ПИЩИКОВ Геннадий Борисович

Доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой машин и аппаратов пищевых производств

Уральский государственный экономический университет
620144, РФ, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45
Контактный телефон: (343) 251-96-36

ШАНЧУРОВ Сергей Михайлович

Доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой менеджмента градостроительства

Уральский государственный экономический университет
620144, РФ, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45
Контактный телефон: (343) 252-14-19
e-mail: ssm@usue.ru

Биохимические закономерности развития и поддержания популяции микроорганизмов в процессах производства пищевых продуктов

Ключевые слова: кинетика; микроорганизмы; биотехнологии; дрожжевые клетки; биохимия; размножение; рост и гибель микроорганизмов.

Аннотация. Рассмотрена кинетическая модель процесса роста и размножения микроорганизмов, учитывающая не только разнообразные формы клеток, но и способ их размножения. Сформулированы кинетические уравнения, позволяющие достаточно полно описать эволюционные процессы роста, размножения и гибели микроорганизмов в биореакторах периодического и непрерывного действия. Приведены примеры, представляющие как научный, так и практический интерес.

В настоящее время процесс культивирования микроорганизмов занимает важное место в биотехнологии, в технологии производства спирта, в пивоваренной и винодельческой промышленности [1–3]. Однако известные теории данного процесса построены в основном на балансовых соотношениях между биомассой дрожжей и концентрацией субстрата в культуральной жидкости и не учитывают стохастичность процесса.

В данной работе предлагается математическая теория процесса роста и размножения микроорганизмов на примере дрожжевых клеток как для случая, когда процесс лимитируется биохимическими превращениями внутри клетки, так и для случая, когда происходит диффузионный перенос питательных веществ к поверхности клетки.

Уравнения, описывающие рост (при $x_0 \le x \le 2x_0$ и деление дрожжевых клеток (при $x = 2x_0$) на две равные части в проточном аппарате идеального смешения, представимы в следующем виде:

$$\frac{\partial}{\partial t} f + \frac{1}{\tau} f + \frac{\partial}{\partial x}\left[u(x,c) - \frac{\partial}{\partial x} D_c\right] f = \gamma N\left[2\delta(x - x_0) - \delta(x - 2x_0)\right] + \frac{1}{\tau} f_0(x,t); \qquad (1)$$

$$\frac{d}{dt} c + \frac{1}{\tau} c + \frac{1}{Y}\langle u \rangle N = \frac{1}{\tau} c_0, \qquad (2)$$

где x_0 – масса дрожжевой клетки после ее деления; $f = f(x, t)$ – плотность функции распределения числа клеток по их массам x в момент времени t; τ – среднее время пребывания элементов жидкости в аппарате ($\tau = \frac{V}{Q}$, где V – рабочий объем аппарата, Q – объемный поток культуральной жидкости); $u(x, c)$ – скорость роста отдельной клетки от $x = x_0$ до $x \le 2x_0$; $c = c(t)$ – концентрация субстрата; D_c – стохастический параметр (коэффициент «диффузии» в пространстве масс); $\gamma = \gamma(c)$ – величина, определяющая скорость поступления дрожжевых клеток в систему в результате их размножения; $N(t)$ – число дрожжевых клеток в единице объема аппарата в момент времени t; $\delta(\zeta)$ – дельта-функция Дирака; $f_0(x, t)$ – плотность функции распределения числа клеток в единице объема входного потока культуральной жидкости; Y – экономический коэффициент; знак $\langle ... \rangle$ – среднее значение указанной величины; c_0 – концентрация субстрата во входном потоке.

Для однозначного решения уравнений (1) и (2) нужно задать начальные и граничные условия:

$$f(x, 0) = f_{01}(x),\ c(0) = 0, \tag{3}$$

где $f_{01}(x)$ – заданная функция;

$$f(x, t) = 0 \text{ при } x < x_0 \text{ и } x > 2x_0,\ t > 0, \tag{4}$$

т. е. функция $f(x, t)$ отлична от нуля только для $x_0 \le x \le 2x$. Вне этого интервала она тождественно равна нулю, так как по предположению клетки массой $2x_0$ мгновенно разделяются. Если же по каким-либо причинам они не разделяются, удерживаются рядом, то условимся их считать за две клетки. Умножим выражение (1) слева и справа на $x^k dx$ и проинтегрируем по x от нуля до бесконечности, учитывая условие (4). Получим уравнение для определения k-го момента, $k = 0, 1, 2, ...$

$$\frac{d}{dt}\langle x^k \rangle N + \frac{1}{\tau}\langle x^k \rangle N = k\langle x^{k-1}u \rangle N + k(k-1)\langle x^{k-2}D_c \rangle N - 2\gamma N(2^{k-1} - 1) + \frac{1}{\tau}\langle x^k \rangle_0 N_0, \tag{5}$$

где N_0 – число дрожжевых клеток во входном потоке культуральной жидкости.

Из выражения (5) при $k = 0, 1, 2$ соответственно имеем:

$$\tau\frac{dN}{dt} + (1 - \gamma\tau)N = N_0; \tag{6}$$

$$\tau\frac{d}{dt}\langle x \rangle N + \langle x \rangle\left(1 - \tau\frac{\langle u \rangle}{\langle x \rangle}\right)N = \langle x \rangle_0 N_0, \quad M = \langle x \rangle N, \quad M_0 = \langle x \rangle_0 N_0; \tag{7}$$

$$\tau\frac{d}{dt}\langle x^2 \rangle N = 2\langle xu \rangle \tau N + 2\tau\langle D_c \rangle N - 2\gamma\tau x_0^2 + \langle x^2 \rangle_0 N_0. \tag{8}$$

Из выражений (6)–(8) можно найти такие величины, как N, M и $\sigma^2 = \langle x^2 \rangle - \langle x \rangle^2$, где σ^2 – дисперсия распределения случайной величины x.

Очевидно, что установившийся процесс имеет место не при всех значениях величины N_0 и $\tau\langle D_c \rangle$. В связи с этим полезно следующее утверждение: пусть $N_0 = 0$, $\tau\langle D_c \rangle = 0$, тогда существует установившийся процесс, при котором

$$\gamma\tau = \langle u \rangle \tau / \langle x \rangle = 1. \tag{9}$$

Рассмотрим два наиболее важных аспекта теории.

1. Процесс лимитируется биохимическими превращениями внутри клетки. В этом случае справедливы соотношения

$$u(x, c) = \mu x, \quad \langle u \rangle = \mu\langle x \rangle, \quad \mu = \mu_m c / (k_s + c), \tag{10}$$

где μ_m и k_s – постоянные величины.

Далее, из соотношения (9) следует, что $\mu\tau = 1$, а поэтому

$$c = k_s / \left(\mu_m \tau - 1\right), \quad M = \left(c_0 - c\right)Y, \quad N = M / \left\langle x \right\rangle, \quad \gamma = \mu. \tag{11}$$

С другой стороны, из решения уравнения (1), для рассматриваемого варианта, имеем:

$$f\left(x\right) = \frac{2x_0}{x^2} N\left[\theta\left(x - x_0\right) - \theta\left(x - 2x_0\right)\right], \tag{12}$$

где $\theta(z)$ – ступенчатая функция, равная единице при $z \ge 0$ и равная нулю при $z < 0$.

Зная явный вид функции $f(x)$, можно легко вычислить величину x:

$$\frac{1}{N}\int_{x_0}^{2x_0} x f\left(x\right) dx = \left(2\ln 2\right) x_0. \tag{13}$$

2. Процесс лимитируется диффузионным переносом питательных веществ к поверхности клетки.

В данном варианте

$$u\left(x, c\right) = \beta c s, \quad \left\langle u \right\rangle = \beta c \left\langle s \right\rangle = \beta c \left(\frac{\left\langle s \right\rangle}{\left\langle x \right\rangle}\right)\left\langle x \right\rangle, \tag{14}$$

где s – внешняя поверхность дрожжевой клетки.

Из соотношения (9) имеем:

$$\gamma\tau = 1, \quad \beta\tau c \frac{\left\langle s \right\rangle}{\left\langle x \right\rangle} = 1, \quad \gamma = \beta c \frac{\left\langle s \right\rangle}{\left\langle x \right\rangle}. \tag{15}$$

Функцию $\varphi(x) = f(x)/N$ при $D_c = N_0 = \partial f / \partial t = 0$ найдем из решения уравнения (1):

$$\varphi\left(x\right) = 2\frac{\left\langle s \right\rangle}{\left\langle x \right\rangle} \frac{1}{S\left(v\right)} \exp\left[-\frac{\left\langle s \right\rangle}{\left\langle v \right\rangle}\int_{v_0}^{v} \frac{dv}{s\left(v\right)}\right], \tag{16}$$

где $v = x/\rho$ (v – объем клетки, ρ – ее плотность).

В правую часть выражения (16) входит неизвестное отношение $\left\langle s \right\rangle / \left\langle \nu \right\rangle$, которое можно найти в явном виде, подчинив функцию $\varphi(x)$ условию нормировки:

$$\int_{x_0}^{2x_0} \varphi\left(x\right) dx = 1. \tag{17}$$

Из формулы (17) с учетом выражения (16) следует важная формула

$$\frac{\left\langle v \right\rangle}{\left\langle s \right\rangle} = \left(\frac{1}{\ln 2}\right)\int_{v_0}^{2v_0} \frac{dv}{s\left(v\right)}. \tag{18}$$

Пример. Если дрожжевые клетки имеют сферическую форму и размножаются почкованием, тогда

$$\int_{v_0}^{2v_0} \frac{dv}{s\left(v\right)} = \int_{0}^{v_0} \frac{dv}{s_0 + s_1\left(v\right)} = R\int_{0}^{1} \frac{\xi^2 d\xi}{1 + \xi^2} = \left(1 - \frac{\pi}{4}\right)R, \tag{19}$$

где учтено, что $dv = 4\pi r^2 dr$, $v_0 = \dfrac{4}{3}\pi R^3$, $s_0 = 4\pi R^2$, $s_1(v)$ – поверхность почки радиуса r, R – радиус зрелой почки. Но ${}^{v_0}\!/_{s_0} = {}^{R}\!/_{3}$, следовательно,

$$\frac{\langle x\rangle}{\langle s\rangle}=0{,}929\frac{x_0}{s_0}=\lambda\frac{x_0}{s_0},\quad \lambda=0{,}929. \tag{20}$$

Легко проверить, что такое же значение коэффициент λ имеет для клеток эллиптической формы; для цилиндрической клетки $\lambda = 1$.

Для дрожжевых клеток, размножающихся с помощью деления, практически всегда $\lambda = 1$.

Опираясь на вышеизложенное, не представляет особого труда определить такие величины, как c, M, N:

$$c=\lambda\frac{x_0}{s_0}\frac{1}{\beta\tau},\quad M=\left(c_0-c\right)Y,\quad N=M/\langle x\rangle. \tag{21}$$

Таким образом, предложенная выше кинетическая модель процесса роста и размножения дрожжевых клеток учитывает не только разнообразные формы микроорганизмов, но и способ их размножения. Однако в этой модели проанализирован процесс при отсутствии внешнего источника дрожжевых клеток.

Изложим математическую модель рассматриваемого процесса в аппарате идеального смещения при наличии стоков и внешних источников дрожжевых клеток и питательных веществ.

Дрожжевая клетка рассматривается нами как миниатюрный биореактор идеального смешения.

Проанализируем два крайних случая массообмена дрожжевых клеток с окружающим их субстратом.

1. Процесс роста микроорганизмов при заданной концентрации питательных веществ лимитируется биохимическими превращениями внутри самой клетки.

2. При заданной концентрации субстрата в биореакторе процесс роста клетки лимитируется доставкой питательных веществ к ее поверхности.

Уравнения, описывающие рост при $x_0 \le x \le 2x_0$ и мгновенное деление дрожжевых клеток при $x > 2x_0$ на две равные части в проточном аппарате идеального смешения, представимы в следующем виде:

$$\frac{\partial}{\partial t}f+\frac{1}{\tau}f+\frac{\partial}{\partial x}\left[U(x,c)-\frac{\partial}{\partial x}D_c\right]f=\gamma N\left[2\delta(x-x_0)-\delta(x-2x_0)\right]+\frac{1}{\tau}f_0(x,t); \tag{22}$$

$$\frac{d}{dt}C+\frac{1}{\tau}C+\frac{1}{Y}\langle U\rangle N=\frac{1}{\tau}C_0. \tag{23}$$

Для однозначного решения уравнений (22) и (23) нужно задать начальные и граничные условия

$$f(x,0)=f_0(x),\ C(0)=0, \tag{24}$$

где $f_0(x)$ – заданная функция;

$$f(x,t)=0 \text{ при } x<x_0 \text{ и } x>2x_0,\ t>0, \tag{25}$$

т. е. функция $f(x, t)$ отлична от нуля только для $x_0 \le x \le 2x_0$; вне этого интервала она тождественно равна нулю, так как, по предположению, клетки массой $2x_0$ мгновенно распадаются. Умножим выражение (22) слева и справа на $x^k dx$ и проинтегрируем по x от нуля до бесконечности; учитывая условие (25), получим уравнение для определенного k-го момента, $k = 0, 1, 2, \ldots$

$$\frac{d}{dt}\left\langle x^k\right\rangle N+\frac{1}{\tau}\left\langle x^k\right\rangle N=k\left\langle x^{k-1}U\right\rangle N+k(k-1)\left\langle x^{k-2}D_c\right\rangle N-2\gamma x_0^k(2^{k-1}-1)N+\frac{1}{\tau}\left\langle x^k\right\rangle_0 N_0, \tag{26}$$

где N_0 – число дрожжевых клеток во входном потоке культуральной жидкости.

Из выражения (26) при $k = 0, 1, 2$ соответственно имеем

$$\tau \frac{dN}{dt} + (1-\gamma\tau)N = N_0; \tag{27}$$

$$\tau \frac{d}{dt}\langle x\rangle N + \langle x\rangle \left(1 - \tau \frac{\langle u\rangle}{\langle x\rangle}\right) N = \langle x\rangle_0 N_0, \quad M = \langle x\rangle N, \quad M_0 = \langle x\rangle_0 N_0; \tag{28}$$

$$\tau \frac{d}{dt}\langle x^2\rangle N - \langle x^2\rangle N = 2\langle x\tau U\rangle N + 2\tau\langle D_c\rangle N - 2\gamma\tau x_0^2 + \langle x^2\rangle_0 N_0. \tag{29}$$

Из уравнений (27)–(29) с учетом (23) можно найти такие величины, как N, $M, \langle x_0\rangle$ и $\sigma^2 = \langle x^2\rangle - \langle x\rangle^2$, где σ^2 – дисперсия распределения случайной величины.

Рассмотрим два наиболее важных аспекта.

1. Процесс лимитируется биохимическими превращениями внутри клетки. В этом случае справедливы соотношения

$$U(x,c) = \mu x, \quad \langle U\rangle = \mu\langle x\rangle, \quad \mu = \mu_m C/(K_s + C),$$

где μ_m и K_s – постоянные величины.

1.1. Пусть $N_0 = 0$, $D_c = 0$, тогда для установившегося процесса имеет место равенство

$$\gamma\tau = \langle U\rangle \tau / \langle x\rangle = 1.$$

Поэтому, так как $\mu\tau = 1$,

$$C = K_s / (\mu_m \tau - 1), \quad M = Y(C_0 - C), \quad \gamma = \mu.$$

С другой стороны, из решения уравнения (22), для рассматриваемого варианта, имеем:

$$f(x) = \frac{2x_0}{x^2}\left[\theta(x - x_0) - \theta(x - 2x_0)\right]N,$$

где $\theta(z)$ – ступенчатая функция, равная единице при $z \geq 0$ и равная нулю при $z < 0$. Зная явный вид функции $\varphi(x) = f(x)/N$, можно определить k-й момент:

$$\int_{x_0}^{2x_0} \varphi(x) x^k dx = \frac{x_0^k}{k-1}(2^k - 2), \quad \langle x\rangle = (2\ln 2)x_0, \quad \langle x^2\rangle = 2x_0^2,$$

но, так как $M = \langle x\rangle N$, то $N = M/\langle x\rangle$.

1.2. Пусть $f_0(x) = N_0\delta(x - x_0)$, $D_c = 0$. Тогда для установившегося процесса из решений уравнений (22), (28) и (29) следует, что $M = M_0 + Y(C_0 - C)$:

$$C = \frac{1}{2}\left\{\frac{K_S}{\mu_m\tau - 1} + C_0 + \frac{\mu_m \tau M_0}{Y(\mu_m\tau - 1)} - \sqrt{\left[\frac{K_S}{\mu_m\tau - 1} + C_0 + \frac{\mu_m\tau M_0}{Y(\mu_m\tau - 1}\right]^2 - \frac{4K_S C_0}{\mu_m\tau - 1}}\right\};$$

$$f(x) = N \cdot \frac{2^\alpha}{2^\alpha - 1} \cdot \frac{\alpha x_0^\alpha}{x^{1+\alpha}}\left[\theta(x - x_0) - \theta(x - 2x_0)\right];$$

$$\langle x\rangle = \frac{x_0}{1 - \mu\tau} \cdot \frac{2^\alpha - 2}{2^\alpha - 1}, \quad \alpha = \frac{1}{\mu\tau}, \quad N = N_0 \frac{2^\alpha - 1}{2^\alpha - 2}.$$

2. Процесс лимитируется диффузионным переносом питательных веществ к поверхности клетки.

В данном варианте

$$U(x,C)=\beta Cs,\quad \langle U\rangle=\beta C\langle s\rangle=\beta C\frac{\langle s\rangle}{\langle x\rangle}\cdot\langle x\rangle,$$

где β – коэффициент массообмена; s – внешняя поверхность дрожжевой клетки.

2.1. Пусть N_0 = 0, D_c = 0. В этом случае установившийся процесс возможен только при выполнении следующих условий:

$$\gamma\tau=1,\quad \beta\tau C\frac{\langle s\rangle}{\langle x\rangle}=1,\quad \gamma=\beta C\frac{\langle s\rangle}{\langle x\rangle}.$$

Опираясь на данные равенства, решение уравнения (22) относительно функции $\varphi(x) = f(x)/N$ можно представить в виде

$$\varphi(\nu)=2\frac{\langle s\rangle}{\langle \nu\rangle}\cdot\frac{1}{s(\nu)}\left\{\exp\left[-\frac{\langle s\rangle}{\langle \nu\rangle}\int_{\nu_0}^{\nu}\frac{d\nu}{s(\nu)}\right]\right\}.$$

$$\left[\theta(x-x_0)-\theta(x-2x_0)\right], \tag{30}$$

где $v = x/\rho$ (v – объем клетки, ρ – ее плотность).

В правую часть выражения (30) входит неизвестное соотношение $\langle s\rangle/\langle \nu\rangle$, которое можно найти в явном виде, подчинив функцию $\varphi(v)$ условию нормировки. Выполнив указанную процедуру, получим следующее соотношение:

$$\frac{\langle x\rangle}{\langle s\rangle}=\frac{1}{\ln 2}\int_{x_0}^{2x_0}\frac{dx}{s}, \tag{31}$$

из которого следует, что величины $\frac{\langle x\rangle}{\langle s\rangle}$ и $\frac{x_0}{s_0}$ связаны простой зависимостью $\frac{\langle x\rangle}{\langle s\rangle}=\lambda\frac{x_0}{s_0}$, λ = 0,929 – для клеток сферической и эллиптической формы; для клеток цилиндрической формы $\lambda \approx 1$.

С учетом вышеизложенного не представляет особого труда определить такие величины, как C, M и N:

$$C=\lambda\frac{x_0}{s_0}\cdot\frac{1}{\beta\tau},\quad M=(C_0-C)\cdot Y,\quad N=M/\langle x\rangle,\quad \langle x\rangle=\int_{x_0}^{2x_0}x\phi(x)dx.$$

2.2. Пусть $f_0(x) = N_0\delta(x - x_0)$, D_c = 0. Тогда для установившегося процесса справедливы нижеследующие выражения:

$$M=M_0+(C_0-C)Y; \tag{32}$$

$$N=N_0\frac{1-J}{1-2J}; \tag{33}$$

$$f(x)=\frac{N}{1-J}\cdot\frac{\alpha_1}{s}\left[\exp\left(-\alpha_1\int_{x_0}^{x}\frac{dx}{s}\right)\right]\cdot\left[\theta(x-x_0)-\theta(x-2x_0)\right], \tag{34}$$

где $J=\exp\left(-\alpha_1\int_{x_0}^{x}\frac{dx}{s}\right)$, $\alpha_1=\frac{1}{\beta C\tau}$.

В выражения (32)–(34) входит неизвестная величина C, которую следует определить из системы уравнений

$$\begin{cases} Y\beta\tau\dfrac{\langle s\rangle}{\langle x\rangle}C^2-\left(Y+M_m\beta\tau\dfrac{\langle s\rangle}{\langle x\rangle}\right)C+YC_0=0, \quad M_m=M_0+YC_0, \\ \dfrac{\langle x\rangle}{\langle s\rangle}=\beta C\tau\left[1+\dfrac{x_0(1-2J)}{J_2}\right], \quad J_2=\int\limits_{x_0}^{2x_0}dx\cdot\exp\left(-\alpha_1\int\limits_{x_0}^{x}\dfrac{dx}{s}\right). \end{cases}$$

Анализируя полученные результаты, можно сделать следующие выводы. Через достаточно большой промежуток времени, при постоянных C_0 и N_0, в рассматриваемой системе может установиться динамическое равновесие. При этом система «забывает» свое начальное состояние, вследствие чего, в зависимости от лимитирующего фактора, в системе формируется тот или иной «универсальный» спектр масс дрожжевых клеток $\varphi(x)=f(x)/N$.

Выше предложена кинетическая теория процесса роста и размножения микроорганизмов в аппаратах периодического и непрерывного действия. Однако во многих практически важных задачах возникает потребность учитывать не только рост и размножение дрожжевых клеток, но и их гибель.

Восполним указанный пробел. Условимся считать мертвыми клетками те, которые потеряли способность к росту и размножению, но сохраняют свою первоначальную форму и массу.

Итак, пусть $f(x, t)$ – плотность функции распределения (дифференциальная функция распределения) числа живых (способных к размножению) микроорганизмов в момент времени t по массам x в единице объема аппарата; $f_p(x, t)$ – плотность функции распределения числа мертвых клеток по массам x в единице объема аппарата в момент времени t; $N\cdot\Gamma(x, t)$ – число гибнущих микроорганизмов в единице объема аппарата в момент времени t массой x; $U(x, c, t)$ – скорость роста микроорганизмов от $x = x_0$ до $x = 2x_0$; $C(t)$ – концентрация питательных веществ в аппарате в момент времени t; N – число живых дрожжевых клеток в единице объема аппарата в момент времени t.

Предполагается, что при $x = 2x_0 + 0$ происходит мгновенное отделение дочерней клетки от материнской при равных массах. При массообменных процессах дрожжевая клетка рассматривается как миниатюрный биореактор идеального смешения. С учетом вышеизложенного, составляя баланс по числу частиц в единице объема аппарата, можно получить следующие кинетические уравнения, описывающие рассматриваемый процесс в проточном аппарате идеального смешения:

- для живых клеток

$$\frac{\partial f}{\partial t}+\frac{1}{t}f+N\Gamma(x,t)+\frac{\partial}{\partial x}\left[Uf-\frac{\partial}{\partial x}D_c f\right]=\gamma N\left[2\delta(x-x_0\right]+\frac{1}{\tau}f_0(x,t); \tag{35}$$

- для неразмножающихся клеток

$$\frac{\partial f_p}{\partial t}+\frac{1}{\tau}f_p=N\Gamma(x,t), \tag{36}$$

где $\tau = V/Q$ – среднее время пребывания элементов культуральной жидкости в аппарате; D_c – стохастический коэффициент (коэффициент «диффузии» в пространстве масс), считается, что $D_c = 0$ при $x_0 \le x \le 2x_0$; $U(x, c, t) > \dfrac{\partial D_c}{\partial x}$ для всех $x \in \left[x_0, 2x_0\right]$; γ – величина, характеризующая скорость поступления в систему дрожжевых клеток массой $x = x_0$, образовавшихся при делении материнских клеток массой $x = 2x_0 + 0$, численное значение величины γ (при ограниченности функции $\Gamma(x, t)$ и $f_0(x_0, t)$) определяется из условия «самосогласования»:

$$\gamma N = \left[U(x,c,t) - \frac{\partial D_c}{\partial x} \right] f(x,t)\big|_{x=2x_0} - 0, \tag{37}$$

$\delta(\zeta)$ – дельта-функция Дирака; $f_p(x, t)$ – плотность функции распределения числа дрожжевых клеток по массам x в единице объема входного потока в момент времени t.

Очевидно, что приведенных уравнений недостаточно для решения поставленной задачи, так как функция U зависит от величины $C(t)$, которая сама подлежит определению. Поэтому для замыкания уравнений (35) и (36) следует воспользоваться законом сохранения вещества, опираясь на который можно получить недостающие уравнения:

$$\frac{dC}{dt} + \frac{1}{\tau} C + \frac{1}{Y} \cdot \frac{\langle U \rangle}{\langle x \rangle} M = \frac{1}{\tau} C_0; \tag{38}$$

$$\frac{dM}{dt} + \frac{1}{\tau} M + N \int_{x_0}^{2x_0} x \Gamma(x, t) dx = \frac{1}{\tau} M_0 + \frac{\langle U \rangle}{\langle x \rangle} M; \tag{39}$$

$$\frac{dM_p}{dt} + \frac{1}{\tau} M_p = N \int_{x_0}^{2x_0} x \Gamma(x, t) dx, \tag{40}$$

где Y – экономический коэффициент; $\langle U \rangle = \frac{1}{N} \int_{x_p}^{2x_0} U(x,c,t) f(x,t) dx$ – средняя скорость роста микроорганизмов в момент времени t; $N = \int_{x_0}^{2x_0} x f(x,t) dx$ – средняя масса размножающихся клеток в аппарате в момент времени t; $M = \langle x \rangle N$ – масса живых дрожжевых клеток в единице объема аппарата в момент времени t; $N_p = \int_{x_0}^{2x_0} f_p(x,t) dx$ – число мертвых дрожжевых клеток в единице объема аппарата в момент времени t; $\langle x \rangle_p = \frac{1}{N_p} \int_{x_0}^{2x_0} x f_p(x,t) dx$ – средняя масса мертвых микроорганизмов в аппарате в момент времени t; $M_p = \langle x \rangle_p N_p$ – масса мертвых микроорганизмов в единице объема аппарата в момент времени t; C_0 и M_0 – концентрация питательных веществ и масса живых дрожжевых клеток в единице объема входного потока.

Уравнения (35)–(40) являются достаточно общими.

Так, при $\frac{1}{\tau} = 0$ они описывают изучаемый процесс в аппаратах периодического действия идеального смешения. При $\frac{1}{\tau} = 0$ и $t = z/w$, где z – пространственная координата, направленная вдоль оси аппарата, w – продольная скорость потока культуральной жидкости, преобразованные уравнения (35)–(40) будут описывать установившийся процесс роста, размножения и гибели дрожжевых клеток в проточном аппарате идеального вытеснения.

Система уравнений (35)–(40), несмотря на свою кажущуюся сложность, в практически интересных вариантах для установившегося процесса имеет достаточно простые решения [4].

Например, пусть $N\Gamma(x) = \Gamma_0 f(x) = \Gamma_0 f(x) = \Gamma_0 N \varphi(x)$, где Γ_0 – постоянная величина; $\varphi(x)$ – плотность функции распределения для спектра масс, нормированная на единицу.

Тогда решение системы уравнений (35)–(40) при $f_0 = D_c = 0$ для всех $x \in \left[x_0, 2x_0\right]$ представимо в виде

$$\varphi(x) = \left\{ \frac{2\langle U\rangle}{\langle x\rangle U(x,c)} \exp\left[-\frac{\langle U\rangle}{\langle x\rangle} \int_{x_0}^{x} \frac{d\zeta}{U(\zeta,c)} \right] \right\} \left[\Theta(x-x_0) - \Theta(x-2x_0) \right], \tag{41}$$

где $\Theta(z)$ – ступенчатая функция, $\Theta(z) = 1$ при $z \geq 0$ и $\Theta(z) = 0$ при $z < 0$;

$$f(x) = N\varphi(x);\quad f_p(x) = N_p\varphi(x);\quad N_p = \Gamma_0\tau N;\quad M_p = \Gamma_0\tau M;\quad \langle x\rangle = \langle x\rangle_p;$$

$$M_p + M = \left(C_0 - C_{\infty^p}\right)Y;\quad N = M/\langle x\rangle;$$

$$\frac{\langle U\rangle}{\langle x\rangle} \int_{x_0}^{2x_0} \frac{dx}{U(x,c)} = \ln 2; \tag{42}$$

$$\langle x\rangle = 2\int_{x_0}^{2x_0} dx \cdot \exp\left[-\frac{\langle U\rangle}{\langle x\rangle} \int_{x_0}^{x} \frac{d\zeta}{U(\zeta,c)} \right]. \tag{43}$$

Уравнение для определения величины $C = C_\infty$, где C_∞ – концентрация питательных веществ в аппарате при установившемся режиме, с учетом выражения (42) можно получить, воспользовавшись равенством

$$\frac{\langle U\rangle \tau}{\langle x\rangle} = 1 + \Gamma_0\tau. \tag{44}$$

Так, если $U(x, c) = x\psi(c)$, где $\psi(c)$ – заданная функция от C, то $\langle U\rangle = \langle x\rangle\psi(c)$.

Подставляя данное значение $\langle U\rangle$ в уравнение (44), получим уравнение для определения неизвестной величины $C = C_\infty$:

$$\tau\psi(c) = 1 + \Gamma_0\tau. \tag{45}$$

Если же $U(x, c) = \beta cs$, где β – коэффициент массообмена, s – внешняя поверхность растущей дрожжевой клетки, $s(x) = s(x_0 + \zeta) = s(x_0) + s(\zeta)$; $s(x) = s_0$ – поверхность материнской клетки, $s(\zeta)$ – поверхность дочерней клетки, то $\langle U\rangle = \beta C\langle s\rangle$.

В данном варианте уравнение (44) преобразуется к виду

$$C_\infty = \frac{1 + \Gamma_0\tau}{\beta\tau} \cdot \frac{\langle x\rangle}{\langle s\rangle}, \tag{46}$$

но в правую часть этого выражения входит неизвестная величина $\langle x\rangle / \langle s\rangle$. С другой стороны, из уравнения (42) следует, что

$$\frac{\langle x\rangle}{\langle s\rangle} = \frac{1}{(\ln 2)} \rho \int_0^{\nu_0} \frac{d\nu}{s_0 + s(\nu)} = \lambda \frac{x_0}{s_0}, \tag{47}$$

где $\rho = \langle x\rangle / \langle \nu\rangle$ – удельная масса дрожжевой клетки. Ранее было показано, что $\lambda = 0{,}929$ для сферических и эллиптических дрожжевых клеток, $\lambda = 1$ – для цилиндрических клеток.

С учетом формулы (47) окончательное выражение (46) для определения величины C_∞ примет следующий вид:

$$C_\infty = \frac{1 + \Gamma_0\tau}{\beta\tau} \lambda \frac{x_0}{s_0}. \tag{48}$$

В связи с вышеизложенным:

• для первого варианта, когда $\psi(c)=\dfrac{\mu_m C}{K_c+C}$, где μ_m и K_c – постоянные величины,

$$\varphi(x)=\frac{2x_0}{x^2}\left[\Theta(x-x_0)-\Theta(x-2x_0)\right];$$

$$f(x)=N\varphi(x),\quad f_p(x)=N_p\varphi(x);$$

$$\langle x\rangle=\langle x\rangle_p=x_0 2\ln 2;$$

$$C_\infty=(1+\Gamma_0\tau)/\left[\mu_m\tau-(1+\Gamma_0\tau)\right];$$

• для второго варианта, когда $U(x, c)=\beta c s(\nu)$, для всех $\nu\in\left[\nu_0, 2\nu_0\right]$, где $s(\nu)=s(\nu_0+\nu-\nu_0)=s(\nu_0)+s(\nu-\nu_0)$,

$$\varphi(x)=\frac{\langle s\rangle}{\langle x\rangle}\frac{2}{s(\nu)}\left\{\exp\left[-\frac{\langle s\rangle}{\langle x\rangle}\int_{\nu_0}^{\nu}\frac{d\zeta}{s(\zeta)}\right]\right\}\left[\Theta(x-x_0)-\Theta(x-2x_0)\right];$$

$$\nu\in\left[\nu_0, 2\nu_0\right],\quad f(x)=N\phi(x);$$

$$f_p(x)=N_p\varphi(x),\quad N_p=\Gamma_0\tau N,\quad \frac{\langle x\rangle}{\langle s\rangle}=\lambda\frac{x_0}{s_0}.$$

Не представляет принципиального труда для установившегося процесса с указанными выше ограничениями получить решение системы уравнений (35)–(40) и тогда, когда функция $\Gamma(x)$ имеет достаточно общий вид:

$$N\Gamma(x)=\Phi(x)f(x)=N\Phi(x)\varphi(x),$$

где $\Phi(x)$ – произвольная ограниченная функция на отрезке $[x_0, 2x_0]$. В этом варианте для функций $f(x)$ и $f_p(x)$ имеют место нижеследующие представления:

$$\varphi(x)=\frac{2\left[1+\langle\Phi\rangle\tau\right]}{\tau U(x,c)}\left\{\exp\left[-\int_{x_0}^{x}\frac{1+\Phi(\zeta)\tau}{\tau U(\zeta, c)}d\zeta\right]\right\}\left[\Theta(x-x_0)-(x-2x_0)\right];$$

$$f(x)=N\varphi(x),\quad f_p(x)=\tau N\Phi(x)\varphi(x),\quad N_p=\tau N\langle\Phi\rangle.$$

Откуда, при $\Phi(x)=\Gamma_0$ с учетом условия (42), следуют ранее полученные результаты.

Замечание. Влияние флуктуации (коэффициента D_c) на процесс роста и размножения микроорганизмов, по-видимому, значительно только при $U(x, c)$, близких к нулю. Однако данный случай обычно не представляет особого интереса в инженерной практике.

Таким образом, сформулированные в данной работе кинетические уравнения позволяют достаточно полно описывать эволюционные процессы роста, размножения и гибели дрожжевых клеток в биореакторах периодического и непрерывного действия.

Источники

1. Иванова А. А., Война Л. И., Иванова И. С. Пищевая биотехнология. М. : Колос С, 2008.

2. Саришвили Н. Г., Рейтблат Б. Б. Микробиологические основы технологии шампанизации вина. М. : Пищепромиздат, 2000.

3. Пищиков Г. Б. Адсорбция дрожжевых клеток на контактных поверхностях продольно секционированных аппаратов шампанизации вина // Виноделие и виноградарство. 2009. № 6.

4. Пищиков Г. Б. Научное обоснование и разработка технологии, процессов и аппаратов шампанизации вина : дис. ... д-ра техн. наук. М., 2000.