References

1. Fedorov D.E., Maslennikova G.A. *Kontsentraty sibirskikh yagod – istochnik ehnergii v usloviyakh sovremennogo antropogennogo razvitiya chelovechestva* [Concentrates of the Siberian berries – a power source in the conditions of modern anthropogenous development of humanity].*Materialy Mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «EHkologicheskie problemy prirodnykh i antropogennykh territorij»* [Materials of the Interuniversity scientific and practical conference «Environmental problems of natural and anthropogenic areas»], 2010, pp. 165-166.

2. TSaregorodtseva S.R. *Razrabotka i issledovanie tekhnologii proizvodstva kislomolochnykh desertov s produktami pererabotki oblepikhi i chernoj smorodiny*. Diss. kand. tekh. nauk [Development and research of the production technology of sour-milk desserts with products of processing of a sea-buckthorn and black currant: Cand. tech. sci. diss.]. Kemerovo, 1999. 150 p.

3. Yunusova F.M., Ramazanov A.Sh., Yunusov K.M. *Vliyanie ehkologicheskikh faktorov na biokhimicheskij sostav masla iz plodov oblepikhi* [Influence of ecological factors on biochemical composition of oil from sea-buckthorn fruits]. *Vestnik Dagestanskogo gosudarstvennogo universiteta*, 2007, no. 4, pp. 66-69.

4. TSaryova E.A. *Izuchenie fiziko-khimicheskikh svojstv oblepikhi krasnoyarskogo kraya* [Study of physico-chemical properties of sea buckthorn Krasnoyarsk region]. *Vestnik KrasGAU*, 2007, no. 5, pp. 236-241.

5. Korotkaja E.V., Korotkij I.A. *Issledovanie fiziko-himicheskih pokazatelej svezhih i zamorozhennyh plodov oblepihi* [Research of physical and chemical indicators of the fresh and frozen fruits of a sea-buckthorn]. *Izvestija vuzov. Pishhevaja tehnologija*, 2008, no. 1, pp. 116-117.

6. Korotkij I.A. *Teplofizicheskie harakteristiki jagod oblepihi* [Heatphysical characteristics of berries of a sea-buckthorn]. *Vestnik KrasGAU*, 2008, no. 2, pp. 287-290.

7. Rahman Sh. (Ed.) Handbook of Food Preservation / Edited by M. Shafiur Rahman // CRC Press, London, New York, 2007. – 1088 p.

8. Snezhkin YU.F. *Obezvozhivanie kolloidnykh kapillyarnoporistykh materialov v usloviyakh vysokovlazhnoj okruzhayushhej sredy* [Dehydration colloidal the kapillyarnoporistykh of materials in the conditions of high-damp environment]. *Trudy V Minskogo mezhdunarodnogo foruma po teplomassoobmenu* [Proc. of the V Minsk International Forum on Heat and Mass Transfer], 2004, pp. 11.

9. Strommen I., Eikevik T.M., Alves-Filho O. Optimum design and enhanced performance of heat pump dryers // Proceedings of First Asian-Australian Drying Conference (ADC'99). Bali, Indonesia, 1999.

10. Korotkiy I.A. *Issledovanie i razrabotka tekhnologij zamorazhivaniya i nizkotemperaturnogo khraneniya plodovo-yagodnogo syr'ya Sibirskogo regiona*. Diss. dokt. tekh. nauk [Research and development of technologies of freezing and low-temperature storage of fruit and berry raw materials of the Siberian region. Dr. tech. sci. diss.]. Kemerovo, 2009, 410 p.

Kemerovo Institute of Food Science and Technology
47, Boulevard Stroiteley, Kemerovo, 650056, Russia.
Phone/fax: +7 (3842) 73-40-40,
e-mail: office@kemtipp.ru

Дата поступления: 21.05.2014

УДК 579.8

В.А. Марьин, Д.В. Харитонов

ЛИНЕЙНЫЙ РОСТ И ПАССИВАЦИЯ АКТИВНЫХ КЛЕТОК РАСТУЩЕЙ КУЛЬТУРЫ МИКРООРГАНИЗМОВ

Линейный рост микроорганизмов недостаточно изучен микробиологами. Основным характерным признаком линейного роста принято считать постоянство (неизменность) скорости роста культуры на протяжении нескольких часов. Такая характеристика линейного роста является однобокой, недостаточной и неточной, её необходимо пересмотреть. Цель публикации – дать объективную детальную и всестороннюю характеристику линейного роста микроорганизмов. В результате теоретических и экспериментальных исследований нами установлено, что режим линейного роста – это естественный, а не аномальный режим роста микроорганизмов; рост микроорганизмов в период лаг-фазы протекает в режиме линейного роста; скорость линейного роста культуры ступенчато изменяется в процессе культивирования; после ступенчатого (скачком) изменения скорости роста до нового неизменного уровня она снова остаётся неизменной в границах новой ступени до очередного ступенчатого изменения скорости роста; продолжительность каждой следующей ступени линейного роста (с новой постоянной скоростью роста), как правило, короче, чем предыдущей, и может составлять несколько минут, а не часов. Кроме этого, установлено, что режим линейного роста реально является режимом ступенчатого роста, линейным (с неизменной скоростью роста) рост культуры остаётся только в границах каждой отдельной ступени роста. Теоретически обоснован механизм роста и пассивации активных клеток культуры, растущей в режиме линейного роста, а также новый механизм активации пассивных клеток этой же культуры. Предложен новый способ определения концентрации активных (растущих) клеток лактобактерий в культуральной среде по скорости кислотообразования культуры. Впервые определены концентрации активных и пассивных (покоящихся) клеток *Lac. lactis* в культуральной среде на всех стадиях культивирования.

Фаза линейного роста, лактобактерии, активные и пассивные клетки, скорость кислотообразования.

Введение

В 1949 г. при изучении роста культуры *Bacillus subtilis* в питательной среде *P. Schaeffer* [1] в единственном эксперименте обнаружил, что скорость роста культуры оставалась неизменной на протяжении более 4 часов. Это противоречило открытому в 1936 г. фундаментальному закону экспоненциального роста.

Новый, неизвестный ранее режим роста культуры с неизменной скоростью роста, приведенный на рис. 1, великий микробиолог Жак Моно (J. Monod) в том же 1949 г. назвал линейным ростом [2]. Рост *B. subtilis* линеен на протяжении 4 часов.

Рис. 1 Кривая роста культуры *B. subtilis*

Повторить этот эксперимент не удалось, и все последующие годы Ж. Моно и другие исследователи считали линейный рост аномальным режимом роста культуры. Ж. Моно сразу же дал точную научную интерпретацию нового режима роста [2]. Неизменность скорости роста микроорганизмов при линейном росте культуры, по его мнению, обусловлена неизменной скоростью ферментативного синтеза стрептомицина (потребляемого растущими клетками *B. subtilis* компонента субстрата, необходимого для их роста, но отсутствующего в питательной среде). Свою интерпретацию Ж. Моно назвал «верной, хотя она и кажется удивительной, необычной» (The interpretation is obvious, albeit surprising). Растущая культура *B. subtilis* сама продуцирует стрептомицин, необходимый для её роста, посредством ферментативной реакции первого порядка, скорость которой неизменна, и именно поэтому растёт с неизменной скоростью.

В конце своего вывода Ж. Моно ещё раз подчеркнул, что именно такое удивительное стечение обстоятельств привело к возникновению этого нового режима (линейного) роста, который своим «необычным» режимом роста дезавуирует самый фундаментальный Закон (экспоненциального) роста [2].

Одновременно Ж. Моно указал, что отмеченное им удивительное стечение обстоятельств (для возникновения линейного роста культуры) можно создать искусственно, путём внесения в культуральную среду с неизменной заданной исследователем скоростью отсутствующего в ней компонента, лимитирующего рост культуры, при избытке остальных компонентов. Такой способ искусственного моделирования и поддержания режима линейного роста культуры, по мнению Ж. Моно, может оказаться полезным микробиологам при изучении последовательных стадий процесса метаболизма при росте микроорганизмов. (Естественный режим линейного роста лактобактерий в молоке не был известен.)

В последующие годы микробиологи, следуя этому указанию Ж. Моно, искусственно создавали режим линейного роста исследуемой растущей культуры, обеспечивая неизменность скорости подачи лимитирующего компонента в культуральную среду. Например, С. Дж. Перт в 1972 г. поддерживал в своих экспериментах режим линейного роста микроорганизмов путем внесения в культуральную среду с неизменной скоростью (с помощью диффузионной капсулы) лимитирующего компонента питательной среды [3, с. 261]. В фундаментальной монографии С. Дж. Перта (и во всех современных учебниках общей микробиологии) нет ни слова о фазе линейного роста микроорганизмов или, например, о том, что естественный рост лактобактерий в молоке протекает в режиме линейного роста, причём экспоненциальный рост культуры отсутствует.

Впервые линейный рост как естественный режим роста лактобактерий в период лаг-фазы и в новой фазе линейного роста был выявлен В.А. Марьиным в октябре 2002 г. в серии из шести экспериментов с использованием только что изобретённого им нового инструментального pH-метрического способа [4–7]. В результате упомянутой серии экспериментов, которые проанализированы ниже, стало очевидно, что линейный рост лактобактерий – это не аномальный, а, наоборот, естественный режим роста лактобактерий. Автор нового pH-метрического способа убедился, что созданный им способ позволяет детально рассмотреть и проанализировать на pH-метрических кривых мельчайшие детали новой фазы линейного роста; выявить специфику неизвестного ранее режима роста культуры (как выяснилось, режима линейного роста) в период лаг-фазы, а также лучше изучить известный режим экспоненциального роста и многое другое (рис. 2).

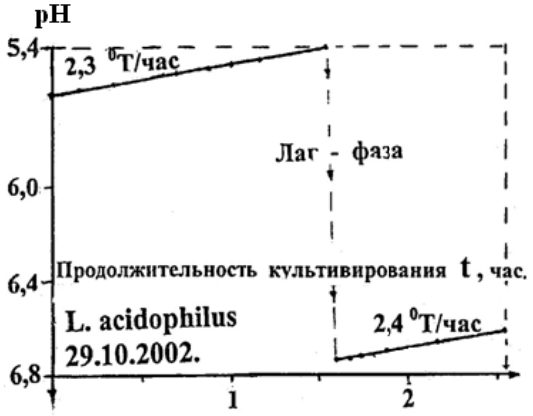

Рис. 2. pH-метрическая кривая линейного роста культуры *L. Acidophilus*.
Изменение pH культуральной среды со временем

На рис. 2 видно, что скорость кислотообразования ($\Delta At/\Delta t$) культуры *L. acidophilus* (в период лаг-фазы) на протяжении 2,5 часа оставалась практически неизменной – 2,4 ºТ/ч (что соответствует скорости роста культуры $1{,}2\cdot10^8$ КОЕ/мл·ч). Даже раскисление культуральной среды раствором аммиака (после 1,5 часа культивирования) до оптимального уровня pH=6,75 не увеличило скорость линейного роста культуры в период лаг-фазы. Согласно результатам наших исследований [8], скорость роста культуры лактобактерий ($\Delta Xt/\Delta t$) прямо пропорциональна одновременной скорости её кислотообразования ($\Delta At/\Delta t$) и прямо пропорциональна скорости одновременной убыли pH культуральной среды ($-\Delta pHt/\Delta t$):

$$(\Delta Xt/\Delta t)\ [\text{КОЕ/мл·ч}] = 0{,}5\cdot108\cdot(\Delta At/\Delta t)\ [^\circ\text{Т/ч}] = 0{,}5\cdot108\cdot b\cdot(-\Delta pHt/\Delta t) \text{ – } \textit{формула Марьина.} \quad (1)$$

Цели работы:

1. Детально изучить и проанализировать недостаточно изученную специфику режима линейного роста культуры лактобактерий и бифидобактерий, уточнить характер и диапазон изменения скорости роста и кислотообразования микроорганизмов при линейном росте культуры.

2. Теоретически и экспериментально обосновать механизм роста и пассивации активных клеток линейно растущей культуры лактобактерий и механизм наблюдаемой периодической активации пассивных клеток в режиме линейного роста культуры.

3. Показать, что исследователь может и сам намеренно активировать часть пассивных клеток растущей культуры лактобактерий и тем самым существенно повысить скорость её линейного роста, например, путём внесения в культуральную среду добавок щёлочи, повышая pH культуральной среды до оптимального уровня $pH_{опт}$=6,8.

4. Теоретически и экспериментально обосновать и проанализировать предложенный нами новый способ определения концентрации активных (растущих) клеток лактобактерий в культуральной среде по скорости кислотообразования растущей культуры.

Объект и методы исследования

Объектом экспериментальных исследований служили основные параметры и режимы линейного и экспоненциального роста лактобактерий в питательных средах, используемых во ВНИМИ для производства жидких и сухих бактериальных концентратов лакто- или бифидобактерий. Жидкую питательную среду после стерилизации и охлаждения до температуры сквашивания помещали в стерильный лабораторный культиватор из стекла объемом 0,7 л., снабженный тремя электродами, для измерения pH и Eh. Измерения pH и Eh среды выполняли одновременно при включенной мешалке отечественным прецизионным иономером «Эксперт-003» с хлорсеребряным электродом сравнения и двумя измерительными электродами. Температуру культуральной среды поддерживали на заданном уровне с помощью ультратермостата.

Экспериментальные исследования проводили с использованием нового pH-метрического способа изучения роста и кислотообразования лактобактерий и бифидобактерий. Суть нового способа – кратко изложенная в нашей предшествующей публикации 2010 г., [9], заключается в следующем:

1. Предварительное определение pH-метрическим титрованием буферности (*b*) питательной среды, выбранной для культивирования лактобактерий (бифидобактерий). Оригинальная авторская методика определения буферности молока и других питательных сред опубликована в юбилейном сборнике научных трудов ГНУ ВНИМИ [10], поэтому уравнение расчёта величины буферности среды $b = \Delta At[0T]/(-\Delta pHt)$, приведенное ниже, приводим без дополнительных комментариев:

уравнение расчёта буферности среды:

$$b = 1000\cdot N_1\cdot V_1 / (-\Delta pH)\cdot(V_0 + V_1). \quad (2)$$

В 2002 г. нами экспериментально (эмпирически) установлено, что прирост титруемой кислотности (ΔAt) исследуемой питательной среды, (например, в результате роста лактобактерий или в результате внесения в неё раствора кислоты) прямо пропорционален взаимосвязанной равновесной убыли pH среды, ($-\Delta pHt$):

неизвестная ранее эмпирическая зависимость:

$$\Delta At[^\circ T] = b\cdot(-\Delta pHt), \quad (3)$$

формула расчёта скорости кислотообразования культуры:

$$\Delta At/\Delta t\ [^\circ\text{Т/ч}] = b\cdot(-\Delta pHt/\Delta t), \quad (4)$$

формула Марьина:

$$\Delta Xt\ [\text{КОЕ/мл}] = 0{,}5\cdot108\cdot\Delta At[0T] = 0{,}5\cdot108\cdot b\cdot(-\Delta pHt),$$

$$(-\Delta pHt) = \Delta At[0T]/b = \Delta Xt\ [\text{КОЕ/мл}]/0{,}5\cdot108\cdot b, \quad (5)$$

где ΔXt – прирост концентрации лактобактерий в культуральной среде за t часов культивирования, ΔAt – одновременный прирост титруемой кислотности культуральной среды, ($-\Delta pHt$) – одновременная убыль pH среды, *b* – буферность культуральной среды.

2. Непрерывный мониторинг pH культуральной среды и построение pH-метрической кривой зависимости изменения pH среды от продолжительности процесса культивирования (t) , (т.е. графика в нормальных (Декартовых) координатах зависимости ($-\Delta pH$) среды от t). На графике ось pH (ордината) должна быть направлена вниз, тогда pH-метрическая кривая однотипна кривой роста культуры (см. уравнение (1) и отличается от неё только масштабом, если величина b=const. pH-метрическую кривую обычно строят во время культивирования, чтобы по изменению ее конфигурации в ходе культивирования наблюдать и анализировать в режиме реального времени изменение режима и скорости роста культуры.

3. Расчёт скоростей кислотообразования культуральной среды (ΔA/Δt) по уравнению (4) для каждого из исследуемых участков pH-метрической кривой и построение кривой скоростей кислотообразования (и роста) культуры, т.е. графика зависимости (ΔA/Δt) от (t) в нормальных (Декартовых) координатах.

4. Расчёт скоростей роста культуры ΔX/Δt, по формуле Марьина (1), на всех изучаемых стадиях роста культуры лакто- или бифидобактерий:

Объектом теоретических исследований являлись теория роста и пассивации активных клеток и механизм периодической ступенчатой активации пассивных клеток культуры молочнокислых микроорганизмов в процессе роста культуры, который в молоке, как правило, протекает в режиме линейного роста. Только культура *Str. thermophilus* после лаг-фазы растёт в молоке в фазе экспоненциального роста, которую затем сменяет новая фаза линейного роста культуры, открытая В.А. Марьиным в 2002 г.[5, 7, 10, 11].

Результаты и их обсуждение

В качестве примера на рис. 3 представлена pH-метрическая кривая роста периодической культуры бифидобактерий (*B. longum*) в гидролизатно-молочной питательной среде [12].

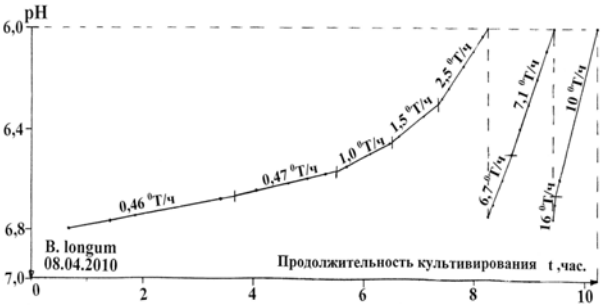

Рис. 3. Линейный (ступенчатый) рост культуры бифидобактерий в среде Биос (5 % СВ) + сухое обезжиренное молоко (5 % СВ) + сухая молочная сыворотка (5 % СВ)

PH-метрическая кривая линейного роста и кислотообразования культуры лактобактерий представляет собой последовательность соединённых в одну ломаную линию прямолинейных участков (ступеней) роста. В границах каждого прямолинейного участка (ступени) скорость кислотообразования и роста культуры остаются неизменными. Возрастание скорости кислотообразования и скорости линейного роста культуры происходит ступенчато (скачком) в момент перехода от одной ступени – к другой.

На первой ступени культивирования скорость роста и кислотообразования культуры бифидобактерий составила 0,46 ºТ/ч и оставалась неизменной в течение 3,5 часа. Затем скорость роста и кислотообразования (в момент перехода ко второй ступени) ступенчато (скачком) возросла до 0,47 ºТ/ч и рост культуры продолжился с этой новой (неизменной в границах ступени) скоростью кислотообразования. Наконец (после 5,5 ч культивирования), произошло очередное ступенчатое (двукратное) увеличение скорости кислотообразования (и роста) культуры (до 1,0 ºТ/ч = 5·107[КОЕ/мл · ч] (формула Марьина (1)). Затем скорость роста и кислотообразования культуры снова оставалась неизменной (в границах третьей ступени) на протяжении 1 часа до нового резкого ступенчатого возрастания в 1,5 раза (до 1,5 ºТ/ч = 7, 5 ·107 КОЕ/мл · ч) и так далее.

Отметим, что наклонные прямолинейные последовательно расположенные участки pH-метрической кривой, соответствующие скорости кислотообразования культуры 0,46 и 0,47 ºТ/ч, уже различимы по углу наклона, т.е. чувствительность pH-метрического способа достаточно высока. При этом приросту скорости кислотообразования на 0,01 0Т/ч соответствует одновременный прирост скорости роста культуры на 5 ·105 [КОЕ / мл · ч], который трудно определить с той же чувствительностью любым другим методом.

В результате исследований роста лакто- и бифидобактерий новым pH-метрическим способом во ВНИМИ в октябре 2002 г., было впервые установлено, что режим линейного роста культуры лакто- или бифидобактерий в молоке и в гидролизатно-молочных питательных средах является естественным, а не аномальным режимом роста и самопроизвольно устанавливается с самого начала лаг-фазы, которая всегда протекает только в режиме линейного роста [5, 11].

Одновременно впервые была выявлена новая характерная (неотъемлемая) особенность режима линейного роста периодической культуры лакто- или бифидобактерий: периодическое ступенчатое (скачком) изменение скорости роста и кислотообразования культуры в ходе культивирования [5, с. 176–177].

Известно, что скорость роста культуры пропорциональна концентрации растущих (активных) клеток в культуральной среде. Разумеется, общая концентрация живых клеток растущей культуры лакто- или бифидобактерий не может за 1 минуту возрасти в 1,5–2 раза. Однако концентрация активных (растущих, делящихся) клеток может ступенчато, скачком, возрасти вдвое без увеличения общей концентрации живых клеток в результате естественного разукрупнения (деления) растущих цепочек клеток лактобактерий, согласно предложенной нами новой схеме роста цепочек лактобактерий, представленной на рис. 4б [12].

В 2004 г. во ВНИМИ предложена новая концепция теории пассивации (образования покоящихся форм) активных клеток растущей культуры микроорганизмов и на ее основе создана новая модель линейного роста лактобактерий [11]. При микроскопировании растущей в молоке культуры *Str. thermophilus* в культуральной среде микробиологами было обнаружено большое количество цепочек микробных клеток. Поэтому в основу новой модели линейного роста лактобактерий нами положен рост концевых (крайних) клеток, их растущих цепочек. Суть новой модели понятна из схемы роста цепочек клеток *Str. thermophilus*, приведенной на рис. 4а.

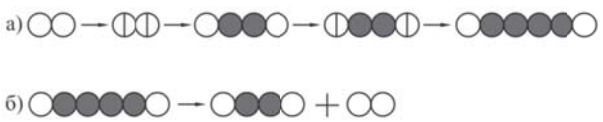

Рис. 4. Схема роста цепочек клеток *Str. thermophilus*:
а) при делении концевых клеток цепочек;
б) при распаде длинной цепочки
на укороченную цепочку + диплококк

Клетки внутри каждой цепочки пассивированы. Они остаются живыми, но временно перестают размножаться. Размножаются (путем бинарного деления) только две концевые клетки любой цепочки, а весь прирост новых клеток попадает внутрь цепочек и пассивируется (см. рис. 4а). В данном случае при линейном росте периодической культуры скорость пассивации клеток совпадает со скоростью их роста путём бинарного деления. Забегая вперёд, отметим, что скорость ступенчатой пассивации активных клеток периодической культуры в фазе линейного роста может быть в 40 (и более) раз выше скорости их роста путем бинарного деления. При росте цепочек микроорганизмов количество концевых растущих активных клеток остается постоянным. Новая модель логично объясняет, почему при линейном росте культуры скорость роста микроорганизмов остается постоянной на протяжении длительного периода культивирования (см. рис. 4а).

Продуцируемые микроорганизмами ферменты непрерывно гидролизуют компоненты питательной среды, постепенно делая их пригодными для непосредственного потребления растущими клетками культуры. Растущая культура микроорганизмов постепенно улучшает качество питательной среды (до некоторого требуемого микроорганизмам уровня) и затем, когда требуемый уровень достигнут, инициирует процесс активации части пассивных клеток путём быстрого одновременного распада (деления) длинных цепочек с одновременным увеличением концентрации активных клеток в культуральной среде, (см. рис. 4б), которое проявляется в одновременном ступенчатом увеличении скорости роста культуры [12].

При распаде длинной цепочки «концевой» диплококк, состоящий из двух активных клеток, «уходит» из состава цепочки, укорачивая ее на две клетки. В результате количество активных клеток ступенчато скачком возрастает вдвое (менее чем за минуту), **а суммарное количество живых клеток не изменяется!** Ступенчатое возрастание скорости роста периодической культуры в целом, которое мы наблюдаем на рис. 4, означает, что массовый распад цепочек происходит практически одновременно во всём объёме культуральной среды [12].

Особо отметим, что увеличение скорости роста культуры происходит в результате процесса самоактивации части пассивных клеток культуры. Образно говоря, пассивные (покоящиеся) клетки – это не пассивный балласт, а мобильный резерв культуры, который она активно использует для повышения скорости своего роста при улучшении условий культивирования. Без активного участия пассивных клеток отмеченное выше ступенчатое (резкое) увеличение скорости роста и кислотообразования культуры бифидобактерий, например, с 0,47 – до 1,0 ºТ/ч (т.е. более чем вдвое), было бы просто невозможно!

В своей монографии в разделе 7.1 «Определение понятия мёртвых и покоящихся клеток» С. Дж. Перт пришёл к прямо противоположному (необоснованному) выводу: «В растущей культуре покоящиеся и мёртвые клетки ведут себя одинаково, не внося никакого вклада в рост популяции» [3, с. 75].

С учётом сказанного выше этот вывод С. Дж. Перта мы оставим без дополнительных комментариев.

В качестве другого примера рассмотрим приведенную на рис. 5 pH-метрическую кривую роста культуры *L. acidophilus* со ступенчатой пассивацией 50 % активных клеток в фазе линейного роста, в результате которой скорость роста и кислотообразования культуры снизилась вдвое: с 33 до 16,5 ºТ/ч.

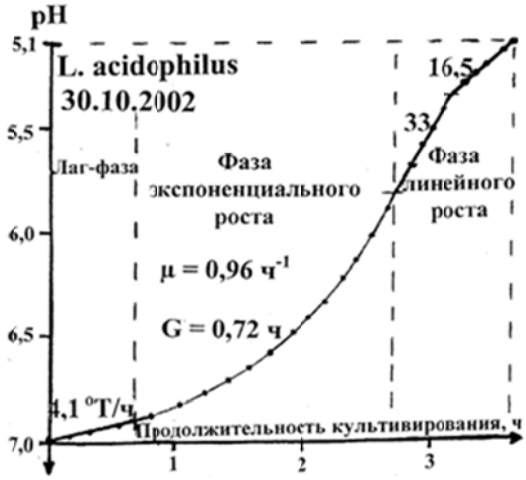

Рис. 5. pH-метрическая кривая роста культуры *L. acidophilus* в среде Vis-star (5 % СВ) + молочная сыворотка (7,5 % СВ)

На протяжении первых 40 минут культивирования (рис. 5) (в период лаг-фазы) скорость роста и кислотообразования культуры оставалась неизменной и составила 4,1 ºТ/ч (=2,05·108 КОЕ/мл·ч). Прямолинейность начального участка pH-метрической кривой свидетельствует о режиме линейного роста культуры в период лаг-фазы, после которой началась фаза экспоненциального роста (единственный криволинейный участок pH-метрической кривой), продолжавшаяся 2 часа. Скорость роста и кислотообразования культуры за 2 часа экспоненциального роста возросли в 8 раз (до 33 ºТ/ч), а pH среды снизился до pH=5,8. Затем наступила фаза линейного роста со скоростью кислотообразования культуры 33 ºТ/ч, которая оставалась неизменной в течение 0,5 часа. В результате продуцирования молочной кислоты в культуральной среде растущими молочнокислыми микроорга-

низмами pH культуральной среды непрерывно снижался и в начале четвёртого часа культивирования снизился до pH=5,35. В этот момент скорость роста и кислотообразования культуры (в фазе линейного роста) ступенчато (скачком) снизилась вдвое (до 16,5 ºТ/ч) из-за чрезмерно низкого уровня pH культуральной среды.

Величина μ в процессе культивирования изменяется несущественно и никогда не снижается скачком. Поэтому ступенчатое (резкое) снижение скорости роста культуры (dXA/dt)t обусловлено не снижением величины μ, а ступенчатым снижением концентрации активных клеток (XA)t в культуральной среде:

первое концептуальное уравнение:

$$(dXA/dt)t = \mu \cdot (XA)t \qquad (6)$$

Скорость ступенчатой пассивации активных клеток периодической культуры была столь высока, что менее чем за 1 минуту концентрация активных клеток растущей культуры уменьшилась вдвое. Для аналогичного увеличения вдвое концентрации активных клеток *L. acidophilus* в культуральной среде в режиме бинарного деления необходимо 43,5 мин, т.е. в 40 раз больше времени. Таким образом, вопреки мнению С. Дж. Перта [3], при росте периодической культуры скорость пассивации активных клеток может во много раз превышать скорость бинарного удвоения концентрации растущих (активных) клеток в культуральной среде.

Отмеченное ступенчатое снижение скорости роста периодической культуры *L. acidophilus* в фазе линейного роста не было обусловлено истощением потребляемых микроорганизмами компонентов субстрата питательной среды, концентрация которых в культуральной среде оставалась на достаточно высоком уровне. Чтобы доказать это, рассмотрим аналогичную pH-метрическую кривую роста периодической культуры *Str. thermophilus* в той же питательной среде, приведенную на рис. 6.

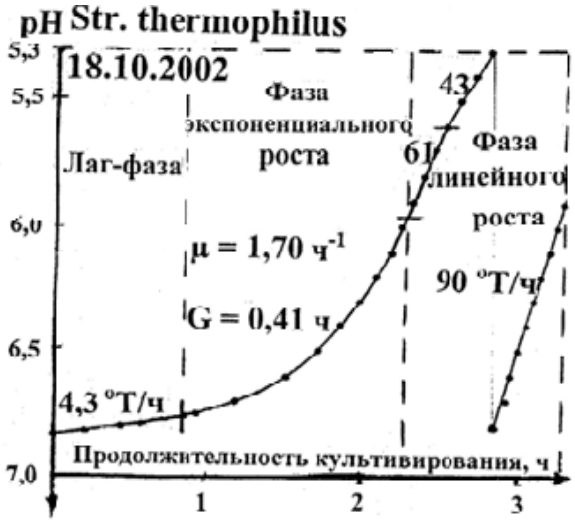

Рис. 6. pH-метрическая кривая роста периодической культуры *Str. Thermophiles* в питательной среде *Vis-star* (5 % СВ) + сыворотка (7,5 % СВ)

После 50 минут лаг-фазы наступила фаза экспоненциального роста культуры, (в середине рис. 6), которая продолжалась 1,6 час. В результате скорость кислотообразования культуры *Str. thermophilus* в конце фазы экспоненциального роста и в начале фазы линейного роста (при pH=5,95) достигла максимума и составила 61 ºТ/ч. Когда pH культуральной среды снизился до уровня pH=5,6, скорость кислотообразования (и роста) культуры ступенчато снизилась в 1,42 раза – до 43 ºТ/ч. В результате раскисления культуральной среды (25 %-ным раствором аммиака) до оптимального уровня pH=6,8 скорость кислотообразования и роста культуры (менее чем за 1 минуту) ступенчато возросла более чем вдвое – до 90 ºТ/ч и в 1,5 раза превысила достигнутую ранее максимальную скоростькак экспоненциального, так и линейного роста культуры. Концентрация субстрата при раскислении не изменяется, и, очевидно, основную роль в регулировании скорости кислотообразования (и роста) растущей культуры лактобактерий играет величина активной кислотности (pH) культуральной среды. Описанное в данном примере ступенчатое (скачком) возрастание скорости роста и кислотообразования культуры *Str. thermophilus* в результате раскисления среды до оптимального уровня pH (=6,8) обусловлено ступенчатой активацией части пассивных клеток культуры при улучшении условий культивирования.

Выдающийся микробиолог доктор биологических наук Н. С. Королёва (1926–2010) в конце прошлого века с огорчением отмечала, что микробиология молочнокислых микроорганизмов находится как бы на обочине основного пути развития общей микробиологии. Тем не менее, в нашей новой работе авторам впервые удалось найти путь решения сложной комплексной научной проблемы роста, пассивации и активации клеток растущей культуры микроорганизмов, используя при этом преимущества специфики роста и кислотообразования именно молочнокислых микроорганизмов.

Специфика роста молочнокислых микроорганизмов заключается в том, что только активные (растущие) клетки лактобактерий продуцируют молочную кислоту. Пассивные (покоящиеся) клетки лактобактерий, по определению, не растут и кислоту не продуцируют. Отмеченное различие в кислотообразовании позволяет чётко и однозначно разграничить активные и пассивные клетки лактобактерий, тогда как при изучении роста других микроорганизмов такое разграничение зачастую едва ли возможно.

В нашей предыдущей работе впервые установлено, что концентрация и доля пассивных клеток в культуральной среде непрерывно возрастают на всём протяжении экспоненциального роста культуры *E. coli*. Однако при культивировании большинства видов лактобактерий в молоке фаза экспоненциального роста клеток, как правило, отсутствует, и рост клеток *Lac. lactis*, *Lbm. bulgaricus* и *L. acidophilus* протекает только в режиме (фазе) линейного роста [7, 9, 13]. При этом и процесс пас-

сивации активных клеток культуры, растущей в режиме линейного роста, протекает не так, как при экспоненциальном росте культуры.

В нашем новом исследовании впервые найдено решение проблемы комплексного анализа роста и пассивации клеток лактобактерий при любом режиме роста и на всех стадиях роста культуры лактобактерий. Впервые теоретически обоснованы и рассчитаны одновременные концентрации активных и пассивных клеток лактобактерий в культуральной среде на всём протяжении культивирования.

Скорость увеличения концентрации активных клеток культуры лактобактерий в культуральной среде ($\Delta XA/\Delta t$) прямо пропорциональна одновременной скорости увеличения титруемой кислотности среды, т.е. скорости кислотообразования культуры ($\Delta At/\Delta t$). Поэтому концентрацию XA активных клеток лактобактерий в культуральной среде можно определить по скорости кислотообразования ($\Delta At/\Delta t$) культуры.

согласно первому концептуальному уравнению:

$$dXA/dt = \mu \cdot XA \quad [= \Delta XA / \Delta t\,], \qquad (6)$$

$$XA\ [КОЕ/мл] = (\Delta XA / \Delta t) / \mu\,, \qquad (7)$$

формула Марьина:

$$\Delta XA[КОЕ/мл] = 0{,}5 \cdot 108 \cdot \Delta A[^{o}T],$$

формула расчёта величины (XA)t :

$$(XA)t\ [КОЕ/мл] = (5 \cdot 107/\mu) \cdot (\Delta At / \Delta t) \qquad (8)$$

Концентрация (XA)t активных клеток лактобактерий в культуральной среде прямо пропорциональна скорости кислотообразования растущей культуры лактобактерий. Определяя в отбираемых из культиватора пробах культуральной среды концентрацию $(X_{общ})t$ живых клеток лактобактерий (= активных + пассивных), можно по уравнениям (9) и (10) рассчитать доли активных (α) и пассивных (β) клеток в культуральной среде, а по уравнениям (11) и (12) – соответствующие концентрации активных (XA)t и пассивных клеток $(X_{пасс})t$:

доля активных клеток в культуральной среде:

$$\alpha t = (XA/X_{общ})t, \qquad (9)$$

доля пассивных клеток в культуральной среде:

$$\beta t = 1 - \alpha t\,, \qquad (10)$$

концентрация активных клеток в культуральной среде:

$$(XA)t = \alpha t \cdot (X_{общ})t, \qquad (11)$$

концентрация пассивных клеток в культуральной среде:

$$(X_{пасс})t = \beta t \cdot (X_{общ})t. \qquad (12)$$

Результаты одновременного (параллельного) мониторинга параметров At и (Хобщ)t на всём протяжении процесса культивирования в молоке культуры *Lac. lactis* в культиваторе ВНИМИ приведены на рис. 7 [14].

Рис. 7. Динамика изменения кислотности сквашиваемого молока и накопления клеток при культивировании молочнокислых лактококков:
1– концентрация живых клеток $X_{общ}$ [КОЕ/мл] в культуральной среде, 2 – возрастающая титруемая кислотность А [°Т] сквашиваемого молока

На рис. 7 сопоставлены кривая мониторинга (1) изменяющейся концентрации $(X_{общ})t$ [КОЕ/мл] живых клеток молочнокислых лактококков в культуральной среде на всём протяжении культивирования *Lac. lactis* и кривая (2) одновременно возрастающей титруемой кислотности культуральной среды At[оТ]. Нами установлено, что при культивировании в молоке и молочных питательных средах клеток *Lac. lactis* фаза экспоненциального роста отсутствует, и основной фазой роста культуры является фаза линейного роста, которая официально до сих пор не признана биологами [7]. В период лаг-фазы клетки *Lac. lactis* растут в режиме линейного роста.

Графическим анализом кривых мониторинга на рис. 7 мы определили скорость кислотообразования культуры ($\Delta At / \Delta t$) для любого из анализируемых значений параметра At и одновременную скорость роста концентрации живых клеток культуры ($\Delta X_{общ}/\Delta t$) , что позволило впервые рассчитать концентрацию активных клеток (XA)t в культуральной среде по уравнению (11) и концентрацию пассивных клеток $(X_{пасс})t$ по уравнению (12) на всех стадиях роста культуры при получении жидкого бактериального концентрата. Величина удельной скорости роста (μ) клеток *Lac. lactis*, определенная нами ранее [11], равна: $\mu = 0{,}64\ ч^{-1}$.

Через 4 часа культивирования скорость кислотообразования культуры составила $(\Delta At / \Delta t)4 = 9{,}1$ °Т/ч. Концентрация активных клеток $(XA)_4 = (5 \cdot 107/\mu) \cdot 9{,}1 = (5 \cdot 107/0{,}64) \cdot 9{,}1 = 7{,}1 \cdot 10^8$ [КОЕ/мл] (при общей концентрации живых клеток культуры $(X_{общ})_4 = 7{,}5 \cdot 108$[КОЕ/мл]; $\alpha_4 = 0{,}95$; $\beta_4 = 0{,}05$; $(X_{пасс})_4 = 0{,}4 \cdot 108$[КОЕ/мл].

Через 10 часов культивирования скорость кислотообразования культуры снизилась в 2,3 раза до $(\Delta At/\Delta t)10 = 4{,}0$ °Т/ч. Согласно уравнению (11), концентрация активных клеток *Lac. lactis* в культуральной среде (за 6 часов) также снизилась в 2,3 раза до $(XA)_{10} = 3{,}1 \cdot 10^8$ [КОЕ/мл]. Одновременно общая концентрации живых клеток растущей культуры возросла почти вдвое – до $(X_{общ})_{10} = 14 \cdot 10^8$[КОЕ/мл]; $\alpha_{10} = 0{,}22$; $\beta_{10} = 0{,}78$; $(X_{пасс})_{10} = 11 \cdot 10^8$[КОЕ/мл].

Отметим снижение величины α в 4,3 раза и возрастание (в 15,6 раза!) величины β.

Через 18 часов культивирования скорость кислотообразования культуры *Lac. lactis* снизилась до 2,1 ºТ/ч. При этом концентрация активных клеток культуры (за 8 часов) дополнительно снизилась в два раза до $(XA)_{18}$ = $1,65 \cdot 10^8$ [КОЕ/мл], а общая концентрация живых клеток в культуральной среде, возросла до максимума и перестала возрастать: $(X_{общ})_{18}$ = $17,4 \cdot 10^8$[КОЕ/мл]; α_{18} = 0,095; β_{18} = 0,905; $(X_{пасс})_{18}$ =$16,5 \cdot 10^8$ [КОЕ/мл].

При производстве бактериального концентрата процесс сквашивания питательной среды растущей культурой лактобактерий продолжают до начала стационарной фазы роста культуры, когда концентрация живых клеток в культуральной среде достигает определённого максимума и перестаёт возрастать. Согласно кривой мониторинга $X_{общ}$, приведенной на рис. 7, в момент максимума (t_{max} = 18ч.) общая концентрация живых клеток Lac. lactis в жидком бактериальном концентрате составила $X_{общ}$ =$17,4 \cdot 10^8$ [КОЕ/мл]. Отметим, что 90 % живых клеток жидкого бактериального концентрата были пассивными и лишь 10 % – активными.

Исследования Л.А. Банниковой будут нами продолжены с использованием современных методов исследований, чтобы детально проанализировать скорости роста и пассивации клеток других видов лакто- и бифидобактерий при производстве бактериальных концентратов для молочной отрасли и научно обосновать оптимальную продолжительность процесса культивирования.

Список литературы

1. Schaeffer, P. Compt. rend. / P. Schaeffer. – 1949. – № 228. – P. 277–279.
2. Monod, J. The growth of bacterial cultures / J.Monod // Annual review of microbiology. – 1949. – № 3. – p. 386.
3. Перт, С. Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток / С. Дж. Перт. – Л.; Оксфорд; Эдинбург; Мельбурн, 1975; М.: Мир, 1978. – 261 с.
4. Марьин, В.А. Новый pH-метрический метод изучения роста лактобактерий и бифидобактерий / В.А. Марьин, Е.И. Райдна // Кисломолочные продукты – технологии и питание: сб. тез. региональной конф. ММФ. 17.05.2007. – М., 2007. – С. 323–324.
5. Марьин, В.А. Новая фаза роста микроорганизмов – фаза линейного роста / В.А. Марьин // Нано- и биотехнология производства продуктов функционального назначения: сб. докл. Междунар. науч.-практ. конф. Россельхозакадемии. 10–12.10.2007. – Краснодарский НИИ хранения и переработки с.-х прод. – Краснодар, 2007. – С. 176-177.
6. Марьин, В.А. Определение режимов роста лактобактерий новым pH- метрическим методом по нарастанию кислотности сквашиваемой среды / В.А. Марьин, Е.И. Райдна // Интеграция фундаментальных и прикладных исследований – основа развития современных аграрно-пищевых технологий: сб. материалов научно-практ. конф. 4–6 сентября 2007 г. – Углич. ГНУ ВНИИМС Россельхозакадемии, 2007. – С. 209–212.
7. Марьин В.А. Скорость гидролиза белков бактериальными ферментами лимитирует скорость роста лактобактерий в молочных питательных средах / В.А. Марьин, Е.И. Райдна // Микробные биокатализаторы и их роль в нано- и биотехнологиях: матер. 4-го межд. науч.-практ. симпозиума, 14–15 мая 2008 г. – М.: ГНУ ВНИИ пищевой биотехнологии Россельхозакадемии, 2008. – С. 92–97.
8. Марьин В.А. Новая закономерность роста культуры бифидобактерий (лактобактерий). Формула Марьина / В.А. Марьин // Принципы пищевой комбинаторики – основа моделирования поликомпонентных пищевых продуктов: сб. мат. всеросс. науч.- практ. конф.– Углич. ГНУ ВНИИМС Россельхозакадемии. 8-9.09.2010. – Россельхозакадемия, 2010. – С. 165–168.
9. Марьин, В.А. Исследование схем последовательности фаз роста периодической культуры бифидобактерий или лактобактерий / В.А. Марьин, Д.В. Харитонов // Техника и технология пищевых производств. – 2010. – № 4. – С. 24–28.
10. Марьин, В.А. Новый способ определения удельной скорости роста (μ) лактобактерий и бифидобактерий / В.А. Марьин // Научное обеспечение молочной промышленности (ВНИМИ – 80 лет): сб. науч. тр. – М.: ГНУ ВНИМИ, 2009. – С. 274–281.
11. Марьин, В.А. Новая модель линейного роста лактобактерий в молочных средах/ В.А. Марьин, Е.И. Райдна // Кисломолочные продукты – технологии и питание: сб. тез. рег. конф. ММФ. 17 мая 2007 г. – М., 2007. – С. 321–322.
12. Марьин, В.А. Начальный период роста культуры лактобактерий и бифидобактерий / В.А. Марьин // Научное обеспечение молочной промышленности: сб. научн. трудов. М. ГНУ ВНИМИ, 2010. – С.136–142.
13. Марьин, В.А. Двадцатикратное увеличение урожайности жидкого и сухого концентрата бифидобактерий (до $5 \cdot 10^{11}$ КОЕ/г) обогащением питательной среды комплексом макро- и микроэлементов / В.А. Марьин // Принципы пищевой комбинаторики – основа моделирования поликомпонентных пищевых продуктов: сб. мат. Всеросс. науч.-практ. конф.– Углич, ГНУ ВНИИМС Россельхозакадемии, 8–9 сентября 2010 г. – Углич, 2010. – С. 162–165.
14. Банникова, Л.А. Селекция молочнокислых бактерий и их применение в молочной промышленности / Л.А. Банникова // Пищевая промышленность. – М., 1975. – 216 с.

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности»,
113093, Россия, г. Москва, ул. Люсиновская, 35.
Тел/факс (499) 236-31-64,
e-mail: vmimi5@rambler.ru

SUMMARY

V.A. Mar'in, D.V. Kharitonov

LINEAR GROWTH AND PASSIVATION OF ACTIVE CELLS OF MICROORGANISM GROWING CULTURE

The linear growth of microorganisms is insufficiently studied by microbiology. The main characteristic sign of linear growth is considered constancy (immutability) of growth rate of culture during several hours. Such a characteristic of linear growth is lopsided, insufficient and inaccurate and should be reviewed. The purpose of the paper is to give an objective, detailed and comprehensive description of the linear growth of microorganisms. The results of our theoretical and experimental investigations show that a regime of linear growth is a natural but not anomalous one; microorganism growth in lag-phase period is proceeding in the regime of linear growth; the rate of the culture linear growth is changed stepwise during cultivation; after stepped (bound) changes of growth rate up to the new invariable level it again remains invariable in the frames of a new step up to the next stepped change of the growth rate; duration of every following step of the linear growth (with new constant growth rate) is as a rule shorter than the previous one and can make up several minutes but not hours. In addition, it is found that linear growth mode is really a mode of stepped growth, the growth of culture remains linear (constant growth rate) only within the borders of each individual stage of growth. The mechanism of active cells growth and passivation of culture growing in linear growth regime as well as a new mechanism of passive cells activation of the same culture have been theoretically substantiated. A new method of active (growing) cells concentration of lactobacillus cells determination in cultural medium according to the culture acid forming rate has been proposed. For the first time gradually changing concentrations of active and passive (latent) *Lac.lactis* cells in cultural medium at all stages of cultivation have been analyzed in detail.

Linear growth phase, lactobacillus, active and passive (latent) cells, lactic acid forming rate.

References

1. Schaeffer, P. Compt. rend., 228, pp. 277-279. (1949).
2. Monod J. The growth of bacterial cultures. *Annual review of microbiology*, 1949, no. 3, p. 386, fig.6.
3. Perth S.J. Fundamentals of microorganisms' and cells cultivation. (Oxford. London. Edinburgh. Melbourne. 1975). Moscow,"The World", 1978.261 p.
4. Mar'in V.A., Raydna E.I. Novyi rN-metricheskii metod izucheniia rosta laktobakterii i bifidobakterii [New pH-metric method for studying the growth of lactobacilli and bifidobacteria]. *Materialy regional'noi konferentsii MMF «Kislomolochnye produkty – tekhnologii i pitanie»* [Proc. of the IDF Conference on Fermented Milks - Technology and Nutrition], 2007, pp. 323-324.
5. Mar'in V.A., Raydna E.I. Faza lineinogo rosta – osnovnaia faza rosta molochnokislykh mikroorganizmov [Linear growth phase - the main phase of growth of lactic acid microorganisms]. *Materialy regional'noi konferentsii MMF «Kislomolochnye produkty – tekhnologii i pitanie»* [Proc. of the IDF Conference on Fermented Milks - Technology and Nutrition], 2007, pp. 319-320.
6. Mar'in V.A. Novaia faza rosta mikroorganizmov – faza lineinogo rosta [The new phase of microbial growth - phase linear growth]. *Materialy mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Perspektivnye nano i biotekhnologii v proizvodstve produktov funktsional'nogo naznacheniia»* [Proc. of the International Scientific Conference "Advanced nano and biotechnology in the production of functional purpose"], 2007, pp. 176-177.
7. Mar'in V.A., Raydna E.I.Opredelenie rezhimov rosta laktobakterii novym pH- metricheskim metodom po narastaniiu kislotnosti skvashivaemoi sredy [Definition of new growth's modes of lactobacilli pH metric method from the increase in the acidity of the medium to acidify]. *Materialy nauchno-prakticheskoi konferentsii «Integratsiia fundamental'nykh i prikladnykh issledovanii – osnova razvitiia sovremennykh agrarno- pishchevykh tekhnologii»*[Proc. of Scientific Conference "Integrating basic and applied research - the basis of modern agro-food technologies"], 2007, pp. 209-212.
8. Mar'in V.A., Raydna E.I. Skorost' gidroliza belkov bakterial'nymi fermentami limitiruet skorost' rosta laktobakterii v molochnykh pitatel'nykh sredakh [The rate of hydrolysis of proteins by bacterial enzymes limits the rate of growth of lactic acid bacteria in milk nutrient media]. *Materialy IV mezhdunarodnogo nauchno-prakticheskogo simpoziuma «Mikrobnye biokatalizatory i ikh rol' v nano- i biotekhnologiiakh»* [Proc. of 4th Intl. Scientific Practicalsymposium "Microbial biocatalysts and their role in nano-and biotechnology"], 2008, pp. 92-97.
9. Mar'in V.A. Novaia zakonomernost' rosta kul'tury bifidobakterii (laktobakterii). Formula Mar'ina [The new pattern of growth of bifidobacteria (Lactobacillus). Formula Mar'ina].*Materialy vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Printsipy pishchevoi kombinatoriki – osnova modelirovaniia polikomponentnykh pishchevykh produktov»* [Proc. of national Scientific Conference "Microbial biocatalysts and their role in nano-and biotechnology], 2010, pp. 165-168.
10. Mar'in V.A., Haritonov D.V. Issledovanie skhem posledovatel'nosti faz rosta periodicheskoi kul'tury bifidobakterii ili laktobakterii [Investigation of Growth Phase Sequence Schemes of Periodic Culture of Bifidobacterium and Lactobacillus]. *Food Processing: Techniques and Technology*, 2010, no. 4, pp. 24-28.
11. Mar'in V.A. Novyi sposob opredeleniia udel'noi skorosti rosta (μ) laktobakterii i bifidobakterii [New method of determining the specific growth rate (μ) of lactobacilli and bifidobacteria]. *Trudy VNIMI «Nauchnoe obespechenie molochnoi promyshlennosti (VNIMI – 80 let)»* [Proc. of the VNIMI "Scientific support of the dairy industry (VNIMI - 80 years)"], 2009, pp. 274-281.
12. Mar'in V.A., Raydna E.I. *Novaia model' lineinogo rosta laktobakteriiv molochnykh sredakh*[The new model of linear growth of lactic acid bacteria in dairy environments]. *Materialy regional'noi konferentsii MMF «Kislomolochnye produkty – tekhnologii i pitanie»*[Proc. of the IDF Conference on Fermented Milks - Technology and Nutrition], 2007, pp. 321-322.
13. Mar'in V.A. Nachal'nyi period rosta kul'tury laktobakterii i bifidobakterii [The initial period of growth of the culture of lactobacilli and bifidobacteria]. *«Nauchnoe obespechenie molochnoi promyshlennosti»* [Proc. of the VNIMI "Scientific support of the dairy industry"], 2010, pp. 136-142.

14. Mar'in V.A. Dvadtsatikratnoe uvelichenie urozhainosti zhidkogo i sukhogo kontsentrata bifidobakterii (do 5•10^{11} KOE/g) obogashcheniem pitatel'noi sredy kompleksom makro- i mikroelementov [A twenty-fold increase in the yield of liquid and dry concentrate bifidobacteria (up to 5•10^{11} CFU/g) enrichment culture medium complex macro-and micronutrients]. *Materialy vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii «Printsipy pishchevoi kombinatoriki – osnova modelirovaniia polikomponentnykh pishchevykh produktov»* [Proc. of national Scientific Conference "Microbial biocatalysts and their role in nano-and biotechnology], 2010, pp. 162-165.

15. Bannikova L.A. *Selektsiia molochnokislykh bakterii i ikh primenenie v molochnoi promyshlennosti* [Selection of lactic acid bacteria and their application in the dairy industry]. Moscow, Food industry, 1975.216 p.

All-Russian Scientific Research Dairy Institute,
35, Lyusinovskaya street, Moscow, 115093, Russia.
Phone/fax: (499)236-31-64,
e-mail: vnimi5@rambler.ru

Дата поступления: 06.10.2014

УДК 621.512.8

А.Е. Стефанкин, А.А. Крохалев, Р.В. Котляров, О.В. Кригер, Joaquin Pazo Dengra, В.Н. Иванец

ПОДБОР ПАРАМЕТРОВ ГИДРОДИНАМИЧЕСКОЙ ВСТАВКИ МЕМБРАННОЙ УСТАНОВКИ ДЛЯ ПЕРЕРАБОТКИ КРОВИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Существующие потребности в функциональных продуктах питания и лечебно-профилактических препаратах позволяют создавать производственные предприятия, ориентированные на комплексную переработку крови сельскохозяйственных животных. Мембранные методы эффективны в ряде процессов, связанных с концентрированием, очисткой и фракционированием жидких пищевых продуктов. Использование мембранных методов позволяет создать экономически высокоэффективные и малоотходные технологии переработки сырья животного происхождения, способствует улучшению качества пищевых продуктов, их биологической ценности и более полным переработке и использованию. В данной работе изучены физико-химические свойства крови крупного рогатого скота и свиньи. Определены плотность, вязкость крови. Определен химический состав крови животных. Выявлено высокое содержание белка. Для фильтрования крови использована мембранная установка, состоящая из корпуса, выполненного в виде цилиндра. Внутри корпуса находится полупроницаемая мембрана. В мембране располагается вставка. На боковой поверхности вставки расположены отверстия, равноудаленные друг от друга, для выхода исходного раствора в мембранный канал. Каждое отверстие создает направленный поток и увеличивает турбулизацию внутри мембранного канала. Предложен новый подход к моделированию вставки. Создана программа на основе аналитической модели для исследования необходимого количества отверстий при минимальных потерях давления. Входными данными при моделировании являлись геометрические параметры вставки, количество отверстий, скорость движения среды, давление на входе во вставку, плотность и вязкость среды. Установлено, что потери давления возрастают с увеличением количества отверстий. Таким образом, рациональным количеством отверстий в конической вставке является количество отверстий n=7.

Мембранные методы, коническая вставка, математическая модель, неразрывный поток, потери давления, кровь.

Введение

Комплексное использование вторичных сырьевых ресурсов и промышленных отходов переработки сельскохозяйственного и пищевого сырья является наиболее важным аспектом для повышения эффективности агропромышленного производства. Отходы, которые остаются после использования сырья и вспомогательных производственных материалов, а также побочная и попутная продукция, которая получается в процессе производства параллельно с основной или в результате дополнительной промышленной обработки отходов, мы и называем вторичным сырьевым ресурсам. Комплексная переработка продовольственного сырья позволит более полно использовать сырьевые ресурсы и дополнительно произвести на 20–30 % больше продуктов питания. Рациональное использование вторичных сырьевых ресурсов способствует сохранению экологического потенциала, повышению эффективности сельского хозяйства [1].

Кровь сельскохозяйственных животных представляет собой ценное белоксодержащее сырье. Кровь состоит из клеток – форменных элементов и жидкого межклеточного вещества – плазмы. К форменным элементам относятся эритроциты (красные кровяные клетки), лейкоциты (белые кровяные клетки) и тромбоциты (кровяные пластинки). Соотношение плазмы и форменных элементов в