

УДК 519.95

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ САМОРЕГУЛИРОВАНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ В ПОПУЛЯЦИЯХ МИКРООРГАНИЗМОВ: НЕПРЕРЫВНЫЙ ПРОЦЕСС

© А.А. Арзамасцев, Е.Н. Альбицкая

Arzamastsev A.A., Albitskaya E.N. Mathematical modelling of temperature self-regulation of a population of microorganisms: a continuous mode. The phenomenon of temperature self-regulation in a bioreactor of continuous type is investigated. Borders of the phenomenon existence in the field of external parameters are defined. The opportunity of practical use of the phenomenon is shown.

ВВЕДЕНИЕ

Саморегулированием (аутостабилизацией) какого-либо фактора называется способность объекта (например, биологического) к стабилизации значения данного фактора на определенном уровне за счет работы его (объекта) внутренних механизмов.

Процесс саморегулирования температуры в популяции микроорганизмов в биореакторе, работающем в периодических условиях, ранее изучался в работах [1, 2]. В них была разработана математическая модель этого процесса, дано объяснение как самого явления, так и различных его феноменов: линейного роста популяции микроорганизмов в процессе саморегулирования температуры, образования температурных колебаний внутри биореактора и т. д. Математическая модель адекватно описывала процесс, в котором в качестве биологического объекта выступали микроорганизмы *Candida tropicalis* как при наличии саморегулирования температуры, так и без него.

Целью данной работы является изучение процесса саморегулирования температуры в популяции микроорганизмов *Candida tropicalis* в непрерывном режиме. Реализация данной цели может представлять значительный интерес и для изучения процессов температурного гомеостаза в живых клетках, т. к. непрерывный биореактор может служить хорошей моделью такой системы [3].

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Математическая модель, которая использована в данной работе, описана ранее в работах [1, 2]. Она имеет следующий вид:

$$\frac{dT}{dt} = \mu_r \frac{XH}{c\rho} - \frac{kp(T - T_{ext})}{c\rho V} + Q_T \quad (1)$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu_r X + Q_X \quad (2)$$

$$\frac{dS}{dt} = -\frac{\mu_r}{Y} \cdot X + Q_S \quad (3)$$

$$\frac{d\mu_m}{dt} = \begin{cases} [\mu_m(T) - \mu_m'] / \Theta_1, & \frac{d\mu_m}{dt} \geq 0 \\ [\mu_m(T) - \mu_m'] / \Theta_2, & \frac{d\mu_m}{dt} < 0 \end{cases} \quad (4)$$

$$\frac{dC}{dt} = K_L a (C^* - C) - q_{O_2} + Q_C \quad (5)$$

с начальными условиями:

$$T(0)=T_0, X(0)=X_0, S(0)=S_0, \mu'_m(0)=\mu'_{m0}, C(0)=C_0. \quad (6)$$

$$\mu_r = \frac{\mu'_m SC}{(S + K_s)(C + K_c)} \quad (7)$$

$$q_{O_2} = X(\mu_r \beta + a) \quad (8)$$

$$\mu_m(T) = a_1 \exp(-E_1/RT) - a_2 \exp(-E_2/RT) \quad (9)$$

$$Y(T) = 1,4765 - 0,02353(T - 273,15) \quad (10)$$

$$C^*(T) = 14,438 - 0,34755 \cdot T + 4,6557 \cdot 10^{-3} \cdot T^2 - 2,62965 \cdot 10^{-5} \cdot T^3 \quad (11)$$

$$Q_T = F(T_{in} - T)/V = D(T_{in} - T) \quad (12)$$

$$Q_X = F(X_{in} - X)/V = D(X_{in} - X) \quad (13)$$

$$Q_S = F(S_{in} - S)/V = D(S_{in} - S) \quad (14)$$

$$Q_C = F(C_{in} - C)/V = D(C_{in} - C) \quad (15)$$

Таблица 1

Параметры	Обозначения	Значения	Единицы измерения
Суммарный тепловой эффект биохимической реакции	H	17000	кДж/кг
Константы Михаэлиса для:			
- субстрата,	K_S	1,5	г/л
- кислорода	K_C	0,9	г/л
Постоянные времени	θ_1	10,5	ч
	θ_2	0,2	ч
Предэкспоненциальные множители	a_1	$4,432 \cdot 10^{15}$	1/ч
	a_2	$2,712 \cdot 10^{31}$	1/ч
Энергии активации	E_1	95000	кДж/кмоль
	E_2	190000	кДж/кмоль
Удельная теплоемкость жидкой фазы	c	4,19	кДж/кг·К
Плотность жидкой фазы	ρ	1000	кг/м ³
Объем биореактора	V	$1,5 \cdot 10^{-3}$	м ³
Коэффициент теплопередачи через стенку	k	7,733	кДж/ч·К
Поверхность теплообмена реактора	P	0,073	м ²
Потребление кислорода:			
- на эндогенное дыхание	α	0,24	мг/г·ч
- на экзогенное дыхание	β	1150	мг/г
Объемный коэффициент теплопередачи	$K_L a$	250	1/ч

Идентификация параметров математической модели произведена в наших работах [1, 2] на основе экспериментальных данных [3]. Параметры модели приведены в табл. 1.

В модели использовали следующие начальные условия: $T_0 = 32$ °С, $X_0 = 15$ г/л, $S_0 = 50$ г/л, $\mu_0 = 0$ ч⁻¹, $C_0 = 7,22$ мг/л и концентрации биомассы и кислорода во входном потоке биореактора: $X_{in} = 0$ г/л, $C_{in} = 0$ мг/л.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Математическая модель реализована в виде программы на языке Borland Pascal. Для решения системы дифференциальных уравнений использовали метод Рунге-Кутты четвертого порядка с постоянным шагом. Шаг был выбран из соображений необходимой погрешности решения дифференциальных уравнений.

Исследовали поведение объекта в условиях различных температур во входном потоке, внешних температур, концентраций субстрата во входном потоке и удельных разбавлений.

На рис. 1 представлена зависимость температуры в биореакторе от времени при различных значениях температуры во входном потоке при: а) $T_{ext} = 33$ °С и б) $T_{ext} = 20$ °С. Из рисунков видно, что аутостабилизация температуры в непрерывном режиме имеет место не во всех случаях.

Так, в случае 1 (рис. 1а) саморегулирование наблюдается, начиная с нулевой температуры во входном потоке, что фактически соответствует замерзанию жидкой фазы. Однако выход реактора на режим аутостабилизации достаточно длителен и составляет около 10 часов. Время выхода на режим аутостабилизации сокращается по мере увеличения температуры жидкости во входном потоке. В некоторых случаях, в частности

при температурах во входном потоке 0–20 °С, наблюдается первоначальное снижение температуры в реакторе, и только после того, как биологический объект выходит на активный режим по скорости процесса, температура вновь поднимается.

При высоких температурах жидкой фазы во входном потоке (30 °С и выше) температура в биореакторе начинает повышаться сразу. Наблюдается перерегулирование, т. е. сначала температура превышает супраоптимальную¹ температуру в биореакторе примерно на 1,5–2 °С, а затем выходит на ее уровень. При температурах жидкой фазы во входном потоке 50 °С и выше биологический объект «не справляется» со значительным количеством тепла, приходящего извне, и наблюдаемая в реакторе температура превышает температуру саморегулирования, составляющую в данном случае 40,5 °С. Однако на кривых 5, 6 также заметна тенденция биологического объекта к выравниванию температуры. Эта способность теряется при $T_{in} = 60$ °С (кривая 7).

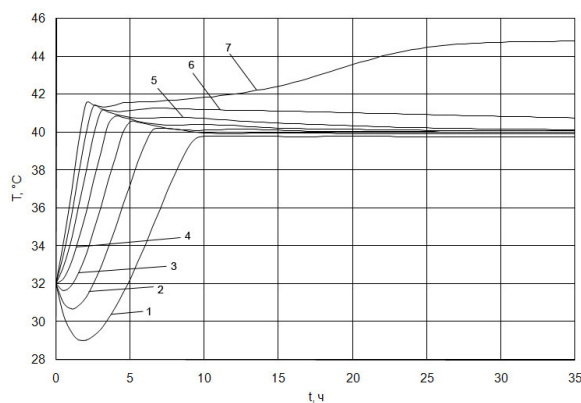
Таким образом, можно сделать заключение, что при довольно значительных изменениях температуры во входном потоке – от 0 до 50 °С биологический объект обладает способностью к самопроизвольному выравниванию этого фактора.

Рис. 1б отличается от рис. 1а значением величины внешней температуры. Видно, что при $T_{ext} = 20$ °С в случае 1 при малом значении температуры во входном потоке биореактор не выходит на режим аутостабилизации. А при значениях T_{in} от 2 до 60 °С объект имеет способность к саморегулированию температуры. Далее при $T_{in} = 60$ °С и выше эта способность теряется.

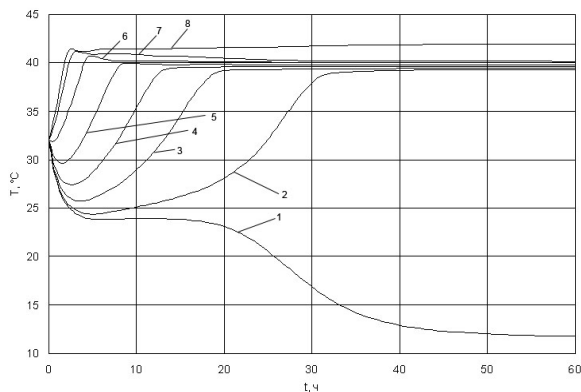
В целом, для зависимостей, приведенных на рис. 1а, время выхода на режим саморегулирования при одинаковых значениях прочих параметров меньше, чем для рис. 1б.

На рис. 2 показано, как меняется температура в биореакторе при различных внешних температурах. Видно, что при значении внешней температуры 5 °С биологический объект не справляется с ее выравниванием внутри биореактора, хотя такая тенденция наблюдается во временном интервале от 5 до 15 часов. Кривая 2, соответствующая $T_{ext} = 10$ °С (рис. 2), показывает, что вначале температура биологического объекта также начинает снижаться. Однако по мере активизации ферментных систем микроорганизмов, биологический объект справляется с неблагоприятными воздействиями внешней среды и выравнивает температуру до заданного уровня. Такая же тенденция наблюдается и при температурах 20–30 °С. При больших температурах биологический объект стремится выравнивать температуру в сторону снижения. Это заметно на кривых 4–6 при температурах внешней среды 30–50 °С. На кривой 7, когда температура внешней среды становится более 60 °С, видно, что биологический объект «не справляется», и температура в реакторе возрастает.

¹ Супраоптимальной называется температура, которую биологический объект поддерживает в результате саморегулирования. Такой термин введен в работах [4, 5] для обозначения следующих фактов: во-первых, такая температура обычно превышает температуру, необходимую для оптимального роста микроорганизмов, т. е. при которой скорость их роста имеет максимальное значение; во-вторых, эта температура обычно близка к максимальному значению, при которой рост данных микроорганизмов вообще возможен (см. рис. 3б).



а)



б)

Рис. 1. Зависимость температуры в биореакторе от времени при различных значениях температуры во входном потоке. $D = 0,07$ 1/ч, $S_{in} = 50$ г/л. а) $T_{ext} = 33$ °C. Номера линий соответствуют различным значениям T_{in} : 1 – 0, 2 – 10, 3 – 20, 4 – 30, 5 – 40, 6 – 50, 7 – 60 °C. б) $T_{ext} = 20$ °C. Номера линий соответствуют различным значениям T_{in} : 1 – 1, 2 – 2, 3 – 5, 4 – 10, 5 – 20, 6 – 40, 7 – 60, 8 – 70 °C

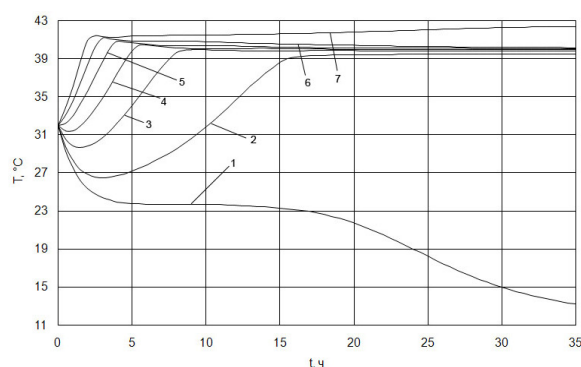
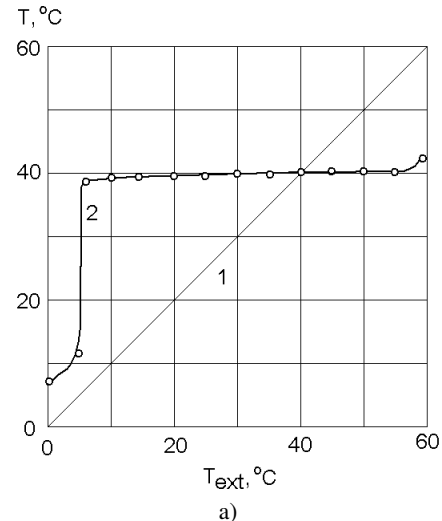
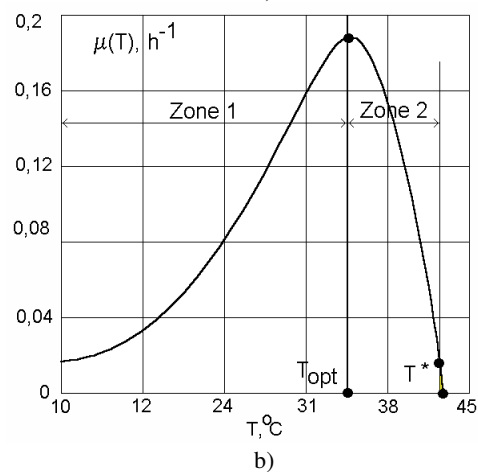


Рис. 2. Зависимость температуры в биореакторе от времени при различных значениях внешней температуры. $T_{in} = 20$ °C, $D = 0,07$ 1/ч, $S_{in} = 50$ г/л. Номера линий соответствуют различным значениям T_{ext} : 1 – 5, 2 – 10, 3 – 20, 4 – 30, 5 – 40, 6 – 50, 7 – 60 °C



а)



б)

Рис. 3. а) Зависимость температуры внутри биореактора от внешней температуры. $T_{in} = 20$ °C, $D = 0,07$ 1/ч, $S_{in} = 50$ г/л. б) Зависимость максимальной удельной скорости роста микроорганизмов от температуры (уравнение (9)) при $a_1 = 4,432 \cdot 10^{15}$ 1/ч, $a_2 = 2,712 \cdot 10^{31}$ 1/ч, $E_1 = 95000$ кДж/кмоль, $E_2 = 190000$ кДж/кмоль. T^* – супраоптимальная температура

На рис. 3а показана обобщенная зависимость температуры внутри реактора от внешней температуры, полученная на основе 14 вычислительных экспериментов. В качестве температуры внутри реактора брали ее значение в установившемся режиме, который в вычислительных экспериментах наблюдался при $t > 180$ ч. Прямая линия 1 соответствует полностью инертному объекту, линия 2 – объекту, способному самопроизвольно поддерживать температуру на уровне 39,5–40 °C. Анализ этого рисунка позволяет сделать вывод о том, что биологический объект сохраняет способность к саморегулированию при внешних температурах от 6 до 55 °C, в то время как диапазон активного роста таких микроорганизмов составляет 24–42 °C – рис. 3б. Отметим, что супраоптимальная температура примерно на 5,5 °C превышает температуру, необходимую для максимальной скорости роста таких микроорганизмов.

Очевидно, что на процесс саморегулирования температуры в биореакторе существенным образом должна влиять концентрация субстрата во входном потоке – основного источника энергии. На рис. 4 показана зависимость температуры в биореакторе от времени при различных значениях концентрации субстрата во вход-

ном потоке. Видно, что объект обладает способностью к саморегулированию при концентрации субстрата, начиная с 20 г/л. При больших концентрациях S_{in} кривые имеют идентичный характер. Однако при низких значениях концентрации субстрата (10 г/л), в результате лимитирования скорости процесса и скорости тепловыделения этим фактором, биологический объект сначала выходит на заданный температурный режим, а потом, ввиду ограниченности скорости тепловыделения, температура в реакторе начинает снижаться и достигает уровня, не соответствующего температуре аутостабилизации. В других случаях, при концентрации субстрата 20–50 г/л во входном потоке, объект выходит на квазистатический режим и сам поддерживает температуру.

Удельным разбавлением называется отношение расхода жидкой фазы (субстрата) через биореактор, работающий в непрерывном режиме, к его объему. Поскольку эта величина обратно пропорциональна среднему времени пребывания жидкой фазы в реакторе, то способность биообъекта к саморегулированию температуры должна существенным образом зависеть от этого параметра.

На рис. 5 показана зависимость температуры в биореакторе от времени при различных значениях удельных разбавлений. Видно, что с увеличением удельного разбавления значение супраоптимальной температуры может снижаться, что не наблюдалось при исследовании саморегулирования в периодическом режиме.

Данный вывод является очень важным, поскольку супраоптимальная температура, наблюдаемая для биологического объекта в периодическом режиме, существенно отличается от температуры, соответствующей максимальной скорости роста микроорганизмов [1, 2] (см. также рис. 3б). Это отличие составляет в среднем 8,8 °C для прокариот и 12,5 °C для эукариот [6]. Данное обстоятельство не позволяет непосредственно использовать способность биологических объектов к саморегулированию для управления технологическими процессами. Однако, учитывая, что, например, при $D = 0,13$ 1/ч (кривая 7 (рис. 5)) супраоптимальная температура становится равной 37,5 °C, можно сказать, что этот режим обеспечивает одновременно и максимальную скорость роста микроорганизмов (см. рис. 3б).

Указанное обстоятельство в принципе позволяет непосредственно использовать саморегулирование температуры для ее поддержания в технологических процессах.

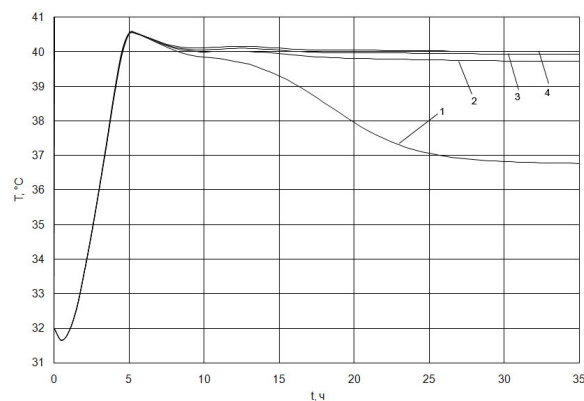


Рис. 4. Зависимость температуры в биореакторе от времени при различных значениях концентрации субстрата во входном потоке.

ке. $T_{ext} = 33$ °C, $T_{in} = 20$ °C, $D = 0,07$ 1/ч. Номера линий соответствуют различным значениям S_{in} : 1 – 10, 2 – 20, 3 – 30, 4 – 50 г/л

На рис. 6а – 6д показаны зависимости температуры внутри биореактора от времени и других параметров процесса. Часть горизонтальной плоскости, ограниченная линией ABCD, представляет на этих рисунках область, в которой наблюдается саморегулирование. Интересно отметить, что лишь при различных удельных разбавлениях D (рис. 6с) такая плоскость не является горизонтальной, а наклонена под некоторым углом к оси D , что свидетельствует о существовании зависимости супраоптимальной температуры от этого параметра. Из рис. 6а и 6б видно, что характер выхода на режим аутостабилизации различен. В некоторых случаях сначала наблюдается снижение температуры, а затем ее рост до значения T^* , в то время как в других случаях сразу наблюдается повышение температуры с последующим выходом на значение T^* .

ВЫВОДЫ

Таким образом, в данной работе осуществлено исследование саморегулирования (аутостабилизации) температуры микроорганизмами в биореакторе непрерывного типа:

- проведен анализ явления при различных значениях параметров: внешней температуре, температуре жидкой фазы во входном потоке, концентрации субстрата и т. д., в ходе которого определены границы существования этого явления;

- обнаружено, что в периодическом режиме работы биореактора, температуры, наблюдаемые в процессе саморегулирования, вполне могут соответствовать температурам, доставляющим максимальную удельную скорость роста используемых микроорганизмов; это обстоятельство позволяет надеяться на возможность практического использования явления саморегулирования;

- поскольку непрерывный биохимический реактор может представлять собой (по крайней мере, в плане температурного режима) упрощенную модель живой клетки [7], полученные выводы с определенной долей вероятности можно экстраполировать и на режимы температурного гомеостаза отдельной живой клетки (например, клетки ткани).

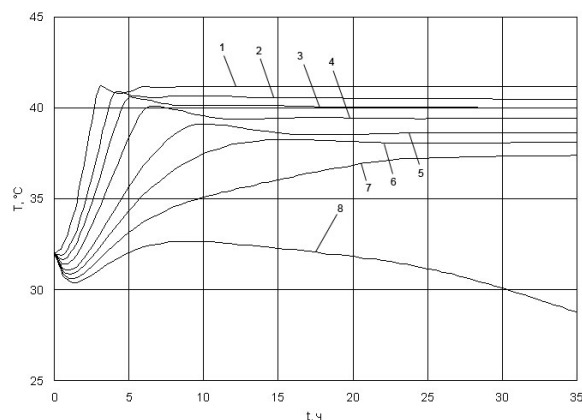


Рис. 5. Зависимость температуры в биореакторе от времени при различных значениях удельного разбавления. $T_{ext} = 33$ °C, $T_{in} = 20$ °C, $S_{in} = 50$ г/л. Номера линий соответствуют различным

ным значениям D : 1 – 0,01, 2 – 0,05, 3 – 0,07, 4 – 0,09,

5 – 0,11, 6 – 0,12, 7 – 0,13, 8 – 0,14 1/ч

ЛИТЕРАТУРА

1. *Arzamastsev A.A., Kristapson M.G.* Computer simulation of temperature autostabilization: an analysis of phenomenon // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 1993. V. 40. P. 77–81.
2. *Арзамасцев А.А.* Компьютерное моделирование саморегулирования температуры в популяциях микроорганизмов. Сообщение 1: периодический режим // *Вестн. Тамб. ун-та. Сер. Естеств. и техн. науки.* Тамбов, 1996. Т. 1. Вып. 1. С. 71–77.
3. *Рылкин С.С. и др.* Эффект аутотермостатирования микробных популяций и его влияние на рост и газообмен микроорганизмов // *Микробиология.* 1973. Т. 42. С. 445–451.
4. *Дегерменджи А.Г., Печуркин Н.С., Шкидченко А.Н.* Аутостабилизация контролирующего рост факторов в биологических системах. Новосибирск: Наука, 1979.
5. *Печуркин Н.С., Шкидченко А.Н.* Явление аутостабилизации факторов, ограничивающих рост микробных популяций в открытых системах // *Докл. АН СССР.* 1976. Т. 227. № 3. С. 719–722.
6. *Arzamastsev A.A.* The possibility of polyculture and polysubstrate bioprocess control using self-regulation properties of microorganisms // *ACHEMA-94, International Meeting on Chemical Engineering and Biotechnology, Biotechnology and the DECHEMA-Section Biotechnology 12th Annual Meeting of Biotechnologists.* Frankfurt a/M, Germany, 5–11 June 1994. Frankfurt a/M, 1994. P. 46–47.
7. *Arzamastsev A.A.* The concept of microbioreactor is a good model for biological tissue phenomena simulation // *7th European Congress on Biotechnology. Abstract Book. Part 3. Wednesday/February 22. Nice, France, 1996.* P. 62.

Поступила в редакцию 20 ноября 2007 г.