

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 вышесказанного, 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.).

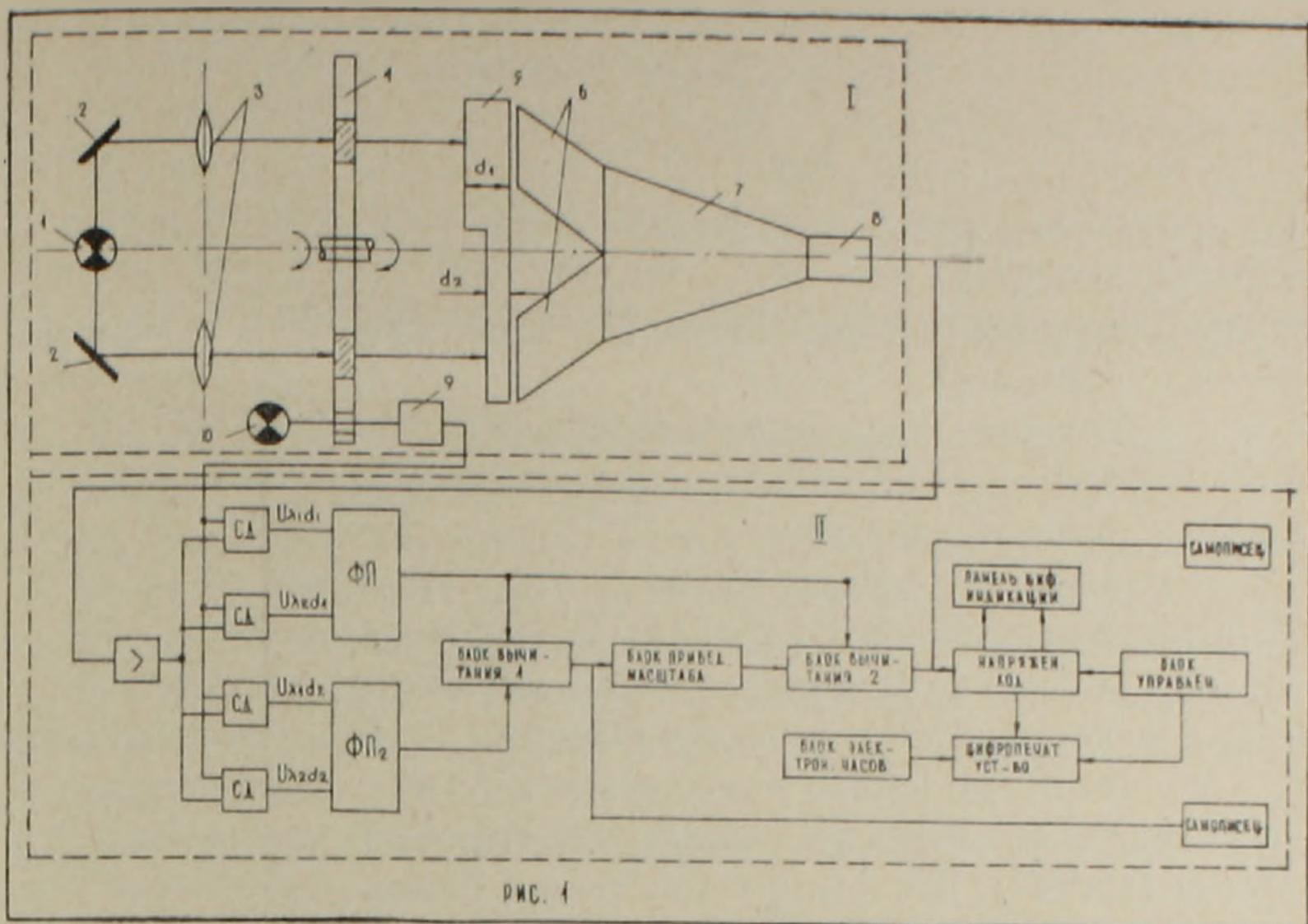


РИС. 1

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 λ_1 и λ_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

$$u_1' = k_1 \Phi_1 e^{-[(\alpha + \sigma_1) \rho_1 + \sigma_2 \rho_2] d_2} \quad (3)$$

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

где u_1 и u_2 — выходные сигналы при d_1 для длин волн λ_1 и λ_2 соответственно;

u_1' и u_2' — выходные сигналы при d_2 для длин волн λ_1 и λ_2 соответственно;

σ_1 — коэффициент рассеяния клеток для λ_1 ;

σ_2 — коэффициент рассеяния мелкодисперсного парафина для λ_1 и λ_2 и клеток дрожжей для λ_2 ;

α — коэффициент поглощения клеток для λ_1 ;

ρ_2 и ρ_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 λ_1 и λ_2 соответственно;

Φ_1 и Φ_2 — световые потоки источника для λ_1 и λ_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 λ_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 λ , поступают на «время—импульсные» функциональные преобразователи (ФП₁ и ФП₂), осуществляющие функцию вида

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

На выходах ФП₁ и ФП₂ устанавливаются напряжения:

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

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

где B — коэффициент преобразования ФП.

Выражения (10) и (11) образуют систему уравнений с двумя неизвестными (ρ_1 и ρ_2). Важным обстоятельством является то, что в систему уравнений не входят такие нестабильные величины, как K , A и Φ , т. е. влияние источников нестабильности, о которых шла речь выше, исключено.

Чтобы решить полученную систему уравнений относительно ρ_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 ρ_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 ո 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 կանաչային 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.