

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Il'yasov S.G., Sakovich G.V., Lobanova A.A. // Propellants, Explosives, Pyrotechnics – 2013. DOI: 10.1002/prep.201200030. – 2013. – № 38. – P. 327–334.
2. Il'yasov, S.G., Danilova E.O. Preparation of 1,3-diazido-2-nitro-2-azapropane from urea // Propellants, Explosives, Pyrotechnics. – 2012. – № 37. – P. 427–431.
3. Ильясов С.Г., Лобанова А.А., Попов Н.И., Сатаев Р.Р. Химия нитропроизводных мочевины. Взаимодействие N,N'-динитромочевины с основаниями // Журн. орг. химии. – 2002. – Т. 38, вып. 12. – С.1793-1804.
4. Пронченко Г.Е., Лекарственные растительные средства: справочник. – Москва: ГЭОТАР-МЕД. – 2002. – 288с.
5. Патент РФ №2088222 / Кучин А.В., Карманова Л.П., Рубцова С.А., Дорошева Р.И., опубли. 27.08.1997.
6. Рудаков Г.А. Химия и технология камфары. – 2-е изд., испр. и доп. – Москва.: Лесная промышленность. – 1976. – 208 с.

**Глухачева Вера Сергеевна**, научный сотрудник лаборатории синтеза высокоэнергетических соединений Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем химико-энергетических технологий Сибирского от-

деления Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН), vera2878@mail.ru, ул. Социалистическая, 1, г. Бийск, 659322, Россия. Тел. (3854) 30-69-80.

**Ильясов Сергей Гаврилович**, заместитель директора по научной работе, заведующий лабораторией синтеза высокоэнергетических соединений, доктор химических наук Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института проблем химико-энергетических технологий Сибирского отделения Российской академии наук (ИПХЭТ СО РАН), ilysow@ipcet.ru, ул. Социалистическая, 1, г. Бийск, 659322, Россия. Тел. (3854) 30-57-70.

**Брызгалов Аркадий Олегович**, кандидат биологических наук Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН), arkadiy@nioch.nsc.ru, пр. академика Лаврентьева, 9, г. Новосибирск, 630090, Россия. Тел. (383)330-07-31.

**Толстикова Татьяна Генриховна**, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией фармакологических исследований Федерального государственного бюджетного учреждения науки Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук (НИОХ СО РАН), tg\_tolstikova@mail.ru, пр. академика Лаврентьева, 9, г. Новосибирск, 630090, Россия. Тел. (383)330-07-31.

УДК 678.4:547.458.8

## СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ОКИСЛЕНИЯ ДЕКСТРАНОВ\*

В.С. Медведев, А.С. Жарков, Б.В. Певченко, Д.Ю. Глазев, Е.В. Копылов

*Получены данные по молекулярной структуре полиальдегиддекстранов (ПАД). Предложено математическое описание процесса окисления ПАД с использованием модели, учитывающей различие в энергиях окисления глюкозных колец декстрана и высокую молекулярную массу декстрана. Получены оптимальные значения параметров процесса окисления декстранов, обеспечивающих необходимую карбонильную емкость продуктов при минимальных затратах.*

*Ключевые слова: декстран, полиальдегиддекстран, окисление декстранов.*

### ВВЕДЕНИЕ

В современной медицине широкое применение нашли препараты на основе декстранов. Одним из производных веществ, перспективных для создания комплексных препаратов, является полиальдегиддекстран (ПАД).

В практике для производства ПАД применяются два метода окисления декстранов: химический – с использованием периодатов щелочных металлов, и физический – с при-

менением жесткого гамма-излучения. Преимуществом химического метода окисления декстранов является получение ПАД с различным содержанием альдегидных групп, исключая процесс деструкции полимерного остова молекулы декстрана. Физический метод получения ПАД обладает высокой технологичностью и чистотой производства. Основными недостатками при химическом методе окисления декстранов является необходимость применять трудозатратные процессы тонкой очистки

\* Работа выполнялась в рамках ГК №16.522.12.2001.

конечного продукта от неорганических йодпроизводных, при физическом методе продукты окисления обладают малой стойкостью и со временем изменяют свою структуру.

Учитывая недостатки существующих методов получения ПАД, коллективом НЦ КЭМ СО РАМН (Россия, г. Новосибирск) был разработан метод окисления декстранов перманганатом калия [1]. С целью совершенствования данного метода и нахождения оптимальных режимов технологического процесса получения ПАД в рамках государственного контракта №16.522.12.2001 по теме: «Разработка технологии и создание опытного производства окисленных декстранов» были проведены исследования параметров, влияющих на процесс окисления.

Задачами исследования являлись:

- исследование механизма реакции окисления клинических декстранов перманганатом калия, установление макромолекулярной структуры и строения окисленных глюкозных остатков ПАД;
- разработка математического описания химического превращения – окисления декстрана;
- исследование основных параметров (количество окислителя, температура, pH), влияющих на процесс окисления клинических декстранов перманганатом калия, и определение их оптимальных значений, исходя из качества получаемого продукта.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных исследований был выдвинут тезис о макромолекулярной структуре и строении окисленных глюкозных остатков ПАД. Он заключается в выделении двух различных групп глюкозных колец в структуре молекулы декстрана: первая - с низкой энергией окисления; вторая - с высокой энергией окисления. Суждение о видах предложенных групп было получено на основании компьютерной модели, состоящей из двух структур (рисунки 1 и 2), включающих в свой состав глюкозное кольцо и инертные заместители (большие серые сферы), имитирующие участки полимерной цепи декстрана.

В результате исследования механизма реакции окисления клинических декстранов, макромолекулярной структуры и строения окисленных глюкозных остатков ПАД, было предложено математическое описание процесса окисления декстранов с учетом различной энергии деструкции глюкозных колец и их макромолекулярной структуры.

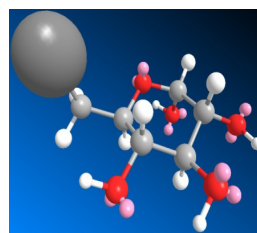


Рисунок 1 – Модель концевого глюкозного остатка

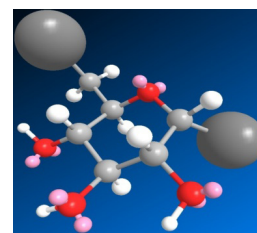
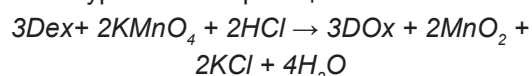


Рисунок 2 – Модель глюкозного остатка в основной цепи молекулы декстрана

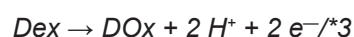
Важный параметр, принятый в рассмотрение – молекулярная масса объекта. Большинство термодинамических и кинетических законов были сформулированы на основании модели идеального газа. Как следствие, при применении классических формул термодинамики и кинетики в описании высокомолекулярной модели к конечному результату необходимо определять поправку с учетом высокой молекулярной массы.

Суммарный процесс окисления декстрана перманганатом калия в кислой среде представлен уравнением реакции:

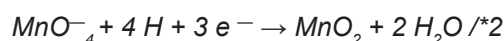


где *Dex* – декстран, *DOx* – полиальдегид-декстран.

Суммарный процесс окисления был рассмотрен как сумма двух электрохимических процессов: окисление декстрана:



и восстановление перманганат иона:



Энергия Гиббса полуреакции восстановления перманганат иона вычисляется из значения стандартного электродного потенциала и составляет  $\Delta G_{MnO_4^- / MnO_2}^0 = -492073,5$  Дж/моль.

Электрохимический процесс полуреакции окисления декстрана может быть представлен как единый процесс депротонизации и образования двух альдегидных групп с разрывом углерод-углеродной связи глюкозного кольца.

В расчет второй ступени константы кислотности  $pK_a^2 = 13,59 \pm 0,07$  глюкозного кольца программой ACDLabs/pK<sub>a</sub>dV использовались литературные данные для первой ступени  $pK_a^1 = 12,12 \pm 0,07$ . Энергию Гиббса определяли по формуле:

$$\Delta G^0 = -RT(pK_a^1 + pK_a^2) \ln 10,$$

где *R* – газовая постоянная, 8,31 Дж/моль·К; *T*

– температура, К;  $pK_a$  – константы кислотности глюкозного кольца.

Энергия Гиббса депротонизации  $\Delta G_{депр}^0$  равна 146601,7 Дж/моль.

Расчет энергии разрыва углерод-углеродной связи глюкозного кольца (таблица 1) вычисляли в программе ChemBioOffice/ChemBio3DUltra, определяя как разность полных минимальных энергий неокисленного глюкозного кольца и окисленного в виде диальдегида. При расчетах учитывали, что реакция может проходить как по второму-третьему, так и по третьему-четвертому положениям в глюкозном кольце.

Таблица 1 – Расчетное значение энергий Гиббса образования диальдегида из глюкозного кольца в молекуле декстрана

	$\Delta G_{3,4}^0$ , кДж/моль	$\Delta G_{2,3}^0$ , кДж/моль
Модель концевого глюкозного остатка	34,3903	16,7558
Модель глюкозного остатка в середине цепи	85,9003	79,6755

где  $\Delta G_{3,4}^0$  – энергий Гиббса для процесса, протекающего по положению 3 и 4 глюкозного кольца;  $\Delta G_{2,3}^0$  – энергий Гиббса для процесса, протекающего по положению 2 и 3 глюкозного кольца.

Расчет полной энергии Гиббса ( $\Delta G_{реакции}^0$ ) и константы ( $K_a$ ) реакции окисления клинического декстранов перманганатом калия проведен для двух возможных вариантов: реакции по концевому глюкозному остатку ( $\Delta G_{конц}^0$ ) и реакции по глюкозному остатку в середине основной цепи ( $\Delta G_{сред}^0$ ).

$$\Delta G_{реакции}^0 = 2\Delta G_{MnO_4^- / MnO_2}^0 + 3 \left( \Delta G_{депр}^0 + \frac{\Delta G_{2,3}^0 + \Delta G_{3,4}^0}{2} \right)$$

$$K_a = \exp \left( -\frac{\Delta G_{реакции}^0}{RT} \right)$$

$$\Delta G_{конц}^0 = -467,623 \text{ кДж/моль,}$$

$$K_{а\text{ конц}} = 9,33 \cdot 10^{81},$$

$$\Delta G_{сред}^0 = -295,978 \text{ кДж/моль,}$$

$$K_{а\text{ сред}} = 7,62 \cdot 10^{51}.$$

Различие примерно в полтора раза в порядках для значений реакции Каконц и Касред указывает на существование в молекуле дек-

страна глюкозных колец с различной энергией и склонностью к окислению, в зависимости от их местоположения в молекуле.

Для описания свойств конечного продукта процесса получения ПАД можно выбрать показатель степени полимери-зации. С учетом наличия в молекуле декстрана глюкозных колец с различной энергией окисления показатель степени полимеризации:

$$P_{сред} = 1 - \frac{\alpha n_{ox}^{лег} + \beta n_{ox}^{труд}}{n_{общ}}$$

где  $\alpha$  и  $\beta$  – коэффициенты пропорциональности для легко- и трудноокисляемых глюкозных колец, определяемые экспериментально;  $n_{ox}^{лег}$ ,  $n_{ox}^{труд}$  – количество легко- и трудноокисляемых глюкозных колец, соответственно.

Учитывая, что основной процесс можно рассматривать как реакцию псевдопервого порядка по окислителю,  $n_{ox}^{лег}$  и  $n_{ox}^{труд}$  можно определить как:

$$n_{ox}^{лег} = \exp(k_{лег} \tau),$$

$$n_{ox}^{труд} = \exp(k_{труд} \tau),$$

где  $k_{лег}$  и  $k_{труд}$  – константы скорости реакций окисления легко- и трудноокисляемых глюкозных колец;  $\tau$  – время реакции.

Константы скорости реакций окисления вычисляются из уравнения Аррениуса:

$$k_{лег} = A_{лег} \exp \left( -\frac{E_{лег}}{RT} \right),$$

$$k_{труд} = A_{труд} \exp \left( -\frac{E_{труд}}{RT} \right),$$

где  $A_{лег}$  и  $A_{труд}$  – предэкспоненциальные множители в уравнениях Аррениуса для легко- и трудноокисляемых связей в молекуле декстрана;  $E_{лег}$  и  $E_{труд}$  – энергии соответствующие легко- и трудно-окисляемым связям в молекуле декстрана.

В соответствии с предложенной математической моделью, зависимость количества окисленных глюкозных колец  $n_{ox}$  в ПАД от количества используемого окислителя  $n_{KMnO_4}$  может быть представлена в первом приближении как параметрическое линейное уравнение:

$$n_{ox} = \alpha' n_{KMnO_4} + \beta' n_{KMnO_4},$$

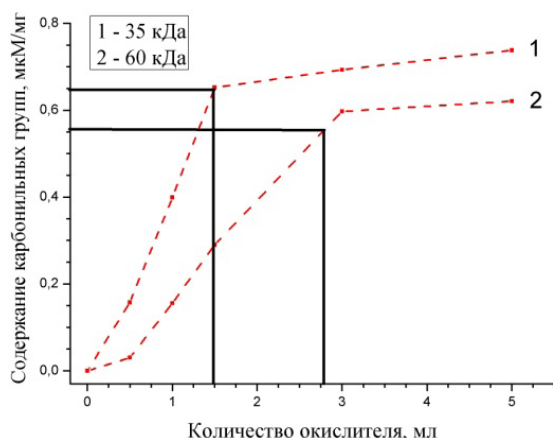
где  $\alpha'$  и  $\beta'$  – коэффициенты пропорциональности для легко- и трудно-окисляемых глюкозных колец;  $n_{KMnO_4}$  – количество окислителя в процессе окисления;

$$\begin{cases} \beta' \rightarrow 0, \text{ при } n_{KMnO_4} < n_{ox}^{лег}; \\ \alpha' n_{KMnO_4} \rightarrow const, \text{ при } n_{KMnO_4} > n_{ox}^{лег} \end{cases}$$

В результате проведенных экспериментов по окислению декстранов было установлено, что основными параметрами, влияющими на процесс, являются количество вводимого в реакцию окислителя, температура реакционной массы и кислотность среды.

Для определения оптимального количества окислителя ПАД с молекулярными массами 35 и 60 кДа с различным содержанием альдегидных групп получали, взаимодействуя водным раствором перманганата калия на 10 % раствор декстрана в присутствии 0,5 % объемных 33 % уксусной кислоты. Для окисления использовались растворы перманганата калия с концентрацией от 0,5 до 5,0 % об. Режимы окисления соответствовали выбору количества окислителя: 1 – режим низкой степени окисленности (0,5 об.%); 2 – два режима средней окисленности (1 об. % и 2 об.%) и режим высокой окисленности (5 об.%). Параметры кислотности и температуры процесса составляли  $pH \approx 5,5$  и  $T \approx 75$  °С. Нагретую реакционную массу выдерживали до выпадения коричневого хлопьевидного осадка двуокиси марганца. Раствор ПАД отфильтровывали, затем продукт выделяли осаждением двукратным избытком 95 % этилового спирта, и сушили при температуре 50 °С. Показателем качества было содержание альдегидных групп. Для их определения использовался фотометрический метод.

На рисунке 3 представлен график зависимости содержания альдегидных групп в продуктах реакции от количества используемого окислителя. Точка оптимального значения количества окислителя соответствует области выхода графиков на плато.



1 – 35 кДа; 2 – 60 кДа  
Рисунок 3 – Зависимость содержания альдегидных групп в ПАД от количества использованного окислителя

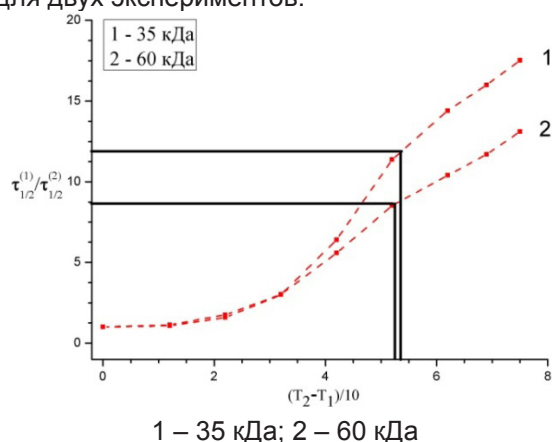
Установлено, что оптимальным количеством окислителя является 2 % об. Увеличение количества окислителя не приводит к увеличению содержания альдегидных групп, а приводит к снижению выхода конечного продукта за счет деструкции и увеличению расхода сырья без значительного улучшения производственных показателей.

Параметры процесса окисления – температура и кислотность среды определялись экспериментально. Данные о кинетических характеристиках процесса были вычислены с использованием параметра времени полуреакции.

При определении оптимального значения температуры процесса окисления было сделано допущение, что процесс протекает как реакция первого порядка. Полагая, что температурная зависимость скорости реакции описывается уравнением Вант-Гоффа, приходим к выражению для уравнения, связывающего время полуреакции и температуру:

$$\frac{V_2}{V_1} = \frac{\tau_{1/2}^{(1)}}{\tau_{1/2}^{(2)}} = \gamma^{\frac{\tau_2 - \tau_1}{10}}$$

где  $\Delta \tau = \tau_2 - \tau_1$  – разность температур реакционной массы для двух экспериментов;  $V_1$  и  $V_2$  – скорости реакции при температурах  $T_1$  и  $T_2$  соответственно;  $\gamma$  – температурный коэффициент реакции;  $\tau_{1/2}^{(1)}$  и  $\tau_{1/2}^{(2)}$  – время полуреакции для двух экспериментов.



1 – 35 кДа; 2 – 60 кДа  
Рисунок 4 – Зависимость отношения времени полуреакций процесса окисления декстранов от разности температур

Аппроксимируя экспериментальные данные зависимости отношения времени полуреакций к нормированной разности температур (рисунок 4), находим значения температурных коэффициентов  $\gamma$ :

$$\gamma_{35} = 1,85 \pm 0,07;$$

$$\gamma_{60} = 1,91 \pm 0,18.$$

Из графиков зависимости отношения времени полуреакции от параметра нормированной разности температуры процесса окисления можно сделать вывод о неьютоновском характере поведения раствора декстрана при высоких температурах (85 – 100)°С. Снижение интенсивности нарастания графиков на рисунке 5 является следствием процессов межмолекулярной агрегации декстрана и нарушением правила Вант-Гоффа. Поэтому рабочий температурный режим процесса окисления декстрана был определен как точка перегиба на графике зависимости скорости полуреакции от температуры. Оптимальная температура проведения процесса (75 – 82) °С, дальнейшее увеличение температуры сопровождается снижением темпа роста скорости реакции.

При определении параметров значения рН процесса окисления полагали, что процесс протекает как реакция псевдопервого порядка. Изменение активационного барьера реакции и константы реакции будет происходить в соответствии с уравнением для кислотного катализа Бренстеда:

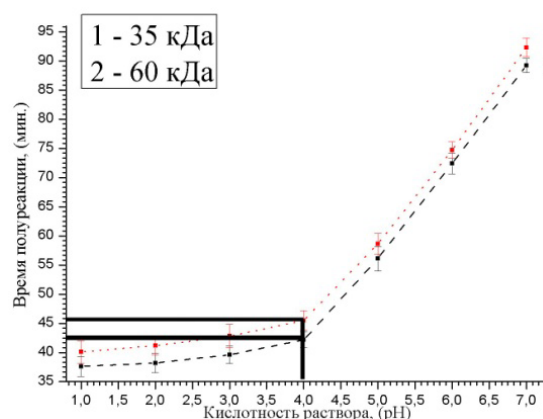
$$\lg k_a = \lg k_0 + \alpha \lg K_a,$$

где  $k_a$  - каталитическая константа реакции,  $k_0$  - константа скорости некатализируемой реакции,  $\alpha$  - константа, характеризующая реакционную серию и чувствительность скорости реакции к смене катализатора,  $K_a$  - константа кислотности кислоты-катализатора, для соляной кислоты, равная  $10^7$  моль/дм<sup>3</sup>.

Полагая, что при рН 7,0 катализ процесса окисления полностью отсутствует, получаем:

$$k_0 = \frac{\ln 2}{\tau_{pH7,0}}$$

Для декстранов со средней молекулярной массой 35 кДа получаем  $k_0^{35} = 2,05 \cdot 10^{-4} \text{сек}^{-1}$ , для декстранов со средней молекулярной массой 60 кДа получаем  $k_0^{60} = 2,95 \cdot 10^{-4} \text{сек}^{-1}$ ,  $\alpha^{35} = 0,023$ .



1 – 35 кДа; 2 – 60 кДа  
Рисунок 5 – Зависимость времени полуреакции процесса окисления от кислотности среды (рН)

Исходя из графиков на рисунке 5, можно сделать вывод, что процесс окисления целесообразно вести при рН 3,5 – 4,5.

## ВЫВОДЫ

В результате экспериментальных исследований:

- получены данные по молекулярной структуре ПАД, позволяющие определить строение молекулы ПАД и механизм реакции;
- предложено математическое описание процесса окисления ПАД с использованием модели, учитывающей различие в энергиях окисления глюкозных колец декстрана и высокую молекулярную массу декстрана;
- получены оптимальные значения параметров процесса окисления декстранов, обеспечивающих необходимую карбонильную емкость продуктов при минимальных затратах.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Способ получения диальдегид-декстрана [Текст]: пат. 011718 Евразийская патентная организация: МПК С08В 37/02 Шкурупий В.А., Троицкий А.В., Потапова О.В., Лузгина Н.Г.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр клинической и экспериментальной медицины» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2008111173; заявл. 15.05.2008; опубл. 18.02.2009, Бюл. № 2. – 6 с.

**Жарков Александр Сергеевич**, генеральный директор, член-корреспондент РАН, доктор технических наук, профессор Открытого акционерного общества «Федеральный научно-производственный центр «Алтай» (ОАО «ФНПЦ «Алтай»), post@frs.secna.ru, ул. Социалистическая, 1, Бийск, 659322, Россия. Тел. (3854) 30-58-88, факс (3854)

31-13-09.

**Певченко Борис Васильевич**, заместитель генерального директора, директор по науке, кандидат технических наук, доцент Открытого акционерного общества «Федеральный научно-производственный центр «Алтай» (ОАО «ФНПЦ «Алтай», post@frpc.secna.ru, ул. Социалистическая, 1, Бийск, 659322, Россия. Тел. (3854) 30-58-88, факс (3854) 31-13-09.

УДК 663.1 (045)

## ИССЛЕДОВАНИЕ ОКИСЛЕННОГО ДЕКСТРАНА КАК ЗАЩИТНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ СУШКИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ БАКТЕРИЙ\*

О.Н. Гора, А.С. Жарков, Б.В. Певченко, И.Н. Павлов

*Подобран оптимальный состав питательной среды для культивирования пропионово-кислых бактерий *Propionibacterium freudenreichii*. Полученная жидкая закваска с максимальным накоплением биомассы пропионовокислых бактерий высушена методом распылительной сушки. При проведении процесса подобраны защитные среды, при которых достигается минимальная гибель и сохраняется достаточное количество живых бактерий по отношению к жидкой закваске.*

*Ключевые слова: пропионовокислые бактерии, питательная среда, витамин B<sub>12</sub>, сухая закваска, распылительная сушка, защитная среда.*

### Введение

В последние годы все большее внимание уделяется созданию продуктов функционального питания, способных оказывать определенное регулирующее действие на организм в целом или на его определенные системы и органы или на их функции. Большое внимание исследователей привлекают пропионовокислые бактерии (ПКБ), отличительной способностью которых является широкий синтез витамина B<sub>12</sub> и высокие иммуногенные и антимутогенные свойства. ПКБ приживаются в кишечнике людей и способны к снижению геннотоксичного действия ряда химических соединений и УФ – лучей [1]. В связи с этим является актуальным создание препарат-пробиотиков на основе ПКБ. В этой связи одним из направлений при решении задач, направленных на оздоровление населения, являются исследования в области разработки новых эффективных пробиотических продуктов, в частности, на основе ПКБ, а также совершенствование выпускаемых форм этих препаратов и интенсификация производства для получения качественного продукта с наилучшими свойствами.

Для использования этих препаратов в пищевой промышленности необходимо создать условия для продления сроков их хранения, что определяется экономическими условиями производства. Подобные препараты приобретают различные конечные формы. Их использование возможно и в виде жидкого концентрата, и в суспензированной форме, и в виде сухих концентрированных форм. Получение препарата в той или иной форме продиктовано условиями последующего применения, наилучшего сохранения целевых свойств; поддержания микроорганизмов в биологически активном состоянии, сохранностью полезных активных веществ (аминокислоты, органические кислоты, витамины и т.д.). Не исключением является и получение сухих концентрированных препаратов.

Поэтому целью данной работы служит апробирование методики получения сухого концентрата пропионовокислых бактерий. На основе литературных данных по культивированию пропионовокислых бактерий был определен состав основной питательной среды, которая принята в качестве контрольной при последующей отработке по повышению на-