

648

GX 43
208

高等学校专业教材


生物工程设备

梁世中 主编

孙连贵 陈合 吴振强 浦跃武 郑穗平 编著



A0960366

 中国轻工业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

生物工程设备/梁世中主编. —北京: 中国轻工业出版社, 2002. 2

高等学校专业教材

ISBN 7-5019-3400-2

I. 生… II. 梁… III. 生物工程-设备-高等学校-教材 IV. Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2001) 第 066627 号

责任编辑: 沈力匀

策划编辑: 唐是雯 责任终审: 滕炎福 封面设计: 张颖

版式设计: 智苏亚 责任校对: 李靖 责任监印: 吴京一

*

出版发行: 中国轻工业出版社 (北京东长安街 6 号, 邮编: 100740)

网 址: <http://www.chlip.com.cn>

联系电话: 010-65241695

印 刷: 中国人民警官大学印刷厂

经 销: 各地新华书店

版 次: 2002 年 2 月第 1 版 2002 年 2 月第 1 次印刷

开 本: 787×1092 1/16 印张: 31

字 数: 744 千字 印数: 1—4000

书 号: ISBN 7-5019-3400-2/Q·012

定 价: 50.00 元

· 如发现图书残缺请直接与我社发行部联系调换 ·

前 言

生物技术是当今最活跃、发展最迅速的、最重要的科学技术之一，在工农业生产、医药工业及环境保护等国民经济领域有着举足轻重的作用。生物技术以基因工程为先导，结合发酵工程、酶工程和生化工程等工程技术，构成了现代生物技术。生物工程设备则是生物工程技术和化学工程与设备交叉的结合体。

纵观国内外，有关生物工程设备的著作与教材甚少。其中，我国出版的有关教材只有寥寥数本，其中的代表就是 20 世纪 70 年代末出版的由高孔荣教授主编的《发酵工程设备》，该书经修编后于 1991 年面世，改名为《发酵设备》。但近十多年来，生物工程技术无论从深度和广度都已有举世公认的众多成就与发展，相应的生物发酵工程原理与设备也取得长足的进步。为了使生物工程技术有关专业的师生有一本较系统的有关生物工程原理和典型设备的教材参考与学习，全国生物工程（原来称发酵工程）教学指导小组与中国轻工业出版社决定组织编写此书。当然，本教材也可供从事生物工程技术及相关领域的科技工作者和工程技术人员参考应用。

全书分成三篇共 17 章，华南理工大学梁世中主编。各章的编写具体分工为：天津轻工业学院孙连贵编写第二篇第一章和第六章，第三篇第三章；西北轻工业学院陈合编写第二篇第二章、第三章和第五章、第三篇第四章；华南理工大学梁世中编写绪论、第一篇第二章、第五章和第六章，第三篇的第一章和第二章；华南理工大学吴振强编写第一篇第一章，浦跃武编写第一篇第三章和第二篇第四章，华南理工大学郑穗平编写第一篇第四章。

由于我们的水平和经验有限，加之可参考的国内外有关生物工程设备的教材极少，故书中错漏和不足之处敬请读者批评指正。

本书的编写，得到全国生物工程教学指导小组、中国轻工业出版社等单位及有关领导、专家和编审人员的支持，得到广东省政府科研基金的资助；承蒙高孔荣教授审阅全书并提出宝贵的补充修改意见。在此致以衷心的感谢。但遗憾的是，在本书出版之前，高孔荣教授已不幸辞世，在此寄予深切的悼念和哀思！

目 录

第一篇 生物反应器

第一章 生物反应器设计基础	(1)
第一节 生物反应器的化学计量基础.....	(1)
第二节 生物反应器的生物学基础.....	(3)
第三节 生物反应器的质量传递	(13)
第四节 生物反应器的热量传递	(19)
第五节 生物反应器的剪切力问题	(20)
第二章 通风发酵设备	(22)
第一节 机械搅拌通风发酵罐	(22)
第二节 气升式发酵罐 (ALR)	(41)
第三节 自吸式发酵罐	(45)
第四节 通风固相发酵设备	(50)
第五节 其他类型的通风发酵反应器简介	(52)
第三章 嫌气发酵设备	(54)
第一节 酒精发酵设备	(54)
第二节 啤酒发酵设备	(61)
第三节 连续发酵	(73)
第四章 植物细胞 (组织) 和动物细胞培养反应器	(80)
第一节 植物细胞 (组织) 培养反应器	(80)
第二节 动物细胞培养反应器	(89)
第三节 微藻培养反应器.....	(100)
第五章 生物反应器的检测及控制	(106)
第一节 生化过程主要检测的参变量.....	(106)
第二节 生化过程常用检测方法及仪器.....	(110)
第三节 生物传感器的研究开发与应用.....	(119)
第四节 生化过程控制概论.....	(134)
第六章 生物反应器的比拟放大	(139)
第一节 生物反应器的放大目的及方法.....	(139)
第二节 通气发酵罐的放大设计.....	(148)

第二篇 生物反应物料处理及产物分离纯化设备

第一章 物料处理与培养基制备	(162)
第一节 固体物料的处理与粉碎设备.....	(162)

第二节	液体培养基的制备及杀菌设备	(178)
第二章	过滤、离心与膜分离设备	(200)
第一节	过滤速度的强化	(200)
第二节	过滤设备	(207)
第三节	离心分离设备	(217)
第四节	膜分离设备	(227)
第三章	萃取与色谱分离设备	(234)
第一节	萃取分离原理及设备	(234)
第二节	离子交换分离原理及设备	(247)
第三节	吸附分离原理及设备	(258)
第四节	色谱分离原理及设备	(264)
第四章	蒸发与结晶设备	(270)
第一节	常压与真空蒸发设备	(270)
第二节	结晶设备	(283)
第五章	干燥设备	(295)
第一节	固体物料干燥机理及生物工业产品干燥的特点	(295)
第二节	非绝热干燥设备	(299)
第三节	绝热干燥设备	(307)
第四节	冷冻干燥及其他干燥设备	(322)
第六章	蒸馏设备	(329)
第一节	蒸馏分离提纯原理	(329)
第二节	酒精蒸馏流程	(333)
第三节	粗馏塔	(336)
第四节	精馏塔	(346)

第三篇 辅助系统设备

第一章	空气净化除菌与空气调节	(368)
第一节	空气净化除菌的方法与原理	(368)
第二节	空气介质过滤除菌设备及计算	(373)
第三节	生物工业生产的空气调节	(394)
第二章	设备与管道的清洗与杀菌	(404)
第一节	生物工业加工设备与管道的卫生要求	(404)
第二节	常用清洗剂、清洗方法及设备	(405)
第三节	设备及管路的杀菌	(410)
第四节	方便清洗消毒的设备及管路管件的设计	(419)
第三章	物料输送系统设备	(422)
第一节	固体物料的输送	(422)
第二节	液体物料的输送设备	(444)
第四章	生物工程供水与制冷系统及设备	(456)

第一节	用水质量分级与生物工程的用水质量要求·····	(456)
第二节	水处理系统及设备·····	(457)
第三节	供水系统及设备·····	(465)
第四节	发酵工厂洁净蒸汽与制冷系统设备·····	(466)
附录	·····	(476)
参考文献	·····	(484)

第一篇 生物反应器

第一章 生物反应器设计基础

生物反应器的设计必须以生物体为中心，这就要求设计者既要有化学工程的知识，又要有生物工程的基础。设计工程师除了考虑反应器的传热、传质等性能以外，还需要了解生物体的生长特性和要求，在设计中给予保证。生物体的生长过程分一定的阶段性，对温度、溶氧、pH 等有不同的要求，另外，生物体是活体，生长过程可能受到剪切力影响，也可能发生凝聚成为颗粒，或因自身产气或受通气影响而漂浮于液面，另外，大多数场合反应过程都要求无菌条件，所有这些因素都是设计过程中需要特别考虑的。

生物反应器的设计也因反应的目的不同而有所区别。生物反应的目的可归纳为几种：一是生产细胞，二是收集细胞的代谢产物，三是直接用酶催化得到所需产物。最初的生物反应器主要是用于微生物的培养或发酵，随着生物技术的不断深入和发展，它已被广泛用于动植物细胞培养、组织培养、酶反应等场合。因此，实际应用的生物反应器根据细胞或组织生长代谢要求、生物反应的目的等的不同可以有很多变化，总的来说可归纳为以下几种：

(1) 厌气生物反应器：发酵过程不需要通入氧气或空气，有时可能通入二氧化碳或氮气等惰性气体以保持罐内正压，防止染菌，以及提高厌氧控制水平。此类反应器有酒精发酵罐、啤酒发酵罐、沼气发酵罐（池）、双歧杆菌厌氧反应器等。

(2) 通气生物反应器：又可分为搅拌式、气升式、自吸式等；前两者需要在反应过程中通入氧气或空气，后者则可自行吸入空气满足反应要求。搅拌式反应器靠搅拌器提供动力使物料循环、混合，气升式则以通入的空气上升产生而动力，自吸式反应器是利用特殊搅拌叶轮在搅拌过程中产生真空而将空气吸入反应器内，毋须另外供气。

(3) 光照生物反应器：反应器壳体部分或全部采用透明材料，以便光可照射到反应物料，进行光合作用反应。一般配有照射光源，白天可直接利用太阳光。

(4) 膜生物反应器：反应器内安装适当的部件作为生物膜的附着体，或者用超滤膜（如中空纤维等）将细胞控制在某一区域内进行反应；另外，根据反应器的结构形式不同又可分为罐式、管式、塔式、池式生物反应器等；根据物料混合方式可分为非循环式、内循环式和外循环式生物反应器等；不管什么形式的生物反应器，只要掌握了基本设计方法，设计过程基本是一样的，以下将就有关的基础知识进行介绍。

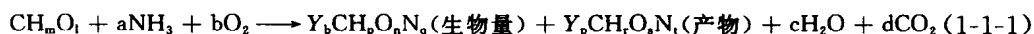
第一节 生物反应器的化学计量基础

反应器内发生的反应过程产率可根据质量守恒定律和能量守恒定律推导的公式进行计算，前者为化学计量法，后者为热力学法。对于给定范围产量的反应器设计，必须基于过

程发生速率的知识，这就是动力学。通常化学反应的过程基本是固定的，人们可列出完整精确的质量和能量衡算式。但生物反应与一般化学反应有着显著差别，首先是生物反应存在着活细胞，在反应中可以将它看做催化剂；其次，由于细胞是生长着的，它对营养有一定的要求，使得参与反应的成分很多；第三是生物反应的途径通常不是单一的，反应过程也往往伴随着生成代谢产物的反应，它受到众多环境因素的影响。因此，在利用质量及能量守恒定律时，它们之间的关系将变得更为复杂，必须加上对过程动力学的深入理解，才能很好地进行生物反应器的设计，而化学计量及热力学则可构成生物反应器、生化过程的上游与下游产物分离纯化之间的联系。

化学计量是反应器设计的关键之一，它为过程中使用的介质的合理设计提供基本数据。结合质量衡算，它可作为判断过程运行的好坏，以及用于间接测量难于直接测量的参数（如气体的吸收及解吸）；结合热力学考虑，它可以推算出给定系统的得率范围。生化反应含有大量不定因素，不可能对复杂培养基的每一个成分进行跟踪，而只能识别部分产物，而且培养过程细胞活性也会随生长阶段而变化。

进行化学计算之前，必须先列出生化反应的方程，下面总方程给出了单一碳源、氮源、氧以及生物量、产物生成（包括水和 CO_2 ）的关系式，细胞、基质、产物定义为采用单一碳源化学表达式，并认为只有一种产物，则化学平衡式可表示为：



这里 Y_b 、 Y_p 分别是生物量（biomass）和产物（product）相对单位碳源量的产率，氮和氧的需求量分别用系数 a 和 b 表示，所产生的水和 CO_2 量分别用系数 c 和 d 表示。所有这些参数通过基本守恒关系以有机方式关联，由于假定只有一种碳源进入生化反应，碳源平衡式为：

$$1 = Y_b + Y_p + d \quad (1-1-2)$$

氮、氧、氢的平衡式分别为：

$$a = qY_b + rY_p \quad (1-1-3)$$

$$l + 2b = nY_b + sY_p + c + 2d \quad (1-1-4)$$

$$m + 3a = gY_b + rY_p + 2c \quad (1-1-5)$$

上面 $l \sim t$ 分别来自 (1-1-1) 式中各分子式元素的下标值。这表明，如果知道得率，所需要的氮量和氧量，以及所产生的 CO_2 和水都可由这些方程算出。同样，通过进气、排气和氮消耗量的测量有助于确定得率。

基质及产物的还原度可用于列出有效的电子平衡方程，建立附加关系式。另外，ATP 的形成与产率密切相关。生物量直接与生成能量的基质降解所产生的 ATP 成比例，但这一结论的实际开发必须知道准确的催化途径。

大量的证据显示，相对基质的得率取决于比生长速率 μ 。这种现象可用维持进行解析，它是变性蛋白的变换、保持最佳的胞内 pH、抗衡通过细胞膜的泄露的主动运输、无用的循环及运动所需要的能量。从热力学角度看，维持的概念是非常适当的。它是在保持细胞一个有序状态、补偿系统中熵的产生、避免造成细胞死亡的平衡状态中花费的能量。假设生成能量的基质部分与生长相关（所消耗的基质用于生物量的产生），部分与生长无关，而是取决于当前系统中存在的生物量大小（基质提供维持的能量），下面是不同的近似方法，将两项均列入方程，可以认为是对维持的定义：

$$\frac{1}{Y_{xs}} = \frac{1}{Y_{xs}^{\max}} + \frac{m_s}{\mu} \quad (1-1-6)$$

式中 Y_{xs} ——生物量对基质的得率；

Y_{xs}^{\max} ——得率最大值；

m_s ——维持系数；

μ ——比生长速率。

方程显示生物量对基质的得率 (Y_{xs}) 随反应速率的增加而增加。如果忽略右边第二项，得率将为最大值， Y_{xs}^{\max} 。应该记住， Y_{xs} 是实验中观察到的细胞质量浓度增加值与基质浓度消耗值的比率，而 Y_{xs}^{\max} 只是一个模型参数。

如果方程中两项乘以 μ ，可以得到下面表达式，有时称为基质消耗的线性方程：

$$\sigma = \mu/Y_{xs}^{\max} + m_s \quad (1-1-7)$$

式中 σ ——合成单位生物量的基质消耗速率。

有人提出一个概括性的线性方程，表达具有产物产生情况下的生物量生长：

$$\sigma = \mu/Y_{xs}^{\max} + \pi/Y_{xs}^{\max} + m_s \quad (1-1-8)$$

式中 π ——单位生物量的产物生成率。氧的消耗方程也可以用类似的式表达。

基质和氧消耗的线性方程是反应器设计的重要工具。速率可以被预测，而培养过程得率系数的改变就可以用比生长速率的函数建立模型。

上述线性方程 (1-1-7) 显示基质消耗用于两个独立反应，因此不能用方程 (1-1-1) 所列的简单组合完全表达，另一方面，它又是人们所希望能做到的。如果不同生长阶段的定义是指培养进程中合成/分解代谢途径所发生改变，则有理由相信化学计量也发生改变，新的产物可能出现。不可能期望用相同的化学计量关系在整个生长和产物形成过程中都有效，分析表明它只有在化学计量系数不发生改变时才有效。尽管它明显缺乏普遍性，但它在工业操作范围内表现得相当准确，因此从工程实际的观点看，它对反应器设计是非常有用的。

第二节 生物反应器的生物学基础

为了完成生物反应器的设计和优化，必须首先确定生物量、基质及产物浓度的变化速率、细胞生长、细胞数分布、产物合成、基质消耗等数据对运行情况的预报、控制及系统优化等都是必须的。了解环境参数（如 pH、温度、化学成分等）如何影响系统的动力学是十分重要的。在某些情况下，利用简单模型就足以进行系统设计。但是，在另一些场合，采用结构模型和隔离模型将更具优势。在通过诱导和抑制描述酶合成时就是这种情况，建立详细的代谢途径模型可用于克服代谢的瓶颈，建立重组细胞的模型解释质粒稳定性，建立哺乳动物细胞的模型区分细胞总数中的活细胞数，甚至可以建立细胞分布模型解释培养过程中的产物分布，建立植物细胞培养模型报告细胞存活率及其对二次代谢物产生的影响。

一、细胞数动力学

由于整个过程是由细胞驱动，系统的分类自然集中于细胞的生长速率与所有其他速率的关系问题。下面将主要讨论建立细胞生长动力学模型的方法。

细胞在分批培养中的生长，正如它们在自然界及大多数工业过程中一样，通常都被分

成一系列阶段：接种后的停滞期、对数生长期（细胞数及生物量对特定的基质的比生长速率为最大值）、减速期、平衡期和衰退期。图 1-1-1 给出了一条典型的生长曲线，分别比较了光密度测量法、粒子计数法及平板培养法的观察结果。该图揭示了不同测量方法得到的生物量增加量有所不同。所显示的曲线描述了一个既没有产物抑制又没有传递抑制的细菌培养过程记录。前一种抑制方式较为熟悉和理解，即一定的产物浓度将对生长率产生抑制。后一种抑制，即由传递现象产生的抑制则知道的较少，有时理解不准确。微生物学家对由必需基质耗尽导致的抑制较为熟悉，这种取决于浓度的抑制，在分批培养中也取决于时间。生长率随着限制基质的减少而降低。当这种营养耗尽，细胞将转向利用另一种可能的营养（如碳源），直至所有有用的营养物质被全部耗尽，生长将完全停止。另一方面，传递抑制通常与外部现象有关，取决于过程的最大速率。可看到的结果是以一定速率的稳定生长，它在一个相当宽的生物量和基质浓度范围内保持恒定，并低于在特定基质下潜在的最大细胞生长速率。只要条件不变，这一速率将维持恒定。最后，其中一种基质被消耗到某一水平，使生长速率与限制传递过程的速率可能在相同范围内。当到达基质限制水平，生长速率将开始下降，直至最后停止。典型的例子是藻类生长过程中的光抑制。生物量将以一个恒定速率减少，该速率取决于光子（proton）吸收速率，直至氮源成为限制物。氧的传递限制也有类似的情况。通过增加通气率，可以消除线性生长期，而出现具有高生长率的传统对数生长期。当过程的速率由一种基质的流加速率控制时，这些例子就相当于流加式分批培养操作的情况。

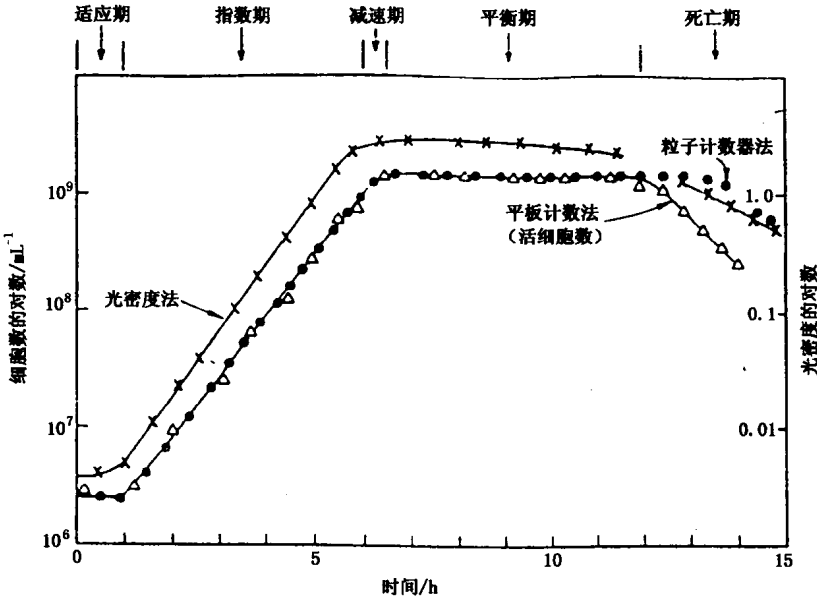


图 1-1-1 典型的细菌生长曲线

如果培养基向微生物的传递速率是由扩散所控制，则在密闭的分批系统中有时也可能出现传递抑制。在这种情况下，质量传递是所传递的主要成分浓度的函数，因此，生长速率恒定的周期将缩短。实验表明，*Porphyridium sp.* 生长受到因发酵液黏度增加而导致的营养质量传递速率变化的影响，增加发酵液的初始黏度将降低生长速率。

在指数生长期 (图 1-1-1), 对于特定的基质, 细胞数以最大的比生长速率增长。生物量的增加用细胞量或细胞数的倍增时间 t_d 来表示, 它是一个常数。在指数生长期, 方程 (1-1-9) 是有效的, 在此, 则生物量生长速率为:

$$dX/dt = \mu X \quad (1-1-9)$$

式中 μ ——比生长速率;

X ——生物量浓度, 以 g/L 表示;

t ——生长时间。

该方程也可以改写成以细胞数 N 表示的方式, 即细胞数增长速率:

$$dN/dt = \mu N \quad (1-1-10)$$

这里假设 N 与 X 成正比。

对方程 (1-1-9) 取积分, 并将零时的生物量浓度称为 X_0 , 则:

$$\ln(X/X_0) = \mu t \quad (1-1-11)$$

因此倍增时间 t_d (即 $X/X_0=2$ 时的时间 t) 是:

$$t_d = \ln 2 / \mu \quad (1-1-12)$$

这一简单模型对细菌及酵母大部分是正确的。当用霉菌 (线性生长代替指数生长) 和哺乳动物细胞 (细胞数增加而非以 g/L 计算的生物量) 将有所不同。在指数生长后的减速生长期通常是由于一种或多种必需营养物的耗尽或抑制性产物或副产物的积累所造成。

如果是由于基质耗尽而出现减速生长期, 则有一方程已被成功应用于大量的场合, 被称为 Monod 方程:

$$\mu = \mu_{\max} S / (K_s + S) \quad (1-1-13)$$

式中 μ_{\max} ——在特定基质下最大比生长速率;

K_s ——饱和常数; 当基质浓度 $S \gg K_s$ 时, $\mu = \mu_{\max} / 2$ 。

这个方程是半经验的, 而实际上的 K_s 值也是很小的, 表 1-1-1 给出了部分微生物在不同基质下的 K_s 值。

表 1-1-1 在不同基质生长条件下 Monod 模型的 K_s 值

微生物名称	基质	K_s / (mg/L)
<i>Aspergillus</i>	精氨酸	0.5
	葡萄糖	5.0
<i>Candida</i>	甘油	4.5
	氧	0.45
<i>Cryptococcus</i>	维生素 B ₁	1.4×10^{-7}
<i>Enterobacter (Aerobacter) aerogenes</i>	氮	0.1
	葡萄糖	1.0
	镁	0.6
<i>E. coli</i>	葡萄糖	2.0~4.0
	乳糖	20.0

续表

微生物名称	基 质	K_s / (mg/L)
<i>Hansenula polymorpha</i>	甘露糖醇	2.0
	磷酸盐	1.6
	色氨酸	0.001
	甲醇	120.0
	核糖	3.0
<i>Klebsiella sp.</i>	二氧化碳	0.4
	镁	0.56
	钾	0.39
	硫酸盐	2.7
<i>Pseudomonas sp.</i>	甲烷	0.7
	甲醇	0.4
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	葡萄糖	25.0
<i>Tetrahymena sp.</i>	细菌	12.0

当有毒性代谢物积累时，很多产物抑制模型可以被使用。但是，一个半经验的逻辑方程已被成功应用于很多场合：

$$r_x = kX(1 - X/X_{\max}) \quad (1-1-14)$$

式中 r_x ——反应速率；
 k ——常数。

应该注意到，方程中惟一变量（除时间外）就是生物量 X ，取其积分形式，令 $X(0) = X_0$ ，则得到一逻辑曲线：

$$X = \frac{X_0 e^{\mu t}}{1 - (X_0/X_{\max})(1 - e^{\mu t})} \quad (1-1-15)$$

丝状生物如霉菌等，在悬浮培养时经常形成微生物小球。小球内部生长的细胞受到扩散抑制，因此，霉菌的生长模型通常包括大颗粒（类似包埋或凝胶固定化细胞）中颗粒内的同时扩散和营养消耗。丝状细胞也可以在潮湿的固体表面上生长，这种生长通常是一个复杂的过程，它包括生长动力学、营养的扩散和有毒的代谢副产物。而对于单独生长于液体培养基中的菌落，这些复杂过程的部分可以被忽略。对于霉菌生长的方程，尤其是深层发酵的球状颗粒方面，有很多文献都做过较详细分析。

二、生长动力学方程

1. Monod 方程

莫诺德认为，采用类似于吸附等温线或米氏方程的双曲线方程表示动力学方程既方便又合理。他不相信用一个主反应的概念给出方程中生长速率常数（以他的名字命名）的物理意义。其实应用于酶反应的米氏动力学给常数一个假的机械意义。常数 v_{\max} 是酶-基质复合物的分解形成产物的初级反应速率， K_m 是酶-基质系统（迅速平衡假设）的平衡常数，或

者是复合物及其分解物的可逆结构（准稳定状态假设）的初级反应相一致的常数组合。这些含义没有能够给出基质-细胞系统的说明。

另一方面，基质抑制现象可以在纯质量传递过程中看到。如果 k_L 是细胞消耗基质时的质量传递系数，限制基质从液体体积流向细胞的流速 N_s 如下：

$$N_s = k_L(S - S_c) \quad (1-1-16)$$

式中 k_L ——细胞消耗基质时的质量传递系数；

S ——液体主流中基质浓度， kg/m^3 ；

S_c ——细胞表面的基质浓度， kg/m^3 。

假设细胞是球形，则细胞的面积/体积比为 $(6/d_c)$ ，单位反应体积的细胞面积 (A_c/V) 可表示为：

$$A_c/V = 6X/\rho_c d_c \quad (1-1-17)$$

式中 d_c ——细胞的特征直径；

X ——生物量浓度；

V ——培养体积；

ρ_c ——细胞密度。

根据形成球体的细胞的不同，面积/体积比将发生改变。方程（1-1-16）可转化成依赖于 S 的基质限制条件下的 S 摄取速率 $(-r_s)_{\text{lim}}$ ：

$$(-r_s)_{\text{lim}} = N_s(A_c/V) = (6k_L/\rho_c d_c) \times (S - S_c) \quad (1-1-18)$$

根据生物量对基质得率的定义，完全由这个变迁控制的过程发生速率为：

$$\mu_{\text{lim}} = (6Y_{xs}k_L/\rho_c d_c)(S - S_c) \quad (1-1-19)$$

式中 μ_{lim} ——在基质限制控制条件下的比生长速率；

Y_{xs} ——基质浓度为 S 时的生物量得率。

当高基质浓度时，该速率将比在给定条件（温度、pH、基质性质等）下的最大潜在比生长速率 μ_{max} 大得多，此时，在细胞内连续的质量传递及生物反应中， μ_{lim} 对整个反应速率的影响可以忽略，得到 $\mu = \mu_{\text{max}}$ 。当基质浓度减小， μ_{lim} 随之减小，直到变成速率控制。

一般情况下，总速率的倒数可用前后两步的阻力之和得到：

$$1/\mu = 1/\mu_{\text{max}} + 1/\mu_{\text{lim}} \quad (1-1-20)$$

在方程（1-1-20）中代入方程（1-1-19）得：

$$\mu = \frac{\mu_{\text{max}}(6Y_{xs}k_L/\rho_c d_c)(S - S_c)}{\mu_{\text{max}} + (6Y_{xs}k_L/\rho_c d_c)(S - S_c)} \quad (1-1-21)$$

细胞壁上的基质浓度是未知的，如果假设它远小于液体主流的浓度，即 $S \gg S_c$ ，则方程（1-1-21）变成相当于 Monod 方程（1-1-13），即：

$$K_s = \frac{\mu_{\text{max}}}{6Y_{xs}k_L/\rho_c d_c} \quad (1-1-22)$$

在基质限制的范围内， μ_{lim} 变得远小于 μ_{max} ，导致这种情况的基质浓度是：

$$S - S_c \ll K_s = \frac{\mu_{\text{max}}}{6Y_{xs}k_L/\rho_c d_c} \quad (1-1-23)$$

方程（1-1-22）的典型值： $\mu_{\text{max}} = 1\text{h}^{-1}$ ， $d_c = 2 \times 10^{-6}\text{m}$ ， $\rho_c = 10^3\text{kg}/\text{m}^3$ ， $Y_{xs} = 0.5$ ， $k_L = 1\text{m}/\text{h}$ ，则 $K_s = 0.66 \times 10^3$ ，这正在关于该参数报道值的范围内。

方程 (1-1-21) 和 (1-1-22) 相当于 Monod 方程, 但在 Monod 方程中 K_s 完全是经验常数, 而前者的优点是 k_L 具有明确的含义。通过方程 (1-1-22), 可以预示 K_s 的近似值、物理特性改变的影响以及操作变量。这明显简化了得到一个动力学表达式的工作, 因为它只需要得到一个经验 μ_{\max} 值即可。

2. 其他生长动力学方程

Monod 方程式只是描述在生长慢、细胞浓度低情况下的基质限制生长。在这种环境下, 生长率简单地与 S 相关。在高细胞数水平下, 有毒代谢产物变得更重要。除 Monod 方程外, 有其他几种方程可用于描述基质限制生长, 如 Blackman 方程, 它简单地将 K_s 加倍, 取消 Monod 方程给出的指数生长和减速生长之间的平滑转变:

$$\begin{aligned} \mu &= \mu_{\max} && \text{如果 } S > 2K_s, \\ \mu &= \mu_{\max}/2K_s && \text{如果 } S < 2K_s. \end{aligned} \quad (1-1-24)$$

又如 Tessier 方程, 它采用指数形式而非双曲线形式:

$$\mu = \mu_{\max}(1 - e^{-K_s S}) \quad (1-1-25)$$

Moser 方程增加了第三个动力学参数, n :

$$\mu = \mu_{\max} S^n / (K_s + S^n) \quad (1-1-26)$$

另一方面, Contois 方程:

$$\mu = \mu_{\max} S / (K_s X + S) \quad (1-1-27)$$

当比生长速率随细胞质量增加而减少时, 将出现更多适合于高密度培养的方程。

3. 多基质时的生长动力学方程

培养物通常可以在不同的基质生长, 但即使几种同时存在, 也只有其中一种被用作为主要的能源和/或碳源, 只有当这种基质被耗尽时, 另一种基质消耗所需要的酶系统才会发展起来, 并以一个新的停滞期为代价。如果这些例子中的每一个的动力学行为都可以用以前所提到过的其中一个单一基质动力学方程式描述, 则最简单的近似式就是一个通用表达式, $F(S_i)$, 当某一成为限制基质时, 通用式将分解为适用于该特定基质 S_i 的式子。

虽然结合速率表达式的几种可能方法已经描述过, 看来似乎在分批培养中涉及大于一种碳源时, 它们将按顺序被利用; 对于同时发生的连续培养, 由 Imanaka 等发现的结论与实验数据极为吻合, 他们以葡萄糖和半乳糖为碳源建立分批培养细胞生长模型如方程 (1-1-28) 所示:

$$dX/dt = (\mu_1 + \mu_2)X \quad (1-1-28)$$

这里

$$\mu_1 = \mu_{\max 1} S_1 / (K_1 + S_1) \quad (1-1-29)$$

$$\mu_2 = \mu_{\max 2} S_2 / \{K_2 [1 + (S_1/K_1)] + S_1\} \quad (1-1-30)$$

其中基质 1 代表葡萄糖, 基质 2 代表半乳糖, S_1 及 S_2 分别代表葡萄糖及半乳糖的浓度; K_1 及 K_2 分别代表以葡萄糖及半乳糖为底物时的平衡常数, 结果产生下面总的 μ 方程:

$$\mu = \mu_1 + \mu_2 = \mu_{\max 1} S_1 / (K_1 + S_1) + \mu_{\max 2} S_2 / \{K_2 [1 + (S_1/K_1)] + S_1\} \quad (1-1-31)$$

这相当于已经被归纳的比生长速率的叠加表达式, 即总的比生长速率 μ 等于利用葡萄糖的比生长速率 μ_1 和利用半乳糖的比生长速率 μ_2 之和。

另一方面, 当营养不做任何改变时, 问题是本来存在的基质中不同的一个变成限制因素 (如 C、N、 O_2), μ_{\max} 不会发生改变, 其行为可由方程 (1-1-32) 得到很好描述, 它相当

于几个 Monod 型表达式的乘积:

$$\mu = \mu_{\max} [G/(K_G + G)] [N/(K_N + N)] [O/(K_O + O)] \cdots \quad (1-1-32)$$

或

$$\mu = \mu_{\max} \prod_{i=1}^n \left(\frac{S_i}{K_i + S_i} \right) \quad (1-1-33)$$

式中 i ——可以限制生长的营养物 (G 代表碳源、 N 代表氮源、 O 代表氧)。这相当于比生长速率的交互表达式。

三、产物形成动力学方程

代谢产物和蛋白质释放到生长培养基中或在细胞内积累。产物的生成可分为几种形式:

(1) 主要产物是能量代谢的结果, 例如在酵母厌氧生长过程中的酒精合成 (Gaden 分类 I 型)。

(2) 主要产物是能量代谢的间接结果, 如霉菌好气生长过程中柠檬酸的合成和细胞中 PHB 的胞内积累 (Gaden 分类 I 型)。

(3) 产物是二次代谢物, 如霉菌好气发酵中青霉素的生产 (Gaden 分类 III 型)。

(4) 产物是胞内或胞外蛋白, 这属于蛋白合成领域, 可以受到诱导和分解代谢抑制调节, 如酶合成。

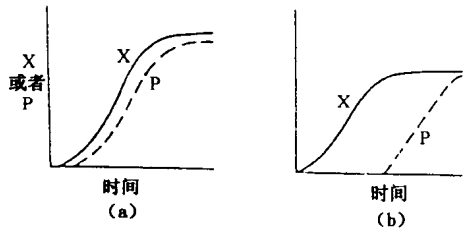


图 1-1-2 分批发酵中细胞生长及产物形成的动力学形式
(a) 生长偶联性产物合成
(b) 非生长偶联性产物合成

这 4 种细胞产物合成动力学可简单分成两类: 一类是产物合成在生长过程中出现, 成为生长偶联型, 如图 1-1-2 及方程 (1-1-34) 或 (1-1-35)。

$$dP/dt = \alpha dX/dt \quad (1-1-34)$$

$$\pi = \alpha \mu \quad (1-1-35)$$

式中 P ——产物浓度;

α ——系数;

π ——产物形成比率即 $\pi = \frac{dP/dt}{X}$ 。

这主要符合 Gaden 分类 I 型和第四种合成方式。

另一类的产物合成通常出现在细胞生长完成以后 (或在相对低的生长率的情况下), 称为非生长偶联型, 如图 1-1-2 及方程 (1-1-36) 或 (1-1-37),

$$dP/dt = \beta X \quad (1-1-36)$$

$$\pi = \beta \quad (1-1-37)$$

但是, 实际上这些方程未能够反映产物合成既不是在生长过程出现, 也不是在生长后出现的情况, 如以上第二组 (Gaden 分类 I 型) 的柠檬酸和 PHB 的合成, 或在很多情况下青霉素的合成, 即以上第三组 (Gaden 分类 III 型)。

从图 1-1-2 可以看出, 如果方程 (1-1-36) 有效, 某些产物将在 $t=0$ 到 $t=t$ 结束之间合成, 它与现存的细胞浓度成比例。为了克服这种模型的限制, 在式中加入一项, 表达通过

基质（通常是氮， N ）控制生长而实现产物合成抑制，结果产生方程 (1-1-38)：

$$dP/dt = \beta X [K_N / (K_N + N)] \quad (1-1-38)$$

式中 N ——基质中的氮浓度；

K_N ——以 N 为限制性基质的平衡常数。

这个方程很好地模拟了 *Metholycistis parvus* 菌采用甲烷作为碳源以及 *Alcaligenes eutrophus* 菌用 CO_2 作碳源时的 PHB 积累情况，结果如图 1-1-3 所示。

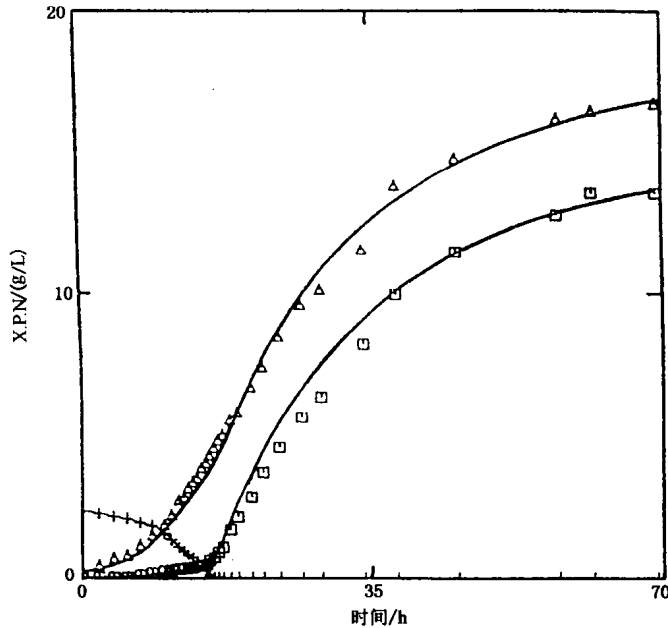


图 1-1-3 *Alcaligenes eutrophus* 细胞生长及胞内产物 PHB 积累的实验数据及计算机模拟，在氮抑制产物合成时期为非生长偶联式产物形成
 +——代表培养基中的氮 (N) □——产物 (P) 积累
 △——总细胞量 (X), 包括非产物生物量和产物生物量

在某些场合下，将方程 (1-1-34) 和 (1-1-36) 组合可以很好地模拟实际数据，这就是人们提到的混合生长偶联型，如方程 (1-1-39) 和 (1-1-40) 所示：

$$dP/dt = \alpha dX/dt + \beta X \quad (1-1-39)$$

$$\pi = \alpha \mu + \beta \quad (1-1-40)$$

对于胞内聚合物（如 PHB）合成的情况，生物量包括了非产物生物量和产物生物量，因此总的生长必须分成两项，如方程 (1-1-41)，第一项 (dR/dt) 相当于细胞部分，它与蛋白含量成比例，受培养基中限制蛋白合成的营养（如 N ）水平控制， R 是表示余数。第二项相当于胞内产物积累， dP/dt ：

$$dX/dt = dR/dt + dP/dt \quad (1-1-41)$$

$$dR/dt = \mu_{\max} R [N / (K_s + N)] \quad (1-1-42)$$

而 dP/dt 由方程 (1-1-37) 给出。

四、高浓度基质及产物的抑制动力学

非常高的基质浓度可以抑制生长及产物合成。例如为了得到很高的生物量或产物浓度，有需要在发酵过程中加入基质（如碳源等）（称为流加发酵），因为不可能在发酵开始时就加入所有细胞生长及（或）产物合成所需要的基质。如果以葡萄糖作为碳源，则通常发酵开始时的浓度不大于 150g/L，如果大于 350g/L 则使大部分微生物不生长，这是由于渗透性作用导致细胞脱水所致。这种现象称为基质抑制。有很多方程描述这种现象，并有综述概括。最重要的似乎是两个非竞争性抑制方程：

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S + S^2/K_I} \quad (1-1-43)$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S} e^{(-S/K_I)} \quad (1-1-44)$$

式中 K_s 和 K_I 分别是基质和抑制剂的平衡常数，对于竞争性抑制方程与酶动力学方程相类似。

代谢最终产物在高浓度下产生抑制是极为普遍的。这些抑制既影响生长率，又影响产物代谢的比率。3 个最常见的生长抑制方程是：

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S} e^{-K_P} \quad (1-1-45)$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{K_s + S} \left(\frac{K_I}{K_I + P} \right) \quad (1-1-46)$$

$$\mu = \mu_{\max} \left(1 - \frac{P}{P_{\max}} \right) \quad (1-1-47)$$

式中 P ——产物浓度；

K_P ——产物抑制平衡常数。

另一方面，如果产物合成采用依赖于基质浓度的混合生长偶联模型表达，则：

$$\frac{dP}{dt} = \left(\alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \right) \left(\frac{S}{K_s + S} \right) \quad (1-1-48)$$

方程 (1-1-48) 中，产物抑制项可用几种方法包括，如方程 (1-1-49) ~ (1-1-51) 所示：

$$\frac{dP}{dt} = \left(\alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \right) \left(\frac{S}{K_s + S} \right) e^{-K_P} \quad (1-1-49)$$

$$\frac{dP}{dt} = \left(\alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \right) \left(\frac{S}{K_s + S + (K_s/K_P)P} \right) \quad (1-1-50)$$

$$\frac{dP}{dt} = \left(\alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \right) \left(\frac{S}{K_s + S} \right) \left[1 - \left(\frac{P}{P_{\max}} \right)^{n_1} \right]^{n_2} \quad (1-1-51)$$

方程 (1-1-51) 给出了一个更全面的抑制项，其中 n_1 值（通常大于 1）和 n_2 值（通常大于 0 而小于 1）将取决于抑制作用的类型。

当产物抑制出现时，通常产物浓度已高至实际上令合成停止，即：

$$dP/dt = 0 \quad (1-1-52)$$

当 $P > P_{\max}$ 时方程 (1-1-51) 和 (1-1-52) 已被成功用于模拟酵母生产甲醇和柠檬酸的合成。