

# 产 L-乳酸的嗜热乳酸杆菌 (T-1) 发酵动力学研究

苏敬红

(济南铁道职业技术学院生物工程系, 微生物学重点实验室, 山东 济南 250013)

**摘要:** 本文对 *Lactobacillus thermophilus* (T-1) 的 5L 罐 L-乳酸发酵过程进行了研究, 并建立了菌体生长, 底物消耗及产物生成动力学模型。经验证, 模型的理论值和实验值拟和较好。所建动力学模型对反应器设计、工艺原理以及有效的控制发酵过程具有指导意义。

**关键词:** 分批发酵; 动力学模型; L-乳酸

中图分类号: TQ920.1; 文献标识码: A; 文章篇号: 1673-9078(2007)03-0030-03

## Kinetics Study on Fermentation of L-lactic acid by *Lactobacillus thermophilus* (T-1)

SU Jing-hong

(The key Laboratory of Industrial Microbiology, College of Bioengineering, Jinan University of the railway occupation technical, Jinan 250013, China)

**Abstract:** The kinetic models of cell growth, product formation, and substrate fermentation were established. It showed that the theoretic values of the models and the experimental data were in a good agreement. The kinetic models were helpful to practical reactor design, craft management and control of fermentation process.

**Key words:** batch-fermentation; kinetic model; L-lactic acid

发酵动力学是研究发酵过程中状态变量随发酵时间和控制变量之间的规律。建立分批发酵动力学模型可有助于系统有效地控制发酵过程, 发现最优的发酵条件, 为反应器的优化和控制服务。一个好的模型应具备两个特征: (1) 能够定量的描述发酵过程的变化; (2) 主要影响因子的作用能够在模型中表现出来<sup>[1]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 菌种

L-乳酸生产菌 *Lactobacillus thermophilus* T-1 本研究室选育及保藏

### 1.2 培养基

种子培养基: 玉米糖化液(3~5Brix), 酵母膏 0.5%, 蛋白胨 0.5%

发酵培养基: 玉米糖化液(10~11Brix), 酵母膏 0.5%, 蛋白胨 0.5%, 豆浓 0.3%

### 1.3 分析方法

1.3.1 乳酸和还原糖含量的测定: SBA-40C 型生物传感分析仪

1.3.2 L-乳酸纯度的测定: 高效液相色谱法

收稿日期: 2006-11-18

1.3.3 菌体浓度的测定: 752 紫外分光光度计

1.4 发酵装置: 全自动式 5 L 发酵罐 (上海市分析仪器厂)

## 2 结果与讨论

### 2.1 优化条件下 T-1 菌分批发酵动力学曲线

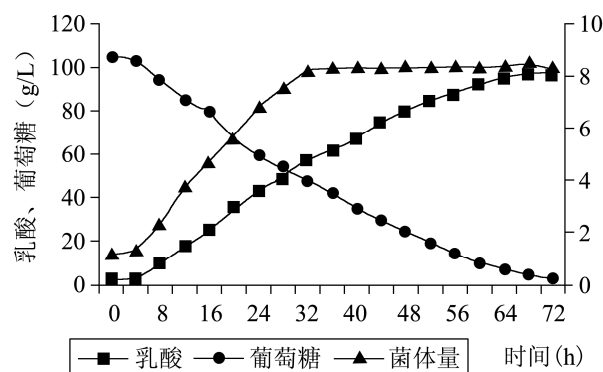


图1 优化条件下 T-1 菌分批发酵动力学曲线

图1为优化条件下 T-1 菌在 5 L 发酵罐上分批发酵生产 L-乳酸的动力学曲线。从图中可看出, T-1 菌发酵周期为 72 h; 0~4 h T-1 菌生长慢, 葡萄糖耗糖少, L-乳酸积累慢; 4~20 h T-1 菌进入对数生长期, 菌体

量增长快, 葡萄糖消耗用于菌体生长和 L-乳酸的生成; 20 h 后, 菌体量基本保持不变, 趋于稳定, 葡萄糖消耗主要用于 L-乳酸的生成。

## 2.2 5 L 罐分批发酵动力学模型的建立

### 2.2.1 菌体生长与发酵时间的关系

描述菌体生长最简单且有效的模型为 Monod<sup>[2]</sup>方程, 它是对真实情况的简单假设, 它只是基于单一生长限制性底物, 不存在其它限制性营养成分的情况。而且, 将微生物的生长视为简单反应, 并假设菌体得率为常数, 没有动态滞后。显然, 随着菌体浓度的增大, 细胞生存空间减少, 每个细胞的生长都会受到周围细胞的影响。同时, 也就说明了 Monod 方程具有偏差, 本文采用了 Logistic<sup>[2]</sup>方程来描述菌体生长规律, 即:

$$\frac{dX}{dt} = \mu_m \left(1 - \frac{X}{X_{max}}\right) X \quad (1)$$

其中:  $\mu_m$  为最大比生长速率,  $h^{-1}$ ;  $X_{max}$  为可能的最大细胞质量浓度,  $g/L$ 。

Logistic 模型是一个典型的 S 型曲线, 能较好反应分批发酵过程中菌体浓度的增加对自身生长存在的一直作用, 能较好的拟和分批发酵过程中菌体生长规律: ①分批发酵开始时, 菌体浓度很低,  $X$  比  $X_{max}$  小的多,  $X/X_{max}$  项可以忽略不计,  $dX/dt = \mu_{max} \times X$  表示菌体生长呈指数增长; ②对数生长期结束后菌体生长处于稳定期,  $X = X_{max}$ ,  $dX/dt = 0$  表示菌体生长停止。

Logistic 方程可以积分为代数方程, 将  $t=0$ ,  $X=X_0$  为条件, (1) 式可积分为:

$$X = \frac{X_0 X_{max} e^{\mu_m t}}{X_{max} - X_0 + X_0 e^{\mu_m t}} \quad (2)$$

### 2.2.2 产物形成和发酵时间的关系

Gaden 将产物生成与菌体生长及底物消耗相关联, 定性的将发酵过程分为 3 种类型: I. 生长偶联型; II. 非生长偶联型; III. 生长部分偶联型。其通用模型可用 Leudeking-piret<sup>[3]</sup>方程表示:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \quad (3)$$

其中,  $\alpha$  为与菌体生长相关联的产物合成常数 ( $g/g$ ),  $\beta$  为与菌体量相关联的产物合成常数 ( $g/g \cdot h$ )。当  $\alpha \neq 0$ ,  $\beta = 0$  时为生长偶联型;  $\alpha = 0$ ,  $\beta \neq 0$  时, 为非生长偶联型;  $\alpha \neq 0$ ,  $\beta \neq 0$  时为部分生长偶联型。

由图 1 可以看出, L-乳酸的分批发酵过程可分为两个阶段, 第一阶段, 菌体处于对数生长期, L-乳酸同时产生。第二阶段, 菌体处于稳定期, L-乳酸继续以  $\beta X$  方式生成。很明显 T-1 菌发酵属于部分生长偶

联型。即  $\alpha \neq 0$ ,  $\beta \neq 0$ 。

将 (2) 代入 (3) 式, 并求积分得:

$$P = \frac{X_{max}}{\mu_m} \left[ (\beta + \alpha \mu_m - \alpha) \ln(X_{max} - X_0 + X_0 e^{\mu_m t}) + \frac{\alpha(X_0 - X_{max})}{X_{max} - X_0 + X_0 e^{\mu_m t}} \right] \quad (4)$$

### 2.2.3 基质消耗和时间之间的关系

在发酵过程中, 基质消耗主要有三个方面: I. 细胞生长; II. 细胞维持生命活动的消耗; III. 生成代谢产物的消耗。基质消耗动力学模型通常采用以下方程:

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_{X/S}} \frac{dX}{dt} + mX + \frac{1}{Y_{P/S}} \frac{dP}{dt} \quad (5)$$

为简化模型, 菌体呼吸等维持代谢消耗的基质, 可以归结在长菌消耗之内。T-1 菌乳酸发酵的基质(葡萄糖)消耗大致可分为长菌消耗和生成乳酸产物消耗两部分。基质消耗的动力学模型简化为:

$$-\frac{dS}{dt} = K_1 \frac{dX}{dt} + K_2 \frac{dP}{dt} \quad (6)$$

其中  $K_1$  为长菌消耗系数,  $K_2$  为基质消耗系数。

将式 (1), (3), 代入 (5) 并积分得:

$$S = X_{max} \ln(X_{max} - X_0 + X_0 e^{\mu_m t}) \left[ K_2 \left(1 - \frac{\beta}{\mu_m} - \alpha\right) + K_1 \left(\frac{1}{\mu_m} - 1\right) \right] + \frac{X_{max} (X_0 - X_{max})}{X_{max} - X_0 + X_0 e^{\mu_m t}} \left( \frac{K_1}{\mu_m} + K_2 \right) \quad (7)$$

式 (1)、(3)、(5) 构成了 T-1 菌发酵过程中菌体生长, L-乳酸生成以及葡萄糖消耗的动力学模型; (2)、(4)、(7) 分别为 3 个模型的积分形式, 有助于模型的拟和求解。以上各式反映了发酵过程中菌体生长, L-乳酸形成, 及葡萄糖消耗同发酵时间之间的关系。

## 2.3 模型拟和求解与检验

将图 1 中的实验数据 (表 2) 应用于上述模型, 利用 Excel<sup>[4]</sup>编辑上述积分方程 (2)、(4)、(7), 以绝对误差平方和最小为目标, 非线性规划求解, 得到各参数值, 表 1 为各参数值及模型中各初始条件值。

表 1 分批发酵动力学模型参数值及初始条件值

$X_0(g/L)$	$S_0(g/L)$	$X_{max}(g/L)$	$\mu_m/h^{-1}$
1.19	105	7.5075	0.1449
$\alpha$	$\beta$	$K_1$	$K_2$
0.4548	0.6003	0.3653	1.0196

将各参数及初始条件代入模型(1)、(3)、(6)得:

菌体生长动力学模型:

$$\frac{dX}{dt} = 0.1449 \left(1 - \frac{X}{7.5075}\right) X$$

产物生成动力学模型:

$$\frac{dP}{dt} = 0.4548 * \frac{dX}{dt} + 0.6003 X$$

底物消耗动力学模型:

$$-\frac{dS}{dt} = 0.3633 * \frac{dX}{dt} + 1.0196 * \frac{dP}{dt}$$

将得到的乳酸发酵动力学模型的回归曲线与实验数据比较, 见图 2, 图 3, 图 4, 将模型计算数据与实验数据对比见表 2, 可以看出模型的拟和效果较好。

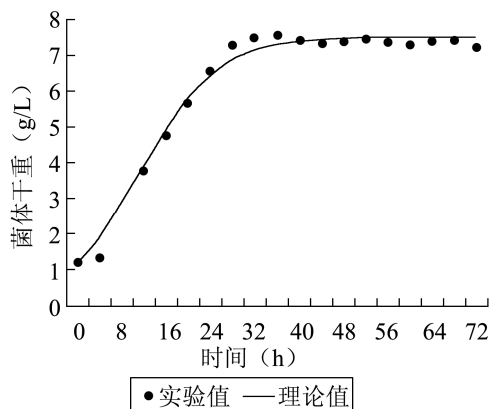


图3 菌体增殖动力学模型曲线与实验值的比较

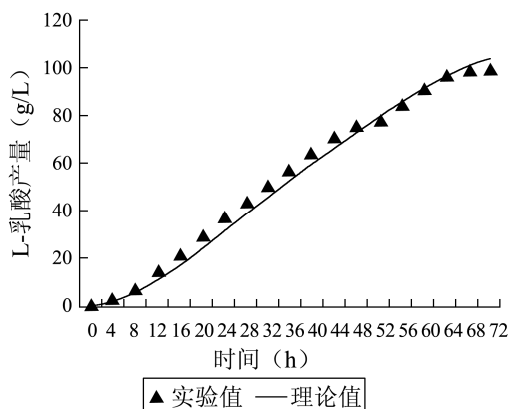


图4 产物形成动力学模型曲线与实验值的比较

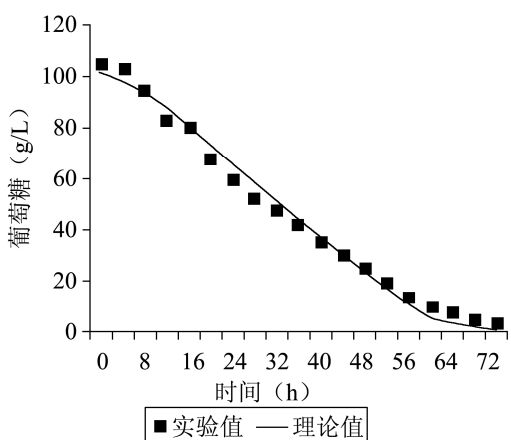


图5 基质消耗动力学模型曲线与实验值的比较

表 2 模型理论值和实验值的比较

时间 (h)	细胞干重(g/L)		乳酸产量(g/L)		葡萄糖量(g/L)	
	实验值	理论值	实验值	理论值	实验值	理论值
0	1.19	1.19	0	0	105	105
4	1.34	1.89	2.5	2.25	103	102
8	2.33	2.88	7.5	5.73	95	96.5
12	3.78	3.88	15	10.6	82.5	86.9
16	4.76	4.93	22	16.8	80	87
20	5.65	5.81	30	23.8	67.5	74.1
24	6.55	6.45	38	31.1	60	67.6
28	7.28	6.88	43	38.3	52.5	57
32	7.45	7.14	50	45.3	47.5	52.6
36	7.52	7.3	55	52.1	42.5	45.3
40	7.42	7.39	63	58.7	35	40.3
44	7.31	7.44	70	65.2	30	35.4
48	7.38	7.47	74	71.6	25	27.7
52	7.45	7.49	77	78	20	21
56	7.38	7.5	83	84.4	15	16.3
60	7.32	7.5	90	90.2	10	10.7
64	7.38	7.5	95	95.7	7.5	6.08
68	7.43	7.51	97.5	98.4	5	3.98
72	7.24	7.51	97.5	102.1	3	2.65

### 3 结论

(1) 在优化条件下, *Lactobacillus thermophilus* T-1 产乳酸 95 g/L, 产酸速率达 1.32g/(L·h), 转化率为 92.7%, 并描绘了嗜热乳酸杆菌 T-1 5 L 罐分批发酵的菌体生长, 产物生成, 底物消耗的动力学曲线。

(2) 利用 EXCEL 非线性规划求解得到 3 个动力学模型:

菌体生长动力学模型:

$$\frac{dX}{dt} = 0.1317 * (1 - \frac{X}{8.4803}) X$$

产物生成动力学模型:

$$\frac{dP}{dt} = 0.3933 * \frac{dX}{dt} + 0.5286 X$$

底物消耗动力学模型:

$$-\frac{dS}{dt} = 0.3130 * \frac{dX}{dt} + 1.0382 * \frac{dP}{dt}$$

### 参考文献

- [1] 宫衡, 伦世仪. 赖氨酸分批发酵动力学研究[J]. 生物工程学报, 1996, 12, (SI): 219-225
- [2] 贾士儒. 生物反应工程原理[M]. 天津: 南开大学出版社, 1990
- [3] Frame K K, Hu W S. A model for density dependent growth of anchorage dependent mammalian cells [J]. Biotech Bioeng, 1988; (32): 1061-1067
- [4] 马红武, 等. 应用 Excel 处理生化过程数据(II)—动力学参数估值[J]. 计算机与应用化学, 1999, 16(1): 41-47