

МОДЕЛИРОВАНИЕ КИНЕТИКИ РАЗВИТИЯ КЛЕТОЧНОЙ ПОПУЛЯЦИИ ПРИМЕНИТЕЛЬНО К ЗАДАЧЕ ОПТИМИЗАЦИИ БИОСИНТЕЗА ЛИМОННОЙ КИСЛОТЫ

С.Клыков¹, В.Кураков¹, А.Винаров²

ООО «Фарм-Регион»

²ОАО «Госниисинтезбелок»

*В статье рассмотрен подход к задаче оптимизации процесса биосинтеза Л.К. на основе математической модели, описывающей различные физиологически-возрастные состояния клеток в популяции, а также динамику роста и образования лимонной кислоты (ЛК) продуцентом *Aspergillus niger*. Предложенная в работе для адекватного описания экспериментальных данных структурированная модель, учитывающая негативное влияние неделящихся форм клеток на выход целевого продукта, позволила оценить потенциальные возможности культуры по увеличению продуктивности процесса за счет снятия лимитирующего фактора, в частности, концентрации растворенного кислорода. Рассмотрены практические пути оптимизации процесса биосинтеза л.к. за счет интенсификации процесса транспорта кислорода в биохимическом реакторе.*

1. Введение.

Лимонная кислота – одна из важнейших органических кислот, широко применяемых в пищевой промышленности, при производстве напитков, сиропов, а также в фармацевтической промышленности при приготовлении лекарственных форм. В животноводстве л.к. эффективно применяется для обработки кормов и силоса в качестве фунгицидного и бактерицидного препарата, снижения бактериальной обсе-

менности патогенными микроорганизмами воды. Технический продукт высокоэффективен как детергент при производстве чистящих средств вместо экологически «грязных» полифосфатов, как адсорбент при поглощении сернистого ангидрида, при обработке текстиля.

Основным способом производства Л.к. в настоящее время является микробиологический синтез, для которого используют различные виды углеродсодержащего сырья (табл. 1).

Таблица 1. Виды источников сырья для получения лимонной кислоты.

Возможные источники сырья	Культуры микроорганизмов в коллекции разработчика	Возможные области применения продукта
Меласса Сахар-сырец Зерносырье (мукомольные отходы)	<i>Aspergillus niger</i> <i>Candida lipolytica</i>	Пищевой подкислитель. Фруктовые сиропы. Кондитерские изделия. Напитки.
Плодоовощные отходы Этанол Углеводороды	<i>Saccharomycopsis</i>	Пищевой антиоксидант. Детергент. Моющие средства. Компонент отбеливателей. Для обработки радиотехнических и других деталей.

¹ smlk03@mail.ru, pharm-region@mail.ru

² Vinarov@hotmail.com

Технология л.к. преимущественно осуществляется путем глубинного выращивания продуцента л.к. культурой *Aspergillus niger* периодическим способом в ферментерах различного объема и конструкций.

Дальнейшие стадии выделения, очистки и кристаллизации л.к. основываются на хорошо отработанных технологиях химической промышленности.

Мировой рынок л.к. достигнет к 2012 г. порядка 450 тыс. тонн в год или в денежном выражении приблизится к 1 млрд. долларов, учитывая происходящее повышение цен на л.к. В России уровень потребления л.к. ежегодно увеличивается и в 2012 г. составит около 40 тыс. т., причем основная часть обеспечивается за счет импортных поставок, в частности, из КНР. Это связано с низкой технологической конкурентной способностью стадии ферментации на отечественных заводах л.к., в частности, с длительным временем процесса (5–7 суток), низкой конечной концентрацией л.к. (120–150 г/л) и невысокой продуктивностью процесса (менее 1 кг л.к./ м³ час).

В этой связи, следует отметить следующие практически важные направления оптимизации производства л.к.:

- поиск и селекция новых штаммов, а также модификация продуцентов л.к. методами генной инженерии;
- оптимизация технологии биосинтеза л.к., в т.ч. физико-химических факторов культуральной жидкости и состава питательной среды, углеродного субстрата, параметров и режимов ферментации;
- применение и разработка различных конструкций ферментеров, не приводящих к повреждению гифов продуцента и стрессовому воздействию на культуру, но обеспечивающих нелимитируемый транспорт питательных компонентов среды, кислорода и низкие энергозатраты.

В предлагаемой работе показано, что в основе разработки оптимальной биотехнологии и биореакторов для биосинтеза л.к. лежат кинетические закономерности и математическое описание процесса культивирования и образования л.к. микроорганизмами [1]. При этом, от выбора адекватной математической модели и ее детализации во многом зависит эффективность ее применения, с точки зрения определе-

ния возможных путей и методов оптимизации процесса биосинтеза л.к. [2].

2. Материалы и методы.

В настоящей работе в качестве модели роста и биосинтеза л.к. грибом *Aspergillus niger* использована структурированная модель кинетики развития клеток, учитывающая клетки в различном физиологически-возрастном состоянии клеточного цикла, а именно делящиеся клетки, X^{div} , и клетки неделяющиеся, находящиеся в нулевом возрасте клеточного цикла, X^{st} , также именуемые нами стабильными клетками. При этом, делящиеся клетки могут находиться в любой фазе клеточного цикла, а возраст клеточного цикла неделяющихся клеток соответствует В-фазе для бактерий и G_0+G_1 -фазе для эукариот [3, 4]. Суть данного математического подхода заключается в известном факте неоднородности клеточной популяции, не только по возрастам клеток, но и по их морфологическим и метаболическим характеристикам. В процессе ферментации это может выражаться в разнонаправленном характере биосинтеза полезных веществ с константами k^{div} для X^{div} и k^{st} для X^{st} , где первая группа клеток продукт синтезирует, а вторая может разрушать продукт, если культура продуцента растёт в условиях какого-либо лимитирования. Это, свою очередь, приводит к снижению накопления целевых продуктов и общему уменьшению экономической эффективности микробиологических процессов синтеза.

Предложенная обобщенная математическая модель включает следующие модели:

1) Неструктурированная модель роста популяций клеток. Эта модель позволяет рассчитать затраты энергетического субстрата на рост, поддержание жизнедеятельности микроорганизмов, нелимитируемый уровень растворенного кислорода, максимальную концентрацию клеток и л.к. для данной скорости массопереноса кислорода, требуемые профили скорости подачи энергетического субстрата, профили выделения углекислоты, параметры для структурированной модели.

2) Структурированная модель роста популяций клеток. Эта модель позволяет рассчитать структуру растущей популяции клеток, которую определяют делящиеся клетки X^{div} всех

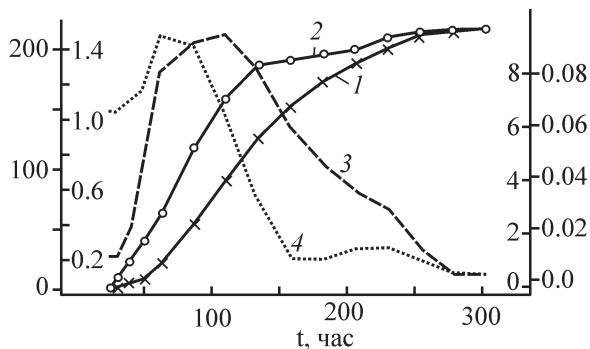


Рис. 1. Типичная промышленная ферментация лимонной кислоты: 1 – моногидрат лимонной кислоты, 2 – сухой вес мицелия, [г/л]; 3 – абсолютная скорость синтеза л.к. и 4 – удельная скорость роста [г/(г*час)]. Ось абсцисс – время, час; ось ординат – слева лимонная кислота, г/л, и абсолютная скорость синтеза л.к., г/(л*час), справа биомасса, г/л, удельная скорость роста, час⁻¹.

фаз клеточного цикла (принимается в расчётах как одно целое) и покоящиеся (стабильные) клетки, X^{st} . Покоящиеся клетки для бактерий известны в литературе, как находящиеся в фазе В клеточного цикла, а для эукариотов – как клетки в фазах G_0 и G_1 . Основной показатель структурирования, использующийся во всех дальнейших расчётах, обозначается как R и равен отношению X^{st}/X . Данная модель позволяет рассчитать скорость накопления покоящихся клеток, время окончания всех клеточных делений в популяции, т.е., фактическое требуемое время окончания ферментации, $\tau_{\text{конечное}}$.

3) Модель метаболизма. Позволяет рассчитать синтез и утилизацию питательных веществ, которые используются при культиви-

ровании, а также предсказывать пути оптимизации этих процессов. Расчёты проводятся при использовании некоторых уравнений структурированной и неструктурированной моделей.

Предложенная модель, имеющая общий вид для биомассы:

$$\frac{d^n X^{div}}{d(X^{st})^n} = \frac{K (-1)^{(n-1)} n!}{A^2 (X^{st})^{(n+1)}} - C, \quad (1)$$

и для субстрата и целевого продукта

$$d(Por-S)/dt = k^{div}_{P,S} X^{div} + k^{st}_{P,S} X^{st}, \quad (2)$$

основывается на (следующих) допущениях, которые описаны выше.

Для получения коэффициентов модели и оценки ее адекватности были использованы материалы по экспериментальным данным биосинтеза л.к. грибом *Aspergillus niger* в периодических условиях [5], представленные на рис. 1.

Определение параметров модели показано на рисунках 4–8.

Алгоритм расчетов по определению коэффициентов модели проводился согласно работе [3] и включал в себя следующие этапы: Определение стандартным способом по функции $\ln X = f(\tau)$ максимальной удельной скорости роста, μ_{max} , времени окончания логарифмической фазы роста биомассы LGP , τ_{Lim} , максимальной биомассы в фазе логарифмического роста, X_{Lim} ; Определение параметров A, X_p по зависимости $\Delta X = f(X)$ для фазы замедленного роста GIP_1 ; По экспериментальным значени-

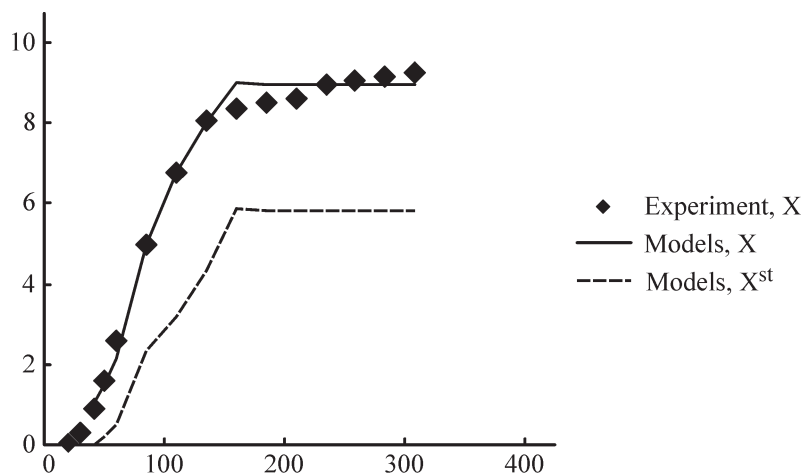


Рис. 2. Биомасса *Aspergillus niger*, X, г/л, и неделяющиеся клетки популяции *A. niger*, X^{st} , г/л. Данные эксперимента и расчётов по модели. Ось абсцисс время роста, час; ось ординат – биомасса, г/л.

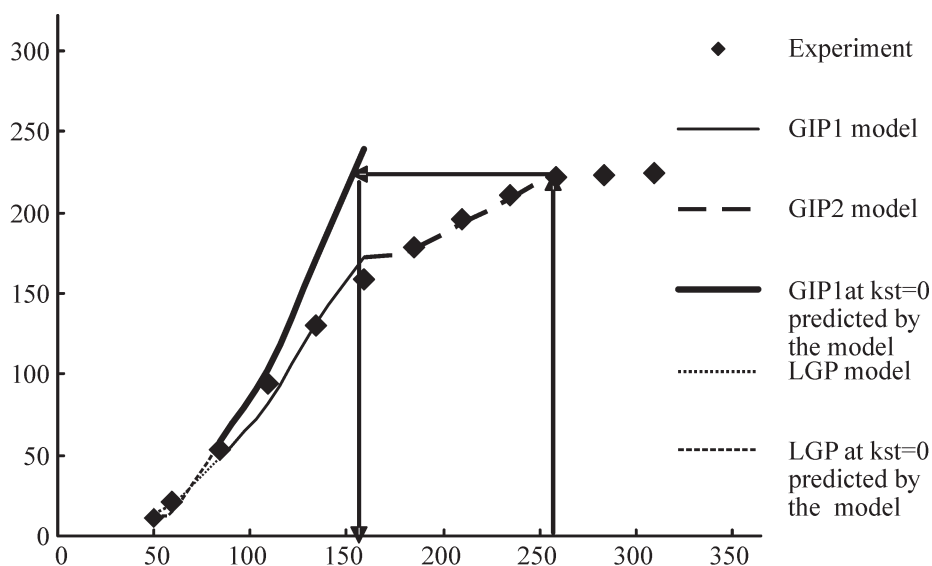


Рис. 3. Концентрация лимонной кислоты, г/л. Данные эксперимента и расчётов по модели. Стрелки указывают на возможность сокращения культивирования время если состояние параметра $k^{st} = 0$ будет обеспечен.

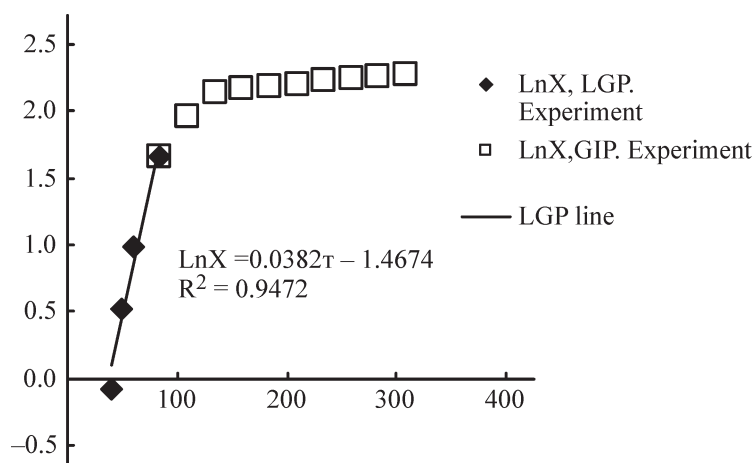


Рис. 4. $\text{Ln}X=f(\tau)$.

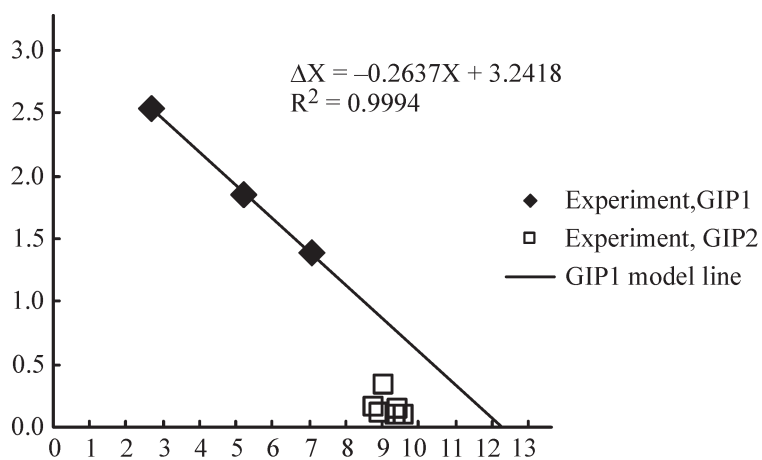


Рис. 5. $\Delta X = f(X)$ для GIP1.

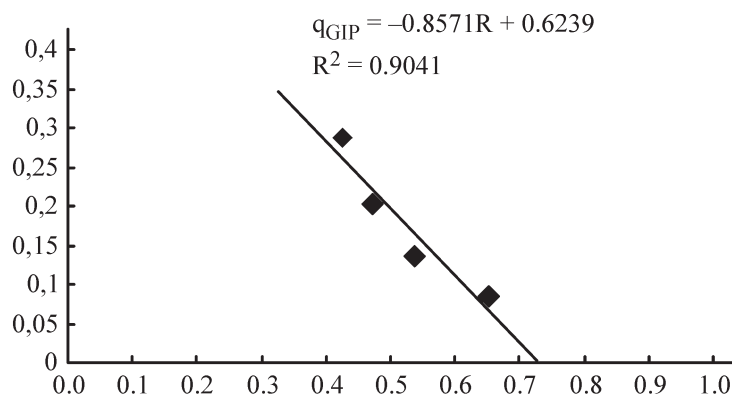


Рис. 6. $q=k^{div}+(k^{st}-k^{div})R$ для GIP1.

ям концентраций л.к. (P) получают значения удельной скорости синтеза л.к. $q=(\Delta P/\Delta\tau)X^{-1}$; Значения q линеаризуют в координатах $q=f(R)$ и определяют константы синтеза л.к. k^{div} и деградации продукта k^{st} по аналитическому выражению

$$q = k^{div} + (k^{st} - k^{div})R \quad (3)$$

Подробный алгоритм определения параметров модели и ее теоретическое обоснование (модель на платформе «НовоБио») даны в работе [4] .

3. Результаты и обсуждение

Кривая роста продуцента лимонной кислоты имеет 4 отдельные фазы: логарифмическая фаза роста (0–71 час), LGP; фаза замедленного роста 1 (71–159 час), GIP1; фаза замедленного роста 2 (159–259 час), GIP2; фаза отсутствия роста и биосинтеза (259–309 час).

Вычислены следующие параметры для LGP: X_0 , X_{Lim} , τ_{Lim} , μ_{max} ; а используя рис. 5,

вычислены параметры для GIP1: X_P , A. Затем были рассчитаны X_{Lim}^{st} и X_I . Параметры k^{div} и k^{st} определяются из рис. 6.

Таблица 2. Параметры модели.

X_0 , g/l	0.23
X_{Lim} , g/l	4
τ_{Lim} , h	71
μ_{max} , h ⁻¹	0.0382
X_P , g/l	12.2
A	0.0122
X_{Lim}^{st} , g/l	1.8
X_I , g/l	1.3
k^{div} , h ⁻¹	0.6239
k^{st} , h ⁻¹	-0.2332

На рис. 7 показано определение констант синтеза и деградации продукта, k^{div} и k^{st} , по логарифмической фазе роста, LGP. Получены следующие значения $k^{div}=0.7912$ и $k^{st}=-0.3242$.

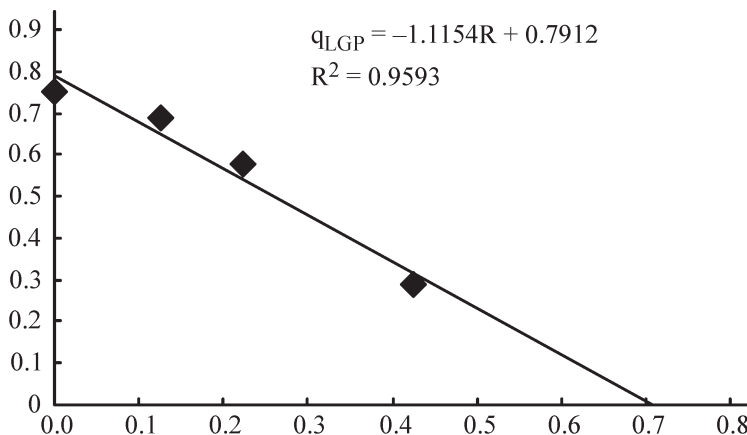


Рис. 7. $q=k^{div}+(k^{st}-k^{div})R$ для LGP.

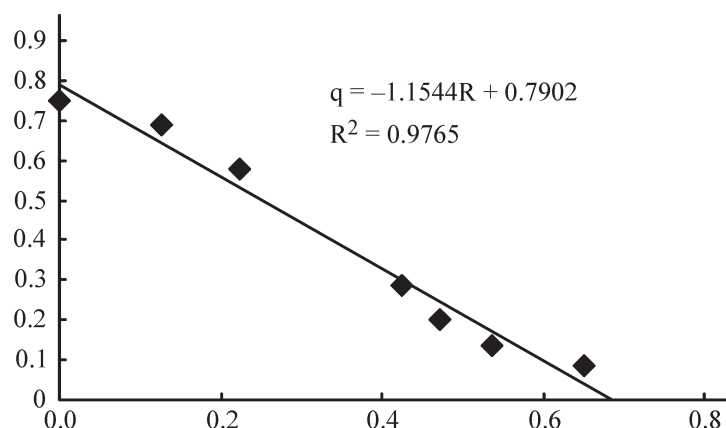


Рис. 8. $q = k^{div} + (k^{st} - k^{div})R$ for LGP+GIP1

Эти значения близки к указанным в табл. 2 значениям для GIP1.

На рис. 8 показано совместное определение констант синтеза и деградации продукта, k^{div} и k^{st} , по двум фазам роста, LGP и GIP1. Получены следующие значения $k^{div} = 0,7902$ и $k^{st} = -0,3642$, что также близко к значениям, указанным в табл. 1, и к значениям, определенным отдельно для LGP.

Итак, все полученные значения констант синтеза и деградации ЛК, определенные для каждой из фаз по отдельности и вместе являются весьма близкими по величине. Это говорит в пользу того, что на протяжении обеих фаз роста действуют одинаковые лимитирующие факторы. Т.е. в логарифмической фазе роста

действует определенный лимитирующий фактор, который снижает выход продукта.

После 159 часа ферментации, в фазе GIP2, рост продуцента и биосинтез ЛК резко замедляются. Согласно предлагаемой модели, расчёт проводился при допущении, что рост отсутствует вообще, а биосинтез в течение всего периода времени 159–259 часов происходит нарастающей биомассой со структурным составом, соответствующим 159 часам (роста) ферментации. При этом использовалось уравнение:

$$P = P_{finalGIP1} + k^{div} X^{div}_{finalGIP1}(\tau - \tau_{finalGIP1}) + k^{st} X^{st}_{finalGIP1}(\tau - \tau_{finalGIP1}) \quad (4),$$

где P – концентрация ЛК, $\tau_{finalGIP1} = 159$ часов, $P_{finalGIP1}$ – концентрация ЛК для 159 часов фер-

Таблица 3. Сравнительные данные по скорости биосинтеза л.к. в исходном и расчетных оптимизированных процессах.

Параметр модели k^{st}	Время достижения концентрации л.к. = 100 г/л (час)	Время достижения концентрации л.к. = 150 г/л (час)	Время достижения концентрации л.к. 200 г/л (час)	Средняя расчетная продуктивность биосинтеза л.к.(г/л час)
$k^{st} = -0.23 \neq 0$ (исходный процесс)	120	160	230	0.62–1.38
$k^{st} = -0.135$ (реальный вариант – после оптимизации процесса)	115	134	159	1.34–1.79
$k^{st} = 0$ (потенциально возможный процесс)	108	125	150	2.05–2.43

ментации, $X^{\text{div}}_{\text{finalGIP1}}$ и $X^{\text{st}}_{\text{finalGIP1}}$ – расчётные концентрации делящихся и неделящихся клеток в популяции в конце фазы GIP1.

Из анализа представленной модели можно сделать вывод о возможности оптимизации данного процесса биосинтеза л.к., путем снятия лимитирующего фактора, что соответствует значению коэффициента k^{st} стремящимся к 0. В табл. 3 приведены показатели биосинтеза для исходного процесса и расчетных вариантов для оптимизированных режимов.

Таким образом, как видно из данных табл. 3 при оптимизации режимов и снятии лимитирующего фактора возможно значительное ускорение процесса накопления л.к. и повышение его продуктивности.

Рассмотрим далее технологические аспекты решения данной задачи – оптимизации биосинтеза л.к.

С технологической т.з. задача оптимизации процесса биосинтеза л.к. сводится к достижению максимальной продуктивности процесса, т.е. $\max P/t$ (г/л ч).

Рост и развитие микроорганизмов в ферментере происходят в результате взаимодействия разнообразных явлений биохимической, химической и физической природы. Внутриклеточные процессы, связанные с метаболической деятельностью клетки, характеризуются значительным числом ферментативных реакций и биохимических превращений, обуславливающих «переработку» питательного субстрата на конструктивные и энергетические потребности клетки. Обобщенно указанные процессы учитываются кинетическими и стехиометрическими зависимостями, отражающими скорость процессов утилизации субстрата, образования биомассы и количественные соотношения перехода компонентов питательного субстрата в биомассу и продукты метаболизма клеток, а также морфолого-физиологическое состояние клеток в популяции. Данные процессы относятся к так называемому микроуровню моделирования. В тоже время, на рост клеточной популяции влияют внешние факторы, связанные с эффективностью транспорта питательного субстрата и других компонентов к клеткам, условиями перемешивания, отводом (или подводом) тепловой энергии, газообменом в аппарате.

Указанные факторы относятся к макроу-

ровню описания процессов в ферментере. При этом гидродинамические, тепловые и диффузионные процессы крупномасштабного характера в значительной степени определяются конструктивными особенностями ферментера, характером и способом подвода внешней энергии, принципом аэрации и перемешивания среды.

Значительную роль в интенсификации роста и метаболизма аэробных микроорганизмов играет обеспеченность среды кислородом. Степень насыщенности среды кислородом и кинетика его потребления во многом определяет рост и развитие культуры. Влияние концентрации растворенного кислорода отражается как на скорости роста микроорганизмов, так и на составе клеток. Известна взаимосвязь между парциальным давлением кислорода и биохимическими и морфолого-физиологическими свойствами микробных культур. Так, при снижении парциального давления кислорода требуется больший расход аденозинтрифосфата (АТФ) в клетке, что связано с дополнительной затратой энергии. В то же время, при высоком парциальном давлении также расходуется излишняя энергия, т.е. имеется определенный диапазон концентраций растворенного кислорода, не влияющий отрицательно на метаболизм клеток, а изменение их состояния наступает при снижении парциального давления кислорода ниже критического уровня. Этому уровню соответствует концентрация растворенного в среде кислорода, называемая критической концентрацией кислорода ($C_{\text{крит}}$). Обычно величина $C_{\text{крит}}$ значительно меньше (как правило, менее 10-15 %) равновесной концентрации, определяемой по уравнению Генри. По динамике газовой фазы и скорости потребления кислорода клетками, из приведённого выше анализа экспериментальных данных и **результатов моделирования** следует наличие лимитирующего фактора в конце LGP и далее, где достигается максимальная скорость синтеза л.к. 1.4 г/(л·час) (рис. 1). При этом, требуемая скорость потребления кислорода максимальна, а уровень растворения O_2 снижается до критически значимого и может реально лимитировать синтез л.к. Так, по результатам моделирования (рис. 3), следует возможность повышения продуктивности при снятии лимитирующего фактора в конце LGP (80–100 часов на графике).

Таким образом, наиболее часто основным влияющим фактором, лимитирующим процесс биосинтеза л.к. и его продуктивность, при условии выбранного состава компонентов питательной среды, является уровень растворенного кислорода, зависящий от скорости его транспорта из газовой фазы и скорости потребления клетками. Интенсификация процесса культивирования за счет воздействия на транспорт кислорода к клеткам является актуальной задачей.

Уравнение, описывающее изменение концентрации кислорода в культуральной жидкости при его потреблении клетками, имеет вид

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a [C^*(t) - C_L(t)] - Q_{O_2}, \quad (5)$$

где C^* , C_L – равновесная и рабочая концентрации растворенного кислорода в жидкой фазе. t – текущее время ферментации.

Q_{O_2} характеризует скорость потребления кислорода микроорганизмами и непосредственно связана со скоростью роста клеток:

$$Q_{O_2} = \alpha^{O_2} \frac{dX}{dt} = \alpha^{O_2} \mu X \quad (6)$$

где μ – удельная скорость роста клеток, X – концентрация клеток.

Используя зависимость стехиометрического (расходного) коэффициента α^{O_2} от скорости роста микроорганизмов μ ,

$$\alpha^{O_2} = a + b/\mu,$$

получим уравнение для расчета скорости потребления кислорода клетками в процессе их роста:

$$Q_{O_2} = a \frac{dX}{dt} + bX \quad (7)$$

Первый член полученного выражения определяет необходимое количество кислорода, потребляемое клетками в процессе их роста ($dX/dt \neq 0$). Второе слагаемое характеризует потребление кислорода существующей в данный момент клеточной популяцией (с концентрацией клеток X) и определяет затраты кислорода на поддержание жизнедеятельности клеток. Экспериментальные коэффициенты a , b характерны для культивируемых микроорганизмов и

применяемого углеродсодержащего субстрата.

Реальная потребность клеток в O_2 может быть оценена также с учётом удельного потребления кислорода на синтез 1 г л.к., составляющим порядка 1.5–1.7 г O_2 /г л.к.

Следовательно, согласно данным рис. 1 требуемая скорость потребления O_2 составит:

$$Q_{O_2 \text{ л.к.}} = 1.7 \cdot 1.4 = 2.4 \text{ г } O_2 / (\text{л} \cdot \text{час}),$$

что должно быть обеспечено скоростью массопередачи кислорода в используемом биореакторе.

Приведенные ниже зависимости позволяют рассчитать основной показатель массообменной обстановки в биореакторе – «скорость массопередачи кислорода», $\text{кг}/(\text{м}^3 \cdot \text{ч})$, определяющий уровень растворенного кислорода в жидкости:

$$M_{O_2} = K_L a \cdot (C^* - C_L) \quad (8)$$

где $K_L a$ – объемный коэффициент массопередачи кислорода.

Для технологических и проектных расчетов оценочное значение объемного коэффициента массопередачи по кислороду $K_L a$ можно определить, пользуясь следующими зависимостями для типовых аппаратов:

– для барботажного ферментера с мешалкой

$$K_L a = 0.06(N/V)^{0.81} \quad (9)$$

где N/V – удельная мощность, $\text{кВт}/\text{м}^3$;

– для биореактора с лопастной мешалкой и барботером

$$K_L a = 0.33(N/V)^{0.44} \varphi^{0.67}, \quad (10)$$

где φ – газосодержание;

– для колонного реактора с насадкой

$$K_L a = 0.08 h_{cm}^{0.72} L^{0.653} e^{0.22 W_T}, \quad (11)$$

где h_{cm} – высота слоя насадки, м; L – плотность орошения, $\text{м}^2/\text{м}^2$; W_T – скорость газового потока;

– для секционированного противоточного колонного ферментера

$$Nu_g = 19 \cdot 10^3 \cdot Re_T^{0.34} Pr^{0.5} [1 + 0.5(L/G)^{0.4}], \quad (12)$$

где значения критериев имеют вид:

$$Nu_{\Gamma} = \frac{K_L a l^2}{D_{\text{ж}}}; \quad Re_{\Gamma} = \frac{W_{\Gamma} l \rho_{\text{ж}}}{\mu_{\text{ж}}}; \quad Pr = \frac{\mu}{\rho_{\text{ж}} D_{\text{ж}}} \quad (13)$$

$l = \sqrt{\frac{\sigma}{\rho_{\text{ж}} g}}$; $D_{\text{ж}}$ – коэффициент диффузии кислорода в жидкой фазе (14), $\rho_{\text{ж}}$ – плотность, $\mu_{\text{ж}}$ – вязкость, L/G – соотношение нагрузок по жидкой и газовой фазам.

Кроме указанных выше «технологических» путей интенсификации массопередачи кислорода и повышения за счет этого продуктивности аэробного процесса ферментации, возможен на стадии проектирования биохимического производства выбор рационального типа биореактора [6]. В табл. 4 приведены некоторые обобщенные показатели для различных типов аппаратов. Однако, при выборе конструкции биореактора необходимо учитывать морфолого-физиологические характеристики микроорганизмов. В частности, для биосинтеза лимонной кислоты на нитчатую структуру гриба не должно оказываться стрессовое механическое воздействие, вызывающее повреждение гифов, что определяет предпочтительный выбор типа биореактора: барботажный, эрлифтный, колонный аппарат.

Таким образом, если анализ экспериментальных данных или результаты математического моделирования процесса биосинтеза лимонной кислоты по предложенной модели позволяют считать лимитирующим фактором концентрацию растворенного кислорода, то за

счет указанных выше технологических приемов или выбора рационального аппаратурного оформления возможно осуществить оптимизацию процесса биосинтеза л.к. и обеспечить существенное увеличение продуктивности.

Обозначения

- LGP** – логарифмической фаза роста;
GIP – фаза замедленного роста;
X – концентрация общей биомассы продуцента, г/л;
 τ – время, час;
P – концентрация продукта, г/л;
 $dP/d\tau$ – абсолютная скорость синтеза продукта, г/(л*час);
 μ – удельная скорость синтеза биомассы X, час⁻¹;
 $q = Q/X$ or $q = (X-1) \cdot dP/d\tau$ – удельная скорость синтеза продукта, гP/(гX*час);
A 1) Удельная скорость замедления роста биомассы;
2) Удельная скорость накопления неделящихся (стабильных) клеток, час⁻¹;
X_p теоретическая максимальная концентрация биомасса, когда вся генерируемая системой энергия расходуется на поддержание жизнедеятельности клеток, г/л;
X_{Lim} – биомасса в конце логарифмической фазы и в начале фазы замедленного роста биомассы, г/л;
Xst – концентрация неделящихся (стабильных) клеток, г/л;

Таблица 4. Показатели биореакторов.

Показатель	Эрлифтный	Барботажный	С самовсасывающей мешалкой	Струйный (эжекционный)	Шахтный (эрлифтного типа)
Скорость массопередачи кислорода, кг/(м ³ ·ч)	2–4	1–3	5–8	4–7	2–5
Объемный коэффициент массоотдачи, ч ⁻¹	200–450	200–500	700–1000	500–1000	250–400
Концентрация редуцирующих веществ субстрата, кг/м ³	10–30	10–30	20–30	20–30	20–30
Концентрация клеток (биомассы) С.В. кг/м ³	10–20	10–20	10–20	10–25	10–20
Коэффициент заполнения	0.4–0.5	0.5–0.6	0.4–0.6	0.4–0.6	0.4–0.5

X_{Lim}^{st} – концентрация неделящихся (стабильных) клеток при общей биомассе, равной X_{Lim} , г/л;

X^{div} – концентрация делящихся клеток, г/л;

τ_{Lim} – время в конце логарифмической фазы и в начале фазы замедленного роста биомассы, час;

R – отношения X^{st} к общей биомассе X , степень синхронизации биомассы, доли 1;

X_1 – начальная концентрация общей биомассы в фазе **LGP**, при которой начинается структурирование, образование и накопление стабильных клеток, г/л;

X_{final} – конечная общая концентрация биомассы, при которой R может достичь значения 1, г/л;

k^{div} , k^{st} , – удельные скорости синтеза продукта или утилизации субстратов для различных групп клеток – делящихся и стабильных клеток, г продукта (субстрата)/ г биомассы в единицу времени;

P_{Lim} – концентрация продукта (метаболита) в конце **LGP** и в начале **GIP**, г/л;

P_0 – концентрация продукта (метаболита) в фазе **LGP**, при общей биомассе $X = X_1$, г/л.

Библиография

1. Кафаров В.В., Винаров А.Ю., Гордеев Л.С. Моделирование и системный анализ биохимических производств. монография М.: Лесная промышленность, 1985, 280 с.
2. Винаров А.Ю., Санчес О. Гордеев Л.С. Оптимизация процесса биосинтеза лимонной кислоты. ТОХТ, 1996, т.30, № 5 с.525–532.
3. Klykov S P , Derbyshev V V 2009 Dependence of the age structure of cell population, consumption of substrate and product of the synthesis on energy consumption // Biotechnology № 5:80-89.
4. Klykov S P, Kurakov V V , Vilkov V B , Demidyuk I V , Gromova T Yu , Skladnev D A 2011 A cell population structuring model to estimate recombinant strain growth in a closed system for subsequent search of the mode to increase protein accumulation during protealysin producer cultivation. Biofabrication 3 (2011) 045006 (12pp)
5. Citric acide, Глава 9. Max Roehr, Cristian P.Kubicek, Jiří Komínek. Biotechnology Second Edition, Edited by H.-J.Rehm and G. Reed in cooperation with A. Piehler and P.Stadler, VCH Verlagsgesellschaft mbH, D-69451 Weinheim (Federal Republic of Germany), 1996, p. 307–335.
6. Ферментационные аппараты для процессов микробиологического синтеза. Винаров А.Ю., Гордеев Л.С., Кухаренко А.А., Панфилов В.И. /под ред. Быкова В.А. Монография. 300 с. «Дели» 2005.