

麦角固醇发酵动力学的研究

何险峰 戚以政 谭天伟*

(北京化工大学生化工程系 北京 100029)

张博润

(中国科学院微生物研究所 北京 100080)

摘 要 研究了酵母发酵法生产麦角固醇的过程中,菌体生长、糖消耗、酒精生成与消耗以及麦角固醇合成的动力学。提出了两段动力学模型,模拟值与实验值吻合较好。

关键词 麦角固醇,酵母,发酵动力学

学科分类号 Q939.97

麦角固醇是一种重要的医药化工原料,如用于“可的松”、“黄酮体”的生产,另外,麦角固醇是合成维生素 D₂ 的前体,维生素 D₂ 在调节生命代谢功能上有重要的作用。国外麦角固醇的生产主要采用发酵法,所用菌种大多为酵母菌。Eugene 选育了生产麦角固醇的不同酵母菌,麦角固醇产量可达细胞干重的 2%~3%^[1]。张博润等对生产麦角固醇的酵母进行了原生质体融合,得到高产麦角固醇菌种,产量可达细胞干重的 2.7%^[2,3]。但目前有关酵母生产麦角固醇发酵动力学的定量描述较少,本文对此进行了研究。

1 材料和方法

1.1 菌种和培养基

高产麦角固醇酵母 Y-G-39(*Saccharomyces cerevisiae*)由中科院微生物所提供。

斜面培养基 YEPD(%):酵母粉 1,蛋白胨 2,葡萄糖 4,琼脂 2。自然 pH,30℃ 培养。

摇床培养基 YEPD(%):酵母粉 1,蛋白胨 2,葡萄糖 4。自然 pH,摇床转速 65r/min,30℃ 培养 20h。

20L 发酵罐(英国 LH 公司)中培养基(%):酵母粉 1,蛋白胨 2,蔗糖 11。pH 值 5.5,温度 30℃,发酵 42h。

1.2 分析方法

麦角固醇的分析见参考文献[2]。糖浓度的分析采用二硝基水杨酸法^[4]。酒精的分析采用气相色谱法,色谱仪为日本岛津公司 GC-14A,色谱柱条件:1000mm×3mm,固定相为涂以 SE-30 的 GDX-103(比值为 100:2)。生物量的分析:在高速冷冻离心机上离心 20min(8500r/min)后,烘干至衡重并称量。

* 通讯联系人。

收稿日期:1996-11-27,修回日期:1997-06-25。

2 结果与讨论

2.1 发酵条件的确定

实验中发现,通气量和培养基中糖浓度对发酵(特别是生物量)的影响较大。以YEPD为发酵培养基,对糖浓度和通气量进行正交实验,以所能获得的单位体积最多量的麦角固醇为目标,最终确定了在实验条件下的最佳通气量为每升发酵液每分钟1.7L空气;最佳糖浓度为110g/L发酵液。

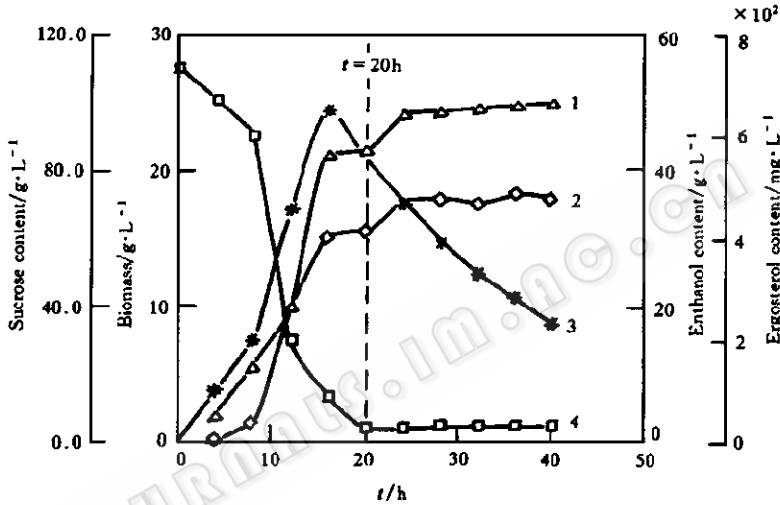


图1 发酵动力学实验结果

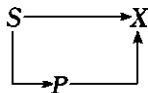
Fig. 1 The curves of the kinetic experiments of fermentation

1. Biomass, 2. Ergosterol, 3. Ethanol, 4. Sucrose

从上图可以看出:(1)酵母的生长分为两个阶段,第一阶段为菌体高速增长阶段(20h以前),糖在此阶段迅速消耗,酒精则以代谢产物形式出现;第二阶段为菌体低速生长阶段,由于底物中糖含量较少,酵母生长以部分酒精作为碳源。(2)细胞中麦角固醇的含量在菌体生长过程中变化不大,这一点在文献[5]中也得到证实。

2.2 发酵动力学模型

通过上述分析,可将发酵过程中基质消耗与菌体生长用下式表示:



对发酵动力学进行分段处理,在20h, $c_s = 4\text{g/L}$ 处分为两段、分别列出两段的菌体生长动力学、糖消耗动力学、酒精生成(消耗)动力学及麦角固醇合成动力学如下:

第一阶段(11.0g/L > C_s ≥ 4g/L)

第二阶段(c_s < 4g/L):

$$\begin{cases} \frac{dcx}{dt} = \mu_{max} \frac{cs}{cs + K_s} cx & (1) \\ -\frac{dcs}{dt} = \frac{1}{Y_{x/s}} \cdot \frac{dcx}{dt} + m_1 cx + \frac{1}{Y_{p/s}} \cdot \frac{dcp}{dt} & (2) \\ \frac{dcp}{dt} = \alpha_1 \cdot \frac{dcx}{dt} + \beta_1 \cdot cx & (3) \\ \frac{dce}{dt} = \gamma_1 \cdot \frac{dcx}{dt} & (4) \end{cases}$$

$$\begin{cases} \frac{dcx}{dt} = \mu_{p,max} \cdot \frac{c_p}{K_p + c_p} \cdot cx & (5) \\ -\frac{dcs}{dt} = 0 & (6) \\ \frac{dcp}{dt} = \alpha_2 \cdot \frac{dcx}{dt} + \beta_2 \cdot cx & (7) \\ \frac{dce}{dt} = \gamma_2 \cdot \frac{dcx}{dt} & (8) \end{cases}$$

用改进的 DFP 法^[6]对上述两段方程进行回归,可得各模型的参数值(单位见符号说明):

<p>第一阶段</p> $\begin{cases} \mu_{max} = 0.570 \\ K_s = 90.0 \\ Y_{x/s} = 0.198 \\ Y_{D/S} = 2.411 \\ m_1 = 0.140 \\ \alpha_1 = 2.203 \\ \beta_1 = -0.110 \\ \gamma_1 = 0.0180 \end{cases}$	<p>第二阶段</p> $\begin{cases} \mu_{p,max} = 0.010 \\ K_p = 70.0 \\ \alpha_2 = 15.00 \\ \beta_2 = 0.00 \\ \gamma_2 = 0.0199 \end{cases}$
---	--

各方程式的拟合相对误差如表 1 所示。

表 1 各方程的模拟误差

Table 1 The deviation of simulation equations^a

Equation	The first stage				The second stage			
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)	(8)
SD ^b	5.0	11.2	4.2	17.5	3.9	4.5	1.0	11.3

a. Precision $\epsilon = 0.0001$. b. The relative deviations between the experimental value and simulated value.

模拟结果与实验结果的比较如图 2 所示。

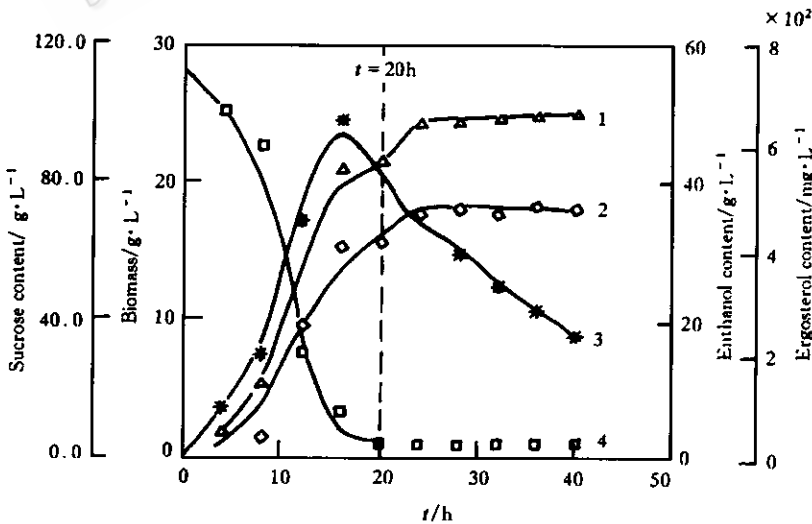


图 2 模拟结果(点为实验结果)

Fig. 2 Simulation results (dot: experiments results)
The legend is the same as in Fig. 1

从结果看,方程较好地模拟了酵母生长、糖消耗及酒精的变化,而对麦角固醇合成动力学,误差较大。

3 结 论

本实验酵母生成麦角固醇分为两个阶段,第一阶段主要以蔗糖为碳源,第二阶段以第一阶段生成的酒精为碳源;酵母内麦角固醇的合成主要取决于酵母的生长。提高麦角固醇产量的关键是酵母的高密度发酵。

符 号 说 明

c_x : 细胞干重/ $g \cdot L^{-1}$	a_1, a_2 : 酒精生成动力学常数/ h^{-1}
c_s : 糖含量/ $g \cdot L^{-1}$	β_1, β_2 : 酒精生成动力学参数/ h^{-1}
c_e : 酒精含量/ $g \cdot L^{-1}$	γ_1, γ_2 : 麦角固醇生成动力学参数
c_p : 麦角固醇含量/ $g \cdot L^{-1}$	下标:
K_s : 以蔗糖发酵的饱和常数/ $g \cdot L^{-1}$	e 麦角固醇
K_p : 以酒精发酵的饱和常数/ $g \cdot L^{-1}$	x 酵母
m, m_1, m_2 : 维持系数/ h^{-1}	p 酒精
t : 发酵时间/h	s 糖
μ : 比生长速率/ h^{-1}	1 第一阶段
μ_{max} : 以蔗糖为碳源的最大比生长速率/ h^{-1}	2 第二阶段
$\mu_{p,max}$: 以酒精为碳源的最大比生长速率/ h^{-1}	max 最大

参 考 文 献

- 1 Wenck P R, Peterson W H, Fred E B *et al.* Bacteriol Parasitnet, 1935, 92: 330~338
- 2 张博润, 蔡金科, 刘水成. 微生物学通报, 1993, 20(6): 335~338
- 3 张博润. 微生物学通报, 1995, 22(3): 9~12
- 4 袁玉芬, 朱婉华. 生物化学实验, 北京: 高等教育出版社, 1992: 30~35
- 5 谭天伟, 戚以政, 郭文彦等. 微生物学通报, 1996, 23(2): 89~90
- 6 刘得贵, 费景高, 于涌江等. FORTRAN 算法汇编, 北京: 国防工业出版社, 1991: 274~283

Study on Kinetics of Ergosterol Fermentation

He Xianfeng Qi Yizheng Tan Tianwei

(Department of Biochemical Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing 100029)

Zhang Borun

(Institute of Microbiology, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080)

Abstract The relationships among the consumption of sucrose, the production and the consumption of ethanol, the production of ergosterol and the growth of *Saccharomyces cerevisiae* were determined. A two-stage kinetic model was constructed, and the relative deviations between the experimental data and simulated results were no more than 18%.

Key words Ergosterol, *Saccharomyces cerevisiae*, kinetics of fermentation