

Э. М. АКОПЯН, В. Я. БАБКИН, А. Е. ЕРШОВ, О. Б. КОМАРОВ

## УСТРОЙСТВО НЕПРЕРЫВНОГО ИЗМЕРЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ПАРАФИНОВ ПРИ ФЕРМЕНТАЦИИ ДРОЖЖЕЙ

Разработан прибор для автоматического экспрессного анализа концентраций парафинов в культуральной среде при ферментации дрожжей рода *Candida*. Прибор, состоящий из 2 основных узлов—электронно-оптического датчика и блока электронной обработки информации—осуществляет непрерывную индикацию и автоматическую регистрацию значений концентраций как биомассы дрожжей, так и парафинов.

Одним из наиболее перспективных видов питательных сред, используемых для ферментации микроорганизмов, являются среды, в которых источником углерода служат предельные углеводороды, или парафины нефти [2]. Однако до настоящего времени приборы для автоматического экспрессного анализа концентрации парафинов в культуральной среде не были разработаны. На наш взгляд, такой прибор должен обеспечивать линейное соответствие выходных сигналов текущим значениям концентрации парафинов и осуществлять непрерывную индикацию и автоматическую регистрацию этих значений. Это позволит удовлетворить запросы исследователей, занимающихся изучением динамики изменения питательного субстрата в процессе непрерывной ферментации, поскольку при этом обеспечиваются удобство считывания информации, объективность получаемых данных и возможность последующего анализа. Представляется также целесообразным предусмотреть в таком приборе возможность сочленения с цифровыми вычислительными устройствами, что позволит использовать его в качестве составной части системы автоматического регулирования процесса ферментации.

Исходя из вышеизложенного, нами разработан прибор измерения концентрации парафинов в культуральной среде при ферментации дрожжей рода *Candida*. В приборе используется известный эффект характеристического поглощения света дрожжевой суспензией в области 416 мкм, обусловленный определенным видом ферментов (цитохромами с), концентрация которых прямо пропорциональна концентрации биомассы. В то же время известно, что в области 700—800 мкм дрожжи и мелкодисперсный парафин обладают одинаковой светорассеивающей способностью [1].

Разработанный нами прибор состоит из двух основных узлов: электронно-оптического датчика и блока электронной обработки получаемой информации (рис.).



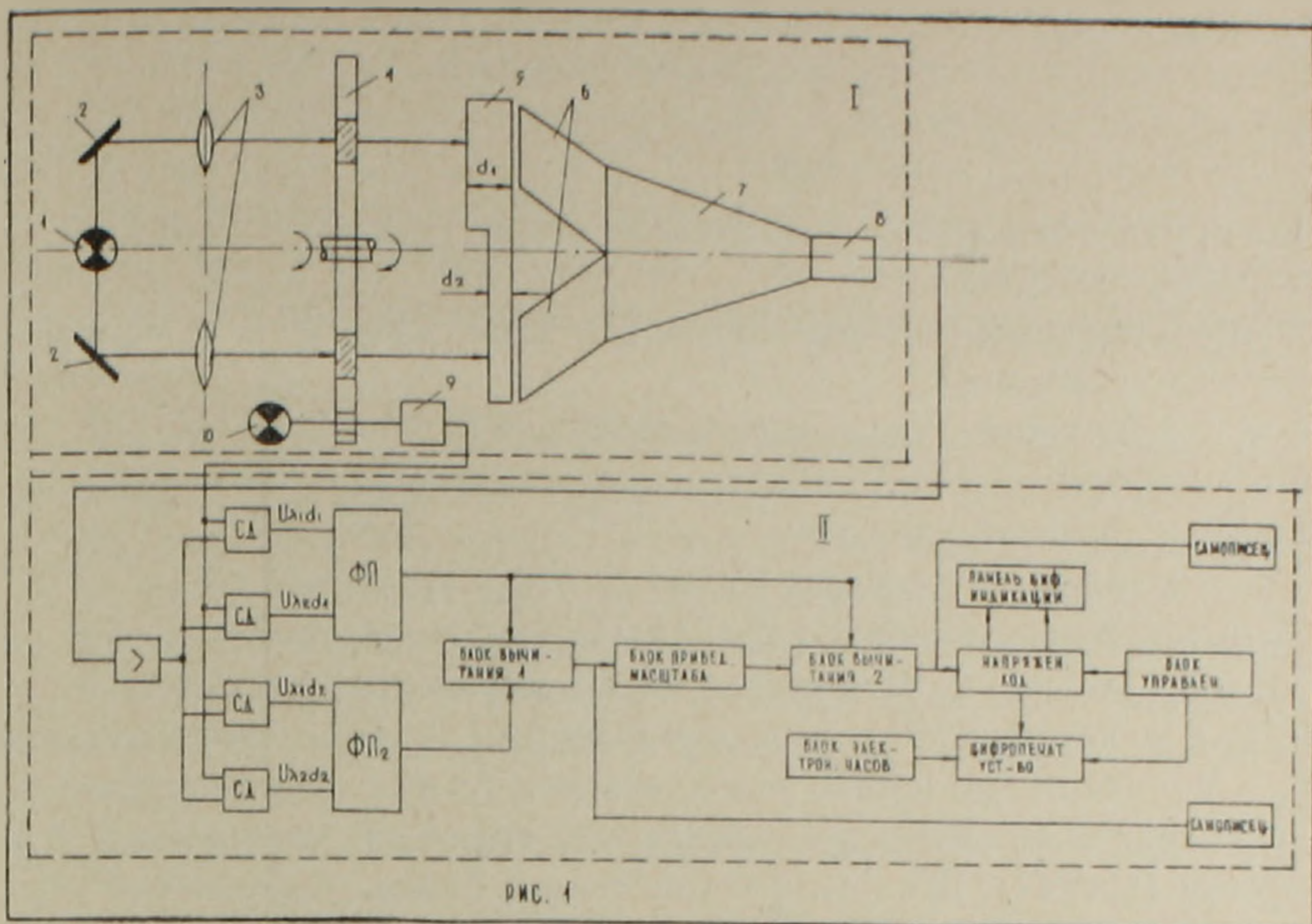


РИС. 1

Блок-схема прибора измерения концентрации биомассы дрожжей и парафинов (I—электронно-оптический датчик; II—электронный блок обработки сигнала).

Электронно-оптический датчик выполнен по схеме четырехканального двухлучевого фотометра (рис. 1), что позволяет исключить влияния нестабильности источника света и коэффициента передачи фотоприемника. Свет от источника (1) с помощью зеркал (2) и объектов (3) формируется в два параллельных пучка. На пути световых пучков установлены модулятор (4) с двумя интерференционными светофильтрами для выделения узких спектральных участков  $\lambda_1 = 416$  мкм,  $\lambda_2 = 750$  мкм и двухтолщинная проточная кювета (5 и 5'). Сведение параллельных световых пучков на фотокатод фотоэлектронного умножителя (ФЭУ) (8) производится с помощью двух ромбических призм (6) и зеркального усеченного конуса (7). Для уменьшения потерь рассеянного света боковые грани ромбических призм покрыты отражающим слоем.

При вращении модулятора на выходе ФЭУ последовательно чередуются 4 сигнала, которые соответствуют прохождению световых пучков с длинами волн  $\lambda_1$  и  $\lambda_2$  через проточную кювету с толщинами  $d_1$  и  $d_2$ . Следует отметить, что применение двухтолщинной кюветы связано с необходимостью исключения влияния нестабильности источника света, коэффициента передачи ФЭУ и зарастания кюветы на точность измерений.

Сигналы на выходе ФЭУ при  $\lambda_1 = 416$  мкм и  $\lambda_2 = 750$  мкм для толщины кюветы  $d_1$  будут равны

$$u_1 = k_1 \Phi_1 e^{-[(\alpha + \tau_1) \rho_1 + \sigma_2 \rho_2] d_1} \quad (1)$$

$$u_2 = k_2 \Phi_2 e^{-\sigma_2 (\rho_1 + \rho_2) d_1} \quad (2)$$



а при толщине  $d_2$

$$u_1' = k_1 \Phi_1 e^{-[(\alpha + \tau_1) \rho_1 + \sigma_2 \rho_2] d_2} \quad (3)$$

$$u_2' = k_2 \Phi_2 e^{-\sigma_2 (\rho_1 + \rho_2) d_2} \quad (4)$$

где  $u_1$  и  $u_2$  — выходные сигналы при  $d_1$  для длин волн  $\lambda_1$  и  $\lambda_2$  соответственно;

$u_1'$  и  $u_2'$  — выходные сигналы при  $d_2$  для длин волн  $\lambda_1$  и  $\lambda_2$  соответственно;

$\sigma_1$  — коэффициент рассеяния клеток для  $\lambda_1$ ;

$\sigma_2$  — коэффициент рассеяния мелкодисперсного парафина для  $\lambda_1$  и  $\lambda_2$  и клеток дрожжей для  $\lambda_2$ ;

$\alpha$  — коэффициент поглощения клеток для  $\lambda_1$ ;

$\rho_2$  и  $\rho_1$  — концентрация парафинов и клеток соответственно;

$d_1$  и  $d_2$  — толщина слоя суспензии в измерительной кювете;

$k_1$  и  $k_2$  — коэффициенты передачи ФЭУ для  $\lambda_1$  и  $\lambda_2$  соответственно;

$\Phi_1$  и  $\Phi_2$  — световые потоки источника для  $\lambda_1$  и  $\lambda_2$  соответственно.

С выхода ФЭУ усиленные сигналы поступают в электронный блок обработки (рис. 11). Входными устройствами блока электронной обработки являются синхронные детекторы (СД), позволяющие произвести разделение сигналов по признакам  $\lambda_1$  и  $d$ . Управление СД осуществляется синхрои́мпульсами, сформированными в узле синхронизации датчика, который содержит 4 фотодиода (9) и лампу подсветки (10). На выходе СД имеем 4 сигнала, амплитуда которых пропорциональна световым потокам соответствующих каналов электронно-оптического датчика:

$$U_{\lambda_1, d_1} = AU_1 \quad (5)$$

$$U_{\lambda_2, d_1} = AU_2 \quad (6)$$

$$U_{\lambda_1, d_2} = AU_1' \quad (7)$$

$$U_{\lambda_2, d_2} = AU_2' \quad (8)$$

где  $A$  — коэффициент передачи усилителя.

Сигналы с выходов СД, попарно объединяясь по признаку  $\lambda$ , поступают на «время—импульсные» функциональные преобразователи (ФП<sub>1</sub> и ФП<sub>2</sub>), осуществляющие функцию вида

$$U_{\text{вых}} = \ln \frac{U_{\text{вх } 1}}{U_{\text{вх } 2}} \quad (9)$$

На выходах ФП<sub>1</sub> и ФП<sub>2</sub> устанавливаются напряжения:

$$U_{\text{ФП}_1} = B \ln \frac{AU_1'}{AU_1} = B \ln \frac{AK_1 \Phi_1 e^{-[(\alpha + \tau_1) \rho_1 + \sigma_2 \rho_2] d_2}}{AK_1 \Phi_1 e^{-[(\alpha + \tau_1) \rho_1 + \sigma_2 \rho_2] d_1}} = B [(\alpha + \sigma_1) \rho_1 + \sigma_2 \rho_2] (d_2 - d_1) \quad (10)$$

$$U_{\text{ФП}_2} = B \ln \frac{AU_2'}{AU_2} = B \ln \frac{AK_2 \Phi_2 e^{-\sigma_2 (\rho_1 + \rho_2) d_2}}{AK_2 \Phi_2 e^{-\sigma_2 (\rho_1 + \rho_2) d_1}} = B \sigma_2 (\rho_1 + \rho_2) (d_1 - d_2) \quad (11)$$

где  $B$  — коэффициент преобразования ФП.



Выражения (10) и (11) образуют систему уравнений с двумя неизвестными ( $\rho_1$  и  $\rho_2$ ). Важным обстоятельством является то, что в систему уравнений не входят такие нестабильные величины, как  $K$ ,  $A$  и  $\Phi$ , т. е. влияние источников нестабильности, о которых шла речь выше, исключено.

Чтобы решить полученную систему уравнений относительно  $\rho_1$ , необходимо произвести операцию вычитания. Эта операция производится с помощью «Блока вычитания 1», выполненного по схеме балансного усилителя:

$$U_{\text{Бл. выч. 1}} = U_{\text{ФП}_1} - U_{\text{ФП}_2} = B (\alpha + \sigma_1 - \sigma_2) \rho_1 (d_1 - d_2) = L \rho_1, \quad (12)$$

где  $L = B (\alpha + \sigma_1 - \sigma_2) (d_1 - d_2) = \text{const}$ .

Из уравнения (12) следует, что сигнал на выходе «Блока вычитания 1» прямо пропорционален концентрации биомассы.

Таким образом, хотя основной целью создания прибора является измерение концентрации парафинов в культуральной среде, в данном приборе попутно решается и задача измерения концентрации биомассы дрожжей.

Зная теперь концентрацию биомассы, легко найти также и концентрацию парафинов, т. е. величину  $\rho_2$ , подставляя значение  $\rho_1 = \frac{U_{\text{Бл. выч. 1}}}{L}$

в выражение (11):

$$U_{\text{ФП}_2} = B \left( \frac{U_{\text{Бл. выч. 1}}}{L} + \rho_2 \right) (d_1 - d_2) \sigma_2. \quad (13)$$

Обозначим  $B (d_1 - d_2) \sigma_2 = \mu = \text{const}$ , тогда  $U_{\text{ФП}_2} = \left( \frac{U_{\text{Бл. выч. 1}}}{L} + \rho_2 \right) \mu$

$$\mu \rho_2 = U_{\text{ФП}_2} - \frac{U_{\text{Бл. выч. 1}}}{L} \mu. \quad (14)$$

Значение  $\frac{U_{\text{Бл. выч. 1}}}{L} \mu$  получается с помощью делителя напряжения, расположенного в «Блоке приведения масштаба».

Величина  $\mu \rho_2$  находится с помощью «Блока вычитания 2», на входы которого поступают выходные сигналы с функционального преобразователя ФП2 и «Блока приведения масштаба»:

$$U_{\text{Бл. выч. 2}} = \mu \rho_2. \quad (15)$$

Сигнал на выходе «Блока вычитания 2», таким образом, прямо пропорционален концентрации парафинов.

К выходам «Блока вычитания 1 и 2» подключены самописцы, с помощью которых осуществляется непрерывная регистрация концентрации биомассы дрожжей и парафинов. Для удобства считывания информации в прибор введено также устройство цифровой индикации и регистрации текущих значений концентраций. Оно содержит преобразователи «Напряжение-код», панель цифровой индикации и «Цифропечатающее устройство».



Цифровая индикация осуществляется непрерывно, а запуск печатающего устройства происходит только в моменты смены кода в счетчиках цифровых преобразователей, т. е. при изменении регистрируемых значений концентраций биомассы дрожжей и парафинов. Сигнал запуска поступает через «Блок управления». Одновременно с концентрацией регистрируется также и время, сигналы которого считываются из «Блока электронных часов».

Цифровые выходы преобразователей, помимо целей индикации и регистрации текущих значений концентрации, легко могут быть использованы для подключения к вычислительным устройствам. Это позволит в перспективе использовать прибор в качестве составной части системы автоматического регулирования процессов ферментации.

В заключение отметим, что разработанный нами прибор может быть использован не только при работе с дрожжами, но и при культивировании других микроорганизмов. В этом случае необходимо лишь подобрать соответствующие интерференционные светофильтры.

Всесоюзный научно-исследовательский  
биотехнический институт, г. Москва

Поступило 26.IV 1973 г.

Է. Մ. ՀԱՎՈՐՅԱՆ, Վ. Յա. ԲԱԲԿԻՆ, Ա. Ն. ԵՐՇՈՎ, Օ. Բ. ԿՈՄԱՐՈՎ

ԽՄՈՐԱՍՆԿԻ ՖԵՐՄԵՆՏԱՑԻԱՅԻ ԺԱՄԱՆԱԿ ՕԳՏԱԳՈՐԾՎՈՂ ՊԱՐԱՖԻՆԻ  
ԿՈՆՑԵՆՏՐԱՑԻԱՅԻ ԱՆՐՆԴՄԵՋ ՉԱՓՄԱՆ ՍԱՐՔԱՎՈՐՈՒՄ

### Ա մ փ ո փ ու լ մ

Մշակվել է *Candida* ցեղի խմորասնկի ֆերմենտացիայի ժամանակ օգտագործվող կուլտուրայի միջավայրում պարաֆինի կոնցենտրացիայի ավտոմատ էքսպրես-անալիզի համար սարքավորում: Այն բաղկացած է երկու հիմնական հանդույցներից՝ էլեկտրոնա-օպտիկական հայտնիչից և ստացվող ինֆորմացիայի մշակման էլեկտրոնային բլոկից: Սարքավորումն իրականացնում է ինչպես խմորասնկի կենսադանդվածի, այնպես էլ պարաֆինի կոնցենտրացիաների անընդմեջ ինդիկացիա և ավտոմատ գրանցում:

Էլեկտրոնա-օպտիկական հայտնիչը իրագործված է շորս կանալային երկճառագայթային լուսաշափի սխեմայով, որը և թույլ է տալիս անտեսել լույսի աղբյուրի և ֆոտոբազմապատկիչի հաղորդման գործակցի ներդրածությունները չափումների արդյունքների վրա:

Ֆոտոբազմապատկիչի ելքից ստացված ազդանշանները, ուժեղացումից հետո, մուտք են գործում ինֆորմացիայի մշակման էլեկտրոնային բլոկը: Այդ բլոկը իրագործում է որոշակի մաթեմատիկական գործողություններ: Ապագայում հաշվիչ-դեկավարման սխեմայի հետ միակցվելու դեպքում, մշակված սարքավորումը կարելի է օգտագործել միկրոօրգանիզմների ֆերմենտացիայի պրոցեսի ավտոմատ կարգավորման համար:

### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Брагин Г. Я., Карабегов М. А., Кантере В. М. Микробиологический синтез, 7, 30, 1969.
2. Парнес Я. А. Микробиологическая промышленность, 1, 10, 1971.