

УНИВЕРСАЛЬНЫЙ ДВУХСТУПЕНЧАТЫЙ МЕМБРАННЫЙ БИОРЕАКТОР ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПИЩЕВЫХ БИОДОБАВОК

Кудряшов В.Л., Погоржельская Н.С., Маликова Н.В., Алексеев В.В.

*Всероссийский НИИ пищевой биотехнологии –
филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва,
vera_vikir@mail.ru*

В н. вр. начинают применяться мембранные биореакторы (МБР, MBR), основанные на оптимальном сочетании мембранных модулей (ММ) с биореакторами (БР). В МБР биореакции протекают одновременно с выделением (разделением) их продуктов на полупроницаемых мембранах. МБР отличаются как от БР с иммобилизованными ферментами и микроорганизмами так и от БР с их нахождением в объеме субстрата. От первых – тем, что ферменты и продуценты находятся в растворе и биохимические реакции не лимитируются медленно протекающей диффузией, а от вторых – возможностью смещения биосинтеза или гидролиза в сторону образования целевых продуктов. Это соответствует одному из основных законов химической термодинамики (принципу смещения равновесия Ле-Шателье - Брауна) – удаление продукта из зоны реакции сдвигает равновесие в сторону его образования.

ММ в составе МБР позволяют увеличивать в разы скорость биореакций, концентрацию продуктов биосинтеза, степень биоконверсии сырья, а также сокращать расход ферментов. Распространены два типа МБР – с погружными (безнапорными) ММ (МБР/ПММ) и с выносными (напорными) ММ (МБР/ВММ). Первые представляют собой погруженные в биореактор (аэротенк, метантенк) ММ через которые культуральная жидкость (к. ж.) или вода фильтруются за счет отсоса вакуумом. МБР/ПММ наиболее широко распространены при биологической очистке сточных вод где они обеспечивают повышенный уровень очистки при минимальном количестве активного ила (осадка) [1]. Во вторых разделение осуществляется за счет давления (напора) в выносных ММ при циркуляции ила (культуры) с помощью насоса. МБР/ВММ эффективны при микробиосинтезе ферментов, органических кислот, аминокислот, витаминов и др. продуктов пищевой биотехнологии (ПБ).

Как показали исследования проведенные в лаборатории мембранных технологий (ЛМТ) ВНИИПБТ – в ПБ могут применяться МБР/ПММ только в разбавленных средах при использовании молочнокислых, пропионовокислых, уксуснокислых и др. бактерий.

Широкое же применение в этой отрасли могут найти МБР/ВММ, которые имеют следующие преимущества и возможности:

- оптимального объединения в единую систему любых различных существующих к н. вр. серийных типов как БР так и ММ;

- использования ММ с любой необходимой поверхностью мембран, создания в их межмембранных каналах оптимальных гидродинамических режимов и рабочих давлений, а также температур субстратов;

- включения в состав МБР двух и более ММ для поочередной безостановочной регенерации мембран, в том числе укомплектованных мембранами с различным диаметром пор, что позволяет на различных стадиях процесса биокатализа регулировать состав субстрата и целевых биологически активных веществ (БАВ), а также использование различных ферментов и микроорганизмов.

Эффективным способом воздействия на биологические объекты является ультразвук (УЗ) [2]. Воздействие УЗ на клетки, ткани и биополимеры определяется его интенсивностью (мощностью) и частотой, а также длительностью. При низкой интенсивности (до $0,3...1,0 \text{ Вт/см}^2$) и высокой частоте УЗ положительно влияет на биосинтез, так как стимулирует рост и размножение микроорганизмов, увеличивает проницаемость клеточных мембран, ускоряет диффузию и обмена веществ. По литературным данным при обработке УЗ-ом спиртовых дрожжей в разы возрастает активность инвертазы и стимулируется их рост. Воздействие УЗ с частотой 425 кГц в течение 1 ч повышает родильную энергию и подъемную силу пекарские дрожжи на 15...18%, а при частоте 380 и 740 кГц на 45...60% увеличивается содержание эргостерина.

Отмечена эффективность воздействия УЗ и на субстраты. Так, при обработке УЗ спиртового сусле увеличивается содержание СВ на 4,3%, редуцирующих сахаров – на 19,2%, а также аминного азота.

УЗ высокой интенсивности (сопровождающийся кавитацией) используется для дезинтеграции клеток, стерилизации и дезинфекции, так как способствует разрыву клеточных стенок и мембран, повреждению флагеллина, ионизации молекул воды, изменению pH, местному перегреву и инаktivации ферментов. Очевидно, что в МБР для оптимизации должны включаться УЗ установки с регулируемой мощностью и частотой.

Эффективным методом стерилизации биодобавок является также ультрафиолетовое облучение (УФО) которое при длине волны порядка 254 нм проникает в микроорганизмы, поглощается ДНК нарушая ее структуру, что приводит к прекращению процесса их воспроизводства. Нами доказано, что при обеззараживании воды УФО совместно с УЗ содержание живых бактерий уменьшается от 10 до 300 раз.

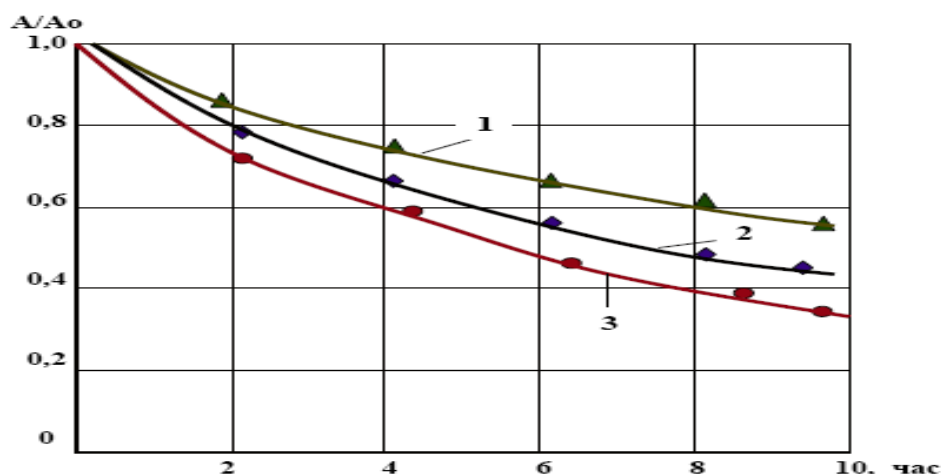
В МБР/ВММ используются центробежные насосы в которых происходят значительные механические воздействия, что может привести к инаktivации ферментов и к гибели микроорганизмов. Аналогичные воздействия образуются и при прокачивании культуры в межмембранных каналах ММ. Они характеризуются напряжением сдвига $\gamma = - \mu \cdot (dw_x/dy)$ (Па), где: μ –

динамическая вязкость, Па·с; dw_x/dy – градиент скорости течения жидкости вдоль оси x , c^{-1} ; d_y – размер частицы, м.

Чем крупнее молекула, тем длиннее ее полипептидная цепь и больше внутримолекулярных ковалентных связей стабилизирующих ее нативную конформацию. Отсюда требуются большие внешние усилия для ее деструкции. Поэтому, механостабильность ферментов должна возрастать с увеличением их молекулярных масс (ММ). Это подтверждается нашими данными – общие потери β -галактозидазы (ММ = 540 000) составили 20%, в то время как грибной липазы (ММ = 40 000) при таких же γ – 45%.

Степень инактивации ферментов зависит также от их структуры, величины γ , продолжительности воздействия и выражается формулой - $A/A_0 = e^{-K_{ин} \cdot \tau}$, где: A_0 и A – начальная и текущая активности, ед/мл; τ – время воздействия, час; $K_{ин}$ – константа скорости инактивации, c^{-1} .

Обобщенные данные влияния длительности гидродинамических воздействий в ММ на инактивацию некоторых ферментов при близких значениях γ представлены на рис. 1.



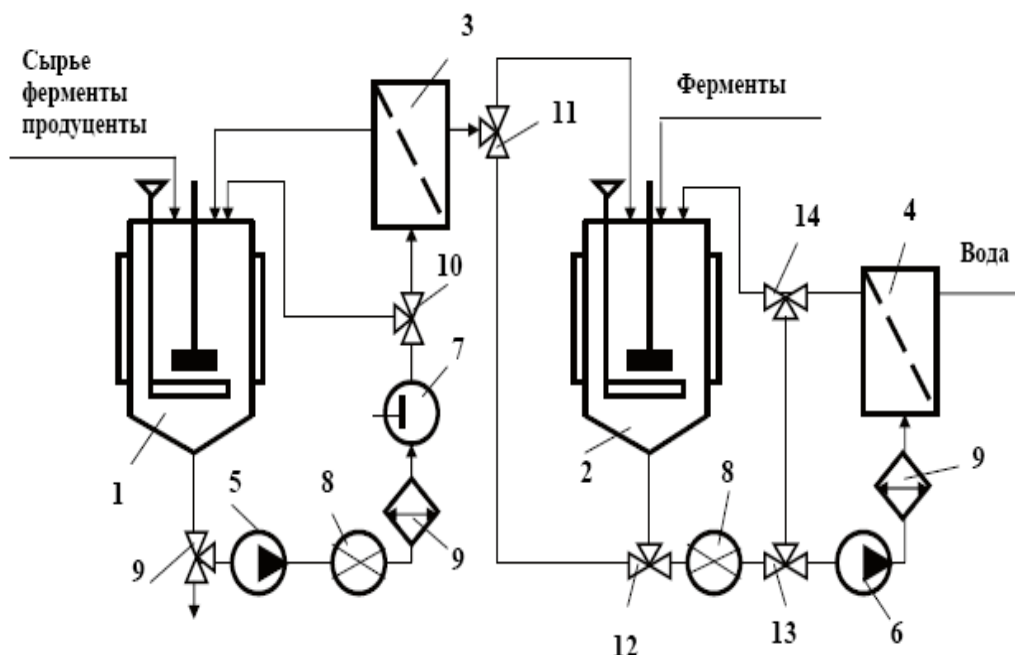
1 - гликоамилаза (ММ = 97 000);
2 и 3 - нейтральная (ММ = 37 000) и щелочная протеиназа (ММ = 19 000)

Рисунок 1 – Влияние длительности гидродинамических воздействий в ММ на инактивацию ферментов

Напряжения сдвига в насосах и межмембранных каналах влияют также и на выживаемость микроорганизмов. Это подтверждается как данными литературы так и нашими экспериментами. Например, установлено, что *Lactococcus lactis* (кокки – 0,5 мкм), устойчив при скорости сдвига $V\gamma = 2045 c^{-1}$, а *Streptococcus thermophilus* (кокки – 0,9 мкм) и *Bifidobacterium bifidum* (палочки 2x5 мкм) только до $V\gamma = 1000 c^{-1}$ (Примечание: Скорость сдвига - $V\gamma = V/h$, где: V – скорость в межмембранном канале, м/с; h – высота канала, м). Отсюда следует - для уменьшения гидродинамических воздействий в МБР

следует использовать поршневые и мембранные насосы, а также центробежные насосы с пониженными коэффициентами быстроходности.

На основе обобщения теоретических и экспериментальных НИР была разработана обобщенная блок-схема двухступенчатого МБР (см. рис.2), предназначенного для проведения как процессов биосинтеза с применением микроорганизмов-продуцентов, так и процессов биоконверсии (ферментолиза, автолиза) с одновременной последующей очисткой и концентрированием целевых БАВ и добавок. В МБР используются мембраны: микрофилтрационные (МФ), ультрафилтрационные (УФ), нанофилтрационные (НФ) и обратноосмотические (ОО).



1 и 2 – биореакторы; 3 и 4 – мембранные МФ (УФ) модули и НФ (ОО) модули; 5 и 6 – насосы низкого и высокого давления;
7 и 8 – проточные УЗ – и УФО установки; 9 – теплообменники

Рисунок 2 – Обобщенная блок-схема универсального двухступенчатого мембранного биореактора для биокатализа БАВ и добавок

В процессе НИР на основе системного подхода были разработаны теоретические основы и методология синтеза, проектирования и оптимизации МБР из существующих биореакторов и ММ, причем любой производительности с учетом перерабатываемого сырья, вида штаммов-продуцентов, требуемой конечной концентрации БАВ и др. факторов.

Установлено, что в первую ступень МБР должны входить ММ с высокими межмембранными каналами, в качестве которых из выпускаемых в РФ типов подходят: модули с плоскими полимерными мембранами ООО «Гидротех», керамическими ООО «Керамикфилтр» и металлокерамическими «TrumemTM». Они позволяют проводить процессы биокатализа при высокой

вязкости субстратов, а также при содержании в них взвешенных веществ с размерами до 1...3 мм и более. Для второй ступени рекомендуются мембранные рулонные элементы серийно выпускаемые в ЗАО «НТЦ Владипор» и АО «РМ Нанотех». В качестве УФО и УЗ установок рекомендуется оборудование ООО «Александра +».

Работа выполнена в рамках Программы Фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2019 - 2021 годы (тема №0529-2019-0066).

Литература

1. Хасанова З.Р. Очистка сточной воды с применением MBR (мембранный биореактор) // Точная наука. 2017. № 10. С. 67- 71.
2. Антушева Т. И. Некоторые особенности влияния ультразвука на микроорганизмы // Живые и биокосные системы. 2013. № 4. С. 11-18. URL: <http://www.jbks.ru/archive/issue4/article-11>.