

DOI: 10.19812/j.cnki.jfsq11-5956/ts.20250210002

引用格式: 姚博伟, 陶鹏, 高红亮. 土壤杆菌 A02 分批发酵产可得然胶动力学模型的建立[J]. 食品安全质量检测学报, 2025, 16(9): 40–47.

YAO BW, TAO P, GAO HL. Establishment of kinetic model for the batch fermentation production of curdlan by *Agrobacterium* sp. A02 [J]. Journal of Food Safety & Quality, 2025, 16(9): 40–47. (in Chinese with English abstract).

# 土壤杆菌 A02 分批发酵产可得然胶动力学模型的建立

姚博伟<sup>1\*</sup>, 陶 鹏<sup>2</sup>, 高红亮<sup>2\*</sup>

(1. 宁夏计量质量检验检测研究院, 银川 750000; 2. 华东师范大学生命科学学院, 上海 200241)

**摘 要: 目的** 预测和控制土壤杆菌 A02 发酵产可得然胶的过程, 建立随时间变化的模型, 模拟细菌的生长, 可得然胶生成以及蔗糖消耗的动力学变化。**方法** 对土壤杆菌分批发酵过程中的菌体浓度、蔗糖含量、可得然胶产量进行测定, 分别采用 Logistic 方程、Luedeking-Piret 方程和 Luedeking-Piret-Like 方程对实验值进行拟合。**结果** 拟合结果表明构建的 3 种模型适用于描述菌体生长动力学、可得然胶生成动力学和蔗糖消耗动力学, 其  $R^2$  均在 0.99 以上, 显著性水平均为极显著。模型拟合值与实验值误差均小于 10%, 拟合良好。**结论** 建立的菌体生长动力学模型、蔗糖消耗动力学模型和可得然胶生成动力学模型都能较好地描述和预测土壤杆菌 A02 在分批发酵产可得然胶过程中的动态代谢变化, 为描述发酵动力学特征和可得然胶工业化生产提供了理论支持。

**关键词:** 土壤杆菌; 可得然胶; 发酵动力学模型; 分批发酵

## Establishment of kinetic model for the batch fermentation production of curdlan by *Agrobacterium* sp. A02

YAO Bo-Wei<sup>1\*</sup>, TAO Peng<sup>2</sup>, GAO Hong-Liang<sup>2\*</sup>

(1. NingXia Academy of Metrology & Quality Inspection, Yinchuan 750000, China;

2. School of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200241, China)

**ABSTRACT: Objective** To predict and control the fermentation process of *Agrobacterium* sp. A02 strain to produce curdlan, establish a time-varying model to simulate bacterial growth and obtain the kinetic changes of curdlan production and sucrose consumption. **Methods** The viable bacteria count, sucrose content and curdlan content during the batch fermentation process of *Agrobacterium* sp. A02 were measured, and the experimental values were fitted using Logistic equation, Luedeking-Piret equation and Luedeking-Piret-Like equation, respectively. **Results** The fitting results indicated that the 3 kinds of models were applicable to the growth kinetics of bacterial cells, the generation kinetics of pectin, and the consumption kinetics of sucrose. The  $R^2$  were above 0.99, and the

收稿日期: 2025-02-10

基金项目: 宁夏自然科学基金项目(2023AAC03735); 2023 年度宁夏回族自治区青年科技托举人才培养项目(宁科协发组字[2024]6 号); 宁夏科技惠民项目(2024CMG03049)

第一作者/\*通信作者: 姚博伟(1993—), 女, 硕士, 工程师, 主要研究方向为应用微生物及食品质量安全。E-mail: ybw2016@sina.com

\*通信作者: 高红亮(1973—), 男, 博士, 副教授, 主要研究方向为应用微生物与酶学研究。E-mail: hlgao@bio.ecnu.edu.cn

significance level was extremely significant. The errors between the fitted and experimental values were less than 10%, indicating a good fit. **Conclusion** The established bacterial growth kinetics model, sucrose consumption kinetics model and curdlan production kinetics model can predict and describe the dynamic metabolic changes of *Agrobacterium* sp. A02 during the fermentation process, providing theoretical support for describing the fermentation kinetics characteristics and industrial production of curdlan.

**KEY WORDS:** *Agrobacterium* sp.; curdlan; fermentation kinetic model; batch fermentation

## 0 引言

可得然胶又称为热凝胶多糖, 是日本学者 HARADA 等<sup>[1]</sup>于 1965 年在 *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* 10C3 菌株中发现的一种新型微生物胞外多糖。它是由土壤杆菌 (*Agrobacterium* sp.)<sup>[2]</sup>、根瘤菌 (*Rhizobium* sp.)<sup>[3]</sup> 或粪产碱杆菌 (*Alcaligenes faecalis*)<sup>[4]</sup> 合成的水不溶性  $\beta$ -1,3 葡聚糖<sup>[5-6]</sup>。因其具有独特的加热成胶性、持水性、无毒无害性、耐酸碱性、耐热耐冻性<sup>[7-8]</sup> 被广泛应用于食品、生命医学、新材料、环境保护等行业<sup>[9-12]</sup> 中。

美国食品药品监督管理局 (Food and Drug Administration, FDA) 于 1996 年批准可得然胶作为食品添加剂应用到加工食品中<sup>[13]</sup>, 可作为稳定剂、乳化剂、增稠剂、保水剂应用于乳制品<sup>[14]</sup>、肉制品<sup>[15]</sup>、冷冻食品<sup>[16]</sup> 和脂肪替代食品<sup>[17]</sup> 中。我国于 2006 年批准可得然胶为新型食品添加剂后<sup>[18]</sup>, 国内近年来在微生物发酵产可得然胶方法也报道了诸多研究成果, 主要集中在以下几个方面: (1) 高产和高凝胶强度菌株选育, 于婷婷等<sup>[19]</sup> 构建了 *exoK* 基因缺失菌株, 并通过耐高糖筛选得到一株高凝胶强度可得然胶生产菌株, 其凝胶强度较野生菌株提高了 17.6%; (2) 可得然胶合成机制调控方面, ZHANG 等<sup>[20]</sup> 探究了碳源储存颗粒对土壤杆菌合成可得然胶调控机制的影响, 发现糖原和 *phb* 合成对可得然胶合成具有重要作用; (3) 发酵工艺的优化, 刘智磊<sup>[21]</sup> 构建了土壤杆菌发酵耦合酶解体系, 可得然胶发酵产量提高 47%; (4) 下游技术开发应用, 如可得然胶与葡聚糖、壳聚糖等复配的复合涂膜, 能有效抑制霉菌生长, 可用于果蔬和肉类等食品保鲜<sup>[22-23]</sup>; 但在发酵动力学研究方面鲜见相关研究报道。通过构建发酵动力学模型, 可以了解发酵过程中微生物菌体生长、产物生产、底物消耗的机制和规律<sup>[24]</sup>, 实现发酵过程中的有效预测和精准控制, 从而达到优化发酵工艺和提升产物产量的目的<sup>[25]</sup>, 为分批发酵及连续发酵提供理论基础<sup>[26]</sup>。分批发酵是指将发酵培养基一次性投入发酵罐, 经灭菌、接种和发酵后再一次性地将发酵液放出的一种操作方式<sup>[27]</sup>。方苏等<sup>[26]</sup> 利用构建的动力学模型, 成功预测了冬虫夏草菌的分批发酵过程, 为冬虫夏草发酵工业化生产提供了理论基础支撑。孙文等<sup>[28]</sup> 利用构建的动力学模型, 成功预测了嗜热链球菌产乳酸的发酵过程, 为乳酸生物发酵工业化生产提供了理

论基础支撑。Logistic 方程、Luedeking-Piret 方程和 Luedeking-Piret-Like 方程是 3 种用于发酵动力学研究的经典模型。其中 Logistic 方程和 Monod 方程是经典的描述菌体生长动力学的常用模型<sup>[29]</sup>, 相比较而言, Logistic 方程的特点是非线性, 呈现出典型 S 型曲线, 能较好地反映出在分批发酵过程中, 随着菌体浓度增加而限制菌体的自身生长<sup>[30]</sup>。根据细胞生长和产物合成之间的关系, 可以把发酵过程分为偶联型、半偶联型和非偶联型。可得然胶发酵属于菌体生长和产物生成非偶联型, 一般采用 Luedeking-Piret 方程来描述产物生成动力学模型<sup>[31-32]</sup>。可得然胶分批发酵的过程以蔗糖为碳源, 其作为底物的消耗主要为以下 3 方面: (1) 菌体生长阶段; (2) 产物合成阶段; (3) 细胞维持消耗<sup>[33]</sup>。选用 Luedeking-Piret-Like 方程建立底物消耗动力学模型。

本研究针对产可得然胶土壤杆菌 A02 分批发酵过程, 应用 Logistic 方程、Luedeking-Piret 方程和 Luedeking-Piret-Like 经典发酵动力学模型方程, 探究土壤杆菌 A02 的菌体生长、产物生产和底物消耗的变化规律, 构建菌体生长动力学、可得然胶生成动力学和蔗糖消耗动力学模型。通过建立的发酵动力学模型, 可为预测和控制可得然胶进一步中试放大、工业优化和工业化生产提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

土壤杆菌 (*Agrobacterium* sp.) A02 由华东师范大学生命科学学院微生物实验室保存。

蔗糖、酵母粉、牛肉膏、琼脂粉、3,5-二硝基水杨酸、四水酒石酸钾钠、苯酚、无水亚硫酸钠、NaCl、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CaCO}_3$  (分析纯, 国药集团上海试剂有限公司)。

### 1.2 仪器与设备

R1-250 型低温恒温培养箱、Sorvall RC-6plus 型冷冻离心机 (美国赛默飞世尔科技有限公司); PB-10 型 pH 计、SQP 型电子天平 (分度值 0.0001 g)、BIOSTART-C PLUS 型发酵罐 (德国赛多利斯公司); DKY-II 型恒温调速回转式摇床 (上海知楚设备有限公司); SW-CJ-2D 超净工作台 (苏州安泰空气技术有限公司); Milli-Q 去离子水发生器 (美国

Millipore 公司); TA-XT PLUS 型质构仪(英国 Stable Micro System 公司); UV-2600i 型分光光度计(日本岛津公司); Cytation1 型酶标仪(美国安捷伦科技有限公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 培养基的配制

种子培养基: 蔗糖 20.0 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1.5 g/L,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  5.0 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.0 g/L,  $\text{CaCO}_3$  3.0 g/L, 调 pH 至 7.0。

斜面培养基: 采用文献[34]中描述的配方。

发酵培养基: 蔗糖 100.0 g/L,  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  3.0 g/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  2.0 g/L,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1.0 g/L, 酵母粉 4.5 g/L,  $\text{CaCO}_3$  2.0 g/L, 消泡剂 0.5 g/L, 调 pH 至 7.0。

#### 1.3.2 土壤杆菌的活化与培养

从 $-80^\circ\text{C}$ 取出保存的土壤杆菌 A02 菌株的冻存管, 接入到种子培养基中(50/250 mL), 250 r/min,  $30^\circ\text{C}$ 振荡培养 20 h 进行活化。把活化后的菌液在斜面培养基试管上划线, 将试管斜面放置在  $30^\circ\text{C}$ 培养箱中培养 24 h。用接种环从培养好的试管斜面上刮取一环接种到种子培养基中(100/500 mL), 250 r/min,  $30^\circ\text{C}$ 振荡培养 18 h。

#### 1.3.3 分批发酵

将 1.3.2 中的种子液以 5% (*V/V*) 接种量接入到 15 L 全自动发酵罐中, 装液量为 9 L, 初始搅拌转速为 500 r/min, 通气量为 1 vvm,  $30^\circ\text{C}$ 培养 96 h。0~12 h 每隔 3 h 取样一次, 测定发酵液  $\text{OD}_{600}$  和氨态氮含量, 以监测菌种生长和氨态氮消耗情况。从 24 h 开始每隔 12 h 取样一次, 测定可得然胶含量和剩余蔗糖含量。

#### 1.3.4 菌体生长量的测定

采用文献[35]中所述的干重法测定菌体生长量。

#### 1.3.5 发酵液中蔗糖含量的测定

采用文献[36]中所述的 3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)法进行发酵液中蔗糖含量的测定。

#### 1.3.6 可得然胶产量的测定

参照文献[35]中描述的方法稍作修改, 准确量取 10 mL 发酵液, 加入 150 mL、1 mol/L NaOH 溶液, 200 r/min 摇床振荡 3 h。待可得然胶充分溶解后, 9000 r/min, 离心 10 min, 取上清, 将上清液用 6 mol/L HCl 溶液调 pH 至中性, 而后将调制中性的混合液 9000 r/min, 离心 10 min, 将沉淀水洗 3 次, 每次加入水 150 mL, 9000 r/min, 离心 10 min; 沉淀  $60^\circ\text{C}$ 、12 h 烘干后称重, 计算可得然胶产量。

#### 1.3.7 发酵液中氨态氮含量的测定

按照文献[35]所述方法进行发酵液中氨态氮含量的测定。

#### 1.3.8 可得然胶凝胶强度的测定

按照 GB 28304—2012《食品安全国家标准 食品添加剂 可得然胶》中所规定方法制备 2% 的可得然胶凝胶并测定其凝胶强度。

#### 1.3.9 发酵液 pH 的测定

用 pH 计分别测定不同取样时间发酵液样品 pH。

#### 1.3.10 发酵动力学模型的建立和验证

土壤杆菌 A02 分批发酵过程中, 从 4 h 起每隔 2 h 取样测定菌体生长量, 从 12 h 起每隔 12 h 取样分别测定菌体生长量、蔗糖含量和可得然胶产量。分别采用 Logistic、Luedeking-Piret、Luedeking-Piret-like 进行菌体生长量、可得然胶生成量和蔗糖消耗量的发酵动力学模型拟合构建。动力学模型参数由发酵液样液测定计算得出。菌体生长动力学由发酵液中菌体量的变化反应; 产物生成动力学由发酵液中可得然胶产量的变化反应; 底物消耗动力学由发酵液中蔗糖含量的变化反应。

### 1.4 数据处理

所有实验均重复 3 次, 使用 Origin 2018 对数据进行统计、作图和动力学模型拟合, 采用 SPSS 22.0 对数据进行显著性差异分析, 以  $P < 0.05$  为显著性差异,  $P < 0.01$  为极显著性差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤杆菌分批发酵过程中各参数的变化

土壤杆菌 A02 分批发酵产可得然胶过程中, 对发酵液中菌体生物量、蔗糖含量、氨态氮含量、发酵液 pH、可得然胶产量的动态变化情况进行检测, 所得结果如图 1 所示。可得然胶的分批发酵过程分为两个阶段, 前期为菌体生长期, 后期为可得然胶合成期。文献报道可得然胶是在氮源受到限制才能合成<sup>[37]</sup>, 在分批发酵过程中, 前期菌体生长消耗氮源, 当氮源耗净时进入产胶期。从图 1 的发酵代谢曲线可以看出, 12 h 时, 氨态氮为 0.2 g/L, 此时菌体干重为 3.0 g/L, 到 24 h 时, 氨态氮含量为 0 g/L。因此 0~12 h 为生长期。此后, 可得然胶含量迅速增加, 为产胶期。直到 72 h, 可得然胶产量为 30 g/L, 24~72 h 内, 可得然胶的生产强度为 0.548 g/(L·h), 72 h 后可得然胶的生产强度下降, 为 0.166 g/(L·h)。这一结果与刘恩华等<sup>[38]</sup>的报道接近, 在 96 h, 可得然胶产量达到 34 g/L。随着可得然胶的增加, 发酵液中的蔗糖含量逐渐降低, 从 24 h 的 90 g/L, 到 72 h 的 35 g/L, 24~72 h 蔗糖的消耗速率为 1.145 g/(L·h), 此后蔗糖消耗速率也略有下降, 72 h 到 96 h 蔗糖的消耗速率为 0.625 g/(L·h)。这一现象和可得然胶生成速率下降相吻合。在本次发酵过程中, pH 的变化规律性非常明显, 与万婕等<sup>[39]</sup>的报道一致。发酵开始时, pH 出现迅速下降, 到 12 h 时已经从初始的 6.6 下降到 4.9, 然后又逐渐回升, 此后一直稳定在 5.2 左右。前期 pH 下降可能是由于糖代谢产生有机酸引起的, 12 h 后的 pH 回升是由于部分有机酸被消耗, 导致 pH 略有回升。24 h 后 pH 一直维持在 5.2, 表明此时菌体非常专一的利用蔗糖大量生成可得然胶, 没有生成有机酸, 产胶期 pH 的稳定是保证分批发酵成功的关键因素。

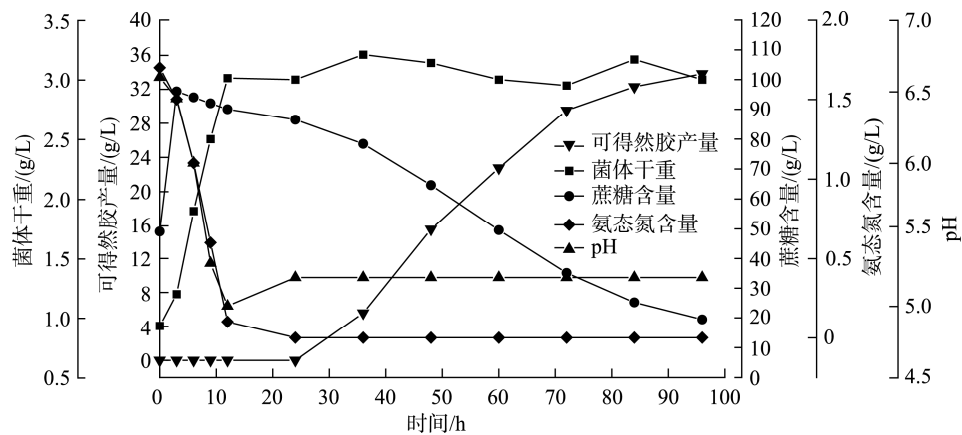


图 1 土壤杆菌 A02 分批发酵代谢曲线  
Fig.1 Batch fermentation metabolic curve of *Agrobacterium* sp. A02

2.2 土壤杆菌菌体生长动力学模型的建立

由图 2 可知, 土壤杆菌分批发酵过程中菌体生长为典型的 S 型, 因此选用 Logistic 方程建立可得然胶分批发酵菌体生长动力学模型, 计算公式见公式(1)~(3)。

Logistic 方程:  $\frac{dx}{dt} = \mu(1 - \frac{X}{X_m})$  (1)

或  $\mu t = \left(\frac{X_m}{X_0} - 1\right) + \ln\left(\frac{X}{X_m - X}\right)$  (2)

该方程积分推导可得方程:

$$X = \frac{X_0 e^{\mu t}}{1 - \frac{X_0}{X_m}(1 - e^{\mu t})}$$
 (3)

式中:  $X$  为发酵液中菌体生物量, g/L;  $X_0$  为发酵初始菌体生物量, g/L;  $X_m$  为发酵最大菌体生物量, g/L;  $\mu$  为菌体比生长速率,  $h^{-1}$ ;  $t$  为发酵时间, h。

根据实验数据,  $X_0=0.023$  g/L,  $X_m=5.76$  g/L, 将  $X_0$ 、 $X_m$  带入到公式(2)中, 以时间  $t$  为横坐标,  $\ln[X/(X_m-X)]$  为纵坐标, 可以得到回归方程  $Y=0.3255X-3.488$ ,  $r^2=0.9968$ 。根据回归方程可知比生长速率  $\mu=0.3255$   $h^{-1}$ 。代入公式(3)可得菌体生长动力学 Logistic 拟合方程, 见公式(4):

$$X = \frac{0.17e^{0.3255t}}{1 - 0.0295e^{0.3255t}}$$
 (4)

根据公式(4)对土壤杆菌分批发酵菌体生长量进行拟合, 并与实测值进行对比, 结果如图 2 所示, 模型方差分析结果如表 1 所示。

由图 2 拟合值和实测值对比可知, 该模型的拟合值和实测值趋近, 平均拟合误差为, 最大误差 9.88%。表 1 菌体动力学模型方差分析结果显示, 该模型显著性水平  $P<0.0001$ , 差异极显著, 相关系数  $R^2$  为 0.9986, 说明该模型能较好地模拟并预测土壤杆菌 A02 发酵过程中菌体数量的动态变化过程。

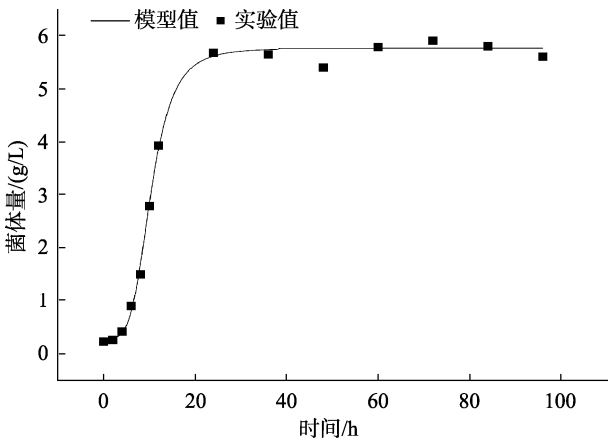


图 2 A02 菌体浓度变化拟合曲线  
Fig.2 Fitting curve of concentration chang of A02 stra

表 1 土壤杆菌 A02 菌体生长动力学模型方差分析  
Table 1 Variance analysis of growth kinetics model of *Agrobacterium* sp. A02

| 方差来源         | 平方和     | 自由度 | 均方       | F         | P       |
|--------------|---------|-----|----------|-----------|---------|
| 回归           | 257.353 | 4   | 64.33800 | 7501.7002 | <0.0001 |
| 剩余           | 0.086   | 10  | 0.00858  |           |         |
| 总计           | 257.439 | 14  |          |           |         |
| $R^2=0.9986$ |         |     |          |           |         |

2.3 可得然胶生成动力学模型的建立

Luedeking-Piret 方程见公式(5):

$$\frac{dp}{dt} = m_1x + m_2 \frac{dx}{dt}$$
 (5)

方程中  $t=0$  时,  $P=P_0=0$  g/L, 其中  $m_1$ 、 $m_2$  是该模型的参数, 根据发酵条件的变化而变化。

上述方程推导可得公式(6):

$$P = P_0 + m_2(x - x_0) + m_1(x_m / \mu) \ln \{1 - (x_0 / x_m)(1 - e^{\mu t})\}$$
 (6)  
比生长速率  $\mu$  为  $0.3255$   $h^{-1}$ ,  $P_0=0$ , 推导可得  $m_1=0.088$   $h^{-1}$ ,

$m_2=0.5\text{ g/g}$ 。将以上值代公式(6)可得可得然胶生成动力学模型见公式(7):

$$P=1.557\ln(0.0174e^{0.3255t}+0.983)-0.5X(t)+0.05\text{ (7)}$$

根据该模型绘制土壤杆菌 A02 发酵过程中发酵液中可得然胶产量的实验值与模型预测值拟合曲线如图 3 所示,可得然胶生成动力学模型方差分析结果见表 2。

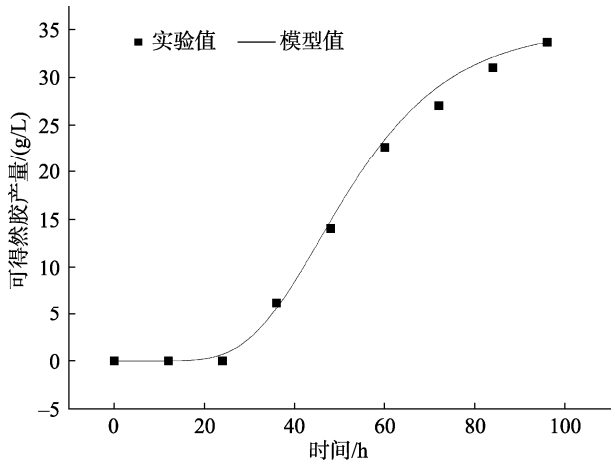


图 3 可得然胶生成动力学拟合曲线  
Fig.3 Fitting curve of kinetics of curdlan production

表 2 可得然胶生成动力学模型方差分析  
Table 2 Variance analysis of the kinetic model for the formation of curdlan

| 方差来源 | 平方和      | 自由度 | 均方       | F        | P       |
|------|----------|-----|----------|----------|---------|
| 回归   | 3810.422 | 3   | 1270.141 | 4573.658 | <0.0001 |
| 剩余   | 1.666    | 6   | 0.277    |          |         |
| 总计   | 3812.088 | 9   |          |          |         |

$R^2=0.9987$

由图 3 拟合值和实测值对比可知,该模型的拟合值和实测值趋近,最大误差为 9.80%。表 2 菌体动力学模型方差分析结果显示,该模型显著性水平  $P<0.0001$ ,差异极显著,相关系数  $R^2$  为 0.9987,说明该模型能较好地模拟并预测土壤杆菌 A02 发酵过程中可得然胶产量的动态变化过程。

2.4 蔗糖消耗动力学模型的建立

选用 Luedeking-Piret-Like 方程建立底物消耗动力学模型,其微分方程为公式(8):

$$\frac{dS}{dt}=\frac{1}{Y_{x/s}}\times\frac{dx}{dt}-\frac{1}{Y_{p/s}}\times\frac{dP}{dt}-KeX\text{ (8)}$$

式中:  $dS/dt$  是底物消耗速率,  $\text{g}/(\text{L}\cdot\text{h})$ ;  $S$  为蔗糖质量浓度,  $\text{g/L}$ ;  $Y_{x/s}$  是细胞对基质的产量系数,  $\text{g/g}$ ;  $Y_{p/s}$  是产物对基质的产量系数,  $\text{g/g}$ ;  $Ke$  是细胞维持系数,  $\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 。

由公式(8)推导可得公式(9):

$$\frac{dS}{dt}=-b_1X-b_2\frac{dX}{dt}\text{ (9)}$$

土壤杆菌 A02 分批发酵过程中,  $t=0$ ,  $S=S_0=100\text{ g/L}$ , 推

导出  $b_1=0.169\text{ h}^{-1}$ ,  $b_2=-0.4\text{ h}^{-1}$ , 进一步推导可得蔗糖消耗动力学模型见公式(10):

$$S=99.6+0.4X(t)+2.991\ln(0.017e^{0.3255t}+0.983)\text{ (10)}$$

根据该模型绘制土壤杆菌 A02 发酵过程中蔗糖消耗量模型预测值拟合曲线如图 4 所示,可得然胶生成动力学模型方差分析结果见表 3。

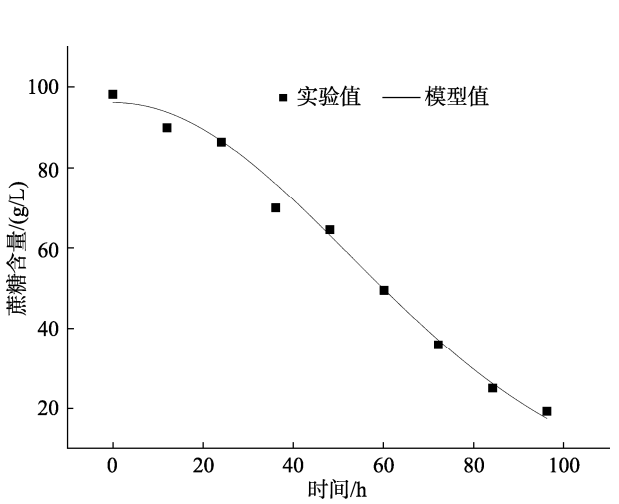


图 4 蔗糖消耗动力学模型拟合曲线  
Fig.4 Fitting curve of sucrose consumption kinetics model

由图 4 拟合值和实测值对比可知,该模型的拟合值和实测值趋近,最大误差为 9.99%。表 3 蔗糖消耗动力学模型方差分析结果显示,该模型显著性水平  $P<0.0001$ ,差异极显著,相关系数  $R^2$  为 0.9993,说明该模型能较好地模拟并预测土壤杆菌 A02 发酵过程中蔗糖消耗量的动态变化过程。

表 3 蔗糖消耗动力学模型方差分析  
Table 3 Variance analysis of sucrose consumption kinetics model

| 方差来源 | 平方和       | 自由度 | 均方        | F        | P       |
|------|-----------|-----|-----------|----------|---------|
| 回归   | 40212.282 | 3   | 13404.094 | 2297.991 | <0.0001 |
| 剩余   | 34.997    | 6   | 5.8329    |          |         |
| 总计   | 40247.279 | 9   |           |          |         |

$R^2=0.9933$

2.5 模型验证

表 4 是基于经典发酵动力学模型(Logistic 方程、Luedeking-Piret 方程、Luedeking-Piret-Like 方程)构建的模型拟合值与实验值的比较。由表 4 可见,模型模拟拟合值与实验值之间相对误差均在 10%以下,这证明拟合值和实验值高度一致。因此,本研究建立的发酵动力学模型能较好地描述土壤杆菌 A02 发酵过程中菌体生长、可得然胶生成以及蔗糖消耗的动态变化规律。

表 4 发酵动力学模型拟合值和实验值的比较  
Table 4 Comparison of fitted and experimental values of fermentation kinetics models

| 时间/h | 菌体生长量         |               |      | 可得然胶产量        |               |      | 蔗糖含量          |               |      |
|------|---------------|---------------|------|---------------|---------------|------|---------------|---------------|------|
|      | 实验值<br>/(g/L) | 拟合值<br>/(g/L) | 误差/% | 实验值<br>/(g/L) | 拟合值<br>/(g/L) | 误差/% | 实验值<br>/(g/L) | 拟合值<br>/(g/L) | 误差/% |
| 4    | 0.42          | 0.40          | 5.00 | —             | —             | —    | —             | —             | —    |
| 6    | 0.89          | 0.81          | 9.88 | —             | —             | —    | —             | —             | —    |
| 8    | 1.51          | 1.67          | 9.58 | —             | —             | —    | —             | —             | —    |
| 10   | 2.78          | 2.84          | 2.11 | —             | —             | —    | —             | —             | —    |
| 12   | 3.93          | 3.87          | 1.55 | 0             | 0             | 0    | 90.01         | 93.78         | 4.02 |
| 24   | 5.67          | 5.61          | 1.07 | 0.66          | 0.70          | 5.71 | 86.47         | 86.72         | 0.29 |
| 36   | 5.64          | 5.74          | 1.74 | 6.16          | 5.61          | 9.80 | 70.01         | 76.01         | 7.89 |
| 48   | 5.41          | 5.76          | 6.08 | 14.01         | 14.87         | 5.78 | 64.61         | 63.16         | 2.30 |
| 60   | 5.78          | 5.76          | 0.35 | 22.61         | 23.47         | 3.66 | 49.54         | 49.75         | 0.42 |
| 72   | 5.91          | 5.77          | 2.43 | 27.01         | 29.07         | 7.09 | 36.01         | 37.14         | 3.04 |
| 84   | 5.81          | 5.77          | 0.69 | 31.02         | 32.13         | 3.45 | 25.21         | 26.29         | 4.11 |
| 96   | 5.60          | 5.77          | 2.95 | 33.68         | 33.67         | 0.03 | 19.48         | 17.71         | 9.99 |

注: —表示未进行该实验。

3 讨论与结论

可得然胶作为一种新型微生物胞外多糖, 因其热胶性和流变性被用于食品工业和生命医学等行业, 我国目前暂时无法实现可得然胶完全自主化生产, 究其原因是产量低、凝胶强度低等瓶颈问题<sup>[40]</sup>。

张琪等<sup>[41]</sup>应用 Logistic 模型建立了黑加仑果酒酿造发酵过程中酵母菌数量变化动力学模型, 相关系数为 0.9864, 拟合效果良好, 说明 Logistic 模型模拟黑加仑果酒发酵过程准确可行。SONG 等<sup>[42]</sup>应用 Luedekin-Piret 方程建立了酪丁酸梭菌发酵过程中丁酸生产的动力学模型, 描述了发酵中丁酸生成变化规律。章帅文等<sup>[33]</sup>基于 Luedekin-Piret-Like 方程成功建立了小白链霉菌分批发酵产  $\epsilon$ -聚赖氨酸过程中还原糖消耗动力学模型, 相关系数为 0.9749, 拟合度较高, 成功预测了小白链霉菌分批发酵产  $\epsilon$ -聚赖氨酸过程中还原糖消耗变化规律, 为  $\epsilon$ -聚赖氨酸工业化生产控制提供了理论基础。发酵动力学模型的构建, 可精准预测和控制发酵过程, 从而优化发酵工艺, 提升产物产量。为提升可得然胶产量以满足工业化生产, 精准控制土壤杆菌发酵过程, 本研究基于经典发酵动力学模型(Logistic 方程、Luedeking-Piret 方程和 Luedekin-Piret-Like 方程)成功构建了产可得然胶土壤杆菌 A02 在分批发酵过程中的菌体生长量、可得然胶产量、蔗糖消耗量的动力学模型, 其相关系数  $R^2$  分别为 0.9986、0.9987 和 0.9933, 显著性差异均为极显著, 拟合值与实验值误差均小于 10%。说明本研究构建的模型能够客观地反映和描述土壤杆菌产可得然胶发酵动力学, 对于了解土壤杆菌 A02 在发酵过程

中的变化规律具有重要意义, 有助于预测和优化控制土壤杆菌 A02 发酵和中试放大生产中的关键指标。

通过运用构建的发酵动力学数学模型, 可以在特定的发酵时间, 精准预测发酵过程中的菌体数量、可得然胶产量和蔗糖含量, 为描述发酵动力学特征和可得然胶工业化生产提供理论支持。

参考文献

[1] HARADA T, FUJIMORI K, HIROSE S, *et al.* Growth and  $\beta$ -glucan 10C3K production by a mutant of *Alcaligenes faecalis* var. myxogenes in defined medium [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1966, 30(8): 764–769.

[2] NAKANISHI I, KIMURA K, SUZUKI T, *et al.* Demonstration of curdlan-type polysaccharide and some other  $\beta$ -1,3-glucan in microorganisms with aniline blue [J]. *Journal of General and Applied Microbiology*, 2006, 22(1): 1–11.

[3] PHILLIPS KR, PIK J, LAWFORD HG, *et al.* Production of curdlan-type polysaccharide by *Alcaligenes faecalis* in batch and continuous culture [J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 1983, 29(10): 1331–1338.

[4] GHAI SK, HISAMATSU M, AMEMURA A, *et al.* Production and chemical composition of extracellular polysaccharides of *Rhizobium* [J]. *Journal of General and Applied Microbiology*, 1981, 122: 33–40.

[5] GAO HL, LI Y, TIAN JT, *et al.* Characterization and rheological properties analysis of the succinoglycan produced by high-yield mutant of *Rhizobium radiobacter* ATCC 19358 [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 166: 61–70.

[6] YUAN M, FU G, SUN YM, *et al.* Biosynthesis and applications of

- curdian [J]. Carbohydrate Polymers, 2021, 273(4): 118597.
- [7] VERMA DK, NIAMAH AK, PATEL AR, *et al.* Chemistry and microbial sources of curdian with potential application and safety regulations as prebiotic in food and health [J]. Food Research International, 2020, 133(prepublish): 109136.
- [8] 曹云刚, 胡春杰, 李远征, 等. 可得然胶功能特性及在肉及肉制品中的应用进展[J]. 精细化工, 2024, 41(3): 491–498, 587.  
CAO YG, HU CJ, LI YZ, *et al.* Functional properties of curdian and its application progress in meat and meat products [J]. Fine Chemicals, 2024, 41(3): 491–498, 587.
- [9] 杨镭, 臧一字, 吴鹏, 等. 多糖类食品胶体的功能特性及其在食品加工中的应用研究进展[J]. 食品科学, 2024, 45(5): 283–292.  
YANG R, ZANG YY, WU P, *et al.* Research progress on functional properties of polysaccharide-based food colloids and their application in food processing [J]. Food Science, 2024, 45(5): 283–292.
- [10] CHEN Y, BERA H, SI L, *et al.* Tailor-made curdian based nanofibrous dressings enable diabetic wound healing [J]. Carbohydrate Polymers, 2025, 348(PB): 122876.
- [11] MOUSA I, ALSHARARI MA, ALALAWY IA, *et al.* Harnessing the potential of sargassum latifolium for sustainable synthesis of Ag/Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-curdian nanocomposites: Phytochemical characterization and biological applications [J]. Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials, 2025(prepublish): 1–22.
- [12] ZHUANG YD, FAN CQ, ZHENG YY, *et al.* Study on the interaction properties between curdian polysaccharide and water molecules in coal processing sludge by molecular dynamics simulation [J]. Journal of Nanoparticle Research, 2024, 26(7): 163–163.
- [13] SPICER E, GOLDENTHAL EI, IKEDA T. A toxicological assessment of curdian [J]. Food and Chemical Toxicology, 1999, 37(4): 455–479.
- [14] BIELECKA MM, FLORCZUK A, ALJEWICZ M. An evaluation of the impact of curdian and buttermilk addition on the functional properties and sensory quality of processed cheese analogs [J]. Molecules, 2024, 30(1): 66–66.
- [15] VASIEE A, JAMAB SM, FALAH F, *et al.* Microbial production of curdian in sugar beet molasses medium: Effects on physicochemical attributes of reduced-fat frankfurter sausages [J]. LWT-Food Science and Technology, 2025, 216: 117310.
- [16] 陈道春, 陆志娟, 齐自元. 预处理可得然胶对速冻牛肉饼食用品质的影响[J]. 食品科技, 2022, 47(9): 88–93.  
CHEN DC, LU ZI, QI ZY. Effect of pretreated curdian on the eating quality of quick-frozen beef patty [J]. Food Science and Technology, 2022, 47(9): 88–93.
- [17] CHEN H, CAO T, TANG QM, *et al.* Progress of the research on carbohydrate-based low-calorie fat substitute [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2021, 36(11): 187–195.
- [18] 陈艳燕, 孙瑾, 尹胜利, 等. 新型食品添加剂增稠剂-可得然胶在食品工业中的应用[J]. 中国食品添加剂, 2007(3): 134–138.  
CHEN YY, SUN J, YIN SL, *et al.* A new type of thickener-curdian and its use in food industry [J]. China Food Additives, 2007(3): 134–138.
- [19] 于婷婷, 韩鸿宇, 张永刚, 等. 高凝胶强度可得然胶生产菌的构建筛选与发酵工艺优化研究[J/OL]. 食品与发酵工业, 1–12. [2024-06-20].  
<https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.037341>
- YU TT, HAN HY, ZHANG YG, *et al.* Construction and screening of high gel strength curdian production bacteria and optimization of fermentation medium [J]. Food and Fermentation Industries, 1–12. [2024-06-20].  
<https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.037341>
- [20] ZHANG W, GAO H, HUANG Y, *et al.* Glutamine synthetase gene *glnA* plays a vital role in curdian biosynthesis of *Agrobacterium* sp. CGMCC 11546 [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2020, 165(PA): 222–230.
- [21] 刘智磊. 土壤杆菌发酵耦合酶解高效制备可得然胶及其低聚糖[D]. 无锡: 江南大学, 2024.  
LIU ZL. Efficient production of curdian and its oligosaccharides by *Agrobacterium* sp. fermentation coupled with enzymatic degradation [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2024.
- [22] CHEN K, JIANG J, TIAN Y, *et al.* Improved konjac glucumannan/curdian-based emulsion coating by mung bean protein addition for cherry tomato preservation [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 291: 139080.
- [23] 于有伟, 刘坤渝, 张少颖, 等. 水溶性壳聚糖/可得然胶可食性复合涂膜对樱桃番茄灰霉的抑制作用及机理[J]. 食品科学, 2024, 45(22): 239–246.  
YU YW, LIU KY, ZHANG SY, *et al.* Inhibitory effect and mechanism of water-soluble chitosan/curdian edible composite coating on *Botrytis cinerea* in cherry tomato [J]. Food Science, 2024, 45(22): 239–246.
- [24] HUANG XY, LIU CG, LIN YH. A novel explainable kinetic model for two-stage fermentation profile [J]. Chemical Engineering Journal, 2024, 493: 152745.
- [25] XIE L, YU K, XIAO X, *et al.* Study on the kinetic model of mixed fermentation by adding glutathione-enriched inactive dry yeast [J]. Fermentation, 2024, 10(7): 329.
- [26] 方苏, 周立彪, 闵少坤, 等. 冬虫夏草菌分批发酵动力学模型的研究[J]. 畜牧与饲料科学, 2019, 40(3): 1–5.  
FANG S, ZHOU LB, MIN SC, *et al.* Kinetic model of batch fermentation of *Cordyceps sinensis* [J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2019, 40(3): 1–5.
- [27] 张雪, 桑贺, 冯玮, 等. 精酿啤酒分批发酵动力学模型研究[J]. 西华大学学报(自然科学版), 2024, 43(4): 37–43, 73.  
ZHANG X, SANG H, FEN W, *et al.* Study on batch fermentation dynamic model of craft beer [J]. Journal of Xihua University (Natural Science Edition), 2024, 43(4): 37–43, 73.
- [28] 孙文, 李宝磊, 侯保朝, 等. 嗜热链球菌 JM108 发酵动力学模型的建立[J]. 食品工业科技, 2025, 46(3): 159–165.  
SUN W, LI BL, HOU BZ, *et al.* Establishment of a fermentation kinetic model of *Streptococcus thermophilus* JM108 [J]. Science and Technology of Food Industry, 2025, 46(3): 159–165.
- [29] 曾美端, 洪艺萍, 蔡玉凤, 等. 产酸丙酸杆菌 FS1171 产丙酸发酵动力学研究[J]. 微生物学杂志, 2022, 42(6): 32–38.  
ZENG MD, HONG YP, CAI YF, *et al.* Fermentation kinetics of *Propionibacterium acidogenes* FS1171 producing propanoic acid [J].

- Journal of Microbiology, 2022, 42(6): 32–38.
- [30] 王少曼, 张彦军, 吴刚, 等. 菠萝蜜果酒分批发酵动力学模型研究[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(4): 74–79.
- WANG SM, ZHANG YJ, WU G, *et al.* Kinetics model of jackfruit wine in batch fermentation [J]. Food and Fermentation Industries, 2021, 47(4): 74–79.
- [31] 李梦瑶, 徐静宇, 肖四生, 等. 细菌素高产菌株的诱变选育及其液体发酵动力学分析[J/OL]. 食品与发酵工业, 1-9. [2025-02-08]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.038782>
- LI MY, XU JY, XIAO SS, *et al.* Mutation breeding and its liquid fermentation kinetics analysis of bacteriocin highyielding strains [J/OL]. Food and Fermentation Industries, 1-9. [2025-02-08]. <https://doi.org/10.13995/j.cnki.11-1802/ts.038782>
- [32] GARNIER A, GAILLET B. Analytical solution of Luedeking–Piret equation for a batch fermentation obeying monod growth kinetics [J]. Biotechnology & Bioengineering, 2015, 112(12): 2468–2474.
- [33] 章帅文, 黄国昌, 顾斌涛, 等. 小白链霉菌 H3 分批发酵产  $\epsilon$ -聚赖氨酸动力学的构建[J]. 江西科学, 2023, 41(3): 443–448.
- ZHANG SW, HUANG GC, GU BT, *et al.* Kinetics Construction of  $\epsilon$ -poly-L-lysine production by *Streptomyces albulus* H3 batch fermentation [J]. Jiangxi Science, 2023, 41(3): 443–448.
- [34] 陆泽赞. 产可得然胶菌种的诱变育种和发酵研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2017.
- LU ZY. Mutation breeding and fermenting of curdlan producing strain. [D]. Shanghai: East China Normal University, 2017.
- [35] 刘晓霞. 土壤杆菌产可得然胶发酵工艺优化及其性质的研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2017.
- LIU XX. The research of fermentation process optimization and properties of curdlan by *Agrobacterium* sp. [D]. Shanghai: East China Normal University, 2017.
- [36] MILLER GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar [J]. Analytical Chemistry, 1959, 31(3): 426–428
- [37] JIANG L. Effect of nitrogen source on curdlan production by *Alcaligenes faecalis* ATCC3174 [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2013(52): 218–220.
- [38] 刘恩华, 杨雪霞, 陶鹏, 等. 可得然胶补料发酵工艺优化[J]. 食品与发酵科技, 2018, 54(2): 69–74.
- LIU ENH, YANG XX, TAO P, *et al.* The optimization of feeding process in curdlan production [J]. Food and Fermentation Sciences & Technology, 2018, 54(2): 69–74.
- [39] 万婕, 王贻峰, 高红亮, 等. 搅拌桨组合对土壤杆菌产可得然胶的影响[J]. 工业微生物, 2020, 50(3): 24–29.
- WAN J, WANG YF, GAO HL, *et al.* Effects of impeller combination on curdlan production by *Agrobacterium* sp. [J]. Industrial Microbiology, 2020, 50(3): 24–29.
- [40] 俞珊, 段孟霞, 童彩玲, 等. 可得然胶功能性质及其在食品中的应用研究进展[J]. 食品科学, 2022, 43(19): 277–284.
- YU S, DUAN MX, TONG CL, *et al.* Progress in research on functional properties of curdlan and its application in food [J]. Food Science, 2022, 43(19): 277–284.
- [41] 张琪, 朱立斌, 朱丹, 等. 黑加仑果酒发酵动力学研究[J]. 中国酿造, 2020, 39(2): 125–128.
- ZHANG Q, ZHU LB, ZHU D. *et al.* Fermentation kinetics of blackcurrant fruit wine [J]. China Brewing, 2020, 39(2): 125–128.
- [42] SONG H, EOM MH, LEE S, *et al.* Modeling of batch experimental kinetics and application to fed-batch fermentation of *Clostridium tyrobutyricum* for enhanced butyric acid production [J]. Biochemical Engineering Journal, 2010, 53(1): 71–76.

(责任编辑: 安香玉 蔡世佳)