

第九届全国生物化工 学术会议论文集

PROCEEDINGS OF THE NINTH NATIONAL CONFERENCE
ON BIOCHEMICAL ENGINEERING

中国化工学会生物化工专业委员会

2000 年 10 月

中国化工学会生物化工专业委员会
第三届三次会议
暨第九届全国生物化工学术会议
全国生物化工前沿高级研讨班

(2000.10.16~18 天津)

主办：中国化工学会生物化工专业委员会

承办：中国化工学会生物化工专业委员会秘书处

天津大学化工学院

目 录

(按分类及来稿日期排序)

(1) 生物反应器

- 1 超声波的生物学效应及其应用.....王 谦 赵 兵 王玉春 (1)
- 2 短梗霉多糖在气升式和机械搅拌式反应器中发酵特性的研究.....康瑞娟 蔡昭铃 杨守志 (5)
- 3 谷胱甘肽发酵结构动力学模型.....吴坚平 林建平 岑沛霖 (8)
- 4 含内光源气升式光生物反应器流体力学和气液传质的基本特征
.....喻国策 许 可 蔡昭铃 欧阳藩 (12)
- 5 喜树细胞气升内环流反应器培养生长动力学研究.....于 放 张冬艳 赵心清 谢健 白凤武 (18)
- 6 悬浮床反应器多釜串联进行自絮凝颗粒酵母酒精高浓度连续发酵的研究
.....刘传斌 白凤武 邵 梅 谢 健 李 宁 (23)
- 7 恶臭假单胞菌 *Pseudomonas* sp JS-01 的发酵动力学研究.....申 宁 姜 岷 韦 萍 (28)
- 8 三相鼓泡塔反应器固定化培养黄孢原毛平革菌合成木素过氧化物酶系的研究
.....张朝晖 夏黎明 林建平 岑沛霖 (34)
- 9 裂殖酵母 G1/S 转换的细胞周期模型.....高红亮 丛 威 欧阳藩 (38)
- 10 酶法制备光学活性单酰甘油及其反应器的研究.....许建和 加藤康夫 浅野泰久 (42)
- 11 氧化亚铁硫杆菌在气升式反应器中的生长特性.....罗 林 康瑞娟 马晓楠 蔡昭铃 (46)
- 12 鼓泡塔生物反应器处理化肥工业含氨废水的实验研究
.....朱智勇 闻建平 毛国柱 周维义 张广清 (51)
- 13 重组大肠杆菌在膜反应器连续培养表达抗体融合蛋白.....张雪洪 唐涌谦 (57)
- 14 利用振荡提高生物反应器效率的理论分析.....宋炳辉 修志龙 孙丽华 (61)
- 15 不同生化反应器中菌体形态对泰乐菌素发酵的影响.....陈贵斌 欧宏宇 王瑞明 贾士儒 (65)
- 16 喜树细胞气升内环流反应器培养气-液氧传递特性的研究
.....于 放 张冬艳 赵心清 谢健 白凤武 (69)
- 17 升流式厌氧污泥床反应器处理废水.....肖本益 孙爱友 孔日祥 (74)
- 18 聚乙烯醇-壳聚糖复合酶膜反应器的制备及在单甘油酯合成中的应用
.....谭天伟 张华 王 芳 彭立凤 (78)

(2) 微生物菌种与发酵

- 1 克雷伯氏菌批式流加发酵法生产 1, 3-丙二醇的初步研究
.....刘海军 王剑锋 张代佳 高 璐 修志龙 (81)
- 2 94166 抗生物质的育种及发酵条件的研究.....邵莉莉 (85)
- 3 新型发酵用氮源的开发利用.....张怡 刘进才 房诗宏 (88)
- 4 外来碳源对门多萨假单胞菌降解菲的影响.....田雷 马 沛 钟建江 (92)
- 5 甘油转化 1, 3-丙二醇发酵液中甘油含量的测定.....王剑锋 修志龙 范圣第 (95)
- 6 复合碳源对虾青素发酵的影响.....汪 钊 郑裕国 陈小龙 王 普 裘娟萍 沈寅初 (98)
- 7 甘油发酵生产 1, 3-丙二醇培养基优化.....王剑锋 刘海军 修志龙 范圣第 (102)
- 8 秸秆好氧厌氧耦合发酵工艺中厌氧发酵的初步研究.....杨雪霞 陈洪章 李佐虎 (106)
- 9 灵芝真菌发酵生产灵芝多糖和灵芝酸的研究.....方庆华 钟建江 (110)
- 10 黑曲霉 (*Aspergillus niger*) FS25 产 β -葡聚糖酶发酵特性的研究
.....郑 毅 陈接锋 马石金 吴松刚 (113)

11 微生物发酵生产虾青素·····	郑裕国 沈寅初 (118)
12 新型发酵用氮源的开发利用·····	张怡 刘进才 房诗宏 (124)
13 影响 <i>Aspergillus wentii</i> F—871 孢子萌发和菌丝生长的某些生化因子的研究 ·····	郑 腾 施巧琴 吴松刚 (128)
14 抗生素 AGPM 的摇瓶发酵条件的正交实验优化·····	石炳兴 刘喜朋 赵 红 胡宗定 元英进 (134)
15 温度对枯草芽孢杆菌基因工程菌核黄素发酵的影响 ·····	刘晓敏 班 睿 朱 勇 肖 阳 李彦军 赵学明 (137)
16 L-乳酸产生菌米根霉复壮方法的研究·····	白冬梅 赵学明 胡宗定 (140)
17 双液相酶膜反应器合成生物活性二肽的研究·····	姜忠义 许松伟 高 蓉 (144)
18 氨离子浓度对 <i>Pichia pastoris</i> 生长和血管生长抑素的表达的影响 ·····	张 励 叶 勤 辛 利 杜 鹏 甘人宝 (147)
19 壳聚糖微胶囊用于大肠杆菌 (<i>E.Coli</i>) 培养的研究 ·····	付颖丽 雄鹰 刘袖洞 何洋 刘群 于炜婷 马小军 (151)
20 催化合成单甘酯脂肪酶菌种的选育·····	周 延 韩兴梅 张 鹏 谭天伟 (154)
21 过氧化氢酶高产菌株的选育培养条件的优化·····	晋剑锋 陶 毅 谭天伟 (159)
22 麦角固醇流加发酵控制参数的研究·····	高 桦 孙洪亮 郭晓东 唐 芳 谭天伟 (163)
23 混合菌发酵产生 2-酮基-L-古龙酸体系动力学模型的研究 I. 动力学模型的建立和数据拟合·····	李 强 曹竹安 (167)
24 混合菌发酵产生 2-酮基-L-古龙酸体系动力学研究 II. 用动力学模型分析发酵过程·····	李 强 曹竹安 (172)
25 毕赤酵母表达尿激酶原发酵条件研究·····	陈丹蕾 李 强 (176)
26 用毕赤酵母发酵表达重组尿激酶原发酵条件的影响·····	马善康 顾小勇 李 强 (180)
27 用毕赤酵母表达重组尿激酶原的碳源调控·····	顾小勇 马善康 李 强 (184)
28 磷对耐高渗酵母发酵生产甘油的影响·····	刘永强 谢东明 马志国 刘德华 (188)
29 热带假丝酵母对烷烃的双限制吸收·····	焦 鹏 曹竹安 (192)
30 三基因重组大肠杆菌产聚 β -羟基丁酸酯的补料分批培养 ·····	于慧敏 张延平 史悦 沈忠耀 (197)
31 酶学基础上的二元酸发酵工艺改进·····	肖云智 焦 鹏 曹竹安 (201)
32 需氧发酵过程中流加 H_2O_2 对提高供氧及菌体代谢的影响 ·····	李书良 焦 鹏 曹竹安 (205)
33 海藻糖在高产甘油的克鲁氏假丝酵母中的积累研究·····	张岩 梁萌 任灏翔 刘德华 (210)
34 抑癌基因 PTEN 在大肠杆菌中克隆的研究·····	葛 新 李 强 (214)
35 λ 噬菌体裂解基因在产 PHB 重组大肠杆菌中的表达、调控与功能研究 ·····	于慧敏 张延平 史悦 沈忠耀 (218)
36 产 PHB 三基因重组大肠杆菌的分批发酵研究·····	于慧敏 张延平 史悦 沈忠耀 (222)
37 流加 H_2O_2 对长链二元酸发酵的影响·····	黄英明 焦 鹏 李书良 华玉涛 曹竹安 (226)
38 钙离子对热带假丝酵母细胞生长的影响·····	华玉涛 焦鹏 曹竹安 (230)
(3) 生物催化剂的制备与应用	
1 单甲氧基聚乙二醇修饰牛胰核糖核酸酶·····	张 颖 李伟军 苏志国 (234)
2 反胶束体系中青霉素酰化酶稳定性研究·····	王 普 陈希扬 应国清 杨更生 杨立荣 岑沛霖 (238)
3 有机溶剂中固定化酵母催化不对称还原反应的特性·····	何 成 许建和 刘幽燕 庄英萍 (242)

- 4 壳聚糖酶解的动力学研究.....吴绵斌 夏黎明 岑沛霖 (246)
- 5 酮基布洛芬拆分的研究: 菌的筛选及其催化特性.....沈 端 宫鹏飞 武慧渊 刘幽燕 许建和 (251)
- 6 嗜酸乳杆菌 JT1701 对人体肠系有害细菌的抑制作用机理.....唐涌濂 唐晔盛 龚广予 (255)
- 7 嗜酸乳杆菌 JT1701 对人体肠系有害细菌的抑制作用.....唐涌濂 唐晔盛 龚广予 (259)
- 8 兽疫链球菌的紫外诱变和产透明质酸的研究.....龚海彪 张雪洪 张惟杰 (262)
- 9 双歧杆菌冻干工艺研究及保护剂的筛选.....王凌华 孟春英 唐涌濂 (266)
- 10 应用新分离的芽孢杆菌催化合成(S)-缩水甘油苯基醚
.....唐燕发 许建和 朱智东 武慧渊 叶勤 Birgit Schulze (270)
- 11 酶法转化丙酮酸的研究.....谷劲松 许 平 李铁林 曲音波 (274)
- 12 外加剂对提高固定化 E.coli 细胞转化能力的作用研究.....张 玮 周 华 徐 虹 韦 萍 (281)
- 13 微胶囊技术及其在核/壳型微载体制备中的应用.....吕秀菊 丛 威 饶 治 欧阳藩 (284)
- 14 微生物转化甘油生产 1,3-二羟基丙酮的微生物菌株的筛选.....张 霞 郑裕国 沈寅初 (290)
- 15 虾青素高产菌的菌种选育.....王 普 裘娟萍 郑裕国 沈寅初 (294)
- 16 超声对固定化酶促反应作用机理的研究.....刘建国 丛 威 王 超 欧阳藩 (299)
- 17 化学酶法制备 D-丙氨酸的研究.....金宇兴 韦 萍 (304)
- 18 固定化米曲霉菌体氨基酰化酶的特性及其反应动力学研究
.....王淑豪 吴艳玲 宋正孝 马忠海 元英进 (307)
- 19 PEG 诱导 AOT 反胶团中脂酶活性的提高.....吴金川 林良茂 Talukder R. (312)
- 20 氨基酰化酶催化的苯丙氨酸异构体的光学拆分.....姜忠义 李 多 (316)
- 21 新月弯孢霉转化化合物 RSA 的 11 β -羟化酶反应动力学.....王敏 徐正军 王凤清 杜连祥 (318)
- 22 超临界二氧化碳酶催化反应的研究进展.....孙爱友 郝建泰 (322)
- 23 固定化酶催化棕榈油甘油解制备单甘酯的研究.....李文凯 谭天伟 (326)
- 24 酶法水解黄须菜籽油.....贺湘凌 高山渊 谭天伟 (330)
- 25 微生物法催化生产丙烯酰胺的脲水合酶研究进展.....刘 铭 焦 鹏 曹竹安 (334)

(4) 生物产品分离技术和介质, 反应与分离耦合技术

- 1 8 升气升式反应器中超声提取海带硫酸酯多糖的研究.....黄 猛 赵 兵 王玉春 (339)
- 2 发酵液吸附脱色动力学和工艺研究.....吴兆亮 王海鸥 胡 滨 (343)
- 3 利用络合萃取法提取 L-苯丙氨酸转化液中丙酮酸的研究.....李家璜 姚 忠 韦 萍 欧阳平凯 (348)
- 4 超声法细胞破碎过程中聚乙二醇对目标产物释放过程的影响.....张贵锋 苏志国 (353)
- 5 固相合成胸腺素 α 1 的纯化.....万里鹏 王贺岭 甘一如 (357)
- 6 表氯醇活化交联琼脂糖 Sepharose CL-6B 的工艺研究.....蔡友庆 宋 磊 甘一如 (360)
- 7 微波破碎细胞的机理及其在天然产物提取中的应用.....刘传斌 李 宁 白凤武 苏志国 (364)
- 8 麻黄碱与离子交换树脂的相互作用.....赵东旭 苏志国 (368)
- 9 三辛基甲基氯化铵萃取色氨酸的研究.....侯经纬 梁俊爱 马友光 (372)
- 10 用于连续灌注悬浮培养过程中选择性截留活细胞的倾斜式重力沉降器
.....王兆伟 周燕 谭文松 (379)
- 11 微波加热破壁提取猪血超氧化物歧化酶的研究.....修志龙 王 威 陆美卿 齐东健 (385)
- 12 鲜人参的微波干燥及人参皂甙的微波辅助提取研究.....张代佳 修志龙 林新华 (389)
- 13 新型 Protein A 免疫吸附膜柱在血液净化中的应用.....贾凌云 杨利 邹汉法 张玉奎 (392)
- 14 乙醇气提发酵与载气蒸馏耦合过程的研究.....秦庆军 贾鸿飞 王宇新 冯津津 (396)
- 15 用脲梯度凝胶过滤提高蛋白复性率.....谷振宇 苏志国 Jan-Christer Janson (402)

- 16 用于聚乙二醇修饰蛋白产物分析的高效毛细管电泳体系
.....李伟军 张 颖 钟 谊 林炳承 苏志国 (405)
- 17 有机概念图在中药提取和剂型设计中的应用
.....张业旺 曲蓓蓓 马军刚 修志龙 张代佳 袁履冰 (409)
- 18 泡沫分离法分离人参皂甙的研究.....修志龙 张代佳 贾凌云 范 瑾 张业旺 (413)
- 19 冰醋酸提取红酵母中虾青素的工艺研究.....陈小龙 郑裕国 汪 钊 沈寅初 (417)
- 20 吸附法分离乙醇的研究.....严希康 范立梅 庄英萍 严 明 (420)
- 21 空间质量作用模型预测蛋白质离子交换平衡.....陈卫东 孙 彦 (424)
- 22 蛋白质离子交换平衡模型.....胡飞雄 孙 彦 (428)
- 23 人工伴侣辅助溶菌酶复性的研究.....史晋辉 董晓燕 孙 彦 (434)
- 24 壳聚糖涂层多孔硅胶制备固定化金属离子亲和吸附剂.....田 阳 孙 彦 (439)
- 25 磁性琼脂载体的合成及其吸附 BSA 的研究.....佟晓冬 杨万运 孙 彦 (443)
- 26 聚乙烯醇磁性亲和载体的合成及其对蛋白质的吸附.....薛 博 周 盈 孙 彦 (447)
- 27 分子伴侣 GroEL 辅助溶菌酶复性的动力学研究.....严伟松 董晓燕 孙 彦 (451)
- 28 高吸附容量 PGDT 型连续床色谱介质的制备及性能研究.....张敏莲 孙 彦 (456)
- 29 离子强度对色素亲和吸附平衡和动力学的影响.....张松平 刘建华 孙彦 (460)
- 30 高容量大孔蛋白质离子交换剂的制备和性能研究.....周 鑫 王永健 孙 彦 (464)
- 31 电场影响胞外高分子萃取速率的实验研究.....曹宏斌 钟方丽 张吕鸿 孙津生 姜 斌 李鑫钢 (468)
- 32 壳聚糖水处理剂吸附重金属离子的机理研究.....陈鹏 谭天伟 (472)
- 33 膜乳化法制备壳聚糖/海藻酸钠微胶囊.....刘袖洞 刘群 何洋 雄鹰 付颖丽 马小军 袁权 (475)
- 34 电泳羟基磷灰石色谱吸附特性研究.....殷 钢 詹劲 刘铮 (478)
- 35 蛋白质折叠与分离耦合技术研究.....卢滇楠 刘 铮 (482)
- 36 水平电场电脱水技术的初步研究.....余 鹏 周加祥 刘 铮 (487)
- 37 羟基磷灰石对蛋白质的吸附特性研究.....詹劲 殷钢 刘铮 (491)
- 38 从土壤中去 Cu²⁺ 的电修复过程研究.....金卫华 钱暑强 刘 铮 (495)
- 39 生化分离工程中的纳滤膜技术.....王晓琳 (499)
- 40 蛋白质分子印迹聚合物对印迹分子的选择性识别.....罗晖 孙瑞丰 沈忠耀 (503)
- 41 分子印迹聚合物手性拆分氨基酸衍生物的影响因素研究.....隋洪艳 李红旗 沈忠耀 (507)
- 42 脯氨酸、羟脯氨酸脱色工艺研究.....沈金玉 张鹏飞 (511)
- 43 分离氨基酸衍生物分子印迹聚合物的制备及表征.....隋洪艳 李红旗 沈忠耀 (515)

(5) 藻类、植物细胞和动物细胞的培养

- 1 Vero 细胞在微载体上生长的形态变化的电镜观察.....邵曼君 姜 蕾 高洪亮 丛 威 (519)
- 2 培养条件对 Vero 细胞的生长动力学的影响.....高红亮 丛威 张考华 欧阳藩 (522)
- 3 Vero 细胞在微载体上单层生长动力学模型的研究.....贾新莉 姜 蕾 邵曼君 (528)
- 4 半导体激光对紫球藻生物学效应的影响.....黄鹭强 王明兹 欧 琳 施巧琴 吴松刚 (532)
- 5 赤潮异弯藻的培养特性的初步研究.....李东侠 钱风云 丛 威 欧阳藩 (536)
- 6 培养方法对钝顶螺旋藻生长的影响.....陈必链 庄惠如 王明兹 施巧琴 吴松刚 (541)
- 7 三维造血微环境模型对体外扩增造血干祖细胞的影响.....滕小伟 赵 佼 谭文松 (545)
- 8 青蒿毛状根悬浮培养中钼对生长和青蒿素合成的影响.....赵 兵 王玉春 杨成砚 欧阳藩 (549)
- 9 红豆杉细胞培养从摇瓶到反应器的放大.....潘志伟 钟建江 (554)
- 10 杂交瘤细胞制备单抗过程中的低血清驯化和透析袋培养.....顾 铭 吴 萍 戚艺华 (557)

- 11 悬浮培养技术在脐血单个核细胞体外扩增中的应用.....赵 佼 蔡海波 迟占有 谭文松 (560)
- 12 水杨酸对红景天细胞生产红景天甙的影响.....赵心清 白凤武 谢 健 (564)
- 13 真菌诱导红豆杉细胞的信号转导与紫杉醇合成关系的研究.....李 春 晏 琼 元英进 胡宗定 (567)
- 14 东北红豆杉细胞悬浮培养过程中内切壳聚糖酶基因的诱导表达.....马振毅 王艳东 元英进 (572)
- 15 Ce^{4+} 在红杉细胞中的亚细胞定位研究及其在信号转导中作用初探.....梁世乐 李景川 元英进 (576)
- 16 悬浮培养南方红豆杉细胞团内部结构的定量图像分析.....葛志强 李景川 元英进 (579)
- 17 糖对草莓细胞悬浮培养细胞生长和产生花青甙的影响.....李 强 (584)
- 18 甜菜碱对细胞在高渗透压下保护作用的研究.....李 焱 刘 铭 辛 艳 曹竹安 (588)
- 19 反馈抑制物对紫杉醇和紫杉烷类化合物合成的调控作用.....郭志刚 刘瑞芝 邓 颖 (592)
- 20 神经网络用于杂交瘤细胞 C50 培养过程预测.....杨 艳 辛 艳 李 焱 曹竹安 (597)
- 21 碳源对藏红花细胞生长与藏红花素合成的影响.....郭志刚 刘 雪 刘瑞芝 (601)
- 22 外加碳源对集胞藻细胞生长及 PHB 积累的影响.....吴桂芳 鲍 恬 吴庆余 沈忠耀 (606)
- 23 谷氨酰胺化学降解及其对杂交瘤细胞培养的影响.....辛 艳 杨 艳 李 强 曹竹安 (610)
- 24 牻牛儿苗根的生长与营养消耗动态研究.....郭志刚 刁劲羽 刘瑞芝 陈奎发 (614)
- 25 几种药用植物中铅的形态和分布研究.....刘 军 李先恩 王 涛 沈忠耀 (618)

(6) 生物过程测量与控制

- 1 PHB 混合培养过程细胞代谢能的调控.....钱梓文 远山正幸 清水和幸 (622)
- 2 气相色谱法测定乳酸发酵液中的微量乙醇.....袁卫锋 班 睿 赵学明 (626)
- 3 纤维素酶 E₃ 基因的重组与分泌型表达.....沈雪亮 夏黎明 岑沛霖 刘景晶 丁 敏 (629)
- 4 糖蛋白寡糖及单糖色谱分析的研究进展.....冯津津 张 健 (633)
- 5 微载体培养人皮肤成纤维细胞的代谢研究.....邓明安 周 燕 华 平 谭文松 (638)
- 6 由基因组数据对枯草杆菌氨基酸合成代谢网络进行初步分析...郭晓峰 马红武 于 岚 赵学明 (642)
- 7 应用 VBA 由酶反应数据库自动计算代谢网络计量矩阵.....于 岚 马红武 郭晓峰 赵学明 (646)
- 8 反相离子对色谱法测定核黄素发酵液中的核黄素.....刘晓敏 班 睿 赵学明 (650)
- 9 酵母细胞连续流加培养过程的建模与预估控制
.....孔日祥 张 庆 欧宏宇 张亚刚 白瑞林 贾士儒 (653)
- 10 甘油发酵过程的葡萄糖代谢流分布.....叶 勤 唐 军 (657)

(7) 生物工程的发展及产品

- 1 5-苯乙叉基海因的制备.....曹 飞 韦 萍 屠春燕 欧阳平凯 (661)
- 2 几种海藻叶绿素含量的测定与比较.....张 栩 张沂萍 吕培顶 蔡昭铃 欧阳藩 (664)
- 3 秸秆生态工业建设的关键技术.....陈洪章 李佐虎 (668)
- 4 汽爆处理对秸秆化学成分及有机物质消化率的影响
.....杨雪霞 陈洪章 李佐虎 (672)
- 5 木糖发酵生产乙醇的研究.....刘 健 陈洪章 李佐虎 (676)
- 6 氨基葡萄糖盐酸盐的制备.....陈忻 袁毅桦 符庆强 赖兴华 (681)
- 7 汽爆秸秆固态发酵生产饲料的研究.....杨雪霞 陈洪章 李佐虎 (685)
- 8 由 D-N-HPG 经亚硝酸法转化制备 D-HPG 的研究.....姜 岷 申 宁 韦 萍 (689)
- 9 糖醇丙酮化作用及应用.....叶志云 韦振雷 黎 颖 (693)
- 10 新型甜味剂天丙二肽异丙酯合成新方法的研究.....戎 非 唐拾贵 郭 成 韦 萍 欧阳平凯 (697)
- 11 生物法合成乙醛酸的研究进展.....何娉婷 刘志斌 李 环 韦 萍 欧阳平凯 (701)

12 制备脂质体的方法及其研究进展·····	黄祖新 章文贤 黄文树 (706)
13 水溶性紫杉醇衍生物的体外抗肿瘤活性·····	冯 霞 李金亮 元英进 (709)
14 微胶囊的应用前景的研究·····	于炜婷 付颖丽 何洋 雄鹰 刘袖洞 刘群 马小军 (712)
15 聚甘油酯的性能及其应用·····	沈金玉 (715)
16 多通道流动电泳过程的放大与优化·····	王 君 罗 坚 刘 铮 (721)
17 血红蛋白分子印迹介质的制备·····	雷建都 谭天伟 (725)

超声波的生物学效应及其应用*

王谦 赵兵 王玉春

(中国科学院化工冶金研究所生化工程国家重点实验室 北京 100080)

摘要 本文简要介绍了超声波生物学效应的物理机制, 并就超声波在生物技术领域的应用进行了总结及展望。

关键词 超声波, 生物学效应, 生物技术

超声波是指频率高于 $2 \times 10^4 \text{ Hz}$ 的声波, 虽然人耳不可觉察, 但它在自然界中广泛存在。超声波与其他的声波一样, 是可在弹性介质中传播的一种机械波, 各种不同的载声介质由于具有不同的理化性质, 会对声波的传播行为产生不同的影响; 反过来看, 各种频率的超声波的传播也会导致介质的某些理化性质及生物学性质的改变。从微观上讲, 超声波可以与介质分子相互作用; 宏观上, 超声波可在流体中产生空化作用、热效应、冲击力等综合效应。

当超声波在介质中传播时, 其强度会随传播距离的增大而减小, 这主要是因为: (1) 声束扩散或衍射损失(由声源决定); (2) 介质非均一性所引起的声散射损失; (3) 声吸收损失: 实际介质绝大多数不是纯弹性介质, 这使得介质中各点处的声压和质点速度不同相, 使声能转换成其他形式的能量(主要是热能)。显然, 声散射与声吸收造成的声衰减主要取决于介质本身, 在实际应用中利用超声时, 人们总是想方设法地削弱此现象。

超声波在实际应用中主要有三类: 一类是用以改变特定物质的某些物理、化学、生物学性质或状态, 或者用来加快这些改变的过程, 这时一般使用较高的能量的超声波, 如超声清洗、超声雾化、超声悬浮等; 另一类是用于采集信息, 尤其是物质内部深处的信息, 比如超声探伤、超声诊断等, 这是因为超声波可以穿过几乎所有的材料; 再一类是声表面波, 可对电子信号进行各种控制和处理。超声波用于对特定的生物发生作用可以归在第一类应用当中, 但是使用的功率根据其不同的用途有较大的差别。在这一过程中除了遵循超声波的一般规律外, 还会引起一些特殊的生物学效应^[1], 系统地研究这些效应并加以推广应用具有十分重要的意义。

1 超声波的生物学效应

1916 年, 法国物理学家 P.Langevin 在研究产生和运用水下超声作为侦察德国水下潜艇的手段时, 无意中发现高强度的超声可杀死小鱼, 这是超声生物学效应的最早例子。超声波的生物学效应与声强、频率、生物本身的性质有很大关系^[2], 并且经常是几种效应并存, 且有可逆效应和不可逆效应两种: 前者在声强较低的情况下发生, 而后者在声强超过一定阈值后才会发生。

1.1 声流效应

超声波射入两种不同声波阻抗率介质的界面时, 动量会发生变化, 产生辐射压力。当介质中存在有生物组织或细胞时, 可对组织、细胞产生剪切力和引起声流, 从而引起其微观组分的移动或转动, 当运动幅度过大时, 可引起其破裂。

1.2 空化效应

在液体及细胞、组织内, 由于热起伏或其自身的代谢会产生一些小气泡。在超声波的作用下, 当声压与静压力之和很小时, 气泡可生长膨大, 反之气泡则缩小。由于超声波的振动频率与其作用的物质的固有频率之间存在一定的差别, 所以合压力也就处于波动状态中, 从而引起气泡在不同的时间产生不同幅度的振动。在声强较小时, 振动不很剧烈, 一般不会产生破坏力, 即稳态空化; 但是, 即

* 海洋 863 青年基金项目 (819-Q-15) 资助。

使在稳态空化的情况下, 由于声流效应的存在, 气泡周围的应力仍会增加, 引起某些生物细胞功能的改变。当声强超过某一阈值(空化阈)时, 气泡的振动加剧: 当合压力趋近于零时, 气泡迅速膨大; 当声压与静压力的方向一致时, 会产生巨大的合压力, 使气泡剧烈收缩, 破裂成许多小的气泡, 同时会产生很强的冲击波和局部的高温、高压。空化阈值的高低与许多因素有关: 不同液体的空化阈值不同, 同种液体在不同的气含量、温度、压力和空化核(空化借以开始生长的小气泡)半径条件下, 其空化阈值也不相同。比如说, 液体含气量越少, 空化阈值越高; 液体静压力越大, 空化阈值越高; 液体粘度越大, 空化阈值越高。另外, 空化阈值也与声波的频率有关, 频率越高, 空化阈值越高。

1.3 振动效应

当声强不太大时, 超声波可使生物组织、细胞产生弹性振动, 其振幅与声强的平方根呈正比。

当声强足够大时, 它们的振幅就会超过其弹性极限, 造成组织、细胞的破碎。

1.4 触变效应

超声波可引起细胞、组织的生理状态的改变, 如胞液粘度下降等, 在较低声强时, 触变效应是可逆的, 当停止超声处理后, 它们还可恢复到原来的初始状态。当声强过高时, 只会对它们造成不可逆的变化。

1.5 热效应

由于介质的声吸收效应, 射入细胞、组织、液体内的一部分超声能量能够被转化为热能, 使体系的温度升高。在一定的声强下, 对特定的体系, 在初始阶段其温度变化与超声波处理时间呈线性关系, 当温度升至一定程度(与声强或频率有关)后, 上升速率会逐渐变小, 最后达到整个体系温度的恒定。

2 超声波在生物技术中的应用

2.1 破碎细胞

这是目前超声波在生物技术中的最主要的应用方面之一。由于高强度的超声波的声流效应、空化效应、振动效应均可引起液体环境中的细胞、组织等微小物质的振动, 甚至使细胞壁、膜穿孔以致破碎, 从而能够促进细胞内容物的向外扩散, 或者为外界环境中的溶剂进入细胞内部提供了快捷的通道, 使代谢产物的溶解过程得以加快。所以, 许多生物工程学家利用较高强度的超声波来破碎细胞, 以提取其内含的蛋白、多糖、脂类等生物活性物质, 或者作为溶剂浸提的强化手段。这种方法一般不会改变目的物的化学结构及生物学活性, 但是可以大大提高提取率, 加快提取速度。郭孝武发现: 在从黄柏粉中提取小檗碱时, 用 20kHz 超声波处理 30min 比浸泡 24h 所得的小檗碱提取率高 18.26%^[3]; 而超声波应用于强化从黄连中提取小檗碱的常规碱性浸泡工艺, 20kHz 超声提取 30min 所得到的的小檗碱提取率比碱性浸泡 24h 的方法高 50%以上, 并经核磁共振(氢谱法)测定所得小檗碱的化学结构, 发现超声波对其结构无破坏作用^[4], 既缩短了提取时间, 又大大提高了提取率。赵兵等^[5]用 20MHz 的超声波强化从鼠尾藻中提取硫酸多糖的过程, 仅用 20min 即可达到 100℃ 搅拌提取 4h 的多糖提取率(2.75%), 明显高于 80℃ 搅拌提取 4h 的多糖提取率(1.76%), 大大缩短了提取时间。灵芝多糖是一种实体木质化的真菌多糖, 由于灵芝子实体细胞壁含有几丁质、纤维素及木质素等, 一般的破碎方法难以将细胞壁破坏, 提取有效成分很困难, 而 120W 的超声波处理可使其相对结晶度从 23.4 降低到 0, 比表面积增加 85.5%, 水解速度显著增加^[6]。可见, 超声波能起到其它的机械、化学方法难以达到的破碎效果。中科院化冶所生化工程国家重点实验室在承担的国家“九五”攻关重点项目“植物细胞大规模培养生产青蒿素”的研究中, 采用超声波强化石油醚提取青蒿素的结果表明, 该方法可提高提取率, 缩短提取时间, 降低溶剂消耗, 并且杂质含量较少^[7]。

目前, 超声波用于在实验室内进行生物组织、细胞的破碎已获得广泛应用, 可进行植物组织及细胞、大型海藻、微藻、酵母等真菌、E.coli 等原核生物的破碎, 但至今尚无工业化生产的报道, 其关键问题是成本过高, 且放大后有破碎效率降低的现象, 这都依赖于新型破碎提取器的深入研究与开

发。赵兵等设计出一种新型超声强化浸提反应器[专利号: 99248061.2], 利用液相的循环来解决由于传播距离远而产生的超声波强度减弱的问题, 同时也可在液相造成微小的气泡来降低空化阈, 具有较好的工业化前景。

2.2 促进传质

这一过程主要发生于固液两相介面及细胞壁、膜附近的区域。超声场中的环境介质分子及细胞在超声波的作用下都处于不断的振动状态, 对环境介质而言, 空化效应可加强其分子的扩散效应, 加速体系的混匀进程, 减小各种代谢产物在液相的浓度梯度; 对细胞而言, 触变效应可降低其胞液的粘度, 提高膜的通透性, 这都有助于减少传质阻力。另外, 声流效应和振动效应可使微观组分处于相对移动及转动状态, 减小了细胞膜与液体界面处的液膜传质阻力, 既有利于其内部物质的向外传递, 减小其内部的产物抑制作用, 又也可加速液相中的底物向细胞、组织等培养物内部传递, 避免底物供应的“瓶颈”问题。事实上, 人们在利用超声波破碎处理物时, 也在同时利用超声波的促进传质作用使目的物快速提取出来, 因为破碎作用与强化传质在物理学上可以由相同的机制诱发。Kilby 等^[8]用连续超声波(1.02MHz, 3W/cm²)对甜菜胞内物进行提取时发现, 当处理周期超过 50S 时, 可以重复提取胞内色素而并不影响细胞的活性。

目前, 超声波单纯用于对培养的细胞进行强化传质方面的研究显得相对较少, 因为现在的机械式搅拌和气升式搅拌在技术上已经比较成熟, 且成本较低, 在强化传质方面已经获得了广泛的应用。但是, 这两种方式只能降低液相中各物质的浓度梯度, 靠增大传质推动力来促进传质, 对细胞内部所起的正面作用甚微。相对而言, 超声波则在这方面具有很大的优势, 特别对于那些对剪切力敏感的细胞而言, 低声强的超声波在促进传质方面仍然具有很大的应用潜力。

2.3 提高酶的活性、加速细胞代谢

已有研究表明, 超声波在较低强度时不但不会象高强度那样破碎细胞, 而且还可提高酶的催化活性, 加速细胞的新陈代谢过程。Volfson 等^[9]认为: 超声波在一定的低强度范围内, 随着强度的增加, 可提高碱性蛋白酶的活性, 加快其催化的转脂反应。Toba^[10]等在用超声波处理 β -半乳糖苷酶催化乳糖分解的反应体系时发现, 乳糖的降解率得到了大幅度的提高, 由应用超声处理前时的 39-51% 提高到 70-74%。另外, 还有研究表明, 低功率超声辐照液体培养基, 可以提高藻类细胞的生长速率和产率^[11]; 50W 超声在 0-5°C 下辐照面包酵母 90min, 在不同的培养底物条件下均可大幅度提高其合成咪唑并稠合杂环的产率^[12]。刘建国等^[13]发现, 在一定的功率范围(15-72W)和一定的处理体积(40-100ml)内用超声波处理固定化的青霉素酰化酶, 酶活性及酶促反应速度都有一定程度的提高, 酶活最高可达原来的 1.75 倍, 并且酶对温度和酸碱度的耐受性均有一定程度的增强。

由于不同的细胞具有不同的最高耐受声强, 即使是同一种细胞, 当处于不同的环境中时其最高耐受声强也不相同, 因此, 超声波用于提高酶活力时对声强的要求比较苛刻。在这方面需要做较多的基础研究, 其关键是找出超声波提高酶活力的分子水平上的机制。

2.4 降解高聚物

几丁质(又名甲壳质)是自然界中储量仅次于纤维素的第二大类天然多糖, 广泛存在于真菌、昆虫和甲壳类动物之中, 具有多种衍生物, 它们自然状态复杂, 刚性很强, 在绝大多数溶剂中很难溶解。但是其降解产物甲壳低聚糖具有抗肿瘤、抗血栓、促进机体蛋白质合成、提高机体免疫力等生理活性, 在医药、功能食品、化妆品等方面具有很大应用潜力。Yasuko Takahashi 等在酸性条件下用超声波降解几丁质时发现^[14], 在反应 120min 以前, 产生的聚合度在 1-7 的低聚糖的量与时间成正比关系, 并且低聚糖的产率是单纯用酸降解时产率的 2-4 倍。Isono Yoshinobu 等的研究表明^[15], 超声波处理可使蜡性玉米淀粉的平均分子量减小, 即对其有降解作用, 在较高声强的条件下, 降解速率加快, 并且降解后的分子量趋于一致化。不难看出, 对于那些普通方法难以降解或者要求降解产物分子量一致的物质, 使用超声波降解具有较大的优势。

3 结语

超声波应用于生物技术领域虽然时间不长,但已经取得了令人瞩目的成就。在破碎细胞方面更是获得了广泛应用,用于破碎陆地植物细胞、藻类细胞、真菌、原核生物等均已取得良好效果。但在用于促进传质、提高酶活力方面的研究则显得相对欠缺,难以找到一个统一的规律,这主要是因为不同的生物对象在不同的处理体系中对超声波表现出不同的最高耐受声强。另外,到目前为止,超声波在生物技术领域的应用仅限于实验室阶段,尚未找到其工业化出路。因此,以后加强对生物细胞及其内部生物活性物质在超声场中的反应规律的研究实在必行,从而明确超声波对它们发生作用的细胞、分子机制,建立起一套通用的模型以便为不同的操作对象提供数学依据。同时,也应该加强使用超声波技术开发某些高附加值产品的工程放大研究,以点带面,推动超声波技术在生物技术领域的工业化应用进程。

总之,超声波技术由于提取效率高、花费时间短,操作方便、设备简单,正引起越来越多的生物工程学家的兴趣,显现出在生物技术领域的诱人前景。

参 考 文 献

- 1 应崇福. 超声学. 北京: 科学出版社, 1990. 330-333
- 2 路德明, 张中南. 青岛海洋大学学报, 1992, 22(3):18-22
- 3 郭孝武. 天然产物研究与开发, 1999, 11(3):37-40
- 4 郭孝武, 王蕊娥, 员维俭, 等. 陕西师范大学学报, 1997, 25(1):47-49
- 5 赵兵, 王玉春, 孙学兵, 等. 无锡轻工大学学报, 1999, 18(6):47-49
- 6 于淑娟, 高大维, 李国基. 应用声学, 1998, 17(3):10-14
- 7 赵兵, 王玉春, 欧阳藩. 中草药, 1999, 30(9):A1-3
- 8 Kilby N. J. and Hunter C. S., Appl. Microbiol. & Biotechnol., 1990, 33: 448-451
- 9 Volfson E.N., Enzyme Microb. Technol., 1991, 13: 123-126
- 10 Toba T., Hayasaka I., Taguchi S., et al. J. Sci. Food Agric., 1990, 52: 403-407
- 11 Yacukaul. Bioprocessing Technology & Technical Insights .USA, 1989. 232-235
- 12 Kamal A., Rso M. V. J. Chem. Soc. Perkin I, 1990, 10:2775-2778
- 13 刘建国, 丛威, 徐晓震, 等. 无锡轻工大学学报, 1999, 8(6):32-35
- 14 Yasuko Takahashi, Fumie Miki and Kazako Nagose. Bull. Chem. Soc. Japan, 1995, 68:1851-1857
- 15 Isono Yoshinobu, Kumagai Takehisa, Watanabe Toshiyuki. Korea J. Chem. Eng., 1994, 11(3): 178-184

BIOEFFECT OF ULTRASONIC WAVE AND ITS APPLICATION

Wang Qian Zhao Bing Wang Yuchun

(Institute of Chemical Metallurgy, Chinese Academy of Sciences,

State Key Laboratory of Biochemical Engineering, Beijing 100080, China)

Abstract The bioeffect mechanism and the application of ultrasonic wave in biotechnology were summarized. Due to its strong points, such as high efficiency, easy operation and simple construction, ultrasonic wave technology has attracting prospect.

Key words Ultrasonic Wave, Bioeffect, Biotechnology

短梗霉多糖在气升式和机械搅拌式反应器中 发酵特性的研究

康瑞娟 蔡昭铃 杨守志

中国科学院化工冶金研究所生化工程国家重点实验室

摘要: 在 3m^3 内环流气升式发酵罐和机械搅拌罐中进行了出芽短梗霉的培养, 研究了不同操作条件对短梗霉多糖产率和碳源转化率的影响。通过对实验结果的比较, 证明多段提升管的气升式发酵罐与传统的机械搅拌罐相比有较显著的优势, 适宜于高粘度介质的培养。

1 前言

短梗霉多糖 (Pullulan) 是由出芽短梗霉 (*Aureobasidium Pullulan*) 产生的一种胞外多糖, 其结构为 α -1,6 糖苷键联结的聚麦芽三糖, 具有独特的物理化学和生物学性质, 在医药、食品、化妆品、包装和粘结等方面有广泛的用途, 是一种多功能的新型工业材料^[1]。

出芽短梗霉在发酵过程中, 由于菌丝体的繁殖、生长, 多糖的合成和积累, 使发酵液由最初的牛顿型流体转变为高粘性的非牛顿型流体, 导致反应器内的混合、传热和供氧困难, 使传统的机械搅拌罐的效率大大降低。因此, 研制适用于高粘度培养物的高效、节能的发酵反应器是微生物多糖实现工业化的关键。

本文在自行研制的 3M^3 气升式发酵罐中进行了出芽短梗霉的培养实验, 并与相同体积传统机械搅拌罐的结果进行了比较。

2 材料与方法

2.1 菌种: 出芽短梗霉 (*Aureobasidium Pullulan*) AS3.2756, 由中国科学院微生物所菌种保藏中心购入

2.2 培养基成分 (g/L): 蔗糖 50, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.4, NaCl 1, 酵母膏 2, KH_2PO_4 2, 自然 pH。

2.3 仪器与设备

3m^3 气升式发酵罐为多段提升、内环流式反应器, 罐外由两段换热夹套, 罐体直径为 600mm, 高 8000mm, 上方设有直径为 800mm, 高 1600mm 的气液分离段。罐内提升管 400mm, 分若干段, 每段之间由联结杆相连, 提升管上方设有挡帽, 以减少飞溅和排气的雾沫夹带。反应器底部为一组气体分布器, 上下两端都设有 pH、温度和溶氧在线测控装置。整个发酵罐由不锈钢制作。气升式发酵罐的结构见图 1。

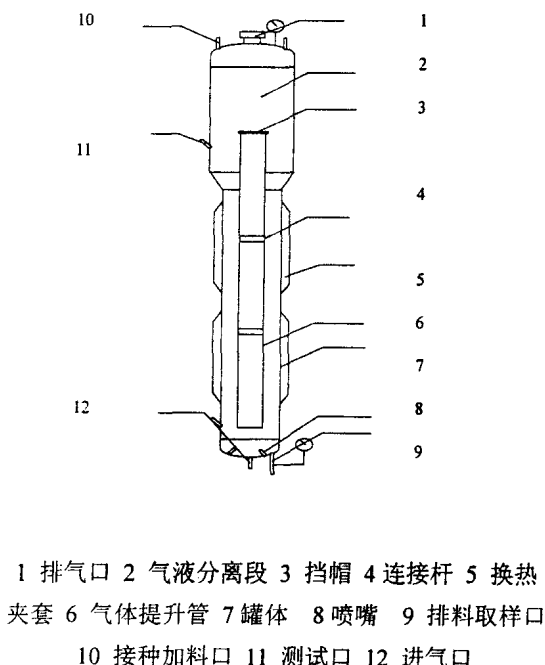


Fig.1 Diagram of airlift bioreactor

图 1 气升式发酵罐结构图

机械搅拌罐, 罐体高 2500mm, 直径 1400mm, 内装两层六叶透平浆搅拌器, 周边设有垂直挡板。搅拌器电机功率为 13 千瓦。

SZX-B 水浴振荡器, 哈尔滨东方电控开关厂

LD5-2A 电动离心机, 北京医用离心机厂

2.4 分析方法

菌体浓度: 称重法

多糖及总糖测定: 蒽酮法^[2]

3 结果与讨论

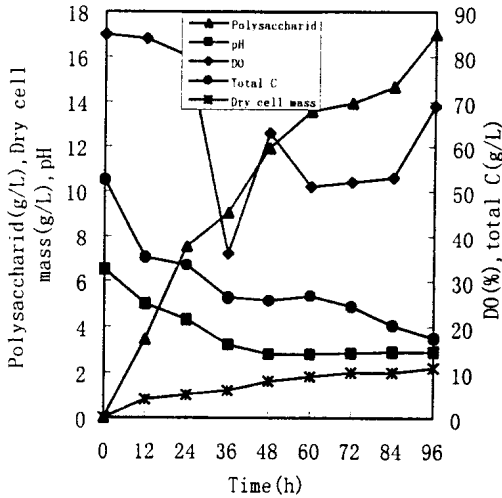


Fig.2 Growth parameters of Aureobasidium Pullulan in stirred tank

图 2 出芽短梗霉在搅拌罐中发酵时的参数变化

3.1 出芽短梗霉在 10L 搅拌罐中培养过程中的参数变化

实验考察了出芽短梗霉在搅拌罐发酵过程中各参数随时间的变化, 一组典型的结果见图 1, 发酵温度为 28℃, 通气量为 1vvm, 搅拌速率为 400r/min。

从图中可以看出, 发酵液 pH 值从发酵一开始便迅速下降, 至 36 小时达到最小值, 之后略有回升。同时总糖浓度急剧下降, 多糖浓度则同步上升。说明多糖的产生没有明显的诱导期, 发酵开始作为底物的蔗糖就被利用。菌体的生长呈平稳的上升趋势, 没有明显的延迟期。约 48 小时后进入稳定生长期, 各种参数的变化趋于平缓。

3.2 通气量对短梗霉多糖发酵的影响

在相同的温度、接种量、罐压及相近的搅拌转速等条件下, 研究了在搅拌罐中不同通气量下的碳源转化率, 结果列于表 1 中。

表 1 通气量变化对碳源转化率的影响

实验号	通气量(v.v.m)	搅拌转速(r/min)	碳源转化率(%)
Sp-01	0.5	300	18.3
Sp-07	0.8	300	22.1
Sp-05	1.0	300	28.3
Sp-09	0.4	400	12.1
Sp-08	0.8	400	29.7

结果表明, 通气量是好氧发酵的重要参数, 增加通气量, 可以使发酵介质有充足的氧供给, 有利于菌体的生长繁殖和多糖的合成。研究表明^[3], 发酵液中多糖的浓度与酵母状细胞所占的百分比成正比, 而酵母状细胞随搅拌速度和溶氧的增加而增加。因此, 在出芽短梗霉的发酵过程中, 维持适当的通气量是必要的。

3.3 出芽短梗霉在 3M³ 气升式罐中培养过程中的参数变化

实验研究了出芽短梗霉在气升式发酵罐中各个参数的变化规律, 一组典型的结果见于图 3。从图中可以看出, 出芽短梗霉细胞在气升式发酵罐中生长时, 各个参数的变化趋势于搅拌罐中相同。但多糖的浓度更高, 溶氧的变化更加剧烈。在发酵前期, 溶氧迅速下降, 到 36 小时后, 下降趋势变缓, 然后开始回升。说明在开始阶段, 菌体的生长繁殖旺盛, 耗氧量高, 随着发酵时间的延续, 发酵液粘度增加, 氧传递速率下降, 细胞得不到充足的氧气, 生长速率降低, 耗氧量减少。

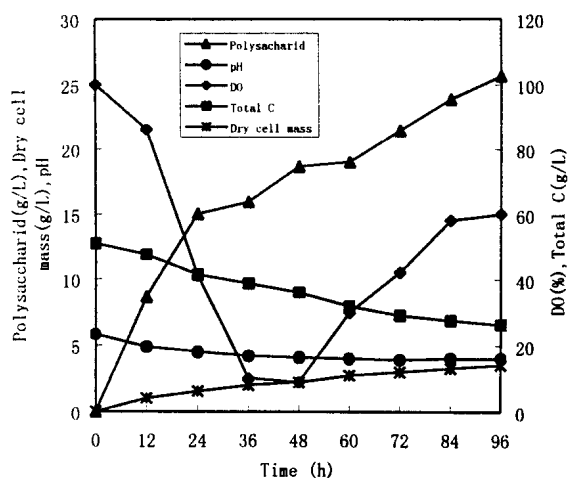


Fig.3 Growth parameters of Aureobasidium Pullulan in airlift bioreactor

图3 出芽短梗霉在气升式发酵罐中的参数变化

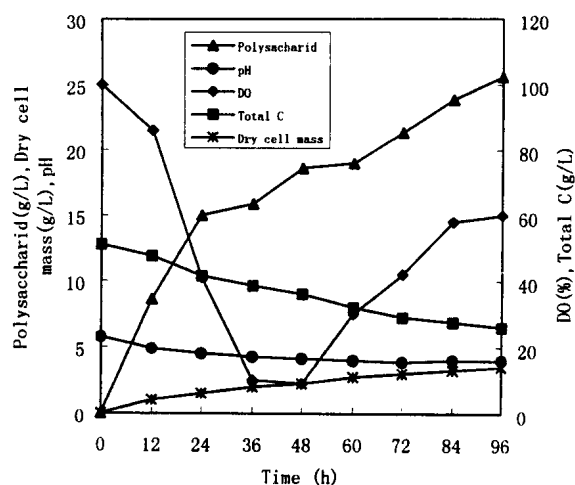


Fig.4 Comparing of carbon source conversional rate in stirred tank and airlift bioreactor

图4 气升式罐和搅拌罐中碳源转化率的比较

3.4 不同反应器对短梗霉多糖发酵的影响

碳源转化率表征底物的利用程度，是衡量菌种优劣，评价反应器性能的最重要的依据之一。在相同或相近的操作条件下，分别进行了多次实验，比较气升式发酵罐和搅拌罐中碳源转化率的差异，一组典型结果示于图4中。

由图中可以看出，在发酵过程的任一阶段，气升式罐的碳源转化率均明显高于搅拌罐相应时期的碳源转化率。这是由于所使用的气升式罐有着更为良好的混合、传热、供氧和适合微生物生长的低剪切力等环境条件。较之搅拌罐更有利于菌体的生长和多糖的合成。

4 结论

比较出芽短梗霉在气升式发酵罐和传统搅拌罐中的发酵结果可以看出，气升式发酵罐由于具有良好的混合、传热、传氧和低剪切力等有利于微生物生长的环境条件，因此较适合于高粘度介质的发酵。在相同的条件下，气升式发酵罐的最终发酵产物的碳源转化率比机械搅拌罐平均提高15%以上，证明本实验所使用的气升式发酵罐是一种适用于高粘度培养物的高效、节能的生物反应器。

参 考 文 献

- 1 Y.Kikuchi, et al, Agr. Biol. Chem. 1973, 37(7):1751-1753
- 2 邱宏伟，中国科学院化工冶金研究所硕士论文，1989
- 3 B. McNeil and B. Kristiansen, Biotechnol. Lett., 1987, 9(2):101-104

谷胱甘肽发酵结构动力学模型*

吴坚平 林建平 岑沛霖**

(浙江大学化工学院生化系, 杭州, 310027)

摘要: 根据谷胱甘肽发酵过程的动力学特性以及酵母合成谷胱甘肽的机理, 建立了一个结构代谢模型, 并通过对间歇发酵过程的拟合得到了模型参数。葡萄糖、乙醇、菌体量和谷胱甘肽等过程变量的模型计算值和实验值能够较好地吻合。

关键词: 谷胱甘肽 动力学 结构代谢模型 间歇发酵

1 前言

国内外在谷胱甘肽的发酵动力学模型方面所作的研究很少, 只有 Shimizu 等^[1]把菌体比生长速率和谷胱甘肽比生产速率关联起来, 用简单的非结构模型描述了谷胱甘肽的发酵过程, 并在流加发酵中对发酵过程进行了优化。Bauer 等^[2]对加入半胱氨酸的谷胱甘肽发酵进行了研究, 建立了谷胱甘肽生产速率和半胱氨酸浓度和谷胱甘肽浓度的关联式。

本文试图在间歇发酵实验的基础上, 根据谷胱甘肽合成的机理, 通过对酵母体内的 ATP 进行平衡, 提出一个能够较好描述发酵过程的数学模型, 并利用这个模型对谷胱甘肽的间歇发酵过程进行模拟。

2 材料和方法

2.1 菌种: 产朊假丝酵母(*Candida utilis*)B10, 谷胱甘肽积累株。

2.2 培养基组成、培养条件和分析方法: 见参考文献[3]。

3 结构代谢模型的建立

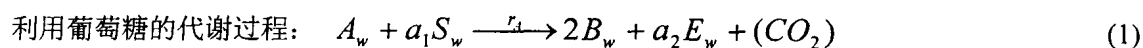
3.1 代谢模型

根据菌体和底物的变化规律, 我们就对由 Bijkkerk 等^[4]和 Pamment 等^[5]首先提出的代谢模型(Metabolic model)进行了改进, 用来对发酵过程进行模拟。

模型有以下假设:

1. 不考虑分离的, 单个的细胞。
2. 限制性底物为葡萄糖(S)和乙醇(E), 同时被用作碳源和能量的来源。
3. 生物质由两部分组成, A 和 B。
4. A 物质负责底物的摄入和能量的产生, B 物质负责细胞的复制和分裂。
5. 在能量的积累和代谢过程进行中, A 物质转化成 B 物质。
6. 在细胞的分裂中, B 物质转化成 A 物质。
7. 在各个代谢和合成过程中所需要的酶的产生没有考虑, 都认为是即时能够获得的。
8. 在发酵与呼吸过程中产生的 ATP 完全用于细胞生长、维持能及谷胱甘肽合成, 在胞内没有积累。

由此我们可以认为发酵过程是以以下方式进行的:



* 国家自然科学基金资助项目 编号:No.29576260

** 通讯联系人

利用乙醇的细胞生长和呼吸过程: $(O_2) + A_w + a_3 E_w \xrightarrow{r_B} 2B_w + (CO_2)$ (2)

细胞分裂: $B_w \xrightarrow{r_C} A_w$ (3)

其中总生物量 $X = A_w + B_w$, 下标 w 表示在式中变量是质量单位, 其他为摩尔单位。

假设分裂过程服从一级反应动力学, 呼吸和发酵遵循 Monod 动力学。反应速率表达式如下所示:

$$r_A = \frac{k_1 A_w S_w}{K_S + S_w} \quad (4)$$

$$r_B = \frac{k_2 A_w E_w}{K_E + E_w} \quad (5)$$

$$r_C = KB_w \quad (6)$$

由物料平衡可以得到过程变量 A_w , B_w , E_w , S_w 等的反应速率方程。

对发酵: $Y_{X/S} = 0.15 \text{ g cells/g glucose} = 1/a_1$ 所以 $a_1 = 6.67$

对呼吸: $Y_{X/E} = 0.45 \text{ g cells/g ethanol} = 1/a_3$ 所以 $a_3 = 2.22$

假设葡萄糖中的碳只生成细胞物质、乙醇和 CO_2 , 细胞物质中的碳含量为 0.48g 碳/g 细胞, 而乙醇和 CO_2 的产生是等摩尔的, 通过化学计量就可以算出 $a_2 = 2.80$ 。

3.2 谷胱甘肽合成模型

根据谷胱甘肽的合成机理, 酵母体内谷胱甘肽的合成是消耗 ATP 的, 每合成一摩尔的谷胱甘肽需要两摩尔的 ATP。在式(1)和(2)中, 碳源除了供应菌体生长合成细胞物质及合成代谢产物所需的碳分子外, 其余部分都进行能量代谢, 产生 ATP 和 NADH。NADH 在呼吸链的作用下氧化产生 ATP。下面将对 ATP 和 NADH 进行衡算。

一摩尔的葡萄糖发酵可以得到两摩尔的乙醇, 同时产生两摩尔的 ATP。所以式(1)中 ATP 的产生速率为 $2.8/46 r_A = 0.0608695 r_A \text{ mol/l} \cdot \text{hr}^{-1}$

为简化模型, 假设乙醇同化时, 产生乙醇时的所有反应步骤都是完全可逆的, 乙醇生成丙酮酸, 然后被完全氧化, 部分丙酮酸生成葡萄糖, 合成菌体。当然实际情况并非如此。

从式(2)可知每生成 1g 菌体, 需要 1.2g 葡萄糖, 假设葡萄糖由乙醇通过可逆反应生成, 由此可以计算出要消耗 0.01333mol 乙醇和 0.01333mol ATP。一摩尔乙醇被完全氧化可以产生一摩尔 ATP 和六摩尔 NADH, 因此其余的乙醇被完全氧化可以生成 0.03493mol ATP, 以及 0.20958mol NADH。所以 ATP 的产生速率为 $0.0216 r_B \text{ mol/l} \cdot \text{hr}^{-1}$, NADH 的产生速率为 $0.20958 r_B \text{ mol/l} \cdot \text{hr}^{-1}$ 。

$$\frac{d(NADH)}{dt} = (0.20958 r_B - k_4 A_w - k_5 B_w - k_6 r_A - k_7 r_B - r_{NAD}) / (A_w + B_w) \quad (7)$$

$$\begin{aligned} \frac{d(ATP)}{dt} = & (0.06087 r_A + 0.0216 r_B + k_{p/o} r_{NAD} - Y_{ATP,A} r_A - Y_{ATP,B} r_B - m_{ATP,A} A_w \\ & - m_{ATP,B} B_w - 2 \frac{d(GSH)}{dt} - k_8 A_w - k_9 B_w) / (A_w + B_w) \end{aligned} \quad (8)$$