

Федеральное агентство по образованию
Тверской государственный технический университет

**Н.Ю. ГРОМОВА, Ю.Ю. КОСИВЦОВ,
Э.М. СУЛЬМАН**

**ТЕХНОЛОГИЯ СИНТЕЗА И БИОСИНТЕЗА
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

Учебное пособие
Издание первое

Тверь 2006

УДК 557.1:547.9:573.6.086.83 (075.8)
ББК 28.072 я 7+35.62 я 7+30.16 я 7

Громова Н.Ю., Косивцов Ю.Ю., Сульман Э.М. Технология синтеза и биосинтеза биологически активных веществ: Учебное пособие. Тверь: ТГТУ, 2006. 84 с.

Учебное пособие соответствует общеобразовательному стандарту ЕН.Ф.05 "Органическая химия и химия биологически активных веществ" для студентов специальности 070100 Биотехнология и может быть использовано студентами специальности 271500 Пищевая биотехнология.

Содержит основные типы природных и синтетических биологически активных веществ (БАВ), критерий, оценивающий их активность. Описываются основные технологические приемы и схемы синтеза галогенпроизводных, кислородсодержащих соединений, механизм протекания химических реакций образования этих веществ.

Приведены принципы и основные технологические стадии микробиологического синтеза БАВ.

Предназначено для студентов высших учебных заведений, обучающихся по специальностям "Биотехнология" и "Пищевая биотехнология".

Рецензенты: доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом биотехнологий Всероссийского научно-исследовательского института мелиорированных земель Г.Ю. Рабинович; профессор кафедры «Физическая и общая химия» Ярославского государственного технического университета, доктор химических наук, заслуженный деятель науки и техники РФ, академик МАН ВШ Г.Н. Кошель.

*Нина Юрьевна Громова
Юрий Юрьевич Косивцов
Эсфирь Михайловна Сульман*

**Технология синтеза и биосинтеза
биологически активных веществ**

Учебное пособие
Издание первое

Редактор Т.С. Сеницына
Корректор И.В. Шункова
Технический редактор Г.В. Комарова

Подписано в печать 8.06.06

Формат 60x84/16

Физ. печ. л. 5,25

Тираж 150 экз.

Усл. печ. л. 4,88

Заказ № 141

Бумага писчая

Уч.-изд. 4,57

С – 62

Редакционно-издательский центр
Тверского государственного технического университета
170026, г. Тверь, наб. А. Никитина, 22

ВВЕДЕНИЕ

В основе изучения предмета технологии синтеза и биосинтеза БАВ лежат знания о способах и средствах проведения производственных процессов получения биологически активных веществ (БАВ) как из простых химических соединений, так и в процессе обмена веществ в живом организме.

При разработке новых технологий синтеза и биосинтеза БАВ необходимы знания в области микробиологии, биотехнологии, биохимии, основного и тонкого органического синтеза, а также инженерных наук для промышленной реализации синтеза и биосинтеза БАВ.

Потребность в биологически активных веществах на современном этапе тесно связана с решением широкого круга проблем интенсификации производства и экологическим оздоровлением окружающей среды, а именно:

- получение новых видов продуктов различного назначения и в первую очередь препаратов профилактического и терапевтического действия;

- утилизация отходов промышленности и сельского хозяйства;

- получение экологически безопасных средств защиты сельскохозяйственных растений от болезней, вредителей, сорных растений для повышения их биологической продуктивности.

В настоящее время промышленностью производится широкий ассортимент биологически активных веществ медицинского, пищевого, сельскохозяйственного назначения (антибиотики, вакцины, ферменты, полисахариды, гормоны, гликозиды, кормовые и пищевые добавки, белки, аминокислоты, витамины, алкалоиды, пестициды, дефолианты и другие).

Многие БАВ впервые были получены из природного растительного и животного сырья путем специальной его обработки. В Древнем Риме врач Клавдий Гален (131-201гг.) использовал природные БАВ в качестве лекарственных препаратов, которые широко применяются в медицине и до настоящего времени. Такие препараты часто называют галеновыми.

Галеновые препараты, как правило, содержат комплекс химических веществ различного действия на живой организм. Для получения аналогов природных БАВ используют химические и биохимические методы.

В данном учебном пособии приведены основные типы природных и синтетических БАВ, традиционное и современное понятие БАВ и критерий его биологической активности, особенности технологии синтеза и биосинтеза лекарственных препаратов и их предшественников. Описываются основные технологические приемы и схемы синтеза БАВ и их предшественников, механизм протекания химических реакций образования этих веществ.

Данное учебное пособие преследует цель не только помочь студентам в освоении материала, приобретении глубоких знаний, но и применить на практике применения эти знания.

Учебное пособие состоит из пяти глав: 1 – классификация, структура и функции БАВ; 2 – теоретические основы синтеза БАВ; 3 – теоретические основы биосинтеза БАВ; 4 – теоретические основы биопроизводства; 5 – расчеты основных технологических показателей биосинтеза БАВ.

В главе 1 приведены основные типы природных и синтетических БАВ, традиционное и современное понятие БАВ и критерий биологической активности.

В главе 2 описываются основные технологические приемы и схемы синтеза БАВ и их предшественников, механизм протекания химических реакций образования этих веществ. Раскрыта общая методология тонкого органического синтеза.

В главе 3 приведена классификация метода биосинтеза, принципы и основные технологические стадии микробиологического синтеза, классификация методов биосинтеза БАВ.

В главе 4 рассмотрены условия подбора основного технологического оборудования, приведены основные типы ферментаторов, используемых в промышленности при получении БАВ, и показаны возможные пути управления процессами биосинтеза. Уделено внимание приготовлению питательных сред для культивирования биообъектов, особенностям их строения и развития как важному звену в технологии биосинтеза БАВ.

В главе 5 предложен регламент и порядок расчета технологических показателей, варианты исходных параметров контроля процесса биосинтеза и темы курсовых проектов.

В конце каждой главы приведены контрольные вопросы для самостоятельной проверки знаний, приведены тесты и задания повышенной сложности.

ГЛАВА 1. КЛАССИФИКАЦИЯ, СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

В основе изучения предмета технологии синтеза и биосинтеза биологически активных веществ лежат знания о способах и средствах проведения производственных процессов получения биологически активных веществ (продуктов), из исходного материала (сырья) как путем химических реакций, так и в процессе обмена веществ в живом организме.

Традиционное понятие биологически активных веществ как химических веществ, необходимых для поддержания жизнедеятельности живых организмов, их физиологической активности, не полностью отражает функции БАВ.

При изучении действия антибиотиков на живой организм и оценке их активности в работе [1] была дана оценка антибиотика как биологически активного вещества. На наш взгляд, это определение можно использовать для характеристики всех типов БАВ.

Биологически активные вещества – химические вещества, необходимые для поддержания жизнедеятельности живых организмов, обладающие высокой физиологической активностью при небольших концентрациях по отношению к определенным группам живых организмов или их клеткам, злокачественным опухолям, избирательно задерживая (или ускоряя) их рост или полностью подавляя их развитие.

За единицу биологической активности химического вещества принимают минимальное количество этого вещества, способное подавлять развитие или задерживать рост определенного числа клеток, тканей стандартного штамма (биотеста) в единице питательной среды.

В настоящее время известен широкий спектр биологически активных веществ различного назначения, которые могут быть либо получены из природных живых организмов, либо синтезированы с помощью различных химических превращений.

Природные БАВ образуются в процессе жизнедеятельности живых организмов. Они могут образовываться в процессе обмена веществ, выделяясь в окружающую среду (экзогенные) или накапливаться внутри организма (эндогенные). Эффективность синтеза БАВ зависит от физиологических особенностей живых организмов, экологических факторов.

К экзогенным природным БАВ можно отнести:

колины – органические соединения, выделяемые высшими растениями через корневую систему, вызывающие угнетение низших растений;

фитонциды – летучие органические соединения, выделяемые высшими растениями в атмосферный воздух, вызывающие гибель патогенных микроорганизмов;

антибиотики – органические вещества - продукты жизнедеятельности микроорганизмов в процессе обмена веществ, выделяющиеся в окружающую среду или накапливающиеся внутри клетки, подавляющие или угнетающие другие виды микроорганизмов;

маразмины – органические вещества, выделяемые микроорганизмами, вызывающие угнетение низших растений.

Воздействие одних живых организмов на другие за счет продуцирования БАВ называется **аллелопатией** (рис.1).

Микотоксины – биологически активные вещества, вырабатываемые грибами (рода *Fusarium*, *Aspergillus* и др.) в процессе обмена веществ, которые выделяются в организм высших растений (злаковых) при их совместном развитии, и вызывающие заболевание последних. Опасность микотоксинов связана с их устойчивостью при хранении, термической обработке, способностью быстро распространяться в органах и тканях организма, вызывая ингибирование синтеза белка, поражение сердечно-сосудистой системы, клеток костного мозга, лимфатических узлов. Многие микотоксины обладают канцерогенными свойствами.

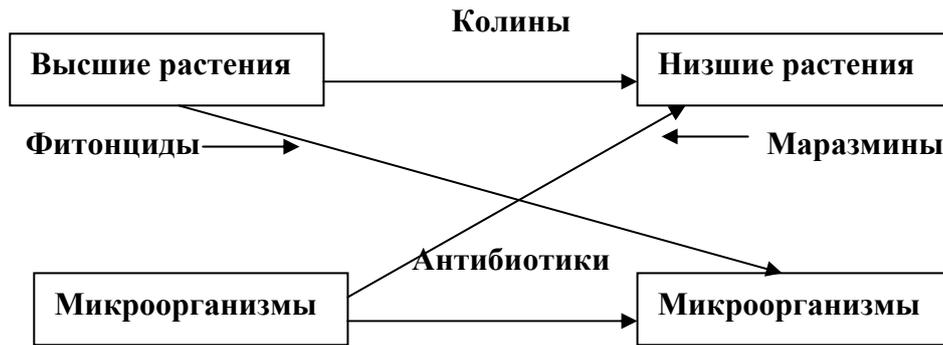


Рис.1. Схема аллелопатических взаимоотношений живых организмов

Душистые вещества – органические вещества, обладающие характерным приятным запахом.

Природные душистые вещества представляют сложные смеси различных веществ, чаще всего представлены эфирными маслами (розовое, гераниевое, лавандовое), экстрагированные из цветков растений. Душистые вещества используют для получения косметических и парфюмерных композиций. Как правило, эти экстракты содержат сложные смеси различных веществ.

Для получения стойких парфюмерных композиций необходимы стабилизаторы запаха. К природным стабилизаторам запаха относятся мускусные препараты.

К эндогенным БАВ можно отнести: белки, жиры, углеводы, аминокислоты, витамины, ферменты, гормоны, красители.

Белки – природные полимеры, молекулы которых построены из остатков аминокислот. По своему строению белки делятся на простые и сложные. **Протеины** (от греч. protas – первый, важный) представляют собой простые белки. К ним относятся альбумины, глобулины, глютемины.

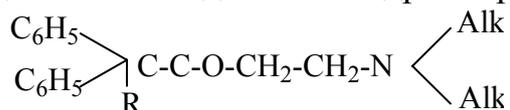
Протеиды относятся к сложным белкам, которые кроме белковых макромолекул содержат в своем составе небелковые молекулы. К ним относятся **нуклепротеиды** (кроме белка содержат нуклеиновые кислоты), **липпротеиды** (кроме белка содержат липиды), **фосфолипиды** (кроме белка содержат фосфорную кислоту). Белки играют ключевую роль в жизни клетки. Они необходимы для образования клеток, тканей организма, составляют основу биомембран, а также поддержания жизненных функций живых организмов. Белки выполняют каталитические (ферменты), регуляторные (гормоны), транспортные (гемоглобин, миоглобин), структурные (колаген, фиброин), двигательные (миозин), защитные (иммуноглобулин, интерферон) функции, позволяющие снизить риск инфекционных или стрессовых ситуаций, а также запасные (казеин, альбумин), биоэнергетические функции. В свою очередь биологическая активность белков тесно связана с аминокислотным составом. В состав белков входят 20 аминокислот и два амида (аспаргин, глутамин). Растения

и большинство микроорганизмов способны синтезировать все входящие в их состав аминокислоты из простых веществ – углекислоты, воды и минеральных солей. В организм животных и человека некоторые аминокислоты не могут синтезироваться и должны поступать в готовом виде как компоненты пищи. Такие кислоты называются незаменимыми. К ним относятся: валин, лейцин, изолейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин. Длительное отсутствие в организме хотя бы одной незаменимой аминокислоты приводит к тяжелым заболеваниям человека и животных. Все необходимые аминокислоты должны содержаться в белках в определенных соотношениях, отвечающих потребностям данного организма. Если хотя бы одна аминокислота содержится в недостатке, то другие аминокислоты, оказавшиеся в избытке, не используются для синтеза белков. Биологически полноценными считаются белки, имеющие оптимальное содержание аминокислот. Недостающее до нормы количество какой-либо аминокислоты балансируют добавлением "чистых" препаратов дефицитных аминокислот или белковой массы, имеющей более высокое содержание данной аминокислоты по сравнению с эталоном. В растениях концентрация белковых веществ варьируется в зависимости от условий выращивания, климата, погоды, типа почвы, агротехники и других. Высокой интенсивностью синтеза белков отличаются многие микроорганизмы, причем белки микробных клеток имеют повышенное содержание незаменимых аминокислот.

Витамины – низкомолекулярные органические вещества, обладающие высокой биологической активностью и выполняющие роль биорегуляторов. Биологическая активность витаминов определяется тем, что они в качестве активных групп входят в состав каталитических центров ферментов или являются переносчиками функциональных групп. При недостатке этих веществ понижается активность соответствующих ферментов и, как следствие, ослабляются или полностью прекращаются биохимические процессы, происходящие с участием данных ферментов, что приводит к серьезным заболеваниям. Организмы человека и животных не способны к синтезу витаминов. Основным источником их поступления в организм человека и животных являются растения и микроорганизмы, которые синтезируют почти все витамины (за исключением B_{12}). Почти все витамины содержат гидроксильную группу (-ОН) или карбонильную группу (-C=O). Различают жирорастворимые и водорастворимые витамины.

Жирорастворимые витамины хорошо растворяются в органических растворителях. К ним относятся витамины групп **А, Д, Е, Ф**. Для таких витаминов характерно наличие в молекуле гидрофобных заместителей. Наибольшей биологической активностью обладают незаменимые жирные кислоты – витамины группы **Ф** (линолевая, линоленовая, олеиновая, стеариновая, пальмитоолеиновая, пальмитиновая, миристиновая,

арахидоновая). Функциональная активность обычно связана с биологическими мембранами. Незаменимые жирные кислоты участвуют в процессе усвоения жиров и жировом обмене кожных покровов. При недостатке незаменимых жирных кислот снижается интенсивность роста, угнетается репродуктивная функция, понижается сопротивляемость организма инфекции. Как правило, эти кислоты содержат по 18 или 20 атомов углерода и от 2 до 4 изолированных непредельных связей с полной цис-конформацией. Эфиры и амиды этих кислот используются при синтезе спазмолитических средств. Общую формулу этих соединений можно представить в виде солей гидрохлоридов:



Водорастворимые витамины хорошо растворимы в воде. К ним относятся витамины групп **С**, **В**, **Д**.

Липиды – это сложная смесь органических соединений с близкими физико-химическими свойствами, которые участвуют в построении клеточных мембран. Являются обязательным компонентом клетки. Их общий признак – наличие в молекуле длинноцепочечных углеводородных радикалов и сложноэфирных группировок. По химической природе жиры представляют собой эфиры глицерина и жирных кислот, которые отличаются по природе жирных кислот.

В растениях жиры накапливаются в плодах и семенах, в животных и рыбах – концентрируются в подкожных жировых тканях, брюшной полости и тканях, окружающих многие важные органы (сердце, почки), а также в мозговой и нервных тканях. Длительное отсутствие в живом организме приводит к нарушению центральной нервной системы, снижается устойчивость к инфекциям, сокращается продолжительность жизни. Для извлечения липидов необходимо разрушить их связь с белками, углеводами и другими компонентами клетки. При извлечении из природного сырья липидов получают смесь, состоящую из липидов и жирорастворимых веществ (пигменты, витамины, стероиды).

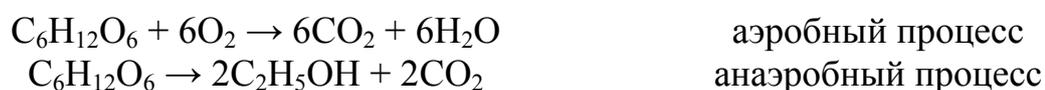
Ферменты (лат. fermentum – закваска), или **энзимы** (enzyme – дрожжи) – биокатализаторы белковой природы, ускоряющие обмен веществ в клетках и имеющие молекулярную массу от 15000 до 1000000. Различают однокомпонентные (мономерные) ферменты, состоящие только из белка ("складчатых" полипептидных цепочек), и двухкомпонентные, состоящие из белковых макромолекул и небелковых молекул. Активность фермента определяется структурой белковой части. Ферменты используются в различных областях практической деятельности человека как биологические катализаторы. Основным поставщиком ферментов долгое время были грибы. В настоящее время все более широкое применение находят ферменты бактерий. Уровни накопления ферментов в клетках могут быть повышены в 100-1000 раз путем генетического обмена

и подбора питательных сред. Культивирование продуцентов ферментов экономично только тогда, когда ферментационные циклы коротки, сравнительно дешевы питательные среды, а также высока специфичность внутри- или внеклеточных ферментных белков. Микробные ферменты используются как терапевтические средства при проведении клинических анализов, а также в качестве кормовой добавки (0,1-1,5% от сухой массы кормов) для улучшения эффективности использования растительных кормов (зерна, силоса, грубых кормов и др.) сельскохозяйственными животными, содержащих трудноперевариваемые вещества: клетчатку, лигнин, гемицеллюлозу. Так, например, у жвачных животных клетчатка переваривается на 40-65%, растительные белки на – 60-80%, липиды на – 60-70%, крахмал и полифруктозиды на – 70-80%. Кроме того, ферментные препараты используются при приготовлении кормов методом силосования для ускорения молочно-кислого брожения.

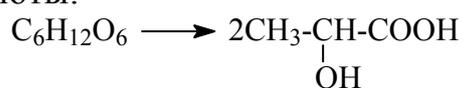
Препараты протеиназ применяются при лечении воспалительных процессов и ожогов, разрушающих некротизированные ткани, клетки, способствуя заживлению ран, а также при лечении тромбозов.

При терапевтическом лечении злокачественных новообразований используют бактериальную L-аспаргиназу, превращающую L-аспаргин, необходимый лейкозным клеткам, в L-аспаргиновую кислоту, в результате чего рост опухоли значительно замедляется. Микробные ферментные препараты находят широкое применение в ветеринарии для лечения и диагностики многих заболеваний сельскохозяйственных животных и птиц (сальмонеллез и популороз у птиц, эндометриты у коров и другие).

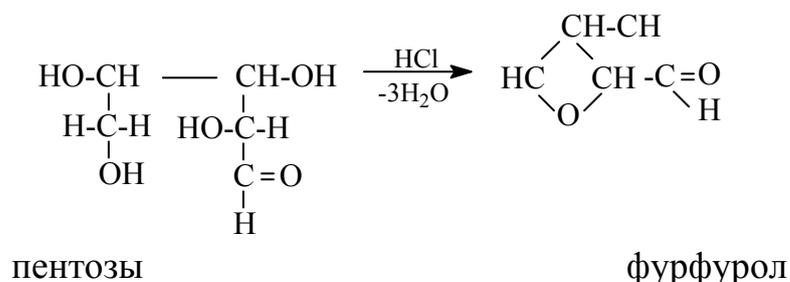
Углеводы образуются в растениях в пластидах в процессе фотосинтеза под действием квантов солнечной энергии из углекислого газа, воды, минеральных солей благодаря ассимиляции хлорофилла. По химическому строению углеводы делятся на *моносахариды* и *полисахариды*. Наибольшей биологической активностью обладают моносахариды, которые являются сильными восстановителями. В природных условиях моносахариды в присутствии ферментов распадаются до углекислого газа, воды или спирта (дыхание). При этом выделяется большое количество тепла:



При молочно-кислом брожении углеводы распадаются до молочной кислоты:



В кислой среде при нагревании моносахариды теряют три молекулы воды, образуя летучее вещество фурфурол. Гексозы гидролизуются до оксиметилцеллюлозы:



Углеводы выполняют пластические функции (входят в состав тканей и жидкостей), защитные (гепарин предотвращает свертывание крови в сосудах). При длительном отсутствии углевода глюкозы в крови происходит нарушение поведения, бред, потеря сознания, структурные изменения в мозге и в конечном итоге может наступить смерть. Полисахариды (крахмал, клетчатка, пектиновые вещества) относятся к так называемым балластным веществам. Они ускоряют процесс выведения из организма токсичных продуктов.

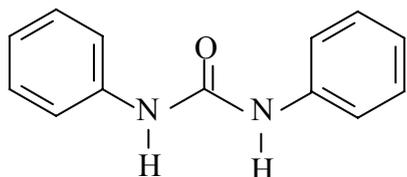
Наибольшей биологической активностью обладают производные моносахаридов – *гликозиды*, молекулы состоят из остатков моносахаридов и спиртов, ароматических соединений, стероидов. В семенах черной горчицы, корнях хрена содержится *гликозид синиргин*, придающий им специфический запах и горький вкус. В косточках персика, абрикоса, слив, вишен, яблок, груш, семенах горького миндаля, листьях лавровишни содержится *гликозид амигдалин*. При ферментативном гидролизе гликозидов образуются моносахариды и соответствующие несахаридные составляющие, многие из которых токсичны.

Фитогормоны – вещества, которые синтезируются в растениях в процессе обмена веществ, транспортируются по ним и способны вызывать ростовые или формативные эффекты (деформации), так называемые регуляторы роста и развития растений, или *фиторегуляторы*. Фитогормоны играют важную роль в реализации наследственной программы и адаптации к меняющимся условиям среды, отвечают за формирование и развитие стебля, листа и корня, ускоряя дифференцирование клеток, клеточные деления, образование новых тканей и органов, темпы роста и развития растений, их продуктивность и качество урожая. Гормональные эффекты реализуются путем конформационных изменений белковых молекул (варьирование формы и пространственной структуры) за счет образования гормоно-рецепторного активного комплекса. Такие белки могут функционировать как рецепторы фитогормонов, выполняя роль преобразователя сигнала между рецептором и определенной ферментативной системой. Большинство фитогормонов образуется из органических кислот, в частности аминокислот. Биологические особенности транспортировки фитогормонов заключаются в том, что, образовавшись в одном органе (например, в апикальной меристеме стебля), они должны регулировать рост в другом органе (корне). Ускорение или замедление роста начинает проявляться при

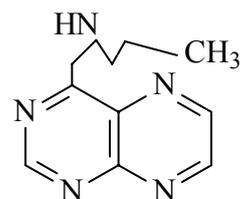
концентрации 10^{-13} - 10^{-7} М. По физиологическому действию фитогормоны подразделяют на ауксины, цитокинины, гиббереллины, абсцизовую кислоту, этилен, брассиностероиды. Фитогормональными свойствами обладают некоторые органические кислоты (жасминовая, салициловая), олигосахариды, полиамины, фенольные соединения.

Ауксины имеют химическое строение природного ауксина индолил-3-уксусной кислоты (ИУК). Образуются из аминокислоты триптофана. Физиологические эффекты связаны с его действием на клеточном уровне, которое проявляется в регуляции растяжения, деления и дифференцирования, изменении положения различных органов растений (тропизм), что обусловлено разной скоростью растяжения клеток латеральных сторон осевых органов из-за неодинакового содержания в них ауксина. Под действием ауксина отмечается формирование проводящих флоэмных и ксилемных элементов в каллусной ткани.

Цитокинины стимулируют деление клеток, задерживают старение листьев, регулируют формирование хлоропластов на ранних стадиях развития листа, а также рост и деление клеток листа за счет стимулирования синтеза хлоропластных РНК и белков, участвуют в регуляции транспирации листьев, открывая устьица и тем самым повышают устойчивость клеток растения к различным неблагоприятным экологическим факторам (температуре, недостатку воды, повышенной засоленности, воздействию фитонцидов, рентгеновскому излучению). К природным цитокининам относится химическое вещество *зеатин*, выделенное из незрелых семян кукурузы. В настоящее время получено 12 разновидностей цитокининов, близких по своему строению к зеатину. Наибольшей биологической активностью обладают дифенилмочевина и ее производные:



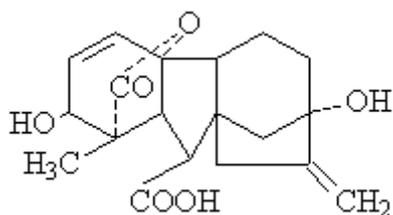
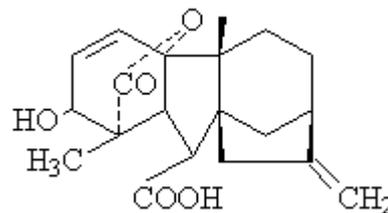
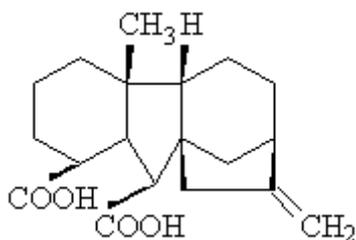
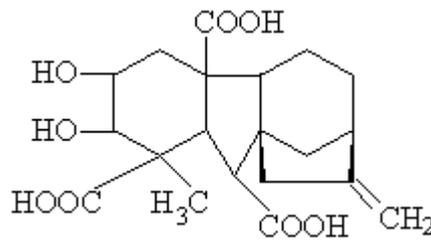
дифенилмочевина



6(4-окси-3-метилбут-транс-2-этиламино)пурин (зеатин)

Время полураспада зеатина составляет в зависимости от вида растения и его органа от 6 до 20 ч. Скорость разрушения в молодых тканях ниже, чем в старых.

Гиббереллины – продуценты микромицетом патогенного гриба *Gibberella fujicuroi*, вызывающие чрезмерный вегетативный рост риса. Присутствуют во многих видах растений. Представляют собой терпиноиды.

гибберелловая кислота (ГК₃)(ГК₇)(ГК₁₂)(ГК₄₃)

Синтезируются в растении из мевалоновой кислоты. Деструкция в растительной клетке происходит двумя путями: гидроксированием и образованием гликозидов, глюкозидовых эфиров и др. соединений, не обладающих физиологической активностью. Физиологическое действие проявляется в стимулировании ростовых процессов за счет растяжения клеток и повышения митотической активности меристематических тканей, что обусловлено усилением синтеза материала клеточной стенки. Дефицит гиббереллинов может привести к карликовости растений за счет нарушения ферментативного процесса биосинтеза этих фитогормонов. Игруют роль в процессах перехода к формированию генеративных органов к цветению.

Этилен - газообразный фитогормон, стимулирует опадание листьев и нарушает фототропизм проростков гороха, содержится в газообразных выделениях хранящихся яблок. Синтезируется в растениях из аминокислоты метионина. Этот фитогормон относится к экзогенным БАВ. Способностью к биосинтезу этилена, которая усиливается при травмах или стрессовых воздействиях на растения, обладают практически все живые клетки растения. Этилен способен вызывать изодиаметрическое деление клеток (утолщение), что связано с изменением ориентации микротрубочек, вследствие чего вновь синтезируемые микрофибриллы целлюлозы располагаются вдоль новой оси растяжения. В отличие от ауксина вызывает формирование отдельного слоя, то есть приводит к опаданию листьев, цветков, завязей и плодов. Под действием этилена прекращается индуцированное ауксином растяжение клеток, подавляется митотическая активность, блокируется транспорт ауксина, стимулируется синтез фитогормона *абсцизовой кислоты*.

Абсцизовая кислота – ингибитор, блокирующий процессы роста, стимулируемые ауксинами, цитокининами, гиббереллинами.

Брассиностероиды относятся к малоизученным фитогормонам. По физиологическому действию близки к действию других фитогормонов. Специфическое действие связано с регуляцией роста семян.

Гормоны растений влияют на синтез, распад и транспорт друг друга. Изменение уровня одного из компонентов фитогормональной системы приводит к изменению всей системы (рис.2). Знание механизмов фитогормональной регуляции важно при управлении развитием растений.



**Рис.2. Схема взаимодействия фитогормонов:
повышение, понижение уровня гормона**

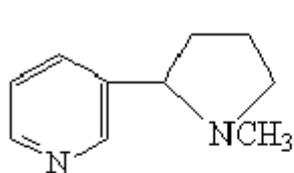
Пестициды – это ядовитые органические и неорганические химические соединения, токсичные для живых организмов.

Яды – вещества, которые при поступлении в организм различными путями (через дыхательные органы, кожу, пищеварительный тракт) в незначительных количествах способны вызывать нарушение его жизнедеятельности, переходящее при определенных условиях в болезнетворное состояние, отравление.

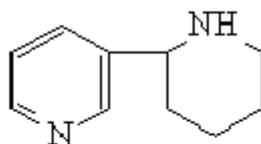
По воздействию на живые организмы пестициды делятся на *инсектициды* (губительно действуют на вредных насекомых), *гербициды* (губительно действуют на сорные растения), *фунгициды* (губительно действуют на фитопатогенные грибы).

Биологическая активность пестицидных препаратов определяется физико-химическими свойствами действующего химического вещества: структурой, реакционной способностью, летучестью, растворимостью в воде, липидах.

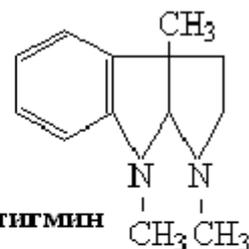
Инсектицидным действием обладают многие химические соединения, выделенные из растений: алкалоиды (никотин, анабазин, физостигмин); пиретрины (из цветков далматской ромашки), ротенон.



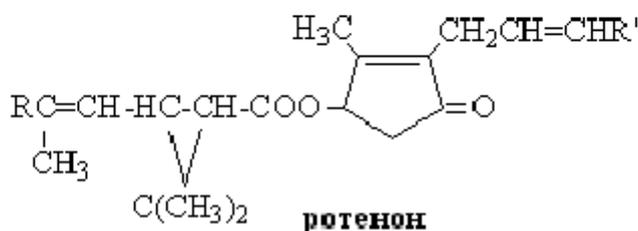
никотин



анабазин



физостигмин



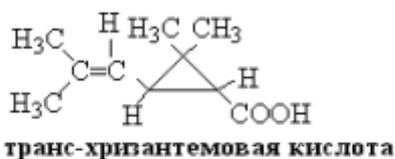
ротенон

пиретрин I	R - CH ₃	R' - CH=CH ₂
пиретрин II	R - COOCH ₃	R' - CH=CH ₂
цинерин I	R - CH ₃ ;	R' - CH ₃
цинерин II	R - COOCH ₃ ;	R' - CH ₃

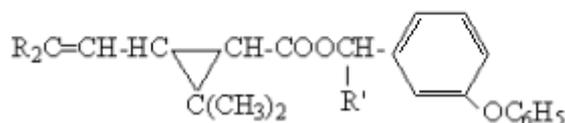
Синтетическим аналогом природных инсектицидных пиретринов являются пиретроиды, из которых наиболее изучены эфиры тран-схризантемовой кислоты (декаметрин перметрин, циперметрин и другие).

Пиретроиды при эффективных концентрациях малотоксичны для человека, что делает их конкурентоспособными препаратами.

Механизм биологического действия пиретроидов связан с деполяризацией натриевых каналов нервных мембран и специфическим выключением мембранных АТФ_{фаз}.



тран-хризантемовая кислота



перметрин	R - Cl; R' - H
циперметрин	R - Cl; R' - CN
декаметрин	R - Br; R' - CN

Лекарственные препараты являются биологически активными веществами эндо- или экзогенной природы, законодательно разрешенные для профилактики и лечения заболеваний человека. Эти вещества при определенных концентрациях должны оказывать четко выраженные

бактерицидное, антисептическое, наркотическое, дезинфицирующее и другие действия.

Терапевтический эффект лекарственных препаратов определяется дозой. При определенных дозах лекарственные препараты могут привести к отравлению или смерти. Терапевтическое действие оказывают и БАВ, образующиеся в организме растений, животных и человека (алкалоиды, гормоны, витамины, антибиотики).

Контрольные вопросы для самостоятельной проверки

1. Что понимают под биологически активными веществами?
2. Что принимают за критерий биологической активности веществ?
3. Все ли продукты жизнедеятельности, образующиеся в результате обмена веществ живых организмов, являются биологически активными?
4. Какие принципы положены в основу классификации БАВ?

ГЛАВА 2. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СИНТЕЗА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

Биологически активные вещества представляют собой сложные органические соединения, активность которых зависит от структуры молекулы и расположения функциональных групп.

Среди широкого спектра БАВ особый интерес представляют лекарственные вещества, главная особенность которых заключается в том, что они предназначены для введения внутрь организма человека или животных и необходимы для поддержания жизнедеятельности живых организмов и их физиологической активности. При синтезе этого типа БАВ необходимо учитывать требования, которые предъявляет к ним медицина.

Биологическая активность лекарственных препаратов связана с изменениями функций организма, которые могут нарушаться или оставаться неизменными. При попадании в организм биологические системы (органы, ткани) активно взаимодействуют с лекарственными препаратами в процессе обмена веществ, претерпевая ряд превращений на пути его действия с образованием метаболитов. Взаимодействие может происходить в водной (биологические жидкости) или в липофильной (биологические мембраны) среде. В этом случае следует учитывать фактор среды.

В ряде случаев метаболиты могут быть значительно активнее лекарственного препарата и способны привести к терригенным (воздействие на плод), мутагенным, канцерогенным изменениям в организме. Поэтому для использования лекарственных препаратов следует учитывать не только дозу, но и фактор времени.

Механизм действия лекарственного препарата в живом организме складывается из трех стадий:

- 1) проникновение в место расположения мишени;
- 2) распознавание мишени и химическое взаимодействие с ней по принципу сродства (аффинности);
- 3) активизация мишени в результате структурных изменений при взаимодействии с лекарственными препаратами.

Под *мишенью* понимают акцепторы, рецепторы, ферменты, клеточные органеллы, клетки, ткани, органы, функциональные системы.

Это обуславливает особые требования к чистоте получаемых веществ, к отсутствию в них токсичных примесей.

Технология синтеза таких соединений имеет свои особенности.

2.1. Общие закономерности синтеза БАВ

Общая методология тонкого органического синтеза БАВ

В промышленном масштабе наибольшее значение имеют химический и микробиологический методы.

Химический метод синтеза БАВ носит название тонкого органического синтеза, отличительными особенностями которого являются: многостадийность получения веществ; необходимость тщательной очистки; небольшие объемы производства; большой ассортимент; высокая стоимость продуктов синтеза.

В основу выбора способа синтеза БАВ должны быть положены знания о механизме химических реакций, свойствах, используемых для синтеза химических предшественников, сведения о рациональных методах их получения и очистки. Обычно в каждом синтезе можно выделить четыре части:

- 1) выбор источников сырья (соединений – предшественников);
- 2) разработка химической схемы синтеза БАВ;
- 3) выбор метода очистки целевого соединения;
- 4) идентификация БАВ.

Методы, используемые в тонком органическом синтезе, обеспечивают получение сложных органических соединений из более простых предшественников. Для промышленного производства продуктов тонкого органического синтеза очень важно найти наиболее удобный, безопасный и дешевый способ получения таких предшественников.

Выбор источников сырья. Правильный выбор является одним из определяющих моментов в синтезе.

Наиболее важными источниками сырья являются продукты первичной переработки угля, нефти и природного газа. Так, при химической переработке угля получают ароматические углеводороды (бензол, толуол, ксилол, нафталин) и газообразные оксиды углерода. При крекинге и реформинге нефти получают алифатические, ациклические, ароматические и гетероциклические углеводороды, из природного газа – метан, этан, пропан, бутан, пентан, гексан, высшие парафины.

Последующие превращения первичных продуктов угле-, нефте- и газопереработки приводят к таким веществам, как спирты, фенолы, альдегиды, кетоны, кислоты.

Для производства минерального сырья используют преимущественно рудные ископаемые. Минеральное сырье применяют для производства неорганических солей (KI, $KMnO_4$). Для получения БАВ используются также растительные и животные материалы.

Очень важный вклад в сырьевую базу внесло производство синтез-газа, из которого получают метанол, высшие углеводороды (синтез Фишера – Тропша). Из монооксида углерода получают фосген, муравьиную кислоту, из метана – циановодородную кислоту, сероуглерод и хлорпроизводные.

Многие синтезы соединений-предшественников основаны на использовании ацетилена, который в свою очередь получают из дикарбида кальция термоокислительным пиролизом метана или крекингом углеводородов жидких нефтяных фракций.

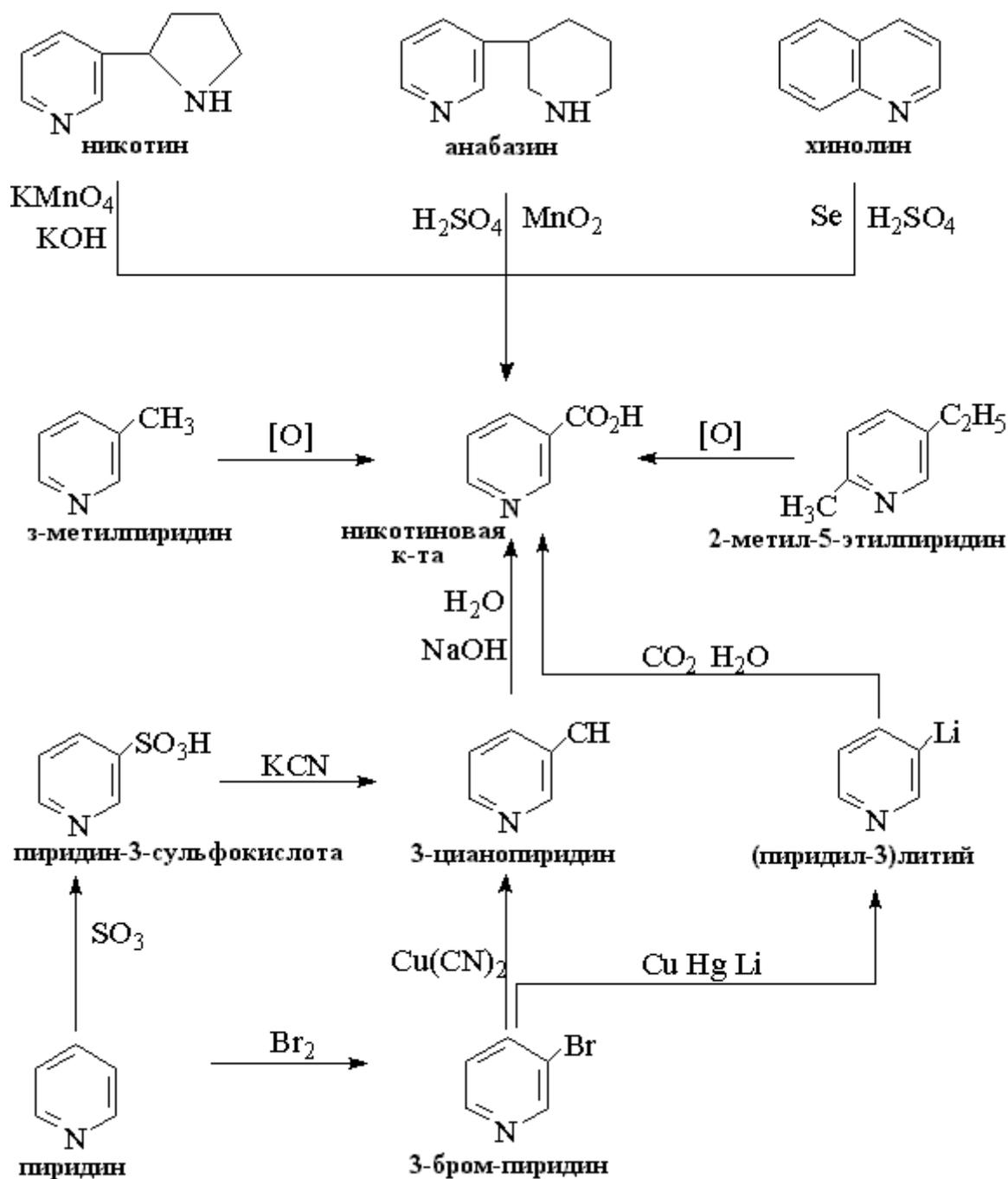
Более сложные исходные соединения получают переработкой сельскохозяйственного, лесохимического и микробиологического сырья (жиры, масла, крахмал, белки и т. д.). Доступность и стоимость одного и того же вида сырья может меняться с течением времени вследствие разных причин, поэтому при разработке новых синтезов важно учитывать прогнозы по производству соединений-предшественников.

Разработка химической схемы синтеза. Наиболее сложным является создание химической схемы получения вещества. Обычно начинают с рассмотрения структуры целевого соединения и анализа известных химических реакций, которые могут привести к нему исходя из более простых соединений-предшественников. При этом возможны две принципиально отличные друг от друга ситуации. Если метод синтеза целевого соединения неизвестен, в этом случае основная задача состоит в подборе химической реакции или сочетания нескольких химических реакций, которые могут привести к данному соединению. Если же возможны несколько схем синтеза, то задача сводится к выбору наиболее рационального пути. Естественно, что в первом случае задача более трудна и синтез не всегда заканчивается успешно.

Рассмотрим на конкретном примере синтеза никотиновой кислоты (витамина РР) решение этих двух задач.

Никотиновая кислота является пиридинкарбоновой-3 (3-пиридинкарбоновой) кислотой. Первый синтез никотиновой кислоты был осуществлен из никотина (алкалоид табака) с использованием реакции окисления. Это наиболее очевидный путь, поскольку исходное соединение содержит пиридиновое кольцо и заместитель в положении 3, который может быть окислен. Аналогичным путем никотиновая кислота *была* получена из алкалоида анабазина (выделяемого из растения *Anabasis arhylla*). Однако эти способы не могли быть положены в основу про-

мышленного получения никотиновой кислоты, поскольку оба алкалоида являются сильными ядами, а их количества, добываемые из растительного сырья, невелики.



Впоследствии были осуществлены синтезы из пиридина путем введения в него таких заместителей, как сульфогруппа и бром. Сульфогруппу заменяли на цианогруппу, которую затем омыляли до карбоксильной группы. Переход от 3-бромпиридина в никотиновой кислоте осуществлен через литиевое производное с введением карбоксильной группы

действием CO_2 и H_2O . Оба синтеза являются многостадийными, что снижает общий выход никотиновой кислоты.

Более перспективными оказались синтезы, основанные на окислении алкилпиридинов – 3-метилпиридина (β -пиколин) и 2-метил-5-этил-пиридина, а также хинолина. При окислении 5-пиколина перманганатом калия в щелочной среде выход никотиновой кислоты составляет 77%; в более жестких условиях возможно увеличение выхода до 92%.

При выборе промышленного способа синтеза необходимо учитывать доступность реагентов, их стоимость, состав образующихся продуктов, возможность утилизации отходов. При использовании реакции окисления более предпочтительны каталитические методы.

При синтезе более сложных веществ трудности возрастают. Особенно сложны синтезы оптически активных веществ.

Все многообразие химических превращений, с которыми приходится иметь дело в процессах тонкого органического синтеза, можно объединить в несколько групп, каждая из которых характеризуется общими приемами проведения химических реакций: 1) превращения имеющихся в молекуле заместителей; 2) введение новых заместителей; 3) элиминирование заместителей; 4) циклизация; 5) перегруппировки; 6) проведение регио- и энантиоселективных реакций.

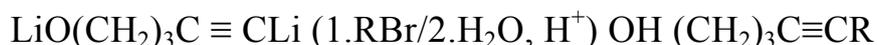
В пределах каждой группы обычно используют несколько типовых процессов. Так, при превращениях имеющихся заместителей широко применяют реакции окисления, восстановления и конденсации, для введения новых заместителей – реакции галогенирования, сульфирования, нитрования, нитрозирования, алкилирования и ацилирования.

Из реакций элиминирования, обычно используемых для образования ненасыщенных связей, наиболее часто применяют реакции удаления галогенов, галогеноводородов (реакции Зайцева), расщепление четвертичных аммониевых оснований (реакция Гофмана). Для построения циклических систем используют реакции конденсации, протекающие обычно с выделением воды, спиртов, галогеноводородов и других соединений или путем раскрытия ненасыщенных связей (реакция Дильса – Альдера, синтезы на основе ацетиленов и др.).

Перегруппировки позволяют получать соединения с определенным расположением заместителей (перегруппировка Клайзена, пинаколиновая перегруппировка и др.), уменьшать число углеродных атомов в молекуле (перегруппировки Гофмана, Курциуса, Лоссеня) или наращивать углеродную цепь (перегруппировка Вольфа в реакции Арндта – Эйстерта).

Проведение регио- и энантиоселективных синтезов достигается путем направленного воздействия на определенные реакционные центры подбором соответствующего реагента, условий реакции или изменения механизма реакции.

Региоселективностью называют предпочтительное протекание реакции по одному из нескольких возможных реакционных центров молекулы. Например, алкилирование дилитиевого производного пентин-4-ола в жидком аммиаке протекает региоселективно исключительно по атому углерода:



Энантиоселективностью называют предпочтительное образование в процессе реакции одного энантиомера. Энантиомеры – это стереоизомеры, которые относятся друг к другу как несимметричный предмет к своему зеркальному изображению. Они вращают плоскость поляризованного луча в противоположные стороны, но на один и тот же угол. Наиболее часто в тонком органическом синтезе используют соединения с хиральным атомом углерода, имеющим четыре различных заместителя. У такого атома отсутствуют элементы симметрии и его называют также асимметрическим.

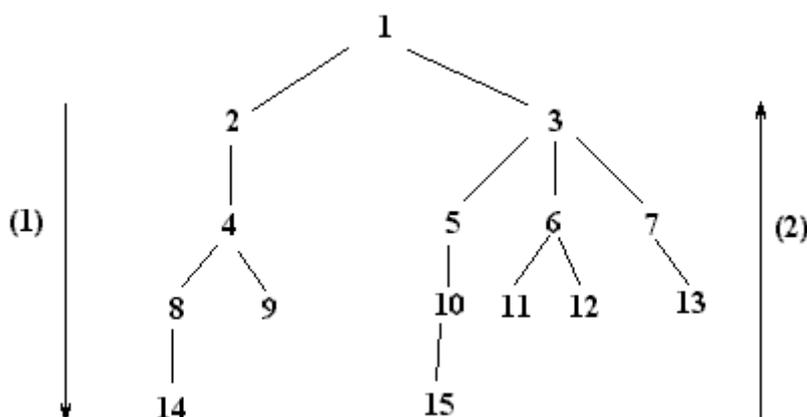
Если при синтезе образуется молекула с хиральным атомом углерода, то получают смесь энантиомеров (1:1), которые обычно выделяются в виде рацемического соединения. Для получения чистого энантиомера необходимо расщепление рацемического соединения; выход энантиомера не может превышать 50%. Поэтому всегда заманчива идея получения энантиомера путем асимметрического синтеза (направленное получение одного энантиомера). К сожалению, пока известно немного таких синтезов, имеющих промышленное применение. Наиболее часто эффект асимметрического синтеза достигается в результате применения оптически активных катализаторов.

При разработке химической схемы синтеза требуется рассмотреть большое число вариантов, поэтому для этой цели целесообразно использовать ЭВМ.

Планирование и поиск путей синтеза органических соединений с помощью ЭВМ получило название компьютерного синтеза. Первая программа компьютерного синтеза была предложена Э. Е. Кори и У. Уипке. В последующие годы были созданы программы, позволяющие осуществлять компьютерный синтез, основываясь на различных описаниях структуры соединений и химических реакций, выбранных в качестве основных критериев для программирования.

Единая терминология компьютерного синтеза еще не разработана. Постановка задачи формулируется как создание «дерева синтеза» из соединений-предшественников. Заданное соединение или набор соединений называют химической системой (ХС). Формализованный подход к построению «дерева синтеза» («дерева реакций») реализуется в виде графа, вершины которого соответствуют исходным, промежуточным и

конечным соединениям, а ребра – химическим реакциям, в ходе которых осуществляются взаимопревращения этих соединений, например:



1 – конечное (целевое) соединение; 2 – 13 – промежуточные соединения; 14, 15- соединения-предшественники

Существуют два подхода к решению задачи:

1) ретросинтетический – от целевого соединения к возможным предшественникам; 2) прямой – от соединений-предшественников к целевому соединению.

При ретросинтетическом подходе в химическую систему входит одно соединение, при прямом – одно или несколько соединений.

Построение «дерева синтеза» осуществляют путем введения структуры соединения в заданную химическую систему. Программа генерирует набор предшественников (14, 15) заданной ХС, опираясь на эмпирические и логические инструкции, заложенные в нее. Данная процедура может быть повторена для всех или некоторых структур, генерированных на отдельной стадии, пока не будут выполнены заданные условия.

Построение «дерева синтеза» может осуществляться без вмешательства пользователя (неинтерактивно) или с обращением за помощью к человеку в трудных ситуациях при использовании диалогового режима (интерактивно).

Ввод структуры ХС практически во всех программах осуществляется в виде рисунка с помощью специальных графических устройств. Общим для всех программ является представление структуры в виде химического мультиграфа и его матрицы смежности; при этом учитываются типы атомов в заданной химической системе и связи между атомами, в том числе кратные связи.

В некоторых программах используют так называемые таблицы связанности, основанные на матрице смежности соответствующего мультиграфа и содержащие дополнительную информацию о заданной химической системе (описание стереохимических особенностей, зарядов на атомах и другие сведения).

Для составления программы необходим банк данных и библиотек. Так, программа *SYNCHEM* (*Synthetic Chemistry*; Х. Гелентер, США) использует данные каталога фирмы *Aldrich*.

В соответствии с характером информации, закладываемой в компьютерный синтез, различают: 1) эмпирический компьютерный синтез, в котором трансформация заданной химической системы осуществляется на основе закодированных сведений об известных органических реакциях; 2) неэмпирический компьютерный синтез, в котором трансформации генерируются логико-комбинаторным путем без привлечения фактических сведений.

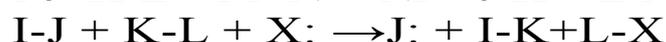
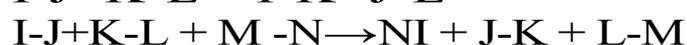
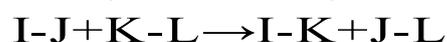
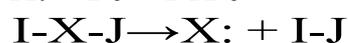
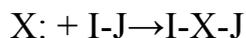
В первом случае химические реакции должны быть заранее собраны в виде библиотеки, во втором случае для поиска трансформаций используют набор логических инструкций или комбинаторный алгоритм, непосредственно генерирующий трансформации.

Под трансформацией понимают перераспределение связей; путем анализа определяют приоритетность (рейтинг) описываемой трансформации.

В программу могут быть заложены сведения об условиях реакции (температура, вспомогательные реагенты), а также библиографические ссылки. Такие сведения имеются в программах *LHASA* (*Logic and Heuristic Applied to Synthetic Analysis*; Е. Кори, США) и *SECS* (*Stimulation and Evaluation of Chemical Synthesis*; У. Уипке, США).

В программе *REACT* (*Reaction Path Synthesis Program for the petrochemical industry*; Р. Говинд, Г. Пауэре, США) большое внимание уделено описанию технологических условий для успешного осуществления конкретных процессов.

Для описания трансформаций используют различные приемы, классифицируя их по каким-либо характерным признакам. Так, в программе *EROS* используются пять генераторов реакций, которые в совокупности описывают большинство органических реакций:



где I, J, K, L, M, N – реакционные центры, т. е. атомы, связи между которыми изменяют свой порядок на единицу. Разрыв связи в генераторе реакции может означать как разрыв, так и уменьшение порядка связи в заданной химической системе; образование связи отражает как образование новой связи, так и увеличение кратности имеющейся связи. Центр X: соответствует атому, изменяющему в ходе реакции свою валентность на две единицы, например карбенному центру в реакции присоединения карбена.

Программа *ASSOR* (*Allgemeines Simulation System Organischer Reaktionen*; В. Шуберт, ФРГ) оперирует только четырьмя трансформациями (основными реакциями):

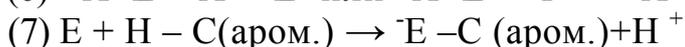
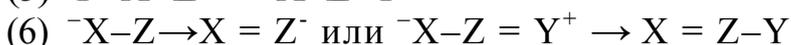
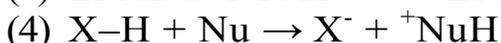
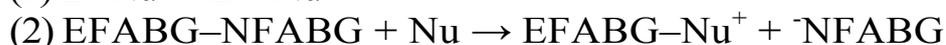
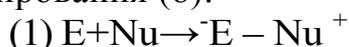
окисление – восстановление:



диссоциация – ассоциация:



В программе *AHMOS* (*Automatisierte Heuristische Modelierung Organisch-Chemischer Synthesen*; А. Вайзе, ГДР) рассматриваются трансформации, соответствующие процессам присоединения (1), замещения (2), диссоциации (3), протонирования (4), секстетной перегруппировке (5), поляризации (6), электрофильного замещения (7) и элиминирования (8):



где E – электрофил; Nu – нуклеофил; EFABG и NFABG – соответственно электрофугная и нуклеофугная уходящие группы; X, Y, Z – другие реакционные центры (Z – секстетный атом).

Оригинальная классификация органических реакций положена в основу программы *SYNGEN* (*Synthesis Generation*; Дж. Хендриксон, США). Она основана на утверждении, что большинство органических реакций можно представить как изменение непосредственного окружения при одном или нескольких атомах углерода при переходе от исходных соединений к продуктам реакции или при ретросинтезе от заданной химической системы к предшественникам.

Предлагаются четыре типа связей: 1) тип H – σ -связь с атомом водорода или атомом, менее электроотрицательным, чем водород; 2) тип R – σ -связь с другим атомом углерода; 3) тип П – π -связь с другим атомом углерода; 4) тип Z – σ - или π -связь с атомом, более электроотрицательным, чем водород.

Число связей каждого типа обозначается соответственно h , σ , π , z . Очевидно, что $h + \sigma + \pi + z = 4$; сумму $f = \pi + z$ называют функциональностью атома углерода.

В данной схеме любая реакция будет определена, если указано изменение окружения на всех атомах углерода при переходе от одной химической системы к другой. Для одного атома углерода эти изменения

обозначают двумя буквами: первая характеризует тип образующейся связи, вторая – тип разрывающейся связи. Таким образом, возможно всего $4 \cdot 4 = 16$ типов структурных изменений для атома углерода.

Все органические реакции Хендриксон разделяет на три класса. К первому относятся конструктивные реакции, т.е. реакции, в результате которых происходит изменение скелета органического соединения. Конструктивные реакции включают три типа структурных изменений: RH, RP, RZ. Ко второму классу относятся реакции перефункционализации (введение, удаление и изменение функциональных групп), включающие девять типов структурных изменений: HH, HZ, ZH, ZZ, PH, PZ, HP, ZP, PP. Остальные четыре типа изменения окружения на атомах углерода включают деструктивные реакции и в программе не используются.

Из всех конструктивных реакций в данной программе используются только такие, в ходе которых образуется одна σ -связь C–C, а изменение окружения происходит не более чем на трех атомах углерода в цепи по обе стороны от образующейся связи. Для всех таких реакций, а также для реакций перефункционализации в программе хранятся в закодированном виде списки инструкций, которые обеспечивают выполнение необходимых трансформаций в заданной химической системе. Эти инструкции называют также полуреакциями.

Примером использования логико-комбинаторного пути для описания трансформаций в компьютерном синтезе является программа ФЛАМИНГО (*FLAMINGOES – Formal Logical Approach to Molecular Inter-conversions Non-empirical Generation, Orientation and Evaluation of Syntheses*; Н. С. Зефирова, СССР).

Универсальность компьютерной программы ФЛАМИНГО достигается вследствие использования общего комбинаторного алгоритма, в ходе которого могут быть генерированы самые различные химические реакции или стадии реакции, в том числе совершенно новые и малоизученные процессы. Данная программа может быть использована для компьютерного синтеза, изучения перегруппировок, предсказания механизмов сложных многоступенчатых реакций. При использовании программы наиболее важные типы органических реакций формально описываются как результат циклического перераспределения связей (ЦПС) в исходной химической системе, в результате которого образуется конечная химическая система. Иллюстрация данного положения дана на примере реакции Дильса – Альдера.

Критерии отбора трансформаций в компьютерном синтезе могут базироваться на различных стратегиях в зависимости от поставленной задачи и принципа составления программы. Наиболее типичные стратегии:

- 1) стратегия применимости – поиск в библиотеке трансформаций (БТ);
- 2) стратегии, ориентированные на трансформации (присоединение протона, депротонирование);

- 3) структурно-ориентированные стратегии (определение структурных фрагментов);
- 4) топологические стратегии – трансформации с разрывом одной или нескольких связей, приводящие к значительному упрощению структуры исходной химической темы;
- 5) стереохимические стратегии – создание определенной конфигурации всех стереоцентров;
- 6) стратегии, ориентированные на функциональные группы (введение и удаление защитных групп).

Для получения БАВ химическим способом используют следующие методы проведения химических реакций:

- превращение имеющихся в молекуле заместителей (реакции окисления, восстановления, конденсации);
- введение новых заместителей (реакции галогенирования, сульфирования, нитрования, нитрозирования, алкилирования и ацилирования);
- элиминирование заместителей для образования ненасыщенных связей;
- циклизация путем раскрытия ненасыщенных связей или проведением реакции с выделением воды, спирта, углеводов и др;
- перегруппировки позволяют получать соединения с определенным расположением заместителей путем уменьшения числа углеводородных атомов в молекуле или путем наращивания числа углеводородной цепи;
- проведение регио- или энантиоселективных реакций связано с направленным воздействием на определенные реакционные центры путем подбора реагентов, условий реакции или изменением механизма реакции.

Выбор метода очистки целевого соединения зависит от агрегатного состояния полученных целевых соединений, которые могут содержать примеси, снижающие качество полученного продукта. Для жидких соединений очистку проводят путем перегонки, ректификации, молекулярной дистилляции. Кристаллические соединения подвергают кристаллизации из растворителей. Для более тщательной очистки используют хроматографические методы (ионообменные, на *твердых* адсорбентах).

Идентификация целевого продукта проводят для оценки его качества.

С этой целью сначала определяют физико-химические константы (температуру кипения, температуру плавления, показатель преломления, плотность и т.д.), а затем подтверждают структуру целевого соединения спектральными методами (УФ-, ИК-, ЯМР), масс-спектрометрией, рентгеноструктурным анализом.

2.2. Технология синтеза БАВ алифатического ряда

Ациклические соединения представляют собой органические соединения с открытой цепью. К ним относятся **алифатические** (греч.

алифар – жир) углеводороды **алканы** (или парафины), которые широко распространены в окружающей природной среде: входят в состав нефти, природного газа. В связи с тем что методы тонкого органического синтеза БАВ основаны на получении сложных органических веществ из более простых, возникает необходимость поиска безопасных и дешевых способов получения таких предшественников.

В основу выбора того или иного предшественника должны быть положены знания о механизмах химических реакций, а также сведения о физико-химических свойствах, структуре этих соединений.

Одним из приемов проведения химических реакций является введение новых заместителей (галогенирование, сульфирование, нитрование, нитрозирование, алкилирование и ацилирование).

2.2.1. Технология синтеза галогенпроизводных углеводородов

Галогенпроизводные БАВ токсичны. Токсичность повышается с увеличением числа атомов галогена в молекуле органического соединения и проявляется в возникновении наркотических свойств. Наркотическое действие бромо- или йодопроизводных проявляется в меньшей степени, чем у хлоропроизводных. Среди хлоропроизводных метана наибольшее применение в медицине нашли хлористый метилен и хлороформ в качестве наркотических лекарственных препаратов. Галогенирование часто используют в синтезе БАВ. В зависимости от условий проведения синтеза галогенирование можно осуществлять с помощью реакций **замещения** атома водорода в молекуле органического соединения или **присоединения** атома галогена.

Закономерности хлорирования при замещении атомов водорода в молекулах углеводородов метанового ряда раскрыты в классических работах В.В. Марковникова (10 правил хлорирования).

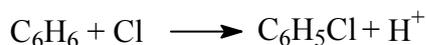
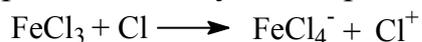
При **термическом хлорировании** взаимодействие хлора с алифатическими или ароматическими углеводородами протекает по цепной реакции. Под действием тепловой или лучистой энергии молекула хлора диссоциирует на атомы, которые затем взаимодействуют с углеводородом, при этом отщепляется хлористый водород и образуется свободный углеводородный радикал. Углеводородный радикал, реагируя с другой молекулой хлора, образует хлорпроизводные углеводорода, а один атом хлора освобождается. Далее реакция протекает по цепному механизму:



Хлоропроизводные углеводородов образуются и при взаимодействии углеводородов с другими хлорсодержащими соединениями: хлористым сульфуром (SO_2Cl_2), фосгеном (COCl_2), хлорной медью (CuCl_2).

Каталитическое хлорирование парафиновых углеводородов протекает при более низких температурах, чем термическое. Катализаторы ускоряют образование дихлоропроизводных и продуктов полного замещения атомов водорода хлором. В качестве катализаторов применяют хлориды меди, сурьмы, олова, кремния, железа, йода, серы, нанесенные на высокопористые материалы (активный уголь, пемза, силикагель и др.). Наиболее активный катализатор CuCl_2 .

Сущность каталитического действия хлорида железа заключается в его способности вызывать распад молекулы хлора на разноименные ионы:



Регенерация хлорида железа протекает по реакции



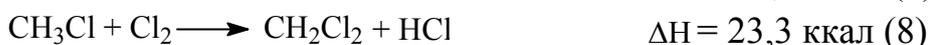
Благодаря тому что хлорное железо хорошо растворимо в хлорированных углеводородах, образование ионов хлора происходит по всей реакционной массе. Поэтому процесс идет равномерно и быстро.

Хлорирование метана

При непосредственном хлорировании метана не удастся получить какое-либо одно индивидуальное хлоропроизводное соединение, так как реакция экзотермическая и протекает с высокой скоростью, поэтому нельзя допускать превышения температуры 400°C во избежание местных перегревов. В интервале температур $500 - 550^\circ\text{C}$ может произойти взрыв.



Как правило, при хлорировании метана и других углеводородов получается смесь всех четырех хлоропроизводных и выделяется большое количества тепла ($\Delta H = -95,2$ ккал):



Создавая определенные условия проведения процесса хлорирования, можно направить реакцию в сторону образования преимущественно одного из этих хлоропроизводных. При большом мольном избытке метана и температуре 400°C и выше образуется хлористый метил (CH_3Cl). Реакция протекает за 5-10 с. Время контакта зависит от исходного соотношения $\text{Cl}_2:\text{CH}_4$. Для образования четыреххлористого углерода (CCl_4) требуется избыток хлора. Однако при глубоком хлорировании трудно осуществить

эффективный отвод тепла. Поэтому в промышленности часто прибегают к ступенчатому хлорированию. Для этого проводят термическое хлорирование и получают хлористый метил и хлористый метилен, а затем эти продукты фотохимически хлорируют до хлороформа и четыреххлористого углерода. Технологическая схема хлорирования метана приведена на рис.3.

Основными реакционными аппаратами в данной схеме являются реакторы (хлораторы) для термического или химического хлорирования (рис.4).

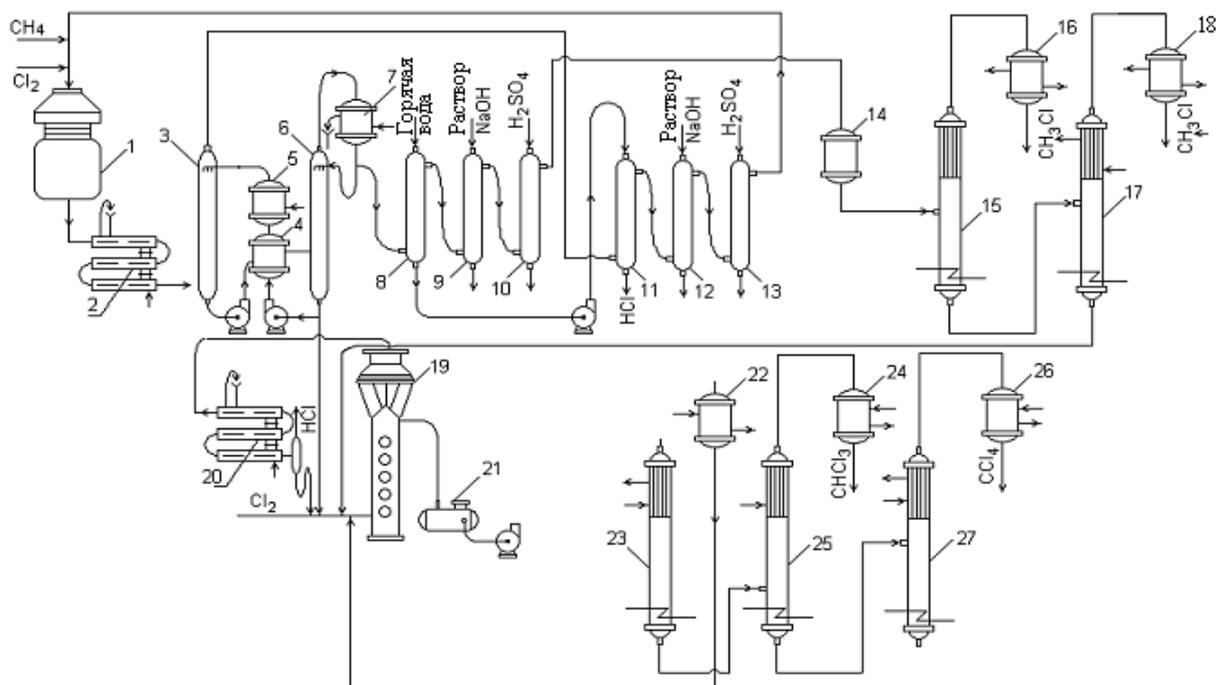


Рис.3. Схема получения хлорзамещенных метанов: 1, 19 – хлораторы; 2, 5, 20 – холодильники; 3 – абсорбер; 4 – теплообменник; 6 – десорбер; 7 – дефлегматор; 8, 9, 10, 11, 12, 13 – скрубберы; 14, 16, 18, 22, 24, 26 – конденсаторы; 15, 17, 23, 25, 27 – ректификационные колонны; 21 – сборник

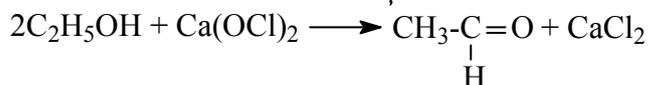
Хлорирование кислородсодержащих соединений

Большой практический интерес представляет метод окислительного хлорирования углеводородов гипохлоритом кальция или хлорной известью.

Синтез хлороформа

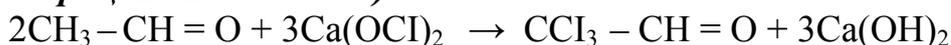
В промышленности при хлорировании этанола или ацетона гипохлоритом кальция или хлорной известью получают хлороформ (см. рис.2 на с. 22). Процесс хлорирования идет в три стадии.

1. Окисление этанола до ацетальдегида:

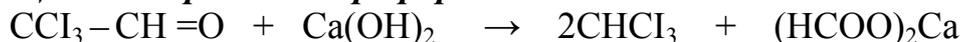


2. Хлорирование ацетальдегида до хлораля

(трихлорацетальдегида):



3. Превращение хлораля в хлороформ:

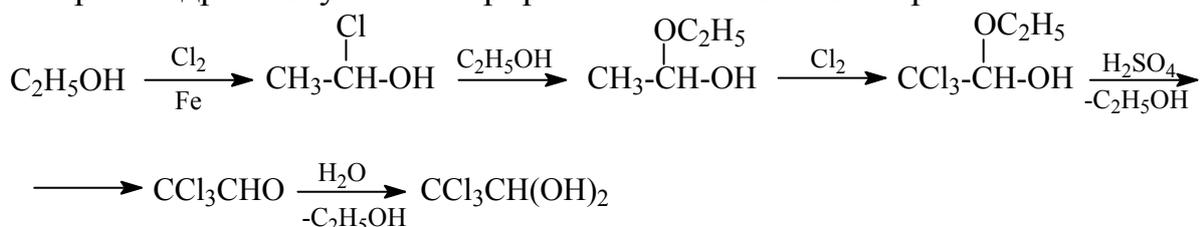


Суммарная реакция:

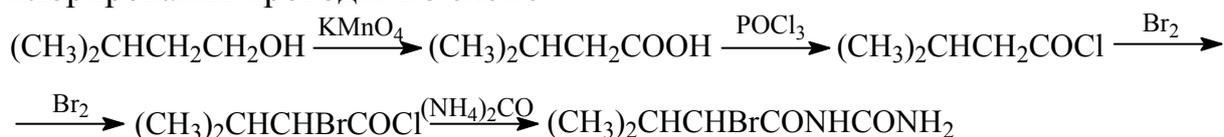


Синтез хлоральгидрата

Хлоральгидрат получают хлорированием этилового спирта по схеме

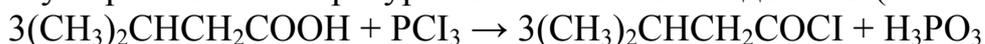


Синтез бромурала N-(1-бромизовалерианил) - мочевины Бромурал относится к уреиду одноосновной α -монобромизовалерьяновой кислоты. Используется как успокаивающее снотворное действие. Процесс хлорирования проводят по схеме

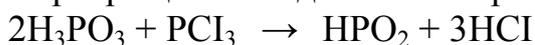


Изложение технологического процесса

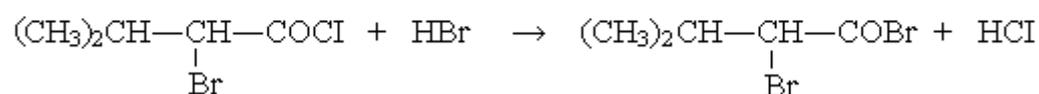
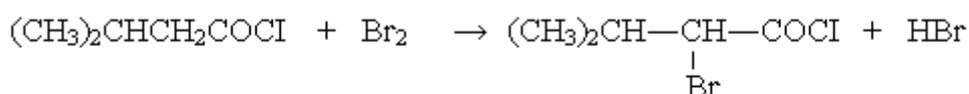
При действии треххлористого фосфора на изовалерьяновую кислоту получают хлорангидрид изовалерьяновой кислоты и фосфористую кислоту. При этом температура повышается от 40 до 98⁰С (на 10⁰ в час).



При избытке треххлористого фосфора может происходить образование метафосфорной кислоты. Поэтому реакцию прекращают после прекращения выделения хлористого водорода, который улавливают.



После отстаивания реакционной массы более тяжелую фосфористую кислоту сливают в нижний штуцер. Полученный хлорангидрид изовалериановой кислоты, не выгружая из аппарата, бромуют жидким бромом при 60⁰С. При этом получают смесь, состоящую из хлорангирида и бромангирида α -бромизовалериановой кислоты:



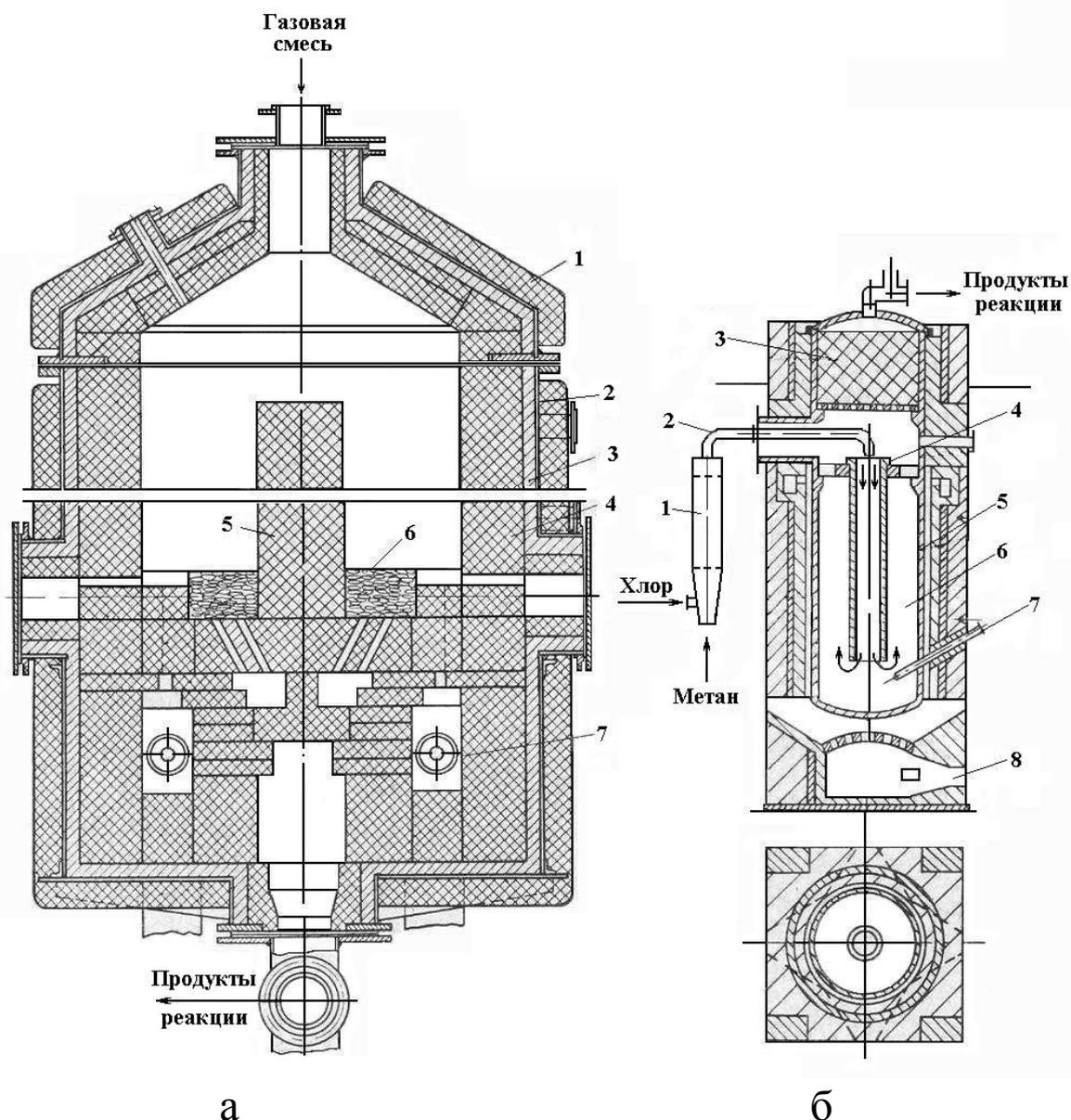
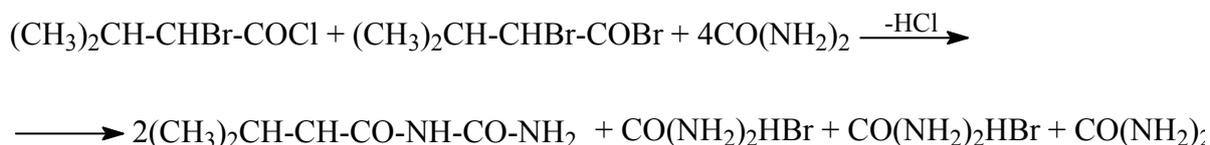


Рис.4. Реакционные аппараты для термического хлорирования метана:
 а: 1- асбестовая изоляция; 2 – стальной корпус; 3 – диабазовые плитки; 4 – шамотный кирпич; 5 – насадка из шамотного кирпича; 6 – керамические кольца (50x50 мм); 7 – горелки;

б: 1- смеситель; 2 – труба для ввода смеси; 3 – насадочные кольца; 4 – диффузор; 5 – футеровка; 6 – реакционная камера; 7 – термопара; 8 – топка

Для десорбции HCl и HBr реакционную массу нагревают до 90°C и выдерживают несколько часов. Кислые газы улавливают раствором щелочи. Полученную в результате бромирования смесь хлорангидрида и бромангидрида обрабатывают мочевиной, которую загружают в аппарат постепенно, так как реакция ацилирования мочевины экзотермична. Температура за время реакции повышается от 55°C до 80°C .



После окончания реакции массу разбавляют водой и бромурал отфильтровывают на центрифуге. Полученный технический бромурал очищают перекристаллизацией из изопропилового спирта.

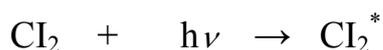
Чистый бромурал представляет собой белый кристаллический порошок горьковатого вкуса со слабым запахом, $t_{\text{пл}} = 145-150^\circ\text{C}$, плохо растворим в воде (1:450), хорошо растворим в спирте и эфире.

При производстве бромурала в отделении бромирования должна быть повышенная кратность воздухообмена, а также утилизация брома.

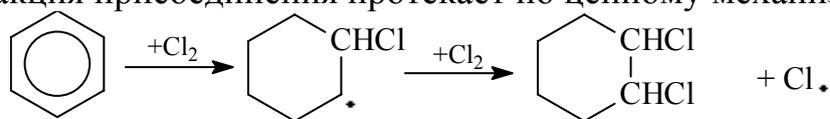
Маточные растворы, содержащие бромиды, обрабатывают серной кислотой, а выделившийся бромистый водород окисляют хлором до брома. Полученный технический бром очищают перегонкой и снова используют в производстве.

Хлорирование углеводородов методом присоединения

Реакции присоединения хлора проводят фотохимическим способом в отсутствие катализатора. Для облучения реакционной смеси используют ртутно-кварцевые лампы. При хлорировании бензола в реактор вводят бензол и хлор противотоком при температуре 40°C . Реакция идет не сразу. Вначале хлор растворяется в бензоле, а затем через 5-10 минут под действием облучения начинается реакция присоединения хлора. Образование активных радикалов происходит по следующим механизмам:

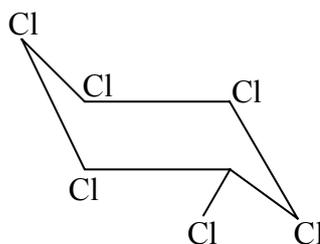


Далее реакция присоединения протекает по цепному механизму



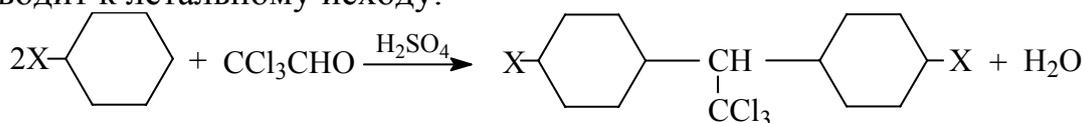
дихлорид

Хлорирование происходит ступенчато с последовательным присоединением хлора и образованием монохлорида-, дихлорида-, трихлорида бензола и в конечном итоге гексахлорида или гексациклогексана, γ -изомер которого обладает инсектицидными свойствами. Получаемый этим способом хлорпроизводный технический продукт носит название гексахлоран и, как правило, содержит 92-97% и более гексациклогексана, небольшие количества изомерных хлорпроизводных бензола (гептахлорциклогексанов $-\text{C}_6\text{H}_5\text{Cl}_7$ и октахлорциклогексанов $-\text{C}_6\text{H}_4\text{Cl}_8$), 0,7% бензола и 0,5% влаги. В техническом гексахлоране содержится 12-14% γ -изомера.



Промежуточный продукт монохлорбензол используют для получения фенола, инсектицидных препаратов (ДДТ), салициловых препаратов.

При конденсации хлорбензола с хлоралем в присутствии концентрированной серной кислоты или олеума получают сильный **инсектицид** ДДТ (2,2,2-трихлор-1,1 бис(4-хлорфенил) этан или дихлор дифенил этан). Биологическое действие проявляется в губительном воздействии на малярийных комаров. Данный препарат нетоксичен по отношению к теплолюбивым, устойчив в природных условиях, обладает способностью накапливаться в жировых тканях животных и молоке. Впервые был синтезирован в 1939 году швейцарским ученым Паулем Мюллером, который за это открытие был удостоен Нобелевской премии. Применение ДДТ в Южных странах позволило за короткий период резко снизить численность малярийных комаров и ликвидировать очаги массового заболевания малярией, которое трудно поддается лечению и приводит к летальному исходу.

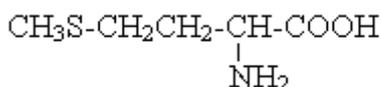


X – Cl (ДДТ)

X - OCH₃ (инсектицид легче поддается биоразложению)

2.2.2. Технологии синтеза кислородсодержащих БАВ

Введение гидроксильной группы в молекулу углеводорода увеличивает наркотические свойства вещества. Однако увеличение числа гидроксильных групп в молекуле приводит к уменьшению этих свойств. Физиологическое действие и токсичность нормальных первичных спиртов возрастает с увеличением длины углеводородной цепи до 6-8 атомов, а затем падает. Аналогичная зависимость обнаружена у спиртов с разветвленной углеводородной цепью. Особой токсичностью обладает метиловый спирт. Это связано с образованием в организме формальдегида и муравьиной кислоты. *Метиловый спирт* используют для синтеза метилмеркаптана как предшественника незаменимой аминокислоты – метионина. Метионин оказывает стимулирующее действие на рост растений и находит широкое применение и как лекарственный препарат, и в качестве кормовой добавки для ускорения роста домашних птиц.



метионин

Метиловый спирт используют и при получении формалина. Наркотическое действие алифатических спиртов проявляется при длительном вдыхании паров и усиливается в ряду:

первичные < вторичные < третичные.

Спирты, имеющие в молекуле кратные связи, являются, как правило, более сильными наркотиками, но при этом увеличивается и токсичность спирта. В государственной фармакопее используют этиловый спирт, хлорбутанол гидрат, глицерин.

Этиловый спирт применяют как дезинфицирующее средство в хирургии, при инъекциях, как лекарственный препарат – для приготовления настоек, экстрактов. Кроме того, этиловый спирт используется как предшественник для получения инсектицидных препаратов, например: тиофоса.

Хлорбутанол гидрат (1.1.1- трихлор-2 метилпропанол-2) применяют внутрь в качестве противорвотного средства, снотворного, а также в качестве наружного средства при лечении ран, язв, воспалительных процессов.

Глицерин используется для приготовления мазей в качестве растворителя лекарственных препаратов.

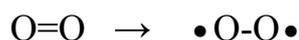
Окисление парафиновых углеводов

Спирты, альдегиды, кетоны и органические кислоты (от муравьиной до высших кислот) могут быть получены неполным окислением парафиновых углеводов. В качестве окислителя чаще всего используют технический кислород и воздух, иногда – озон, водяной пар, диоксид азота. Окисление парафинов проводится в жидкой или газовой фазе в присутствии катализатора или без него. Низкомолекулярные углеводороды окисляют в газовой фазе, а высокомолекулярные – в жидкой фазе. При низкотемпературном синтезе углеводов ($t \leq 400^\circ\text{C}$) образуются спирты, альдегиды, кетоны, кислоты. При высокотемпературном окислении углеводов ($t \geq 400^\circ\text{C}$) происходит разрыв связей -С-С- и при этом образуются кислородсодержащие соединения с меньшим числом углеродных атомов, чем в исходном углеводороде.

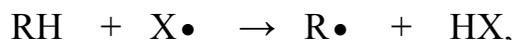
Механизм окисления углеводов

Молекулы кислорода в обычных условиях неактивны. Активными они становятся после образования атомарных бирадикалов. Активизация молекул кислорода может осуществляться путем разрыва двух связей либо путем разрыва одной связи. По второму пути процесс активизации молекул происходит легче.





Инициирование реакции окисления углеводородов начинается с разрыва связи С-Н и образования перекисного радикала:



где RH – исходный углеводород;

X• -свободный радикал.



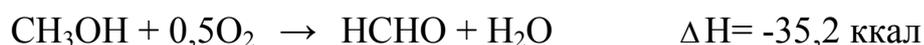
Обрыв цепи чаще всего происходит по реакции



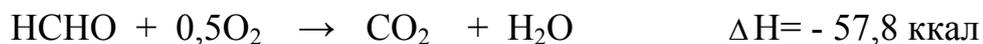
Трудноокисляющиеся вещества носят название акцепторов, а легкоокисляющие – индукторов.

Окисление метана

При неполном окислении метана вначале образуется метиловый спирт и формальдегид по следующим схемам:



Так как формальдегид окисляется легче, чем метан, процесс окисления идет дальше с образованием муравьиной кислоты, а затем двуокиси углерода и воды:



При окислении метана в присутствии катализатора (платины или палладия) получается муравьиная кислота. Скорость реакции настолько велика, что выделить промежуточные продукты (формальдегид и метиловый спирт) не удастся. Для получения формальдегида применяют катализатор на основе соединений меди или марганца. В этом случае процесс окисления задерживается на стадии образования промежуточных продуктов. Полное окисление метана можно предотвратить путем пропускания газовой смеси (метана и кислорода) через контактную массу с

очень большой скоростью. Это делается для удаления продуктов реакции из зоны высоких температур.

Полное окисление метана можно также предотвратить путем регулирования температуры и давления.

Процесс окисления метана протекает с образованием метилового спирта, если поддерживать в реакторе давление 106 атм, температуру 340⁰С и большой избыток метана в газовой фазе (СН₄: О₂ = 9:1). Степень окисления метана составляет 22%, причем 17% метана окисляется в метанол, а 0,75% – в формальдегид. Остальное количество окисляется до двуокиси углерода и воды.

Механизм неполного окисления метана при атмосферном давлении

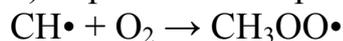
Реакция протекает по цепному механизму.

Основная цепная реакция протекает по схеме:

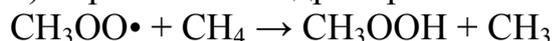
1) распад молекулы метана (зарождение цепи)



2) образование перекисного радикала



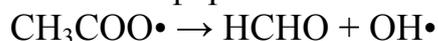
3) образование гидроперекиси метила



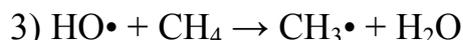
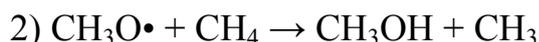
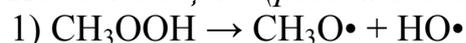
4) разложение гидроперекиси метила



При низком давлении перекисный радикал может распадаться с образованием формалина:



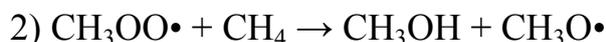
Побочные цепи (разветвление цепи):

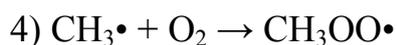
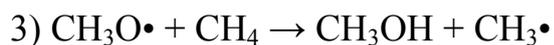


Обрыв цепи наступает при взаимодействии радикалов друг с другом, примесями, образуя малоактивные радикалы, или при соударении со стенками сосуда.

Механизм окисления метана при высоком давлении

На образование перекисного радикала давление не оказывает влияние.





Синтез альдегидов (формальдегида) методом окислительного дегидрирования спиртов (метилового)

Формальдегид (альдегид муравьиной кислоты) выпускается в виде 40%-ного водного раствора. Обладает высокой токсичностью, относится к протоплазматическим ядам. Вдыхание паров формальдегида высокой концентрации может привести к гнойному воспалению легких. ПДК паров в воздухе рабочей зоны 1,0 мг /м³. Биологическая активность проявляется при свертывании белков. 40%-ный раствор формалина используют при консервировании анатомических и биологических препаратов для придания тканям упругих свойств, а также как дезинфицирующее средство при протравливании семян (убивает споры головни). Кроме этого, формальдегид используется как исходное сырье (предшественник) для получения пластмасс (наилон, капрон), взрывчатых веществ, фармацевтических препаратов.

Механизм каталитического окисления



Одновременно могут протекать реакции дегидрирования метанола и окисления водорода кислородом:



В качестве катализатора используют чистые металлы (Cu или Ag), изготовленные в виде металлической сетки или осажденные на пористом носителе (пемзе). Температура в процессе окисления поддерживается 600-650⁰С. Выход формалина составляет 82-92%. В нем содержится 10% метанола.

При использовании окисных катализаторов (железомолибденовые с присадками окислов Mg, Mn, Cd. Температура процесса – 300–400⁰С. Выход формальдегида – 90%. Содержание метанола – 1,0%.

Существует множество вариантов технологического оформления процесса. Однако все методы основаны на пропускании смеси паров метилового спирта с воздухом над катализатором при нагревании (рис.5).

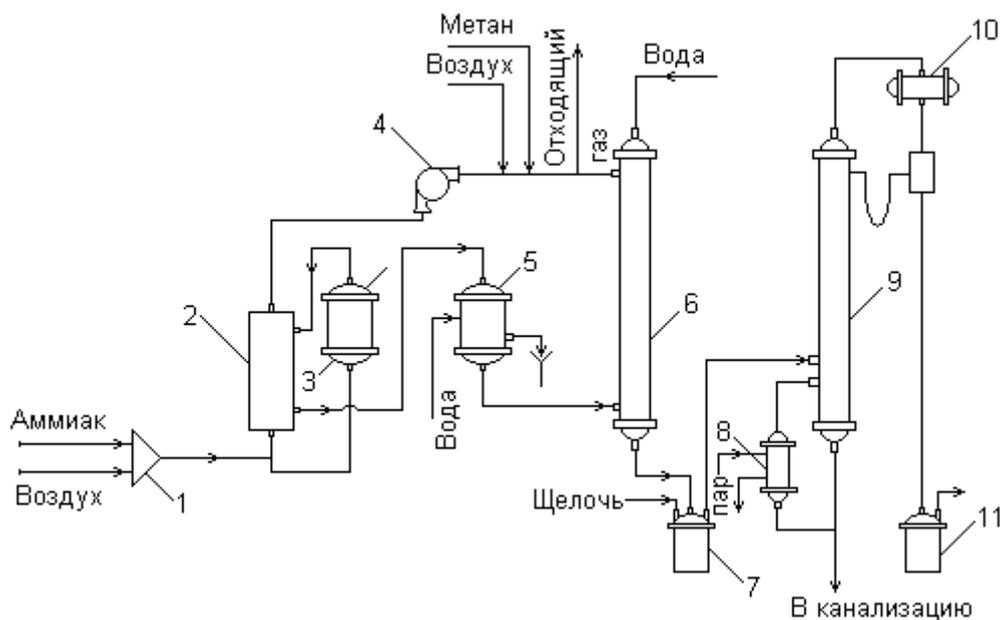


Рис.5. Технологическая схема производства формальдегида окислением метана кислородом воздуха в присутствии гомогенных катализаторов (окислов азота): 1 – горелка; 2 – теплообменник; 3 – реактор; 4 – газодувка; 5 – водяной холодильник; 6 – водяной скруббер; 7 – емкость для нейтрализации раствора формальдегида; 8 – выносной кипятильник; 9 – ректификационная колонна; 10 – дефлегматор; 11 – сборник формалина

Технологическая схема процесса синтеза формальдегида путем окисления метилового спирта представлена на рис.6.

Описание технологического процесса

Метиловый спирт через мерник подают в испаритель обогреваемый глухим паром (110°C) или горячей водой. Одновременно через испаритель подают очищенный воздух, нагнетаемый воздуходувкой при $45\text{--}50^{\circ}\text{C}$. На этом этапе важно поддерживать *постоянный состав паровоздушной смеси* (0,5 г метилового спирта в 1 л паровоздушной смеси).

При повышенном содержании паров спирта протекают более интенсивно побочные реакции.

При пониженном содержании спирта образуется взрывоопасная смесь.

После испарителя смесь поступает в подогреватель для избежания конденсации паров спирта из паро-воздушной смеси, а затем подается в контактный аппарат. Для инициирования реакции на входе газа в слой катализатора производят "запал" (резкий скачек температуры).

Продукты реакции, выходящие из контактного аппарата, охлаждают в холодильнике до $100\text{--}130^{\circ}\text{C}$. При более низких температурах охлаждения может идти полимеризация формальдегида.

Далее контактный газ пропускают через два последовательно соединенных абсорбера: 10 – орошаемый водой; 8 – орошаемый разбавленным раствором формальдегида, поступающего из абсорбера 10.

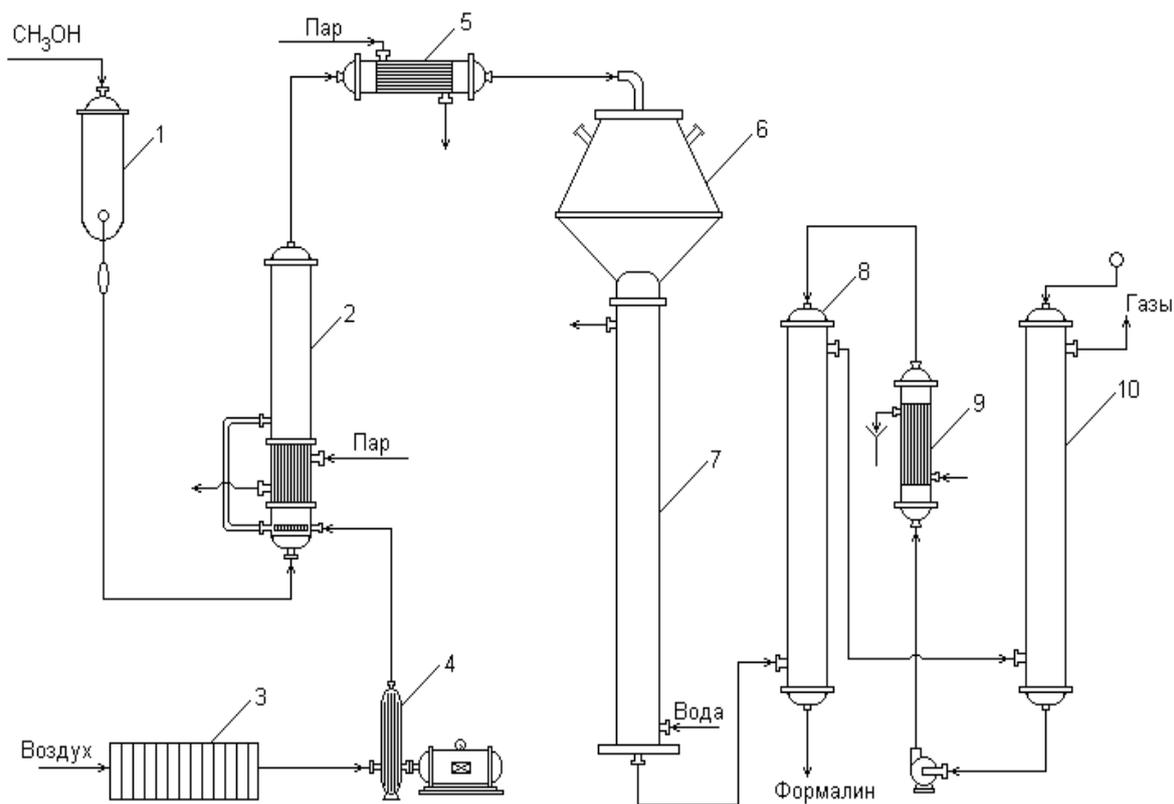


Рис.6. Схема производства формалина окислением метилового спирта:
1 – мерник; 2 – испаритель; 3 – фильтр; 4 – воздуходувка; 5 – подогреватель;
6 – контактный аппарат; 7 – холодильник; 8,10 – абсорберы; 9 – промежуточный
холодильник

Синтез этилового спирта методом прямой гидратации этилена

Взаимодействие этилена с водой возможно в присутствии катализатора при повышенной температуре по схеме



Для проведения процесса по этой схеме может быть использован водяной пар или вода, при этом возможны три варианта проведения процесса:

1. $\text{CH}_2=\text{CH}_2_{(\text{газ})} + \text{H}_2\text{O}_{(\text{пар})} \leftrightarrow \text{CH}_3-\text{CH}_2\text{OH}_{(\text{пар})}$
2. $\text{CH}_2=\text{CH}_2_{(\text{газ})} + \text{H}_2\text{O}_{(\text{ж})} \leftrightarrow \text{CH}_3-\text{CH}_2\text{OH}_{(\text{ж})}$
3. $\text{CH}_2=\text{CH}_2_{(\text{газ})} + \text{H}_2\text{O}_{(\text{пар})} \leftrightarrow \text{CH}_3-\text{CH}_2\text{OH}_{(\text{ж})}$

Наиболее распространенным в настоящее время является парофазный процесс (1 вариант). В этом случае смесь этилена и водных паров пропускают над твердым катализатором. Образующийся спирт отделяют от контактных газов путем конденсации. При парофазном процессе степень превращения этилена за один проход через катализатор, а также скорость процесса зависят главным образом от активности катализатора, температуры в контактной зоне, давления в аппарате, объемной скорости газов и мольного соотношения водяного пара и этилена в исходной смеси. *Оптимальными параметрами технологического процесса* являются: давление 80-90 атм; температура 280-300°C; мольное соотношение $H_2O_{(пар)}: C_2H_4 = (0,6-0,7):1,0$; степень превращения этилена за один проход через контактный аппарат не превышает 4-5%, катализатор фосфорная кислота, нанесенная на алюмосиликат, скорость циркуляции парогазовой смеси - 1800-2000 ч⁻¹, что соответствует времени контакта 18-20 с. При этих условиях с 1 м³ катализаторной массы получают 180-200 кг/ч спирта. Необходимость в поддержании оптимального давления вызвана конденсацией водяных паров при более низком давлении.

Технология приготовления катализатора

Используемый в качестве носителя алюмосиликат активируют 10-20%-ным раствором H_2SO_4 при 100°C. Высушенный после активации алюмосиликат обрабатывают 65%-ной фосфорной кислотой при 20°C и сушат при 100°C. В готовом катализаторе содержится более 35% свободной фосфорной кислоты. Активность катализатора со временем понижается из-за отложения его в порах карбидных соединений (продуктов глубокой полимеризации этилена), а также из-за уноса фосфорной кислоты с поверхности носителя парогазовой смесью. В процессе гидратации этилена с 1 м³ каталитической массы уносится потоком парогазовой смесью 0,4-0,45 кг/ч фосфорной кислоты. В связи с этим срок службы катализатора составляет 500-600 ч. Регенерацию катализатора осуществляют при 600-650°C. При гидратации этилена образуется 95% этилового спирта, 2% диэтилового эфира, 1% уксусного альдегида, 1% продуктов полимеризации.

Изложение технологического процесса

Процесс прямой гидратации этилена осуществляют в контактном аппарате (гидраторе), (рис.7), который представляет собой вертикальную цилиндрическую полуколонну диаметром 1,5 м и высотой 10 м, изготовленную из стали.

Днище и внутренние стенки контактного аппарата выложены листами красной меди для защиты от коррозии.

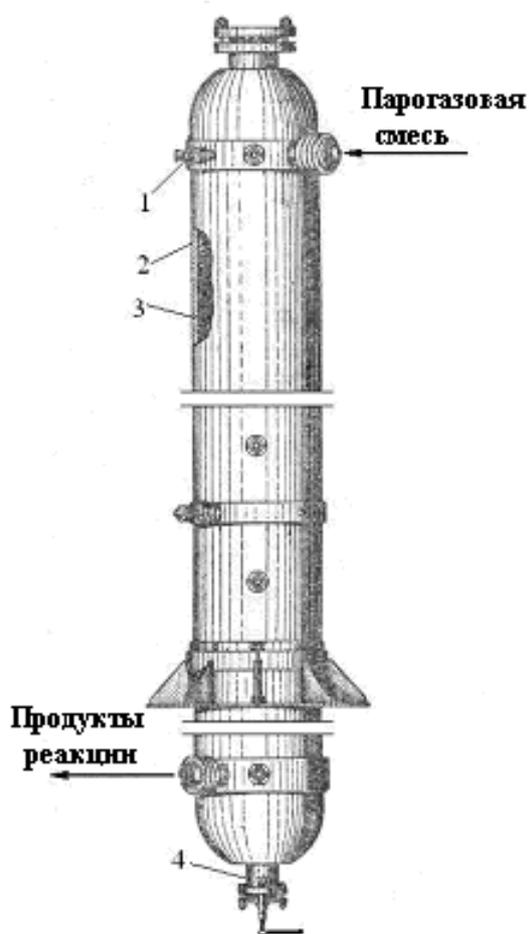


Рис.7. Контактный аппарат (гидрататор) для прямой гидратации этилена: 1 – предохранительный клапан; 2 – корпус; 3 – медная футеровка; 4 – приспособление для выгрузки катализатора

Катализатор загружают в контактный аппарат слоем высотой 8,5 м. Парогазовая смесь поступает в верхнюю часть контактного аппарата, проходя слой катализатора сверху вниз. Продукты реакции отбирают из нижней части аппарата. Реакция гидратации этилена является экзотермической (12 ккал/моль). Так как выделяющееся в процессе реакции гидратации тепло невелико, теплообменные элементы в контактном аппарате отсутствуют.

Для понижения температуры в реакционную зону вводят холодный этилен. Технологическая схема производства этилового спирта прямой гидратацией этилена приведена на рис. 8. Исходный и циркуляционный в тройник для смешения, затем нагреваются до 220°C в теплообменнике этилен подаются продуктами реакции, выходящими из контактного аппарата. Далее газ смешивается в эжекторе (2) с перегретым водяным паром ($t = 280\text{-}300^{\circ}\text{C}$)

и парогазовая смесь подается в контактный аппарат при той же температуре.

Продукты синтеза и фосфорную кислоту, уносимую с катализатора, нейтрализуют щелочью в тройнике, расположенном вблизи контактного аппарата.

После нейтрализации смесь поступает в солеотделитель и подается в теплообменник-рекуператор, затем в холодильник-конденсатор, где происходит конденсация паров воды и спирта. Отделение непрореагировавшего этилена от жидкости производится в сепараторе высокого давления (рис.9).

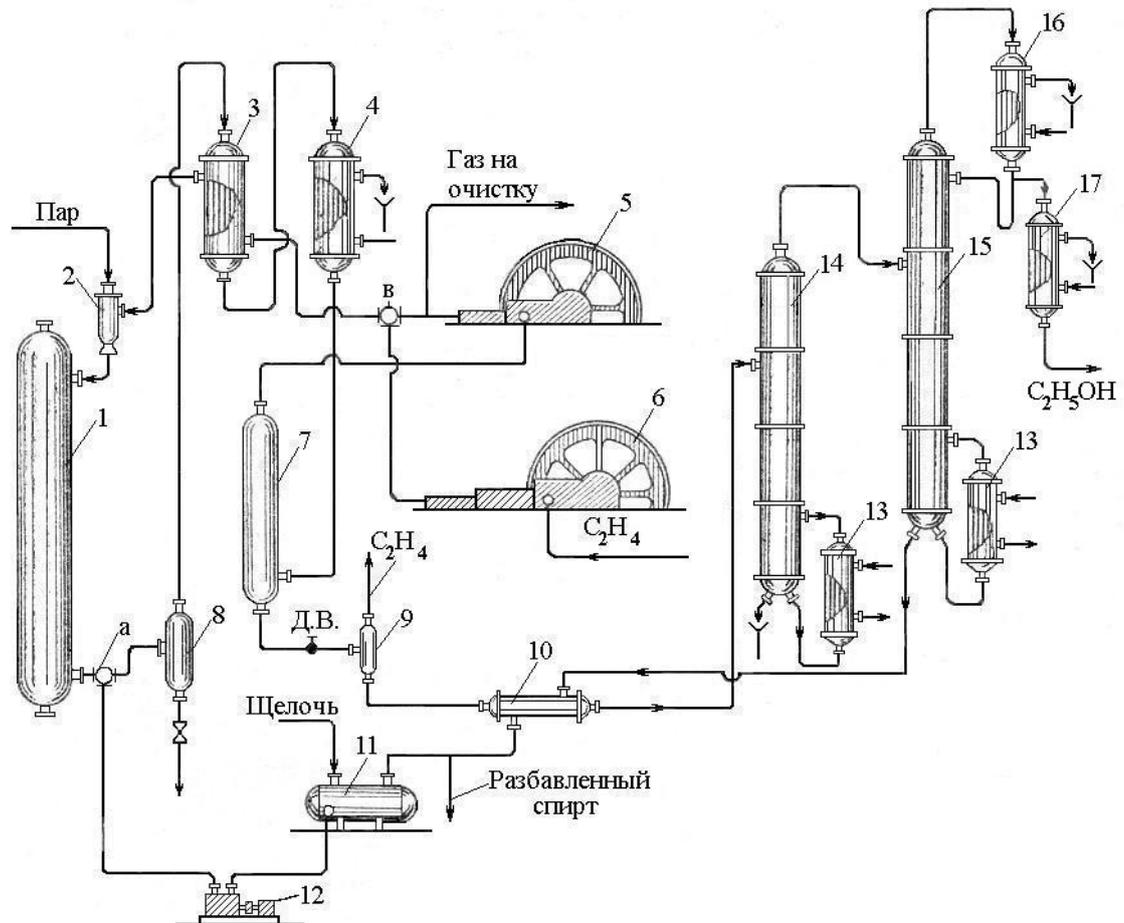


Рис.8. Схема производства этилового спирта прямой гидратацией этилена:
 1 – контактный аппарат (гидрататор); 2 – паровой эжектор; 3 – теплообменник-рекуператор; 4,17 – холодильник-конденсатор; 5 – циркуляционный компрессор; 6 – компрессор; 7 – сепаратор высокого давления; 8 – солеотделитель; 9 – сепаратор низкого давления; 10 – теплообменник; 11 – сборник раствора щелочи; 12 – насос высокого давления; 13 – кипятыльник; 14 – отпарная колонна; 15 – ректификационная колонна; 16 – дефлегматор; а, в – тройники; Д.В. – дроссельный вентиль

Этилен из верхней части сепаратора с помощью циркуляционного насоса направляется в тройник для смешения со свежим этиленом. Часть газа идет на очистку. Взамен удаляемого газа подается свежий этилен. Из нижней части сепаратора высокого давления вытекает разбавленный спирт (15-16 мас.%), который поступает в сепаратор низкого давления. Водный раствор спирта поступает на концентрирование. В теплообменнике спирт подогревается кубовой жидкостью из ректификационной колонны и направляется в отпарную колонну. Кубовая жидкость представляет собой раствор фосфатов, образовавшихся при нейтрализации. Пары из верхней части отпарной колонны поступают в ректификационную колонну. Дистиллят ректификационной колонны представляет собой конечный продукт – концентрированный этиловый спирт.

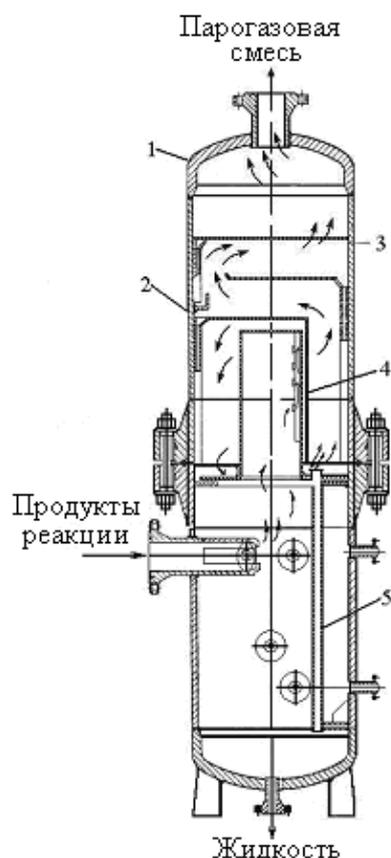
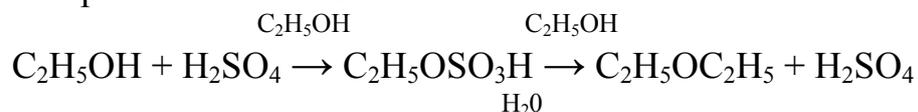


Рис.9. Сепаратор высокого давления: 1 – крышка; 2 – корпус; 3 – полки; 4 – перегородки; 5 – труба для отвода жидких продуктов реакции

С увеличением длины углеродной цепи в алкильных группах эфиров наркотическое действие их на организм и токсичность возрастает.

В медицине применяют только этиловый эфир, который получают при взаимодействии этилового спирта с серной кислотой через стадию образования этилсерной кислоты по схеме



Используют ректифицированный 96% этиловый спирт и серную кислоту, полученную контактным способом.

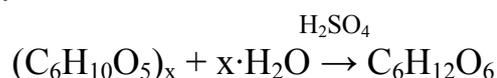
Описание технологического процесса

Процесс ведут в стальном освинцованном аппарате при температуре 130-140⁰С. При этом отгоняется вода и этиловый эфир, а также часть загруженного спирта. Процесс подачи реагентов и отгонки продуктов реакции осуществляют непрерывно. При нарушении оптимального режима процесса может происходить разложение этилсерной кислоты и образование побочных продуктов (этилена, уксусного альдегида).

Синтез этилового спирта методом гидролиза древесины

Основными компонентами древесины являются целлюлоза (клетчатка), гемицеллюлозы, а также лигнин, минеральные вещества (зольные элементы), смолы, жиры, дубильные вещества. Почти половину массы древесины представляет целлюлоза.

Гидролиз древесины осуществляют в два этапа. Первоначально древесину подвергают обработке минеральными кислотами H₂SO₄ или HCl:



Затем образовавшуюся глюкозу подвергают спиртовому брожению:



Из одной тонны древесных опилок можно получить до 200 кг спирта (считая на 100%). Достоинства метода – высокий выход спирта. Недостатки – коррозия аппаратуры и трубопровода, трудности в регенерации кислот.

Синтез этилового эфира

Простые эфиры применяются для ингаляционного наркоза.

Образующуюся смесь паров эфира, воды и спирта пропускают через раствор щелочи для нейтрализации кислот, а затем подают в ректификационную колонну.

После ректификационной колонны эфир подвергается очистке: первоначально промывают водой, затем щелочным раствором перманганата калия и проводят повторную промывку водой. Очищенный эфир сушат, пропуская через прокаленный хлорид кальция.

Для удаления следов влаги, спирта, перекиси, уксусного альдегида эфир обрабатывают металлическим натрием и еще раз перегоняют, отбирая фракцию при температуре 34-35⁰С.

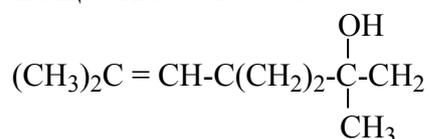
Очищенный эфир после пробы на отсутствие альдегидов фасуют в склянки из темного стекла емкостью 100 мл.

В связи с тем что производство этилового эфира взрывоопасно, скорость движения спирта и эфира по трубопроводам не должна превышать 2,5 м/с. Пределы взрывоопасных концентраций паров эфира с воздухом составляют 1,85-40% (объем).

Скорость движения спирта и эфира по трубопроводам не должна превышать 2,5 м/с.

Спирты, эфиры, альдегиды обладают повышенной летучестью и специфическим запахом. Многие из них входят в состав душистых веществ.

Многие душистые вещества получают при синтезе витаминов в качестве промежуточных веществ. Так, например, при синтезе витамина С образуется промежуточное вещество *линалоол*:



Линалоол содержится в лавандовом, гераниевом и других эфирных маслах, применяется для составления парфюмерных композиций.

Бензиловый спирт содержится в масле жасмина, бензилацетат – в масле гиацинта.

Синтез уксусной кислоты

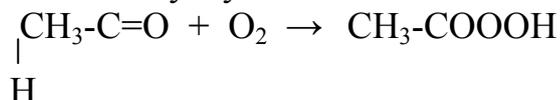
Введение карбоксильной группы в молекулу вещества снижает его физиологическую активность и токсичность. Биологическая активность карбоновых кислот мала, поэтому применение соединений этого класса в качестве лекарственных препаратов ограничено. Карбоновые кислоты (лимонная, молочная, уксусная, пропионовая, итаконовая, глюконовая и др.) широко используют в пищевой промышленности. Биологическая активность непредельных карбоновых кислот выше. Среди карбоновых кислот в пищевой промышленности и в быту широко используют уксусную и лимонную кислоты в качестве консервантов.

В промышленности синтез уксусной кислоты осуществляют с помощью методов: каталитического окисления ацетоальдегида; окисления

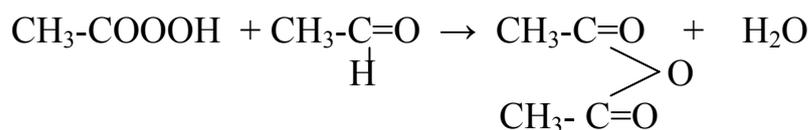
низших парафиновых углеводородов (бутанола и его гомологов); взаимодействия метилового спирта с окисью углерода.

Каталитическое окисление ацетоальдегида протекает в три стадии.

1. Образование надуксусной кислоты:



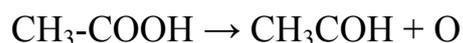
2. Взаимодействие надуксусной кислоты с ацетоальдегидом:



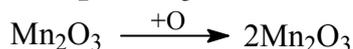
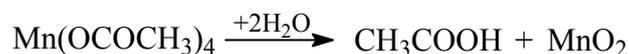
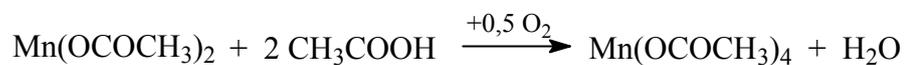
3. Гидратация уксусного ангидрида:



Надуксусная кислота является нестойким соединением, способным распадаться с выделением кислорода по схеме



Распад сопровождается выделением большого количества тепла. Поэтому накопление надуксусной кислоты в продуктах реакции может привести к взрыву. Кроме того, выделяющийся кислород энергично окисляет ацетоальдегид до двуокиси углерода и воды. Для предотвращения взрыва окисление ацетоальдегида проводят с большим избытком ацетоальдегида в присутствии катализатора. Наиболее эффективны катализаторы на основе ацетата марганца. Использование в качестве катализатора солей железа, меди, кобальта менее эффективно из-за недостаточной способности ускорять процесс окисления на второй стадии. При использовании ацетата марганца возможно протекание следующих реакций:



Технологическая схема производства уксусной кислоты окислением ацетоальдегида представлена на рис.10.

Изложение технологического процесса

Раствор катализатора, приготовленный в аппарате путем растворения ацетата марганца в уксусной кислоте, вместе с охлажденным

ацетоальдегидом подают в нижнюю часть окислительной колонны. Кислород вводят в 3-4 нижние царги колонны (рис.11 а).

Для разбавления парогазовой смеси (чтобы не допустить накопление надуксусной кислоты) в верхнюю часть колонны непрерывно подают азот. В процессе окисления в нижней части колонны поддерживают температуру 60°C и избыточное давление 3,8 – 4,0 атм, в верхней части колонны 75°C и давление 2,8 – 3,0 атм. Тщательное регулирование температуры необходимо для предотвращения накопления надуксусной кислоты (при $t \leq 60-70^{\circ}\text{C}$) или протекания побочных реакций окисления ацетоальдегида (при $t \geq 60-70^{\circ}\text{C}$). Парогазовая смесь из окислительной колонны поступает в конденсатор, где при $20-30^{\circ}\text{C}$ конденсируются пары уксусной кислоты и воды. Конденсат, содержащий большое количество ацетоальдегида, поступает в сепаратор для отделения газов и возвращается в нижнюю часть окислительной колонны.

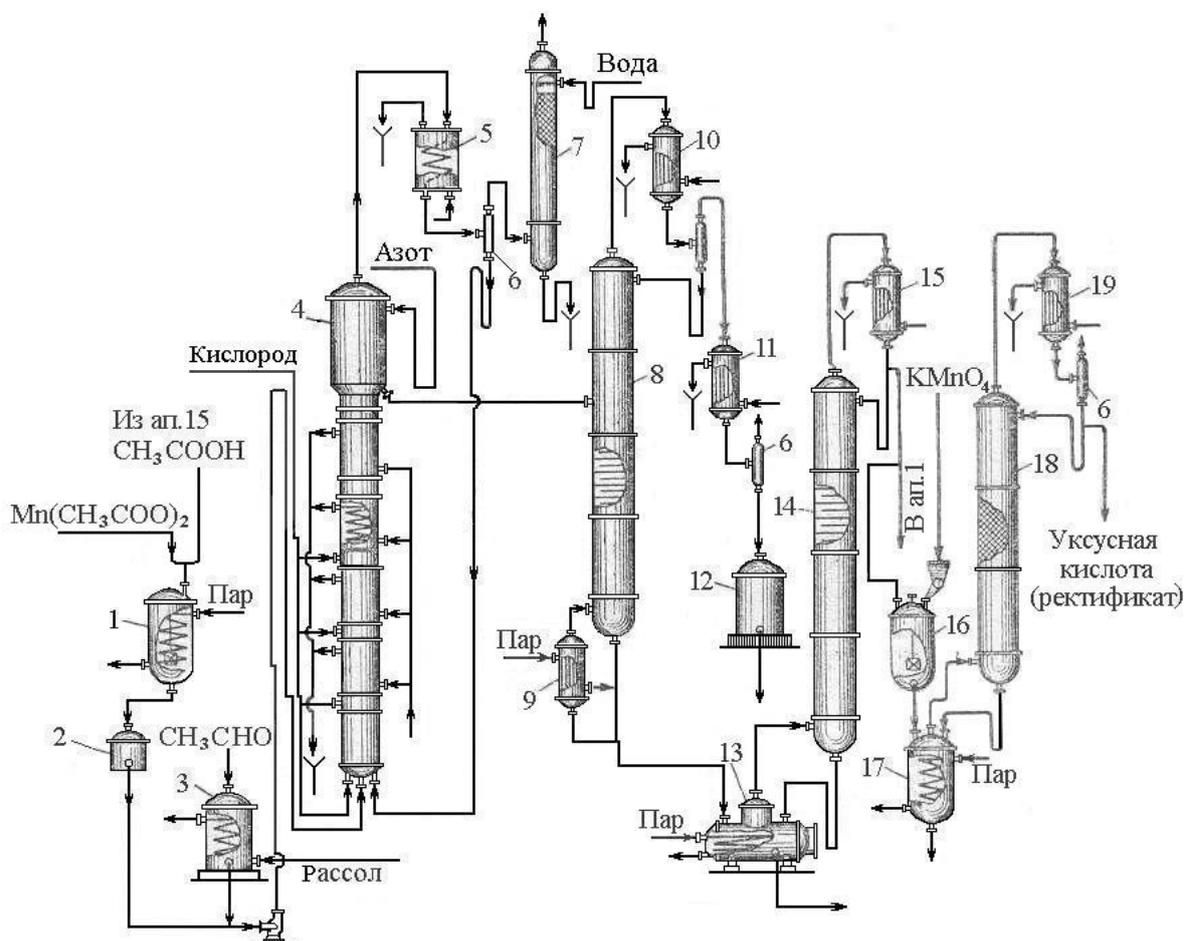
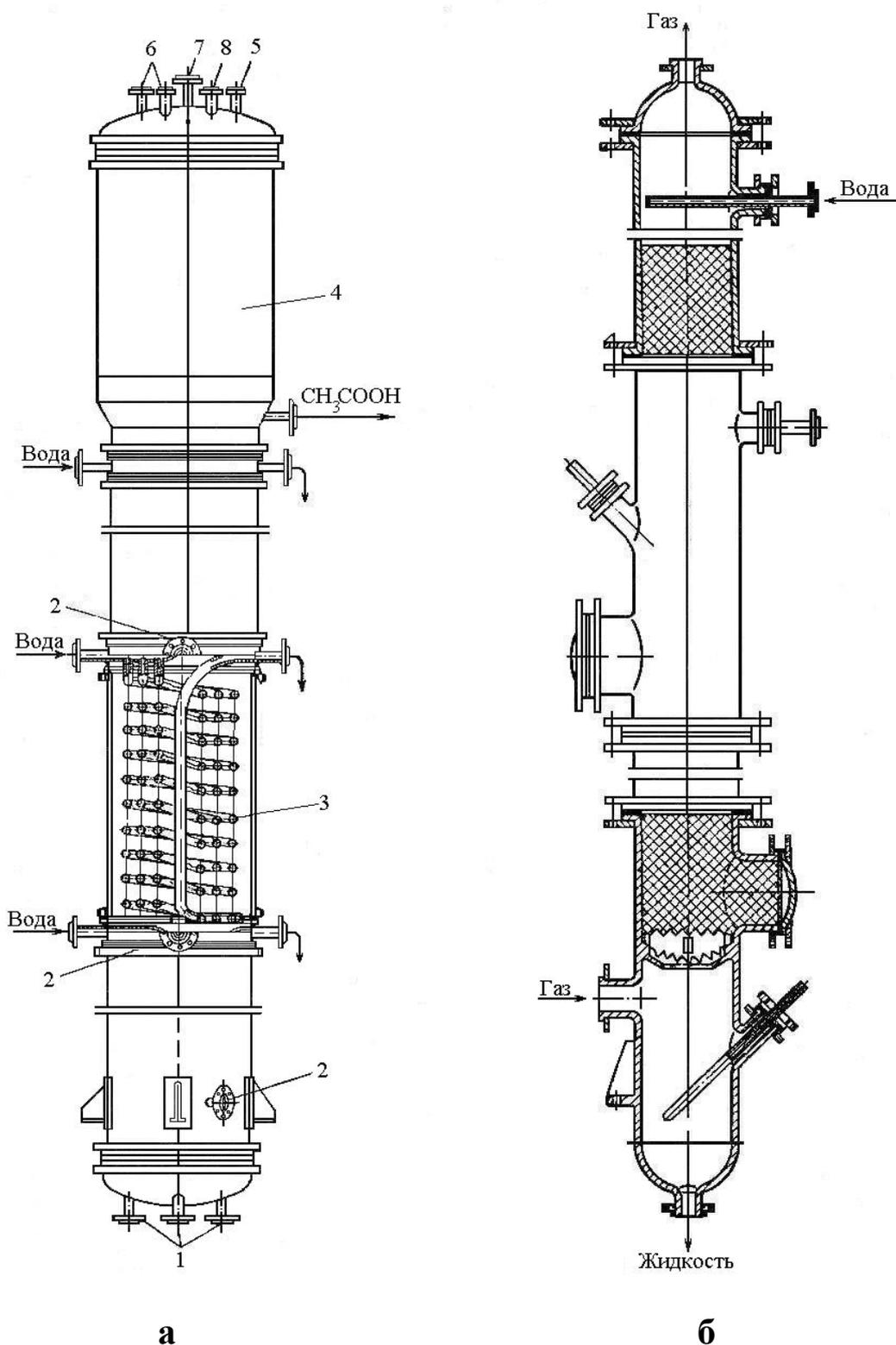


Рис.10. Схема производства уксусной кислоты окислением ацетоальдегида:
 1 – аппарат для приготовления катализатора; 2 – промежуточный бак; 3 – хранилище ацетоальдегида; 4 – окислительная колонна; 5,11 – конденсаторы; 6 – сепаратор; 7 – скруббер; 8, 14 – тарельчатые ректификационные колонны; 9, 13 – кипятивники; 10,15,19 – дефлегматоры; 12 – сборник кислоты; 16 – реактор; 17 – испаритель; 18 – насадочная ректификационная колонна

Газы после отмывки в скруббере (рис.11 б) от остатков альдегида и кислоты выводят в атмосферу.



а **б**
Рис.11. Окислительная колонна (а) и промывной скруббер (б):
 1 – вводы ацетальдегида и катализатора; 2 – вводы кислорода; 3 – охлаждающие змеевики; 4 – брызгоуловитель; 5 – штуцер для продувки азотом;
 6 – штуцер для предохранительного клапана и контрольно-измерительных приборов; 7 – штуцер для отвода газов

Уксусная кислота (сырец) непрерывно отбирается из расширенной части окислительной колонны и поступает в ректификационную колонну,

металлов. Благодаря большой механической прочности катализаторы данного типа могут применяться в псевдооживленном слое. Выход продуктов реакции при данных технологических параметрах может достигать до 97%. Технологическая схема получения этого процесса представлена на рис.12.

Изложение технологического процесса

Пары метанола в смеси с сероводородом подают в кожухотрубный реактор. Катализатор помещают в трубки аппарата. Для нагрева катализатора через межтрубное пространство пропускают топочные газы. Продукты реакции охлаждают в холодильнике. При этом пары воды, образующиеся в результате реакции конденсируются и вода отводится из нижней части. После холодильника продукты реакции поступают в абсорбер, орошаемый охлажденным до 25⁰С метиловым спиртом, который поглощает метилмеркаптан. Сероводород и другие газообразные продукты (CO₂, N₂) отводят из верхней части абсорбера.

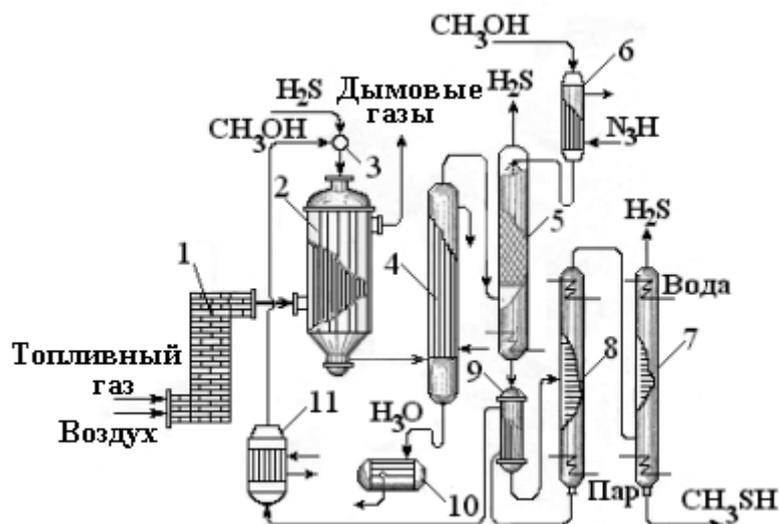
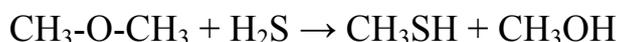


Рис.12. Схема получения метилмеркаптана: 1 – топка; 2 – реактор; 3 – смеситель; 4 – холодильник; 5 – абсорбер; 6 – аммиачный холодильник; 7,8 – ректификационные колонны; 9 – теплообменник; 10 – сборник; 11 – испаритель метанола

Раствор метилмеркаптана в метаноле из абсорбера через теплообменник поступает на ректификацию. Сначала метилмеркаптан отделяют в колонне от метанола, который возвращают в реактор. Затем очищают в другой ректификационной колонне.

Вместо метилового спирта для получения метилмеркаптана можно применять диметиловый эфир. Процесс проводят по схеме



В этом случае процесс проводят при температуре 400⁰С. Остальные технологические параметры такие же, как и при использовании метилового спирта. Однако выход продуктов реакции и степень конверсии в этом случае значительно меньше [13].

Таблица 1. Зависимость технологических параметров контроля от исходных компонентов сырья

Параметры контроля технологического процесса	Исходные компоненты	
	CH ₃ OH	CH ₃ OCH ₃
Степень конверсии, %	93	71
Выход продуктов реакции, мол. %	90	69,5
Содержание CH ₃ SH в продуктах реакции, масс. %	97	98

Синтез уротропина (CH₂)₆N₄

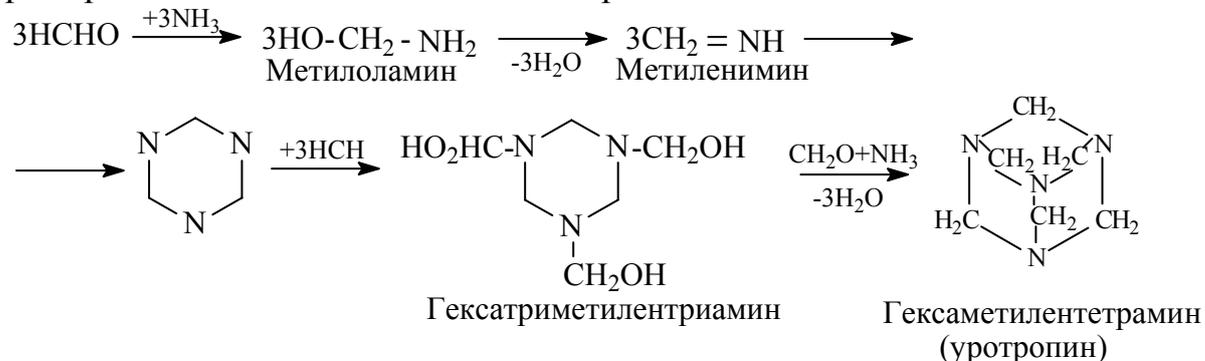
В качестве предшественника используется формальдегид. При взаимодействии формальдегида с аммиаком получается гексаметилентетрамин или уротропин. Биологическая активность связана с дезинфицирующим действием при заболевании мочевых путей. Входит в состав лекарственного препарата (кальцекс) для профилактики гриппа. Уротропин используется как сырье при получении взрывчатых веществ, фенолформальдегидных смол, как ингибитор кислотной коррозии.

Получают как жидкофазным, так и парофазным методами.

При жидкофазном методе к 40%-ному раствору формальдегида добавляют избыток 25%-ного раствора NH₃ и реакционную массу перемешивают при температуре 40-50⁰С.

Механизм реакции в щелочной среде

1. Присоединение аммиака к формальдегиду с образованием альдегидаммиака.
2. Тримеризация альдегидаммиака в гетероциклическое соединение:



Формулу молекулы уротропина можно представить, если поднять над плоскостью бумаги написанный в центре атом азота вместе с присоединенными к нему метиленовыми группами.

Технология

Формалин и 25%-ный раствор аммиака перемешивают при температуре 50⁰С. Полученный слабощелочной раствор уротропина осуществляют активированным углем, фильтруют и выпаривают в вакууме до кашицеобразного состояния.

После кристаллизации при охлаждении уротропин отделяют центрифугированием и сушат при 30-35⁰С. Дополнительную очистку проводят перекристаллизацией из спирта.

Наиболее чистый высокого качества гексаметиленetetрамин получают **газофазным методом**. Для этого газофазную смесь формальдегида, аммиака, азота пропускают через горячий реактор. Образующаяся вода в виде пара вместе с азотом уносится из реактора, а уротропин оседает на дно реактора.

При нагревании уротропин может легко возгоняться с частичным разложением.

Контрольные вопросы для самостоятельной проверки

ТЕСТ № 1

1. При каких условиях получают формальдегид из метилового спирта?

при наличии катализатора и температуре 300-400⁰С;
наличии катализатора и температуре 600-700⁰С;
отсутствии катализатора и температуре 600-700⁰С;
отсутствии катализатора и тем температуре 300-400⁰С.

2. Какой катализатор используется для получения уксусной кислоты из ацетоальдегида?

сульфат ртути;
ацетат марганца;
фосфорная кислота;
хлорид меди.

3. Какой катализатор применяется при прямой гидратации этилена?

Zn-Cr-Cu;
Fe-Cr;
фосфорная кислота, нанесенная на глазурированный алюмосиликат;
фосфорная кислота, нанесенная на пористый алюмосиликат.

4. Дочертить на технологической схеме аппараты, связывающие коммуникации, и указать направление движения сырья и продуктов (рис.13).

Какие типовые аппараты применяются в данном процессе и какие общие принципы химической технологии использованы в нем?

Чем определяется выбор оптимальных температуры, давления и соотношения реагентов в этом процессе?

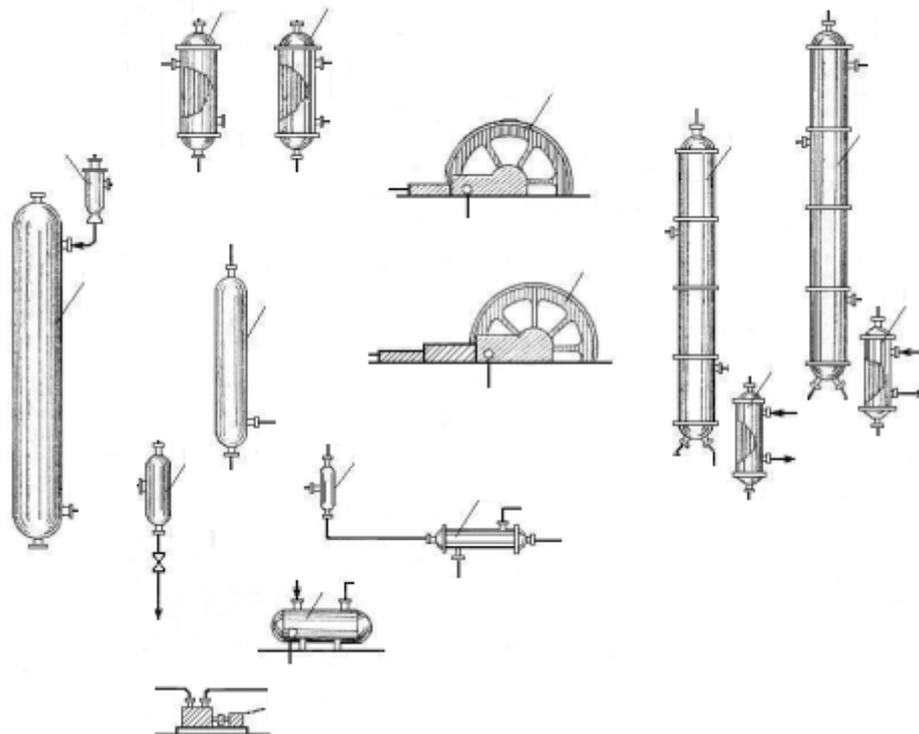


Рис.13

ТЕСТ № 2

1. Каковы условия прямой гидратации этилена?
 температура 300°C , давление $8 \cdot 10^6$ Па (соотношение $\text{H}_2\text{O} : \text{C}_2\text{H}_4 = 0,6$);
 температура 400°C , давление $5 \cdot 10^6$ Па (соотношение $\text{H}_2\text{O} : \text{C}_2\text{H}_4 = 2$);
 температура 250° , давление $6 \cdot 10^6$ Па (соотношение $\text{H}_2\text{O} : \text{C}_2\text{H}_4 = 1$);
 температура выше 400°C , давление $8 \cdot 10^6$ Па (соотношение $\text{H}_2\text{O} : \text{C}_2\text{H}_4 = 3$).

2. Какие аппараты и в какой последовательности используются при производстве этилового спирта прямой гидратацией этилена?

компрессор, ленточный транспортер, отстойник, гидролизный аппарат;
 конденсатор, дроссельный вентиль, нейтрализатор, сепаратор,
 ректификационная колонна;

отпарная колонна, теплообменник, дроссельный вентиль,
 ректификационная колонна;

компрессор, теплообменник, трубчатая печь, гидратор, конденсатор,
 газоотделитель, сборник, отпарная колонна и ректификационная колонна.

3. Какой способ получения синтетического этилового спирта имеет наибольшее распространение в промышленности?

прямая гидратация этилена;

сернокислотная гидратация этилена;

гидролиз древесины серной кислотой;
сульфитный.

4. Какой технологический процесс изображен на рис.14?
Дочертить недостающие коммуникации. Стрелками показать стадии и последовательность технологического процесса и подписать их.

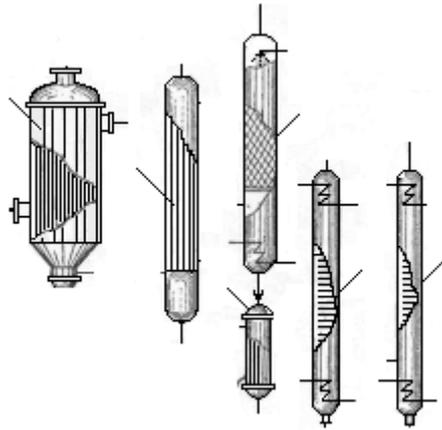


Рис.14

ТЕСТ № 3

1. Какой катализатор применяется при окислении метана в метиловый спирт?

платина;
марганец;
палладий-медь;
платина-марганец.

2. Какие аппараты и в какой последовательности используются при производстве метилмеркаптана?

кожухотрубный реактор, холодильник, абсорбер, теплообменник, ректификационная колонна;
кожухотрубный реактор, теплообменник, холодильник, абсорбер, ректификационная колонна;
кожухотрубный реактор, холодильник, абсорбер, ректификационная колонна;
кожухотрубный реактор, теплообменник, абсорбер, ректификационная колонна.

3. Какой катализатор наиболее активен при синтезе метилмеркаптана?

окись циркония;
активный глинозем;
фосфорная кислота;
окислы щелочных металлов.

4. Назвать технологическую схему и ее аппараты (рис.15).
Дочертить коммуникации, связывающие аппараты.

Указать оптимальные условия протекания процесса в каждом аппарате.
Где применяется целевой продукт, получаемый в этом процессе?

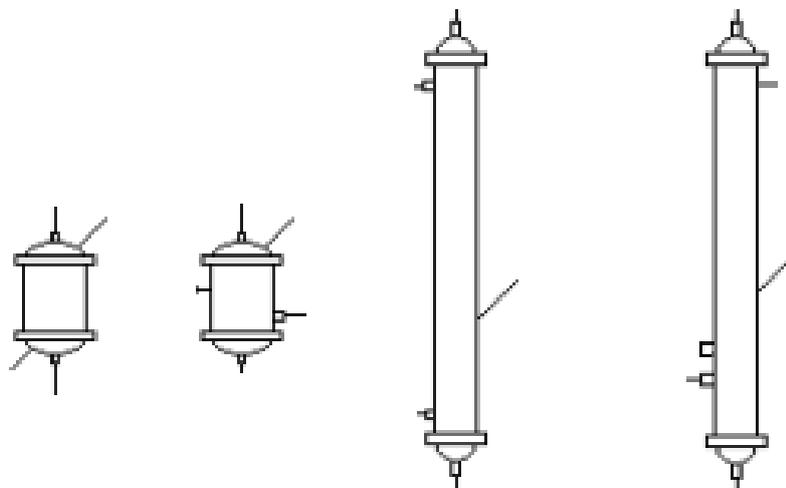


Рис.15

ТЕСТ № 4

1. При каких условиях получается формальдегид из метана?
при температуре 340°C , давлении 106 атм, при мольном соотношении $\text{CH}_4 : \text{O}_2 = 9 : 1$, в присутствии катализатора;
при температуре $300\text{-}400^{\circ}\text{C}$, давлении 1 атм, мольном соотношении $\text{CH}_4 : \text{O}_2 = 1 : 1$;
при температуре $600\text{-}900^{\circ}\text{C}$, давлении 40 атм, мольном соотношении $\text{CH}_4 : \text{O}_2 = 2 : 1$, при отсутствии катализатора;
при отсутствии катализатора, при температуре 700°C , мольном соотношении $\text{CH}_4 : \text{O}_2 = 4 : 2$.

2. При каких условиях получают метилмеркаптан?
Где применяется целевой продукт, получаемый в этом процессе?
температура $300\text{-}400^{\circ}\text{C}$, катализатор, давление, мольное соотношение $\text{H}_2\text{S} : \text{CH}_3\text{OH} = 1 : 2$;
температура 350°C , катализатор, мольное соотношение $\text{H}_2\text{S} : \text{CH}_3\text{OH} = 1 : 1$;
температура 400°C , катализатор, мольное соотношение $\text{H}_2\text{S} : \text{CH}_3\text{OH} = 2 : 1$;
температура 350°C , катализатор, мольное соотношение $\text{H}_2\text{S} : \text{CH}_3\text{OH} = 1 : 2$.

3. Какой технологический процесс изображен на рис.16?
прямая гидратация этилена;
сернокислотная гидратация этилена;
гидролиз древесины серной кислотой;
сульфитный.

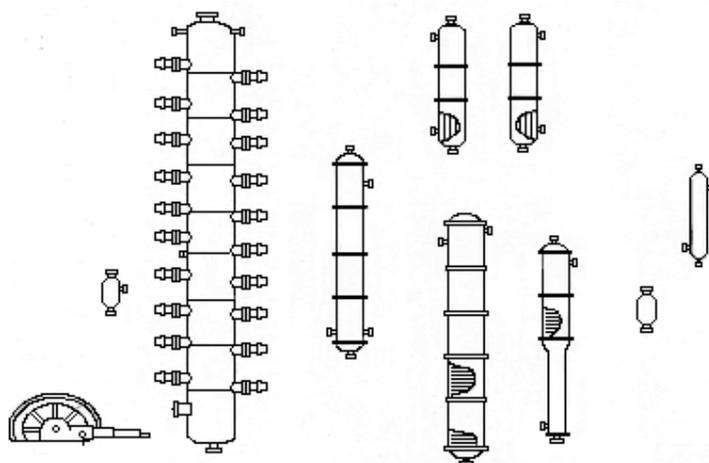


Рис.16

4. Какой технологический процесс изображен на рис.17?
 Дочертить недостающие коммуникации. Стрелками показать стадии и последовательность технологического процесса и подписать их.

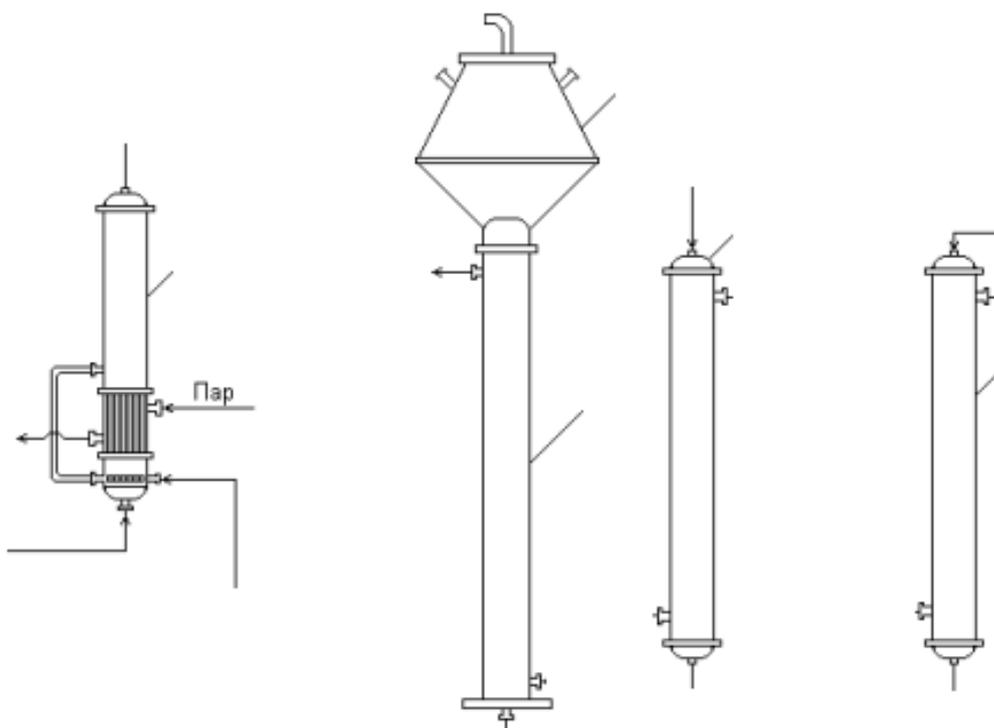


Рис.17

ТЕСТ № 5

1. Какой способ получения уксусной кислоты наиболее распространен в промышленности?
 каталитическое окисление уксусного альдегида;
 окисление низших парафиновых углеводородов;
 при взаимодействии метилового спирта и окиси углерода;
 окисление этилового спирта.

2. Какие основные параметры поддерживаются в окислительной колонне при синтезе уксусной кислоты и почему?

температура 60°C , давление 4 атм, катализатор;

температура $60-75^{\circ}\text{C}$, давление 3-4 атм, катализатор, инертный газ;

температура 75°C , давление 3 атм, катализатор, соотношение $\text{CH}_3\text{CHO}:\text{O}_2=1:1$;

температура 50°C , давление 4 атм, катализатор.

3. Какие способы синтеза галогенпроизводных биологически активных веществ распространены в промышленности?

прямое термическое хлорирование непредельных углеводородов;

хлорирование кислородсодержащих соединений;

каталитическое хлорирование углеводородов методом присоединения;

конденсационным методом.

4. Какой технологический процесс изображен на рис.18?

Дочертить недостающие коммуникации. Стрелками показать стадии и последовательность технологического процесса и подписать их.

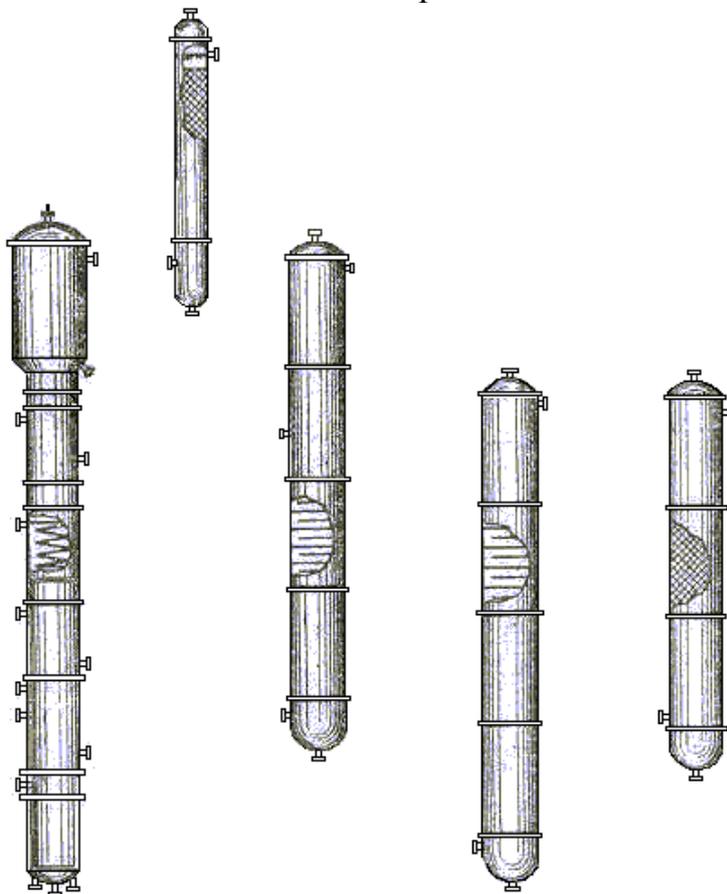


Рис.18

Ответы

№ вопроса	1	2	3	4	5	6
Правильный ответ						

Таблица 2. Процессы в промышленной микробиологии

Характеристика процесса	Целевые продукты	Название целевых продуктов
Биосинтез	Метаболиты	Аминокислоты, нуклеозиды, нуклеотиды
	Первичные	Нуклеиновые кислоты, ферменты
	Вторичные	Алкалоиды, антибиотики, гиббереллины, гликаны и гликоньюгаты, органические кислоты, спирты, липиды, аминокислоты, пептидные гормоны
	Клеточная масса	Пекарские и пищевые дрожжи, кормовой и пищевой белок, вакцины и антигенные вещества
Трансформация	Неорганические вещества	Обнаружение металлов, обогащение металлов
	Преимущественно органические вещества	Обнаружение металлов
		Обогащение металлов
		Компостирование отходов, получение биогаза
		Детоксикация, дезодорация и обезвреживание, например, поверхностно-активных веществ
		Определение (анализ) веществ по продуктам трансформации
		Кисломолочные продукты и сыры
		Хлебобулочные изделия
		Квашение и соленье овощей
		Силосование кормов
		Мочка льна и джута
		Ферментация чая, табака, кофе, какао, маслин
Пивоварение, виноделие, винокурение		

Преимущества микробиотехнологии: простота организации генома; легкая приспособляемость (лабильность) к среде обитания в естественных и искусственных условиях; достаточно высокие скорости протекания ферментативных реакций при низких температурах (20-60°C) и нарастания клеточной массы; возможность использования недефицитного, дешевого сырья (отходы промышленности, сточные воды).

К недостаткам технологии микробного синтеза БАВ можно отнести: многокомпонентность питательных сред; необходимость стерилизации питательных сред, оборудования и коммуникаций для удаления или разрушения контаминантов при сохранении качества среды, а также трудности в управлении процессом биосинтеза и автоматизации. Это связано с процессами саморегуляции биообъектов (включая способность к мутации), которые могут привести к непредвиденному изменению биотехнологического процесса. При размножении и развитии происходит постоянное изменение отдельных параметров, и в каждый момент времени клетки функционируют в иных условиях. В связи с этим при управлении технологическим процессом биосинтеза БАВ следует учитывать

индивидуальные особенности «поведенческих реакций» биообъекта в конкретных условиях культивирования, а именно: чувствительность биообъектов к воздействию физико-механических факторов при перемешивании, а также знание химической природы синтезируемого БАВ, характера биохимических процессов, осуществляемых биообъектами, специфику наследственных свойств данного вида.

3.1.2. Основные технологические показатели биосинтеза БАВ

Для нормального роста, размножения биообъекта в процессе биосинтеза БАВ необходимо поддерживать оптимальные условия его культивирования. При нарушении оптимальных условий нарушается обмен веществ, прекращается или ограничивается рост и размножение культуры, снижается выход и качество целевого продукта.

Параметры контроля процесса культивирования, относящиеся к основным технологическим показателям биосинтеза БАВ:

температура;

рН- среды;

количество биомассы клеток;

скорость потребления источников питания;

количество растворенного кислорода (в случае аэробных биообъектов);

количество образующегося метаболита.

3.1.3. Основные технологические стадии микробиологического синтеза БАВ (рис. 20):

предферментация (подготовительные работы);

ферментация (накопление и выделение целевого продукта).

Предферментация включает подготовительные стадии до биосинтеза: 1) приготовление и подготовка среды; 2) получение и подготовка посевного материала; 3) выбор и подготовка оборудования.

Основная стадия в подготовке оборудования, питательных сред, посевного материала заключается в стерилизации. Стерилизации подлежат пеногасители, жидкие добавки, коммуникации, датчики. Необходимость стерилизации вызвана тем, что микроорганизмы-контаминанты не только могут подавить функциональное развитие биообъекта в силу конкуренции и антибиоза, но и дезорганизовать какую-либо ткань или среду выращивания. Некоторые из них способны продуцировать токсичные вещества, которые могут попасть в целевой продукт.

В производственных условиях источниками микроорганизмов-контаминантов могут быть почва, вода, окружающий воздух, люди. Наличие в воздухе частиц пыли или капелек влаги создают благоприятную среду для жизнедеятельности микроорганизмов.

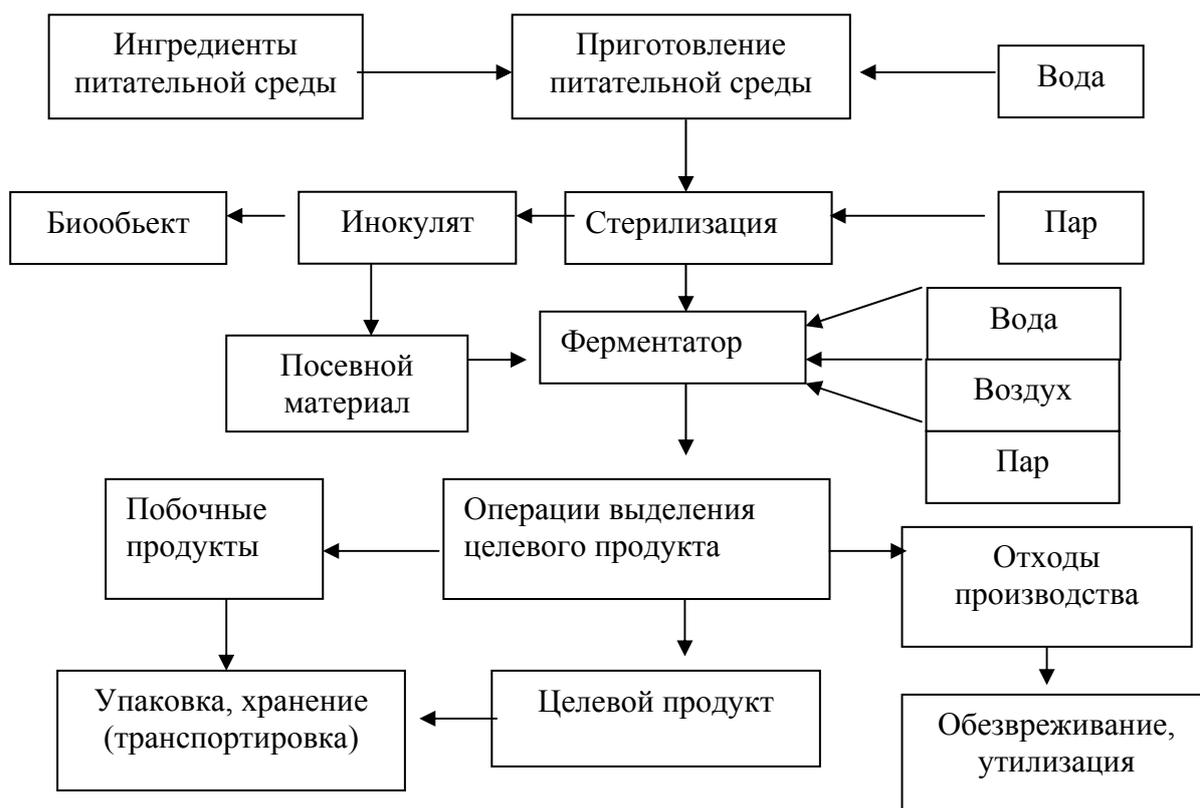


Рис.20. Примерная обобщенная схема биотехнологических процессов

По степени загрязненности воздуха микробами и механическими частицами в расчете на 1 м^3 производственного помещения, в которых изготавливаются лекарственные препараты, делятся на четыре класса чистоты (табл.3) [8].

Таблица 3. Оценка степени чистоты воздуха производственных помещений

Показатель качества воздуха	Класс чистоты				ГОСТ 12.1.005-86	
	1	2	3			4
			А	Б		
Наличие микробов, количество клеток	Не должно быть	До 50	До 100	До 500	ГОСТ 12.1.005-86	
Наличие механических частиц размером 0,5 мкм	3500	350000	3500000			
Наличие частиц размером 5 мкм		2500	25000			

Защита биотехнологических процессов от микробов-контаминантов осуществляется с помощью фильтров.

В лабораторных условиях стерилизацию питательных сред и других объектов осуществляют в автоклавах паром ($t = 120-122^{\circ}\text{C}$) под давлением не менее $0,3\text{ МПа}$ (3 кгс/см^2) или холодным способом. Наиболее универсальный метод – использование влажного тепла.

Датчики измерительных приборов и регуляторов не выдерживают высоких температур при стерилизации, поэтому к ним применяют холодные или химические способы стерилизации. Для этих целей используются бактерицидные газы (этилен), растворы антисептиков (формалин и др.).

Сахаросодержащие материалы стерилизуют отдельно от других компонентов питательной среды в мягких условиях для избежания реакций меланоидирования, гумификации, карамелизации, реверсии, кислотного разложения.

Для контроля процесса стерилизации вводится критерий стерильности, называемый временем выдержки, или длительностью экспозиции.

Длительность экспозиции, или *время выдержки* – это тот интервал, в пределах которого погибают микроорганизмы. Гибель последних спор в среде является случайным процессом, поэтому введено понятие «критерий стерильности» (N) – отношение числа операций стерилизации, в результате которых выжили по одной термостойкой споре к общему числу проведенных операций. Для стерилизации сред принимают критерий стерильности, равный $0,01+0,001$. Если исходное количество спор в среде принять N_0 , то получим соотношение N/N_0 – уровень стерильности, или коэффициент выживания, который означает, что для достижения заданного критерия стерильности (например, $0,01$) среда должна выдерживаться при температуре стерилизации строго определенное время, чтобы популяция спор снизилась от исходного значения N_0 до N/N_0 (например, до 10^{-16}).

Технология подготовки питательных сред

Понятие "питательная среда", или среда культивирования включает качественный и количественный состав исходных компонентов, необходимых для энергетического обмена, то есть биологически активных (азот, фосфор, углерод, микроэлементы, витамины, минеральные соли, ростовые вещества), и физико-химические факторы (температура, аэрация).

Процесс приготовления питательных сред включает выбор элементов питания, необходимых продуцентам БАВ для их воспроизводства и биотрансформации.

Подбор компонентов таких сред осуществляется эмпирически и требует много времени и навыков при оценке того или иного компонента субстрата.

В элементарный состав питательной среды входят: углерод, водород, кислород, азот, фосфор, сера, калий, кальций, магний, железо, микроэлементы. Некоторым продуцентам БАВ в процессе биосинтеза требуются витамины и регуляторы роста.

Состав питательных сред подбирают на основании материального баланса с учетом трансформации того или иного элемента питания и расходуемой (выделяемой) энергии.

При этом необходимо соблюдать **правило разработки оптимального состава питательных сред**: для получения заданного количества биомассы компоненты питательной среды берутся в соотношениях, пропорциональных потребностям их культур [6]:

$$\frac{C_i}{|A_i|} = \dots = \frac{C_2}{|A_2|} = \frac{C_1}{|A_1|} = S_0,$$

где – C_i – концентрация i -го компонента в сбалансированной питательной среде;

A_i – коэффициент метаболизма культуры по i -му компоненту;

S_0 – заданный запас субстрата в среде, выраженный в единицах концентрации биомассы.

По своему назначению питательные среды делятся на диагностические и производственные.

Диагностические питательные среды предназначены для обнаружения, выделения и идентификации патогенных микроорганизмов по морфологическим и физиологическим признакам. Они подразделяются на *элективны*е среды, среды для консервирования, среды обогащения и дифференциально-диагностические.

Элективные среды служат для посева тест-штамма для получения чистой культуры.

Среды обогащения – накопление одной группы микроорганизмов при одновременной задержке роста сопутствующих микроорганизмов.

Дифференциально-диагностические среды предназначены для идентификации отдельных видов микроорганизмов в целях их получения.

Производственные среды по составу можно разделить на две группы: натуральные среды (неопределенного состава) и синтетические.

Натуральные среды состоят из природных соединений, продуктов животного или растительного происхождения. В них имеются все необходимые компоненты для роста и развития микроорганизмов. Однако из-за сложного неопределенного химического состава трудно оценить влияние отдельных компонентов на механизм биосинтеза БАВ. В промышленности натуральные среды используют для поддержания организмов, накопления биомассы, диагностических целей.

Синтетические среды удобны для изучения обмена веществ. Благодаря сложной ферментативной организации микроорганизмов из простых составляющих осуществляется биосинтез сложных БАВ.

Среди натуральных сред широкое применение нашли: меласса – отход свеклосахарного производства, применяется как основной источник *углерода*, кукурузный экстракт, отруби и др.

Жидкие питательные среды приготавливают в аппаратах-смесителях с мешалкой, куда загружают компоненты в определенной

последовательности по регламенту (рис.21). Изменение одного из этих факторов влечет изменение другого.

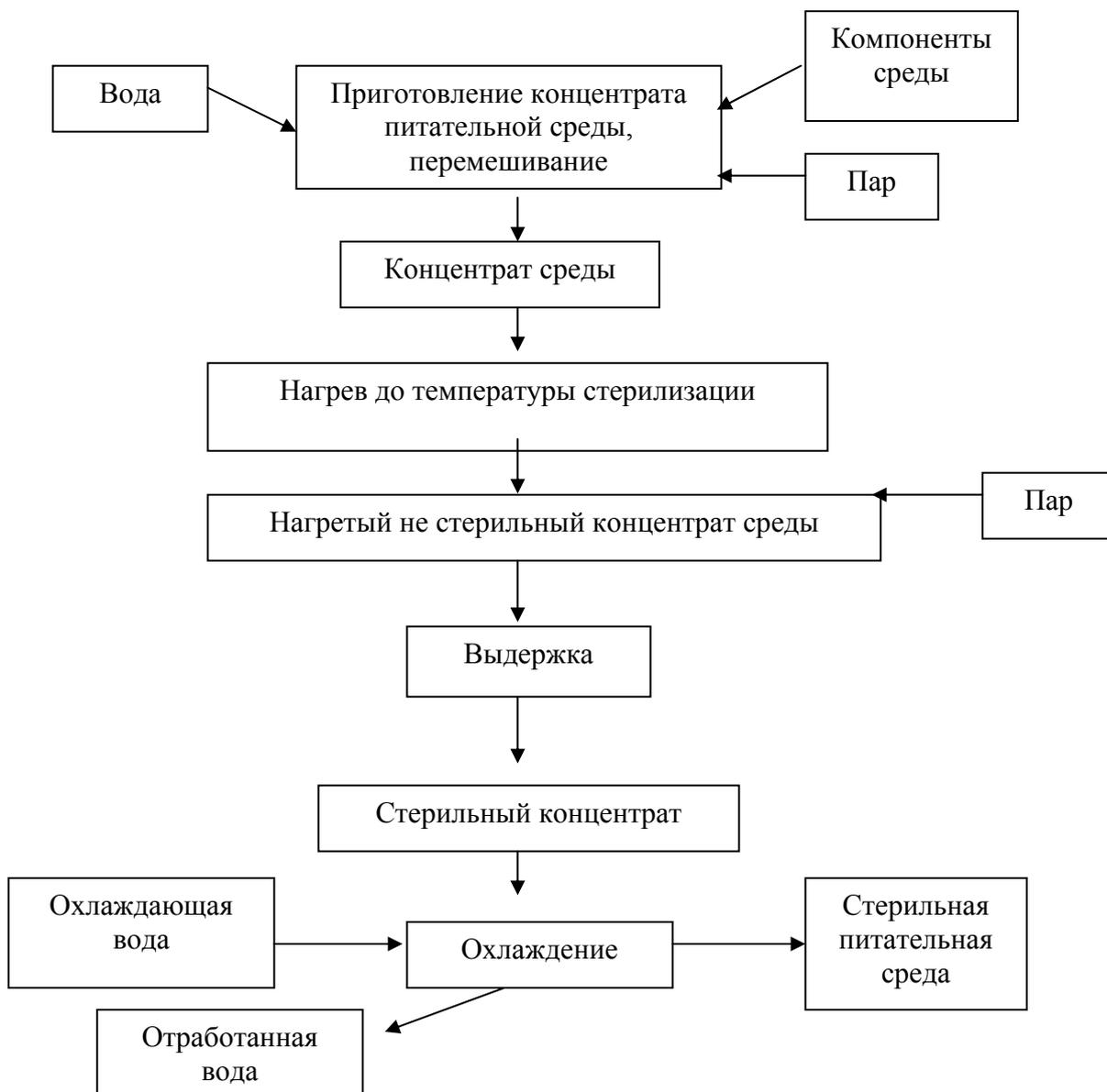


Рис.21. Принципиальная схема процесса приготовления и тепловой стерилизации питательной среды

Технология подготовки посевного материала

Подготовка посевного материала состоит из лабораторного и производственного этапов.

Лабораторный этап заключается в приготовлении *рабочего* посевного материала. Для этого исходный штамм микроорганизма, сохраняемый в состоянии анабиоза (высушенный на стерильной почве, песке, пшене путем лиофилизации или сублимационной сушки) оживляют добавлением стерильной жидкой питательной среды, а затем высевают на уплотненную питательную среду и проверяют на чистоту культуры. После оживления, то есть перевода консервированной культуры на косяк,

проводят пересев штамма на среду возрастающих объемов, переходя постепенно от пробирок к колбам (емкостью 1л), бутылкам (емкостью 20 л). При этом следует соблюдать соотношение посевного и рабочего объема 1:10. Коэффициент заполнения емкостей не должен превышать 0,5 - 0,6.

Культура называется чистой, если родительские и дочерние клетки в ней практически неразличимы и между ними нельзя установить родственные связи.

Лиофилизация культур осуществляется путем быстрого замораживания (от -40 до -60°C) суспензии клеток или спор микроорганизма, приготовленной на среде, богатой белками (кровяная сыворотка), с последующим высушиванием под вакуумом до остаточной влажности (0,5 - 0,7%). После такой обработки ампулы со спорами и клетками лиофилизированного микроба запаивают. Метод пригоден как для спорообразующих, так и бесспорных культур микроорганизмов.

Лиофилизированные формы бактерий могут сохраняться в течение 16-18 лет, а споры грибов – в течение 10 лет, не теряя основных свойств.

Производственный этап. Дальнейшую подготовку посевного материала осуществляют в ферментаторах-инокуляторах, в которых наращивают посевной материал (рис.22). При этом одноклеточные культуры доводят до середины Log-фазы (когда клетки делятся синхронно). Рабочую культуру подают в инокулятор, заполненный стерильной питательной средой, из расчета 8-10% к объему питательной среды. Во избежание утечки посевного материала в инокуляторах и биореакторах следует поддерживать избыточное давление.

Инокуляторы должны отвечать следующим основным требованиям: конструктивные простота, удобство и надежность эксплуатации. Посевные аппараты отечественного производства имеют объем 10, 5, 2 и 0,63 м³, диаметр от 0,9 до 2 м и частоту вращения мешалки от 180 до 270 об/мин. Общий объем ферментатора заполняют инокулированной средой на 70-80%, 20-30% объема заполняют газами (инертным – для анаэробов, воздухом – для аэробов).

Микроорганизм в виде суспензии определенной плотности подают из инокулятора(-ов) в промышленный биореактор, или ферментатор, в котором содержится стерильная жидкая питательная среда. При этом не должно произойти попадания каких-либо посторонних микробов в питательную среду вместе с продуцентом. Все соединения системы должны быть герметично закрытыми.

Для проведения процесса в асептических условиях необходимо введение дополнительных стадий, обеспечивающих стерилизацию питательных сред и подаваемого в ферментаторы воздуха. Стерильную питательную среду засевают с соблюдением правил асептики через специальное устройство (рис.23) посевным материалом, выращенным в лаборатории, поддерживая оптимальный режим в аппарате (температуру, аэрацию и перемешивание) для развития культуры.

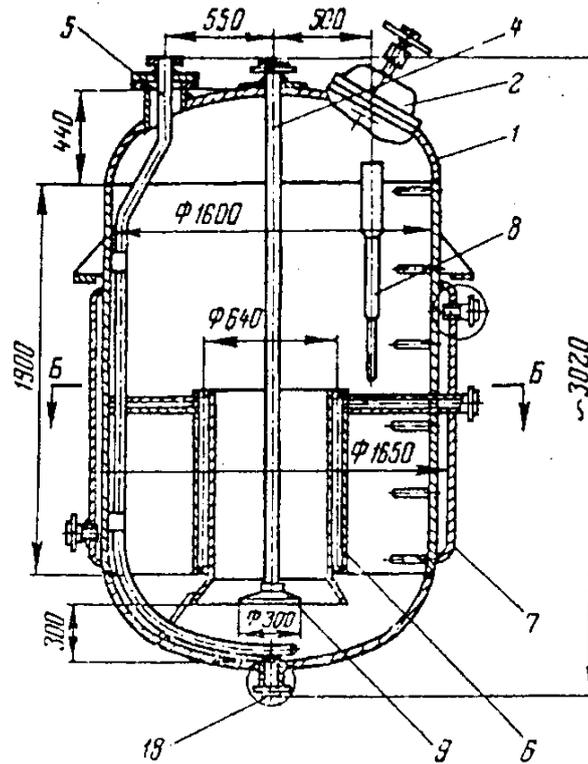


Рис.22. Инокулятор: 1 – корпус; 2 – лаз; 3 – смотровое окно; 4 – аэратор; 5 – труба для перепуска посевной культуры в ферментатор; 6 – диффузор; 7 – рубашка; 8 – гильза для термометра; 9 – розетка аэратора; 10 – 12 – штуцера для манометра, гильзы термометра и трубы для передавливания; 13 – 17 – штуцера для загрузки среды, аэратора, выхода воздуха, отбора проб и выхода воды; 18 – штуцер для спуска жидкости

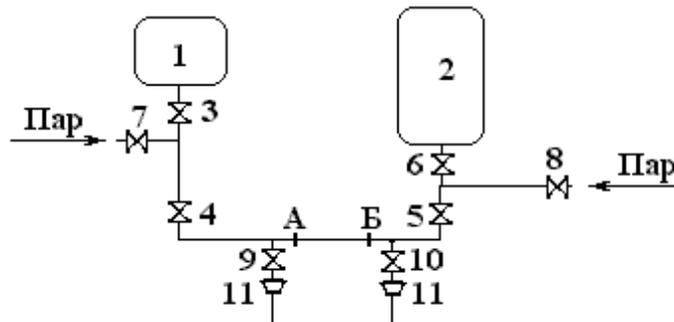


Рис.23. Запорно-регулирующее устройство в системе трубопроводов для засева промышленного ферментатора (2) из инокулятора (1); 3-10 – клапаны; 11 – ловушки конденсатора; АБ – отрезок трубопровода

Последовательность операций стерилизации: открывают клапаны 4 и 7 (клапан 3 закрыт) и стерилизуют участок трубопровода АБ паром под давлением $1,055 \text{ кг/см}^2$ 20 мин; конденсат собирают в ловушках 11; закрывают клапаны 7, 8, 9, 10 и открывают клапаны 4, 5, 6; ферментатор охлаждают под давлением очищенного стерильного воздуха, стерильная среда заполняет соединительный трубопровод; повышают давление в посевном аппарате до $0,7 \text{ кг/см}^2$ при его снижении в ферментаторе до $0,14$

кг/см², открывают клапан 3 и посевной материал переводят в ферментатор, после чего отключают инокулятор-ферментатор от системы подачи пара, закрыв клапаны 3 и 6; открывают клапаны 7 и 8, спускают пар и конденсат при частично открытых клапанах 4 и 5.

При достижении требуемых стадий развития и количества биомассы посевной материал перекачивают стерильным сжатым воздухом по посевному коллектору в посевной аппарат большей вместимости.

На второй ступени выращивания посевного материала стремятся получить больше биомассы клеток, чтобы в ферментаторе можно было создать необходимую для данного штамма продуцента исходную плотность популяции. Если это требование выполнимо без второй ступени, то ферментационную среду засевают непосредственно из инокулятора.

Все ферментаторы цеха соединены между собой несколькими коллекторами: посевным, благодаря которому можно засеять среду в любом ферментаторе из любого посевного аппарата; коллектором подачи стерильной питательной среды; коллектором подвода стерильного сжатого воздуха к индивидуальным фильтрам; коллектором отработанного воздуха, выходящего из ферментатора; коллектором перекачивания культуральной жидкости из ферментатора. В случае проведения ферментаций в заведомо нестерильных условиях питательную среду и воздух для аэрации не стерилизуют, но посевной материал всегда выращивают на стерильных питательных средах в асептических условиях.

Требования к промышленным штаммам:

стабильность структурно-морфологических признаков и физиологической активности при длительном хранении и эксплуатации в производстве;

повышенные скорости роста и биосинтеза целевых продуктов в лабораторных и производственных условиях;

широкий диапазон устойчивости к воздействию неблагоприятных внешних факторов - колебанию температуры, рН среды, аэрации, перемешиванию, вязкости среды; умеренная требовательность к ограниченному числу источников питания.

Ферментация проводится в производственных биореакторах. По биохимической сущности она во многом имитирует ***предферментацию***. В процессе ферментации также необходимо использование стерильных питательных сред, воздуха и биореакторов, выбор которых обусловлен общими требованиями биообъектов.

Ферментацию следует осуществлять в герметизированных биореакторах во избежание рассеивания биообъекта во внешнюю среду, так как некоторые из них выделяют экзотоксины.

Технология выделения и очистки конечных продуктов ферментации

После завершения ферментации отделяют либо клетки (клеточную массу), либо жидкость, в которой содержится БАВ. В первом случае

отходом является культуральная жидкость, во втором – плотная часть (клетки). Наиболее общая схема выделения конечных продуктов ферментации представлена на рис.24.

Культуральная жидкость, образующаяся в процессе ферментации, представляет собой сложную многокомпонентную систему. В водной фазе содержатся клетки продуцента, продукты их жизнедеятельности, непотребленные компоненты питательной среды, мельчайшие капельки жира, пузырьки воздуха, мел. В свою очередь водная фаза культуральной жидкости (нативный раствор) включает большое число органических и неорганических веществ, коллоидных фракций белков, сухой остаток культуральной жидкости – до 17% и более.

Содержание биомассы в культуральной жидкости достигает 8-10%. Концентрация целевого продукта чаще всего не превышает 1,5%, что составляет менее 10% сухого остатка.

В зависимости от целевого назначения конечного продукта (для здравоохранения, технических целей, сельского хозяйства и т.д.) используются схемы производства различной степени сложности, при этом учитывают и место накопления БАВ – внутриклеточного или внеклеточного.

КУЛЬТУРАЛЬНАЯ ЖИДКОСТЬ



Рис.24 . Возможные способы выделения целевого продукта

Выбор метода отделения или разделения целевых продуктов зависит от размера частиц (включая микроклетки) образовавшегося продукта (табл.4).

Крупные частицы от мелких отделяют седиментацией при использовании тканевых волокнистых фильтров, сит, сетчатых фильтров, фракционирования в пене и пузырьках. Низкомолекулярные нерастворимые частицы отделяют диализом, электродиализом, ионным обменом, экстракцией, обратным осмосом.

Таблица 4. Классификация частиц по размеру

Название	Диаметр частиц, мм
Крупные	От 0,1 до 1,0
Мелкие	От 0,01 до 0,1
Инфрамелкие	От 0,0001 до 0,01
Высокомолекулярные	От 10^{-5} до 10^{-3}
Низкомолекулярные	От 10^{-7} до 10^{-5}

Контрольные вопросы для самостоятельной проверки

1. Каковы задачи биосинтеза?
2. Какие принципы лежат в основе биосинтеза БАВ?
3. В чем состоит отличие синтеза и биосинтеза БАВ?
4. По каким технологическим показателям осуществляют контроль биосинтеза БАВ?
5. Из каких стадий состоит технология биосинтеза БАВ?
6. В чем заключаются особенности этапа предферментации?
7. Какой критерий используют при выборе состава питательной среды?
8. В чем заключаются особенности подготовки посевного материала?

Глава 4. Теоретические основы оснащения биопроизводств

4.1. Принципы технического оснащения биопроизводств

Конструкционное совершенство и универсальность биореакторов.

Инертность или коррозионная стойкость материалов биореакторов и другого технологического оборудования, вмещающих биообъект или продукты его метаболизма.

Эксплуатационная надежность технологического оборудования.

Доступность, эстетичность, легкость обслуживания, замены, смазки, чистки, обработки антисептиками.

4.2. Аппаратурное оформление микробиологических производств

В связи с тем что в технологии биосинтеза БАВ много общего, то знание этих общих закономерностей облегчает выбор биореактора, сепарирующего оборудования, сушилок и т.д.

Общие показатели биообъектов в процессе биосинтеза БАВ:

уровень структурной организации;
 способность к размножению (или репродукции);
 наличие или отсутствие собственного метаболизма при культивировании.

Бактерии и грибы выращивают в однотипных реакторах и имеют однотипную обвязку: ферментатор, стерильный многокорпусный вентиль для подачи питательной среды, посевного материала, подпитки и пр., системы регулирования рН, температуры, подачи пеногасителя, системы контроля расхода воздуха, пробоотборник, электродвигатель.

Конструкции ферментаторов для культивирования микробов продуцентов БАВ (аминокислот, антибиотиков, полисахаридов, витаминов, ферментов и др.) можно разделить на два типа: без подводки стерильного воздуха (для анаэробов) и с подводкой стерильного воздуха (для анаэробов).

Размеры ферментаторов определяются соотношением внешнего диаметра к высоте 1:2 до 1:6.

Ферментаторы классифицируют по способу ввода в аппарат энергии для перемешивания: газовой фазой (ГФ), жидкой фазой (ФЖ), газовой и жидкой фазами (ФЖГ). Они имеют большое количество общих элементов аэрирующих и перемешивающих устройств.

Ферментаторы периодического действия из групп ФЖГ (рис.25) применяют с 1944 г. в промышленности для получения антибиотиков, витаминов и других биологически активных веществ.

Его конструкция обеспечивает стерильность ферментации в течение длительного времени (несколько суток) при оптимальных условиях для роста и жизнедеятельности продуцента.

Ферментаторы такой конструкции изготавливают на 1,25; 2,0; 2,5; 3,2; 4,0; 5,0; 6,3; 10,0; 16,0; 20,0; 32,0; 50,0; 63,0; 100,0 и 160,0 м³. Как видно из рисунка, это цилиндрический вертикальный аппарат со сферическим днищем, снабженный аэрирующим, перемешивающим и теплопередающим устройствами. Воздух для аэрации поступает в ферментатор через барботер, установленный под нижним ярусом мешалки.

При использовании ферментатора группы ФГ (рис.26) с эрлифтом вместимостью 63 м³ проще поддерживать асептические условия без механического перемешивания.

К недостаткам ферментаторов этой группы следует отнести низкую интенсивность массообмена по кислороду. Воздух для аэрации среды подается по трубе, расположенной вертикально в ферментаторе. Аэратор, конструкция которого обеспечивает вихревое движение выходящего воздуха, расположен в нижней части диффузора и насыщает питательную среду воздухом. Газожидкостная смесь поднимается по диффузору и перемешивается через его верхний край.

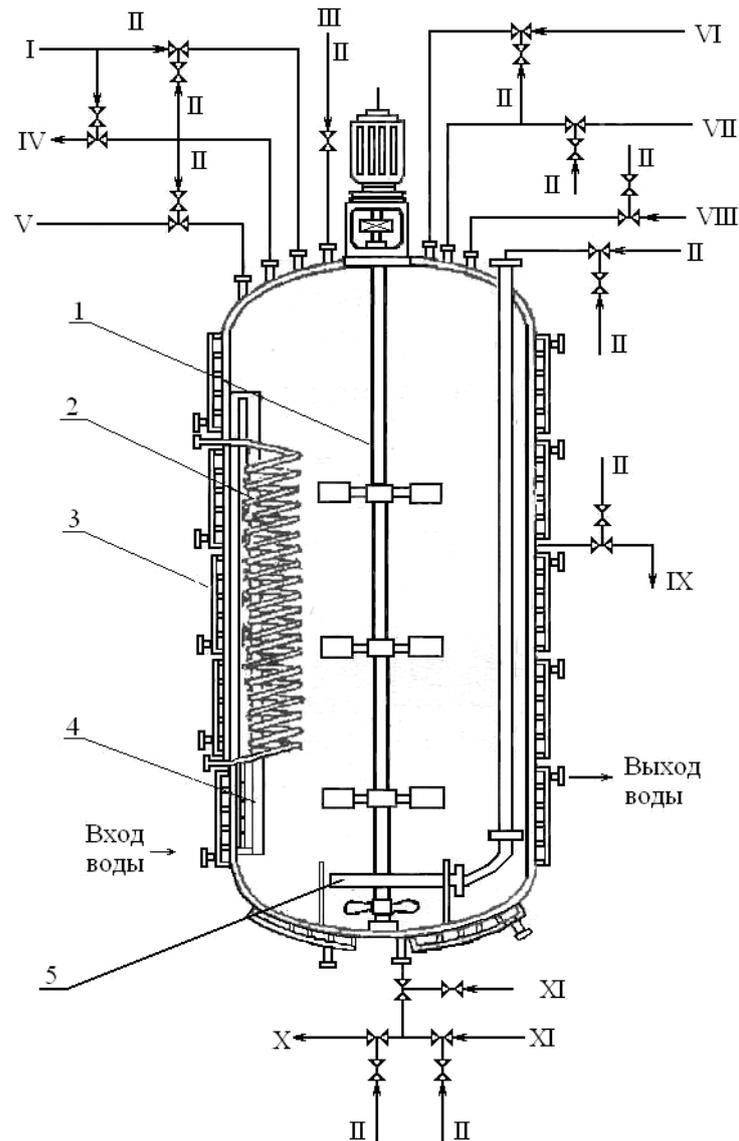


Рис.25. Ферментатор периодического действия: 1- турбинная трехъярусная мешалка, 2 – охлаждающий змеевик, 3 - секционная рубашка, 4 – отражательная перегородка, 5 – барботер, II-пар; I –XI – материальные и вспомогательные трубопроводы с запорно-регулирующими устройствами (I – посевная линия, II – подача стерильного сжатого воздуха, III – подача пара, IV – удаление отработанного воздуха, V – загрузочная линия, VI – линия введения добавок, VII – подача пеногасителя, VIII – подача моющего раствора, IX – пробоотборник, X – выдача продукта, XI – выдача в канализацию через нижний спуск)

В этой же зоне часть воздуха уходит из аппарата, и более плотная среда опускается вниз в кольцевом пространстве между корпусом ферментатора и диффузором.

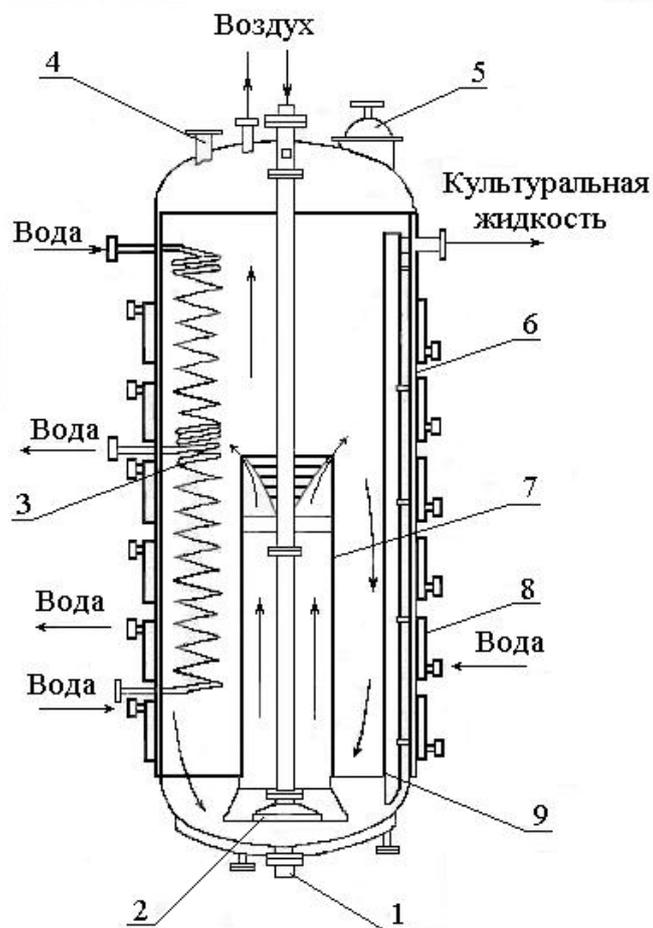


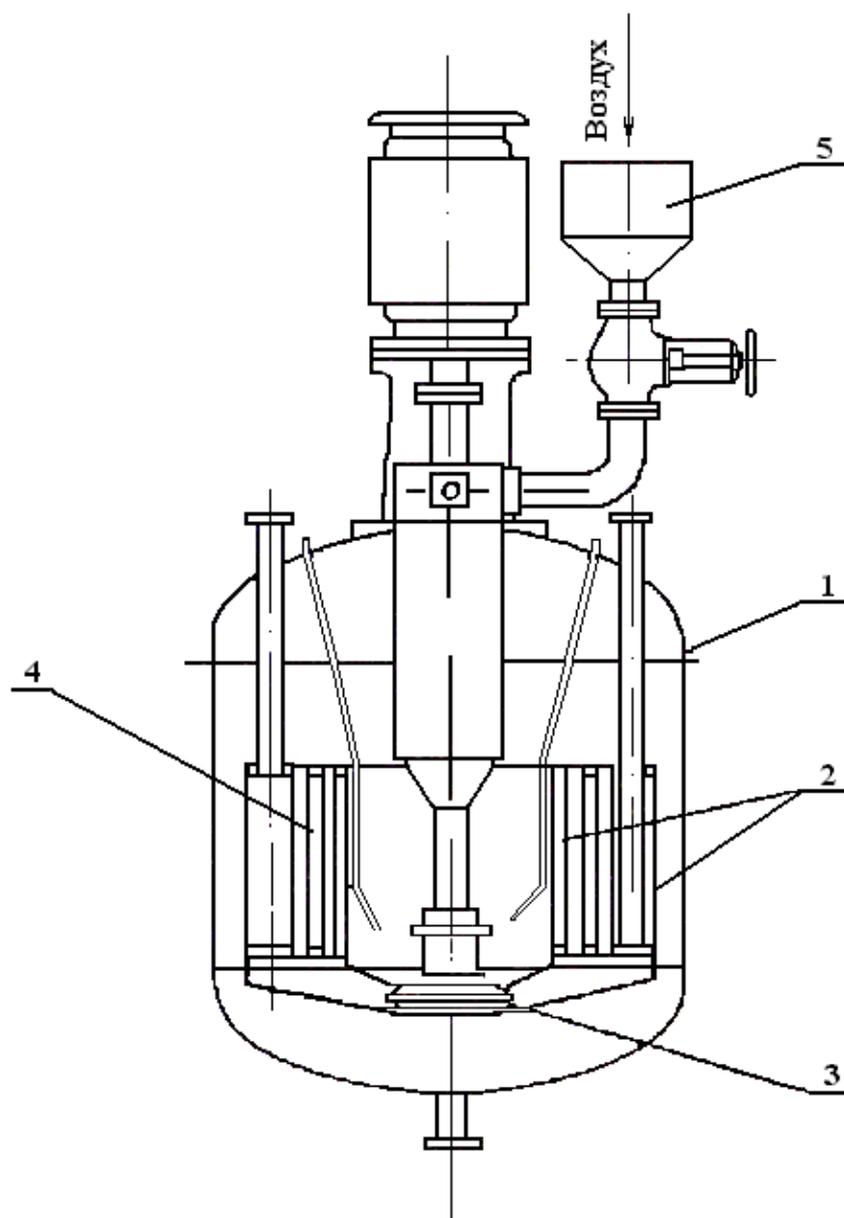
Рис.26. Ферментатор с эрлифтом: 1- штуцер для слива; 2 – аэратор; 3 – змеевик; 4 – штуцер для загрузки; 5 – люк; 6 – корпус аппарата; 7 – диффузор; 8 – рубашка; 9 – руба передавливания

Так происходит многократная циркуляция среды в ферментаторе.

Для отвода биологического тепла внутри ферментатора установлен змеевик, а также аппарат снабжен секционной рубашкой.

Недостатком этих аппаратов является низкая интенсивность массообмена по кислороду. Известны ферментаторы этого типа объемом 25, 49, 63 и 200 м³.

Широкое распространение на предприятиях микробиологической промышленности (при выращивании дрожжей в средах с жидкими парафинами в производстве кормового белка) получили ферментаторы с самовсасывающими мешалками группы ФЖ (рис.27).



**Рис.27. Ферментатор с самовсасывающей мешалкой непрерывного действия:
1- корпус, 2 – диффузор, 3 – самовсасывающая мешалка, 4 – теплообменник,
5 – фильтр**

Для выращивания чистой культуры дрожжей созданы ферментаторы вместимостью 0,32; 3,2 и 50 м³. Ферментатор представляет собой вертикальный цилиндрический аппарат, снабженный циркуляционными, теплообменными и аэрирующими устройствами.

В качестве циркуляционных устройств использованы системы направляющих диффузоров, разграничивающих восходящие и нисходящие потоки.

Теплообменные устройства выполнены в виде трубок, установленных в трубных решетках диффузоров. Его емкость 800 м³ (рабочий объем 320 м³) разделена на 12 секций.

Ферментационная среда последовательно проходит все секции, и из последней выходит культуральная жидкость с минимальным содержанием н-парафинов и максимальной концентрацией биомассы. В каждой секции установлены перемешивающие и аэрирующие устройства и змеевики для отвода тепла. В последние годы апробированы мембранные биореакторы, биореакторы с полыми волокнами и некоторые другие.

При расчете и конструировании биореакторов необходимо учитывать время протекания различных биологических процессов у представителей различных групп организмов (рис.28).

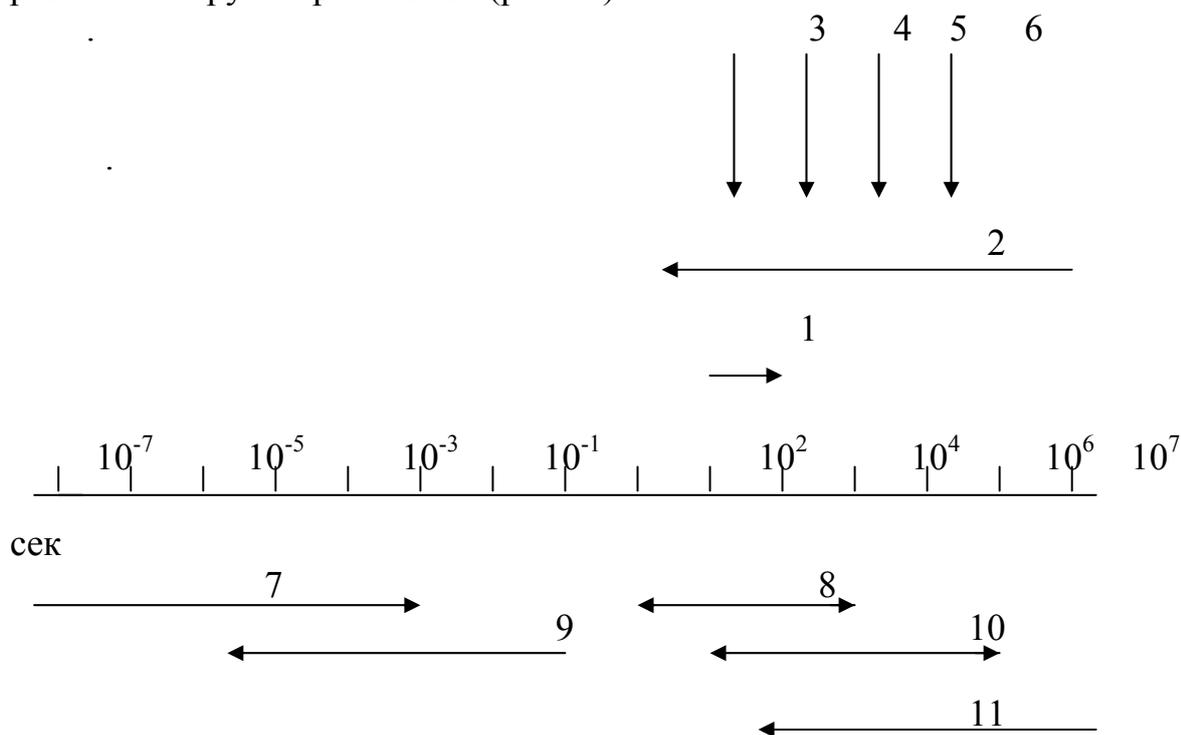


Рис.28. Ориентировочное усредненное время протекания биологических процессов у различных групп организмов (по Дж. Роуилсу, 1982): 1 – репликация хромосомы; 2 – продолжительность клеточного цикла; 3 – бактерии; 4 – дрожжи; 5- плесени; 6 – растительные и животные клетки; 7 - элементарные химические реакции; 8- регуляция транскрипции; 9 – аллостерическая регуляция белков; 10 – изменение концентрации ферментов; 11 – возникновение мутантов

4.3. Управление технологическими процессами биосинтеза БАВ

Биосинтез целевого продукта в ферментаторе происходит при заданных температурном режиме, аэрации, перемешивании и рН культуральной жидкости; величину рН обычно регулируют периодической подачей аммиачной воды через барботер ферментатора.

Аэрация жидкости способствует пенообразованию, снижающему качество ферментации, поэтому используют пеногашение либо механическое (установка в верхней части ферментатора специальной дополнительной мешалки), либо физико-химическое (использование ПАВ для снижения поверхностного натяжения на границе раздела фаз газ – жидкость).

Длительность ферментации зависит от природы используемых биообъектов, особенностей их развития, строения.

Для поддержания постоянства концентраций отдельных компонентов питательной среды их подают в виде стерильных растворов по команде ЭВМ с определенной скоростью и периодичностью в ферментатор из специальных аппаратов.

Примерный перечень контролируемых параметров при выращивании клеток прокариот и эукариот в биореакторах показан в табл.5.

4.4. Отходы биотехнологических производств и их обезвреживание и утилизация

Отходы биотехнологических производств относятся к типу разлагающихся в природных условиях под действием биологических факторов (минерализация с участием микроорганизмов), химических (окисление), физико-химических (воздействие лучистой энергии и химических веществ).

Плотные отходы: микробная масса, шламы, растительная биомасса после экстракции, тканевые культуры животных, осадок сточных вод (ил).

Все отходы биотехнологических производств подлежат анализу на содержание патогенных микробов. Нетоксичные сухие остатки используются либо в качестве кормовых добавок, либо для приготовления компоста, получения биогаза при метановом брожении. При метановом брожении почти все органические вещества (кроме лигнина) с помощью микроорганизмов преобразуются до метана и углекислоты.

Метан используют в виде топлива, углекислоту – в виде сухого льда. Оставшийся плотный осадок после брожения представляет собой органическое вещество, содержащее гумусовые вещества, которые используют в качестве органического удобрения.

Жидкие отходы могут содержать как неорганические, так и органические примеси из-за неполного использования продуцентами питательной среды. Эти отходы могут накапливаться на стадии подготовки сырья (мойка), и попадать в воду. Органические вещества жидких отходов обезвреживают с помощью микробов. Нитраты обезвреживают с помощью бактерий нитрификаторов. Соли фосфора осаждают химическими реактивами. Жидкие отходы подлежат очистке для сохранения равновесия в водоемах, они могут содержать масла и жиры, используемые для пеногашения, которые способствуют уменьшению поступления кислорода в водоем. В свою очередь нарушение кислородного баланса в природных водоемах приведет к конкуренции среди видов (подавление одного вида другими).

Таблица 5. Примерный перечень контролируемых параметров при выращивании клеток прокариот и эукариот в биореакторах

Параметр	Вид контроля	Параметр	Вид контроля
Коэффициент заполнения	Физический (светооптический)	Количество биомассы	Физический (спектрофотометрия, нефелометрия)
Мощность мешалки	Механический (внешний – торсионная динамометрия, внутренний – тензодатчик)	Температура	Физический (термометрия)
		Скорость потока газа	Механический (ротаметры, расходомеры)
Скорость вращения мешалки	Механический (тахометрия)	Скорость добавления питательных веществ в растворах	Механический (расходомеры: счетчик капель, динамометрический датчики и др.)
Redox-потенциал	Физический (электропроводность, определение окислительно-восстановительного потенциала)	Давление	Механический (манометрия)
		Вязкость	Физический (вискозиметрия)
		pH	Химический (pH-метрия)
Количество растворенного кислорода	Физико-химический (электрохимический и др.)	Отбор (слив) культуральной жидкости	Механический (регулирование уровня, динамометрический датчик)
Количество растворенного CO ₂	Физико-химический (ИК-спектрометрия и др.)	Ферментативная активность	Биохимический, физико-химический
Обнаружение пены	Физический (электропроводность)	Антибиотическая активность	Биохимический, физико-химический
Регулирование пенообразования	Механический (механич. устройство), физико-химический (например, силиконовый эмульсионный пеногаситель)	Определение ДНК, РНК	Химический, физико-химический
Потребление глюкозы	Химический физико-химический	Определение АТФ	Химический, физико-химический
Потребление азота	Химический, физико-химический		

Некоторые технические характеристики промышленного биореактора в сравнении с пилотным и лабораторным приведены в таблице 6.

Обработка отходов биотехнологических производств может быть условно подразделена на четыре стадии:

разрушение сложных белковых комплексов до простых растворимых веществ и отделение их от нерастворимых;

Таблица 6. Технические характеристики биореакторов

Характеристика	Показатели для аппаратов		
	промышленного на 100 м ³	пилотного на 150 л	лабораторного на 10 л
Внутренний диаметр, мм	3600	420	
Высота, мм	15715	1140	
Рабочий объем, л	1*	100	2 - 6
Диаметр турбин, мм	900	140	
Число турбин	1-2(диаметр рабочего колеса 960 мм)	3	2**
Число отбойников	4	4	
Частота вращения вала мешалки, об/мин	173	125-990	±
Мощность электродвигателя пеногасителя, кВт	4	0,73	200-1500***
Максимальное количество отработанного пеногасителем газа, м ³ /мин	100-110	0,3	
Частота вращения вала пеногасителя, об/мин	725	3000	

Примечания: * зависит от коэффициента заполнения; ** имеется одна мешалка; *** диапазон регулируемой частоты вращения мешалки.

разжижение и анаэробная отработка нерастворимого остатка с помощью микроорганизмов;

трансформация органического азота до NH_4^+ (аммонификация) с последующим окислением ионов аммония до нитратов;

превращение органического углерода в углекислый газ.

Газообразные отходы включают отработанный воздух, в котором могут быть болезнетворные микроорганизмы, а также углекислый газ, образующийся при брожении углеводов и дыхании биообъектов. Углекислый газ улавливается и утилизируется в хладагент, который используется в пищевой промышленности. Отработанный воздух подвергается очистке.

Контрольные вопросы для самостоятельной проверки

1. Какие требования предъявляются к выбору биореакторов?
2. Какие типы реакторов используются при биосинтезе БАВ?
3. Какие параметры необходимо контролировать при работе биореакторов?
4. Какие отходы образуются в процессе биосинтеза БАВ?

Глава 5. Расчет основных технологических показателей биосинтеза биологически активных веществ

5.1. Регламент выполнения курсового проекта

Характеристика синтезируемого БАВ состоит из описания, основного назначения, краткого описания свойств препарата.

Сырье и материалы следует описывать с учетом требований к качеству сырья и материалов, максимального выхода целевого продукта, воспроизводимости результатов. В случае биосинтеза БАВ дать описание продуцента, синтезирующего БАВ, особенности его развития, методы определения биологической активности, условий хранения.

Аппаратурная схема синтеза или биосинтеза включает технологическую схему процесса с указанием основных аппаратов и приборов, конструкции, размера, последовательности работ по производству БАВ с подразделением по стадиям.

Изложение технологического процесса описывают по стадиям. Указывают объемы, концентрации веществ, входящих в среду, рН среды, степень аэрации, используемые растворители, пеногасители, условия перемешивания, продолжительность процесса развития продуцента, температуру и другие показатели.

Контроль производства. Особые требования к оборудованию (герметичность ферментатора и всех коммуникаций, исправность, надежность). Анализ качества сырья, соответствующего определенным стандартам. Режимы стерилизации.

Отходы производства, вентиляционные выбросы в атмосферу, их использование и обезвреживание. Указать перечень возможных отходов и выбросов в атмосферу, наличие в отходах ценных веществ и рекомендации к их использованию и вредных с точки зрения загрязнения окружающей среды и способы их обезвреживания.

Техника безопасности, пожарная безопасность и производственная санитария. Указывается класс опасности токсичных веществ. Предполагаемые способы снижения уровня загрязнения этими отходами, способы утилизации.

Технико-экономические нормативы. Указываются выходы конечного и промежуточного продуктов, удельные нормы расхода сырья и материалов, удельные нормы расхода технологических энергозатрат (пара, воды, сжатого воздуха, электроэнергии).

Информационные материалы. Указываются биологические и физико-химические свойства вещества, степень очистки, степень вредности, фармакологические свойства.

5.2. Расчет основных технологических показателей

Процесс ферментации можно оценивать по различным показателям, используя расчетные формулы.

1. Продуктивность по биомассе Q_x , г/л ч;

а) для периодического процесса

$$Q_x = \frac{X_1 - X_0}{t_1 - t_0};$$

б) для непрерывного процесса

$$Q_x = D \cdot X_1,$$

где X_0 – концентрация биомассы, г/л на период времени, t_0 ч;

X_1 – концентрация биомассы (г/л) на период времени, t_1 ч;

D – коэффициент разбавления или скорости потока, 1/ч, равный удельной скорости (μ) для непрерывного процесса.

2. Удельная скорость роста, μ , л/ч,

$$\mu = \frac{X_1 - X_0}{X_1 \cdot (t_1 - t_0)}.$$

3. Концентрация биомассы

$$X_1 = X_0 \cdot e^{\mu(t_1 - t_0)}.$$

Для Log – фазы размножения $e = 2,718$.

4. Продуктивность по целевому продукту, Q_p , г/л ч:

а) для периодического процесса

$$Q_p = \frac{P_1 - P_0}{t_1 - t_0};$$

б) для непрерывного процесса

$$Q_p = D \cdot P,$$

где P – концентрация продукта, г/л ч.

5. Удельная скорость образования целевого продукта, q_p , г/г ч,

$$q_p = \frac{P_1 - P_0}{X_1(t_1 - t_0)}.$$

6. Удельная скорость потребления субстрата, q_s , г/г ч,

$$q_s = \frac{S_0 - S_1}{X_1(t_1 - t_0)},$$

где S – концентрация субстрата, г/л.

7. Выход биомассы из субстрата или экономический коэффициент, $Y_{x/s}$, г/г

$$Y_{x/s} = \frac{M}{q_s} = \frac{X_1 - X_0}{S_0 - S_1}.$$

8. Выход целевого продукта, $Y_{p/s}$, г/г,

$$Y_{p/s} = \frac{q_p}{q_s} = \frac{P_1 - P_0}{S_0 - S_1}.$$

Общая продуктивность (P_{ap}) в биореакторе определяется количеством целевого продукта в ED активности или в кг получаемого продукта с 1 м³ ферментационной емкости в час.

Расчет

Периодический процесс

$$P_{ap} = \frac{V_{cf} \cdot A_{cf} \cdot 10^6}{V_f \cdot T_c}, \text{ ED/м}^3\text{ч};$$

$$P_{ap} = \frac{V_{cf} \cdot C}{V_f \cdot T_c}, \text{ кг/м}^3\text{ч};$$

Непрерывный процесс

$$P_{ap} = \frac{W_{cf} \cdot A_{cf} \cdot 10^6}{V_f}, \text{ ED/м}^3\text{ч};$$

$$P_{ap} = \frac{W_{cf} \cdot C}{V_f}, \text{ кг/м}^3\text{ч};$$

где V_{cf} – объем культуральной жидкости за весь процесс ферментации, м³;

A_{cf} – активность культуральной жидкости, ED/м³,

C – концентрация целевого продукта в культуральной жидкости, кг/м³;

W_{cf} – скорость слива культуральной жидкости из ферментатора, м³/ч;

V_f – вместимость ферментатора, м³;

T_c – время цикла работы ферментатора, ч.

Общую продуктивность для непрерывных процессов определяют в установившемся режиме, а для периодических процессов и полунепрерывных – с учетом времени на подготовку ферментатора к работе.

Объемная продуктивность процесса (P_{cp}) – это количество целевого продукта в ED активности или в кг, получаемого с 1 м³ питательной среды в час.

Расчет

Периодический процесс

$$P_{cp} = \frac{V_{cf} \cdot A_{cf} \cdot 10^6}{V_{nm} \cdot T_c}, \text{ ED/м}^3\text{ч};$$

$$P_{cp} = \frac{V_{cf} \cdot C}{V_{nm} \cdot T_c}, \text{ кг/м}^3\text{ч};$$

Непрерывный процесс

$$P_{cp} = \frac{W_{cf} \cdot A_{cf} \cdot 10^6}{V_{nm}}; \text{ ED/м}^3\text{ч};$$

$$P_{cp} = \frac{W_{cf} \cdot C}{V_{nm}}, \text{ кг/м}^3\text{ч};$$

где V_{nm} – объем питательной среды, м³.

Выход продукта от субстрата (L_s) – это количество целевого продукта в ED активности или кг, полученное из 1 кг компонента ферментационной среды, являющегося энергоносителем.

Периодический процесс

$$L_s = \frac{V_{cf} \cdot A_{cf} \cdot 10^6}{m_s}, \text{ ED/кг};$$

или

$$L_s = \frac{V_{cf} \cdot C}{m_s}, \text{ кг/кг};$$

Непрерывный процесс

$$L_s = \frac{A_{cf} \cdot 10^6}{S_0}, \text{ ED/кг};$$

$$L_s = \frac{C_{cf}}{S_0}, \text{ кг/кг},$$

где m_s – исходное содержание энергоносителя в субстрате, кг,

S_0 – исходная концентрация энергоносителя в субстрате, кг/м³.

Степень использования субстрата (U)

$$U = \frac{S_0 - S_k}{S_0},$$

где S_0 - исходная концентрация энергоносителя в субстрате;

S_k - конечная концентрация энергоемкого компонента в субстрате.

5.3. Рекомендации по выполнению курсового проекта

Исходные данные для расчета основных технологических показателей процесса ферментации приведены в таблице 7.

Таблица 7. Исходные данные для расчета основных технологических параметров процесса ферментации

№ вар.	Объем фермента тора (геом.), м ³	Объем фермента тора (рабочий), м ³ (V _f)	Время цикла работы фермента тора, ч (t)	Концентрация биомассы, г/л (X)	Концентрация продукта в культуральной жидкости, г/л (C)	Скорость слива культуральной жидкости, м ³ /ч (W _{cf})
1	10	8	24-30	3,5-4,0	1,4	0,15
2	16	11,2	20-40	10,1	11,5	0,16
3	20	16	30-36	9,6	22	0,2
4	32	26	36-42	8,5	32	0,25
5	50	20	46-48	15	44	0,30
6	63	50,4	44-48	20	49	0,40
7	100	70	48-52	16,6	57	0,5
8	160	128	36-48	20	65	0,1
9	200	160	36-72	50	5,0	0,35
10	800	320	7-8	35	2,0	0,6

Темы курсовых проектов

1. Производство бензилпеницилина.
2. Производство фенаcetина.
3. Сушка антибиотиков. Распылительная сушилка.

4. Производство гваякола.
5. Производство стрептоцида из фенилуретана.
6. Получение синтетической аскорбиновой кислоты из L-сорбозы.
7. Производство витамина В₂. Стадия конденсации 3,4-ксилил-6-фенилазо-1-рибамина с барбитуровой кислотой.
8. Производство витамина Д₃. Стадия получения бензоат холестерина.
9. Производство никотиновой кислоты. Стадия – окислительный аммонолиз.
10. Производство липоевой кислоты. Стадия – получение хлорангидридноэтилового эфира адипиновой кислоты.
11. Производство фолиевой кислоты. Стадия конденсации трех компонентов: p-аминобензоилглутаминовая кислота + 2,3-дибромпропионовый альдегид + 2,4,5-триамино-6-оксипиримидин-сульфат
12. Глубинный аэробный периодический процесс.
13. Технология приготовления питательных сред для микробиологической промышленности.
14. Выделение и очистка продуктов микробного синтеза.
15. Получение технологических ферментных препаратов методом поверхностного культивирования.
16. Интенсивные технологии получения этанола из сельскохозяйственного сырья.
17. Технология производства лимонной кислоты методом поверхностного культивирования.
18. Технология ферментативного производства фруктозной патоки.
19. Технология подготовки сульфитных щелоков к выращиванию микроорганизмов.
20. Технология выращивания и выделения кормовых дрожжей при переработке мелассной барды.
21. Биосинтез БАВ из хлореллы.
22. Технология стадии подготовки гидролизата для культивирования микроорганизмов.
23. Технология гидролиза растительного сырья (JjD). Технология синтеза пенициллина.
24. Производство искусственных подсластителей и заменителей сахара.
25. Технология получения иммобилизованных ферментов.

Контрольные вопросы для самостоятельной проверки

1. Каков порядок изложения материала при выполнении курсового проекта?
2. Какие основные технологические параметры необходимо контролировать в процессе ферментации?
3. Каковы правила выбора объема ферментатора?

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках/ Н.С. Егоров.– М.: Высшая школа, 1986.- 448с.
2. Пассет Б.А. Технология химико-фармацевтических препаратов и антибиотиков/ Б.А. Пассет., В.Я. Воробьева.– М.: Медицина, 1977.- 430 с.
3. Евстигнеева Р.П. Тонкий органический синтез/ Р.П. Евстигнеева.– М.: Химия, 1991.- 184с.
4. Елинов Н.П. Основы биотехнологии/ Н.П. Елинов.– СПб.: Наука 1995.- 600с.
5. Мосичев М.С. Общая технология микробиологических производств./ М.С. Мосичев, А.А. Складнев, В.Б. Котов.– М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982.- 264с.
6. Промышленная микробиология/ ред. Н.С. Егорова.– М.: Высшая школа, 1989.- 688с.
7. Виестур У.Э. Системы ферментации/ У.Э. Виестур, А.М. Кузнецов, В.В. Савенков.– Рига: Зинатне, 1986.- 174 с.
8. Манаков М.Н. Теоретические основы технологии микробиологических производств/, Д.Г. Победимский – М.: Агропромиздат, 1990.- 272 с.
9. Микробиологическое производство биологически активных веществ и препаратов / В.А. Быков, И.А. Крылов, М.Н. Манаков и др.– М.: Высшая школа. Кн.6.: Биотехнология.–1987. – 143 с.
10. Уонг Д. Ферментация и технология ферментов:[Пер. с англ.]/ Д.Уонг, И. Корней, Дайман [и др.]. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1983. – 336 с.
11. Бекер М.Е. Введение в биотехнологию/ М.Е. Беккер.– М.: Пищевая промышленность, 1978.- 228 с.
12. Грачева И.М. Технология микробных белковых препаратов, аминокислот и биоэнергия/ И.М. Грачева.– М.: Пищевая промышленность, 1992.– 383 с.
13. Юкельсон И.И. Технология основного органического синтеза/ И.И. Юкельсон. – М. Химия, 1968. – 848 с.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение	3
Глава 1. Классификация, структура и функции биологически активных веществ	4
Глава 2. Теоретические основы синтеза биологически активных веществ	15
<i>2.1. Общие закономерности синтеза БАВ</i>	16
<i>2.2. Технология синтеза БАВ алифатического ряда</i>	25
2.2.1. Технология синтеза галогенпроизводных углеводов	26
2.2.2. Технологии синтеза кислородсодержащих БАВ	32
2.2.3. Технология синтеза БАВ с использованием предшественников	47
Глава 3. Теоретические основы биосинтеза биологически активных веществ	56
<i>3.1. Технологические особенности биосинтеза БАВ</i>	56
3.1.1. Принципы микробиосинтеза БАВ	56
3.1.2. Основные технологические показатели биосинтеза БАВ	58
3.1.3. Основные технологические стадии микробиологического синтеза БАВ	58
Глава 4. Теоретические основы оснащения биопроизводств	67
<i>4.1. Принципы технического оснащения биопроизводств</i>	67
<i>4.2. Аппаратурное оформление микробиологических производств</i>	67
<i>4.3. Управление технологическими процессами биосинтеза БАВ</i>	72
<i>4.4. Отходы биотехнологических производств и их обезвреживание и утилизация</i>	73
Глава 5. Расчет основных технологических показателей биосинтеза биологически активных веществ	76
<i>5.1. Регламент выполнения курсового проекта</i>	76
<i>5.2. Расчет основных технологических показателей</i>	77
<i>5.3. Рекомендации по выполнению курсового проекта</i>	79
Библиографический список	81