

餐厨垃圾水解液分批培养酿酒酵母产油脂动力学模型的建立

孙士权, 蒋昌波, 周谦, 刘青芝, 谭万春, 聂小保, 万俊力, 余关龙

(长沙理工大学水利工程学院, 水沙科学与水灾害防治湖南省重点实验室, 湖南长沙 410114)

摘要: 为提高餐厨垃圾水解液发酵产油脂量, 探究其发酵生产规律, 以 *Saccharomyces cerevisiae* As2.516 为供试菌株, 以初始餐厨垃圾水解液加入量 90% (V/V)、接种量 10% (V/V)、初始 pH 值 6、培养温度 30 °C、搅拌速率 180 r/min、通气量 2.5 L/min、发酵周期 10 d 为基础发酵条件进行 1 L 发酵罐批式发酵。实验结果表明: *S. cerevisiae* As2.516 发酵过程中菌体生物量的积累呈一条 S 型曲线, 油脂的生产表达与菌体的生长有紧密关联性。基于 Logistic 方程、Luedeking-Piret 方程和物料平衡计算分别构建了该菌株的菌体生长、油脂产物生成、底物还原糖消耗 3 个分批发酵动力学模型, 其中菌体生长动力学模型为: $\frac{dx}{dt} = 1.0241x(1 - \frac{x}{13.05})$ 、底物还原糖消耗动力学模型为: $-\frac{ds}{dt} = 0.4787 \frac{dx}{dt} + 0.0348x + 0.1055 \frac{dp}{dt}$ 、油脂产物生成动力学模型为: $\frac{dp}{dt} = 0.2979 \frac{dx}{dt} + 0.00406x$, 所构建动力学模型的计算值与实验值拟合效果良好, 其相关系数 R^2 分别为 0.9979、0.9957 和 0.9565, 模型能揭示餐厨垃圾水解液培养菌体产油脂发酵过程中菌体生长、油脂合成以及底物还原糖消耗的基本特征。

关键词: 餐厨垃圾水解液; 发酵; 微生物油脂; 动力学

文章编号: 1673-9078(2014)8-163-168

Construction of Kinetics Model for Production of Microbial Oils by *Saccharomyces Cerevisiae* As2.516 Fermentation Process Using Hydrolysis Liquid of Kitchen Garbage

SUN Shi-quan, JIANG Chang-bo, ZHOU Qian, LIU Qing-zhi, TAN Wan-chun, NIE Xiao-bao, WAN Jun-li, YU Guan-long

(School of Hydraulic Engineering, Changsha University of Science and Technology, The Water Wand Science and the Water Disaster Prevent and Control, Key Laboratory of Hunan Province, Changsha 410114, China)

Abstract: In order to increase the production of microbial oils and indicate its regular pattern during fermentation process, *Saccharomyces cerevisiae* As2.516, was used to set up the kinetics models based on the optimal fermentation conditions: the initial addition of hydrolysis liquid of kitchen garbage was 90% (V/V) and the initial pH value of medium was 6, the inoculum was 10% (V/V) at 30 °C for 10 d with agitation speed at 180 r/min and aeration rate at 2.5 L/min in a 1L fermentator. Results showed that the *S. cerevisiae* As 2.516 biomass accumulation presented an S-shaped curve during fermentation, the production of microbial oil displayed a closed correlation with the bacteria biomass. The batch fermentation kinetic models were established (cell growth kinetic model, substrate depletion kinetic model, production formation kinetic model) based on Logistic equations, Luedeking-Piret equations and mass balance calculation. Cell growth kinetic model was $\frac{dx}{dt} = 1.0241x(1 - \frac{x}{13.05})$, substrate depletion kinetic model was $-\frac{ds}{dt} = 0.4787 \frac{dx}{dt} + 0.0348x + 0.1055 \frac{dp}{dt}$, and production formation kinetic model was $\frac{dp}{dt} = 0.2979 \frac{dx}{dt} + 0.00406x$, The experimental results fit the predictive values from these proposed models. The correlation coefficients R^2 of the three equations were 0.9979, 0.9957, 0.9565, respectively, which indicated a good correlation between experimental values and models. Therefore, those models could be used to describe the process of cell growth, substrate consumption for production of microbial oils by *S. cerevisiae* As2.516 during batch fermentation. The establishment of batch fermentation kinetic models could lay a foundation for theory and provide practical instruction for the application of production microbial oils.

Key words: kitchen garbage hydrolysis; fermentation; microbial oils; kinetics

收稿日期: 2014-02-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (51309032); 作者简介: 孙士权 (1980-), 男, 在职博士, 讲师, 环境科学及水生态; 通讯作者: 蒋昌波

随着生活水平的提高,餐厨垃圾产量越来越大(占城市生活垃圾的30%~50%),而目前餐厨垃圾的处理技术均存在各种不足^[1-2]。餐厨垃圾含丰富有机营养物质(如淀粉、蛋白质、纤维素等),这些大分子有机营养物质水解后形成可被微生物代谢直接利用的小分子有机物,为微生物产油脂提供了廉价原料,可解决当前限制生物柴油发展的原料成本过高等问题。餐厨垃圾这一储量巨大再生生物资源的有效利用对解决能源危机、生物利用、环境污染等方面问题具有重大的实际意义^[3]。

餐厨垃圾水解液内含大量的多糖、氨基酸等营养物质,可明显促进 *S cerevisiae* As2.516 等为代表的产油脂菌菌群增殖。这些营养物质具有资源性价值高、成本低、来源广泛、收集方便等优点,在相关研究中已得到充分证实^[4-5]。利用微生物产油脂的研究主要集中在油脂原料选择及利用微生物液态发酵生产的条件优化上,然而,发酵条件优化研究并不能完整、形象的表述发酵过程中底物消耗、产物生成以及菌体生长的状况,且规律性不强,在完整说明发酵过程方面存在某种程度上的不足。

发酵动力学模型着重研究环境因素与微生物代谢活动之间的相互作用,用数学模型定量描述发酵过程中菌体生长、产物生成和底物消耗的动态平衡及内在规律,是工业放大过程中的优化和控制的重要基础,对进一步掌握该菌株发酵性能和优化工业化生产有极大帮助^[6]。本试验拟对一株 *S cerevisiae* As2.516 在 1 L 发酵罐中分批发酵餐厨垃圾水解液产油脂时菌体生长、微生物油脂合成、糖代谢的动力学过程进行研究,并建立动力学模型。其动力学模型的建立对了解菌体生长、微生物油脂合成、糖代谢以及实现发酵产油脂优化和控制具有重要的实际意义,可为小试数据的放大及大型发酵产油脂工艺的设计及工业化应用奠定良好基础。

1 材料与方法

1.1 材料

试验用菌株:酿酒酵母 (*S cerevisiae*) As2.516,由湖南省微生物研究所提供,来源于中国工业微生物菌种保藏管理中心 CICC31276。

培养基:斜面培养基为 PDA 培养基,主要成分为马铃薯浸汁(20%)、葡萄糖(20 g/L)、琼脂(20 g/L)。

发酵培养基为餐厨垃圾水解液培养基:主要含多类还原糖、氨基酸等。

主要试验药品均为分析纯:3,5-二硝基水杨酸,

亚硫酸钠,酒石酸钾钠,浓盐酸,甲醇,氯仿,氯化钠,淀粉酶,糖化酶,蛋白酶,纤维素酶等。

试验用发酵罐:自制自控式(BIOT-1CS)。

1.2 试验方法

1.2.1 餐厨垃圾水解液的制备

将原态餐厨垃圾进行分选,剔除里面的纸巾、骨头等杂物,将剩余的部分粉碎打浆,按 1:1 加去离子水混合。再向其中投入淀粉酶、糖化酶、蛋白酶和纤维素酶组成的复合酶,投加量分别为 92.5、1250、3000 和 100 U/g 原料,在 pH 6,温度为 55 °C 条件下,水解 30 min 后,经 4000 r/min 离心获得水解液,高压蒸汽灭菌备用,水解液中还原糖(水解液中还原糖主要有葡萄糖、麦芽糖、半乳糖等)质量百分比为 10.03%~15.12%,氨基酸态氮含量为 197.87 mg/L~215.18 mg/L。

1.2.2 分批发酵方法

挑取适量斜面菌株 *S cerevisiae* 于 PDA 液体培养基中,30 °C、180 r/min 振荡 10 h,再以 10% (V/V) 接种量转入发酵种子液培养基中,30 °C、180 r/min 振荡 12 h 获得种子液 ($OD_{600} \geq 1.2$)。以初始餐厨垃圾水解液加入量 90% (V/V)、接种量 10% (V/V)、初始 pH 值 6、培养温度 30 °C、搅拌速率 180 r/min、通气量 2.5 L/min 进行 1 L 发酵罐分批发酵 10 d。每 24 h 吸取 10 mL 发酵液,4000 r/min 离心 15 min 收集上清液和菌体。

1.2.3 发酵过程中各检测指标的测定

菌体密度的测定:每隔 4 h 取 10 mL 发酵液样品,4000 r/min 离心 20 min,以质量分数 0.9% (m/V) 的 NaCl 水溶液重悬沉淀,测定 OD_{600} 。

菌体干重的测定:取 1 mL 于离心管中,4000 r/min、4 °C 冷冻离心 20 min,置于烘箱中 80 °C 烘至恒重。计算公式为:

$$\text{生物量}(\text{g/L}) = (\text{DCW} / \text{V}) \times 10^3$$

注:DCW,细胞干重/g; V,取样体积/mL。

油脂产量的测定:采用酸热法提取油脂并测定油脂重量。计算公式为:

$$\text{油脂产量}(\text{g/L}) = W_0 \times L / 100$$

注:W₀,菌体生物量(g/L); L,菌体产油率/%。

还原糖的测定:采用 DNS 法测定上清液中还原糖含量。即吸取 100 μL 发酵液加入 3 mL DNS 试剂,沸水浴显色 5 min,定容至 25 mL。测定 OD_{550} 。

分批发酵及动力学参数的获得:以初始餐厨垃圾水解液加入量 90% (V/V)、接种量 10% (V/V)、初始 pH 值 6、培养温度 30 °C、搅拌速率 180 r/min、通气

量 2.5 L/min、周期为 10 d 为发酵条件进行分批发酵。各批次每隔 24 h 取样检测发酵过程菌体干重、油脂产量、还原糖量、pH 值等参数的变化,根据各参数变化趋势利用 Origin 8.0 软件对检测获得的数据进行归纳整理并绘图分析,通过已建立的数学模型对试验数据进行非线性拟合分析获得最优估计参数并检验拟合误差,将各参数代入数学模型获得菌株 *S. cerevisiae* As2.516 发酵产脂动力学模型方程。

2 结果与讨论

2.1 发酵过程与机理

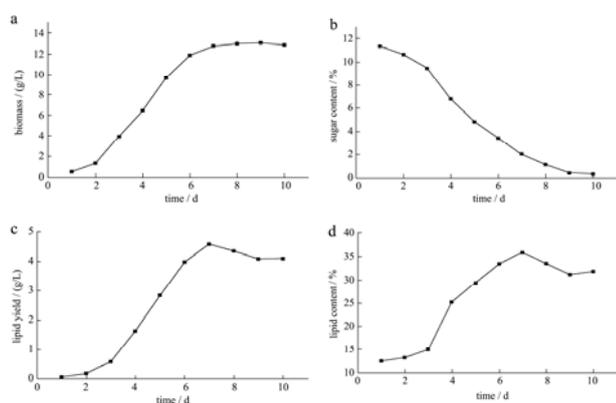


图1 发酵过程中菌体生长、还原糖消耗、油脂积累变化曲线

Fig.1 Kinetic curve of batch fermentation

发酵开始前,餐厨垃圾水解液中还原糖质量百分比为 11.34%。图 1 为以初始餐厨垃圾水解液加入量 90%、接种量 10%、初始 pH 值 6、培养温度 30 °C、搅拌速率 180 r/min、通气量 2.5 L/min 条件下对 *S. cerevisiae* As2.516 发酵过程中菌体生长、还原糖消耗和油脂积累变化过程 10 d 监测。由图 1 可知,分批发酵过程中 *S. cerevisiae* As2.516 发酵 2 d 即进入对数生长期(见图 1a),6 d 后进入稳定期,菌体干重达到 12.0 g/L 以上。*S. cerevisiae* As 2.516 的发酵过程中菌体生物量的积累是一条 S 型曲线,反映出了菌体生长的调整期、对数期、稳定期和衰减期。随着菌体对还原糖利用(见图 1b),还原糖质量百分比浓度下降亦呈 S 型曲线,至 9 d 浓度降低至 1% 以下。油脂含量起始阶段较少(见图 1c 和 1d),发酵开始 2 d,菌体繁殖缓慢,耗糖速率小,油脂含量低;随着发酵时间的增加,菌体进入对数期,菌生长率和耗糖速率不断加快,油脂含量开始逐步提升。至 7 d 油脂产量和油脂得率达到最大值,分别为 4.57 g/L 和 35.93%,而此时还原糖质量百分比降至 2.03%。在 8~9 d 油脂产量出现明显下降,生物量却达到最高值,说明此时发酵液中的还原

糖已基本耗尽,菌体利用自身积累的油脂维持代谢,相关报道^[7-9]中出现类似情况。

2.2 动力学模型建立

2.2.1 菌体生长动力学模型

按照分批发酵结果构建菌体生长动力学模型,由图 1a 可知,菌体的生长过程符合微生物典型 S 型增长曲线,菌体浓度在发酵初始阶段 0~2 d 处于低水平,经历 4 d 对数生长期后,至 6 d 进入稳定期,菌体浓度趋于稳定,干重约为 12 g/L。菌体生长动力学最常用的方程有 Monod 方程和 Logistic 方程。Monod 方程将菌体生长视为简单反应,菌体得率为常数,是典型的均衡生长模型,只适用于单一生长性限制基质。而 *S. cerevisiae* As2.516 利用餐厨垃圾水解液发酵产油脂的过程中存在诸多抑制产物形成的因素;如餐厨垃圾水解产物的抑制、菌体浓度的抑制、菌体生长所需的营养物扩散限制等。Logistic 方程是一个典型的 S 型曲线,对拟合菌体生长过程具有广泛的适应性,能反映发酵过程中普遍存在的菌体浓度对自身生长的抑制作用^[10-12]。因此选择 Logistic 方程建立 *S. cerevisiae* As2.516 菌体生长动力学模型,如式(1):

$$\frac{dx}{dt} = \mu_m \left(1 - \frac{x}{x_m}\right)x \quad (1)$$

注: $\frac{dx}{dt}$ 表示菌体生长速率(g/L·d); μ_m 表示最大比生长速率/d⁻¹; t 表示发酵时间/d; X 表示菌体浓度(g/L); X_m 表示最大菌体浓度(g/L)。

将 t=0 时, $x_m=x_0$ 作为初始条件;对式(1)进行积分后可得式(2):

$$x = \frac{x_0 x_m e^{\mu_m t}}{x_m - x_0 + x_0 e^{\mu_m t}} \quad (2)$$

2.2.2 产物油脂生成动力学模型

由图 1c 和 1d 可知,油脂在发酵初始阶段合成量很低,进入对数生长期后,发酵 2 d 进入稳定期后,生物活力和生物量相对稳定。可见油脂的生产表达与菌体的生长联系较为紧密,为菌体利用底物代谢时所分泌表达的产物。

微生物产物的生成十分复杂,Garden^[13]将其分为 3 种类型:(I)产物形成与细胞生长耦联;(II)产物形成与细胞生长部分耦联;(III)产物形成与细胞生长非耦联。Luedeking 与 Pirt^[14]通过对细胞生长与微生物产物形成关系的研究,认为细胞或某些细胞组分是目标产物时,产物量与生物量成正比;产物生成速率与菌体生长率直接相关。并通过对 Gaden 等人的研

究进行总结得到 Luedeking-Piret 方程如下式 (3):

$$\frac{dp}{dt} = \alpha \frac{dx}{dt} + \beta x \quad (3)$$

注: $\frac{dp}{dt}$ 表示油脂合成速率, α 表示生长耦联的产物合成

系数, β 表示非生长耦联的产物合成系数。 $\alpha \neq 0, \beta = 0$ 时为 I 类发酵; $\alpha \neq 0, \beta \neq 0$ 时为第 II 类发酵; $\alpha = 0, \beta \neq 0$ 时为第 III 类发酵。

微生物油脂是胞内产物, 具备一定的生物量是菌体发酵高产油脂的一个必要条件。在本试验中, 油脂的生成和菌体的生长符合 Luedeking 和 Piret 提出的相关结论; 油脂的生成与生物量的积累随时间变化趋势大致相同, 将生物量与油脂产量进行线性拟合发现, 其完整发酵过程的相关系数 R^2 达到 0.9791; 发酵 4~7 d 属于生物量积累最快时期, 该时间段内菌生长率与油脂生成速率线性相关系数 R^2 达到 0.9964。采用 Luedeking-Piret 方程描述 *S cerevisiae* As2.516 油脂合成动力学, 把式 (1) 代入式 (3) 得式 (4):

$$\frac{dp}{dt} = \alpha \mu_m \left(1 - \frac{x}{x_m}\right) x + \beta x \quad (4)$$

当 $t=0$ 时, $P=P_0$, 把式 (2) 代入式 (4) 并积分得式 (5):

$$p = p_0 + \alpha A(t) + \beta B(t) \quad (5)$$

注: $A(t) = \left(\frac{x_0 x_m e^{\mu_m t}}{x_m - x_0 + x_0 e^{\mu_m t}} - x_0\right)$; $B(t) = \left(\frac{x_0}{\mu_m}\right) \ln \left\{1 - \frac{x_0}{x_m} [1 - e^{\mu_m t}]\right\}$ 。

2.2.3 底物糖类消耗动力学模型

由图 1b 可知, *S cerevisiae* As2.516 菌体发酵过程中还原糖量不断下降。发酵初期菌体主要利用发酵液中游离的少量还原糖生长, 2 d 进入对数生长期后, 还原糖消耗急剧加快; 发酵末期 (8~9 d), 还原糖质量百分比浓度降低至 1% 以下。相关研究表明^[11, 13], 油脂合成与菌体生长耦联; 而 Luedeking-Piret 也认为产物的生成速率与菌体生长速率直接相关, 即底物的消耗与产物的生成也存在一定相关关系。根据物料平衡可知, 餐厨垃圾水解液中还原糖的消耗可分为 3 个部分: 一部分用于菌体的繁殖生长, 一部分用于维持菌体生命代谢, 还有一部分用于油脂合成。基于物料平衡, 采用 Luedeking-Piret-like 方程描述糖代谢动力学特性, 方程如下式 (6):

$$-\frac{ds}{dt} = \frac{1}{k_{x/s}} \frac{dx}{dt} + mx + \frac{1}{k_{p/s}} \frac{dp}{dt} \quad (6)$$

注: $-\frac{ds}{dt}$ 表示还原糖消耗速率; $\frac{1}{k_{x/s}}$ 表示菌体生长与还原

糖消耗相关系数; $\frac{1}{k_{p/s}}$ 表示油脂合成与底物消耗相关系数; m

为菌体维持自身代谢与底物消耗相关系数

把式 (3) 代入式 (6) 整理得式 (7):

$$-\frac{ds}{dt} = \left(\frac{1}{k_{x/s}} + \frac{\alpha}{k_{p/s}}\right) \frac{dx}{dt} + \left(m + \frac{\beta}{k_{p/s}}\right) x \quad (7)$$

当 $t=0$ 时, $S=S_0$; 把式 (2) 代入式 (7) 积分得式 (8):

$$S = S_0 - \left(\frac{1}{k_{x/s}} + \frac{\alpha}{k_{p/s}}\right) A(t) - \left(m + \frac{\beta}{k_{p/s}}\right) B(t) \quad (8)$$

注: 式中 $A(t)$ 、 $B(t)$ 同上。

2.3 动力学模型参数求解

对发酵动力学模型参数求解时, 传统的方法是先把动力学方程通过变量代换 (如取对数、取倒数、变量组合等) 转化为线性进行拟合, 这种方法虽简单有效, 但严谨性差, 且有时拟合结果不太理想。例如本试验中式 (2) 可整理为线性方程式 (9):

$$\ln \frac{x}{x_m - x} = \mu_m t - \ln \left(\frac{x_m}{x_0} - 1\right) \quad (9)$$

式 (9) 中以 $\ln \frac{x}{x_m - x}$ 为纵坐标, t 为横坐标作图可得直线,

该直线斜率即 μ_m 。但当 $X=X_m$ 时, 表达式 $\ln \frac{x}{x_m - x}$ 没有意义, 无法在直线上表示出该数据点。

实际发酵过程中, 大多数变量关系是非线性的, 采用变量的非线性直接表达形式和进行非线性处理拟合的曲线会更加贴近实际测定的数值。

根据图 1 所示数据, 采用 Origin 8.0 软件对式 (2)、(5)、(8) 进行自定义函数非线性拟合, 确定了各动力学参数, 结果见表 1。

表 1 发酵动力学模型参数

Table 1 Parameters of fermentation kinetics model

参数	μ_m	α	β	$1/k_{x/s}$	$1/k_{p/s}$	m
数值	1.0421	0.2979	0.00406	0.4787	0.1055	0.0348

将表 1 各参数分别代入方程式 (1) (3) (6) 中, 可以得出在此试验条件下 *S cerevisiae* As2.516 对餐厨垃圾水解液发酵的动力学方程:

菌体生长动力学模型:

$$\frac{dx}{dt} = 1.0241x \left(1 - \frac{x}{13.05}\right) \quad (10)$$

产物生成动力学模型:

$$\frac{dp}{dt} = 0.2979 \frac{dx}{dt} + 0.00406 x \quad (11)$$

底物还原糖消耗动力学模型:

$$-\frac{ds}{dt} = 0.4787 \frac{dx}{dt} + 0.0348 x + 0.1055 \frac{dp}{dt} \quad (12)$$

2.4 拟合动力学曲线分析

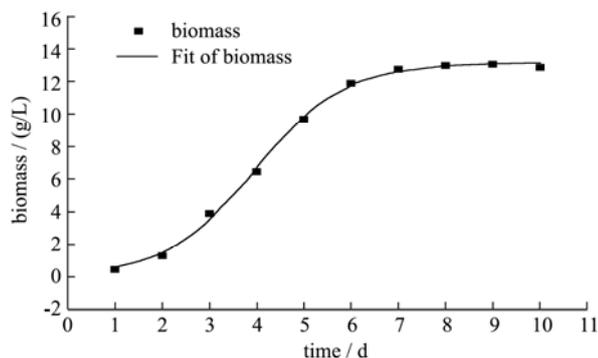


图2 菌体生长试验值与模型计算值比较

Fig.2 Comparison between experimental data and predictive values of cell growth model

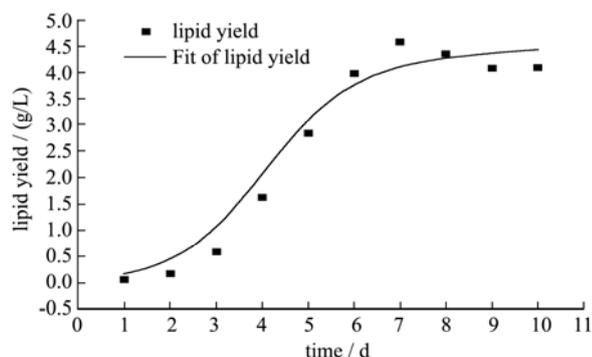


图3 油脂合成试验值与模型计算值比较

Fig.3 Comparison between experimental data and predictive values of microbial oils production model

根据式 (10)、(11) 和 (12) 动力学方程及参数 (表 1) 绘制 *S cerevisiae* As2.516 分批发酵动力学模型的拟合曲线, 结果如图 2、3、4 所示。图 2 为 Logistic 方程模拟的 *S cerevisiae* As2.516 菌体生长曲线与试验值的拟合结果, 由图 2 可以看出, 该菌体生长模型能够较好的描述发酵 *S cerevisiae* As2.516 的生长情况,

表 2 *S cerevisiae* As2.516 分批发酵过程试验值与拟合值比较

Table 2 Comparison between experimental data and predictive values during batch fermentation of *S. cerevisiae* As2.516

时间/d	生物量/(g/L)			还原糖百分含量/%			油脂合成量/(g/L)		
	实验值	拟合值	离差平方	实验值	拟合值	离差平方	实验值	拟合值	误差值
1	0.48	0.56639	0.007463	11.34	11.19573	0.020814	0.06	0.16625	0.011289063
2	1.29	1.48775	0.039105	10.65	10.65085	0.0000007	0.17	0.44265	0.0743380225
3	3.89	3.49064	0.159488	9.43	9.38321	0.002189	0.58	1.05575	0.226338063
4	6.43	6.64706	0.047115	6.77	7.2138	0.196958	1.62	2.05106	0.185812724
5	9.64	9.76008	0.014419	4.85	4.82001	0.000899	2.83	3.0749	0.05997601
6	11.86	11.69143	0.028416	3.43	3.04993	0.144453	3.97	3.75048	0.04818903
7	12.72	12.5687	0.022892	2.03	1.95547	0.005555	4.57	4.09336	0.22718569
8	12.96	12.9104	0.00246	1.12	1.23644	0.013558	4.34	4.26153	0.006157541

转下页

拟合相关系数 $R^2=0.9979$ 。该模型参数经 F 检验具有显著性差异 ($P<0.001$), 即该模型 99% 的概率水平是显著的。

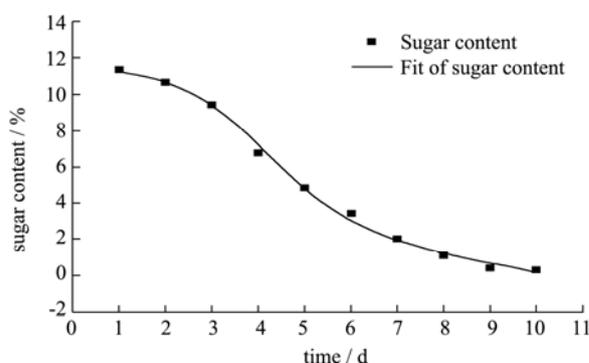


图4 糖代谢试验值与模型计算值比较

Fig.4 Comparison between experimental data and predictive values of reducing sugar consumption model

图 3 为 Luedeking-Piret 方程模拟的 *S cerevisiae* As2.516 油脂合成与试验值的拟合结果, 该模型能够较好的描述 *S cerevisiae* As2.516 发酵过程中油脂合成情况, 拟合相关系数 $R^2=0.9565$ 。该模型参数经 F 检验具有显著性差异 ($P<0.001$)。如表 1 所示, $\alpha=0.2979$, $\beta=0.00406$, 可认为 $\beta=0$; 进一步验证了 *S cerevisiae* As2.516 在餐厨垃圾水解液中发酵产脂与菌体生长耦联。图 4 是 Luedeking-Piret-like 方程模拟的餐厨垃圾水解液中还原糖代谢与试验值的拟合结果, 该模型能够较准确的描述发酵过程中还原糖代谢情况, 拟合相关系数 $R^2=0.9957$ 。该模型参数经 F 检验同样具有显著性差异 ($P<0.001$)。图 4 说明初始延滞期时, 还原糖消耗速度相对较慢, 此时菌体主要利用发酵液中少量的游离还原糖生长; 随着菌体细胞生长进入指数生长期, 大量还原糖被表达, 还原糖质量浓度急剧下降, 进入稳定期, 还原糖质量百分比浓度大致维持在 1% 以下。

接上页									
9	13.05	13.0354	0.000213	0.42	0.67924	0.067205	4.07	4.35745	0.082627503
10	12.84	13.08007	0.057634	0.33	0.18533	0.020929	4.09	4.42612	0.112976654
离差平方和		0.379205			0.472562686			1.034890299	

注:表中拟合值是把时间代入相应拟合模型方程后计算值,离差平方指计算值与实验值之差的平方。

3 结论

3.1 *S cerevisiae* As2.516 菌体生长过程符合微生物典型 S 型增长曲线;油脂为菌体利用餐厨垃圾水解液底物代谢时所分泌表达的产物,油脂的生成和菌体的生长符合 Luedeking 和 Piret 提出的相关理论;餐厨垃圾水解液中还原糖的消耗主要用于菌体的繁殖生长、维持菌体生命代谢和油脂合成。

3.2 *S cerevisiae* As2.516 在餐厨垃圾水解液中发酵产脂与菌体生长具有耦联性。

3.3 以 logistic 菌体生长模型和 Luedeking-Piret 产物生成模型为基础建立了菌体生长、油脂合成、糖代谢的动力学模型。

其中菌体生长动力学模型为:

$$\frac{dx}{dt} = 1.0241x(1 - \frac{x}{13.05})$$

底物还原糖消耗动力学模型为:

$$-\frac{ds}{dt} = 0.4787 \frac{dx}{dt} + 0.0348x + 0.1055 \frac{dp}{dt}$$

油脂生成动力学模型为:

$$\frac{dp}{dt} = 0.2979 \frac{dx}{dt} + 0.00406x$$

其相关系数 R^2 分别为 0.9979、0.9957 和 0.9565,拟合效果良好,模型能真实反映 *S cerevisiae* As2.516 在餐厨垃圾水解液中发酵产油脂过程。

3.4 模型可为餐厨垃圾水解液发酵产油脂工艺的改进、发酵过程的放大与控制以及今后该菌株发酵产油脂补料分批发酵模型的建立积累了经验,提供理论指导。

参考文献

- [1] 乔长晟,宋可,张娟琨,等.餐厨垃圾原位处理菌株的筛选和鉴定[J].现代食品科技,2013,29(4):756-761
QIAO Chang-sheng, SONG Ke, ZHANG Juan-kun, et al. Screening and identification strains for in situ kitchen waste treatment [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(4): 756-761
- [2] Levis J W, Barlaz M A, Themelis N J, et al. Assessment of the state of food waste treatment in the united states and canada [J]. Waste Management, 2010, 30(8): 1486-1494
- [3] 赵宗保,胡翠敏.能源微生物油脂技术进展[J].生物工程学报,2011,27(3):427-435
ZHAO Zong-bao, HU Cui-min. Progress in bioenergy-oriented microbial lipid technology [J]. Chin J Biotech, 2011, 27(3): 427-435
- [4] 何平伟,邓放明.劣质食用油碱催化酯交换制备生物柴油初探[J].现代食品科技,2012,28(6):684-687
HE Ping-wei, DENG Fang-ming. Preliminary study on biodiesel production via koh catalyzed transesterification of inferior edible oil [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(6): 684-687
- [5] 孙士权,周谦,蒋昌波,等.餐厨垃圾发酵产油脂的复合酶制剂水解试验[J].长沙理工大学学报(自然科学版),2014,11(1):99-103
SUN Shi-quan, ZHOU Qian, JIANG Chang-bo, et al. Test conditions of enzymatic hydrolysis garbage for microbial oils production [J]. Journal of Changsha University of Science and Technology (Nature Science), 2014, 11(1): 99-103
- [6] 熊智强,徐平,涂国全.利用响应面法优化红谷霉素发酵培养基[J].微生物学通报,2006,33(4):5-9
XIONG Zhi-qiang, XU Ping, TU Guo-quan. Optimization of fermentation medium for honggumycin using response surface methodology [J]. Acta Microbiological Science, 2006, 33(4): 5-9
- [7] Papanikolaou S, Aggelis G. Modeling lipid accumulation and degradation in yarrowia lipolytica cultivated on industrial fats [J]. Curr. Microbiol., 2003, 46(6): 398-402
- [8] Papanikolaou S, Sarantou S, Komaitis M, et al. Repression of reserve lipid turnover in cunning hamella echinulata and mortierella isabellina cultivated in multiple-limited media [J]. Appl. Microbiol., 2004, 97(4): 67-75
- [9] Fakas S, Galiotou P M, Papanikolaou S, et al. Compositional shifts in lipid fractions during lipid turnover in cunninghamella echinulata [J]. Enzyme. Microb. Tech., 2007, 40(5): 1321-1327
- [10] Zhu Zhen, Sun Lifei, Huang Xiaolei, et al. Comparison of the kinetics of lipopeptide production by bacillus amyloliquefaciens xz-173 in solid-state fermentation under isothermal and non-isothermal conditions [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2013, 12: 1-9

- [11] 贾建萍,裘娟萍,周彦钢.谷胱甘肽分批补料发酵动力学模型的建立[J].现代食品科技,2012,28(4):391-395
JIA Jian-ping, QIU Juan-ping, ZHOU Yan-gang. Modeling of batch fermentation kinetics for glutathione production [J]. Modern Food Science and Technology, 2012, 28(4): 391-395
- [12] Altioek D, Tokatli F, Harsa S. Kinetic modeling of lactic acid production from whey by lactobacillus casei (NRRL B-441) [J]. Chem Technol Biotechnol, 2006, 81: 1190-1197
- [13] Gaden E L. Fermentation process kinetics [J]. Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering, 1959, 1(4): 413-429
- [14] Luedeking R, Piret EL. A kinetic study of the lactic acid fermentation batch process at controlled pH [J]. Journal of Biochemical and Microbiological Technology and Engineering, 1959, 1(4): 393-412

现代食品科技