

谷氨酸发酵的动力学模型

胡宗定 陶国琴*

(天津大学化工系, 天津)

本文利用实验所得数据对文献报道的有关谷氨酸发酵动力学模型逐一进行了模拟和比较分析, 选出一组与实验数据拟合较好, 而且是在一定理论下推导出来的模型。

关键词 谷氨酸; 发酵; 动力学模型

谷氨酸(简称为L-GA)发酵是味精生产的一个关键过程, 随着对其产酸和转化率指标要求的提高, 如何实现该过程的自动控制和优化控制, 就成为越来越迫切的问题, 而这些控制的难点之一在于确定其发酵过程所遵循的动力学模型。我们尽可能全面地查阅了有关报道L-GA发酵动力学模型的文献^[1-10], 将文献中的模型汇总起来看, 可归纳为理论模型、经验模型和回归模型三种类型。

为了给模型的比较提供实验依据, 我们在摇瓶及2L小型发酵罐中进行了若干批L-GA发酵实验。实验菌种为天津味精厂提供的钝齿棒杆菌(*Corynebacterium crenatum*)T₆₋₁₃, 初糖在13%左右, pH控制在7.0, 罐温为32℃, 风量及转速根据溶氧浓度来控制。

逐一将所报道的模型对实验数据进行模拟, 采用单纯形法对动力学参数进行估值, 以模型计算值与实验值的差的平方和最小为目标函数, 通过对各模型的分析, 来选取合适的动力学模型。

谷氨酸发酵动力学模型的选取

L-GA 发酵过程中的状态变量很多,

但重要的变量只有三个, 即菌体浓度 X 、基质浓度 S 和产物浓度 P 。我们就这三个主要变量的模型进行讨论。

(一) 菌体浓度 X 的模型

据有关文献^[1-3,11]报道, L-GA 发酵过程中, 菌体生成的动力学模型可归纳为以下几种形式:

$$\frac{dX}{dt} = \mu_m \frac{[B]}{K_i + [B]} X \quad (1)$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu_m \frac{S}{K_i + S} \frac{N_B}{K_B + N_B} X \quad (2)$$

$$\frac{dX}{dt} = k_1 X - k_2 X^2 \quad (3)$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu_m X \left(1 - \frac{X}{X_m}\right) \quad (4)$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu_m \frac{SX}{K_i + S} \quad (5)$$

其中, 模型(1)、(2)、(4)、(5)为理论模型, 都是在研究微生物代谢机制或反应特点的基础上推导的, (1)、(2)、(4)在推导过程中强调了生物素浓度(式

本文于1990年12月15日收到。

* 现在北京味精厂工作。

本文在实验过程中, 得到张瑛、甘一如老师的帮助和指导, 谨致谢意。

中以 $[B]$ 、 $[N_B]$ 表示), 并认为生物素是限制基质, 较正确地反映了L-GA发酵的特征, 但因生物素浓度的测定极其繁琐, 在实际应用上也受到限制。所以模型(1)、(2)不易用实际数据验证。模型(5)为最基本的Monod模型。

$$\text{若假设 } \frac{[B]}{K_i + [B]} \propto \frac{S}{K_s + S}$$

则模型(1)可转化为(5)的形式。

$$\text{若假设 } N_B \text{ 恒定, 或 } \frac{N_B}{K_B + N_B} \propto$$

$\frac{S}{K_s + S}$, 则模型(2)也可转化为(5)的形式。

模型(3)为菌体生长的回归模型, 经转化(3)与(4)实质上是一致的。

所以我们用模型(3)和(5)来对菌体实验数据进行拟合, 拟合结果如图1。

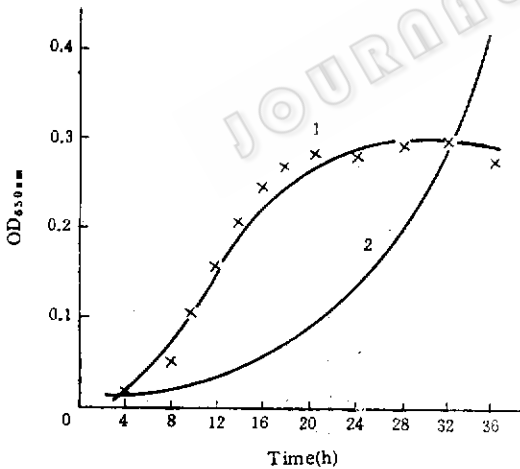


图1 不同模型对菌体值的拟合曲线

Fig.1 The curves of the simulation with the different models for cell growth data

1. Model(3); 2. Model(5)

$k_1 = 0.320, k_2 = 1.110, \mu_m = 0.20, K_s = 7.0$

x 实验值 Experiment data

可见, 模型(3)对整个发酵过程数据拟合较好, 而(5)偏差比较大。但如果用

模型(5)来拟合发酵前期菌体生长情况, 如图2所示, 则拟合得很好。

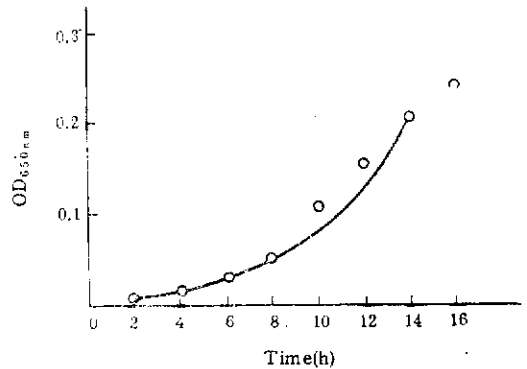


图2 模型(5)对发酵前期菌体值的拟合曲线

Fig.2 The curve of simulation with model (5) for forepart cell data

$\mu_m = 0.35, K_s = 4.0$

o 实验值 Experiment data

模型(5)只适用于描述发酵前期菌体生长情况, 这可用下述L-GA的生长模型得到说明。

由酶反应机理^[1], 推得L-GA生成模型为:

$$\frac{dP}{dt} = \frac{V_m \cdot S \cdot X}{K_m + S} - a \frac{dX}{dt} \quad (6)$$

发酵前期, 没有L-GA积累, 即 $\frac{dP}{dt}$

$$= 0$$

则(6)可转化为:

$$\frac{dX}{dt} = \frac{V_m / a \cdot s \cdot x}{K_m + S} = \frac{\mu_m \cdot S \cdot X}{K_m + S}$$

即此时菌体生成符合模型(5)。在发酵后期, 开始积累L-GA, $\frac{dP}{dt} \neq 0$, 则菌体生长不再符合模型(5), 这是II类发酵^[12]特有的动力学特征。一般发酵到8h, 就有产物P的积累, 由图2可见, 从8h开始, Monod模型计算值与实验值开始产生偏差, 而8h前拟合相当好, 理论与实验值几乎是相等的。根据图2菌体

模型的拟合情况，也从另一个角度说明了式(6)作为L-GA生成动力学模型的可信性。

由此，我们认为菌体生成模型用模型(3)比较好，或者分段考虑更好，即：

$$\begin{cases} \frac{dX}{dt} = \mu_m \frac{SX}{K_s + S} & (5) \quad P = 0 \\ \frac{dX}{dt} = \mu_m X \left(1 - \frac{X}{X_m}\right) & (4) \quad P > 0 \end{cases}$$

(二) 底物消耗的动力学模型

据文献[1-8]报道，L-GA 发酵过程中，底物消耗的动力学模型可归纳为以下几种形式：

$$\begin{cases} -\frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y'_G} \frac{dX}{dt} + \frac{1}{Y'_N} \frac{dP}{dt} + mX & (7) \\ -\frac{dS}{dt} = \frac{V_m S}{K_m + S} X & (8) \\ S = a_1 t + a_0 & (9) \end{cases}$$

模型(7)是由物料衡算而得的，可归为理论模型，(8)是底物消耗的米氏方程，(9)为经验模型。

在数据模拟中，为简便起见，将菌体呼吸耗糖与副产物生成的糖耗都归到长菌和产酸消耗内，将模型(7)简化为：

$$\frac{dS}{dt} = k_3 \frac{dX}{dt} + k_4 \frac{dP}{dt} \quad (10)$$

分别用模型(8)和(10)对底物实验数据拟合，拟合结果如图3所示。

可见，模型(8)和(10)都能较好地拟合实验数据，但模型(8)稍差些。C-GA是由葡萄糖经过多步酶反应而生成的，对于多步酶反应，基质S的消耗用米氏方程(8)表示，是经过简化而得的，故产生一定的偏差。而通过物料衡算而得所模型(10)，更能准确地表达该过程基质消耗遵循的规

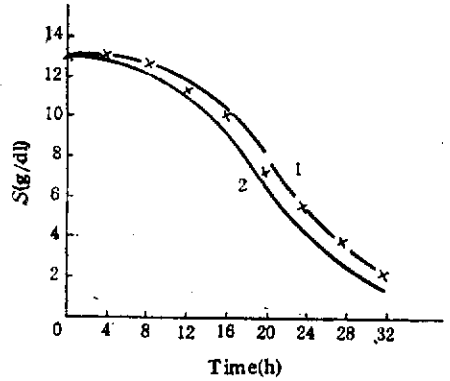


图3 不同模型对基质S的拟合曲线
Fig.3 The curve of simulation with different models for substrate data
1. model(10); 2. model(8);
× 实验值 Experiment data
 $V_m = 3.50, K_s = 7.317, k_3 = 3.223, k_4 = 3.103$
× 实验值

律。

模型(9)为经验模型，只有在发酵的中后期，S与t才近似为直线关系，如图4所示：

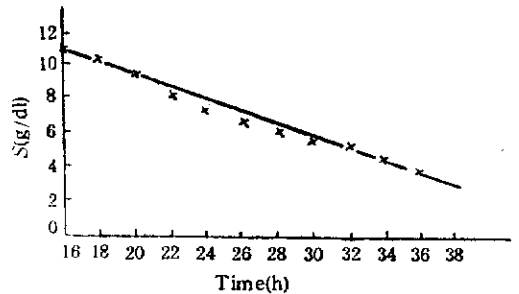


图4 模型(9)对后期S实验值的拟合曲线
Fig.4 The curve of simulation with model (9) for later stage substrate data
 $a_1 = -0.37, a_2 = 15.8$
× 实验值 Experiment data

可见，该模型对后期数据拟合较好，且其形式简单，但不能反映前期S的变化情况。

(三) L-GA生成动力学模型

据文献[1-10]报道，L-GA生成动力学模型可归纳为以下几种形式：

$$\left\{ \begin{aligned} \frac{dp}{dt} &= \frac{V_m S}{K_m + S} X - a \frac{dX}{dt} \quad (6) \end{aligned} \right.$$

$$\left\{ \begin{aligned} \frac{dP}{dt} &= k_s X - k_d \frac{dX}{dt} \quad (11) \end{aligned} \right.$$

$$P = \begin{cases} P_m [1 - e^{-(t-\theta)/\tau}] & t \geq \theta \\ 0 & t < \theta \end{cases} \quad (12)$$

模型(6)为理论模型, (11)为回归模型, (12)为经验模型。

因L-GA在发酵后期才开始积累, 所以我们对后期实验数据拟合, 如图5所示:

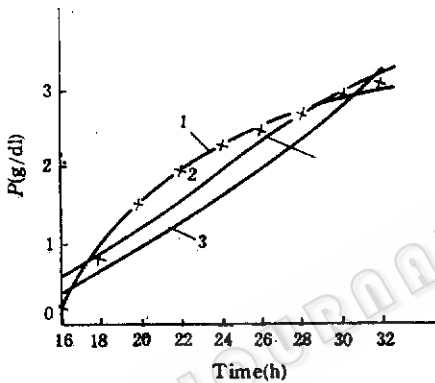


图5 不同模型对产物P的拟合曲线
Fig.5 The curve of simulation with different models for product data
1. model(12); 2. model(6); 3. model(11)
 $V_m = 0.656, K_m = 3.25$
 $k_s = 0.520, k_d = 1.50$
 $P_m = 3.0, \tau_1 = 7.1, \theta = 16$
× 实验值 Experiment data

可见, 模型(11)偏差较大, (12)拟合较好, 模型(6)拟合偏差介于(11)和(12)之间, 但(12)为经验模型, 受具体实验条件限制, 而且没有表示出菌体X和底物S对产物P的影响情况。所以我们选用(6)作为L-GP生成模型。

综上所述, 经过对各个模型的分析, 我们选出下面一组模型作为L-GA发酵的动力学模型:

$$\left\{ \begin{aligned} \frac{dX}{dt} &= \mu_m X \left(1 - \frac{X}{X_m}\right) \\ \frac{dP}{dt} &= \frac{V_m S X}{K_m + S} - a \frac{dX}{dt} \\ -\frac{dS}{dt} &= \frac{1}{Y_G} \frac{dX}{dt} + \frac{1}{Y_M} \frac{dP}{dt} \end{aligned} \right.$$

用该组模型对实验数据进行拟合, 其结果如图6所示, 由图可见, 该组模型与实验值拟合较好。拟合相对偏差: 对S, <3.5%; 对P, <7.6%; 对X, <8.3%。本文所选用的动力学模型基本能够正确模拟状态变量X、S、P真实变化过程。

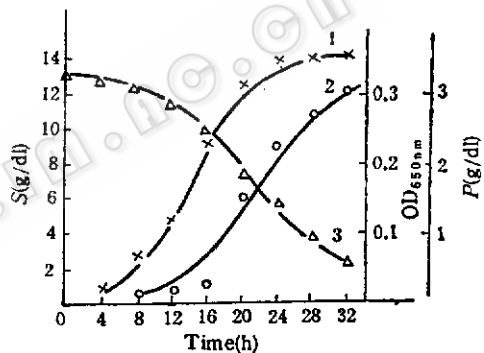


图6 模型对实验值的拟合曲线
Fig.6 The curve of simulation with the models for experiment data
 $\mu_m = 0.328, X_m = 0.353$
 $V_m = 0.810, K_m = 3.303$
 $Y_G = 0.310, Y_M = 0.322$
1. X; 2. P; 3. S
×, o, Δ 实验值 Experiment data

讨论

在L-GA发酵过程中, 研究证明^[5], 模型的结构对每一批过程都是适用的, 但模型中的参数则随着批过程的不同而不同。这主要是由发酵过程中的不确定性因素造成的。上述模型是我们通过对4批摇瓶实验数据和10批小型发酵罐实验数据回归拟合确定的, 该组模型用于模拟工厂的

发酵过程同样是适用的,只是随着发酵工艺条件和菌种的变化,模型参数不同而已。谷氨酸发酵过程中,发酵前期对后期有很大影响,每一批过程大约需要 36h,有时更长,因此,可采用预测模型,根据前期发酵的数据,预测该批过程后期的情况,以便及时发现问题,采取措施,保证过程按需要的路线进行。

符号说明

a_i : 常数, (g/dl)
 $[B]$: 生物素浓度, (g/dl)
 k_1 : 常数, $k_1 = \mu_m$
 k_2 : 常数, $k_2 = \mu_m/X_m$
 k_3 : 常数, $k_3 = 1/Y_G$
 k_4 : 常数, $k_4 = 1/Y_M$
 k_5 : 常数, (g/dl·h·菌体OD)
 k_6 : 常数, (g/dl·菌体OD)

K_i : 以生物素为限制底物的饱和常数, (g/dl)
 K_s : 以葡萄糖为限制底物的饱和常数, (g/dl)
 K_B : 同 K_i
 K_m : 产物对底物S的饱和常数, (g/dl)
 m : 菌体呼吸耗糖的比例常数, (g/dl·h·菌体OD)
 N_B : 生物素浓度, (g/dl)
 P : 产物谷氨酸的浓度, (g/dl)
 P_m : 谷氨酸的最大浓度, (g/dl)
 S : 底物S的浓度, (g/dl)
 t : 发酵时间, (h)
 V_m : 谷氨酸最大比生成速率, (g/dt·h·菌体OD)
 X : 菌体浓度, 以光密度表示
 X_m : 最大菌体浓度
 Y_G, Y_G' : 生成菌体与对应糖耗的比例常数, (菌体OD·dl/g)
 Y_M, Y_M' : 生成产物与对应糖耗的比例常数, (g/g)
 α_{11} : 常数, (g/dl·h)
 α_0 : 常数, (g/dl)
 θ : 产物生成滞后时间, (h)
 μ_m : 菌体最大比生长速度, (h⁻¹)
 τ : 时间常数, (h)

参 考 文 献

- [1] Yamashita, S. and Murao, C.: *J. Soc. Instr. Control Eng.*, 6(10):735, 1967.
- [2] 吴佩琼: 微生物学报, 20(1):75—80, 1980.
- [3] 合业修一, 永井史郎: 生物化学工学-反应速度论(第二版), 科学技术社, 日本, p. 227, 1978.
- [4] Yamashita, S. et al.: *Automatic Control and Optimization of Fermentation process, Glutamic acid Fermentation*, Academic press, New York and London, pp. 441—463, 1969.
- [5] 高以成等: 信息与控制, (2):1, 1985.
- [6] 高以成等: 生物工程学报, 1(3):56—63, 1985.
- [7] Shimizu, K. et al.: *Biotechnology and Bioengineering*, 27:743, 1985.
- [8] 陈有根等: 控制理论及其应用年会论文集, pp. 480—483, 1986.
- [9] 李春辰: 辽宁食品发酵, (1):4, 1980.
- [10] 木下祝郎: 发酵工业(新版), 大日本图书, 东京, pp. 96—98, 128—131, 1975.

Study of the Kinetic Models of Glutamic Acid Fermentation

Hu Zongding Tao Cuoqing

(Department of Chemical Engineering, Tianjin University, Tianjin)

The kinetic models of glutamic acid fermentation reported in documents were simulated and evaluated according to the data obtained by our experiments. It was demonstrated that the following models based on the study of the mechanism of microbial metabolism in fermentation were well simulated with the experiment data;

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

$$\frac{dP}{dt} = \frac{V_m S}{K_m + S} X - a \frac{dX}{dt}$$

$$- \frac{dS}{dt} = \frac{1}{Y_G} \frac{dX}{dt} + \frac{1}{Y_M} \frac{dP}{dt}$$

Key words

Glutamic acid; fermentation; kinetic model

JOURNALS.IM.AC.CN