

# بررسی مدل‌های سینتیک رشد یک باکتری متانوتروف، بر روی گاز طبیعی

زهرا سادات آقامیری<sup>۱</sup>، محمدرضا مهرنیا\*<sup>۲</sup>، فاطمه یزدیان<sup>۳</sup>، سیدعباس شجاع الساداتی<sup>۴</sup>

شهره فاطمی<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup>دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشکده مهندسی شیمی - پردیس دانشکده های فنی - دانشگاه تهران

<sup>۲</sup>استادیار دانشکده مهندسی شیمی - پردیس دانشکده های فنی - دانشگاه تهران

<sup>۳</sup>دانش آموخته دکتری بخش مهندسی شیمی - دانشکده فنی و مهندسی - دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۴</sup>دانشیار بخش مهندسی شیمی - دانشکده فنی و مهندسی - دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۵</sup>دانشیار دانشکده مهندسی شیمی - پردیس دانشکده های فنی - دانشگاه تهران

( // // )

## چکیده

سینتیک، تولید پروتئین تک یاخته از گاز طبیعی توسط ریزسازواره‌ای از جنس متیلوموناس در فاز گازی با درصد حجمی مساوی از هوا و گاز طبیعی مورد مطالعه تجربی و مدل‌سازی ریاضی، قرار گرفته است. برای توصیف سینتیک رشد سلولی از مدل‌های مختلف موند<sup>۱</sup>، موسر<sup>۲</sup>، تسیر<sup>۳</sup>، آیب<sup>۴</sup>، اندروس<sup>۵</sup> و نوک<sup>۶</sup> استفاده شده است. متان و اکسیژن هر دو به عنوان سوبستراهای محدودکننده رشد، در بازه غلظتی ۲ تا ۱۰ میلی‌گرم در لیتر در نظر گرفته شدند و برای ایجاد فاز سکون و مرگ از ضریب مرگ وابسته به زمان، استفاده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که مدل‌های ریاضی، می‌توانند به خوبی دینامیک، تولید توده سلولی را در فازهای رشد تا مرگ بیان کنند. پارامترهای سینتیکی هر مدل از تطبیق آن با داده‌های تجربی، استخراج شدند. همچنین، نتایج نشان داد که مدل‌های موند و موسر، نسبت به مدل‌های دیگر در این تحقیق، تولید توده سلولی را با دقت بیشتری توصیف می‌کنند.

**واژه های کلیدی:** مدل‌های سینتیک، پروتئین تک یاخته، متیلوموناس، گاز طبیعی

## مقدمه

محیط آبی و نیز شرایط هیدرودینامیکی و انتقال جرم گاز-مایع بر رشد سلولی و تولید محصول در سامانه، اثرگذارند. بویژه در انتقال گازهای فرار مانند متان و اکسیژن به محیط آبی، آهنگ تغییرات انرژی گیس به علت حلالیت کم آنها به صورت افزایشی و تغییرات آنتالپی و آنترپی، منفی است که این تغییرات، برای ارزیابی سینتیک واکنش دارای اهمیت هستند [۴-۶].

برای طراحی مناسب فرآیند تولید، تعیین مشخصه‌های رشد سلولی و تولید، ضروری است. مدل‌سازی سینتیکی به شناخت چگونگی مراحل رشد میکروبی کمک می‌کند [۷]. مدل‌سازی سینتیکی شامل تعیین سوبسترای محدودکننده رشد، انتخاب مدل سینتیکی و در نظر گرفتن شرایط خاص (مثل محدودیت‌های سرعت انتقال جرم) است. همچنین، مدل‌سازی سینتیکی براساس دو نوع ساختاری و غیر ساختاری انجام می‌شود. مدل ساختاری در برگیرنده برخی مفاهیم اساسی از ساختمان سلول و ترکیبات آن است.

با افزایش روز افزون جمعیت جهان، نیاز به تولید پروتئین از سوبستراهای ارزان قیمت، ضرورت یافته است. از آنجا که کشور ایران دارای منابع عظیم گاز طبیعی است، می‌توان آن را با استفاده از متانوتروف‌ها (باکتری‌هایی هوازی که ترکیبات تک کربنه را به عنوان منبع کربن و انرژی استفاده می‌کنند) به محصولات با ارزش مانند پروتئین تک یاخته (SCP)، تبدیل کرد. متان، ترکیب عمده گاز طبیعی است که در این فرآیند، توسط آنزیم منواکسیژناز به متانل، اکسید می‌شود. سپس متانل تولید شده توسط آنزیم دهیدروژناز به فرمالدئید و مقداری از فرمالدئید به توده زیستی، تبدیل می‌شود. تولید SCP از این روش به فعالیت ریزسازواره، شرایط محیطی مانند دما، فشار، pH و مواد شیمیایی موجود در محیط کشت، وابسته است [۴-۱۱]. هم چنین از آنجایی که ریزسازواره‌های متانوتروف، معمولاً سوبسترای گازی را به صورت محلول در مایع مصرف می‌کنند، بنا بر این، خصوصیات ترمودینامیکی مانند حلالیت گازها در انتقال گازها به

$$\mu = \mu_{\max} \left( \frac{S}{K_S + S} \right) \quad (2)$$

• رابطه موسر:

$$\mu = \mu_{\max} \left( \frac{S^n}{K_S + S^n} \right) \quad (3)$$

• رابطه تسیر:

$$\mu = \mu_{\max} \left( 1 - \exp \left( -\frac{S}{K_S} \right) \right) \quad (4)$$

• رابطه اندروس و نوک (رابطه‌ای با اثر بازدارندگی سوبسترا):

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{1 + \frac{K_S}{S} + \frac{S}{K_{I,S}}} \quad (5)$$

• رابطه‌ای با در نظر گرفتن اثر بازدارندگی سوبسترا:

$$\mu = \mu_m \frac{S}{K_S + S + \frac{S^2}{K_{I,S}}} \quad (6)$$

• رابطه آیا:

$$\mu = \mu_{\max} \left( \frac{S}{K_S + S} \right) \exp \left( -\frac{S}{KI_{I,S}} \right) \quad (7)$$

• رابطه کنتیوز:

$$\mu = \mu_{\max} \left( \frac{S}{K_S C_X + S} \right) \quad (8)$$

برای ایجاد مرحله تأخیر، پیشنهاد شده است ضریب مرگ ( $K_d$ ) با زمان به صورت رابطه ۹ تغییر کند (بنابراین رابطه ضریب مرگ در ابتدا کم بوده و به تدریج زیاد شود) [۱۰].

$$K_d = K_d(\infty)(1 - e^{-at}) \quad (9)$$

به ترتیب  $K_d$ ،  $t$  و  $a$  ثابت مرگ، زمان و عکس ثابت زمانی مرگ سلولی در نظر گرفته شده اند.

### مدل‌های سینتیکی رشد سلولی چند سوبسترای

از آنجا که سوبسترای محدودکننده در فرآیند تولید پروتئین تک یاخته از گاز طبیعی با تغییر نسبت متان به اکسیژن تغییر می‌کند؛ گازهای اکسیژن و متان به‌عنوان محدودکننده رشد، در نظر گرفته شده‌اند. برای بیان سرعت ویژه رشد، سه نوع عملکرد بینابینی، چند عملکردی، افزونی و غیر بینابینی به‌صورت زیر مطرح شده‌اند [۹].

• عملکرد بینابینی یا چند عملکردی:

در صورتی که مدل غیر ساختاری، تنها گویای تغییر جرم سلولی، برای بیان سامانه بیولوژیکی است [۷]. مدل‌های سینتیکی به کار برده شده در این مقاله از نوع غیر ساختاری هستند.

مدل‌سازی سینتیکی برای مخلوطی از باکتری‌های متانوتروف توسط اسمیت و همکاران (۱۹۹۶)، در یک سامانه بسته و شبه پایا انجام شده است [۴]. این مدل‌سازی، با کمک مدل سینتیکی موند و شامل دستگاهی از معادله‌های دیفرانسیلی برای رشد سلولی است. وندلانت و همکاران (۱۹۹۳)، سینتیک رشد سلولی باکتری‌های متانوتروف را با انتقال گاز متان و اکسیژن به محیط کشت، بررسی کرده‌اند [۶]. لامب و گارور (۱۹۸۰) نیز مدل‌سازی سینتیکی را برای مخلوطی از باکتری‌های متانوتروف در یک سامانه پیوسته‌ای از محیط کشت (تک‌مرحله‌ای شیمیواستات) انجام داده و سرعت تولید ویتامین ب۱۲ را بررسی کرده‌اند [۸]. با وجود استفاده از گاز طبیعی و هوا (سوبسترای گازی) برای تولید پروتئین تک‌یاخته، تاکنون مدل سینتیکی این فرآیند مورد بررسی قرار نگرفته است. هدف از این تحقیق، مطالعه مراحل مختلف رشد سلولی در تولید پروتئین تک یاخته از گاز طبیعی در یک سامانه بسته و شناسایی عوامل سینتیکی مدل‌های شناخته شده رشد سلولی است. همچنین، در این مقاله مدل مناسبی که بتواند مراحل مختلف رشد سلولی شامل فازهای تاخیر، رشد، سکون و مرگ را برای تولید پروتئین تک یاخته از دو سوبسترای گازی متان و اکسیژن بیان کند، ارائه خواهد شد.

### مدل‌سازی سینتیکی

#### مدل‌های سینتیکی رشد سلولی

معمولاً مدل‌های سینتیکی با استفاده از معادله‌های دیفرانسیلی برای رشد و تخمیر بیان می‌شوند. فاز رشد به صورت توانی با معادله درجه اول زیر دنبال می‌شود:

$$r_X = \frac{dC_X}{dt} = \mu C_X - K_d C_X \quad (1)$$

$\mu$  سرعت ویژه تولید توده سلولی و  $K_d$  ضریب مرگ سلولی است که با استفاده از رابطه‌های گوناگون در شرایط مختلف بیان می‌شوند. نمونه‌ای از رابطه‌ها در مدل‌های زیر آورده شده‌اند [۹،۳،۲].

• رابطه موند:

یاخته از گاز طبیعی پرداخته شده است. در این بررسی، رژیم هیدرولیک برای تخمین پارامترهای سینتیکی به صورت اختلاط کامل فرض شد [۷] و نیز، عملکرد بینابینی و غیر بینابینی برای بیان سرعت ویژه رشد باکتری توسط سوسترهای متان و اکسیژن، در مدل سازی استفاده شد.

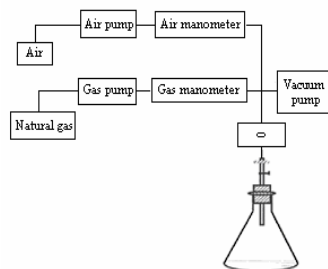
### مواد و روش ها

#### ریزسازواره و محیط کشت

در این تحقیق از ریزسازواره متانوتروف جداسازی شده از مناطق نفتی جنوب کشور (مسجد سلیمان، دره خرسان)، استفاده شده است. محیط رشد، محیط کشت معدنی Methane Salt Broth (MSB) بود. ریزسازواره از متان محلول در محیط کشت به عنوان کربن و از سولفات آمونیم به عنوان منبع نیتروژن، استفاده می کند. نحوه آماده سازی ریزسازواره جداسازی شده برای تولید پروتئین تک یاخته از گاز طبیعی، در تحقیق یزدیان و همکاران [۱] آورده شده است.

#### سامانه فلاسک آب بندی شده

در این تحقیق، از یک فلاسک آب بندی شده به حجم یک لیتر از جنس پیرکس استفاده شد. روی فلاسک یک سر بطری<sup>۷</sup> کائوچویی نصب شد که در وسط آن، یک لوله شیشه ای قرار گرفت. لوله شیشه ای به یک لوله سیلیکونی مجهز به نشت بند پیچی منتهی می شود. برای اطمینان از آب بندی فلاسک، آن را به مدت چند ساعت در شرایط خلاء قرار داده و تغییرات فشار، اندازه گیری می شود. مخلوط گازی (هوا در گاز شهری) از یک سامانه گازی مطابق شکل (۱) فراهم شد [۱۳].



شکل ۱: سامانه گازی برای اندازه گیری پارامترهای سینتیکی [۱۳].

این سامانه از یک شبکه لوله مجهز به مانومتر، تشکیل شده که در فشار اتمسفری روی صفر، تنظیم و پس از

$$\frac{\mu}{\mu_m} = [\mu(S_1)][\mu(S_2)] \dots [\mu(S_n)] \quad (10)$$

• عملکرد افزونی:

$$\frac{\mu}{\mu_m} = W_1 \cdot \mu(S_1) + W_2 \cdot \mu(S_2) + \dots + W_n \cdot \mu(S_n) \quad (11)$$

در رابطه بالا  $W_1, W_2, \dots, W_n$  توابع وزنی هستند.

• عملکرد غیر بینابینی:

$$\mu = \mu(S_1) \text{ یا } \mu(S_2) \text{ یا } \dots \text{ یا } \mu(S_n) \quad (12)$$

که در رابطه (۱۲) استفاده از پایین ترین مقدار  $\mu(S_i)$  پیشنهاد شده است.

#### مدل های مصرف سوستر

ریزسازواره ها در بیوسنتز سلولی از متان محلول در محیط کشت، به عنوان منبع کربن استفاده می کنند. تنها بخشی از منبع کربن صرف افزایش جرم سلولی می شود. برای تعیین میزان کلی سوستر مصرفی از ضرایب بازده کلی سلولی استفاده می شود. نادیده گرفتن محدودیت های سرعت انتقال جرم (هنگامی که در فاز گاز ترکیبات فراری مثل متان و اکسیژن وجود دارد) خطا معنی داری در اندازه گیری سرعت واکنش ایجاد می کند [۴]. بنابراین مدل های یاد شده به صورت زیر نوشته می شوند:

$$r_M = \frac{dC_M}{dt} = \frac{-1}{Y_{X/M}} \mu C_X + K_L a_M (C_M^* - C_M) \quad (13)$$

$$r_O = \frac{dC_O}{dt} = \frac{-1}{Y_{X/O}} \mu C_X + K_L a_O (C_O^* - C_O) \quad (14)$$

که  $Y_{X/O}$  و  $Y_{X/M}$ ، ضریب بازده سلولی و  $C_M^*$  و  $C_O^*$ ، غلظت اشباع متان و اکسیژن در فاز مایع هستند که با کمک رابطه هنری زیر محاسبه می شوند:

$$C_M^* = \frac{P}{H_M} y_M \quad (15)$$

$$C_O^* = \frac{P}{H_O} y_O \quad (16)$$

$y_M, y_O, P$  و  $H$  به ترتیب غلظت مولی متان، اکسیژن، فشار کل و ضریب هنری (که برای متان و اکسیژن متفاوت است) هستند. ضرایب سرعت واکنش زیستی از روش مصرف کامل سوستر با زمان (به صورت آزمایشگاهی) و تطابق داده ها با مدل، محاسبه می شود [۲، ۷، ۱۱، ۱۲]. در این تحقیق، با استفاده از مدل های ارائه شده به بررسی مدل ریاضی سینتیک رشد باکتری در تولید پروتئین تک

روشن نمودن پمپ، خلاء در فشار ۷۶۰ mmHg- قرار داده شد. دمای فلاسک در ۳۰ °C با استفاده از انکوباتور و pH بین ۶/۸ تا ۷/۲ توسط محلول یک نرمال HCl/NaOH تنظیم شد.

## روش آزمایش

### اندازه‌گیری اکسیژن و متان محلول

میزان اکسیژن و متان محلول، به ترتیب با استفاده از حسگر اکسیژن (Oximeter WTW Oxi325 A/SET) و حسگر غشایی متان محلول (بر پایه لوله سیلیکون) محاسبه شد. ضریب حجمی انتقال جرم اکسیژن با روش دینامیک گازدهی، اندازه‌گیری شد [۱۴]. در فلاسک آب‌بندی شده با دور ۲۷۷۵ g ضریب حجمی انتقال جرم اکسیژن در حدود  $0.001$  تا  $0.005$  بدست آمد [۱] که در مدل سازی، برابر با  $0.003$  در نظر گرفته شد. ضریب حجمی انتقال جرم متان نیز برابر است با [۱۷]-

$$K_L a_M = K_L a_O / 1.37 \quad (17)$$

### اندازه‌گیری وزن خشک سلولی

برای اندازه‌گیری وزن خشک سلولی، مقدار معینی از نمونه در لوله‌های آزمایش ریخته شد و سپس در مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۴۱۰ g سانتریفیوژ شد. سپس، جهت خشک نمودن، نمونه در آون قرار داده شد. اختلاف وزن اولیه و نهایی برابر با میزان توده زیستی است.

## حل مدل

### شرایط اولیه

غلظت اولیه توده سلولی در کشت ریزسازواره متانوتروف برابر با  $0.05$  گرم وزن خشک در لیتر، اندازه‌گیری شد. غلظت اولیه متان و اکسیژن محلول، با فرض اشباع شدن محیط کشت از هر دو سوبسترا در ابتدای رشد سلولی محاسبه شدند.

## روش حل

برای حل عددی مدل‌ها از نرم افزار MATLAB و تابع ODE45 استفاده شد. بهترین مقادیر پارامترها از روش حداقل کردن جمع مربع خطاهای نسبی، توسط روش عددی Nelder-Mead بین مقادیر پیش‌بینی شده و تجربی تخمین زده شدند. بهینه‌سازی پارامترها به حدس‌های

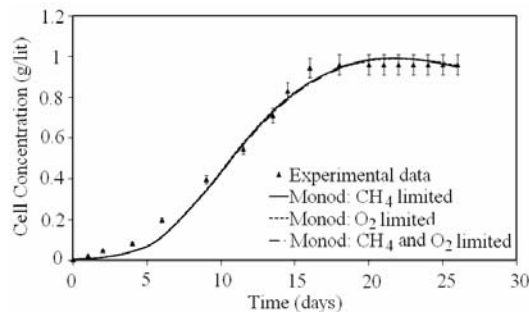
اولیه بستگی دارد.

مقادیر حدس اولیه از مراجع و کتاب‌های مرتبط با ریزسازواره‌های متیلوتروف استخراج شد [۱،۴،۶،۹].

## نتایج و بحث

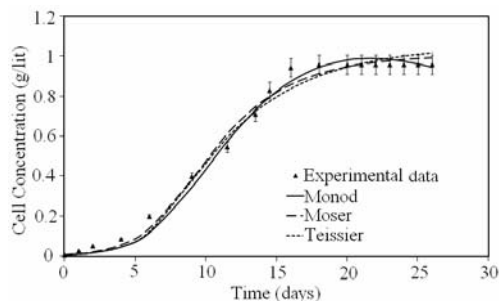
### رشد میکروبی

شکل (۲) نتایج تجربی و مدل‌سازی رشد میکروبی را برحسب زمان، طبق مدل موند، با در نظر گرفتن متان و یا اکسیژن محلول، به‌عنوان سوبسترای محدودکننده رشد، نشان می‌دهد. این شکل، نشان می‌دهد برای زمانی که نسبت دو سوبسترا در طول فرآیند، ثابت نگه‌داشته شده، تفاوت زیادی در انتخاب مدل، به‌صورت عملکرد بینابینی و یا غیربینابینی، برای تعیین سوبسترای محدودکننده رشد، وجود ندارد.



شکل ۲: تغییرات توده زیستی با زمان بر اساس مدل موند بر مبنای محدودکنندگی اکسیژن، متان و یا مخلوط اکسیژن و متان محلول و داده‌های تجربی.

شکل (۳) نتایج تجربی و مدل‌سازی رشد میکروبی را برحسب زمان، طبق مدل موند، موسر و تسیر با در نظر گرفتن متان محلول به‌عنوان سوبسترای محدودکننده رشد نشان می‌دهد. بنابر شکل ۳، مدل موند در مقایسه با دو مدل دیگر، فاز مرگ سلولی را بهتر پیش‌بینی می‌کند.



شکل ۳: تغییرات توده زیستی با زمان بر اساس مدل موند، موسر و تسیر بر مبنای محدودکنندگی متان محلول و داده‌های تجربی.

است. میانگین شدت بیشینه رشد سلولی برای مدل موند، برابر با 0.79 1/day به دست آمد.

### مصرف سوپستراها

نتایج تجربی و مدل سازی مقدار اکسیژن و متان محلول در محیط کشت سلولی، بر حسب زمان در شکل های (۴) و (۵) نشان داده شده است. مقدار متان و اکسیژن محلول در محیط کشت سلول، همراه با افزایش سرعت تولید توده سلولی کاهش پیدا می کند. به عبارت دیگر، زمانی که سرعت رشد سلولی کم است، میزان اکسیژن و متان محلول در دسترس سلول، زیاد است و با افزایش رشد سلولی، میزان مصرف متان و اکسیژن حل شده، افزایش می یابد.

بنابر شکل های (۲) و (۳)، سرعت رشد میکروبی و یا تولید توده سلولی، در ابتدا کم بوده و سپس با گذشت زمان، به مقدار ثابتی می رسد پس از آن به آرامی از سرعت تولید توده سلولی کاسته شده و به صفر می رسد. به عبارت دیگر، توده سلولی در آن بازه افزایش نمی یابد و در مرحله بعد، مرگ سلولی اتفاق می افتد. همچنین، این شکل ها نشان می دهند که مدل های موند، تسیر و موسر به خوبی می توانند فازهای تاخیر، رشد لگاریتمی، سکون و مرگ را بنابر داده های تجربی، پیش بینی کنند. توانایی پیش بینی فاز سکون، توسط مدل ها به دلیل وجود ضریب مرگ سلولی با زمان است. مقدار پارامترهای سینتیکی به دست آمده بر اساس مدل های مختلف در جدول (۱) ارائه شده

جدول ۱: پارامترهای سینتیکی مدل ها با در نظر گرفتن ثابت مرگ سلولی متغیر با زمان در سینتیک رشد.

Kinetic models		Kinetic parameters									
Methane	Oxygen	$\mu_{max}$ (1/day)	$K_M$ (g/L)	$K_O$ (g/L)	$K_{IO}$ (g/L)	n (-)	$Y_{X/M}$ (g/g)	$Y_{X/O}$ (g/g)	$K_d(\infty)$ (1/day)	$-n_d$ (-)	
Monod	-	0.809	$1.89 \cdot 10^{-3}$	-	-	-	0.141	0.234	0.219	0.303	
-	Monod	0.765	-	$1.34 \cdot 10^{-3}$	-	-	0.0934	0.164	0.318	0.0303	
Monod	Monod	0.783	$3.49 \cdot 10^{-3}$	$1.1 \cdot 10^{-7}$	-	-	0.0895	0.148	0.89	0.00802	
Monod	Substrate inhibition	0.838	$1.89 \cdot 10^{-3}$	$6.61 \cdot 10^{-8}$	6.364	-	0.147	0.243	0.229	0.633	
-	Substrate inhibition	2.58	-	$3.97 \cdot 10^{-3}$	$1.83 \cdot 10^{-3}$	-	0.263	0.466	0.207	0.391	
Moser	-	1.47	-	0.0663	-	0.565	0.165	0.277	0.266	0.464	
-	Moser	1.16	-	0.0118	-	0.704	0.154	0.27	0.251	0.435	
Monod	Moser	0.75	$2.72 \cdot 10^{-3}$	$4.63 \cdot 10^{-4}$	-	0.00757	0.102	0.169	0.227	0.0577	
Moser	Monod	1.35	0.0445	$1.16 \cdot 10^{-5}$	-	0.619	0.154	0.257	0.243	0.49	
Teissier	-	0.766	$2.64 \cdot 10^{-3}$	-	-	-	0.132	0.218	0.198	90670	
-	Teissier	10.03	-	$4.86 \cdot 10^{-4}$	-	-	0.0153	0.0271	0.548	201	
Monod	Teissier	2.63	$1.83 \cdot 10^{-3}$	$9.28 \cdot 10^{-3}$	-	-	0.041	0.0701	$1.03 \cdot 10^{-6}$	0.0115	
Monod	Aiba	0.986	$2.60 \cdot 10^{-3}$	$1.1 \cdot 10^{-5}$	0.0587	-	0.139	0.23	0.21	0.786	
Monod	Andrews	1.49	$4.57 \cdot 10^{-3}$	$1.47 \cdot 10^{-7}$	$2.34 \cdot 10^{-7}$	-	0.0336	0.235	-2.79	0.0075	

جدول ۲: ارزیابی مقادیر محاسبه شده مدل ها برحسب داده های تجربی

با در نظر گرفتن ثابت مرگ سلولی در سینتیک رشد.

Kinetic model		R <sup>2</sup> coefficient			The average of the squares of errors
Methane	Oxygen	R <sup>2</sup> <sub>X</sub>	R <sup>2</sup> <sub>M</sub>	R <sup>2</sup> <sub>O</sub>	
Monod	-	99.69	99.24	99.27	0.00189
-	Monod	99.76	99.38	99.16	0.00168
Monod	Monod	99.75	99.20	99.25	0.00170
Monod	Substrate inhibition	99.69	99.23	99.27	0.00189
-	Substrate inhibition	99.62	99.31	98.96	0.00213
Moser	-	99.74	99.56	99.52	0.00137
-	Moser	99.73	99.55	99.38	0.00150
Monod	Moser	99.76	99.21	99.25	0.00174
Moser	Monod	99.72	99.47	99.46	0.00148
Teissier	-	99.61	98.91	99.01	0.00238
-	Teissier	99.50	99.46	98.99	0.00212
Monod	Teissier	95.19	95.62	95.32	0.00122
Monod	Aiba	99.63	99.12	99.19	0.00203
Monod	Andrews	39.7	41.39	42.31	1.48

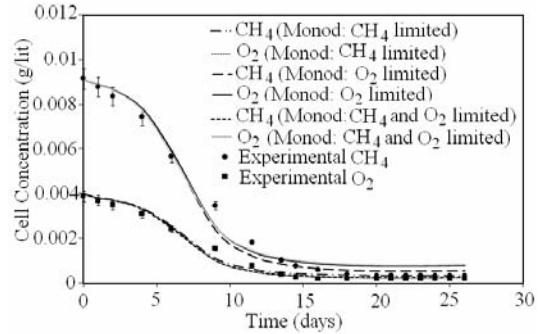
### مقایسه مدل ها

از میان مدل‌های بسیاری که در مقالات ارائه شده و در آنها سرعت ویژه رشد با غلظت سوبسترا ارتباط پیدا می‌کند، مدل‌های موند، موسر، بازدارندگی سوبسترا، تسیر و آیب‌ا به‌خوبی با داده‌های تجربی مطابقت داده شده‌اند (جدول (۲)). بنابر جدول (۳)، زمانی که از ضریب مرگ سلولی متغیر با زمان استفاده نشد، این مدل‌ها نتوانستند به‌خوبی فازهای ایستایی و مرگ را برای شرایط انجام آزمایش بیان کنند و در این صورت، مدل‌ها فقط می‌توانند فرآیند رشد سلولی را تا ابتدای فاز سکون پیش‌بینی کنند. میانگین مربع خطاهای نسبی محاسبه شده از داده‌های تجربی و مقدارهای به‌دست آمده از مدل‌ها و ضریب تشخیص نرمال گزارش شده در جدول (۲) نشان می‌دهند که مدل‌های موند و موسر برای توصیف تولید توده سلولی مناسب‌اند.

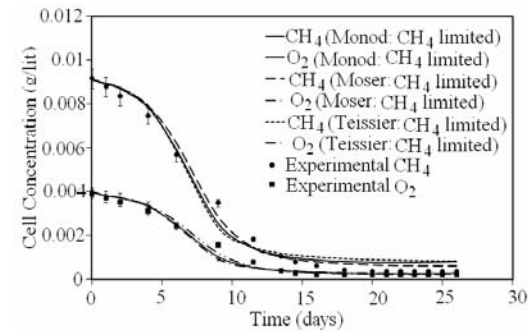
همچنین، این جدول نشان می‌دهد، در شرایط خاص، فرآیند تولید پروتئین تک یاخته از گاز طبیعی (که نسبت دو سوبسترا در طول فرآیند ثابت نگه‌داشته شده است) تفاوت زیادی در انتخاب مدل به صورت عملکرد بینابینی و یا غیر بینابینی در تعیین هر کدام از سوبستراها به‌عنوان سوبسترای محدودکننده رشد، وجود ندارد. البته، با توجه به زیاد شدن تعداد پارامترهای سینتیکی در شرایط بیان شده، انتخاب مدل به‌صورت عملکرد بینابینی توصیه نمی‌شود.

از میان مدل‌های بررسی شده به غیر از مدل اندروس و نوک، سایر مدل‌ها می‌توانند رشد سلولی و مصرف سوبسترا را پیش‌بینی کنند.

میانگین مربع خطاهای نسبی محاسبه شده از داده‌های تجربی و مقدارهای به‌دست آمده از مدل‌ها و ضریب تشخیص نرمال در جدول (۲) گزارش شده است، همانطور که این جدول نشان می‌دهد مدل‌های موند و موسر همراه با در نظر گرفتن ثابت مرگ سلولی متغیر با زمان برای توصیف تغییرات غلظت سوبسترای متان و اکسیژن محلول مناسب هستند. شکل‌های (۴) و (۵) تطبیق مدل‌های مختلف با داده‌های تجربی را نشان می‌دهند.



شکل ۴: تغییرات غلظت متان و اکسیژن محلول با زمان بر اساس مدل موند بر مبنای محدودکنندگی اکسیژن، متان و یا مخلوط اکسیژن و متان محلول و داده‌های تجربی.



شکل ۵: تغییرات غلظت اکسیژن و یا متان محلول با زمان بر اساس مدل‌های موند، موسر و تسیر بر مبنای محدودکنندگی متان محلول و داده‌های تجربی.

جدول ۳: ارزیابی مقادیر محاسبه شده مدل‌ها برحسب داده‌های تجربی با در نظر گرفتن ثابت مرگ سلولی در سینتیک رشد.

Kinetic model		R <sup>2</sup> coefficient			The average of the squares of errors
Methane	Methane	R <sup>2</sup> <sub>X</sub>	R <sup>2</sup> <sub>M</sub>	R <sup>2</sup> <sub>O</sub>	
Monod	-	93.67	99.63	99.47	0.00771
-	Monod	93.67	99.67	99.46	0.00772
Contois	Contois	93.96	98.48	98.47	0.00912
Monod	Contois	93.67	99.63	99.47	0.00773
Contois	Monod	93.91	98.55	98.53	0.00907

## نتیجه گیری کلی

در این تحقیق، مشخصه‌های سینتیک رشد سلولی باکتری متانوتروف در تولید پروتئین تک یاخته از گاز طبیعی با استفاده از مدل‌های سینتیکی مختلف بررسی شد. نتایج حاصل از مدل‌سازی نشان داد که مدل‌های موند و موسر، با در نظر گرفتن ضریب مرگ سلولی متغیر با زمان در سینتیک رشد می‌توانند تولید توده سلولی را به خوبی بیان کنند. همچنین پارامترهای سینتیکی مدل‌های مختلف، محاسبه شد. نتایج نشان داد توانایی دو روش عملکرد بینابینی و غیر بینابینی برای دو سوپسترا در مدل‌سازی و توصیف رشد سلولی، تقریباً یکسان است.

## فهرست علائم

$K$ : ثابت اشباع  
 $n$ : توان مدل موسر  
 $n_d$ : توان ثابت مرگ  
 $P$ : فشار (atm)  
 $r$ : سرعت تولید یا مصرف (g/(lit.day))  
 $R^2$ : ضریب تشخیص  
 $S$ : غلظت سوپسترا (g/lit)  
 $t$ : زمان (day)  
 $\gamma$ : جزئی مولی در فاز گاز  
 $Y_{XM}$ : بهره تولید توده سلولی متان (g/g)  
 $Y_{X/O}$ : بهره تولید توده سلولی اکسیژن (g/g)  
 $\alpha$ : عکس ثابت زمانی مرگ سلولی (1/day)  
 $\mu$ : شدت رشد سلولی (1/day)  
 $\mu_{max}$ : شدت بیشینه رشد سلولی (1/day)  
 $M$ : متان  
 $O$ : اکسیژن  
 $S$ : سوپسترا  
 $X$ : توده سلولی

$C$ : غلظت محلول (g/lit)

$C^*$ : غلظت محلول اشباع (g/lit)

$H$ : ثابت هنری (atm/mol)

$K_d$ : ضریب مرگ سلولی (1/day)

$K_I$ : ثابت بازدارندگی سوپسترا

$K_{La}$ : ضریب حجمی انتقال جرم (1/day)

## مراجع

- 1 - Yazdian, F., Hajizadeh, S., Shojaosadati, S. A., Khalilzadeh, R., Jahanshahi, M. and Nosrati, M. (2005). "Production of single cell protein from natural gas: parameter optimization and RNA evaluation." *Iranian Journal of Biotechnology*, Vol. 3, PP. 235-242.
- 2 - Birol, G., Doruker, P., Kardar, B., Onsan, Z. I., and Ulgen, K. (1998). "Mathematical description of ethanol fermentation by immobilised *Saccharomyces cerevisiae*." *Process Biochemistry*, Vol. 33, PP. 763-771.
- 3 - Phisalaphong, M., Srirattana, N. and Tanthapanichakoon, W. (2006). "Mathematical modeling to investigate temperature effect on kinetic parameters of ethanol fermentation." *Biochemical Engineering Journal*, Vol. 28, PP. 36-43.
- 4 - Smith, L. H., Kitanidis, P. K. and McCarty, P. L. (1997). "Numerical modeling and uncertainties in rate coefficients for methane utilization and TCE cometabolism by a methane-oxidizing mixed culture." *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. 53, PP. 320-331.
- 5 - Alagappan, G. and Cowan, R. M. (2004). "Effect of temperature and dissolved oxygen on the growth kinetics of *Pseudomonas putida* F1 growing on benzene and toluene." *Chemosphere*, Vol. 54, PP. 1255-1265.
- 6 - Wendlandt, K. D., Jechorek, M., Bruhl, E. (1993). "The influence of pressure on the growth of methanotrophic bacteria." *Acta biotechnology*, Vol. 13, PP. 111-115.
- 7 - Benkortbi, O., Hanini, S. and Bentahar, F. (2007). "Batch kinetics and modeling of pleuromutilin production by *Pleurotus mutilis*." *Biochemical Engineering Journal*, Vol. 36, PP. 14-18.
- 8 - Lamb, S. C. and Garver, J. C. (1980). "Interspecific interactions in a methane-utilizing mixed culture." *Biotechnology and Bioengineering*, Vol. XXII, PP. 2119-2135.

- 
- 9 - Kargi, F. and Shuler M. (2004). *Bioprocess Engineering, 2nd. ed.*, Pritice-Hall of India, New Delhi.
- 10 - Nauman, E. B. (2008). *Chemical Reactor Design, Optimization, and Scaleup, 2nd. ed.*, McGraw-Hill, New York.
- 11 - Nakhla, G., Liu, V. and Bassi, A. (2006). "Kinetic modeling of aerobic biodegradation of high oil and grease rendering wastewater". *Bioresource Technology*, Vol. 97, PP. 131-139.
- 12 - Ince, M., Yildiz, F., Onkal Engin, G., Engin, S.N. and Keskinler, B. (2008). "Respirometric kinetic parameter calculations of a batch jet loop bioreactor treating leachate and oxygen uptake rate estimation by DMT." *Journal of Hazardous Materials*, Vol. 153, PP. 991-998.
- 13 - Khosravi Darani, K., Vasheghani-Farahani, E. and Tanaka, K. (2006). "Hydrogen oxidizing bacteria as poly (hydroxy-butyrate) producers." *Iranian journal of Biotechnology*, Vol. 4, PP. 193-196.
- 14 - Chisti, M. Y. and Moo-Young, M. (1987). "Airlift reactors: characteristics, applications and design considerations." *Chemical Engineering and Communication*, Vol. 60, PP. 195-242.
- 15 - Sheehan, B. T. and Johnson, M. J. (1971). "Production of bacterial cells from methane." *Applied Microbiology*, Vol. 21, PP. 511-515.
- 16 - Yazdian, F., Shojaosadati, S. A., Nosrati, M., Mehrnia, M. R. and Vasheghani-Farahani, E., (2009). "Study of geometry and operational conditions on mixing time, gas hold up, mass transfer, flow regime and biomass production from natural gas in a horizontal tubular loop bioreactor." *Chemical Engineering Science*, Vol. 64, PP. 540-547.
- 17 - Yazdian, F., Shojaosadati, S. A., Nosrati, M., Pesaran HajiAbbas, M. and Vasheghani-Farahani, E. (2009). "Investigation of gas properties, design, and operational parameters on hydrodynamic characteristics, mass transfer, and biomass production from natural gas in an external airlift loop bioreactor." *Chemical Engineering Science*, Vol. 64, PP. 2455-2465.

واژه‌های انگلیسی به ترتیب استفاده در متن

- 1 - Monod  
2 - Moser  
3 - Teissier  
4 - Aiba  
5 - Andrews  
6 - Noack  
7 - Stopper