролы обеспечивают необходимую текучесть плазматических мембран в широком диапазоне температур, то есть играют роль модификатора (пластификатора) бислоя, придавая ему определенную жёсткость за счёт увеличения плотности упаковки молекул [32]. Поддержание определенного значения текучести мембраны очень важно для её функционирования. При возрастании текучести мембраны увеличивается её проницаемость для воды и других небольших молекул. Структурные и динамические свойства мембран при переходе из жидкокристаллического состояния в состояние геля оказываются несовместимыми с правильным функционированием белковых комплексов клетки [32].

Роль биологических клеточных мембран очень разнообразна. Это и структурная организация внутриклеточного содержимого, и регуляция связей и взаимодействий внутри и снаружи клетки [32]. Наиболее близкими к биологическим мембранам по термодинамическим и структурным свойствам являются системы бинарных смесей липидов. Такие смеси могут спонтанно образовывать фракции с различными физико-химическими свойствами, характерными для биомембран [32]. Активно исследуются смеси холестеринфосфолипиды, которые представляют собой сложные полиморфные системы. Такие модельные мембраны позволяют детально изучить механизмы влияния стеролов на параметры фазовых переходов в мембранах [32].

По данным рентгеноструктурных исследований [32] молекулы холестерина ориентированы в бислое перпендикулярно к поверхности, при этом ОН-группа располагается вблизи полярной головки молекулы фосфолипида. Водородная связь между этими группами не образуется, однако, по некоторым данным холестерин проявляет сродство к некоторым фосфолипидным молекулам [32].

В жидкокристаллическом состоянии мембраны холестерин ограничивает конформационную подвижность фосфолипидов, а в состоянии геля затрудняет оптимальную упаковку фосфолипидов [32]. Если боковые липидные цепи находятся в неупорядоченном состоянии, то холестерин вызывает их конденсацию, а если они наоборот кристаллизуются, то холестерин их разупорядочивает. Таким образом, смесь фосфолипид-холестерин по упорядоченности занимает промежуточное состояние между гелем и жидким кристаллом чистого фосфолипида. При этом на полярные головки молекул фосфолипидов холестерин оказывает незначительное влияние [32].

Вопрос о том, как распределен холестерин в плазматических мембранах — хаотично или в виде кластеров — до сих пор не имеет чёткого ответа. При этом модельные смеси фосфолипид-холестерин ведут себя как в случае хаотичного распределения компонентов [32].

Физико-химическое исследование стеролов как мембранных компонентов и модельных систем с их участием имеют большое значение для понимания свойств биомембран. Несмотря на активное исследование холестерина в составе модельных систем, непонятно, насколько полученные данные можно отнести к холестерину в биологических мембранах. При этом биологические мембраны являются сложно организованными системами, требующими поэтапного изучения. Поэтому исследования модельных систем, в том числе с участием стеролов, способствуют углублению понимания функционирования биологических мембран и их компонентов.

1.5. Целлюлоза

1.5.1 Морфологическая организация целлюлозного волокна

Целлюлоза обладает выраженной иерархической структурой линейных масштабов, состоящей как минимум из четырех уровней. Элементарной структурной единицей и первым уровнем организации природной целлюлозы является неразветвлённая полимерная цепочка β-D-глюкопиранозных остатков, соединённых β-1,4-гликозидными связями [33-35]. Из-за ориентации гидроксильного радикала в первом положении β-глюкопиранозного кольца, последовательные остатки глюкозы в полимерной цепочке целлюлозы оказываются развёрнутыми друг относительно друга на 180°, что формально можно отождествить с 2₁-спиралью [36]. Данная структурная особенность приводит к более эффективному образованию водородных связей между макромолекулами и появлению механической жёсткости, характерной для целлюлозы, но не характерной для полимеров α-целлюлозы. В среднем на одно глюкопиранозное в натуральной целлюлозе звено приходится две межцепочечные и до трёх внутрицепочечных водородных связей. Средняя

энергия водородной связи в спиртах составляет ~ 4 – 7 ккал/моль, в зависимости от спирта [37]. Следовательно, в среднем энергия межцепочечной связи в целлюлозе составляет как минимум порядка 15 – 30 кДж/моль на одно гюкопиранозное звено, что и обеспечивает высокую механическую прочность клеточных стенок растений.

Вторым уровнем организации натуральной целлюлозы является уровень элементарных фибрилл, имеющих толщину от 3.5 до 6 – 9 нм [38]. Поскольку молекула глюкозы хиральна, то при плотной упаковке цепочек целлюлозы, согласно сформулированному ранее принципу проявления хиральности в виде макроскопической спиральности, в структуре нанофибрилл как целого должен наблюдаться спиральный мотив [39]. Косвенные экспериментальные соображения позволяют утверждать, ЧТО такой мотив действительно присутствует в структуре элементарных фибрилл и имеет характерную длину порядка 100 нм [40]. Отметим, что с учётом большой механической прочности и высокой упругости целлюлозных волокон, такая оценка выглядит вполне разумной.

Целлюлозные микрофибриллы можно рассматривать как следующий уровень структурной организации целлюлозы. Характерные поперечные размеры этих образований варьируют в достаточно широких пределах, от 5-8до 35 – 40 нм, также широко варьирует форма их поперечного сечения, которая может меняться от сильно вытянутой, характерной для лент [41], до боле или менее квадратной, характерной для собственно микрофибрилл [33]. Согласно данным электронной микроскопии микрофибриллы и ленты обладают спиральной структурой, выраженной с характерным шагом спирали ~0.5 мкм [38,41].

Дальнейшее увеличение масштаба рассмотрения приводит к уровню целлюлозных волокон. Такие волокна образованы переплетенными и спирально завитыми, в силу хиральной природы изначального полимера, более мелких

волокон (элементарных и микрофибрилл), образующими достаточно плотные, часто ветвящиеся и изгибающиеся структуры [42].

Микрофибриллы и более крупные волокна всегда ориентированы не параллельно длинной оси клетки, а под некоторым острым углом к ней [43]. Это неизбежно приводит к появлению спирального мотива в строении клеточной стенки как целого. Микрофибриллы внешнего слоя вторичной клеточной стенки, например, трахеид хвойных деревьев, образуют две независимые системы встречных, перекрещивающихся спиралей. В среднем слое клеточной стенки микрофибриллы также образуют крутую спираль. Внутренний слой, непосредственно прилегающий к полости трахеид, состоит из микрофибрилл, лежащих почти перпендикулярно длинной оси клетки, что можно трактовать как спирали с маленьким шагом [43].

Таким образом, линейная иерархия масштабов организации целлюлозного волокна простирается от долей нанометров (мономерная глюкоза и толщина одиночных целлюлозных цепочек), до сотен микрометров (целые клеточные стенки и их части) и даже сантиметров, если речь идёт о растительном волокне.

В дальнейшем в работе будет показано, что скорость нитрования целлюлозы не контролируется диффузией или кинетически, а определяется особенностями организации целлюлозного волокна. Физико-химическое взаимодействие между макромолекулами целлюлозы определяет параметры макроскопической динамики хиральных структур целлюлозы, которые, в свою очередь, позволяют эффективно управлять технологическим процессом получения целлюлозы, за счет её модификации на субмолекулярном и молекулярном уровнях.

1.5.2 Целлюлоза для химической переработки

Характеристики целлюлозы формируются в процессах варки и отбелки.

Основными варочными процессами являются сульфитная и сульфатная варка. Варку проводят по особым режимам с целью усилить деструкцию

гемицеллюлоз, исключить их адсорбцию на целлюлозу и в максимальной степени удалить все не целлюлозные компоненты из волокна [43].

Сульфитным способом целлюлозу для химической переработки вырабатывают из малосмолистых хвойных и лиственных пород, ее применяют для получения текстильной нити и волокна, штапеля, шелка целлофана. Характерные для сульфитной варки параметры процесса – кислая среда и повышенная температура, способны обеспечить высокую степень удаления гемицеллюлоз, глубокий и равномерный провар, низкую вязкость целлюлозы [43].

Сульфатный способ широко применяется в промышленности для выработки целлюлозы из любых хвойных и лиственных пород древесины. Особенностью щелочных способов является прочная адсорбция ксилана в течение варки на поверхности целлюлозных волокон, что обеспечивает повышение выхода и улучшение бумагообразующих свойств волокна, но практически исключает возможность использования такой целлюлозы для химической переработки из-за высокого содержания нецеллюлозных компонентов. Чтобы ускорить деструкцию гемицеллюлоз и усилить их растворение в процессе сульфатной варки, проводят предварительный гидролиз древесины в кислой среде при повышенной температуре. Применение предгидролиза позволяет получить целлюлозу с пониженным содержанием гемицеллюлоз и увеличить ее реакционную способность [43].

Получаемая после варки целлюлоза содержит в себе много различных примесей, в том числе лигнин – соединение, содержащееся в клетках растений. Для удаления примесей лигнина и придания целлюлозе белизны проводится её отбелка [43]. Процесс отбелки может быть осуществлен обработкой хлором, разрушая тем самым макромолекулы лигнина, обработкой щелочью — для выведения образовавшихся продуктов разрушения лигнина или перекисью водорода [43].

Для каждого вида волокнистых полуфабрикатов применяются свои технологические схемы отбелки. Основными методиками отбелки являются процессы в водной среде, газовая отбелка и динамическая отбелка.

В первом случае, производится смешение водного раствора реагентов с целлюлозой в специальных реакторах. Между фазами производится отжим целлюлозного волокна на барабанных центробежных или вакуумных фильтрах. По этому методу производится отбелка основной массы целлюлозы.

Для уменьшения объема сточных вод применяется отбелка целлюлозы газообразными реагентами [43]. Для этого, сквозь целлюлозную пульпу с содержанием целлюлозы 30-40% последовательно барботируют газообразные реагенты. Это позволяет повысить скорость процесса и снизить металлоемкость производства. При этом ухудшаются условия вымывания продуктов реакций из волокна. Это приемлемо только для целлюлоз, идущих на изготовление бумаги, в которых производят в основном отбелку примесей, а не их удаление [43].

Динамическая отбелка производится в реакторах вытеснения при непрерывной фильтрации растворов реагентов через практически неподвижную массу целлюлозы [43]. При этом, смешение различных реагентов можно почти полностью исключить. За счет интенсификации диффузионных процессов на границе жидкость-твердое, весь процесс отбелки завершается в течение 10-15 минут. Так же возникают проблемы с удалением примесей из глубинных слоев волокна. Это не имеет значения для производства бумаги и других волокнистых материалов, но неприемлемо для химической переработки волокна в сложные эфиры целлюлозы [43].

1.5.3 Проблема организации лесных запасов РФ

Воспроизводство и рациональная переработка растительного сырья вообще и древесины в частности, является одной из проблем современной биофизической экологии, био- и химических технологий [15].

Наибольшую площадь на территории России занимает лесная зона. Она протянулась непрерывной широкой полосой от западных границ страны до

побережья Тихого океана. Основная масса запасов древесины (первое место в мире по этому показателю — от 75 до 82 млрд. м³) [44] сосредоточена в лесах Сибири и Дальнего Востока, но более интенсивно эксплуатируются леса европейской части России, особенно в бассейне Северной Двины, Печоры, Камы (Европейский Север).

В прошлом основные лесоразработки велись в пределах южной части тайги и подзоны смешанных лесов в Центральной и Северо-Западной России, близко расположенных к главным потребителям древесины. В результате лесные ресурсы этих районов сильно истощились. Теперь заготовка древесины здесь резко сокращена, и ведётся лишь в размерах, не превышающих естественный прирост [44].

Однако по уровню их использования наша страна отстает от экономически развитых государств [45]. Много древесины просто не используется, огромны потери при транспортировке леса. Лесозаготовки не компенсируются соответствующими лесовосстановительными работами, вследствие чего складывается критическая экологическая ситуация и осложняется ситуация с заготовкой древесины. Леса вырубаются вдоль сплавных рек, шоссейных трасс и железнодорожных магистралей. Очень серьезная ситуация сложилась вокруг озера Байкал. Лес экспортируется за границу как сырьевой ресурс.

Леса — источник древесины и других видов ценного сырья, а также стабилизирующий компонент биосферы [45]. Они имеют очень большое эстетическое и рекреационное (восстановительное) значение. Для упорядочения пользования лесами государственного значения и предупреждения истощения древесных запасов в малолесных районах, леса разделены на три группы.

К первой группе относятся леса, выполняющие преимущественно водоохранные, защитные (противоэрозионные), санитарно-гигиенические и оздоровительные (городские леса, леса зеленых зон вокруг городов) функции [46].

Ко второй группе относятся леса в районах с высокой плотностью населения и развитой сетью транспортных путей, имеющие защитное и ограниченно

эксплуатационное значение, а также леса с недостаточными лесосырьевыми ресурсами, для сохранения защитных функций которых, непрерывности и неистощимости пользования им требуется более строгий режим лесопользования [46].

К третьей группе относятся леса многолесных районов, имеющие преимущественно эксплуатационное значение. В лесах третьей группы ведущее место занимает использование целевых ресурсов (в первую очередь древесины). В свете современных вопросов охраны окружающей среды и рационального использования лесных ресурсов большое значение приобретает освоение лесов третьей группы, совершенствование лесоэксплуатации и переработки древесины, дальнейшее повышение продуктивности насаждений, эффективное использование побочных продуктов леса. Создание крупных лесопромышленных комплексов на Северо-Западе и в Восточной Сибири, на Дальнем Востоке позволило вовлечь в эксплуатацию крупные лесные массивы с перестойными и спелыми насаждениями, выдвинув задачу перед лесным хозяйством и лесной промышленностью замены старых лесов новыми [46].

Большое значение приобретает комплексное использование древесного сырья. Его основой является производство технологической щепы, которое позволяет применять древесину, а также отходы лесозаготовок и лесопиления в качестве исходного сырья для целлюлозно-бумажной промышленности и производства древесных плит [47].

Быстро растет и рекреационное значение лесов, расположенных в местах с развитой промышленностью, около больших городов. Рекреационная ценность лесов порой превосходит стоимость получаемой от них древесины.

Таким образом, для максимально полного и экологически безопасного использования природных ресурсов необходимо строительство новейших предприятий по глубокой переработке растительного сырья. На сегодняшний день существуют сложности в технологии получения древесной целлюлозы для промышленной химической переработки и получения эфиров целлюлозы.

Предприятия целлюлозно-бумажной промышленности производят товарную целлюлозу различных марок и типов, ориентированную исключительно на производство бумаги. Перед промышленностью стоит вопрос замены не представленного в России хлопка, как традиционного источника пригодной для химической переработки целлюлозы, на древесину. Требуется детальное изучение особенностей целлюлозного волокна с целью оптимизировать технологию переработки целлюлозного сырья.

Глава 2

Материалы и методы

2.1 Материалы

2.1.1 Трифторацетилированные аминоспирты

Были исследованы растворы ряда хиральных и ахиральных низкомолекулярных соединений в наборе растворителей. В качестве растворяемых соединений использовались трифторацетилированные аминоспирты (ТФААС), некоторые их характеристики приведены в Таблице 2.1.1. ТФААС и исследуемые растворы были получены в лаборатории стереохимии ИХФ РАН, зав. лаб. проф. Р.Г. Костяновский. В работе были использованы следующие растворители: гептан, тетрахлорметан и ацетон. Растворители имели чистоту 99.9 %. Поставщик растворителей — фирма Химмед.

2.1.2 Целлюлоза

В работе была использована целлюлоза:

- 1. Целлюлоза сульфитная вискозная, рулонная бумага (РБ), ОАО «Архангельский ЦБК».
- 2. Целлюлоза хлопковая, UZ Cell, Узбекистан.
- 3. Целлюлоза сульфитная полубеленая хвойная, папка (СХП), ОАО «Сясьский ЦБК».
- Целлюлоза сульфитная беленая хвойная, жидкий поток (СХЖ), ОАО «Сясьский ЦБК».
- 5. Целлюлоза сульфатная беленая лиственная ЛС, папка (АЛП), ОАО «Архангельский ЦБК».
- 6. Целлюлоза льняная (ВЛВ), ПАО «Сокольский ЦБК» г. Вологда.
- Целлюлоза сульфатная беленая лиственная, жидкий поток (АЛЖ) ОАО «Архангельский ЦБК».

- Целлюлоза сульфатная беленая хвойная, жидкий поток (АХЖ), ОАО «Архангельский ЦБК».
- 9. Гель наноцеллюлозы, получаемый с помощью коллоидной мельницы и представляющий из себя неседиментирующую взвесь наноцеллюлозы в воде. Образцы приготавливались смешиванием водного раствора NaHSO₃ либо H₃BO₃ с наноцеллюлозой (ГНЦ) в пропорции 1:1 по объёму и последующим мягким взбалтыванием.

Подготовку волокнистых полуфабрикатов (древесная целлюлоза, хлопковая целлюлоза) проводили в диспергирующих установках производства фирмы IKA (Германия):

- EuroStar 2000 (мешалка с диссольверной насадкой);

– IKA MagicLab (диспергатор; тип пары «ротор-статор» — коллоидная мельница).

Концентрация массы при диспергировании составляла от 1 до 3%:

- EuroStar 2000 — 150 – 450 об/мин;

- IKA MagicLab — 10000 – 18000 об/мин.

В зависимости от вида волокнистого полуфабриката варьировали продолжительность процесса и зазор «ротор-статор» в коллоидной мельнице.

2.1.3 Холестерин и эргостерол

Были исследованы растворы холестерина (ХЛ) и эргостерола (ЭЛ) с концентрациями 4 мг/мл. Поставщик – ООО НПП «Реахим». В качестве растворителя использовался метанол.

Для получения ксерогеля, каплю раствора наносили на гладкое предметное стекло и дожидались полного испарения растворителя. Сформировавшийся после испарения растворителя ксерогели помещали для исследования на столик микроскопа. Исследования проводили при комнатрой температуре (20 – 25°C).

N⁰	Структурная формула	Мол. масса, Да	Наименование по ИЮПАК
1	СH ₃ СF ₃ СH ₃	171	2,2,2-трифторо-N-[(2R,S)- гидроксипропил] ацетамид
2	СН ₂ ОН С—Н—С—СН ₂ ОН F ₃ С СН ₂ ОН	205	N-[1,3-дигидрокси-2 (гидроксиметил) пропан-2-ил]-2.2.2-трифторацетамид
3	$\begin{array}{c} H \\ C \\ C \\ C \\ C \\ C \\ C \\ H_{3} \\ C \\ C \\ H_{3} \\ C \\ $	187	2,2,2-трифторо-N-[(2R)-1-гидрокси-3- метилбутан-2-ил] ацетамид
4	HOH ₂ C Me O CH-CH F ₃ C	201	2,2,2-трифторо-N-[(2S,3S)-1-гидрокси- 3-метилпентан-2-ил] ацетамид
5	O C C C F ₃ C H C C H ₂ OH C H ₂ OH	159	2,2,2-трифторо-N-[(2S/2R)-1- гидроксипропан-2-ил] ацетамид
6	$\begin{array}{c c} & H & CH_2OH \\ C & C & CH_2OH \\ C & C & C_2H_5 \end{array}$	173	2,2,2-трифторо-N-[(2R)-2- гидроксибутил] ацетамид
7	O C C C F ₃ H ₂ C C H ₂ OH	235	2,2,2-трифторо-N-[(2R)-1-гидрокси-3- фенилпропан-2-ил] ацетамид
8	$\begin{array}{c} O \\ C \\$	201	2,2,2-трифторо-N-[(2R)-1- гидроксигексан-2-ил] ацетамид

Таблица 2.1.1 Краткая информация об исследуемых ТФААС [3]

2.2 Методы

2.2.1 Оптическая микроскопия

Для оптического микроскопирования были использованы:

- оптический микроскоп (ОМ) МИКМЕД-6 (ЛОМО, Россия);

– оптический микроскоп (OM) CARL ZEISS JENA (Германия);

- оптический цифровой микроскоп (ОЦМ) NIKON (Япония);

– компьютеризированный оптический стенд (КОС, Research system microscope) на основе микроскопа BX51 OLYMPUS (Япония);

- конфокальный оптический микроскоп (КОМ) Veeco VCM-200;

- инвертированный оптический микроскоп (ИОМ) Leica DMI 6000.

2.2.2 Электронная микроскопия

Для электронного микроскопирования был использован сканирующий электронный микроскоп CamScan S2 (Cambridge Instruments, UK) при ускоряющем напряжении 20кВ. Образцы высушивали при критической температуре углекислого газа (Critical Point Dryer HCP-2, Hitachi, Japan) после красковременной промывки ацетоном, ходе которой образцы В нитроцеллюлозы не успевали раствориться. Образцы прикрепляли к столикам сканирующей электронной микроскопии, напыление проводили ДЛЯ В ионнораспылительной установке IB-3 (Еіко, Япония) сплавом золота и палладия (примерная толщина напыления 25 нм).

2.2.3 Атомно-силовая микроскопия

Все измерения методом зондовой микроскопии были выполнены на атомносиловом микроскопе (ACM) Solver HV (ЗАО NT-MDT, Зеленоград, Россия), работающем в полуконтактном режиме, при комнатной температуре и атмосферном давлении.

Измерения рельефа поверхности образца в АСМ проводили с последовательным увеличением масштаба кадра в диапазоне значений от 10 000 мкм² до

4 мкм². В работе были использованы стандартные кантилеверы производства ЗАО NT-MDT (Зеленоград, Россия). Собственные частоты кантилеверов находились в диапазоне 110 – 180 кГц, радиус закругления зонда — 10 нм. Большая часть данных получена в режиме постоянной амплитуды, меньшая — в режиме распределения фазового контраста. На топографических изображениях, полученных в режиме постоянной амплитуды, высота передаётся цветом: чем выше находится деталь рельефа, тем она светлее.

2.2.4 Рентгенофазовый (РФА) анализ образцов целлюлозы

Был использован модернизированный рентгеновский дифрактометр ДРОН-3 с медным антикатодом при напряжении 30 кВ и силе тока 20 мА (фильтр Ni), длинна волны рентгеновского излучения $\lambda \approx 0.15$ нм. Измерения производили при температуре 25°С и относительной влажности 50 – 55%. Исходный образец помещали в плоскую стеклянную кювету диаметром 10 мм и глубиной 1 мм. В ряде случаев выдерживался определённое время на воздухе или в условиях вакуумирования.

2.2.5 Спектры комбинационного рассеяния (КР)

Спектры КР регистрировали с помощью спектрометра RamanStation-400 (Perkin-Elmer). Данный прибор оснащен диодным лазером с $\lambda ex = 785$ нм (100 мВт) для возбуждения КР, термоэлектрически охлаждаемым до - 60оС (Si-ПЗС-матрица 1024x255 пиксел) iDus-420 (Andor) детектором ДЛЯ регистрации спектра КР, а также моторизованным XYZ-координатным столиком и цветной видеокамерой с 30х объективом для визуального просмотра и выбора участка образца для анализа (пятно диаметром ~5 - 10 мкм) или для фокусировки луча лазера на анализируемом образце перед записью спектра КР. В процессе регистрации спектра объектив видеокамеры используется для доставки фокусированного лазерного возбуждения на образец и, одновременно, для сбора и доставки генерируемых образцом КР-фотонов в спектрограф. Благодаря оптической схеме echelle прибор не содержит движущихся частей, не требует калибровки перед измерением, регистрирует
полный спектр за одно сканирование и обеспечивает постоянное оптическое разрешение (1, 1.5, 2, 4, 8 или 16 см-1) во всем измеряемом диапазоне сдвигов КР (от 95 до 3400 см-1). Спектры КР образцов целлюлоз (порошкообразные материалы преимущественно белого цвета) регистрировали используя образцы весом 5 – 10 мг, помещенные в алюминиевые чашечки объемом 50 мкл. Для повышения плотности образца и улучшения сигнала КР порошок вручную подпрессовывали в алюминиевом контейнере металлическим стержнем подходящего диаметра с плоским торцом. Спектры записывали с разрешением 1 или 2 см-1 в интервале сдвигов КР 100 – 3200 см-1 при мощности лазерного возбуждения в разных экспериментах 5 – 75 мВт, усредняя 9 – 16 сканов с временами экспонирования ПЗС-детектора 5 – 30 с. Управление прибором, выбор параметров эксперимента и обработку спектров осуществляли с помощью программного пакета ПО Spectrum v.10.6 (Perkin-Elmer).

2.2.6 Малоугловое синхротронное рассеяние

Измерение кривых малоуглового рентгеновского рассеяния (small-angle X-ray scattering, SAXS) образцов целлюлозы было проведено на установке «ДИКСИ» Курчатовского источника синхротронного излучения (СИ, НИЦ «Курчатовский институт», Москва). Монохроматизация пучка СИ осуществлялась одним меридионально изогнутым кристаллом Si (111) с горизонтальной дисперсионной плоскостью, одновременно фокусирующим рентгеновский пучок в горизонтальной плоскости. Вертикальная фокусировка пучка осуществлялась цилиндрически изогнутым зеркалом из плавленого кварца, также выполняющим функцию подавления высших гармоник монохроматора. Фокус обоих оптических элементов попадал на плоскость двумерного детектора MAR ССD165. Использовалась длина волны 1.60 Å. Расстояние образец-детектор составляло 2440 мм. Исследуемый образец помещали в тонкостенную проточную капиллярную кювету из боросиликатного стекла (внешний диаметр 2 мм, толщина стенок 0.01 мм). После измерения на растворе ячейку тщательно промывали, после чего проводили измерение кривой фонового рассеяния на кювете, заполненной растворителем. Время экспозиции в каждом случае

составляло 30 минут. Измерения проводили при комнатной температуре. Первичная обработка двумерных карт малоуглового рассеяния проводили в программе Fit2D. Для калибровки шкалы вектора рассеяния Q использовали реперный образец бегената серебра. Вектор рассеяния $Q = 4\pi \sin\theta/\lambda$ является вектором пространства Фурье и определяет интенсивность рассеяния рентгеновских лучей. Он позволяет перевести трехмерную картину рассеяния в пространство Фурье, что упрощает запись И дальнейший анализ дифракционной картины.

2.2.7 Динамическая вязкость облагороженной целлюлозы

Важнейшей характеристикой целлюлозы, предназначенной для химической переработки, является средняя степень полимеризации целлюлозных молекул, которую оценивали по параметру динамической вязкости растворов целлюлозы согласно ГОСТ 14363.2.

2.2.8 Молекулярно-массовое распределение (ММР)

ММР целлюлозы анализировали методом эксклюзионной хроматографии на гель-хроматографе «Waters Alliance GPCV 2000» (США), снабженного рефрактометрическим и вискозиметрическим детекторами, а также детектором многоуглового светорассеяния (Wyatt) HELEOS II.

Были использованы две последовательно соединенные колонки PLgel 5 m MIXED-C, элюент — тетрагидрофуран (ТГФ), скорость потока 1 мл/мин, температура 35°C. Образцы полимеров растворяли в ТГФ, фильтровали раствор через PTFE фильтр Anatop25 («Whatman») со средним диаметром пор 0.2 мкм.

2.2.9 Весовой метод определения содержания альфа-целлюлозы

Содержание альфа-целлюлозы определяли согласно процедуре, предусмотренной ГОСТ 6840-78 для определения содержания α-целлюлозы в товарной целлюлозе весовым способом. Сущность метода заключается в том, что целлюлозу обрабатывают 17.5% раствором NaOH, затем промывают 9.5% раствором NaOH, высушивают и определяют величину не растворившегося остатка.

2.2.10 Определение содержания азота

Определение массовой доли азота в нитроцеллюлозе проводили несколькими методами: элементного анализа, титриметрическим и гравиметрическим, разработанным в ходе выполнения работ.

Элементный анализ проводили на автоматическом CHN анализаторе СЕ1106 (Италия). Величина навески образца 0.8 – 1 мг. Температура сожжения образца — 1050°С. В момент вспышки в кислороде пробы, находящейся в оловянной капсуле, достигается температура 1800°С. Кислород дозируется петлевым дозатором. Разделение продуктов деструкции (азота, углекислоты и воды) происходит газохроматографически. Расчёт содержания элементов автоматически программным обеспечением прибора. В производится программе учитываются предварительно установленные по стандартным образцам калибровочные коэффициенты, результаты холостого опыта и величина навески. Ошибка метода составляет 0.30 – 0.50 % вес. Время полного цикла анализа — 10 мин.

Титриметрический метод определения массовой доли азота, содержащегося в нитратной форме, заключается в разложении навески исследуемого образца перекисью водорода, с последующим восстановлением нитратного азота до аммиака сплавом Деварда в присутствии гидроокиси натрия. Количество аммиака определяли обратным титрованием избытка серной кислоты после поглощения аммиака [48].

Гравиметрический экспресс-метод оценки степени нитрования целлюлозы был разработан в ИХФ РАН. Процесс нитрования целлюлозы заключается в замещении атома водорода гидроксильных групп целлюлозы на нитро-группы и сопровождается существенным изменением веса элементарного звена целлюлозы. Это позволяет рассчитать зависимость изменения веса образца при нитровании от степени замещения гидроксильных групп на нитрогруппы. Элементарное звено целлюлозы $C_6H_{10}O_5$ при нитровании переходит в элементарное звено $C_6H_{10-3x}N_{3x}O_{5+6x}$, где 0 < x < 1 – степень

замещения H на NO₂, то есть отношение среднего числа замещенных гидроксилов к их общему числу, равному 3.

В графической форме зависимость содержания азота (в % вес.) от коэффициента изменения веса (К), то есть отношения веса нитроцеллюлозы к весу исходной целлюлозы, представлена на рисунке 2.2.1. Из рисунка следует, что содержание азота в нитроцеллюлозе с высокой точностью линейно зависит от коэффициента изменения веса при нитровании.



Рисунок 2.2.1. Зависимость процентного содержания азота в нитроцеллюлозе от коэффициента изменения веса целлюлозы при нитровании.

Гравиметрический экспресс-метод основан на допущении, что в процессе нитрования происходит лишь замещение гидроксильных групп на нитрогруппы. При ЭТОМ предполагается, ЧТО В результате отмывки нитроцеллюлозы возможный вклад присутствия кислых сульфоэфиров –OSO₃H пренебрежимо мал. Это предположение подтверждено результатами элементного анализа, не обнаружившими присутствия серы в образцах. Результаты определения содержания азота гравиметрическим методом и методом элементного анализа практически совпадают.

В экспериментах предварительно взвешенные полоски воздушно сухой целлюлозы погружали в нитрующую смесь (РКС) и после определенных интервалов времени извлекали. Извлеченную полоску быстро погружали в 60% раствор серной кислоты, а затем перемещали в сосуд с ледяной водой. Дальнейшее отмывание проводили дистиллированной водой, затем погружением и выдерживанием в 10% растворе питьевой соды, и снова водой, сопровождая каждый цикл отжимом между двумя фильтровальными бумагами. Окончательную сушку полученных образцов проводили при 70°С до постоянного веса.

2.2.11 Облагораживание

Практически заключается в процедуре, описанной в ГОСТ 6840-78 и состоит в обработке целлюлозы 17.5 % NaOH при комнатной температуре в течение 30 минут с последующей отмывкой до нейтрального рН. Для реализации такой обработки используются растворы гидроксида натрия повышенной концентрации, которые вводятся в объём водно-целлюлозной суспензии в соответствии с расчетными данными для получения концентрации щелочи 17.5 %. Обработка проводится в резервуаре, снабженном системой перемешивания и фильтрации.

2.2.12 Расчёты молекулярной динамики (МД)

Расчёты ΜД были проведены при помощи пакета программ GROMACS 4.5.5 [49], в сочетании с силовым полем OPLS-AA [50]. Для дальнодействующих электростатических взаимодействий расчетов был использован метод РМЕ [51], со стандартным набором параметров (порядок интерполяции 4, шаг решетки 1.2 Å). Радиусы обрезания короткодействующего электростатического и дисперсионного взаимодействий, а также списков соседних атомов составили 1.25 нм. Все расчёты проведены в периодических граничных условиях, при 300 К и при постоянном изотропном давлении в 1 атм. В качестве уравнений движения были использованы уравнения стохастической динамики. Шаг интегрирования во всех расчётах составлял 1 фс.

В основе моделей молекул ЭЛ, ХЛ, ТФААС и растворителей лежали стандартные для силового поля OPLS-AA типы атомов. Молекулы ЭЛ и ХЛ были сконструированы без каких либо корректировок. Молекулы ХЛ и ЭЛ находились в среде предварительно релаксированного в течение 1 мкс растворителя – метанола. Вся система представляла собой правильный куб с ребром 10 нм. Для единичной молекулы ХЛ и ЭЛ, располагавшейся в центре куба, были проведены расчеты молекулярной динамики длиной в 1 мкс. Для анализа были использованы МД траектории движения атомов углерода трёх шестичленных и одного пятичленного кольца каждой молекулы.

Процесс построения моделей молекул ТФААС, моделей растворителей, а также модельных сцен описан ранее [19]. Для атомов фторметильной и амидной групп молекул ТФААС были скорректированы парциальные заряды согласно аппроксимации квантовохимического электростатического потенциала молекул точечными зарядами RESP [52].

Были оптимизированы потенциалы двух двугранных углов вращения фторметильной группы относительно амидного остова молекулы (азота и кислорода соответственно). Поскольку потенциалы одинаковых двугранных углов, записанные в форме Рикарта–Беллемана (разложение по степеням косинуса), в точности компенсируют друг друга, на первом этапе были вычислены потенциалы двугранных углов для пары вспомогательных молекул. Анализ взаимодействия фторметильной группы с кислородом был проведен с трифторуксусным альдегидом, а с амидными азотом и водородом — с N-2,2,2-трифторэтилацетамидом.

Аппроксимация квантово-химических потенциалов вращения соответствующих торсионных углов МД потенциалом была проведена при помощи собственных программ. Потенциалы, подобранные для тестовых молекул, были использованы в качестве начальных условий для аппроксимации квантовохимического потенциала поворота фторметильной группы на примере молекулы ТФААС-5.

Поскольку образование струн происходит при остывании растворов ТФААС, в качестве начального состояния был выбран перегретый раствор ТФААС при температуре 300 К. Моделью такого раствора была выбрана система, в которой молекулы ТФААС в случайных ориентациях расставлены в узлах кубической решётки с шагом 2 нм [53]. Промежутки между молекулами ТФААС были заполнены молекулами предварительно релаксированного в течение 100 нс растворителя.

Итоговые модельные сцены содержали по 125 молекул ТФААС, в 1000 нм³ объёма, что соответствует концентрации 0.2 М. Эта концентрация значительно ниже перколяционного порога образования классического геля и соответствует экспериментально установленному диапазону формирования хиральных низкомолекулярных гелей и струн в низкоконцентрированных растворах [19]. Для каждой сцены были проведены расчеты молекулярной динамики длиной в 100 нс. Для анализа были использованы вторые половины МД траекторий, для которых заведомо выполняется условие диффузионной равновесности [53].

Все расчеты молекулярной динамики были выполнены с использованием мощностей суперкомпьютера «Ломоносов», СКЦ НИВЦ МГУ.

2.2.13 Анализ конформационной подвижности по данным МД

Рассматривали поведение только хиральной части молекул ХЛ и ЭЛ. Это связанно с тем, что ахиральные низкомолекулярные соединения не способны к формированию супрамолекулярных гелей в концентрациях ниже перколяционного порога, содержащие анизометрические элементы, такие как. например, струны [19]. В работе исследовали внутреннюю динамику или конформационные переходы хирального домена, состоящего трёх ИЗ шестичленных и одного пятичленного кольца, так как именно наличие колец обеспечить формирование анизометрической супрамолекулярной может стопки [30]. Конформационные переходы в данном случае представляют собой короткие прыжки из основного состояния и быстрое возвращение обратно.

Конформация основного состояния шестичленного кольца — «кресло», пятичленного — «конверт» [13]. Для идентификации переходов из основного «кресла» мы рассматривали знаки последовательных торсионных углов между атомами углерода шестичленного кольца. В основном состоянии знаки этих углов чередуются, а, например, в конформации «ванна» есть пара последовательных двугранных углов, имеющих один и тот же знак. Конформация «конверт» для циклопентанового кольца характеризуется двумя последовательными двугранными углами одного знака, которые маркируют выведенный из плоскости кольца атомом углерода. Соответственно, смену атома, выведенного из плоскости и отождествляли с конформационным переходом.

Глава 3

Принципы организации хиральных фаз

В настоящей главе рассматриваются принципы супрамолекулярной организации сложных ансамблей, начиная с межмолекулярного взаимодействия биомиметиков ТФААС и особенностей структурной динамики ХЛ и ЭЛ и заканчивая наблюдениями за реализацией принципа смены знака хиральности на примере белков. Исследованы молекулярные механизмы, лежащие в основе образования анизометрических супрамолекулярных структур. Показано, как может влиять на их образование структура молекулы, в частности наличие в ней хирального центра, а также динамические особенности, способные при слишком высокой подвижности эффективно препятствовать комплементарному узнаванию и формированию протяженных надмолекулярных объектов.

Ранее [3] была сформулирована стопочная модель, которая была экспериментально обоснована на большой, но ограниченной группе комбинаций растворитель/ТФААС. Модель объясняет прямолинейность и постоянство диаметров струн. Теперь нами исследовано значительно больше соотношений, для всех них выполняется следующее эмпирическое правило: в неполярных и малополярных растворителях (циклогексан, гептан, бензол и др.) — образуются струны; в полярных (метиловый, этиловый и пропиловый спирты, ацетон и др.) — щетки и дендриты; в сильно полярных (вода, хлороформ и др.) изометрические конденсаты [54]. Данное правило и алгоритм, основанный на нем, позволяют в сложной биофизической системе, состоящей из большого числа компонент, и особенно в системах in vivo выявлять хиральные компоненты и более того, оценивать и дифференцировать их на группы. Все данные сведены в Атлас [54], являющийся классификатором для экспериментального выявления хиральных структур. В частности, в атласе демонстрируется самоорганизация фенилаланина в воде. При этом было показано [55], что такая конденсация может являться одним из признаков фенилкетонурии, которая вызвана нарушением метаболизма аминокислот.

В Атласе продемонстрированы и коротко описаны основные сюжеты, наблюдаемые в ксерогелях и рассмотрено влияние растворителей и некоторых других факторов на структуризацию ксерогелей. Прежде всего, подробно продемонстрировано, что процесс спонтанного формирования струн в растворах ТФААС инициирован структурами, или нуклеациями, имеющими визуально признаки разных метрик: нуклеациями с размерностью – 0d, линейными структурами – 1d, поверхностью раздела фаз – 2d, или объемно – 3d, а также затравочными микрокристалликами [54]. Эта классификация представляется информативной, несмотря на ее кажущуюся простоту. В Атласе приведено большое количество иллюстраций, подтверждающих основные результаты экспериментального исследования ксерогелей ТФААС [3,18-20].

С учётом простоты наблюдения ксерогелей данная методика исследования ксерогелей применима для предварительного исследования любых биохимических систем.

В заключении главы рассмотрены процессы суперспирализации в живых системах. На основании расчетов проведенных для биомиметических систем даны физические оценки процессов сруктурообразования в живых клетках, в частности даны оценки скоростей транспорта.

3.1 Суперпирализация и смена знака хиральности в биомиметиках

Перейдем к рассмотрению взаимодействия анизометрических структкур в низкоконцентрированных растворах хиральных ТФААС [19,56], которые хорошо подходят в данном случае, так как, во-первых, в процессе спонтанной самосборки этих низкомолекулярных соединений могут образовываться хиральные (спиральные) макроскопические структуры (суперструны [22,28]). С физической точки зрения это явление само по себе достаточно уникально. Вопроцессы вторых, подобные структурообразования могут наглядно имитировать характерные тенденции формирования макромолекулярных биологических структур, демонстрируя принципиальную роль добиологических хиральных мономеров (аминокислот и углеводов) в формировании

молекулярно-биологических структурно-функциональных анизометрических фаз на начальных стадиях эволюции [1,7].

Ранее было показано, что уклонение от радиального роста индивидуальной струны с закрепленным концом связано с возникающими при её сборке крутильными напряжениями [53]. При формировании каждого полного витка струны, образованной более тонкими струнами, она совершает поворот вокруг своей оси на угол 2π , что следует из геометрии системы [53]. Если конец струны закреплен, это может приводить к накоплению скручивающих напряжений в струне. Источником этих напряжений являются ван-дер-вальсовы силы притяжения спиральных субмикроскопических струн (формирующих микроскопическую струну), обратный конус которых при этом скручивается и может принять спиралевидную форму [25,53].

Экспериментально было обнаружено, что струны, имеющие общий центр закрепления, образуют в ксерогеле раствора ТФААС-3 множество случайно расположенных, но гомохиральных вихрей (рисунок 3.1.1). При этом их знак хиральности не зависел от растворителя и менялся на противоположный при смене хиральности энантиомера и неизменном положении подложки. Это явление отчетливо наблюдалось в ксерогелях гомохиральных растворов ТФААС-3 в CCl₄ (рисунок 3.1.2; S-изомеры отклоняются влево, а R — вправо) и изопропаноле (ИП), а также ТФААС-6 в ИП (R-изомеры также отклоняются вправо). В то же время, при иных комбинациях ТФААС-растворитель наблюдался радиальный рост прямолинейных на масштабе наблюдения (~1000 мкм) струн, формирующихся из общей нуклеации [3]. Данные сюжеты были обнаружены при анализе большого количества (более 1000) микрофотографий образцов крерогелей низкоконцентрированых растворов хиральных ТФААС, а направление вихря в данном случае определялся положением подложки.

Регулярный характер уклонения, зависящий на рассматриваемом масштабе (порядка миллиметра) только от знака хиральности энантиомера

ТФААС (рисунок 3.1.2) при неизменном положении подложки, указывает, что все суперспирализованные струны, имеющие приблизительно один и тот же диаметр, при формировании закручиваются вокруг своей оси в одну и ту же сторону, то есть направление закручивания при суперспирализации (для одного и того же уровня иерархии в системе струн [22]) является общим для всех струн в растворе данного состава и определяется знаком молекулярной хиральности энантиомера.



Рисунок 3.1.1. Микрофотография ксерогеля смеси ТФААС-3 S (0.4 мг/мл) и ТФААС-5 R (0.4 мг/мл) в гептане. Штрих 500 мкм.

Рассмотрим механизм возникновения скручивающих напряжений, приводящих к формированию вихрей. Уклонение струн от прямолинейности наблюдалось, когда несколько струн росли из единого центра, или струны ответвлялись от магистральных струн (рисунок 3.1.1). Как известно, струны суперспирализованы [22], а потому вращаются вокруг своей оси в ходе формировании [25,53]. Поскольку вращение конца струны, противоположного растущему, в перечисленных случаях стеснено, то вращение её растущего конца приводит к нарастанию в струне скручивающих напряжений [53]. Когда момент действующих на струну сил превышает критическое значение [57]:

$$M_c = \frac{2\pi\Gamma}{L} \tag{3.1.1}$$

где L — длина струны, R — радиус струны, $\Gamma = (\pi/4) \text{ER}^4$ — её изгибная жёсткость, E — модуль Юнга материала струны, прямолинейная форма струны потеряет устойчивость, и она изгибается, что приводит к сбросу напряжений [53,58].

При диаметре струн $\mathbf{d} \sim 1$ мкм, экспериментально наблюдаемый характерный масштаб потери устойчивости $\mathbf{\Lambda} \sim 10^2 - 10^3$ мкм. Это позволяет оценить модуль Юнга материала струн сверху [57]:

$$E \le E^{*}$$

$$E^{*} \approx \frac{16\eta \alpha^{2} L^{3} \Lambda v}{3R^{4} l} \sim 10^{8} - 10^{10} dyn / sm^{2}$$
(3.1.2)

где $\eta \sim 10^{-2}$ г/см с — коэффициент вязкости растворителя, $\alpha \sim 0.1 - 0.3$ — типичный угол полураствора обратного конуса, $L^* \sim 100 - 300$ мкм — типичная длина обратного конуса, $v \sim 1 - 10$ мкм/с — скорость роста струны, $\mathbf{R} \sim 0.3 - 1$ мкм, $\mathbf{I} \sim 10$ мкм — типичный шаг формирующейся спирали, и при этом **E*** близко к типичным модулям Юнга различных полимеров [57].

В растворах смесей различных ТФААС наблюдались некоторые отличия описанного явления. Так, в ксерогелях смеси ТФААС-3S и ТФААС-5R (и соответственно ТФААС-3R и ТФААС-5S) регулярное отклонение струн наблюдалось в ксерогелях растворов в CCl₄, ИП, гептане, ЦГ и МЦГ, и также приводило к формированию многочисленных гомохиральных вихрей с характерным масштабом ~1 мм (рисунок 3.1.1). Такие же сюжеты наблюдались также в ксерогелях растворов смесей ТФААС-3S и ТФААС-5S в гептане, ИП и ЦГ. В то же время, в ксерогелях растворов смеси ТФААС-3S и ТФААС-6R такое отклонение не наблюдалось ни в одном из упомянутых растворителей.

Очевидно, что остается открытым вопрос о физико-химических особенностях выбора хиральности и характеристического размера вихрей в зависимости от состава раствора (вида растворителя и энантиомера). В то же время, представления о макроскопической динамике струны [22,28,53] позволяют объяснить регулярный характер уклонения струн в каждом супрамолекулярном вихре.

формирующие вихрь, имеют приблизительно одинаковый Струны, примерно одинаковый кривизны (характеризующий диаметр. радиус отклонение от прямолинейности) и отстоят друг от друга приблизительно на одинаковые углы. Это позволяет предположить, что указанный набор примерно одинаковых струн начинает одновременно расти в радиальных направлениях из единой нуклеации, то есть вначале формируется центрально симметричная радиально распространяющаяся автоволна растущих струн (рисунок 3.1.1 и рисунок 3.1.2). Затем нарастающие в формирующихся струнах крутильные напряжения также единовременно достигают критического значения, что приводит к одновременному изгибу струн. В этот момент происходит спонтанное нарушение центральной симметрии формирующейся автоволны и её спонтанная трансформация в хиральную автоволну. Таким образом, причиной спонтанного нарушения симметрии системы является потеря устойчивости симметричного решения (в данном случае — потеря устойчивости прямолинейной формы радиальных струн), что вообще характерно для различных случаев спонтанного нарушения симметрии [15].

Отметим, что хиральные автоволны наблюдались нами только в ксерогелях, но не в жидких растворах. По-видимому, это связано с тем, что при переходе от трёхмерных систем к двумерным (каковыми являются ксерогели, формирующиеся при испарении растворителя), кооперативность систем возрастает.

Эффект проявления хиральности при автоволновых процессах в открытых системах известен: например, спиновое горение, обнаруженное Щелкиным [59], спиральные автоволны в химических реакциях Белоусова-Жаботинского, а также в живых системах [15].

Согласно синергетической концепции эволюции хиральных систем, нелинейная эволюционирующая система, обладающая запасом свободной энергии и элементами хиральной асимметрии, проходя в своем развитии точки бифуркации, образует последовательность иерархических уровней с чередующимся знаком преобладающей хиральности заново образующихся структур. Ранее было описано формирование знакопеременной череды хиральных уровней в простейшими образуемых хиральными биомиметиками струнах, ТФААС [24,53]. Теперь эта концепция получила свое логическое развитие: уже другой тип макроскопических хиральных структур (вихревой) демонстрирует прямую зависимость знака закрученности от знака молекулярной хиральности базового соединения ТФААС. При этом следует учитывать, что эти два уровня могут быть не соседствующими, но определенно связанными.



Рисунок 3.1.2. Ксерогель раствора ТФААС-3 (S) – (a) и ТФААС-3 (R) – (б), штрих 500 мкм. Хорошо видно, что энантиомеры образуют вихри, закрученные в разные стороны. Исходная концентрация ТФААС-3 0.4 мг/мл, в ССl₄ (МИКМЕД-6).

Предпринятое нами исследование струн и вихрей, образующихся из одних и тех же молекул ТФААС, демонстрирует возможность структурных вариаций в подобных надмолекулярных системах, сопровождающихся изменением типа их симметрии. Механохимия биомакромолекул и, в более широком смысле, работа молекулярных машин, как правило, связана не с тривиальными переходами порядок/беспорядок, а с изменением характера симметрии анизометрических спиральных структур [1,7]. Иерархии упорядоченных спиральных структур служат основой выделенных механических степеней свободы молекулярных машин, преобразующих энергию, вещество и информацию в клетках [60].

При всем богатстве разномасштабных конструкций, осуществляющих энергозависимые механохимические процессы в клеточных органеллах и надклеточных образованиях, все они имеют молекулярную хиральную основу. Хорошим примером такого поведения можно считать клеточный цитоскелет, в частности его тубулиновую составляющую [61]. Микротрубочки в живой клетке образуют звёздоподобные структуры, аналогичные показанным на рисунках 3.1.1 и 3.1.2. Клеточный центр, расположенный в непосредственной близости от ядра клетки, служит точкой организации для множества расходящихся от него тубулиновых микротрубочек, которые помимо структурных функций, служат также для коммуникации между центром клетки и её периферией. Отметим, однако, что система из радиально расходящихся белковых микротрубочек не формируется сама по себе, а требует участия дополнительных белков [61]. Это сильно усложняет систему и затрудняет понимание исходных механизмов, управляющих самосборкой и самоорганизацией, в том числе и в живых системах. По этим соображениям представляется эволюционно целесообразным развитие макроскопических хиральных внутриклеточных или внеклеточных структур, встречающихся в цитоскелетах различных клеток, включая микротрубочки [61], или же во внеклеточной цитоплазматической сети протистов, в ресничках, жгутиках у бактерий, в щупальцах гидромедуз тубулярий [62]. Во всех случаях при их функционировании прослеживается изменение симметрии, a хиральность представляется чрезвычайно удачной эволюционной находкой, связывающей коллективные изменения в иерархиях биомолекулярных структур.

3.2 Суперпирализация и смена знака хиральности в природных системах

Значительное число внутриклеточных структур разного функционального уровня образованы взаимодействующими нитями-струнами, имеющими в

основе спиральную организацию. В цитоплазме и в межклеточных коммуникациях существует многоярусная иерархия спиральных структур, выполняющих структурные, сократительные, транспортные, коммутационные функции: цитоскелет, микротрубочки, миозиновые и актиновые микрофиламенты, коллагеновые и кератиновые суперспирали, реснички и жгутики. У многих бактерий имеются ворсинки — фимбрии, пили — нитеобразные органеллы белковой природы, локализованные на поверхности клеток. Размер пилей варьирует от долей микрометров до более 20 мкм в длину и от 2 до 11 нм в диаметре [63]. По-видимому, справедливо общее утверждение, ЧТО. за исключением сформированных липидными мембранами трубчатых структур, таких как Т-трубочки саркопласта или каналы гладкого ЭПР, все квазимолекулярные И надмолекулярные одномерные клеточные структуры включают спиральные элементы, как правило, составляющие иерархии.

Согласно концепции смены знака, хиральная система В точках бифуркации имеет тенденцию к спонтанному формированию последовательности иерархических уровней с чередующимся знаком хиральности заново образующихся структур и с увеличением их относительного масштаба. В живых системах иерархичность сопряжённых уровней макромолекулярных структур служит антиэнтропийным фактором, а также структурной основой выделенных механических степеней свободы в молекулярных машинах [60]. Принципиальная значимость этого направления заключается в том, что внутримолекулярно взаимодействующие спиральные структуры формируют выделенные степени свободы в молекулярных машинах типа ферментов или моторных белков, а межмолекулярные взаимодействия спиральных структур обуславливают функционирование внутриклеточных и межклеточных сократительных структур [7].

В настоящем разделе рассмотрено взаимодействие биомиметических структур двух типов: суперспиралей, имитирующих третичные и четвертичные структуры белков, и взаимодействующих струн различного происхождения, что является простейшей моделью взаимодействия спиральных филаментов в

сократительных системах или коммутации клеток за счёт взаимодействия сформированных ими спиральных структур — цитонем. Для этого будет использован подход Эйлера к рассмотрению задачи о взаимодействии спиральных структур, позволяющий оценить усилие возникающее при трении спирально закрученных филаментов друг о друга.



Рисунок 3.2.1. «Левые» спиральные струны, формирующие «правую» суперспираль в ксерогеле раствора ТФААС-5 в гептане. Изображение получено с помощью ACM Solver, размер представленного поля 4х4 мкм.

Задача о скорости роста биомиметических струн имеет прямое отношение к механизмам функционирования цитоплазматических микротрубочек, таким как сборка-разборка тубулиновых спиралей [64].

На рисунке 3.2.1 можно отчетливо проследить формирование «правой» суперспиральной структуры из «левых» спиралей, образованных «левыми» молекулами ТФААС-5. Этот рисунок наглядно демонстрирует спонтанное стремление исходно гомохиральной системы мономеров сформировать знакопеременную иерархию спиральных структур. Это независимое

подтверждение естественного развития хиральных систем, проявляющегося в формировании вторичных, третичных и четвертичных структур белков и нуклеиновых кислот (РНК) [1,7] и проявляющегося в растворах биомиметиков (ТФААС) [65].



Рисунок 3.2.2. Коммутирующие струны в ксерогеле раствора ТФААС-5 в циклогексане. Изображение получено с помощью инвертированного оптического микроскопа Leica DMI 600, диаметр оптического поля 10 мкм.

Анализ микрофотографий ксерогелей ТФААС-5 в циклогексане показал, что существуют коммутации струн, имеющих различный генезис. Типичный пример приведен на рисунке 3.2.2. Видно, что струна, росшая снизу слева, вначале расщепилась на две струны, и затем одна из этих струн переплелась с почти горизонтальной струной, пересекающей все оптическое поле. Этот результат представляет простейшую модель коммутации различных клеток за счет взаимодействия сформированных ими цитонем. Как видно на микрофотографии, коммутирующие струны спирально переплелись (рисунок 3.2.2). Это обеспечивает экспоненциальный рост прочности соединения с ростом его длины (то есть с ростом полного угла закрутки струн друг относительно друга). Действительно, в соответствии с известной формулой Эйлера [66], полная сила трения **F** между нитью, намотанной на стержень, к концу которой приложена сила натяжения **Ф**, и стержнем, следующим образом выражается через полный угол закрутки нити вокруг стержня **φ** и коэффициент трения нити о стержень **α**:

$$F = \Phi\left(e^{2\pi\alpha\varphi} - 1\right) \tag{3.2.1}$$

Соотношение (3.2.1) описывает также прочность соединения спирально переплетенных струн. Формулу Эйлера (3.2.1) можно обобщить на случай, когда струна и стержень притягиваются друг к другу с силой **f** на единицу длины струны. Элементарное рассмотрение, полностью аналогичное тому, которое проводится при выводе формулы Эйлера (3.2.1) [66], показывает, что в этом случае сила трения **F** равна:

$$F = \left(\Phi + Rf\right) \left(e^{2\pi\alpha\varphi} - 1\right) \tag{3.2.2}$$

Если удерживающая сила на начальном конце струны отсутствует: $\Phi = 0$, то соотношение (3.2.2) приобретает вид:

$$F = Rf\left(e^{2\pi\alpha\varphi} - 1\right) \tag{3.2.3}$$

Соотношения (3.2.2) и (3.2.3) также описывают прочность соединения спирально переплетённых струн, притягивающихся друг к другу, соответственно с закреплёнными (3.2.2) и свободными (3.2.3) начальными концами.

Поскольку, как было показано ранее, струны притягиваются друг к другу с помощью сил ван-дер-ваальса [65], их спиральное переплетение обеспечивает. В этих условиях прочность соединения лимитируется лишь прочностью самих струн, которая, как показывает приведенная ниже оценка, достаточна, например, для транспортировки типичной крупной клетки в межклеточной жидкости со скоростью вплоть до сантиметров в секунду.

Действительно, сила F_v вязкого (Стоксовского) сопротивления движению приблизительно сферической клетки диаметром **d** со скоростью **v** при ламинарном режиме обтекания её жидкостью с коэффициентом вязкости **η** составляет (при малых числах Рейнольдса) [67]:

$$F_{v} = 3\pi\eta dv \tag{3.2.4}$$

Если клетка транспортируется струной с площадью поперечного сечения **S**, то в струне при этом возникает растягивающее напряжение σ , равное:

$$\sigma = 3\pi \eta dv / S \tag{3.2.5}$$

Рассмотрим молекулярно тонкую струну, из которых, как установлено ранее, сформированы струны большего диаметра [22,28,68]. Такая струна, сформированная в растворе, не содержит в своем составе растворителя и состоит исключительно из молекул ТФААС, в которых реализуется не зависящий от растворителя дальний порядок, а кристаллическая упорядоченность составляющих их молекул [68]. Была построена полноатомная молекулярная модель такой струны на примере ТФААС-4 [69] и показано, что поперечное сечение струны представляет собой в этом случае круговое кольцо с внутренним радиусом $R_1 = 7$ Å и внешним радиусом $R_2 = 18.5$ Å. При транспортировке клетки такой уединённой струной, растягивающее напряжение в струне составит:

$$\sigma = \frac{3\pi\eta dv}{R_2^2 - R_1^2}$$
(3.2.6)

Рассмотрим типичную эукариотическую клетку диаметром d = 10 мкм, транспортируемую описанной выше уединённой молекулярно тонкой струной со скоростью от v = 10 мкм/с до v = 1 см/с. Поскольку биологические среды могут быть различными, рассмотрим вязкость, меняющуюся в пределах от $\eta = 1$ сП (вода) до $\eta = 10$ сП (глицерин) [57]. Растягивающее напряжение, возникающее при этом в струне, рассчитанное по формуле (3.2.6) для различных значений вязкости раствора и скорости транспортировки, приведено в таблице 3.2.1.

Сопоставим полученные величины с характерным значением прочности на разрыв σ^* полимерных материалов (нейлон, лавсан): $\sigma^* \approx 5 \, 10^9$ дин/см² [57]. Из этого сопоставления видно, что в жидкости с вязкостью воды даже уединённая молекулярно тонкая струна способна транспортировать крупную клетку со скоростью $\mathbf{v} \sim 1$ см/с, а в жидкости с вязкостью глицерина — со скоростью $\mathbf{v} \sim 10$ мкм/с. Более толстые струны, состоящие из большого количества молекулярно тонких струн, тем более являются эффективными силовыми инструментами, способными транспортировать не только отдельные клетки, но и их комплексы.

Таблица 3.2.1. Напряжение (σ, дин/см²), возникающее в элементарной (молекулярно тонкой) струне при транспортировке ею эукариотической клетки в вязкой жидкости (3.2.6)

η, г / см с → v, мкм / с ↓	10 ⁻²	10-1	1	10
10	10 ⁶	10 ⁷	10 ⁸	10 ⁹
10 ²	10^{7}	10 ⁸	10 ⁹	10 ¹⁰
10^{3}	10 ⁸	10 ⁹	10^{10}	10 ¹¹
10^{4}	10 ⁹	10 ¹⁰	10 ¹¹	10 ¹²

Скорость транспортировки во многих случаях определяется скоростью формирования струны из раствора. Проведём простое вычисление скорости формирования описанной выше уединённой молекулярно тонкой струны в предположении, что эта скорость лимитируется диффузией (доказательство последнего утверждения, основанное на подробном анализе возможных

механизмов транспортировки молекул ТФААС к торцу растущей струны, приведено в [65]).

Пусть характерный масштаб торца струны (внешний радиус) составляет \mathbf{R}_2 , а коэффициент диффузии молекул ТФААС в растворе равен **D**. Тогда характерное диффузионное время **т**, соответствующее масштабу \mathbf{R}_2 , составляет:

$$\tau \sim \frac{R_2^2}{D} \tag{3.2.7}$$

Пусть, далее, скорость формирования струны равна V. Тогда за диффузионное время τ , отвечающее масштабу порядка радиуса струны, струна вырастет на величину:

$$l = V\tau \sim V \frac{R_2^2}{D} \tag{3.2.8}$$

Если величина смещения торца струны **l** за счет роста струны в течение времени τ существенно меньше радиуса торца струны:

$$l << R_2$$
 (3.2.9)

то есть, если выполняется неравенство:

$$V\frac{R_2}{D} << 1$$
 (3.2.10)

то можно пренебречь влиянием медленного перемещения торца струны на процесс диффузии. В этом случае распределение растворенного вещества вокруг практически неподвижного торца струны на расстоянии, существенно превышающем радиус торца, описывается сферически симметричным решением стационарного уравнения диффузии, то есть зависит только от расстояния г данной точки раствора до торца:

$$c(r) = c_0 + (c * -c_0) \frac{R_2}{r}$$
(3.2.11)

где c_0 — концентрация раствора вдали от торца, c^* — концентрация раствора непосредственно возле торца, которая отвечает концентрационному порогу

образования струн в данном растворе [56]. Плотность потока растворенного вещества **j**, в соответствии с законом Фика, направлена против градиента, то есть радиально, и равна:

$$j = D(c_0 - c^*) \frac{R_2}{r^2}$$
(3.2.12)

Полный поток растворенного вещества в торец растущей струны **J** получается интегрированием соотношения (3.2.12) по любой сфере, окружающей торец:

$$J = 4\pi r^2 j = 4\pi D(c_0 - c^*)R_2$$
(3.2.13)

Таким образом, за время δt в торец поступит, за счет диффузии, количество вещества Δ , равное:

$$\Delta = J\delta t = 4\pi D(c_0 - c^*)R_2\delta t \qquad (3.2.14)$$

С другой стороны, если струна растет со скоростью V, то за время δt её объём V* увеличится на δV^* :

$$\delta V^* = \pi (R_2^2 - R_1^2) V \delta t \tag{3.2.15}$$

Пусть концентрация ТФААС в фазе струны равна С. Тогда для изменения объёма струны на величину (3.2.15), в нее за время δt должно поступить количество вещества Δ , равное:

$$\Delta = C\delta V^* = \pi (R_2^2 - R_1^2) CV\delta t$$
 (3.2.16)

Приравнивая выражения (3.2.14) и (3.2.16) для **Δ**, получим следующее выражение для скорости формирования описанной выше уединённой молекулярно тонкой струны:

$$V = \frac{4\pi D(c_0 - c^*)R_2}{C(R_2^2 - R_1^2)}$$
(3.2.17)

При $R_1 = 0$ формула (3.2.17) переходит в выражение для скорости роста цилиндрической струны, полученное ранее путём решения уравнения диффузии при точном учёте равномерного движения торца растущей

струны [56]. Для того, чтобы полученное решение было самосогласованным, необходимо, чтобы полученная в ходе решения скорость V удовлетворяла постулированному нами неравенству (3.2.10), постулированному. С учётом (3.2.17), для этого достаточно, чтобы выполнялось неравенство:

$$4\pi (c_0 - c^*) / C <<1 \tag{3.2.18}$$

Соотношение (3.2.18) выполнялось во всех наших экспериментах, так как концентрация ТФААС в фазе раствора составляла $c_0 \sim 0.1 - 5 \text{ мг/см}^3$, экспериментально определенная пороговая концентрация составляла $c^* \sim 0.1 - 0.2 \text{ мг/см}^3$, а концентрация ТФААС в фазе струны С порядка или больше 400 мг/см³. Этим завершается доказательство самосогласованности приведенного решения.

Вычислим скорость роста описанной выше уединённой струны, сформированной ТФААС4 в растворе с концентрацией $c_0 = 1 \text{ мг/см}^3$. Для этого укажем, что: для растворов ТФААС-4 в гептане и в циклогексане экспериментально определенный порог струнообразования составляет $c^* = 0.2 \text{ мг/см}^3$; расчетная концентрация молекул ТФААС-4 в описанной выше молекулярно тонкой струне $C = 424 \text{ мг/см}^3$; коэффициент диффузии молекул ТФААС-4, рассчитанный методом МД, составляет в циклогексане $1.8 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$, а в гептане $1.1 \cdot 10^{-5} \text{ см}^2/\text{с}$. Подставляя эти числа в (3.2.17), находим, что расчетная скорость формирования молекулярно тонкой струны составляет в циклогексане 2.7 см/с, а в гептане — 1.6 см/с. Этот результат согласуется с наблюдавшейся в экспериментах максимальной скоростью роста струн, составлявшей 2 см/с [65].

Проведенный выше расчёт и эксперименты, описанные в [65], показывают, что перемещение клеток за счёт роста струн может происходить со скоростями вплоть до нескольких сантиметров в секунду. Аналогичное рассмотрение скорости формирования тубулиновой трубки радиусом ~ 100 Å приводит к скорости её роста ~0.1 см/с. При размере клетки ~ 10 мкм, характерное время структурообразования в клетке составляет, следовательно, ~0.01 c. Это означает, что фаза структурообразования не является

лимитирующей, и время формирования внутриклеточных структур определяется временем выбора клеткой функциональной программы, так как обычно биологического материала для структурообразования в клетке, в условиях постоянно протекающего биологического синтеза, имеется в избытке. Это соображение вполне соответствуют представлениям, развивавшимся Л.А. Блюменфельдом относительно того, что молекулярные машины клетки функционируют в «ждущем режиме», а не отслеживают детально все фазы цикла [60].

Спиральное соединение, прочность которого, в соответствии с механизмом Эйлера, чрезвычайно велика, широко распространено в живой природе на макроскопическом уровне, от микрометра и более до сантиметров (лианы, другие вьющиеся растения, проросшие семена) и на молекулярном уровне, от 10^{-7} см до 10^{-5} см (ДНК, белки типа α -кератина, коллагена, фиброина). Исследованная нами модель показывает, что спиральные соединения спонтанно формируются также на промежуточном супрамолекулярном уровне, на масштабе $10^{-4} - 10^{-3}$ см, отвечающем, в частности, коммутации клеток.

3.3 Особенности специфического хирального взаимодействия молекул

Раздел посвящен исследованию деталей геометрии взаимодействия хиральных молекул ТФААС друг с другом. Ранее было показано, что ТФААС являются истинным биомиметиком, для которого наблюдается образование квазиодномерных суперспирализованных структур (струн) со сменой знака хиральности. Для выявления особенностей стереоспецифического взаимодействия молекул, которые могли бы лежать в основе образования анизометрических струн были проведены расчёты молекулярной динамики растворов ТФААС в гептане и циклогексане [70]. По результатам проведенного анализа были выявлены две принципиально различные возможности образования устойчивых пар молекул, соответствующие образованию анизометрических, способных к неограниченному росту, и изометрических конденсатов.

Ранее [19] был описан феномен порогового образования уединённых, предельно анизометрических супрамолекулярных структур (струн) в разбавленных гомохиральных растворах низкомолекулярных N-трифторацетилированных α-аминоспиртов (ТФААС). В области оптической прозрачности, доступной для измерений методом динамического светорассеяния, дисперсная изометрическая фаза раствора представлена двумя фракциями ТФААС: нанокаплями с размерами не более 5 – 10 нм и частицами мезофазы с диаметром около 20-40 нм [56]. Ранее было показано, что нанокапли обладают высокой внутренней молекулярной подвижностью и предельно гетерогенны, то есть практически не имеют внутреннего объёма [56]. Поверхность капель имеет фракальную размерность ~1.6 [56]. В динамике такой объект представляет собой стохастически рождающиеся, ветвящиеся и затем исчезающие молекулярно тонкие лучи вещества, расходящиеся из единого центра. Из квазиравновесного сосуществования дисперсных фаз в растворе в течение $\sim 10^5$ сек и более следует, что локальная кривизна поверхности нанокапель и поверхности микрочастиц мезофазы идентичны, а сама мезофаза образуется, по-видимому, при конденсации нанокапель в процессе их диффузии в объёме сосуда [56,71].

Поскольку нанокапли ТФААС обладают высокой внутренней молекулярной подвижностью, то для оценки электростатической энергии связи молекул в них было использовано приближение Кеезома [56]. Полученная оценка энергии диполь-дипольного взаимодействия для пары молекул составила ~ 1/3 kT и не противоречила представлениям об интенсивном движении молекул друг относительно друга и вариабельности формы нанокапель [56].

В рамках молекулярно-механического приближения обычно рассматривают два терма взаимодействий, описывающих невалентные взаимодействия пар атомов: электростатические и дисперсионные силы. В дополнение к полной электростатической энергии пары молекул ТФААС, также была вычислена дипольная энергия взаимодействия молекул (в приближении точечных

диполей). Энергии взаимодействия между молекулами ТФААС, нормированные на пару молекул, приведены в таблице 3.3.1.

Таблица 3.3.1 Парные энергии (кДж/моль) диполь-дипольного (U_D), электростатического (U_Q) и дисперсионного (U_W) взаимодействия молекул ТФААС друг с другом и растворителем в нанокаплях.

1

система	число молекул	ΤΦΑΑϹ – ΤΦΑΑϹ			ТФААС – растворитель	
		U _Q	U_W	U_D	U _Q	U_{W}
ТФААС-4/ циклогексан	16.1±2.6	-2.68±1.14	-17.7±2.9	-0.98±0.43	-0.35±0.20	-68.7±5.1
ТФААС-4/ гептан	21.1±4.1	-6.11±1.19	-19.4±2.4	-1.11±0.47	-0.30±0.19	-60.8±4.1
ТФААС-5/ циклогексан	9.6±2.3	-3.65±1.31	-9.1±2.3	-1.18±0.89	-0.51±0.28	-62.8±3.9
ТФААС-5/ гептан	13.3±3.6	-4.38±1.32	-11.6±2.6	-1.15±0.66	-0.45±0.24	-54.8±4.6
ТФААС-8/ гептан	12.0±2.2	-4.01±1.15	-14.4±2.3	-1.01±0.65	-0.29±0.22	-70.7±4.6

В среднем, рассчитанная величина энергии взаимодействия пары молекул ТФААС в приближении точечных диполей составляет ~ 1.1 кДж/моль, то есть порядка 0.4 kT, что очень хорошо соотносится со сделанной ранее на основании формулы Кеезома оценкой (~ 1/3 kT) [56]. В то же время, в нанокаплях молекулы ТФААС сильно сближены. В среднем расстояния между ними находятся в пределах первого координационного слоя и составляют $\mathbf{r} \sim 7$ Å, о чём свидетельствуют радиальные функции распределения [56].

Сопоставление межмолекулярного расстояния r с ван-дер-вальсовыми радиусами молекул [72] показывает, что взаимодействующие дипольные

моменты молекул нельзя считать точечными. Более наглядно это видно при построении локальных дипольных моментов, создаваемых отдельными полярными функциональными группами (за вычетом полного нескомпенсированного заряда группы).



Рисунок 3.3.1 Электростатические параметры молекулы ТФААС-5 [49]. Атомы отмечены цветом: желтым — углерод, синим — азот, красным кислород, белым — водород и голубым — фтор. Числами отмечены парциальные заряды, светлыми стрелками — локальные дипольные моменты полярных групп (розовые стрелки). Вектор суммарного дипольного момента отмечен зеленой стрелкой. Длина стрелок пропорциональна величине дипольного момента (1Å = 1Д).

Так, на рисунке 3.3.1 показана модель молекулы ТФААС-5 [70], на которой отмечены парциальные заряды атомов, а также локальные дипольные моменты и общий дипольный момент молекулы. На представленном рисунке также хорошо виден хиральный тетраэдр, образованный двумя атомами углерода и атомом азота (в основании) и атомом водорода у хирального атома углерода (в вершине). Дипольный момент молекулы лежит под небольшим углом к плоскости основания этого хирального тетраэдра (рисунок 3.3.1).

Учитывая разнонаправленность локальных дипольных моментов, легко видеть, что простое дипольное приближение для пары плотно прижатых друг к другу энергии молекул, может дать существенно неверную оценку ИХ взаимодействия. Действительно, это непосредственно подтверждается данными МД расчетов, согласно которым средняя энергия электростатического взаимодействия молекул ТФААС (таблица 3.3.1) составляет ~ 4.2 кДж/моль (~ 1.7 kT). При этом следует отметить, что в гептане эта энергия выше на ~1.0-1.5 кДж/моль, что связанно, по-видимому, с локальной поляризацией среды, что относительному росту размера И приводит к нанокапель В гептане (таблица 3.3.1).



Рисунок 3.3.2. Энергия электростатического взаимодействия молекул 9.6 ± 2.3 ΤΦΑΑС-5 В нанокапле, состоящей ИЗ молекул, просуществовавшей 5.2 нс, в циклогексане в зависимости от угла между дипольными моментами молекул. А. Энергия диполь-дипольного взаимодействия приближении В точечных диполей. Б. Энергия электростатического взаимодействия молекул, полученная методом молекулярной механики.

Полная энергия электростатического взаимодействия пары молекул в капле для молекул с коллинеарно ориентированными диполями по абсолютной величине больше формально полученной энергии диполь-дипольного взаимодействия на kT.

Для энергии диполь-дипольного взаимодействия зависимость от угла между дипольными моментами ϕ (рисунок 3.3.2А) более или менее точно повторяет ход зависимости энергии полного электростатического взаимодействия (рисунок 3.3.2Б) и характеризуется одним минимумом, соответствующим устойчивому состоянию, при антипараллельной ориентации дипольных Характерной особенностью полученных моментов. кривых является практически полное отсутствие какой-либо связи между электростатической или дипольной энергией и углом ϕ между диполями в области острых углов. Это обстоятельство можно объяснить локальным взаимодействием парциальных зарядов атомов и деформацией молекулы, что позволяет значительно снизить энергетический проигрыш, возникающий в следствие отталкивания коллинеарных диполей. Зависимости, аналогичные полученной для ТФААС-5 в циклогексане (рисунок 3.3.2Б) наблюдаются для всех исследованных растворов хиральных ТФААС.

Наиболее существенный вклад во взаимодействие молекул ТФААС друг с другом вносят дисперсионные силы, которые в среднем обеспечивают энергию связи молекул на уровне ~14 кДж/моль (~5.6 kT), что почти втрое больше электростатического вклада (таблица 3.3.1). Полученный результат в общем отражает линейную зависимость дисперсионной энергии от площади контакта между молекулами и поэтому хорошо согласуется с соотношением между энергией дисперсионного взаимодействия пары молекул ТФААС с растворителем 63.6 ± 5.7 кДж/моль (~25 kT, таблица 3.3.1), которые в составе нанокапли находятся в соотношении ~4:1, так как 75-80% объёма капли представлено именно растворителем [72]. Отметим, что при схожих размерах TΦAAC-4 И ТФААС-8 и ИХ боковых молекул радикалов, энергия взаимодействия молекул двухирального ТФААС-4 существенно больше, чем для однохирального ТФААС-8.



Рисунок 3.3.3. Зависимость дисперсионной энергии взаимодействия пары молекул ТФААС в нанокапле от угла между дипольными моментами молекул ТФААС-5 (А) и ТФААС-8 (Б) в гептане. Энергия дисперсионного взаимодействия для хиральных ТФААС зависит от угла между диполями, и минимум дисперсионной энергии соответствует антиколинеарной ориентации диполей.

Энергия дисперсионных взаимодействий пары молекул также зависит от угла φ (рисунок 3.3.3). Причём эффект наблюдается в разных растворителях для всех хиральных ТФААС, как в гептане, так и в циклогексане (рисунок 3.3.3) и не наблюдается для ахирального ТФААС-2. Наблюдаемый минимум энергии дисперсионного взаимодействия при антиколлинеарном расположении диполей однозначно свидетельствует о хорошем пространственном соответствии между поверхностями молекул ТФААС, или их комплементарности именно в такой ориентации. Действительно, поскольку сила межатомного притяжения пропорциональна 6-ой степени расстояния (энергия взаимно наведенных диполей), даже незначительное увеличение расстояния в паре атомов приведёт к существенному уменьшению дисперсионной энергии связи. С другой стороны, возникновение этого комплементарного соответствия зависит от угла между никак не связанными с этим типом взаимодействия дипольными моментами (рисунок 3.3.3). С учётом значительно большей по абсолютной величине энергии дисперсионного взаимодействия по сравнению с диполь-дипольной энергией, это означает, что дипольные моменты молекул частично подстраиваются под сформированную за счёт дисперсионных взаимодействий комплементарную конформацию. В случае гомохиральных пар ТФААС во всех прочих (некомплементарных) взаимных расположениях молекул, дисперсионная энергия их взаимодействия оказывается меньше на ~1.5 kT (рисунок 3.3.3).

Оценим относительную долю (*n*) пар молекул ТФААС в нанокапле, диполи которых коллинеарны, используя двухуровневую модель:

$$n = \exp\left(-\frac{E_{\max} - E_{\min}}{kT}\right) \sim 0.1, \qquad (3.3.1)$$

 E_{max} и E_{min} полные энергии, отвечающие антиколлинеарному и коллинеарному положению диполей, полученные из расчётов (~2.5 kT). Возникновение комплементарных пар, имеющих антиколлинеарные дипольные моменты, хорошо согласуется с обнаруженным ранее аномально большим внутрикапельным коэффициентом самодиффузии ТФААС, составившим ~8·10⁻⁵ см²/сек [56], что на порядок больше коэффициентов самодиффузии, характерных для жидкостей. Это свидетельствует о сильно скоррелированном движении молекул в нанокаплях [56].

Энергия дисперсионного взаимодействия в паре молекул хиральных ТФААС зависит от особенностей их химического строения. Так, для ТФААС-8, молекулы которого содержат объёмный бутильный радикал [53], глубина минимума, соответствующего антиколинеарной ориентации диполей, уменьшается на 1.0 - 1.5 kT (рисунок 3.3.36), по сравнению с ТФААС-5, для которого характерен небольшой метильный радикал (рисунок 3.3.3A). По-видимому, относительно большая суммарная поверхность боковых радикалов, а, следовательно, и высокая энергия парных дисперсионных взаимодействий, приводит к появлению альтернативных низкоэнергетических ориентаций молекул.

Появление комплементарных пар можно зарегистрировать непосредственно, анализируя взаимное расположение молекул в капле. Рассмотрим зависимости полной потенциальной энергии взаимодействия пары молекул от угла между какими-нибудь выделенными направлениями в структуре молекул. Поскольку естественных длинных или наоборот коротких выделенных осей у молекул ТФААС нет, а геометрия, как было показано выше, может претерпевать заметные искажения, в качестве такого направления был выбран молекулярный вектор, описывающий положение в пространстве хирального тетраэдра. Под молекулярным вектором в данном случае подразумевается вектор, начало и конец которого связанны с центрами каких-либо атомов молекулы. В качестве такого вектора был выбран вектор, направленный из хирального атома углерода в связанный с ним атом водорода, получивший название вектора нормали к основанию хирального тетраэдра. При этом, негомеоморфность тел, образованных вложенными тетраэдрами и тетраэдрами, соединенными основаниями, позволит далее определить различия в топологии пар молекул ТФААС.

Зависимость полной потенциальной энергии связи пары молекул ТФААС от угла ψ между векторами нормали к основанию тетраэдра при усреднении по всем взаимным ориентациям дипольных моментов представлена на рисунке 3.3.4. Для структурно различных хиральных ТФААС-5, ТФААС-8 такая зависимость немонотонна и обладает двумя минимумами, соответствующими коллинеарной антиколлинеарной И ориентации векторов нормали (рисунок 3.3.4).

При этом для ТФААС-5 с небольшим боковым радикалом, в отличие от ТФААС-8, глубина коллинеарной ямы мало отличается от глубины антиколлинеарной ямы и составляет ~0.6 kT (рисунок 3.3.4А). Для ТФААС-8, обладающего крупным бутильным радикалом, минимумы выражены сильнее. Глубина коллинеарной ямы составила ~1 kT (3 кДж/моль), а антиколлинеарной ~2 kT (5 кДж/моль). Отметим, что полученный результат справедлив с учётом усред-

нения по всем возможным взаимным ориентациям дипольных моментов для фиксированного угла **ψ** (рисунок 3.3.4).

Так как сами дипольные моменты лежат практически в плоскости основания хирального тетраэдра (рисунок 3.3.1), то, можно рассматривать следующие варианты негомеоморфной взаимной ориентации хиральных тетраэдров в пространстве. В первом случае тетраэдры ориентированы основаниями навстречу друг-другу, а во втором — сложены в стопки, в которых вершина одного тетраэдра обращена в направлении основания другого. Последняя конфигурация соответствует описанной ранее стопочной молекул [3], и модели упаковки очевидно создаёт предпосылки ДЛЯ формирования анизометрических частиц за счет последовательного удлинения стопки путем присоединения дополнительных молекул.



Рисунок 3.3.4. Зависимость полной потенциальной энергии взаимодействия молекул ТФААС в нанокаплях в гептане от угла между нормалями к плоскости основания хирального тетраэдра . А. ТФААС-5; Б. ТФААС-8;

В самом деле, последовательное увеличение размеров такой стопки за счет новых молекул приведёт в образованию квазиодномерного (молекулярнотонкого) агрегата, который можно рассматривать в качестве зародыша наблюдаемой экспериментально супрамолекулярной струны [19]. В то же время, пары молекул, в которых хиральные тетраэдры ориентированны основаниями друг к другу можно рассматривать как зародыши изометрического конденсата ТФААС, также устойчиво наблюдающегося в экспериментах [19]. Заметим, что конфигурации, в которой два хиральных тетраэдра располагаются рядом не были рассмотрены, так как представляются не реализуемыми ввиду сильной зависимости дисперсионных сил от расстояния.

В случае ахирального ТФААС-2 зависимость полной энергии от угла между структурными векторами практически отсутствует и поэтому не показана. Предполагается, что именно это и приводит к образованию изометрических осадков в растворах ахирального ТФААС-2, в отличие от стопочной квазиодномерной конденсации гомохиральных ΤΦΑΑС, приводящей к струнам [3]. Действительно, экспериментально были исследованы растворы ахирального ТФААС-2 в ацетоне, метаноле, диметилсульфоксиде, четырёххлористом углероде, воде, нашатырном спирте и бутаноле [3]. Было показано, что во всех диапазонах концентраций вплоть до концентраций предельной растворимости струны не наблюдаются, не смотря на большое значение дипольного момента ТФААС-2, необходимого для их образования согласно полуэмпирическому правилу [72]. Также в растворах ТФААС-2 не наблюдается и фракция нанокапель [56]. Отсутствие фракции нанокапель в растворах ахирального ТФААС [53] свидетельствует о том, что навязанная хиральностью комплементарность в парах молекул должна играть заметную роль при образовании наноразмерной дисперсной фазы.

Как хорошо видно из рисунка 3.3.5, увеличение энергии взаимодействия пары молекул ТФААС при коллинеарной и антиколлинеарной ориентации структурных векторов наблюдается во всем диапазоне взаимных ориентаций дипольных моментов. Оба эти варианта энергетически более выгодны, чем любые другие взаимные ориентации молекул (рисунок 3.3.5). Также заметим, что энергии взаимодействия, как функции взаимного расположения молекул (рисунок 3.3.5) не содержат других локальных минимумов, что подтверждает правильность проведенного выше анализа топологии пар молекул ТФААС.
Образование комплементарных пар, в которых молекулы связанны сильнее, чем с молекулами вне пары, должно оказывать влияние на среднестатистические свойства всей нанокапли. Помимо аномально большого коэффициента диффузии, такое влияние можно обнаружить анализируя зависимость точечного дипольного момента капли как целого от её размера. В отсутствие корреляции в ориентации дипольных моментов, суммарный дипольный момент капли должен быть пропорционален корню из числа образующих её молекул. Однако, как видно из рисунка 3.3.6, зависимость точечного дипольного момента нанокапель от их размера линейна.



Рисунок 3.3.5. Зависимость полной потенциальной энергии (кДж/моль) от угла между дипольными моментами (φ) и нормалями к плоскостям оснований хиральных тетраэдров (ψ) молекул ТФААС-5 в парах молекул в гептане. Хорошо видны минимумы, соответствующие открытым стопкам и закрытым парам молекул, при антиколлинеарной ориентации диполей.

Согласно сделанной оценке ~90% молекул в нанокапле образует пары с нулевым дипольным моментом, так как их дипольные моменты анти-

колинеарны. Следовательно, точечный дипольный момент нанокапли будет определять небольшая доля пар с коллинеарными диполями. Полагая, что образование таких пар — есть результат бимолекулярной реакции, получим, что число таких пар будет пропорционально квадрату числа молекул, а дисперсия этой величины соответственно линейна по числу молекул в капле. Таким образом, линейный вид наблюдаемой в расчетах зависимости дипольного момента нанокапель от числа частиц прямо свидетельствует об образовании комплементарных пар молекул с антиколлинеарными дипольными моментами.



Рисунок 3.3.6. Зависимость точечного дипольного момента нанокапель ТФАА-5 в гептане от их размера. Зависимость имеет выраженный линейный характер, что свидетельствует об образовании молекулами устойчивых комплементарных пар.

Проведенный анализ позволяет заключить, что в наноразмерной фракции дисперсной фазы ТФААС, наблюдаемой в разбавленных растворах, основной вклад в энергию взаимодействия вносят дисперсионные силы (~14 кДж/моль), составляющие ³/₄ полной энергии взаимодействия пары молекул. При антипараллельной ориентации дипольных моментов молекул ТФААС, энергия их дисперсионной связи возрастает более чем на kT, что свидетельствует о комплементарном взаимодействии молекул. При этом в большей части наблюдаемых пар дипольные моменты ориентированы антиколлинеарно.

3.4 Возникновение анизометрических структур в модельных системах на примере холестерина и эргосетрола

Результаты, описанные в предыдущем разделе наглядно иллюстрируют процессы формирования анизометрических структур на стадии их зарождения. Однако, использованный ранее энергетический подход позволяет осветить только один из факторов, влияющих на процессы комплементарного узнавания. Вторым и не менее важным фактором является молекулярная подвижность взаимодействующих молекул. Анализу влияния этого фактора и посвящен настоящий раздел.

Известно, что многие химически различные хиральные соединения при низких концентрациях ~ $10^{-3} - 10^{-2}$ М в растворах формируют гели [73-77], в которых могут наблюдаться супрамолекулярные анизометрические структуры, струны [74, 77]. С физической точки зрения такие конструкции могут служить прообразом или моделью структур, которые могли бы обеспечивать первичную коммутацию клеток.

Поскольку коммутация как таковая по определению начинается с контакта между поверхностями клетки, то и физические различия, определяющие способность или неспособность к коммутации должны в первую очередь затрагивать поверхность клеток. Последняя, в случае коммутирующих клеток, должна быть способна образовывать достаточно длинные и тонкие выросты (анизометрические структуры), подобные уже упомянутым

бактериальным пиллям [70], но имеющие небелковую природу. Отметим, что в добелковую эру такие образования должны были формироваться без участия белковых молекул. Однако, в современном, высокоразвитом органическом мире наблюдать такую небелковую коммутацию достаточно сложно ввиду того, что белки в процессе эволюции приняли на себя исполнение практически всех клеточных функций.

Пример подобной коммутации описан в литературе. Так клетки некоторых раковых линий млекопитающих используют для коммутации с соседями различные анизометрические структуры, в том числе мембранные нанотрубки [64]. При этом нами было показано, что рост анизометрических структур эффективнее диффузии при коммутации на больших (порядка микрометра и более) расстояниях [65].

Поиск первичных механизмов межклеточной коммутации следовало бы начать со сравнения клеток активно коммутирующих между собой, таких как клетки животных, с клетками практически не нуждающимися в такой коммутации. В качестве примера последних хорошо подходят клетки грибов, практически не коммутирующие между собой в силу особой топологии их соматического тела (мицелия), представленного переплетением ветвящихся, но практически не сливающихся, апикально нарастающих клеточных нитей (гиф) [78]. Отметим, что в случае клетки гриба в качестве активной поверхности клетки следует рассматривать скорее клеточную мембрану, а не инертную и не способную к заметным структурным перестройкам клеточную стенку.

Известно, что плазматические мембраны животных клеток содержат холестерин (ХЛ), в то время как в клеточных мембранах грибов присутствует эргостерол (ЭЛ). Считается, что стеролы являются модификаторами плазматических мембран. Они играют роль пластификатора и стабилизируют текучесть бислоя в широком диапазоне температур [32]. В то же самое время, указанное различие в химическом строении плазматических мембран может

быть связанно со способностью клеток к коммутации и принципиально различной пространственной организацией тела животных и грибов.

Полученные экспериментальные результаты указывают на существенные различия в свойствах ХЛ и ЭЛ. При исследовании ксерогелей низкоконцентрированных (10^{-2} М и менее) растворов ХЛ и ЭЛ было установлено, что при комнатной температуре (T = 23°C) наблюдается формирование супрамолекулярных анизометрических структур в ксерогелях ХЛ в метаноле (рисунок 3.4.1, А), в то время как в ксерогелях ЭЛ в метаноле такие структуры не наблюдаются (рисунок 3.4.1, Б). Супрамолекулярная природа данных структур определяется тем, что при нагревании ксерогеля до 50°C происходит полное и обратимое плавление этих структур. Это свидетельствуют о том, что ХЛ потенциально способен выступать в качестве основы для коммутационных межклеточных тяжей, в то время как ЭЛ не подходит на эту роль.



Рисунок 3.4.1. Микрофотографии ксерогелей ХЛ и ЭЛ в метаноле. Штрих 100 мкм. Ксерогель ХЛ (А) состоит из анизометрических структур, в то время как в ксерогеле ЭЛ (Б) такие структуры не наблюдаются.

Как видно из рисунка 3.4.2, несмотря на кажущиеся незначительные различия в молекулярной массе и структуре ХЛ и ЭЛ, существуют различия в способности образования ими анизометрических структур. Хорошо известно [65], что такие анизометрические структурные элементы образуются

хиральными низкомолекулярными соединениями в процессах самосборки в различных органических и водных средах. Вполне вероятно, что данный механизм самосборки справедлив и в отношении ХЛ. Действительно, из представленных ван-дер-ваальсовых поверхностей молекул (рисунок 3.4.2), видно, что структурные различия не являются очевидно визуально определяемым признаком (RMSD = 0.47 Å). Во всяком случае, такие физико-геометрические признаки молекул как анизометрия и характерные размеры практически совпадают (рисунок 3.4.2).



Рисунок. 3.4.2. Пространственные структуры молекул ХЛ (А) и ЭЛ (Б). Показаны ван-дер-ваальсовы поверхности. Хорошо видно, что пространственные структуры молекул очень похожи.

Наблюдаемые особенности образования анизометрических структур в ксерогелях ЭЛ (рисунок 3.4.1Б) и ХЛ (рисунок 3.4.1А) могут быть связаны с различиями в ориентирующем диполь-дипольном взаимодействии. Для оценки этого фактора методом молекулярной динамики [72] было смоделировано поведение этих соединений в метаноле на протяжении 1 мкс, и для всех конформаций каждой молекулы на протяжении этого времени были вычислены дипольные моменты. Дипольный момент ЭЛ составил 2.5 ± 0.3 Д, дипольный момент ХЛ равен 2.4 ± 0.2 Д [72]. Рассчитанные величины дипольных моментов с учётом погрешности практически не отличаются друг от друга.

Следовательно, дальнодействующее диполь-дипольное взаимодействие молекул вряд ли могло привести к существенным различиям в характере их агрегации и структурообразовании. В то же время ван-дер-ваальсовы силы, имеющие близкодействующий и, поэтому, поверхностный характер, очевидно, очень чувствительны к малым несоответствиям формы поверхностей контактирующих молекул.

С учётом выше сказанного, можно сделать предположение о принципиальной роли внутримолекулярной подвижности, определяющей пространственное соответствие молекул, а значит и различия в характере структурообразования. Для этого была рассмотрена конформационная динамика циклической части молекул. Молекула ЭЛ, по сравнению с молекулой ХЛ содержит две дополнительные двойные связи, одна из которых локализована в В-кольце молекулы (рисунок 3.4.3).

Двойная связь в кольце В ХЛ существенным образом сказывается на многообразии доступных конформаций циклогексанового кольца, которое в этом случае следует рассматривать как циклогексен. При этом sp²-атомы образуют плоскость, в пределах которой располагаются четыре из шести атомов углерода кольца. Два оставшихся атома углерода оказываются выведенными за пределы плоскости, что соответствует конформации «полукресло» циклогексана. Соответственно, в такой системе возможен конформационный переход, в ходе которого вынесенные из плоскости кольца атомы углерода меняются относительно неё своими положениями.

Появление второй двойной связи (что соответствует 1,3-циклогексадиену) существенно не влияет на разнообразие конформаций, доступных для кольца В ЭЛ. Так, несмотря на формальное расширение плоскости, задаваемой sp²-атомами, два из шести атомов углерода кольца остаются тетраэдрическими и не могут располагаться в плоскости. Таким образом, состояние циклогексадиенового кольца В в молекуле ЭЛ также описывается конформацией «полукресло», но напряжённой стерически. В этой системе также можно

ожидать обменные переходы sp³-атомов относительно плоскости кольца. В этом смысле состояние кольца В для ХЛ и ЭЛ является конформационно близкими.

Кольца А и С как молекулы ХЛ, так и ЭЛ (рисунок 3.4.3), в принципе могут принимать любую из четырёх возможных, характерных для циклогексана конформаций [79]. При этом под основным состоянием подразумевается конформация «кресло», выход из которой и отслеживался. Четвёртое пятичленное кольцо D обеих молекул может находиться в двух альтернативных конформациях: «конверт» и описанное выше «полукресло», переходы между которыми и рассматривались.



Рисунок 3.4.3. Структурные формулы ХЛ (А) и ЭЛ (Б). Числами обозначены времена жизни колец в основном состоянии, рассчитанные по данным молекулярной динамики.

На рисунке 3.4.4 приведены распределения по временам жизни кольца С в основном состоянии для молекул ХЛ и ЭЛ. Приведенная на рисунке 3.4.4 зависимость отражает динамику распада основного состояния, как классической реакции первого порядка. Экспоненциальная аппроксимация этих кривых позволяет оценить время жизни молекул в основном состоянии. Время жизни кольца С молекул ХЛ и ЭЛ кольца в основном состоянии, полученные методом МД, составляет 71 и 13 пс, соответственно.



Рисунок 3.4.4. Время жизни кольца С (рисунок 3.2.3) молекул ЭЛ (синий) и ХЛ (красный) в основном состоянии. Хорошо видно, что кольцо С ХЛ существенно менее подвижно, чем кольцо С ЭЛ. Времена жизни молекул в основном состоянии составили 71 и 13 пс для ХЛ и ЭЛ, соответственно.

Оценим соответствие характеристических времён внутримолекулярной подвижности и времени вращательной корреляции молекул ХЛ и ЭЛ с помощью уравнения Стокса-Эйнштейна-Дебая:

$$t = \frac{V\eta}{kT} = 100 \text{ nc}$$
 (3.4.1),

где V — объём молекулы, **η** — вязкость среды, **k** — постоянная Больцмана, **T** — температура.

С учётом близости размеров их ван-дер-ваальсовых моделей, объёмы молекул имеют близкую величину, а сами значения времени вращательной релаксации практически совпадают. Учитывая характерные времена жизни кольца С в основном состоянии, можно оценить долю молекул, в которых кольцо С просуществовало в основном состоянии порядка или более времени вращательной корреляции. Для ХЛ этот показатель (~ 0.24) больше, чем для ЭЛ

(~ 5·10⁻⁴) в тысячу раз, что фактически означает, что кольцо С ЭЛ практически не удерживается в основном состоянии в течение периода времени, который требуется молекуле для разворота. В то же время доля таких молекул ХЛ составляет почти 24%.

Поведение колец А для ХЛ и ЭЛ практически не отличается, так как их времена жизни в основном состоянии 77 и 83 пс и близки к времени вращательной корреляции. Времена жизни в основном состоянии колец D 4 и 8 пс для ХЛ и ЭЛ, соответственно, и много меньше времени вращательной релаксации. Такое высокочастотное дребезжание скорее всего должно сильно снижать величину дисперсионного взаимодействия в парах молекул как ХЛ так и ЭЛ.

Таким образом, наблюдается различие в конформационной динамике молекул ХЛ и ЭЛ в области характеристических времен, близких к времени вращательной корреляции, которое, очевидно, приводит к различному поатомному соответствию ван-дер-ваальсовых поверхностей молекул или, иными словами, различной степени комплементарности молекул в парах.

Образование анизометричных, устойчивых при комнатной температуре супрамолекулярных конструкций возможно только если молекулы образующего их вещества комплементарно связываются друг с другом. Вероятнее всего, подстройка пары молекул с образованием комплементарного соответствия между ними возможна тогда, когда время жизни в основном состоянии сравнимо или больше, чем время вращательной корреляции молекулы как целого. При этом за счёт вращательной подвижности возникает комплементарное соответствие фиксированных внутримолекулярных конфигураций, которое обеспечивает максимальную величину дисперсионных и кулоновских межмолекулярных взаимодействий. Присоединение к паре каждой следующей молекулы, по-видимому, приводит к формированию супрамолекулярной анизометрической стопки, являющейся зародышем струны [56].

В молекуле ЭЛ присутствует составляющая, отвечающая кольцу С (рисунок 3.4.3), у которого значимое число реализаций основного состояния в течение 1 мкс существенно меньше времени вращательной релаксации и составляет 100 пс (рисунок 3.4.4). Это, по всей видимости, делает маловероятным образование таких пар и соответственно стопок и в дальнейшем анизометрических структур из молекул ЭЛ. Действительно, высокая частота изменения его конформации с амплитудой не менее ~1-3 Å, очевидно, затрудняет реализацию состояния соответствия короткодействующих дисперсионных сил. Это означает, что для нейтральных хиральных молекул с малым атомным парциальным зарядом вклад дисперсионных сил в межмолекулярное взаимодействие при образовании их пар и стопок оказывается решающим. Из этого следует, что в ХЛ образуется хиральный домен (кольца A, B и C) с характерным временем внутримолекулярной динамики, соответствующим времени вращательной корреляции молекулы, что позволяет рассматривать его в качестве элемента комплементарной сборки при формировании анизометрического зародыша струны. Наличие такого домена, по-видимому, определяет характер структур в растворах ХЛ и их отсутствие в растворах ЭЛ, а так же роль данных молекул в составе мембраны.

Таким образом, наблюдаемые различия во внутримолекулярной подвижности и особенности структурообразования в ксерогелях могут указывать на различие в функциях, выполняемых ЭЛ и ХЛ в плазматических мембранах клеток животных и грибов. Следует отметить, что несмотря на возможное функциональное различие ХЛ и ЭЛ, их структурная близость определяет значительную токсичность препаратов антимикотиков, мишенью для которых служит ЭЛ [80].

По всей видимости, мы наблюдаем две альтернативные эволюционные ветви, в одной из которых клетки изначально были способны к активной коммутации вследствие присутствия в их мембранах ХЛ, а в другой клетки не имели такой возможности. Активная коммутация клеток животных позволяет им формировать макроскопические трёхмерные каркасы таким образом, что в

них каждая клетка связанна с любой другой клеткой бесконечно большим количеством возможных путей при посредничестве других клеток. При этом, гифы грибов формально можно описать как решетку Бете, в которой каждая клетка коммутирует только с конечным числом соседей [81]. Более того, число этих соседей редко превышает три и как правило это клетки, образовавшиеся путем митотического деления из единой клетки-предшественницы. Отметим, что сделанные выводы позволяют объяснить отсутствие настоящих тканей у всех, даже самых высокоорганизованных представителей царства грибов, в то время как тела высокоорганизованных животных имеют тканевое строение. В настоящих тканях животных и растений две клетки могут быть связанны бесконечным числом путей, что принципиально отличает топологию строения настоящих тканей от топологии мицелия.

Глава 4

Химическая физика нитрования целлюлозы.

4.1. Введение

Необходимо различать нативную (природную) целлюлозу, механизмы формирования которой будут так же рассмотрены в работе, и техническую целлюлозу, получаемую в процессе делегнификации, которая в основном сохраняет морфологическое строение, но, очевидно, уже представляет собой биомиметик. Это и объясняет объединение в названии диссертации таких разных объектов, как целлюлозы и биомиметиков.

Целлюлоза, мировые объёмы производства которой составляют порядка 200 млн. тонн в год, является наиболее важным и востребованным природным биополимером. Потребителями целлюлозы являются бумажная, текстильная и химическая промышленность, перерабатывающая исходное сырьё в основном в различные эфиры целлюлозы, такие как нитраты или ацетаты [43]. Наиболее удобным с технологической точки зрения и традиционным для химических производств сырьём является хлопковая целлюлоза.

В РФ хлопчатник не выращивают вовсе, а товарную целлюлозу древесного происхождения не только производят из собственного сырья, но и экспортируют. В то же время, товарная древесная целлюлоза не отвечает требованиям ГОСТ для этерификации, а процессы этерификации протекают не эффективно. Например, древесная товарная хвойная целлюлоза производства Архангельского ЦБК, в сопоставимых условиях не нитруется до степеней замещения характерных для хлопковой целлюлозы, что до сих пор не имеет чётких объяснений в рамках традиционных научных подходов [43].

Обычно химию нитрования целлюлозы рассматривают без учёта структурно-кинетических особенностей среды, в которой протекает реакция. В концентрированных кислотах реакция нитрования состоит в электрофильной атаке катионом нитрония (NO₂⁺) гидроксильных групп целлюлозы с

отщеплением протона и образованием соответствующего нитрата, или S_EI реакции электрофильного замещения, в которой лимитирующей является стадия диссоциации субстрата [82]. Содержание иона нитрония в реакционнокислотной смеси (РКС) составляет десятки процентов [83]. Так в настоящей работе использовали РКС следующего состава: 67.4 % H₂SO₄, 25.4 % HNO₃, 7.2 % H₂O, что соответствует 62.5 % превращения азотной кислоты в ионы нитрония [84]. При ЭТОМ считается, ЧТО диффузия катиона нитрония происходит быстро как в аморфные, так и в кристаллические области целлюлозного волокна благодаря чему реакции формально рассматриваются как жидкофазные [43]. В то же время целлюлоза (как хлопковая так и древесная) — это дисперсная неупорядоченная система, характеризуемая хаосом анизометрических структурных элементов (рисунок 4.1.1) и её эквивалентность гомогенной реакционной системе не очевидна.



Рисунок 4.1.1. Электронная микрофотография (Phenom G2 Pro), демонстрирующая хаос структурных элементов сульфитной полубелёной древесной целлюлозы. А — без обработки, Б — после нитрования.

Ранее для описания физико-химических процессов в целлюлозе выбирались масштабы усреднения, позволяющие свести гетерогенную задачу к феноменологической гомогенной модели. Так в 70 – 80-е годы прошлого столетия обсуждалась теория, согласно которой кинетика диффузионно-

контролируемых реакций в древесине может быть описана с использованием представлений о формальных изокинетических зонах [85,86]. Изокинетические зоны на порядки различаются характеристическими временами реакции, что приводит к логарифмическому виду итоговой (полихронной) кинетики [85,86]. Как теперь становится ясно, феноменологические подходы не выявили особенностей химических процессов этерификации древесной целлюлозы и не привели к существенному технологическому прогрессу.

Вместе с тем, имеются основания считать, что все важнейшие физикохимические процессы при переработке целлюлозы даже в условиях большого гидромодуля (~ 50) происходят внутри уединённого волокна, которое в основном сохраняет свою морфологию и характеризуется хорошо известной структурной организацией, в которой наблюдается суперспирализация [22]. Известно, что целлюлоза содержит компактные кристаллические области элементарные фибриллы, которые образованы комплементарно упакованными спиральными макромолекулами и, кроме того, сами также спирально закручены с образованием микрофибрилл [33]. В организации хиральной структуры целлюлозы прослеживаются общие закономерности структурообразования, полученные ранее для хиральных биомиметических систем [1,22].

Формирование анизометрических хиральных фаз и суперспирализация являются фундаментальным принципом структурообразования в хиральных биомиметических и живых системах [1]. В свою очередь именно макроскопическая динамика скручивания-раскручивания при суперспирализации фибрилл и макромолекул [20] может лимитировать доступ реагентов внутрь В компактных фаз волокна целлюлозы. ЭТОМ отношении адекватной физической моделью целлюлозного волокна является иерархическая суперспирализованная супрамолекулярная струна, в которой спиральные структуры наблюдаются в масштабах от 2 нм до 10 мкм. Эти масштабы соответствуют масштабам спиральных структур, образуемых биомиметиками ТФААС, макроскопическая динамика и особенности формирование компактных фаз которых были изучены ранее [20,87].

В настоящей главе описана физическая модель процесса нитрования, которая, с учётом особенностей структурообразования в хиральных системах, позволяет объяснить особенности нитровании древесной, льняной и хлопковой целлюлозы.

4.2. Супрамолекулярная структура целлюлозы

Целлюлоза имеет очень сложную супрамолекулярную структуру, которая может быть представлена как минимум четырьмя спиральными структурными уровнями: макромолекулы, элементарные или нанофибриллы, микрофибриллы и волокна. При этом супрамолекулярная структура целлюлозы очень сложна и на всех уровнях имеет спиральную структуру, что приводит к формированию суперспиралей, какими являются, например, микрофибриллы [43].

Хорошо известно, что древесная целлюлоза в процессе промышленного отделения её от лигнина и гемицеллюлоз (варке) сохраняет морфологию исходного растительного сырья [43]. После делигнификации древесной целлюлозы, например на Архангельском ЦБК, в полученной массе отчетливо видны отдельные целлюлозные волокна (рисунок 4.1.1, А). Отметим, что морфология полученных образцов целлюлозы не зависит от способа её выделения, то есть сульфатная или сульфитная целлюлозы древесного происхождения обнаруживают идентичную морфологию. Морфология целлюлозы сохраняется даже в жёстких условиях реакции нитрования (рисунок 4.1.1, Б).

Чрезвычайно удобным методом исследования морфологии и молекулярной структуры целлюлозы является спектроскопия комбинационного рассеяния (рисунок 4.2.1). Примечательно, что исходные древесные целлюлозы от различных поставщиков не только очень близки по своей молекулярной структуре, о чём свидетельствует совпадение КР спектров в интервале 1500 – 800 см⁻¹ (рисунок 4.2.1). Также исходные образцы имеют практически одинаковую упаковку, как следует из идентичности фононных полос при низких сдвигах КР в области 250 – 600 см⁻¹, отвечающие за упаковку макромолекул целлюлозы в кристаллических областях. Отличия в спектрах КР, наблюдаемые

в области 1700 – 1500 см⁻¹ (рисунок 4.2.1) обусловлены разным содержанием лигнина [43]. Интенсивность полосы КР с максимумом вблизи 1600 см⁻¹ убывает пропорциональна степени отбеливания целлюлозы, что и соответствует уменьшению содержания лигнина.



Рисунок 4.2.1. Спектры комбинационного рассеяния исходных товарных целлюлоз: Сясьского ЦБК, папка (---); Сясьского ЦБК, образец жидкого потока (—); Беленая целлюлоза Архангельского ЦБК, рулонная бумага (…).

Сохранение морфологии линейных масштабов нативной целлюлозы при делигнификации и нитровании свидетельствует об эффективных процессах структурообразования и самоорганизации макромолекул целлюлозы, которые сильно ограничивают их самодиффузию И последующее набухание/растворение волокон. Причиной такой самоорганизации являются суперспирализация [88] и наличие в структуре целлюлозы иерархии молекулярных и надмолекулярных спиральных уровней, таких что волокна можно представить древесной целлюлозе скрученными подобно канату [43]. При этом в дополнительное связывание фибрилл в волокна за счёт гемицеллюлоз происходит в большей степени, нежели в льняной или хлопковой, в которых низкомолекулярного связующего компонента (гемицеллюлоз и лигнина) существенно меньше [43].

4.3 Кинетика нитрования целлюлозы

На рисунке 4.3.1 показана экспериментальная кинетика нитрования хвойной целлюлозы Архангельского ЦБК (АХП, раздел 2.1.2) после облагораживания раствором NaOH, то есть после удаления низкомолекулярных геми-, β и γ-целлюлоз, выполнявших роль компонента, скрепляющего суперспирализованные нанофибриллы [43].



Рисунок 4.3.1 Кинетика нитрования хвойной целлюлозы в виде рыхлой папки (ρ ~ 0.2 г/см³), толщиной ~1 мм при 20°С. Кружками показаны экспериментальные данные, линией — двуэкспоненциальная аппроксимация. с характерными временами 36 сек и 7.6 мин.

При нитровании облагороженной целлюлозы содержание азота достигает 13.5 %, но при тех же условиях нитрования для исходной целлюлозы не превышает 12 %. На кинетической кривой процесса нитрования (рисунок 4.3.1) имеются две выраженные стадии, а именно, быстрая, на которой содержание азота за 2-3 мин достигает ~12.5 %, и медленная, на протяжении которой дополнительные 0.5 - 1.0% азота «добираются» за 25 - 30 мин. Разложение кинетики нитрования по двум экспонентам даёт характерные времена ~ 0.5 и ~ 10 мин (рисунок 4.3.1).

Поэтому эффективные следует рассматривать только две изокинетические зоны, первая — это область внутри элементарных фибрилл с диаметром *X* менее 10 нм, а вторая — внутри микрофибрилл с диаметром менее казалось 100 нм., бы соответствует характеру наблюдаемой что двуэкспоненциальной кинетики.



Рисунок 4.3.2 Кинетика нитрования древесной целлюлозы при различных температурах, которые отмечены символами: Δ – -10°C, □ – 2°C, ◊ – 20°C, ○ – 34°C. Сплошными линиями показаны линейные участки кинетики.

Рассмотрим кинетику нитрования облагороженной (очищенной от низкомолекулярных примесей) древесной целлюлозы при различных температурах (рисунок 4.3.2). При положительных температурах начальный участок кинетики нитрования имеет выраженный линейный характер. Более того, при температуре -10°С кинетика имеет линейный характер во всем диапазоне наблюдения. Такой вид начальных участков кинетики, отвечающих формально нулевому порядку реакции, имеет место, когда скорость реакции мало зависит или не зависит вовсе от концентрации ОН-групп. Формально, это реализуется, когда размеры и характеристика области в которой протекает реакция, не меняются со временем. Существование и стабильность параметров такой области можно объяснить эффективным нитрованием только в зоне раскручивания элементарных микрофибрилл. Тогда, при постоянной скорости раскручивания, реакция будет идти только в цилиндрическом объёме, например, соизмеримой с размером баллона на раскручивающемся целлюлозном волокне (рисунок 4.3.3). Поэтому скорость реакции будет константой, а итоговая кинетика будет иметь нулевой порядок.



Рисунок 4.3.3 Раскручивание трахеид ели в концентрированной серной кислоте. С любезного разрешения Новожилова Е.В. [88].

Подстановка экспериментальных значений показывает, что изменение константы скорости нитрования с температурой удовлетворительно описывается законом Аррениуса:

$$lnK = lnK_0 - \frac{E_a}{RT}.$$

Соответствующие значения констант скорости были оценены из наклонов кинетических кривых (рисунок 4.3.2): энергия активации $E_A \sim 46$ кДж/моль, предэкспоненциальный множитель $K_0 \sim 4.5 \cdot 10^5$ сек⁻¹. Величина K_0 может свидетельствовать о большом энтропийном вкладе при образовании макроскопического реакционного сайта за счет раскручивания волокон.

Из литературы известно, что сама по себе реакция нитрования является практически безактивационной [89], поэтому полученная для энергии активации величина может быть отнесена к энергии комплементарного межмолекулярного взаимодействия глюкопиранозных колец целлюлозы, обеспечивающего их плотную упаковку и препятствующего проникновению нитрующего агента внутрь кристаллических областей.

Оценка энергии межмолекулярного взаимодействия приводит к аналогичной величине. В целлюлозных нанофибриллах в среднем существует две межцепочечные водородные связи на одно глюпиранозное звено [43], что даёт энергию связи цепочек ~30 кДж/моль. Спиральность целлюлозных микрофибрилл обеспечивает комплементарность взаимодействия целлюлозных цепочек. Поскольку остаток глюкозы состоит из 21 атома, то полагая, что средняя энергия ван-дер-ваальсового взаимодействия между двумя атомами составляет ~ 1 кДж/моль, получим для энергии межцепочечной связи добавку ~ 20 кДж/моль. Таким образом, для средней энергии связи целлюлозных цепочек получим ~ 50 кДж/моль, величину близкую к вычисленной ранее **E**_A процесса нитрования целлюлозы.

Известно, что реакция нитрования экзотермическая, причём тепловыделение составляет ~ 130 кДж/моль [90]. Поскольку кинетические характеристики заметно чувствительны к изменению температуры всего на 10° С, то, помимо вычисленной ранее энергии активации (E_A), это означает, что локальный перегрев имеет величину существенно меньшую. Для объяснения этого эффекта оценим размер области, в которой протекает реакция, и время термализации. Время термализации τ энергии, выделяющейся в экзотерми-

ческой реакции в виде неравновесных, в том числе и высокоэнергетических, фононов в области термализации размером **R** определяется её охлаждением до температуры термостата:

$$\tau = \frac{c\rho R^2}{\lambda}, \qquad (4.3.1)$$

где с — теплоёмкость, р — плотность и λ — теплопроводность. Для воды после подстановки соответствующих значений такая оценка даёт при размере области термализации **R** от 1 нм до 10 нм $\tau \sim 10^{-11} - 10^{-9}$ с. В то же время, за 1 с при нитровании происходит не более 10^{21} элементарных актов нитрования в одном см³. При этом, в присоединенном объёме радиуса **R** глюкопиранозного кольца V ~ $4 \cdot 10^{-18}$ см³ за время ~1 с происходит около $4 \cdot 10^{3}$ актов замещения или один акт каждые $2.5 \cdot 10^{-4}$ с. Далее, учитывая величину времени термализации τ , становится очевидно, что каждый следующий акт нитрования в области термолизации протекает при температуре термостата. Именно этим и объясняется чувствительность кинетических параметров экзотермической реакции нитрования к температуре термостата.

4.4. Физические оценки

Исходя из представлений о двух изокинетических зонах (внутри и вне элементарной фибриллы), оценим время молекулярной диффузии внутрь нанофибриллы при нитровании целлюлозы для D ~ 10⁻¹¹ м²/с [89]:

$$\tau = \frac{X^2}{6D} = 0.4 \cdot \left(10^{-6} - 10^{-4}\right)c \,. \tag{4.4.1}$$

Сопоставление найденного времени диффузии с характеристическими временами нитрования до степеней замещения $\sim 1 - 2$ говорит о том, что нитрование не лимитируется молекулярной диффузией. Оценка же коэффициента диффузии по характеристическим временам медленной стадии нитрования также приводит к величинам коэффициента диффузии D ~ $10^{-18} - 10^{-20}$ м²/с, не имеющим для низкомолекулярных соединений физического смысла [89]. Таким

образом полученные оценки показывают, что диффузия молекул не лимитирует скорость реакции нитрования при любой величине конверсии.



Рисунок 4.4.1 Изменение дифрактограмм целлюлозы в процессе облагораживания (А) и нитрования (Б). Показаны дифракторгаммы Архангельской хвойной целлюлозы (А) до (1) и после (2) облагораживания, а также дифрактограммы Архангельской хвойной нитроцеллюлозы (Б) для степеней замещения 1.3 (1), 2.1 (2), 2.4 (3) и 2.7 (4).

Поскольку в общепринятой схеме нитрования именно ион нитрония NO_2^+ выполняет функцию реакционного агента [43], оценим возможность переноса заряженных частиц внутрь микрокристаллических областей целлюлозы при глубоких степенях нитрования. Поверхность нанофибрилл намного более доступна для нитрующих агентов, чем их внутренний объём, следовательно именно поверхность будет нитроваться в первую очередь. На основании данных о том, что нанофибрилла хвойной целлюлозы состоит из 24 целлюлозных цепочек [40], легко вычислить, что в расчете на один остаток доля расположенных на поверхности элементарной фибриллы ОН-групп составляет от 1 до 1.4. Этот результат хорошо согласуется с наблюдаемым экспериментально порогом начала структурных перестроек целлюлозной матрицы при нитровании. Именно при степени замещения в промежутке между 1.3 и 2.1 на рентгенограммах появляются рефлексы, соответствующие кристаллическому тринитрату целлюлозы (рисунок 4.4.1)[36].

При нитровании целлюлозы экспериментально установлено пороговое значительное (более чем в два раза) изменение свободного объёма волокна или набухание (рисунок 4.4.2) в диапазоне степеней замещения 2.1 – 2.3, в котором происходит замедление реакции нитрования, что также указывает, на нитрование поверхности фибриллы на первой стадии реакции.



Рисунок 4.4.2 Зависимость средней толщины трахеид от степени замещения по данным электронной микроскопии. Большие погрешности измерения связанны с исходной вариабельностью толщины трахеид. Представлены данные о толщине ~100 клеток при каждой из степеней нитрования.

По мере накопления нитрата целлюлозы в поверхностном слое микрофибрилл внутренний их объём оказывается окруженным слоем более гидрофобной и плотно уложенной нитроцеллюлозы [82], которая дополнительно препятствует проникновению внутрь фибрилл катиона нитрония. Нитрование внутренних областей нанофибрилл при этом не происходит из-за небольшой диэлектрической проницаемости целлюлозы [91]. В самом деле, в среднем Борновская энергия переноса одновалентного иона, радиусом r ~ 1.5 Å [92] из среды с диэлектрической проницаемостью около $\varepsilon_2 \sim 100$ [93] в область с диэлектрической проницаемостью $\varepsilon_1 \sim 1 - 5$ составляет:

$$\Delta E = \frac{-q^2}{8\pi\varepsilon_0 r} \left(\frac{1}{\varepsilon_1} - \frac{1}{\varepsilon_2}\right)$$

При такой энергии активации для проникновения NO_2^+ внутрь фибриллы, необходимо время более $3 \cdot 10^4$ с, что фактически должно остановить процесс нитрования.

4.5. Реорганизация структуры нанофибрилл

Приведенные выше аргументы указывают, что нитрование, вне всяких сомнений, связанно со структурной перестройкой элементарных фибрилл, при которой фрагменты макромолекул становятся доступными для взаимодействия с ионами нитрония. При этом структурная перестройка фибрилл носит динамический и обратимый характер, так как морфология исходной и нитрованной целлюлозы практически одинакова (рисунок 4.1.1).

Ранее наблюдавшиеся эффекты обратимого набухания целлюлозных волокон в различных растворителях [43] приводят к образованию наблюдаемых микроскопических вздутий — баллонов, которые, по сути, представляют собой области раскрученного волокна увеличенного объёма. Процесс формирования таких баллонов при набухании волокна целлюлозы в серной кислоте показан на рисунке 4.3.3 [88].

Согласно Эйлеру, силы трения при перекручивании нитей экспоненциально зависят от количества оборотов [94]. Прочность такого рода соединений была рассмотрена ранее в третьей главе (раздел 3.4). Вследствие этого набухание волокна целлюлозы без его раскручивания представляется нереалистичным. Иными словами, суперспирализованная структура волокна и макроскопическая динамика раскручивания суперспирализованных

анизометрических структур [22] являются фактором, определяющим кинетику химических превращений при нитровании. Отметим, что наблюдаемый процесс набухания целлюлозы и образования баллонов (рисунок 4.3.3 и 4.4.2), с учётом приведенного энергетического ограничения Эйлера, фактически является экспериментальным доказательством реальности процесса раскручивания целлюлозных волокон.



Рисунок 4.5.1. Разрушение (раскручивание) структур: А – топографическое АСМ изображение целлюлозного волокна, на котором показан профиль поверхности выделенной вдоль оси Ох. Б – оптическая микрофотография, демонстрирующая раскручивание супрамолекулярной струны

Исследования целлюлозного сырья при помощи АСМ-микроскопии позволили установить, что раскручивание целлюлозных волокон происходит с торцов, о чём говорит возникновение дисперсной фазы, наблюдаемой на профиле рельефа волокна (рисунок 4.5.1, А). Заметим, что наблюдаемое раскручивание целлюлозных волокон с торцов, очевидно, геометрически подобно раскручиванию суперспирализованных микроскопических супрамолекулярных струн ТФААС (рисунок 4.5.1, Б).

4.6. Взаимодействие фибрилл

Рассмотрим последовательно зависимость содержания азота от различных факторов, уменьшающих связывание элементарных фибрилл и фибрилл в суперспирализованном состоянии (в «жгутах»), на примере целлюлозы производства Сясьского ЦБК. При нитровании необлагороженной целлюлозы достигается степень нитрования 11.46 ± 0.34%. После облагораживания, при удалении низкомолекулярных фракций целлюлозы, связывающих фибриллы, степень $12.10 \pm 0.36\%$. Процесс нитрования увеличивается до ЭТОТ также интенсифицируется при появлении заряженных групп на боковой поверхности фибрилл. Так, например, появление сульфитных групп на поверхности волокон целлюлозы приводит к появлению на ней отрицательного заряда. Механизм быть этой реакции В целом может аналогичен механизму реакции сульфирования лигнина, протекающей по S_N1-механизму. В кислой среде образуется карбкатион, который затем может быть атакован присутствующим в среде сульфитом:

 $R^{+} + HSO_{3}^{-} \rightarrow R\text{-}O\text{-}SO_{2}H$ $R\text{-}O\text{-}SO_{3}H + H_{2}O \rightarrow R\text{-}O\text{-}SO_{3}^{-} + H_{3}O^{+}$

Полученный сульфит неустойчив и аналитически не определяется но, для процесса раскручивания достаточно даже очень небольшого и временно существующего избыточного отрицательного заряда. Одноименный заряд на отдельных целлюлозных цепочках в составе элементарной фибриллы приводит к их отталкиванию, что должно интенсифицировать раскручивание.

Действительно, для образцов наноцеллюлозы (раздел 2.1.2) в присутствии NaHSO₃ наблюдается уменьшение амплитуды спектров кругового дихроизма в области длин волн 250 нм, по-видимому отвечающие эффективному раскручиванию элементарных фибрилл наноцеллюлозы до макромолекул (рисунок 4.6.1). Поскольку строгая интерпретация спектров КД, особенно для такой дисперсной системы как гель наноцеллюлозы (ГНЦ), сильно затруднено, то здесь при интерпретации наблюдаемого хирооптического явления мы также

исходим из того, что процесс раскручивания суперспирализованных струн в модельной системе ТФААС также сопровождается похожим снижением интенсивности КД в близком диапазоне длин волн [53].



Рисунок 4.6.1. Спектры кругового дихроизма наноцеллюлозы при различных концентрациях NaHSO₃. ∆ – 0.5%, ◊ – 1%, □ – 1.5%, ○ – 2%. Хорошо видно изменение характера монотонности спектра от концентрации гидросульфита натрия.

Имеющийся пороговый эффект состоит именно в изменении КД, а не поглощения раствора в целом. Действительно, пороговому эффекту соответствует концентрация NaHSO₃ в конечной смеси, равная 2% (0.16 M), при этом измеренные нами спектры поглощения в диапазоне 220 – 350 нм для образцов ГНЦ с такими же концентрациями NaHSO₃ оказались с хорошей точностью совпадающими для допороговых и послепороговых концентраций (2.5%, 0.2 M). Спектры кругового дихроизма были также сняты для смеси ГНЦ с раствором борной кислоты H₃BO₃. Для этой смеси изменение вида спектров КД не было обнаружено вплоть до предела растворимости кислоты ~5 – 10%.

Обработка целлюлозы с жидкого потока производства Сясьского ЦБК (СЖП) 1% раствором NaHSO₃ в течении 200 мин при температуре 60°С приводит к увеличению содержания азота в конечном продукте нитрования до $12.7 \pm 0.4\%$, по сравнению с содержанием азота $10.8 \pm 0.3\%$, получаемом при нитровании исходной целлюлозы. Экспериментальные данные по нитрованию облагороженной целлюлозы (СЖП) также свидетельствуют, что при обработке целлюлозы 1% NaHSO₃ в течении 200 мин при температуре 60°С степень нитрования увеличивается до $12.9 \pm 0.4\%$ с $12.1 \pm 0.4\%$ для исходной облагороженной целлюлозы.

Другой способ уменьшить силу взаимодействия элементарных фибрилл состоит в снижении величины их ван-дер-ваальсового взаимодействия. Так, при обработке образцов облагороженной (СЖП) целлюлозы ацетоном, полярные ОН-группы на поверхности элементарных фибрилл допируются, то есть присоединяют молекулы ацетона за счёт образования сильной водородной связи [95]. Соответственно, доля ОН-групп на поверхности уменьшается, а доля метильных групп с меньшей поляризуемостью увеличивается. При этом сила ван-дер-ваальсового взаимодействия соседних функциональных групп уменьшается, так как она пропорциональна произведению их поляризуемости. Соответственно, должна уменьшаться и величина макроскопического ван-дерваальсового взаимодействия фибрилл, а степень их нитрования увеличиваться.

Обработка 0.1 М раствором H_3BO_3 в течении 200 мин. при температуре 60°С также приводит к увеличению степени нитрования до 13.07 ± 0.39 , по видимому, за счёт нарушения решетки водородных связей. В связи с тем, что обработка борной кислотой не приводит к заметным изменениям в спектрах КД целлюлозных гелей, наблюдаемый эффект, вероятно, также связан с ослаблением ван-дер-вальсового взаимодействия макромолекул целлюлозы вследствие пластификации, что и облегчает раскручивание в процессе нитрования.

4.7. Оценка характерных времен нитрования

Рассмотрим различия в скоростях нитрования древесной, льняной и хлопковой целлюлозы, которые можно связать с различным легко диаметром элементарных целлюлозных фибрилл, характерных для этих растений [38]. Расстояние между волокнами в зонах контакта лимитируется профилем волокон. Предполагая геометрическое подобие между иерархическими уровнями структурной организации целлюлозы, масштаб их профиля окажется пропорционален диаметру волокон. Таким образом, эффективное расстояние **h** между волокнами в зонах контакта оказывается пропорциональным диаметру этих волокон. В силу того же подобия, шаг спирали Н, образованной вследствие переплетения более тонких волокон также пропорционален их диаметру:

$$h = \varepsilon d, \varepsilon <<1, \ H = \alpha d, \alpha <<1, \tag{4.7.1}$$

где **є** и **а** — соответствующие коэффициенты пропорциональности.

Вычислим упругую энергию, обусловленную спирализацией волокон. Будем считать волокно упругим, спирально изогнутым стержнем. Изгиб волокна в ходе спиральной закрутки можно считать слабым. Упругая энергия слабо изогнутого стержня **w**_{el} даётся соотношением [96]:

$$w_{el} = \frac{E}{2} \int dz \left(I_1 \left\{ \frac{d^2 Y}{dz^2} \right\}^2 + I_2 \left\{ \frac{d^2 X}{dz^2} \right\}^2 \right), \qquad (4.7.2)$$

где Е — модуль Юнга материала стержня, ось Oz направлена вдоль оси недеформированного стержня, X(z) и Y(z) — отклонения оси стержня от оси Oz за счет деформации по осям x и у соответственно, I_1 и I_2 — моменты инерции сечения относительно осей Ox и Oy соответственно. В случае стержня круглого сечения для моментов инерции получим:

$$I_1 = I_2 = \frac{\pi d^4}{64}, \tag{4.7.3}$$

Для описания спиральной деформации стержня примем для его равномерной закрутки с шагом **H** и амплитудой **A** следующие выражения:

$$X(z) = A\cos\frac{z}{H}, Y(z) = A\sin\frac{z}{H}.$$
(4.7.4)

Отсюда следует, что:

$$\frac{d^2 X}{dz^2} = -\left(\frac{A}{H^2}\right)\cos\frac{z}{H}, \ \frac{d^2 Y}{dz^2} = -\left(\frac{A}{H^2}\right)\sin\frac{z}{H}, \tag{4.7.5}$$

Из соотношений (4.7.3) и (4.7.5) находим:

$$I_1 \left(\frac{d^2 Y}{dz^2}\right)^2 + I_2 \left(\frac{d^2 X}{dx^2}\right)^2 = \frac{\pi d^4 A}{64H^4},$$
(4.7.6)

то есть подынтегральное выражение в (4.7.2) не зависит от z, и потому интегрирование по z сводится к умножению на длину волокна. Учтем, что упругой энергией обладают оба переплетенных волокна. Их суммарная упругая энергия на единицу длины w_{el} , таким образом, составит:

$$w_{el} = \frac{\pi E d^4 A^2}{64H^4}, \qquad (4.7.7)$$

Амплитуда закрутки **A** (измеряемая по отклонению от исходного положения геометрического центра круглого сечения стержня), легко выражается через диаметр волокон **d** и расстояние между ними **h**:

$$A = d + h , \qquad (4.7.8)$$

Для расстояния между волокнами **h** и шага спирали **H** воспользуемся соотношением (4.7.1). В результате, учитывая, что $\varepsilon << 1$, выражение (4.7.7) для удельной (на единицу длины) упругой энергии переплетенных волокон примет вид:

$$W_{el} = \left[\frac{\pi \left(1+\varepsilon\right)^2}{64\alpha^4}\right] E d^2 \approx \frac{\pi}{64\alpha^4} E d^2 , \qquad (4.7.9)$$

Таким образом, в рамках рассматриваемой модели, упругая энергия переплетенных волокон (на единицу их длины) прямо пропорциональна квадрату диаметра волокон, то есть более тонкие (древесные) волокна расталкиваются, за счет стремления распрямиться, слабее, чем более толстые (хлопковые) [41].

Экспериментальное значение параметра **a** составляет ~ 10^2 , то есть шаг спирали волокна составляет около сотни его диаметров. Даже если взять большое значение модуля Юнга ~ 10^{11} H/м², характерное для наиболее твердых кристаллов, получим из соотношения (4.7.9) в интервале диаметров **d** = 3 – 7 нм: **W**_{el} = $2 \cdot 10^{-6} - 10^{-5}$ эВ/нм, что на 4 – 5 порядков меньше энергии ван-дерваальсова притяжения волокон, оценка которой приведена ниже. Следовательно, упругая энергия не может быть причиной облегченного раскручивания хлопковых фибрилл.

Вследствие частичного сульфирования целлюлозных волокон при их обработке раствором гидросульфита натрия, на поверхности тонких волокон появляются одноименные (отрицательные) элементарные заряды **e**, что приводит к расталкиванию волокон. Электростатическому расталкиванию препятствует ван-дер-ваальсово притяжение. Участием упругой энергии в этом процессе мы пренебрежём. Скрученные в спираль с большим шагом элементарные фибриллы можно представить как параллельные на длине больше **L**, на которой слабо отклоняется участок спирали. Тогда ван-дер-ваальсова энергия W_{wdy} притяжения волокон на участке длиной **L** равна [95]:

$$W_{VdW} \sim -\frac{AL}{24} \sqrt{\frac{d}{2h^3}},$$
 (4.7.10)

Сила ван-дер-ваальсова притяжения получается дифференцированием по h:

$$F_{VdW} \sim -\frac{AL}{16} \sqrt{\frac{d}{2h^5}},$$
 (4.7.11)

ван-дер-ваальсова сила на единицу длины притягивающихся волокон составит:

$$f_{VdW} \sim \frac{AL}{16} \sqrt{\frac{d}{2h^5}} = \frac{A}{16d^2} \sqrt{2\varepsilon^5} \sim \frac{1}{d^2},$$
 (4.7.12)

Кулоновскую силу **F**_Q,:

$$F_{Q} = \frac{2\pi\sigma^{2}lL}{\xi}, \qquad (4.7.13)$$

обеспечивающую расталкивание и раскручивание волокон, можно рассматривать как взаимное отталкивание двух одноименно заряженных пластин с поверхностной плотностью заряда σ , длиной L и шириной $\mathbf{l} = \mathbf{vd}$, где $\mathbf{v} \sim 0.1$ коэффициент пропорциональности, ξ — диэлектрическая проницаемость среды. Кулоновская сила на единицу длины волокон составит:

$$f_{Q} = \frac{2\pi\sigma^{2}l}{\xi} = \frac{2\pi\sigma^{2}vd}{\xi} \sim d, \qquad (4.7.14)$$

Пороговая линейная концентрация элементарных зарядов вдоль волокна, при которой силы взаимного притяжения и отталкивания сравняются составит:

$$n_L = \sqrt{\frac{A\varepsilon v}{32\sqrt{2\xi^5}\pi e^2 d}},\qquad(4.7.15)$$

Это позволяет определить максимальный шаг, с которым должны быть посажены на волокнах элементарные заряды, чтобы произошло отталкивание:

$$L_{\rm max} = \frac{32\pi E d^3 \sqrt{2\xi^3}}{A\alpha^4}$$
(4.7.16)

Для диаметра волокна d = 5 нм $L_{max} = 30$ нм, а для d = 10 нм, $L_{max} = 13$ нм. Из сделанной оценки видно, что достаточно очень малого количества заряженных функциональных групп для того, чтобы процесс разделения одноименно заряженных волокон был эффективен.

Из выражений (4.7.12) и (4.7.14) видно, что :

1. Нормированная на единицу длины кулоновская сила, обеспечивающая раскручивание волокон, для более тонких волокон древесной целлюлозы меньше, чем для более толстых волокон хлопковой и льняной целлюлозы, так как сила пропорциональна диаметру волокна.

2. Нормированная на единицу длины ван-дер-ваальсова сила притяжения, обеспечивающая скручивание для более тонких волокон древесной целлюлозы

больше, чем для боле толстых волокон хлопковой целлюлозы, так как сила обратно пропорциональна квадрату диаметра.

Таким образом, при наличии флуктуационного заряда одной величины, волокна хлопковой целлюлозы должны раскручиваться под действием расталкивающих кулоновских сил эффективнее. Это, по-видимому, является дополнительным фактором, приводящим к её более глубокому нитрованию по сравнению с древесной и льняной.

4.8 Малоугловое рассеяние синхротронного излучения

При исследовании малоуглового рассеяния синхротронного излучения при длине волны 0.1625 нм для нескольких образцов целлюлозы до и после облагораживания были получены следующие результаты (рисунок 4.8.1).



Рисунок 4.8.1 Графики малоуглового рассеяния при длине волны 0.1625 нм, расстояние образец-детектор 522 мм. Линейный по вектору рассеяния Q масштаб.

Можно выделить 3 группы кривых:

1. Вологодская льняная целлюлоза (ВЛВ) как до, так и после обработки характеризуются меньшим углом наклона в малоугловой области (рисунок 4.8.1, кривые черного и зеленого цветов);

2. Для целлюлозы после облагораживания характерен больший угол наклона, присутствует рассеяние в больших углах (рисунок 4.8.1, кривые красного, синего, розового цветов);

3. Исходная древесная целлюлоза без обработки — малоугловая область, как у группы 1, однако присутствует рассеяние в больших углах, как у группы 2 (рисунок 4.8.1, кривая фиолетового цвета).



Рисунок 4.8.2. Графики распределения частиц по радиусам инерции в предположении модели бесконечных цилиндров.

Для трех образцов были рассчитаны радиусы инерции в предположении модели бесконечных цилиндров, как наиболее подходящей модели по форме к

целлюлозным фибриллам, и построено распределение по диаметрам фибрилл (рисунок 4.8.2). Результаты исследования молоуглового рассеяния синхротронного излучения показывают, что при обработке сохраняется не только клеточная стрктура исходно целлюлозного сырья, но также и элементарные фибриллы целлюлозы. На рисунке 4.8.2 представлено распределение по диаметрам нанофибрилл, полученное методом малоугловиго рассеяния рентгеновского (синхротронного) излучения.

Присутствие пика в области 1.5 нм как раз и свидетельствует о наличии в образцах нанофибрилл целлюлозы, что морфология целлюлозы сохраняется в процессе варки и облагораживания вплоть до самых мелких уровней организации. Поскольку раскручивание нанофибрилл невозможно при сохранении структуры всех морфологических спиральных структурных уровней [38], этот факт подтверждает предположение о том, что именно процесс раскручивания микрофибрилл определяет лимитирующую стадию процесса нитрования целлюлозного волокна.

Облагораживание и обработка целлюлозы растворами гидроксида натрия (концентрации 3.4 %, 9.5 % и 17.5 %) приводит к изменению её структуры или мерсеризации: Целлюлоза I превращается в Целлюлозу II, хорошо известную как продукт осаждения целлюлозы из растворов [97], чему так же соответствует изменение диффрактограммы на рисунке 4.4.1. Образцы облагороженной целлюлозы, в отличие от образцов исходной целлюлозы, характеризуются более высокой степенью кристалличности [97], что, по-видимому, связано со значительным уменьшением содержания в составе древесины лигнина и низкомолекулярных веществ, в том числе гемицеллюлоз. На дифрактограммах (рисунок 4.8.3) этот процесс отражается уменьшением максимума в области 22.5°, появлением пика в области 19 - 21° и уменьшением интенсивности сигнала в области 14 - 16° [98].




Ранее было показано, что молекулярная структура целлюлозы II сильно отличается от целлюлозы I [99]. В составе нанофибрилл в целлюлозе I все макромолекулы имеют одинаковую ориентацию, в то время как в составе целлюлозы II макромолекулы упакованы антипараллельно. Отметим, что антипараллельность целлюлозных цепочек в процессе осаждения целлюлозы из растворов вполне может возникать в процессе их случайного взаимодействия, так как в растворе макромолекулы располагаются более или менее хаотически. В то же время разворот макромолекулы длиной порядка микрометра, без разрушения протекающий клеточной структуры исходного сырья практически невозможен, так как характерное расстояние между суперспирализованными и макромолекулами и нанофибриллами на много порядков меньше их длины. Удаление низкомолекулярных компонентов клеточной стенки в процессе щелочного облагораживания, по видимому, взаимодействия приводит к увеличению ван-дер-ваальсова между нанофибриллами. В результате слипания нанофибрилл различной С ориентацией макромолекул становится возможным образование областей, в

которых макромолекулы целлюлозы изначально ориентированы антипараллельно и сближены в пространстве. В таких областях возможно образование новой кристаллической фазы, известной как целлюлоза II.





При исследовании с помощью синхротронного излучения, описанная картина становится еще более очевидной. На рисунке 4.8.4 видно, что целлюлоза без обработки имеет в обоих случаях пики в районе 8°, 10° и 15° (кривая серого цвета), а после облагораживания интенсивность пиков 8° и 15° уменьшается до нуля, а пик 10° смещается в сторону меньшего угла (кривые зеленого, черного и синего цветов). Из этого следует, что структура целлюлозы после облагораживания меняется и претерпевает переход из Целлюлозы I в Целлюлозу II [97].

4.9. Модель нитрования целлюлозы

Таким образом, суммируя все вышеперечисленные результаты, можно заключить, что исследована кинетика нитрования целлюлозы и установлено, что на быстрой стадии реакции она имеет нулевой порядок. Определена её энергия активации $E_a \sim 46 \text{ кДж/моль}$ и предэкспоненциальный множитель константы скорости $K_0 \sim 10^5 \text{ сек}^{-1}$.

Теоретически показано, что процесс нитрования лимитируется не диффузией реагентов, а макроскопической динамикой раскручивания целлюлозных фибрилл, волокон И элементарных фибрилл И макромолекул. Экспериментально это подтверждают нулевой порядок кинетики нитрования, АСМ-микрофотографии, данные оптической микроскопии, уменьшение амплитуды спектров кругового дихроизма целлюлозы в растворах NaHSO₃, а также многочисленные данные по нитрованию образцов.

Физически замедление реакции нитрования связанно с возникновением высокого Борновского потенциального барьера (~1эВ) на пути проникновения иона нитрония во внутренний объём нанофибрилл с диэлектрической проницаемостью ~3. Такой барьер возникает из-за пространственных ограничений в молекулярной динамике макромолекул и дефицита свободного объёма, связанного с суперспирализацией элементарных фибрилл целлюлозы. В работе построена феноменологическая модель, описывающая электростатические и ван-дер-ваальсовы взаимодействия элементарных фибрилл, основанная на подобии масштабов в системе суперспирализованных элементарных фибрилл.

Этот процесс эффективнее протекает в хлопковых волокнах, что объясняется большими размерами их элементарных фибрилл, которые имеют толщину порядка 7 – 9 нм. При этом в сильно связанных низкомолекулярными целлюлозами тонких фибриллах древесной целлюлозы (3 – 5 нм) он интенсифицируется при облагораживании или их удалении. В слабосвязанных волокнах хлопка процесс раскручивания более толстых элементарных фибрилл (7 – 9 нм) может идти спонтанно из-за поверхностного заряда, обеспечивающего расталкивание и раскручивание фибрилл, что ведёт к более полному нитрованию хлопковой целлюлозы. В промежуточном случае льняных волокон, содержащих элементарные фибриллы с диаметром 5 – 6 нм [41], также необходимо удаление низкомолекулярных гемицеллюлоз, однако, их доля меньше, так как достаточно эффективное нитрование происходит и без облагораживания [43].

Таким образом, экспериментально показано, что для выбора оптимальрежима ного технологического нитрования целлюлозы существует три Первый ПУТИ. путь альтернативных снизить количество «клея», связывающего нанофибриллы, за счет удаления лигнина и аморфных низкомолекулярных гемицеллюлоз, в ходе процедуры облагораживания. Далее, можно увеличивать удельный поверхностный заряд нанофибрилл, например, за счет обработки сернистой кислотой. Наконец, можно уменьшить энергию вандер-ваальсового притяжения между элементарными фибриллами, например, за счет предобработки ацетоном.

Таким образом, впервые рассмотрено влияние структурных факторов на протекание реакции нитрования целлюлоз и установлено, что химическая реакция включает совокупность физических стадий, которые и являются лимитирующими. Предложенный физический механизм снижения скорости нитрования целлюлозы объясняет весь спектр явлений, наблюдаемых при нитровании сырья различного происхождения.

4.10. Реализация биофизической модели в инженерно-технологической схеме

Предприятия целлюлозно-бумажной промышленности производят товарную целлюлозу различных марок, предназначенную для производства массовых видов бумаги и картона (картон для потребительской тары, картон гофрированный, бумага для письма и печати). Поэтому показатели качества выпускаемой целлюлозы, несмотря на высокий уровень и стабильность параметров, как правило, не соответствуют требованиям, предъявляемым к полуфабрикатам, предназначенным для последующей химической переработки (эфиры целлюлозы, МКЦ, вискозные и кордные волокна).

Цель физико-химической модификации (ФХМ) полуфабриката — обеспечение требуемых значений показателей качества целлюлозы, а именно, массо-

вого содержания альфа-целлюлозы и динамической вязкости медно-аммиачных растворов (критерий степени полимеризации). Разработанная технология физико-механического модифицирования древесной товарной целлюлозы является унифицированным процессом переработки различного целлюлозного сырья, обеспечивающим независимость от сырьевых источников.

Таким разработка технологии образом, химической переработки ГОСТ 595-79 древесной удовлетворяющей требованиям целлюлозы, «Целлюлоза хлопковая. Технические условия» является актуальной технологической задачей. Важнейшими контрольными показателями соответствия ГОСТ являются процентное содержание а-целлюлозы, зольность, содержание остаточного лигнина, вязкость растворов целлюлозы.

Разработанная технология ФХМ волокнистых полуфабрикатов включает следующие базовые этапы:

4.10.1 Диспергирование

Как было показано в разделе 4.9, процессы нитрования в целлюлозе различного происхождения контролируются макроскопической динамикой хиральных анизометрических элементов (в том числе и элементарных фибрилл). Для того чтобы уменьшить число взаимных зацеплений и соответственно увеличить скорость макроскопической геликоидальной лимитирует процесс) динамики (которая анизометрических элементов целлюлозы, было проведено предварительное диспергирование сырья на коллоидной мельнице.

Оптимальные условия диспергирования технической целлюлозы были отработаны за счет вариаций зазора «ротор-статор» (для аппаратов типа коллоидной мельницы, МК) и концентрации волокнистой суспензии (таблица 4.10.1).

Эксперименты по размолу товарной целлюлозы показывают, что оптимальным является диспергирование на коллоидной мельнице

продолжительностью в пределах 15 – 20 мин при величине зазора «роторстатор» не менее 1 мм и концентрации волокнистой суспензии 1.5 – 2 масс.%.

Следует отметить, что стадия диспергирования ориентирована в рассмотренном виде на подготовку исходного целлюлозного материала, поставляемого в виде папки. Такой вид товарной целлюлозы диктуется логистическими преимуществами транспортировки, так как допускает максимальную плотность перевозимого груза. С другой стороны, папка как товарный продукт вырабатывается на ЦБК из полуфабриката, представляющего собой влажную целлюлозную массу того же состава. Для получения папки изменяется лишь что достигается путем энергоёмкой, многоэтапной сушки, влажность, сопровождающейся, к тому же, появлением крайне нежелательного для последующей химической переработки более плотного слоя на поверхности волокон [110]. Таким образом, целесообразным представляется рассмотрение баланса экономических факторов, влияющих на ценообразование влажной целлюлозы как товарного продукта. С одной стороны, это удешевление за счёт исключения энергоёмких и затратных по времени операций изготовления папки, с другой — увеличение транспортных, и организационных расходов. Тем не менее, такой вид исходного целлюлозного сырья с точки зрения подготовки его к химической переработке, имеет неоспоримые преимущества, а возможно будет взаимовыгодным для производителя и потребителя.

4.10.2 Облагораживание

Товарные целлюлозы, выпускаемые для производства бумаги и картона, содержат значительное количество гемицеллюлоз и других нежелательных спутников, содержащихся в исходной древесине. Их присутствие делает целлюлозу непригодной для химической переработки. Входной контроль заключается в определении содержания α-целлюлозы в исходных образцах товарных целлюлоз. Методика определения содержания α-целлюлозы весовым методом в соответствии с ГОСТ 595-79 состоит в удалении из образца

исследуемой целлюлозы веществ, растворимых в 17.5% NaOH при комнатной температуре и проводится согласно ГОСТ 6840-78.

Таблица 4.10.1. Определение альфа-целлюлозы в образцах технической целлюлозы

N⁰	Наименование образца	Содержание
	Изготовитель	α-целлюлозы, %
1	Целлюлоза сульфитная вискозная, рулонная бумага	85.0 ± 1.5
	ООО «Архангельский ЦБК»	
2	Целлюлоза сульфитная полубеленая, папка	81.6
	ОАО «Сясьский ЦБК»	
3	Целлюлоза сульфитная беленая хвойная, (жидкий поток)	81.6
	ОАО «Сясьский ЦБК»	
4	Целлюлоза сульфатная беленая ЛС, папка	81.8
	ОАО «Архангельский ЦБК»	
5	Целлюлоза сульфатная беленая лиственная (жидкий поток)	81.0
	ОАО «Архангельский ЦБК»	
6	Целлюлоза сульфатная беленая хвойная (жидкий поток) ОАО «Архангельский ЦБК»	82.5

Первая стадия технологического процесса состоит в доведении содержания α-целлюлозы до требуемого значения (не менее 92 %) и заключается практически в процедуре, соответствующей определению содержания α-целлюлозы в исходном сырье, то есть в обработке сырья 17.5 % натриевой щёлочью при комнатной температуре в течение заданного времени с последующей отмывкой до нейтрального pH (холодное щелочение). Для реализации такой обработки используются растворы гидроксида натрия повышенной концентрации, которые вводятся в объём водно-целлюлозной суспензии в соответствии с расчётными данными для получения концентрации щелочи 17.5 %. Обработка проводится в резервуаре, снабженном системой перемешивания и фильтрации.

Приведенные результаты в Таблице 4.10.1 показывают, что содержание α-целлюлозы в товарных целлюлозах составляет 81 – 85%. Холодное щелочение (облагораживание) обеспечивает повышение содержания альфа-целлюлозы до значений не менее 96 – 97 %.

Наименорацие образиа	Динамическая вязкость		
Паименование образца	сПа∙с	сП	
Целлюлоза сульфитная беленая хвойная, (жидкий поток) после МК	4.8	48	
Целлюлоза сульфитная беленая хвойная, (жидкий поток)	4.9	49	
Целлюлоза сульфатная беленая хвойная (жидкий поток)	3.7	37	
Целлюлоза сульфатная беленая хвойная (жидкий поток) обработка NaHSO ₃ 1% 68C/60M	3.5	35	
Целлюлоза сульфатная беленая хвойная (жидкий поток) обработка H ₃ BO ₃ (0,1 M) 65C/80M	3.7	37	
Целлюлоза сульфатная беленая ЛС, папка	9.6	96	
Целлюлоза сульфатная беленая ЛС, папка после МК	9.2	92	
Целлюлоза сульфатная беленая ЛС, папка	7.8	78	
Целлюлоза сульфатная беленая лиственная (жидкий поток)	8.1	81	

Таблица 4.10.2. Динамическая вязкость облагороженных образцов целлюлозы по ГОСТ 14363.2.

Следующий этап технологической схемы производства целлюлозы состоит В регулировании средней молекулярной массы α-целлюлозы (опционально, при необходимости понизить степень полимеризации И соответственно вязкость целлюлозы и нитроцеллюлозы), а также модификации свойств целлюлозы для придания ей улучшенных технологических свойств (рыхлость, лучшая нитруемость). В основе регулирования этой стадии лежат показатели «вязкость» и «массовая доля α-целлюлозы» в исходном сырье. достигается Понижение вязкости В процессе гидролиза α-целлюлозы, обработке целлюлозы осуществляемом при кислотными реагентами. Лабораторные измерения по ГОСТ 14363.2 по показателю «динамическая вязкость» указанных выше образцов товарных целлюлоз дали результаты, представленные в Таблице 4.10.2.

Из представленных в Таблице 4.10.2 результатов следует, что значения вязкости (средней степени полимеризации) зависит от природы исходного сырья и колеблется в пределах 35 – 96 сП. Наименьшей вязкостью обладают целлюлозы из хвойных пород древесины, тогда как наибольшей — из лиственных пород древесины. Целлюлоза из льна занимает промежуточное положение. Из результатов следует, что стадия регулирования вязкости для данных видов исходного сырья может быть исключена.

Нами было проведено определение степени полимеризации целлюлозы до и после нитрования. Степень полимеризации целлюлозы до нитрования хвойной беленой целлюлозы, определенная по значению динамической вязкости через калибровочное соотношение, равна 640. В то время как степень полимеризации хвойной беленой целлюлозы после нитрования, полученная из молекулярно-массового распределения, зависит от способа обработки перед нитрованием и варьируется от 200 до 400. Это соответствует представлениям о деструкции макромолекул целлюлозы в процессе нитрования в смеси азотной и серной кислоты (РКС). Таким образом, определен коэффициент деструкции молекул целлюлозы при нитровании, который составляет ~1.5 – 3.0.

4.10.3 Физико-химическая модификация целлюлозы

На этапе физико-химической модификации осуществляется модификация полупродукта, полученного на выходе второй стадии обработки (промывки). Реактивы для модификации выбирали в зависимости от свойств исходного сырья и назначения конечного продукта. Подбор технологических времён модификации в реакторе может начинаться с 30 мин в сторону уменьшения времени обработки (так коэффициент диффузии оценивался снизу), что существенно упрощает задачу поиска. Частота перемешивания подбиралась из соображений оптимальной гомогенизации массы. Экспериментально оптимизированные времена химического модифицирования приведены в Таблице 4.10.3.

Таблица 4.10.3 Влияние продолжительности обработки на результаты последующей химической переработки беленой древесной целлюлозы

№ п/п	Наименование полуфабриката	Продолжительность щелочной обработки, мин	Содержание азота после нитрования образца
1	Сульфитная хвойная	10	9.5 – 10.0 %
	беленая целлюлоза	30	13.1 – 13.2%
		60	13.2 %
2	Сульфатная беленая	10	10.0 - 10.5%
	целлюлоза из лиственных пород	30	13.2 - 13.3%
	древесины	60	13.2 - 13.3%

Холодное облагораживание в течение 10 минут не позволяет достигнуть требуемой степени химической чистоты образца. В результате наблюдается не полное нитрование волокнистого материала, вероятно, из-за высокого содержания в клеточной стенке примесей низкомолекулярных полисахаридов. На это указывают результаты анализа образцов по показателю «массовая доля α-целлюлозы», который не превышал уровня 89 – 90%.

Оптимальным временем холодного облагораживания товарной целлюлозы является продолжительность обработки в пределах 30 минут при температуре не более 22 – 25°С. Получаемый при этом конечный продукт характеризуется высокой реакционной способностью (содержание азота в образцах после нитрования составляет не менее 13.1% (таблица 4.10.3), что соответствует уровню качества «пироксилин I»), массовой долей α-целлюлозы на уровне 97.5 – 98.0%.

4.10.4 Обезвоживание и сушка

Вакуумная сушка является завершающим этапом технологического процесса производства древесной агрегатированной целлюлозы, перед расфасовкой её в тару и отправкой на участок контроля и в дальнейшую обработку. Она является самой энергоёмкой стадией всего процесса. Образующаяся на последней стадии уплотненная водно-целлюлозная масса более чем на 80% состоит из воды, которую необходимо удалить до влажности конечного продукта 8-10%, так как чем ниже содержание воды в целлюлозе, тем экономичнее процесс нитрования. Другим аспектом заключительной стадии является формирование собственно агрегатированной целлюлозы, то есть придание конечному продукту определенной формы, позволяющей проводить дальнейшую химическую переработку (нитрование) эффективно и без дополнительных операций подготовки.

Процессы обезвоживания и сушки широко распространены и доведены до совершенства в бумагоделательной промышленности, поэтому целесообразно использовать накопленный там опыт и технологическое оформление процесса получения бумаги из водно-целлюлозной суспензии.

4.11 Биосинтез целлюлозы

Опираясь на приведенные результаты о существенном влиянии макроскопической динамики анизометрических фаз на эффективность процессов химической переработки особенности целлюлозы важно отметить, что целлюлозного волокна, такие как его диаметр И обогащенность гемицеллюлозами представляет собой важный с технологической точки зрения морфологический признак растения. Эти параметры играют существенную роль при оптимизации технологий химической переработки целлюлозы на промышленных предприятиях. Поэтому понимание процессов биосинтеза целлюлозы в клетке и его регуляции актуально в свете как фундаментальной важности его при функционировании растений, так и влиянии его на возможность реализации технологических процессов при переработке целлюлозного сырья.

Целлюлозные нанофибриллы представляют собой нерастворимые структуры, которые состоят примерно из 24 связанных водородными связями цепей 1,4-β-глюкана, содержащих от 500 до 14000 молекул глюкозы [100]. Они образуют более крупные формирования с диаметром до 10 – 20 нм [100]. Биосинтез целлюлозы происходит в плазматической мембране. Фибриллы формируются с помощью специального целлюлозосинтазного комплекса, который имеет размер около 30 нм и состоит из 36 субъединиц [100]. Единственные хорошо изученные на сегодня компоненты целлюлозосинтазы у высших растений являются CesA белки [101], которые первоначально были определены по сходству последовательностей в ДНК хлопка и бактериальной целлюлозосинтазы. CesA белки формируют комплекс из шести глобул, которые состоят из ряда субъединиц. Те, в свою очередь, синтезируют от шести до десяти цепей целлюлозных молекул, которые при участии водородных связей формируют 2 нм нанофибриллы. Несколько таких 2 нм фибрилл затем образуют микрофибриллу [100].

При инактивации белка CesA1 комплекс целлюлозосинтазы исчезает из плазматической мембраны, что говорит о том, что этот белок играет важную роль для сборки целлюлозосинтазного комплекса [112]. В то же время белки CesA4, 7 и 8 необходимы для формирования вторичной клеточной стенки. Есть так же данные, согласно которым мутации в трех генах CesA [100], одновременно необходимых для синтеза целлюлозы, приводили к уменьшению толщины клеточной клетки растений и потере структуры фибрилл целлюлозы.

Мутации в ряде других генов уменьшали, но не полностью устраняли синтез целлюлозы [100].

С учётом описанного выше можно предположить, что контролируя экспрессию определенных генов целлюлозосинтазы можно варьировать диаметр получаемых фибрилл целлюлозы и количество включенных гемицеллюлоз. Известно, что в составе клеточных стенок мутантных растений уменьшалось количество кристаллической целлюлозы [100]. Однако, экспериментальных данных всё ещё недостаточно для обоснования созданных гипотетических моделей работы генов целлюлозосинтазы.

Таким образом, можно заключить, что механизм биосинтеза целлюлозы является одним из малоизученных направлений в биохимии растений. Простота химической структуры целлюлозы не сопоставима со сложностям, которые связаны с её синтезом в клетке. Поскольку на данный момент не достаточно известно о регуляции биохимических стадий синтеза целлюлозы в клеточной стенке растений, изучение этапов биосинтеза целлюлозы позволит расширить понимание процессов формирования клеточной стенки и даст возможность разработать стратегию для биоинженерной модификации растений, направленную на оптимизацию химической переработки целлюлозного волокна. Согласно полученным результатам, основной целью вмешательства в геном растений будет снижение доли лигнина и увеличение толщины нанофибрилл, что позволит сократить и удешевить процесс предобработки сырья, предшествующий нитрованию или иной химической переработке.

Основные результаты и выводы

В работе изучено и систематизировано значительное количество знакопеременных хиральных структур, представленных в классификационном атласе анизометрических структур, и сделаны следующие выводы:

1. Методом молекулярной динамики показана комплементарность взаимодействия хиральных доменов в молекулах ТФААС. Рассчитаны энергии парных взаимодействий в системе ТФААС-растворитель в зависимости от взаимной ориентации молекул.

2. Экспериментально показано, что холестерин, в отличие от эргостерола, образует анизометрические фазы. Методом молекулярной динамики показано, что хиральный домен эргостерола намного более подвижен, чем холестерина, что объясняет различия в структуре их ксерогелей. Рассчитаны времена жизни домена С в основном состоянии (кресло) $\tau_{ЭЛ} = 13$ пс, $\tau_{XЛ} = 71$ пс, что позволяет объяснить наблюдаемые различия в самоорганизации.

3. Экспериментально выявлены новые макроскопические хиральные структуры, подтверждающие эмпирическое правило смены знака хиральных фаз. Рассмотрен супрамолекулярный механизм и качественная модель спонтанного перехода радиальной автоволны формирования струн в хиральную автоволну.

4. Показано, что глубокому нитрованию целлюлозы препятствует Борновский барьер ~ 1 эВ на поверхности нанофибрилл для иона нитрония. Показано, что скорость реакции нитрования целлюлозы на поздних стадиях лимитируется кооперативным раскручиванием фибрилл как целого, о чем свидетельствует в частности малая величина предэкспоненциального множителя $K_0 = 4.5 \cdot 10^5 \text{ c}^{-1}$. Предложен способ оптимизации процесса физико-химической модификации целлюлозы для дальнейшего её нитрования.

Список сокращений

ТФААС – трифторацетилированные аминоспирты

РБ – рулонная бумага

СХП – целлюлоза сульфитная полубеленая хвойная ОАО «Сясьский ЦБК»

СЖП – целлюлоза сульфитная беленая хвойная, жидкий поток ОАО «Сясьский ЦБК»

ЛС – целлюлоза сульфатная беленая ОАО «Архангельский ЦБК».

АЛП – целлюлоза лиственная беленая папка ОАО «Архангельский ЦБК»

АХП – целлюлоза хвойная беленая папка ОАО «Архангельский ЦБК»

ВЛВ – целлюлоза льняная г. Вологда

АХЖ – целлюлоза сульфатная беленая хвойная жидкий поток ОАО «Архангельский ЦБК»

АЛЖ – целлюлоза сульфатная беленая лиственная жидкий поток ОАО «Архангельский ЦБК»

ХЛ – холестерин

ЭЛ – эргостерол

ТГФ – тетрогидрофуран

ОМ – оптический микроскоп

ИОМ – инвертированный оптический микроскоп

АСМ – атомно-силовой микроскоп

РФА – рентгенофазовый анализ

СИ – синхротронное излучение

ММР – молекулярно-массовое распределение

МД – молекулярная динамика

ИП – изопропанол

- ЦГ циклогексан
- КР комбинационное рассеяние
- ГНЦ гель наноцеллюлозы
- КД круговой дихроизм
- МК мельница коллоидная
- ФХМ физико-химическая модификация
- ЦБК целлюлозно-бумажный комбинат

Список литературы

- Твердислов В.А. Хиральность как первичный переключатель иерархических уровней в молекулярно-биологических системах. / В.А. Твердислов // Биофизика. – 2013. – Т. 58. – № 1. – С. 159.
- Escuder B. Functional Molecular Gels / B. Escuder, J.F. Miravet. The Royal Society of Chemistry, 2014. – 319 p.
- Стовбун С.В. Структурообразование в растворах хиральных биомиметиков: диссертация на соискание ученой степени доктора физико-математических наук: 01.04.17 / Стовбун Сергей Витальевич – М., 2012. – 293с.
- Яблоков А.В. Эволюционное учение. Учебное пособие для студентов университетов / А.В. Яблоков, А.Г. Юсуфов. – М.: Высшая школа, 1976. – 331с.
- Kelvin W.T. Baltimore lectures on molecular dynamics and the wave theory of light / W.T. Kelvin. – London: C. J. Clay and sons, 1904. – 744 p.
- 6. Miller S.L. A production of amino acids under possible primitive earth conditions / S.L. Miller // Science. 1953. I. 117. № 3046. P. 528.
- Твердислов В.А. От симметрий к законам эволюции. 1. Хиральность как инструмент стратификации активных сред / В.А. Твердислов, А.Э. Сидорова, Л.В. Яковенко // Биофизика. – 2012. – Т. 57. – № 1. – С. 146.
- Твердислов В.А. Лекции по биофизике. Ионная и хиральная асимметрии как физические факторы биогенеза и онтогенеза / В.А. Твердислов, А.А. Ивлиева, Л.В. Яковенко. – М.: Изд. Физический факультет имени М.В. Ломоносова, 2010.
- Пармон В.Н. Новое в теории появления жизни / В.Н. Пармон // Химия и жизнь. – 2005. – № 5.
- 10.Бутлеров А.М. К истории производных метилена. Сочинения / А.М. Бутлеров. М.: Издательство Академии наук СССР, 1953. 640 с.

- Lambert J.B. The Silicate-Mediated Formose Reaction: Bottom-Up Synthesis of Sugar Silicates / J.B. Lambert, S.A. Gurusamy-Thangavelu, K. Ma // Science. – 2010. – V. 321. – P. 984.
- 12.Kopetzki D. Hydrothermal formose reaction / D. Kopetzki, M. Antonietti // New J. Chem. – 2011. – V. 35. – P. 1787.
- 13. Некрасов Б.В. Основы общей химии / Б.В. Некрасов. М.: Изд.
 "Химия", 1973. 656 с.
- 14. Хоровиц Н. Поиски жизни в Солнечной системе / Н. Хоровиц Пер. с англ. Отрощенко В.А. под ред. Крицкого М.С. М.: Мир, 1988. 187 с.
- 15. Твердислов В.А. Биофизическая экология / В.А. Твердислов, А.Э. Сидорова, Л.В. Яковенко. М.: КАРАСАНД, 2012. 544 с.
- 16.Яковенко Л.В. Поверхность Мирового океана и физические механизмы предбиологической эволюции / Л.В. Яковенко, В.А. Твердислов // Биофизика. – 2003. – Т. 48. – № 6. – С. 1137.
- 17. Твердислов В.А. Симметрии. Физические аспекты биологической эволюции / В.А. Твердислов, С.В. Стовбун // IV Съезд биофизиков России. Симпозиум II «Физические основы физиологических процессов». Материалы докладов. Нижний Новгород. 2012. С.137
- 18.Стовбун С.В. Экспериментальное наблюдение анизометрических структур в растворах с низким содержанием гелатора / С.В. Стовбун, О.Н. Крутиус, А.М. Занин, Д.С. Скоробогатько, Р.Г. Костяновский // Химическая физика. – 2011. – Т. 30. – № 9. – С. 1.
- Стовбун С.В. Феноменологическое описание спонтанного образования макроскопических струн в низкоконцентрированных хиральных растворах и формирования анизометрических гелей / С.В. Стовбун, А.М. Занин, А.А. Скоблин, А.И. Михайлов, А.А. Берлин // Доклады академии наук. – 2012. – Т. 442. – № 5. – С. 645.

- 20. Стовбун С.В. Формирование конденсированной фазы струн в слабых растворах хиральных веществ / С.В. Стовбун // Химическая физика. 2011. Т. 30. № 8. С. 3.
- 21. Стовбун С.В. Компактизация межмолекулярных связей в макроскопической хиральной фазе струн / С.В. Стовбун, А.М. Занин, А.А. Скоблин, Д.П. Шашкин, А.И. Михайлов, М.В. Гришин, Б.Р. Шуб // Химическая физика. – 2013. – Т. 32. – № 1. – С. 21.
- Стовбун С.В. Суперспирализация хиральных струн / С.В. Стовбун, А.А. Скоблин, А.М. Занин, М.В. Гришин, Б.Р. Шуб, Ю.М. Рыбин, И.М. Агеев, Г.Г. Шишкин, В.А. Твердислов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012. Т. 154. № 7. С. 41.
- 23. Стовбун С.В. Кинетика роста струн в хиральных растворах / С.В. Стовбун, А.А. Скоблин // ХХІІІ симпозиум Современная химическая физика. Туапсе. 2011. С.123.
- 24. Стовбун С.В. Биологические жидкости как хиральные анизометрические среды / С.В. Стовбун, А.А. Скоблин, В.А. Твердислов // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011. – № 12. – С. 643.
- 25. Стовбун С.В. Метрическое подобие динамических процессов коммутации in situ и in vitro / С.В. Стовбун, А.А. Скоблин, А.М. Занин, А.И. Михайлов, В.А. Твердислов, Е.Е. Брагина, Ю.М. Рыбин, И.М. Агеев, Г.Г. Шишкин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2012. Т. 153. № 6. С. 820.
- 26.Стовбун С.В. Формирование кольцеобразных струн в биомиметиках как модель возможного независимого формирования кольцеобразных ДНК в ходе предбиологической эволюции / С.В. Стовбун, А.А. Скоблин, А.М. Занин, А.И. Михайлов, В.А. Твердислов, М.В. Гришин, А.А. Кирсанкин, Б.Р. Шуб // Вестник МГОУ. Серия: Естественные науки. – 2012. – № 3. – С. 63.

- 27. Стовбун С.В. Физико-химическая аннигиляция антиподов в хиральных растворах / С.В. Стовбун, А.А. Скоблин, А.А. Берлин // Доклады академии наук. 2013. Т. 450. № 2. С. 103.
- Стовбун С.В. Макроскопическая хиральность струн / С.В. Стовбун, А.М.
 Занин, А.А. Скоблин, А.И. Михайлов, Р.Г. Костяновский, М.В. Гришин,
 Б.Р. Шуб // Химическая физика. 2011. Т. 30. № 12. С. 55.
- 29. Емельяненко А.В. Молекулярно-статистическая теория смектических состояний: диссертация на соискание ученой степени доктора физикоматематических наук: 01.04.07 / Емельяненко Александр Вячеславович. – М., 2009. – 330 с.
- 30. Клеман М., Лаврентович О.Д. Основы физики частично упорядоченных сред: жидкие кристаллы, коллоиды, фрактальные структуры, полимеры и биологические объекты / М. Клеман, О.Д. Лаврентович. – Пер. с англ. под ред. С.А. Пикина, В.Е. Дмитриенко. – М.: ФИЗМАЛИТ, 2007. – 680 с.
- 31. Gray G.W. The liquid crystal properties of some new mesogens / G.W. Gray // Journal de Physique Colloques. – 1975. – V. 36. – P.337.
- 32. Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции / Р. Геннис
 МИР, 1997. 624 с.
- 33. O'Sullivan A. Cellulose: the structure slowly unravels / A. O'Sullivan // Cellulose. – 1997. – V. 4. – P.173.
- Ruben G., Bokelman G. Triple-stranded, left-hand-twisted cellulose microflbril / G. Ruben, G. Bokelman // Carbohyd Res. 1987. V. 160. P. 434.
- 35. Revol F. Helicoidal Self-Ordering of Cellulose Microfibrils in Aqueous Suspension / F. Revol, H. Bradford, J. Giasson, R.H. Marchessault, D.G. Gray
 // International Journal of Biological Macromolecules. 1992. V.14. P. 170.

- Meader D. Cellulose trinitrate: molecular conformation and packing considerations / D. Meader, E. Atkins, F. Happey // Polym. 1978. V. 19. P. 1371.
- Fileti E. Relative strength of hydrogen bond interaction in alcohol-water complexes / E. Fileti, P. Chaudhuri, S. Canuto // Chem. Phys. Let. 2004. I. 400 P. 494.
- 38. Newman R. Estimation of the lateral dimensions of cellulose crystallites using 13C NMR signal strengths / R. Newman // Solid State Nuclear Magnetic Resonance. – 1999. – V. 15. – T. 1. – P. 21.
- 39. Зленко Д.В. Хиральность как фундаментальная причина макроскопической спиральности / Д.В. Зленко, С.В. Стовбун // Вестник Московского Университета. Серия 3. – 2013. – № 6. – С. 27.
- 40. Fernandes A. Nanostructure of cellulose microfibrils in spruce wood / A. Fernandes, L. Thomasb, C. Altanerc, P. Callowd, V. Forsythd, D. Apperleyf, C. Kennedyg, M. Jarvish // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2011. V. 108. № 47. P. 1195.
- Hanley S. Atomic force microscopy and transmission electron microscopy of cellulose from Micrasterias denticulata; evidence for a chiral helical microfibril twist / S. Hanley, J. Revol, L. Godbout, D. Gray // Cellulose. – 1997. – V. 4. – P. 209.
- 42. Heyn A.N.J. The Microcrystalline Structure of Cellulose in Cell Wall of Cotton, Ramie and Jute Fibers as Revealed by Negative Staining of Sections / A.N.J. Heyn // Journal of Cell Biology. 1966. I. 9. P. 181.
- 43. Никитин Н.И. Химия древесины и целлюлозы / Н.И. Никитин. Москва-Ленинград: АН СССР, Институт высокомолекулярных соединений, 1962. – 711с.
- 44. Антропова Е.Б. История целлюлозно-бумажной промышленности России
 / Е.Б. Антропова, А.П. Балаченкова, М.И. Бусыгин и др. Архангельск: БумПром., 2009. 231 с.

- 45. О состоянии окружающей природной среды Российской Федерации в 2002 году: государственный доклад М., 2003.
- 46. Атлас биологического разнообразия лесов Европейской России и сопредельных территорий М.: ПАИМС, 1996. 144 с.
- 47. Гелес, И. С. Древесное сырье стратегическая основа и резерв цивилизации / И. С. Гелес. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2007. – 499 с.
- 48. Домина Н.Г. Аналитическая химия. Химические методы анализа / Н.Г. Домина, С.А. Зуйкова, А.И. Хлебников, Н.А. Чемерис. // Барнаул: Типография АлтГТУ, 2010. 176 с.
- 49. Pronk S. GROMACS 4.5: a high-throughput and highly parallel open source molecular simulation toolkit / S. Pronk, S. Pall R., Schulz, P. Larsson, P. Bjelkmar, R. Apostolov et al. // Bioinformatics. 2013. V. 29. I. 7. P. 845.
- 50. Jorgensen W.L. Development and Testing of the OPLS All-Atom Force Field on Conformational Energetics and Properties of Organic Liquids / W.L. Jorgensen, D.S. Maxwell, J. Tirado-Rives // The Journal of the American Chemical Society. – 1996. – V. 118. – I. 45. – P. 11225.
- 51. Essmann U. A smooth particle mesh Ewald method / U. Essmann, L. Perera, M.L. Berkowitz, T. Darden, H. Lee, L.G. Pedersen // The Journal of chemical physics. – 1995. – V. 103. – I. 19. – P. 8577.
- 52. Bayly C.I. A well-behaved electrostatic potential based method using charge restraints for determining atom-centered charges: The RESP Model / C.I. Bayly, P. Cieplak, W.D. Cornell et al. // J. Phys. Chem. B. 1993. V. 97. P. 10269.
- 53. Стовбун С.В. Струны, анизометрические гели и растворы в химических и биологических системах. Обзор / С.В. Стовбун, А.А. Скоблин // Вестник Московского университета. Серия 3. 2012. № 4. С. 3.
- 54. Стовбун С.В. Структурообразование в хиральных системах. Супрамолекулярные струны / С.В. Стовбун, М.Г. Михалева, А.А.

Скоблин, В.А. Твердислов. – М.: Физический факультет МГУ, 2016. – 312 с.

- 55. Abramovich L. Phenylalanine assembly into toxic fibrils suggests amyloid etiology in phenylketonuria / L. Adler-Abramovich, L. Vaks, O. Carny, D. Trudler, A. Magno, A. Caflisch, D. Frenkel & E. Gazit // Nature Chemical Biology. - 2012. - V. 8. - P. 701.
- 56. Зленко Д.В. Структура и внутренняя динамика нанокапель в низкоконцентрированных растворах хиральных гелаторов / Д.В. Зленко, С.В. Стовбун // Химическая физика. – 2015. – Т. 34. – № 7. – С. 79.
- 57. Физические величины. Справочник / Под ред. Григорьева И.С., Мейлихова Е.З. М.: Энергоатомиздат, 1991. 1232 с.
- 58. Лось М.В. Определение условий образования петли на гибком стержне / М.В. Лось, А.Е. Орданович // Вестник Московского университета. Серия 1. Математика. Механика. 2000. № 6. С. 33-37
- 59. Щелкин К.И. Быстрое горение и спиновая детонация газов / К.И. Щелкин. М.: Военное издательство МО СССР, 1949. 196 с.
- 60. Блюменфельд Л.А. Решаемые и нерешаемые проблемы биологической физики / Л.А. Блюменфельд. – М.: Едиториал УРСС, 2002. – 160 с.
- 61. Surrey T. Physical properties determining self-organization of motors and microtubules / T. Surrey, F. Nedelec, S. Leibler and E. Karsenti // Science. – 2001. – № 292. – P. 1167
- 62. Геккель Э. Красота форм в природе / Э. Геккель. СПб.: Издательство Вернера Регена, 2007. – 144 с.
- 63. Proft T. Pili in Gram-negative and Gram-positive bacteria structure, assembly and their role in disease / T. Proft, E.N. Baker // Cellular and Molecular Life Sciences. 2009. V. 66 № 4. P. 613.

- 64. Zhang J.H. Membrane nanotubes: Novel communication between distant cells
 / J.H. Zhang, Y.Y. Zhang // Science China Life Sciences. November 2013. –
 V. 56. I. 11. P. 994.
- 65. Стовбун С.В. О супрамолекулярном механизме клеточной коммутации / С.В. Стовбун, А.И. Михайлов, А.А. Скоблин, Е.Е. Брагина, М.А. Гомберг // Химическая физика. 2012. Т. 31. № 1. С. 67.
- 66. Артоболевский И.И. Теория механизмов и машин: учебник для втузов /
 И.И. Артоболевский. М.: Наука. Гл. ред. физ.-мат. лит., 1988. 640 с.
- 67. Ландау Л.Д. Гидродинамика / Л.Д. Ландау, Е.М. Лифшиц. М.: Наука. Гл. ред. физ.-мат. лит., 1988. 733 с.
- 68. Стовбун С.В. Хироптические явления в биологических жидкостях и их гомохиральных моделях / С.В. Стовбун, А.А. Скоблин // Вестник Московского университета. Серия 3: Физика. Астрономия. – 2012. – № 3. – С. 39-42.
- 69. Зленко Д.В. Модель супрамолекулярной гомохиральной струны / Д.В.
 Зленко, С.В. Стовбун // Химическая физика. 2014. Т. 33. № 9. С. 3.
- 70. Зленко Д.В. Моделирование топологии димеров молекул хиральных трифторацетилированных аминоспиртов / Д.В. Зленко, М.Г. Михалева, С.В. Стовбун // Химическая физика. 2016. Т. 35. № 5. С. 84.
- 71. Литвин Я.А. Флуоресценция низкоконцентрированных растворов гомохиральных трифторацетилированных аминоспиртов / Я.А. Литвин, А.А. Скоблин, А.Н. Баранов, А.М. Салецкий, С.В. Стовбун // Химическая физика. 2015. Т. 34. № 4. С. 3.
- 72. Зленко Д.В. Полуэмпирическая закономерность для дипольных моментов низкомолекулярных хиральных гелаторов / Д.В. Зленко, С.В. Стовбун // Химическая физика. – 2014. – Т. 33. – № 8. – С. 37.
- 73. Terech P. Organogels and Aerogels of Racemic and Chiral 12-Hydroxyoctadecanoic Acid / P. Terech, V. Rodriguez, J.D. Barnes, G.B. McKenna // Langmuir. – 1994. – V. 10. – I. 10 – P. 3373.

- 74. Стовбун С.В. Струны, анизометрические гели и растворы в химических и биологических системах. Обзор / С.В. Стовбун, А.А. Скоблин // Вестник Московского университета. Серия 3. – 2012. – № 4. – С. 3.
- Lebel O. A new class of selective low-molecular-weight gelators based on salts of diaminotriazinecarboxylic acids / O. Lebel, M.E. Perron, T. Maris, S.F. Zalzal, A. Nanci, J.D. Wuest // Chemistry of Materials. – 2006. – V. 18 – P. 3616.
- 76. Borges A.R. Self assembled thermoreversible gels of nonpolar liquids by racemic propargylic alcohols with fluorinated and nonfluorinated aromatic rings / A.R. Borges, M. Hyacinth, M. Lum, C.M. Dingle, P.L. Hamilton, M. Chruszcz, L. Pu, M. Sabat and K.L. Caran // Langmuir. – 2008. – V. 24. – P. 7421.
- 77. Стовбун С.В. Структурная динамика хиральных струн / С.В. Стовбун,
 А.А. Скоблин, А.М. Занин // Химическая физика. 2014. Т. 33. № 5. –
 С. 21.
- 78. Weiss R.G. Molecular Gels. Materials with Self-Assembled Fibrillar / R.G. Weiss, P. Terech. Netherlands: Springer Science & Business Media, 2006. 978 p.
- Anslyn E.V. Modern Physical Organic Chemistry / E.V. Anslyn, D.A. Dougherty. USA: University Science Books, 2006. 1136 p.
- Сергеев Ю.В. Фармакотерапия микозов / Ю.В. Сергеев, Б.И. Шпигель,
 А.Ю. Сергеев. М.: Медицина для всех, 2003. 200 с.
- Bethe H.A. Statistical theory of superlattices / H.A. Bethe // Proceedings of the Royal Society of London Ser. A. – 1935. – № 150. – P. 552.
- Коваленко В.И. Структурно-кинетические особенности получения и термодеструкции нитратов целлюлозы / В.И. Коваленко, В.Ф. Сопин, Г.М. Храпковский. – М.: Наука, 2005. – 213 с.
- Кнунянц И.Л. Химическая энциклопедия / И.Л. Кнунянц, Н.С. Зефиров М.: Советская энциклопедия, 1988 – 1999.

- 84. Михайлов А.И. Полихронная кинетика процессов делигнификации древесины. 1. Процесс азотнокислой делигнификации / А.И. Михайлов, Л.П. Белькова, В.С. Громов // Химия древесины. 1980. № 6. С. 50.
- 85. Михайлов А.И. Полихронная кинетика процессов делигнификации древесины.
 2. Диффузионная кинетика азотно-кислой делигнификации / А.И. Михайлов, Л.П. Белькова, В.С. Громов // Химия древесины. 1980. № 6. С.59.
- Денисов Е.Т. Химическая кинетика / Е.Т. Денисов, О.М. Саркисов, Г.И. Лихтенштейн. – М.: Химия, 2000. – 568 с.
- 87. Bella J. Hydration structure of a collagen peptide / J. Bella, B. Brodsky, H.M. Berman // Structure. 1995. № 3. P. 893.
- 88. Новожилов Е.В. Изменение структуры клеточной стенки и свойств волокон беленой сульфатной лиственной целлюлозы при ферментативном воздействии / Е.В. Новожилов, Д.Г. Чухчин, К.Ю. Терентьев, И.А. Хадыко // Химия растительного сырья. – 2012. – № 2. – С.15.
- 89. Михайлов Ю.М. Исследование диффузии в системах полимерпластификатор. Диффузионные явления в полимерах / Ю.М. Михайлов, А.Е. Черных, Ю.М. Лотменцев // Рига. Латв. ССР.: Тезисы докладов III всесоюзной конференции. 15 – 17 ноября 1977.
- 90. Ishida Y. Dielectric studies on cellulose fibers / Y. Ishida, M. Yoshino, M. Takayanagi, F.J. Irie // Journal of Applied Polymer Science. 1959. V. 1. P. 227.
- 91. Гольданский В.И. Туннельные явления в химической физике / В.И. Гольданский, Л.И. Трахтенберг, В.Н. Флёров. М.: Наука, 1986. 296 с.
- 92. Gillespie R. The dielectric capacity constant of sulphuric acid / R. Gillespie,
 R. Cole // Transactions of the Faraday Society. 1956. V. 52. P. 1325.
- 93. Considine G. Van Nostrand's Scientific Encyclopedia / G. Considine. John Wiley & Sons. Inc., 2008. 2163 p.
- 94. Силин А.А. Трение и мы / А.А. Силин. М.: Наука, 1987. 192 с.

- 95. Стовбун С.В. Химическая физика нитрования целлюлозы / С.В. Стовбун, С.Н. Никольский, В.П. Мельников, М.Г. Михалева, Я.А. Литвин, А.Н. Щеголихин, Д.В. Зленко, В.А. Твердислов, Д.С. Герасимов, А.Д. Рогозин // Химическая физика. – 2016. – Т. 35. – № 4. – С. 20-35.
- 96. Ландау Л.Д. Теория упругости. Учебное пособие / Л.Д. Ландау, Е.М. Лифшиц. М.: Наука. Гл. ред. физ.-мат. лит., 1987. 248 с.
- 97. Алешина Л.А. Современные представления о строении целлюлоз / Л.А. Алешина, С.В. Глазкова, Л.А. Луговская, М.В. Подойникова, А.Д. Фофанов, Е.В. Силина // Химия растительного сырья. 2001. № 1. С. 5–36.
- 98. Коринова В.Ю. Влияние щелочной обработки на изменение структуры древесины / В.Ю. Коринова, Н.Г. Базарнова, Ю.А. Ольхов // Химия растительного сырья. – 2003. – № 4. – С. 17.
- 99. Langan P. A Revised Structure and Hydrogen-Bonding System in Cellulose II from a Neutron Fiber Diffraction Analysis / P. Langan, Y. Nishiyama, and H. Chanzy // J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 9940-9946
- 100. Somerville C. Cellulose synthesis in higher plants / C. Somerville // Annual Review of Cell and Developmental Biology. 2006. V. 22. P. 53.
- 101. Грушецкая З.Е. Создание специфических и вырожденных праймеров к генам сеза целлюлозосинтазы льна (linum usitatissimum l.) / З.Е. Грушецкая, В.А. Лемеш, Л.В. Хотылева // Цитология и генетика. 2010. № 4. С. 3-8