

На правах рукописи

ХАРИТОНОВА ЛЮДМИЛА ЮРЬЕВНА

**ЗАКОНОМЕРНОСТИ ПРОЦЕССА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ
АЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ОДНО- И
ДВУХСЕКЦИОННОМ БИОРЕАКТОРЕ**

05.17.08 – Процессы и аппараты химических технологий

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата технических наук

Москва – 2003

Работа выполнена в Московской государственной академии тонкой химической технологии им. М.В.Ломоносова.

Научные руководители: кандидат технических наук, профессор
Лапшенков Геннадий Иванович

кандидат технических наук, доцент
Зиновкина Татьяна Вальтеровна

Официальные оппоненты: доктор технических наук, профессор
Кольцова Элеонора Моисеевна

доктор технических наук, профессор
Бирюков Валентин Васильевич

Ведущая организация: ФГУП “Государственный научный
центр по антибиотикам”

Защита состоится " 24 " " июня " 2003 года в 14³⁰ час. на заседании диссертационного совета Д 212.120.02 в Московской государственной академии тонкой химической технологии им. М.В.Ломоносова по адресу: 119571, г. Москва, В – 571, пр. Вернадского, 86.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке МИТХТ им. М.В.Ломоносова (г. Москва, ул. Малая Пироговская, 1).

Автореферат разослан " 21 " " мая " 2003 года.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
д. т. н., профессор

Фролкова А.К.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы

Глубинное культивирование аэробных микроорганизмов используется в микробиологическом производстве как целевой процесс для выращивания обогащенной белком биомассы клеток, используемой, например, в качестве кормовых добавок к рациону животных и птиц, а также при последующем получении аминокислот, витаминов и других биологически активных веществ.

При непрерывном культивировании, как правило, создают условия, в которых достигается наибольшая продуктивность по биомассе. Однако при выборе рабочего режима необходимо рассматривать ферментер с протекающим в нем процессом выращивания аэробных клеток как управляемую динамическую систему и учитывать динамические характеристики процесса, в частности, степень устойчивости. Отсутствие таких данных может привести к выбору рабочих режимов с низкой степенью устойчивости, в которых продолжительность возвращения процесса в стационарное состояние достаточно велика. Во время переходного процесса изменение технологических условий культивирования может привести к замедлению процесса роста клеток и, как следствие, к снижению количества и качества получаемой биомассы. Поэтому, при выборе рациональных режимов культивирования необходимо учитывать степень устойчивости процесса, а также качественно оценить динамику его поведения.

Комплексный подход к исследованию непрерывных процессов глубинного культивирования, когда наряду с изучением продуктивности, учитывались и динамические свойства процесса до настоящего времени не нашел широкого распространения. В качестве иллюстрации такого подхода в работе были исследованы непрерывные процессы глубинного культивирования аэробных микроорганизмов при различной кинетике, определяющей специфику протекания процесса; при ограничениях, обусловленных физиологическими свойствами аэробных клеток и особенностями технологической реализуемости процесса; при проведении процесса в двухсекционном биореакторе с целью выбора более эффективной аппаратной схемы.

Выбор рациональных режимов работы динамической системы – ферментера с протекающим в нем процессом выращивания аэробных микроорганизмов с учетом физиологических особенностей роста клеток и технологических ограничений при протекании процесса, а также анализ возможностей аппаратного оформления представляет собой актуальную научную и практическую задачу.

Цель работы

Исследование и расчет непрерывного процесса культивирования аэробных микроорганизмов как управляемой динамической системы с целью нахождения рациональных технологических режимов. Для достижения этой цели были поставлены и решены с использованием элементов системного анализа следующие научно – технические задачи:

1. исследование процесса культивирования аэробных микроорганизмов с кинетикой, учитывающей лимитирование роста клеток концентрациями субстрата и кислорода (кинетика Моно-Моно), как управляемой динамической

системы. Анализ устойчивости системы “в малом” и расчет степени ее устойчивости; определение режимов максимальной продуктивности и максимальной степени устойчивости; выявление областей эффективного влияния управляющих воздействий на протекание культивирования в этих режимах и качественный анализ динамики поведения процесса “в большом”;

2. определение области управления процессом культивирования при наличии ограничений, накладываемых на технологические переменные и управляющие воздействия, и оценка степени устойчивости процесса;

3. исследование процесса непрерывного культивирования аэробных микроорганизмов с учетом ингибирования роста клеток высокими концентрациями субстрата (кинетика Эндрюса-Моно), определение устойчивости системы “в малом” и степени ее устойчивости;

4. сравнение степени устойчивости процесса культивирования в различных вариантах секционирования двухсекционного биореактора с целью выбора более эффективной (по степени устойчивости) схемы аппарата.

Научная новизна

Предложен комплексный подход к выбору рационального режима культивирования с учетом динамических характеристик процесса, применимый при решении инженерных задач в микробиологическом производстве.

Приведены к безразмерному виду математические модели процессов культивирования аэробных клеток, подчиняющихся двухфакторной кинетике роста Моно–Моно и Эндрюса–Моно, которые могут быть использованы при описании процессов выращивания различных видов микроорганизмов, подчиняющихся аналогичным или более простым кинетическим выражениям.

Выявлены характерные особенности влияния управляющих воздействий на переменные состояния процессов, определяемых кинетикой Моно–Моно и Эндрюса–Моно, а также закономерности протекания процесса с учетом ограничений, возникающих при реализации культивирования и обусловленных не только физиологическими свойствами популяции аэробных микроорганизмов, но и технологическими особенностями процесса.

На основе анализа работы секционного ферментера с учетом динамических свойств процесса, выделены преимущественные варианты соотношения объемов секций в двухсекционном биореакторе, характеризующиеся достаточной степенью устойчивости процесса.

Практическая значимость работы

Предложенный комплексный подход применен в качестве методики при выборе рабочего режима культивирования, с целью повышения степени устойчивости и эффективности процессов культивирования. Рассчитаны рабочие режимы процесса культивирования дрожжей *Candida utilis*, подчиняющихся кинетике Моно–Моно, с учетом максимальной продуктивности и максимальной степени устойчивости.

Определена область реализации процесса в пространстве управляющих воздействий, благоприятная для роста клеток в условиях физиологических и технологических ограничений. При выборе управлений из этой области можно, наряду с повышением количества и качества получаемой биомассы, обеспечить большую стабильность технологических режимов.

Результаты сравнения степени устойчивости различных вариантов секционирования могут быть полезны при разработке оптимальных схем аппаратурного оформления процессов культивирования.

Апробация работы

Основные результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на всероссийской научной конференции “Тепло- и массообмен в химической технологии” ТМОХТ (Казань, 2000 г.); V-й международной научной конференции “Теоретические и экспериментальные основы создания новых высокоэффективных химико-технологических процессов и оборудования” (Иваново, 2001 г.); I-й международной научной конференции “Современные проблемы органической химии, экологии и биотехнологии” (Луга, 2001 г.); II-й международной научной конференции “Теория и практика массообменных процессов химической технологии” (Марушкинские чтения) (Уфа, 2001 г.); 2-й школе молодых ученых при VII-й международной научно-технической конференции “Наукоемкие химические технологии” (Ярославль, 2001 г.); VIII-й международной научно-технической конференции “Наукоемкие химические технологии” (Уфа, 2002 г.), XV-й международной научной конференции “Математические методы в технике и технологиях” (Тамбов, 2002 г.).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 11 научных работ.

Структура и объем работы

Диссертационная работа состоит из введения, пяти глав, заключения, списка литературы, включающего 208 наименований. Основная часть работы изложена на 184 страницах машинописного текста, содержит 52 рисунка и приложение.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Во введении обосновывается актуальность темы диссертационной работы, научная новизна и практическая значимость полученных результатов.

Глава 1 посвящена анализу научной литературы по теме диссертации.

Приведена краткая классификация микробиологических процессов и рассмотрены их характерные особенности, отмечена значимость таких процессов для промышленности и экологии. Обзор кинетических зависимостей и математических моделей роста микроорганизмов показал, что динамические особенности реализации процессов, описываемых мультипликативными зависимостями Моно-Моно и Эндрюса-Моно, недостаточно изучены. Проведен анализ преимуществ и недостатков организации процесса культивирования аэробных микроорганизмов в ферментерах различных конструкций, включая современные разработки в области пленочных и мембранных биореакторов. Отмечено, что в ряде случаев культивирование проводят в секционных биореакторах. Установлено, что в научной литературе не рассматривались процессы культивирования при наличии физиологических и технологических ограничений. Показано, что в публикациях отсутствуют данные по степени устойчивости процессов культивирования аэробных клеток, описываемых кинетикой Моно-Моно и Эндрюса-Моно; данные по степени устойчивости

процесса при различных ограничениях, а также в разных вариантах секционирования биореактора.

В заключении обоснована необходимость комплексного (с учетом статических и динамических характеристик) исследования непрерывных процессов глубинного культивирования аэробных микроорганизмов при кинетике Моно–Моно и Эндрюса–Моно; при ограничениях, определяемых физиологическими свойствами аэробных клеток и технологическими особенностями процесса; при проведении процесса в двухсекционном ферментере.

Глава 2 посвящена исследованию непрерывного процесса культивирования аэробных микроорганизмов при кинетике учитывающей лимитирование роста клеток субстратом и кислородом (кинетика Моно – Моно), как управляемой динамической системы методами качественной теории дифференциальных уравнений.

Математическая модель динамического режима ферментера непрерывного действия для случая роста микроорганизмов одной популяции, интенсивного перемешивания рабочей среды, постоянства экономических коэффициентов по субстрату и кислороду, в безразмерных величинах имеет вид:

$$\frac{dx}{d\tau} = -\delta x + \frac{y}{1+y} \frac{w}{1+w} x, \quad (1)$$

$$\frac{dy}{d\tau} = +\delta(y_0 - y) - \frac{y}{1+y} \frac{w}{1+w} x, \quad (2)$$

$$\varepsilon \frac{dw}{d\tau} = +\varepsilon k(w^p - w) - \frac{y}{1+y} \frac{w}{1+w} x, \quad (3)$$

где $k=K_L a/\mu_m$ – объемный коэффициент массопередачи; $w=C/K_C$ – концентрация кислорода; $w^p=C^p/K_C$ – равновесная концентрация кислорода; $x=X/(K_S Y_S)$ – концентрация биомассы; $y=S/K_S$ – концентрация субстрата; $y_0=S_0/K_S$ – концентрация субстрата в питательном потоке; $\delta=D/\mu_m$ – скорость разбавления (величина, обратная времени пребывания культуральной жидкости в биореакторе); $\varepsilon=K_C Y_C/(K_S Y_S)$ – физиологический коэффициент, учитывающий отношение экономических коэффициентов и констант полунасыщения по кислороду и субстрату; εk – показатель интенсивности массопередачи конкретной популяции микроорганизмов; $\tau=\mu_m t$ – безразмерное время.

Ферментер с протекающим в нем процессом культивирования представляет собой управляемую динамическую систему с тремя переменными состояниями – концентрациями биомассы x , субстрата y и кислорода w и тремя управляющими воздействиями – скоростью разбавления δ , показателем εk и концентрацией субстрата в питательном потоке y_0 .

Система уравнений, полученная из (1) – (3) для стационарных режимов, имеет два решения (стационарных состояния). Первое стационарное состояние ($x=0$, $y=y_0$ и $w=w^p$) соответствует режиму вымывания биомассы. Второе

стационарное состояние соответствует режиму образования биомассы, в котором значения концентраций биомассы x , субстрата y , кислорода w и продуктивность по биомассе π рассчитываются по равенствам (4):

$$\left. \begin{aligned} x &= +0.5p - 0.5\sqrt{p^2 - 4q} \\ y &= y_0 - x, \\ w &= w^p - \frac{\delta}{\varepsilon k} x, \\ \pi &= \delta x \end{aligned} \right\} \quad (4)$$

где $p = \left(y_0 - \frac{\delta}{1-\delta} \right) + \frac{\varepsilon k}{\delta} \left(w^p - \frac{\delta}{1-\delta} \right)$, $q = \frac{\varepsilon k}{\delta(1-\delta)} (1 + y_0)(1 + w^p)(\delta_B - \delta)$

Границу между двумя режимами определяет скорость вымывания $\delta_B = y_0 w^p / [(1 + y_0)(1 + w^p)]$, режим образования биомассы реализуется в интервале $0 < \delta < \delta_B$, режим вымывания биомассы клеток наблюдается при соблюдении условия $\delta \geq \delta_B$.

Стационарные состояния в пространстве выходных параметров x , y , w , построенные для значений показателя $\varepsilon k_1 = 0,0625$, $\varepsilon k_2 = 0,4472$, $\varepsilon k_3 = 0,5625$ и значений $y_0 = 10$, $w^p = 10$, $\delta_B = 0,8264$, приведены на рис. 1. С изменением скорости разбавления стационарные состояния перемещаются по траектории, расположенной на грани призмы, две стороны которой определяются уравнением $x = y_0 - y$, а две другие, параллельны координате w . При εk_1 с ростом δ происходит снижение концентрации биомассы и одновременное повышение остаточной концентрации субстрата. Концентрация кислорода снижается от равновесного значения w^p и минимум зависимости $w = f(x, y)$ достигается при $\delta_{\pi 1} = 0,08$ ($w = 0,1298$, $x = 7,7111$, $y = 2,2889$). В этих условиях продуктивность процесса π максимальна и равна $\pi_m = \varepsilon k_1 (w^p - w) = 0,6169$. Дальнейший рост скорости разбавления приводит к постепенному уменьшению концентрации получаемой биомассы и увеличению концентраций кислорода w и субстрата y в биореакторе. Сравнение расчетной концентрации биомассы с экспериментальными значениями, полученными в процессе выращивания дрожжей *Candida utilis* в аналогичных условиях, показало удовлетворительное совпадение данных.

С интенсификацией массопередачи (при больших εk) величина минимальной концентрации кислорода в аппарате возрастает и достигается при больших скоростях разбавления δ , соответственно повышается и значение максимальной продуктивности процесса по биомассе π_m . Изучение влияния показателя εk в качестве управления на величину π в области высокой концентрации y_0 при определенных скоростях разбавления показало, что в условиях небольших δ , даже незначительная интенсификация массопередачи на границе воздух – культуральная среда позволяет получить большее количество биомассы π . При больших скоростях δ эта особенность процесса становится более выраженной. Таким образом, увеличение εk позволяет повысить эффективность процесса культивирования аэробных микроорганизмов.

При низкой концентрации субстрата рост микроорганизмов ограничивает

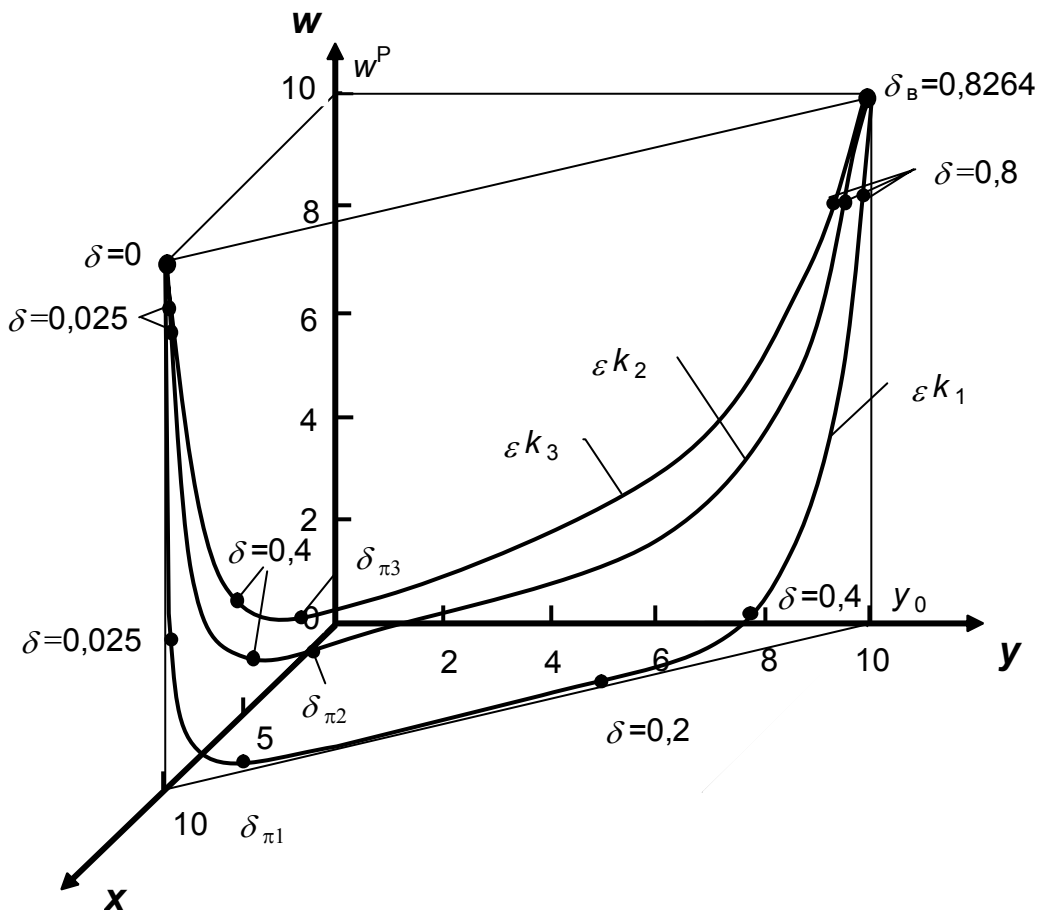


Рис. 1. Стационарные состояния ферментера непрерывного действия в пространстве состояний при $y_0=10$, $w^p=10$ и значениях показателя εk : $\varepsilon k_1=0,0625$, $\varepsilon k_2=0,4472$ и $\varepsilon k_3=0,5625$

недостаток питательного компонента; с увеличением концентрации y_0 расширяется диапазон рабочих скоростей разбавления, в котором реализуется культивирование клеток; питательный поток, подаваемый в ферментер с высокой концентрацией субстрата, позволяет получать больший выход биомассы. В условиях $w^p=10$ и $\varepsilon k=0,0625$ увеличение концентрации y_0 свыше 10 малоэффективно из-за усиления фактора лимитирования роста клеток недостатком кислорода.

Анализ чувствительности информационных каналов показал, что основным управляющим воздействием процесса культивирования аэробных микроорганизмов является скорость разбавления δ . Использование принципа турбидостата или нутристора возможно в диапазонах $0 < \varepsilon k < 0,065$ и $0 < y_0 < 7$, когда наблюдается большой отклик системы в случае отклонения x и y от регламентных значений. Для получения максимальной продуктивности, из-за экстремального вида статической характеристики канала $\delta-w$ биореактора, использование принципа оксистата возможно посредством реализации экстремального управления системой.

Устойчивость является одной из важнейших характеристик процесса культивирования, рассматриваемого как динамическая система. В устойчивой системе после снятия возмущения со временем устанавливается стационарное состояние и свободная составляющая динамического режима стремится к нулю. Длительность динамического режима необходимо сокращать, так как при этом возможно замедление роста клеток и снижение количества получаемой

биомассы. Быстродействие системы в динамике рассчитывают по степени устойчивости процесса. Выбор рационального режима культивирования зависит от характера и степени устойчивости стационарных состояний процесса. Степень устойчивости рассчитывается только для устойчивых стационарных состояний и определяется отрицательной, действительной частью наименьшего по модулю корня характеристического уравнения, поскольку именно этот корень характеризует наиболее длительную составляющую переходного процесса.

Устойчивость стационарных состояний процесса “в малом” определялась по 1-му методу Ляпунова. Для этого систему уравнений (1) – (3) линеаризовали и получили уравнение свободного движения процесса в приращениях:

$$\begin{bmatrix} \frac{d\Delta x}{dt} \\ \frac{d\Delta y}{dt} \\ \frac{d\Delta w}{dt} \\ \varepsilon \frac{d\Delta w}{dt} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} a_{11} & a_{12} & a_{13} \\ a_{21} & a_{22} & a_{23} \\ a_{31} & a_{32} & a_{33} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \Delta x \\ \Delta y \\ \Delta w \end{bmatrix} \quad (5)$$

Коэффициенты матрицы a_{ij} уравнения (5) представляют собой производные правых частей уравнений (1) – (3) по координатам пространства состояния. В стационарном состоянии процесса $\Delta x = \Delta y = \Delta w = 0$. Полученное характеристическое уравнение было приведено к виду:

$$\begin{bmatrix} -\lambda & \frac{\delta^0 x^0}{y^0(1+y^0)} & \frac{\delta^0 x^0}{w^0(1+w^0)} \\ -\delta^0 - \lambda & -\delta^0 - \lambda & 0 \\ -\delta^0 - \lambda & 0 & -k - \varepsilon \lambda \end{bmatrix} = 0 \quad (6)$$

Корни характеристического уравнения для 1-го стационарного состояния рассчитывались по равенствам $\lambda_{11} = -\delta$, $\lambda_{21} = \delta_B - \delta$, $\lambda_{31} = -k$, а для 2-го стационарного состояния –

$$\lambda_{12} = -\delta, \quad \lambda_{22} = -0.5b + 0.5\sqrt{b^2 - 4c}, \quad \lambda_{32} = -0.5b - 0.5\sqrt{b^2 - 4c}$$

где
$$b = \frac{\delta^0 x^0}{y^0(1+y^0)} + \frac{1}{\varepsilon} \frac{\delta^0 x^0}{w^0(1+w^0)} + k,$$

$$c = \frac{1}{\varepsilon} \delta^0 \frac{\delta^0 x^0}{w^0(1+w^0)} + k \frac{\delta^0 x^0}{y^0(1+y^0)}$$

Первый индекс корня соответствует его порядковому номеру, а второй – номеру стационарного состояния. В режиме образования биомассы в диапазоне $0 < \delta < \delta_B$ все корни отрицательные и действительные, стационарные состояния представляют собой устойчивый узел, режим вымывания в этом интервале

скоростей неустойчив и представляет собой седло 1-го порядка. При $\delta > \delta_B$ в аппарате происходит устойчивое вымывание биомассы (устойчивый узел).

Степень устойчивости исследуемой системы оценивалась по корням 2-го стационарного состояния λ_{12} , λ_{22} и λ_{32} (далее λ_1 , λ_2 , λ_3). Было найдено, что корень λ_3 по модулю намного больше, чем модули корней λ_1 и λ_2 . Составляющая динамического режима, соответствующая корню λ_3 , непродолжительна и не оказывает заметного влияния на длительность переходного процесса ферментера. На рис.2 приведены зависимости $\lambda_1=f(\delta, \epsilon k)$ и $\lambda_2=f(\delta, \epsilon k)$ от δ в диапазоне $0 \leq \delta \leq \delta_B$ и от показателя ϵk в интервале $0 \leq \epsilon k \leq 0,4$.

Поверхности $\lambda_1=f(\delta, \epsilon k)$ и $\lambda_2=f(\delta, \epsilon k)$ расположены в области отрицательных значений аппликата. Зависимость $\lambda_1=f(\delta, \epsilon k)$ имеет постоянный угол наклона, равный $\text{arctg}(-\delta)$. Для оценки степени устойчивости наибольший интерес представляет корень λ_2 , поскольку его модуль зависит от гидродинамической обстановки в ферментере ϵk и от скорости δ . Модуль корня λ_2 с увеличением скорости разбавления δ и показателя ϵk резко снижается, достигая экстремального значения при $\delta=\delta_\pi$, при котором зависимости $\lambda_1=f(\delta, \epsilon k)$ и $\lambda_2=f(\delta, \epsilon k)$ пересекаются. В условиях малых значений показателя ϵk степень устойчивости при δ_π низкая. Затем с ростом δ и ϵk модуль λ_2 возрастает, при этом сокращается продолжительность составляющей динамического режима, отвечающей λ_2 , степень устойчивости процесса культивирования повышается.

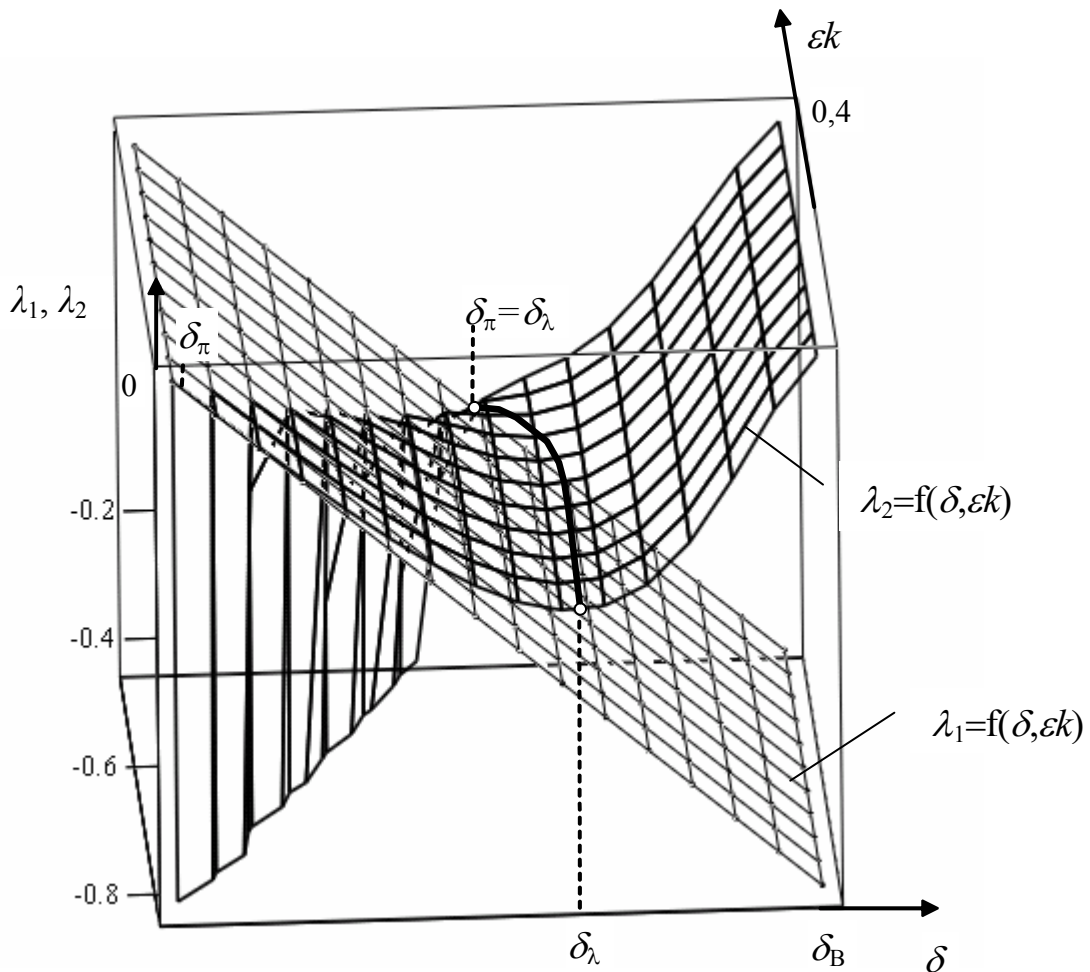


Рис. 2. Корни характеристического уравнения λ_1 и λ_2 в зависимости от скорости протока δ и показателя ϵk при $y_0=10$, $w^p=10$

при скорости разбавления, обозначенной δ_λ , наблюдается максимальная степень устойчивости. При $\epsilon k=0,0625$ скорость $\delta_\lambda=0,51$ и максимальная степень

устойчивости определяется модулем корня $\lambda_2 = -0,38$. Было выявлено, что величина δ_λ незначительно изменяется с увеличением εk в области $\varepsilon k \leq 0,25$. В режимах $\delta_\lambda < \delta < \delta_B$ степень устойчивости снижается, при $\delta > \delta_B$ корень λ_2 принимает положительные значения и 2-е стационарное состояние становится неустойчивым. С ростом интенсивности массопередачи εk качественный вид поверхности $\lambda_2 = f(\delta, \varepsilon k)$ существенно не меняется, но при этом интервал между δ_π и δ_λ сокращается и при $\varepsilon k = 0,33$ скорости $\delta_\pi = \delta_\lambda$. В диапазоне скоростей разбавления $0 < \delta < \delta_\pi$ степень устойчивости оценивается по модулю корня λ_1 , а интервале $\delta_\pi < \delta < \delta_B$ по модулю λ_2 .

Таким образом, можно выделить два характерных режима проведения процесса: режим максимальной продуктивности (δ_π) и максимальной степени устойчивости процесса (δ_λ). Так, в процессе выращивания дрожжей *Candida utilis* в ферментере объемом $V = 4 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3$ при $\varepsilon k = 0,0625$, расход питательной среды в режиме максимальной продуктивности составляет $F_\pi = 2,144 \cdot 10^{-4} \text{ м}^3/\text{ч}$ ($\delta_\pi = 0,08$), а в режиме максимальной степени устойчивости – $F_\lambda = 1,3668 \cdot 10^{-3} \text{ м}^3/\text{ч}$ ($\delta_\lambda = 0,51$). В случае работы ферментера при δ_π продуктивность процесса максимальна, но продолжительность возвращения биореактора в стационарный режим велика. Изменение технологических условий, в течение этого периода, может привести к нецелевому использованию питательных ресурсов и снижению качества биомассы. В режиме δ_λ продуктивность процесса меньше, но система наиболее устойчива к возмущениям. Было установлено, что при малых величинах εk скорость разбавления стационарного режима следует выбирать между значениями δ_π и δ_λ с учетом весовых коэффициентов, определяемых методом экспертных оценок. В условиях высокой интенсивности перемешивания, когда значения δ_π и δ_λ совпадают, рабочий режим следует выбирать исходя из условий получения максимальной продуктивности.

В главе 3 приведены результаты исследования процесса культивирования при ограничениях на технологические переменные и управляющие воздействия. Поддержание запаса кислорода на уровне 20% от равновесного значения достаточно для того, чтобы возможные нарушения технологического режима не приводили к гибели микроорганизмов от дефицита кислорода. Было установлено, что в режимах максимальной продуктивности и максимальной степени устойчивости концентрация кислорода, растворенного в культуральной жидкости, ниже 20% уровня.

При значении показателя $\varepsilon k_1 = 0,0625$ в диапазоне скоростей разбавления $\delta_1 = 0,0504$ до $\delta_2 = 0,6011$ концентрация кислорода в среде ниже значения $w/w^p = 0,2$. Одним из эффективных способов поддержания необходимой концентрации растворенного кислорода в этом диапазоне скоростей является интенсификация процесса массопередачи кислорода в культуральную жидкость (увеличение εk), достигаемое обычно за счет повышения скорости вращения перемешивающих устройств. При нахождении скорости потока в диапазоне от δ_1 до δ_2 для поддержания $w/w^p = 0,2$ требуется большая скорость массопередачи. Было найдено, что максимальное улучшение условий массопередачи в культуральной жидкости, определяемое величиной показателя $\varepsilon k = 0,4472$, необходимо при скорости разбавления $\delta = 0,4656$.

Наличие в биореакторе вращающихся устройств может вызвать срезные повреждения тонких стенок клеток микроорганизмов, чувствительных к механическим воздействиям, что приводит к гибели клеток. Вероятность повреждений возрастает с ростом скорости вращения мешалок. Гибель клеток микроорганизмов приводит к снижению показателей эффективности процесса, поэтому с учетом морфологических особенностей клеток число оборотов перемешивающих устройств должно быть ограничено. В работе ограничение на максимально допустимую величину εk было принято равным $(\varepsilon k)_{кр}=0,25$.

Величина параметра εk превышает критическое значение $(\varepsilon k)_{кр}=0,25$ в диапазоне от $\delta_3=0,2096$ до $\delta_4=0,5789$. Обеспечение ограничения $\varepsilon k=(\varepsilon k)_{кр}$ в этом диапазоне приводит к нарушению условия $w/w^p \geq 0,2$ и концентрация w устанавливается на значениях меньших, чем $0,2w^p$. Следовательно, в диапазоне скоростей от δ_3 до δ_4 для обеспечения необходимого запаса растворенного кислорода и достаточного процента жизнеспособных клеток популяции недостаточно использовать в качестве управлений δ и εk . На этом участке необходимо снижать скорость роста клеток путем уменьшения концентрации субстрата в питательном потоке y_0 . Поскольку сильное разбавление питательного потока приводит к значительному снижению количества получаемой биомассы вследствие существенного уменьшения движущей силы, было установлено ограничение на минимально допустимое значение концентрации субстрата на уровне $y_0 \geq 2$.

Обобщив полученные результаты, в пространстве управляющих воздействий выделили область значений δ , εk и y_0 (рис. 3), при которых рекомендуется проведение процесса культивирования с соблюдением ограничений $w \geq 0,2w^p$, $\varepsilon k \leq 0,25$ и $y_0 \geq 2$.

В отсутствие ограничений культивирование может проводиться во всей области значений управляющих воздействий $0 < \delta < \delta_B$, $\varepsilon k > 0$, $y_0 > 0$. Например, при $w^p=10$, $y_0=10$ процесс реализуется в диапазоне $0 < \delta < 0,8264$, $0 \leq \varepsilon k \leq \varepsilon k_m=0,4472$ (отмеченном пунктирными линиями). При проведении процесса с соблюдением ограничений $w/w^p \geq 0,2$, $\varepsilon k \leq 0,25$ и $y_0 \geq 2$ область допустимых управлений представляет собой многогранник (сплошные линии), грани которого определяются значениями $\delta=0$, $\delta=\delta_B$, $y_0=2$, $y_0=10$, $\varepsilon k=0$ и $\varepsilon k=0,25$, из которого вырезан объем, соответствующий значениям отношения $w/w^p < 0,2$, внешняя поверхность $\varepsilon k = f(\delta, y_0)$ этого объема содержит значения $w/w^p=0,2$. На гранях многогранника, соответствующих значениям скорости $\delta=0$ и $\delta=\delta_B$, отношение $w/w^p=1$.

В случае ужесточения требований к минимальному запасу кислорода, все возможные комбинации управляющих воздействий будут находиться в том же многограннике, однако объем ограниченный поверхностью $\varepsilon k = f(\delta, y_0)$, будет все больше увеличиваться, сокращая область допустимых управлений процессом. Оценка степени устойчивости режимов процесса при скоростях $\delta=0,3$ и $\delta=0,4$ показала, что процесс с соблюдением ограничений, характеризуется большей степенью устойчивости к флуктуациям технологического режима, чем процесс без ограничений. Причем, использование всех трех управляющих воздействий позволяет достичь наибольшей степени устойчивости по сравнению с вариантами применения двух управлений (δ , εk) и одного

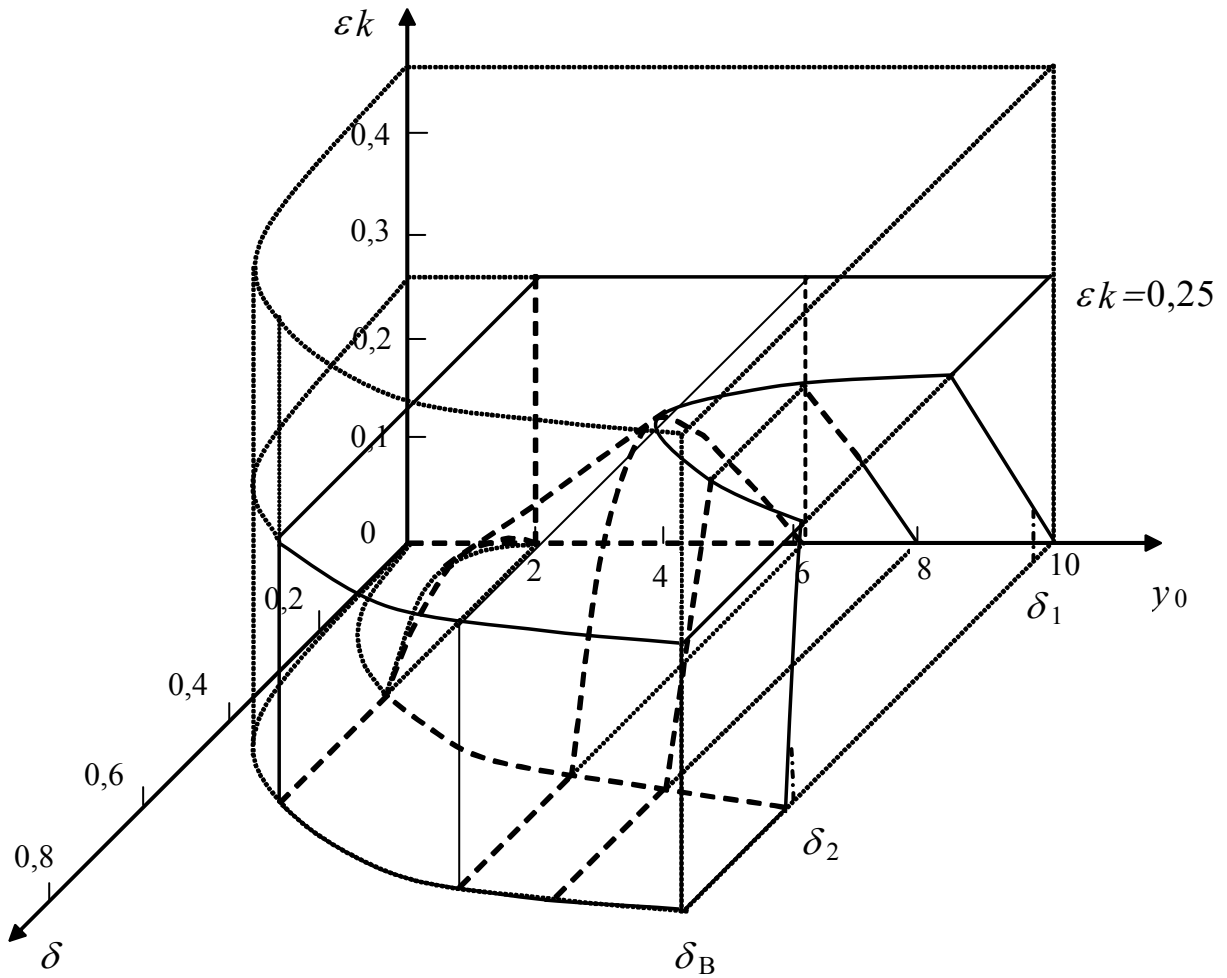


Рис. 3. Область управлений процессом культивирования при $w^p=10$ и ограничениях: $w/w^p \geq 0,2$, $\varepsilon k \leq 0,25$ и $y_0 \geq 2$

управления (δ).

В **главе 4** рассматривается процесс культивирования микроорганизмов, в котором удельная скорость роста клеток лимитируется концентрацией кислорода и ингибируется высокой концентрацией субстрата и подчиняется кинетике Эндрюса–Моно. На основе последовательности расчетов, использованных во 2-й главе, определяли режимы культивирования, в которых достигаются высокая продуктивность и степень устойчивости.

Математическая модель динамического режима ферментера при допущениях принятых во 2-й главе, в безразмерных величинах записывается в виде:

$$\frac{dx}{dt} = -\delta x + \frac{y}{1+y+\gamma y^2} \frac{w}{1+w} x, \quad (7)$$

$$\frac{dy}{dt} = +\delta(y_0 - y) - \frac{y}{1+y+\gamma y^2} \frac{w}{1+w} x, \quad (8)$$

$$\varepsilon \frac{dw}{dt} = +\varepsilon k(w^p - w) - \frac{y}{1+y+\gamma y^2} \frac{w}{1+w} x \quad (9)$$

где $\gamma = K_s/K_i$ – коэффициент ингибирования.

Система уравнений (7) – (9) имеет три решения: первое – режим вымывания, когда $x=0$, $y=y_0$ и $w=w^p$; второе и третье решения характеризуют режим образования биомассы, концентрации биомассы x , субстрата y и кислорода w рассчитываются по уравнениям:

$$\left. \begin{aligned} ax^3 + bx^2 - cx + d &= 0 \\ y &= y_0 - x, \\ w &= w^p - \frac{\delta}{\varepsilon k} x, \end{aligned} \right\} \quad (10)$$

где $a = \frac{\delta}{1-\delta} \gamma,$

$$b = \left\{ 1 - \frac{\delta}{1-\delta} \gamma \left[\frac{\varepsilon k}{\delta} (1 + w^p) + 2y_0 \right] \right\},$$

$$c = \left\{ \left(y_0 - \frac{\delta}{1-\delta} \right) + \frac{\varepsilon k}{\delta} \left(w^p - \frac{\delta}{1-\delta} \right) - \frac{\delta}{1-\delta} \gamma y_0 \left(2 \frac{\varepsilon k}{\delta} (1 + w^p) + y_0 \right) \right\},$$

$$d = \frac{\varepsilon k}{\delta} \frac{1}{1-\delta} (1 + w^p) (1 + y_0 + \gamma y_0^2) (\delta_B - \delta).$$

Физическому смыслу процесса культивирования удовлетворяет величина x , находящаяся в диапазоне $0 < x < x_m = y_0$. В случае равенства нулю коэффициента ингибирования γ из системы уравнений (10) можно получить систему (4) для процесса с кинетикой Моно – Моно.

Границы между режимами вычисляют по скорости вымывания $\delta_B = y_0 w^p / [(1 + y_0 + \gamma y_0^2)(1 + w^p)]$ и максимальному значению скорости разбавления δ_m , определяемому по кинетической зависимости популяции микроорганизмов. Режим образования биомассы во 2–м стационарном состоянии наблюдается в интервале $0 < \delta < \delta_m$; режим образования биомассы в 3–м стационарном состоянии появляется только в интервале $\delta_B < \delta < \delta_m$.

Характерной особенностью данного процесса является продолжение образования биомассы при скоростях, находящихся в интервале $\delta_B < \delta < \delta_m$ и превышающих δ_B . Отметим, что в процессах с кинетикой Моно–Моно при $\delta > \delta_B$ реализуется вымывание. При скорости δ_m наступает вымывание биомассы из ферментера и при бóльших значениях δ процесс остается в 1–м стационарном состоянии.

Стационарные состояния процесса в пространстве выходных величин (x, y, w) при значениях $\gamma=0,25$, $y_0=10$, $w^p=16$, $\varepsilon k=0,0625$ и скоростях $\delta_B=0,2614$, $\delta_m=0,2802$ приведены на рис. 4. С изменением скорости разбавления точка стационарного состояния перемещается вдоль траектории $w=f(x, y)$. Качественный вид и расположение в пространстве состояний зависимости $w=f(x, y)$ определяется гидродинамическими условиями в биореакторе εk и концентрацией

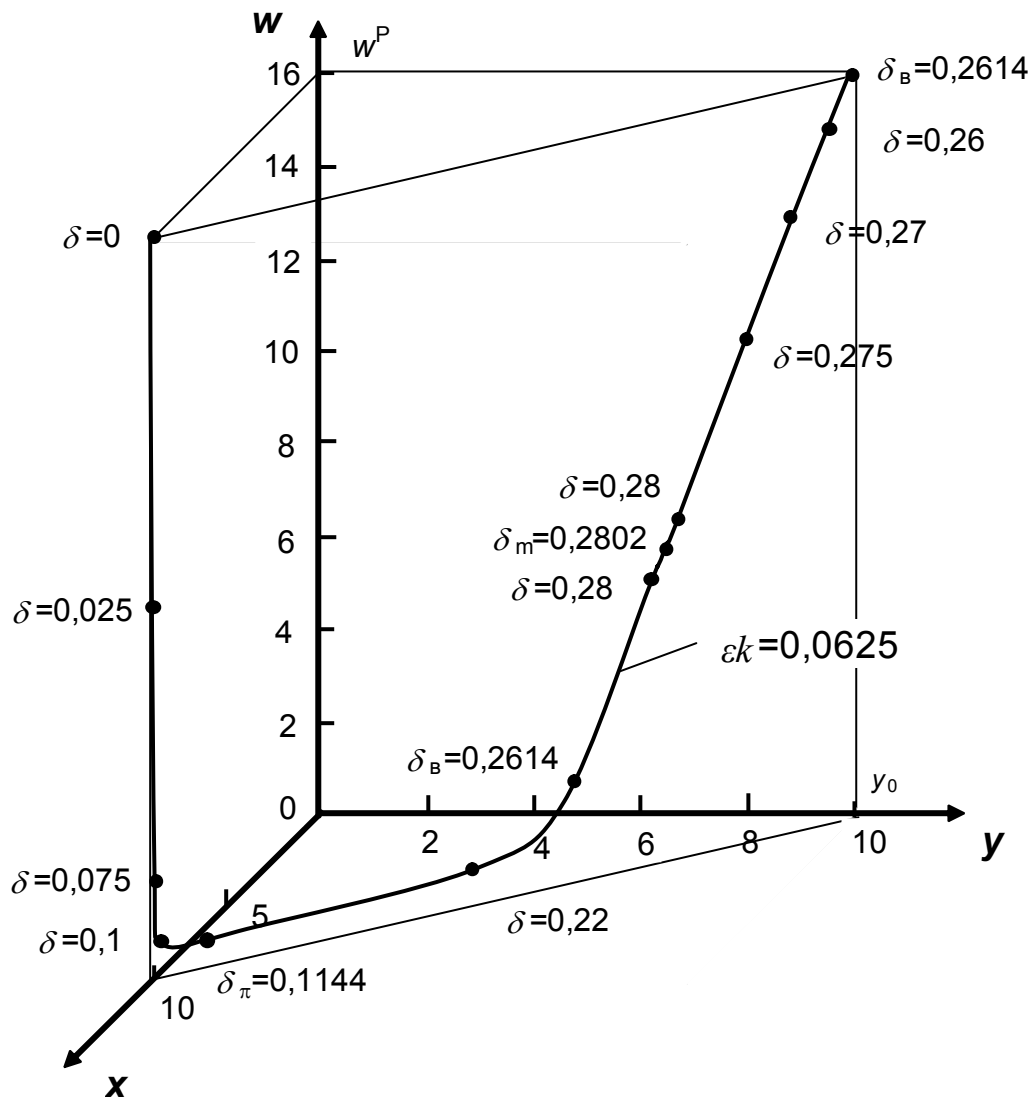


Рис. 4. Стационарные состояния процесса культивирования в пространстве (x, y, w) при $\varepsilon k=0,0625$, $y_0=10$, $w^p=16$, $\gamma=0,25$

субстрата y_0 .

Было установлено, что траектория стационарных состояний достигает минимума в условиях наибольшей продуктивности процесса (при $\delta_\pi=0,1144$). В этом случае концентрация биомассы имеет почти максимальное значение, а степень утилизации кислорода в культуральной среде максимальна. При бóльших скоростях δ наблюдается снижение количества образующейся биомассы и повышение концентраций субстрата и кислорода в ферментационной среде. Из рис. 4 видно, что при значениях δ , бóльших чем δ_B , процесс культивирования не прекращается, но остаточные концентрации субстрата и кислорода резко возрастают, а количество биомассы интенсивно снижается. Траектория стационарных состояний на участках в интервалах $\delta_B < \delta < \delta_m$ и $\delta_m < \delta < \delta_B$ представляет собой наклонную прямую. На этой прямой располагаются 2-е и 3-е стационарные состояния при соответствующих значениях скорости разбавления в диапазоне $\delta_B < \delta < \delta_m$. Это является характерной особенностью поведения системы, описываемой кинетикой Эндрюса–Моно.

Влияние управляющих воздействий на переменные состояния и продуктивность имеет тот же качественный характер, что и в случае кинетики Моно–

Моно.

Анализ устойчивости и расчет степени устойчивости режимов культивирования проводились в диапазонах скоростей $0 \leq \delta \leq \delta_b$ и $\delta_b \leq \delta \leq \delta_m$, в соответствии с последовательностью расчетов, изложенной во 2-й главе.

Корни характеристического уравнения для 1-го стационарного состояния равны: $\lambda_{11} = -\delta$, $\lambda_{21} = \delta_b - \delta$, $\lambda_{31} = -k$, а для 2-го и 3-го стационарных состояний определялись по зависимостям:

$$\lambda_{1i} = -\delta, \quad \lambda_{2i} = -0.5b + 0.5\sqrt{b^2 - 4c}, \quad \lambda_{3i} = -0.5b - 0.5\sqrt{b^2 - 4c}, \quad i = 2, 3$$

$$\text{где } b = \frac{\delta^0 x^0}{y^0} - \frac{\delta^0 x^0 (1 + 2\gamma)}{1 + y^0 + \gamma(y^0)^2} + \frac{1}{\varepsilon} \frac{\delta^0 x^0}{w^0 (1 + w^0)} + k,$$

$$c = \frac{1}{\varepsilon} \delta^0 \frac{\delta^0 x^0}{w^0 (1 + w^0)} + k \left[\frac{\delta^0 x^0}{y^0} - \frac{\delta^0 x^0 (1 + 2\gamma)}{1 + y^0 + \gamma(y^0)^2} \right]$$

Максимальная степень устойчивости ферментера в диапазоне $0 \leq \delta \leq \delta_m$ наблюдается при $\delta_\lambda = 0,21$ и определяется корнем $\lambda_{22} = \lambda^* = -0,1674$. В режиме максимальной продуктивности $\delta_\pi = 0,1144$ степень устойчивости ниже, она соответствует точке пересечения зависимостей $\lambda_{22} = f(\delta)$ и $\lambda_{12} = f(\delta)$. Отметим, что степень устойчивости процесса с кинетикой Эндрюса–Моно меньше, по сравнению с процессом при кинетике Моно – Моно.

Качественное расположение корней всех трех стационарных состояний в разных областях проведения процесса представлены на рис. 5. На рисунке показано, что в области $0 < \delta < \delta_b$ реализуются 1-е и 2-е стационарные состояния, в интервале $\delta_b < \delta < \delta_m$ наблюдаются все три состояния, а при $\delta \geq \delta_m$ осуществляется только 1-е стационарное состояние.

В первой области 2-е стационарное состояние представляет собой устойчивый узел в трехмерном пространстве состояний и при $\delta_\lambda = 0,21$ степень устойчивости процесса максимальна. Первое стационарное состояние неустойчиво и является седлом 1-го порядка.

Для второй области проведение процесса во 2-м стационарном состоянии характеризуется устойчивым режимом работы, но с меньшей степенью устойчивости, чем в первой области. Третье стационарное состояние – неустойчиво (седло 1-го порядка). Первое стационарное состояние – устойчивый узел. При постепенном повышении скорости разбавления образование биомассы продолжается до момента достижения δ бифуркационного значения $\delta_m = 0,2802$, когда происходит слияние 2-го и 3-го состояний и образование сложной особой точки “седло” – “узел”.

При больших скоростях δ – в третьей области, состояние “седло” – “узел” исчезает и происходит переход процесса в устойчивый режим вымывания клеток из биореактора. Уменьшение скорости разбавления от значения δ_m не приводит к образованию биомассы до тех пор пока δ не станет меньше δ_b , только тогда в аппарате устанавливается устойчивый режим образования биомассы.

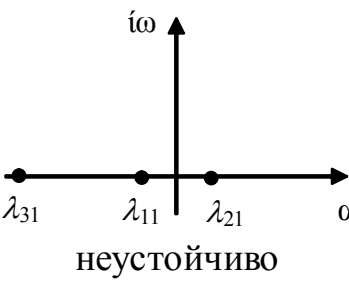
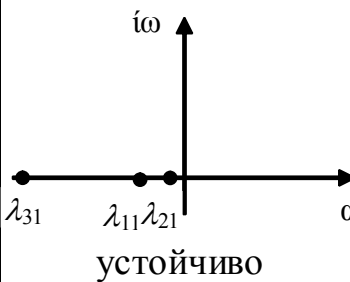
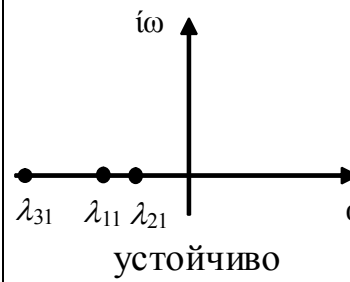
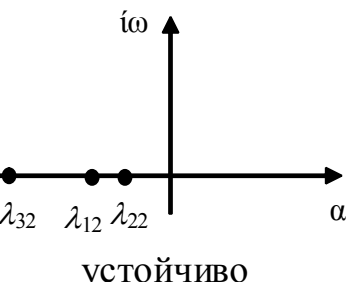

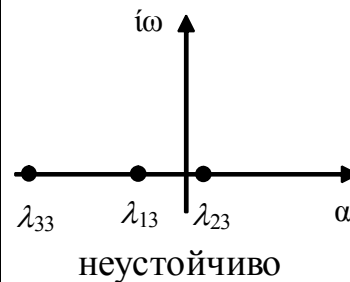
	1 – я область $0 < \delta < \delta_B$	2 – я область $\delta_B < \delta < \delta_m$	3 – я область $\delta \geq \delta_m$
1 – е стационарное состояние	 <p>неустойчиво</p>	 <p>устойчиво</p>	 <p>устойчиво</p>
2 – е стационарное состояние	 <p>устойчиво</p>	 <p>устойчиво</p>	Стационарное состояние отсутствует
3 – е стационарное состояние	Стационарное состояние не реализуется	 <p>неустойчиво</p>	Стационарное состояние отсутствует

Рис. 5. Качественное расположение корней характеристического уравнения в разных областях проведения процесса

Таким образом, в статике данный процесс обладает свойствами, характерными для релейного элемента с зоной нечувствительности $\delta_m - \delta_B$.

В ходе комплексного анализа статических и динамических характеристик процесса с кинетикой Эндрюса–Моно было установлено, что усложнение кинетической зависимости по сравнению с кинетикой Моно – Моно в целом приводит к снижению продуктивности π и степени устойчивости процесса.

В **главе 5** рассмотрены варианты проведения процесса культивирования в двухсекционном биореакторе при различных соотношениях объемов секций и при условии, что расход субстрата в секционном биореакторе равен расходу F в одиночном аппарате, а суммарный объем двухсекционной системы равен объему V одиночного аппарата.

Стационарные состояния в первой секции определяются из системы (4), записанной для одиночного биореактора. Математическая модель процесса во 2–й секции сводится к системе уравнений в безразмерном виде:

$$\frac{dx_2}{d\tau} = \delta_2 x_1 - \delta_2 x_2 + \frac{y_2}{1+y_2} \frac{w_2}{1+w_2} x_2, \quad (11)$$

$$\frac{dy_2}{d\tau} = +\delta_2 (y_1 - y_2) - \frac{y_2}{1+y_2} \frac{w_2}{1+w_2} x_2, \quad (12)$$

$$\varepsilon \frac{dw_2}{d\tau} = +\varepsilon k (w^p - w_2) - \frac{y_2}{1+y_2} \frac{w_2}{1+w_2} x_2. \quad (13)$$

Индексы при переменных и параметрах процесса указывают на порядковый номер секции.

Стационарные концентрации биомассы, субстрата и кислорода для 2-й секции рассчитываются по уравнениям:

$$\left. \begin{aligned} (x_2 - x_1)^3 - b(x_2 - x_1)^2 + c(x_2 - x_1) + d &= 0 \\ y_2 &= y_1 - (x_2 - x_1), \\ w_2 &= w^p - \frac{\delta_2}{\varepsilon k} (x_2 - x_1), \end{aligned} \right\} \quad (14)$$

где $b = \left\{ \left(y_0 - \frac{\delta_2}{1-\delta_2} \right) + \frac{\varepsilon k}{\delta_2} \left(w^p - \frac{\delta_2}{1-\delta_2} \right) - \frac{x_1}{1-\delta_2} \right\},$

$$c = \left\{ \frac{\varepsilon k}{\delta_2 (1-\delta_2)} [y_0 w^p - \delta_2 (1+y_0)(1+w^p)] - \frac{x_1}{1-\delta_2} \left(y_0 + \frac{\varepsilon k}{\delta_2} w^p \right) \right\},$$

$$d = \frac{\varepsilon k}{\delta_2 (1-\delta_2)} y_0 w^p x_1$$

Полагая в системе уравнений (14) концентрацию биомассы, поступающей из 1-й секции x_1 равной нулю, получим систему выражений (4), записанную для одиночного биореактора.

Продуктивность процесса по биомассе 2-й секции рассчитывается по уравнению

$$\pi_2 = \delta_2 (x_2 - x_1), \quad (15)$$

продуктивность процесса в двухсекционной системе определяется выражением

$$\pi_\Sigma = \delta x_2, \quad (16)$$

где δ – скорость разбавления, отнесенная к суммарному объему секционного аппарата.

Сравнение продуктивностей одиночного и секционного ферментеров проводили по зависимостям $\pi=f(\delta)$ и $\pi_\Sigma=f(\delta)$ построенным для следующих вариантов соотношений объемов секций: **1** – $V_1/V = 1/10$, $V_2/V = 9/10$; **2** –

$V_1/V=1/3, V_2/V=2/3$; **3** – $V_1/V=1/2, V_2/V=1/2$; **4** – $V_1/V=2/3, V_2/V=1/3$; **5** – $V_1/V=9/10, V_2/V=1/10$ (рис.6).

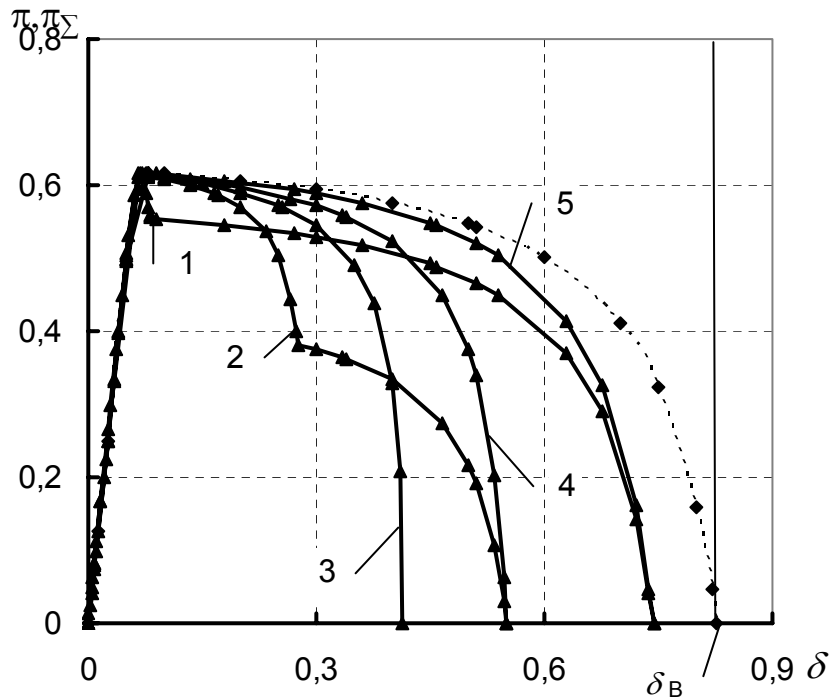


Рис.6. Зависимости продуктивности процесса π одиночного ферментера (штриховая линия) и продуктивности π_{Σ} для различных вариантов секционирования ферментера (сплошные линии) от скорости разбавления δ при $y_0=10, w^p=10$ и $\varepsilon k=0,0625$ (цифры на рисунке - №№ вариантов секционирования)

Определено, что продуктивность секционного биореактора равна продуктивности одиночного только в области невысоких скоростей разбавления. При проведении процесса в ферментере с секциями равных объемов (3–й вариант) возможное время пребывания культуральной жидкости, соответствующее режиму образования биомассы в биореакторе, наименьшее по сравнению с остальными вариантами. Во всех вариантах секционирования скорость вымывания δ_B принимает меньшие значения, что сокращает область режимов протекания процесса по сравнению с одноемкостным ферментером.

Расчет степени устойчивости стационарных состояний для всех вариантов секционирования показал, что секционный ферментер функционирует с тем большей степенью устойчивости, чем больше доля объема 1–й секции в суммарном объеме биореактора. При этом степень устойчивости всего секционного биореактора определяется степенью устойчивости процесса, протекающего в первой части аппарата. Было установлено, что с возрастанием объема первой секции, увеличивается интервал скоростей δ , в котором степень устойчивости секционного биореактора выше, чем степень устойчивости одиночного.

Таким образом, во всех вариантах продуктивность секционного аппарата ниже продуктивности одиночного, за исключением режимов при малых δ ,

когда эти показатели одинаковы. Степень устойчивости превышает показатели одиночного аппарата в условиях, когда объем первой секции биореактора существенно превосходит объем второй (варианты 4 и 5).

ОСНОВНЫЕ ВЫВОДЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ РАБОТЫ

1. На основе качественного исследования динамики непрерывного процесса культивирования, в котором рост аэробных микроорганизмов лимитируется субстратом и кислородом, установлено, что в диапазоне скоростей $0 < \delta < \delta_B$, режим образования биомассы устойчив. При скоростях превышающих скорость вымывания, реализуется устойчивое вымывание культуральной жидкости из биореактора.

2. Показано, что интенсификация массопередачи εk позволяет уменьшить рассогласование между режимами максимальной продуктивности по биомассе δ_π и максимальной степени устойчивости δ_λ . Определено, что при малых величинах εk рабочий режим следует выбирать между значениями δ_π и δ_λ с учетом весовых коэффициентов, определяемых методом экспертных оценок; в условиях высокой интенсивности перемешивания – исходя из условия получения максимальной продуктивности. Выявлено, что в исследуемом процессе интенсивность подвода кислорода к клеткам является более важным фактором, чем изменение концентрации субстрата в питательном потоке y_0 .

3. Определено, что область технологических режимов процесса, в которой соблюдаются ограничения $w/w^P \geq 0,2$, $\varepsilon k \leq 0,25$ и $y_0 \geq 2$, представляет собой односвязный многогранник, грани которого определяются значениями $\delta=0$, $\delta=\delta_B$, $y_0=2$, $y_0=10$, $\varepsilon k=0$ и $\varepsilon k=0,25$ и поверхностью $\varepsilon k=f(\delta, y_0)$, которой соответствует концентрация растворенного кислорода $w/w^P=0,2$. В пределах многогранника определены комбинации управлений, при использовании которых наблюдается различная продуктивность процесса.

4. На основе изучения статических и динамических характеристик процесса с ингибирующим влиянием субстрата выявлено, что режимы максимальной продуктивности δ_π и максимальной степени устойчивости δ_λ находятся в области $0 < \delta < \delta_B$, а в области $\delta_B < \delta < \delta_m$ продуктивность и степень устойчивости принимают меньшие значения; в качестве рабочих рекомендуется выбирать режимы в области скоростей разбавления $0 < \delta < \delta_B$. Показано, что система в статике обладает свойствами релейного элемента с зоной нечувствительности, равной $\delta_m - \delta_B$.

5. Установлено, что в условиях ингибирования процесса субстратом продуктивность и степень устойчивости ниже, чем в условиях лимитирования роста субстратом и кислородом.

6. Определено, что продуктивность двухсекционного аппарата равна продуктивности одиночного только при длительном времени пребывания культуральной жидкости в биореакторе. Показано, что с ростом объема первой секции ферментера возрастает диапазон скоростей разбавления, в котором степень устойчивости секционного ферментера выше, чем одиночного.

По материалам диссертации опубликованы следующие работы

1. Лапшенков Г.И., Зиновкина Т.В., Харитонов Л.Ю. Влияние массообмена на культивирование аэробных микроорганизмов// Тепло- и массообмен в химической технологии (ТМОХТ – 2000). – Всероссийская научная конференция: Тезисы докладов. – Казань: Изд-во КазГТУ, 2000. – с. 96 – 97.
2. Лапшенков Г.И., Зиновкина Т.В., Харитонов Л.Ю. Проблема выбора управлений процессом культивирования аэробных микроорганизмов при ограничении на технологические переменные// Теоретические и экспериментальные основы создания новых высокоэффективных химико-технологических процессов и оборудования: Сборник трудов V-й международной научной конференции. – Иваново: ГП “Изд-во Иваново”, 2001. – с. 301 – 302.
3. Лапшенков Г.И., Зиновкина Т.В., Харитонов Л.Ю. Выбор режима работы установки культивирования аэробных микроорганизмов при ограничениях на переменные состояния и управления//Современные проблемы органической химии, экологии и биотехнологии: Материалы I-й международной научной конференции. – т.3 “Биотехнология”, Луга: Изд-во Крестьян. ГУ им. Кирилла и Мефодия, 2001. – с. 62 – 63.
4. Лапшенков Г.И., Зиновкина Т.В., Харитонов Л.Ю. Массообмен как управляющий фактор процесса культивирования аэробных микроорганизмов// Теория и практика массообменных процессов химической технологии (Марушкинские чтения): Материалы II-й Международной научной конференции. – Уфа: Изд-во УГНТУ, 2001. – с. 182 – 183.
5. Харитонов Л.Ю., Лапшенков Г.И., Зиновкина Т.В. Процесс культивирования аэробных микроорганизмов как динамическая система//VII международная научно-техническая конференция “Наукоемкие химические технологии” – 2-я школа молодых ученых: Тезисы докладов. – Ярославль: Изд-во ЯГТУ, 2001. – с. 99 – 101.
6. Харитонов Л.Ю., Лапшенков Г.И., Зиновкина Т.В. Поведение управляемого ферментатора при ограничениях в фазовом пространстве// Математические методы в технике и технологиях: Сборник трудов XV-й международной научной конференции (ММТТ –15), т.3. – Тамбов: Изд-во ТГТУ, 2002. – с. 26 – 28.
7. Lapshenkov G., Zinovkina T., Kharitonova L. The cultivation of aerobic microorganisms as dynamic system//Process control – 2002: Theses of report the 5th JSTC. – Pardubice: University of Pardubice, 2002 – p. 250.
8. Лапшенков Г.И., Зиновкина Т.В., Харитонов Л.Ю. Влияние кинетики процесса культивирования аэробных микроорганизмов на степень устойчивости// Наукоемкие химические технологии–2002: Материалы VIII-й международной научно-технической конференции по проблемам наукоемких химических технологий. – Уфа: Изд-во Реактив, 2002. – с. 48 – 50.

9. Харитонов Л.Ю., Лапшенков Г.И., Зиновкина Т.В. Чувствительность информационных каналов проточного биореактора/ МГАТХТ. – М., 2002. – 31 с. – Деп. в ВИНТИ 14.11.2002, № 1974 – В 2002.
10. Лапшенков Г.И., Зиновкина Т.В., Харитонов Л.Ю. Выбор режима культивирования аэробных микроорганизмов с учетом степени устойчивости процесса //Биотехнология. – №6, 2002.– с 70 – 76.
11. Харитонов Л.Ю., Лапшенков Г.И., Зиновкина Т.В. Степень устойчивости культивирования аэробных микроорганизмов при ингибировании субстратом//Ученые записки МИТХТ, выпуск 7, апрель 2003.– с 74 – 77.