

УДК 544.4 : 542.93 : 547.459.5

## Кинетика щелочного гидролиза N-ацетилглюкозамина и D-глюкозамина

В.Ю. Новиков<sup>1</sup>, Е.Н. Чеботок<sup>2</sup>, И.Н. Коновалова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Полярный научно-исследовательский институт морского рыбного хозяйства и океанографии им. Н.М. Книповича

<sup>2</sup> Технологический факультет МГТУ, кафедра химии

**Аннотация.** В работе изучена кинетика щелочного гидролиза N-ацетилглюкозамина и D-глюкозамина в зависимости от температуры и концентрации реагентов. Предложена математическая модель процесса гидролиза, рассчитаны константа скорости и энергия активации реакций.

**Abstract.** The paper considers the kinetics of alkaline hydrolysis of N-acetylglucosamine and D-glucosamine depending on temperature and reagents' concentration. The mathematical model of hydrolysis has been proposed, velocity constants and the energy of reaction activation have been calculated.

### 1. Введение

Щелочной химический гидролиз хитина и хитозана является одним из основных методов деацетилирования этих природных полисахаридов с целью получения водорастворимых производных. Полное деацетилирование хитина и хитозана обычно не достигается при однократной обработке в концентрированной щелочи (Mima *et al.*, 1983). Исследования щелочного гидролиза хитина показали, что в основном происходит расщепление ацетамидных связей. Деполимеризация макромолекул в щелочной среде протекает медленно и, по всей видимости, связана не со щелочным гидролизом, а с окислительной деструкцией гликозидных связей. Для уточнения механизма щелочного деацетилирования хитина и хитозана необходимо детальное исследование гидролиза молекул с различной молекулярной массой и мономеров – N-ацетилглюкозамина и D-глюкозамина. Практический и теоретический интерес представляет исследование механизмов процессов щелочного гидролиза этих моносахаридов в зависимости от условий гидролиза: температуры и концентрации щелочи.

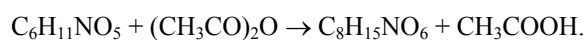
Щелочной гидролиз хитина (ХТН) и хитозана (ХЗН) рассматривается в работах (Mima *et al.*, 1983; Kurita, 2001; Нудьга и др., 1971; Kurita *et al.*, 1977; Chang *et al.*, 1997).

Анализ литературных данных показал, что до настоящего времени практически отсутствуют сведения по количественной оценке процесса химического гидролиза в рамках химической кинетики и оценке констант скоростей элементарных реакций. Ранее нами была сделана попытка построения математической модели щелочного деацетилирования хитина и хитозана (Новиков и др., 1990). Было установлено, что реакция деацетилирования хитина подчиняется кинетике первого порядка. В работе (Новиков, 2003) было показано, что скорость деацетилирования хитина и хитозана не зависит от начальной степени деацетилирования полисахарида.

В представленной работе изучен процесс щелочного гидролиза мономеров хитина и хитозана – АцГЛА и ГЛА для оценки констант скоростей этих реакций.

### 2. Объекты и методы анализа

В работе использовали D-глюкозамин (ООО "НТЦ Экобиотек-Мурманск") и N-ацетилглюкозамин (АцГЛА), полученный ацетилированием D(+)-глюкозамина уксусным ангидридом по методике (Roseman *et al.*, 1954):



Гидролиз АцГЛА проводили в водном растворе гидроксида натрия с концентрациями от 1 до 5 % при температуре 80°C (величина pH составляла 11-12). Полученные гидролизаты нейтрализовали водным раствором соляной кислоты с концентрацией сначала 1 моль/л и затем 0.1 моль/л до pH 7.0, фильтровали через пористый стеклянный фильтр с диаметром пор не более 10 мкм (ПОР 10) и определяли в них содержание АцГЛА и ГЛА (в моль/л).

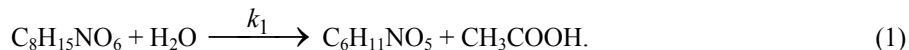
Содержание АцГЛА определяли спектрофотометрическим методом с N,N'-диметилбензальдегидом по методике (Reissig *et al.*, 1955).

Общее содержание АцГЛА и ГЛА оценивали спектрофотометрическим методом с гексацианоферратом калия (III) по методике (Imoto, Yagishita, 1971).

Содержание ГЛА (моль/л) рассчитывали по разнице между общим количеством АцГЛА+ГЛА и количеством АцГЛА.

### 3. Обсуждение результатов

На рис. 1 приведены кинетические кривые гидролиза АцГЛА (кривые 1-3) и образования ГЛА при гидролизе АцГЛА (кривые 4-6) при 80°C и концентрации раствора NaOH 1 %, 3 % и 5 %. Процесс гидролиза АцГЛА сопровождается образованием ГЛА по реакции (1):



Одновременно с образованием ГЛА происходит его разрушение, что наглядно подтверждается формой кинетических кривых образования ГЛА (рис. 1, кривые 4-6). Из рис. 1 следует, что концентрация ГЛА в реакционной смеси максимальна через 5-7 мин, далее несколько уменьшается и достигает постоянных значений через 10-15 мин после начала гидролиза. С увеличением концентрации NaOH выход ГЛА уменьшается.

Известно, что в слабощелочной среде происходит енолизация моносахаридов, а в сильнощелочной – их разложение (осмоление) (Петров и др., 2002; Общая органическая химия, 1986). Поэтому можно предположить, что щелочной гидролиз ГЛА сопровождается деацелированием по реакции (1) и разложением образующегося продукта по реакции (2)



Для подтверждения полученных результатов был проведен гидролиз ГЛА в тех же условиях: при концентрации NaOH 1-3 % и температуре 80°C.

Полученные кинетические кривые представлены на рис. 2.

Из данных, приведенных на рис. 2, следует, что при обработке щелочью глюкозамина его концентрация уменьшается и через 10-15 мин после начала гидролиза достигает постоянного значения. В исследованном диапазоне концентраций NaOH 1-3 % концентрация щелочи практически не влияет на скорость гидролиза ГЛА.

Анализ кинетических кривых гидролиза АцГЛА и ГЛА (рис. 1 и 2) показал, что реакция гидролиза может быть описана кинетическими уравнениями первого порядка. Пользуясь выражением для описания реакции первого порядка (Семиохин и др., 1986)

$$k = 1/t \times \ln (C_0/C),$$

были рассчитаны константы скорости реакций гидролиза АцГЛА и ГЛА.

Если предположить, что щелочной гидролиз АцГЛА заключается в образовании ГЛА и его разложении, то расчет констант скоростей гидролиза по уравнениям реакции (1) и (2) показывает, что константа скорости реакции  $k_1$  должна быть больше, чем это вытекает из предложенного механизма (ветви кривых 4-6 на рис. 1 должны после прохождения через максимум идти вниз, достигая нулевых значений).

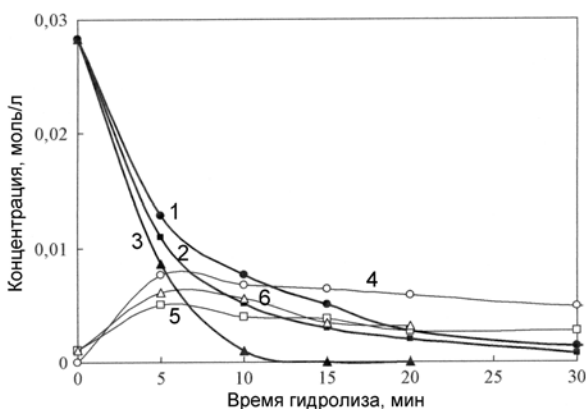


Рис. 1. Кинетические кривые гидролиза АцГЛА при 1 % (1), 3 % (2) и 5 % (3) NaOH и кинетические кривые образования ГЛА при 1 % (4), 3 % (5) и 5 % (6) NaOH. Температура 353 К

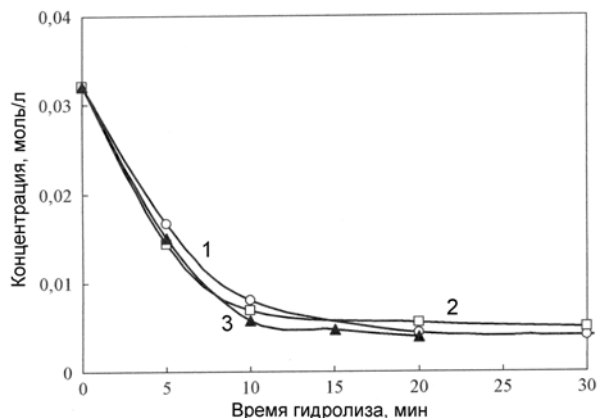
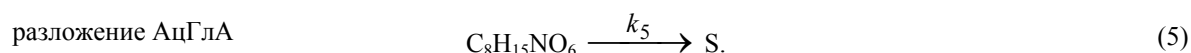
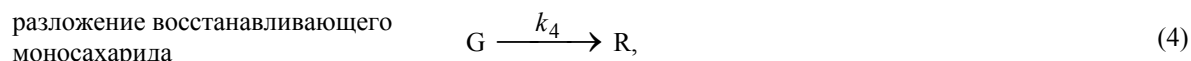
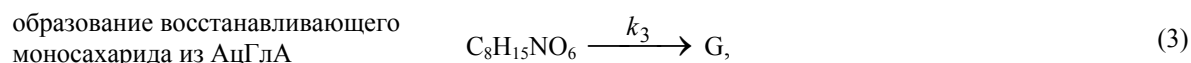
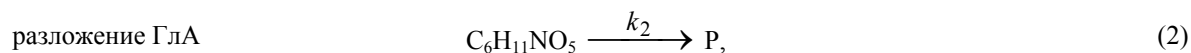
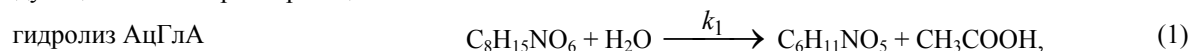


Рис. 2. Кинетические кривые гидролиза ГЛА при 1 % (1), 3 % (2) и 5 % (3) NaOH. Температура 353 К

Анализ полученных кинетических кривых позволил предположить, что щелочной гидролиз АцГЛА и ГЛА, кроме реакций (1) и (2), сопровождается реакциями их разложения с образованием конечных продуктов Р и S, а также образованием из АцГЛА, кроме ГЛА, другого восстанавливающего моносахарида G (этот моносахарид также определяется используемой методикой вместе с ГЛА) и его разложением.

Таким образом, в соответствии с предложенным механизмом, рассчитаны константы скоростей следующих элементарных реакций:



Константы скоростей гидролиза АцГЛА и ГЛА при различной концентрации NaOH, рассчитанные для элементарных реакции в соответствии с предложенным механизмом, приведены в табл. 1.

Таблица 1. Константы скорости гидролиза АцГЛА и ГЛА при разных концентрациях NaOH

Константы скорости		C <sub>NaOH</sub>		
		1 %	3 %	5 %
АцГЛА	$k_1+k_3+k_5, c^{-1}$	0.1331	0.1823	0.2561
ГЛА	$k_2, c^{-1}$	0.0960	0.1209	0.1395

Аналитическое описание предложенного механизма щелочного гидролиза было получено при решении системы дифференциальных уравнений с помощью программы Maple 7 (Waterloo Maple Inc.):

$$a(t) = A_0 e^{-(k_1 + k_3 + k_5)t}, \quad (6)$$

$$d(t) = \{k_1 A_0 / (k_1 + k_3 + k_5 - k_2)\} \cdot e^{-k_2 t} \{1 - e^{-(k_1 + k_3 + k_5 - k_2)t}\}, \quad (7)$$

$$g(t) = \{k_3 A_0 / (k_1 + k_3 + k_5 - k_4)\} \cdot e^{-k_4 t} \{1 - e^{-(k_1 + k_3 + k_5 - k_4)t}\}, \quad (8)$$

$$p(t) = k_2 [\{k_1 A_0 / (k_1 + k_3 + k_5 - k_2)\} \cdot \{e^{-(k_1 + k_3 + k_5)t} \cdot 1 / (k_1 + k_3 + k_5) - 1 / k_2 e^{-k_2 t}\}] + k_1 A_0 / (k_1 + k_3 + k_5), \quad (9)$$

$$r(t) = k_4 [\{k_3 A_0 / (k_1 + k_3 + k_5 - k_4)\} \cdot \{e^{-(k_1 + k_3 + k_5)t} \cdot 1 / (k_1 + k_3 + k_5) - 1 / k_4 e^{-k_4 t}\}] + k_3 A_0 / (k_1 + k_3 + k_5), \quad (10)$$

$$s(t) = \{k_5 A_0 / (k_1 + k_3 + k_5)\} \cdot \{1 - e^{-(k_1 + k_3 + k_5)t}\}, \quad (11)$$

где  $a(t)$ ,  $d(t)$ ,  $g(t)$ ,  $p(t)$ ,  $r(t)$ ,  $s(t)$  – текущие концентрации АцГЛА, ГЛА, восстанавливающего моносахарида G и конечных продуктов их разложения P, R и S, моль/л;  $A_0$  – начальная концентрация АцГЛА, моль/л;  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $k_3$ ,  $k_4$ ,  $k_5$  – константы скорости элементарных реакций (1), (2), (3), (4), (5) первого порядка,  $c^{-1}$ .

Результаты расчетов констант скоростей элементарных реакции приведены в табл. 2.

Таблица 2. Расчетные константы скоростей элементарных реакций щелочного гидролиза АцГЛА

Константы скорости	C <sub>NaOH</sub>		
	1 %	3 %	5 %
$k_1, c^{-1}$	0.0569	0.0621	0.0875
$k_2, c^{-1}$	0.096	0.1209	0.1395
$k_3, c^{-1}$	0.0304	0.0195	0.0359
$k_4, c^{-1}$	0.0049	0.0017	0.0091
$k_5, c^{-1}$	0.0458	0.1007	0.1327

Расчет кинетических кривых с использованием полученных констант скоростей реакций привел к удовлетворительному совпадению с экспериментальными результатами (рис. 3, 4 и 5), что подтверждает достоверность предложенного механизма щелочного гидролиза мономеров хитина и хитозана – АцГЛА и ГЛА.

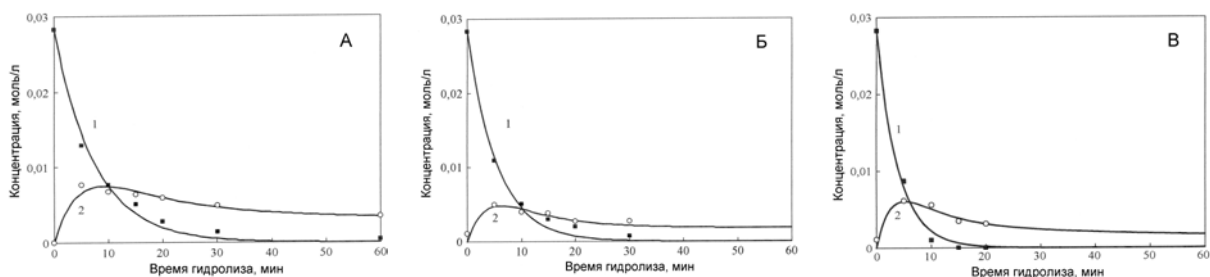


Рис. 3. Расчетные кинетические кривые и экспериментальные точки гидролиза АцГЛА (1), кинетические кривые образования восстанавливающих сахаров ГЛА +G (2) при 1 % (А), 3 % (Б) и 5 % (В), NaOH. Температура 353 К

#### 4. Выводы

1. На основании полученных кинетических зависимостей предложен механизм щелочного гидролиза АцГЛА.
2. Рассчитаны константы скорости элементарных реакций щелочного гидролиза N-ацетилглюкозамина и глюкозамина.

#### Литература

- Chang K.L.B., Tsai G., Lee J., Fu W.R. Heterogeneous N-deacetylation of chitin in alkaline solution. *Carbohydr. Res.*, v.303, N 3, p.327-332, 1997.
- Imoto T., Yagishita K. A simple activity measurement of lysozyme. *Agr. Biol. Chem.*, v.35, N 7, p.1154-1156, 1971.
- Kurita K. Controlled functionalization of the polysaccharide chitin. *Progr. Polym. Sci.*, v.26, N 9, p.1921-1971, 2001.
- Kurita K., Sannan T., Iwakura Y. Studies on chitin, 4. Evidence for formation of block and random copolymers of N-acetyl-D-glucosamine and D-glucosamine by hetero- and homogeneous hydrolysis. *Makromol. Chem.*, v.178, N 12, p.3197-3202, 1977.
- Mima S., Miya M., Iwamoto R., Yoshikawa S. Highly deacetylated chitosan and its properties. *J. Appl. Polym. Sci.*, v.28, N 6, p.1909-1917, 1983.
- Reissig J.L., Strominger J.L., Leloir L.F. A modified colorimetric method for the estimation of N-acetyl amino sugars. *J. Biol. Chem.*, v.217, N 2, p. 959-966, 1955.
- Roseman S., Ludowieg J. N-Acetylation of the hexosamines. *J. of the American Chem. Society*, v.76, N 1, p.301-302, 1954.
- Новиков В.Ю. Химический гидролиз хитина и хитозана. *Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана: Матер. Седьмой Междунар. конф. (Санкт-Петербург – Репино 15-18 сент. 2003 г.)*, М., Изд-во ВНИРО, с.38-42, 2003.
- Новиков В.Ю., Орлова Т.А., Воронина И.Э. Кинетика реакции деацетилирования хитина и хитозана. *Изв. вузов. Пищевая технология*, № 5, с.64-67, 1990.
- Нудьга Л.А., Плиско Е.А., Данилов С.Н. Получение хитозана и изучение его фракционного состава. *ЖОХ*, т.41, № 11, с.2555-2559, 1971.
- Общая органическая химия. Под ред. Д. Бартона, У.Д. Оллиса. Том 11. Липиды, углеводы, макромолекулы, биосинтез. М., Химия, 736 с., 1986.
- Петров А.А., Бальян Х.В., Троценко А.Т. Органическая химия: Учебник для вузов. СПб., "Иван Федоров", 624 с., 2002.
- Семиохин И.А., Страхов Б.В., Осипов А.И. Кинетика гомогенных химических реакций. М., Изд-во Моск. ун-та, 232 с., 1986.