

文章编号 :1009 - 038X(2003)01 - 0037 - 06

在模型化基础上对青霉素补料分批发酵过程中经济效益的预测

徐亲民¹, 谷达²

(1. 河北科技大学 生物科学与工程学院, 河北 石家庄 050018; 2. Department of Fermentation, DSM Biologics, Montreal, QC, H4P 2T1, Canada)

摘要:在研究发酵动力学、生物过程反应计量学、代谢流分布和代谢流控制的基础上,结合专家知识、实验及生产数据,对生产规模的青霉素反复补料分批发酵(即半连续发酵)的全过程进行了数学模拟,建立了一套包含 25 个过程变量和一系列经济学变量的改良机理模型。根据这一模型,预测了一些工艺参数和经济学参数的改变对发酵过程经济效益的影响,发现在保持最大生物质浓度、稀释速率,及其它工艺条件不变的情况下,中间放料间隔时间、初始发酵液体积以及葡萄糖和电力的价格对经济效益产生较大的影响。模拟运算结果表明,葡萄糖和电力的价格降低 5%,全年利润可分别提高 6.35% 和 3.75%;中间放料间隔时间由 24 h 缩短为 12 h 和 1 h(接近于连续发酵),全年利润可分别提高 7.22% 和 14.11%;初始发酵液装罐体积分数由 75% 提高到 85%,全年发酵利润可提高 5.48%。

关键词:反复补料分批发酵;连续发酵;改良机理模型;青霉素;经济效益

中图分类号:R 978.1

文献标识码:A

Modeling-Based Prediction of Economic Performance for Fed-Batch Fermentation Process of Penicillin

XU Qin-min¹, GU Da²

(1. College of Bioscience and Bioengineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang 050018, China; 2. Department of Fermentation, DSM Biologics, Montreal, QC, H4P 2T1, Canada)

Abstract: An improved mechanistic (semi-continuous) model including 25 process variables and a series of cost variables was set up for repeated fed-batch penicillin fermentation process in an industrial-scale bioreactor. The model is based on research of fermentation kinetics and bioprocess stoichiometry, and on analysis of metabolic flux distribution and control, and also combined with expert knowledge and vast amount of experimental and industrial data. With this model, the influence of some process variables and cost variables on economic performance of the fermentation process can be predicted. It was discovered that, the price of glucose and electric power, the initial volume of the broth, and the interval of withdrawing the broth in fermentation process had a great effect upon economic performance, while the maximum biomass concentration, the maximum operation volume, the dilution rate, and other

收稿日期 2002-06-21; 修回日期 2002-09-09.

作者简介:徐亲民(1944-),男,江西南丰人,教授.

万方数据

fermentation conditions were kept at same levels. The simulation results show that, the price of glucose and electric power drops 5%, the profit of penicillin fermentation per year would increase 6.36% and 3.75%, respectively; if the initial volume of the broth is increased to 85% of maximum operation volume from 75%, the profit per year would increase 5.48%; and when the interval of withdrawing the broth is shortened from 24 h to 12 h and 1 h (which is almost a continuous fermentation), the profit per year would increase 7.22% and 14.11%, respectively.

Key words: repeated fed-batch fermentation; continuous fermentation; improved mechanistic modeling; penicillin; economic performance

符号和缩略语一览表

| 符号 | 含义 | 单位 | | | |
|----------------|--------------------|---|-----------------|--------------------------|------------------------------------|
| | | | Y_{GN} | 生物质相对于氮元素消耗的纯生长得率 | $\text{kg} \cdot \text{kg}^{-1}$ |
| 工艺变量: | | | Y_{PC} | 青霉素相对于碳源消耗的纯生产得率 | $\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ |
| C_C | 发酵液中以葡萄糖表示的碳源浓度 | $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ | Y_{PN} | 青霉素相对于氮元素消耗的纯生产得率 | $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ |
| C_{CR} | 补料液中以葡萄糖表示的碳源浓度 | $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ | Y_{PS} | 青霉素相对于硫元素消耗的纯生产得率 | $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ |
| ρ_N | 发酵液中以氮原子表示的氮源质量浓度 | $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ | Y_{PP} | 青霉素相对于苯乙酸消耗的纯生产得率 | $\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ |
| ρ_{NR} | 补料液中以氮原子表示的氮源质量浓度 | $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ | μ | 生物质净比生长速率 | h^{-1} |
| C_{PAA} | 发酵液中的苯乙酸浓度 | $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ | μ_d | 细胞死亡速率 | h^{-1} |
| C_{PAAR} | 补料液中的苯乙酸浓度 | $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ | μ_g | 细胞毛生长速率 | h^{-1} |
| ρ_S | 发酵液中以硫原子表示的硫源质量浓度 | $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ | μ_{\max} | 最大生物质比生长速率 | h^{-1} |
| ρ_{SR} | 补料液中以硫原子表示的硫源质量浓度 | $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ | 经济学变量: | | |
| C_P | 发酵液中产物(青霉素)的浓度 | $\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$ | A | 发酵工厂(车间)固定资产原值 | 元 |
| ρ_X | 发酵液中生物质(以干重计)的质量浓度 | $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$ | B | 年发酵生产批数 | - |
| D | 净稀释速率 | h^{-1} | E | 发酵过程的能源消耗量 | kJ |
| D_e | 水分蒸发率 | h^{-1} | M | 发酵过程碳、氮、硫源和苯乙酸以外的原材料消耗质量 | kg |
| D_g | 补料毛稀释速率 | h^{-1} | n | 发酵工厂(车间)运转发酵罐总台数 | - |
| D_m | 代谢水分生成率 | h^{-1} | t_a | 发酵罐辅助操作时间 | h |
| K_h | 发酵过程中青霉素一级水解速率常数 | h^{-1} | T_W | 发酵工厂(车间)全年连续生产时数 | h |
| K_X | Contois 饱和常数 | $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ | θ_C | 碳源价格 | 元/kg |
| m_C | 碳源维持系数 | $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ | θ_E | 能源价格 | 元/kJ |
| Q_P | 青霉素比生产速率 | $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ | θ_M | 碳、氮、硫源和苯乙酸以外的原材料价格 | 元/kg |
| $Q_{P_{\max}}$ | 最大青霉素比生产速率 | $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ | θ_N | 氮源价格 | 元/kg |
| t | 发酵时间 | h | θ_P | 青霉素价格 | 元/kg |
| V | 发酵液体积 | m^3 | θ_{PAA} | 苯乙酸价格 | 元/kg |
| Y_{GC} | 生物质相对于碳源消耗的纯生长得率 | $\text{kg} \cdot \text{mol}^{-1}$ | θ_S | 硫源价格 | 元/kg |
| 万方数据 | | | θ_α | 固定资产折旧率 | - |

| | | |
|---------|----------|---|
| η | 青霉素提取收得率 | - |
| π | 发酵产值 | 元 |
| Ψ | 发酵成本 | 元 |
| ζ | 发酵利润 | 元 |

缩略语:

PAA 苯乙酸

抗生素的发酵生产是一种高物耗、高能耗、高环境负荷、高成本的产业。多年来,人们一直致力于优化发酵过程,以期不断提高产率,降低消耗和成本,减轻环境负荷。发酵过程模型化及在此基础上实行的优化控制,是这种努力的一个重要方面。特别是青霉素发酵,由于其产品在工业和医疗上的重要价值^[1],其模型化及优化长期以来一直成为各国学者研究的焦点。

当今,青霉素的工业生产普遍采用反复补料分批发酵方法进行。这种发酵方法是 Court 和 Pirr^[2] 早年创立的,又称半连续发酵,即当发酵液体积由于补料而上升达到发酵罐的最大操作容积时,按一定比例放出一部分发酵液,如此周而复始,反复操作。显然,这种操作方法可以有较大的初始发酵液体积和较长的发酵周期,并能控制较为平稳的生物质和各项基质浓度以及较为均衡的生物质生长龄分布,达到接近于连续发酵稳定状态的所谓“准稳态”^[3],从而大大提高发酵罐的容积利用率和发酵产率,并相应降低发酵成本。

作者在长期进行发酵工艺和经济学研究^[4~8]的基础上,从青霉素反复补料分批发酵过程的模型化入手,把工艺过程的模拟和经济上投入与产出过程的模拟有机地结合起来,通过一种改良机理模型,对影响发酵过程经济效益的各种主要操作变量

和经济学变量的相关关系进行了系统研究,发现了一些以前较少注意到的现象和规律,为生产过程中工艺与成本的连动优化控制及工艺改变对经济效益影响的预测提供了一种可行方法。

1 青霉素反复补料分批发酵过程的改良机理模型

首先,由质量与能量守恒定律推导出青霉素反复补料分批发酵过程的机理模型;然后,用实验数据和专家知识对这一模型进行修正和经验处理,得出一组由表 1 所列基本动力学方程式。这些方程式中的参数如表 2 所示,它们有的来源于相关文献^[10],有的由作者根据生产和实验数据推算得到。

表 1 青霉素反复补料分批发酵的基本动力学方程式

Tab.1 Basic kinetics equations for the repeated fed-batch penicillin fermentation

$$\frac{d(\rho_X V)}{dt} = \mu \rho_X V \quad (1)$$

$$\frac{d(C_C V)}{dt} = C_{CR} D_g V - \left(m_C + \frac{\mu}{Y_{GC}} + \frac{Q_P}{Y_{PC}} \right) \rho_X V \quad (2)$$

$$\frac{d(\rho_N V)}{dt} = \rho_{NR} D_g V - \left(\frac{\mu}{Y_{GN}} + \frac{Q_P}{Y_{PN}} \right) \rho_X V \quad (3)$$

$$\frac{d(\rho_S V)}{dt} = \rho_{SR} D_g V - \left(\frac{\mu}{Y_{GS}} + \frac{Q_P}{Y_{PS}} \right) \rho_X V \quad (4)$$

$$\frac{d(C_{PAA} V)}{dt} = C_{PAAR} D_g V - \frac{Q_P}{Y_{PP}} \rho_X V \quad (5)$$

$$\frac{d(C_P V)}{dt} = Q_P \rho_X V - K_h C_P V \quad (6)$$

$$\frac{dV}{dt} = DV \quad (7)$$

表 2 青霉素反复补料分批发酵模型化的基本参数

Tab.2 Parameter sets used in the modeling for repeated fed-batch penicillin fermentation

| 参数名称 | 符号 | 数值 | 单位 | 数值来源 |
|----------------|-------------|-------|----------------------------------|-----------|
| 最大比生长速率 | μ_{max} | 0.105 | h^{-1} | 由实验数据估计 |
| Contois's 饱和常数 | K_X | 0.033 | $mol \cdot kg^{-1}$ | 参考文献 [13] |
| 维持系数 | m_C | 0.15 | $mol \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$ | 由实验数据估计 |
| 相对于碳源的纯生长得率 | Y_{GC} | 0.086 | $kg \cdot mol^{-1}$ | 参考文献 [13] |
| 相对于碳源的纯生产得率 | Y_{PC} | 0.39 | $mol \cdot mol^{-1}$ | 参考文献 [14] |
| 相对于氮源的纯生长得率 | Y_{GN} | 13.2 | $kg \cdot kg^{-1}$ | 由实验数据估计 |
| 相对于氮源的纯生产得率 | Y_{PN} | 33.9 | $mol \cdot kg^{-1}$ | 由实验数据估计 |
| 相对于硫源的纯生长得率 | Y_{GS} | 330 | $kg \cdot kg^{-1}$ | 由实验数据估计 |
| 相对于硫源的纯生产得率 | Y_{PS} | 31.2 | $mol \cdot kg^{-1}$ | 由实验数据估计 |
| 相对于苯乙酸的纯生产得率 | Y_{PP} | 0.98 | $mol \cdot mol^{-1}$ | 由实验数据估计 |
| 最大比生产速率 | $Q_{P,max}$ | 0.028 | $mol \cdot kg^{-1} \cdot h^{-1}$ | 由实验数据估计 |
| 青霉素降解速率常数 | K_h | 0.01 | h^{-1} | 参考文献 [15] |

表1中的比生长速率 μ 用Contois经验方程式表述^[11]:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_C}{K_X \rho_X + C_C} \quad (8)$$

对于青霉素发酵,生长限制基质为碳源,故(8)式中这一基质的浓度用 C_C 表示.另外,这里的 μ 代表的是净比生长速率,即由毛比生长速率 μ_g 减去比死亡速率 μ_d :

$$\mu = \mu_g - \mu_d \quad (9)$$

同样,稀释速率 D 也是净稀释速率,即由补料毛稀释速率 D_g 加上物质代谢的水分生成率 D_m ,减去通气造成的水分蒸发率 D_e :

$$D = D_g + D_m - D_e \quad (10)$$

2 青霉素补料分批发酵过程的经济模型

对以上动力学方程式求解,可以得出发酵过程任一时刻的生物物质浓度、产物浓度、残留基质浓度以及累计生物物质生长量、产物产量和基质消耗量.再加上以小时计的其他各项原材料、动力、工资、劳保、固定资产折旧、管理等的资产消耗率(包括价格因素),可以得出产值、成本、利润随发酵过程时间而变化的经济学模型.这一模型主要包括以下方程式:

$$\frac{d\pi}{dt} = \phi_p \eta \frac{d(C_p V)}{dt} \quad (11)$$

$$\begin{aligned} \frac{d\Psi}{dt} = & \phi_C \left((C_{CR} - C_C) D_g V - \frac{dC_C V}{dt} \right) + \\ & \phi_N \left((\rho_{NR} - \rho_N) D_g V - \frac{d\rho_N V}{dt} \right) + \\ & \phi_S \left((\rho_{SR} - \rho_S) D_g V - \frac{d\rho_S V}{dt} \right) + \\ & \phi_{PAA} \left((C_{PAAR} - C_{PAA}) D_g V - \frac{dC_{PAA} V}{dt} \right) + \\ & \sum_{i=1}^m \left(\phi_{m,i} \frac{-dM_i}{dt} \right) + \sum_{j=1}^n \left(\phi_{e,j} \frac{-dE_j}{dt} \right) + \\ & \sum_{k=1}^p \left(\phi_{a,k} \frac{-dA_k}{dt} \right) + \dots \quad (12) \end{aligned}$$

$$\frac{d\zeta}{dt} = \frac{d\pi}{dt} - \frac{d\Psi}{dt} \quad (13)$$

由(11)~(13)式可得出一个发酵批号任一发酵周期的产值、成本和利润,但考虑到单批生产的经济学数据由于发酵周期的不同而缺乏可比性,故应乘以由(14)式表达的年发酵生产批数,转化为年产值、成本和利润.

$$\text{年数据} = \frac{nT_w}{t_a} \quad (14)$$

3 青霉素反复补料分批发酵过程的模拟结果

在一组特定条件下,对以上各方程式求解,得出包括25个过程变量的青霉素发酵全过程的模拟结果.它充分体现了反复补料分批发酵过程的特征:在达到准稳定状态后,除了发酵液体积及与体积相关的变量呈周期性变化外,其余变量(主要是发酵液中各种物质的浓度)均能保持稳定.产物浓度在特定的发酵周期内呈上升趋势,但当发酵周期进一步延长,由于比生产速率不可避免地发生衰减,在达到一个最大值后将会下降.

同样,对经济学模型中各方程式求解,也可得出包括发酵过程全年产值、成本、利润等经济学参数随发酵时间变化的曲线,由这些曲线可知,发酵过程产值、成本、利润达到最高(低)点的时间不在一个横截面上.而且,随着发酵过程工艺条件的变化,这些最高(低)点的数值和相对位置可能发生显著的变化.

4 一些因素对青霉素发酵过程经济效益的影响

在发酵过程稳定状态期,保持最大生物物质浓度、最大发酵液体积、最低比生长速率(对应于稀释速率)及其它发酵条件不变的前提下,作者对一些影响发酵过程效益的敏感因素用模型进行了测试,结果如图1和图2所示.

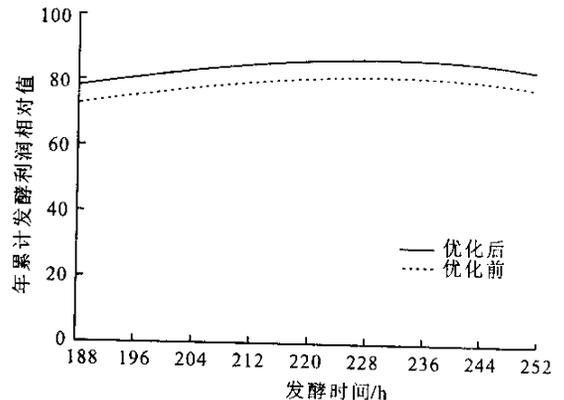


图1 葡萄糖价格降低5%对年累计发酵利润的影响

Fig.1 The effect of price of glucose drop by 5% on annual economic profit for penicillin fermentation

图1和图2中的数据表明,葡萄糖的价格降低5%,全年青霉素发酵利润可提高6.35%;当中间放料间隔时间由24h缩短为12h时,全年发酵利润可提高7.22%;中间放料间隔时间进一步缩短为

1 h,即转变成连续发酵时,则全年发酵利润可提高 14.11%。另外,当电力的价格降低 5%时,全年青霉素发酵利润可提高 3.75%;如果初始发酵液体积(即接种后体积)由最大操作体积的 75% 提高到 85%(只有反复补料分批发酵和连续发酵才能做到),全年发酵利润可提高 5.48%。

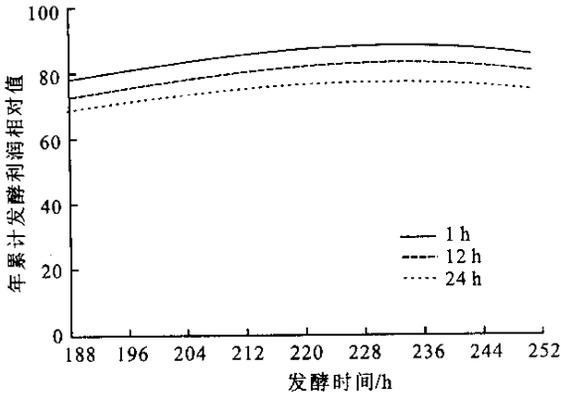


图 2 中间放料间隔时间对青霉素发酵经济效益的影响

Fig. 2 The effects of the interval of withdrawing the broth in fermentation process on economic performance for penicillin fermentation

5 讨论

葡萄糖是青霉素发酵过程中消耗最多的原材料,也是发酵总成本中最大的一项支出。中间放料间隔时间的缩短及初始发酵液体积的增加对提高经济效益的作用,则是由于增加了生物反应器的总体容积利用率。由方程式(6)和(11)可以推断,发酵产值除了与比生产速率成正比外,还与生物质浓度和发酵液体积曲线下的面积成正比。在模型分析中固定生物质浓度,就是为了排除这一因素的影响。由于高密度发酵的优点是众所周知的,所以要讨论的是重点生物反应器内发酵液体积变化方式对效益的影响。

发酵液体积不断变化是补料分批发酵包括反复补料分批发酵过程的一大特征,并因此而有别于连续发酵。作者在改变中间放料间隔时间和初始发酵液体积时,是将生物反应器的最大操作体积固定的,因此中间放料间隔时间的缩短和初始发酵液体积的增加,势必提高发酵液体积曲线的低限,加大该曲线下的面积(参见图 1),从而提高发酵产率和经济效益。但是,这种中间放料间隔时间的缩短和

初始发酵液体积的增加,必须以后加工工序能够适应为前提。如果后加工工序能够实现连续操作,那么一段时间连续发酵将是一种可取的操作方式。但作者不主张长时间连续发酵,因为抗生素一类次级代谢物的发酵生产中普遍存在菌种退化的问题,即比生产速率不断下降的问题。因此作者在建立改良机理模型时,充分考虑了这一问题。

发酵周期也是影响经济效益的一个不可忽视的因素。不同的生产菌株、不同的发酵工艺,达到全年最大经济效益的发酵周期是大不相同的。作者曾对一种以缠绕成球的菌丝形态生长的青霉素发酵过程进行研究^[4],由于菌丝球的半径随生长而不断加大,球内营养和氧的扩散逐渐受到限制,致使生产能力衰降较快,达到全年最大利润的发酵周期只有 134 h。在本研究中,使用的是形成游离菌丝的菌株,而不存在上述问题,达到全年最大利润的发酵周期都在 200 h 以上。但随着工艺条件的改变,这一最佳发酵周期也相应改变,如中间放料间隔时间为 24, 12, 1 h 时,最佳发酵周期分别为 226, 230, 231 h (见图 2)。

另外,作者曾研究过作为补料分批发酵重要操作变量的稀释速率对发酵效益的影响^[9],利用本模型可对当时的结论进行佐证:当净稀释速率由 0.005 h^{-1} 下降为 0.004 h^{-1} 时,全年青霉素发酵利润可增加 6.47%。但是,稀释速率必须根据菌株的特性和工艺要求确定,当稀释速率及与之相平衡的生物质比生长速率降低到一定数值以下时,由于与生长速率平行的生物合成酶系的更新速率满足不了青霉素合成的需要,将严重影响发酵产率。一般来说,高产菌株由于要求更高的生物合成酶系更新速率,因而需要更大的稀释速率。

6 结论

反复补料分批发酵是目前青霉素生产中普遍采用的发酵方法,它与简单补料分批发酵相比能大幅度地提高发酵产率和经济效益。发酵过程的模型化除了用于优化控制外,还对经济效益的分析和日常生产和经营管理起到一定的指导作用。根据本研究的结果,尽量缩短反复补料分批发酵中间放料的间隔时间,直到转变为连续发酵,可以较大程度地提高发酵产率和经济效益。

参考文献：

- [1] Barber M. The Penicillin Business[M]. Michael Barber and Associates ,1996.
- [2] Court J R ,Pirt S J. The application of fed-batch culture to the penicillin fermentation[A]. 5th Int. Ferment. Symp[C]. Berlin :1976.
- [3] Pirt S J. Principles of Microbe and Cell Cultivation[M]. Oxford :Blackwell Scientific ,1975.
- [4] 徐亲民,温同礼,米贯东,等.青霉素发酵过程经济学模型的建立与发酵周期的优化[A].全国生物化工反应工艺及工程学术讨论会[C]. 1991.
- [5] 米贯东,赵勇军,赵国斌,等.链霉素发酵周期与经济效益的关系[J].中国医药工业杂志,1992,23:347-349.
- [6] 徐亲民.补料分批发酵产物生成动力学的数学模拟[A].中国生物工程学会成立大会暨第一届学术研讨会[C].北京:1993.
- [7] 徐亲民.发酵过程不可测变量的计算及优化控制[A].国家医药管理局医药生产过程自动控制技术推广交流会[C].宜昌:1994.
- [8] 徐亲民,谷达,马民强,等.由排气二氧化碳分析估计青霉素发酵过程的生物质浓度[J].无锡轻工大学学报,1996,15/A:80-86.
- [9] 徐亲民.补料分批发酵过程的模拟与优化[J].无锡轻工大学学报,1996,15/A:87-92.
- [10] 徐亲民,陆旋,谷达.青霉素反复补料分批发酵过程的模型化与智能优化控制[A].朱学锋.过程控制科学技术与应用(第十三届中国过程控制年会论文集)[C].广州:华南理工大学出版社,2002.128-132.
- [11] Contois D E. Kinetics of bacterial growth: relationship between population density and specific growth rate of continuous culture[J]. J Gen Microbiol, 1959, 21:40-50.

(责任编辑 朱明)

(上接第36页)

本研究对连续取样、稀释系统进行了新的探索,基本满足生物传感器在线检测的要求.目前主要的问题是系统的设计和二次仪表的开发还需进

一步实现.随着罐外 pH 传感器、超声波测定菌浓度传感器的研制,配套以上生物反应过程在线检测系统,相信生物技术的在线检测指日可待.

参考文献：

- [1] Yailin Yang, Wu Wang. Biosensor and its application in bioprocess[A]. The 7th Tri-university International Joint Seminar & Symposium[C]. Japan :mie-academic press, 2000. 140-145.
- [2] 冯德荣,朱思荣,周万里,等.SBA-60型四电极生物传感器分析系统的研制[J].山东科学,1998(2):32-36.
- [3] Bernhard Sonnleitner. New concepts for quantitative bioprocess research and development[J]. Adv Biochem Engg/Biotechnol, 1996, 54:155-188.
- [4] 伦世仪.生化工程[M].北京:中国轻工业出版社,1991.
- [5] 马惠昌.关于流动分析的一些名词解释[J].分析仪器,2001(2):39-44.
- [6] 柳萍,苏德林,周定.流动注射分析在线稀释技术的进展[J].现代仪器,1997,33(2):87-90.
- [7] 杨海麟,冯蕾,王龙刚,等.一种新型在线级联稀释系统的研究[J].现代科学仪器,2002(5):19-22.
- [8] 王荣,黄春琴,吴跃东,等.谷氨酸氧化酶传感器芯片的研制[J].化学传感器,1999,3(9):31-34.

(责任编辑 杨萌)