

УДК 579.088;577.158.54

## РАЗРАБОТКА ФЕНОМЕНОЛОГИЧЕСКОЙ МОДЕЛИ КИНЕТИКИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ АДСОРБЦИИ НА НИЗКОЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПОВЕРХНОСТЯХ

**В. В. Федорович, С. В. Калюжный, \*П. Ван дер Мирен и \*\*В. Верстрает**

*(Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, химический факультет, кафедра химической энзимологии; e-mail: Vfedorovich@enzyme.chem.msu.ru)*

**Разработана математическая модель кинетики бактериальной адсорбции на полимерных материалах с разной степенью гидрофобности. Модель, описывая систему бактерии–жидкая фаза–поверхность полимера, способна предсказать количество бактерий, адсорбированных на поверхности за заданное время. В основе модели лежит разложение движущей силы адсорбции на две составляющие. Первая составляющая характеризует взаимодействия, основанные на гидрофобных свойствах бактерий и полимеров, и выражена в терминах межфазных натяжений. Вторая составляющая описывает остальные типы взаимодействий, которые не могут быть представлены таким же образом.**

Целью данной работы является установление количественной связи между скоростью адсорбции для определенного класса микроорганизмов на полимерных материалах с их адгезивными свойствами к последним. Прямым подтверждением существования данной связи является проведенный в работе [1] анализ свободной энергии адгезии микроорганизмов к различным поли-

мерным материалам и экспериментально установленным количеством адсорбированных в единицу времени на них микроорганизмов.

Наиболее простым физико-химическим подходом, широко используемым для описания процесса адгезии, является подход, основанный на классической термодинамике [2]. В настоящее время этот подход широко

\* Группа межфазных технологий и \*\* лаборатория микробной экологии факультета прикладных биологических наук и сельского хозяйства университета г. Гент; Гент В-90000, Бельгия).

используют во многих работах для описания процесса бактериальной адгезии [1, 3–6]. На основании этих публикаций можно сделать вывод, что два основных фактора влияют на процесс бактериальной адгезии. Это гидрофобность бактериальной стенки и адсорбирующей поверхности, а также величина их зарядов.

В некоторых специальных задачах, посвященных процессам грануляции и развития биопленок, ключевым моментом является скорость бактериальной адсорбции. В этой области уже были сделаны различные попытки [7–8]. Как правило, в этих работах статистическими методами были найдены зависимости числа бактерий, адсорбированных на единице поверхности от времени. Однако описание кинетики данного процесса через энергетические параметры так, как это представлено, например, в законе Аррениуса для кинетики химической реакции, до сих пор сделано не было.

Одной из возможностей установления этой взаимосвязи является представление скорости адсорбционного процесса в виде суммы скоростей процессов, имеющих различное происхождение. Тогда кинетика бактериальной адсорбции может быть частично выражена на основании положений термодинамики. Аналогичный подход был применен для установления связи между свободной энергией адгезии и числом адсорбированных бактерий [9–10]. К сожалению, полученные соотношения описывают только конечные равновесные состояния системы жидкость–бактерии–адсорбирующая поверхность, однако никаких выражений для кинетики процесса получить из них невозможно. Тем не менее очевидно, что этот подход может быть полезен для разработки основ кинетики.

В настоящей работе будет рассмотрена адсорбция гидрофильных микроорганизмов на низкоэнергетических незаряженных поверхностях. В этом случае можно ожидать, что движущей силой адсорбционного процесса будут гидрофобные взаимодействия. Более того, хорошо известное уравнение состояния для вычислений энергии адгезии в терминах поверхностных натяжений может быть использовано в вычислении кинетики бактериальной адсорбции.

Выбор рассматриваемой системы не случаен. Как было показано [11], не всегда можно найти четкую корреляцию между электрофоретической подвижностью бактерий и их адгезией к материалам с разными поверхностными свойствами. Таким образом, выбрав нужные экспериментальные условия можно ожидать, что вклад электростатических взаимодействий будет мал. Вклад всех других видов взаимодействия (включая электростатические) в процесс адгезии может быть учтен с помощью дополнительного параметра.

### Разработка модели

Основные уравнения модели, которые описывают число бактерий, адсорбированных на единице поверх-

ности в зависимости от времени, представлены уравнениями (1), (3). Поскольку в данной работе рассматриваются эксперименты малой длительности, то бактериальный рост на поверхности материалов не учитывается.

$$\frac{dN}{dt} = \phi_1 \cdot N_{\text{ext}} \cdot [\exp(-\phi_2 \cdot \Delta G_h(t)) - 1 + \Psi] \cdot \frac{S^{\text{access}}(t)}{S^{\text{tot}}}, \quad \Delta G_h \leq 0 \quad (1)$$

$$\frac{dN}{dt} = \phi_1 \cdot N_{\text{ext}} \cdot \Psi \cdot \frac{S^{\text{access}}(t)}{S^{\text{tot}}}, \quad \Delta G_h > 0 \quad (2)$$

$$S^{\text{access}}(t) = S^{\text{tot}} \cdot (1 - N(t) \cdot S^{\text{bac}}). \quad (3)$$

Как видно из уравнения (1), скорость бактериальной адсорбции представлена суммой двух составляющих. Первое, содержащее величину  $\Delta G_h$ , представляет скорость адсорбции определяемую гидрофобными свойствами бактериальной клеточной стенки и поверхности материала. Оно выражено через межфазные натяжения (взаимодействие типа 1). Величина  $\Psi$  в уравнениях (1), (2) описывает вклад остальных типов взаимодействий в адсорбционный процесс (взаимодействие типа 2). По этой причине условие ( $\Delta G_h > 0$ ) в уравнении (2) означает нулевой вклад гидрофобной компоненты в адсорбционный процесс.

Также предполагается, что скорость адсорбции прямо пропорциональна числу клеток в единице объема окружающей среды  $N_{\text{ext}}$ , и той части поверхности  $\{S(t)\}/S$ , которая доступна для адсорбционного процесса. Абсолютная величина доступной поверхности для любого момента времени вычисляется согласно уравнению (3). Введение такого рода разложения движущих сил позволяет рассматривать оба члена в выражении для скорости независимо друг от друга.

Из термодинамики следует, что, если рассмотрению подлежат только гидрофобные свойства, процесс бактериальной адгезии зависит от изменения так называемой свободной энергии адгезии или поверхностной энергии Гиббса – ( $\Delta G_h$ ) между следующими фазами: твердое тело–жидкость, бактерия–твердое тело и жидкость–пар. В этом случае адгезионный процесс имеет место, если энергия адгезии системы становится меньше. Эта энергия выражается с помощью уравнения (4).

Одной из основных идей данной работы является использование величины  $\Delta G_h$  для описания вклада гидрофобных взаимодействий в адсорбционный процесс. Для вычисления величины  $\Delta G_h$  уравнение (4) нужно дополнить уравнениями (5)–(8). Уравнения (5), (7) представляют собой уравнение Юнга [2] для двух систем: первая включает поверхность полимера, жидкость и пар, вторая – клеточную стенку бактерии, жидкость и пар. Используя уравнение состояния [12–13], уравнение (5) можно дополнить уравнением (6). Это дает возможность однозначно найти  $\gamma_{LV}$  (и  $\gamma_{SL}$ ), если известны экспериментальные данные относительно контактного угла  $\Theta_{SL}$  и поверхностного натяжения жидкости  $\gamma_{LV}$ . Более

того, уравнения (5), (6) позволяют вычислить  $\gamma_{SL}$  для любого значения величины поверхностного натяжения жидкости, основываясь на ранее полученной величине  $\gamma_{SV}$ .

$$\Delta G_h = \gamma_{BS} - \gamma_{BL} - \gamma_{SL}, \quad (4)$$

$$\gamma_{SV} - \gamma_{SL} = \gamma_{LV} \cdot \cos \Theta_{SL}, \quad (5)$$

$$\cos \Theta_{SL} = -1 + 2 \cdot \sqrt{\gamma_{SV} / \gamma_{LV}} \cdot \exp(-0,0001247 \cdot (\gamma_{LV} - \gamma_{SV})^2). \quad (6)$$

Аналогичный подход может быть применен для нахождения  $\gamma_{BV}$  (и  $\gamma_{BL}$ ), исходя из уравнений (7), (8) при условии, что из эксперимента известны величина контактного угла  $\Theta_{BL}$  и величина поверхностного натяжения жидкости  $\gamma_{LV}$ . В этом случае уравнения (7), (8) используют для получения  $\gamma_{BL}$  при любом значении  $\gamma_{LV}$ , исходя из найденной выше величины  $\gamma_{BV}$ .

$$\gamma_{BV} - \gamma_{BL} = \gamma_{LV} \cdot \cos \Theta_{BL}, \quad (7)$$

$$\cos \Theta_{BL} = -1 + 2 \cdot \sqrt{\gamma_{BV} / \gamma_{LV}} \cdot \exp(-0,0001247 \cdot (\gamma_{LV} - \gamma_{BV})^2). \quad (8)$$

Уравнение состояния можно формально применять для вычисления  $\cos \Theta_{BS}$ , исходя из  $\gamma_{SV}$  и  $\gamma_{BV}$ . С помощью уравнения Юнга, используя величину гипотетического контактного угла, можно найти величину  $\gamma_{BS}$ .

Таким образом, уравнения (4)–(8) позволяют вычислить изменения энергии адгезии для отдельной бактерии между двумя состояниями для случая, когда учитываются только гидрофобные взаимодействия. Следует отметить, что в данной работе использована новая форма соотношения экспериментальной величины контактного угла и поверхностного натяжения (6), (8). Основным преимуществом данной формы, которая была получена в работе [13], является отсутствие сингулярности в уравнении для контактного угла.

Процесс бактериального накопления на поверхности инертного материала приводит к изменению усредненных гидрофобных свойств адсорбирующей поверхности. Этот факт может быть выражен при помощи введе-

ния эффективного контактного угла  $\Theta_{SL}^{\text{эф}}(t)$ , который может быть измерен экспериментально. Как было показано в [14], гидрофобность бактериальной смеси есть среднее от гидрофобностей составляющих ее компонент. Используя этот факт, эффективную гидрофобность поверхности материала можно вычислить как среднее от гидрофобностей той части, которая занята бактериями  $(1 - (S(t)/S))$ , и части, свободной от последних  $(S(t)/S)$  соответственно.

$$\cos \Theta_{SL}^{\text{эф}}(t) = (1 - (S(t)/S)) \cdot \cos \Theta_{BL} + S(t)/S \cdot \cos \Theta_{SL}. \quad (9)$$

По мере заполнения поверхности бактериями функция  $\Theta_{SL}^{\text{эф}}(t)$  приближается во времени к постоянной величине  $\Theta_{BL}$ . В данной работе величина  $\Theta_{SL}$ , зависящая только от свойств поверхности и жидкости, будет использована для вычислений величины  $\Delta G_h$ . Это означает, что бактерии будут закрепляться на свободной части поверхности, а не на ранее адсорбированных бактериях и, следовательно, свободная энергия адгезии останется прежней. Тем не менее скорость адсорбции будет падать по мере сокращения доступной поверхности.

Уравнения (4)–(8) представляют собой все необходимые уравнения для вычисления первой составляющей скорости адсорбции, основанной на гидрофобных свойствах бактериальной клеточной стенки и на свойствах поверхности инертного материала (взаимодействия первого типа).

Второй член  $\Psi$  в уравнениях (1), (2), характеризующий вклад в скорость адсорбции взаимодействий второго типа, может быть определен из уравнения (2). В этом случае скорость адсорбции не зависит от  $\Delta G_h$ . Так как в данной работе рассматривается адгезия к низкоэнергетичным поверхностям, вклад, представленный величиной  $\Psi$ , можно предположить достаточно малым. Таким образом, если эксперимент спланирован таким способом, что он содержит область, где  $\Delta G_h > 0$ , член  $\Psi$  может быть определен экспериментально.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Absolom D.R., Lamberti F.V., Policova, Z., Zingg et al.* // Appl. and Envir. Microbiology. 1983. **46**. P. 90.
2. *Adamson A. W.* Physical chemistry of surfaces. Wiley, N.Y., 1976. P. 378.
3. *Gerson D.F.* // Biochim. Biophys. Acta. 1980. **602**. P. 269.
4. *Busscher H. J., Weerkamp A. H., van der Mei H. C., van Pelt A. W. J. et al.* // Appl. and Envir. Microbiology. 1983. **48**. P. 980.
5. *van Loosdrecht, M. C. M. and Zehnder, A. J. B.* // Experientia. 1990. **46**. P. 817.
6. *Grotenhuis J.T.C.* Structure and stability of methanogenic granular sludge. Ph.D. thesis. Agricultural University of Wageningen. The Netherlands. 1992. P. 27.
7. *Robins J.P. Switzenbaum M. S.* // Environ. Technol. 1990. **11**. P. 521.
8. *Fletcher M.* // Canad. J. Microb. 1977. **23**. P. 1.
9. *Pratt-Terpstra I. H., Weerkamp A.H., Busscher H.J.* // Current Microb. 1988. **16**. P. 311.
10. *Pratt-Terpstra I. H., Weerkamp A.H., and Busscher H.J.* // J. Colloid and Interface Sci. 1989. **129**. P. 568.
11. *Loosdrecht M. C. M. van.* Bacterial adhesion. Ph.D. thesis. Agricultural University of Wageningen, The Netherlands. 1988. P. 35.
12. *Neumann A.W., Good R.J., Hope C.J. and Sejjal M.* // J. Colloid and Interface Sci. 1974. **49**. P. 291.
13. *Li D. and Neumann A.W.* // J. Colloid and Interface Sci. 1992. **148**. P. 190.
14. *Daffonchio D., Thaveesri J. and Verstraete W.* // Appl. and Envir. Microbiology. 1995. **61**. P. 3676.