

Метод оценки интенсивности пространственного смешения микроорганизмов в биореакторах непрерывного действия

Геннадий Б. Пищиков¹ bio_teh@bk.ru
Владимир А. Лазарев¹ lazarev.eka@gmail.com
Сергей В. Шихалев¹ sershih@rambler.ru

¹ Уральский государственный экономический университет, ул. 8 Марта, 62, г. Екатеринбург, 620144, Россия

Реферат. Предложен метод оценки интенсивности продольного перемешивания биотехнологической суспензии в реакторах непрерывного действия путем расчета долей микроорганизмов, отличающихся между собой по времени пребывания в любом заданной объеме реактора. Расчет степени смешения микроорганизмов различного возраста в интересующем единичном объеме аппарата важен специалистам-биотехнологам и конструкторам аппаратуры для формирования структурно-функциональной модели двухфазного потока суспензии, включающей микроорганизмы, управления потоком и определения основных гидродинамических и технологических параметров реализуемого процесса. Известно, что при сосуществовании в единичном объеме производственного субстрата микроорганизмов со значительной разницей в возрасте, биохимический процесс направленного массообмена идет неэффективно. В связи с тем, что метаболические процессы у микроорганизмов протекают с большой скоростью, изменение их возрастных функциональных признаков можно соотносить с временем пребывания клеток в системе. Для принятия принципиальных решений при конструировании новых аппаратов или модернизации имеющихся, с задачей реализации моделей потока, приближающегося к поршневому, необходимо иметь метод расчета доли сосуществующих микроорганизмов с различным временем пребывания в интересующем объеме потока биореагентов. В данной работе предложен теоретико-вероятностный подход к построению математической модели диффузионного потока двухфазной жидкости, позволяющей рассчитать долю сосуществующих микроорганизмов с различным временем пребывания в произвольно заданном объеме аппарата. Методика базируется на математическом аппарате диффузионного марковского процесса, характеризующегося математической простотой и физической прозрачностью. Таким образом, полученные результаты позволяют оценить состояние гидродинамики потока системы «производственный субстрат–микроорганизмы» и на этом основании прогнозировать эффективность биохимических процессов, реализуемых в поточных аппаратах.

Ключевые слова: микроорганизмы, возраст, аппараты, время пребывания, структура потока, смешивание, диффузионная модель, марковский процесс, функция распределения.

A method of evaluating the intensity of spatial mixing of the microorganisms in the bioreactors, continuous

Gennady B. Pishchikov¹ bio_teh@bk.ru
Vladimir A. Lazarev¹ lazarev.eka@gmail.com
Sergey V. Shikhalev¹ sershih@rambler.ru

¹ Ural state economic University, 8 Marta str, 62, Ekaterinburg, 620144, Russia

Summary. The research work offers a new evaluation technique of longitudinal mixing intensity of biotechnological suspension in fixed reactors by counting the proportion of microorganisms that differ by the stay period in any certain reactor volume. To estimate the mixture level of microorganisms of different ages in a vessel volume of interest is important to both biotechnologist and equipment engineers to form the structural-functional model of two-phase suspension flow (including microorganisms), to control the flow and to define the main fluid dynamics and technological parameters of the implementing process. It has been known that when the microorganisms of too different age coexist in a unit volume of the production substrate, the biochemical process of directed mass transfer goes ineffective. Since the metabolic processes of microorganisms run with great speed, the change of their functional age character can be correlated with the residence time of the cells in the system. To make the principal decisions while constructing new equipment (or improving the existing one) with the aim of realizing the flow model which is close to piston flow, it is necessary to have the correct method of calculating the proportion of coexisting microorganisms with different stay periods in the bioreagents flow volume of interest. This research work offers a probability-theoretical approach to making the mathematical model of the two-phase fluid diffusion flux, that allows to calculate the proportion of coexisting microorganisms with different stay periods in the in the arbitrarily given vessel volume. The method is based on the mathematical apparatus of the Markovian diffusion process, which is characterized by mathematical simplicity and physical clearness. Thus the obtained results allow us to assume the fluid-flow state of the 'production substrate–microorganisms' system, and, building upon it, to predict the efficiency of biochemical processes realized in flow-through apparatus.

Keywords: microorganisms, age, apparatus, residence time, flow pattern, mixing, diffusion model, Markov process, distribution function

Для цитирования

Пищиков Г.Б., Лазарев В.А., Шихалев С.В. Метод оценки интенсивности пространственного смешения микроорганизмов в биореакторах непрерывного действия // Вестник ВГУИТ. 2017. Т. 79. № 3. С. 169–173. doi:10.20914/2310-1202-2017-3-169-173

For citation

Pishchikov G.B., Lazarev V.A., Shikhalev S.V. A method of evaluating the intensity of spatial mixing of the microorganisms in the bioreactors, continuous. *Vestnik VGUIT* [Proceedings of VSUET]. 2017. vol. 79. no. 3. pp. 169–173. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2017-3-169-173

Введение

При конструировании новых и модернизации существующих биохимических реакторов непрерывного действия, а также при решении задач интенсификации биотехнологических процессов большое значение имеет рациональная организация потока реагентов. Данное требование связано с функциональной особенностью микроорганизмов физиологически изменяющиеся в зависимости от своего возраста в процессе перемещения по аппарату [1–3]. В ряде биотехнологических производств процесс получения целевого продукта основывается на взаимодействии изменяющихся, в течение времени пребывания в аппарате, по физическим свойствам и функциональным возможностям микроорганизмов с изменяющимся по составу производственным субстратом, причем эти изменения взаимозависимы и носят направленный технологический характер [4–6]. При этом важно, чтобы линейные скорости реагентов данного двухфазного потока системы «субстрат – микроорганизмы» были сбалансированы, то есть приближались к равенству. Такой структуры потока, именуемой «поршневой поток», можно добиться при исключении продольного перемешивания движущейся суспензии, которое может возникать как из-за микротурбулентностей от взаимодействия с элементами конструкции аппарата, так и по причине ламинарного конвективного перемещения слоёв двухфазной суспензии. [7] На практике создать идеальный поток полного вытеснения вязкой жидкости в пространстве, ограниченном твёрдыми стенками, невозможно из-за возникающих касательных напряжений у стенок и молекулярной диффузии. В связи с этим при анализе и математическом описании приближенно поршневого потока применяется диффузионная модель структуры потока.

Смешение микроорганизмов значительно отличающихся между собой по возрасту отрицательно сказываются на интенсивности биотехнологических процессов. Поэтому оценка степени смешения клеток, находящихся в различном функциональном состоянии может являться ориентиром для принятия организационно-технологических мер и конструкторских решений по устройству аппаратов непрерывного действия [8, 9].

Несмотря на практическую важность вышеупомянутой задачи [2, 10], в решении которой

заинтересованы инженеры, биохимики, биофизики, микробиологи и другие специалисты, она до сих пор не решена [11, 12]. Это объясняется тем, что биохимические процессы, реализуемые в аппаратах с моделью потока диффузионного типа, как правило, описываются нелинейными уравнениями в частных производных, регулярный метод аналитического решения которых отсутствует.

Объект и метод

Ниже, предлагается теоретико-вероятностный подход к построению и анализу модели диффузионного потока двухфазной биотехнологической суспензии с целью оценки интенсивности смешения микроорганизмов с различным временем пребывания в реакторах непрерывного действия. Для этого используется математический аппарат диффузионного марковского процесса [12].

Будем исходить из уравнения Фоккера–Планка [12–16]:

$$\frac{\partial}{\partial t} \gamma(x, t) + \omega \frac{\partial}{\partial x} \gamma(x, t) = D \frac{\partial^2}{\partial x^2} \gamma(x, t) \quad (1)$$

где $\gamma(x, t)$ – вероятность обнаружить, например, дрожжевую клетку в объеме аппарата $\in [x, x + dx] \cdot S$, S – площадь поперечного сечения аппарата; t – время; x – декартова координата, направленная вдоль оси аппарата; ω – средняя по сечению аппарата скорость движения микроорганизмов; D – эффективный коэффициент диффузии (коэффициент продольного перемешивания).

Линейное уравнение в частных производных (1) относится к параболическому типу и для его решения можно применять известные методы [17–19].

Уравнение (1) следует решать при начальных условиях:

$$\gamma(x, 0) = \delta(x), \gamma(0, t) = 0$$

при $t > 0, x \in [0, \infty)$ (2)

где $\delta(x)$ – дельта-функция Дирака.

Решение должно быть неотрицательным, ограниченным на бесконечности и нормированным к единице, т. е.

$$\gamma(x, t) \geq 0; \gamma(\infty, t) = 0; \int_0^{\infty} \gamma(x, t) dx = 1 \quad (3)$$

Умножим левую и правую части уравнения (1) на $x^n dx$ и проинтегрируем по x от $x=0$ до $x=\infty$. С учетом (2) и (3) не представляет труда получить систему уравнений для определения момента n -го порядка:

$$\frac{d}{dt}\langle x^n \rangle = n\omega\langle x^{n-1} \rangle + n(n-1)\langle x^{n-2} \rangle D, \quad (4)$$

$$n=1, 2, 3, \dots$$

где знак $\langle \dots \rangle$ означает среднее значение указанной в угловой скобке случайной величины.

Из (4) при $n=1$ и $n=2$ имеем

$$\langle x \rangle = \omega t, \quad \sigma_x^2 = \langle x^2 \rangle - \langle x \rangle^2 = 2Dt = \sigma_0^2 \cdot \langle x \rangle^2, \quad (5)$$

где $\langle x \rangle$ и σ_x^2 – соответственно среднее значение и дисперсия распределения случайной величины x ; $\sigma_0^2 = 2D/\omega\langle x \rangle$.

В дальнейшем нам понадобится явный вид как функции $\gamma(x, t)$, так и функции $P(x, t) = \int_0^x \gamma(y, t) dy$.

Очевидно, что функция $P(x, t)$ удовлетворяет уравнению

$$\frac{\partial}{\partial t} P(x, t) + \omega \frac{\partial}{\partial x} P(x, t) = D \frac{\partial^2}{\partial x^2} P(x, t), \quad (6)$$

начальному и граничному условию вида

$$P(x, 0) = 1, x > 0; P(0, t) = 0, t > 0 \quad (7)$$

Преобразуем уравнение (6) к более простому виду. С этой целью произведем замену искомой функции по формуле:

$$P(x, t) = \psi(x, t) \exp\left(\frac{\omega x}{2D} - \frac{\omega^2 t}{4D}\right), \quad (8)$$

где $\psi(x, t)$ – новая неизвестная функция, подлежащая определению.

Подставив выражение (8) и (6) с учетом (7), получим уравнение для определения функции $\psi(x, t)$

$$\frac{\partial}{\partial t} \psi(x, t) = D \frac{\partial^2}{\partial x^2} \psi(x, t), \quad (9)$$

где функцию $\psi(x, t)$ следует подчинить нижеследующему начальному и граничному условиям

$$\psi(x, 0) = \exp\left(-\frac{\omega x}{2D}\right); \psi(0, t) = 0, t > 0. \quad (10)$$

Решение данной задачи известно. Согласно [19] оно таково:

$$\psi(x, t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi Dt}} \int_0^\infty dZ \left\{ \exp\left[-\frac{(x-Z)^2}{4Dt}\right] - \exp\left[-\frac{(x+Z)^2}{4Dt}\right] \right\} \exp\frac{\omega Z}{2D} \quad (11)$$

Зная функцию $\psi(x, t)$, из выражения (8) найдем $P(x, t)$:

$$P(x, t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi Dt}} \int_0^\infty dZ \left\{ \exp\left[-\frac{(Z-x+\omega x)^2}{4Dt}\right] - \exp\left[-\frac{(Z-x+\omega x)^2}{4Dt} + \frac{\omega t}{D}\right] \right\}. \quad (12)$$

Правую часть выражения (12) можно преобразовать к удобному для вычисления виду:

$$P(x, t) = \frac{1}{2} \left\{ 1 + \varphi\left(\frac{x-\omega t}{\sqrt{2Dt}}\right) - \left[1 - \varphi\left(\frac{x-\omega t}{\sqrt{2Dt}}\right) \right] \exp\frac{\omega x}{D} \right\}, \quad (13)$$

где $\varphi(Z)$ – интеграл вероятности $\varphi(0)=0$, $\varphi(\pm\infty)=\pm 1$.

Далее, так как по определению $\gamma(x, t) = \frac{\partial}{\partial x} P(x, t)$, то из выражения (13) имеем:

$$\gamma(x, t) = \frac{1}{\sqrt{\pi Dt}} \exp\left[-\frac{(x-\omega t)^2}{4Dt}\right] - \frac{\omega}{2D} \left[1 - \varphi\left(\frac{x+\omega t}{\sqrt{2Dt}}\right) \right] \exp\frac{\omega x}{D}$$

Зная функцию $\gamma(x, t)$, перейдем к вычислению степени смешения микроорганизмов P_s , где P_s – доли сосуществующих клеток, поступивших в аппарат с входным потоком жидкости соответственно t_1 и t_2 часов назад (t_1 и t_2 – времена пребывания микроорганизмов в аппарате).

Пусть γ – функция для двух «времен наблюдения» $t=t_1$ и $t=t_2$, где $t_2 > t_1$, – известна. Графики функций $\gamma(x, t_1)$ и $\gamma(x, t_2)$ представлены на рисунке 1, где $x=x_p$ – точка их пересечения, которую аналитически можно найти из решения уравнения:

$$\gamma(x_p, t_1) = \gamma(x_p, t_2) \quad (14)$$

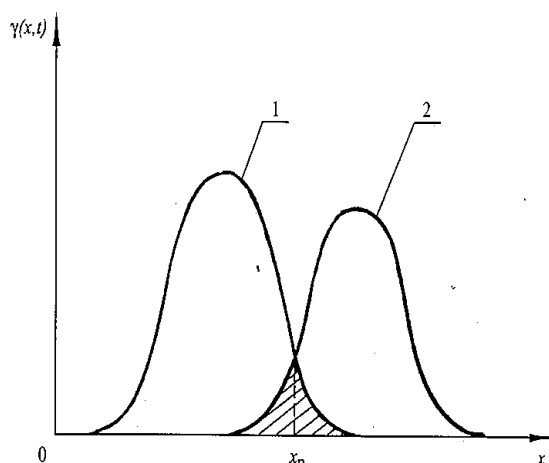


Рисунок 1. График функции $\gamma = (x, t)$ при $t = t_1(1)$ и $t = t_2(2)$ для определения степени пространственного смешения микроорганизмов

Figure 1. The graph of the function $\gamma = (x, t)$ for $t = t_1(1)$ and $t = t_2(2)$ for determining the degree of spatial mixing of microorganisms

Заштрихованная площадь на рисунке 1 численно равна величине P_s . Из рисунка следует, что

$$P_s = \int_0^{x_p} \gamma(x, t_2) dx + \int_{x_p}^{\infty} \gamma(x, t_1) dx = 1 + P(x_p, t_2) - P(x_p, t_1). \quad (15)$$

При выводе формулы (15) было учтено, что $P(0, t) = 0$, $P(\infty, t) = 1$.

Результаты и обсуждение

Следовательно, для определения степени смешения микроорганизмов при заданных t_1 и t_2 необходимо знать явное выражение для функции $P(x, t)$ и значение величины x_p .

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Carrascosa A.V., Munoz R., Gonzalez R. Molecular Wine Microbiology // Academic Press. 2012. 360 p.
- 2 Варфоломеев С.Д., Луковенков А.В., Семенова Н.А. Физическая химия биопроцессов. М.: КРАСАНД, 2014. 800 с.
- 3 Kelly W.J. Using computational fluid dynamics to characterize and improve bioreactor performance // Biotechnol. Appl. Biochem. 2008. V. 49. P. 225–238.
- 4 Singh H., Huttmacher D.W. Bioreactor studies and computational fluid dynamics. // Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 2009. V. 112. P. 231–249.
- 5 Саришвили Н.Г. Микробиологические основы технологии шампанизации вина. М.: Пищепромиздат, 2000. 364 с.
- 6 Алмагамбетов К.Х. Биотехнология микроорганизмов. Астана, 2008. 244 с.
- 7 Пищиков Г.Б. Интенсификация шампанизации вина с помощью бифункциональных развитых поверхностей в бродильно-биогенерационных аппаратах. // Виноград и вино России. 2009 № 5. С. 14–15.

Величину x_p найдем из решения уравнения (14). Для $\sigma_0 \leq 0,2$ с погрешностью менее одного процента:

$$x_p = \omega \sqrt{t_1 \cdot t_2}. \quad (16)$$

Подставляя данное значение x_p в выражение (15), с учетом (12), получим расчетную формулу для определения величины P_s

$$P_s = 1 - \varphi\left(\frac{\sqrt{t_2/t_1} - 1}{\sigma_0}\right), \quad (17)$$

$$\sigma_0^2 = \frac{2D}{\omega^2 t_1} = \frac{2D}{\omega \langle x \rangle_1}$$

Пример: пусть $t_2 = t_1(1 + n\sigma_0)$, где $n \geq 0$. Тогда из выражения (17) получим

$$P_s = 1 - \varphi\left(\frac{n}{1 + \sqrt{1 + n\sigma_0}}\right). \quad (18)$$

Из формулы (18) для $\sigma_0 = 0,2$ имеем $P_s(0) = 1$; $P_s(1) = 0,632$; $P_s(3) = 0,359$; $P_s(4) = 0,1$; $P_s(5) = 0,044$.

Заключение

Изложенный метод расчёта смешения микроорганизмов по возрастам в аппаратах со структурой потока диффузионного типа позволяет рассчитать количество сосуществующих микроорганизмов с различным временем пребывания в любом заданном объёме рассматриваемого биореактора, и, на основании этого, достоверно оценивать гидродинамический характер потока реагентов в биореакторах непрерывного действия. По режиму потока осуществляется прогноз эффективности биохимических процессов, реализуемых в данном реакторе.

- 8 Sharma C., Malhotra D., Rathore A.S. Review of Computational Fluid Dynamics Applications in Biotechnology Processes. // Biotechnol. Prog. 2011. V. 27. № 6. P. 1497–1510.
- 9 Huttmacher D.W., Singh H. Computational fluid dynamics for improved bioreactor design and 3D culture. // Trends in Biotechnol. 2008. V 26. № 4. P. 166–172.
- 10 Kaiser S.C., Löffelholz C., Werner S., Eibl D. CFD for Characterizing Standard and Single-use Stirred Cell Culture Bioreactors. Minin I. (Eds.) // Intech. 2011. P. 97–122.
- 11 Johnson C., Natarajan M., Antoniou C. Verification of energy dissipation rate scalability in pilot and production scale bioreactors using computational fluid dynamics. // Biotechnol. Progr. 2014, V. 30. № 6, P. 760–764.
- 12 Тихонов В.И., Миронов М.А. Марковские процессы. М.: Советское радио, 1977, 485 с.
- 13 Свешников А.А. Прикладные методы теории случайных функций. Учебное пособие. 3-е изд. 464 с.
- 14 Пугачев В.С. Теория случайных функций. М.: Физматгиз, 1960. С. 79–83.

15 Феллер В. Введение в теорию вероятностей и её приложения. Т.1. М.: Мир, 1984. 528 с.

16 Маделунг Э. Математический аппарат физики: Справочное руководство. М.: Книга по Требованию, 2012. 618 с.

17 Беккенбах Э.Ф., Векуа И.Н. Современная математика для инженеров, 1958. 618 с.

18 Давыдов А.П., Злыднева Т.П. Методы математической физики. Классификация уравнений и постановка задач. Метод Даламбера : курс лекций. М.: ИНФРА-М, 2017. 100 с.

REFERENCES

1 Carrascosa A.V., Munoz R., Gonzalez R. Molecular Wine Microbiology. Academic Press. 2012. 360 p.

2 Varfolomeev S.D., Lukovenko A.V., Semenova N.A. Fizicheskaya khimiya bioprotseessov [Physical chemistry of biological processes] Moscow, KRASAND, 2014. 800 p. (in Russian)

3 Kelly W.J. Using computational fluid dynamics to characterize and improve bioreactor performance. Biotechnol. Appl. Biochem. 2008. vol. 49. pp. 225–238.

4 Singh H., Huttmacher D.W. Bioreactor studies and computational fluid dynamics. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 2009. vol. 112. pp. 231–249.

5 Sarishvili N.G. Mikrobiologicheskie osnovy tekhnologii [Microbiological fundamentals of technology of champagne wines] Moscow, Pishchepromizdat, 2000. 364 p. (in Russian)

6 Almagambetov K.H. Biotehnologiya mikroorganizmov [Biotechnology microorganisms] Astana, 2008. 244 p. (in Russian)

7 Pishchikov G.B. Activation of champagne in the organization of the wine using a bifunctional devices. *Vinograd I vino v Rossii* [Grapes and wine of Russia] 2009, no. 5. pp. 14–15. (in Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Геннадий Б. Пищиков д.т.н., профессор, кафедра пищевой инженерии, Уральский государственный экономический университет, ул. 8 Марта, 62 г. Екатеринбург, 620144, Россия, bio_teh@bk.ru

Владимир А. Лазарев к.т.н., доцент, кафедра пищевой инженерии, Уральский государственный экономический, ул. 8 Марта, 62 г. Екатеринбург, 620144, Россия, lazarev.eka@gmail.com

Сергей В. Шихалев к.т.н., доцент, кафедра пищевой инженерии, Уральский государственный экономический, ул. 8 Марта, 62 г. Екатеринбург, 620144, Россия, sershih@rambler.ru

КРИТЕРИЙ АВТОРСТВА

Геннадий Б. Пищиков предложил метод оценки интенсивности перемешивания субстрата

Владимир А. Лазарев обзор литературных источников по исследуемой проблеме, выполнил контрольные расчёты

Сергей В. Шихалев консультация в ходе расчётов и оформления, несёт ответственность за плагиат

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ПОСТУПИЛА 01.08.2017

ПРИНЯТА В ПЕЧАТЬ 29.08.2017

8 Sharma C., Malhotra D., Rathore A.S. Review of Computational Fluid Dynamics Applications in Biotechnology Processes. Biotechnol. Prog. 2011. vol. 27. no. 6. pp. 1497–1510.

9 Huttmacher D.W., Singh H. Computational fluid dynamics for improved bioreactor design and 3D culture. Trends in Biotechnol. 2008. vol. 26. no. 4. pp. 166–172.

10 Kaiser S.C., Löffelholz C., Werner S., Eibl D. CFD for Characterizing Standard and Single-use Stirred Cell Culture Bioreactors. Minin I. (Eds.). Intech. 2011. pp. 97–122.

11 Johnson C., Natarajan M., Antoniou C. Verification of energy dissipation rate scalability in pilot and production scale bioreactors using computational fluid dynamics. Biotechnol. Progr. 2014, vol. 30. no. 6, pp. 760–764.

12 Tikhonov V.I., Mironov M.A. Markovskii protsessy [Markov processes] Moscow, Sovetskoe radio, 1977. (in Russian)

13 Sveshnikov A.A. Prikladnye metody teorii [Applied methods of the theory of random functions] 464 p. (in Russian)

14 Pugachev V.S. Teoriya sluchainykh funktsii [Theory of random functions] Moscow, Fizmatgiz, 1960. pp. 79–83. (in Russian)

15 Феллер В. Введение в теорию вероятностей [Introduction to probability theory and its applications] Moscow, Mir, 1984. 528 p. (in Russian)

16 Маделунг, Е. Математический аппарат физики [Mathematical apparatus in physics] Moscow, Book on Demand, 2012. 618 p. (in Russian)

17 Беккенбах, Е.Ф., Векуа И.Н. Современная математика [Modern mathematics for engineers] 1958. 618 p. (in Russian)

18 Давыдов А.П., Злыднева Т.П. Методы математической физики [Methods of mathematical physics. Classification of equations and formulation of problems. Method d'Alembert] Moscow, INFRA-M, 2017. 100 p. (in Russian)

INFORMATION ABOUT AUTHORS

Gennady B. Pishchikov doctor of technical sciences, professor, food engineering department, Ural state University of economics, 8 Marta str., 62, Ekaterinburg, 620144, Russia, bio_teh@bk.ru

Vladimir A. Lazarev candidate of technical sciences, associate professor, food engineering department, Ural state University of economics, 8 Marta str., 62, Ekaterinburg, 620144, Russia, lazarev.eka@gmail.com

Sergey V. Shikhalev candidate of technical sciences, associate professor, food engineering department, Ural state University of economics, 8 Marta str., 62, Ekaterinburg, 620144, Russia, sershih@rambler.ru

CONTRIBUTION

Gennady B. Pishchikov suggested a method for estimating the intensity of substrate mixing

Vladimir A. Lazarev review of the literature on the problem under study, carried out control calculations

Sergey V. Shikhalev consultation during settlements and clearance, is responsible for plagiarism

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

RECEIVED 8.1.2017

ACCEPTED 8.29.2017