

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

В.Б. Тишин, О.В. Головинская

**ЭКСПЕРИМЕНТ И ПОИСК
МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ КИНЕТИКИ
БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

Учебное пособие

 УНИВЕРСИТЕТ ИТМО

Санкт-Петербург

2015

УДК 663.1
ББК 36.87
Т 47

Тишин В.Б., Головинская О.В. Эксперимент и поиск математических моделей кинетики биологических процессов: Учеб. пособие. – СПб.: Университет ИТМО; ИХиБТ, 2015. – 111 с.

В пособии даются рекомендации по обработке экспериментальных данных кинетики протекания некоторых биологических процессов и поиску их математических моделей; анализ различных математических моделей развития клеток микроорганизмов, отмечаются их достоинства и недостатки. Для поиска эмпирических уравнений математических моделей предлагается использовать современные компьютерные программы MathCad, CurveExpert. Кратко излагаются правила пользования указанными программами.

Пособие предназначено для магистрантов направления 19.04.02 Продукты питания из растительного сырья, а также аспирантов специальностей 05.18.07 Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ и 05.18.12 Процессы и аппараты пищевых производств.

Рецензенты: кафедра пищевой биотехнологии Санкт-Петербургского института управления и пищевых технологий (зав. кафедрой канд. техн. наук В.Г. Черныш); доктор техн. наук, проф. В.Н. Красильников (ООО «Протеин Плюс», Санкт-Петербург)

Рекомендовано к печати редакционно-издательским советом Института холода и биотехнологий



Университет ИТМО – ведущий вуз России в области информационных и фотонных технологий, один из немногих российских вузов, получивших в 2009 году статус национального исследовательского университета. С 2013 года Университет ИТМО – участник программы повышения конкурентоспособности российских университетов среди ведущих мировых научно-образовательных центров, известной как проект «5 – 100». Цель Университета ИТМО – становление исследовательского университета мирового уровня, предпринимательского по типу, ориентированного на интернационализацию всех направлений деятельности.

© Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, 2015

© Тишин В.Б., Головинская О.В., 2015

ПРЕДИСЛОВИЕ

Разработка математических моделей кинетических закономерностей развития клеток микроорганизмов – одна из сложнейших задач микробиологии, для решения которой необходимы знания о закономерностях материального и энергетического обмена между культуральной средой и клеткой и наличие математических моделей, описывающих их. Эти знания нельзя получить, не изучив кинетику протекания биологических процессов.

Необходимость поиска математических моделей обусловлена несколькими причинами. Главной из них является постоянное развитие микробиологической отрасли промышленности, вследствие чего повышаются требования к проектированию производств, ведению и предсказанию хода технологических процессов в зависимости от изменения технологических параметров.

Другой немаловажной причиной является то обстоятельство, что привлечение математического аппарата к исследованию биологических процессов позволит более глубоко проникнуть в суть материального и энергетического обмена между культуральной средой и клеткой, наметить пути интенсификации этих процессов.

Также следует отметить, что обработка экспериментальных данных с привлечением современных компьютерных программ CurveExpert, MathCad и других с целью поиска уравнений математических моделей позволяет провести сам эксперимент более тщательно и более целенаправленно.

Если процессы переноса импульса, теплоты и массы в аппаратах различных технологий можно моделировать, основываясь на дифференциальных уравнениях Навье–Стокса, Рейнольдса и Фурье–Кирхгофа, то уравнения, описывающие течение биологических и биохимических процессов внутри клетки, пока не получены. Указанные уравнения можно использовать, с определёнными оговорками, для моделирования энергетического и материального обмена между клеткой и окружающей её культуральной средой. Поэтому поиск математических моделей микробиологических технологий прежде всего основан на эксперименте.

При изучении кинетики развития клетки, или популяции клеток микроорганизмов, приходится иметь дело с биологическими процессами, протекающими во времени. К ним относятся процессы,

происходящие как внутри клетки, так и в окружающей её культуральной среде:

- транспорт питательных веществ в культуральной среде к поверхности клеток;
- потребление клетками продуктов питания и выделение в окружающую среду продуктов метаболизма;
- деление клеток;
- вывод продуктов метаболизма из культуральной среды;
- отвод биологической теплоты, выделившейся в результате жизнедеятельности клеток, в целях поддержания комфортной для данного вида микроорганизмов температуры;
- при аэробном культивировании микроорганизмов добавляется процесс транспортирования кислорода из воздуха в питательную среду, а затем в клетку.

Скорости протекания указанных процессов зависят от множества факторов, таких как начальный состав культуральной жидкости, скорость потребления питательных веществ микроорганизмами, состояние среды (с перемешиванием или без него), продолжительность процесса (изменение состава среды и её физических свойств), температура, рН и т. п. Целью исследований в большинстве случаев является стремление выяснить влияние указанных факторов на скорость протекания микробиологических процессов и поиск эмпирических либо полуэмпирических математических моделей, адекватно отражающих исследуемое явление.

Следует отметить одно важное обстоятельство. Полную модель какого-либо процесса, как правило, можно описать только системой эмпирических, в лучшем случае – полуэмпирических уравнений. Например, сбраживание пивного сула является результатом протекания целого ряда биологических и биохимических процессов. Обратим внимание на некоторые из них: развитие клеток (потребление субстрата, прирост биомассы); синтез этилового спирта и диоксида углерода; синтез и восстановление диацетила и т. п. Все эти составляющие полного процесса брожения описываются отдельными уравнениями или системами уравнений, которые могут стать частью общей математической модели.

В настоящее время в распоряжении обучающихся в вузах студентов, магистрантов, аспирантов имеется мощная компьютерная техника с многообразными математическими программами, которые

позволяют быстро обработать экспериментальные данные и получить уравнения, описывающие процессы с заданной степенью точности. Конечной целью обработки опытных данных является определение численных значений эмпирических коэффициентов и показателей степеней и объяснения, по возможности, их физико-биологической сущности.

В учебном пособии ставится задача показать учащимся магистратуры и аспирантуры на примерах уже имеющихся экспериментальных исследований различных биологических процессов возможные пути поиска математических моделей, адекватно описывающих эти процессы, с помощью математической системы MathCad.

Почему же авторы данного учебного пособия отдали предпочтение именно этой системе? На наш взгляд, MathCad является универсальной математической системой с множеством программ, позволяющих производить работы с формулами, числами, текстами и графиками. MathCad содержит сотни операторов и встроенных функций для решения различных технических задач. Программа позволяет выполнять численные и символьные вычисления, производить операции со скалярными величинами, векторами и матрицами, автоматически переводить одни единицы измерения в другие и пр.

Основное отличие MathCad от аналогичных программ (Maple, Mathematica, MATLAB) – это графический, а не текстовый режим ввода данных. Для набора команд, функций, формул можно использовать как клавиатуру, так и кнопки на многочисленных специальных панелях инструментов. Уравнения могут быть напечатаны в том же виде, в каком они написаны на бумаге, а их решение представлены в виде графического изображения.

Указанные преимущества как нельзя лучше удовлетворяют требованиям поиска уравнений математических моделей, описывающих кинетику различных биологических процессов. Это совсем не означает, что отвергаются другие математические системы и программы. Например, MathCad очень хорошо сочетается с простой в работе программой CurveExpert, позволяющей при обработке опытных данных быстро выбрать из нескольких уравнений то, которое в наилучшей степени отражает ход биологического процесса. Но так как приходится, как правило, обрабатывать массив данных, а не результаты только одного опыта, то поиск численных значений коэффициентов и показателей степеней в выбранном уравнении, а также

построение графиков, нахождение производных, интегрирование лучше производить в системе MathCad. Для этой цели в ней имеются специальные программы. На эти особенности будет обращено внимание в дальнейшем при рассмотрении конкретных примеров.

Настоящее учебное пособие предназначено для учащихся магистратуры, направление подготовки которых связано с биотехнологическими способами производства различных продуктов питания. Однако оно может быть полезно аспирантам и лицам, занимающимся научными исследованиями в области изучения кинетических закономерностей развития микроорганизмов и процессов и аппаратов пищевых микробиологических производств.

Структурно учебное пособие состоит из предисловия, введения, трёх разделов, заключения, списка используемой литературы и приложения. Во введении даются сведения о способах осуществления микробиологических процессов и типах аппаратов, применяемых для этого.

В первом разделе кратко рассматриваются уже известные классические уравнения кинетики процессов культивирования микроорганизмов. Анализируются некоторые публикации, по-новому раскрывающие закономерности их развития. Предлагаются иные подходы к расчёту скоростей прироста биомассы на основе уравнений степенного вида. Даются рекомендации по выбору уравнений математических моделей.

Во втором и третьем разделах приводятся пути поиска математических моделей на основе экспериментальных исследований некоторых процессов культивирования микроорганизмов и брожения. Делается попытка связать скорости прироста биомассы с гидродинамическими условиями в аппаратах для культивирования.

Автор выражает глубокую благодарность сотрудникам Санкт-Петербургского национального исследовательского университета информационных технологий, механики и оптики профессору, доктору техн. наук. А.Г. Новосёлову и Н.Е. Дюба за критические замечания и подготовку настоящей работы к публикации.

ВВЕДЕНИЕ

В широком понимании кинетика является частью физики (механики), выделившейся в самостоятельный раздел, объединяющий статику и динамику тел или системы тел. В более узком смысле под кинетикой понимают область науки, занимающейся изучением процессов, протекающих во времени. Примером тому могут служить химическая кинетика, изучающая скорость протекания химических реакций. Биологическая кинетика изучает течение процессов в живой природе. К ним относятся биохимические превращения внутри живых организмов и процессы обмена между живыми организмами и средой их обитания.

В части кинетики, относящейся к статике, изучаются равновесное состояние системы, а также причины, выводящие её из равновесия. В динамике рассматриваются системы, выведенные из равновесия по тем или иным причинам и стремящиеся возвратиться в первоначальное состояние. Одним из важнейших вопросов, требующих изучения, являются скорости протекания указанных процессов, связанных с нарушением равновесного состояния.

В технологиях производства многих пищевых продуктов микробиологические процессы являются определяющими в экономических показателях предприятий и качестве выпускаемой продукции. Примерами могут служить производства, в которых конечным продуктом является биомасса. Например, производство различных штаммов дрожжей *Saccharomyces* для разных отраслей пищевой промышленности: хлебопекарной, пивоваренной, винодельческой и т. п., а также для фармацевтической промышленности.

Однако производство биомассы лишь частный случай микробиологического производства. В более широком аспекте представляют интерес вопросы кинетики выделения микроорганизмами продуктов метаболизма. В одном случае они могут быть обязательными попутчиками технологического процесса (при производстве той же биомассы) и отрицательно сказываться на скорости его протекания. При производстве спирта, вин, пива важнейшим этапом является процесс сбраживания сусла дрожжами *Saccharomyces cerevisiae*. При этом в сусле протекают сложные биохимические реакции, в результате которых образуется множество веществ, оказывающих как положи-

тельное, так и отрицательное влияние на качественные показатели готового продукта.

В другом случае продукты метаболизма являются конечной целью микробиологического производства. В качестве примеров можно привести производство молочной, лимонной и уксусной кислот, антибиотиков, напитков из настоя чайного, рисового гриба и т. п.

Во всех указанных случаях для грамотного ведения технологических процессов, предсказания их хода и регулирования необходимы знания о закономерностях материального и энергетического обмена между культуральной средой и клеткой. Эти знания можно получить, изучив кинетику протекания указанных процессов.

Развитие микроорганизмов сопровождается выделением биологической теплоты. Поэтому возникает необходимость в изучении тепло- и массообмена между средой и клеткой и теплообмена между теплопередающей поверхностью теплообменных аппаратов и культуральной средой. При аэробном культивировании микроорганизмов добавляются процессы абсорбции кислорода воздуха культуральной жидкостью и десорбции из неё продуктов метаболизма.

Кинетические закономерности развития микроорганизмов во многом определяются выбором способа проведения микробиологического процесса и типа аппаратуры, в которой эти процессы протекают. Поэтому, прежде чем переходить непосредственно к кинетике, необходимо вкратце ознакомиться с основными способами ведения микробиологических процессов и типами аппаратов, применяемых для этой цели.

Способы проведения микробиологических процессов

Существует два основных способа проведения микробиологических процессов – периодический и непрерывный. Первый характерен однократной загрузкой сырья и выгрузкой готового продукта. Второй – постоянным поступлением и отводом их из аппарата. Кроме этих двух в промышленности часто применяют способы, занимающие промежуточное положение между основными. Например, при культивировании дрожжей к ним относятся доливной и отъемно-доливной способы.

Периодические способы

Периодические способы ведения микробиологических процессов рассмотрим на примере культивирования дрожжевых клеток. Как уже отмечалось ранее, периодический способ характерен однократной загрузкой сырья и выгрузкой готового продукта и проводится в условиях идеального перемешивания. При периодическом процессе наращивание биомассы происходит до тех пор, пока культура не испытывает лимит хотя бы по одному компоненту субстрата либо пока количество вторичных продуктов метаболизма не достигнет критических концентраций, при которых они выступают как ингибиторы роста. Классическим примером этого является сбраживание пивного сула.

Применение различных способов ведения биологических процессов рассмотрим на примере культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. При исследованиях кинетики культивирования отслеживают изменение либо концентрации клеток в среде, либо их массы во времени. В дальнейшем мы будем пользоваться, как правило, термином «биомасса» и лишь в некоторых случаях, в целях более ясного изложения материала, использовать понятие «клетка».

Если схематично изобразить на графике зависимость концентрации клеток в единице объёма среды $x_{\text{кл}}$ от времени τ , то получим S-образную кривую накопления биомассы микроорганизмов. На графике выделяют шесть характерных зон, соответствующих различным фазам развития клеток.

Первая фаза, называемая лаг-фазой, соответствует начальной стадии культивирования, в этой зоне прирост клеток отсутствует, а концентрация биомассы может как увеличиться, так и снизиться либо остаться постоянной. Это зависит от условий, в которых клетки находились до засева и после внесения их в культуральную среду. Увеличение биомассы может произойти за счёт увеличения размеров самих клеток, что связано с потреблением клетками имеющегося в среде субстрата, которого всё же недостаточно для их размножения. Снижение количества биомассы обусловлено или снижением массы клеток, или их гибелью и автолизом из-за недостатка питательных веществ. Длительность лаг-фазы зависит от качества засевной культуры, от организации оптимальных условий предварительной акти-

вазии клеток. В практических условиях надо стремиться к сокращению лаг-фазы до минимума.

Вторая фаза называется фазой ускорения роста. В этой зоне скорость развития популяции клеток меняется от нуля до максимума.

Третья фаза соответствует максимальной скорости прироста клеток и называется экспоненциальной фазой, так как считается, что в этой фазе изменение концентрации биомассы во времени подчиняется экспоненциальному закону.

В четвертой фазе скорость прироста биомассы начинает падать и изменяется от максимума до нуля. Падение скорости связано со снижением концентрации субстрата и накоплением в среде продуктов метаболизма.

Пятая фаза стационарная. Здесь концентрация клеток в течение некоторого времени остается постоянной. Причина в том, что клетки, не имея необходимого количества субстрата, прекращают деление и потребляют остатки субстрата или внутриклеточного резерва только на поддержание жизненных функций.

Шестая фаза – фаза отмирания. Из-за недостатка питания и накопления продуктов метаболизма начинаются гибель клеток и их автолиз.

Следует оговориться, что деление кривой роста на зоны носит несколько условный характер, так как определить их точные границы сложно из-за неточности определения изменения концентрации клеток, особенно в малых промежутках времени.

S-образная кривая, изображённая на рис. 1, отражает закон развития не только микроорганизмов, но и всей природы в целом, в том числе и человеческих цивилизаций, всей нашей Вселенной. Всё после рождения развивается медленно (лаг-фаза). Затем развитие начинает ускоряться, достигая максимальной скорости (фаза ускорения роста). Далее наступает фаза бурного (экспоненциального) развития. Но когда энергетические возможности, необходимые для развития природы, иссякнут, скорость начнёт снижаться (фазы замедления). После достижения нуля развитие прекращается (стационарная фаза); в конце концов наступает гибель (шестая фаза). Так что S-образность развития природы имеет глубокий философский смысл.

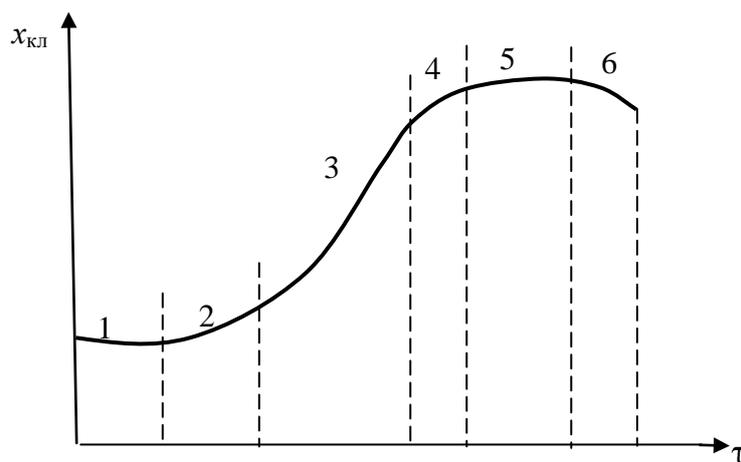


Рис. 1. Кривая изменения концентрации биомассы (клеток) во времени:
1–6 – зоны, соответствующие фазам развития клеток

Непрерывное культивирование

При непрерывном культивировании процессы подачи исходных компонентов и вывода из культиватора целевого продукта и продуктов метаболизма происходят постоянно и одновременно.

Наиболее наглядно схему организации непрерывного культивирования можно показать на примере аппарата типа «труба в трубе» (рис. 2), состоящего из нескольких восходящих и нисходящих секций, работающего в режиме идеального вытеснения. В культиватор непрерывно подаются питательные вещества, чистая культура и воздух. Для отвода теплоты, выделившейся в результате жизнедеятельности микроорганизмов, в межтрубное пространство подается хладоноситель.

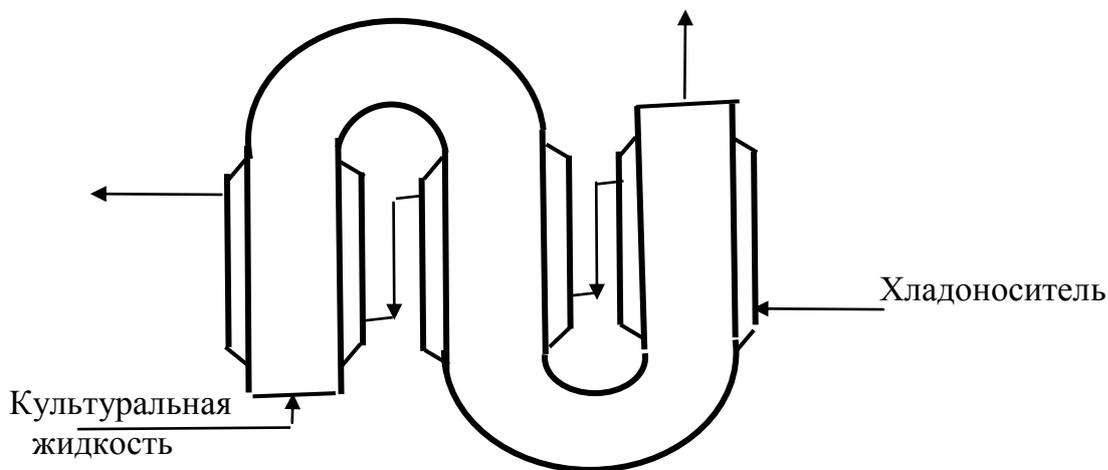


Рис. 2. Схема аппарата типа «труба в трубе»

Полунепрерывные способы культивирования

Непрерывное культивирование в чистом виде при производстве дрожжей не применяется и является пока лишь объектом лабораторных исследований.

Периодическое культивирование в производственных условиях применяется в основном на стадии выращивания чистых культур дрожжей. На стадии товарного производства используются либо доливной, либо отъемно-доливной способы культивирования, занимающие промежуточное положение между периодическим и непрерывным культивированием.

Суть полунепрерывных способов в том, что культивирование ограничено во времени (признак периодического процесса), но в то же время в культиватор постоянно или периодически подается и отводится (при доливном способе только подается) определенное количество субстрата (это признак непрерывного культивирования). Время доливного культивирования ограничено объемом культиватора, отъемно-доливного – скоростью накопления продуктов метаболизма и старением клеток, способных к делению.

Особенность доливного метода заключается в изменении объема культуральной жидкости в аппарате во времени. Подача свежего субстрата в промышленных условиях осуществляется либо порциями, через определенные промежутки времени, либо с постоянным притоком, в зависимости от технологических условий, присущих тому или иному предприятию. Изменение объема культуральной среды соответствующим образом сказывается на концентрации биомассы в жидкости, что не может не сказаться и на скорости их размножения.

Типы аппаратов, применяемых для культивирования

Аппараты, применяемые для осуществления указанных способов проведения микробиологических процессов, конструктивно могут и не различаться. Но в некоторых случаях аппараты, пригодные для непрерывного проведения микробиологических процессов, не годятся для других способов.

Аппараты по распределению находящихся в культуральной среде веществ делятся на аппараты идеального перемешивания и идеального вытеснения. Ознакомление с указанными типами аппаратов диктуется необходимостью расчётов движущих сил процессов

теплообмена и массообмена, протекающих в культиваторах или биореакторах того или иного типа. Рассмотрим кратко их основные типы.

Аппараты идеального перемешивания

В аппаратах идеального перемешивания концентрации всех веществ и температура по всему объему одинаковы. Такое возможно только при интенсивном перемешивании среды. К аппаратам идеального перемешивания относятся аппараты с механическими мешалками, барботажные пустотелые аппараты, в которых перемешивание осуществляется воздухом, и т. п. Отвод теплоты, выделившейся в процессе культивирования микроорганизмов, осуществляется либо через тепловую рубашку, либо через расположенный внутри культиватора теплообменный элемент, либо в выносном теплообменнике (рис. 3).

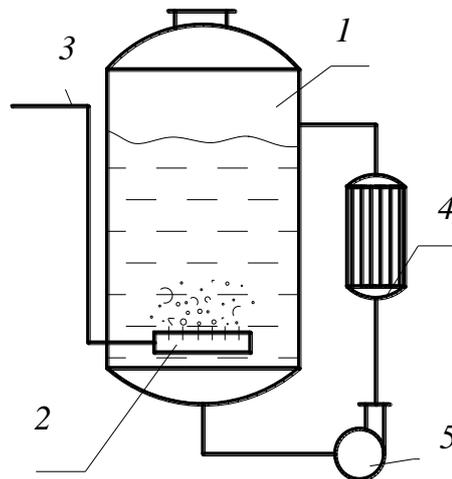


Рис. 3. Схема аппарата идеального перемешивания воздухом с выносным теплообменником для поддержания постоянной температуры

Аппарат с выносным теплообменником (см. рис. 3) предназначен для культивирования микроорганизмов и состоит из корпуса 1, внутри которого расположен барботёр 2. Через барботёр воздух по трубопроводу 3 подаётся в культуральную среду в виде пузырьков, из которых кислород абсорбируется жидкостью. Затем молекулы кислорода за счёт турбулентной диффузии перемещаются к поверхности клеток и через клеточную мембрану поступают внутрь клетки. Такова упрощённая схема транспорта кислорода из воздушного пузырька в клетку.

Теплота, образующаяся в результате жизнедеятельности клеток, отводится к хладоносителю в выносном теплообменнике 4. Циркуляция жидкости через теплообменник осуществляется насосом 5.

Аппараты идеального вытеснения

В аппаратах идеального вытеснения температура и концентрация веществ в жидкости меняются по высоте рабочего объёма, но остаются постоянными в его поперечном сечении, т. е. движение среды можно представить в виде поршней бесконечно малой высоты dH . В пределах этого слоя температура и концентрация веществ в среде не меняются (рис. 4).

Наиболее типичным представителем аппаратов подобного типа является аппарат, выполненный в виде теплообменника типа «труба в трубе» (см. рис. 2). Для отвода или подвода теплоты в зазор между трубами подается теплоноситель или хладоноситель. По внутренней трубе движется культуральная жидкость.

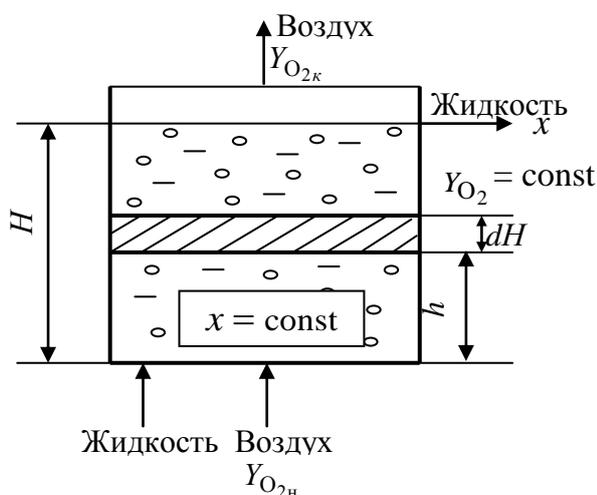


Рис. 4. Схема изменения концентраций компонентов культуральной среды в культиваторе

ноля на стенке до максимального значения на оси. Значит, и время нахождения частиц жидкости в аппарате, и концентрация всех компонентов среды будут переменны по радиусу.

Следует иметь в виду, что идеальных процессов в действительности не существует. При непрерывной подаче продуктов в аппарат, даже при самом интенсивном перемешивании, возможен «проскок» продуктов, т. е. время пребывания отдельных частиц жидкости в аппарате будет различно и идеального перемешивания среды не произойдет.

Также не может быть идеального вытеснения, так как скорость течения жидкости по сечению аппарата меняется от

При аэробных процессах, например культивировании микроорганизмов, когда в трубах движется газожидкостная смесь, трубы рекомендуются располагать вертикально; при горизонтальном расположении возможно расслоение жидкой и газовой фаз. Поверхность контакта фаз (ПКФ) в последнем случае будет равна свободной поверхности жидкости. В вертикальных же трубах газ будет распределен в жидкости в виде пузырьков. Поэтому при равных расходных параметрах фаз ПКФ и, следовательно, скорость растворения газа в вертикальных трубах будут выше, чем в горизонтальных.

Использование аппаратов типа «труба в трубе» в промышленных условиях бывает довольно сложным. Технически создание таких аппаратов вполне возможно, но экономически не всегда целесообразно. Например, при культивировании хлебопекарных дрожжей время, необходимое для достижения заданной концентрации биомассы, может составлять несколько часов. В таком случае для обеспечения необходимого времени пребывания среды в аппарате длина труб культиватора должна равняться нескольким десяткам метров. Расходы энергии на преодоление гидравлического сопротивления и расходы металла будут неоправданно велики.

Длину труб можно сократить, оставив время пребывания неизменным, увеличив диаметр труб, т. е. снизив скорость движения жидкости. Однако организовать устойчивую работу ферментера при малой скорости движения жидкости – задача сложная. Причина в том, что в нисходящих секциях аппарата при малой скорости жидкость будет стекать по стенкам труб в виде пленки. В следующую восходящую секцию воздух будет прорываться периодически в виде крупных пузырей (снарядов), создавая таким образом сильные пульсации в системе. При этом поверхность контакта фаз резко падает, что, в свою очередь, приводит к снижению скорости растворения кислорода и, в конечном итоге, к снижению скорости роста клеток. Поэтому от участков с нисходящим движением фаз приходится отказываться и оставлять только восходящие части. Таким образом, от трубчатого аппарата приходится переходить к непрерывному культивированию в соединенных последовательно барботажных аппаратах идеального смешения по жидкой фазе и вытеснения – по газовой.

Схема трехступенчатой непрерывно действующей установки, предназначенной для культивирования микроорганизмов, показана на рис. 5.

В аппаратах барботажного типа, наиболее часто применяемых в микробиологической промышленности, в которых перемешивание жидкой среды происходит воздухом, принято считать работу ферментера по жидкой фазе в режиме идеального смешения, а по газовой – идеального вытеснения, т. е. в жидкой фазе концентрация кислорода C_{O_2} и клеток x по всему объему аппарата постоянна.

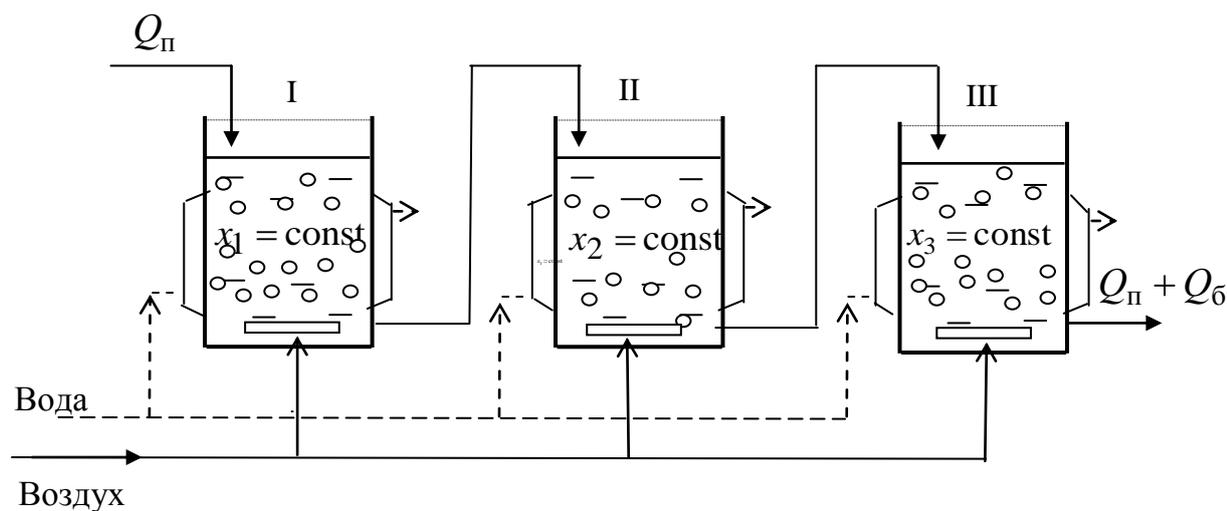


Рис. 5. Схема трехступенчатой установки для проведения микробиологических процессов

В газовой фазе, согласно рис. 4, концентрация кислорода меняется по высоте аппарата от значения $Y_{O_2} = Y_{O_{2Н}}$ до $Y_{O_2} = Y_{O_{2К}}$, оставаясь постоянной по сечению аппарата.

1. ОСНОВНЫЕ МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ КИНЕТИКИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

1.1. Математические модели экспоненциального развития клеток

1.1.1. Модель простейшей экспоненциальной зависимости

Поиск моделей начнем с простейшего случая периодического культивирования, полагая, что популяция микроорганизмов развивается в культиваторе неограниченного объема в условиях отсутствия дефицита питания и влияния отрицательных факторов, связанных с жизнедеятельностью клеток.

Согласно принятым условиям, высказана гипотеза о том, что прирост биомассы Δx за период времени $\Delta \tau$ прямо пропорционален концентрации биомассы (клеток) в культуральной среде x и времени, т. е.

$$\Delta x \sim x \Delta \tau. \quad (1.1)$$

Переходя от пропорциональности к равенству, запишем

$$\Delta x = \mu x \Delta \tau.$$

Разделив обе части равенства на $\Delta \tau$, получим

$$\frac{\Delta x}{\Delta \tau} = \mu x. \quad (1.2)$$

Следует заметить, что условие $\Delta x \sim x$ не всегда соблюдается. Более правильным было бы предположение $\Delta x \sim x^m$. В частном случае показатель степени m может равняться единице. На эти особенности развития популяций мы обратим внимание позднее.

Будем считать, что функция $x(\tau)$ непрерывна, т. е. малым приращениям $\Delta \tau$ соответствуют малые приращения Δx . В таком случае при $\Delta \tau \rightarrow 0$ можно перейти от отношения малых величин к производной

$$\frac{dx}{d\tau} = \mu x. \quad (1.3)$$

Ещё раз обратим внимание на следующее обстоятельство. Уравнение (1.3) будет иметь смысл, если прирост биомассы непрерывен. Непрерывность процесса размножения микроорганизмов возможна, если количество почкующихся клеток в единице объема среды достаточно велико. В противном случае непрерывность нарушается, так как деление одиночных клеток происходит циклично и синхронно через определенные промежутки времени. Для таких процессов уравнение (1.3) становится непригодным для описания кинетики развития клеток.

По мере увеличения популяции цикличность размножения клеток нарушается и прирост биомассы начинает приближаться к непрерывному процессу. Причины нарушения цикличности могут быть разными. Клетки, как и любой живой организм, в силу своей индивидуальности развиваются не одинаково, деление их происходит не одновременно. На нарушение синхронности при увеличении численности особей может повлиять их взаимодействие между собой, приводящее к гибели части клеток.

Разделив переменные и проинтегрировав равенство (1.3) в пределах от x_i до x_{i+1} и от τ_i до τ_{i+1} , запишем

$$\int_{x_i}^{x_{i+1}} \frac{dx}{x} = \mu \int_{\tau_i}^{\tau_{i+1}} d\tau.$$

После интегрирования получаем

$$x_{i+1} = x_i e^{\mu(\tau_{i+1} - \tau_i)}. \quad (1.4)$$

Таким образом, мы получили уравнение (1.4), выражающее закон экспоненциального развития микроорганизмов. Обычно считается, что отклонение от экспоненциального закона говорит о несоблюдении условий, принятых в начале данного подраздела.

Из уравнения (1.4) следует значение локальной удельной скорости прироста биомассы:

$$\mu = \frac{1}{\tau_{i+1} - \tau_i} \ln \frac{x_{i+1}}{x_i}. \quad (1.5)$$

Из уравнения (1.5) следует, что коэффициент пропорциональности μ имеет размерность, обратную времени $1/\text{ч}$, и называется локальной удельной скоростью прироста биомассы.

Возвращаясь вновь к уравнению (1.4), видим, что в полулогарифмических координатах оно имеет вид прямой линии 1 (рис. 1.1) при отсутствии лаг-фазы (см. рис. 1), т. е. $\mu = \text{const}$.

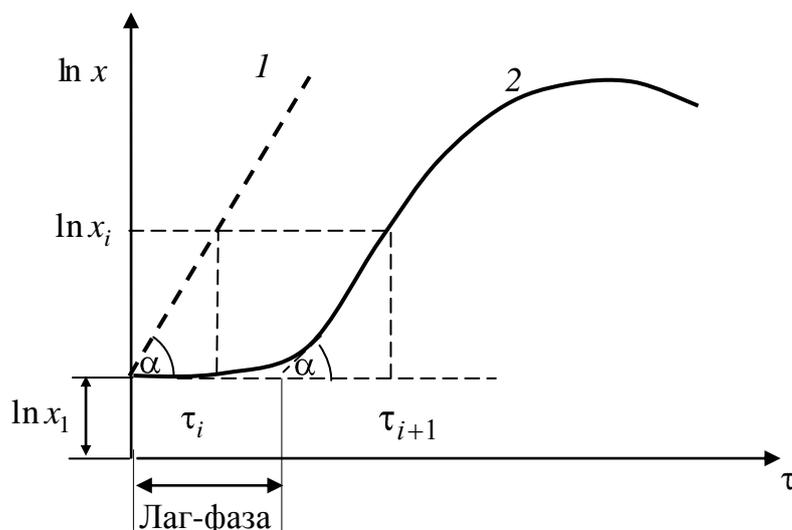


Рис. 1.1. Изменение концентрации клеток во времени:
 1 – по уравнению (1.4); 2 – реальная кривая

Тангенс угла α наклона прямой 1 к горизонту равен удельной скорости роста, т. е. $\text{tg } \alpha = \mu$. Для сравнения на рис. 1.1 изображена реальная кривая роста 2 . По рисунку видно, что наличие лаг-фазы увеличивает время достижения заданной концентрации клеток x_i . Без лаг-фазы время достижения значения x_i равно τ_i , а при наличии – τ_{i+1} . Поэтому очень важно подбирать такие штаммы дрожжей и создавать такие условия развития клеток в начальной фазе культивирования, чтобы продолжительность лаг-фазы была бы минимальной. От этого зависят экономические показатели производства в целом.

Согласно уравнению (1.4), при $\tau \rightarrow \infty$ концентрация биомассы в среде также стремится к бесконечности, чего в действительности быть не может. В реальных условиях объем культиватора ограничен и на скорость роста будут влиять многие факторы: концентрации клеток, субстрата, продуктов метаболизма, кислорода и т. п. Поэтому

уравнение (1.4) справедливо лишь для третьей фазы S-образной кривой роста (см. рис. 1) и лишь в частных случаях удовлетворяет экспериментальным результатам.

Кроме локальной удельной скорости, пользуются еще величиной средней удельной скорости $\bar{\mu}$, определяемой в промежутке времени от $\tau = 0$ до произвольного значения τ ; концентрация биомассы меняется от значения x_H до x . В таком случае уравнение (1.4) можно представить в следующем виде:

$$x = x_H e^{\bar{\mu}\tau}. \quad (1.6)$$

Введя безразмерное значение концентрации биомассы $x_b = x/x_H$, запишем уравнение (1.6) в виде зависимости

$$x_b = e^{\bar{\mu}\tau}. \quad (1.7)$$

Из уравнения (1.7), при культивировании без притока субстрата, следует

$$\bar{\mu} = \frac{1}{\tau} \ln \frac{x}{x_H}. \quad (1.8)$$

Иногда значения локальной и средней удельной скоростей берутся равными. Однако если такие действия и можно признать допустимыми, то с большой осторожностью. Все связано с тем, что $\bar{\mu}$ и μ могут быть переменны во времени, но их изменения носят различный характер. Как уже говорилось ранее, при небольшой концентрации клеток их деление происходит синхронно и количество биомассы происходит скачкообразно. Если, например, произойдет удвоение одиночной клетки, то, согласно уравнению (1.5), $\mu = \ln 2/\tau$. Для пекарских дрожжей время удвоения в среднем равно примерно 1,5 ч и максимальное значение μ не может превышать 0,46 1/ч. По мере развития популяции клеток синхронность нарушается, изменение локальной скорости приобретает колебательный характер. Что касается средней скорости, то в зависимости от условий культивирования она может снижаться, возрастать и оставаться постоянной.

Удельные скорости μ и $\bar{\mu}$ могут быть приняты равными и постоянными в небольшом промежутке времени значения $\Delta\tau$. Например, в опытах по культивированию дрожжей $\Delta\tau$ выбирают равными 1 ч. Брать шаг изменения времени меньше 1 ч не целесообразно, так как, во-первых, изменение концентрации биомассы может оказаться столь незначительным, что делать на основании опытов какие-либо выводы будет невозможно; во-вторых, возрастает количество отбираемых проб, что связано с дополнительными временными и материальными затратами. Предельно минимальное значение $\Delta\tau$ будет определяться точностью измерения концентрации. Изменение концентрации Δx за время $\Delta\tau$ должно быть выше, чем ошибка ее измерения.

Как отмечалось ранее, уравнения кинетики необходимы для моделирования и прогнозирования процесса культивирования микроорганизмов. Но чтобы воспользоваться уравнением (1.4) хотя бы в экспоненциальной фазе роста клеток, необходимо знать, от чего зависит удельная скорость. Поэтому дальнейшая задача будет заключаться в установлении зависимости удельной скорости прироста клеток от тех или иных факторов. Влияние каких факторов следует выяснить прежде всего? Какие можно принять в качестве достаточно изученных?

Если говорить о культивировании дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, то достаточно изученными можно считать влияние температуры и рН среды. Мало изученными вопросами являются: влияние на скорость прироста биомассы начальных значений концентрации дрожжей и субстрата (кратности разбавления мелассы при культивировании на мелассных растворах); изменение концентрации биомассы в процессе культивирования; гидродинамические условия в культиваторе. Последние, в свою очередь, зависят от интенсивности перемешивания культуральной среды.

В принципе при наличии современной компьютерной техники и соответствующего программного обеспечения описать S-образную кривую какими-либо математическими зависимостями, охватывающими все фазы роста, не представляет каких-либо сложностей, если при этом не обращать внимания на физический смысл членов, входящих в уравнения модели. В качестве примера приведем уравнение вида

$$x = a + b\tau + c\tau^2 + d\tau^3 + e\tau^4 \dots \quad (1.9)$$

Недостаток эмпирических уравнений типа (1.9) заключается в следующем:

– входящие в уравнения коэффициенты имеют различные размерности и лишены какого-либо физического смысла (единственным исключением является коэффициент a , соответствующий начальной концентрации клеток в культуральной среде x_n);

– функция $x = f(\tau)$ может иметь несколько экстремумов, что чаще всего также не имеет физического смысла;

– необходимость поиска зависимости каждого коэффициента от указанных ранее факторов.

Уравнение (1.9) можно привести к безразмерному виду, разделив обе части равенства на величину $a = x_n$, представив его в следующем виде:

$$x_b = 1 + b_1\tau + (c_1\tau)^2 + (d_1\tau)^3. \quad (1.10)$$

В равенстве (1.10) коэффициенты b_1 , c_1 , d_1 имеют размерность c^{-1} . В таком случае можно представить равенство (1.10) в следующем виде:

$$x_b = 1 + \tau/\tau_{x1} + (\tau/\tau_{x2})^2 + (\tau/\tau_{x3})^3 \dots, \quad (1.10a)$$

где индекс x означает какое-то характерное время, в принципе ему можно придать определенный физико-биологический смысл. В частности, это может быть время удвоения биомассы.

Однако выполненные преобразования позволяют исключить только один из вышеперечисленных недостатков. По этой причине зависимости типа (1.10) для описания кинетики роста клеток применяются редко.

Более плодотворным оказалось использование уравнения (1.4) с учетом того обстоятельства, что удельная скорость роста μ – величина переменная и зависит, как уже было сказано ранее, от множества факторов, лимитирующих скорость роста.

Обычно удельную скорость роста при том или ином лимитирующем факторе (например, субстрате) выражают в виде различных зависимостей. В качестве примера приведем некоторые из них.

Наиболее простой зависимостью является уравнение, называемое уравнением Моно [1, с. 23],

$$\mu = \mu_m \frac{s}{K_s + s}, \quad (1.11)$$

где μ_m – максимальная удельная скорость роста (обычно принимается скорость в экспоненциальной фазе); s – текущая концентрация субстрата в культуральной среде; K_s – константа насыщения, определяемая экспериментально.

В этом отношении уравнения (1.4) и (1.11) не на много лучше уравнения (1.10), однако в уравнении (1.11) коэффициент K_s приобретает определенный физический смысл. Он представляет собой такую концентрацию субстрата, при которой удельная скорость роста составляет половину максимального значения, т. е. при $K_s = s$ $\mu = 0,5 \mu_m$. На рис. 1.2 показано изменение относительной удельной скорости от концентрации субстрата.

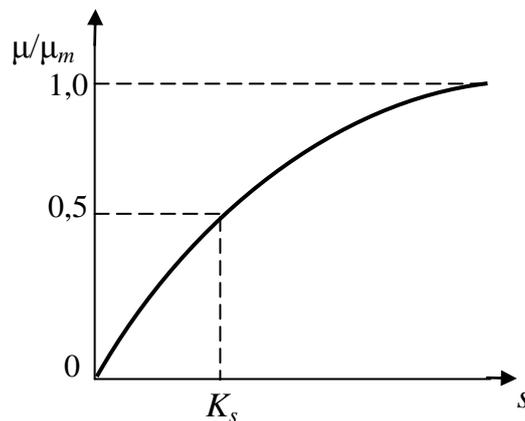


Рис. 1.2. Зависимость относительной удельной скорости роста клеток от концентрации субстрата

Константа насыщения, зависящая от природы микроорганизма, важная характеристика штаммов, так как она позволяет определить количество оставшегося недоиспользованного субстрата. Влияние условий культивирования на ее величину еще мало изучено.

Из уравнения (1.11) следует, что при $\mu_m = \text{const}$ и с увеличением s ($s \geq K_s$), т. е. при избытке субстрата, количество биомассы в среде должно неограниченно увеличиваться. Такой вывод, естественно, не подтверждается опытами, так как скорость роста зависит не только от количества субстрата.

Уравнения, учитывающие влияние на μ концентрации субстрата и ингибирующих продуктов обмена, представлено уравнением вида

$$\mu = \mu_m \frac{s}{K_s + s} \frac{K_p}{K_p + p}, \quad (1.12)$$

где p – концентрация ингибирующего продукта обмена; K_p – константа.

Как правило, определить, какой именно продукт обмена в данный момент времени ингибирует рост клеток, довольно сложно, а часто и невозможно. Поэтому из уравнения (1.12) параметр p исключают, принимая условие пропорциональности между количеством переработанного субстрата и концентрацией ингибитора, т. е.

$$p = A(s_H - s),$$

где A – коэффициент пропорциональности; s_H – начальная концентрация субстрата.

Введя новую константу $K_{ps} = K_p / A$, запишем

$$\mu = \mu_m \frac{s}{K_s + s} \frac{K_{ps}}{K_{ps} + s_H - s}. \quad (1.13)$$

Уравнение (1.13), полученное П.И. Николаевым, преобразуют, исключая из него текущее значение концентрации субстрата s при условии постоянства соотношения между количеством перерабатываемого субстрата и концентрацией биомассы на данный момент времени, т. е.

$$s = s_H - \alpha_s x,$$

где α_s – количество субстрата, расходуемого на единицу биомассы.

Обычно принимают $\alpha_s = \text{const}$ (в действительности величина α_s , как правило, не остается постоянной и медленно возрастает в процессе культивирования):

$$\mu = \mu_m \frac{s_H}{K_s + s_H - \alpha_s x} \frac{K_{ps}}{K_{ps} + \alpha_s x}. \quad (1.13a)$$

Интегрирование уравнения (1.3) совместно с уравнениями (1.13) и (1.13а) дают зависимости $s = f(\tau)$ или $x = f(\tau)$, которые имеют вид S-образной кривых, в большей мере соответствующих экспериментальным данным. В этом заключается преимущество уравнения (1.13) перед уравнением экспоненциального роста (1.4), описывающим только часть кривой роста (третья фаза, см. рис. 1.1). Однако уравнения (1.13) и (1.13а) требуют экспериментального определения коэффициентов $\mu_m, K_s, K_{ps}, \alpha_s$, в общем случае изменяющихся во времени.

1.1.2. Уравнение логистической зависимости

В реальной популяции, развивающейся в ограниченном пространстве, кроме деления клеток происходит обратный процесс – их гибель. Чтобы учесть и этот фактор, связанный с ограниченностью пространства и теснотой в популяции, уравнение (1.2) представляют следующим образом [1, с. 26; 2, с. 63]:

$$\Delta x = \mu x \Delta \tau - y, \quad (1.14)$$

где y – число клеток, погибших за время $\Delta \tau$, зависящее от $\Delta \tau$ и условий стесненности клеток в популяции.

Число погибших клеток принимается величиной, пропорциональной произведению их численности. В таком случае число погибших клеток

$$y = \beta x^2 \Delta \tau.$$

В данном случае уравнение (1.14) можно представить в виде

$$\Delta x = \mu x \Delta \tau - \beta x^2 \Delta \tau,$$

где β – коэффициент внутривидовой конкуренции.

Разделив обе части этого уравнения на $\Delta \tau$ и перейдя к производной, получим дифференциальное уравнение логистической кривой:

$$\frac{dx}{d\tau} = \mu x - \beta x^2. \quad (1.15)$$

Уравнение (1.15), впервые предложенное Ферхюльстом, позволяет получить зависимость $x = f(\tau)$ в явном виде. Так как в фазе стационарного роста $dx/d\tau = 0$ и $x = x_c$, где x_c – концентрация биомассы в стационарной фазе роста, из уравнения (1.15) следует, что $\beta = \mu/x_c$. После подстановки значения β в исходное уравнение имеем

$$\frac{dx}{d\tau} = \mu x - \frac{\mu}{x_c} x^2 = \mu x \left(1 - \frac{x}{x_c}\right). \quad (1.16)$$

Разделив переменные и проинтегрировав уравнение (1.16) от $\tau = 0$ до τ и от $x = x_H$ до $x = x_c$, получим

$$x = \frac{x_H x_c}{x_H + (x_c - x_H) e^{-\mu\tau}}. \quad (1.17)$$

Уравнения вида (1.17) называются логистическими. При $\beta = 0$ уравнение (1.15) примет вид уравнения (1.3), решение которого даёт экспоненциальный вид закономерности развития клеток во времени. Следовательно, уравнение экспоненциального роста является частным случаем уравнения (1.17). В общем случае уравнение (1.17) является уравнением S-образной кривой прироста биомассы.

Уравнение скорости прироста биомассы (продуктивности) получим из исходного выражения (1.16) путем подстановки в него значения x из уравнения (1.17):

$$\frac{dx}{d\tau} = \frac{\mu x_H x_c (x_c - x_H)}{x_H^2 e^{-\mu\tau} + 2x_H (x_c - x_H) + (x_c - x_H)^2 e^{-\mu\tau}}. \quad (1.18)$$

Максимум этой функции найдем, приравняв ее производную к нулю:

$$0 = \mu - \frac{\mu}{x_c} 2x.$$

Решив полученное уравнение, найдём значение $x = x_{\text{экс}} = x_c / 2$, где $x_{\text{экс}}$ – экстремальное значение концентрации микроорганизмов, соответствующее максимуму продуктивности. Подставив значение $x_{\text{экс}}$ в уравнение (1.18), получим

$$\left(\frac{dx}{dt} \right)_{\text{max}} = \mu x_c / 4.$$

Уравнение, аналогичное уравнению (1.16), предложено А.Б. Рубиным [3] из несколько иных соображений. Вполне резонно полагая, что скорость изменения концентрации клеток в среде равно разности между скоростями размножения клеток μ_1 и их гибели μ_2 , автор записывает

$$\frac{dx}{dt} = \mu_1 x - \mu_2 x. \quad (1.19)$$

Интегрируя уравнение (1.19) в пределах от $\tau = 0$ до τ , а также от $x = x_H$ до x , найдём

$$x = x_H e^{(\mu_1 - \mu_2) \tau}. \quad (1.20)$$

Выполненные решения позволяют наглядно представить, каким образом будет вести себя популяция микроорганизмов в зависимости от удельных скоростей роста μ_1 и гибели μ_2 клеток. Если $\mu_1 > \mu_2$, то при $\tau \rightarrow \infty$ $x \rightarrow \infty$, т. е. популяция будет постоянно развиваться и рост клеток будет неограниченным; если $\mu_1 < \mu_2$, то при $\tau \rightarrow \infty$ $x \rightarrow 0$, т. е. будет наблюдаться вымирание клеток; при $\mu_1 = \mu_2$ концентрация клеток будет оставаться постоянной.

Как показывает практика, при культивировании дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (при отсутствии нарушений технологического режима) наличием ингибиторов, являющихся продуктами метаболизма клеток, можно пренебречь, так как основной из них – диоксид углерода постоянно выводится из культуральной среды потоком воздуха. Других продуктов метаболизма (альдегидов, фенолов и пр.) за

время периодического процесса культивирования образуется не столь много, чтобы они могли существенным образом влиять на скорость размножения клеток. То же можно сказать и в отношении количества мертвых клеток.

1.1.3. Модель фазовой гетерогенности

Детальный и интересный анализ уравнений экспоненциального вида сделан в работах А.А. Арзамасцева и А.Н. Андреева [4; 5]. Авторами отмечается, что основными достоинствами уравнений подобного типа являются их простота и малое количество коэффициентов, определяемых экспериментально. Однако эти модели не учитывают множество факторов, влияющих на скорость деления клеток. К таким факторам авторы относят: физико-химические условия культивирования (температура, рН, состав среды); физиологическое состояние клеток и т. п.

Ко всему сказанному можно добавить и влияние на развитие популяции массообменных и тепловых процессов между культуральной средой и субстратом и между средой и клеткой. Последние зависят от гидродинамической обстановки в культиваторе, которая, в свою очередь, определяется количеством энергии, вводимой в объем среды в единицу времени, что, в конечном итоге, определяет степень турбулизации жидкости. Источниками турбулентности могут быть вращающиеся мешалки, статические и пульсационные перемешивающие устройства, барботируемый воздух и т. п.

Отмечая разнообразие подходов к выбору кинетических моделей, авторы [4; 5] указывают на отсутствие единых взглядов на выбор базиса, на который необходимо опираться при построении и выборе моделей. Прежде чем говорить о создании единой основы построения кинетических моделей развития микроорганизмов, авторы считают необходимым ответить предварительно, по крайней мере, на пять вопросов:

1. Возможно ли применение уравнений «типа уравнения Моно» для расчета режимов культивирования различных микроорганизмов на разных субстратах при одинаковых или близких концентрациях?

2. Можно ли использовать имеющиеся модели при различных начальных концентрациях?

3. Можно ли на основе этих моделей рассчитать основные характеристики биореактора? Велика ли будет погрешность расчетов?

4. Как выбрать лучшую модель?

5. Как и с каких позиций должна разрабатываться математическая модель?

Для сравнительной оценки авторы выбрали семь различного вида уравнений, отнеся все их к «типу уравнения Моно». Оценка производилась на основе экспериментальных данных. К каким же выводам пришли авторы?

Ответ на первый вопрос авторы сформулировали следующим образом: все уравнения Моно, кроме моделей типа $\mu = \text{const}$ и $\mu = ks$, удовлетворительно описывают результаты экспериментов при постоянных значениях концентраций субстрата и биомассы и одинаковых начальных условиях примерно с одинаковой точностью.

На второй вопрос следует ответ: уравнения Моно с достаточно высокой степенью точности описывают результаты экспериментов при вполне определенных начальных концентрациях биомассы. Если же начальные концентрации субстрата и биомассы изменяются в широких пределах, то достичь соответствия между опытом и теорией невозможно.

Ответы на третий и четвертый вопросы можно объединить в один, сформулировав его следующим образом: математическая модель должна быть как можно проще и с наименьшим количеством определяемых экспериментально коэффициентов. Однако в то же время модель должна с достаточной степенью точности соответствовать опытным данным. Ответ, казалось бы, прост, но получение такой модели – одна из сложнейших проблем прикладной микробиологии. К сказанному можно добавить следующее: необходимо стремиться к тому, чтобы величины, входящие в уравнения математической модели, имели бы определенный физический смысл.

Что касается ответа на пятый вопрос, то он дается в виде рекомендаций по поиску новых моделей, которые позволили бы учесть «различные виды гетерогенности и фазовых сдвигов на популяционном уровне». Именно эти факторы, по мнению авторов, должны лечь в основу выбора базы при построении новых моделей культивирования.

Продолжая разговор о новых подходах к созданию кинетических моделей, те же авторы [4; 5] предложили новую математиче-

скую модель развития популяций микроорганизмов, основанную на фазовой гетерогенности развития клеток (МФГ). Суть модели состоит в том, что клетки в своем развитии проходят несколько циклов, количество которых зависит от вида популяции. По мнению авторов, медленно растущие прокариоты со временем генерации $\tau \geq 1 \cdot \text{ч}$ имеют три фазы клеточного цикла: B – период времени между делением клетки и репликацией ДНК; C – период времени репликации ДНК и D – период между репликацией ДНК и делением клетки. У быстро растущих клеток ($\tau \geq 1 \cdot \text{ч}$) период B отсутствует. Следовательно для описания кинетики деления медленно растущих клеток требуется три уравнения, для быстро растущих клеток – два.

Клеточный цикл эукариот, к которым относятся и дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, по мнению авторов, состоит из пяти фаз, поэтому и математическая модель должна содержать пять уравнений, в которые входят продолжительность каждого цикла и семь неизвестных параметров, требующих экспериментального определения:

$$\frac{dG_1}{d\tau} = 2k_{M_1} \min M(\tau) - k_{G_1} \min G_1(\tau) - (\bar{k}_{G_1} + k'_{G_1})G_1(\tau);$$

$$\frac{d\bar{S}}{d\tau} = k_{G_1} \min G_1(\tau) - k_s \min \bar{S}(\tau);$$

$$\frac{dG_2}{d\tau} = k_s \min \bar{S}(\tau) - k_{G_2} \min G_2(\tau);$$

$$\frac{dM}{d\tau} = k_{G_2} \min G_2(\tau) - k_M \min M(\tau);$$

$$\frac{dG_0}{d\tau} = k'_{G_1} G_1(\tau) - \bar{k}_{G_0}(\tau).$$

Таким образом, в соответствии с пятью фазами математическая модель развития клетки представляет собой систему из пяти уравнений, в которые входят семь экспериментально определяемых констант: $k_{M_1}, k_s, k_{G_1}, k_{G_2}, \bar{k}_{G_1}, k'_{G_1}, k_M$; $G_1, G_2, G_0, \bar{S}, M$ – концентрация клеток в соответствующей фазе.

Проверка авторами математической модели как путем собственных экспериментальных исследований по культивированию дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, штамм У-563, на глюкозе и мелассных растворах, так и на основании результатов исследований других авторов показала, что модель фазовой гетерогенности при описании стандартной S-образной кривой дает такую же погрешность, что и модели Моно и Ферхюльста.

Говоря о положительных сторонах новой модели, следует выразить и некоторые сомнения. Прежде всего, модель сложна хотя бы потому, что в ней необходимо найти семь неизвестных констант. Но дело даже не в их количестве, дело в сложности их нахождения, что связано с трудностью определения количества клеток, находящихся в той или иной фазе развития, и точной границы между фазами. Ошибка здесь может оказаться высокой. Вопрос о том, будут ли константы неизменными в случае изменения гидродинамических условий в аппарате, остается без ответа.

Несмотря на определенные неясности, нужно признать, что МФГ является важным шагом в развитии научных представлений о механизме размножения клеток микроорганизмов.

1.2. Математические модели степенного вида

Как уже отмечалось, уравнение экспоненциальной зависимости получено на основании предположения о том, что изменение биомассы во времени прямо пропорционально её концентрации в культуральной жидкости, откуда следует экспоненциальный закон развития клеток. Однако такая гипотеза не всегда соблюдается. Можно привести много примеров, когда развитие микроорганизмов в принципе невозможно описать экспоненциальной зависимостью, в частности развитие дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* при дефиците кислорода (принудительной подачи воздуха в культуральную среду нет, кислород проникает в жидкость за счёт молекулярной диффузии). Этот вариант встречается при сбраживании пивного сусла.

Другим примером является культивирование гриба *Medusomyces gisevi* в целях получения напитка, содержащего продукты его метаболизма. Масса гриба в процессе культивирования постоянно растёт, но концентрация продуктов метаболизма в напитке после достижения определённой величины остаётся постоянной. В дальнейшем мы бо-

лее подробно рассмотрим приведённые примеры, сейчас же отметим необходимость поисков новых математических моделей, которые позволят адекватно отразить закономерности протекания различных биологических процессов.

Учитывая вышесказанное, более правильным будет записать уравнение (1.2) в виде равенства

$$\Delta x = kx^m \Delta \tau. \quad (1.21)$$

Переходя к дифференциальной форме, запишем

$$\frac{dx}{d\tau} = kx^m. \quad (1.22)$$

Уравнение (1.22) определяет скорость изменения содержания биомассы в среде. Коэффициент k аналогичен удельной скорости μ в уравнении (1.4), а показатель степени m характеризует изменение скорости прироста биомассы во времени. При $m = 0$ скорость прироста будет постоянной. При $m = 1$ $k = \mu$, после интегрирования уравнения (1.22) мы получим в итоге уравнение экспоненты. Таким образом, уравнение (1.4) является частным случаем уравнения (1.22).

После интегрирования уравнения (1.22) в пределах от $x = x_i$ до $x = x_{i+1}$ и от $\tau = \tau_i$ до $\tau = \tau_{i+1}$ и приведения конечного выражения к безразмерному виду получим уравнение степенного вида m

$$x_{bi}^{1-m} = \frac{(1-m)k}{x_i^{1-m}} (\tau_{i+1} - \tau_i) + 1, \quad (1.23)$$

где $x_{bi} = x_{i+1}/x_i$ – локальное изменение биомассы в среде в промежутке времени $\Delta\tau_i = \tau_{i+1} - \tau_i$.

Обозначив в правой части равенства отношение параметров перед скобками через δ и проведя несложные преобразования, запишем

$$x_{bi} = (1 + \delta_i \Delta\tau)^{\frac{1}{1-m}}, \quad (1.24)$$

где δ_i характеризует локальное значение удельной скорости прироста биомассы.

При определении средних величин прироста биомассы от $x = x_n$ до произвольного значения x за период времени от $\tau = 0$ до τ уравнения (1.23) и (1.24) приводятся к виду

$$x_b = (1 + \delta\Delta\tau)^{\frac{1}{1-m}}. \quad (1.25)$$

Обозначив показатель степени в правой части равенства (1.25) через m_1 , запишем

$$x_b = (1 + \delta\tau)^{m_1}. \quad (1.26)$$

Коэффициент пропорциональности δ и показатель степени m (или m_1) находят экспериментально, так же как и удельную скорость μ в уравнении экспоненциального вида.

Здесь будет интересным проанализировать зависимость показателя степени в уравнении (1.25) от m . Ранее уже было сказано, что при $m = 1$ интегрирование уравнения (1.22) даёт экспоненциальную зависимость $x_b(\tau)$. При подстановке в уравнение (1.25) $m = 1$ в уравнении (1.26) получим $m_1 = \infty$, что лишено какого-либо смысла. Из представленной на рис. 1.3 графического вида функции $m_1(m)$ видно, что при $m = 1$ функция претерпевает разрыв. Именно в зоне разрыва имеет место экспоненциальная зависимость (1.6).

m_1

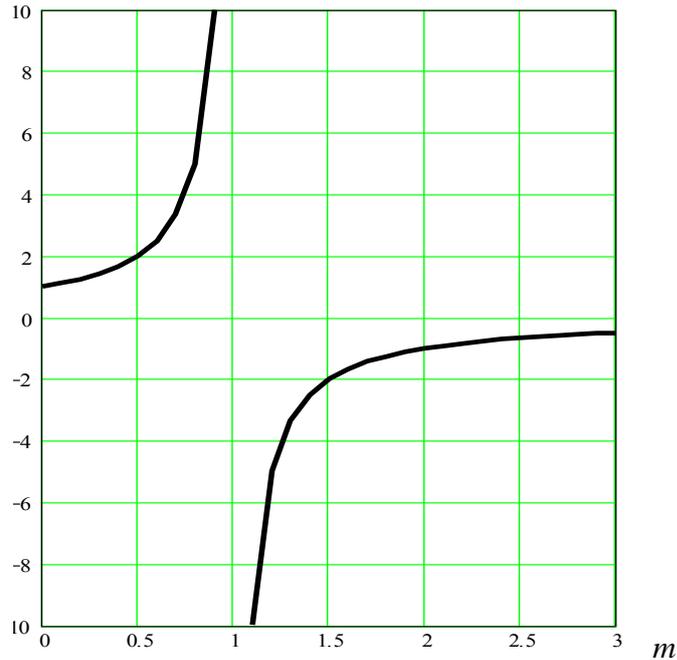


Рис. 1.3. Зависимость показателя степени m_1 от m

При $m < 1$ m_1 всегда будет больше нуля и мы будем иметь уравнение степенного вида (1.26). При $m_1 > 1$ $m_1 < 0$ и мы получим обратную степенную зависимость вида

$$S_b = \frac{1}{\delta_1 \tau^{m_2}}. \quad (1.27)$$

Уравнение несколько иного степенного вида, чем (1.26), можно получить, основываясь не на гипотезе (1.21), а чисто эмпирически.

В любой момент времени концентрацию биомассы в культуральной среде можно представить в виде суммы начальной величины x_n и прироста биомассы Δx , т. е. мы вправе записать

$$x = x_n + \Delta x, \quad (1.28)$$

где Δx – прирост биомассы в промежутке времени от $\tau = 0$ до $\tau = \tau_i$, в общем случае зависящий от времени. Эту зависимость можно представить в виде пропорциональности $\Delta x \approx \tau^n$.

С учётом пропорциональности уравнение (1.28) примет вид

$$x = x_n + k_1 \tau^n,$$

где k_1 – коэффициент пропорциональности.

Разделив обе части равенства на x_H , приведём его к безразмерному виду:

$$x_b = 1 + \frac{k_1}{x_H} \tau^n. \quad (1.29)$$

Обозначив отношение $k/x_H = \gamma^n$, из уравнения (1.29) получим

$$x_b = 1 + (\gamma\tau)^n, \quad (1.30)$$

где γ и n – параметры, определяемые экспериментально.

Различие между удельной скоростью $\bar{\mu}$ в экспоненциальном уравнении типа (1.6) и величиной γ в уравнении (1.30) в том, что $\bar{\mu}$ пропорциональна отношению текущей концентрации к начальному её значению, а γ – отношению их разности к начальному значению.

Таким образом, мы вместо уравнения экспоненты (1.6) и уравнения (1.26) получили степенную зависимость концентрации от времени (1.30). Преимущество уравнения (1.30) перед уравнением (1.26) заключается в том, что входящим в уравнение (1.30) параметрам проще придать вполне определённый физико-биологический смысл. Если в указанных уравнениях параметрам m_1 и n можно придать один и тот же смысл – темп изменения функции $x(\tau)$, т. е. изменение скорости протекания биологического процесса во времени, то с параметрами δ и γ дело обстоит сложнее.

Можно сказать, что δ и γ представляют собой удельную скорость прироста биомассы относительно начальной концентрации в промежутке времени от $\tau = 0$ до $\tau = \tau_i$. Однако, в отличие от δ , из уравнения (1.30) можно легко доказать, что величина $1/\gamma$ есть время удвоения функции $x(\tau)$ при изменении её аргумента от $\tau = 0$ до $\tau = \tau_u$. Для доказательства заменим в уравнении (1.30) x_b на 2, запишем

$$2 = 1 + (\gamma\tau_u)^n,$$

откуда следует, что $1/\gamma = \tau_u$, т. е. обратная величина γ – это время удвоения биомассы τ_u .

Время удвоения биомассы играет важную роль в прогнозировании процесса культивирования некоторых микроорганизмов. Так, при производстве пекарских дрожжей время удвоения биомассы остаётся постоянным в достаточно длительный промежуток времени в процессе культивирования. Поэтому, получив на основе опытных данных уравнение для расчёта γ , можно будет определить τ_u . Зная время удвоения, легко рассчитать при заданной начальной концентрации биомассы время достижения необходимой конечной концентрации. Учитывая указанные обстоятельства, в дальнейшем будем чаще обращаться к уравнению (1.30), так как определение времени удвоения концентрации целевого компонента из уравнения (1.26) является более сложной задачей.

В целях более наглядной сравнительной оценки возможностей использования рассмотренных математических моделей для описания кинетики развития биологических процессов представим некоторые из них в графическом виде (рис. 1.4).

В качестве примера на рис. 1.4 показаны опытные данные по культивированию дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, взятые из табл. 2.1 (см. пазд. 2) ($S_n = 0,115$ и $x_n = 3,7$ кг/м³).

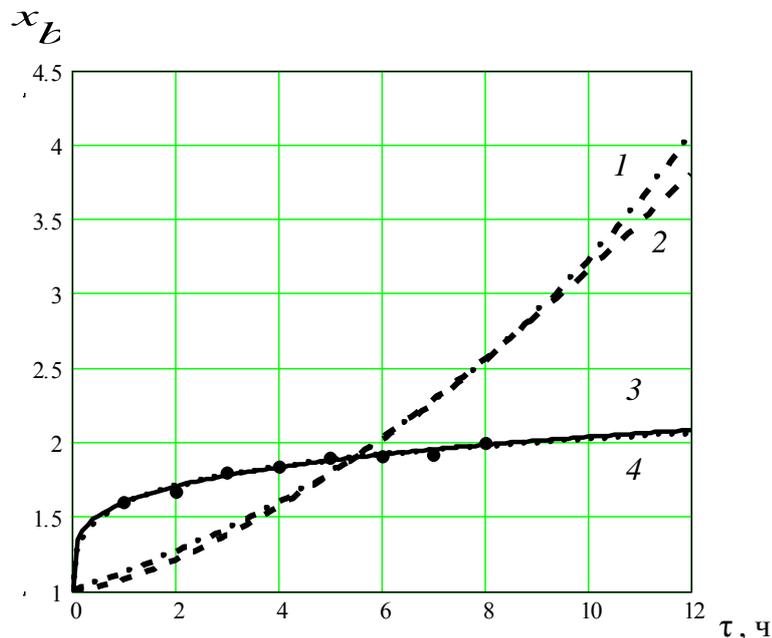


Рис. 1.4. Графическое сравнение различных математических моделей:
 1 – уравнение (1.6a), $\mu = 0,117$; 2 – уравнение (1.26), $\delta = 0,17$; $m_1 = 1,45$;
 3 – уравнение (1.30), $\gamma = 0,115$; $n = 0,24$;
 4 – уравнение (1.26), $\delta = 0,70$; $m_1 = 0,107$

Из рисунка видно, что, во-первых, результаты данных опытов нельзя аппроксимировать простой экспоненциальной зависимостью (1.6a). Для этой цели очень хорошо подходят уравнения (1.26) и (1.30). Оба они с одинаковой степенью точности описывают результаты экспериментов. Во-вторых, уравнение (1.6a) можно заменить уравнением (1.26) или (1.30) в широком диапазоне изменения времени культивирования при значениях m_1 и n выше единицы.

Говоря о преимуществах степенных моделей над экспоненциальной моделью, следует отметить и их недостаток. Им присущ тот же недостаток, что и уравнению (1.6a): при $\tau \rightarrow \infty$ $x_b \rightarrow \infty$, чего в действительности быть не может, т. е. их применение должно быть ограничено каким-то предельным значением времени культивирования. Это время определяется видом микроорганизмов, культивируемых в промышленных условиях, методами культивирования, наличием факторов, лимитирующих процесс развития клеток и т. п. На эти ограничения мы обратим внимание при изучении в дальнейшем различных биологических процессов.

1.3. Рекомендации по выбору математических моделей

Мы ограничились пока лишь простейшими математическими моделями, которые могут описать далеко не все биологические процессы. Многие кинетические закономерности биологических процессов можно описать только уравнениями более сложного вида. Например, при сбраживании пивного сусла важно учесть количество клеток дрожжей, находящихся во взвешенном состоянии. От этого во многом зависит скорость сбраживания сусла. Количество взвешенных клеток меняется в объёме сусла во времени. В начале процесса брожения происходят прирост биомассы дрожжей и образование продуктов их метаболизма (например, диацетила) [6]. Достигнув максимального значения, их концентрации начинают снижаться. Позднее мы покажем, что описать кинетику протекания таких процессов можно уравнением сложного экспоненциального вида, называемым моделью «Gaussian»:

$$x = ae^p, \quad (1.31)$$

где $p = (b - \tau)^2/2c^2$.

В безразмерном виде уравнение (1.31) будет иметь вид

$$x_b = \frac{x}{a} = e^p. \quad (1.31a)$$

В последующих разделах при описании кинетики биологических процессов мы познакомимся с другими уравнениями математических моделей. Названия моделей в большинстве случаев заимствованы из программы CurveExpert.

Наличие уравнений, описывающих изменение концентрации целевого компонента в культуральной среде, недостаточно для анализа биологических процессов, протекающих в культуральной среде и клетке. Чтобы более глубоко разобраться в сути дела, требуется еще знание скорости протекания процесса. Для этого необходимо взять производную по времени от функции $x(\tau)$.

Производная от функции (1.30) будет иметь вид

$$x'_b = \frac{dx_b}{d\tau} = \gamma^n n \tau^{n-1}. \quad (1.32)$$

Из уравнения (1.32) следует, что скорость протекания процесса будет меняться во времени. Характер изменения будет зависеть от величины n . При $n > 1$ скорость будет возрастать, а при $n < 1$ – падать.

Подводя итог знакомству с некоторыми математическими моделями, необходимо решить, каким же моделям следует отдавать предпочтение при обработке опытных данных. Дело в том, что одни и те же опытные данные можно описать несколькими уравнениями. Поэтому при выборе уравнений целесообразно руководствоваться следующими рекомендациями:

- математическая модель должна быть, с одной стороны, простой, а с другой – отражать реальный ход исследуемого процесса и с определённой степенью точности соответствовать результатам эксперимента;

- нужно стремиться к тому, чтобы дать всем параметрам и величинам, входящим в уравнения математической модели, определённое физическое или физико-биологическое толкование, позволяющее более глубоко проникнуть в суть происходящих процессов в культуральной среде и клетке;

- нужно стремиться к тому, чтобы математическая модель позволяла предсказывать течение биологического процесса за пределами границ эксперимента.

Для выяснения возможности использования рекомендаций на практике рассмотрим некоторые примеры обработки опытных данных, полученных при исследовании различных микробиологических процессов в целях получения их математических моделей.

2. ПРИМЕРЫ ПОИСКА МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ, ПРОТЕКАЮЩИХ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

В данном разделе будут рассмотрены различные варианты обработки опытных данных, полученных при исследовании периодического аэробного культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и гриба *Medusomyces gisevi*, и поиска математических моделей, описывающих течение их развития при следующих условиях:

– без принудительной подачи воздуха в культуральную среду, когда кислород, необходимый для дыхания микроорганизмов, поступает в жидкость через её свободную поверхность только за счет молекулярной диффузии;

– в условиях принудительной подачи различного количества воздуха в культиватор, когда на скорости растворения кислорода в культуральной жидкости сказывается гидродинамика движения двухфазной среды в аппарате.

2.1. Аэробное периодическое культивирование дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* без принудительной подачи воздуха

Предметом исследований являлись дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* штамма Л-12. Опыты проведены на мелассных растворах с кратностью разбавления $K_{pm} = 4; 8$ и 12 , что соответствует начальному содержанию сахара в культуральной среде в массовых долях $S_{н1} = 0,115$; $S_{н2} = 0,0575$ и $S_{н3} = 0,0383$. Для каждого начального значения субстрата были предусмотрены шесть значений начального засева дрожжей.

Цель исследований – установление зависимости скорости прироста биомассы и потребления субстрата от величины начального засева дрожжей при различных начальных значениях сахара в питательной среде.

Культивирование проводили в течение 8 ч. Через каждый час отбирали пробы на предмет определения концентрации дрожжей x (кг/м³) 75 %-й влажности и концентрации сахаров S (кг/кг). Результаты измерений вносили в таблицы. За начальное время отсчёта брали время $t_1 = 0$. Этому времени соответствовали начальные значения концентрации дрожжей x_n и субстрата S_n .

В дальнейшем вся обработка опытных данных проводится в системе MathCad. В качестве примера в табл. 2.1 в размерном виде представлен массив опытных значений концентрации дрожжей в различные моменты времени t при $K_{pm} = 4$ ($S_{н1} = 0,115$). Время t , так же как и концентрация дрожжей, задано в матричной форме с шагом $\Delta t = 1$ ч. Первая строка табл. 2.1 соответствует начальным значениям концентрации дрожжей в культуральной среде.

Таблица 2.1

Изменение концентрации дрожжей в процессе культивирования с начальным содержанием сахара $S_{н} = 0,115$ кг/кг

$x_{403_1} := 3.7$	$x_{41_1} := 10$	$x_{418_1} := 18.9$	$x_{430_1} := 30$	$x_{443_1} := 43.6$	$x_{45_1} := 50$
$x_{403_2} := 5.894$	$x_{41_2} := 14.03$	$x_{418_2} := 24.627$	$x_{430_2} := 36.69$	$x_{443_2} := 50.27$	$x_{45_2} := 54.15$
$x_{403_3} := 6.149$	$x_{41_3} := 14.921$	$x_{418_3} := 26.309$	$x_{430_3} := 38.76$	$x_{443_3} := 51.97$	$x_{45_3} := 56.61$
$x_{403_4} := 6.619$	$x_{41_4} := 16.09$	$x_{418_4} := 28.425$	$x_{430_4} := 41.21$	$x_{443_4} := 54.67$	$x_{45_4} := 58.45$
$x_{403_5} := 6.775$	$x_{41_5} := 16.81$	$x_{418_5} := 29.919$	$x_{430_5} := 42.992$	$x_{443_5} := 57.247$	$x_{45_5} := 60.65$
$x_{403_6} := 7$	$x_{41_6} := 17.43$	$x_{418_6} := 31.419$	$x_{430_6} := 45.363$	$x_{443_6} := 59.38$	$x_{45_6} := 62.62$
$x_{403_7} := 7.045$	$x_{41_7} := 18.04$	$x_{418_7} := 31.58$	$x_{430_7} := 48.12$	$x_{443_7} := 61.21$	$x_{45_7} := 63.85$
$x_{403_8} := 7.067$	$x_{41_8} := 18.55$	$x_{418_8} := 33.925$	$x_{430_8} := 49.65$	$x_{443_8} := 63.87$	$x_{45_8} := 65.25$
$x_{403_9} := 7.367$	$x_{41_9} := 19.21$	$x_{418_9} := 34.417$	$x_{430_9} := 50.73$	$x_{443_9} := 65.0$	$x_{45_9} := 66.05$
$t_1 := 0$	$t_2 := 1$	$t_3 := 2$	$t_4 := 3$	$t_5 := 4$	$t_6 := 5$
$t_7 := 6$	$t_8 := 7$	$t_9 := 8$			

Расположение опытных величин в матрице по сериям может быть вертикальным, как это показано в таблицах, и горизонтальным (так расположено в матрице время отбора проб t).

Очень часто в литературе приводятся результаты исследований в различных единицах измерений, что затрудняет их сравнение между собой. Перевод одних единиц в другие, например английских в систему СИ, без наличия соответствующей справочной литературы требует немалых затрат времени и часто приводит к простым арифметическим ошибкам. Для того чтобы облегчить сравнение приведённых в литературе результатов исследований между собой, мы рекомендуем вести обработку опытных данных в относительных величинах. В качестве примера в табл. 2.2 показано правило перехода от размерных значений концентрации дрожжей к безразмерным.

Безразмерные значения концентрации дрожжей и субстрата сведены в табл. 2.3 и 2.4. Эти же данные в графическом виде представлены на рис. 2.1.

Таблица 2.2

Программа перевода размерных величин в безразмерные

$$\begin{array}{l}
 \text{xb403}_{n9} := \frac{x403_{n9}}{x403_1} \qquad \text{xb410}_{n9} := \frac{x41_{n9}}{x41_1} \qquad \text{xb418}_{n9} := \frac{x418_{n9}}{x418_1} \\
 \text{xb443}_{n9} := \frac{x443_{n9}}{x443_1} \qquad \text{xb450}_{n9} := \frac{x45_{n9}}{x45_1} \qquad \text{xb430}_{n9} := \frac{x430_{n9}}{x430_1}
 \end{array}$$

Таблица 2.3

Безразмерные значения концентрации биомассы

$\text{xb403}_{n9} =$	$\text{xb410}_{n9} =$	$\text{xb418}_{n9} =$	$\text{xb430}_{n9} =$	$\text{xb443}_{n9} =$	$\text{xb450}_{n9} =$
1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
1.593	1.403	1.303	1.223	1.153	1.083
1.662	1.492	1.392	1.292	1.192	1.132
1.789	1.609	1.504	1.374	1.254	1.169
1.831	1.681	1.583	1.433	1.313	1.213
1.892	1.743	1.662	1.512	1.362	1.252
1.904	1.804	1.671	1.604	1.404	1.277
1.910	1.855	1.795	1.655	1.465	1.305
1.991	1.921	1.821	1.691	1.491	1.321

Правила ввода опытных данных в матричной форме, построения графиков и прочие операции, выполняемые в системе MathCad, приводятся в приложении.

Способы ввода опытных величин в компьютерную программу могут быть различными и выбираются самим исследователем. Перед составлением матрицы каждой величине присваивают своё обозначение в виде букв, чисел или их сочетания и матричный номер, соответствующий номеру опыта или номеру отбираемой пробы.

В табл. 2.1–2.4 и на графиках буква x_n обозначает размерное значение концентрации, xb_n – безразмерное, t_n – время в размерных величинах. Количество матричных номеров в каждой серии опытов задаётся в виде равенства $n9 = 1, 2, \dots, 9$. Цифра 9 после n обозначает

количество опытов в каждой серии эксперимента. Числа, стоящие после букв, расшифровываются следующим образом: первая (4) – кратность разбавления мелассы, две вторые – начальный засев дрожжей. Такие же таблицы составляют для результатов опытов при кратности разбавления 8 и 12.

Таблица 2.4

Безразмерные значения концентрации субстрата

sb403 _{n8} =	sb410 _{n8} =	sb418 _{n8} =	sb418 _{n8} =	sb430 _{n8} =	sb443 _{n8} =	sb450 _{n8} =
1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
0.994	0.990	0.974	0.974	0.965	0.952	0.913
0.985	0.975	0.957	0.957	0.941	0.907	0.879
0.955	0.933	0.870	0.870	0.851	0.802	0.785
0.930	0.914	0.800	0.800	0.800	0.739	0.696
0.913	0.870	0.770	0.770	0.733	0.702	0.671
0.870	0.835	0.722	0.722	0.683	0.610	0.600
0.854	0.837	0.687	0.687	0.632	0.575	0.552

Аналогичным образом осуществляют обработку опытных данных по потреблению клетками субстрата в процессе культивирования.

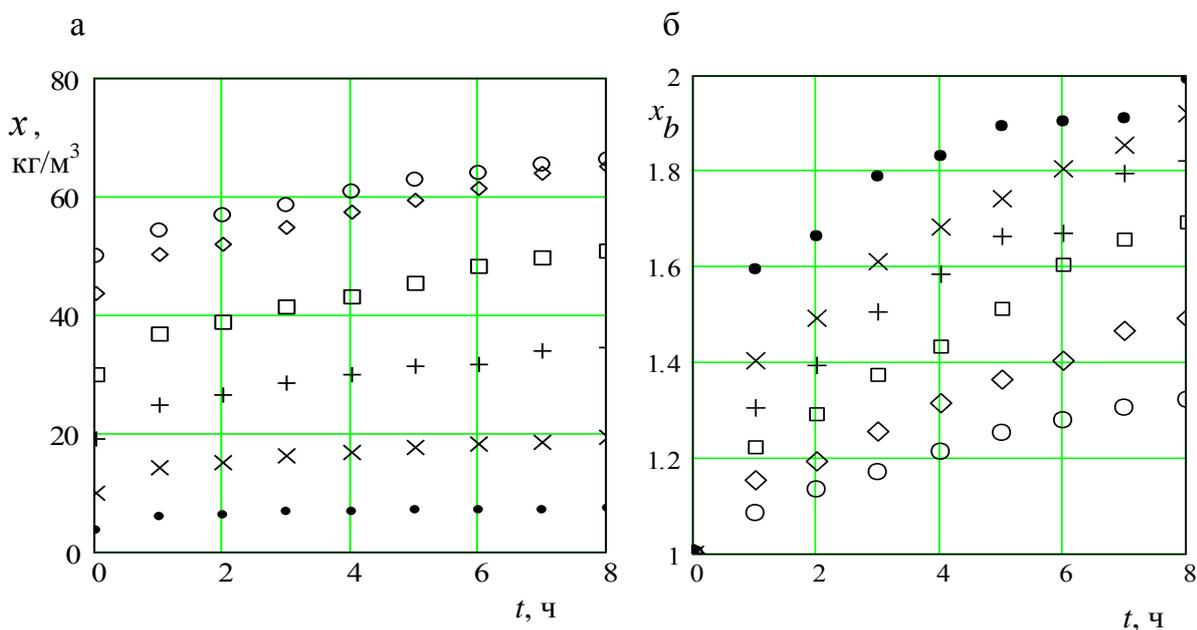


Рис. 2.1. Изменение биомассы дрожжей 75 %-й влажности во времени при начальной концентрации субстрата $S_H = 0,115$ и начальных концентрациях засевных дрожжей:

- а – размерное значение концентрации дрожжей x ;
- б – безразмерное значение xb
- – $x_H = 3,7$; × – 10; + – 18,9; □ – 30; ◇ – 43,6; ○ – 50 кг/м³

Уравнения математических моделей для описания кинетики протекания биологических процессов будут составлены в безразмерном виде. В конечном итоге при переводе безразмерных величин в размерные текущие значения концентрации биомассы и субстрата будут зависеть от выбора размерности их начальных значений.

2.1.1. Поиск математической модели кинетики прироста биомассы

Аналогичный пересчёт производят и для субстрата. Опытные данные по изменению концентрации субстрата во времени в безразмерном виде представлены в табл. 2.4.

Обозначения, представленные в таблицах и далее, не являются обязательными. Исследователь вправе сам выбирать их. Строго говоря, время тоже следует выразить в безразмерном виде как отношение $\bar{t} = t / \Delta t$ при условии $\Delta t = 1$. Однако так как $t = \bar{t}$, то замена размерного времени на безразмерное будет носить чисто формальный характер. Поэтому в дальнейшем при обработке опытных данных акцентировать внимание на этом мы не будем и ограничимся обозначением t .

Задача, стоящая перед нами, будет заключаться в следующем: на основе опытных данных получить систему уравнений, описывающих кинетику изменения биомассы и субстрата в культуральной среде при культивировании дрожжей при различных значениях их концентрации в засевной культуре (в дальнейшем – просто «начальный засев») и различных начальных значениях концентрации субстрата. Иначе говоря, надо найти явный вид функции $x_b(\tau, x_n, S_n)$ в виде системы уравнений. В принципе функцию можно выразить и одним уравнением, но оно получится громоздким и неудобным в пользовании.

Из анализа опытных данных (см. рис. 2.1) можно заключить, что описать их экспоненциальной зависимостью (1.4) невозможно. Поэтому воспользуемся степенными моделями (1.26) или (1.30). Остановимся на модели (1.30) по причине, объяснённой ранее.

В уравнении (1.30) необходимо найти значения γ и n для каждого опыта всех серий экспериментальных исследований. Для этой цели воспользуемся приведённой ниже программой системы MathCad. В качестве примера возьмём вариант с кратностью разбавления мелассы, равной 8 ($S_n = 0,0575$).

Для того чтобы начать поиск численных значений γ и n в уравнении (1.30), необходимо произвольно задать их начальные значения. В программе они приравнены к единице, в принципе это могут быть любые другие числа:

$$\begin{aligned} & \gamma := 1 \quad n := 1 \\ & \text{Given} \\ & 0 = \sum_{n9=1}^9 \left[\frac{1 + |\gamma \cdot t_{n9}|^n - \text{xb803}_{n9}}{\text{xb803}_{n9}} \right]^2 \\ & \begin{pmatrix} \gamma \\ n \end{pmatrix} := \text{MinErr}(\gamma, n) \quad \gamma = 0.100 \quad n = 0.240 \end{aligned}$$

Таким образом, мы определили γ и n при $S_n = 0,0575$ и начальном засеве дрожжей $x_n = x_1 = 3,7 \text{ кг/м}^3$. Те же операции необходимо проделать со всеми другими опытными данными. Все результаты обработки опытных данных сведены в табл. 2.5.

Таблица 2.5

Опытные значения γ и n в уравнении (1.30)

$S_n = 0.115$	$S_n = 0.0575$	$S_n = 0.0383$
$\gamma_{41} := 0.113$	$\gamma_{81} := 0.104$	$\gamma_{121} := 0.096$
$\gamma_{42} := 0.099$	$\gamma_{82} := 0.096$	$\gamma_{122} := 0.08$
$\gamma_{43} := 0.084$	$\gamma_{83} := 0.079$	$\gamma_{123} := 0.067$
$\gamma_{44} := 0.068$	$\gamma_{84} := 0.059$	$\gamma_{124} := 0.051$
$\gamma_{45} := 0.041$	$\gamma_{85} := 0.035$	$\gamma_{125} := 0.033$
$\gamma_{46} := 0.023$	$\gamma_{86} := 0.01$	$\gamma_{126} := 0.0085$
$n_{41} := 0.246$	$n_{81} := 0.24$	$n_{121} := 0.389$
$n_{42} := 0.411$	$n_{82} := 0.586$	$n_{122} := 0.846$
$n_{43} := 0.5$	$n_{83} := 0.629$	$n_{123} := 0.861$
$n_{44} := 0.603$	$n_{84} := 0.739$	$n_{124} := 0.939$
$n_{45} := 0.633$	$n_{85} := 0.84$	$n_{125} := 1.007$
$n_6 := 0.653$	$n_{86} := 0.99$	$n_{126} := 1.03$

В графическом виде, для примера, функциональная зависимость $xb(\tau)$ (1.30) при $S_n = 0,115$ и различных значениях представлена на рис. 2.2.

Для примера, уравнение (1.30) при $x_n = x_1 = 3,7 \text{ кг/м}^3$ будет иметь вид

$$xb_{403}(\tau) = 1 + (0,113\tau)^{0,246}.$$

Время удвоения биомассы ($xb = 2$) $\tau_u = 1/\gamma_4$ для данного конкретного случая равно 8,85 ч, что видно и на графике рис. 2.2.

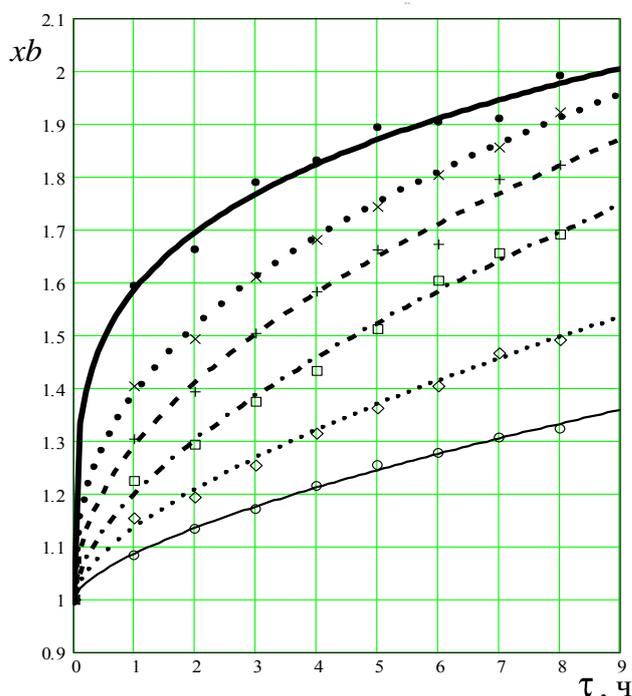


Рис. 2.2. Изменение концентрации биомассы в процессе культивирования, $S_n = 0,115$

Обозначения опытных величин xb такие же, как и на рис. 2.1

Линии соответствуют уравнению (1.30), значения γ_4 и n_4 взяты из табл. 2.5:

— $x_n = 3,7$; ●●● $x_n = 10$; — — $x_n = 18,9$; —●— $x_n = 30$; ... $x_n = 43$; — $x_n = 50 \text{ кг/м}^3$

Из табл. 2.5 и рис. 2.2 следует, что γ и n зависят как от начального засева, так и от начальной концентрации сахаров в культуральной среде. Для того чтобы получить полную математическую модель, отражающую зависимость прироста биомассы от времени с учётом влияния начальных значений концентрации субстрата и засеваемых дрожжей, необходимо установить функциональную связь γ и n с S_n и x_n .

В отличие от предыдущего случая, когда явный вид функции $x_b(\tau)$ был известен заранее (мы выбрали уравнение (1.30)), сейчас нам явный вид функций $\gamma(x_H, S_H)$ и $n(x_H, S_H)$ не известен и его требуется предварительно установить. Для этой цели проще воспользоваться программой CurveExpert. Из нескольких уравнений, которые предложит программа, желательно выбрать наиболее простое, но реально отражающее ход биологического процесса и наиболее точно соответствующее опытным данным.

В результате обработки опытных данных, приведенных в табл. 2.5, были получены уравнения для расчёта γ и n следующего вида:

$$\gamma(x_H) = a - b x_H; \quad (2.1)$$

$$n(x) = \frac{a_1 x_H}{b_1 + x_H}. \quad (2.2)$$

В равенствах (2.1) и (2.2) коэффициенты a , a_1 , b зависят от начальной концентрации субстрата. В данном случае для выбора явного вида функций $a(S_H)$, $a_1(S_H)$ и $b(S_H)$ следует обратиться к программе CurveExpert. В результате были выбраны следующие зависимости указанных коэффициентов от S_H :

$$a = 0,103 \quad 0,983_H^{1/5} S_H^{-0,14}; \quad (2.3)$$

$$a_1 = \frac{0,3}{S_H^{0,428}}; \quad (2.4)$$

$$b = 0,00186; \quad (2.5)$$

$$b_1 = 8.$$

Для наглядности уравнения (2.1) и (2.2) представлены в графическом виде на рис. 2.3.

Рис. 2.3 дает наглядное представление о соответствии опытных данных расчётным. Согласно рис. 2.3, а, опытные значения γ доста-

точно точно укладываются около линий, построенных по значениям γ , вычисленным по уравнениям (2.1), (2.3) и (2.5). Уравнение (2.2) менее точно соответствует опытным данным. Две точки выпали из общей закономерности. Скорее всего, это связано с ошибками в эксперименте, чем с какими-то особенностями течения биологических процессов. Если исследователь уверен в таком предположении, то указанные опытные точки можно убрать и в дальнейших поисках математической модели не использовать.

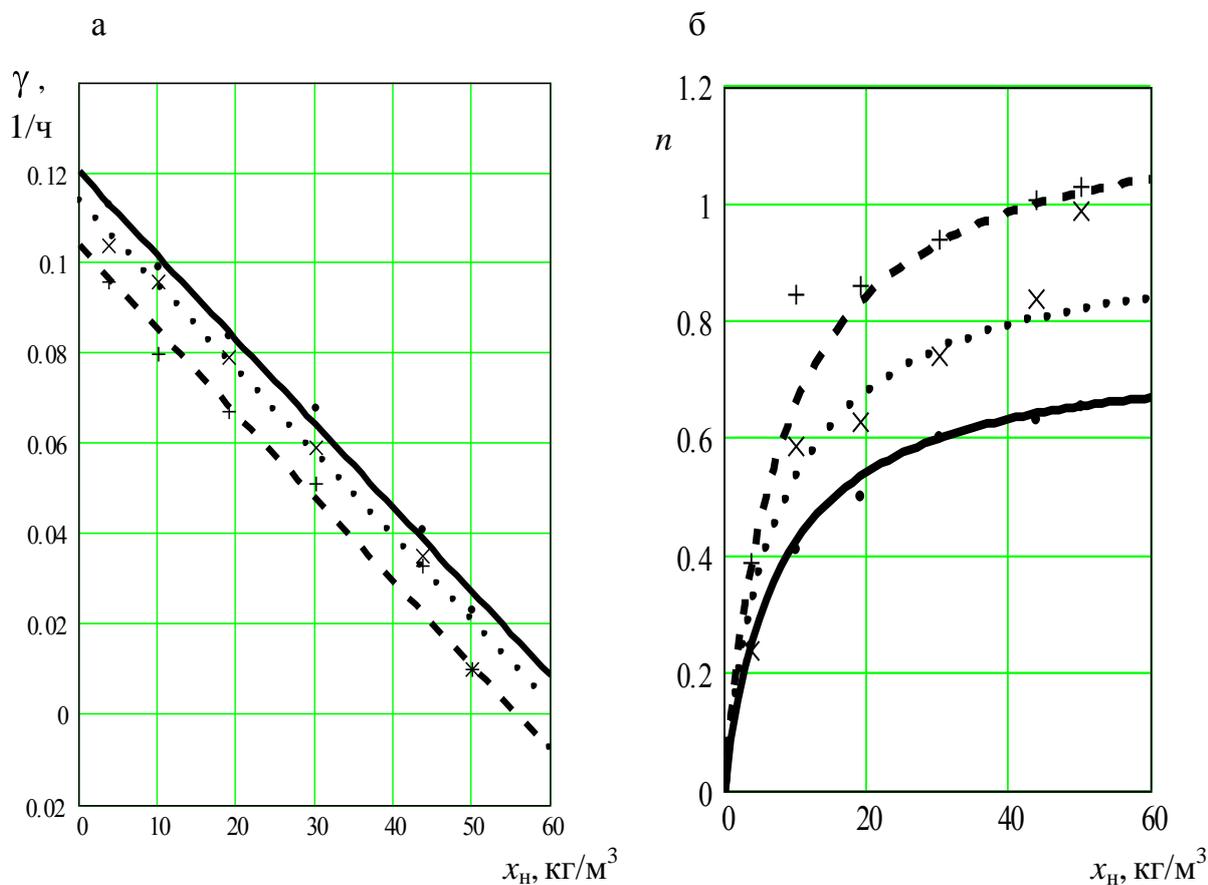


Рис. 2.3. Зависимость удельной скорости γ (а) и показателя степени n (б) от величины начального засева. Значками обозначены опытные величины
 Линии соответствуют уравнениям (2.1) и (2.2):
 — $S_n = 0,115$; ●●● $S_n = 0,0575$; — — $S_n = 0,0383$ кг/кг

Если исследователь считает, что исключение отмеченных опытов из дальнейшего анализа недопустимо, то следует искать более сложные уравнения, более точно отражающие ход биологического

процесса, и привести аргументированные доводы в пользу своих рассуждений. Здесь многое зависит от опыта и интуиции исследователя.

В конечном итоге нас интересует, будет ли математическая модель прироста биомассы, состоящая из уравнений (1.30), (2.1)–(2.5), достаточно точно соответствовать опытным данным; можно ли её использовать для прогнозирования течения процесса прироста биомассы и в технологических расчётах.

На рис. 2.4 в графическом виде представлено сравнение опытных и вычисленных по уравнениям (1.30) и (2.1)–(2.5) значений концентрации биомассы x_b при $S_H = 0,115$ и $S_H = 0,0575$.

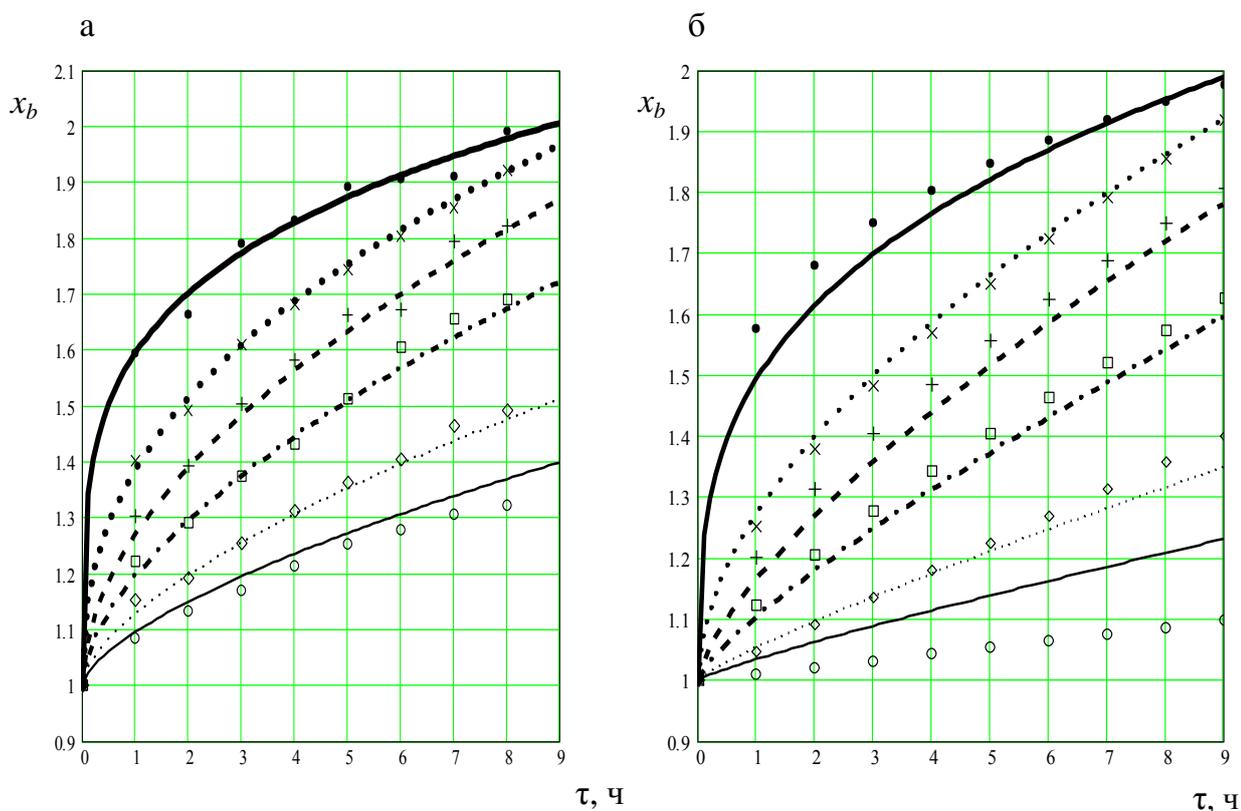


Рис. 2.4. Сравнение опытных данных с рассчитанными по уравнениям (1.30), (2.1)–(2.5):
 а – $S_H = 0,115$; б – $S_H = 0,0575$
 Обозначения – см. рис. 2.1

На рис. 2.4, а некоторое регулярное отклонение опытных данных от расчётных наблюдается при $x_H = 50 \text{ кг/м}^3$. Это связано с наложением ошибок, возникших при вычислении γ и n . Однако эти отклонения не превышают 3–5 %, что в опытах по культивированию микроорганизмов вполне допустимо.

Значительно большие отклонения (11–15 %) результатов эксперимента от данных, рассчитанных по уравнениям математической модели, наблюдались при концентрации сахара в культуральной среде $S_n = 0,0575$. Сравнения представлены на рис. 2.4, б. При $S_n = 0,0383$ в отдельных случаях ошибки достигают ещё более высоких значений (30 %). Наибольшие отклонения наблюдались, так же как и в предыдущем случае, при начальном засеве $x_n = 50 \text{ кг/м}^3$; связано это в основном с неточностью в вычислениях величины n (см. рис. 2.3, б).

Хотя ошибка в вычислениях выходит за пределы ошибки эксперимента (при культивировании она достигает 15–20 %), мы всё же сочли необходимым привести полученные данные как пример, показывающий источник ошибки и необходимость проведения повторных экспериментов при высоких начальных засевах. При x_n меньших 50 кг/м^3 результаты можно считать удовлетворительными.

После получения системы уравнений, описывающих кинетику прироста биомассы, следует провести их анализ на предмет возможности применения за пределами границ эксперимента.

2.1.2. Поиск математической модели кинетики потребления субстрата

Мы рассмотрели влияние начальной концентрации сахара в культуральной среде на скорость прироста биомассы. Во время культивирования субстрат постоянно потребляется, концентрация сахара будет постоянно падать. Изменение концентрации каким-то образом будет сказываться на ходе процесса культивирования в целом. Чтобы ответить на вопрос, как оно будет сказываться, необходимо прежде установить закономерность потребления клетками сахара в процессе культивирования, используя для этого данные табл. 2.4.

На рис. 2.5 представлены опытные данные (они обозначены знаками) при двух начальных значениях концентрации субстрата $S_n = 0,115$ и $S_n = 0,0575$. При $S_n = 0,0383$ характер изменения содержания сахаров в среде во времени такой же. Из рисунка видно, что по мере развития популяции клеток количество субстрата в культуральной среде снижается. Причём крутизна наклона кривых зависит как от начального засева дрожжей, так и от начального содержания субстрата в культуральной среде. Поэтому можно предположить, что опытные

данные будут описываться уравнением степенного вида, обратного уравнению (1.30), т. е.

$$S_b = \frac{1}{1+(\gamma s \tau)^{ns}}. \quad (2.6)$$

В уравнении (2.6) величина $1/\gamma s$ имеет вполне определённый биологический смысл. Это время снижения концентрации субстрата в два раза.

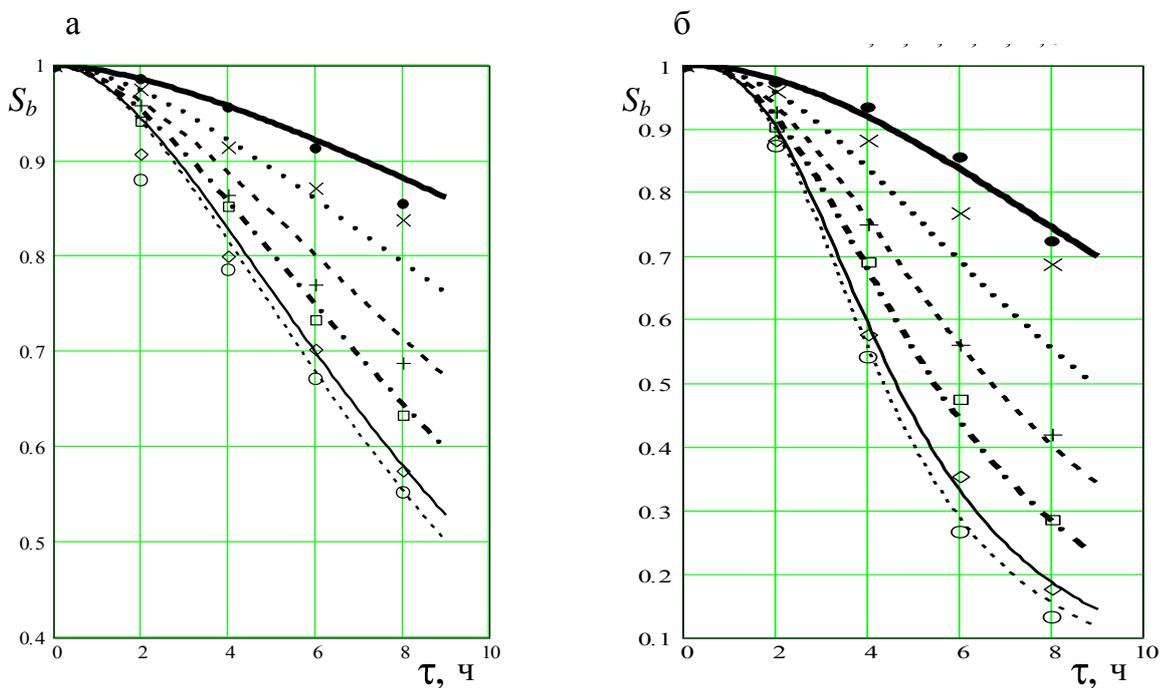


Рис. 2.5. Изменение содержания субстрата в культуральной среде и различных начальных засевах:

а – $S_n = 0,115$; б – $S_n = 0,0575$

Линии соответствуют уравнениям (1.30) и (2.7)–(2.11)

Обозначения – см. рис. 2.1

Поиск численных значений γs и ns ведётся с помощью программы П-1. Для этого в программу вместо степенной зависимости (1.30) необходимо ввести уравнение (2.6). Результаты поиска сведены в табл. 2.6.

Опытные значения γs и ns в уравнении (2.6)

S_H	0,115	0,0575	0,0383	S_H	0,115	0,0575	0,0383				
$\gamma s_{41} :=$	0.049	$\gamma s_{81} :=$	0.085	$\gamma s_{12_1} :=$	0.108	$ns_{41} :=$	1.88	$ns_{81} :=$	2.527	$ns_{12_1} :=$	2.789
$\gamma s_{42} :=$	0.033	$\gamma s_{82} :=$	0.079	$\gamma s_{12_2} :=$	0.118	$ns_{42} :=$	1.201	$ns_{82} :=$	1.682	$ns_{12_2} :=$	2.104
$\gamma s_{43} :=$	0.076	$\gamma s_{83} :=$	0.147	$\gamma s_{12_3} :=$	0.342	$ns_{43} :=$	1.566	$ns_{83} :=$	2.039	$ns_{12_3} :=$	2.468
$\gamma s_{44} :=$	0.091	$\gamma s_{84} :=$	0.179	$\gamma s_{12_4} :=$	0.430	$ns_{44} :=$	1.678	$ns_{84} :=$	2.503	$ns_{12_4} :=$	5.007
$\gamma s_{45} :=$	0.101	$\gamma s_{85} :=$	0.217	$\gamma s_{12_5} :=$	0.467	$ns_{45} :=$	1.538	$ns_{85} :=$	2.722	$ns_{12_5} :=$	6.02
$\gamma s_{46} :=$	0.106	$\gamma s_{86} :=$	0.237	$\gamma s_{12_6} :=$	0.489	$ns_{46} :=$	1.438	$ns_{86} :=$	2.94	$ns_{12_6} :=$	4.38

Анализируя табл. 2.6, следует обратить внимание на следующее:

– во-первых, удельная скорость потребления субстрата γs снижается с увеличением его начального содержания и возрастает с увеличением начального засева (несколько выпадает из правила серия опытов с матричным номером 2, скорее всего, это связано с какой-то постоянной погрешностью, которая была внесена в процессе эксперимента);

– во-вторых, показатель степень ns снижается с увеличением начального содержания субстрата, однако строгой зависимости показателя степени ns от x_H обнаружено не было.

В результате обработки экспериментальных данных были подобраны эмпирические уравнения, позволившие установить функциональную зависимость γs и ns от начального засева и начальной концентрации субстрата, следующего вида:

$$\gamma s = a_2 x_H^{0,445}; \quad (2.7)$$

$$ns = a_3 + b_2 x_H; \quad (2.8)$$

$$a_2 = 0,0612 - 0,363 S_H; \quad (2.9)$$

$$a_3 = \frac{1,506}{1 - 1,411 e^{-33,87 S_H}}; \quad (2.10)$$

$$b_2 = \frac{8,033 \cdot 10^{-6}}{S_n^{2,75}}. \quad (2.11)$$

Система уравнений (2.6)–(2.11) представляет собой математическую модель потребления субстрата дрожжами при их аэробном культивировании без принудительной подачи воздуха в культиватор.

Данные, представленные на рис. 2.5, наглядно демонстрируют удовлетворительную сходимость опытных значений концентрации субстрата и вычисленных с помощью математической модели.

2.1.3. Скорости протекания биологических процессов

При исследовании культивирования микроорганизмов нас интересует в конечном итоге не столько кинетика биологических процессов, протекающих в клетке и окружающей её культуральной среде (вне всякого сомнения, это очень важно, так как кинетика является основой всех дальнейших исследований), сколько поиск уравнений математических моделей скоростей протекания исследуемых нами процессов. Скорости рассчитывают взятием производных функций (1.30) и (2.6), $xb'(\tau)$ и $Sb'(\tau)$ по времени.

Скорость протекания процесса прироста биомассы мы уже нашли ранее [см. уравнение (1.32)]. Согласно уравнению (1.32), на скорость прироста биомассы в значительной степени влияет темп прироста биомассы n .

В графическом виде функция $xb'(\tau, x_n)$ представлена на рис. 2.6 для значений $S_n = 0,115$ и $S_n = 0,0575$ и трёх значений начального засева.

Анализируя данные рис. 2.6, следует отметить следующее. Во-первых, при $\tau \rightarrow \infty$, независимо от величины начального засева и начальной концентрации субстрата, скорость прироста биомассы стремится к нулю. Во-вторых, скорость прироста слабо зависит от начальной концентрации субстрата. Влияние начального засева более сложно. В начальный момент времени, в зоне резкого падения скорости, скорость прироста повышается со снижением величины начального засева.

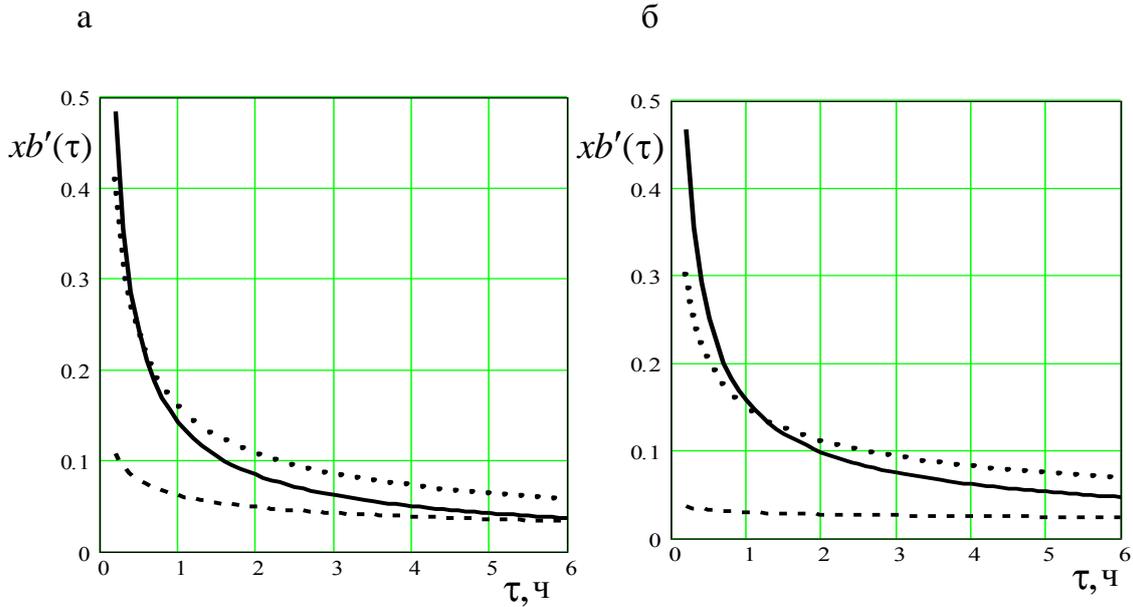


Рис. 2.6. Изменение скорости прироста биомассы во время культивирования:
а – $S_n = 0,115$; б – $S_n = 0,0575$
Линии: — $x_n = 3,7$; ●●● $x_n = 10$; - - - $x_n = 50$

Следует отметить, что, согласно рис. 2.3, б, темп прироста биомассы резко возрастает при изменении концентрации дрожжей в начальном засева, не превышающем $10\text{--}20 \text{ кг/м}^3$. При значениях x_n , превышающих указанные величины, влияние начального засева на показатель степени n ослабевает, поэтому культивирование с более высоким значениями x_n не имеет смысла.

Скорость потребления клетками субстрата равна производной функции (2.6) по времени:

$$S'b(\tau) = \frac{dSb}{dt} = - \frac{ns(\gamma\sigma\tau)^{ns}}{(1+(\gamma\sigma\tau)^{ns})^2 \tau}. \quad (2.12)$$

В графическом виде функция (2.12) изображена на рис. 2.7. Как видно из графиков, скорость потребления субстрата в первые часы культивирования резко возрастает, достигая максимального значения. Время достижения максимума несколько увеличивается со снижением величины начального засева.

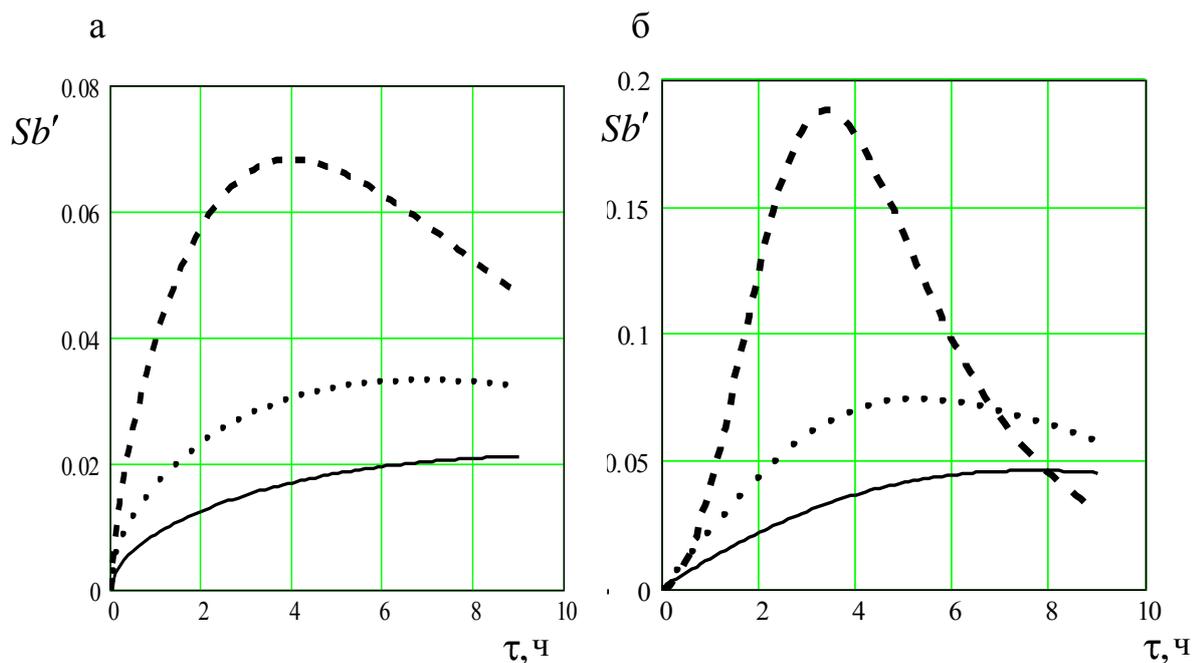


Рис. 2.7. Изменение скорости потребления субстрата во время культивирования
Обозначения – см. рис. рис. 2.6

Если сопоставить рис. 2.6 и 2.7, то можно заметить, что резкое возрастание скорости потребления субстрата на рис. 2.7 приходится на время резкого падения скорости прироста биомассы на рис. 2.6. Максимумы на рис. 2.7 соответствуют началу перехода к плавному снижению скорости прироста биомассы до нуля на рис. 2.6.

2.2. Культивирование гриба *Medusomyces gisevi*

В отличие от случая, рассмотренного в предыдущем разделе, нас будет интересовать в конечном итоге кинетика прироста не столько биомассы гриба, сколько продуктов его метаболизма.

Культуральная среда, в которой развивается чайный гриб, представляет собой водный экстракт чайного листа с растворённым в нём определённым количеством сахарозы. Этот настой издавна пользуется широкой популярностью в быту в качестве тонизирующего напитка и народного средства против различных заболеваний. Эффективность применения жидкости чайного гриба как напитка против многих болезней упоминается в работах Beth Ann Petro, на антибактериальные и антибиотические свойства гриба обращает внимание Л.Т. Даниелян.

Причиной столь важных свойств напитка, представляющих интерес для медицины и косметологии, служит то обстоятельство, что гриб *Medusomyces gisevi* является продуцентом многих органических кислот, обладающих антибактериальными свойствами. Настой чайного гриба может применяться в винно-водочной (напиток Hongo или Kombucha), молочной (закваски для кисломолочных продуктов с лечебными свойствами) промышленности.

Напиток Hongo представляет собой прозрачную жидкость светло-желтого цвета с приятным кисловатым вкусом и запахом моченых яблок. Жидкость имеет рН 2,8–3,5; титруемую кислотность – 120–250 °Т; выдерживает кипячение в течение 30 мин и температуру 112 °С; в холодильных условиях сохраняется неопределенно долго, а при комнатной температуре в закупоренных бутылках – более пяти лет. Бактерицидным свойством обладает как неразбавленный напиток, так и разбавленный водой в исследованных соотношениях (1:2–1:25) при экспозиции от 2 до 48 ч. Исследования свидетельствуют о широком спектре его антибактериального действия как на грамположительные, так и на грамотрицательные микроорганизмы, в связи с чем его называли «бактерицидином».

Использование культуральной жидкости гриба как источника органических кислот и антибиотика в целях интенсификации процесса созревания теста и повышения микробиологической стойкости готового изделия может быть эффективно в технологии приготовления пшеничного хлеба. Однако при использовании гриба *Medusomyces gisevi* в технологии приготовления пшеничного хлеба потребуется примерно 40 л продуктов его метаболизма на 1 т хлеба. Поэтому возникает проблема получения требуемого количества культуральной жидкости, для решения которой необходимо налаживание промышленного производства продукта. Данные о публикациях, в которых отражены области применения чайного гриба, можно найти в работе [7].

Для проектирования и расчётов промышленного производства требуется знание кинетики протекания метаболических процессов в культуральной среде в период развития гриба.

В связи с указанными обстоятельствами были поставлены две цели:

– во-первых, провести экспериментальные исследования по изучению кинетики протекания биологических процессов в культуральной жидкости гриба *Medusomyces gisevi* при его культивировании;

– во-вторых, на основе опытных данных получить уравнения математической модели, адекватно описывающие течение и скорость процесса накопления продуктов метаболизма в среде.

Уравнения требуются для прогнозирования хода процесса и выбора необходимого времени культивирования. На бытовом уровне эти требования не имеют какого-либо значения. Но для предприятия, которое собирается производить напиток и продавать его на рынке, установление времени окончания процесса культивирования имеет первостепенное значение, так как от этого зависит его производительность и, следовательно, прибыль.

О кинетике протекания биологических процессов можно судить по скорости изменения титруемой кислотности питательной среды и массы мицелия гриба в процессе культивирования. В настое чайного гриба содержатся различные органические кислоты: молочная, уксусная, яблочная и др.

Методика проведения экспериментальных исследований заключалась в следующем. В питательную среду, содержащую сахарозу и настой чая, вносили мицелий гриба. Культивирование проводили при температуре 20–25 °С. Ежедневно измеряли титруемую кислотность питательной среды и толщину гриба. Результаты измерений в процессе культивирования показаны на рис. 2.8 и 2.9. На рис. 2.8 отчётливо видно, что примерно через 22 сут кислотность культуральной жидкости перестаёт изменяться.

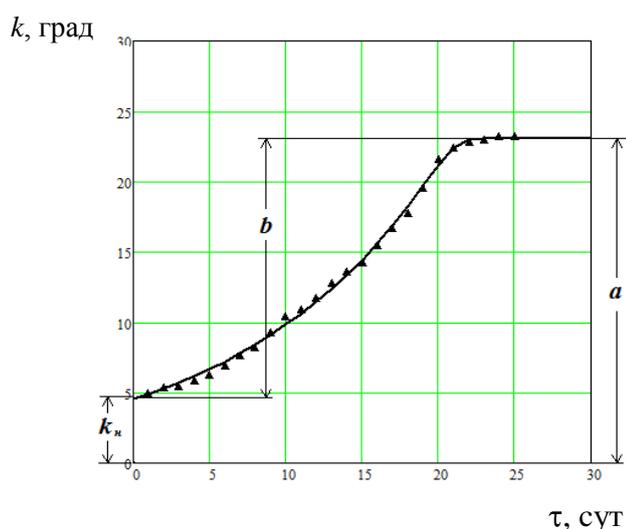


Рис. 2.8. Изменение титруемой кислотности в процессе культивирования

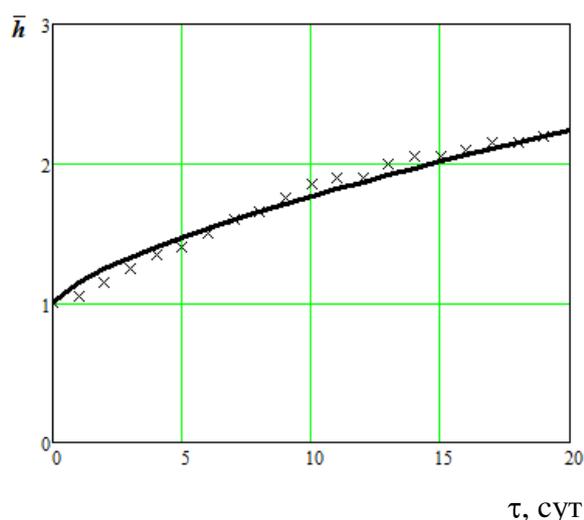


Рис. 2.9. Изменение толщины гриба в процессе культивирования

В результате математической обработки опытных данных с помощью компьютерной программы CurveExpert из нескольких уравнений, предложенных программой, было выбрано уравнение сложного экспоненциального вида, называемое Weibull Model (название модели заимствовано из компьютерной программы CurveExpert), наиболее точно описывающее изменения титруемой кислотности во времени:

$$k = a - b e^{-(\mu\tau)^\delta}, \quad (2.13)$$

где k – титруемая кислотность, °Т; τ – время культивирования, сут.

Входящим в уравнение (2.13) эмпирическим коэффициентам можно придать вполне определённый физико-биологический смысл. Величину μ можно считать удельной скоростью изменения кислотности, 1/сут. Коэффициент a – предельное значение кислотности, °Т, при $\tau \rightarrow \infty$. Показатель степени δ определяет форму кривых, представленных на рис. 2.10 и 2.11, или, другими словами, изменение скорости процесса накопления кислотности во времени. Величина b в уравнении (2.13) представляет собой разность между максимальным значением кислотности и начальным, т. е.

$$b = a - k_{\text{н}},$$

где $k_{\text{н}}$ соответствует начальной кислотности °Т при $\tau = 1$ (см. рис. 2.8).

Численные значения параметров a , b и δ находят экспериментально.

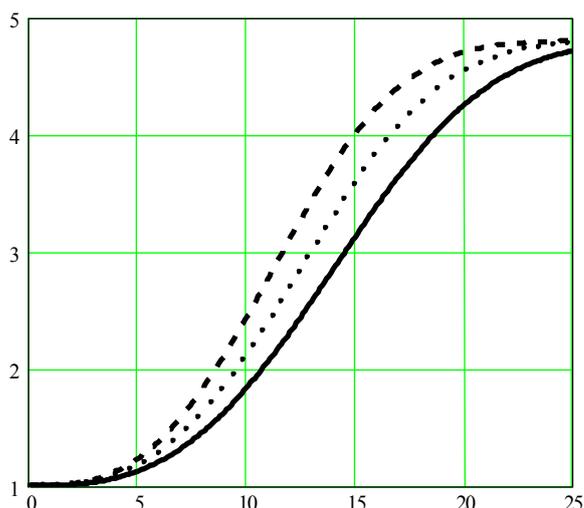


Рис. 2.10. Изменение кислотности в процессе культивирования при различных $h_{\text{н}}$

Обозначения: — $h_{\text{н}} = 1$ см; ••• $h_{\text{н}} = 2$ см; — — $h_{\text{н}} = 4$ см

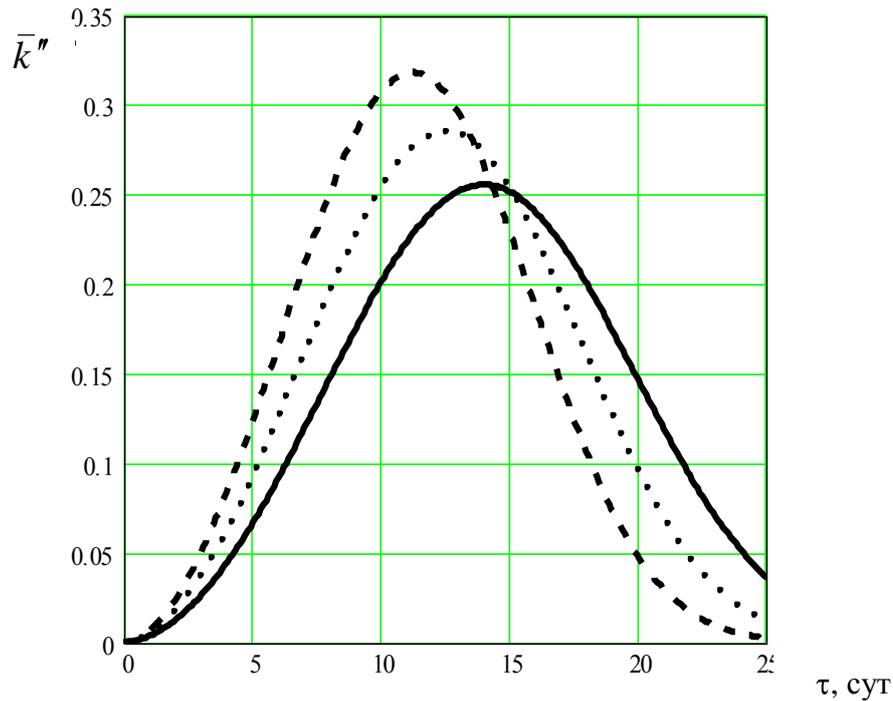


Рис. 2.11. Зависимость скорости изменения кислотности от толщины гриба
Обозначения – см. рис. 2.10

Предположительно на кинетику изменения кислотности культуральной жидкости влияет масса гриба, которая может быть вычислена по уравнению

$$m_{\tau} = fh\rho.$$

Так как площадь поверхности гриба f и его плотность ρ в течение опытов оставались постоянными, то за изменением массы гриба в процессе культивирования можно следить по изменению его толщины h .

На рис. 2.9 показано изменение толщины гриба в процессе культивирования в безразмерном виде $\bar{h} = h/h_n$ при начальной толщине $h_n = 2$ см. Для описания кинетики прироста биомассы гриба было выбрано уравнение степенного вида (2.14)

$$\bar{h}(\tau) = 1 + (\gamma\tau)^n, \quad (2.14)$$

где \bar{h} – текущее безразмерное значение толщины гриба; γ – удельная скорость прироста массы гриба; n – показатель степени, характеризующей изменение скорости прироста биомассы гриба во времени.

Опыты показали, что в пределах, ограниченных условиями эксперимента, можно принять $\gamma = 0,068$ и $n = 0,95$. Опыты подтвердили влияние массы гриба на скорость протекания биологических процессов.

В уравнении (2.13) от начальной толщины гриба зависит удельная скорость его прироста μ , значения других параметров можно принять постоянными: $a = 24$, $b = 19$, $\delta = 2,75$. Для вычисления μ получено эмпирическое уравнение

$$\mu(\tau) = 0,055(h\bar{h}(\tau))^{0,171}. \quad (2.15)$$

В целях поиска более общей математической модели кинетики биологических процессов приведем уравнение (2.13) к безразмерному виду, разделив обе части на величину $k_n = a - b$:

$$\bar{k}(\tau) = \frac{a - be^{-(\mu(\tau)\tau)^\delta}}{a - b}. \quad (2.16)$$

В графическом виде функция $\bar{k}(\tau)$ при различных начальных значениях толщины гриба представлена на рис. 2.10.

Скорость накопления кислотности определим, взяв производную функции (2.16). Покажем, как это делается в системе MathCad. Прежде всего надо иметь в виду, что при взятии производной аргумент функции следует заменить с τ на x и записать её в следующем виде:

$$f(x) = \frac{a - be^{-(\mu x)^\delta}}{a - b}.$$

Далее набирают первую производную по нижеприведённому правилу, система выдаёт результат в следующем виде:

$$\frac{d}{dx} f(x) \rightarrow \frac{b(\mu x)^\delta \delta e^{-(\mu x)^\delta}}{x(a - b)}.$$

Возвращаясь к переменной τ , запишем первую производную в окончательном варианте:

$$\bar{k}'(\tau) = \frac{b(\mu(\tau)\tau)^\delta \delta e^{-(\mu(\tau)\tau)^\delta}}{\tau(a-b)}. \quad (2.17)$$

В уравнениях (2.16) и (2.17) $\mu(\tau)$ вычисляют по уравнениям (2.14) и (2.15). Уравнение (2.15) важно ещё и потому, что в процессе культивирования масса гриба постоянно растёт. Следовательно, будет меняться во времени и скорость накопления органических кислот. Таким образом, уравнение (2.15) позволяет учесть в математической модели нестационарность процесса.

С практической точки зрения процесс накопления органических кислот при культивировании чайного гриба следует проводить до момента времени, при котором скорость увеличения кислотности достигнет максимальной величины τ_{\max} , дальнейший процесс культивирования нецелесообразен.

В графическом виде изменение скорости биологических процессов во времени при различных значениях h_n показано на рис. 2.11. Из рисунка видно, что скорость изменения кислотности от времени при различной начальной толщине гриба имеет четко выраженный максимум, который увеличивается с увеличением начальной толщины гриба; время достижения этого максимума уменьшается.

Согласно рис. 2.11, время культивирования в условиях промышленного производства можно ограничить 13–15 сут без какого либо ухудшения качества напитка.

Время достижения максимума скорости накопления кислот τ_{\max} можно определить, приравняв вторую производную функции $\bar{k}(\tau)$ к нулю и решив полученное уравнение относительно τ_{\max} . Вторая производная берётся по тому же правилу, что и первая. В результате получим выражение

$$\frac{d^2}{dx^2} f(x) \rightarrow \frac{b(\mu x)^\delta \delta e^{-(\mu x)^\delta}}{x^2(a-b)} \delta - 1 - \delta \mu x^\delta.$$

После замены x на τ запишем

$$\bar{k}''(\tau) = b \frac{\delta \exp\left(-\frac{\delta \tau}{a-b}\right)}{\tau^2(a-b)} \left(1 - \delta \frac{\tau}{a-b}\right) \quad (2.17a)$$

Следует обратить внимание на то, что в соответствии требованиями MathCad в производных функции $f(x)$ μ не записывается как функция от аргумента в отличие от уравнений (2.17) и (2.17a). Графический вид равенства (2.17a) показан на рис. 2.12.

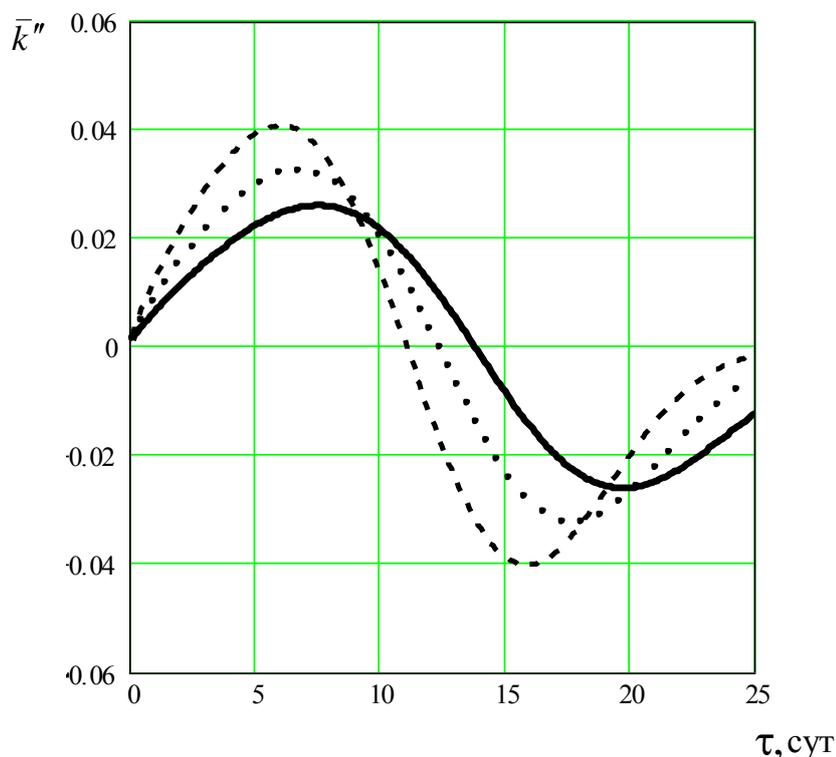


Рис. 2.12. Изменение второй производной во времени
Обозначения – см. рис. 2.10

Время τ_{\max} , при котором достигается максимальное значение скорости накопления кислотности \bar{k}'_{\max} , можно приблизительно определить либо по графику на рис. 2.11, либо по графику на рис. 2.12. При использовании графика 2.12 значениям \bar{k}'_{\max} будет соответствовать время $\tau = \tau_{\max}$, при котором $\bar{k}'' = 0$, исключая, естественно, время $\tau = 0$ и $\tau = \infty$.

Для более точного определения следует воспользоваться программой «root» в системе MathCad. Для этого необходимо предварительно задаться примерным значением времени? близким к величине τ_{\max} , воспользовавшись графиком рис. 2.11 либо рис. 2.12.

Рассмотрим конкретный пример определения τ_{\max} при начальной толщине гриба $h_n = 2$ см.

Задаём предварительно $\tau = 10$. Под знак «root» введем вторую производную \bar{k}'' из уравнения (2.17а) и запишем

$$\tau_{\max} = \text{root} \left[b (\mu(\tau)\tau)^\delta \frac{\delta}{\tau^2} \frac{\exp(-\mu(\tau)\tau^\delta)}{a-b} \right] \left[\delta(1-(\mu(\tau)\tau)^\delta - 1) \right], \tau.$$

Компьютер даёт результат: $\tau_{\max} = 12,35$ сут.

Таким образом, максимальная скорость нарастания кислотности достигается примерно через 12 сут.

Можно считать, что полученная на основе опытных данных система эмпирических уравнений (2.13)–(2.17) является математической моделью протекания биологических процессов при культивировании гриба *Medusomyces gisevi*.

Проведенные исследования позволяют перейти к расчетам и проектированию установки по получению культуральной жидкости чайного гриба и использованию ее в хлебопечении.

Таким образом, мы рассмотрели два примера аэробного культивирования двух видов микроорганизмов (без принудительной подачи воздуха). Цели культивирования были разными. В первом случае целью было наращивание биомассы, во втором – получение продуктов метаболизма. Их объединяет то, что они являются растениями сапрофитами, питаются углеводами. Однако существенное различие заключается в способе потребления кислорода. Клетки дрожжей потребляют кислород, который растворён в культуральной среде, а чайный гриб – непосредственно из воздуха.

Полученные уравнения позволяют сделать вывод о том, процесс накопления биомассы у дрожжей и чайного гриба подчиняется одному и тому же степенному закону (1.30), несмотря на различие в способах потребления кислорода.

2.3. Влияние расхода воздуха на кинетику прироста биомассы при культивировании дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*

Предыдущие опыты по культивированию микроорганизмов проводились в условиях дефицита кислорода. Промышленное производство хлебопекарных дрожжей на заключительных стадиях культивирования проводится при интенсивной аэрации. Удельный расход воздуха колеблется от 60 до 100 м³ воздуха/(ч·м³ культуральной среды). В этой связи представляет интерес поиск математической модели культивирования микроорганизмов в условиях принудительной подачи воздуха. Предстоит выяснить, будет ли отличаться модель культивирования без подачи от модели с принудительной подачей воздуха; попытаться получить модель, объединяющую оба варианта.

Для ответа на поставленные вопросы были использованы результаты исследования по аэробному культивированию пекарских дрожжей на мелассных растворах периодическим способом без притока в аппаратах барботажного типа [8].

Опыты проводились при начальном содержании субстрата S_n в культуральной среде в массовых долях 0,108; 0,0555 и 0,0228 кг/кг, т. е. к значениям, близким полученным при отсутствии подачи воздуха, при температуре $(32 \pm 1)^\circ\text{C}$ и pH среды 4,2–4,6.

Удельный расход воздуха [$q = Q_g/V_p$ м³/(м³·ч)] во время опытов брался равным 11; 31,4; 92,8; 214,3 1/ч. Объем культуральной жидкости в аппарате при бесприточном культивировании оставался постоянным – $V_p = 0,007$ м³.

Источниками азотного и фосфорного питания служили сульфат аммония и диаммонийфосфат, которые подавались в аппарат в виде 20 %-х водных растворов. Дефицит калия и магния в мелассе восполнялся за счет внесения MgSO₄ и KCl. В качестве стимулятора роста был использован дестиобиотин. Азотное и фосфорное питание осуществлялось из расчета содержания в дрожжах 7,2 % азота и 2,4 % P₂O₅.

В качестве засевной культуры использовался штамм пекарских дрожжей Л-128. Перед подачей в культиватор засевная культура активировалась в целях сокращения продолжительности лаг-фазы. Общая продолжительность опытов не превышала 7 ч. Во всех опытах измерение концентрации биомассы проводилось через 1 ч. Результа-

ты экспериментальных данных по бесприточному методу культивирования представлены ниже.

Количество засевных дрожжей составляло 8 % от количества стандартной мелассы, что соответствовало изменению начальной концентрации биомассы x_H влажностью 75 % от 12,48 до 57 кг/м³.

Результаты экспериментальных данных представлены на рис. 2.13. На рисунке изображены наиболее характерные графики изменения концентрации биомассы x во времени при различных значениях удельного расхода воздуха и кратности разбавления мелассы.

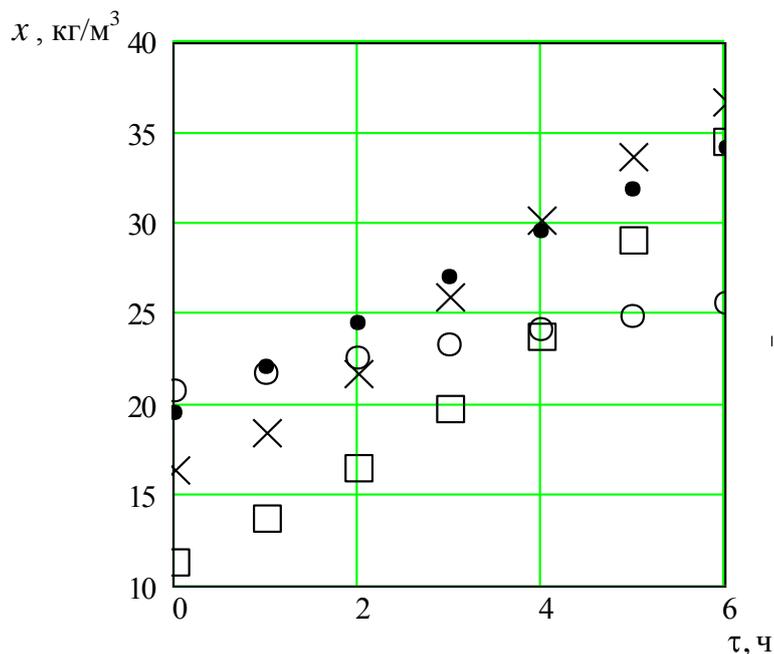


Рис. 2.13. Изменение концентрации биомассы во времени
Обозначения – см. рис. 2.14

Из рис. 2.13 видно, что кратность разбавления мелассы и удельный расход воздуха влияют на изменение концентрации биомассы во времени. Однако поскольку начальная концентрация дрожжей в каждом опыте была разной, то возникают сложности в сравнительной оценке влияния K_{pm} и q на прирост биомассы. Для устранения указанных сложностей целесообразнее, так же как и ранее, ввести безразмерное значение концентрации $x_b = x / x_H$ и изобразить функциональную зависимость $x_b(\tau)$.

Такая обработка опытных данных представлена на рис. 2.14, где значками обозначены опытные данные. Линии соответствуют уравнению (1.6а) и построены из предположения, что развитие кле-

точной популяции происходит по экспоненциальному закону с постоянной удельной скоростью прироста биомассы.

Опыты показали, что при большом расходе воздуха прирост биомассы с высокой степенью подчиняется закону экспоненты. Однако при малых значениях расхода (q равно 11 и 31,4 л/ч) они начинают отклоняться от закономерности (1.6а). Таким образом, уравнение экспоненты не даёт возможности смоделировать кинетику изменения биомассы в культуральной среде в широком диапазоне изменения K_{pm} и q . Если вспомнить, что в подразд. 2.1 в опытах по культивированию дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* мы уже установили принципиальную невозможность применения уравнения экспоненты для описания опытов при $q = 0$, то напрашивается вывод об использовании степенного закона (1.30) и в данном случае.

Проверим несколько вариантов обработки опытных данных в целях получения уравнения для расчёта γ и оценим их положительные и отрицательные стороны.

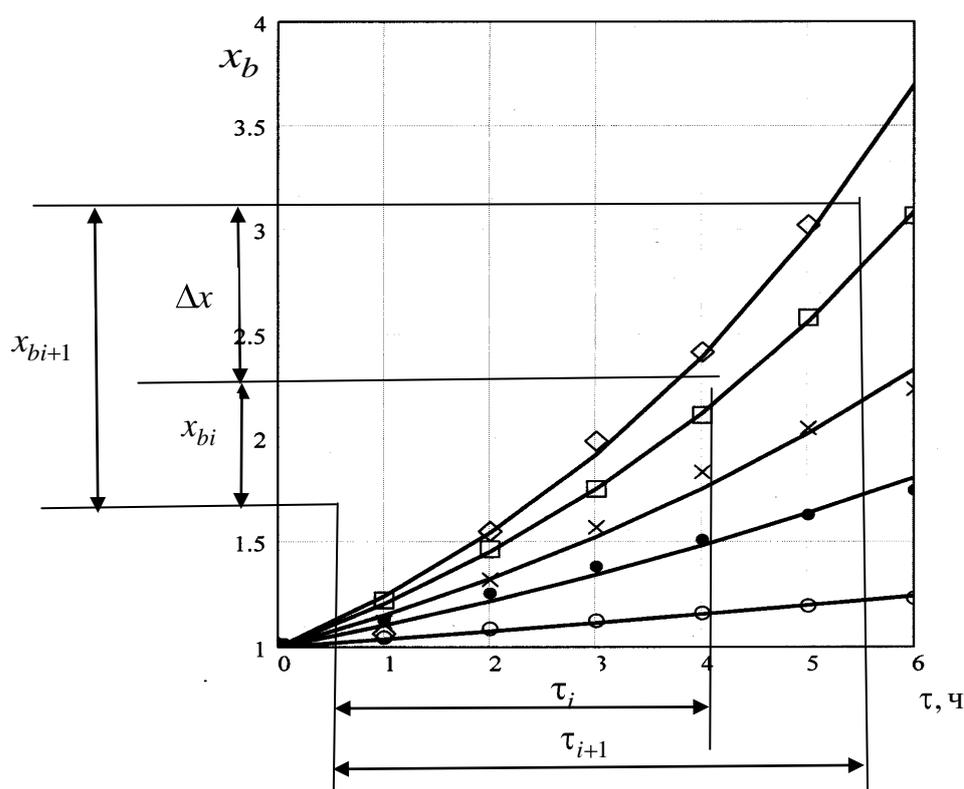


Рис. 2.14. Сравнение опытных и рассчитанных по уравнению (1.6а) значений x_b
 $K_{pm} = 8: q = 31,4 - \times; q = 92,8 - \square; q = 214,3 - \diamond, 1/ч$
 $K_{pm} = 4: q = 11 - \circ; q = 31,4 - \bullet, 1/ч$

В основу первого варианта обработки опытных данных положим влияние на скорость прироста биомассы кратности разбавления мелассы. В таком случае γ и n в уравнении (1.30) будут в явном виде зависеть от K_{pm} , а прочие эмпирические коэффициенты – от удельного расхода воздуха и величины начального засева.

Результатом обработки опытных данных стало уравнение

$$\gamma = \gamma_m \frac{1}{1 + a_1 e^{-b_1 K_{pm}}}. \quad (2.18)$$

Коэффициенты γ_m , a_1 и b_1 зависят от удельного расхода воздуха, т. е. в конечном итоге – от гидродинамической обстановки в культиваторе.

Компьютерная обработка опытных данных, полученных при культивировании пекарских дрожжей периодическим способом в барботажном аппарате, позволила получить эмпирические формулы для расчета коэффициентов, входящих в уравнения (1.30) и (1.32):

$$\gamma_m = 0,228 (1,54 - e^{-0,0285q}); \quad (2.19)$$

$$a_1 = 206,8 (1,042 - e^{-c_1}), \quad (2.20)$$

где

$$c_1 = \frac{1}{(0,104q)^{4,51}};$$

$$b_1 = 0,437 e^{(5,13/q)}. \quad (2.21)$$

Анализируя уравнения (2.18)–(2.21), отметим, что при $K_{pm} \rightarrow \infty$ $\gamma \rightarrow \gamma_m$, представляющей собой максимальную удельную относительную скорость прироста биомассы. Конечно, условие $K_{pm} \rightarrow \infty$ лишено какого-либо смысла, так как при отсутствии субстрата культивирование вообще невозможно. Речь идет о математическом (абстрактном) пределе, к которому стремится γ при стремлении концентрации субстрата к нулю.

При $K_{pm} \rightarrow 0$, т. е. концентрация сахара в культуральной среде стремится к максимуму, а γ , согласно уравнению (2.18), будет стремиться к некому постоянному минимальному значению,

$$\gamma_{\min} = \frac{\gamma_m}{1 + a_1}.$$

Из последнего уравнения следует, что культивирование дрожжей возможно на неразбавленной мелассе и скорость прироста биомассы будет увеличиваться с увеличением расхода воздуха. Подобная ситуация мало вероятна, так как развитие клеток ограничено определённой максимальной концентрацией сахара в культуральной среде.

Увеличение концентрации сахаров приводит к снижению биологической активности клеток вследствие увеличения осмотического давления среды. Кроме того, увеличиваются вязкость и плотность жидкости, что отрицательно сказывается на скорости растворения кислорода и ухудшает массообмен между клеткой и культуральной средой; это влечёт за собой ухудшение снабжения клеток кислородом и субстратом. Указанные факторы в конечном итоге могут привести к прекращению прироста биомассы. Вопрос о том, какой минимальной величиной должна быть ограничена кратность разбавления мелассы, остался невыясненным. Здесь требуются дополнительные исследования.

Влияние удельного расхода воздуха на скорость прироста биомассы сказывается через коэффициенты γ_m , a_1 и b_1 . Увеличение расхода воздуха приводит к интенсивной турбулизации среды и вызывает ускорение прироста биомассы, но до определённого предела. Согласно уравнениям (2.19)–(2.21), при $q \rightarrow \infty$ и заданном значении K_{pm} коэффициенты γ_m , a_1 и b_1 стремятся к постоянным величинам, вследствие чего к постоянной величине стремится и γ . Таким образом, значение q ограничено определённым верхним пределом (см. рис. 2.14), выше которого увеличение расхода воздуха нецелесообразно.

При $q=0$ коэффициенты γ_m и a_1 приобретают определённые минимальные значения. Последнее означает: на основании полученных зависимостей культивирование микроорганизмов возможно при отсутствии принудительной аэрации, что и доказано опытами, приведёнными в подразд. 2.1. На вопрос о несовпадении значений γ , рас-

считанных по уравнениям (2.1) и (2.18) при $q = 0$, мы ответим несколько позднее. Пока же отметим, что уравнения вида (2.18)–(2.21) не противоречат здравому смыслу и с достаточно высокой точностью подтверждаются опытами, по крайней мере, ограниченными условиями экспериментов.

Однако выбранный метод обработки опытных данных имеет некоторые недостатки, первый из которых заключается в использовании кратности разбавления мелассы в качестве аргумента функциональной зависимости (2.18). Употребление понятия кратности разбавления свойственно узкому кругу специалистов, связанных с дрожжевой промышленностью или близких к ней. В большинстве же случаев в научных исследованиях и технологических расчётах пользуются значением концентрации сбраживаемых сахаров в культуральной среде.

Сложность использования кратности разбавления в уравнениях математических моделей заключается ещё и в том, что K_{pm} имеет размерность, поэтому в уравнениях вида (2.18) численный коэффициент b_1 перед K_{pm} должен иметь обратную размерность кратности разбавления. Придать коэффициенту b_1 какой-либо физико-биологический смысл довольно сложно. Поэтому желательно поменять K_{pm} на концентрацию субстрата, выраженную в массовых долях, которые формально не имеют размерности.

Указанный недостаток имеют и уравнения (2.18)–(2.21). Так как показатели степени при e безразмерны, то коэффициенты пропорциональности перед q должны иметь размерность времени. Отношение $1/q = \tau_p$ есть время пребывания воздуха в пустом культиваторе, объём которого равен объёму культуральной среды. Время τ_p можно выразить через приведённую скорость воздуха w_Γ . Так как удельный расход

$$q = \frac{Q_\Gamma}{V_p} = \frac{w_\Gamma S_a}{S_a H_{ж}} = \frac{w_\Gamma}{H_{ж}},$$

то время пребывания

$$\tau_p = \frac{H_{ж}}{w_\Gamma},$$

где $H_{\text{ж}}$ – высота жидкости в аппарате.

При проведении экспериментальных исследований габариты культиватора и уровень жидкости в нём не менялись. В таком случае при заданном значении q время τ_p , а следовательно, и коэффициенты перед q должны оставаться постоянными. Однако в рассматриваемых уравнениях (2.18)–(2.21) это условие не соблюдается.

Возможно, указанный недостаток уравнений (2.18)–(2.21) связан с тем, что τ_p является всего лишь расходным параметром и не определяет времени пребывания воздуха в культуральной среде. Время пребывания воздуха в жидкой фазе зависит от скорости всплытия пузырей.

Скорость всплытия пузырей в условиях интенсивной турбулентности слабо зависит от физических свойств жидкости и изменяется незначительно, чаще всего её принимают постоянной, равной примерно 0,3 м/с. Влияние ПАВ, что характерно для культуральных сред, на скорость всплытия изучено мало. Имеющиеся в литературе данные по всплытию пузырей воздуха в жидкостях, содержащих ПАВ, говорят об их влиянии на скорость всплытия в сторону снижения. Поскольку в пустотелых барботажных культиваторах источником турбулентности служит скорость движения пузырей относительно жидкости (скорость всплытия), то наличие ПАВ отрицательно скажется на развитии турбулентности, а следовательно, и на скорости переноса теплоты и массы.

Ответы на все эти вопросы могут дать только дальнейшие глубокие фундаментальные исследования в области гидродинамики, теплообмена и массообмена при культивировании микроорганизмов.

В связи с указанными обстоятельствами возникает необходимость в поиске иного вида математической модели кинетики культивирования. При получении новой системы уравнений за основу обработки опытных данных был принят расход воздуха.

Новый метод позволил получить уравнения для расчета γ и показателя степени n в уравнении (1.30) в виде зависимостей

$$\gamma = a(b - e^{-cq}); \quad (2.22)$$

$$n = a_2(b_2 - e^{-c_2q}). \quad (2.23)$$

В уравнениях (2.22) и (2.23) коэффициенты a , b и c зависят от начальной концентрации сахара S_H .

На основе опытных данных были получены следующие уравнения для расчета эмпирических коэффициентов в уравнениях (2.22) и (2.23):

$$a = 0,2 + 0,184 S_H^{0,596}; \quad (2.24)$$

$$b = \frac{1}{0,587 + 233,7 S_H^{2,514}}; \quad (2.25)$$

$$c = 0,0175 + 16,38 S_H^{2,788}; \quad (2.26)$$

$$a_2 = 2,033 \cdot 0,932^{\frac{1}{S_H}} S_H^{0,037}; \quad (2.27)$$

$$b_2 = 1,386 \cdot 1,078^{\frac{1}{S_H}} S_H^{0,179}; \quad (2.28)$$

$$c_2 = 0,00293 \cdot 1,031^{\frac{1}{S_H}} S_H^{-0,0664}. \quad (2.29)$$

В уравнениях (2.24)–(2.29) S_H – начальная концентрация сахара в культуральной среде в массовых долях менялась в опытах от 0,028 до 0,108.

Для наглядности рекомендуется зависимость n и γ от q представить в графическом виде при различных значениях S_H , как это сделано на рис. 2.15 и 2.16 (обозначения линий: — $S_H = 0,102$; ••• $S_H = 0,0555$; — • — $S_H = 0,0228$).

Изменение q в сторону меньших значений ограничено условиями эксперимента ($q=11$). При определенных значениях S_H и q (см. рис 2.15) γ может оказаться величиной отрицательной, что не соответствует действительности, так как прирост биомассы, как уже отмечалось, имеет место и при отсутствии принудительной подачи воздуха в культиватор (см. разд. 2.1). Поэтому применение системы уравнений (2.24)–(2.29) ограничено условиями эксперимента.

Из рис. 2.15 и 2.16 видно, что существенное увеличение γ и n наблюдается до $q = 60 \div 100 \text{ м}^3 / (\text{ч} \cdot \text{м}^3)$. Дальнейшее увеличение q

не имеет смысла, это не приведет к существенному росту скорости размножения клеток.

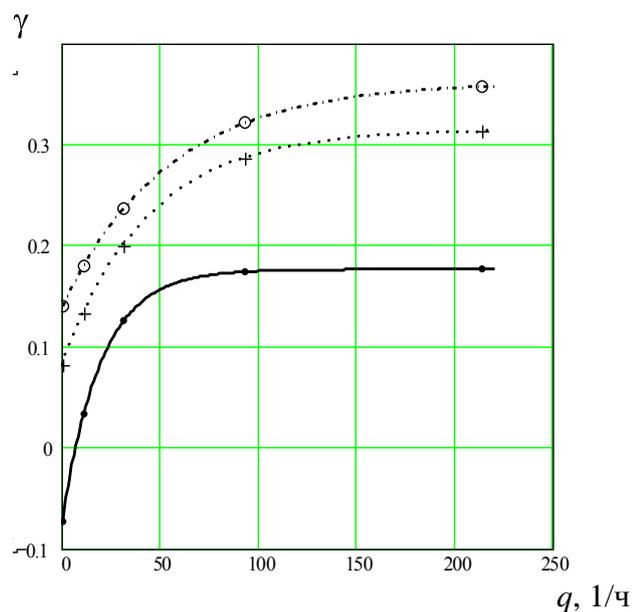


Рис. 2.15. Зависимость удельной относительной скорости прироста биомассы γ от удельного расхода воздуха, согласно уравнениям (2.22), (2.24)–(2.26)

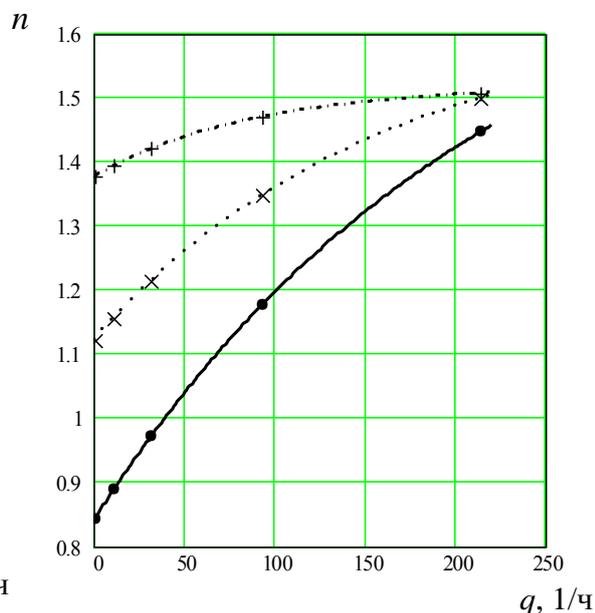


Рис. 2.16. Зависимость показателя степени n от удельного расхода воздуха, согласно уравнениям (2.23), (2.27)–(2.29)

Влияние удельного расхода воздуха q на показатель степени n , согласно рис. 2.16, увеличивается с увеличением концентрации субстрата. Таким образом, темп прироста биомассы при высоких содержаниях субстрата в большей степени зависит от расхода воздуха, чем при низких его значениях. Здесь уместно обратить внимание еще на одну особенность зависимости n от q . При определенных значениях S_H и q величина n становится меньше единицы и скорость прироста биомассы, согласно уравнению (1.32), начинает снижаться во времени.

На рис. 2.17 дано сравнение опытных данных по кинетике культивирования хлебопекарных дрожжей при различных значениях расхода воздуха и начальных значениях содержания сахара с результатами расчётов по уравнениям (1.30), (2.22)–(2.29).

Из рисунков видно, что отклонение опытных данных от вычисленных по уравнениям (1.30) и (2.22)–(2.29) в большинстве случа-

ев не превышает $\pm 9\%$ и не выходит за пределы ошибки экспериментов. Наибольшее отклонение опытных данных от расчетных ($\pm 20\%$) наблюдается при малом содержании субстрата в растворе. Скорее всего это связано с ошибками экспериментального определения концентрации биомассы ввиду ее низких значений.

Все сказанное позволяет утверждать, что полученные системы уравнений достаточно точно отражают процесс культивирования в пределах, ограниченных условиями эксперимента.

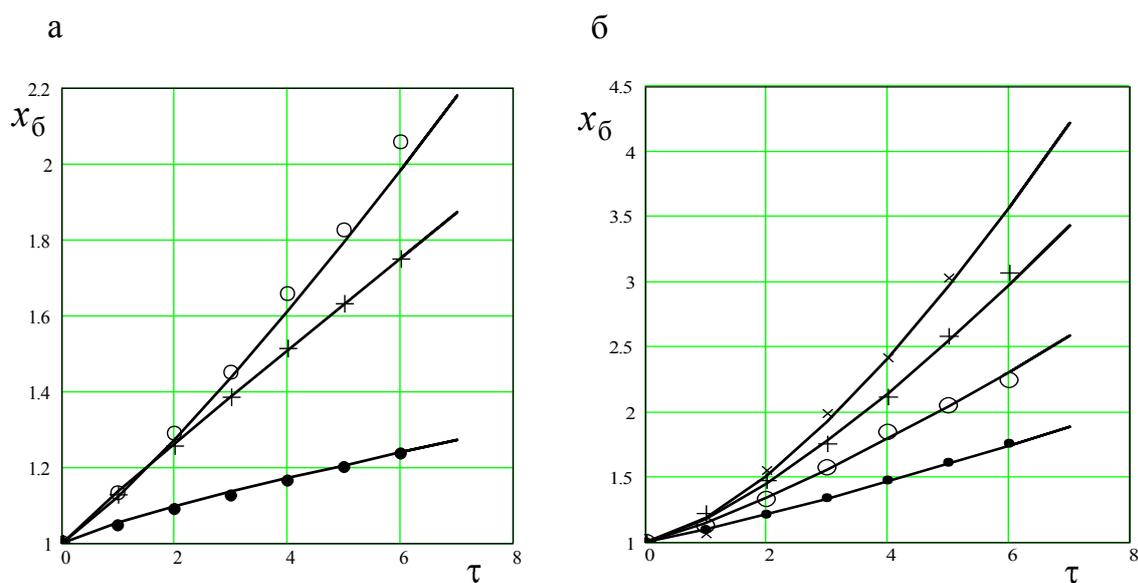


Рис. 2.17. Зависимость безразмерной концентрации биомассы от длительности культивирования:
 а – $S_n = 0,108$; б – $S_n = 0,0555q$ 1/ч
 ●●● – 11; ○○○ – 31,4; ++ – 92,8; ×× – 214
 Линии соответствуют уравнениям (1.29), (2.22)–(2.29)

Другой недостаток уравнений (2.22) и (2.23), свойственный, как уже отмечалось ранее, и уравнениям (2.19)–(2.21), заключается в том, что коэффициенты c и c_2 имеют размерность, обратную q . При одинаковых условиях культивирования они должны были бы быть равными, однако опыты этого не подтверждают. Формально такая обработка опытных данных допустима, но было бы более корректным, если бы вместо удельного расхода q использовался безразмерный параметр.

По своей физической сущности показатель степени при экспоненте характеризует влияние на скорость прироста биомассы гидро-

динамических условий в культиваторе. Однако сам по себе удельный расход воздуха не является такой характеристикой, он всего лишь расходный параметр. Гидродинамика определяется турбулентностью среды, которая зависит от истинных скоростей движения фаз, скорости их относительного движения, газосодержания системы жидкость–газ, физических свойств жидкости и газа и т. п. Поэтому в уравнениях (2.22) и (2.23) величину q следовало бы заменить безразмерным параметром, учитывающим указанные особенности двухфазной системы. Таким параметром может служить максимальный масштаб турбулентности η_{\max} . Мы не будем подробно касаться основ теории турбулентности, это отдельная очень серьёзная тема, а лишь запишем уравнения, которые понадобятся для его расчёта [9]:

$$\eta_{\max} = \frac{u_* d}{2\nu_{\text{ж}}}, \quad (2.30)$$

где d – диаметр культиватора; $\nu_{\text{ж}}$ – кинематическая вязкость жидкости; u_* – динамическая скорость,

$$u_* = 2,2 \sqrt[4]{\nu_{\text{ж}} g w_{\Gamma} (1 - \varphi_{\Gamma})^2}. \quad (2.31)$$

В уравнении (2.31) истинное объёмное газосодержание φ_{Γ} вычисляется по уравнению В.В. Консотова [10]:

$$\frac{\varphi_{\Gamma}}{1 - \varphi_{\Gamma}} = 0,54 \left(\frac{w_{\Gamma} (\rho_{\text{ж}} - \rho_{\Gamma})^{0,25}}{(g\sigma)^{0,25}} \right)^{0,68} \left(\frac{\rho_{\Gamma}}{\rho_{\text{ж}}} \right)^{0,11} \left(\frac{\rho_{\text{ж}}}{\rho_{\text{ж}} - \rho_{\Gamma}} \right) \left(\frac{\mu_{\text{в}}}{\mu_{\text{ж}}} \right)^{0,083}. \quad (2.32)$$

Замена q на η_{\max} будет полезна при рассмотрении процесса культивирования с притоком субстрата, когда объём среды в культиваторе меняется. В этом случае при постоянном расходе воздуха его удельный расход также будет меняться. В то же время при постоянном расходе воздуха значение η_{\max} остаётся постоянным.

Уравнения (2.22) и (2.23) в новом варианте обработки опытных данных примут вид

$$\gamma = \gamma_m \frac{1}{1 + a e^{-b\eta_{\max}}}; \quad (2.33)$$

$$n = a_1 + b_1 \eta_{\max}^{c_1}. \quad (2.34)$$

Значения коэффициентов, входящих в уравнения (2.33) и (2.34), имеют сложную зависимость от начального содержания субстрата и могут быть вычислены по следующим эмпирическим уравнениям:

$$a = \frac{1}{2,41 + 880 S_{\text{H}}^{2,576}}; \quad (2.35)$$

$$b = 6,089 S_{\text{H}}^{-38,19 S_{\text{H}}}; \quad (2.36)$$

$$c = 0,734 S_{\text{H}}^{2,814}; \quad (2.37)$$

$$a_1 = \frac{0,675}{1 - 0,787 e^{-14,16 S_{\text{H}}}}; \quad (2.38)$$

$$b_1 = 1,27 \cdot 10^{-11} (1 - 8,6 S_{\text{H}}); \quad (2.39)$$

$$c_1 = \frac{6,99}{1 + 0,7 e^{-10,24 S_{\text{H}}}}. \quad (2.40)$$

В уравнениях (2.33)–(2.40) S_{H} и η_{\max} величины безразмерные и могут меняться: в пределах S_{H} – от 0 до 1; η_{\max} – от 0 до ∞ . Поэтому коэффициенты b , c и показатель степени n также безразмерны. Что касается коэффициента γ_m , то его размерность, согласно уравнению (2.33), такая же, как и γ . По физической сущности γ_m соответствует максимальной относительной скорости прироста биомассы при $S \rightarrow 0$ при данном значении η_{\max} .

Сопоставление опытных значений n и γ с данными, рассчитанными по уравнениям (2.33)–(2.40), показывает, что точность вычислений с заменой q на η_{\max} несколько снизилась. Связано это с тем, что максимальный масштаб турбулентности, в отличие от удельного расхода воздуха, зависит от физических свойств культуральной жидкости, газосодержания, диаметра пузырей и т. д. Расчёт указанных параметров ведётся по специальным уравнениям, что в конечном итоге и вносит определённые погрешности в расчёты.

Несмотря на некоторые неточности в вычислениях, уравнения (2.33)–(2.40) с позиций моделирования более перспективны по сравнению с ранее полученными математическими моделями кинетики культивирования. Максимальный масштаб турбулентности, по сути, является критерием подобия. Его можно назвать аналогом критерия Рейнольдса. Однако последний при изучении многофазных систем теряет свой физический смысл. Поэтому уравнения (2.33)–(2.40) позволяют подойти к моделированию газожидкостных аппаратов более обоснованно, с учётом взаимодействия фаз.

Говоря о моделировании технологических процессов и аппаратов в микробиологии, на наш взгляд, следует сделать одно замечание, касающееся использования для этой цели теории подобия. В литературе можно встретить публикации, в которых высказывается мнение о нецелесообразности применения в микробиологии методов теории подобия при масштабировании машин и аппаратов. В качестве примера приведём выдержку из работы известных и всеми уважаемых авторов [2, с. 5]: «В области микробиологической технологии следует отказаться от приёмов, основанных на теории подобия».

Нет сомнений, что кинетика биохимических процессов несравнимо сложнее процессов, в которых перенос субстанций (импульса, теплоты и массы) происходит чисто физически. Однако согласиться со столь категоричным утверждением вряд ли можно. Отрицая теорию подобия в микробиологии как инструмент моделирования, авторы вольно или невольно сами используют некоторые понятия теории подобия. В уравнениях (1.6), (1.17) или в каком-либо другом уравнении экспоненциального вида показатель степени при экспоненте произведения $\mu \cdot \tau$ является, по сути, временным критерием подобия. Его можно обозначить несколько иначе, а именно τ/T , где $T = 1/\mu$ – это какое-то характерное время. Выбор характерного времени будет зависеть от постановки задачи. При культивировании микроорганизмов за характерное время может быть принято время удвоения биомассы. Конечно, применение теории подобия в технологии биосинтеза – задача не простая, но попытки сделать это не такие уж и безнадёжные.

Заканчивая анализ уравнений (1.30), (2.22)–(2.29) или уравнений (2.34)–(2.40), отметим, что они представляют собой математическую модель кинетики периодического культивирования микроорганизмов и позволяют прогнозировать изменение концентрации

биомассы во времени и решать вполне конкретные технологические задачи.

Однако уравнения (2.34)–(2.40) нельзя считать окончательными. Они ещё недостаточно совершенны. Не совсем ясно, что следует принимать за характерный размер при вычислении максимального масштаба турбулентности. Необходимы дальнейшие экспериментальные исследования по культивированию микроорганизмов с расширением диапазонов изменения параметров, влияющих на скорость прироста биомассы.

Уравнения (2.22)–(2.29) или (2.34)–(2.40) справедливы в пределах изменения удельного расхода q от 11 до 214,3 л/ч и S_n от 0,028 до 0,108. Пределы изменения величины η_{\max} указать невозможно, так как они зависят от конструктивных особенностей культиватора и физических свойств жидкости. Для конкретного случая культивирования, описанного в данном учебном пособии, значение η_{\max} менялось от 80 до 200.

Сравнивая результаты исследований по культивированию дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* без принудительной подачи воздуха в культуральную среду с исследованиями в условиях принудительной аэрации, отметим, что аэрация существенным образом влияет на кинетику развития биологических процессов. Во-первых, удельная относительная скорость прироста биомассы γ в уравнении (1.30) при нулевом расходе воздуха и начальном засеве $x_n = \text{const}$ с увеличением начальной концентрации субстрата S_n возрастает (см. рис. 2.3, а). При аэрации в пределах, ограниченных условиями эксперимента, независимо от расхода воздуха картина противоположная. Во-вторых, темп прироста биомассы n при нулевом расходе воздуха меньше единицы. При аэрации он в большинстве случаев выше единицы и только при высоких начальных концентрациях субстрата S_n и малом расходе воздуха становится меньше единицы.

Несмотря на некоторые неточности полученных уравнений, все же можно сделать вывод, что они позволяют с определенной точностью описать развитие сложной биологической системы единой системой математических уравнений. Для совершенствования математических моделей культивирования необходимы новые, более тщательно выполненные эксперименты по культивированию различных видов микроорганизмов в разных гидродинамических условиях.

При аэробном культивировании развитие клеток дрожжей, как правило, происходит при дефиците кислорода в культуральной среде, так как скорость его потребления клетками выше скорости растворе-

ния. При сбалансированном питании клеток и определённой скорости растворения кислорода, соответствующей данной гидродинамической обстановке, в ферментёре автоматически устанавливается вполне определённая скорость прироста биомассы. Чтобы увеличить скорость развития клеток, необходимо, с одной стороны, интенсифицировать процесс растворения кислорода, а с другой – обеспечить высокую скорость потребления питательных веществ самой клеткой.

Поскольку вопросы интенсификации процессов культивирования приобретают первостепенное значение в развитии микробиологических производств, остановимся на них несколько подробнее.

2.4. Пути интенсификации процессов культивирования

Из всего сказанного ранее вытекают две взаимосвязанные задачи: во-первых, обеспечить высокую скорость подвода питания к поверхности клетки и отвода продуктов метаболизма от неё; во-вторых, обеспечить высокую скорость транспортирования продуктов питания через клеточную мембрану внутрь клетки и переработку их клеткой. Назовём первую задачу внешним фактором интенсификации, а вторую – внутренним.

Первый фактор во многом определяется гидродинамическими условиями в культиваторе. Поэтому вполне понятно стремление учёных и инженеров-практиков к созданию таких аппаратов, в которых растворение кислорода и подвод продуктов питания к поверхности клетки происходили бы с максимальной скоростью. Для этой цели разрабатываются различные конструкции барбатёров, диспергаторов воздуха, устанавливаются всевозможные перемешивающие устройства и т. п.

Была сделана попытка связать скорость прироста биомассы с гидродинамическими условиями в культиваторе. Так, в уравнении (2.33) относительная удельная скорость γ и темп прироста биомассы n (2.34) были выражены через максимальный масштаб турбулентности η_{\max} [уравнения (2.30)–(2.40)] и начальное содержание субстрата (начальная концентрация сахаров определяет физические свойства среды). В дальнейшем наша задача будет связана с определением максимального масштаба турбулентности в культиваторе той или иной конструкции. Эти вопросы подробно рассматриваются в работе [9].

Второй фактор связан с чисто биологическим состоянием клетки, которое определяет скорость переработки ею субстрата и выделения продуктов метаболизма.

Наличие двух факторов предопределяет два основных направления интенсификации процесса культивирования – за счёт совершенствования технологии культивирования и за счёт совершенствования конструкции ферментативного оборудования. Последнее направление как раз и связано с гидродинамикой движения среды в аппарате.

Совершенствование технологии может осуществляться, во-первых, за счёт внутренних возможностей самих клеток и, во-вторых, путем создания внешних комфортных условий их развития.

К первому относится применение различного рода стимуляторов, которые интенсифицируют процессы внутриклеточного синтеза. В данном учебном пособии вопросы интенсификации процесса культивирования за счёт ускорения метаболических процессов внутри клетки детально не анализируются. Мы будем касаться их постольку, поскольку они будут связаны с внешними факторами. Надо иметь в виду, что попытки увеличить интенсивность прироста биомассы только за счёт внутренних возможностей клетки могут закончиться неудачей, если не обеспечить внешние условия для ускоренного подвода питательных веществ к поверхности клетки из культуральной жидкости.

К внешним комфортным условиям относятся подбор оптимального температурного режима, рН среды и т. п. Выбор температуры и рН среды диктуется технологическими условиями того или иного процесса. Так, при культивировании пекарских дрожжей рекомендуемая температура составляет 30–32 °С. При культивировании с высокой концентрацией биомассы и низкой кратностью разбавления мелассы, в целях снижения вязкости среды, температуру можно поднять до 35–36 °С.

Культивирование чистых культур пивных дрожжей низового брожения рекомендуется проводить при температуре 12–15 °С. Выбор такого режима объясняется тем, что культивирование при более высоких значениях температуры приводит к температурному шоку дрожжевых клеток после внесения их в пивное сусло, брожение которого проводится при температуре 11–14 °С.

Однако экспериментальные исследования по культивированию чистой культуры пивных дрожжей в кожухотрубном струйно-инжекционном аппарате при температуре 30 °С показали, что скорость прироста биомассы значительно возросла по сравнению с традиционной технологией, а дрожжи, полученные таким образом, не испытывают температурного шока после внесения их в холодное сусло. Эти исследования говорят о том, что в вопросах выбора температурных режимов культивирования пивных дрожжей ещё не всё ясно и необходимы дальнейшие исследования в этой области.

Некоторыми исследователями была предпринята попытка интенсифицировать процесс культивирования пекарских дрожжей применением режима переменных температур. Идея заключалась в периодическом изменении температуры в культиваторе от 20 до 30 °С и обратно через каждый час. Однако никакого ускорения развития клеток по сравнению с режимом с постоянной температурой (30 °С) обнаружено не было.

Другие исследователи для увеличения скорости растворения кислорода рекомендуют добавлять в культуральную среду вещества (в основном ПАВ), облегчающие транспортирование кислорода к клеткам. Для этой цели использовались эфир янтарной кислоты и полиоксиэтилированный высший спирт. Авторы предполагают, что увеличение скорости абсорбции кислорода связано с его растворимостью как в воде, так и в ПАВ. Соотношение этих скоростей и определяет скорость абсорбции кислорода в воде в начальный период.

К технологическим методам можно отнести применение отъёмно-доливного способа культивирования; отказ от химического пеногашения, как ухудшающего массообменные характеристики культиватора, и т. п. Ссылки на работы, связанные с интенсификацией культивирования микроорганизмов за счёт внешних условий, даны в работе [9].

Интенсификация процессов переноса массы и теплоты за счёт изменения гидродинамической обстановки в культиваторе связана со степенью развития турбулентности в жидкой фазе, которая, в свою очередь, зависит от конструктивных особенностей культиваторов. Степень турбулентности определяется количеством энергии, вводимой в объём жидкости в единицу времени. Иными словами, скорость диссипации энергии, называемой ещё удельной мощностью,

$$E = \frac{N}{V}, \quad (2.41)$$

где N – мощность источника турбулентности; V – объём жидкости.

Диссипацию энергии использовали многие исследователи при моделировании процессов переноса теплоты и массы [9–11]. Однако в некоторых работах высказывается сомнение в использовании при моделировании микробиологических процессов одной лишь удельной мощности. Считается, что не менее важной характеристикой является время перемешивания до получения однородной среды по всему объёму жидкости. Так, в работе В.А. Бирюкова и В.М. Кантере [12] время перемешивания $\tau_{\text{п}} \sim E^{-0,37}$. Если принять за основу эту пропорциональность, то всё равно диссипация энергии остаётся если не единственным, то наиболее важным фактором в моделировании тепло- и массообменных процессов в аппаратах микробиологического синтеза. Источниками турбулентности могут быть: барботируемый в жидкость воздух, механические мешалки, жидкие свободные и затопленные струи и т. п. [9; 11].

Таким образом, пути интенсификации биологических процессов могут быть разными, но в любом случае интенсификация прироста биомассы неизбежно приводит к увеличению выделения биологического тепла, вследствие чего возникает другая проблема – интенсификация процесса отвода теплоты от культуральной среды.

Следовательно, при аэробном культивировании процессы развития клеток, переноса массы, теплоты и импульса связаны самым непосредственным образом. Проблема – найти зависимости, связывающие их. Первая задача будет заключаться в установлении связи между скоростью прироста биомассы и скоростью переноса массы кислорода от воздушного пузырька к поверхности клеток; вторая – в установлении связи между скоростью прироста биомассы и скоростью отвода теплоты от культуральной среды.

Такова последовательность поиска путей интенсификации процессов биологического синтеза. Однако отыскать эти пути чрезвычайно сложно, не изучив кинетические закономерности биологических процессов и не имея уравнений, описывающих их.

3. ПОИСК МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ НЕКОТОРЫХ ПРОЦЕССОВ БРОЖЕНИЯ

В данном разделе учебного пособия рассмотрим примеры поиска математических моделей некоторых биологических процессов, протекающих при сбраживании углеводов, в целях получения алкогольных и слабоалкогольных напитков. В ходе брожения происходит множество взаимосвязанных биохимических реакций, в результате которых размножаются клетки микроорганизмов и образуются вещества, определяющие в конечном итоге качественные показатели готового продукта.

Будут приведены только два примера поиска математических моделей кинетики биологических процессов, определяющих скорость процесса сбраживания сусла и качество готового пива, – влияние кислорода и диацетила.

3.1. Влияние кислорода на кинетику биологических процессов при сбраживании пивного сусла

Однозначного ответа на вопрос, какое влияние и на каком технологическом этапе кислород оказывает на качество готового пива, до сих пор нет. Общее убеждение состоит в том, что аэрация сусла негативно влияет на его качество, ухудшает вкус, цвет и стабильность при хранении. Объясняются эти факты окислительными процессами, протекающими в сусле и готовом пиве. Поэтому процессы затирания и варки стараются вести при условиях, предотвращающих попадание кислорода в сусло. Однако все усилия, предпринятые в ходе предыдущих этапов, могут быть сведены на нет из-за проникновения кислорода в продукт в процессе фильтрации.

Следует отметить также наличие сведений том, что кислород не оказывает значительного влияния на вкусовые качества готового пива. В работе [13] приводятся данные исследований по варке сусла в котле с выносным теплообменником и эрлифтной циркуляцией продукта. Следует обратить внимание на то, что исследования по выяснению влияния аэрации на химический состав пива и его коллоидную стабильность в процессе хранения не проводились. Поэтому выводы авторов работы [13] требуют дополнительной проверки.

Результаты исследований авторы объясняют незначительным содержанием кислорода в сусле при температуре варки. К сожалению, данных по равновесному состоянию системы сусло–кислород в справочной литературе очень мало.

В работе [14] приведена растворимость кислорода в сусле при давлении 760 мм рт. ст. в диапазоне изменения температуры от 0 до 20 °С. Данные по растворимости при более высоких значениях температуры вообще отсутствуют. Если предположить, что отношение концентрации кислорода в воде C_{O_2} к концентрации его в сусле C_{CO_2} останется постоянным на уровне 1,5, то при $T = 100$ °С $C_{O_2} = 5,26 \cdot 10^{-3}$ кг/м³, а $C_{CO_2} = 3,5 \cdot 10^{-3}$ кг/м³.

Таким образом, для растворов при высокой температуре величина равновесной концентрации кислорода невелика. Если к этому прибавить незначительную продолжительность варки при относительно низких скоростях окислительных реакций, то вполне возможно, что авторы работы [13] правы в своих выводах.

В работе [15] отмечается, что при повышенной температуре кислород способствует процессам окисления углеводов, азотосодержащих и горьких веществ и полифенолов. Окисление может стимулировать коагуляцию белка и белково-дубильных соединений, способствуя тем самым процессам осветляемости сусла.

В процессах, притекающих при низких значениях температуры и длительное время (например, при сбраживании и дображивании сусла), количество растворённого кислорода в жидкой среде будет больше. Кроме того, следует иметь в виду, что часто сусло перед брожением аэрируют для улучшения снабжения дрожжевых клеток кислородом. Поэтому значение кислорода при протекании биологических и химических процессов в указанных условиях, безусловно, важно. Особого внимания требуют процессы брожения и дображивания сусла, так как они в конечном итоге определяют качественные показатели готового пива.

Прежде чем переходить к изучению влияния кислорода на качество готового пива, необходимо разобраться в том, как протекают во времени процессы, связанные с брожением.

В рассматриваемом случае использованы результаты экспериментальных и теоретических исследований, которые заключались в установлении влияния условий аэрации и температуры на кинетику

потребления клетками кислорода, снижение концентрации сухих веществ в процессе главного брожения и на интенсивность размножения дрожжевых клеток [16].

Для брожения были использованы низовые дрожжи штамма RH третьей генерации. Норма внесения дрожжевых клеток составляла 15 млн клеток/мл (3 % мёртвых). Начальная плотность суслу составляла 11,8 %. Брожение проводилось в течение 7 сут в производственных условиях при температуре 11, 16 и 20 °С. Брожение осуществлялось без аэрации и с аэрацией суслу и засевных дрожжей в производственных условиях.

Методика определения концентрации кислорода. Концентрацию кислорода определяли с помощью анализатора растворенного кислорода МАРК-404. Анализатор предназначен для определения растворенного кислорода как в пиве, так и в воде.

Измерение концентрации кислорода производилось в пробе суслу, которая отбиралась из танка брожения через каждые 0,5 ч в течение 4 ч. Измерения производились при температуре 11, 16 и 20 °С. Первая проба отбиралась до внесения дрожжей в сусло. Далее пробы отбирались в процессе брожения.

Результаты экспериментальных данных кинетики потребления кислорода клетками, полученных в условиях аэрации суслу воздухом при температуре 11 °С, представлены на рис. 3.1. Значения концентрации на рисунке даны в размерном виде C_{CO_2} и безразмерном виде $\bar{C}_{\text{CO}_2} = C_{\text{CO}_2} / C_{\text{CH}_2\text{O}_2}$, где $C_{\text{CH}_2\text{O}_2}$ – начальная концентрация кислорода в сусле. В дальнейшем мы, как и прежде, будем в основном пользоваться безразмерными параметрами, так как это позволит нам не зависеть от размерности при сравнительной оценке наших результатов исследования с данными других авторов.

По рис. 3.1 хорошо видно, что интенсивное потребление кислорода клетками происходит в первые 1,5–2 ч. В этом промежутке времени концентрация кислорода в сусле падает примерно в пять–семь раз по отношению к начальной, соответствующей равновесной величине при заданной температуре. По графикам видно также, что с увеличением температуры скорость потребления кислорода клетками несколько увеличивается.

Переход к безразмерным координатам принципиально ничего не изменил. Приведённые на рис. 3.1, б опытные данные можно

с достаточной степенью точности аппроксимировать простой экспоненциальной зависимостью вида

$$\bar{C}_{\text{CO}_2} = e^{-\mu\tau}, \quad (3.1)$$

где μ – удельная скорость потребления кислорода клетками дрожжей.

Зависимость удельной скорости от температуры можно выразить эмпирическим уравнением

$$\mu = 0,844 + 1,1 \cdot 10^{-4} T^{2,73}. \quad (3.2)$$

В уравнении (3.2) температура T выражена в градусах Цельсия.

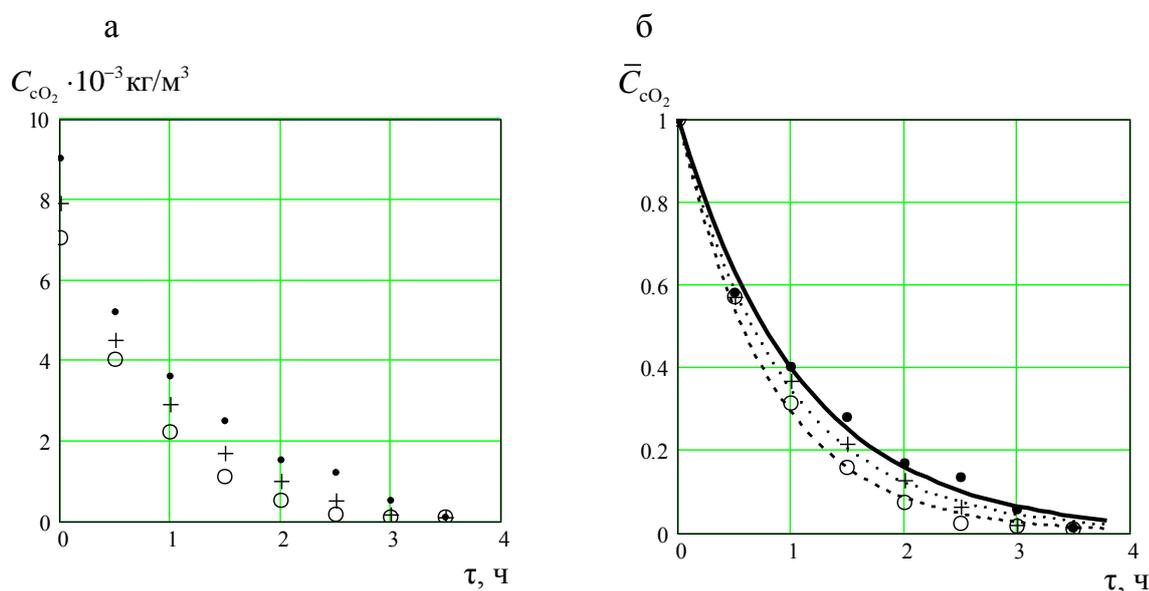


Рис. 3.1. Изменение концентрации кислорода в сусле в процессе брожения:

а – в размерном виде; б – в безразмерном виде

Обозначения: ● – 11 °С; + – 16 °С; ○ – 20 °С

Линии: — — 11 °С, --- — 20 °С согласно уравнениям (3.1) и (3.2)

Недостаток уравнения (3.1) в том, что, согласно ему, при $\tau \rightarrow \infty$ $\bar{C}_{\text{CO}_2} \rightarrow 0$, что мало вероятно. При достижении определённой минимальной концентрации содержание кислорода в сусле остаётся на постоянном уровне (примерно 0,1 мг/л). В этой связи обратим внимание то, что, независимо от температуры, через 3,5–4 ч брожения все экспериментальные данные сошлись в одной точке $\bar{C}_{\text{CO}_2} \approx 0,011$. Возможно, это и есть тот минимум, к которому стремится концентрация

кислорода, после чего происходит изменение метаболических процессов внутри клетки.

Можно подобрать математическую модель более сложного вида, которая удовлетворяла бы требованию постоянства $\bar{C}_{CO_2} = \text{const}$ при $\tau \rightarrow \infty$, но в этом нет необходимости, так как на практике процесс брожения ограничен во времени. Бóльший интерес представляют исследования по выяснению влияния на развитие дрожжевых клеток и их физиологическое состояние таких факторов, как изменение условий аэрации, величина начального засева, выбор штамма дрожжей и т. п.

Результаты исследований влияния условий аэрации на изменение концентрации клеток дрожжей, находящихся в сусле во взвешенном состоянии, представлены на рис. 3.2. Важность таких опытов заключается в том, что именно количество взвешенных клеток определяет скорость сбраживания суслу.

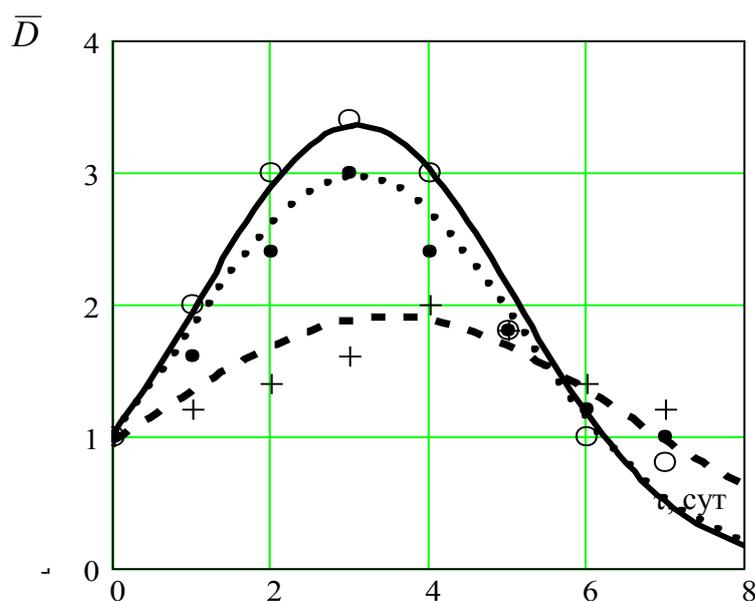


Рис. 3.2. Изменение концентрации клеток в сусле
 Обозначения: \circ – при аэрации суслу; $+$ – без аэрации;
 \bullet – при аэрации дрожжей
 Линии соответствуют уравнению (3.3)

Исследования проводились в течение 7 сут при 11 °С. Измерения количества взвешенных дрожжей осуществлялись методом отбора проб из бродильного танка. Пробы отбирались через сутки из зо-

ны, находящейся на расстоянии 1,2 м от свободной поверхности сусла, что составляет примерно 1/3 от всей высоты аппарата.

Изменения концентрации клеток во времени даны на рис. 3.2 в безразмерном виде $\bar{D} = D/D_n$, где D_n и D – размерные значения начальной и текущей концентрации клеток.

Как видно из рис. 3.2, функциональная зависимость $\bar{D}(\tau)$ имеет выраженный максимум. Опытные результаты в исследуемом промежутке времени можно с высокой точностью аппроксимировать полиномом четвёртой степени. Однако в таком случае в широком диапазоне изменения времени функция $D(\tau)$ будет иметь несколько экстремумов, лишённых какого-либо смысла. Уравнением, менее точно описывающим опытные данные, но имеющим определённый физический смысл, может служить уравнение Гаусса

$$\bar{D} = ae^p, \text{ где } p = \frac{-0,5(\tau - b)^2}{c^2}. \quad (3.3)$$

В точке максимума скорость прироста биомассы равна нулю. Определить её можно, приравняв к нулю производную по времени функции (3.3):

$$\frac{d\bar{D}}{d\tau} = \frac{-a(\tau - b)}{c^2} e^p = 0. \quad (3.3a)$$

Равенство (3.3a) возможно при условии $b = \tau$. В таком случае из уравнения (3.3a) следует, что a есть максимальное значение концентрации взвешенных клеток в сусле, а b имеет вполне определённый физический смысл – это время достижения максимума. При $\tau < b$ $p > 0$ и $d\bar{D}/d\tau > 0$, т. е. количество взвешенных клеток постоянно увеличивается. После достижения максимума τ становится больше b , $p < 0$, $d\bar{D}/d\tau < 0$, следовательно, количество взвешенных клеток будет снижаться и стремиться к нулю. Коэффициент c , так же как и b , имеет размерность времени. Он не имеет какого-то определённого физического смысла, но играет в уравнении (3.3) корректирующую роль таким образом, что при определённых значениях коэффициентов a и b величина \bar{D} соответствует её начальному значению (в нашем случае $\bar{D}_n = 1$).

Коэффициенты a , b и c в уравнениях (3.3) и (3.3а) находят экспериментально; они должны зависеть от штамма засевных дрожжей, качества солода, технологии затирания и т. п. Как сильна будет эта зависимость, может ответить только эксперимент. Значения коэффициентов для разных условий аэрации, полученных авторами работы [16], приведены в табл. 3.1. Из таблицы видно, что наихудшие показатели имеет вариант без аэрации. Вариант с аэрацией суслу имеет несколько больший максимум по сравнению с аэрацией дрожжей.

Таблица 3.1

Условия аэрации	Значения коэффициентов		
	a	$b, ч$	$c, ч$
Без аэрирования	1,9	3,5	3,088
Предварительная аэрация суслу	3,35	3,1	2
Предварительная аэрация засевных дрожжей	2,96	3	2,037

Комментируя табл. 3.1 и рис 3.2, отметим, что условия аэрации существенным образом влияют на прирост клеток. Максимумы функций $D(\tau)$ расположены в промежутке времени 3–4 сут. При сбраживании предварительно аэрированного суслу и проведении брожения аэрированными дрожжами максимумы концентраций взвешенных клеток близки по величине и достигаются примерно за 3 ч. В процессе брожения без аэрации клетки развиваются значительно медленнее и их максимальная концентрация почти в два раза меньше, вследствие чего снижается скорость брожения.

О скорости брожения можно судить по изменению концентрации сухих веществ в сусле. Кинетика изменения концентрации сухих веществ во времени при температуре сбраживания 11 °С и различных условиях аэрации представлена на рис. 3.3. При остальных значениях температуры характер изменения концентрации сухих веществ во времени остаётся примерно таким же.

Согласно рис. 3.3, изменение концентрации сухих веществ в сусле происходит по S-образному закону. Опытные точки можно описать уравнением вида

$$\bar{S} = \frac{1}{1 + (\gamma_s \tau)^{n_s}}, \quad (3.4)$$

где $\bar{S} = S/S_H$ – безразмерная концентрация сухих веществ, здесь S и S_H – размерные значения, соответственно, текущей и начальной концентрации сухих веществ; γ_s и n_s – параметры, определяемые экспериментально.

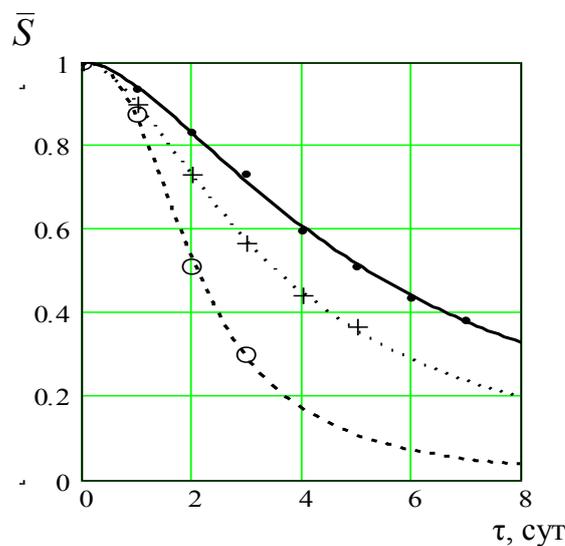


Рис. 3.3. Изменение безразмерной концентрации в сусле сухих веществ
Обозначения опытных данных – см. рис. 3.2
Линии соответствуют уравнению (3.4)

Численные значения параметров γ_s и n_s приведены в табл. 3.2, из которой видно, что наибольшая относительная удельная скорость снижения концентрации сухих веществ наблюдается в сусле, которое сбразживалось аэрированными дрожжами. Что касается показателя степени n_s , то здесь результаты оказались несколько неожиданными. При сбразживании без аэрации и с аэрацией сула n_s оказался одним и тем же, не зависящим от температуры; при сбразживании же аэрированными дрожжами n_s резко снижается.

Таблица 3.2

$T, ^\circ\text{C}$	Без аэрации		Аэрация сусле		Аэрация дрожжей	
	γ_s	n_s	γ_s	n_s	γ_s	n_s
11	0,193	1,64	0,281	1,64	0,475	2,46
16	0,27	1,64	0,329	1,64	0,608	1,732
20	0,323	1,64	0,568	1,64	0,964	0,9

Поскольку наилучшие показатели сбраживаемости получились при использовании аэрированных дрожжей, то в дальнейшем будет в основном вестись обработка опытных данных этого варианта аэрирования.

Обработка опытных данных показала, что зависимость γ_s и n_s от температуры можно выразить степенными уравнениями, которые в случае аэрирования дрожжей в пределах, ограниченных условиями эксперимента, примут вид

$$\gamma_s = 0,383 + 1,6 \cdot 10^{-5} T^{3,5};$$

$$n_s = 3,012 - 0,00254 T^{2,243}.$$

Из уравнения (3.4) можно доказать, что $1/\gamma_s$ есть время снижения концентрации в два раза, т. е. $\bar{S} = 0,5$. Произведение $\gamma_s \tau$ можно назвать безразмерным временем, являющимся своеобразным критерием подобия биологических процессов. По своей физической сущности γ_s представляет собой удельную относительную скорость изменения концентрации субстрата в сусле относительно начальной концентрации. Показатель степени n_s влияет на форму кривых и определяет темп протекания процесса.

Анализируя уравнения (3.1)–(3.4), рис. 3.1–3.3, можно представить себе протекание исследуемых кинетических процессов следующим образом. Дрожжи после внесения их в сусле сразу же начинают интенсивно потреблять кислород в течение 1,5–2 ч. Скорость его потребления наибольшая у дрожжей, предварительно активированных аэрацией (см. рис. 3.1). В это время клетки только накапливают энергию перед дальнейшим развитием и слабо потребляют субстрат (на рис. 3.3 прослеживается лаг-фаза). Количество взвешенных

клеток в это же время увеличивается медленно. Их интенсивный рост начинается с окончанием лаг-фазы, когда начинается интенсивное потребление субстрата. Причём наибольшая скорость его потребления происходит аэрированными дрожжами.

Количество взвешенных дрожжей продолжает расти в течение 3–4 сут (см. рис. 3.2) в зависимости от условий аэрации до тех пор, пока не начнёт снижаться скорость потребления субстрата (это происходит в течение тех же 3–4 сут). После этого дрожжи начинают оседать, их концентрация падает и при $\tau \rightarrow \infty$ количество взвешенных клеток, согласно уравнению (3.4), будет стремиться к нулю. В действительности же концентрация дрожжей при $\tau \rightarrow \infty$ будет оставаться постоянной, т. е. уравнение (3.4) не достаточно точно отражает реальный процесс. Принципиального значения эта неточность не имеет, так как по чисто технологическим причинам брожение прекращается через определённое количество суток.

Таким образом, исследования, выполненные в производственных условиях, показали:

- из трех вариантов брожения: без аэрации суслу, с предварительной его аэрацией и предварительной аэрацией дрожжей наилучшие кинетические показатели у последнего варианта;
- полученные на основе опытов математические зависимости с достаточной степенью точности описывают экспериментальные результаты и позволяют более глубоко проникнуть в суть процессов, протекающих в бродильных аппаратах.

3.2. Влияние некоторых факторов на кинетику образования диацетила в процессе брожения пивного суслу

Вкус пива и его аромат зависят от множества присутствующих в нём вкусо-ароматических компонентов, образующихся на различных технологических стадиях. Такими компонентами являются спирты, эфиры, органические кислоты, карбонильные соединения, сульфосоединения и пр. Многие из указанных компонентов образуются на стадии сбраживания суслу. Присутствие некоторых из них в концентрациях, превышающих порог ощущения, приводит к ухудшению вкуса и запаха пива. Одним из таких соединений является диацетил, который придает напитку молочный запах и прогорклый маслянистый привкус.

Образование вицинальных дикетонов (ВДК), к которым относится диацетил, представляет собой сложный процесс, сопряженный как с метаболизмом дрожжей (биосинтез ацетогидроксикислот), так и с химическими превращениями (декарбоксилирование ацетокислот в бродящем сусле). Одновременно происходит восстановление синтезированных ВДК редуктазами дрожжевых клеток.

Помимо свойств дрожжей, их генетической природы, физиологического состояния и состава среды, на синтез ВДК влияют технологические параметры процесса: величина засева, концентрация в среде кислорода, температура процесса, длительность заполнения танков суслом и режим аэрации варок. Установлено, что скорость окислительного декарбоксилирования, т. е. окисление ацетогидроксикислоты до диацетила, повышается со снижением величины рН (оптимальные значения 4,2–4,4), с повышением температуры и концентрации O_2 в сусле. Скорость редукции диацетила также возрастает с повышением температуры и снижением величины рН, но для прохождения этого процесса необходимым условием является отсутствие кислорода в среде.

Одним из регуляторных факторов биосинтеза и редукции диацетила является концентрация дрожжевых клеток в среде культивирования (в бродящем сусле), которая, в свою очередь, зависит от дозы внесения посевного материала.

В связи с указанными обстоятельствами знание закономерностей образования и восстановления диацетила и поиски возможности контроля за его содержанием в сусле в процессе брожения приобретают важное значение. В целях установления зависимости кинетики синтеза и восстановления диацетила от величины засева были проведены теоретические и экспериментальные исследования в производственных условиях пивоваренной компании «Балтика» [6]. Кроме того, была поставлена задача – на основе опытных данных найти эмпирические уравнения, которые позволяли бы прогнозировать течение процесса сбраживания во времени при изменении одного из параметров или обоих одновременно и давали бы возможность рассчитать концентрацию диацетила в любой момент времени.

Экспериментальные исследования по изучению кинетики синтеза диацетила проводились при разных концентрациях дрожжевых клеток (x_k , млн/мл) в начальном засеве и постоянной температуре

брожения $T = 6 \text{ }^\circ\text{C}$. Концентрации клеток в начальном засеве представлены в безразмерном виде как отношение $x_H = x_K / (10^6 \text{ млн/л})$.

Исследованию подвергалось сусло с начальной плотностью 12 %. В качестве посевного материала использовали штамм дрожжей низового брожения 34/70.

Результаты обработки опытных данных представлены на рис. 3.4, из которого видно, что функциональная зависимость концентрации диацетила D от времени τ имеет сложный вид и чётко выраженный максимум. С увеличением количества клеток в засевной культуре максимум функции возрастает, а время его достижения снижается.

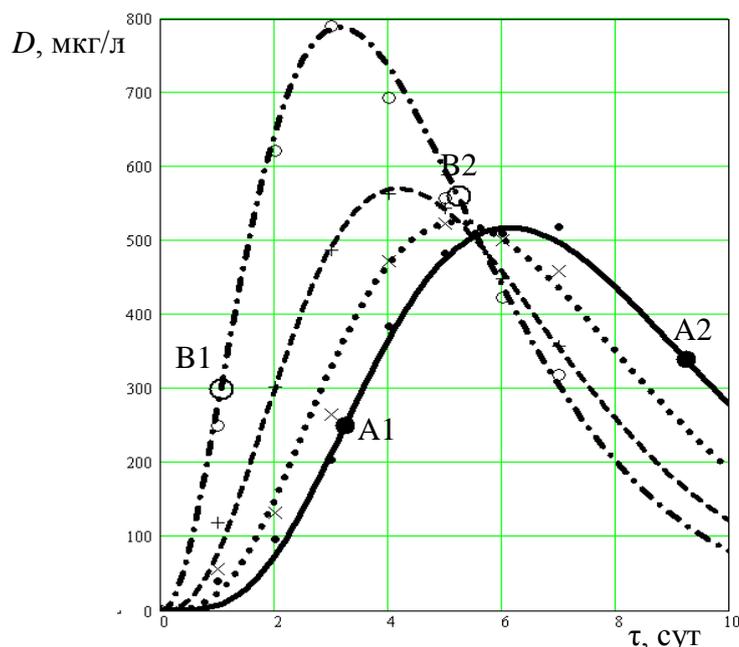


Рис. 3.4. Изменение диацетила в процессе брожения при различных засевах дрожжей при $T = 6 \text{ }^\circ\text{C}$

Обозначения: ●●● $x_H = 30$; ××× $x_H = 40$; +++ $x_H = 60$; ○○○ $x_H = 130$
 Линии соответствуют уравнениям (3.5)–(3.7) при $b = 0,49$

В поисках математической модели кинетики образования и восстановления диацетила могут быть использованы уравнения различного вида. Опытные результаты в исследуемом промежутке времени можно, к примеру, с высокой точностью аппроксимировать полиномом четвёртой степени. Однако в таком случае в широком диапазоне изменения времени τ функция $D(\tau)$ может иметь несколь-

ко экстремумов, лишённых какого-либо физико-биологического смысла. Уравнениями, менее точно описывающими опытные данные, но имеющими определённый физико-биологический смысл, могут служить модели “Hoerl” и “Gaussian”. Названия уравнений (моделей) заимствованы из программы CurveExpert. Рассмотрим первые две модели и оценим их положительные и отрицательные стороны.

Модель “Hoerl” имеет вид уравнения

$$D = ab^{\tau} \tau^c. \quad (3.5)$$

В начале процесса брожения количество диацетила в сусле можно принять равным нулю. Уравнение (3.5) соответствует этому условию, так как при $\tau = 0$ $D = 0$. Входящие в уравнение (3.5) коэффициенты a , b и показатель степени c зависят от начальной концентрации дрожжей в засеве и определяются экспериментально.

Для нахождения максимума функции $D(x_H)$ возьмём производную от уравнения (3.5) и приравняем её к нулю:

$$D' = \frac{dD}{d\tau} = \left(\ln b + c \frac{1}{\tau} \right) D. \quad (3.6)$$

Производная (3.6) будет равна нулю, если выражение в скобках равно нулю, т. е.

$$\left(\ln b + c \frac{1}{\tau} \right) = 0, \quad (3.7)$$

откуда следует, что время достижения максимального значения функции $D(\tau, x_H)$

$$\tau_{\max} = \frac{-c}{\ln b}. \quad (3.8)$$

Таким образом, время достижения максимума зависит только от коэффициентов b и c . Так как τ_{\max} имеет размерность времени, то из уравнения (3.8) следует, что b должно являться безразмерным коэффициентом пропорциональности. В таком случае показатель степени c должен иметь размерность времени.

Подставив в уравнение (3.5) выражение (3.8), получим значение максимума функции $D(\tau, x_H)$:

$$D_{\max} = ab^{\tau_{\max}} \tau_{\max}^c. \quad (3.9)$$

Поиск коэффициентов a , b и c из уравнений (3.5)–(3.9) производился путём компьютерной обработки опытных данных с помощью программ CurveExpert и MathCad. Для упрощения уравнений коэффициент принят постоянным, $b = 0,49$, хотя в действительности он несколько зависит от x_H .

Таким образом, величина τ_{\max} в уравнении (3.8) при постоянной температуре определяется только показателем степени c . Для вычисления значений a и c , которые зависят от начального засева, получены эмпирические уравнения вида

$$a = 1686e^{\frac{-142,12}{x_H}}; \quad (3.10)$$

$$c = \frac{2,038}{1 - 0,9e^{-0,0174x_H}}. \quad (3.11)$$

Уравнение (3.8) с учётом равенства (3.11) и $b = 0,49$ приводится к виду

$$\tau_{\max} = \frac{2,858}{1 - 0,9e^{-0,0174x_H}}. \quad (3.12)$$

Зависимость максимальных значений концентрации диацетила от начальных значений концентрации засевных дрожжей может быть представлена уравнением, имеющим название Weibul Model:

$$D_{\max} = 1223 - 735,9e^{-4,81 \cdot 10^{-5} x_H^{1,91}}. \quad (3.13)$$

Уравнение (3.13) пригодно в пределах изменения x_H от 30 до 130.

Производная (3.6) представляет собой скорость изменения содержания диацетила в сусле в процессе брожения и имеет сложную функциональную зависимость от времени и начальной концентрации

засевных дрожжей. При $D = D_{\max}$ $D' = 0$. В качестве примера на рис. 3.5 зависимость $D'(\tau, x_H)$ представлена в графическом виде для $x_H = 30$ и 130. На рисунке видно, что функция $D'(\tau, x_H)$ имеет два экстремума. Максимальное значение функции определяет максимальную скорость образования диацетила, а минимальное – максимальную скорость восстановления.

Если сопоставить рис. (3.4) и (3.5), то можно заметить, что время достижения максимума и минимума функции $D'(\tau, x_H)$ на рис. 3.5 соответствует на рис. 3.4 точкам, в которых функция претерпевает перегиб. На рис. 3.4 точки A1 и A2 и относятся к $x_H = 30$, B1 и B2 – к $x_H = 130$.

В производственных условиях часто бывает необходимо определение времени τ_j восстановления диацетила до определённого значения D_j . В этом случае время τ_j находят из уравнения (3.5) методом последовательных приближений. При работе с системой MathCad можно воспользоваться подпрограммой MinErr.

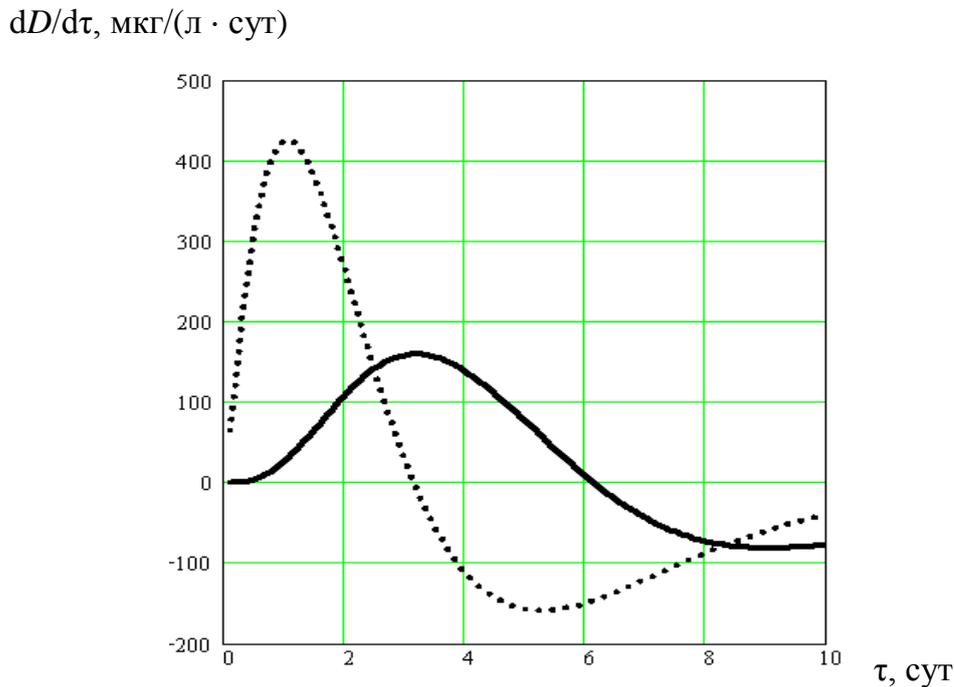


Рис. 3.5. Зависимость скорости изменения содержания диацетила в сусле в процессе брожения
 Обозначения: ●●● – $x_H = 30$; — — — $x_H = 130$

Уравнения типа (3.5) имеют один существенный недостаток, суть которого сводится к следующему. Размерность левой части равенства (3.5) должна быть одинакова с размерностью правой части. Показатель степени при коэффициенте b имеет размерность времени. Тогда непонятно, какова размерность величины b^τ . Формально такая обработка опытных данных допустима, хотя и не полностью отражает суть рассматриваемого процесса.

Строго говоря, показатели степеней должны быть безразмерными, но для этого уравнение (3.5) следует представить в ином виде:

$$D = a_1 b_1^{k\tau} \tau^{fc_1}. \quad (3.14)$$

Чтобы показатели степени при b_1 и τ были безразмерными, коэффициенты k и f должны иметь размерность, обратную времени.

В уравнении (3.5) предполагается, что коэффициенты k и f равны единице. В уравнении (3.14), скорее всего, k и f будут отличаться от единицы. Для ответа на вопрос, насколько они будут отличаться, необходимо провести обработку опытных данных по уравнению (3.14). Однако поиск пяти неизвестных коэффициентов в уравнении (3.14) – задача, несомненно, значительно более сложная, чем трёх – в уравнении (3.5). Поэтому ограничимся пока уравнением (3.5).

Обработку экспериментальных данных можно провести в безразмерных координатах $\bar{D} = D / D_{\max}$ и $\bar{t} = \tau / \tau_{\max}$. Результаты такой обработки показаны на рис. 3.6. В таком варианте все опытные точки можно аппроксимировать одним уравнением. На рис. 3.6 представлены два варианта аппроксимации, соответствующие двум различным уравнениям

$$\bar{D} = 22 \cdot 0,0456 \bar{t}^{-3}; \quad (3.15)$$

$$\bar{D} = \frac{0,56 \bar{t}}{1 - 1,44 \bar{t} + \bar{t}^2}. \quad (3.16)$$

Уравнение (3.15) аналогично уравнению (3.5), но менее точно соответствует опытным данным в области снижения диацетила, чем уравнение (3.16). В области увеличения концентрации диацетила точность уравнений примерно одинакова.

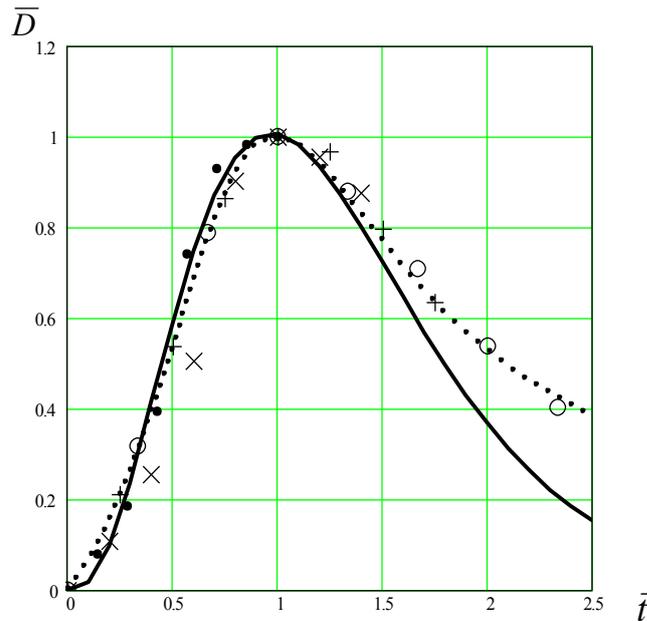


Рис. 3.6. График изменения концентрации диацетила в процессе брожения сула в безразмерных координатах
 Обозначения: — — уравнение (3.15); ●●● — уравнение (3.16)

Особенность уравнений типа (3.5) и (3.16) – отсутствие симметричности кривых относительно вертикальной оси, проходящей через максимум функции. В рассматриваемом нами случае говорится о том, что скорость увеличения концентрации диацетила выше скорости её снижения.

Модель “Gaussian” имеет вид уравнения (3.3). Запишем его для удобства с другими обозначениями:

$$D_g = a_g e^p, \quad (3.17)$$

где $p = \frac{(b_g - \tau)^2}{2c_g^2}$.

Максимум функции $D_g(\tau)$ определим, приравняв к нулю производную этой функции по времени, характеризующую скорость изменения концентрации диацетила в бродильном аппарате:

$$\frac{dD_g}{d\tau} = \frac{a_g (b_g - \tau)}{c_g^2} e^p = 0. \quad (3.18)$$

Равенство (3.18) возможно при условии $b_g = \tau$. В таком случае из уравнения (3.17) следует, что $a_g = D_{g \max}$ определяет максимальное значение концентрации диацетила в сусле, а $b_g = \tau_{g \max}$ – это время достижения максимума. Так как коэффициент p не имеет размерности, то $c_g = \tau_p$, так же как и τ и b_g , имеет размерность времени и определяет время, при котором происходит перегиб функции. Обработка экспериментальных данных позволила получить следующие уравнения для расчёта значений $D_{g \max}$, $\tau_{g \max}$ и τ_p :

$$D_{g \max} = 1348 - 851e^{-3,97 \cdot 10^{-5} x_n^{1,9}}; \quad (3.19)$$

$$\tau_{g \max} = 7,44 - 4,78e^{-262 x_n^{-1,6}}; \quad (3.20)$$

$$\tau_p = 3,82 - 2,37e^{-210 x_n^{-1,86}}. \quad (3.21)$$

С учётом равенств (3.19)–(3.21) уравнение (3.17) примет вид

$$D_g = D_{g \max} e^p, \quad p = \frac{(\tau_{g \max} - \tau)^2}{2\tau_p^2}. \quad (3.22)$$

Согласно уравнениям (3.18)–(3.21), при $x_n \rightarrow 0$ значения $\tau_{g \max}$ и τ_p стремятся к постоянным максимальным величинам, значение $D_{g \max}$ – к минимальной. При $x_n \rightarrow \infty$ $\tau_{g \max}$ и τ_p стремятся к постоянным минимальным величинам, $D_{g \max}$ – к максимальной.

Недостатком модели “Gaussian” является то обстоятельство, что при $\tau = 0$ функция $D_g(\tau, x_n)$ не равна нулю. В действительности концентрация диацетила в начальный момент времени равна нулю или, по крайней мере, близка к нему.

Исследования показали, что на изменение концентрации диацетила в сбраживаемом сусле, а следовательно, и на процесс брожения в целом в значительной степени влияет величина начального засева дрожжей.

Сравнивая выбранные для описания кинетики образования и восстановления диацетила математические модели, можно сказать, что модель “Hoerl” более точно описывает опытные данные в широком диапазоне изменения времени, чем модель “Gaussian”. Однако придать входящим в уравнение (3.5) какой-то физико-биологический смысл довольно сложно.

Модель “Gaussian” в отличие от модели “Hoerl” менее точна, но входящие в неё коэффициенты имеют вполне определённый физико-биологический смысл. Моделью “Gaussian” можно достаточно точно аппроксимировать опытные данные, относящиеся к восходящей ветви кривой, но для описания процесса восстановления диацетила она недостаточно точна.

Выбор моделей нельзя считать окончательным. Для их уточнения необходимы дальнейшие исследования по выяснению влияния на кинетику образования диацетила других факторов, в том числе влияние на ход сбраживания сусла, с учётом их взаимосвязи. К таким факторам можно отнести кинетику размножения дрожжевых клеток, влияние на процесс брожения температуры, концентрации растворённого в сусле кислорода и пр.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Примеры обработки опытных данных и получения на их основе уравнений математических моделей различных биологических процессов, представленные в данном учебном пособии, позволяют сделать вывод о том, что, несмотря на различие в видах, штаммах микроорганизмов и технологии их культивирования, многие из процессов описываются схожими уравнениями. Задача исследователей заключается в том, чтобы отыскать на основе этой общности единую математическую модель, адекватно отражающую кинетику протекания того или иного биологического процесса. Задача сложная, но необходимая и интересная.

Методики использования системы MathCad и программы CurveExpert при обработке опытных данных, описанные в учебном пособии, не являются строго обязательными. Это только примеры. Система MathCad позволяет применять несколько вариантов решения одной и той же задачи. Если студент самостоятельно выберет пути решения, то это будет только приветствоваться.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Основная

1. **Гапонов К.П.** Процессы и аппараты микробиологических производств. – М.: Лёг. и пищ. пром-сть, 1981. – 339 с.
2. **Васильев Н.Н., Амбросов В.А., Складнев А.А.** Моделирование процессов микробиологического синтеза. – М.: Лесн. пром-сть, 1975. – 341 с.
3. **Рубин А.Б.** Кинетика биологических процессов // Соросовский образовательный журнал. 1998. № 10. С. 84–91.
4. **Арзамасцев А.А., Андреев А.Н.** О возможности использования различных моделей кинетики биосинтеза // Биофизика. 2001. Т. 46. № 6. С. 1048–1061.
5. **Арзамасцев А.А., Андреев А.Н.** Информационная модель фазовой гетерогенности роста клеток микроорганизмов и их популяций: III эукариоты // Вестник Томбовского университета. Сер. «Естественные технические науки». 2001. Т. 6. № 4. С. 467–471.
6. **Тишин В.Б., Меледина Т.В., Дедегкаев А.Т.** Влияние некоторых факторов на кинетику образования диацетила в процессе брожения пивного сусла // Пиво и напитки. 2012. № 4.
7. **Тишин В.Б., Головинская О.В., Леонов А.В.** Математические и компьютерные методы в медицине, биологии и экологии: Моногр. Вып. 2 / Под ред. проф В.И. Левина. – Пенза; М.: Приволжский дом знаний, МИЭМП, 2013. – С. 36–53.
8. **Тишин В.Б., Аль Асаад Кусай М., Кхалил М.М.** Исследование влияния некоторых факторов на кинетику роста дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* при периодическом культивировании // Вестник международной академии холода. 2007. № 1. С. 44–47.
9. **Тишин В.Б.** Культивирование микроорганизмов. Кинетика, гидродинамика, тепло- и массообмен. – СПб.: РАПП, 2012. – 180 с.
10. **Будтов В.П., Консетов В.В.** Тепломассоперенос в полимеризационных процессах. – Л.: Химия, 1983. – 256 с.
11. **Соколов В.Н., Доманский И.В.** Газожидкостные реакторы. – Л.: Машиностроение, 1976. – 278 с.
12. **Бирюков В.А., Кантере В.М.** Оптимизация периодических процессов микробиологического синтеза. – М.: Наука, 1985. – 292 с.

13. **Тишин В.Б., Головня Р.А, Сабуров В.А.** Газлифтная циркуляция при кипячении пивного сусла. Brauwelt // Мир пива. 2003. № 4. С. 17–19.

14. **Аркадьева З.А., Безбородов В.М.** и др. Промышленная микробиология. – М.: Высш. шк., 1989. – 688 с.

15. **Нарцисс Л.** Пивоварение. Технология приготовления сусла. Т. 2. – М.: НПО «Элевар», 2003. – 368 с.

16. Влияние кислорода на кинетику биологических процессов при сбраживании сусла / И.Б. Тишин, Г.А. Тамазян, В.Г. Оганнисян, Т.В. Меледина // Хранение и переработка сельхозсырья. 2010. № 4. С. 29–32.

Дополнительный

Басканьян И.А., Бирюков В.А., Крылов Ю.М. Математическое описание основных кинетических закономерностей процесса культивирования микроорганизмов. Микробиология. Т. 5. М.: ВИНТИ, 1976. С. 5–75.

Макаров Е.Г. Инженерные расчеты в MathCad. Учебный курс. – СПб.: Питер, 2005. – 448 с.

Новоселов А.Г., Тишин В.Б., Дужий А.Б. Справочник по молекулярной диффузии. Новый справочник химика и технолога. Ч. 2. Процессы и аппараты химических технологий. – СПб.: НПО «Профессионал». 2006. – С. 783–909.

Шишацкий Ю.И. Производство хлебопекарных дрожжей: Справ. – М.: Пищ. пром-сть, 1990. – 201 с.

Тишин В.Б., Новосёлов А.Г., Меледина Т.В. О скорости роста биомассы при культивировании в высококонцентрированных средах // ЖПХ. 1990. № 7. С. 1620–1621.

ПРИЛОЖЕНИЕ

MathCad является универсальной математической системой для работы с формулами, числами, текстами и графиками.

MathCad содержит сотни операторов и встроенных функций для решения различных технических задач. Программа позволяет выполнять численные и символьные вычисления, производить операции со скалярными величинами, векторами и матрицами, автоматически переводить одни единицы измерения в другие.

Основное отличие MathCad от аналогичных программ (Maple, Mathematica, MATLAB) – это графический, а не текстовый режим ввода выражений. Для набора команд, функций, формул можно использовать как клавиатуру, так и кнопки на многочисленных специальных панелях инструментов. Уравнения могут быть напечатаны в том же виде, в каком они написаны на бумаге, а их решения представлены в виде графических изображений.

MathCad идеально подходит для осуществления математического моделирования: решения разного рода уравнений и создания отчета о полученных результатах.

Ввод и редактирование данных

Выведите панели инструментов. Для этого, нажав мышью кнопку команды View (вид), выведите подменю Toolbar (панель инструментов) с рядом подкоманд. Если около кнопок с надписями Standart (стандартная панель), Math (математическая панель), Formatting (панель форматирования), Calculator (калькулятор), Graph (графика), Greek (Греческий) не стоит галочка, нажмите на них и этим выведите на экран данные панели.

Вся работа в MathCad должна проводиться с использованием латинского (английского) алфавита.

Для ввода греческих букв можно использовать панель наборных знаков Greek, включаемую кнопкой $\alpha\beta$ на панели Math.

Числовые константы задаются с помощью арабских цифр, десятичной точки (а не запятой) и знака «-» (минус).

Например:

123 – целочисленная десятичная константа;

12.3 – десятичная константа с дробной частью;

$12.3 \cdot 10^{-5}$ – десятичная константа с мантиссой (12.3) и порядком -5 .

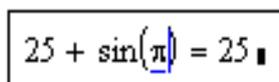
Порядок числа вводится умножением мантиссы на 10 в степени, определяющей порядок. Знак умножения «*» при выводе числа на экран меняется на привычную математическую точку, а операция возведения в степень (с применением спецзнака ^) отображается путём представления порядка в виде надстрочного элемента.

Имена переменных (идентификаторы) в системе MathCad могут иметь практически любую длину, в них могут входить любые латинские и греческие буквы, а также цифры. Однако начинаться они могут только с буквы, например: x, xl, alpha, X, coordinate. Кроме того, идентификатор не должен содержать пробелов.

Строчные и прописные буквы в именах различаются. Имя не должно совпадать с именами встроенных функций. Для набора + и – используются соответствующие клавиши клавиатуры. Деление набирается клавишей /.

После входа в MathCad на экране появляется красный крестик, который обозначает место, где будет производиться запись. Его можно перемещать по экрану мышью.

При вводе любого символа на месте крестика появляется рамка – шаблон. Любое введенное выражение (формула, уравнение и т. п.) должно записываться внутри одного шаблона. При переходе к следующей записи первый шаблон исчезает. Если подвести курсор к записи без шаблона и нажать на клавишу мыши, шаблон появится снова.


$$25 + \sin(\pi) = 25$$

Крестик становится вертикальной чертой голубого цвета при вводе формулы в области формул или при выборе уже существующей формулы. Перемещать этот голубой курсор можно только с помощью клавиш-стрелок.

Удаление записей в MathCad можно производить несколькими способами:

1. Для удаления одного или нескольких выражений одновременно можно, нажав левую кнопку мыши, обвести все удаляемые выражения пунктиром и затем нажать del или backspace.

2. Для удаления одного выражения можно также, подведя к нему курсор, активизировать его, а затем зачернить и нажать del.

Арифметические операторы, операторы возведения в степень, интегрирования и другие находятся на панелях инструментов, вызываемых нажатием соответствующей кнопки с изображением кальку-

лятора в панели инструментов Math (математическая панель). Появится панель калькулятора. На ней имеется ряд кнопок, таких как $n!$ (факториал n), тригонометрических функций (\tan , \sin , \cos), логарифмов (\ln , \log), а также цифры и знаки $=$, $+$, $-$.

Следует различать кнопки $:=$ (присвоение) и $=$ (равно).

Здесь же находятся кнопки X^2 , X^y , служащие для возведения в степень, кнопки вычисления корня, нахождения модуля.

Арифметические действия в MathCad можно совершать, вводя знаки операций с клавиатуры или панели калькулятора. Знак умножения в MathCad – точка, но набирается он на клавиатуре знаком «*». Деление набирается клавишей $/$.

Если в процессе решения задачи происходит нарушение грамматики MathCad, то все содержание шаблона окрашивается в красный цвет и появляется разъяснение ошибки.

Большую роль в наборе чисел играет расположение уголка (на экране он голубого цвета). Например, если уголок расположен, как показано в левой части рисунка, то любые знаки операций (сложение, вычитание и т. п.) будут добавляться к показателю степени; если же уголок расположен, как показано в правой части рисунка, то они будут добавляться ко всему выражению.

Присваивание переменным значений

Для построения графика необходимо: ввести значения аргумента и значения функции, для этого крестик помещаем в любое место в окне. Далее вводим значения аргументов и функций. Для ввода значения аргумента набираем «t», затем значок «[», рядом с «t» высветится черный квадратик, присваиваем ему номер «1»; далее нажимаем одновременно клавиши $\text{shift}+$, появляется значок присваивания ($:=$); вводим численное значение аргумента. Аналогичным образом вводим значения функции. Например,

$t_1 := 0$	$n_1 := 0$	$t_6 := 6$	$n_6 := 0.2924$
$t_2 := 1$	$n_2 := 0.011$	$t_7 := 7$	$n_7 := 0.51062$
$t_3 := 2$	$n_3 := 0.0012$	$t_8 := 8$	$n_8 := 0.75066$
$t_4 := 4$	$n_4 := 0.05673$	$t_9 := 9$	$n_9 := 0.99070$
$t_5 := 5$	$n_5 := 0.1614$	$t_{10} := 10$	$n_{10} := 1.21764$

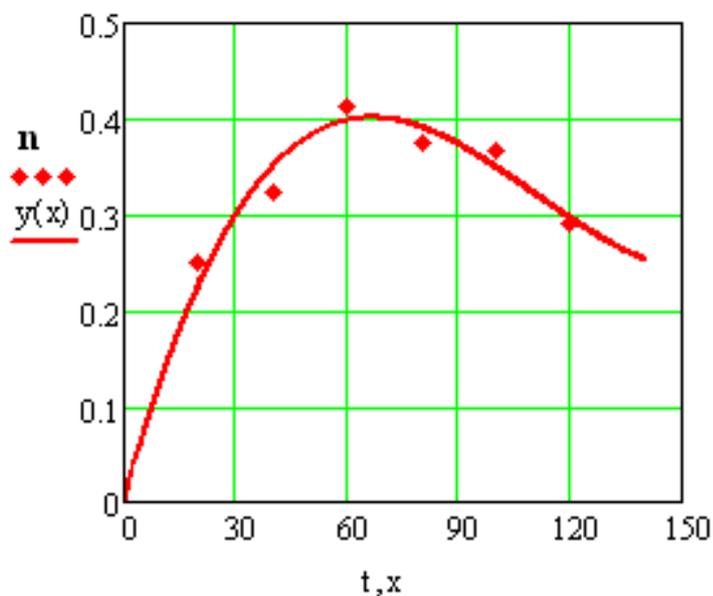
Затем строго под значениями аргумента и функции задаем минимальное, максимальное значения и шаг переменной. Например (x_1 – минимальное значение, x_2 – максимальное значение, Δx – шаг):

$$x_1 := 0 \quad x_2 := 80 \quad \Delta x := 1$$

$$x := x_1, x_1 + \Delta x \dots x_2$$

Построение графиков

После нажатия кнопки с изображением графика функции на экране появится заготовка графика – прямоугольник с черным квадратом у левой и нижней сторон, обрамленный выделяющим прямоугольником, также с черными квадратиками. В квадратик у нижней стороны малого прямоугольника введите обозначение аргумента, а в квадратик у левой стороны – обозначение функции (при построении графиков нескольких функций их обозначения вводятся через запятую). На экране появится график в виде точек:



Построенный график можно передвигать по документу с помощью мыши при нажатой левой кнопке, если установить курсор на одну из сторон выделяющего прямоугольника (курсор превратится в изображение ладони).

Ввод математических формул для расчета функций

Обозначение функции вводится с обязательным указанием в скобках ее аргумента.

После введения символа присваивания (знак :=) набирается математическое выражение. Например,

$$y(x) := 15.13 [0.973 - e^{-(0.0111 \cdot x)}].$$

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ.....	3
ВВЕДЕНИЕ.....	7
1. ОСНОВНЫЕ МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ КИНЕТИКИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ...17	
1.1. Математические модели экспоненциального развития клеток.....	17
1.1.1. Модель простейшей экспоненциальной зависимости ...17	
1.1.2. Уравнение логистической зависимости.....	25
1.1.3. Модель фазовой гетерогенности	28
1.2. Математические модели степенного вида	31
1.3. Рекомендации по выбору математических моделей.....	38
2. ПРИМЕРЫ ПОИСКА МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ, ПРОТЕКАЮЩИХ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ МИКРООРГАНИЗМОВ	40
2.1. Аэробное периодическое культивирование дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i> без принудительной подачи воздуха	40
2.1.1. Поиск математической модели кинетики прироста биомассы	44
2.1.2. Поиск математической модели кинетики потребления субстрата.....	50
2.1.3. Скорости протекания биологических процессов.....	53
2.2. Культивирование гриба <i>Medusomyces gisevi</i>	55
2.3. Влияние расхода воздуха на кинетику прироста биомассы при культивировании дрожжей <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	64
2.4. Пути интенсификации процессов культивирования	79
3. ПОИСК МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ НЕКОТОРЫХ ПРОЦЕССОВ БРОЖЕНИЯ.....	83
3.1. Влияние кислорода на кинетику биологических процессов при сбраживании пивного сусла	83
3.2. Влияние некоторых факторов на кинетику образования диацетила в процессе брожения пивного сусла	92
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	102
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	103
ПРИЛОЖЕНИЕ	105

Тишин Вячеслав Борисович
Головинская Оксана Владимировна

**ЭКСПЕРИМЕНТ И ПОИСК
МАТЕМАТИЧЕСКИХ МОДЕЛЕЙ КИНЕТИКИ
БИОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ**

Учебное пособие

Ответственный редактор

Т.Г. Смирнова

Редактор

Е.О. Трусова

Компьютерная верстка

Н.В. Гуральник

Дизайн обложки

Н.А. Потехина

Подписано в печать 29.05.2015. Формат 60×84 1/16

Усл. печ. л. 6,51. Печ. л. 7,0. Уч.-изд. л. 6,75

Тираж 50 экз. Заказ № С 36

Университет ИТМО. 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49

Издательско-информационный комплекс
191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9