

细菌纤维素生产菌株的动力学研究

齐香君, 张雯, 韩戌珺, 闫博
(陕西科技大学生命科学与工程学院, 陕西 咸阳 712081)

摘要: 对细菌纤维素生产菌株 QAX993 的发酵动力学特性进行了研究, 基于 Logistic 方程, 提出了细胞生长动力学、基质消耗动力学、纤维素生成动力学模型, 得到了描述静态分批发酵过程的动力学模型及模型参数, 同时对实验数据与模型进行了验证, 模型计算值与实验数据拟合良好, 模型基本上反映了该菌株分批发酵过程的动力学特征。

关键词: 细菌纤维素; 动力学; 数学模型

Studies on Fermentation Kinetics of Strains Producing Bacterial Cellulose

QI Xiang-jun, ZHANG Wen, HAN Xu-jun, YAN Bo
(College of Life Science and Engineering, Shaanxi University of Science and Technology,
Xi'an 712081, China)

Abstract: The fermentation process of bacterial cellulose-producing strain QAX993 was studied. A kinetic model was proposed based on the Logistic equation for microorganism growth, product formation and substrate consumption. With the evaluated model parameters, the model appeared to provide a reasonable description for the fermentation process under various conditions.

Key words: bacterial cellulose; fermentation kinetics; model parameters

中图分类号: Q815

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2005)12-0065-03

细菌纤维素是由细菌高效合成的纤维素, 与天然纤维素的结构非常接近, 都是由葡萄糖以 β -1, 4-糖苷键连接而成的高分子化合物^[1]。但因为它是纤维束的形式相互聚合的, 所以比起植物纤维素的三维立体结构, 具有纯度高、结晶度高、重合度高、生物适应性强等优越性能, 被广泛地应用于食品、造纸、医药等多个领域, 作为一种新型的生物材料它具有广泛的商业应用

前景^[2~4]。本文在对细菌纤维素生产菌株 QAX993 进行发酵特性考察的基础上, 对该菌株在静态培养条件下的动力学特性进行了研究, 建立了菌株 QAX993 的生长动力学、产物生成动力学、基质消耗动力学模型。该模型的建立, 为发酵过程中菌体浓度、基质浓度、pH 值等最佳工艺参数的确定提供了理论基础。另外, 根据此动力学模型可模拟最合适的工艺流程和工艺条件, 从而使

收稿日期: 2004-12-29

作者简介: 齐香君(1957-), 女, 教授, 研究方向为生物制药。

- [5] Khachik F, et al. Separation, identification and quantification of the major carotenoids in extracts of apricots, peaches, cantaloupe and pink grapefruit by liquid chromatogram[J]. *Agric Food Chem*, 1989, 37(6): 1465-1473.
- [6] Rouseff RL. High performance liquid chromatographic separation and spectral characterization of the pigments in tumeric and annatto[J]. *Food Sci*, 1988, 53(6): 1823.
- [7] 王业勤, 李勤生. 天然类胡萝卜素——研究进展、生产、应用[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1997. 145-163.
- [8] 王静. 现代农业仪器分析应用技术[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2000. 61-62.
- [9] Blessin CW. Carotenoids of corn and sorghum I. analytical procedure[J]. *Cereal Chem*, 1962, 39: 236-242.
- [10] 王世平. 现代仪器分析原理与技术[M]. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学出版社, 1999. 167.
- [11] Owen R F. Food chemistry. Third edition[M]. New York: Marce Oekker, Inc, 1996. 315.

生产控制达到最佳化,为工业放大生产提供理论依据。

1 材料与方

1.1 菌种: 醋酸杆菌 QAX993, 由本实验室分离纯化筛选而得。

1.2 培养基

种子培养基: 蔗糖 5%, 牛肉膏 1.5%, Na_2HPO_4 0.44%, 柠檬酸 0.08%, 乙醇 1.0%(95% V/V), pH 自然。

发酵培养基: 蔗糖 6%, 牛肉膏 1.5%, Na_2HPO_4 0.44%, 柠檬酸 0.08%, 乙醇 1.0%(95% V/V), pH 自然。

1.3 培养条件

种子培养: 从斜面培养基上挑生长良好的小片膜接入到种子培养液中, 250ml 三角瓶装液 25ml, 30℃、150r/min 条件下回转式摇瓶培养 24h。

发酵培养: 以 10% 接种量将种子液接入发酵培养液中, 20 的大试管装液量 10ml, 30℃ 恒温培养箱中静置培养。

1.4 分析方法

1.4.1 pH 值测定: 采用 pH S-3B 型精密 pH 计测定。

1.4.2 菌浓的测定: 采用 420nm 比浊法测定发酵液中菌体浓度。

1.4.3 残糖测定法: 采用我们自行改进的 3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法测定^[5]。

1.4.4 纤维素产量的测定

纤维素膜干重^[4]: 由培养液中取出菌膜, 用蒸馏水冲洗后, 用 1% 的 NaOH 溶液, 80℃ 浸泡 30min, 以除去菌体蛋白, 再用蒸馏水反复冲洗, 直到凝胶膜透明无色, 用干燥滤纸吸干表面水分, 105℃ 干燥至恒重, 称重即得, 单位: g 纤维素 / L 培养液。

2 结果与分析

2.1 生长曲线及代谢规律分析

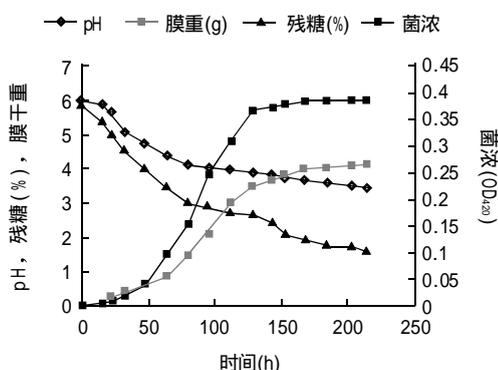


图1 发酵动力学曲线

Fig.1 Curve of fermentation kinetics

图1为细菌纤维素生产菌株发酵曲线,从图中可以看出,菌体生长曲线与耗糖曲线成对应关系。从菌浓曲线和膜干重曲线的关系可以看出产物的合成与细菌的生长是相关的过程,据此推测细菌纤维素的合成属于生长关联型。由pH变化曲线可以得出,菌体繁殖阶段pH急剧下降,但当其下降到4.25左右时下降速度变慢,直到3.40左右几乎不再下降,说明其发酵产酸范围为6.36~3.40。且当pH值下降到3.9左右时,菌体繁殖就基本进入稳定期,菌浓也不再明显变化,推测可能是发酵液酸度过低对菌体产生了抑制。由此可知,影响菌体繁殖的主要因素可能是碳源和发酵液酸度。

2.2 细胞生长动力学模型^[6,7]

选用 Logistic 方程作为细胞生长动力学模型:

$$\frac{dC_x}{dt} = \alpha \cdot C_x \cdot \left(1 - \frac{C_x}{\beta}\right)$$

$$\text{积分得: } C_x(t) = \frac{C_{x0} \cdot e^{\alpha t}}{1 - \left(\frac{C_{x0}}{\beta}\right) \cdot (1 - e^{\alpha t})} \quad (1)$$

对方程利用 Matlab 数学软件进行编程^[9],采用非线性最小二乘法拟合处理转化为线性方程后得到拟合曲线(图二),可以求得参数 $\alpha = 0.0615(\text{h}^{-1})$, $\beta = 0.3860(\text{g/L})$ 。

因此,该醋酸菌细胞生长动力学模型为:

$$C_x(t) = \frac{C_{x0} \cdot e^{0.0615t}}{1 - \left(\frac{C_{x0}}{0.3860}\right) \cdot (1 - e^{0.0615t})} \quad (2)$$

由方程2得到曲线(图2中实线)。根据实验获得的结果,以菌量 C_x 对生长时间 t 作图,得到试验曲线。由图2可知,由该模型得到的计算值与大多数试验值都能很好的拟合,拟合误差为 3.8%。

2.3 产物生成动力学

分析干膜产量曲线的变化趋势,发现与相同时间内的生物量变化趋势相类似,据此推测产物合成属于生长关联型。其关系式为:

$$\frac{dC_p}{dt} = Y_{p/x} \frac{dC_x}{dt} \quad (3)$$

以产物生成速率与细胞生长速率(dC_p/dt 对 dC_x/dt)作图,可求出 $Y_{p/x} = 9.3237$ 。

对(3)式积分可得细菌纤维素生成动力学模型如下:

$$C_p = C_{p0} + 9.3237 \cdot C_{x0} \left(\frac{e^{0.0615t}}{1 - \left(\frac{C_{x0}}{0.3860}\right) \cdot (1 - e^{0.0615t})} - 1 \right) \quad (4)$$

2.4 基质消耗动力学

在发酵过程中,基质(蔗糖)消耗主要用于:①构成菌体成分,②维持菌体生存和代谢的需要,③合成产物。因此,基质消耗速率方程可表示如下:

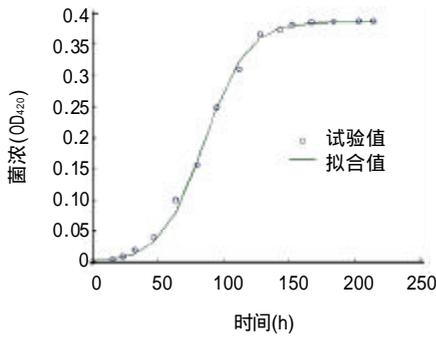


图2 菌浓计算值与试验值的比较

Fig.2 Comparison between the mycelium concentration's theoretical values and practical values

$$-\frac{dC_x}{dt} = \frac{1}{Y_{x/s}} \cdot \frac{dC_s}{dt} + mC_x + \frac{1}{Y_{p/s}} \cdot \frac{dC_p}{dt} \quad (5)$$

在菌体生长稳定期 $dC_x/dt=0$, 此时 $dC_s/dt=-0.009$, $C_x=0.387\text{g/L}$, 代入得:

$$m = -\frac{(\frac{dC_s}{dt})_{stat}}{(C_x)_{stat}} = \frac{0.00900}{0.387} = 0.02326$$

所以基质消耗动力学方程为:

$$C_s = C_{s0} - 7.735 \cdot (C_x - C_{x0}) - 0.1464 \cdot \ln \left[\left(1 - \frac{C_{x0}}{0.3860} \right) \cdot (1 - e^{0.0615t}) \right]$$

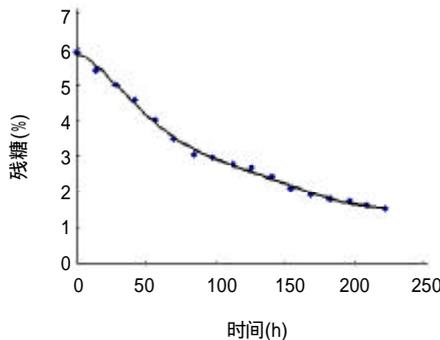


图3 残糖浓度计算值与试验值比较

Fig.3 Comparison between the residual sucrose's theoretical values and practical values

对方程6作图(图3中实线), 同时根据实验获得的结果, 以残糖 C_s 对发酵时间 t 作图, 得到试验曲线(图3中点)。由图3可知, 由该模型得到的计算值与大多数试验值都能很好的拟合, 拟合误差为2.9%。

因此, 我们可以用基质消耗方程(6)来描述发酵过程中的蔗糖消耗规律。

以上推导的三个数学模型基本上能够描述细菌纤维素发酵过程, 因此可以用上述方程预测发酵终产物的量、消耗基质质量、生产时间, 实现发酵生产的理性化控制。

3 结论

3.1 通过大量实验及分析计算, 绘制出了菌株 QAX993 发酵曲线, 了解了该菌株的生长代谢规律。

3.2 通过分析、计算机数学软件处理, 建立了菌株 QAX993 的生长动力学、产物生成动力学、基质消耗动力学模型, 为优化细菌纤维素的生产工艺奠定了理论基础。

参考文献:

- [1] 贾士儒, 欧宏宇, 傅强. 新型生物材料—细菌纤维素[J]. 食品与发酵工业, 2000, 27(1): 54-58.
- [2] 余晓斌, 全文海, 卞玉荣. 细菌纤维素的商业化用途[J]. 纤维素科学与技术, 2001, 7(3): 41-46.
- [3] 郝常明, 罗炜. 细菌纤维素一种新型的生物材料[J]. 纤维素科学与技术, 2002, 6(2): 56-61.
- [4] 胡晓燕, 曲音波. 细菌纤维素的研究进展[J]. 纤维素科学与技术, 1998, 6(4): 55-64.
- [5] 大连轻工业学院等组编. 食品分析[M]. 中国轻工业出版社, 1994.
- [6] 山根恒夫. 生化反应工程[M]. 西北大学出版社, 1993.
- [7] 戚以政, 汪叔雄. 生化反应动力学与反应器[M]. 化学工业出版社, 1996.
- [8] A.Budhiono, Rosidi, H.Taher, et al. Kinetic aspects of bacterial cellulose fermentation in rDNA-de-cocultures system [J]. Carbohydrate Polymers, 1999(40): 137-143.
- [9] 清源计算机工作室. MATLAB6.0 基础及应用[M]. 机械工业出版社, 2001.

美国《化学文摘》收录期刊

中国科学引文数据库核心库收录期刊