

# 微生物连续发酵模型及其应用综述

周玉平<sup>1\*</sup> 周洁<sup>2</sup>

(1. 扬州职业大学数学系 江苏 扬州 225009)

(2. 中国科学技术大学生命科学学院 安徽 合肥 230027)

**摘要:** 连续发酵是目前微生物发酵工程研究的方向之一。近年来, 研究者对非线性发酵模型进行修改, 获得许多新的研究成果。本文对微生物连续发酵模型及其应用研究进行了综述。

**关键词:** 连续发酵, 模型, 极限环, 稳定性, 振荡, 优化控制

## A Review on Models of Microorganism Continuous Fermentation and Its Application

ZHOU Yu-Ping<sup>1\*</sup> ZHOU Jie<sup>2</sup>

(1. Department of Mathematics, Yangzhou Polytechnic College, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

(2. School of Life Science, University of Science and Technology of China, Hefei, Anhui 230027, China)

**Abstract:** At present, there are many studies on continuous fermentation in microorganism fermentation engineering. In recent years, researchers conducted a variety of studies and revisions about the nonlinear dynamic system and has got many achievements. The models of microorganism continuous fermentation and its application is reviewed in this paper.

**Keywords:** Continuous fermentation, Model, Limit cycles, Stability, Oscillation, Optimizing control

微生物发酵过程是一个非常复杂的生化反应过程, 所表现出的滞后、多态振荡, 混沌等动态特征是非线性问题的共性。应用数学方法对此类问题建模并分析其解的渐近性态, 探讨发酵过程的优化控制等问题一直都是人们关注的研究方向。付桂芳等<sup>[1]</sup>曾综述过由微分方程所描述的微生物连续培养动力系统。Wang FY 等<sup>[2]</sup>研究一个具周期脉冲的 Chemostat 食物链模型, 讨论了养料和被捕食种群之间的二维系统周期解的稳定性, 证明三维系统存在周期振荡现象。事实上振荡现象在微生物连续发酵过程中普遍存在<sup>[3-8]</sup>。近几年, 随着生物技

术的进步以及新材料、新工艺的不断开发和使用, 科研人员对非线性发酵模型作了进一步的改进和更深入细致的研究, 取得了许多新的研究成果。

### 1 恒化器微生物连续培养模型

#### 1.1 非线性发酵系统中的极限环

有关非线性发酵系统中的极限环问题的研究, 一般涉及极限环的存在性, 稳定性, 唯一性以及极限环的相对位置等。朱乐敏等<sup>[9-10]</sup>研究了一类单营养物和单菌种微生物连续培养模型存在极限环的相对位置及其周长。

基金项目: 江苏电大学术带头人培养基金项目

\* 通讯作者: Tel: 86-514-87321862; E-mail: zhouyuping1130@163.com

收稿日期: 2009-07-07; 接受日期: 2009-11-05

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

在周玉平等<sup>[11]</sup>研究的基础上,周玉平<sup>[12]</sup>讨论了两个微生物竞争同一营养,其中一个竞争者会产生毒素抑制另一竞争者且具可变营养消耗率的生化反应模型,通过构建 Lyapunov 函数和中心流形定理,建立稳定性和三维 Hopf 分支间的关系,从理论上证明三维系统存在渐近稳定的闭轨,并证明了系统中某一微生物处于竞争劣势而趋于灭绝时另一微生物物种和营养的二维稳定流形上极限环的存在性,从而修正并推广了有关文献的结果。由于在数学上,证明一个三维及以上系统极限环的存在性并不容易,因为一些在二维系统中经常使用的理论,如 Poincare-Bendixson 定理并不能直接运用到三维及以上系统,且构建 Lyapunov 函数也很困难。所以,利用中心流形定理与三维 Hopf 分支间的关系来证明三维系统极限环的存在性在理论和应用方面都有意义,实际上,这一方法也适用于其它许多三维系统。

为使微生物培养的理论更接近于实验结果,许多研究者不仅放弃模型中营养消耗率为常数的假设,且对生长率函数也加以改进,从而推广了经典的 Monod 模型。Guifang Fu 等<sup>[13]</sup>研究的模型(无量纲化后):

$$dx/dt = x(mye^{-by}/(a+y)-1)$$

$$dy/dt = 1 - y - mxye^{-by}/(a+y)(A + Cy)$$

其中  $y(t)$  表示  $t$  时刻养料的浓度,  $x(t)$  表示微生物的浓度,  $1/(A + Cy)$  表示微生物的增长对营养的消耗率,生长率函数取  $\mu(y) = mye^{-by}/(a+y)$ ,  $m, a, A, C$  均为正常数,得到了系统存在 Hopf 分支族的条件和由此产生的周期解族的周期特性。刘婧等<sup>[14-15]</sup>还对一类具 B-D 功能反应函数的食物链模型的动力学进行了研究。

## 1.2 由时滞微分方程所描述的微生物连续培养模型

姚玉华等<sup>[16]</sup>研究了一类具强核函数时滞的微生物连续培养模型,利用泛函微分方程理论和数值计算确定了系统存在 Hopf 分叉的参数区域以及周期解的稳定性,并通过相图定性描述了实验中出现的振荡和过渡现象,通过与具离散时滞或弱核函数时滞模型比较,说明在模型中引入强核函数时滞能更好地描述微生物连续培养过程中的动态行为。

董庆来等<sup>[17]</sup>则对一个具有时滞和可变营养消耗率的比率型 Chemostat 模型的稳定性进行了研究,

证明了系统平衡点的局部渐近稳定性以及 Hopf 分支的存在性,并利用泛函微分方程等理论证明了边界平衡点是全局渐近稳定的。

## 1.3 时变环境下的食物链模型和非均匀 Chemostat 食物链模型

在以上讨论的模型中,都假定流入的营养液浓度为常数,但情况并不完全这样,有时流入的营养浓度会随时间而变化,尤其是周期性的变化。刘婧等<sup>[18]</sup>假设流入的营养浓度  $S_0(t) = S_0 + be(t)$ , 其中  $e(t)$  是以  $2\pi$  为周期的函数且满足  $|e(t)| \leq 1, b \neq 0$ , 研究时变环境下均匀搅拌的 Chemostat 中的单食物链模型,设  $b$  为分岐参数,用单特征值分岐定理得到了该系统存在周期解的充分条件,并证明了单种群分岐解的稳定性。

人们对模型进行各种各样的修改是为了更精确地描述自然现象,例如:引进食物链<sup>[2,8,14-15,18-20]</sup>、周期输入/输出<sup>[19]</sup>,假设未被搅动<sup>[19-22]</sup>等。事实上,在自然界所存食物链中,只要食饵种群,被捕食种群和捕食者种群的初始密度均不为零,它们的密度不可能无限增大,且因相互制约,会分别被控制在一定的范围内。因此,在具有竞争关系的食物链模型中,生长函数取 B-D 型功能反应函数<sup>[14]</sup>具有实际意义。刘婧等<sup>[15]</sup>研究了一类具有 B-D 功能反应函数的非单食物链模型正解的存在性,理论分析和计算机数值模拟结果均表明,在一定条件下,系统中的种群共存是可能的,这符合实际情况。吴建华等<sup>[21]</sup>则研究了一类单营养物和单菌种的未搅拌的 Chemostat 模型,得到了该模型存在正平衡解的充分条件,并用线性算子的扰动理论和分岐解的稳定性理论,说明了该正平衡解在一定条件下是稳定的。基于自然界中适者生存是物种繁衍的普遍现象,郑承民等<sup>[23]</sup>在有关文献研究的基础上,曾讨论过一个恒化器中生物适应性生长模型解的渐近行为和周期解的存在性。

## 2 膜生物反应器连续发酵的动力学模型

采用膜分离技术与发酵耦合不仅可避免菌体丢失,而且能排除有害代谢物,避免或减轻产物的反馈阻遏,从而提高产率。石尔等<sup>[24]</sup>在一定的假设条件下,通过物料衡算构建了一个硅橡胶膜生物反应器的耦合动力学模型,并通过数值模拟与实验结果

进行比较,为膜生物反应器的稳定运行和实现过程自动化提供了一定的参考依据。王晓丽等<sup>[25]</sup>也用类似方法在应用膜生物反应器连续发酵法制取甲醇的研究中构建了菌体生长模型和产物生成动力学模型。

此外,Parag G 等<sup>[26-27]</sup>采用 *Zymomonas mobilis* 为发酵菌种,在膜生物反应器内构建了一个由发酵液中细胞浓度、乙醇浓度、葡萄糖浓度和内部主要化合物浓度构成的四维连续发酵模型,研究表明通过优化进料浓度、发酵稀释速率、渗透汽化膜面积以及细胞循环比等参数,可以获得最高的原料转化率和乙醇产率。同时指出采用细胞循环也能提高渗透汽化膜性能的稳定性。Andres MB 等<sup>[28]</sup>还用类似方法研究了一个三维连续发酵-渗透汽化膜技术的动力学模型。

通过构建数学模型进行过程模拟,不仅可以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理论依据,而且还可以模拟最合适的工艺流程和工艺条件,使生产控制等达到最佳状态,从而为工业化生产提供理论和技术支持<sup>[29]</sup>。石尔等<sup>[30]</sup>采用适当放大发酵罐体积(由 4 L 放大到 5 L)进行封闭循环发酵,实验研究了该放大系统在连续运行过程中的发酵动力学参数及膜传质动力学参数等基本性能,他们在实验中不仅没有发现膜污染现象,而且通过封闭循环发酵还可以减少酒精生产过程中产生的废液排放量,从而节省治污费用。杨晶等<sup>[31]</sup>用自制硅橡胶平板复合膜构造乙醇连续发酵-渗透汽化耦合系统,研究了系统的发酵动力学问题,并通过对圆形和矩形膜器的比较,发现扩大发酵-渗透汽化耦合实验规模对发酵环境及渗透汽化作用未产生不良影响,这表明适当放大发酵规模和膜面积来扩大整个连续发酵过程是可行的。显然,这样的研究具有现实意义。

### 3 其他微生物连续发酵模型

另一种建模的方法主要用于预测多种底物可以利用的条件下微生物的生长情况,这种方法称为控制论方法。实际上这是一个寻找目标(如生长速率的最大化)的过程,通常可选择单一的目标,并采用以目标为优化方向的数学分析方法。李晓红等<sup>[32]</sup>针对微生物连续发酵生产 1,3-丙二醇非线性动力系统,以产物 1,3-丙二醇的生产强度为目标泛函,建

立了最优控制模型,用不可微优化理论与方法证明了模型最优解的存在性与一阶最优性条件,并论述了最优性函数与一阶最优性条件的等价性。徐恭贤、高学金等<sup>[33-35]</sup>对微生物发酵过程的控制策略进行了研究,实际应用表明新策略的实施能有效提高微生物的发酵单位。李晓红等<sup>[36]</sup>还研究了微生物连续发酵稳定模型的算法与收敛性。此外,葛旭萌等<sup>[37]</sup>在有关文献研究的基础上,对乙醇连续发酵过程中自絮凝酵母颗粒粒径分布进行了模拟研究,从而为乙醇发酵过程中克服二氧化碳气泡干扰,准确表征絮凝酵母颗粒的粒径分布提供了一种有效方法。

### 4 总结与展望

数学模型法不仅能从本质上反映微生物发酵过程中各变量间的关系,而且应用计算机数值模拟也可直观地解释实验中出现的滞后、多态振荡、混沌等非线性现象。目前,国内外研究者对此做了许多卓有成效的工作。如白凤武<sup>[3-7,37]</sup>带领的课题组先后承担了国家自然科学基金项目:自絮凝酵母颗粒体系动力学及乙醇耐受性研究;国家 863 计划项目:基于高密度培养的高浓度高强度发酵技术等多项研究课题,并取得了重大的经济效益和社会效益。其中自固定化酵母细胞乙醇连续发酵技术 2008 年获教育部科技进步二等奖,且自絮凝颗粒酵母酒精发酵新技术已在国家大型燃料酒精试点建设工程中得到应用,替代了引进技术。目前,利用生物质发酵生产燃料乙醇、丁醇已成为国内外研究热点,但发酵过程中普遍存在的发酵产物对微生物的反馈抑制或因其积累所造成的毒性仍然是制约生产生物乙醇和丁醇技术经济性的关键因素<sup>[38]</sup>。由于发酵-渗透汽化膜分离耦合等技术不仅能在目标产品进行原位分离的同时对产品实现高效浓缩,而且可以极大地降低废水排放,必将在未来生物燃料的生产中发挥重要作用。为推进发酵-渗透汽化膜分离耦合等技术在生物燃料生产中的工业化应用,一方面,应重点加强高效渗透汽化膜的研发工作;另一方面,要积极开展发酵-渗透汽化膜分离耦合生产乙醇、丁醇工艺的系统研究,通过构建数学模型进行过程模拟,进一步优化工艺条件,研发成套技术和装备,加快利用该项技术生产乙醇、丁醇的中试试验和技术示范工作的进程,并进行全面的技术经济性分析,为发酵-渗

透汽化膜分离耦合技术的工业化应用提供可靠的技术支持和经济保障。

## 参 考 文 献

- [1] 付桂芳, 马万彪. 由微分方程所描述的微生物连续培养动力系统(I, II). 微生物学通报, 2004, **31**(5): 136–139; **31**(6): 128–131.
- [2] Wang FY, Zhang SW, Chen LS, *et al.* Bifurcation and complexity of Monod type predator-prey system in a pulsed chemostat. *Chaos, Solitons and Fractals*, 2006(27): 447–458.
- [3] Bai FW, Chen LJ, Anderson WA, *et al.* Parameter oscillation in high gravity medium continuous ethanol fermentation and their attenuation on multistage packed column bioreactor system. *Biotechnol and Bioeng*, 2004, **88**(5): 558–566.
- [4] 陈丽杰, 白凤武, WA Anderson, 等. 超高浓度培养基条件下酵母细胞生长及酒精生成的准稳态动力学研究. 生物加工过程, 2004, **2**(2): 25–29.
- [5] 罗鑫鹏, 陈丽杰, 汪芳, 等. 稀释速率对高浓度酒精连续发酵过程振荡行为的影响. 生物工程学报, 2005, **21**(4): 604–608.
- [6] 杨蕾, 陈丽杰, 白凤武. 高浓度酒精连续发酵过程中振荡行为的模拟及填料弱化振荡的机理. 化工学报, 2007, **58**(3): 715–721.
- [7] 陈令伟, 葛旭萌, 赵心清, 等. 木块填料对高浓度酒精连续发酵过程中振荡行为的弱化机制. 化工学报, 2007, **58**(10): 2624–2628.
- [8] 刘婧, 刘卫强. 恒化器中具有不同移动速率的环状模型解的定性分析. 大连海事大学学报, 2007, **33**(2): 116–119.
- [9] Zhu LM, Huang XC. Relative positions of limit cycles in the continuous culture vessel with variable yield. *Math Chemistry*, 2005, **38**(2): 118–128.
- [10] 朱乐敏, 黄讯成. 一个非线性连续培养模型的极限环及其周长. 科技通报, 2006, **22**(6): 729–736.
- [11] 周玉平, 黄讯成. 一个三维 Chemostat 竞争系统的 Hopf 分支和周期解. 应用数学, 2006, **19**(2): 388–394.
- [12] 周玉平. 一个带毒生化反应竞争模型正平衡点的全局稳定性. 高校应用数学学报, 2008, **23**(4): 437–446.
- [13] Guifang Fu, Wanbiao Ma. Hopf bifurcation of a variable yield chemostat model with inhibitory exponential substrate uptake. *Chaos, Solitons and Fractals*, 2006(30): 845–850.
- [14] Canterll RS, Cosner C. On the dynamics of predator-prey models with the Beddington-Deanglis functional response. *Math Anal Appl*, 2001(257): 206–222.
- [15] 刘婧, 张东亚. 一类有 B-D 功能反应函数的非单食物链模型正解的存在性. 大连海事大学学报, 2008, **34**(1): 61–66.
- [16] 姚玉华, 孙丽华, 修志龙. 一类具有时滞的微生物连续培养数学模型研究. 生物数学学报, 2005, **20**(3): 325–331.
- [17] 董庆来, 马万彪. 具有时滞和可变营养消耗率的比率型 Chemostat 模型稳定性分析. 系统科学与数学, 2009, **29**(2): 228–241.
- [18] 刘婧, 郑斯宁. 时变环境下 Chemostat 中微生物连续培养食物链模型的分歧分析. 生物数学学报, 2006, **21**(1): 89–96.
- [19] Wang YF, Yin JX. Predator-prey in unstirred Chemostat with periodical input and washout. *Nonlinear Analysis*, 2002, **3**(4): 597–610.
- [20] 刘婧, 郑斯宁. 非均匀 Chemostat 中非单食物链模型稳态正解的存在性. 高校应用数学学报, 2005, **20**(1): 37–46.
- [21] 吴建华, 王娜. 一类未搅拌 Chemostat 模型正解的存在性和稳定性. 陕西师范大学学报, 2007, **35**(1): 1–4.
- [22] Wu JH, Nie H, Wolkowicz GSK. The effect of inhibitor on the plasmid-bearing and plasm-free model in the unstirred Chemostat. *SIAM J Math Anal*, 2007(38): 1860–1885.
- [23] 郑承民, 刘芳园. 恒化器中生物适应性生长模型的周期解. 石河子大学学报, 2009, **27**(1): 113–117.
- [24] 石尔, 肖泽仪, 黄卫星, 等. 硅橡胶膜生物反应器封闭连续发酵与乙醇分离耦合动力学研究. 四川大学学报, 2007, **39**(1): 93–97.
- [25] 王晓丽, 于建国. 膜生物反应器连续发酵法制取甲醇及其发酵动力学初探. 工业微生物, 2009, **39**(2): 34–38.
- [26] Parag G, Elnashaie SSEH. Bifurcation analysis of two continuous membrane fermentor configurations for producing ethanol. *Chem Eng Sci*, 2004, **59**(15): 3235–3268.
- [27] Andres MB. Bifurcation, stabilization, ethanol productivity enhancement for a membrane fermentor. *Mathematical and compute Modelling*, 2005, **41**(4/5): 391–406.
- [28] Andres MB, Parag G, Elnashaie SSEH. Non-linear characteristics of a membrane fermentor for ethanol production and their implications. *Nonlinear Analysis*, 2006, **7**(3): 432–457.
- [29] 储炬, 李友荣. 现代生物工艺学(上). 上海: 华东理工大学出版社, 2007: 135–332.
- [30] 石尔, 肖泽仪, 黄卫星, 等. 硅橡胶膜生物反应器封闭循环连续发酵制造乙醇放大实验及该发酵系统的基本性能. 高校化学工程学报, 2007, **21**(2): 280–285.

- [31] 杨晶, 伍云涛, 汤晓玉, 等. 乙醇连续发酵-渗透汽化耦合系统发酵动力学研究. 四川化工, 2006, 9(5): 13-16.
- [32] 李晓红, 冯恩民, 修志龙. 微生物连续培养非线性动力系统的性质及最优性条件. 工程数学学报, 2006, 23(1): 7-12.
- [33] 徐恭贤, 邵诚, 修志龙. 甘油生物歧化为 1,3-丙二醇过程的优化控制. 中国化学工程学报(英文版), 2008, 16(1): 128-134.
- [34] 高学金, 王普, 孙崇正, 等. 微生物发酵过程的建模与控制. 控制工程, 2006, 13(2): 152-157.
- [35] 高学金, 王普, 张亚庭, 等. 一种提高微生物发酵单位的新优化控制策略. 化工学报, 2008, 59(6): 1462-1469.
- [36] 李晓红, 冯恩民, 修志龙. 微生物连续发酵稳定模型的算法与收敛性. 清华大学学报, 2007, 47(Z2): 1907-1909.
- [37] 葛旭萌, 白凤武. 乙醇连续发酵过程中自絮凝酵母颗粒经分布的模拟. 化工学报, 2006, 57(4): 892-897.
- [38] Lin Y, Tanaka S. Ethanol fermentation from biomass resources: current state and prospects. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2006(69): 627-642.

## 征 稿 简 则

### 1 刊物简介与栏目设置

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办的, 以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括: 工业微生物学、海洋微生物学、环境微生物学、基础微生物学、农业微生物学、食品微生物学、兽医微生物学、药物微生物学、医学微生物学、病毒学、酶工程、发酵工程、代谢工程等领域的最新研究成果, 产业化新技术和新进展, 以及微生物学教学研究和改革等。设置的栏目有: 研究报告、专论与综述、生物实验室(原技术与方法)、高校教改纵横(原高等院校教学)、名师名课(原名师讲堂)、教学与科研成果展示、显微世界、专题专栏、专家论坛、书讯、会讯等。

### 2 投稿方式

投稿时请登录我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>, 点击作者投稿区, 第一次投稿请先注册, 获得用户名和密码, 然后依照提示提交稿件, 详见主页“投稿、征稿须知”。

作者必须在网站投.doc 格式的电子稿, 图与文字编好页码、图号后合成一个文件上传。凡不符合(投稿须知)要求的文稿, 本部恕不接受。

### 3 写作要求

来稿要求论点明确, 数据可靠, 简明通顺, 重点突出。

#### 3.1 篇幅

以 A4 纸 5 号字计算, 综述、教学和方法类文章最好在 4 页以内, 研究报告 4-7 页(以上均包括图表)。

#### 3.2 图表

文中的图表须清晰简明, 文字叙述应避免与图表重复。所有小图的宽度应小于 8 cm(占半栏), 大图的宽度应小于 17 cm(通栏)。

#### 3.3 参考文献及脚注

参考文献按文内引用的先后顺序排序编码, 未公开发表的资料请勿引用。我刊的参考文献需要注明著者(文献作者不超过 3 人时全部列出, 多于 3 人时列出前 3 人, 后加“等”或“*et al.*”, 作者姓前、名后, 名字之间用逗号隔开)、文献名、刊名、年卷期及页码。国外期刊名可以缩写, 但必须标准, 不加缩写点, 斜体。参考文献数量不限。

参考文献格式举例:

- 期刊: [1] 刘杰, 成子强, 史宣玲. SARS 冠状病毒 *nsp14* 基因的克隆和表达. 微生物学通报, 2007, 34(2): 1-3.
- [2] Kajiura H, Mori K, Tobimatsu T, *et al.* Characterization and mechanism of action of a reactivating factor for adenosylcobalamin-dependent glycerol dehydratase. *J Biol Chem*, 2001, 276(39): 36514-36519.
- 图书: [3] 钱存柔, 黄仪秀. 微生物实验教程. 北京: 北京大学出版社, 2000: 4.
- [4] 董志扬, 张树政, 方宣钧, 等. 海藻的生物合成及抗逆机理//华路等. 核农学进展. 北京: 中国农业出版社, 1996: 115-120.

脚注(正文首页下方):

基金项目:                      基金资助(No. )

\*通讯作者 Tel:                      ; Fax:                      ; E-mail:

收稿日期: 2010-00-00 ; 接受日期: 2010-00-00

(下转 p.318)