

Р. Г. ГЕВОРГИЗ, А. С. ЛЕЛЕКОВ

### ПРИМЕНЕНИЕ ПРОСТЕЙШИХ МОДЕЛЕЙ ДЛЯ ОПИСАНИЯ НАКОПИТЕЛЬНЫХ КРИВЫХ

Приведен пример анализа накопительной кривой роста для *Dunaliella salina* (Dunal) Teod. Рассчитаны кинетические характеристики роста: максимальная удельная скорость, продуктивность, удельная скорость дыхания. Описанный способ расчета кинетических характеристик роста носит приближенный характер, но он незаменим для сравнения различных накопительных кривых роста. Отмечено, что чем больше экспериментальных точек на каждой фазе накопительной кривой, тем выше качество расчетных характеристик. Полученные уравнения позволяют количественно описать динамику роста микроводорослей в условиях периодического (накопительного) культивирования.

Уже более полувека формальное описание кривых роста микробных популяций остается предметом внимания ученых. Все новые подходы порождают широкий круг математических моделей, описывающих динамику роста, от самых элементарных, эмпирических до сложных систем и теорий. Большинство предложений весьма ограничены в широком употреблении из-за чрезвычайной сложности и специфичности. Трудно из этого круга моделей выделить достаточно простую, которую можно было бы рассматривать как некий стандарт для использования в сравнительных оценках. Для сравнения кривых роста наиболее распространенным в гидробиологической практике является расчет удельных скоростей с использованием следующего выражения:

$$\mu = \frac{\ln B - \ln B_0}{t - t_0}, \quad (1)$$

где  $B$  – концентрация клеток,  $t$  – время,  $B_0$  – концентрация клеток в начальный момент  $t_0$ . Однако в основе этого выражения лежит положение о постоянстве удельной скорости роста, поэтому оно остается справедливым лишь для экспоненциальной фазы роста. Во многих работах этот факт упускается из виду и расчет удельных скоростей становится некорректным. Это обстоятельство в значительной мере сказывается при составлении каких-либо прогнозов или разработке режимов выращивания микроводорослей. К настоящему времени не существует простых рецептов (обоснованных теоретически), подобных [1], которые позволяли бы рассчитывать основные параметры накопительной кривой для сравнительных оценок.

В данной работе на основе подхода [3] предложен своего рода алгоритм расчета основных параметров кривой роста с целью расширить круг инструментов, позволяющих исследователю проводить сравнение накопительных кривых, что особенно актуально в вопросах культивирования микроводорослей в промышленных масштабах. В качестве примера проводится сравнение двух накопительных кривых зеленой микроводоросли *Dunaliella salina*, которые являются типичным примером экспериментальных данных (по частоте измерений), приведенных в большинстве публикаций.

**Материал и методы.** Культуру *D. salina* выращивали в двух цилиндрических фотореакторах с зеркальными стенками. Толщина слоя культуры в первом варианте составляла 3 см., во втором – 6 см. Объем культуры – 200 и 415 мл соответственно. Освещение снизу осуществляли с помощью ламп ЛБ 60. Поверхностная освещенность дна каждого фотореактора составляла 5 кЛк. Культуру выращивали на питательной среде Тренкеншу [2]. Перемешивание культуры осуществляли посредством барботирования воздуха с помощью аквариумного компрессора, производительностью не более 0,5 л/мин. В суспензию через тонкий капилляр подавали углекислый газ. Скорость подачи  $\text{CO}_2$  в начале эксперимента установили таким образом, чтобы величина  $\text{pH} = 6,7$ . В последующем скорость подачи  $\text{CO}_2$  оставалась неизменной. Ежедневно производили из-

© Р. Г. Геворгиз, А. С. Лелеков, 2005

мерения оптической плотности при 750 нм с помощью фотоэлектроколориметра КФК-2, рН среды с помощью ионметра ЭВ-74 и температуры. Экспериментальные данные представлены в табл. 1.

**Таблица 1. Экспериментальные данные для *D. salina***

**Table 1. Experimental data for *D. salina***

№	Фотореактор 1			Фотореактор 2		
	рН	Температура	D750	рН	Температура	D750
0	6,70	30	0,21	6,70	30	0,21
1	6,70	30	0,24	6,70	30	0,24
2	–	30	0,36	–	30	0,36
3	7,10	30	0,70	8,00	30	0,49
4	–	30	0,96	–	30	0,64
5	7,05	30	1,32	7,95	30	0,72
6	8,50	29	1,57	7,50	29	0,76
7	–	27	1,65	–	27	0,60
8	–	27	1,68	–	27	0,44
9	–	25	1,65	–	25	0,37
10	–	–	–	–	–	–
11	–	–	–	–	–	–
12	–	23	1,50	–	23	0,40

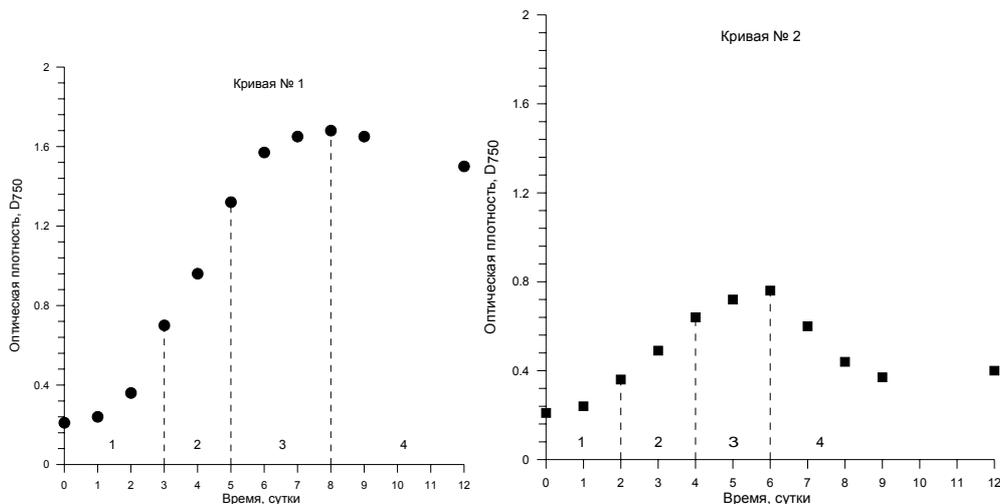
Все расчеты параметров накопительных кривых будем проводить в единицах оптической плотности, опираясь на тот факт, что величина оптической плотности культуры  $D$  и концентрация клеток  $B$  связаны линейной зависимостью  $D = k \cdot B$ .

**Результаты и обсуждение. Определение фаз роста.** Форма накопительной кривой есть характеристика культиватора, кинетических характеристик культуры и заданных внешних условий, при которых выращивали микроводоросли (освещенности, количества углекислоты, минеральных компонентов и др.). Первым шагом в определении параметров любой накопительной кривой является установление границ различных фаз роста. К сожалению, в этом вопросе не существует общепризнанных формальных приемов и поэтому вся ответственность данной процедуры принадлежит исследователю. Осложняет ситуацию и тот факт, что в эксперименте с технической точки зрения получение дискретной зависимости роста микроводорослей гораздо проще, вследствие чего большинство экспериментальных данных носят не непрерывный, а дискретный характер. Естественно, чем больше ошибка измерений и интервал между точками, тем меньше определенности в установке границ фаз роста. Например, на рисунке 1 представлены две накопительные кривые роста микроводорослей. Они имеют типичную S-образную форму, тем не менее трудно сказать принадлежат ли точки второго и третьего дня кривой № 1 к экспоненциальной фазе или линейной. Аналогичная неопределенность в отношении к точкам первого и второго дня у кривой 2. В данной работе будем полагать, что обе кривые разделены на фазы роста, как показано на рис. 1.

**Лаг-фаза.** У кривых, представленных на рис. 1, мы не можем установить лаг-фазу даже приблизительно, поскольку на этом участке слишком мало точек. У данных кривых, если и есть лаг-фаза, то очень не продолжительная, поэтому описание этой фазы роста культуры мы проводить не будем. Ограничимся лишь приведением выражения для описания динамики роста культуры на этой фазе

$$\ln \frac{B}{B_0} = -\mu_r \cdot (t - t_0), \quad B = B_0 \cdot e^{-\mu_r \cdot (t - t_0)}$$

где  $\mu_r$  – удельная скорость темнового дыхания (расхода биомассы на поддержание структуры),  $\mu = -\mu_r$ ;  $t$  – время;  $B_0$  – концентрация клеток в момент времени  $t_0$ .



**Рисунок 1. Накопительные кривые и фазы роста *D. salina*: 1 – экспоненциальная, 2 – линейная, 3 – замедления, 4 – отмирания.**

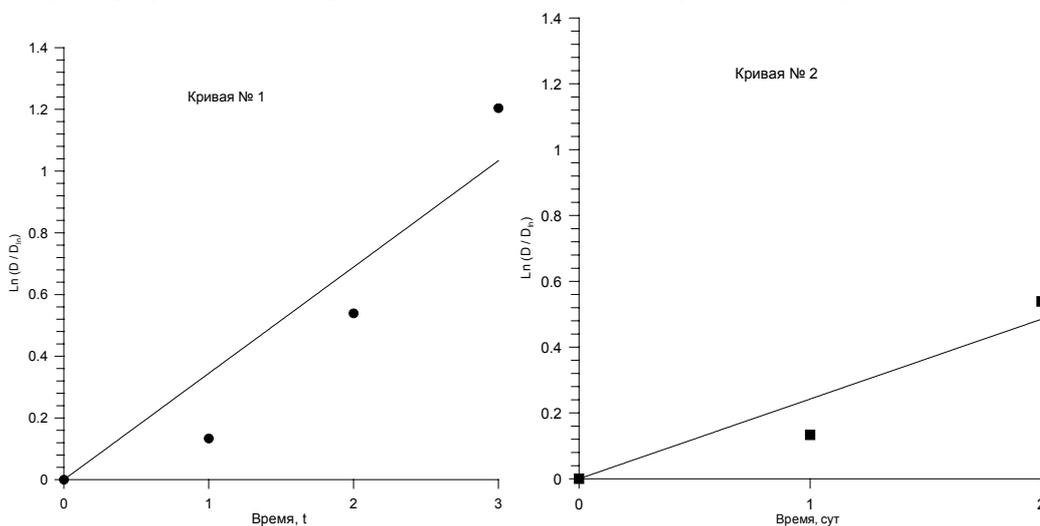
**Figure 1. Accumulative curves and growth phase of *D. salina*: 1 - exponential, 2 - linear, 3 - deceleration, 4 – death.**

Логарифмическая (лог-фаза, экспоненциальная) фаза роста. Этот период характеризуется постоянством удельной скорости роста ( $\mu_m = const$ ). Для логарифмической фазы роста применима зависимость плотности культуры от времени в следующем виде:

$$\ln \frac{B}{B_{ln}} = \mu_m \cdot (t - t_{ln}), \quad B = B_{ln} \cdot e^{\mu_m \cdot (t - t_{ln})}, \quad (1)$$

где  $\mu_m$  – удельная скорость роста,  $B_{ln}$  – концентрация биомассы в начале лог-фазы  $t_{ln}$ .

Используя уравнения (1), построим данный участок для обеих кривых в полулогарифмических координатах, что позволяет получить линейную зависимость и



**Рисунок 2. Представление экспоненциальной фазы роста в полулогарифмических координатах для расчета максимальной удельной скорости: для кривой №1  $\mu_m = 0,34$  (сут<sup>-1</sup>), для кривой №2  $\mu_m = 0,24$  (сут<sup>-1</sup>).**

**Figure 2. Representation of an exponential growth phase in semilogarithmic coordinates for calculation of maximum specific growth rate: for a curve №1  $\mu_m = 0,34$  (d<sup>-1</sup>), for a curve №2  $\mu_m = 0,24$  (d<sup>-1</sup>).**

величину максимальной удельной скоростью роста, которая численно равна тангенсу угла наклона прямой к оси абсцисс.

$$\ln \frac{D}{0,21} = \mu_{MAX} \cdot t$$

Для кривой № 1 имеем  $\mu_m = 0,34$  и  $D = 0,21 \cdot e^{0,34t}$ , а для кривой № 2  $\mu_m = 0,24$  и  $D = 0,21 \cdot e^{0,24t}$ .

Фаза линейного роста. Это фаза характеризуется постоянством скорости роста (продуктивности культуры,  $P=P_m=const$ ). Уравнение роста для линейной фазы:

$$B = B_l + P_m \cdot (t - t_l). \quad (2)$$

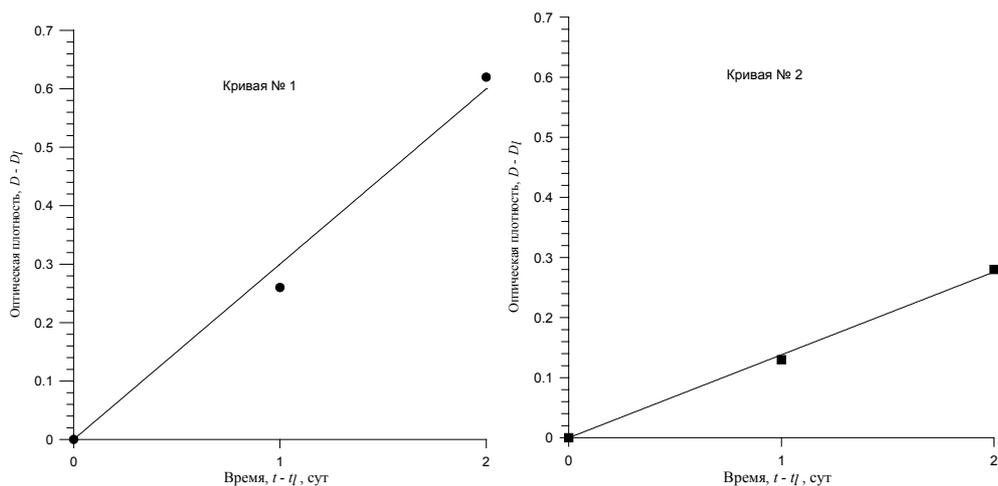
где  $B_l$  - плотность культуры в момент начала линейной фазы  $t_l$ .

Для кривой №1 и №2, соответственно:

$$D = 0,7 + P_m \cdot (t - 3),$$

$$D = 0,36 + P_m \cdot (t - 2)$$

Тангенс угла наклона линейной зависимости (см. рис. 3) в координатах  $D-D$  и  $t-t_l$  численно равен величине  $P_m$ , т.е. находим для кривой №1  $P_m=0,3$ , для кривой №2  $P_m=0,138$



**Рисунок 3. Расчет максимальной продуктивности культуры по данным линейной фазы роста: для кривой №1  $P_m=0,3$  для кривой №2  $P_m=0,138$**

**Figure 3. Calculation of maximum productivity of culture under the data of a linear growth phase: for a curve №1  $P_m=0,3$  for a curve №2  $P_m=0,138$**

Фаза замедления роста. Характеризуется снижением скорости роста до нуля, при этом концентрация биомассы достигает своего максимального значения  $B_m$

Динамику роста культуры в фазе замедления можно представить в виде:

$$\ln \frac{B_m - B^l}{B_m - B} = \mu_r \cdot (t - t^l) = \frac{P_m}{B_m - B^l} (t - t^l)$$

$$B = B_m - (B_m - B^l) \cdot e^{-\mu_r \cdot (t - t^l)} = B_m - (B_m - B^l) \cdot e^{-\frac{P_m}{B_m - B^l} (t - t^l)} \quad (3)$$

где  $\mu_r$  - удельная скорость дыхания,  $\mu = -\mu_r$ ,  $B_m$  - максимальное значение биомассы;  $B^l$  - биомасса в конце линейного периода в момент времени  $t^l$ .

Подставляя соответствующие значения, запишем для кривой №1

$$D = 1,68 - (1,68 - 1,32) \cdot e^{-\frac{0,3}{1,68-1,32}(t-5)} = 1,68 - 0,36 \cdot e^{-0,83 \cdot (t-5)}.$$

Аналогично для кривой №2

$$D = 0,76 - (0,76 - 0,64) \cdot e^{-\frac{0,138}{0,76-0,64}(t-4)} = 0,76 - 0,12 \cdot e^{-1,15 \cdot (t-4)}$$

**Стационарная фаза.** Характеризуется прекращением роста микроводорослей ( $P = 0$ ). В данной фазе биомасса остается неизменной, равной максимальному значению  $B_m$ . Для описания динамики концентрации клеток на этой фазе используется выражение:

$$B = B_m$$

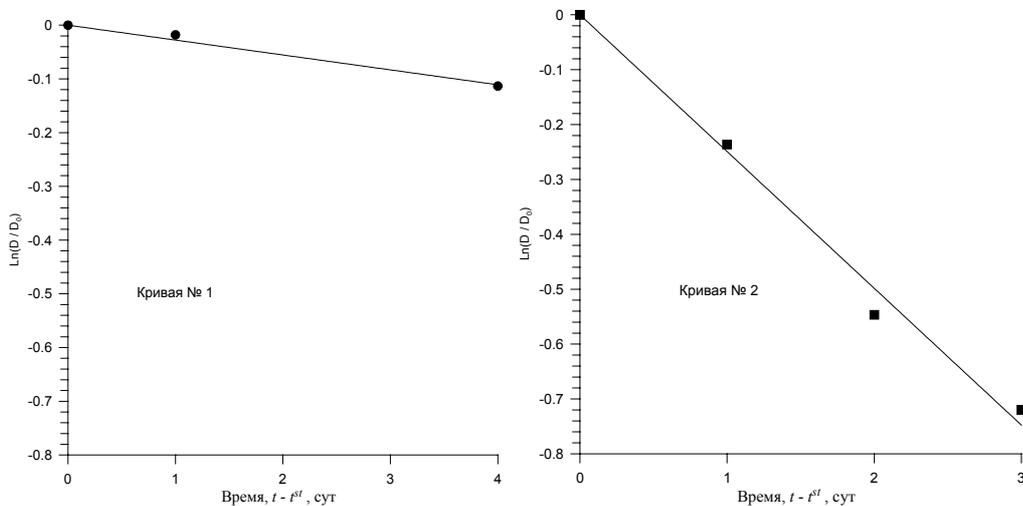
У кривых № 1 и № 2 стационарная фаза отсутствует, поэтому мы ее не рассматриваем.

**Фаза отмирания.** Характеризуется отрицательной скоростью роста. Динамика плотности культуры представляется в виде:

$$\ln \frac{B}{B_m} = -\mu_r \cdot (t - t^{st}), \quad B = B_m \cdot e^{-\mu_r \cdot (t - t^{st})}. \quad (4)$$

где  $t^{st}$  – момент времени конца стационарной фазы.

Удельную скорость дыхания  $\mu_r$  определим как тангенс угла наклона прямой (рис. 4), представив фазу отмирания в координатах:  $\ln(B/B_m)$ ,  $(t-t^{st})$ .



**Рисунок 4. Фаза отмирания в полулогарифмических координатах. Для кривой №1  $\mu_r = 0,028$  ( $\text{сут}^{-1}$ ), для кривой №2  $\mu_r = 0,25$  ( $\text{сут}^{-1}$ ).**

**Figure 4. A death phase in semilogarithmic coordinates. For a curve №1  $\mu_r = 0,028$  ( $\text{d}^{-1}$ ), for a curve №2  $\mu_r = 0,25$  ( $\text{d}^{-1}$ ).**

В результате имеем  $D = 1,68 \cdot e^{-0,028 \cdot (t-8)}$  для кривой № 1 и  $D = 0,76 \cdot e^{-0,25 \cdot (t-6)}$  для кривой № 2.

Таким образом, мы получили аналитические выражения, описывающие различные фазы роста накопительной кривой. Ниже представлены значения удельной скорости роста и продуктивности для двух кривых.

**Таблица 2. Ростовые коэффициенты для каждой фазы роста *D. salina*.**  
**Table 2. Growth coefficients for each growth phase of *D. salina***

Фазы роста	Кривая № 1	Кривая № 2
Логарифмическая	$\mu_m = 0,34$	$\mu_m = 0,24$
Линейная	$P_m = 0,30$	$P_m = 0,14$
Замедления	$\mu_r = 0,83$	$\mu_r = 1,15$
Стационарная	$D_m = 1,68$	$D_m = 0,76$
Отмирания	$\mu_r = 0,03$	$\mu_r = 0,25$

**Заключение.** Рассматривая накопительную кривую в целом, заметим, что в точках границ различных фаз из-за ошибки измерений будет наблюдаться либо неоднозначность, либо изломы, что никак не вписывается в представление о непрерывности функции роста. Однако, такие неточности не сравнимы с ошибками, возникающими при использовании формулы (1), к примеру, для фазы замедления роста, более того, уменьшение измерительной ошибки и промежутка между измерениями устранил указанное несоответствие.

1. *Владимирова М.Г., Семенов В.Е.* Интенсивная культура одноклеточных водорослей. - М., 1962. - 60 с.
2. *Тренкениш Р. П., Белянин В. Н., Сидько Ф. Я.* Модель светозависимого роста морских микроводорослей (с учетом фотоингибирования). - Красноярск: ИФСО, 1981. - 63 с. - (Препринт No ИФСО-18Б).
3. *Тренкениш Р. П.* Простейшие модели роста микроводорослей 1. Периодическая культура. // Экология моря. – Вып. 67 – С. 54 – 74.

Институт биологии южных морей НАН Украины,  
г. Севастополь

Получено 15.05.2005

R. G. GEVORGIZ, A. S. LELEKOV

#### APPLICATION OF THE ELEMENTARY MODELS FOR BATCH CURVES

##### Summary

The analysis of accumulative curves for *Dunaliella salina* has been made. The kinetic characteristics of the culture growth, namely the maximal specific growth rate, productivity, specific breathing rate are designed. The offered approach is the approached character, but it is not replaced for drawing up of the relative characteristics. The received equations allow describing quantitatively the dynamics of growth microalgae in conditions of periodic cultivation.