

РАЗРАБОТКА И МОДЕЛИРОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ НЕПРЕРЫВНОЙ РАСПЫЛИТЕЛЬНОЙ СУШКИ ПРОБИОТИКОВ

*Н.В. Меньшутина, декан, **М.Г. Гордиенко, старший преподаватель,

А.А. Аванесова, инженер *Ю.В. Маковская, старший лаборант

*факультет Высших ресурсосберегающих и информационных технологий,

**кафедра Кибернетики химико-технологических процессов,

***Российско-Швейцарский учебно-научный центр трансфера фармацевтических и биотехнологий

Российский химико-технологический университет им. Д.И. Менделеева

e-mail: chemcom@muctr.edu.ru

Предложен альтернативный метод получения сухой биомассы бифидобактерий – распылительная сушка. Проведен комплекс экспериментальных и аналитических исследований. На основании экспериментальных данных и результатов моделирования выданы рекомендации по организации промышленного процесса.

Ключевые слова: распылительная сушка пробиотиков, разработка технологии, математическое моделирование, масштабирование

Введение

Процесс сушки является одним из завершающих процессов фармацевтического производства, что возлагает особые требования на условия его проведения и качество получаемой продукции. Разработка новых технологий, обеспечивающих переход на непрерывный процесс, снижение эксплуатационных затрат, упрощение технологической схемы производства, возможности организации системы контроля качества производства в режиме «он-лайн» при условии сохранения и улучшения качественных характеристик получаемого продукта, является актуальной и творческой задачей, требующей индивидуального подхода к рассматриваемой проблеме.

При производстве пробиотиков в качестве альтернативы классическому сублимационному обезвоживанию в вакууме может быть предложена распылительная сушка. Для грамотного научного обоснования ее технологических режимов необходимы: четкое понимание и ясное представление физической сущности механизмов явлений, происходящих в сушилке, их взаимосвязи и степени взаимного влияния; учет специфики объекта биологической природы (биосуспензия, содержащая живую клеточную культуру) и налагаемых в связи с этим ограничений. Поскольку все параметры внутренне взаимосвязаны, то разработка новой технологии сушки пробиотиков представляет собой многопараметрическую задачу, решение которой возможно при использовании методов математического

моделирования с применением современной вычислительной техники и соответствующего программного обеспечения.

Стратегия построения обобщенной модели распылительной сушки биосуспензии

На сегодняшний момент не существует обобщенной модели распылительной сушки биосуспензии, которая позволила бы исследовать не только гидродинамику, тепло- и массообмен в аппарате, но и проследить, как меняется выживаемость клеток в процессе обезвоживания биосуспензии в результате теплового воздействия и роста осмотического давления.

Математическая модель в общем виде для описания гидродинамики, тепло- и массообмена была разработана на базе термогидромеханических уравнений для гетерогенной смеси, занимающих локальный объем аппарата, сотрудниками кафедры КХТП [1, 2]. Система уравнений включает уравнения сохранения массы, импульса и энергии, которые в данной работе были записаны для газовой и дисперсной фаз в цилиндрических координатах, начальные и граничные условия, а также дополнительные соотношения, замыкающие систему.

В связи с тем, что объект сушки – биосуспензия, содержащая живую клеточную культуру бифидобактерий, – недостаточно полно описан в современной литературе, для разработки обобщенной модели распылительной сушки биосуспензии необходимо дополнительно провести комплекс эксперименталь-

ных и аналитических исследований, направленный на изучение кинетики сушки биосуспensionии, кинетики гибели клеток в результате теплового воздействия и роста осмотического

давления, выявление влияния параметров ведения процесса на качество сухого продукта и определение ограничений, налагаемых на параметры ведения процесса (рис. 1).

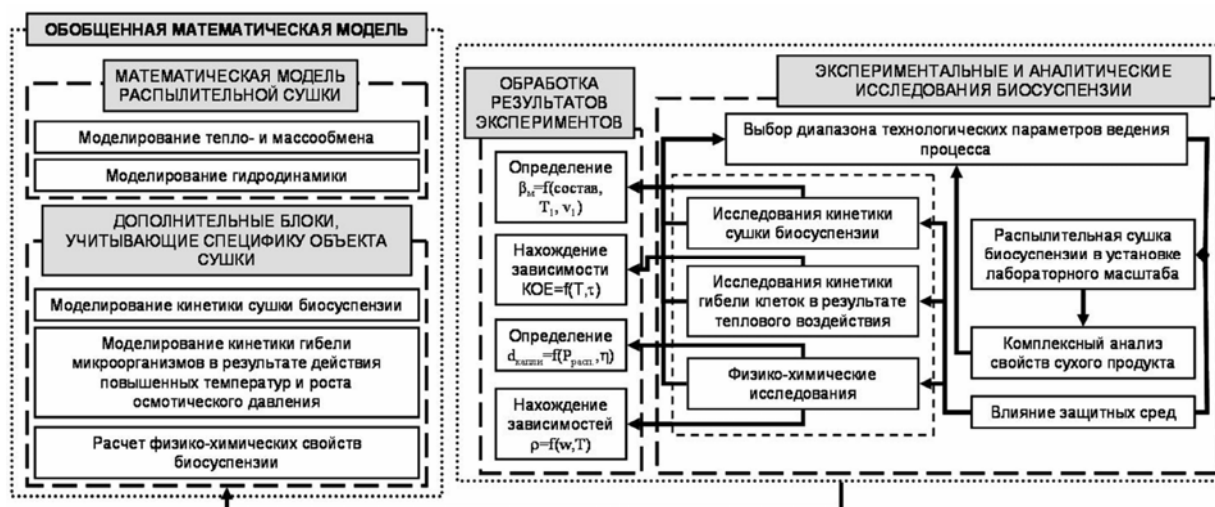


Рис. 1. Стратегия разработки обобщенной математической модели распылительной сушки биосуспensionии.

Экспериментальные исследования

В качестве объекта исследований использовалась биосуспensionия штамма бифидобактерий *Bifidobacterium bifidum* № 1, относящихся к роду

Bifidobacterium, семейству *Actinomycetaceae*. В ходе экспериментальных работ использовались образцы, содержащие различные защитные среды. Составы образцов представлены в табл. 1.

Таблица 1. Составы образцов.

Образцы	Состав образцов
Образец 1	Концентрированная биосуспensionия
Образец 2	Концентрированная биосуспensionия с добавлением крахмала (1.0 мас.%)
Образец 3	Концентрированная биосуспensionия с добавлением молочных сливок (2.5 мас.%)
Образец 4	Концентрированная биосуспensionия с добавлением сахарозы (10.0 мас.%) и желатина (1.0 мас.%)

Физико-химические исследования данных образцов включали исследование динамической вязкости, с целью определения возможных режимов работы распыляющего устройства, и исследование зависимостей плотности от температуры и влагосодержания биосуспensionии, которые вошли в обобщенную математическую модель.

Исследование кинетики сушки биосуспensionии

Исследование кинетики сушки биосуспensionии с различными защитными средами проводилось на уникальном оборудовании в Политехническом университете г. Лодзь (Польша), позволяющем измерять изменение массы тонкого слоя материала, время сушки которого в данной установке близко ко времени сушки капель материала в сушильной

камере [3].

Установка представляет собой туннель с расположенным в нем опорным элементом, который связан с системой взвешивания. Точность взвешивания составляет ± 0.0001 г. После прогрева туннеля нагретым сушильным агентом, стеклянная пластина, на поверхность которой наносился тонкий слой исследуемого материала, опускалась при помощи лифта на опорный элемент. Одновременно начиналась передача и запись данных на персональный компьютер с температурных датчиков, установленных в туннеле до и после опорного элемента, и с системы взвешивания с частотой три измерения в секунду. Исследования проводились при 60, 100 и 140 °C; скорость воздуха составляла 0.73 и 0.86 м/с.

В результате обработки полученных

данных были построены кинетические кривые, анализ которых показал, что практически вся влага из образцов удаляется в первом периоде сушки, когда изменение влагосодержания продукта во времени имеет линейную зависимость [4]. Для каждого из образцов были найдены коэффициенты массоотдачи как функция температуры и скорости сушильного агента. Установлено, что при сушке концентрированной биосуспензии с добавлением крахмала коэффициент массоотдачи максимальный. Это объясняется образованием внутренней пористой структуры. Значение коэффициента массоотдачи для образца с добавлением сахарозы и желатина практически не зависит от скорости сушильного агента, что может быть объяснено склонностью полисахаридов образовывать при определенных температурах тонкую пленку на поверхности, которая лимитирует удаление влаги.

Большое влияние на выживаемость микроорганизмов в процессе сушки и при последующем хранении оказывает конечное влагосодержание сухого продукта [5–7]. При сушке биосуспензии при определенном критическом влагосодержании начинается удаление влаги не только из самой системы, но и из клетки. При нормальных условиях жизнедеятельности в клетку поступает поток влаги и питательных веществ, за счет которого она существует; он описывается следующим соотношением:

$$J = L_p \Delta p + L_{pD} \Delta \Pi \quad (1)$$

$$\Delta p = \frac{4\sigma}{d} \cos \Theta \quad (2)$$

$$\Delta \Pi = \frac{RT}{\bar{V}_M} \ln \frac{p_{w2}}{p_{w1}} \quad (3)$$

где: L_p, L_{pD} – феноменологические коэффициенты; $\bar{V}_M$ – молярный объем, м³/моль; p_{w1}, p_{w2} – давление внешней и внутренней сред, соответственно, Па; R – универсальная газовая постоянная, 8.31 кДж/(моль·К); T – температура, К.

При неблагоприятных условиях поток вещества и воды в клетку прекращается, и клетка впадает в состояние анабиоза – временного, обратимого прекращения жизнедеятельности, из которого микроорганизм может снова перейти к активной жизнедеятельности при восстановлении благоприятных условий. Данное состояние описывается уравнением:

$$-L_p \Delta p = L_{pD} \Delta \Pi \quad (4)$$

При дальнейшем удалении влаги из системы происходит удаление влаги из самой клетки, возрастает осмотическое давление, в результате чего возможны нарушение структуры липидного бислоя, разрыв клеточной мембраны, нарушение обменных процессов, что приводит к гибели клетки. Введение защитных сред в состав биосуспензии позволяет уменьшить стресс микроорганизмов за счет уменьшения поверхностного натяжения и расширения пор, что приводит к снижению капиллярного давления, укреплению клеточных стенок за счет встраивания молекул наполнителя. Эти положения могут быть использованы в обобщенной математической модели при расчете кинетики гибели микроорганизмов в результате роста осмотического давления.

Исследование кинетики гибели клеток в результате теплового воздействия

Выбор оптимального температурного режима сушки обусловлен необходимостью сохранения жизнеспособности микроорганизмов, поэтому исследование кинетики гибели микроорганизмов в результате теплового воздействия (или термоустойчивости клеток) необходимо. Термоустойчивость клеток бифидобактерий определялась путем безградиентного прогрева исследуемых образцов при разных температурах и продолжительности нагрева.

Исследования показали, что введение защитной среды способствует значительному повышению выживаемости микроорганизмов. В результате экспериментов были получены зависимости выживаемости бифидобактерий от температуры и времени теплового воздействия, а также было оценено влияние введения защитных веществ в состав биосуспензии на повышение выживаемости бактерий при воздействии температуры. Для математического описания полученных зависимостей было использовано уравнение тепловой инактивации клеток [5, 7], приведенное ниже:

$$\lg B = \lg B_0 - \frac{A \cdot \tau}{2.3} \cdot e^{-\frac{E_a}{RT}} \quad (5)$$

$$B = \frac{N_K}{N_{K0}} \quad (6)$$

где: N_{K0}, N_K – число живых клеток до и после теплового воздействия; B_0, B – выживаемость микроорганизмов до и после теплового воздействия, %; τ – время теплового воздействия, с; A – численный показатель

природы вещества, характеризующий состояние объекта (наличие лабильных центров и связей, а также степень их подверженности тепловому воздействию); E_a – энергия инактивации, кДж/моль; R – газовая постоянная, 8.31 кДж/(моль·К); T – температура теплового воздействия, К.

В результате обработки экспериментальных данных для каждого из образцов были найдены неизвестные коэффициенты: A и E_a

Исследование процесса распылительной сушки биосуспензии

Экспериментальные исследования распылительной сушки биосуспензии с различными защитными средами проводились на универсальной распылительной сушилке УРС-1. В ходе экспериментальных работ варьировались: температура сушильного агента на входе в камеру, расход биосуспензии, давление распыляющего агента. Был проведен комплексный анализ свойств высушиваемых веществ, направленный на выявление характеристик конечного продукта, который включал определение остаточного влагосодержания,

гранулометрического состава и количества колониеобразующих единиц в массе продукта.

Установлено, что распылительная сушка концентрированной биосуспензии без введения защитных сред (Образец 1) невозможна, поскольку материал не досушивался (остаточное влагосодержание 6.0 мас.%), а количество колониеобразующих единиц в сухом продукте не превышало 10^6 КОЕ/г, что не соответствует требованиям, предъявляемым к биологически активным добавкам.

Лучшие результаты были получены при сушке концентрированной биосуспензии с сахарозно-желатиновой защитной средой (Образец 4) при температуре сушильного агента на входе в камеру 70°C , расходе материала 0.45 л/ч и давлении распыляющего агента 2.2 атм. Анализ сухого продукта показал, что остаточное влагосодержание составило 4.5 мас.%, количество колониеобразующих единиц в сухом продукте 10^{10} КОЕ/г. На рис. 2 приведены фотографии продукта, полученного при данных условиях, а также плотность распределения частиц по размерам.

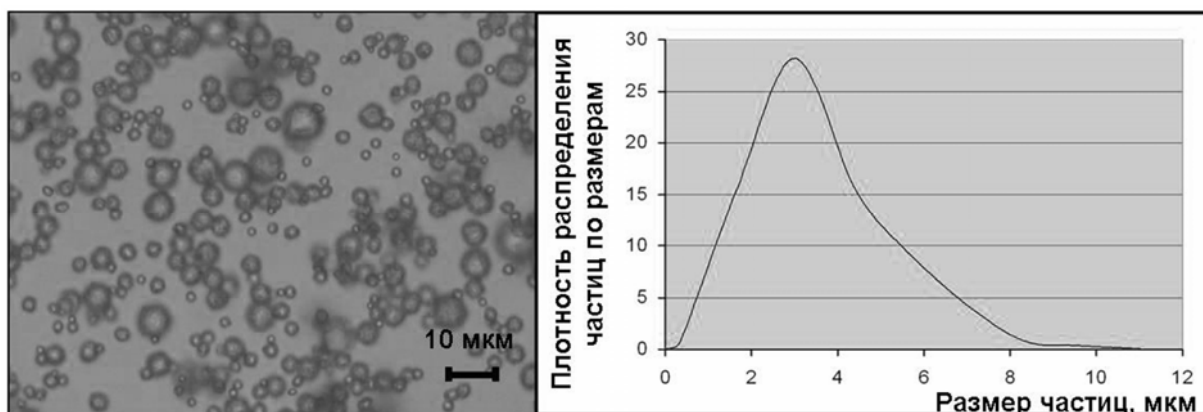


Рис. 2. Фотографии и плотность распределения частиц по размерам для сухого образца, полученного распылительной сушкой при $T_{\text{вход}} = 70^\circ\text{C}$, $G = 0.45$ л/ч, $P_{\text{расп}} = 2.2$ атм.

Распылительная сушка биосуспензии с добавлением молочных сливок (Образец 3) также дала хорошие результаты: содержание колониеобразующих единиц в сухом образце составило 10^{10} КОЕ/г.

Исследования порошков после негерметичного хранения при 5°C показало, что они склонны к агломерации. При этом сухая концентрированная биосуспензия с добавлением молочных сливок агломерировалась менее других образцов. Таким образом, введение в состав биосуспензии таких защитных веществ, как молочные сливки, не только способствует повышению выживаемости

микроорганизмов при распылительной сушке, но и повышает сыпучесть продукта, снижает степень агломерации частиц.

Проведенные экспериментальные и аналитические исследования позволили выявить взаимосвязь между свойствами биосуспензии, параметрами процесса и качеством продукта, а также определить ограничения, налагаемые на параметры ведения процесса: предельно допустимые температуры и скорость сушки.

Полученные в результате проведенных исследований данные и зависимости позволили создать обобщенную математическую модель процесса распылительной сушки

биосуспензии.

Масштабирование процесса

Обобщенная математическая модель была использована для масштабирования процесса распылительной сушки биосуспензии бифидобактерий. Для решения системы уравнений математической модели были построены алгоритм и численная схема. При расчете использовалась неоднородная сетка, уплотненная у стенки. Условием окончания расчета являлось достижение материалом остаточной влажности не более 4%. Численное решение системы уравнений математической модели позволило рассчитать аппарат заданной производительности по исходной биосуспензии и исследовать гидродинамику, тепло- и массообмен в аппарате, а также изменение выживаемости микроорганизмов в процессе сушки при различных параметрах ведения процесса. В качестве объекта сушки была выбрана концентрированная биосуспензия с добавлением сахарозно-желатиновой защитной среды (Образец 4), поскольку в лабораторных условиях распылительная сушка данного образца дала наилучшие результаты. Для разных начальных условий полученные расчетные зависимости имели аналогичный вид.

Найдено, что в зоне распыла, в результате интенсивного взаимодействия газовой и дис-

персной фазы происходит обмен импульсом, что приводит к выравниванию скоростей фаз по мере удаления от факела распыла.

В качестве примера на рис. 3а представлено распределение температуры сушильного агента по объему аппарата, температура которого на входе составляла 70 °С. Наглядно видно, что вследствие интенсивного тепло- и массообмена в зоне распыла происходит резкое падение температуры сушильного агента. Также небольшое снижение температуры сушильного агента происходит в результате потерь тепла в окружающую среду через стенку аппарата.

В результате расчета по уравнениям математической модели изменения влагосодержания материала по объему сушильной камеры было найдено, что вследствие более высоких скоростей и более низких температур сушильного агента вдоль оси аппарата материал в данной зоне сушится медленнее. Среднее остаточное влагосодержание материала на выходе из камеры в данном случае составило 3.6%.

Изменение выживаемости бифидобактерий в результате воздействия повышенных температур и роста осмотического давления показано на рис. 3б. Средняя расчетная выживаемость клеток на выходе из камеры составила 93.5%.



Рис. 3. Результаты расчета по уравнениям математической модели при $T_{\text{вх}} = 70^\circ\text{C}$:

- а) изменение температуры сушильного агента по объему сушильной камеры;
- б) изменение выживаемости клеток бифидобактерий по объему сушильной камеры.

По результатам расчета были выданы данные на проектирование распылительной сушилки для производства непрерывным способом фармацевтических порошков, содержащих живые клеточные культуры бифидобактерий.

Таким образом, по работе можно сделать следующие выводы:

- В качестве альтернативы традиционному лиофильному обезвоживанию, широко

применяемому при производстве твердых фармацевтических материалов, содержащих живую клеточную культуру бактерий, рекомендована и апробирована технология распылительной сушки, которая позволяет в непрерывном режиме получать качественный порошкообразный продукт.

- Выполненные комплексные исследования объекта сушки и конечных продуктов

позволили выявить и математически описать влияние параметров ведения процесса на качественные характеристики получаемых фармацевтических порошков. Найденные зависимости были включены в обобщенное математическое описание, которое позволило исследовать гидродинамику, температурные режимы и рассчитать параметры газовой и дисперсной фаз по высоте и радиусу аппарата,

определить процент гибели клеток в результате теплового воздействия и роста осмотического давления.

■ С использованием разработанного математического описания было проведено масштабирование процесса распылительной сушки пробиотиков и для различных операционных условий рассчитана работа аппарата промышленного масштаба.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Кафаров, В. В. Системный анализ процессов химической технологии. Энтропийный и вариационный методы неравновесной термодинамики в задачах химической технологии / В. В. Кафаров, И. Н. Дорохов, Э. М. Кольцова. – М. : Наука, 1988. – 367 с.
2. Меньшутина, Н. В. Разработка и интенсификация технологий сушки синтетического каучука на основе математического моделирования : Дис. ... докт. техн. наук : 05.17.08 / Меньшутина Наталья Васильевна. – М., 1998. – 438 с.
3. Li, X. CFD modeling of spray drying processes : Ph. D. Thesis / Xuanyou Li. – Lodz, Poland, 2004. – 143 p.
4. Гордиенко, М. Г. Моделирование и разработка непрерывной технологии распылительной сушки пробиотиков (на примере сушки биосуспензии бифидобактерий) : Дис. ... канд. техн. наук : 05.17.08 / Гордиенко Мария Геннадьевна. – М., 2006. – 159 с.
5. Thermal processing of bio-materials / Ed. T. Kudra, C. Strumillo. – New York : Gordon and Breach Science Publishers, 1991. – 588 p.
6. Беккер, М. Е. Торможение жизнедеятельности клеток / М. Е. Беккер, А. И. Рапопорт, Л. В. Калакуцкий; под общ. ред. М. Е. Беккера. – Рига : Зинатне, 1987. – 239 с.
7. Тутова, Э. Г. Сушка продуктов микробиологического производства / Э. Г. Тутова, П. С. Куц. – М. : Агропромиздат, 1978. – 303 с.