



GLOBAL JOURNAL OF SCIENCE FRONTIER RESEARCH: F
MATHEMATICS AND DECISION SCIENCES
Volume 19 Issue 5 Version 1.0 Year 2019
Type : Double Blind Peer Reviewed International Research Journal
Publisher: Global Journals
Online ISSN: 2249-4626 & Print ISSN: 0975-5896

Search for a Mathematical Model of the Kinetics of Saccharomyces Cerevisiae Yeast Cultivation with Oxygen Deficiency

By V. B. Tishin & I. A. Shomrina

Abstract- This article presents research data of the kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* yeasts aerobic cultivation without forced air supply to the cultivator. Oxygen penetrates into the culture medium through its free surface and spreads throughout the liquid volume only due to molecular diffusion. Culture medium mixing occurs with pop-up bubbles of carbon dioxide and thermal energy released by the cells during their development.

Keywords: *kinetics, mathematical model, specific rate, biomass.*

GJSFR-F Classification: MSC 2010: 92C45



Strictly as per the compliance and regulations of:





Search for a Mathematical Model of the Kinetics of *Saccharomyces Cerevisiae* Yeast Cultivation with Oxygen Deficiency

Поиск математической модели кинетики развития дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* при недостатке кислорода

V. B. Tishin ^α & I. A. Shomrina ^α

Abstract- This article presents research data of the kinetics of *Saccharomyces cerevisiae* yeasts aerobic cultivation without forced air supply to the cultivator. Oxygen penetrates into the culture medium through its free surface and spreads throughout the liquid volume only due to molecular diffusion. Culture medium mixing occurs with pop-up bubbles of carbon dioxide and thermal energy released by the cells during their development.

The result of the research was a generalized mathematical model of the kinetics of the yeast cells development, composed of two special models - the growth of biomass and carbohydrate consumption. The combination of the two models was carried out by introducing the relative specific velocity $\bar{\gamma}_{1o} = \bar{\gamma} / \bar{\gamma}_s$ into the mathematical model. There are specific rates of biomass growth and carbohydrate consumption in this equation.

The obtained generalized mathematical model allows us to take into account the effect on the biological process of the initial values of biomass concentrations in the inoculation and the initial concentration of carbohydrates in the culture fluid, and to predict its progress outside the boundaries of the experiment.

Experimental studies have confirmed the validity of this approach to the search for mathematical models of the kinetics of the development of yeast cells.

Keywords: kinetics, mathematical model, specific rate, biomass.

Аннотация: В данной статье приводятся данные исследований кинетики аэробного культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* без принудительной подачи воздуха в культиватор. Кислород воздуха проникает в культуральную среду через её свободную поверхность и распространяется по объёму жидкости только за счёт молекулярной диффузии. Перемешивание среды происходит всплывающими пузырьками диоксида углерода и тепловой энергией, выделяемыми клетками в процессе их развития.

Результатом исследований стала обобщённая математическая модель кинетики развития популяции дрожжевых клеток, составленная из двух частных моделей - прироста биомассы и потребления углеводов. Объединение двух моделей производилось путём введения в математическую модель относительной удельной скорости $\bar{\gamma}_{1o} = \bar{\gamma} / \bar{\gamma}_s$, где $\bar{\gamma}$ и $\bar{\gamma}_s$ удельные скорости прироста биомассы и потребления углеводов.

Полученная обобщённая математическая модель позволяет учесть влияние на биологический процесс начальных значений концентраций биомассы в засевном материале и углеводов в культуральной жидкости, и прогнозировать его ход за пределами границ эксперимента.

Правомерность такого подхода к поиску математических моделей кинетики развития дрожжевых клеток подтверждена экспериментальными исследованиями.

Ключевые слова: кинетика, математическая модель, удельная скорость, биомасса.

Author: e-mail: irinashomrina@gmail.com

I. Введение

Поиск математических моделей кинетических закономерностей развития клеток микроорганизмов – одна из сложнейших задач микробиологии. Основная сложность заключается во множестве связанных между собой факторов, влияющих на скорости протекания биологических процессов в любой биологической системе. Эту связь и должна установить математическая модель. Многофакторность определяется состоянием среды (температура, pH), в которой клетки развиваются, состоянием самих клеток, видом микроорганизма, гидродинамической обстановкой в культиваторе и т.п.

В данной статье рассматривается несколько упрощённая задача аэробного культивирования определённого штамма дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, без принудительной подачи воздуха в культиватор и отсутствии какого-либо перемешивающего устройства при постоянной температуре и pH.

Кислород воздуха проникает в культуральную среду через её свободную поверхность и распространяется по объёму жидкости только за счёт молекулярной диффузии. Сказать, что перемешивание вообще отсутствует, будет не верно. Возможными источниками образования конвективных токов в среде могут быть всплывающие пузырьки диоксида углерода и тепловая энергия, выделяемые клетками в процессе их развития.

В практике периодическое культивирование микроорганизмов без принудительной подачи воздуха в культиватор и без перемешивания встречается редко. Видимо это является причиной того, что сведений об исследованиях на эту тему, к тому же ещё и с целью поиска математических моделей биологических процессов, крайне мало. Помощь в раскрытии проблем, затронутых в данной статье можно найти в работах [1, 2, 3, 4, 5].

В определённой мере, этот вариант в производственных условиях имеет место на различных стадиях культивирования чистых культур дрожжей, когда воздух либо вообще не подаётся, либо его расход не велик. Другим примером может служить развитие пивных дрожжей при сбраживании пивного сусла в открытых ёмкостях [6, 7].

В целом приведённые примеры развития дрожжей в условиях дефицита кислорода не являются лимитирующими в общем цикле производства конечного продукта, но представляют общенаучный интерес, и исследования в этой области позволят более глубоко понять влияние различных факторов на скорости протекания биологических процессов. В частности, в дальнейшем они могут помочь в поиске математических моделей кинетики аэробного развития микроорганизмов в условиях принудительной подачи воздуха в культиватор.

В исследованиях использовался штамм хлебопекарных дрожжей Л-12. Опыты проводились при температуре $T = 31-32^\circ\text{C}$ на мелассных растворах с кратностью разбавления $K_{pm} = 4; 8$ и 12 , что соответствует начальному содержанию углеводов (сахара) в культуральной среде в массовых долях $S_0 = 0.115$, $S_0 = 0.0575$ и $S_0 = 0.0383$ при шести начальных значениях концентраций дрожжей: $x_0 = 0.925; 2.5; 4.73; 7.5$ и 12.5 кгАСБ/м³ (АСБ – абсолютно сухая биомасса); pH-среды поддерживалось на уровне $4.2 - 4.6$.

Цель исследований – во-первых, изучение кинетики протекания биологического процесса на различных стадиях культивирования микроорганизмов и при различных начальных значениях концентраций дрожжевых клеток в засевной культуре и углеводов в питательной среде;

во-вторых, поиск уравнений математических моделей, адекватно отражающих развитие биологических процессов, позволяющих прогнозировать их течение за пределами эксперимента и рассчитывать осреднённые по времени культивирования удельные скорости прироста биомассы и потребления субстрата.

Культивирование проводили в течение восьми – девяти часов. Через каждый час отбирались пробы на предмет определения концентрации локальных значений дрожжей x и углеводов S . За начальное время отсчёта брали время $\tau_1 = 0$. Этому времени соответствовали начальные значения концентрации дрожжей x_0 и субстрата S_0 .

II. Кинетика Прироста биомассы.

В качестве примера на рис.1 представлены результаты экспериментальных исследований кинетики культивирования дрожжей при $S_0 = 0.115$. При других значениях S_0 графики выглядят аналогичным образом.

Анализ многочисленных математических моделей [1, 3, 4, 8] показал, что для описания опытных данных можно принять простую, так называемую модель степенного вида (1) [8], достаточно точно отражающую характер протекания биологического процесса во времени. Кроме того она даёт неплохую сходимость опытных и расчётных значений концентраций биомассы в культуральной среде в широком диапазоне изменения времени культивирования:

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

где $x_b = x/x_0$ - безразмерное значение массовой текущей концентрации биомассы x в единице объёма культуральной среды; γ - удельная степенная локальная скорость (в отличие от удельной логарифмической скорости μ [1, 2]) прироста биомассы, 1/время. Из уравнения (1) следует, что отношение $1/\gamma$ имеет вполне определённый физико-биологический смысл - время удвоения биомассы, параметр, величина которого имеет большое значение в технологических расчётах и в процессе культивирования, по сути, остаётся постоянной.

Показатель степени n - величина безразмерная, определяет темп протекания биологического процесса, или иными словами, характеризует изменение скорости его протекания во времени.

Следует различать локальные значения удельных скоростей прироста биомассы и потребления углеводов γ и γ_s и их осреднённые в промежутке времени культивирования величины $\bar{\gamma}$ и $\bar{\gamma}_s$. Локальные значения будут изменяться во времени, т.к. будут изменяться концентрации биомассы, субстрата и продуктов метаболизма в культуральной среде. Осреднённые значения остаются постоянными в пределах времени осреднения, но

меняются в случае изменения x_0 и S_0 . В данной статье мы будем иметь дело с осреднёнными величинами.

Дальнейшая задача будет заключаться в том, чтобы на основе полученных данных подобрать уравнения математических моделей, адекватно отражающие изменение прироста биомассы во времени и устанавливающие функциональную связь, $\bar{\gamma}$, $\bar{\gamma}_s$ и n с S_0 и x_0 .

Уравнение кинетики прироста биомассы, выраженное через $\bar{\gamma}$, выглядит так же, как и уравнение (1), с заменой в нём γ на $\bar{\gamma}$.

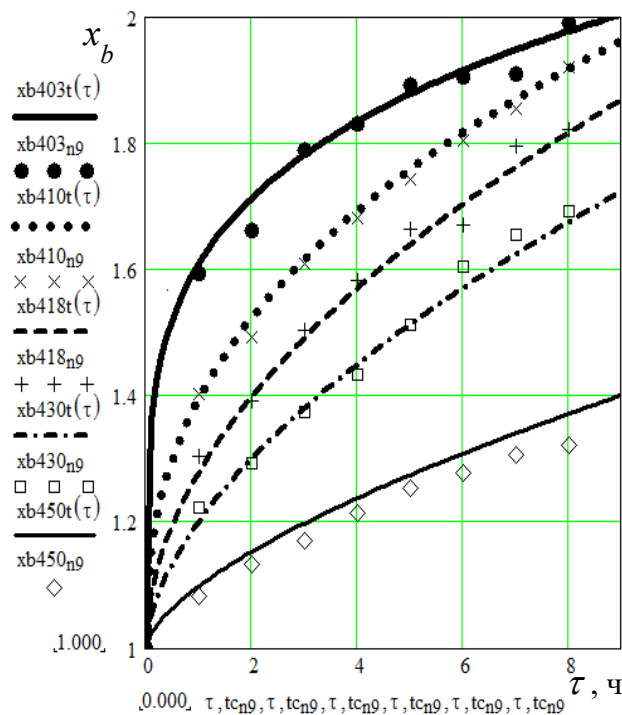


Рис. 1: Изменение концентрации биомассы в процессе культивирования при $S_0 = 0,115$.

Уравн.: (1)-(7): — $x_0 = 0.925$; ●●● $x_0 = 2.5$;

— $x_0 = 4.73$; —●— $x_0 = 7.5$; — $x_0 = 12.5$

В дальнейших наших рассуждениях в поисках математических моделей рассматриваемого варианта культивирования мы, в основном, будем опираться на экспериментальные данные, представленные на рис. 1. Подробный анализ результатов экспериментов при иных значениях S_0 не приводится, т.к. они аналогичны рисунку 1 и их особенности будут отражены в математических моделях.

III. Осреднённая Степенная Удельная Скорость.

В результате компьютерной обработки экспериментальных данных из нескольких предложенных моделей были выбраны следующие функциональные зависимости $\bar{\gamma}(x_0)$ и $n(x_0)$:

$$\bar{\gamma} = \bar{a} - \bar{b}x_0, \quad (2)$$

$$n = \frac{\bar{a}_1 x_0}{\bar{b}_1 + x_0} \quad (3)$$

В равенствах (2) и (3) эмпирический коэффициент \bar{a} и произведение $\bar{b}x_0$, также как и $\bar{\gamma}$, имеют размерность $1/\text{ч}$. Поскольку показатель степени n безразмерен, то и величина \bar{a}_1 должна быть безразмерной, а коэффициент \bar{b}_1 иметь такую же размерность, как и x_0 . Коэффициенты - $\bar{b} = 0.0075 \text{ м}^3/(\text{кг ч})$, $b_1 = 2.2$ оказались постоянными, а коэффициенты \bar{a} и \bar{a}_1 - зависимыми от начального содержания углеводов - S_0 . Для их расчёта выбраны следующие уравнения:

$$\bar{a} = 0.12(1 - e^{-52 \cdot S_0}), \quad (4)$$

$$\bar{a}_1 = \frac{0.3}{S_0^{0.43}}. \quad (5)$$

С учётом равенств (4) и (5) и коэффициентов b и b_1 уравнения (2) и (3) примут вид:

$$\bar{\gamma} = 0.12(1 - e^{-52S_0}) - 0.0075x_0, \quad (6)$$

$$n = \frac{0.3}{S_0^{0.43}(b_2 + 1)}, \quad (7)$$

где $\bar{b}_2 = 2.2/x_0$.

Для наглядности, система уравнений (2), (3), (4), (5) представлена в графическом виде на рис. 2а и 2б.

По уравнениям (2) - (7) и рисункам 2 следует сделать несколько комментариев. Первое, что привлекает внимание - близкая к линейной зависимость $\bar{\gamma}$ от x_0 . Причиной тому является слабая зависимость $\bar{\gamma}$ от S_0 , что отражено в уравнении (6), в котором выражение в скобках в широком диапазоне изменения S_0 близко к единице.

Здесь возникает другой вопрос. Правильно ли уравнение (2) вообще отражает изменение $\bar{\gamma}$ за пределами экспериментальных исследований? Рассмотрим вариант $x_0 \rightarrow 0$. В этом случае $\bar{\gamma} \rightarrow \text{const} = \bar{a}$, чего в реальности быть не может, т.к. без внесения в культуральную жидкость чистой культуры нечему не будет развиваться, поэтому осреднённая удельная скорость $\bar{\gamma}$ должна быть равна нулю.

Рассмотрим другой крайний случай - $x_0 \rightarrow \infty$. В этом случае при определённых значениях x_0 удельная скорость становится отрицательной. Придать такому варианту развития биологического процесса какой-то физико-биологический смысл вряд ли удастся. Скорее всего, при $x_0 \rightarrow \infty$ $\bar{\gamma}$ будет также стремиться к нулю.

Причины снижения удельной скорости с увеличением концентрации биомассы в культуральной среде различны и объяснения этому имеются в литературе [3, 8]. Уравнение (6) лишь конкретизирует связь удельной скорости $\bar{\gamma}$ с параметрами x_0 и S_0 только для условий эксперимента.

Проанализируем теперь влияние концентрации углеводов на развитие биологических процессов. Согласно уравнению (4) при $S_0 = 0$ коэффициенте $\bar{a} = 0$, и из уравнения (2) следует, что $\bar{\gamma}$ становится величиной отрицательной при любом положительном значении x_0 . Однако выше уже показана сомнительность такой ситуации. Развитие клеток в отсутствии углеводов быть не может, значит при $S_0 \rightarrow 0$ $\bar{\gamma}$ должно стремиться к нулю. Наоборот, засеянные в культуральную жидкость дрожжевые клетки станут гибнуть. Можно, конечно, предположить, что отрицательные значения $\bar{\gamma}$ будут каким-то образом характеризовать скорость гибели клеток, но это требует серьёзного экспериментального подтверждения.

При $S_0 \rightarrow 1$ (S_0 не может быть больше единицы), из уравнения (4) следует, что коэффициент \bar{a} стремится к постоянной максимальной величине \bar{a}_m , зависящей от S_0 и близкой к 0.12 (см. рис.2а). В этом случае, примерно, при $x_0 = 16$ кг/м³, согласно уравнению (6) $\bar{\gamma} = 0$ и при дальнейшем увеличении x_0 становится величиной отрицательной. То, что при $S_0 \rightarrow 1$ $\bar{\gamma} \rightarrow 0$, ничего удивительного нет, так как при определённой концентрации углеводы начинают проявлять консервирующие свойства, и клетки микроорганизмов перестают развиваться.

Таким образом, $\bar{\gamma} \rightarrow 0$ при $x_0 \rightarrow 0$ и $S_0 \rightarrow 0$, а также и при $x_0 \rightarrow \infty$ и $S_0 \rightarrow 1$. Если это так, то функция $\bar{\gamma}(x_0)$ при определённых значениях x_0 и S_0 должна иметь максимум. Однако математическая модель, построенная только на основе осреднённых значений удельной скорости прироста биомассы такого вывода не подтвердила.

Причиной снижения $\bar{\gamma}$ с ростом x_0 в рассматриваемом варианте культивирования может быть падение концентрации кислорода, который находится в растворённом виде в исходной культуральной среде. Его равновесная концентрация в жидкости будет определяться её физическими свойствами, изменяющимися в процессе культивирования.

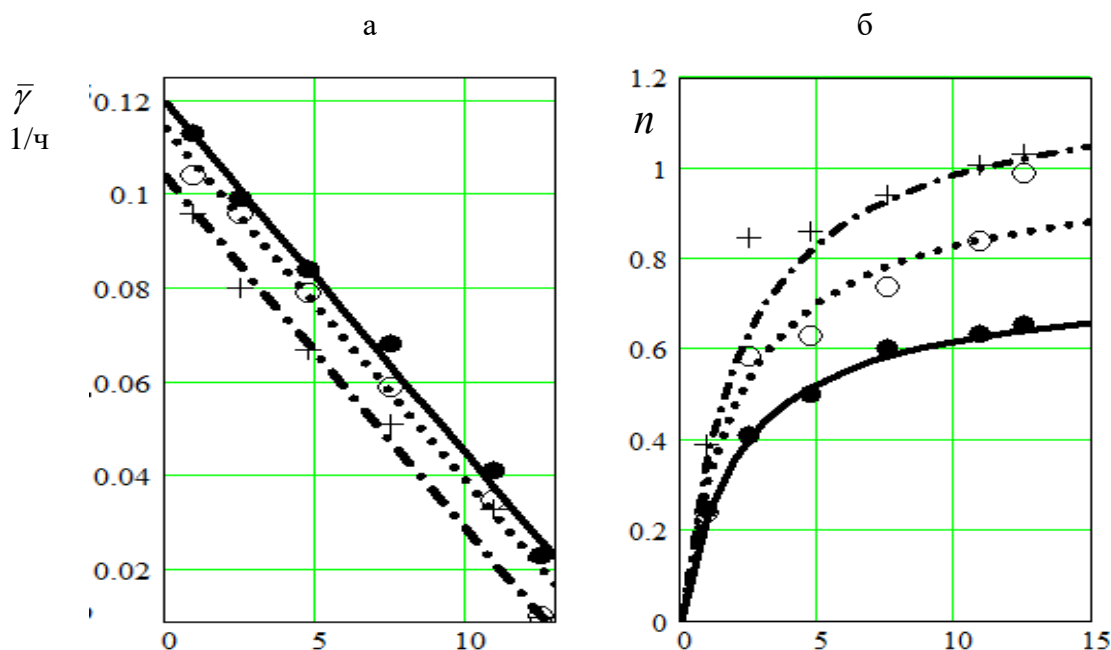


Рис. 2: Зависимость $\bar{\gamma}$ и n от x_0 . Линии: урав. (2): — $S_0 = 0,115$;
 $\bullet\bullet\bullet S_0 = 0,0575$; — — $S_0 = 0.0383$;

В момент внесения в культуральную жидкость засевной культуры концентрация растворённого кислорода будет максимальной и условия для развития клеток будут максимально благоприятными. Однако в процессе размножения клеток концентрации кислорода будет падать. Причиной тому могут быть два обстоятельства. Во-первых, потребление кислорода самими клетками и, во-вторых, нарушение равновесного состояния системы из-за выделения клетками в жидкую среду продуктов метаболизма. Но, так как скорость снижения кислорода, как правило, выше, чем скорость его молекулярной диффузии в культуральную жидкость через свободную поверхность, то концентрация кислорода в среде резко падает. Условия жизнедеятельности клеток ухудшаются, что может служить дополнительной причиной снижения удельной скорости прироста биомассы. К сожалению, авторы работы [5] кинетику снижения концентрации кислорода в культуральной среде в процессе культивирования не снимали.

Подобные исследования проводились при культивировании чайного гриба [9], и с пивными дрожжами в процессе брожения суслу [10]. Несмотря на различие видов исследуемых микроорганизмов, кинетические закономерности потребления кислорода у авторов работ [9, 10] оказались схожими. Вполне возможно, что и при культивировании хлебопекарных дрожжей без принудительной аэрации кинетические закономерности изменения концентрации кислорода будут такими же.

Показатель степени n , названный темпом прироста биомассы, как уже сказано ранее, характеризует изменение скорости прироста биомассы во времени, являющейся производной функции (1)

$$x'_b = \frac{dx}{d\tau} = \bar{\gamma}^n n \tau^{n-1}. \quad (8)$$

Вид функции (8) будет зависеть от значения n . При $n=1$ удельная скорость будет постоянной - $x'_b = \bar{\gamma}$, функция (1) примет линейный характер, и на рис. 1 линии станут прямыми. При $n > 1$ линии будут иметь вид восходящих кривых.

Вариант с $n < 1$ представлен на рис. 1. Согласно уравнению (8), скорость прироста биомассы в процессе культивирования падает. Для наглядности производная (8) в графическом виде представлена на рис.3.

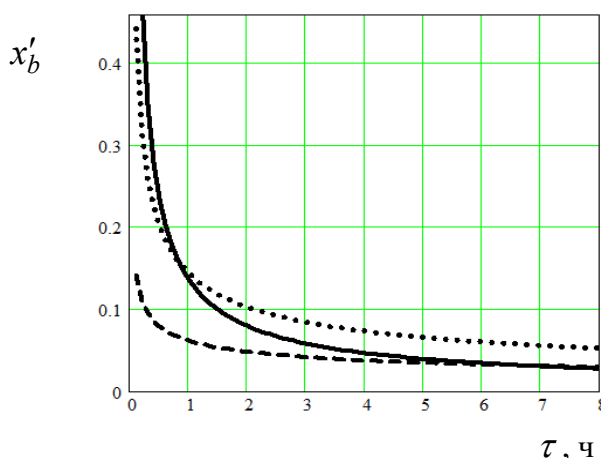


Рис. 3: Изменение скорости прироста биомассы во время культивирования при $S_0=0,115$; линии: $x_0=0.925$ —; $x_0=4.73$ ●●●; $x_0=12.5$ — —

Из рис. 3 видно, что скорость прироста биомассы x'_b резко падает уже в первые минуты культивирования. Причём, чем выше начальная концентрация биомассы, тем резче падение скорости во времени. В общем-то, это понятно – происходит быстрое потребление субстрата клетками и при $\tau \rightarrow \infty$ $x'_b \rightarrow 0$. Но с другой стороны, согласно того же уравнения (1), при $\tau \rightarrow 0$ $x'_b \rightarrow \infty$, что невозможно в принципе. Это означает, что исходное степенное уравнение (1) не достаточно точно отражает ход биологического процесса в начальный период (начальные минуты, а то и секунды) времени. В принципе, можно подобрать более сложный явный вид уравнения функции $x_b(\tau)$, которое удовлетворяло бы условию - $\tau \rightarrow 0$ $x'_b \rightarrow const$. Однако проверить это экспериментально довольно сложно.

Сложность проведения экспериментальных исследований прироста биомассы в первый час культивирования заключается в том, что для установления закономерности развития микроорганизмов в указанное время, необходимо взять, по крайней мере, четыре пробы. Сделать их полноценный анализ в течение одного часа, у авторов работы [5] не было просто технической возможности. Выход оставался один – подобрать такие

Ref

5. Тишин И.Б., Меледина Т.В., Головинская О.В. О выборе математических моделей кинетики культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в условиях дефицита кислорода. - Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий - 2015. - № 3(65). - С. 32-37.

уравнения математических моделей, которые позволили бы описать кинетику прироста биомассы, как в пределах времени эксперимента, так и за его пределами.

IV. Кинетика Потребления Углеводов.

Во время культивирования субстрат постоянно потребляется, и концентрация углеводов будет постоянно падать. Изменение концентрации углеводов определённым образом будет сказываться на ходе процесса культивирования в целом. Чтобы ответить на вопрос, как сказываться, необходимо прежде установить закономерность потребления клетками сахара в процессе культивирования на основе экспериментальных данных, представленных на рис. 4 (опытные данные обозначены знаками) при начальной концентрации субстрата $S_0 = 0,115$. При $S_0 = 0,0575$ и $S_0 = 0,0383$ характер изменения содержания сахаров в среде во времени такой же.

На рисунке 4 представлено изменение во времени концентрации углеводов в культуральной жидкости, выраженной в безразмерном виде $S_b = S/S_0$. Из рисунка наглядно видно падение количества субстрата в культуральной среде по мере развития популяции клеток. Причём крутизна наклона кривых зависит как от начального засева дрожжей, так и от начального содержания субстрата в культуральной среде.

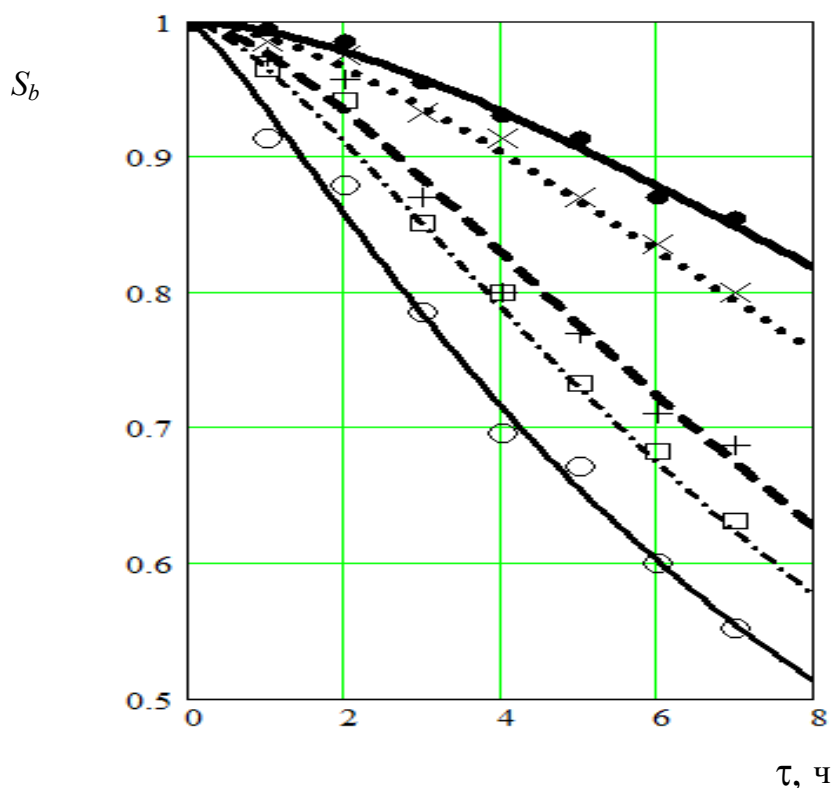


Рис. 4: Изменение концентрации углеводов в процессе культивирования при $S_0 = 0,115$.

Линии соответствуют уравнениям (9)-(1.6): — $x_0 = 0.925$; ●●● $x_0 = 2.5$; — — — $x_0 = 4.73$; —●— $x_0 = 7.5$; — — — $x_0 = 12.5$ кг АСБ/м³

Можно предположить, что изменение концентрации углеводов в культуральной среде опытные данные будут подчиняться уравнением степенного вида [8]

$$S_b = \frac{1}{1 + (\gamma_s \tau)^{n_s}} \quad (9)$$

В уравнении (9) величина $1/\gamma_s$ имеет вполне определённый биологический смысл. Это время снижения концентрации субстрата в два раза.

В результате обработки экспериментальных данных были подобраны эмпирические уравнения, позволившие установить функциональную зависимость $\bar{\gamma}_s$ и n_s от начального засева и начальной концентрации субстрата, следующего вида:

$$\bar{\gamma}_s = a_s x_0^{b_s} \quad (10)$$

$$a_s = 0.111 - 0.54S_0 \quad (11)$$

$$b_s = 0.425 - (3.62S_0)^{2.41} \quad (12)$$

$$n_s = a_4 b_4^{x_0} x_0^{c_s} \quad (13)$$

$$a_3 = 3.6 - 3.74S_0^{0.127} \quad (14)$$

$$b_3 = 0.99 - 1.61S_0^{1.31} \quad (15)$$

$$c_s = 4.29 \cdot 1.076^{\frac{1}{S_0}} S_0^{1.084} \quad (16)$$

На рис. 5а и 5б дано графическое изображение изменения удельной скорости потребления субстрата $\bar{\gamma}_s$ и показателя степени n_s при различных концентрациях биомассы и углеводов.

На рисунках обращает на себя внимание сравнительно большое отклонение опытных значений $\bar{\gamma}_s$ и n_s от рассчитанных по уравнениям (13) – (16). В зоне малых значений x_0 функции $\gamma_s(x_0)$ и $n_s(x_0)$ имеют экстремумы - с увеличением x_0 наблюдается их падение, затем резкий подъём. Имеет ли этот факт какой-либо физико-биологический смысл, или это ошибка эксперимента, сказать трудно. Уравнения (10) и (13) получены без учёта обнаруженных эффектов.

Ref

8. Tishin V.B., Ismailova Y.N. Mathematical Models of the Kinetics of the Cultivation of Microorganisms. Biophysics, 2018, V 63, №2, pp. 197-200.

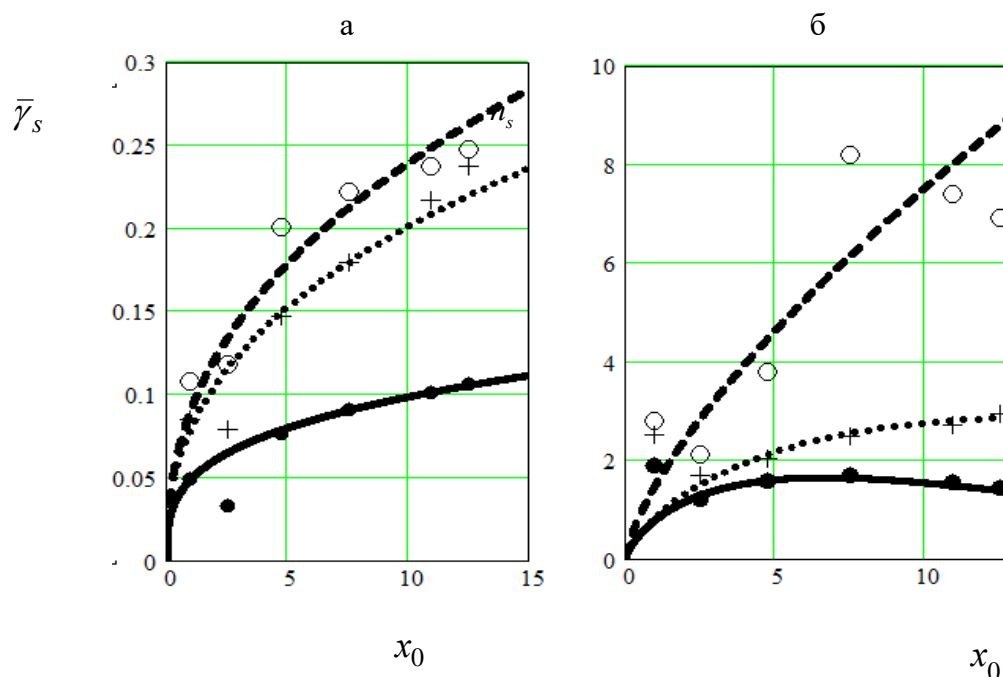


Рис. 5: Зависимость $\bar{\gamma}_s$ и n_s от x_0 . Линии: урав. (2): — $S_0 = 0,115$;
 $\bullet\bullet\bullet S_0 = 0,0383$; — — $S_0 = 0.0383$;

Несмотря на некоторые неточности и неясности всё же можно принять систему уравнений (9) - (16) в качестве математической модели потребления углеводов дрожжевыми клетками в пределах условий эксперимента. Рисунок 4 наглядно демонстрирует удовлетворительную сходимость опытных значений концентрации углеводов и вычисленных с помощью математической модели.

Указанные модели отдельно не раскрывают особенности развития микроорганизмов в различные моменты времени, в частности от момента засева чистой культуры до времени отбора первой пробы. В это время, согласно рис. 3, в течение полутора - двух часов происходят самые интересные события.

Частично, указанных недостатков, можно избежать, объединив две модели в одну, положив в основу отношение опытных значений локальных параметров $\bar{\gamma}$ и $\bar{\gamma}_s$, введя новый параметр $\bar{\gamma}_o$.

V. Обобщённая Модель Кинетики Культивирования Дрожжей

Таким образом, на основе полученных двух моделей необходимо создать одну единую математическую модель, которая адекватно отражала бы процесс развития дрожжевых клеток с учётом потребления ими углеводов и различных начальных концентраций клеток в засевной культуре. Поскольку главной нашей задачей является получение биомассы дрожжей, то в основу обобщённой математической модели кинетики прироста биомассы следует положить уравнение (1).

Параметр $\bar{\gamma}_o$ можно найти двумя способами. Первый – делением уравнения (2) на уравнение(10):

$$\bar{\gamma}_o = \bar{\gamma} / \bar{\gamma}_s \quad (17)$$

С учётом уравнения (17) уравнение (1) примет вид

$$x_b = 1 + (\bar{\gamma}_o \cdot \bar{\gamma}_s \cdot \tau)^n. \quad (18)$$

Второй метод заключается в нахождении уравнения для расчёта удельной скорости непосредственно на основе экспериментальных данных, обработка которых показала, что относительная удельная скорость имеет сложную зависимость от x_0 и S_0 . Математически эта зависимость будет выглядеть следующим образом:

$$\bar{\gamma}_{1o} = \frac{a_4 x_0}{1 - b_4 x_0 + (c_3 x_0)^2}. \quad (19)$$

В уравнении (19) коэффициенты a_4 , b_4 и c_3 зависят от S_0 и имеют размерность обратную x_0 . Для их расчёта получены эмпирические формулы:

$$a_4 = 2.455 \cdot S_0^{0.366}, \quad b_4 = 0.85, \quad c_3 = \frac{0.321}{S_0^{0.265}}. \quad (19a)$$

В графическом виде функция $\bar{\gamma}_{1o}(x_0)$ - (19) изображена рис. 6 чёрными линиями. Для сравнения на нём же цветными линиями показана функция $\bar{\gamma}_o(x_0)$ - (17), полученная делением уравнения (2) на уравнение (10).

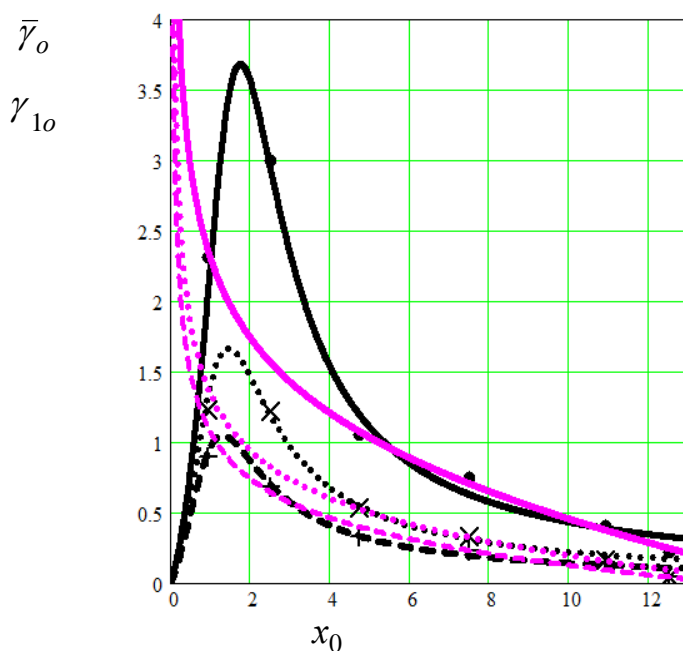


Рис. 6: Зависимость $\bar{\gamma}_o$ и γ_{1o} от x_0 при S_0 :

— - 0.115; - 0.0575; — — - 0.0383

Как видно по рисунку, согласно уравнению (17) при $x_0 \rightarrow 0$ $\bar{\gamma}_o \rightarrow \infty$, что не соответствует реальной действительности. Уравнения (19) в большей степени согласуется с опытными данными и согласно им при $x_0 = 0$ $\bar{\gamma}_{1o} = 0$ и этот факт соответствует

действительности. При высоких значениях x_0 (примерно при $x_0 \geq 4$ кг/м³) уравнения (17) и (19) дают близкие значения $\bar{\gamma}_o$ и $\bar{\gamma}_{1o}$.

Ответить на вопрос – почему при постоянном значении S_0 удельная скорость вначале резко увеличивается с ростом x_0 и достигнув максимума резко начинает падать, довольно сложно. Скорее всего, это связано с теми же причинами, о которых говорится в работах [2, 3, 8] при обсуждении влияния концентрации клеток на их развитие – конкуренция за субстрат, накопление продуктов метаболизма и т.п. Видимо при малых количествах засевного материала конкуренция за субстрат, скорость накопления продуктов метаболизма не велики и увеличение x_0 , до определённого предела, может приводить к росту удельной скорости прироста биомассы. Дальнейшее увеличение x_0 приводит к быстрому снижению концентрации углеводов и, соответственно, к росту скорости накопления продуктов метаболизма, и влечёт, конечном итоге, к резкому падению $\bar{\gamma}_{1o}$. В определённой мере эти соображения согласуются с работой Коно Т, на которую ссылаются авторы работы [2].

С учётом вновь введённого параметра $\bar{\gamma}_{1o}$ уравнение (1) представим следующим образом:

$$x_b = 1 + (\bar{\gamma}_{1o} \cdot \bar{\gamma}_s \cdot \tau)^n \quad (20)$$

Правомерность гипотез, высказанных на основе, уравнений (19) подтверждается и рисунком 7, на котором видно, что модели (1) – (7) и (19) – (20) дают не плохую сходимость опытных и теоретических данных по кинетике культивирования.

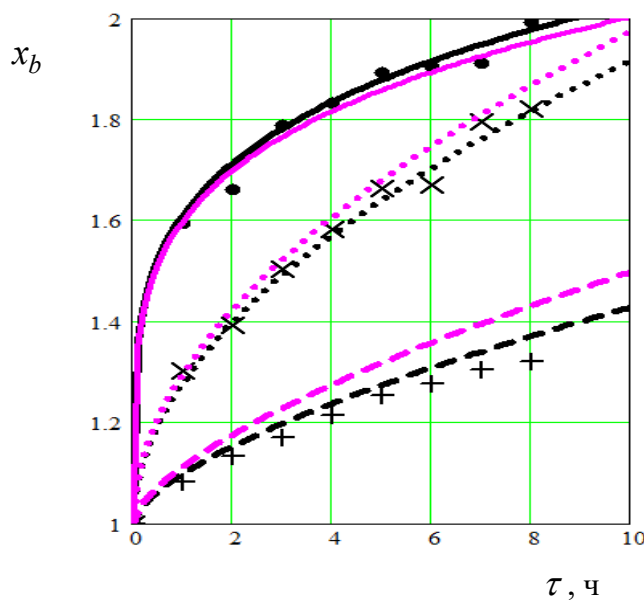


Рис. 7: Кинетика культивирования при $S_0 = 0.115$. Чёрный цвет уравнений (1) - (7), фиолетовый – (19) – (20): — $x_0 = 0.925$; ●●● $x_0 = 4.73$; — — $x_0 = 12.5$.

Таким образом, на основе двух частных моделей - кинетики культивирования биомассы (1) – (7) и потребления субстрата (9) – (16) построена обобщающая модель (19) – (20). В основу модели положена степенная зависимость (1) с заменой в ней удельной скорости $\bar{\gamma}$ прироста биомассы на произведение - $\bar{\gamma}_{1o} \cdot \bar{\gamma}_s$, позволяющее учесть влияние на кинетику прироста биомассы x_0 и S_0 , как в пределах границ эксперимента, так и за их пределами.

Ко всему сказанному можно добавить, что параметр $\bar{\gamma}_{1o}$ является своеобразным критерием подобия, характеризующим взаимное влияние на кинетику развития биологического процесса увеличение концентрации клеток в культуральной среде и снижение концентрации углеводов.

Заслуживающим внимание является то обстоятельство, что функции (19) предполагает резкое изменение критерия $\bar{\gamma}_{1o}$ от нуля до некоего максимального значения $\bar{\gamma}_{1om}$ при изменении x_0 от нуля до его критического значения x_{0k} , после чего начинается спад и $\bar{\gamma}_{1o} \rightarrow 0$ при $x_0 \rightarrow \infty$.

Можно предположить, что подобная зависимость будет наблюдаться и между локальными значениями γ_{1o} и x в процессе культивирования при постоянных значениях x_0 и S_0 . Все высказанные гипотезы требуют отдельного экспериментального подтверждения.

VI. Выводы

Математические модели (1) – (7) и (9) – (16) ограничены в возможностях моделирования биологических процессов в широких диапазонах изменения x_0 и S_0 из-за неточностей в расчётах значений $\bar{\gamma}$ и $\bar{\gamma}_s$.

Таких недостатков лишена обобщённая модель (10) и (19) - (20). Модель, во-первых, адекватно отражает влияние на развитие дрожжевых клеток во времени их начальных концентраций в засевной культуре, и начальных значений концентраций углеводов в культуральной среде в диапазоне изменения времени культивирования от $\tau = 0$ до времени окончания процесса культивирования;

во-вторых, раскрывает некоторые кинетические закономерности развития популяции дрожжевых клеток в условиях дефицита кислорода, представленных на рис. 6. Введённый в уравнение (20) параметр γ_{1o} можно принять в качестве критерия подобия, характеризующего взаимное влияние на кинетику развития биологического процесса увеличение концентрации клеток в культуральной среде и снижение концентрации углеводов.

Полученная математическая модель даёт возможность, при заданных значениях температуры культивирования, pH среды, начальной концентрации биомассы и углеводов в культуральной жидкости, определять значения средних за время культивирования удельных скоростей прироста биомассы и потребления углеводов, необходимых в технологических расчётах.

Литература

1. Басканьян И.А., Бирюков В.А., Крылов Ю.М. Математическое описание основных кинетических закономерностей процесса культивирования микроорганизмов.– М.: Микробиология, т. 5, ВИНТИ, 1976, с. 5–75.
2. Басканьян И.А., Мельникова В.А. Периодическое культивирование как основа прогнозирования некоторых аспектов непрерывного культивирования микроорганизмов. – М.: Микробиология, т. 5, ВИНТИ, 1976, с. 76–91.
3. Васильев Н.Н., Амбросов В.А., Складнев А.А. Моделирование процессов микробиологического синтеза.– М.: Лесн. пром., 1975. – 341
4. Рубин А. Б., Биофизика. Изд. 2 – М.: МГУ, 1997
5. Тишин И.Б., Меледина Т.В., Головинская О.В. О выборе математических моделей кинетики культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в условиях дефицита кислорода. - Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий - 2015. - № 3(65). - С. 32-37
6. Плевако У.А. Технология дрожжей. – М.: Пищевая пром-сть, 1970. – 300 с.
7. Семихатова Н.М., Лозенко Н.Ф., Буханова В.М. и др. Производство хлебопекарных дрожжей. – М Пищевая пром-сть, 1978. – 193 с.
8. Tishin V.B., Ismailova Y.N. Mathematical Models of the Kinetics of the Cultivation of Microorganisms. Biophysics, 2018, V 63, №2, pp. 197-200.
9. Исмаилова Ю.Н., Тишин В.Б. Формирование кислотного состава культуральной жидкости чайного гриба *Medusomyces gisevi*./ В сборнике: Альманах научных работ молодых ученых Университета ИТМО, 2016, Т 5, с. 242-245.
10. Тишин В. Г.А., Тамазян, В.Г.,Оганнисян В.Г., Т.В. Меледина Т.В. Влияние кислорода на кинетику биологических процессов при сбраживании суслу. Хранение и переработка сельхозсырья, №4, 2010 г., с. 29–32.

This page is intentionally left blank