文章编号:1009-038X(2004)01-0054-04

气升式发酵罐发酵黄原胶的动力学

常 春[1], 马晓建[1], 徐桂转[2], 方书起[1], 李洪亮[1]
(1. 郑州大学 化工学院, 河南 郑州 450002; 2. 河南农业大学 机电工程学院,河南 郑州 450002)

摘 要: 利用黄单孢菌研究了在 50 L 气升式发酵罐发酵黄原胶的动力学,在 logistic 方程和 Luedeking-Piret 方程的基础上,建立了两步发酵黄原胶的动力学模型,并对模型和实验数据进行了比较,进一步在 200 L 相似结构的气升式发酵罐中的试验表明,该模型能较好的对发酵动力学进行描述.

关键词: 黄原胶; 两步发酵; 发酵动力学
中图分类号:Q 815 **文献标识码**: A

Fermentation Kinetics of Xanthan Gum in Airlift Fermentor

CHANG Chun[1], MA Xiao-jian[1], XU Gui-zhuan[2], FANG Shu-qi[1], LI Hong-liang[1]
(1. College of Chemical Engineering of Zheng Zhou University, Zhengzhou 450002; 2. College of Mechanical & Electronic Engineering of Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002)

Abstract: In this article, *Xanthomonas campestris* was used to study the two-step fermentation kinetics of xanthan gum in 50 liters airlift fermentor. The fermentation kinetic models were built on the basis of logistic and Luedeking-Piret equations. The kinetic models can be used to describe the time course of the process, and fit the experimental data well. Further experiment in 200 liter airlift fermentor was carried out to verify the accuracy of the model, and the result showed that this model could also well describe the fermentation process.

Key words: xanthan gum; two-step fermentation; fermentation kinetics

黄原胶是以碳水化合物为主要原料由黄单孢菌发酵而生产的一种多糖物质[1]. 黄原胶具有许多优良的理化性质,广泛地被应用于食品、石油、化妆品、纺织印染、农药、医药、造纸等领域. 传统的黄原胶发酵均为分批发酵,多采用机械搅拌式发酵罐. 实践证明,在黄原胶发酵后期会出现严重的溶氧限制,在搅拌桨外发酵液几乎处于静止状态,为了改善搅拌效果,不得不以消耗大量的电力做为代价. 为此,人们开发出许多新型的发酵设备来改善这种状况,其中气升式发酵罐作为发酵黄原胶的新型设备令人关注. 作者采用了 50 L 的气升式发酵罐研究了黄原胶发酵的新型动力学,在此基础上建立了发酵动力学的数学模型,并利用该模型在 200 L 的气升式发酵罐中进行了进一步的验证.

1 材料与方法

1.1 菌种

野油菜黄单孢菌(*Xanthomonas campestris* QH79):由郑州大学生化工程中心提供.

收稿日期:2003-06-05; 修回日期:2003-09-05.
作者简介: 常春(1973-),男,河南郑州人,工程师,化学硕士.
万方数据

1.2　培养基

斜面培养基:成分(g/dL):蔗糖 1.5,蛋白胨 0.6,牛肉膏 0.3,NaCl 0.5,琼脂 2,pH 7.0.

种子培养基:成分同斜面培养基,不加琼脂.

发酵培养基:成分(g/dL):淀粉 4.5,蛋白胨 0.6,$CaCO_3$ 0.35,pH 7.0.

1.3　方法

种子摇瓶培养:挑取一环斜面菌种,接种于 100 mL 种子培养基,28 ℃,摇床每分钟振荡 200 次,培养 16 h. 两步补糖发酵:采用 50 L 气升式发酵罐,接种量 2%,发酵温度 28 ℃,发酵 72 h,前期风量通风比 0.8,后期通风比为 1.0. 碳源分两步加入,发酵初始加入 1/2 碳源,24 h 时,一次性补入剩余 1/2 碳源.

1.4　测定方法

1.4.1　菌体质量浓度测定　称取一定量的发酵液,根据粘度高低适当稀释 5～10 倍,于 4 000 r/min离心 40 min,离心所得的沉积物用微量凯氏定氮法测定总氮的质量,再依据下式进行计算[2]:

$$\text{菌体质量浓度(g/L)}=\frac{\text{总氮质量(g)}}{\text{发酵液量(L)}}\times\frac{1}{0.118}$$

式中,0.118 为细胞中氮质量分数(g/g).

1.4.2　黄原胶质量浓度的测定　称取适量发酵液,加入发酵液 2 倍体积的酒精,室温下搅拌 30 min,然后过滤掉酒精,再加入 1 倍体积的酒精搅拌过滤,得到的黄原胶置于烘箱中,60 ℃烘干至恒重,精密天平称量.

黄原胶质量浓度(g/L)=黄原胶干质量(g)/发酵液体积(L)

1.4.3　总糖的测定　总糖的测定采用斐林法.

2　动力学模型

在黄原胶的发酵过程中,碳源采取了 2 步利用的方法,所以发酵过程的模型有别于分批发酵的模型. 由于菌体的生长与氮源有很大的关系,而发酵中使用了复合的氮源,所以使用 Logistic 方程描述菌体生长的模型[3],即:

$$\frac{\mathrm{d}\rho}{\mathrm{d}t}=v_{\mathrm{m}}\rho\left(1-\frac{\rho}{\rho_{\mathrm{m}}}\right)$$

式中,ρ 为菌体质量浓度(g/L);v_m 为最大比生长速度(1/h);ρ_{m} 为最大菌体质量浓度(g/L);t 为发酵时间(h).

黄原胶属于胞外产物,且为生长偶联型,通常用 Luedeking-Piret(L-P) 方程来描述,即

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{p}}}{\mathrm{d}t}=A\frac{\mathrm{d}\rho}{\mathrm{d}t}+B\rho,$$

式中,ρ_{p} 为黄原胶质量浓度(g/L);A,B,C 为动力学参数.

从方程形式看,该方程为线性方程,仅有 2 项,第 1 项是生长相关项,第 2 项是非生长相关项,而 A,B 为常数. 但在实际的黄原胶发酵中,由于黄原胶质量浓度的增加,在中后期经常会出现溶氧限制,A,B 很可能是变化的,所以用 L-P 方程必然存在着局限性. 由于缺乏相应溶氧浓度的数据,仍以 L-P 方程为基础进行修正. 为了较全面地考虑到其它因素的影响,可以以二次函数的形式对方程进行修正,即

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{p}}}{\mathrm{d}t}=A\frac{1}{\rho}\left(\frac{\mathrm{d}\rho}{\mathrm{d}t}\right)^2+B\frac{\mathrm{d}\rho}{\mathrm{d}t}+C\rho$$

这一模型虽然是一种经验模型,但由于增加了二次项,所以描述的范围会更广. 上式中若 $A=0$,则变为 L-P 方程,所以该式包含了 L-P 方程.

对于底物基质的消耗,也采用 L-P 方程进行描述,即

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{s}}}{\mathrm{d}t}=-\alpha\frac{\mathrm{d}\rho}{\mathrm{d}t}-\beta\rho$$

式中,ρ_{s} 为底物质量浓度(g/L);α 为动力学参数;β 为动力学参数.

但由于采用了两步发酵的工艺,造成补糖前和补糖后不同的利用趋势,可以对发酵过程采取分段描述. 上述方程具有如下的模型形式:

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{s}}}{\mathrm{d}t}=-\alpha_1\frac{\mathrm{d}\rho}{\mathrm{d}t}-\beta_1\rho\qquad(0\leqslant t<24)$$

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{s}}}{\mathrm{d}t}=-\alpha_2\frac{\mathrm{d}\rho}{\mathrm{d}t}-\beta_2\rho\qquad(24\leqslant t\leqslant 72)$$

由此,得到了两步发酵黄原胶的动力学模型,即

$$\frac{\mathrm{d}\rho}{\mathrm{d}t}=v_{\mathrm{m}}\rho\left(1-\frac{\rho}{\rho_{\mathrm{m}}}\right)$$

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{p}}}{\mathrm{d}t}=A\frac{1}{\rho}\left(\frac{\mathrm{d}\rho}{\mathrm{d}t}\right)^2+B\frac{\mathrm{d}\rho}{\mathrm{d}t}+C\rho$$

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{s}}}{\mathrm{d}t}=-\alpha_1\frac{\mathrm{d}\rho}{\mathrm{d}t}-\beta_1\rho\qquad(0\leqslant t<24)$$

$$\frac{\mathrm{d}\rho_{\mathrm{s}}}{\mathrm{d}t}=-\alpha_2\frac{\mathrm{d}\rho}{\mathrm{d}t}-\beta_2\rho\qquad(24\leqslant t\leqslant 72)$$

3　结果与讨论

3.1　两步发酵黄原胶的代谢

图 1 是两步发酵过程的代谢曲线. 在发酵过程中,菌体在 24 h 后基本进入稳定期. 之后,菌体质量浓度基本保持不变,到了后期,菌体质量浓度呈下降趋势,可能是菌体自溶的结果. 产胶 24 h 后明显开始,产胶初期产胶速度很快,黄原胶质量浓度增

万方数据

长也很快，到了后期，产胶速度减慢，胶体质量浓度也基本稳定. 总糖的变化从一开始就呈下降趋势，24 h 由于补糖，总糖升高，之后再次呈下降趋势，直至发酵结束. 经与分批发酵试验对比，其最终结果要好于分批发酵的结果[4]，这与有关的研究结果相一致[5].

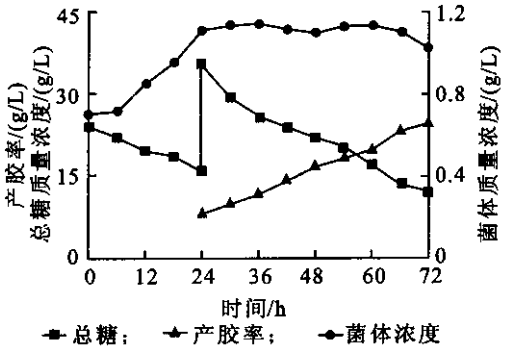

图 1 两步补糖发酵过程图

Fig. 1 The time course of two-step sugar feeding fermentation

3.2 黄原胶菌体生长动力学特征

可以用 Logistic 方程来描述菌体生长的模型，即

$$\frac{d\rho}{dt} = v_m\rho(1-\frac{\rho}{\rho_m})$$

采用龙格库塔 - 单纯形法进行数据处理[6]，求得模型参数，经数值计算回归，得到模型参数 $\rho_m = 1.119$，$v_m = 0.094\ 6$. 代入模型中得到菌体生长的动力学模型：

$$\frac{d\rho}{dt} = 0.094\ 6\rho(1-\frac{\rho}{1.119})$$

利用龙格-库塔解数值微分方程可得到相应时刻的菌体质量浓度，结果见图 2.

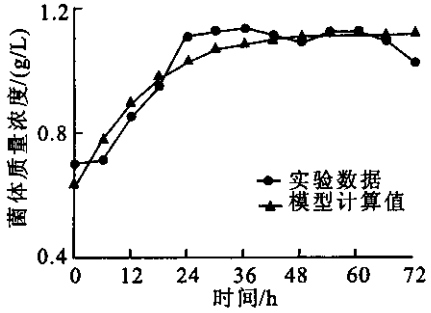

图 2 黄原胶发酵菌体生长动力学模型与实验数据拟合曲线

Fig. 2 Comparison of biomass kinetic model result and experimental data

从图 2 中看到，结果基本与实验值相符. 经计算其平均相对误差为 4.52%.

3.3 黄原胶合成动力学特征

如前所述，黄原胶合成动力学模型是在 L-P 方程的基础上修正的以二次函数的形式来表达，即

$$\frac{d\rho_p}{dt} = A\frac{1}{\rho}(\frac{d\rho}{dt})^2 + B\frac{d\rho}{dt} + C\rho$$

采用相同的数学方法，回归得到 A，B，C 3 个参数的值分别为：$A = -1\ 003.92$，$B = 17.107$，$C = 0.340\ 2$. 所以，黄原胶合成的动力学模型为

$$\frac{d\rho_p}{dt} = -1\ 003.92\frac{1}{\rho}(\frac{d\rho}{dt})^2 + 17.107\frac{d\rho}{dt} + 0.340\ 2\rho$$

对实验数据和理论计算解绘图，见图 3.

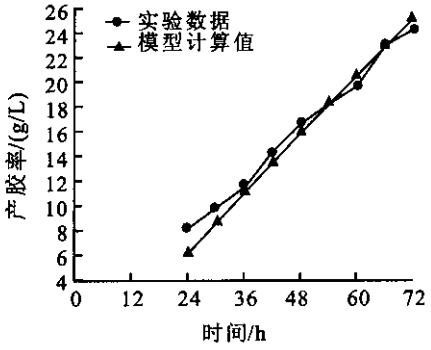

图 3 黄原胶发酵合成动力学模型与实验数据拟合曲线

Fig. 3 Comparison of Xanthan production kinetic model result and experimental data

从图 3 看到，实验数据与理论计算值符合程度比较好，计算其平均相对误差为 4.57%.

3.4 底物(总糖)消耗动力学特征

总糖的消耗分为两步进行，可采用分段描述的方法. 其模型参数经回归可求出 $\alpha_1 = 6.005$，$\beta_1 = 0.266$，$\alpha_2 = 779.3$，$\beta_2 = 0.306$. 把参数代回模型中即

$$\frac{d\rho_s}{dt} = -6.005\frac{d\rho}{dt} - 0.266\rho \qquad (0 \leqslant t < 24)$$

$$\frac{d\rho_s}{dt} = -779.3\frac{d\rho}{dt} - 0.306\rho \qquad (24 \leqslant t \leqslant 72)$$

解数值微分方程可得到理论值. 实验值和理论值比较见图 4.

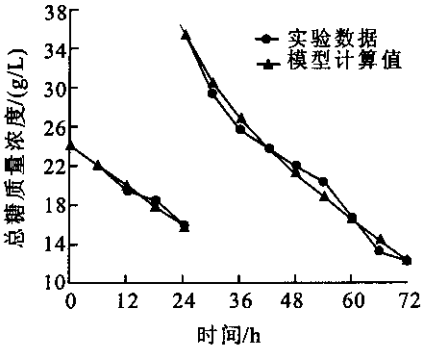

图 4 黄原胶发酵总糖消耗动力学模型与实验数据拟合曲线

Fig. 4 Comparison of total sugar consumption kinetic model result and experimental data

从图中看出，二者符合程度较好，计算其平均相对误差为 2.36%.

黄原胶发酵过程属于典型的多糖发酵过程，其分批发酵过程的动力学模型通常由 Logistic 方程和 Luedeking-Piret 方程来描述，但对于两步发酵过程

万方数据

的动力学模型却未见描述,作者在分批发酵的基础上,建立了两步发酵黄原胶的动力学模型,经理论计算与实验数据的比较证明,该模型能较好地描述两步发酵的动力学特征.

3.5　模型的进一步验证

利用 50 L 气升式发酵罐中获得的模型,对 200 L 具有相似结构的气升罐中的实验数据进一步进行验证. 结果见表 1.

表 1　200 L 气升式发酵罐中实验值与理论值的比较

Tab. 1　Comparison of experimental data and theorical data in 200 liter airlift fermentor

时间/h	菌体质量浓度实验值/(g/L)	菌体质量浓度模型计算值/(g/L)	黄原胶质量浓度实验值/(g/L)	黄原胶质量浓度计算值/(g/L)	总糖质量浓度实验值/(g/L)	总糖质量浓度计算值/(g/L)
0	0.550	1			26.00	26.00
6	0.670	0.677			24.00	22.96
12	0.835	0.855			20.50	20.92
18	0.950	0.980			18.50	17.94
24	1.110	1.030	9.00	8.11	16.80/36.30	16.02/36.30
30	1.128	1.070	9.81	8.63	29.21	30.37
36	1.135	1.090	11.56	11.09	25.74	26.69
42	1.121	1.112	14.26	13.49	23.80	23.71
48	1.192	1.189	16.66	15.84	21.90	21.13
54	1.127	1.113	18.14	18.16	20.33	18.78
60	1.127	1.116	20.55	20.47	15.76	15.54
66	1.097	1.117	23.04	22.76	13.31	14.41
72	0.926	0.937	25.03	25.20	13.11	13.30
平均相对误差/%		2.7		4.3		3.4

从放大试验的对比数据看,模型的计算值和真实值之间的误差均小于 5%,具有较高的准确性,这也进一步表明了该模型能较好地对黄原胶在气升式发酵罐中的动力学进行描述.

参考文献:

[1] 刁虎欣,赵大建,梁凤来. 黄原胶的广泛应用[J]. 精细石油化工,1985,1:12.

[2] 朱圣东. 黄原胶发酵的动力学模型及过程模拟[J]. 化学反应工程与工艺, 1992,8(2):149－155.

[3] Lu Kwang J, Zhao S. Xanthan fermentation in water/oil dispersions[J]. **Biotechnology Techniques**, 1993, 7:463.

[4] 常春, 徐桂转, 李洪亮. 黄原胶 QH_{79} 菌种的发酵工艺的研究[J]. 郑州工业大学学报, 2000,21(1):92.

[5] 李卫旗, 吴雪谦. 黄单孢杆菌 XC-82.R5 二步发酵工艺研究[J]. 工业微生物,1998,28(2):27.

[6] 徐士良. FORTRAN 常用算法程序集[M]. 北京:清华大学出版社, 1991.

(责任编辑:杨 萌)

万方数据