

УДК 577.1:663.13:576.8

МАТЕМАТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ КИНЕТИКИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА: ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ И НОВЫЕ ПОДХОДЫ К РАЗРАБОТКЕ

© А.А. Арзамасцев, А.А. Андреев

Arzamastsev A.A. & Andreyev A.A. Mathematical models of microbiological synthesis kinetics: possibilities of application and new development approaches. The available models of micro-organism growth kinetics are analysed. The possibility of application of the Monod model is studied. It is shown that these models do not permit describing adequately the experimental data at different initial concentrations of biomass and substrate varying in a wide range. The calculations of the static models of operation of biochemical reactors differ greatly.

1. СУЩЕСТВУЮЩИЕ ПОДХОДЫ К МОДЕЛИРОВАНИЮ КИНЕТИКИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО СИНТЕЗА

В настоящее время для описания кинетики микробиологического синтеза, под которой обычно понимают динамику потребления субстрата, продукции биомассы и метаболитов, используется большое количество математических моделей [1–4 и др.].

Большинство из них, такие как модели Моно, Халдейна, Тессье и др., имеют вполне определенный физический смысл. Так, например, модель Моно [5] опирается на допущение о существовании в системе биохимической реакции с промежуточным фермент-субстратным комплексом вида:



Это обстоятельство делает ее по форме схожей с хорошо известной в биофизике моделью Микаэлиса–Ментен [4, 6, 7].

Существует достаточно большое число математических моделей, позволяющих описывать кинетику роста биомассы и ассимиляции субстрата. Многие из таких моделей приведены в обзорных работах [1–4, 8–14]. Все они обычно выражаются зависимостями:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X, \quad (2)$$

$$\mu = \mu(S), \quad (3)$$

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y} \cdot \frac{dX}{dt}, \quad (4)$$

где X – концентрация биомассы; S – концентрация субстрата; Y – экономический коэффициент, показывающий выход биомассы с единицы субстрата; μ – удельная скорость роста биомассы. Для получения решения система (2) – (4) должна быть дополнена соответствующими начальными условиями. В дальнейшем модели, которые обобщенно могут быть представлены в виде уравнений (2) – (4), мы будем

называть моделями «типа Моно». Точность аппроксимации экспериментальных данных уравнениями (2) – (4) в основном зависит от правильного выбора зависимости удельной скорости роста биомассы от концентрации субстрата (3). К уравнениям такого типа могут быть отнесены зависимости Моно, Мозера, Тессье, Моно-Иерусалимского и ряд других [4, 5, 15–17]. На рис. 1 показан общий вид зависимостей $\mu(S)$, характерный для различных моделей «типа Моно». Из этого рисунка видно, что при малых концентрациях субстрата ($0 \leq S \leq S_1$) может быть в равной степени использована любая из рассмотренных моделей (см. табл. 1). Лимитирование удельной скорости роста микроорганизмов субстратом учитывают лишь модели Моно, Мозера, Тессье и Халдейна ($0 \leq S \leq S_2$). Ингибирование удельной скорости роста биомассы большими концентрациями субстрата из рассматриваемых моделей описывает лишь модель Халдейна.

Модели «типа Моно» имеют ряд достоинств: относительно простой вид самих уравнений, небольшое количество коэффициентов и возможность их идентификации по экспериментальным данным, хорошо отработанные процедуры получения решений.

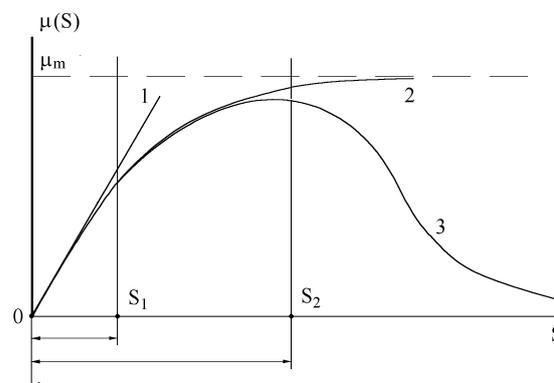


Рис. 1. Области применения различных кинетических моделей: 1 – модель вида $\mu(S) = kS$, рабочий диапазон $0 \leq S \leq S_1$; 2 – модель вида $\mu(S) = \mu_m S / (S + K_S)$ или $\mu(S) = \mu_m S^n / (S^n + K_S)$, рабочий диапазон $0 \leq S \leq S_2$; 3 – модель вида $\mu(S) = \mu_m S / (S + K_S + kS^2)$ применяется в широком диапазоне концентраций S

Однако эти модели не учитывают целый ряд явлений, сопутствующих биосинтезу: диффузионные про-

цессы транспорта субстратов в зону реакции и отвода продуктов, обусловленные гидродинамическими режимами в биореакторе; возрастную, фазовую, физико-химическую, морфологическую и другие виды гетерогенности самой популяции микроорганизмов.

По этой причине вопрос о применимости моделей «типа Моно» остается открытым. С одной стороны, данные модели все-таки используются многими авторами в ограниченных диапазонах описываемых переменных [3]; с другой, – имеется достаточно выраженная критика в их адрес [14]. Положение усугубляется и тем, что в некоторых работах делают неверные выводы о применимости модели Моно. Так, при описании кинетики роста *Escherichia coli* M-17 на аммонийном азоте авторы делают вывод о невозможности использования этой модели, приводя явно ошибочные данные [14, см. рис. 9.12 с. 211]. Наш расчет, выполненный для представленных экспериментальных данных, свидетельствует, что при $\mu_m = 0,644 \text{ ч}^{-1}$; $K_S = 0,556 \text{ мг/мл}$; $Y = 7,19 \text{ (мкг биомассы)/(мкг аммонийного азота)}$ модель адекватно описывает процессы роста биомассы и потребления лимитирующего субстрата. При этом величина средней приведенной погрешности не превышает 2 % по биомассе и 4,3 % по субстрату, что сопоставимо с погрешностью экспериментальных данных.

Одновременно с широким использованием моделей «типа Моно» многие авторы применяют и другие подходы к описанию кинетики микробиологического синтеза.

Так, в соответствии с уравнением Ферхюльста, рост популяции микроорганизмов в ограниченном пространстве характеризуется «S-образной» кривой с насыщением [3, 4, 18–21]. По мнению некоторых авторов, эта модель учитывает внутривидовую конкуренцию (например, [22–24]). Однако анализ этого уравнения, проведенный Ч. Файси, показал, что оно является лишь частным случаем модели Моно при низких концентрациях субстрата [20].

Во многих случаях имеются попытки учесть различные виды гетерогенности микробных популяций при их росте.

Наличие в популяции мертвых или поврежденных клеток и вопросы восстановления такой популяции рассматриваются в работах [4, 14, 23, 25–28]. Математическая модель роста популяции, учитывающая присутствие в ней живых и мертвых клеток, синтез РНК и описывающая все фазы ее развития, построена в работе [29]. Физиологическая и биохимическая гетерогенность микробных популяций рассматривается в работах [3, 30, 31]. Общим недостатком моделей этой группы является сильное упрощение в представлении структуры гетерогенности.

Учет возрастной гетерогенности в популяции рассматривается в работах [3, 4, 14, 32, 33]. Приводятся модели возрастной структуры и роста популяции с асимметричным типом размножения. Этот вопрос рассматривается для дискретного и непрерывного возраста и времени [14, 34, 35].

Значительное число математических моделей учитывает различные особенности популяции и многочисленные частные явления.

Обобщенная структурированная модель роста микробной популяции с учетом отмирания и лизиса приводится в работе [36]. В модели фигурируют концентрации рибосом и продуктов их распада, а также

концентрации ферментов и других физиологически активных веществ. Один из частных случаев – модель, учитывающая распределение клеток по активности рибосом, а также активность ферментов и скорость транспорта субстрата внутрь клеток, разработана с помощью системного анализа в работе [14]. Различные аспекты наличия в популяциях мутаций рассматриваются в работах [4, 14, 17, 25, 37–49]. Модели, учитывающие микроэволюцию для хемостатной и турбидостатной микробных популяций, анализируются в работах [4, 17, 43] и [4, 43, 50].

При моделировании различных видов гетерогенности используются как детерминированные модели, так и стохастические [3, 30, 31, 40, 43], а также модели, объединяющие оба эти вида [3, 14, 30, 31, 34, 35, 38]. Интересный подход к построению модели роста популяции использован в работе [51], автор которой построил детерминированно-стохастическую модель, основываясь на принципах взаимодействия ферментов и субстрата внутри клетки, описав их в терминах теории массового обслуживания.

Учет предьстории развития достигается использованием для описания роста популяций дифференциально-разностных уравнений с запаздыванием [52–55].

В работе [22] рассматривается модель, позволяющая описывать биологическую инерционность.

В некоторых случаях модель кинетики строится исходя из «S-образного» характера экспериментальных зависимостей. Автором работы [56] была построена математическая модель образования летучих кислот пивными дрожжами, использующая аппарат теории автоматического регулирования. В работе [57] процесс роста биомассы описывается дифференциальным уравнением второй степени, выведенным из анализа экспериментальных данных и математической модели явления диффузии в среде с подвижной границей. Такие подходы являются эмпирическими и не соответствуют физической сущности рассматриваемого явления.

Таким образом, результаты многочисленных исследований говорят о довольно разнообразных подходах к построению моделей роста микробиологических популяций. Вместе с тем, в настоящее время так и не выработано единой точки зрения относительно того базиса, на который должен опираться процесс построения такой модели. Не вполне ясно, рассмотрение каких явлений: биохимических (метаболические пути, механизм реакции, процессы регуляции), физических (диффузионные процессы) или биологических (возрастная, морфологическая и др. виды гетерогенности популяции) наиболее существенно для ее построения.

По этой причине вопрос о разработке модели макрокинетики для процессов микробиологического синтеза, ее базисе и структуре является актуальным. В этой связи представляется важным провести тщательный анализ возможностей использования уже существующих на данный момент, особенно часто используемых моделей «типа Моно», а также формирование базисов для построения новых моделей.

В рамках рассматриваемой цели необходимо дать ответы на следующие вопросы:

– возможно ли использование моделей «типа Моно» для различных субстратов и микроорганизмов при одинаковых или близких их концентрациях;

– как выбрать лучшую модель;

- можно ли использовать эти модели при различных начальных концентрациях субстрата и биомассы;
- можно ли на основе моделей «типа Моно» рассчитывать основные характеристики биореакторов; насколько велики погрешности таких расчетов;
- как и с каких позиций должна разрабатываться математическая модель кинетики микробиологического синтеза.

2. ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОДЕЛЕЙ «ТИПА МОНО» В УЗКИХ ДИАПАЗОНАХ КОНЦЕНТРАЦИЙ

В обзорных работах, приведенных в разделе 1, проводилось сравнение различных моделей по количеству одновременно учитываемых факторов, виду зависимости $\mu(S)$ и др. По нашему мнению, подобное сравнение возможно лишь на основе конкретных экспериментальных данных.

Для оценки применимости моделей использовались экспериментальные данные по кинетике биосинтеза на различных субстратах и для разных микроорганизмов, полученные как авторами настоящей статьи [58], так и из литературных источников [59].

Материалы и методы исследований. Большинство наших экспериментальных исследований выполнено в лаборатории биохимического завода г. Рассказово. В исследованиях в качестве субстрата использовалась мелассная послеспиртовая барда, являющаяся отходом производства этилового спирта. Химический состав этого субстрата: сухие вещества 8,0–8,5 %, зола 2,5–3,2 %, ХПК 25000–52000 мг O_2/l , БПК₅ 12000–27000 мг O_2/l , редуцирующие вещества 0,8–0,4 %, нелетучие карбоновые кислоты 1,2–1,8 %, летучие кислоты 0,25–0,3 %, глицерин 0,4–0,5 %, азот общий 0,45–0,5 %, азот аминный 0,25–0,3 %, окись

кальция 0,2–0,3 %, сернистый ангидрид 0,005–0,01 %, нитраты 0,005–0,015 %. В экспериментах использовалась смешанная культура микроорганизмов рода *Pseudomonas* (*P. chlororaphis*, *P. fragi*, *P. liquefaciens*, *P. fluorescens*). Большая часть экспериментальных данных получена на установке, внешний вид которой показан на рис. 2.

Для идентификации параметров математических моделей и их сравнения разработана специальная программа на языке *Turbo Pascal 7.0*. Программа реализует безградиентный метод покоординатного спуска и позволяет рассчитывать по экспериментальным данным коэффициенты моделей, минимизирующие взвешенную сумму квадратов отклонений экспериментальных и расчетных значений:

$$\Phi = \sum_{i=1}^m \beta_1 (X(t_i) - X_i^o)^2 + \beta_2 (S(t_i) - S_i^o)^2 \rightarrow \min, \quad (5)$$

где β_1 , β_2 – весовые коэффициенты; S_i^o , X_i^o – экспериментальные значения концентраций субстрата и микроорганизмов; $S(t_i)$, $X(t_i)$ – расчетные значения этих концентраций.

Объект 1. Экспериментальные данные по росту биомассы бактерий рода *Pseudomonas* на комплексном субстрате при 30° С показаны на рис. 3. На их основе проводилось сравнение различных математических моделей вида (2) – (4), зависимости $\mu(S)$ для которых приведены в табл. 1. Параметры каждой из моделей выбирались исходя из минимального значения критерия (5). Значения этого критерия и кинетических констант для различных случаев приведены в табл. 1.

Анализ рис. 3 позволяет сделать следующие выводы. Все математические модели, за исключением рис. 3а (уравнение (6), табл. 1), удовлетворительно описывают экспериментальные данные. Максимальные приведенные погрешности для биомассы и субстрата составляют 5,2 и 2,8 %, что соответствует сумме квадратов отклонений, подсчитанных по уравнению (5) в 1,46. Визуальная оценка результатов расчетов по моделям не позволяет выявить преимущества какой-либо из них. В соответствии с табл. 1, сумма квадратов отклонений расчетных и экспериментальных значений для объекта 1 в случае использования уравнений (8) – (12) также различается незначительно. Простые вычисления показывают, что различия у использованных моделей (8) – (12) соответствуют приведенной погрешности примерно в 0,12 %, что существенно меньше погрешности экспериментальных данных. Поэтому невозможно выбрать лучшую модель из уравнений (8) – (12) табл. 1, используя в качестве критерия уравнение (5). Однако на основе критерия (5) могут быть отброшены две наиболее неподходящие модели (уравнения (6), (7) табл. 1).

Объект 2. Аналогично объекту 1 проводилось сравнение различных математических моделей, уравнения которых приведены в табл. 1, на основе экспериментальных данных по кинетике роста микроорганизмов *Paecilomyces Variotii* на отходах сульфатцеллюлозы [59]. Результаты приведены на рис. 4 и в табл. 1.

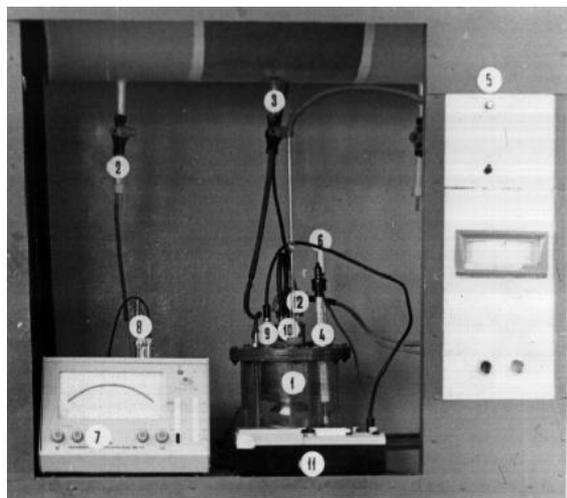


Рис. 2. Общий вид экспериментальной установки для исследования кинетики процесса. Цифрами обозначены: 1 – ферментер объемом 8,5 л; 2 – линия подачи субстрата; 3 – линия подачи солей; 4 – контактный термометр с терморегулятором; 5 – панель контроля и управления; 6 – контрольный термометр; 7 – рН-метр типа ЭВ-74; 8 – дозатор субстрата; 9 – датчик концентрации растворенного кислорода; 10 – термopара; 11 – вторичный прибор кислородометра типа ПИРК-2; 12 – линия подачи воздуха на аэрацию

Таблица 1

Сравнение различных кинетических моделей

Кинетическая модель	Уравнение	Значения коэффициентов, доставляющих минимальное значение критерию Φ^*		Значение Критерия Φ	
		Объект 1	Объект 2	Объект 1	Объект 2
$\mu(S)=k$	(6)	$k=0,0606$ $Y=0,2508$	$k=0,16$ $Y=0,175$	2,87729	0,00864
$\mu(S)=kS$	(7)	$k=0,01647$ $Y=0,4327$	$k=0,505$ $Y=0,435$	1,45950	0,01246
$\mu(S)=kS^n$	(8)	$k=0,02663$ $n=0,70018$ $Y=0,41816$	$k=0,225$ $n=0,09$ $Y=0,405$	0,82140	0,00394
$\mu(S)=\mu_m \frac{S}{S+K_S}$	(9)	$\mu_m=0,2048$ $K_S=6,8726$ $Y=0,4196$	$\mu_m=0,245$ $K_S=0,075$ $Y=0,405$	0,86708	0,00416
$\mu(S)=\mu_m \frac{S^n}{S^n+K_S}$	(10)	$\mu_m=0,509$ $K_S=16,2162$ $n=0,7212$ $Y=0,4172$	$\mu_m=0,235$ $K_S=0,055$ $n=0,985$ $Y=0,405$	0,82192	0,00406
$\mu(S)=\mu_m(1-e^{-S/k})$	(11)	$\mu_m=0,138$ $k=4,997$ $Y=0,4202$	$\mu_m=0,21$ $k=0,07$ $Y=0,405$	0,88839	0,00367
$\mu(S)=\mu_m \frac{S}{S+K_S+kS^2}$	(12)	$\mu_m=0,2104$ $K_S=7,17536$ $k=0,00073$ $Y=0,41997$	$\mu_m=0,272$ $K_S=0,072$ $k=0,323$ $Y=0,403$	0,86833	0,00410

* – размерность кинетических констант соответствует измерению концентраций в г/л и удельной скорости роста в ч⁻¹

Таблица 2

Кинетические константы для модели Моно

Опыт	Начальные концентрации, г/л		Константы модели				Значение Φ
	X_0	S_0	μ_m , ч ⁻¹	K_S , г/л	K_D , ч ⁻¹	Y , г/г	
1	11,7	1,96	0,135	1,4966	0,027	1,3128	0,29998
2	6,28	1,96	0,2326	1,784	0,0394	1,2914	0,26929
3	2,7	1,96	0,6028	2,5998	0,10777	2,0418	0,12533
4	9,4	1,98	0,1058	1,1872	0,0242	1,3264	0,25974
5	7,2	1,98	0,15541	0,76919	0,05929	2,35995	0,05900
6	2,0	0,55	0,47742	0,79824	0,04926	1,45474	0,00393

Анализ рис. 4 позволяет сделать следующие выводы. Все математические модели, за исключением рис. 4а, в (уравнения (6), (7) табл. 1) удовлетворительно описывают экспериментальные данные. Максимальные приведенные погрешности для биомассы и субстрата составляют 6,1 и 1,9 %, что соответствует сумме квадратов отклонений, подсчитанных по уравнению (5) в 0,00416. Визуальная оценка результатов расчетов по моделям так же, как и для объекта 1, не позволяет выявить преимущества какой-либо из них. В соответствии с табл. 1, сумма квадратов отклонений расчетных и экспериментальных значений для объекта 2 в случае использования уравнений (8) – (12) также различается незначительно. Вычисления показывают, что различия у использованных моделей (8) – (12) соответствуют приведенной погрешности примерно в 0,3 %, что также существенно меньше погрешности экспери-

ментальных данных. Поэтому невозможно выбрать лучшую модель из уравнений (8) – (12) табл. 1, используя в качестве критерия уравнение (5). Наиболее неподходящие модели (уравнения (6), (7) табл. 1) так же, как и для объекта 1 могут быть отброшены на основе критерия (5). Значение n в модели (10) мало отличается от 1 для обоих объектов, что служит указанием на существование в системе механизма, работающего в соответствии со схемой (1).

Таким образом, анализ применимости уравнений «типа Моно» для двух различных микроорганизмов, растущих на разных субстратах, позволяет сделать следующие выводы:

- уравнение «типа Моно» (уравнения (8) – (12)) удовлетворительно описывают результаты экспериментов при неизменных концентрациях субстратов и биомассы;
- расчеты динамики накопления биомассы и потребления субстрата, полученные по моделям (8) – (12) при одних и тех же начальных условиях, практически не различимы, что не позволяет сделать вывод о преимуществах какой-либо одной из них.

3. ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОДЕЛЕЙ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ НАЧАЛЬНЫХ КОНЦЕНТРАЦИЯХ СУБСТРАТА И БИОМАССЫ

В разделе 2 были проанализированы возможности использования моделей «типа Моно» для описания кинетики биосинтеза при одинаковых концентрациях субстрата и биомассы. Для большей общности было бы желательно провести подобный анализ и для широких диапазонов изменения концентраций. В этом разделе работы мы использовали экспериментальные данные работы [60], полученные для смешанной культуры дрожжей на субстрате, являющимся отходом спиртового производства.

Для описания кинетики мы использовали следующую модель:

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - K_D X, \tag{13}$$

$$\mu = \mu(S), \tag{14}$$

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{1}{Y} \cdot \mu X, \tag{15}$$

где слагаемое $K_D X$ отвечает за отмирание микроорганизмов (K_D – константа), а удельная скорость роста (14) зависит от концентраций субстрата по формуле Моно (9). Вначале были определены значения кинетических констант модели для каждого из шести опытов в отдельности. Результаты вычислений приведены в табл. 2.

Выполненные расчеты показывают, что модель (13) – (15) удовлетворительно описывает каждый из шести опытов в отдельности (рис. 5). Максимальные приведенные погрешности для биомассы и субстрата составляют около 1 и 3 %. Вместе с тем значения всех без исключения кинетических констант существенно различаются в разных опытах. Это ставит под сомнение возможность получения единой модели, адекватной

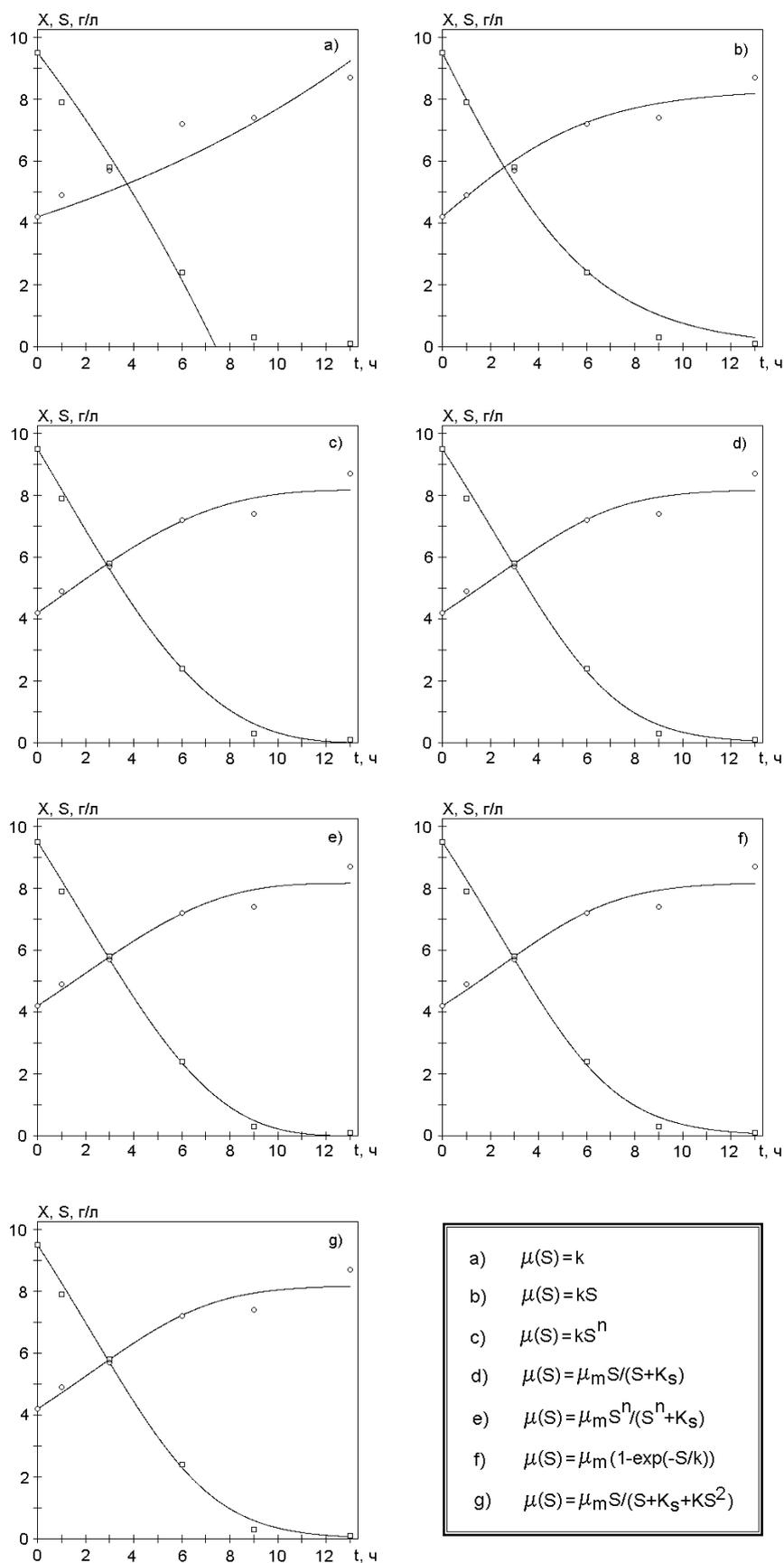


Рис. 3. Описание экспериментов для *Pseudomonas* на комплексном субстрате различными кинетическими моделями. Концентрация субстрата выражена в гО₂/л (по БПК₅). Точки – экспериментальные данные, линия – расчет по соответствующей модели

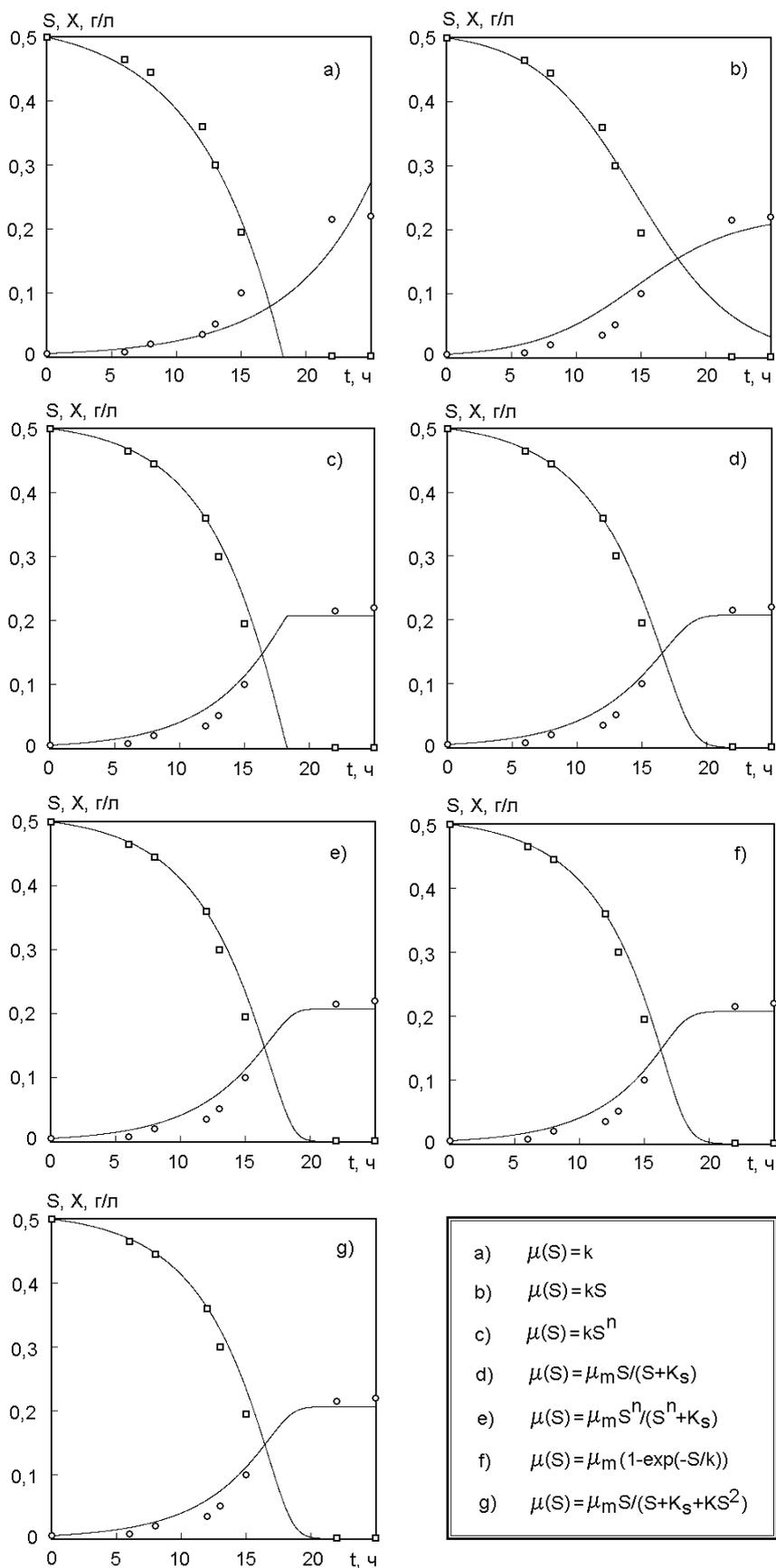


Рис. 4. Описание экспериментов для *Paecilomyces Variotii* на отходах сульфата-целлюлозы различными кинетическими моделями. Концентрация субстрата выражена в гО₂/л (по БПК₅). Точки – экспериментальные данные работы [59], линия – расчет по соответствующей модели

рассматриваемому объекту в широких диапазонах концентраций.

По этой причине была предпринята попытка получить значения кинетических констант, справедливых для всех шести опытов (табл. 2) одновременно. Были получены следующие значения: $\mu_m=0,07088 \text{ ч}^{-1}$, $K_S=0,09944 \text{ г/л}$, $K_D=0,02053 \text{ ч}^{-1}$, $Y=1,02193 \text{ г/г}$. Значение критерия Φ для всех шести опытов в этом случае составляет 7,64872. Из рис. 6 следует, что модель (13) – (15) с указанными значениями констант не позволяет получить удовлетворительного описания экспериментальных данных. Наиболее существенные погрешности наблюдаются в описании концентраций субстрата в опытах 1, 3 – 6 (рис. 6а, с – f) и концентраций биомассы в опытах 2 и 3 (рис. 6б, е). Таким образом, из анализа расчетных и экспериментальных данных, приведенных в этом разделе, можно сделать следующие выводы:

- модель «типа Моно» удовлетворительно описывает кинетику роста микроорганизмов и потребления субстрата при конкретных начальных концентрациях;
- эта же модель не позволяет проводить адекватное описание экспериментальных данных при различных начальных концентрациях биомассы и субстрата, изменяющихся в широких диапазонах.

4. МОДЕЛИРОВАНИЕ РЕЖИМОВ РАБОТЫ БИОХИМИЧЕСКИХ РЕАКТОРОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ КИНЕТИКИ «ТИПА МОНО»

Математическая модель биохимического реактора непрерывного типа с идеальным смешением по жидкой фазе в случае с одним лимитирующим субстратом может быть записана в виде [3, 61, 62]:

$$\frac{dX}{dt} = \mu(S)X - DX, \quad (16)$$

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \frac{\mu(S)X}{Y}, \quad (17)$$

где X – концентрация биомассы в реакторе; S , S_0 – концентрация субстрата в реакторе и начальная концентрация субстрата на входе в реактор; Y – экономический коэффициент; μ – удельная скорость роста биомассы; $D = F/V$ – удельное разбавление; F – расход субстрата через биохимический реактор; V – объем биохимического реактора. Соответственно для кинетических зависимостей $\mu(S)$, представленных в табл. 1 уравнениями (6) – (12), модель проточного биохимического реактора (16) – (17) может быть записана в одной из следующих форм.

1. $\mu(S)=k$:

$$\frac{dX}{dt} = kX - DX, \quad (18)$$

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \frac{kX}{Y}. \quad (19)$$

2. $\mu(S)=kS$:

$$\frac{dX}{dt} = kSX - DX, \quad (20)$$

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \frac{kSX}{Y}. \quad (21)$$

3. $\mu(S)=kS^n$:

$$\frac{dX}{dt} = kS^n X - DX, \quad (22)$$

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \frac{kS^n X}{Y}. \quad (23)$$

4. $\mu(S) = \mu_m \frac{S}{S + K_S}$:

$$\frac{dX}{dt} = \mu_m \frac{S}{S + K_S} X - DX, \quad (24)$$

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \mu_m \frac{S}{S + K_S} \cdot \frac{X}{Y}. \quad (25)$$

5. $\mu(S) = \mu_m \frac{S^n}{S^n + K_S}$:

$$\frac{dX}{dt} = \mu_m \frac{S^n}{S^n + K_S} X - DX, \quad (26)$$

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \mu_m \frac{S^n}{S^n + K_S} \cdot \frac{X}{Y}. \quad (27)$$

6. $\mu(S) = \mu_m (1 - e^{-S/k})$:

$$\frac{dX}{dt} = \mu_m (1 - e^{-S/k}) X - DX, \quad (28)$$

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \mu_m (1 - e^{-S/k}) \cdot \frac{X}{Y}. \quad (29)$$

7. $\mu(S) = \mu_m \frac{S}{S + K_S + kS^2}$:

$$\frac{dX}{dt} = \mu_m \frac{S}{S + K_S + kS^2} X - DX, \quad (30)$$

$$\frac{dS}{dt} = D(S_0 - S) - \mu_m \frac{S}{S + K_S + kS^2} \cdot \frac{X}{Y}. \quad (31)$$

Учитывая, что при использовании зависимости $\mu(S)=k$ не удается получить высокого качества описания экспериментальных данных (см. табл. 1), мы не рассматривали в дальнейших рассуждениях модель биореактора, построенную на основе уравнений (18) и (19).

Уравнения для статических режимов могут быть получены, если положить в уравнениях (20) – (31)

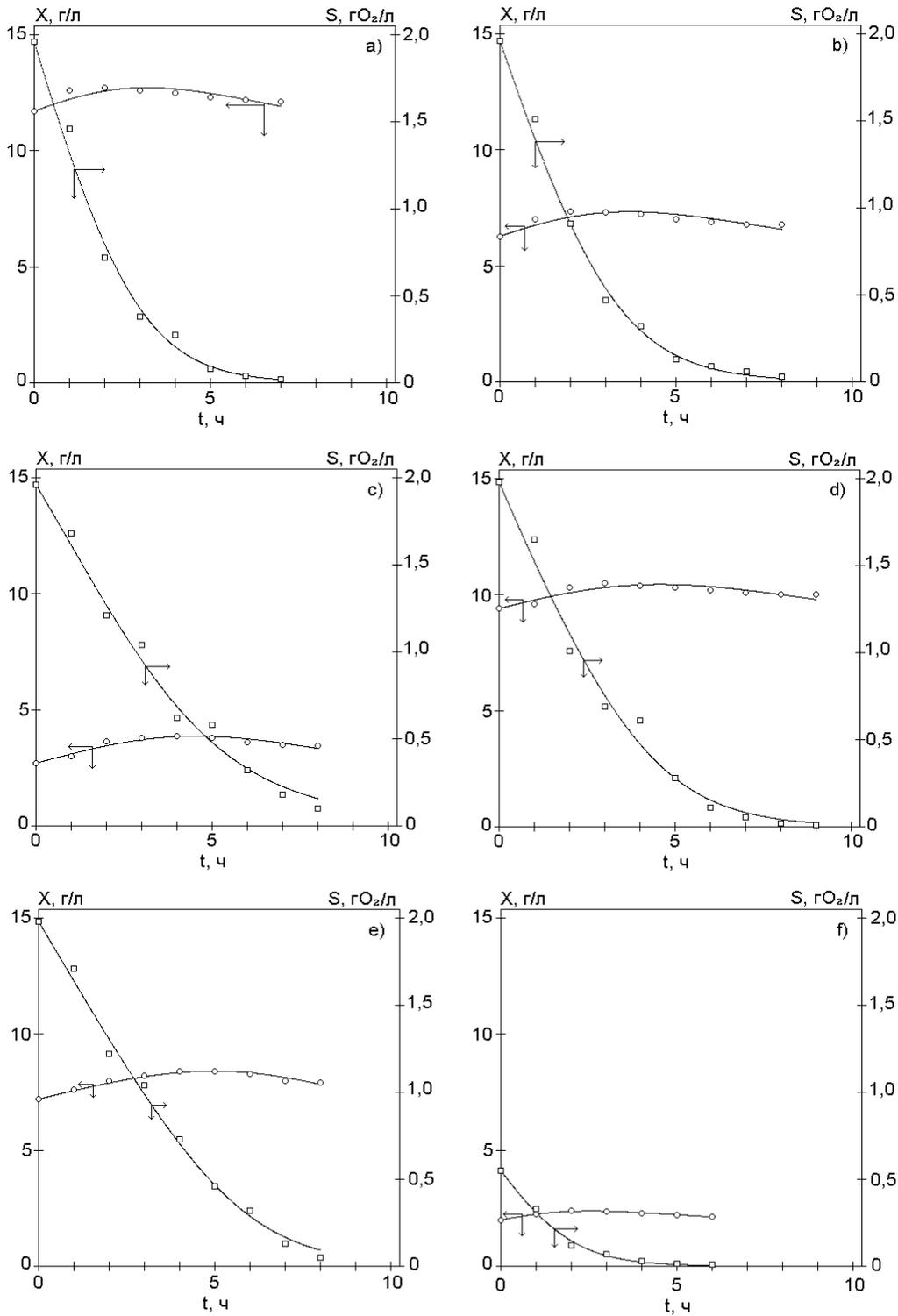


Рис. 5. Описание экспериментальных данных для кормовых дрожжей на комплексном субстрате моделью (13) – (15): а) $X_0 = 11,7$; $S_0 = 1,96$; б) $X_0 = 6,28$; $S_0 = 1,96$; в) $X_0 = 2,7$; $S_0 = 1,96$; д) $X_0 = 9,4$; $S_0 = 1,98$; е) $X_0 = 7,2$; $S_0 = 1,98$; ф) $X_0 = 2,0$; $S_0 = 0,55$. Точки – экспериментальные данные работы [60], линия – расчет по соответствующей модели

$dX/dt = dS/dt = 0$. Тогда получим следующие зависимости для расчета концентраций X и S в статическом режиме на выходе из реактора (внутри реактора).

$$1. \mu(S) = kS : S = \frac{D}{k}, \quad (32)$$

$$X = \left[S_0 - \frac{D}{k} \right] Y. \quad (33)$$

$$2. \mu(S) = kS^n:$$

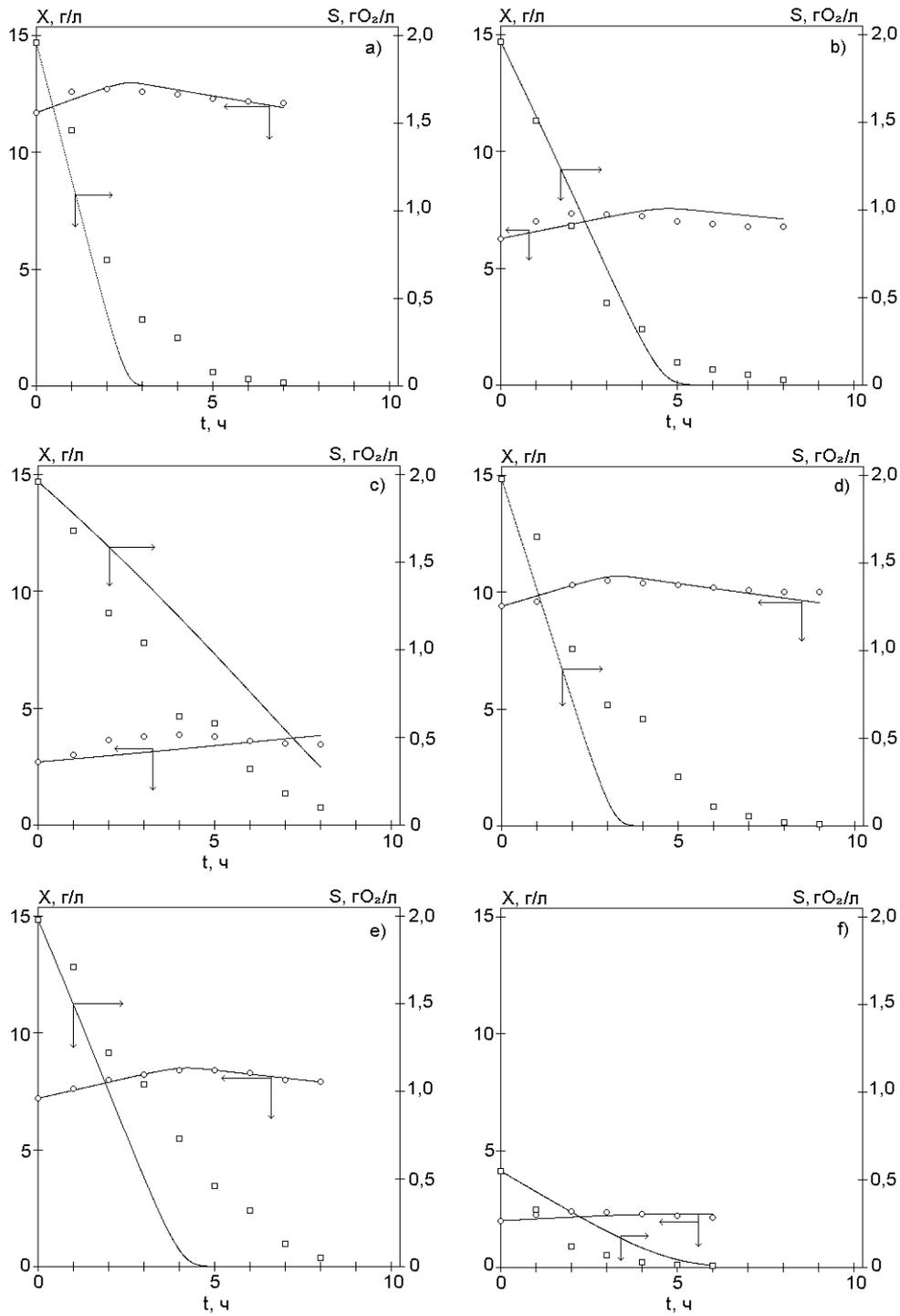


Рис. 6. Описание экспериментальных данных для кормовых дрожжей на комплексном субстрате моделью (13) – (15): а) $X_0 = 11,7$; $S_0 = 1,96$; б) $X_0 = 6,28$; $S_0 = 1,96$; в) $X_0 = 2,7$; $S_0 = 1,96$; д) $X_0 = 9,4$; $S_0 = 1,98$; е) $X_0 = 7,2$; $S_0 = 1,98$; ф) $X_0 = 2,0$; $S_0 = 0,55$. Точки – экспериментальные данные работы [60], линия – расчет по соответствующей модели

$$S = \left(\frac{D}{k} \right)^{\frac{1}{n}}, \quad (34)$$

$$X = \left[S_0 - \left(\frac{D}{k} \right)^{\frac{1}{n}} \right] Y. \quad (35)$$

$$3. \mu(S) = \mu_m \frac{S}{S + K_S} :$$

$$S = \frac{K_S D}{\mu_m - D}, \quad (36)$$

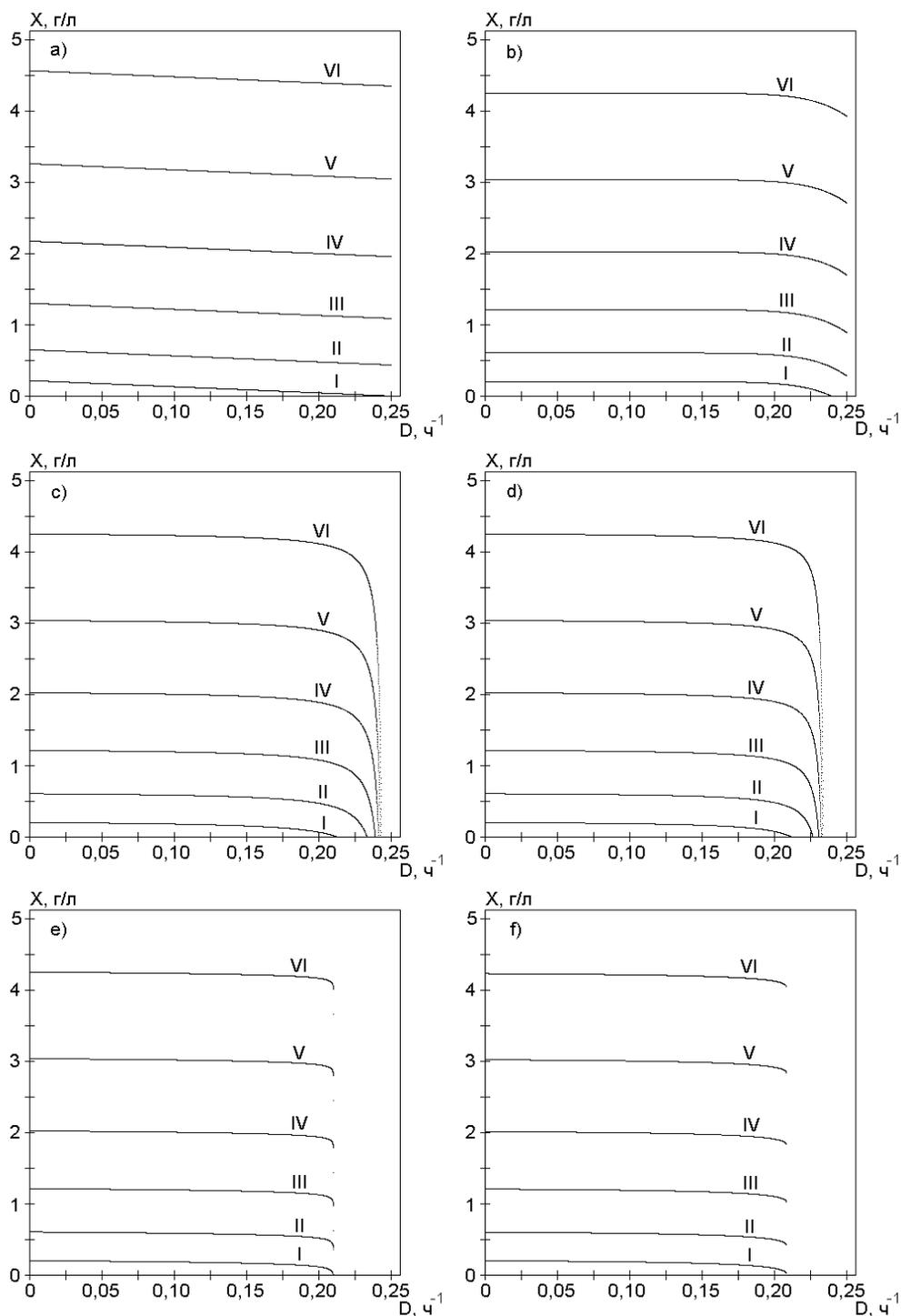


Рис. 7. Зависимости концентрации биомассы X от величины удельного разбавления D в статическом режиме при использовании различных моделей кинетики. Буквы соответствуют уравнениям: а) – (33); б) – (35); в) – (37); д) – (39); е) – (41); ф) – (43). Начальные концентрации субстрата составляют: I – 0,5 г/л; II – 1 г/л; III – 1,5 г/л; IV – 2 г/л; V – 2,5 г/л; VI – 3 г/л

$$X = \left[S_0 - \frac{K_S D}{\mu_m - D} \right] Y. \quad (37)$$

$$S = \left(\frac{K_S D}{\mu_m - D} \right)^{\frac{1}{n}}, \quad (38)$$

$$4. \mu(S) = \mu_m \frac{S^n}{S^n + K_S} :$$

$$X = \left[S_0 - \left(\frac{K_S D}{\mu_m - D} \right)^{\frac{1}{n}} \right] Y. \quad (39)$$

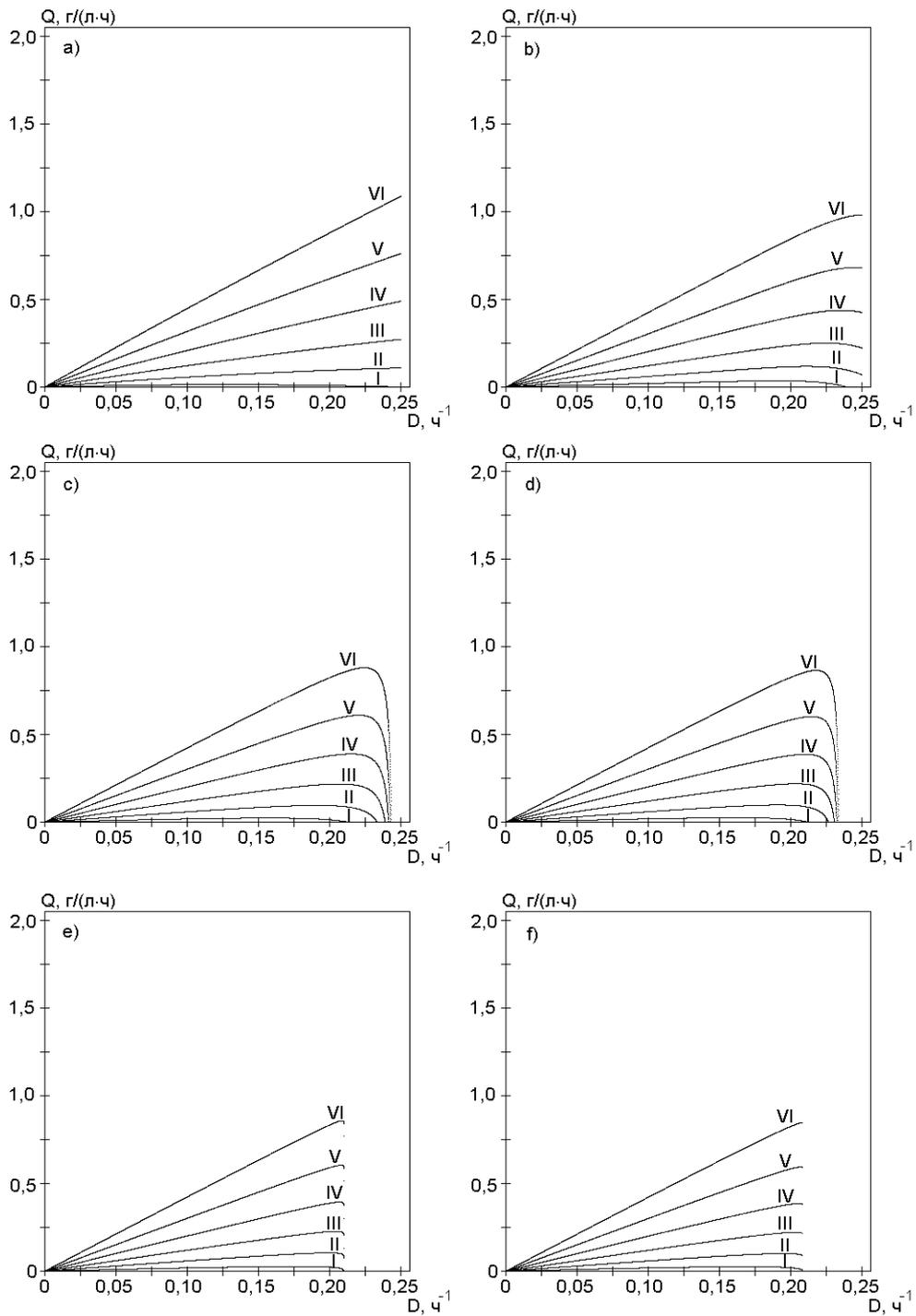


Рис. 8. Зависимости удельной продуктивности Q от величины удельного разбавления D в статическом режиме при использовании различных моделей кинетики. Буквы соответствуют уравнениям: а) – (33); б) – (35); в) – (37); д) – (39); е) – (41); ф) – (43). Начальные концентрации субстрата составляют: I – 0,5 г/л; II – 1 г/л; III – 1,5 г/л; IV – 2 г/л; V – 2,5 г/л; VI – 3 г/л

$$5. \mu(S) = \mu_m (1 - e^{-S/k})$$

$$S = -k \ln \frac{\mu_m - D}{\mu_m}, \quad (40)$$

$$X = \left[S_0 + k \ln \frac{\mu_m - D}{\mu_m} \right] Y. \quad (41)$$

$$6. \mu(S) = \mu_m \frac{S}{S + K_S + kS^2}$$

$$S = \frac{(\mu_m - D) \pm \sqrt{(\mu_m - D)^2 - 4D^2 k \cdot K_S}}{2D \cdot k}, \quad (42)$$

$$X = \left[S_0 - \frac{(\mu_m - D) \pm \sqrt{(\mu_m - D)^2 - 4D^2 k \cdot K_S}}{2D \cdot k} \right] Y. \quad (43)$$

Заметим, что при использовании кинетического уравнения (12) табл. 1 при расчете X и S по уравнениям (42) – (43) имеют место два статических состояния. Анализ условий функционирования проточного биореактора позволяет сделать вывод о том, что интересующий нас режим наблюдается при использовании в уравнениях (42) – (43) знака «←».

Для анализа режимов работы биохимических реакторов наибольшее значение имеет изучение зависимости $X(D)$, как основного технологического параметра, а также удельной продуктивности биореактора по биомассе $Q(D) = DX(D)$.

На рис. 7–8 показаны зависимости концентраций биомассы и удельной продуктивности реактора от величины удельного разбавления при различных начальных концентрациях S_0 . При малых значениях удельного разбавления $0 < D < 0,175 \text{ ч}^{-1}$ значения концентраций биомассы, рассчитанной по разным моделям, практически совпадают (рис. 7). Различия X становятся существенными при значениях удельного разбавления $0,175 < D < 0,25 \text{ ч}^{-1}$, соответствующих максимальной удельной продуктивности (рис. 7, 8). Отметим, что именно такие режимы, как правило, выбираются в качестве «рабочей точки» биохимического реактора. Зависимости, приведенные на рис. 7, не позволяют осуществлять прогноз «точки вымывания», т. е. такого удельного разбавления, при котором концентрация биомассы становится равной нулю. Так, в соответствии с рис. 7а, б такое состояние в заданном диапазоне удельных разбавлений вообще не наблюдается при значениях начальных концентраций субстрата более 0,5 г/л, в то время как при использовании других моделей «точка вымывания» существует при значениях D от 0,21 до $0,226 \text{ ч}^{-1}$. Графики удельных продуктивностей, построенные с помощью различных математических моделей, также существенно различаются при малых удельных разбавлениях $0 < D < 0,175 \text{ ч}^{-1}$ и существенно различаются при оптимальных D .

Таким образом, из расчетов и анализа данных этого и предыдущих разделов можно сделать следующие выводы:

– с одной стороны, в разделе 2 было показано, что на основе экспериментальных данных не всегда удается осуществить правильный выбор кинетической модели, т. к. отклики, полученные по различным уравнениям, практически совпадают;

– с другой стороны, расчеты статических режимов работы биохимических реакторов, выполненные по этим моделям, различаются весьма существенно.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате расчетов, выполненных в настоящей работе, на базе обширного экспериментального мате-

риала получены ответы на вопросы, сформулированные в первом разделе.

Показано, что уравнения «типа Моно» удовлетворительно описывают результаты экспериментов лишь при неизменных концентрациях субстратов и биомассы; в этих условиях практически невозможно сделать вывод о преимуществах какой-либо одной из них. Эти модели не позволяют проводить адекватное описание экспериментальных данных при различных начальных концентрациях биомассы и субстрата, изменяющихся в широких диапазонах. Расчеты статических режимов работы биохимических реакторов, выполненные по этим моделям, различаются весьма существенно.

Таким образом, тщательный анализ математических моделей, используемых в настоящее время для описания процессов биосинтеза, позволяет сделать вывод о существенных недостатках и ограниченности такого описания. По этой причине было бы необходимо осуществлять поиск новой, более стационарной основы для разработки моделей биотехнологических и микробиологических процессов, одновременно учитывающих их стохастичность, различные виды гетерогенностей и фазовых сдвигов на популяционном уровне. Учитывая, что, в действительности, базовую роль в большинстве биологических процессов, сопутствующих росту популяции, имеют процессы чтения и трансляции информации, записанной в ДНК (РНК), по всей видимости, эти процессы и следует выбрать в качестве базы для построения модели биосинтеза. Как было показано в обзоре (раздел 1), такой подход в настоящее время не используется.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баснакьян И.А., Бирюков В.В., Крылов Ю.М. Математическое описание основных кинетических закономерностей процесса культивирования микроорганизмов // Итоги науки и техники. Микробиология. М.: ВИНТИ, 1976. Т. 5. С. 5-75.
2. Васильев Н.Н., Амбросов В.А., Складнев А.А. Моделирование процессов микробиологического синтеза. М.: Лесная пром-сть, 1975. 338 с.
3. Кафаров В.В., Винаров А.Ю., Гордеев Л.С. Моделирование биохимических реакторов. М.: Лесная пром-сть, 1979. 342 с.
4. Печуркин Н.С., Терсков И.А. Анализ кинетики роста и эволюции микробных популяций. Новосибирск: Наука, 1975. 216 с.
5. Monod J. The growth of bacterial cultures // Annual Review of Microbiol. 1949. V. 111. P. 371-394.
6. Волькенштейн М.В. Биофизика. М.: Наука, 1988. 590 с.
7. Маршелл Э. Биофизическая химия. М.: Мир, 1981. Т. 1. 358 с.
8. Бирюков В.В., Кантере В.М. Оптимизация периодических процессов микробиологического синтеза. М.: Наука, 1985. 292 с.
9. Вавилин В.А. Обобщенная модель и механизм азотной биологической очистки // Докл. АН СССР. 1981. Т. 258. № 5. С. 1269-1273.
10. Вавилин В.А. Нелинейные модели биологической очистки и процессов самоочищения в реках. М.: Наука, 1983. 153 с.
11. Вавилин В.А., Васильев В.Б. Математическое моделирование процессов биологической очистки сточных вод активным илом. М.: Наука, 1979. 118 с.
12. Вавилин В.А., Васильев В.Б. Сравнительная оценка математических моделей, применяемых для расчета аэротенков // Водные ресурсы. 1981. № 4. С. 132-145.
13. Вавилин В.А., Кузьмин С.С. Сравнительная оценка математических моделей, применяемых для расчета биофильтров // Водные ресурсы. 1982. № 2. С. 109-115.
14. Иванов В.Н., Угодчиков Г.А. Клеточный цикл микроорганизмов и гетерогенность их популяций. Киев: Наукова Думка, 1984. 280 с.
15. Вердиев С.Г., Гордеев Л.С., Полянский М.А. Кинетика роста микроорганизмов рода *Saccharomyces Vini* (раса Кахури 42) в сусле // Микробиология. 1987. Т. 56. Вып. 3. С. 415-421.
16. Иерусалимский Н.Д. Основы физиологии микробов. М.: Изд-во АН СССР, 1963. 244 с.
17. Moser H. The dynamics of bacterial populations maintained in the chemostat. Washington, 1958.

18. Амбросов В.А., Васильев Н.Н., Складнев А.А. Математическая модель процесса размножения микроорганизмов в условиях периодического способа их культивирования // Прикладная биохимия и микробиология. 1970. Т. 6. Вып. 4. С. 363-373.
19. Винаров А.Ю., Кафаров В.В., Гордеев Л.С. Процессы микро- и макроперемешивания в ферментационных средах // Биоинженерия и биотехнология: Материалы симпозиума. Т. I. Рига, 1978. С. 31-32.
20. Файси Ч. Заметка о логистической кривой роста // Микробиология. 1987. Т. 56. Вып. 1. С. 155-157.
21. Lotka A.J. Elements of mathematical biology. N. Y.: Dover, 1956. (original published as «Elements of Physical Biology», 1925.)
22. Романовский Ю.М., Степанова Н.В., Чернавский Д.С. Что такое математическая биофизика (Кинетические модели в биофизике). М.: Просвещение, 1971. 136 с.
23. Романовский Ю.М., Степанова Н.В., Чернавский Д.С. Математическое моделирование в биофизике. М.: Просвещение, 1975. 343 с.
24. Романовский Ю.М., Степанова Н.В., Чернавский Д.С. Математическая биофизика. М.: Наука, 1984. С. 55.
25. Печуркин Н.С. Популяционная микробиология. Новосибирск: Наука, 1978. 277 с.
26. Родичева Э.К. Поражение и динамика восстановления популяции *Chlorella vulgaris* после УФ-облучения в непрерывной культуре: Дис. ... канд. тех. наук. Красноярск, 1969. 215 с.
27. Родичева Э.К., Гимельзон И.И., Терсков И.А. Действие ультрафиолетового излучения на хлореллу в условиях непрерывного интенсивного культивирования // Изв. Сиб. отд. АН СССР. Сер. Биол.-мед. 1966. Т. 2. Вып. 3. С. 33-37.
28. Сакович И.С., Векшина Л.К. Выживаемость хлореллы при непрерывном культивировании после однократного γ -облучения // Космическая биология и медицина. 1969. № 3. С. 24-28.
29. Железцова Н.А., Железцова Е.Н. Математическая модель динамики роста биомассы бактерий (с учетом отмирания «живой» биомассы) // Физиология и биохимия микроорганизмов. Горький: Изд-во Горьк. ун-та, 1974. С. 65-74.
30. Fishman V.M., Biryukov V.V. Kinetic Model of Secondary Metabolite Production and its Use in computation of Optimal Conditions // Advances in Microbial Engineering. 1974. V. 2. № 4. P. 647-662.
31. Fredrikson A., Ramkrishna D., Tsuchiyе K. Mathematical Biosciences. 1967. V. 1. № 3. P. 327-374.
32. Заславский Б.Г. Математическое исследование возрастной структуры популяции микроорганизмов, выращиваемых в искусственных условиях // Модели структурно-функциональной организации биологических систем. М.: Наука, 1972.
33. Kiefer I. Stochastic Features in mathematical Description of Chemostat Cultures // Advances in Microbial Engineering. 1974. V. 1. № 4. P. 7-13.
34. Динамическая теория биологических популяций / Гимельфарб А.А., Полуэтов Р.А., Пых Ю.А., Ратнер В.А. М.: Наука, 1974. 456 с.
35. Степанова Н.В. Математические модели непрерывной культуры микроорганизмов, распределенных по возрастам и размерам // Математические модели в экологии. Горький: Изд-во Горьк. ун-та, 1980. С. 95-113.
36. Олешко А.В., Черенков М.М. Исследование динамики роста биомассы бактерий *Escherichia coli* с учетом процессов отмирания и лизиса // Биохимия и биофизика микроорганизмов. Горький: Изд-во Горьк. ун-та, 1980. С. 52-57.
37. Алиханян С.И. Селекция промышленных микроорганизмов. М.: Наука, 1968. 392 с.
38. Бейли Н. Математика в биологии и медицине. М.: Мир, 1970. 327 с.
39. Браун В. Генетика бактерий. М.: Наука, 1968. 447 с.
40. Дарг В.А., Ковров Б.Г., Лисовский Г.М. Вероятность сохранения мутантной клетки в непрерывной культуре микроорганизмов // Проблемы создания замкнутых биологических систем. М.: Наука, 1969. С. 208-216.
41. Дегерменджи А.Г. Динамика гетерогенной популяции в постоянных и периодически меняющихся условиях среды // Динамика микробных популяций в открытых системах. Красноярск: Институт физики им. Киренского СО АН СССР, 1975. С. 55-78.
42. Захаров И.А., Квитко К.В. Генетика микроорганизмов. Л.: Изд-во ЛГУ, 1967. 210 с.
43. Печуркин Н.С., Терсков И.А. Автоселекционные процессы в непрерывной культуре микроорганизмов. Новосибирск: Наука, 1973. 64 с.
44. Рубан Е.Л., Вербина Н.М., Бутенко С.А., Озолин П.К., Зарин Д.Г. Биосинтез аминокислот микроорганизмами. М.: Наука, 1968.
45. Fox M.S. Mutation rates of bacteria in steady state populations // J. of General Physiol. 1955. V. 39. P. 267-278.
46. Kubitshek H.E., Bendigkeit H.E. Mutation in continuous cultures I. Dependence of mutational response upon growth-limiting factors // Mutation Research. 1964. V. 1. P. 113-120.
47. Lee H.H. The mutation of *Escherichia coli* to resistance to bacteriophage T6 // Archives of Biochem. and Biophys. 1953. V. 47. P. 438-444.
48. Novick A., Szilard L. Description of the chemostat // Science. 1950. V. 112. P. 715-718.
49. Novick A., Szilard L. Experiments with the chemostat on spontaneous mutations of bacteria. // Proceedings of Nat. Acad. of Sci. 1950. V. 36. P. 708-719.
50. Печуркин Н.С. Некоторые вопросы динамики микробных популяций на протоке: Дис. ... канд. тех. наук. Красноярск, 1969. 130 с.
51. Тренкениш П.П. Применение теории массового обслуживания в биокинетике // Эволюционное моделирование и кинетика. Новосибирск: Наука (Сибирск. отд.), 1992. С. 125-160.
52. Cushing J.M. Integrodifferential Equations and Delay Models in Population Dynamics. Springer-Verlag, 1977.
53. Gopalsamy K. Stability and Oscillations in Delay Differential Equations of Population Dynamics. Kluwer Acad. Publishers, 1992.
54. MacDonald N. Time Lags in Biological Models. Lecture Notes in Biomathematics. Springer-Verlag, 1978.
55. Murray J. D. Mathematical Biology. Springer-Verlag, 1993.
56. Иванова Л.А. Разработка и обоснование способов совершенствования биотехнологии и повышения качества светлого пива: Автореф. дис. ... д-ра тех. наук. М., 1999. 30 с.
57. Смирнов М.С., Яровенко В.Л., Лысенко В.И. Новое дифференциальное уравнение процесса роста биомассы // Микробиология. 1987. Т. 56. Вып. 5. С. 812-815.
58. Арзамасцев А.А., Бодров В.И., Попов Н.С. Кинетика роста микроорганизмов рода *Pseudomonas* на мелассной послеспиртовой барде // Микробиология. 1983. Т. 52. Вып. 6. С. 929-934.
59. Gyllenberg A., Hamalainen P., Halme A. Modelling of microbiological systems for process optimization and control. Helsinki: University of technology, 1975. 37 p.
60. Алферова Л.А. и др. Отчет о НИР. № гос. регистрации 81065206, инв. № 02820058265. М.: ВНИИ «ВОДГЕО», 1982. 67 с.
61. Арзамасцев А.А. Автореф. дис. ... д-ра тех. наук. Тамбов: ТГТУ, 1998. 32 с.
62. Арзамасцев А.А. и др. Оптимизация процессов в дрожжевращительном аппарате методами математического моделирования // Изв. ВУЗов СССР. Пищевая технология. 1984. Вып. 4. С. 111-117.

БЛАГОДАРНОСТИ: Работа частично финансировалась грантом Министерства образования РФ. Выражаем благодарность сотрудникам биохимического завода г. Рассказово В.Я. Руди, К.А. Субботину, А.П. Пенской за помощь в проведении экспериментов 1981–1983 гг.

Поступила в редакцию 10 марта 2000 г.