

ПРИБОРЫ И АППАРАТЫ ДЛЯ КОНТРОЛЯ ЗА ПРОЦЕССАМИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

ПРИБОР ДЛЯ УПРАВЛЯЕМОГО ПРОТОЧНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВОДОРΟΣЛЕЙ С АВТОМАТИЧЕСКИМ ИЗМЕРЕНИЕМ, РЕГИСТРАЦИЕЙ И РЕГУЛИРОВАНИЕМ ПЛОТНОСТИ СУСПЕНЗИИ

Л. Н. ЦОГЛИН, В. Е. СЕМЕНЕНКО, Ф. М. БОЧАЧЕР,
Ю. Н. ФИЛИПОВСКИЙ

Обязательным условием длительного высокоинтенсивного культивирования микроводорослей является стабилизация плотности суспензии в реакторах с непрерывным отбором прорастающих клеток и подачей питательной среды.

Как известно, существуют два способа организации непрерывного проточного культивирования микроорганизмов. Один заключается в непрерывной равномерной подаче питательного раствора в реактор, а число клеток в единице объема при этом зависит от интенсивности размножения клеток и скорости их роста (так называемый хемостатный принцип) [1—3]. Во втором — число клеток в реакторе стабилизируется принудительно, а скорость протока зависит от факторов роста (турбидистатный принцип) [2, 4—6].

Ранее было отмечено [7], что при культивировании фотоавтотрофных организмов, для которых, в отличие от гетеротрофных, существенным является стабильное обеспечение клеток лучистой энергией, более применим турбидистатный принцип, основанный на стабилизации оптической плотности суспензии.

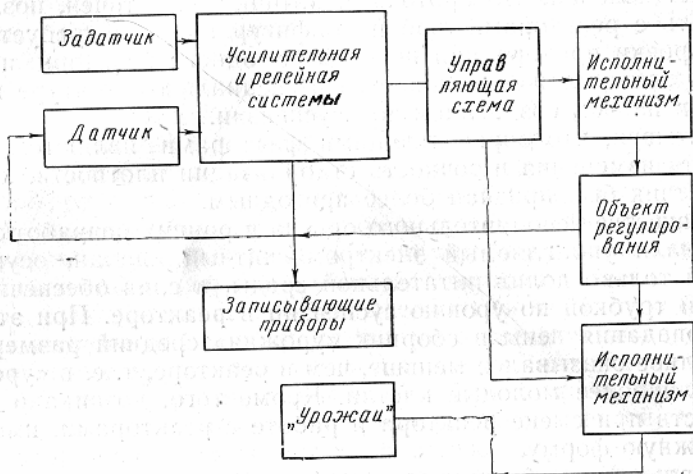
Осуществление турбидистатного культивирования не возможно без соответствующей автоматически действующей аппаратуры.

В 1944 г. Майерс и Кларк [8] разработали установку для проточного культивирования хлореллы с автоматической стабилизацией оптической плотности. Плотность суспензии в камере не превышала 50—100 млн. клеток в 1 см^3 .

В настоящее время требуются приборы, способные работать в широком диапазоне плотностей, вплоть до нескольких милли-

ардов клеток в 1 см^3 . Все известные до сих пор приборы находятся в стадии разработки, носят характер сугубо лабораторных установок и не дают возможности производить непрерывную запись роста культуры от засева до конечной стадии развития [9].

Ниже дается описание лабораторного прибора и опытно-промышленного образца, выполненного на его основе с учетом многолетней практики проточного культивирования хлореллы, и приводятся некоторые соображения по выбору отдельных звеньев системы.



Сигнал с датчика плотности поступает на усилительную и релейную схемы. При превышении культурой заданной плотности включается управляющая схема — реле времени, имеющее две регулируемые выдержки. Первая выдержка, в течение которой происходит разбавление суспензии дозирующим устройством, регулируется от 3 до 20 сек., во время второй (от 1 до 7 мин.) происходит перемешивание долитой порции свежей питательной среды. Цикл повторяется до тех пор, пока плотность суспензии в реактиве не вернется к заданному значению.

Замер плотности суспензии в реакторе производится непрерывно оптическим датчиком. Измеряемая величина сопоставляется с заданной, в результате чего вырабатывается сигнал управления исполнительным органом. Использование оптических характеристик суспензии в качестве первичной измеряемой величины обусловлено отсутствием влияния процесса измерения на рост и другие характеристики суспензии и удобством преобразования измеряемой величины в электрический сигнал, пригодный для регистрации и регулирования.

В качестве чувствительного элемента выбраны фотоспротивления ФС-К1, одно из которых является рабочим, а второе — компенсационным, служащим для уменьшения временной и температурной нестабильности рабочего фотоспротивления. Фотоспротивления предварительно подвергаются искусственному старению, что обеспечивает стабильность их работы в течение длительного времени.

В различных экспериментах применяли проточные (с прокачкой суспензии) и непроточные (устанавливаемые непосредственно на реакторе) датчики.

Опыт показал, что проточный датчик более точен, позволяет работать с реакторами любой конфигурации, не требует переградуировки прибора при переходе с одного реактора на другой, но более сложен, нуждается в специальном контуре циркуляции и насосе, создающем ток суспензии.

Учитывая, что определяющими факторами являются достоверность измерения и точность стабилизации плотности, проточный датчик был признан более пригодным.

В качестве исполнительного органа в ранних разработках использовали управляемый электромагнитный клапан, осуществлявший только долив питательной среды, а слив обеспечивался сливной трубкой по уровню суспензии в реакторе. При этом за счет попадания пены в сборник «урожая» средний размер клеток в сливе оказывался меньше, чем в реакторе, т. е. в «урожай» попадали более молодые клетки. Кроме того, возникало много неудобств при смене реактора и работе с реакторами, имеющими сложную форму.

В дальнейшем были применены дозирующие устройства, позволяющие в принудительном порядке производить одновременный отбор «урожая» и долив питательной среды в равном объеме. Заборную трубку дозатора можно располагать в средних или нижних слоях реактора и тем самым избегать слива мелких, более молодых клеток. С дозирующим устройством удобнее осуществлять цикличность разбавления, причем длительность цикла и интервалы включения можно регулировать в зависимости от скорости роста культуры, объема культиватора, длины соединительных коммуникаций и других факторов, добиваясь максимальной точности работы аппаратуры.

Используя указанный выше метод, был разработан и изготовлен опытно-промышленный автоматический действующий вариант установки для непрерывного измерения и стабилизации числа клеток суспензии на заданном уровне и регистрации роста культуры.

Установка позволяет производить запись кривой роста культуры от 0 до $3 \cdot 10^9$ клеток в $см^3$. Диапазон разбит на две части, и прибор соответственно имеет две шкалы от 0 до 10^9 и от 10^9 до $3 \cdot 10^9$ клеток в $см^3$. Обе шкалы имеют растяжку до 50% от верх-

него значения, что делает возможным непосредственное использование шкал при работе с любыми штаммами. Внешний вид прибора и обслуживающих устройств показан на рис. 1.

На рис. 2а изображена блок-схема прибора. Изменение оптических свойств суспензии, обусловленное соответствующим изменением числа клеток, разбалансирует входную мостовую схему, два плеча которой вынесены в датчик. Нарушение равновесия мостовой схемы создает на входе нуля-усилителя сигнал, который после усиления воздействует на серводвигатель, заставляя его балансировать схему, перемещая контакт реохорда, и одновременно перемещать каретку со стрелкой и пером относительно шкалы и диаграммы. При восстановленном равновесии сигнал на входе меньше порога чувствительности нуля-усилителя, и двигатель не вращается. Таким образом, в процессе роста культуры от засева до заданной плотности установка работает как показывающий и регистрирующий прибор.

Когда измеряемая плотность достигает заданной величины, срабатывает пусковое устройство, включающее схему управления. Схема управления, как и в предыдущем случае, являющаяся сочетанием двух электронных реле времени, периодически и с определенной выдержкой включает исполнительные органы. Период (цикл) и длительность выдержки (интервал) устанавливаются заранее или подбираются в процессе эксперимента.

При снижении плотности ниже заданной, вследствие разбавления суспензии средой, равновесие входной схемы вновь нарушается, возникает сигнал с противоположной фазой, что приводит к вращению двигателя в обратную сторону, размыканию контактов пускового устройства и, следовательно, прекращению процесса разбавления. Амплитуда колебаний плотности при регулировании относительно заданного уровня, подбором временных параметров разбавления, может быть доведена до 1,5—2%.

Преобразование изменения числа клеток суспензии в пропорциональное ему изменение отношения электрических сопротивлений производится по оптической схеме, представленной на рис. 3, б. Световой поток от тела накала лампы, пройдя конденсор и светофильтр, расщепляется при помощи светоделителя и зеркала на два параллельных пучка. После диафрагмирования пучки света попадают в проточную кювету, состоящую из рабочей и сравнительной ячеек, и, испытыв поглощение и рассеяние в протекающей через кювету суспензии, поступают в фотоприемники.

Особенность проточной кюветы заключается в наличии потока через сравнительную ячейку, что сделано для снижения погрешности при зарастании стекол кюветы солями и культурой. Рабочая и сравнительная ячейки по току суспензии включены параллельно. Для обеспечения необходимой чувствительности датчика толщина слоя суспензии в сравнительной ячейке

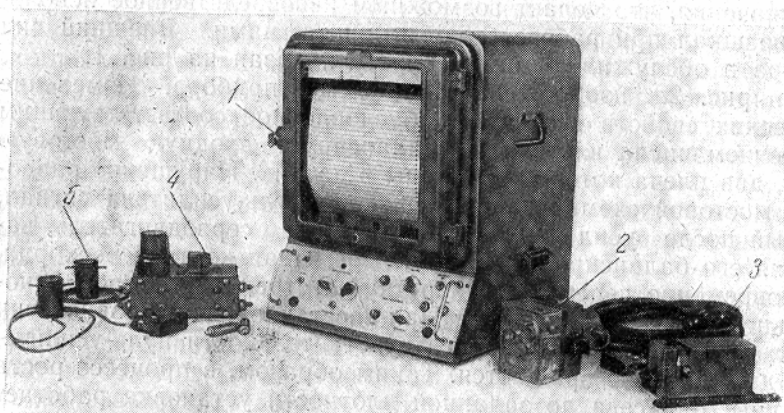
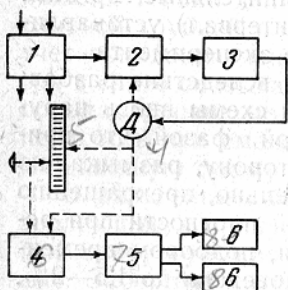


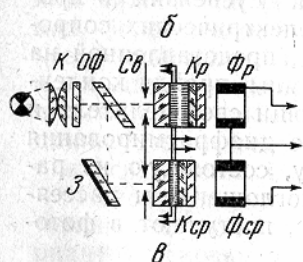
Рис. 1. Общий вид прибора РПС для управляемого проточного культивирования водорослей

1 — электронный блок и регистрирующий прибор; 2 — циркуляционный насос; 3 — проточный датчик; 4 — дозирующее устройство; 5 — электромагнитный клапан

а



б



в

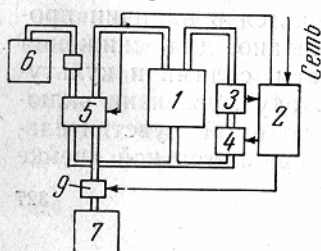


Рис. 3. Принципиальные схемы основных узлов прибора РПС

а — блок-схема прибора: 1 — датчик, 2 — входная схема, 3 — нуль-усилитель, 4 — задатчик и пусковое устройство, 5 — схема управления, 6 — исполнительные органы (управляемый электромагнитный клапан и дозирующее устройство), Д — реверсивный двигатель;

б — оптическая схема датчика: К — конденсор, ОФ — оптический фильтр, Св — светоделительная пластина, З — зеркало, Кр, Ксп — проточные кюветы (рабочая и сравнительная), Фр и Фсп — фотосопротивления (рабочее и сравнительное);

в — функциональная гидравлическая схема прибора: 1 — реактор; 2 — электронный блок, 3 — датчик плотности; 4 — циркуляционный насос, 5 — дозатор, 6 — бак для урожая, 7 — бак для питательной среды, 8 — управляемый электромагнитный клапан, 9 — обратный клапан

взята в несколько раз меньше толщины слоя в рабочей. Таким образом, датчик является полностью дифференциальным не только по измеряемой величине, но и по мешающим факторам.

В качестве фотоприемников используется герметизированное фотоспротивление типа ФС-КГ1. Выбор участка световой характеристики для сравнительного фотоприемника, обусловливаемый величиной светового потока, подающего на него, определяется углом наклона светоотделителя к основному пучку. Двухступенчатая стабилизация тока накала лампы, использование излучения только с одной стороны тела накала, применение светоотделителя в виде плоскопараллельной стеклянной пластинки, вырезывание зон с равномерной яркостью по полю путем сильного диафрагмирования пучков и другие особенности датчика обеспечивают высокое постоянство преобразования в течение длительного времени. Датчик малочувствителен к смене лампы по истечению срока службы.

Основным исполнительным органом установки является дозатор (рис. 3, в), представляющий собой клавишный эксцентриковый насос, предназначенный для прокачки двух различных химически активных жидкостей. Принцип действия дозирующего насоса, основанный на пережиме шланга из специальной медицинской резины попеременно действующими башмаками-роликками, обеспечивает необходимую стерильность экспериментов и отсутствие вредного влияния механизма прокачки на жизнедеятельность культуры. Дозатор снабжен устройством для предварительного выравнивания величины прокачки через оба шланга.

К циркуляционному насосу предъявляются требования высокой надежности, так как при автоматизированном процессе культивирования в контур циркуляции кроме датчика плотности может включаться целый ряд других датчиков. В процессе разработки были испытаны два варианта насоса. В первом варианте работа насоса была основана на том же принципе, что и дозатора. Отличался он величиной расхода, наличием лишь одного шланга и некоторыми другими конструктивными особенностями. Во втором варианте использовался коловратный насос. Испытания показали вполне удовлетворительную работу как первого, так и второго варианта, но коловратный насос более прост и имеет больший рабочий ресурс.

Управляемый электромагнитный клапан (рис. 3, в) является вспомогательным, исполнительным органом, работающим синхронно с дозатором и обеспечивающим отсутствие самотека в питающей магистрали. Он может использоваться как самостоятельный регулирующий орган при регулировании рН культуры.

Исполнительные органы позволяют работать с реакторами любой формы объемом до 25 л. Предусмотрена быстрая смена шлангов насоса и дозатора при их износе.

На случай аварийных режимов в установке имеются соответствующая защита, звуковая и световая сигнализации.

Установка испытывалась при различных режимах работы и на различных штаммах и показала вполне удовлетворительные качества.

Сметта гурвич

ЛИТЕРАТУРА

1. A. Novick, L. Szilard. 1950. Science, **112**, 715.
2. I. Malek. 1964. Kontinualni kultivace mikroorganismu. Praha.
3. Н. М. Неронова, Н. Д. Иерусалимский. 1959. Микробиология, **28**, 647.
4. J. N. Phillips, J. Myers. 1954. Plant. Physiol., **29**, 148.
5. H. Iwamoto, H. Sugimoto. 1956. Bull. Agr. Chem. Soc. Japan, **9**, 515.
6. K. A. Clendenning, T. E. Brown. 1956. Physiol. plantarum, **9**, 515.
7. В. Е. Семененко, М. Г. Владимирова, Л. Н. Цоглин, М. И. Таутс, Ю. Н. Филипповский, Г. Л. Клячко-Гурвич, Е. Д. Кузнецов, Е. С. Кованова, Н. И. Райков. 1965. В сб.: Управляемый биосинтез и биофизика популяций. Тезисы докладов. Красноярск, стр. 45.
8. J. Myers, L. V. Clark. 1944. J. Gen. Physiol., **28**, 103.
9. О. Г. Бакланов, В. С. Филимонов, И. А. Терсков, И. И. Гительзон. 1964. В сб.: Управляемое культивирование микроводорослей. Красноярск, стр. 42.

КОНТРОЛЬ ЗА ФОТОСИНТЕЗОМ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ХЛОРЕЛЛЫ

В. А. БЕНЮШ, Е. Н. КОТОВА, А. И. МИТРОФАНОВ

Прирост биомассы как тест физиологического состояния культуры при длительном культивировании хлореллы по-видимому недостаточен из-за его инерционности и интегрального характера. Поиск тестов, менее инерционных и несущих информацию об отдельных физиологических отправлениях хлореллы (фотосинтез, дыхание), с целью создания соответствующих датчиков для автоматического регулирования мы начали с разработки «датчиков фотосинтеза» (ДФ), и в первую очередь с датчика, который давал бы информацию о состоянии процессов, приводящих к выделению кислорода.

А. И. Поливода предложил использовать в качестве теста явление послесвечения, открытое Стреллером и Арнольдом.

Хотя природа послесвечения до настоящего времени и не выяснена, нижеперечисленные факты представлялись нам достаточными, чтобы считать, что «датчик послесвечения» (ДП) смо-