

## 第三章 细胞反应动力学

# 微生物生产的产品

**发酵食品** (豆酱、酱油、纳豆、酸奶、奶酪、乳酸饮料等)

**酒精饮料** (白酒、啤酒、葡萄酒等)

**菌体** (面包酵母、SCP、绿藻、螺旋藻等)

**有机酸** (醋酸、柠檬酸、乳酸、衣康酸等)

**氨基酸** (谷氨酸、赖氨酸、色氨酸等)

**核酸类物质** (IMP、GMP、XMP等)

**抗生素** (青霉素、头孢霉素、链霉素、氯霉素等)

**油脂及相关化合物** (r-亚油酸、EPA、DHA等)

**具有生理活性的低分子量物质** (维生素类、类固醇激素、赤霉素等)

**高分子物质** (酶、多糖类; 生理活性蛋白; 生物可降解塑料)

**其他**



# 动植物细胞生产的产品

## 用动物细胞生产的产品

红细胞生产素、白细胞介素、G-CSF、单克隆抗体等

## 用植物细胞生产的物质

紫草素类化合物、人参皂苷、紫杉醇等



# 本章主要内容

- 生物反应过程特点和计量学
- 生物反应过程的得率计算
- 底物消耗的质量衡算
- 生长动力学
- 产物生成动力学

**学习目的：**掌握生物反应过程中物质衡算基本方法；明确生物反应过程的得率系数的概念；掌握Monod方程、微生物生长、底物消耗和产物生成以及速率变化规律，了解处理生物反应过程的基本方法。

# **3-1 生物反应过程的特点与计量学**

## **3-1-1 细胞基本概念**

- 1) 细胞的分类与命名**
- 2) 细胞的化学组成**
- 3) 细胞生长特性**

## **3-1-2 细胞反应的特点与影响因素**

- 1) 细胞反应的特点**
- 2) 影响细胞反应的环境因素**

## **3-2 细胞反应过程的计量学**

## 3-1-1 细胞的基本概念

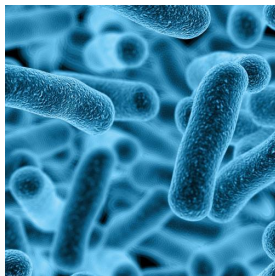
**微生物 (microbe, microorganism) :** 是对那些肉眼不能直接观察到的, 微小的, 但能维持生命并繁殖的生物的通称, 包括细菌、放线菌、变形菌、藻类和原生动物等。

**微生物的分类:** 界 (Kingdom)、门 (phylum)、纲 (Class)、目 (Order)、科 (Family)、属 (Genus)、种 (Species)

**微生物的命名:** “双名法”

**属名:** 大写字母开头, 是拉丁语的名词, 用以描述微生物的主要特征。

**种名:** 小写字母开头, 是拉丁语的形容词, 用于描述微生物的次要特征。





## 3-1-1 细胞的基本概念

例如: *Staphylococcus aureus*

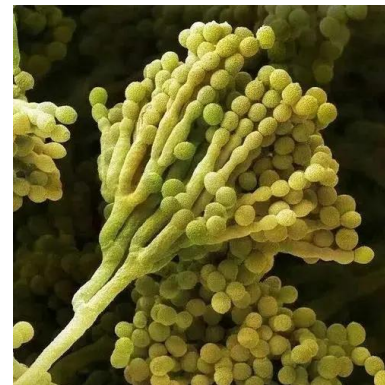
*Staphylococcus* 为属名, 是拉丁语的名词, 意为: “葡萄球菌”  
*aureus* 为种名, 是拉丁语的形容词, 意为 “金黄色”  
——金黄色葡萄球菌



## 3-1-1 细胞的基本概念

**霉菌 (mould, mold) :** 是丝状真菌 (filamentous, fungi) 的一个通俗名称, 在自然界分布很广, 其生长要求的相对温度比细菌低。真菌有核, 呈丝状, 直径一般为 $3-10\text{ }\mu\text{m}$ , 多分枝, 有或无隔膜。

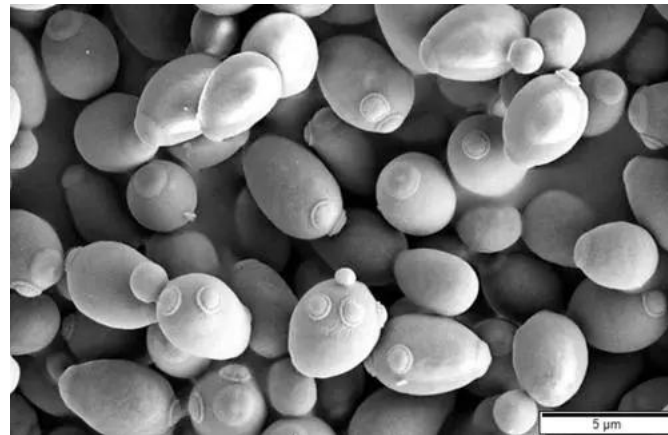
霉菌多为腐生菌, 也有少数寄生于动物或植物体内。它们具有广泛的降解和合成能力, 是发酵生产某些重要物质的主力军。





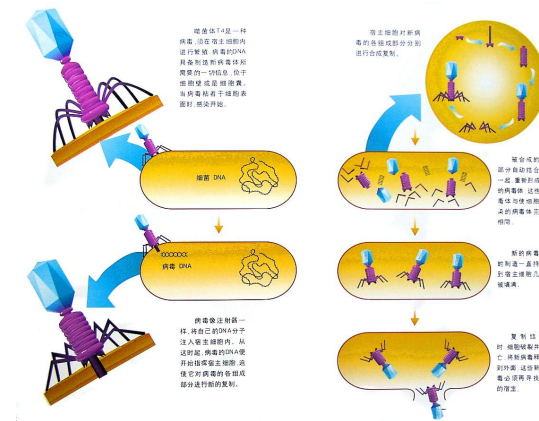
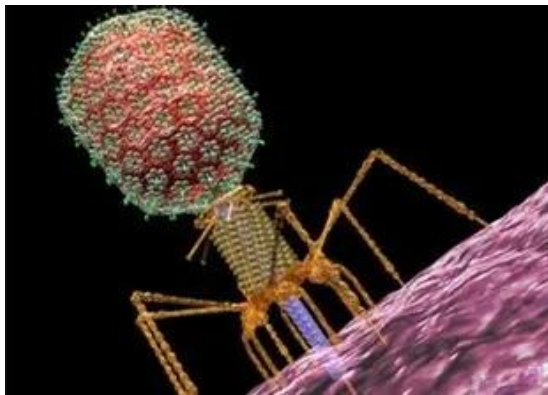
## 3-1-1 细胞的基本概念

**酵母菌 (yeast)** 是一个通俗名称，是典型的真核生物，多为单细胞，有的也呈丝状，有的酵母通过出芽进行无性繁殖，也有的进行分裂繁殖。酵母既可进行好氧呼吸，又能进行厌氧呼吸。酵母在酒类酿造，食品制备等不可或缺。



## 3-1-1 细胞的基本概念

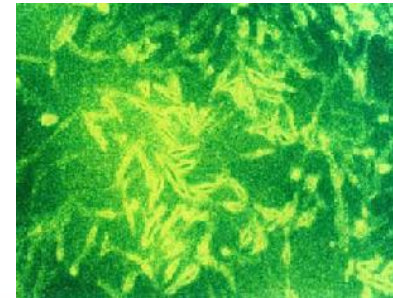
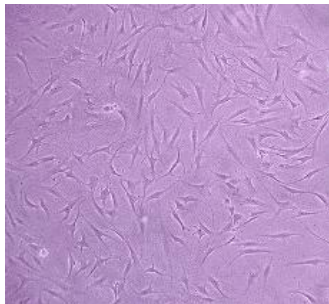
**病毒 (Virus)** 是存在于动物、植物、昆虫、真菌、藻类和细菌胞内的专性寄生物，是最小的微生物。病毒本身不具备或具备最低的合成和代谢能力，只能寄生于寄主细胞内生长繁殖，常导致寄主细胞被破坏或死亡。寄生于微生物细胞内的病毒又称为噬菌体。噬菌体是危害细菌发酵的重要根源。



## 3-1-1 细胞的基本概念

**哺乳动物细胞** (mammalian cell)来自哺乳动物体的细胞。它的培养由于可用来大量生产疫苗、重组蛋白和其他医疗产品而倍受重视。已建成许多重要的细胞系，这些细胞来自鼠、人、猴等。

- 成纤维型细胞 (Fibroblast-liked cells) :
- 上皮型细胞 (Epithelium-liked cells) :
- 游走型细胞： 血细胞

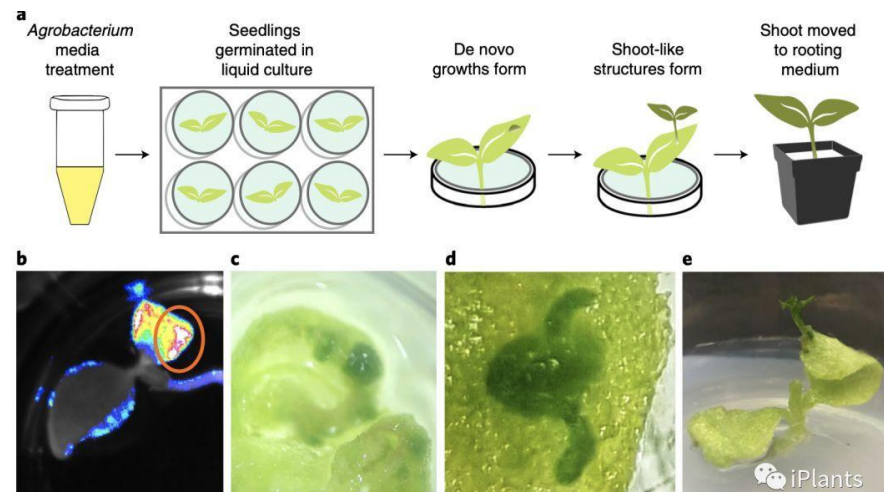
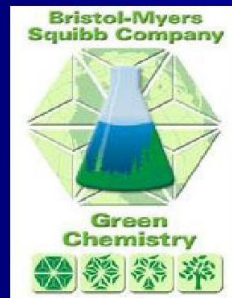


## 3-1-1 细胞的基本概念

**植物体细胞**中，含有该植物所有的遗传信息。在合适的条件下，一个细胞可以独立发育成完整的植物体。利用细胞的这种全能性，生物学家通过组培来繁殖名贵花卉、消灭果树上的病毒，以及通过对细胞核物质的重新组合，进行植物遗传改造等。

### ※ 红豆杉细胞培养

※ 2004年6月28日，Bristol-Myers Squibb 获总统绿色化学挑战奖。



## 3-1-1 细胞的基本概念

### 2) 微生物的化学组成

微生物菌体的80%左右是**水分**。湿菌体 (wet cell mass) 所含水分指菌体在100℃左右干燥至恒重时减少的量。除去水分的菌体称为干菌体 (dry cell mass) 。

微生物菌体中除水分外，其余为**蛋白质、碳水化合物、脂质、核酸、维生素和无机组**等化学物质。

细胞中某些元素（除碳、氢、氧、氮外）的含量，一般以**磷、钾**为多。其次是**钙、镁、硫、钠、氯、铁、锌、硅**等，还含有微量的**铝、铜、锰、钴**等。

## 微生物的干重和化学分析

微生物	化学成本 (干重) /%			数量 个数/mL	干重 g/100 mL
	蛋白质	核酸	脂质		
病毒	50-90	5-50	<1	$10^8$ - $10^9$	0.0005
细菌	40-70	13-34	10-15	$2 \times 10^8$ - $2 \times 10^{11}$	0.02-2.9
丝状真菌	10-25	1-3	2-7		3-5
酵母	40-50	4-10	1-6	$1$ - $4 \times 10^8$	1-5
小单胞藻类	10-60	1-5	4-80	$4$ - $8 \times 10^7$	0.4-0.9

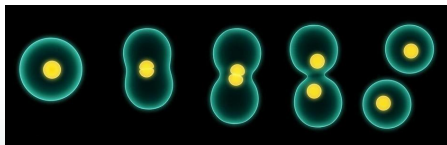


## 3-1-1 细胞的基本概念

### 3) 微生物的生长特性

不同微生物的生长特性有很大差别。在适宜生长条件下，某些细菌的**世代时间**可达10-20 min。比较典型世代时间为40-60 min。细菌分裂为二分裂时，**世代时间**等于**倍增时间**。

微生物或细胞	温度 °C	世代时间 /min	微生物或细胞	温度 °C	世代时间 /min
嗜热脂肪芽孢杆菌	60	8.4	恶臭假单胞菌	30	45
产氮假单胞菌	30	10	黑曲霉	30	120
大肠杆菌	40	21	片形螺旋藻	35	120
枯草杆菌	40	26	啤酒酵母	30	120-240



## 3-1-1 细胞的基本概念

**酵母菌**的生长方式有**出芽繁殖、裂殖和芽殖**（如同菌丝生长）三种。在最佳条件下，酵母在45 min 内就可以分裂，比较典型的分裂时间为90-120 min。

**霉菌**的生长特性是**菌丝伸长和分枝**。从菌丝体（顶端生长）的顶端细胞间形成隔膜进行生长，一旦形成一个细胞，它就保持其完整性。霉菌的倍增时间可短至60-90 min。但典型的霉菌倍增时间为4-8 h。

**病毒**能在活细胞内繁殖，不能在一般培养基中繁殖，病毒是通过**复制**方式进行繁殖，即感染细胞后“接管”寄主细胞的生物合成机构，按病毒的遗传特性，合成病毒的核酸和蛋白质，并以指数方式进行复制，幂大于2。

## 3-1-2 细胞反应的特点与影响因素

### 1) 细胞反应是一个复杂的反应体系

如细胞类型复杂、反应过程动态、细胞群体复杂、多相态。

### 2) 细胞反应本质是复杂的酶催化反应过程

复杂代谢网络：供能反应、生物合成反应、多聚反应和组装反应。与细胞生长过程相关。代谢迁移难以控制。

### 3) 细胞生长具有自催化特性

在营养成分不限制细胞生长速率时，细胞密度越高，细胞生长速率越大。

### 4) 细胞反应动力学实际上是研究细胞与环境之间的关系

生物相：指细胞主体。非生物相：指细胞所处的环境。

### 5) 细胞生长具有均衡生长/非均衡生长的特性

均衡生长：细胞内各组分均以相同的比例增加；

非均衡生长：各组分的合成速率不同而使胞内各组分增加比例不同的生长；

### 6) 细胞反应动力学模型具有非线性和动态时变性的性质

## 3-1-2 细胞反应的特点与影响因素

### 细胞反应的优点：

- 1、细胞反应是生物化学反应，通常在常温常压下进行；
- 2、细胞的生长速率快，微生物的代谢产率较高；
- 3、原料多为农产品，来源丰富；
- 4、易于生产复杂的高分子化合物和光学活性物质；
- 5、除生产产物外，菌体自身也可是一种产物；
- 6、微生物反应是自催化（autocatalytic）反应；
- 7、通过菌种改良，可能使同一生产设备生产能力提高。

## 3-1-2 细胞反应的特点与影响因素

### 细胞反应的缺点：

- 1、基质不可能全部转化为目的产物，副产物产生不可避免。细胞的生长速率快，微生物的代谢产率较高；
- 2、产物的获得除受环境因素影响外，也受细胞内因素影响。并且菌体会发生遗传变异。因此，实际控制有一定的难度；
- 3、因原材料是农副产品，所以受价格变动的的影响较大；
- 4、生产前的准备工作量（开发新菌种，扩大培养等）大，且花费高，相对化学反应器而言效率较低；
- 5、一般产生废水的BOD较高，需进行处理后排放。

## 3-1-2 细胞反应的特点与影响因素

### 微生物反应的特点

微生物反应是以微生物细胞为反应主体。其反应过程是由复杂的酶反应体系来协调完成。并且，伴随着反应过程，微生物细胞不断的生长、繁殖和死亡，呈现自催化反应特征的 (autocatalytic) 过程。



## 3-1-2 细胞反应的特点与影响因素

### 影响细胞反应的环境因素:

- 1) 营养物质
- 2) 温度
- 3) 溶解氧和氧化还原电位
- 4) pH
- 5) 湿度

## 3-1-2 细胞反应的特点与影响因素

**营养物质：**碳源、氮源、无机元素、微量元素和生长因子。

### 察氏培养基配方

$\text{NaNO}_3$	KCl	$\text{K}_2\text{HPO}_4$	$\text{FeSO}_4$	$\text{MgSO}_4$	蔗糖	琼脂	pH
0.3%	0.05%	0.1%	0.001 %	0.05%	3%	2%	6.7

## 3-1-2 细胞反应的特点与影响因素

**碳源:**是指可构成细胞和代谢产物碳骨架来源的营养物质。主要作用是构成细胞物质和供给细胞生长所需能量。大多数微生物以有机含碳化合物为碳源和能源, 例如糖类、淀粉、油脂等。光能自养微生物是利用光为能源,  $\text{CO}_2$ 为主要碳源。

**氮源:**主要提供合成原生质和细胞其它结构原料, 一般不提供能量。在微生物工业中, 硫氨、尿素、豆饼、玉米浆是常用的氮源。

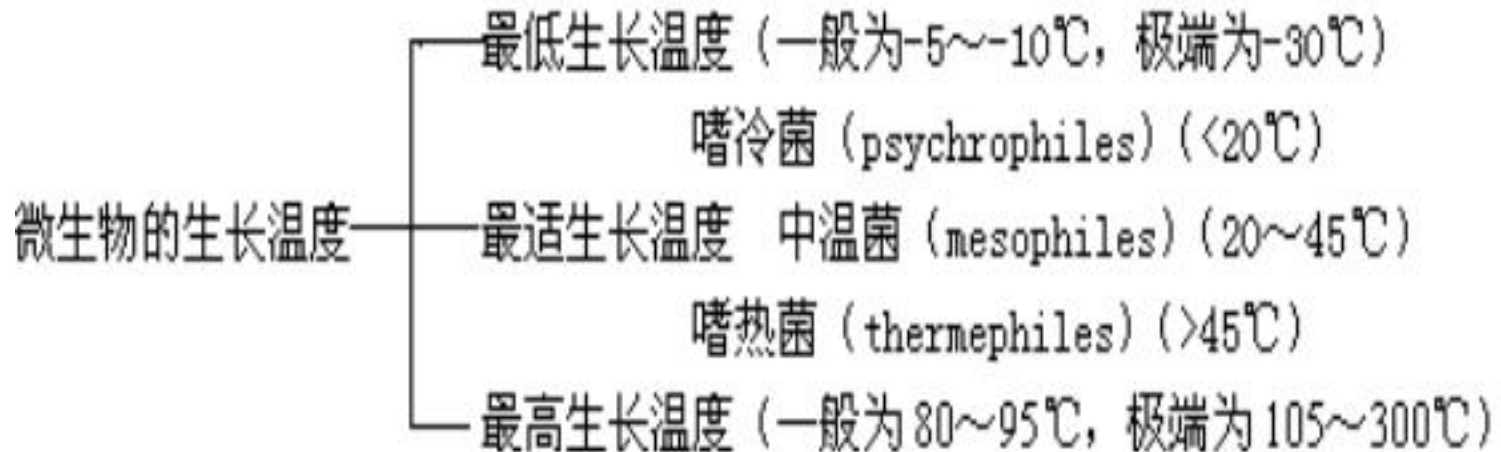
**无机元素:**主要功能是: 构成细胞的组成成分; 作为酶的组成成分; 维持酶的功能; 调节细胞的渗透压、氢离子浓度和氧化还原电位等。需要量较大的无机元素是磷、硫、铁、钾、钙等, 需要微量金属元素, 如锰、钴、铜、锌等。

**生长因子 (growth factor) :**微生物维持正常生活所必不可少, 但需要量又不大。根据化学结构和代谢功能将其分为三类: 维生素、氨基酸和嘌呤、嘧啶。工业生产中, 常用玉米浆提供生长因子。

## 3-1-2 细胞反应的特点与影响因素

**温度：**影响细胞生长和繁殖的重要因素之一。在一定范围内，细胞的代谢活力与生长繁殖速率随温度上升而增加，温度上升到一定程度，开始对细胞产生不利影响。如温度继续提高，细胞功能急剧下降，以致死亡。

各种微生物有其**最适生长温度**，**最高生长温度**和**最低生长温度**。最适、最高和最低温度会因环境条件变化而变化。



## 3-1-2 细胞反应的特点与影响因素

**溶解氧和氧化还原电位：**氧是在溶解状态下才能被细胞所利用，当溶解氧浓度较低时，氧电极无法检出，可用培养基中氧化还原电位Eh来定量表示厌氧程度。

Eh值在+0.1伏以上：好氧微生物生长；

Eh值小于+0.1伏：厌氧微生物生长；

兼性厌氧微生物在各Eh下均能生长。

## 3-1-2 细胞反应的特点与影响因素

**pH：**不同微生物有其最适pH范围。许多微生物的最适生长pH在5-9范围，少数种类可生长的pH低于2或高于10的环境中。大多数酵母与霉菌能在微酸性pH 5-6的环境中生长最好，而细菌、放线菌则在中性或微碱性条件下生长最好。

微生物种类	最低pH	最适pH	最高pH
大肠杆菌	4.3	6.0-8.0	9.5
枯草芽胞杆菌	4.5	6.0-7.5	8.5
金黄色葡萄球菌	4.2	7.0-7.5	9.3
黑曲霉	1.5	5.0-6.0	9.0
一般放线菌	5.0	7.8-8.0	10
一般酵母菌	3.0	5.0-6.0	8.0



## 3-1-2 细胞反应的特点与影响因素

**湿度：**细菌要求的水活度（湿料饱和蒸汽压/相同温度下纯水的饱和蒸汽压）在0.90-0.99。

大多数酵母菌为0.80-0.90；

真菌即少数酵母菌为0.60-0.70；

因此，固态发酵常用真菌的原因在于其对水活度要求低，可以排除其它杂菌污染。

## 3-2 细胞反应过程的计量学

如果将细胞反应看作是生成多种产物的复合反应，从概念上将可以写成如下形式(注：此式不是计量关系式)：



发酵工业中，如酵母生产，只要求生产细胞，不生产其它产物，此时等号后的第二项就不存在。

如乙醇工业，由于是厌氧发酵，因此氧和水项等于零。

而另一些行业，如氨基酸、酶制剂、抗生素、有机酸等生产，上式各项均不可少。

## 3-2 细胞反应过程的计量学

为了表示出细胞反应过程中各物质和各组分之间的数量关系，最常用的方法是对各元素进行质量衡算。如果碳源由  $\text{CH}_m\text{O}_n$  组成，氮源为  $\text{NH}_3$ ，细胞的分子式定义为  $\text{CH}_x\text{O}_y\text{N}_z$ ，产物为  $\text{CH}_u\text{O}_v\text{N}_w$ ，忽略其它微量元素P、S和灰分等。

细胞反应的化学计量式表示为：



下标中m,n,u,v,w,x,y,z——与一个碳原子相对应的碳氢氧氮的原子数

## 3-2 细胞反应过程的计量学

配平上述细胞反应方程式时，一部分系数时可通过**实验获得**，另一部分则是需要**计算获得**。一般基质和产物的分子式是已知的。微生物细胞的元素组成可以通过**元素分析方法**获得。需指出的是处于不同生长阶段，同一种细胞其组成是有差别的。因此，我们所获得的微生物细胞元素组成，一般是细胞元素的平均组成。

## 3-2 细胞反应过程的计量学

对各元素做**元素平衡**，得如下方程：

$$\text{C: } 1 = c + d + f$$

$$\text{H: } m + 3b = xc + ud + 2e$$

$$\text{O: } n + 2a = yc + vd + e + 2f$$

$$\text{N: } b = zc + wd$$

上述方程组中有a,b,c,d,e,f 6个未知数，需六个方程才能求解。

## 3-2 细胞反应过程的计量学

### 附加条件1:

**呼吸商** (respiratory quotient)

通过测定O<sub>2</sub>的消耗速率和CO<sub>2</sub>的生成速率来确定好氧培养中评价细胞代谢机能的重要指标之一。其定义式为:

$$RQ = \frac{CER}{OUR} = \frac{f}{a}$$



## 3-2 细胞反应过程的计量学

### 附加条件2:

**还原度 $k$**  某化合物还原度为该组分中每个碳原子的有效电子当量数。

有效电子当量数系指化合物氧化成 $\text{CO}_2$ 、 $\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{NH}_3$ 时所传递给氧电子数。

某些关键元素的还原度：C=4,H=1,N=-3,O=-2,P=5,S=6。

对细胞X、底物S、产物P计算还原度：

$$k_X = 4 + x - 2y - 3z$$

$$k_S = 4 + m - 2n$$

$$k_P = 4 + u - 2v - 3w$$

式中， $\text{CO}_2$ 、 $\text{H}_2\text{O}$ 和 $\text{NH}_3$ 的还原度为0。得出

$$k_S - 4a = ck_X + dk_P \quad 1 = \frac{ck_X}{k_S} + \frac{dk_P}{k_S} + \frac{4a}{k_S} = \xi_X + \xi_P + \varepsilon$$

## 3-2 细胞反应过程的计量学

**例题：**乙醇为底物，好氧培养酵母，反应方程式为：



解：根据元素平衡，有：

$$\text{C: } 2 = c + d$$

$$\text{H: } 6 + 3b = 1.75c + 2e$$

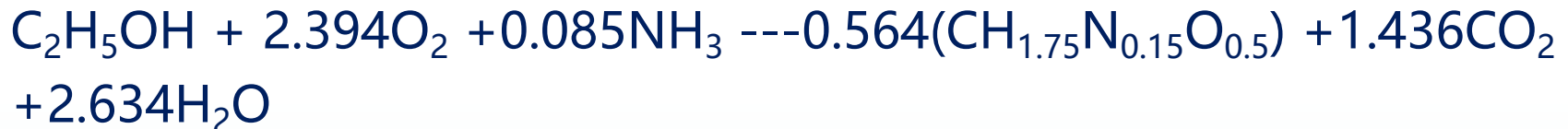
$$\text{O: } 1 + 2a = 0.5c + 2d + e$$

$$\text{N: } b = 0.15c$$

已知  $\text{RQ} = 0.6$ ，即  $d = 0.6a$ ，5个方程式联立求解。

$$a = 2.394, b = 0.085, c = 0.564, d = 1.436, e = 2.634$$

所以反应式为：



## 小结:

- **微生物种类不同，其化学组成及生长特性有明显差异；**
- **微生物反应与酶促反应、化学反应相比，有许多优点，这是它可以广为应用的主要原因；**
- **微生物细胞元素组成除可以通过元素分析方法测定外，还可以通过计量学的方法获得。另外，计量学为进行微生物反应过程的物料衡算提供了方便。**

# 作业

- 微生物反应的特点，其与化学反应的主要区别有哪些？
- 简要回答微生物反应与酶促反应的最主要区别？
- 进行微生物反应过程的物料衡算有何意义？请举例说明。

谢谢!