

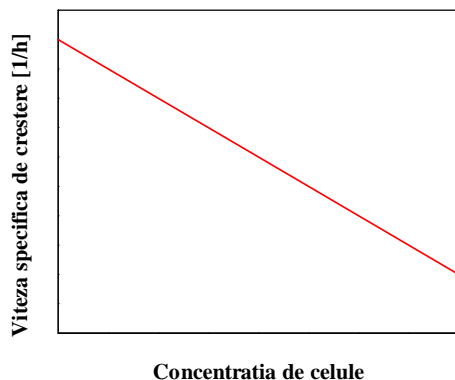
**b)  $\mu=\mu(X,S)$  Influenta concentratiei celulare si a concentratiei substratului limitator de crestere asupra vitezei specifice  $\mu$**

Intrucat dependenta  $\mu=f(X)$  de concentratia celulara nu exclude ci cuprinde (Yamane, 1993), cel putin implicit si dependenta de  $S$ , sunt putine modele de tipul  $\mu = f(X)$ , mai logice si de aceea mai numeroase fiind modelele  $\mu = f(X,S)$ .

Din punct de vedere al cresterii (Chattaway *et al.*, 1992), s-a observat in destule experimente ca viteza de evolutie a culturii scade la concentratii ridicate ale lui  $X$  (Mulchandani, Luong, 1988; Matanguihan *et al.*, 1994). Un model simplu care explica aceasta situatie, considera ca viteza specifica descreste liniar cu concentratia de celule. Se obtine astfel ecuatia lui Verhulst (Verhulst, 1845):

$$\mu(X) = \mu_{\max} (1 - k_x X) \quad 2.1.1.2.16$$

care mai poarta si numele de *modelul logistic al cresterii* (fig.2.1.1.6)



**Figura 2.1.1.6** Dependenta  $\mu=\mu(X)$  cf. ecuatiei Verhulst

O ecuatie mai realista, care exprima si limitarea prin concentratia substratului conform unei cinetici Monod a fost introdusa de Meyrath (Meyrath, 1973):

$$\mu(X,S) = \mu_{\max} \frac{S_0 - \frac{X}{Y}}{K_s + S_0 - \frac{X}{Y}} \quad 2.1.1.2.17$$

unde  $Y$  = randamentul de transformare a substratului la celule.

In termeni de dinamica de populatie, din ecuatia lui Verhulst a derivat modelul cinetic al lui Verhulst - Pearl, care poate fi utilizat in locul ecuatiei cresterii nelimitate de substrat a unei populatii:

$$\begin{aligned} N &= N_0 \exp(\mu_{\max} t) \\ &= \frac{N_0 \mu_{\max}^0 \exp(\mu_{\max}^0 t)}{\mu_{\max}^0 + m_x N_0 (\exp(\mu_{\max}^0 t) - 1)} \end{aligned} \quad 2.1.1.2.18$$

Cel mai cunoscut si mai utilizat model  $\mu = f(X,S)$  aplicat pentru simplitatea lui si pentru faptul ca respecta o cinetica cu saturatie in functie de concentratia substratului limitator, este modelul Contois, sau Contois - Fujimoto (Contois, 1959):

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_x X + S} \quad 2.1.1.2.19$$

Pentru  $S$  constant se manifesta inhibitia lui  $\mu$  la valori ridicate ale concentratiei celulare.

Preluand modul de gandire al cineticii chimice, Kono si Asai (Kono, Asai, 1968) au derivat o ecuatie de crestere care include asa numitul *coeficient al activitatii de consum pentru crestere*  $\Phi$ , redefinit de Bastin ca fiind *coeficientul aparent al activitatii de crestere*:

$$\mu(X) = K_x \Phi \quad 2.1.1.2.20$$

unde  $K_x$  = constanta de viteza de crestere (are diferite valori in functie de etapa de crestere in cultura discontinua);

$\Phi = 0$ , faza de inductie;

$\Phi = \phi$ , cu  $0 < \phi < 1$ , faza de tranzitie,  
 $\phi = \alpha t$ ;

$\Phi = 1$ , faza exponentială de creștere

Ideea de bază a lui Kono a fost o ecuație generală de creștere:

$$\frac{dX}{dt} = k_1^i k_2^j C_1^i C_2^j - k_3 C_3 \quad 2.1.1.2.21$$

unde:  $C_1$  = concentrația substratului limitator

$C_2$  = concentrația co-substratului;

$C_3$  = concentrația produsului;

$X_{crit}$  = concentrația celulară critică.

Ordinul de reacție se modifică la  $X_{crit}$ ; astfel:  $i = 1$  și  $j = 0$  pentru  $X < X_{crit}$ ,  $i = 0$  și  $j = 1$  pentru  $X > X_{crit}$ .

Alte modele interesante pentru  $\mu = f(X, S)$  sunt:

- modelul Nihtila și Virkkunen (Moser, 1988)

$$\mu(X, S) = K_1 \frac{C(t)}{X(t)} \quad 2.1.1.2.22$$

$$\frac{dc}{dt} = K_2 S(t)(X(t) - C(t)) - K_3 C(t)$$

unde:  $C(t)$  = concentrația complexului celula-substrat;

$K_1, K_2, K_3$  = constante

- modelul Kishimoto (Kishimoto, 1978):

$$\mu(X, S) = \bar{\mu} + Q_1(X(t) - \bar{X}) + Q_2(S(t) - \bar{S}) \quad 2.1.1.2.23$$

cu  $\bar{\mu}, \bar{X}, \bar{S}$  = valorile de medie aritmetică;

$Q_1, Q_2$  = coeficienți de regresie.

- modelul Staniskis și Levisauskas (Moser, 1988):

$$\mu(X, S) = k_1 S(t) - k_2 X(t) \quad 2.1.1.2.24$$

### c) Cinetica cu inhibiție prin concentrația substratului

În multe cazuri de inhibiție, ecuațiile modelului cinetic sunt ca și modelul Monod, derivate din teoriile inhibiției reacțiilor enzimatice. De aceea, aceste ecuații sunt mai puțin general valabile, ele putându-se substitui unele cu altele în funcție de adecvanta la realitate a fenomenului experimental.

Din numărul mare de ecuații cinetice cu inhibiție prin substrat, cele mai uzuale sunt:

- modelul Andrews (Andrews - Noack), inhibiție prin substrat în regim chemostat) (Andrews, 1968):

$$\mu = \mu_{\max} \frac{1}{1 + \frac{K_s}{S} + \frac{S}{K_i}} = \frac{S}{K_s + S} \frac{1}{1 + \frac{S}{K_i}}$$

2.1.1.2.25

unde:  $K_i$  = constante de inhibiție în raport cu substratul. Reprezentarea grafică este dată în fig. 2.1.1.7.

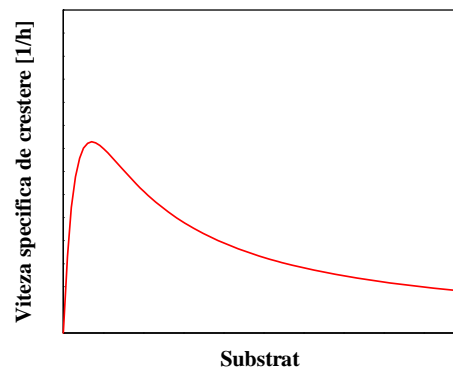


Figura 2.1.1.7 Dependența  $\mu = \mu(X)$  cf. ecuației Andrews

- modelul Webb (Webb, 1963):

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S(1 + \frac{S}{K_s^I})}{S + K_s \frac{S^2}{K_s^I}} \quad 2.1.1.2.26$$

unde:  $K_s^I$  = constanta de inhibitie in raport cu substratul.

- modelul Yano (multi complexi inactivi enzima - substrat) (Yano *et al.*, 1966)

$$\mu = \mu_{\max} \frac{1}{1 + \frac{K_s}{S} + \sum_j (\frac{S}{K_{i,S}})^j} \quad 2.1.1.2.27$$

unde:  $K_{i,S}$  = constanta de inhibitie in raport cu substratul.

- modelul Aiba (Aiba, Hara, 1965):

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} e^{-\frac{S}{K_{i,S}}} \quad 2.1.1.2.28$$

Reprezentarea grafica a modelului Aiba este data in figura de mai jos:

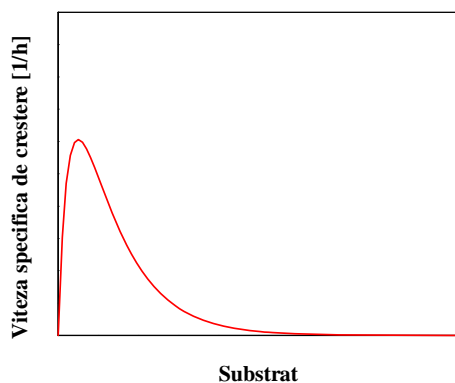


Figura 2.1.1.8 Dependenta  $\mu=\mu(S)$  cf. ecuatiei Aiba

Edwards (Edwards, 1970) a analizat ecuatiile (2.1.1.25 - 2.1.1.28) pentru o serie de date experimentale de crestere din literatura si a demonstrat ca nu sunt criterii obiective pentru a realiza o clasificare a lor in functie de gradul de generalizare. De aceea el a

recomandat modelul Andrews ca cel mai simplu si mai usor de folosit.

Un tip diferit de ecuatie pentru a exprima cinetica cu inhibitie prin substrat a fost propusa de Wayman si Tseng (Wayman, Tseng, 1976). Concentratiile de substrat mai mari decat o concentratie prag  $S_C$  inhiba cresterea liniara conform modelului:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} - K_{i,S}(S - S_C) \quad 2.1.1.2.29$$

Aceasta relatie se poate folosi cand curba  $\mu = f(S)$  nu are o forma de tip Andrews ci are loc mai degraba o descrestere liniara a lui  $\mu$  (fig. 2.1.1.9).

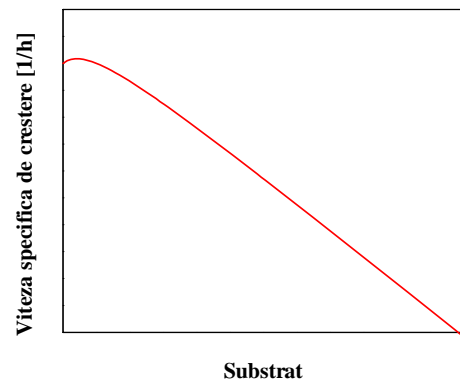


Figura 2.1.1.9 Dependenta  $\mu=\mu(S)$  cf. ecuatiei Waymann si Tseng

#### d) $\mu = f(S,P)$ Cinetica de crestere cu inhibitie prin concentratia de produs.

Hinshelwood (Hinshelwood, 1946) distinge mai multe tipuri de efecte de inhibitie exercitate de concentratia de produs asupra vitezei specifice de crestere: descrestere liniara, descrestere exponentiala, stopare brusca a cresterii, descresterea liniara / exponentiala incepand cu o concentratie de prag a lui P. Cand nu apare o concentratie prag de la care incepe sa se manifeste inhibitia si descresterea este liniara in raport cu P, modelul Hinshelwood (Hinshelwood-Dagley) poate exprima cantitativ fenomenul:

$$\mu(S, P) = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S} (1 - kP) \quad 2.1.1.2.30$$

unde:  $k$  = constanta de inhibitie in raport cu produsul  $P$ .

Aceasta relatie a fost modificata astfel:

- modelul Holzberg (Holzberg *et al.*, 1967):

$$\mu(P) = \mu_{\max} - K_1(P - K_2) \quad 2.1.1.2.31$$

unde:  $K_1, K_2$  = constante pozitive.

Reprezentarea grafica a modelului Holzberg este data in figura de mai jos:

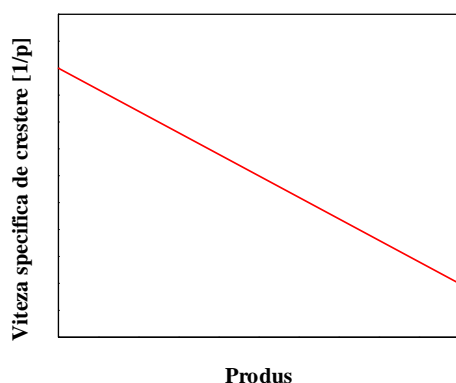


Figura 2.1.1.10 Dependenta  $\mu=\mu(P)$  cf. ecuatiei Holzberg

- modelul Ghose si Tyagi (Ghose, Tyagi, 1979) fig. 2.1.1.11:

$$\mu(P) = \mu_{\max} \left(1 - \frac{P}{P_{\max}}\right) \quad 2.1.1.2.32$$

unde:  $P_{\max}$  = concentratia maxima de produs din mediu.

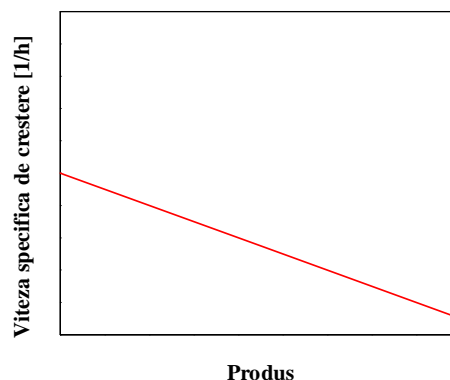


Figura 2.1.1.11 Dependenta  $\mu=\mu(P)$  cf. ecuatiei Ghose si Tyagi

O ecuatie de tip diferit a fost introdusa de Aiba (Aiba, 1982), fig. 2.1.12:

$$\mu(P) = \mu_{\max} e^{-K_1 P(t)} \quad 2.1.1.2.33$$

unde:  $K_1$  = constanta

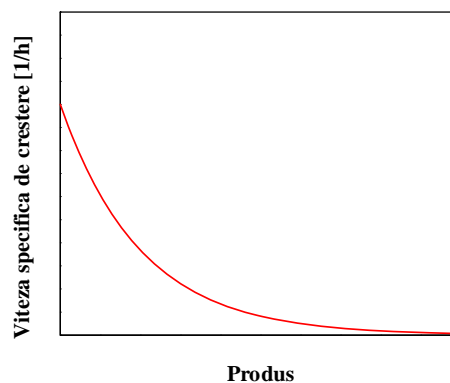


Figura 2.1.1.12 Dependenta  $\mu=\mu(P)$  cf. ecuatiei Aiba

sau o varianta a ecuatiei (2.1.1.2.33) - modelul Aiba si Shoda (Aiba, Shoda, 1989):

$$\mu(S, P) = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S} e^{-KP} \quad 2.1.1.2.34$$

In sfarsit, o ecuatie de tip  $\mu = f(P, S)$  poate fi modelata prin analogie cu cinetica enzimatica. Ierusalimsky (Ierusalimsky,

1967) recomanda in acest sens o ecuatie de tipul:

$$\mu(P) = \frac{\mu_{\max} P(t)}{K_{i,P} + P(t)} \quad 2.1.1.2.35$$

sau, mai detaliat:

$$\mu(S, P) = \frac{\mu_{\max} P(t)}{K_{i,P} + P(t)} \frac{S}{K_S + S} \quad 2.1.1.2.36$$

unde:  $K_{i,P}$  = constanta de inhibitie in raport cu P.

Este de mentionat faptul ca ecuatia (2.1.1.2.36) este cel mai folosit model pentru cinetica cu inhibitie in raport cu produsul.

#### e) Influenta oxigenului dizolvat ca al doilea substrat asupra vitezei specifice de crestere.

In general, pentru oxigenul dizolvat, considerat al doilea substrat de crestere (Eiki, Osono, 1990) se utilizeaza un model de tip cinetica cu saturatie; de aceea cel mai utilizat pentru o dependenta  $\mu(S, C)$  este modelul Olsson (Moser, 1988):

$$\mu(S, C) = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S} \frac{C}{K_C + C} \quad 2.1.1.2.37$$

in care:  $K_C$  = constanta de saturatie in raport cu oxigenul;  
sau ceva mai complicat, modelul Williams (Williams, 1969):

$$\mu(S, C, P) = \left( \frac{K_1 S}{K_S + S} \frac{K_2 P}{K_P + P} \right) \bullet \left( \frac{C}{K_C + C} + K_3 C - K_4 \right) \quad 2.1.1.2.38$$

#### f) Influenta altor factorii de mediu asupra vitezei specifice de crestere.

Pentru efectul **pH**-ului (Ben-Hassan *et al.*, 1991) in general se propun modele simple de tipul:

- modelului Andreyeva si Biriukov (dezvoltare polinomiala) (Andreyeva, Biriukov, 1973):

$$\mu(pH) = a \cdot (pH)^2 + b \cdot (pH) + c \quad 2.1.1.2.39$$

- modelului Jackson si Edwards (cu inhibitie) (Moser, 1988):

$$\mu(H^+) = \frac{H^+}{K_H + H^+ + K_i (H^+)^2} \quad 2.1.1.2.40$$

Pentru efectul simultan  $\mu = f(S, pH)$  autorii propun varinate ale modelelor (2.1.1.2.39) si (2.1.1.2.40) dintre care sunt prezentate cele mai importante:

- Andreyeva si Biriukov (Andreyeva, Biriukov, 1973):

$$\mu(S, H^+) = \mu_{\max} \frac{SH^+}{K_S + SH^+ + \frac{(SH^+)^2}{K_i}} \quad 2.1.1.2.41$$

sau:

$$\mu(S, H^+) = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S} \frac{K_H}{K_H + H^+} \quad 2.1.1.2.42$$

- Jackson si Edwards (Moser, 1988):

$$\begin{aligned} \mu(S, H^+) = \\ = \mu_{\max} \frac{S}{\left(1 + \frac{K_2}{H^+} + \frac{H^+}{K_1}\right) \left(K_H + S + \frac{S^2}{K_i \left(1 + \frac{K_3}{H^+}\right)}\right)} \end{aligned} \quad 2.1.1.2.43$$

Influenta **temperaturii** este modelata printr-o lege de tip Arrhenius, conform modelului

Topiwala si Sinclair (Topiwala, Sinclair, 1971):

$$\mu(T) = \begin{cases} A_1 e^{-\frac{E_1}{RT}} - A_{21} e^{-\frac{E_{21}}{RT}} - A_3, & T \in [T_1, T_2] \\ 0 & T \notin [T_1, T_2] \end{cases} \quad 2.1.1.2.44$$

In sfarsit Constantinides (Constantinides *et al.* 1970) modeleaza  $\mu(T, X)$  introducand ecuatia:

$$\mu(T, X) = b_1(T) \left(1 - \frac{X}{b_2(T)}\right) \quad 2.1.1.2.45$$

unde:

$$b_1(T) = K_1 - K_2(T - K_3)^2 \quad 2.1.1.2.46$$

si:

$$b_2(T) = K_4 - K_5(T - K_6)^2 \quad 2.1.1.2.47$$

### g) $\mu(S_1, S_2)$ Cinetica de crestere pe mai multe substrate

Oxigenul dizolvat a fost considerat un al doilea substrat de crestere prezentandu-se in consecinta modelele  $\mu(S, C)$  in paragraful e). Prezinta insa o importanta mare si modelele cinetice de crestere pe mai multe surse de carbon din mediul de cultura (Chiu *et al.*, 1972). Pe cand cresterea in urma consumului secvential sau consecutiv a doua sau mai multor surse de carbon, cunoscut sub numele de *diauxie* (Monod) poate fi analizata adesea ca doua sau mai multe faze separate de crestere ce au loc pe parcursul aceluasi bioproces, cazul utilizarii simultane a doua sau mai multe substrate (tratarea biologica a apelor uzate), este mai dificil de descris matematic (Chiu *et al.*, 1972).

### 2.1.1.3. Modele cinetice nestructurate pentru formarea produsului

Cinetica de formare a produsului se ia in considerare in raport cu cinetica cresterii. Pana in prezent, din acest punct de vedere, a ramas valabila clasificarea lui Gaden (Gaden,

1959) ce distinge patru tipuri de cinetica de formare a produsului:

*Tipul 0.* Productia are loc chiar in celulele in faza stationara care folosesc numai o mica parte din substrat pentru nevoile lor metabolice. Celulele microbiene functioneaza numai ca purtatoare ale enzimelor necesare biosintezei produsului, d.e. transformările steroizilor si sinteza vitaminei E de catre *Saccharomyces cerevisiae*.

*Tipul 1.* Acumularea produsului este direct asociata cu cresterea (*produs asociat cresterii*). Este cazul producerii metabolitilor primari, formarea produsului fiind legata de metabolismul energetic, d.e. producerea acidului gluconic, obtinerea enzimelor respiratiei si cresterii.

*Tipul 2.* Acumularea produsului este partial asociata cu cresterea (*produs partial asociat cresterii*), existand o legatura indirecta cu metabolismul energetic, d.e. producerea acidului citric, obtinerea aminoacizilor prin biosinteza.

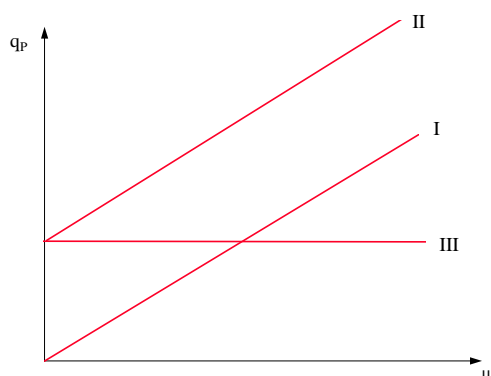
*Tipul 3.* Acumularea produsului nu este asociata cu cresterea si nici nu exista o conexiune directa sau indirecta cu metabolismul energetic primar (*produs neasociat cresterii*). Obtinerea metabolitilor secundari (streptomicina, penicilina) este un exemplu de cinetica de acest tip.

Recunoasterea tipului de cinetica de formare a produsului se face conform diagramelor caracteristice  $r_s, r_x, r_p = f(t)$  si in special considerand vitezele specifice  $q_s, \mu, q_p$ .

Diagrama evolutiei in timp a vitezelor specifice intr-un bioproces poarta numele de *diagrama de cuantificare*. Ea ofera imaginea cea mai corecta a avansarii vitezelor caracteristice si este fundamentala pentru stabilirea unor modele matematice adecvate.

In figura de mai jos sunt prezentate grafic tipurile de relatii cinetice liniare intre viteza

specifica de crestere  $\mu$  si viteza de productie  $q_p$ .



**Figura 2.1.14 - Dependenta vitezei specifice de crestere de viteza de formare a produsului pentru cele trei tipuri principale de cinetica (cf. Gaden)**

*Tipul 1.* Formarea produsului asociat cresterii poate fi descrisa prin relatiile caracteristice:

$$r_p = Y_{p/X} r_X \quad 2.1.1.2.48$$

si:

$$q_p = Y_{p/X} \mu \quad 2.1.1.2.49$$

Similar, Constantidines (Constantinides *et al.* 1970):

$$r_p = Y_{p/S} r_S \quad 2.1.1.2.50$$

In final rezulta urmatoarea relatie intre coeficientii de conversie:

$$\frac{Y_{p/S}}{Y_{X/S}} = Y_{p/X} \quad 2.1.1.2.51$$

Considerand pentru  $q_p$  o dezvoltare de tip Monod, se obtine o functie hiperbolica pentru viteza de productie in cazul asocierii produsului cu cresterea:

$$r_p = q_p X = q_{p_{\max}} \frac{S}{K_S + S} X \quad 2.1.1.2.52$$

*Tipul 3.* In cazul unui produs neasociat cresterii nu exista nici o relatie directa cu

cresterea; ca o alternativa in acest caz, dependenta  $r_p = f(X)$  este adesea reprezentata cu succes prin relatia:

$$r_p = k_p X \quad 2.1.1.2.53$$

Formarea produsului poate fi insa cuantificata prin dependenta de viteza de utilizare a substratului printr-o relatie similara ecuatiei (2.1.1.2.50).

*Tipul 2.* Cand formarea produsului este partial asociata cresterii si partial independenta de aceasta, este in general valabila o combinatie a ecuatiilor (2.1.1.2.49) si (2.1.1.2.53), conform propunerii lui Luedeking si Piret (Luedeking, Piret, 1959):

$$q_p = Y_{p/X} \mu + k_{pr} \quad 2.1.1.2.54$$

Ecuatia generala (2.1.1.2.54) impreuna cu ecuatiile (2.1.1.2.49) si (2.1.1.2.53) drept cazuri limita, sugereaza o ecuatie logistica.

Kono si Asai (Kono, Asai, 1968) au introdus o alta ecuatie generala pentru corelarea productiei cu cresterea formulata cu ajutorul coeficientului de consum  $\Phi$  (gandit ca un coeficient aparent al activitatii de crestere):

$$r_p = k_{p_1} X \Phi + k_{p_2} X (1 - \Phi) \quad 2.1.1.2.55$$

Aceasta ecuatie se alatura ecuatiei (2.1.1.2.20) ce descrie evolutia vitezei specifice de crestere. Prin valorile parametrului  $k_{p_j}$ ,  $> 0$  sau  $k_{p_j}$ ,  $< 0$ ,  $j = 1, 2$  se particularizeaza cazurile anterioare de cinetica de formare a produsului descrise de Gaden.

Pentru cazuri speciale, au fost propuse ecuatii cinetice adecvate datelor experimentale (Shu, 1961, Fishman, Birjukov, 1974, Ryu, Humphrey, 1972, Brown, Vass, 1981).

## 2.1.2. Modele structurate

Cele mai importante modele structurale sunt corelate cu structura chimica celulara (chimic

structurate). Williams si Ramkrishna au propus printre primii modele cu doua componente. Williams (Williams, 1975) a considerat concentratia componentelor R cu rol in sinteza celulara (in principal ARN) si concentratia componentelor D cu rol structural - genetic (ADN si proteine), pe cand Ramkrishna (Ramkrishna, 1969) a impartit celula in masa G (ADN si ARN) si masa D (proteine). Fredrickson (Fredrickson, 1970) a analizat ulterior aceste modele demonstrand invaliditatea lor deoarece in formularea expresiilor cinetice nu erau utilizate concentratiile intrinseci ale componentelor structurale luate in considerare. Totusi modelele Williams si Ramkrishna raman importante datorita modificari conceptuale introduse in tratarea dinamicii microbiene.

Formularea riguroasa a unui model structural chimic implica introducerea in ecuatiile cinetice a concentratiei intrinseci a unui component al structurii luate in considerare, ceea ce inseamna cantitatea de component/unitatea de volum celular sau unitatea de masa celulara; in acest fel se renunta la concentratiile extrinseci din modelele nestructurate, in care masa celulara considerata nestructurata era exprimata in unitati de concentratie raportate la volumul reactorului.

Fredrickson introduce in acest sens bilantul general intr-un bioreactor discontinuu prin ecuatia de tipul:

$$\frac{d(m\hat{V}C_j)}{dt} = m\hat{V}\sum_i r_{ij} \quad 2.1.2.1$$

unde:  $m$  = biomasa totala la timpul  $t$ ;

$\hat{V}$  = volumul ocupat de celule pe unitatea de masa celulara;

$C_j$  = masa componentului  $j$  pe unitatea de volum celular (concentratia intrinseca a componentului  $j$ );

$r_j$  = viteza de aparitie/disparitie in procesul  $i$  a componentului  $j$  raportata la volumul celular.

Daca  $\hat{V}$  este constant si se considera prin similitudine cu cinetica nestructurata:

$$\mu = \frac{1}{m} \frac{dm}{dt} \quad 2.1.2.2$$

se obtine:

$$\frac{dc_j}{dt} = \sum_i r_{ij} - \mu C_j \quad 2.1.2.3$$

Termenul  $\mu C_j$  poate fi neglijat in majoritatea modele structurale.

In loc de  $C_j$  se poate folosi concentratia  $X_j$  (masa componentului  $j$  raportata la unitatea de masa celulara), conform relatiei:

$$X_j = C_j \hat{V} \quad 2.1.2.4$$

Modelele structurale si-au gasit o aplicare adecvata si in tratarea culturilor mixte, structurarea chimica fiind inlocuita cu divizarea in speciile componente (modele de populatie).

Harder si Roels au trecut in revista aplicatiile in biotehnologie ale modelelor simple structurale (Harder, Roels, 1981). Autorii prezinta in primul rand principiile de baza folosite in constructia modelelor structurale, derivate in special din biologia moleculara:

- modificarile concentratiilor unor substrate sau intermediari determina schimbari in vitezele de reactie in care sunt implicate aceste substante;
- interactiunile enzimelor cu unele molecule mici, efectorii, conduc la modificari in conformatia enzimelor si in consecinta a actiunii lor catalitice;
- concentratiile diferitelor macromolecule celulare se adapteaza la schimbarea conditiilor de mediu prin modificarea vitezei lor de sinteza (d.e. concentratia ARN creste in mod deosebit odata cu cresterea ratei de dilutie in cultura



continua), în urma exercitării unor mecanisme de control genetic;

- selecția naturală este o modalitate de adaptare; prin variația genetică în interiorul unei specii se poate selecționa un individ cu proprietăți ce-i oferă un avantaj în mediul inconjurător considerat;
- schimbările de mediu pot induce modificări în raportul dintre diferitele specii prezente într-o cultură mixtă.

Pornind de la aceste principii și de la conceptul de timp de relaxare, autorii propun o serie de modele structurale:

- creșterea biomasei conform unui model bicompartimental;
- creșterea biomasei conform unui model tricompartimental;
- sinteza enzimelor supuse unui control genetic (modelul operonului, al represiei catabolice, al creșterii diauxice).

Deși valabilitatea diferitelor ipoteze ale modelului este discutabilă și forma ecuațiilor cinetice a fost supusă criticii, metoda teoretică de deducere a unui model structural chimic are valoare și în viitor - pentru situații în care compoziția unui microorganism se modifică sub influența mediului, această modificare afectând comportamentul culturii la un nivel semnificativ. În același timp, modelele cinetice structurale își găsesc o aplicație interesantă în descrierea dinamicii bioprocesului cu celule modificate genetic. Astfel, Ryu și Kim (Ryu, Kim, 1992) au studiat un bioproces cu celule recombinante, unde evoluează celule purtătoare de plasmide continuând informații genetice privind producția unui metabolit de interes alături de celule lipsite de aceste plasmide.

Pentru cinetica formării produsului se propune ecuația:

$$q_p = k_0 \varepsilon G_p (\mu^+ + b) \quad 2.1.2.5$$

unde:  $k_0$  = constanta vitezei globale de biosinteză

$\varepsilon$  = eficiența exprimării genetice;

$G_p$  = concentrația ADN în plasmide;

$\mu^+$  = viteză specifică de creștere a celulelor purtătoare de plasmide;

$b$  = constantă.

Această ecuație poate fi comparată cu modelul cinetic nestructurat al lui Luedeking - Piret (2.1.1.2.54), ce poate fi reexprimat pentru fermentația cu celule recombinante:

$$\frac{dP}{dt} = A \frac{dX^+}{dt} + BX^+ \quad 2.1.1.2.54'$$

unde:  $X^+$  = concentrația celulelor purtătoare de plasmide

În acest mod coeficienții A și B din ecuația de mai sus prin structurarea în ecuația (2.1.3.5) capătă o semnificație biologică clară:

$$A = k_0 \varepsilon G_p \quad 2.1.2.6$$

$$B = Ab$$

În continuare, în funcție de modelul cinetic propus, se pot introduce strategii de reglare a temperaturii optime de producție sau a ratei de diluție.

### 2.1.3. Modele cinetice segregate (corpusculare)

Dincolo de structurarea pe baza compoziției chimice a unui model, literatura de specialitate nu deosebește cu claritate alte tipuri de modele structurate de modelele segregate.

Shuler (Shuler, 1985) definește ca modele segregate, dar nestructurate (considerând compoziția chimică) modelele care pornesc de la prezumția că o unică variabilă (varsta celulelor, dimensiunea celulară, etc.) poate descrie complet starea unei celule în sensul că toate celulele de aceeași vârstă sau dimensiune au aceeași compoziție și același potențial productiv.

De asemenea, Bley (Bley, 1987) propune un model considerand celulele de drojdie aflate in doua stari fiziologice distincte - celule neinmugurite / celule inmugurite. Cele doua stari fiziologice difera prin  $\mu$ ,  $dS/dt$ , eficienta in producerea biomasei, etc. Daca se considera concentratiile  $X_1$  si  $X_2$  pentru celulele neinmugurite si respectiv inmugurite,  $S$  fiind concentratia substratului, atunci in cazul unui proces continuu, in care tranzitia de la o stare la alta este in principal influentata de concentratia  $S$ , se propun relatiile:

$$\begin{cases} \frac{dX_1}{dt} = (\mu_1(S) - k_1(S) - D)X_1 + k_2(S)X_2 \\ \frac{dX_2}{dt} = (\mu_2(S) - k_2(S) - D)X_2 + k_1(S)X_1 \\ \frac{dS}{dt} = (S_0 - S)D - \alpha_1(S)X_1 - \alpha_2(S)X_2 \end{cases}$$

#### 2.1.3.1

In acest model  $k_1(S)$  reprezinta viteza specifica a trecerii de la starea  $X_1$  la  $X_2$ , iar  $k_2(S)$  - viteza procesului invers;  $\alpha_1(S)$  si

$\alpha_2(S)$  reprezinta coeficientii de randament de conversie  $S$  in  $X_1$  si respectiv  $S$  in  $X_2$ .

Modelele structurate si segregate sunt inca insuficient aplicate in modelarea bioproceselor fiind preluate din biologia moleculara si fiziologie, unde au un rol important in investigarea si validarea unor mecanisme celulare (Sonnleitner, Fiechter, 1989). Pentru dezvoltarea si utilizarea lor in conducerea bioproceselor sunt necesare:

- evolutia rapida a tehnicilor analitice (Sonnleitner, 1992) nedistructive (care sa nu interfere cu mecanismele functionale si reglarile interne ale celulei) folosindu-se proprietatile optice, electrice sau electromagnetice ale celulei sau a unor componente celulare (fluorimetrie, rezonanta magnetica nucleara, spectroscopie IR);
- progrese insemnate in modelarea matematica in conexiune cu teorii despre mecanismele celulare (van Breusegem, Bastin, 1992).