

ВИКОРИСТАННЯ РІВНЯННЯ МОНО ДЛЯ ІТЕРАЦІЙНОГО РОЗРАХУНКУ ПЕРІОДИЧНИХ ПРОЦЕСІВ ФЕРМЕНТАЦІЇ

Ю. І. Сидоров

Національний університет «Львівська політехніка»

E-mail: sydorowy@rambler.ru

Використовуючи ітераційний спосіб розрахунків, можна коректно поєднати модель Мальтуса для необмеженого росту біомаси за сталої концентрації і питомої швидкості росту з рівнянням Моно, яке передбачає змінну величину цієї швидкості. За допомогою нової моделі, що є більш змістовною з погляду біохімії, ніж модель логістичної кривої Фергюльста, можна розраховувати об'єм ферментера періодичної дії та оптимальний час ферментації.

Ключові слова: моделі росту біомас Мальтуса, Фергюльста, рівняння Моно, ітераційна модель Мальтуса–Моно.

Математичні моделі росту біомас широко використовують як для визначення кінетичних параметрів мікробіологічних процесів, які дозволяють оцінити механізми репродукції в науковому аспекті, так і для суто практичних цілей — для визначення часу досягнення певного ступеня конверсії субстрату або концентрації клітинної маси, а відтак, для визначення об'ємів апаратури для ензиматичних реакцій, оптимального часу ферментації.

Першою математичною моделлю росту біомаси можна вважати (нехтуючи рядами Фібоначчі, які було сформульовано раніше) модель Томаса Роберта Мальтуса [1]. Він виходив із простого й очевидного постулату, що *приріст біомаси в часі прямо пропорційний початковій кількості біомаси:*

$$\Delta N = \mu N \Delta \tau. \quad (1)$$

В інтегральній формі цей постулат має вигляд:

$$N = N_0 e^{\mu \tau}, \quad (2)$$

де N_0 , N — початкова маса популяції мікроорганізмів та її маса через час τ .

За Мальтусом коефіцієнт пропорційності μ (питома швидкість росту) залежить тільки від виду живої істоти і є сталою величиною. За своєю суттю вираз (2) є геометричною прогресією, що описує експоненціальний безмежний ріст біомаси в умовах постійної концентрації біомаси і субстрату. Ріст біомаси згідно із зазначеним законом можливий лише за умови постійного додавання субстрату

у дедалі більшій кількості при збереженні початкової концентрації біомаси. Такому закону, наприклад, відповідає припливний процес одержання харчових дріжджів (feed-batch process). У цьому разі швидкість росту біомаси розраховують, використовуючи коефіцієнт приросту e^{μ} .

У реальних умовах об'єм, в якому розвивається популяція (або ареал існування), є обмеженим, при цьому концентрація біомаси в часі збільшується, а концентрація субстрату зменшується (batch process). Урешті-решт після вичерпання субстрату припиняється й ріст біомаси. Математичний опис такої поведінки популяції ще 1845 р. запропонував П. Ф. Фергюльст [2], який висловив ідею, що *всім живим істотам притаманна внутрішньовидова конкуренція, яка збільшується зі збільшенням концентрації біомаси.* Рівняння Мальтуса було доповнено ще одним членом:

$$\Delta X = \mu X \Delta \tau - \beta X^2 \Delta \tau, \quad (3)$$

де β — коефіцієнт внутрішньовидової конкуренції; ΔX — приріст концентрації біомаси; X — концентрація біомаси.

Диференціальне рівняння Фергюльста має вигляд:

$$dX/d\tau = \mu X - \beta X^2. \quad (4)$$

Це рівняння дістало назву «Рівняння логістичної кривої» (РЛК). Воно не має біохімічного підґрунтя, а квадрат при концентрації біомаси — довільний індекс, який відповідає деяким експериментальним даним. Як і в рівнянні Мальтуса, $\mu = \text{const}$.

За умови, що $\tau = \infty$, $X = X_k$ (кінцева концентрація біомаси). В інтегральному вигляді рівняння росту біомас для одностатевих особин, які розмножуються простим поділом, набуває вигляду:

$$X = \frac{X_n X_k}{X_n + (X_k - X_n)e^{-\mu\tau}}, \quad (5)$$

де X_n — початкова (засівна) концентрація біомаси; X — поточна концентрація біомаси.

До аналогічного рівняння прийшов і Кобозев, розглядаючи процес репродукції як консекутивне авткаталітичне розмноження прототипів [3].

Типовий вигляд кінетики процесу за Фергюльстом за умови, що $\mu < 2$, показано на рис. 1. При $\mu \geq 1,5-2$ і за дуже швидкого досягнення верхніх значень X система переходить у хаотичний стан і самоорганізується з вибором оптимального розміру популяції (концентрації); при цьому рушійною силою самоорганізації є раптова масова загибель живих клітин, і ця мертва біомаса стає субстратом для живої, що залишилась. Реально для мікроорганізмів $\mu = 0,01-0,6$ год⁻¹, тобто катастрофічних подій за сценарієм Фейгельбаума в системах не спостерігають. Лише на кінцевих стадіях розвитку розпочинається повільна загальна деградація систем зі зменшенням концентрації X .

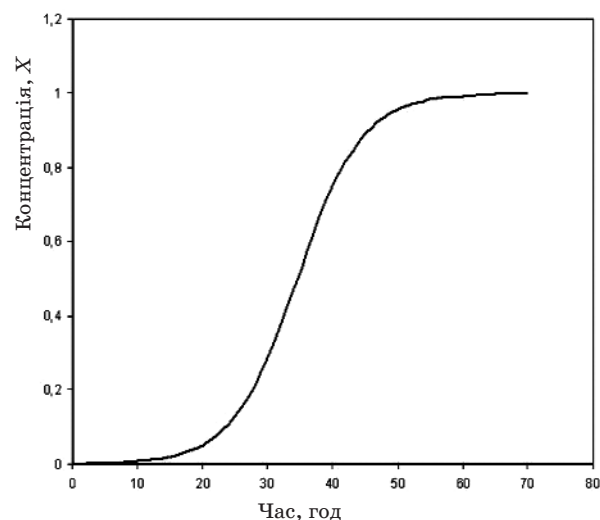


Рис. 1. Типовий вигляд кінетики росту біомаси за Фергюльстом ($X_n = 0,001$, $X_k = 1$, $m = 0,2$)

Хоча рівняння (5) широко використовують для розрахунку об'ємів біореакторів, що працюють у періодичних процесах, воно має недоліки. По-перше, згідно з моделлю максимальна швидкість росту біомаси має завжди дорівнювати половині від X_k (точка пере-

гинання кривої). По-друге, верхня половина кривої симетрична нижній (якщо повернути верхню частину відносно точки перегинання проти стрілки годинника, то вона точно збігатиметься з нижньою). Однак ця симетричність не відповідає реаліям.

Спроби подолати симетричність за допомогою різноманітних математичних прийомів, використовуючи зокрема логісти вищих порядків (не менше 2-го) призводить до виникнення декількох точок перегинання, появи незалежних параметрів, яким важко надати біохімічний сенс, та до надзвичайно складних методів розв'язання.

Окрім того, модель Фергюльста передбачає сталість μ упродовж усього процесу ферментації (саме цей фактор і є причиною симетричності). Однак ця величина зовсім не є сталою і залежить від концентрації субстрату. Це показав Ж. Моно, який постулював досить простий принцип: *оскільки швидкість ензиматичних реакцій, у тому числі відповідальних за репродуктивні механізми, як і будь-яких хімічних реакцій, залежить від концентрації субстрату-реагента, то швидкість збільшення біомаси в часі залежить від концентрації субстрату*. На основі кінетичного рівняння Міхаеліса-Ментен Моно вивів рівняння росту біомаси залежно від концентрації обмежувального субстрату [4, 5]:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S}, \quad (6)$$

де S — концентрація лімітуючого субстрату, μ_{\max} — максимально можлива питома швидкість росту за найсприятливіших умов, K_S — така концентрація лімітуючого субстрату, за якої питома швидкість росту дорівнює половині від максимальної (константа спорідненості субстрата до мікроорганізму).

Більш відома модифікована форма цієї моделі — рівняння Моно-Ієрусалимського, яке враховує інгібуючий фактор продуктів метаболізму:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S_0 - \alpha X}{K_S + S_0 - \alpha X} \cdot \frac{K_{PS}}{K_{PS} + \alpha X}, \quad (7)$$

де $\alpha = \frac{S_0 - S}{X}$;

S_0 — початкова концентрація субстрату; K_{PS} — приведена концентрація інгібуючого метаболіту, за якої питома швидкість росту порівняно з максимальною зменшується вдвічі. Рівняння (6, 7) та інші модифікації з успіхом застосовують для орієнтовних розрахунків об'ємів ферментерів у безперервних процесах ферментації (continuous process).

Здавалося б, його можна застосувати і для модифікації рівняння (2), й у такому разі модель Мальтуса перетворилася б на модель з обмеженим ростом для періодичних процесів, причому нова модель була б більш змістовною з погляду біохімії, ніж модель (5). Однак цього не можна зробити, оскільки рівняння Мальтуса є справедливим лише за постійної концентрації біомаси і за постійної питомої швидкості росту.

Метою роботи було розроблення ітераційного способу застосування рівняння Моно у поєднанні з моделлю Мальтуса для розрахунку періодичних процесів ферментації.

З деякою похибкою гібрид моделі Мальтуса і рівняння Моно можна використовувати, якщо увесь час поділити на певну, достатньо велику кількість часових проміжків $\Delta\tau$. У кожному окремому проміжку є своя початкова концентрація біомаси та своя питома швидкість росту і діє закон необмеженого росту за Мальтусом. Що стосується змінної концентрації, то її вже можна застосовувати, оскільки в новій моделі сталим передбачається об'єм реакційної маси. Використовуючи питому швидкість за Моно-Ієрусалимським одержуємо трансцендентальні вирази:

$$X \neq X_n \cdot \exp\left(\mu_{\max} \frac{S \cdot K_{PS}}{(K_S + S)(K_{PS} + S_0 - S)} \Delta\tau\right) \quad (8)$$

або

$$X \neq X_n \cdot \exp\left(\mu_{\max} \frac{(S_0 - \alpha X) K_{PS}}{(K_S + S_0 - \alpha X)(K_{PS} + \alpha X)} \Delta\tau\right) \quad (9)$$

Знаки нерівності у виразах (8) та (9) підкреслюють їх «незаконність».

Розв'язуючи рівняння ітераційним способом, можна одержати чисельний ряд та графічну залежність $X = f(\tau)$. Пояснити це можна таким умовним *прикладом 1*.

Припустимо, що $X_n = 0,1$, $\mu_{\max} = 0,4$ год⁻¹, проміжок часу від 10 до 16 год ферментації, початкова концентрація субстрату $S_0 = 50$ кг/м³, $\alpha = 2$; $K_S = 10$ кг/м³. Згідно з моделлю Мальтуса динаміку росту біомаси потрібно записати як $X = 0,1e^{0,4\tau}$. Графічно ця залежність виглядає як проста експоненціальна залежність (рис. 2, крива 1).

Розіб'ємо процес на два кроки: від 10 до 13 год і від 13 до 16 год включно ($\Delta\tau = 3$ год).

У першому інтервалі діє закон Мальтуса з $\mu_{\max} = 0,4$ год⁻¹, але у другому інтервалі на процес вже починає впливати модель Моно. На 13-ту год $X = 18,13$ кг/м³. Відтак $S = S_0 - \alpha X = 50 - 2 \cdot 18,13 = 13,74$ кг/м³. Починаючи з 13-ї год, $\mu = \mu_{\max} = 0,4 \cdot 18,13 / (10 + 18,13) = 0,26$ год⁻¹.

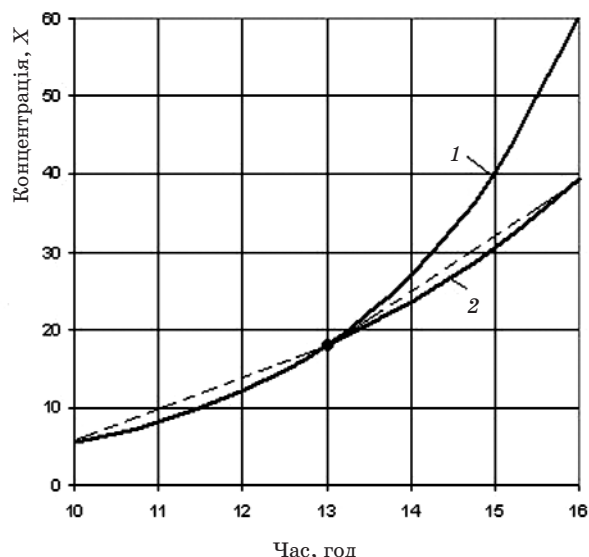


Рис. 2. Графічне пояснення до прикладу 1

Використовуючи знайдене значення μ , побудуємо криву росту біомаси в інтервалі від 13 до 16 год, але в рамках моделі Мальтуса з $\mu = 0,26$ год⁻¹ (рис. 2, крива 2). Отже, вплив моделі Моно на ріст біомаси за моделлю Мальтуса такий: вичерпання субстрату призводить до зменшення питомої швидкості росту біомаси, а відтак до зменшення концентрації за той самий проміжок часу.

Приклад 2.

Прийемо, що $X_n = 0,01$ кг/м³, $\mu_{\max} = 0,4$ год⁻¹, $\alpha = 2$, $S_0 = 50$ кг/м³, $K_S = 1,8$ кг/м³, $K_{PS} = 5$ кг/м³. Потрібно побудувати графічну залежність $X = f(\tau)$. У процесі ферментації питома швидкість росту постійно змінюється, але прийемо, що в певному часовому проміжку (1 год) ця швидкість є постійною.

Для всіх кроків

$$X = X_n e^{0,4 \frac{50-2X}{1,8+50-2X} \frac{5}{5+2X}} = X_n e^{\frac{X-25}{X^2-23,6X-64,75}}$$

Перетворюючи, одержуємо:

$$\frac{X-25}{X^2-23,6X-64,75} - \ln \frac{X}{X_n} = 0.$$

Для першого кроку (час ферментації від 0 до 1-ї год) можна записати:

$$\frac{X-25}{X^2-23,6X-64,75} - \ln 100X = 0.$$

Розв'язуючи це рівняння методом підстановок, знаходимо, що $X = 0,015$ кг/м³. Для другого кроку (час ферментації від 1-ї до 2-ї год):

$$\frac{X-25}{X^2-23,6X-64,75} - \ln 66,67X \cdot X = 0,0225 \text{ кг/м}^3.$$

Для третього кроку (час ферментації від 2-ї до 3-ї год):

$$\frac{\bar{O} - 25}{\bar{O}^2 - 23,6\bar{O} - 64,75} - \ln 44,44\bar{O} = 0; X = 0,032 \text{ кг/м}^3.$$

Аналогічно знаходимо поточні концентрації X для всіх інших кроків.

Графічну залежність $X = f(\tau)$ показано на рис. 3.

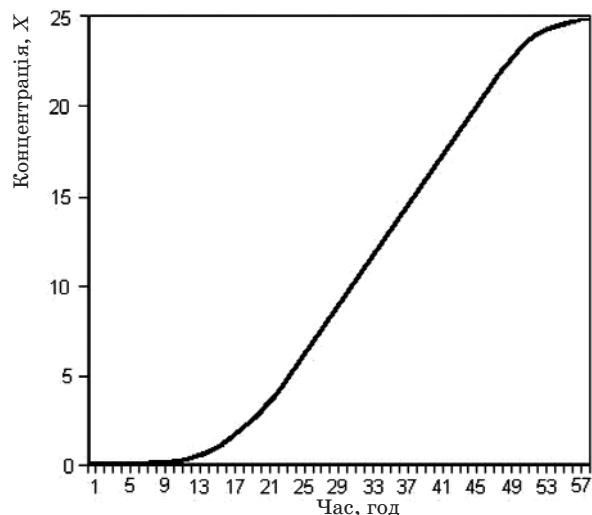


Рис. 3. Залежність концентрації біомаси X (кг/м³) від часу проведення процесу

Перетворюючи знайдену залежність $X = f(\tau)$ шляхом ділення значень X для кожного кроку на час ферментації τ одержуємо залежність продуктивності P від часу ферментації τ (рис. 4). Екстремум функції $P = f(\tau)$ є не що інше, як оптимальний час ферментації $\tau_{\text{опт}}$. У прикладі він дорівнює 49 год.

Використовуючи знайдені величини, можна легко розрахувати потрібний об'єм ферментера для періодичної ферментації.

Припустимо, що протягом року (ресурс робочого часу 330 діб) потрібно одержати

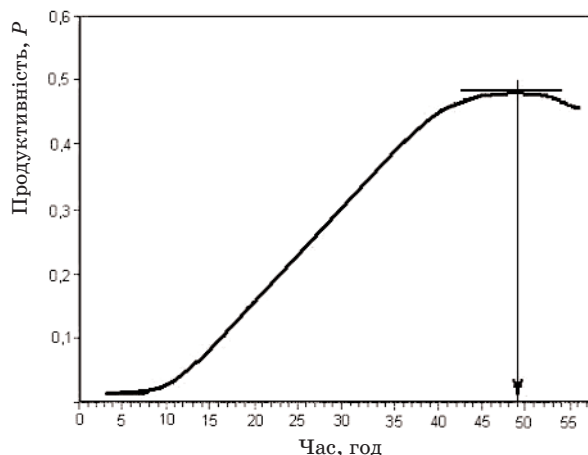


Рис. 4. Залежність продуктивності ферментації P (кг/год) від часу ферментації

2 000 м³ культуральної рідини. При цьому додатковий час ферментації становить 10 год, коефіцієнт браку 0,85, коефіцієнт заповнення ферментера 0,7.

У такому випадку повний цикл ферментації триває 49 + 10 = 59 год. За рік можна провести $330 \cdot 24 / 59 = 134,24$ цикли ферментації. За цикл потрібно отримувати $2\,000 / 134,24 = 14,9$ м³ культуральної рідини. Враховуючи коефіцієнт браку 0,85, насправді потрібно випускати $14,9 / 0,85 = 17,53$ м³ рідини. Якщо коефіцієнт заповнення ферментера 0,7, повний об'єм має становити $17,53 / 0,7 = 25,04$ м³ (стандарт — 25 м³).

Отже, у разі застосування ітераційного способу розрахунку кінетики росту біомаси можна коректно поєднати модель росту біомаси за Мальтусом та рівняння Моно і використати гібридну модель для розрахунку періодичних процесів. Це наповнює нову модель Мальтуса–Моно біохімічним сенсом і дозволяє позбутися недоліків логістичної моделі Фергюльста.

ЛІТЕРАТУРА

1. Мальтус Т. Р. Опыт закона о народонаселении / Пер.: Вернер И. А. — М.: К. Т. Солдатенков, 1895. — 321 с. (репринтная копия).
2. Verhulst P. F. Recherches Mathematiques sur La Loi D'Accroissement de la Population // Nouveaux Memoires de l'Academie Royale des Sciences et Belles-Lettres de Bruxelles. — 1845. — V. 18, Art. 1. — P. 1–45.
3. Кобозев Н. И. Термодинамические факторы в кинетике автокаталитического размножения простых и сложных прототипов // Журн. физ. хим. — 1962. — Т. 36, Вып. 1. — С. 21–31.
4. Monod J., Jacob F. Genetic regulatory mechanisms in the synthesis of proteins // J. Mol. Biol. — 1961. — V. 3, N 3. — P.1–23.
5. Базыкин А. Д. Математическая биофизика взаимодействующих популяций. — М.: Наука, 1985. — 181 с.

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ УРАВНЕНИЯ МОНО
ДЛЯ ИТЕРАЦИОННОГО РАСЧЕТА
ПЕРИОДИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ
ФЕРМЕНТАЦИИ**

Ю. И. Сидоров

Национальный университет
«Львовская политехника»

E-mail: sydorowy@rambler.ru

Используя итерационный способ расчетов, можно корректно объединить модель Мальтуса для неограниченного роста биомассы при постоянной концентрации и удельной скорости роста с уравнением Моно, которое предусматривает переменную величину этой скорости. С помощью новой модели, являющейся более содержательной с точки зрения биохимии, чем модель логистической кривой Ферхюльста, можно рассчитывать объем ферментера периодического действия и оптимальное время ферментации.

Ключевые слова: модели роста биомасс Мальтуса, Ферхюльста, уравнение Моно, итерационная модель Мальтуса–Моно.

**USING OF A MONOD EQUATION
FOR ITERATIVE CALCULATION
OF FERMENTATION BATCHE
PROCESSES**

Yu. I. Sidorov

«Lviv Polytechnica»
National University

E-mail: sydorowy@rambler.ru

Using the iterativy method of calculation it is possible to combine correctly the Maltous model for unlimited growth of biomasse at permanent concentration and specific speed of growth with the Monod model that foresees the variable quantity of this speed. By a new model which is more informative as regard to biochemistry than the Ferhulst model of logistic curve, it is possible to expect the volume of a batch-fermenter and optimum time of fermentation.

Key words: Maltous and Ferhulst biomass growth models, Monod equation, Maltous- Monod iterative model.