

## АДСОРБЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ НА ТВЕРДЫХ СОРБЕНТАХ В БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ АППАРАТАХ НЕПРЕРЫВНОГО ДЕЙСТВИЯ

Г. Б. ПИЩИКОВ,

доктор технических наук, профессор, Уральский государственный экономический университет  
(620144, г. Екатеринбург, ул. 8 марта, д. 62; тел.: +7 922 209-42-07),

Л. А. МИНУХИН,

доктор технических наук, профессор, Уральский государственный аграрный университет  
(620075, г. Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, д. 42; тел.: +7 902 870-27-59)

**Ключевые слова:** адсорбция, десорбция, микроорганизмы, дрожжевые клетки, контактные поверхности.

В статье рассмотрены аспекты применения способа иммобилизации микроорганизмов в технологиях пищевых производств связанных с брожением субстратов. Представлено авторское видение элементов физики процессов адсорбции-десорбции микроорганизмов на твердых насадочных поверхностях с вертикальной образующей в поточных аппаратах непрерывного действия. Авторы обращают внимание читателей-специалистов, а также студентов на возможность существенной интенсификации технологических процессов путем использования иммобилизованных микроорганизмов. Из указанных в статье преимуществ технологий с применением иммобилизованных дрожжей на регулярной насадке-сорбенте акцентируются внимание на двух аспектах: микробиологическом — биохимическом и физическом. Последний еще мало изучен и требуем повышенного внимания исследователей. Так как нет других возможностей создавать заданные разницы скоростей перемещения вдоль аппарата (системы) жидкой и твердой фаз, то предлагается в качестве инструмента решения этой сложной задачи метод дискретной иммобилизации микроорганизмов. При этом использовать свойства клеток изменять с течением времени поверхностную структуру оболочки, а также подбирать сорбенты с различными селективными свойствами. Авторы показывают возможность получения расчетным путем прогнозирования биофизической ситуации в аппаратах и установках непрерывного действия, в частности бродильных производств. Предложена методика количественного описания процесса сорбции-десорбции дрожжевых клеток. Показано, что при продолжительной работе продольно секционированного аппарата в стационарном режиме концентрации флуктуирующих и адсорбированных клеток — величины постоянные.

## ADSORPTION OF MICROORGANISMS ON CONTACT SURFACES WITH THE VERTICAL FORM IN THE APPARATUS OF CONTINUOUS EXPOSURE

G. B. PISHCHIKOV,

doctor of technical sciences, professor, Ural State Economic University  
(62 8 Marta St., 620144, Ekaterinburg; tel: +7 922 209-42-07),

L. A. MINUKHIN,

doctor of technical sciences, professor, Ural State Agrarian University  
(42 K. Libknehta Str., 620075, Ekaterinburg; tel: +7 902 870-27-59 )

**Keywords:** adsorption, desorption, microorganisms, yeast cells, contact surface.

In the article aspects of application of the method of immobilization of microorganisms in technologies of food manufactures connected with fermentation of substrates are considered. The author's vision of elements of physics of adsorption-desorption processes of microorganisms on solid packing surfaces is presented with a vertical generator in continuous flow machines. The authors draw the attention of professional readers, as well as students, to the possibility of significant intensification of technological processes by using immobilized microorganisms from the advantages of technologies indicated in the article with the use of immobilized yeast on a regular nozzle-sorbene, two aspects are emphasized: microbiological-biochemical and physical. The latter has not been sufficiently studied yet and we require an increased attention of researchers. Since there is no other way to create the specified velocity differences along the apparatus (system) of the liquid and solid phases, the method of discrete immobilization of microorganisms is applied as an instrument for solving this complex problem. In this case, use the properties of cells to change over time the surface structure of the shell, as well as to select sorbents with different selective properties. The authors show the possibility of obtaining by calculation the forecasting of the biophysical situation in apparatuses and installations of continuous action, in particular fermentation plants. A technique for quantitative description of the process of sorption-desorption of yeast cells is proposed. It is shown that with continuous operation of a longitudinally partitioned apparatus in a stationary mode, the concentrations of fluctuating and adsorbed cells are constant.

*Положительная рецензия представлена С. А. Ермаковым, доктором технических наук, профессором  
Уральского федерального университета имени первого Президента России Б. Н. Ельцина.*

В современных биотехнологических процессах эффективно применяется прием иммобилизации микроорганизмов на твердых контактных поверхностях. Применение иммобилизованных микроорганизмов явилось одним из важнейших достижений в области практической биотехнологии, в том числе пищевых производств. Идея иммобилизации микроорганизмов в пищевой промышленности внедрена в значительной степени в технологиях связанных с брожением субстратов, в частности, в технологии шампанизации вина в непрерывном потоке [1].

В основу использования иммобилизованных микроорганизмов положено представление о том, что в этих условиях их биологическая активность сохраняется значительно дольше, чем у интактных клеток [2]. Это объясняется улучшением транспорта питательных веществ к клетке и связанной с этим интенсификацией клеточного метаболизма [3].

Иммобилизацию микроорганизмов определяют, как физическое заключение клеток в определенную область пространства в условия, обеспечивающие увеличение их каталитической активности [1]. Чаще при использовании иммобилизованных микроорганизмов процессы размножения и метаболизма разделяются, что позволяет поддерживать постоянно высокую способность микроорганизмов к преобразованию субстратов [4]. К преимуществам использования иммобилизованных дрожжей в бродильных производствах следует отнести:

- интенсификацию технологических процессов;
- возможность создания разности суммарно линейных скоростей движения субстрата и дрожжевых клеток в потоке вдоль бродильных аппаратов и биогенераторов;
- улучшение гидродинамического режима потока в аппаратах непрерывного действия;
- возможность достижения наиболее полного превращения определяющих компонентов в ходе биохимических реакций;
- достижение рационального накопления специфических продуктов анаэробного метаболизма дрожжей и вторичных продуктов брожения, обуславливающих типичные свойства продукции;
- выработку повышенной адаптации микроорганизмов к неблагоприятному воздействию продуктов брожения и тяжелым физическим условиям;
- достаточно полное отделение сброженного субстрата от клеток микроорганизмов в выходной зоне аппаратов, облегчающее или даже исключающее обычную фильтрацию.

Адсорбция дрожжевых клеток в отличие от адсорбции неорганических частиц характеризуется тем, что в процессе жизнедеятельности микроорганизмов характер их поверхности и физические свойства изменяются. В связи с этим изменяется в первую очередь скорость десорбции.

Полученные экспериментальные данные [5] свидетельствуют о значительном изменении метаболизма дрожжевых клеток под действием их адгезии. Основная причина этих изменений заключается в специфике условий на поверхности раздела фаз твердого тела и жидкости.

Так, на границе раздела фаз концентрация питательных компонентов, ферментов, витаминов, аминокислот и других биологически активных веществ и комплексов значительно отличается от содержания их в жидком субстрате в сторону увеличения. В связи с этим адсорбированные дрожжевые клетки в отличие от свободных попадают в зону повышенной концентрации важных для их жизнедеятельности веществ, что значительно повышает биологическую активность микроорганизмов. Задержка дрожжевых клеток на поверхности твердого тела приводит к значительному увеличению их концентрации в поверхностном слое.

Адсорбция микроорганизмов, в частности дрожжевых клеток, на поверхности твердого тела зависит от состояния культуры, фазы ее развития, возраста, функционального состояния. При этом уменьшение адгезионных сил, возникающее в связи с изменениями структуры оболочек клеток, приводит к их отрыву и уносу потоком шампанизируемого вина и, в конце концов, положительной для процессов брожения и биогенерации ротации их на контактной поверхности.

#### **Цель и методика исследований.**

Целью исследования является установление возможности аналитической оценки интенсивности процессов адсорбции-десорбции микроорганизмов на твердых поверхностях в потоке жидкого субстрата с помощью физико-математической логики.

При реально-вероятностном процессе с количеством актов взаимодействия, относящихся к разряду больших чисел, можно ожидать состояния динамического равновесия между свободными дрожжевыми клетками и поверхностным слоем на твердом теле: число иммобилизуемых микроорганизмов должно быть равно числу десорбированных клеток. Эти две величины различны по своей природе, так как первая всецело обусловлена свойствами активных дрожжевых клеток и сорбента, а вторая зависит от адсорбционных сил, удерживающих стареющие микроорганизмы на поверхности. Взаимодействие между дрожжевыми клетками и твердой поверхностью в потоке жидкости определяется действием как обычных поверхностных, так и специфических биологических сил [6], а также гидродинамикой потока.

Вместе с тем, учитывая, что в акте адсорбции дрожжевая клетка взаимодействует не с одним, а со всеми ближайшими атомами адсорбата, то есть с некоторым объемом твердой фазы, и что

вероятно когезионное взаимодействие между клетками адсорбтива и адсорбата, построение единой теории адсорбции микроорганизмов представляется чрезвычайно сложной задачей, не решенной до настоящего времени [7, 9–15].

Ниже предлагается метод количественного описания процесса сорбции-десорбции микроорганизмов на твердых контактных поверхностях, на примере бродильного аппарата непрерывного действия. При этом ввиду указанной выше сложности процесса применяем принцип суперпозиции, при котором исследуется поочередно элементы сложного процесса, а затем, суммируя, получим результирующую величину. В качестве первого шага исследуем процесс сорбции-десорбции клеток, приняв условия реализации монослойной локализованной адсорбции на однородной поверхности. При этом используем следующие допущения:

- 1) адсорбция клеток адсорбтива происходит на активных центрах;
- 2) при адсорбции соблюдается строгое стехиометрическое условие — на одном центре адсорбируется одна клетка;
- 3) адсорбционные центры энергетически однородны и независимы, то есть адсорбция на одном центре не влияет на адсорбцию на других центрах;
- 4) время пребывания адсорбированной клетки на активном центре ограничено и в результате десорбции-адсорбции ее место занимает другая клетка;
- 5) отсутствуют силы взаимодействия между соседними адсорбированными клетками.

Итак, дрожжевые клетки пребывают на поверхности адсорбента в течение определенного времени  $\tau_a$  называемого временем адсорбции. В связи с этим рассмотрим, например, бродильный аппарат длиной (высотой)  $l$ , продольно секционированный пленочными коаксиальными цилиндрами [8]. Бродильная смесь движется однонаправленно с постоянной скоростью в каналах между цилиндрами, представляющими одновременно секционирующие и контактные поверхности суммарной площадью

$$S_{\Sigma} = 2\pi l \left( 2 \sum_{i=1}^{N-1} R_i + R_N \right), \quad (1)$$

где  $R_i$  — радиус  $i$ -го цилиндра,  $i = 1, 2, \dots, N$ .

Пусть  $n_0$  — число флуктуирующих дрожжевых клеток в единице объема бродильного аппарата,  $m_0$  — их единичная масса. Предположим далее, что в адсорбционный слой на границе твердое тело — жидкость с диффузионным потоком поступают дрожжевые клетки массой  $m_0$ , которые старея, теряют свою массу со скоростью  $U$ , а удерживающие их силы ослабевают. Вследствие этого за среднее время  $\tau_a$  происходит десорбция дрожжевых клеток, то есть

они покидают адсорбционный слой. Пусть далее  $n_a$  — число адсорбированных клеток на единице контактной поверхности площади;  $S_0$  — площадь, занимаемая одной дрожжевой клеткой. В этом случае плотность размещения адсорбированных клеток  $\rho$  на сорбенте составит:

$$\rho = \frac{n_a S_0}{S}, \quad (2)$$

при этом примем соотношение концентрации клеток интактных-флуктуирующих и иммобилизованных на сорбенте

$$n_a = k n_0, \quad (3)$$

где  $k$  — коэффициент адсорбции, показывающий, во сколько раз концентрация дрожжевых клеток в поверхностном слое увеличивается по сравнению с концентрацией флуктуирующих клеток. Коэффициент  $k$ , как правило, — экспериментально определяемая величина.

С учетом вышеизложенного, зная  $U(x)$ ,  $\tau_a$  и  $n_a$ , не составляет труда определить такие величины, как

$$\langle U \rangle = [m_0 - \langle m \rangle] / \tau_a, \quad (4)$$

и

$$M = n_a S_{\Sigma} \langle U \rangle, \quad (5)$$

где  $S_{\Sigma} = n_a S_0$ ,  $m$  — переменная масса адсорбированной клетки; знак  $\langle \dots \rangle$  означает среднее значение указанной в скобках величины;  $M$  — масса веществ, поступающая в систему за единицу времени (массовый поток) за счет метаболизма и частичного автолиза дрожжевых клеток.

Так, если адсорбционный слой микроорганизмов монослойный, можно ожидать, что будет соблюдаться закон действующих масс [3–5]. Действительно, пусть  $s_0 n_a$  — часть единицы площади поверхности, занимаемая адсорбированными клетками. Тогда  $(1 - s_0 n_a)$  — свободная часть единицы площади поверхности адсорбента.

Очевидно, что скорость адсорбции (то есть переход дрожжевых клеток из бродильной смеси в поверхностный адсорбционный слой) пропорциональна свободной части площади поверхности и концентрации флуктуирующих клеток в объеме аппарата:

$$v_1 = k_1 n_0 (1 - s_0 n_a), \quad (6)$$

а скорость обратного процесса (то есть переход клеток из поверхностного адсорбированного слоя в объем аппарата, называемый десорбцией) пропорциональна доле занятой поверхности:

$$v_2 = k_2 s_0 n_a, \quad (7)$$

где  $k_1$  и  $k_2$  — константы прямого и обратного процессов.

В состоянии динамического равновесия  $v_1 = v_2$ , а поэтому имеет место равенство:

$$k_1 n_0 (1 - s_0 n_a) = k_2 s_0 n_a. \quad (8)$$

Из выражения (8) следует уравнение типа изотермы Ленгмюра [4]

$$n = n_{\infty} \frac{bn_0}{1+bn_0}, \quad (9)$$

где  $b = k/k_2$ ,  $n_{\infty} = 1/s_0$ .

Уравнение (9) включает в себя две постоянные величины, каждая из которых имеет физический смысл;  $b$  — константа равновесия адсорбционного процесса,  $n_{\infty}$  — предельная концентрация дрожжевых клеток.

Из сравнения правых частей выражения (3) и (9) следует, что

$$k = \frac{bn_0}{1+bn_0} \quad (10)$$

Зная  $k$  и  $n_{\infty}$ , из выражения (10) можно найти  $b$ :

$$b = \frac{k}{n_{\infty} - kn_0} \quad (11)$$

Очевидно, что выражение (3) служит исходным для многих экспериментальных исследований процессов адсорбции микроорганизмов.

#### Результаты исследований.

1. Предложен алгоритм расчета соотношения концентрации интактных флуктуирующих клеток микроорганизмов и адсорбированных клеток на развитых контактных поверхностях биотехнологических аппаратов непрерывного действия. Причем выражение (3) служит в качестве исходного для многих экспериментальных исследований процессов адсорбции биологических клеток.

2. Предложен алгоритм расчета скорости адсорбции клеток микроорганизмов и их десорбции в связи с концентрацией флуктуирующих клеток в субстрате, а также относительно свободной и занятой частей площади сорбента.

#### Выводы. Рекомендации.

Таким образом, показано, что в принятых условиях анализа и при установившемся стационарном режиме работы продольно секционированного бродильного аппарата имеет место адсорбционное равновесие концентрации флуктуирующих и адсорбированных клеток — величины постоянные. В этих условиях становится возможным осуществить в аппарате параллельные, взаимосвязанные процессы разной функционально-биологической направленности. При этом иммобилизованные дрожжевые клетки в состоянии автолиза обогащают субстрат известными полезными веществами и комплексами, стимулирующими брожение, а жизнедеятельные флуктуирующие совместно с вновь иммобилизованными микроорганизмами обеспечивают более интенсивное брожение и внутриклеточную трансформацию компонентов субстрата, способствуя в дальнейшем формированию целевого продукта высокого качества.

#### Литература

1. Carrascosa A. V., Munoz R., Gonzalez R. *Molecular Wine Microbiology*. Academic Press, 2012. 360 p.
2. Johnson C., Natarajan M., Antoniou C. Verification of energy dissipation rate scalability in pilot and production scale bioreactors using computational fluid dynamics // *Biotechnol. Progr.* 2014. Vol. 30. No. 6. P. 760–764.
3. Оганесянц Л. А., Рейтблат Б. Б., Дубинчук Л. В., Ротару И. А., Драган В. М., Тартус В. С. Автолитические процессы при технологических обработках дрожжевых осадков // *Виноделие и виноградарство*. 2012. № 4. С. 12–15.
4. Vogel H. C., Todaro C. M. (eds.) *Fermentation and Biochemical Engineering : handbook*. 3rd edition. Elsevier, 2014. 455 p.
5. Неровных Л. П., Агеева Н. М., Даниелян А. Ю. Влияние биологических средств на процесс вторичного брожения виноматериалов бутылочным способом // *Виноделие и виноградарство*. 2017. № 3. С. 9–15.
6. Маделунг Э. *Математический аппарат физики : справочное руководство*. М. : Книга по Требованию, 2012. 618 с.
7. Варфоломеев С. Д., Луковенков А. В., Семенова Н. А. *Физическая химия биопроцессов*. М. : КРАСАНД, 2014. 800 с.
8. Пищиков Г. Б. Интенсификация шампанизации вина с помощью бифункциональных развитых поверхностей в бродильно-биогенерационных аппаратах // *Виноград и вино России*. 2009. № 5. С. 14–15.
9. Беляев А. П., Кичук В. И. *Физическая и коллоидная химия : учебник*. 2-е изд., перераб. и доп. М. : ГЭО-ТАР-Медиа, 2014. 752 с.
10. Rao M. A., Syed S. H. Rizvi, Ashim K. Datta, Jasim Ahmed *Engineering Properties of Foods*. CRC Press Taylor & Francis Group, 2014. 778 с.
11. William M. Haynes *CRC Handbook of Chemistry and Physics, 95th Edition*. CRC Press Taylor & Francis Group, 2014. 2704 с.
12. Ложкомоев А. С., Глазкова Е. А. Закономерности адсорбции микроорганизмов волокнистым сорбционным материалом // *Современные проблемы науки и образования*. 2013. № 2.
13. *Научные основы инженерного обеспечения биотехнологии : краткий курс лекций для аспирантов направления подготовки 06.06.01 Биологические науки (профиль подготовки — Биотехнология (в том числе бионанотехнологии) / сост. Л. А. Фоменко*. Саратов : Саратовский ГАУ, 2014. 97 с.

14. Инновационные технологии в производстве продуктов виноградовинодельческой отрасли и других алкогольных напитков : сб. мат. I Междунар. науч.-практ. конф., 5 июня 2015 г. Краснодар : Изд. КубГТУ, 2015. 121 с.

15. Зимин А. И., Минухин Л. А., Строганов Ю. Н. Научные достижения Уральской высшей школы в области триботехники // Успехи современного естествознания. 2007. № 11. С. 66–67.

#### References

1. Carrascosa A. V., Munoz R., Gonzalez R. *Molecular Wine Microbiology*. Academic Press, 2012. 360 p.
2. Johnson S., Natarajan M., Antoniou S. Verification of energy dissipation rate, scalability in pilot and production scale bioreactors using computational fluid dynamics // *Biotechnol. Progr.* 2014. Vol. 30. No. 6. P. 760–764.
3. Oganesyants L. A., Reitblat B. B., Dubinchuk L. V., Rotaru I. A., Dragan V. M., Tartus V. S. Autolytic processes during processing of yeast sediments // *Wine-making and viticulture*. 2012. No. 4. P. 12–15.
4. Vogel H. C., Todaro C. M. (eds.) *Fermentation and Biochemical Engineering : handbook*. 3rd edition. Elsevier, 2014. 455 p.
5. Nerovnykh L. P., Ageeva N. M., Danielyan A. Yu. Influence of biological agents on the process of secondary fermentation of wine materials by the bottle method // *Wine-making and viticulture*. 2017. No. 3. P. 9–15.
6. Madelung E. *The mathematical apparatus of physics : reference manual*. M. : Book on Demand, 2012. 618 p.
7. Varfolomeev S. D., Lukovenkov A. V., Semenova N. A. *Physical chemistry of bioprocesses*. M. : KRASAND, 2014. 800 p.
8. Pischikov G. B. Intensification of wine champagnation with the help of bifunctional developed surfaces in fermentation-biogenesis apparatuses // *Grapes and wine of Russia*. 2009. No. 5. P. 14–15.
9. Belyaev A. P., Kichuk V. I. *Physical and colloid chemistry : textbook*. 2nd ed. M. : GEOTAR-Media, 2014. 752 p.
10. Rao M. A., Syed S. H. Rizvi, Ashim K. Datta, Jasim Ahmed *Engineering Properties of Foods*. CRC Press Taylor & Francis Group, 2014. 778 p.
11. William M. Haynes *CRC Handbook of Chemistry and Physics, 95th Edition*. CRC Press Taylor & Francis Group, 2014. 2704 p.
12. Lozhkomev A. S., Glazkova E. A. Laws of adsorption of microorganisms by fibrous sorption material // *Modern problems of science and education*. 2013. No. 2.
13. *Scientific fundamentals of engineering support for biotechnology : short course of lectures for postgraduate students in the direction of training 06.06.01 Biological Sciences (training profile — Biotechnology (including bionanotechnology) / compiled by L. A. Fomenko*. Saratov : Saratov State University, 2014. 97 p.
14. *Innovative technologies in the production of products of the wine-growing industry and other alcoholic beverages : sat. mat. of the 1st International scientific-practical. conf. June 5, 2015*. Krasnodar : Kuban State Technical University, 2015. 121 p.
15. Zimin A. I., Minukhin L. A., Stroganov Yu. N. Scientific achievements of the Ural higher school in the field of tribotechnics // *Advances in modern natural science*. 2007. No. 11. P. 66–67.