

生物反应过程检测 与控制

赵寿经 梁彦龙 主编



化学工业出版社

014032893

TQ033
07

生物反应过程 检测与控制

SHENGWU FANYING GUOCHENG
JIANCE YU KONGZHI

赵寿经 梁彦龙 主编



TQ033
07



化学工业出版社



北航

C1721117

308580510

图书在版编目 (CIP) 数据

生物反应过程检测与控制/赵寿经, 梁彦龙主编. —北京: 化学工业出版社, 2014. 2
ISBN 978-7-122-19408-4

I. ①生… II. ①赵… ②梁… III. ①生物化学-化学反应工程 IV. ①TQ033

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 001101 号

SHENGWU FANYING GUOCHENG
JIANCE YU KONGZHI

主编 赵寿经 梁彦龙



责任编辑: 邵桂林
责任校对: 吴 静

文字编辑: 周 侗
装帧设计: 刘剑宁

出版发行: 化学工业出版社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京市振南印刷有限责任公司

装 订: 三河市宇新装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张 16 $\frac{3}{4}$ 字数 423 千字 2014 年 5 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 85.00 元

版权所有 违者必究

编写人员名单

主 编 赵寿经 梁彦龙
参编人员 陈玉香 徐立新 王雪松

前言

21 世纪以来,生物工业进入了蓬勃发展的时期,生物工业产品种类快速增加,生产规模也逐步扩大。而生物反应过程复杂程度高,影响因素众多。规模化的生产要求对生物反应过程的参数进行检测和控制,以达到优化生产的目的。相应的,在这一领域的研究也逐步增多,从而形成生物反应过程检测与控制这门学科。这门学科主要涉及在生物反应过程中需要控制的参数的检测及优化控制方面的知识。

尽管生物工业有了很大的发展,但生物工程专业相关的工程类教材相对匮乏,特别是生物反应过程参数的检测与控制方面的教材,而生物反应过程的检测与控制对于现代生物工业生产来说相当重要。我们在开设生物反应过程测控技术这门课程过程中,查阅了国内外相关文献,编写了本书。希望能满足生物工程及相关专业的教学需求。

本书以生物反应过程需要检测控制的重要参数为主线,基于生物代谢调节规律,阐述了这些参数的检测方法、仪器及原理,以及基于参数检测的生物反应过程优化控制的方法原理。由于生物反应过程中化学参数的检测多用到电化学分析原理,本书也对电化学分析原理做了简明扼要的论述。同时,参考了新的文献,力图反映该领域最新的发展成果。

全书共分 8 章。第 1 章绪论,对本学科的产生发展和课程内容做简要介绍;第 2 章论述了主要物理参数的检测,主要包括温度、压力、液位、流量、发酵液黏度及搅拌转速功率;第 3 章在论述电化学分析原理的基础上,对主要的化学参数的检测进行了论述;第 4 章介绍了生物参数的软测量方面的知识和生物反应液成分检测方面的进展;第 5 章为生物传感器方面的知识;第 6 章为生物细胞代谢调节;第 7 章主要论述生物反应过程的控制;第 8 章介绍了计算机系统在生物反应控制过程中的应用。

本书由赵寿经、梁彦龙主编,参加本书编写的还有陈玉香、徐立新、王雪松。本书是在吉林大学优秀研究生教材项目和吉林大学本科“十二五”规划教材项目的资助下进行编写的,得到了吉林大学有关部门和领导的大力支持,在此一并表示感谢!

编 者

目 录

第 1 章 绪论	1
1.1 生物反应过程的概念、内容和特点	1
1.1.1 生物反应过程的概念	1
1.1.2 生物反应过程的内容	1
1.1.3 生物反应过程的特点	2
1.2 生物反应过程测控技术的含义、目的和任务	2
1.2.1 生物反应过程测控技术的含义	2
1.2.2 过程检测与调控的目的和任务	3
1.3 生物反应过程参数检测概述	3
1.3.1 物理参数	3
1.3.2 化学参数	4
1.3.3 生物参数	4
1.4 细胞的代谢调节概述	6
1.4.1 代谢调节机制	7
1.4.2 初级代谢物的调节	7
1.4.3 次级代谢物的调节	7
1.5 生物反应过程控制概述	8
1.5.1 过程控制的主要内容	8
1.5.2 控制系统概述	9
1.6 计算机在生物反应过程控制中的应用	11
1.6.1 生物反应过程状态估计	11
1.6.2 生物反应过程直接数字控制 (DDC)	12
1.6.3 生物反应过程优化控制	12
第 2 章 物理参数的检测	14
2.1 反应过程参数检测方式与传感器	14
2.1.1 检测方式及原理	14
2.1.2 检测用传感器种类及特性	16
2.2 温度的测量	18
2.2.1 热电势式测温元件	18
2.2.2 热电阻式测温元件	21
2.2.3 温度的测量、显示和记录	23
2.3 压力和液位的测量	25
2.3.1 压力测量原理	25
2.3.2 波登 (Bourdon) 管式压力传感器	26
2.3.3 波纹管式压力传感器	27

2.3.4	膜式压力传感器	28
2.3.5	电阻应变片	29
2.3.6	压力测量	30
2.3.7	液位和泡沫液位的测量	31
2.4	流量测量	33
2.4.1	流量测量概述	33
2.4.2	差压式流量计	34
2.4.3	转子流量计	35
2.4.4	电磁流量计	38
2.5	发酵液黏度及搅拌参数的检测	39
2.5.1	发酵液黏度的检测	39
2.5.2	搅拌转速和搅拌功率的检测	40
第3章	化学参数的检测	41
3.1	电化学分析	41
3.1.1	电化学分析法基本原理	41
3.1.2	电化学分析的分类	43
3.1.3	主要电化学分析方法原理	44
3.1.4	扩散电流理论	59
3.1.5	电化学分析的特点及应用	60
3.2	pH 测量概述	61
3.2.1	pH 测量的目的	61
3.2.2	pH 测量所需电极	62
3.2.3	pH 测量系统	64
3.3	pH 测量的基础理论	65
3.3.1	电势测量原理	65
3.3.2	pH 测量系统电势	66
3.3.3	pH 值的定义	68
3.3.4	活度与浓度的关系	69
3.3.5	缓冲液	70
3.3.6	pH 与温度的关系	71
3.3.7	信号处理	73
3.4	pH 测量方法	74
3.4.1	pH 测量的一般原则	74
3.4.2	生物工厂的 pH 测量	75
3.4.3	信号处理和环境影响	76
3.4.4	pH 电极的标定	76
3.4.5	电极的维护	77
3.4.6	温度补偿	78
3.5	pH 测量应用示例	79
3.5.1	实验室中 pH 测量	79

3.5.2	生物工厂 pH 连续测量	80
3.6	溶解氧的测量	81
3.6.1	溶解氧电极	81
3.6.2	溶解氧电极构造	82
3.6.3	溶解氧电极技术特性	83
3.6.4	溶解氧电极电流放大器	84
3.6.5	溶解氧测量系统的校验	85
3.7	溶解氧测量与维护	86
第 4 章	生物反应液生物参数的检测与估算	87
4.1	生物反应过程数据采集和滤波	87
4.1.1	过程数据采集和处理	87
4.1.2	简单数字滤波法	87
4.2	呼吸代谢的测量及有关算法	90
4.2.1	氧利用率	90
4.2.2	二氧化碳释放速率	91
4.2.3	呼吸商	93
4.2.4	呼吸代谢参数与生物参数的关系	93
4.3	依据发酵热和物料平衡进行估计的方法	95
4.3.1	发酵热的测量	95
4.3.2	发酵热与动力学参数的关系	96
4.3.3	基于化学元素平衡方法来估计生物参数	96
4.4	青霉素发酵过程生物质浓度在线估计实例	98
4.4.1	估计算法推导	98
4.4.2	数据采集和计算方法	100
4.5	细胞浓度测定	101
4.5.1	全细胞浓度的测定	101
4.5.2	活细胞浓度测定	102
4.6	生物反应液成分分析	103
4.6.1	原位在线检测的技术	103
4.6.2	非原位在线检测技术	104
4.6.3	各检测技术的应用前景分析	105
第 5 章	参数检测中的生物传感器及流程分析仪	107
5.1	生物传感器的类型及其结构原理	107
5.1.1	酶电极	108
5.1.2	微生物电极	110
5.1.3	免疫电极	113
5.1.4	生物传感器的换能器件	114
5.2	生物传感器在检测过程中的应用	117
5.2.1	在微生物发酵中的应用	117
5.2.2	动物细胞培养的检测	120

5.2.3	植物细胞培养的检测	120
5.3	生产流程分析仪	120
5.3.1	红外气体分析仪	121
5.3.2	氧分析仪	124
5.3.3	反应过程新型检测技术	126
第6章	生物细胞的代谢调节	130
6.1	生物细胞的代谢调节特点	130
6.2	生物细胞代谢调控机制	130
6.2.1	酶活性的调节	131
6.2.2	酶合成的调节	135
6.3	微生物次级代谢与调节	150
6.3.1	微生物次级代谢的特征	150
6.3.2	次级代谢产物的类型	151
6.3.3	次级代谢物生物合成原理	152
6.4	微生物次级代谢作用的调控	154
6.4.1	微生物的次级代谢与其生命活动的关系	155
6.4.2	次级代谢产物生物合成的调节与控制	156
6.4.3	基因工程在提高生产性能上的应用	166
第7章	生物反应过程的控制	170
7.1	生物反应过程控制的简介	170
7.2	微生物发酵过程的代谢变化规律	171
7.2.1	分批发酵	171
7.2.2	补料分批发酵	173
7.2.3	连续发酵	174
7.3	温度对发酵的影响及其控制	174
7.3.1	影响发酵温度的因素	175
7.3.2	温度对微生物生长的影响	176
7.3.3	温度对发酵的影响	178
7.3.4	最适温度的选择	179
7.3.5	发酵过程温度控制	180
7.4	溶解氧浓度对发酵的影响及其监控	181
7.4.1	微生物对氧利用的规律	182
7.4.2	溶解氧作为发酵异常情况的指示	184
7.4.3	溶解氧作为发酵中间控制的手段之一	186
7.4.4	氧供需与产物形成	187
7.4.5	发酵液中的溶解氧控制	189
7.5	pH值对发酵过程的影响及控制	191
7.5.1	pH值对发酵过程的影响	191
7.5.2	最合适pH值的选择	192
7.5.3	pH的控制	194

7.6	二氧化碳和呼吸商	196
7.6.1	二氧化碳对发酵的影响	196
7.6.2	呼吸商与发酵的关系	200
7.7	基质浓度对发酵的影响及补料控制	201
7.7.1	基质浓度对发酵的影响	201
7.7.2	补料发酵工艺控制	202
7.8	泡沫控制	210
7.8.1	泡沫的产生及其影响	210
7.8.2	发酵过程中泡沫的消长规律	211
7.8.3	泡沫的控制	212
7.9	发酵罐压力的控制	214
7.10	发酵终点的判断	214
第8章	生物反应过程计算机控制	217
8.1	过程工业与计算机控制	217
8.1.1	过程工业特点	217
8.1.2	数字计算机在过程控制中应用概述	219
8.2	集散型控制系统及接口技术	220
8.2.1	集散型控制系统结构及功能	220
8.2.2	集散型控制系统的发展	222
8.2.3	DCS 的特点	226
8.2.4	过程接口技术	227
8.2.5	工业发酵过程微机控制过程接口	229
8.3	计算机控制中的 PID 控制算法	230
8.3.1	数字式 PID 控制算法	230
8.3.2	改进型的 PID 控制算法	231
8.3.3	DCS 中的 PID 控制算法的实现	233
8.4	间歇生产过程控制	234
8.4.1	程序控制概述	235
8.4.2	程序控制的描述方法	235
8.4.3	可编程序控制器及应用	237
8.5	生物反应过程计算机辅助优化控制设计	241
8.5.1	动力学模型及求解	242
8.5.2	菌体最佳操作浓度的确定	244
8.5.3	最佳稀释速率的确定	245
8.5.4	补料液中基质浓度的确定	246
8.6	计算机在生物反应过程控制中的应用	247
8.6.1	DCS 在青霉素发酵补料过程中的应用	247
8.6.2	谷氨酸发酵过程计算机控制	251
	参考文献	255

第 1 章 绪 论

自 20 世纪 80 年代以来,随着生命科学的兴起,生物工业得到了快速发展,生物工业产品的种类不断增加,生产规模也越来越大,对生物工业的生物反应过程进行检测和优化操作控制变得非常重要。而生物反应过程伴随有生命体的生长增殖,其过程比较复杂,有的过程甚至涉及几百种酶系的参与,而测量生物反应过程参数的传感器又比较匮乏,均给生物反应过程参数检测和控制带来许多困难。随着科研人员在这一领域内不断探索研究,便产生了生物反应过程测控技术这门新兴学科。

在详细论述生物反应过程检测与调控的内容之前,我们有必要先对什么是生物反应过程作一简单介绍。

1.1 生物反应过程的概念、内容和特点

1.1.1 生物反应过程的概念

通常来讲,生物反应过程是指生物技术的实验成果经工艺及工程开发,成为可供工业生产的工艺过程。

生物反应过程本质上是利用生物催化剂进行生物技术产品的生产过程。当过程采用游离的整体微生物活细胞为生物催化剂时,一般称为发酵过程,而当生物催化剂为游离固定化酶时,此过程则称为酶反应过程。另外,还有动植物细胞(组织)培养过程。废水生化处理和从天然生物物质中提取有效成分,也常归属于生物反应过程的范畴。图 1-1 为一般生物反应过程的示意图。

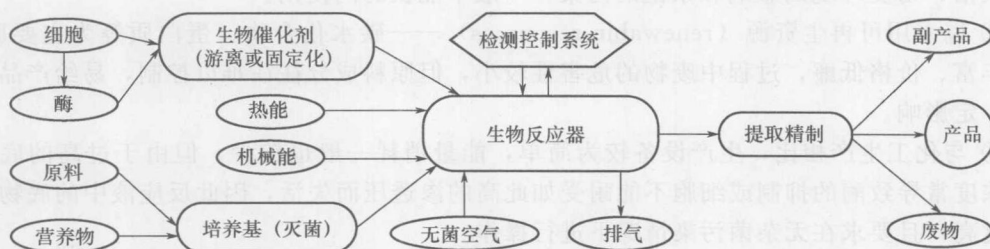


图 1-1 生物反应过程示意图

1.1.2 生物反应过程的内容

生物反应过程通常包括以下四个方面的工作内容。

(1) 原料预处理

原材料的预处理包括原材料的选择,必要的物理、化学方法加工,培养基与底物的配制、灭菌等。

(2) 生物催化剂的制备

在发酵过程中,首先应在传统诱变选育或用现代生物技术手段进行菌种改造的基础上选

择高产、稳产、培养要求不甚苛刻的菌种。在经过多次扩大培养达到足够数量和一定质量后即可作为“种子”接种至发酵罐中。在实际情况下，生物催化剂——微生物细胞的增加和“成熟”在发酵过程的前期以至中期仍在继续进行。在酶反应过程中，加入的酶量及其纯度与底物量和产品要求有关。在采用固定化酶或固定化细胞时，应事先通过合适的固定化技术将酶或细胞加以固定，然后装入酶反应器。

(3) 生物反应器及反应条件的选择

生物反应器是生物反应过程中的中心设备，它应为活细胞或酶提供适宜的反应环境以达到细胞增殖或产品形成的目的。发酵过程的周期一般很长，因此通常采用釜式反应器，实行间歇操作。个别情况（发酵周期短、菌种稳定性高、杂菌污染影响小）也有用多级串联发酵罐组进行连续操作的。对酶反应过程，可选择的反应器类型较多，可根据反应特性（米氏常数的大小、是否存在底物或产物的抑制等）来决定究竟是采用连续釜式还是连续罐式反应器。动、植物细胞培养的反应器基本上进行间歇操作，在要求高密度培养时也可以采用灌注操作（连续注入营养液和排出不含细胞的培养液）。反应条件的选择对生物反应过程来说也是至为重要的。

(4) 产物的分离纯化

这一部分工序也常称为下游加工过程（down stream processing），包括用适当的方法和手段将含量甚少的目的产物从反应液（胞外产物）或细胞中（胞内产物）初步提取出来，然后再用进一步的方法和手段加以精制使之达到最后产品的要求。这些有关方法、手段包括：物理方法（研磨、高压匀浆、过滤、离心、蒸发、干燥等），物理化学方法（冻融、透析、超滤、反透析、絮凝、萃取、吸附、色谱、蒸馏、电泳、等电点沉淀、盐析、结晶等），化学方法（离子交换、化学沉淀等），生物方法（亲和色谱、免疫色谱等）。

1.1.3 生物反应过程的特点

生物反应过程一般具有以下特点。

① 由于采用生物催化剂，反应过程在常温常压下进行，且可运用 DNA 重组技术及原生质体融合等现代生物技术组建或改造生物催化剂而提高生物反应过程的潜力，但生物催化剂易于失活，易受环境的影响和杂菌的污染，一般不能长时间使用。

② 以采用可再生资源（renewable resources）——碳水化合物、蛋白质等为主要原料，来源丰富、价格低廉，过程中废物的危害性较小，但原料成分往往难以控制，易给产品质量带来一定影响。

③ 与化工生产相比，生产设备较为简单，能量消耗一般也较少，但由于过高的底物或产物浓度常导致酶的抑制或细胞不能耐受如此高的渗透压而失活，因此反应液中的底物浓度不能过高，且要求在无杂菌污染情况下进行操作。

④ 酶反应过程的专一性强，转化率高，发酵过程成本低，应用广，但反应机理复杂，较难控制，反应液中杂质较多，给提取纯化带来困难。

1.2 生物反应过程测控技术的含义、目的和任务

1.2.1 生物反应过程测控技术的含义

由上述生物反应过程的内容和特点不难看出，生物反应过程的复杂性。生物产品的生产水平不仅取决于微生物或动、植物细胞本身的性能，而且要在合适的环境条件下才能使生产能力充分表达出来。因此，为了使生物产品的生产达到稳产、高产，降低原材料消耗，节省

能源和劳动力,防止事故发生,实现安全生产,在工程上,只有通过各种参数检测(自动或手工),对生产过程进行定性和定量的描述,才能进而对过程进行控制,并在工业生产上得到推广和应用。

所以,顾名思义,生物反应过程测控技术是研究生物反应过程中如何对有关参数进行检测,同时结合生物细胞的代谢特点对生物反应过程进行调节、控制的一门科学。

生物反应过程的检测是利用各种传感器及其他检测手段对反应过程中各种参数进行测量,并通过光电转换等技术用二次仪表显示或通过计算机处理打印出来。当然,除了用仪器检测外,最古老的方法是通过人工取样进行化验分析,获得反应系统的有关参数的信息。生物反应过程参数的特征具多样性、时变性,且变化规律也不是一成不变的,属于非线性系统。

生物反应过程的调控是根据对过程参数的有效检测和对过程代谢变化规律的认识,借助于由仪表或计算机组成的控制器,通过控制生物反应过程的关键变量,达到调控反应过程的目的。

1.2.2 过程检测与调控的目的和任务

生物反应过程检测的目的是为了提供对生物反应有影响的信息,便于对过程进行适当的控制。而调控的目的在于创造良好的条件,使生物催化剂处于高效的催化活性状态,以使所进行的生物反应高速、高效、高收率,从而降低原材料和能量消耗,同时保证产品质量。

在生物反应过程及反应器的检测控制中,首先要明确下述几点:

- ① 进行检测的目的;
- ② 有多少必须检测的状态参数,这些参变量能否测量出来;
- ③ 能测定的参数可否在线检测,其响应滞后是否太大;
- ④ 从状态参数的检测结果,如何判断该生物反应器及生物细胞本身的状态;
- ⑤ 反应系统中需控制的主要参数是什么,这些需控制的参数与生物反应效能如何相关对应。

1.3 生物反应过程参数检测概述

生物反应过程属于开放系统,生物不断从外界环境中摄取物质进入细胞,通过一系列的生化反应获得生存所需的能量与活体材料,并把代谢废物排出体外。过程检测只能是环境中的状态或操作量的变化值,通过进一步分析,可得到反映细胞水平的生命变化的信息。

工业上细胞培养操作多以分批操作形式进行,随着细胞生长和代谢过程的变化,各种测量参数随时间而变化,因而有必要在计算机辅助下对过程进行综合研究或控制。对于生物反应过程的操作,以前是凭着人们的实践经验来进行的。由于缺乏生物反应过程参数的测量、监视和控制系统,使产品的生产效率降低,质量难以保证。为此,对生物反应过程实行优化操作与控制,首先要解决生物反应过程有关参数的在线测量问题。一般的耗氧型生物反应系统及主要参数如图 1-2 所示。

按照参数的性质特点,生物反应过程参数一般分为三大类:物理参数、化学参数和生物参数。这些参数可以通过传感器或其他检测系统以各种方式把非电量变化转换成电量变化,这样就能很方便地通过二次仪表显示,记录或送电子计算机处理和控制。

1.3.1 物理参数

物理参数常有生物反应器温度(t)、生物反应器压力(p)、生物反应器体积(V)、空

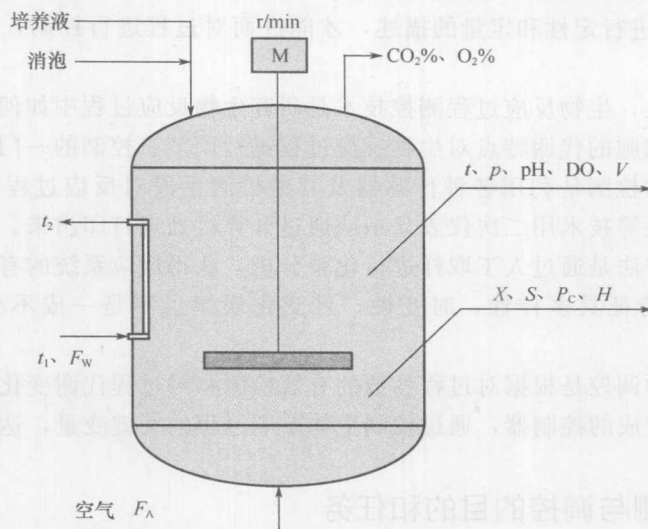


图 1-2 耗氧型生物反应系统

气流量 (F_A)、冷却水流量 (F_W)、冷却水进出口温度 (t_1 和 t_2)、搅拌电动机转速 (r/min)、搅拌电动机电流 (I) 和泡沫高度 (H) 等。这些物理参数，根据不同种类的生物反应要求，都可以选择性地选用有关测量仪表来实现自动测量。

1.3.2 化学参数

反应过程典型的化学参数有 pH 值和溶解氧 (DO) 浓度两个参数。对于微生物 (或动、植物细胞) 的生长，代谢产物的形成极为重要。过去，由于缺乏耐消毒的能进行无菌操作的 pH 电极和溶解氧 (DO) 电极，无法做到在线实时测量。目前，已有成熟的 pH 和溶解氧测量电极可供使用。

1.3.3 生物参数

生物参数通常包括生物呼吸代谢参数、生物质浓度、代谢产物浓度、底物浓度，以及生物比生长速率、底物消耗速率和产物形成速率等。

关于生物参数，无论是国内还是国外，在工业生产中实时在线的测量仪表都很少。正是由于这种原因，使得生物反应过程的控制比一般的工业生产过程难度更大。

(1) 呼吸代谢参数的测量

微生物 (或动、植物细胞) 的呼吸代谢参数通常有三个，即氧利用速率 (OUR)、二氧化碳释放速率 (CER) 和呼吸商 (RQ)。这三个参数的测量，可以基于生物反应器系统气相物料平衡计算出来，如图 1-3 所示，要测量呼吸代谢参数，必须测量反应液体积、空气流量、排出气体氧含量和二氧化碳的含量。假设流出反应器的气体流量与空气流入量相等，空气中氧含量为 21%，二氧化碳的浓度为零，测量到排出气体的氧含量

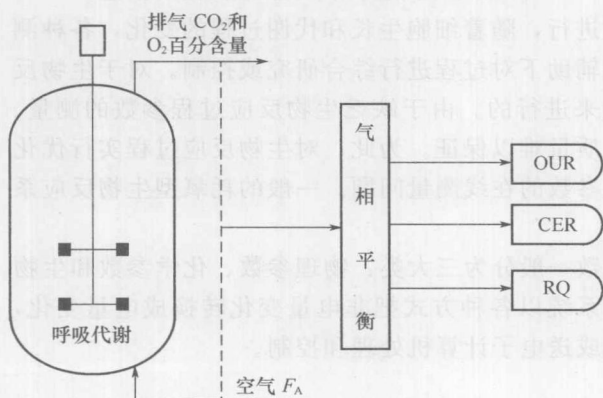


图 1-3 生物反应系统气相物料平衡



为 $O_{2出}\%$ ，二氧化碳的含量为 $CO_{2出}\%$ ，由气相物料平衡计算可得如下计算公式。

氧利用率 (OUR):

$$r_{O_2} = OUR = (21\% - O_{2出}\%) \times F_A / V \quad (1-1)$$

二氧化碳释放速率 (CER):

$$r_{CO_2} = CER = CO_{2出}\% \times F_A / V \quad (1-2)$$

呼吸商 (RQ):

$$RQ = \frac{r_{O_2}}{r_{CO_2}} = (21\% - O_{2出}\%) / CO_{2出}\% \quad (1-3)$$

式中 F_A ——空气流量, m^3/min ;

V ——反应液体积, m^3 。

(2) 发酵热的测量

微生物 (或动、植物细胞) 发酵热, 从某种意义上说, 它间接反映了微生物生长过程的细胞浓度和生产速率。因此, 通过测量发酵热, 就可以了解生物生长状态。假设生物反应器内温度保持恒定所产生的微生物发酵热都由维持生物反应器温度恒定的冷却水带走。同时, 假设生物反应器保温很好, 没有热损失; 由搅拌引起的搅拌热为 Q_0 , 并且认为其在生物反应过程中为不变的常数。这样可得到生物反应器的热量平衡算式:

$$Q_{发酵} + Q_0 = Q_{冷却} \quad (1-4)$$

$$Q_{发酵} = Q_{冷却} - Q_0 \quad (1-5)$$

即:

$$Q_{冷却} = F_W c (t_2 - t_1) \quad (1-6)$$

式中 $Q_{发酵}$ ——微生物发酵热, $kcal^{\text{①}}/min$;

Q_0 ——搅拌热, $kcal/min$;

$Q_{冷却}$ ——冷却水所带走的热量, $kcal/min$;

F_W ——冷却水流量, m^3/min ;

c ——水的比热容, $kcal/(m^3 \cdot ^\circ C)$;

t_2 ——冷却水出口温度, $^\circ C$;

t_1 ——冷却水入口温度, $^\circ C$ 。

这样, 只要测量出冷却水流量和它的进出口温度, 就可以粗略知道发酵热的变化。

(3) 生物质、基质和生物参数

在生物反应动力学研究以及生产过程中通常采用的生物学参数如下。

① 菌体干重 (或菌体浓度) 生物反应过程都是通过菌体的各种酶来促使反应进行的, 而菌体的浓度与酶的活动密切相关。通过菌体干重的测定, 可以了解生物的生长状态, 从而控制和改变生产工艺或补料和供氧, 保证达到好的生产水平。

② 菌体比生长速率 (μ) 每小时每单位重量的菌体所增加的菌体量称为菌体比生长速率, 单位为 h^{-1} 。菌体比生长速率与生物的代谢有关。例如, 在抗生素合成阶段, 若比生长速率过大, 菌体量增加过多, 代谢向菌体合成的方向发展, 这不利于合成抗生素。菌体比生长速率是生化反应动力学中的一个重要参数。

③ 氧比消耗速率 (r_{O_2}) 氧比消耗速率称为菌体的呼吸强度, 即每小时每单位重量的菌体所消耗氧的数量, 其单位为 $mg \text{ 分子氧}/(g \text{ 干菌体} \cdot h)$ 。例如, 在抗生素生产过程中, 根据抗生素比生长速率与氧比消耗速率的关系, 可以求得菌体最适当的氧比消耗速率。

① $1kcal=4.1840kJ$ 。

④ 糖比消耗速率 (r_c) 每小时每单位重量的菌体所消耗的糖的数量称为糖比消耗速率, 其单位是 $\text{g (或 mg) 分子糖} / (\text{g 干菌体} \cdot \text{h})$ 。若已知菌体的重量, 就可计算出单位时间内所消耗的糖量, 从而决定补糖量。

⑤ 氮比消耗速率 (r_N) 每小时每单位重量的菌体所消耗的氮 ($\text{NH}_2\text{-N}$ 或 $\text{NH}_3\text{-N}$) 的数量, 其单位是 $\text{g (NH}_2\text{-N 或 NH}_3\text{-N)} / (\text{g 干菌体} \cdot \text{h})$ 。同样, 若已知菌体的重量, 就可以计算出单位时间所消耗的 $\text{NH}_2\text{-N}$ 或 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的量, 从而可以决定补氮量 (或补氮速率)。

⑥ 产品比形成速率 (r_P) 每小时每单位重量的菌体所产生的产品量称为产品比形成速率, 其单位是 $\text{g 产品} / (\text{g 干菌体} \cdot \text{h})$ 。它是生化反应的重要参数, 衡量产品形成的速率。例如在抗生素发酵过程中, 若抗生素 (产品) 的最大比形成速率愈高, 维持的时间愈长, 则生产的抗生素愈多。

⑦ 菌体形态 在生物反应过程中, 菌体形态的变化也是反映它的代谢变化的重要特征。可以根据菌体的形态不同, 区分出不同的发酵阶段和菌体的质量。

在一个实际的生物反应生产过程中, 其菌体干重 (或菌体浓度)、菌体比生长速率、氧比消耗速率、糖比消耗速率、氮比消耗速率和产品比形成速率是反映生化反应过程状态的重要特征参数, 也是用来控制生化反应过程如何决定补料、供氧的重要依据。

就目前来说, 还没有可以在工业生产上实用的在线测量仪器测量这些参数。在试验室中, 已用质谱仪和核磁共振分析仪来测量反应液体中各种物质的浓度。正在研究的测量方法是利用生物传感器来测量生物质、底物和产物浓度。所以, 在工业生产上, 这些参数的测量大都基于取出反应液样品到实验室采用化学分析方法或借用如 HPLC 仪器来分析。由于分析一个样品要很长的时间, 大多数是 4h 或 8h 取样分析一次, 这对于实时控制来说, 很难利用这些数据来进行实时控制。

1.4 细胞的代谢调节概述

细胞的生长过程是由产能与生物合成中各种代谢途径相互协调来维持的。每一条途径均由一些特有的酶催化的反应组成, 这些反应的综合结果就产生了新的细胞。生命体要在自然界竞争成功, 就要求生长迅速、适应环境和高效率。因此, 细胞必须平衡每一代谢途径中各反应的速率和流向各种途径的通量。生物能够利用其代谢机制作定量调节以响应外界环境变化。

研究细胞的调节作用, 除了具有较高的学术意义外, 更重要的是它的生产实践价值。例如: 在微生物工业上, 利用高产菌株发酵生产廉价的必需氨基酸——赖氨酸等, 都是根据生产上的需求, 对代谢途径加以控制的结果。

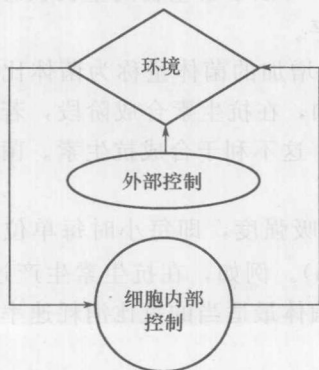


图 1-4 外部控制与细胞内部生化反应的关系

实际上, 生物反应过程控制包括两部分内容。一是细胞内部控制, 即如何改变细胞的遗传组成和细胞的代谢生理特性, 另一方面是外部控制, 即营养成分、细胞体及代谢产物在内的细胞生长环境的物理和化学条件的控制, 使过程达到优化。这种外部控制的作用往往通过细胞内部才起作用, 反过来细胞的生长又影响到环境参数的变化, 如图 1-4 所示。所以, 了解细胞内部代谢调节控制机理, 是实现生物反应过程检测与调控的基础。



1.4.1 代谢调节机制

细胞内的调节机制主要有两种：酶合成调节和酶活性调节。两者均由低分子量的化合物介入，这些化合物或者以中间代谢物形式在细胞内形成，或从环境中摄入细胞内。两种调节机制均涉及一类特有蛋白质，称为变构蛋白质。

变构蛋白质可用于控制代谢变化，这种变化是由小分子效应物引起的。当变构蛋白质与这种特殊的小分子结合时，它的性质就会改变。变构蛋白质有两种：一种是变构酶，当与效应物结合，其活性便改变；另一种是调节性变构蛋白质，无催化活力，这种蛋白质连接在细菌染色体结构基因的附近，从而控制基因的表达，以调节酶的合成。

许多化合物代谢所在的部位是受到控制的。微生物细胞受控制的主要部位一般有以下三种：

① 通道 细胞膜对多数亲水分子起一种屏蔽作用，但它具有输送某种化合物的系统。其中有些是需要能量的。

② 通量 在原核生物中有两种控制代谢物通量的方法，即调节现有的酶量（通过增加或减少途径中关键酶的合成或降解速率）和改变已存在的酶分子的活性。

③ 限制基质与酶的接近 在真核生物中基质可存在于分隔的各个代谢库中。这些代谢库位于各种由细胞膜包裹的细胞器内。例如，在链孢霉属中发现精氨酸有两个动力学性质不同的代谢库，一个在细胞质中，另一个在液泡中。这两个地方参与精氨酸代谢的酶量有很大的差别。

1.4.2 初级代谢物的调节

初级代谢物是指一类低分子量的终点产物，包括那些用于建造大分子的材料或转化为辅酶的物质。这些终点产物的生物合成途径中的中间体也属于初级代谢物。其中最为重要的是氨基酸，嘌呤和嘧啶核苷酸，以及维生素。其他初级代谢物包括 EMP 途径、PPP 途径和 TCA 循环的中间体。按这种解释有机酸，如柠檬酸和延胡索酸也被认为是初级代谢物。

绝大多数微生物都有防止过量生产这种初级代谢物的本领，因为过量生产是一种浪费，会降低生物在自然界生存的能力。但是，带有异常调节机制的某些微生物确实有办法得以生存下去。在生产实践中，通过菌种筛选工作，可以筛选出这些微生物的生产菌株。

1.4.3 次级代谢物的调节

次级代谢物也叫做次生代谢物，是某些微生物在生长后期合成的化合物。这些代谢物不是生长所必需的，但可能对生产菌的生存有一定价值。通常它们以多组分的形式存在。最有名的次级代谢物是抗生素，其他包括毒枝菌素和色素等。近年来，由于对次级代谢物的生物合成机制和生产菌的代谢与调节有了一定的认识，所以，对次级代谢产物的发酵调节控制规律有了进一步的探索。

现在看来，最初提出的次级代谢物的概念过于简单化。把初级和次级代谢物称为“一般的”和“特殊的”代谢物更妥当些。次级代谢产物又叫分化代谢物，因它们是在分批培养的分化期形成的。次级代谢物包括氨基糖、苯醌、香豆素、环氧化合物、麦角生物碱、戊二酰胺、吲哚衍生物、内酯、核苷、肽、吩嗪、聚乙炔、多烯、吡咯、喹啉、萜烯和四环类抗生素。

次级代谢产物的合成途径比初级代谢物的种类多。尽管途径和最终产物各式各样，大多数次级代谢产物都是由少数关键中间代谢物组装的。

次级代谢的一个重要特征是其代谢产物一般只在生产菌比生长速率降低时才合成。次级代谢受生长速率的影响和个别途径的专一性调节作用的控制。