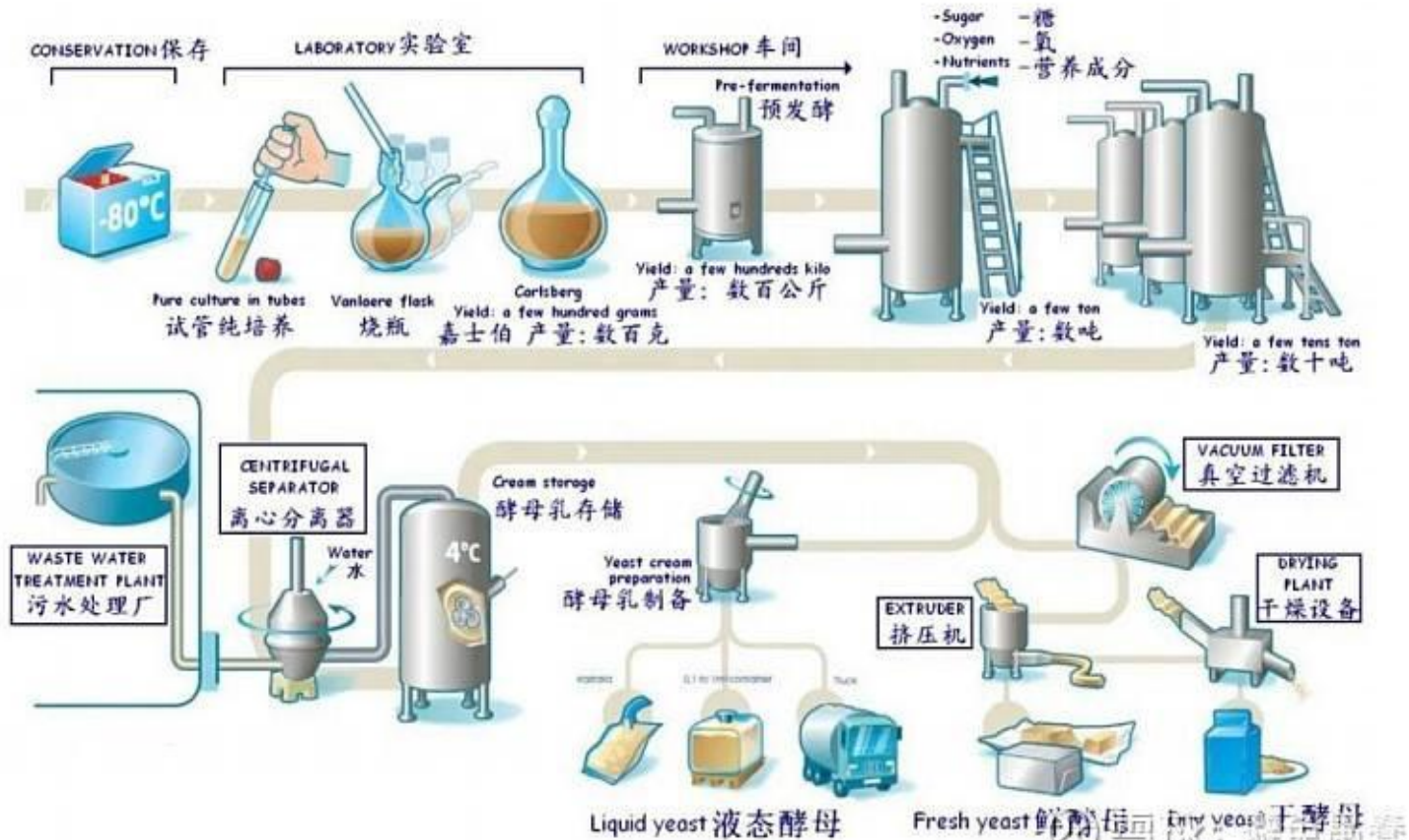
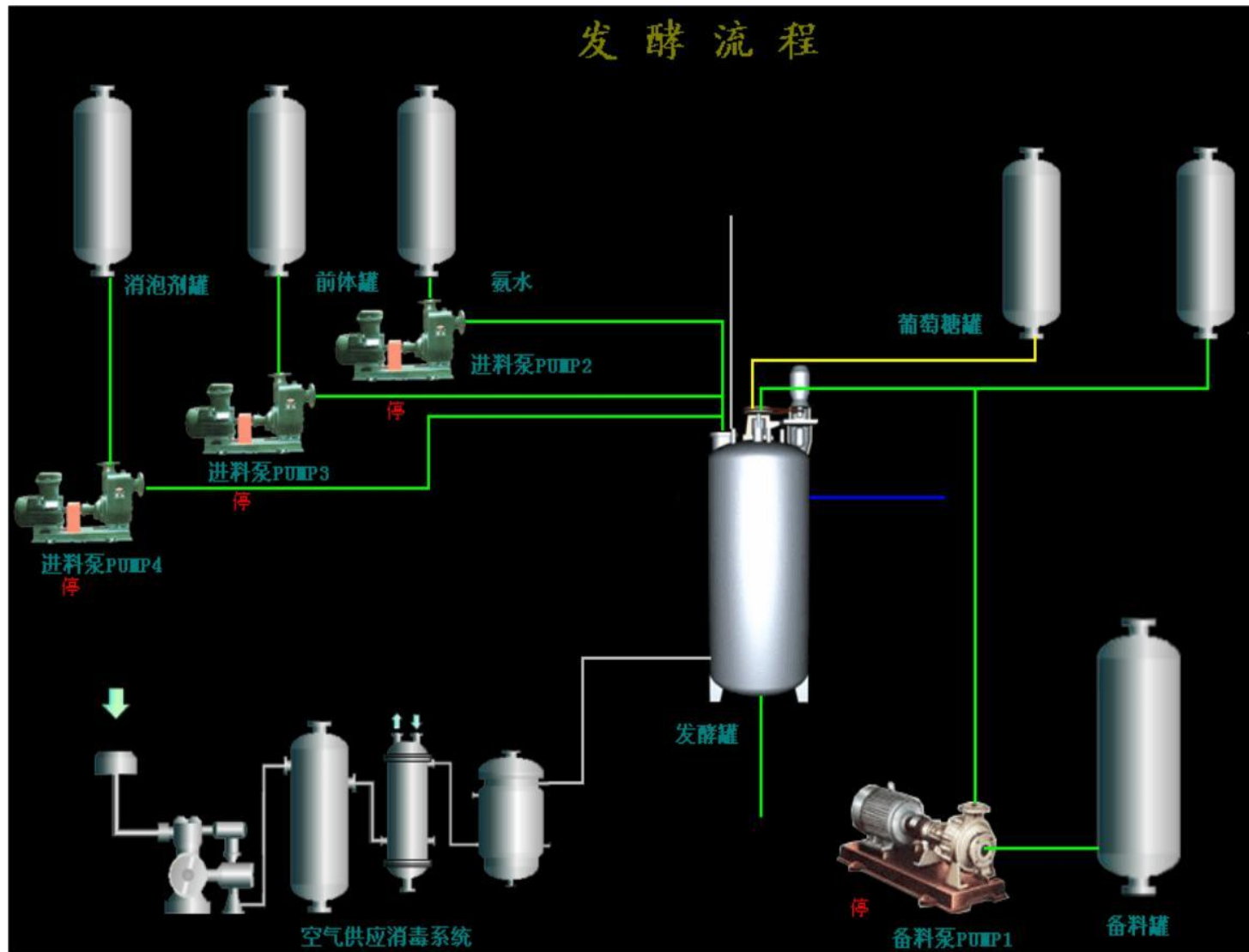


生物工程基础

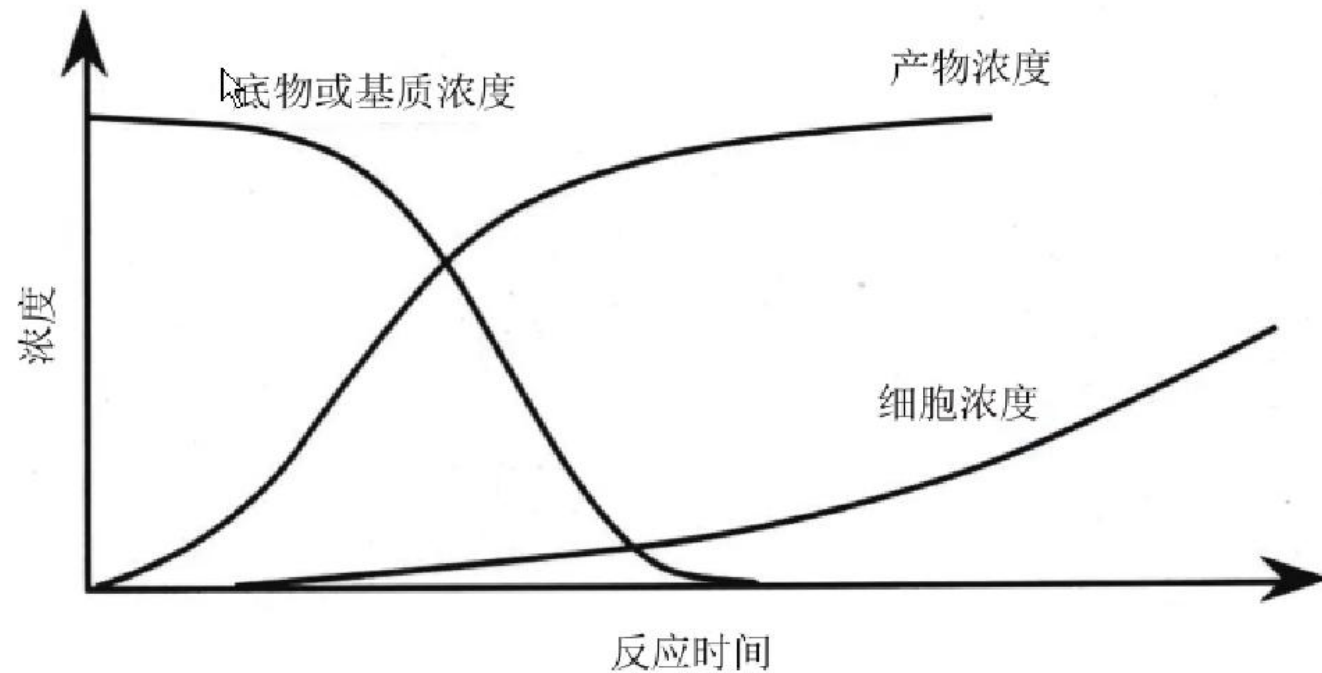
第四章 生物反应器的操作特性

酵母工业化生产过程



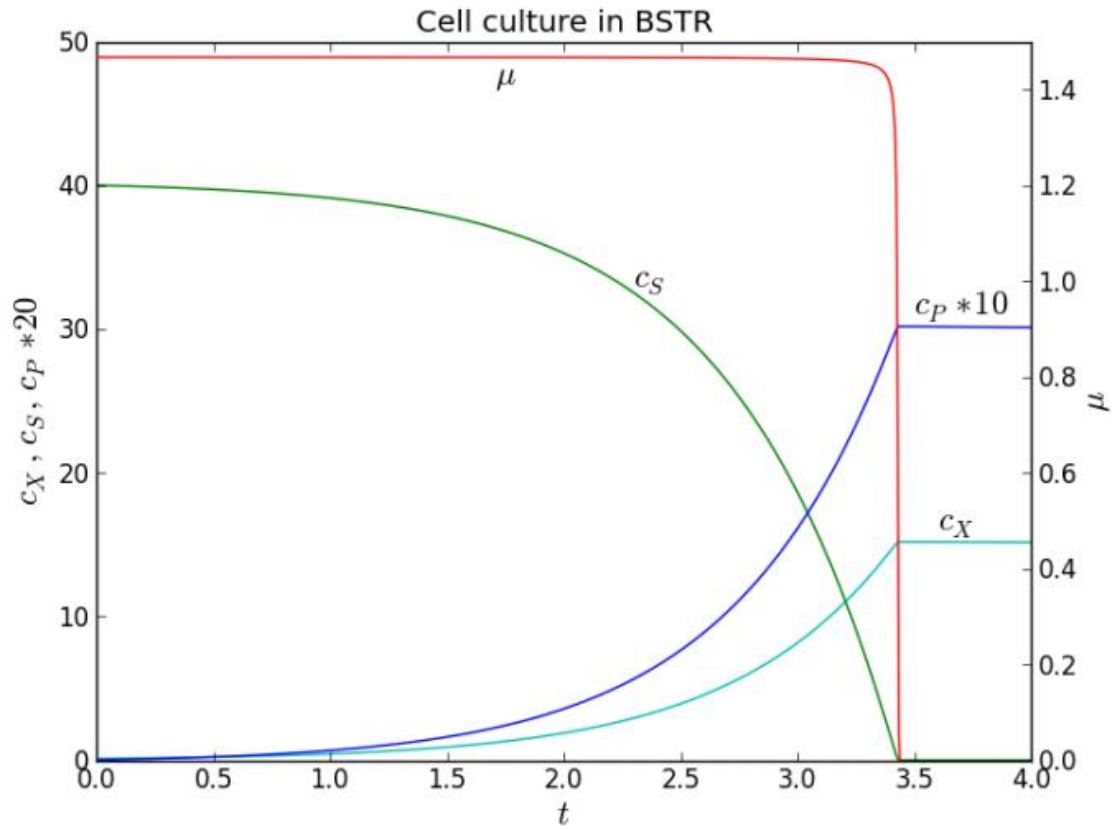


分批操作---非定态过程

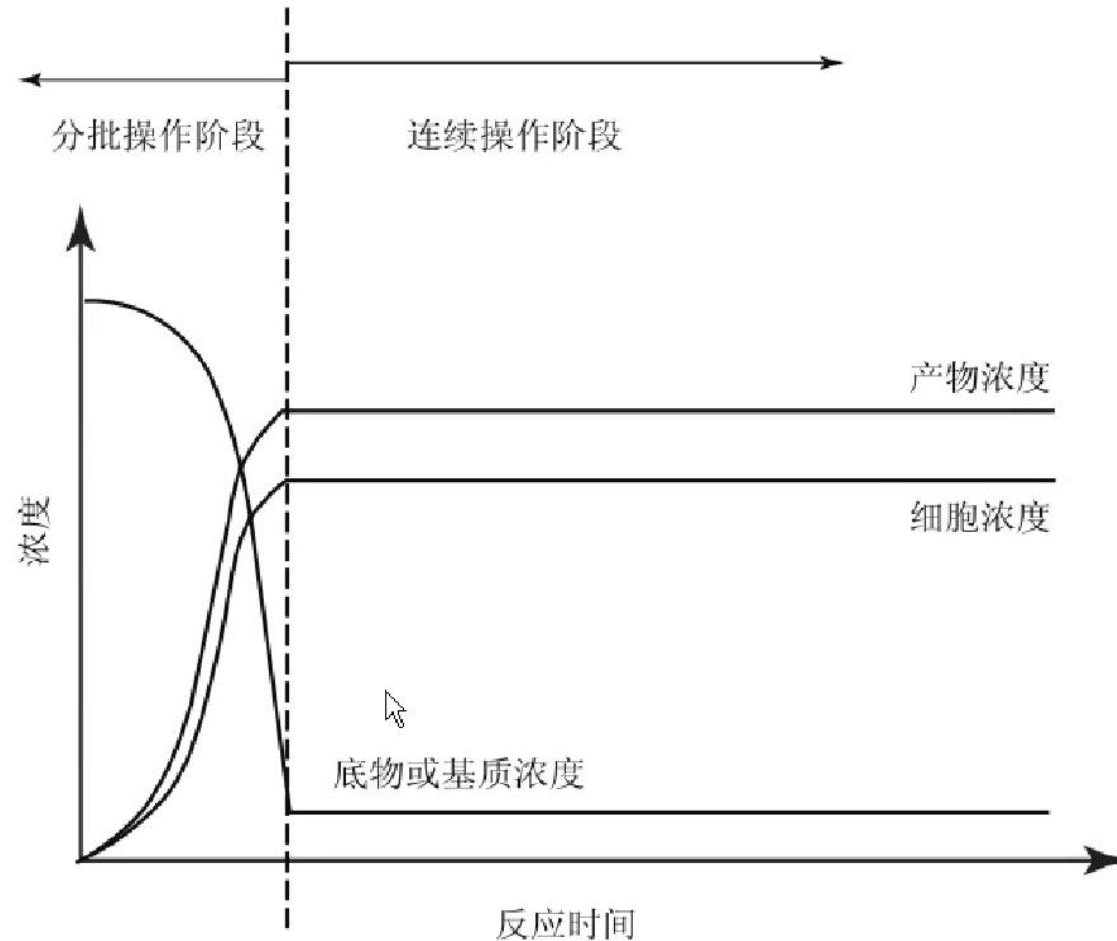


分批操作的细胞培养状态参数的变化

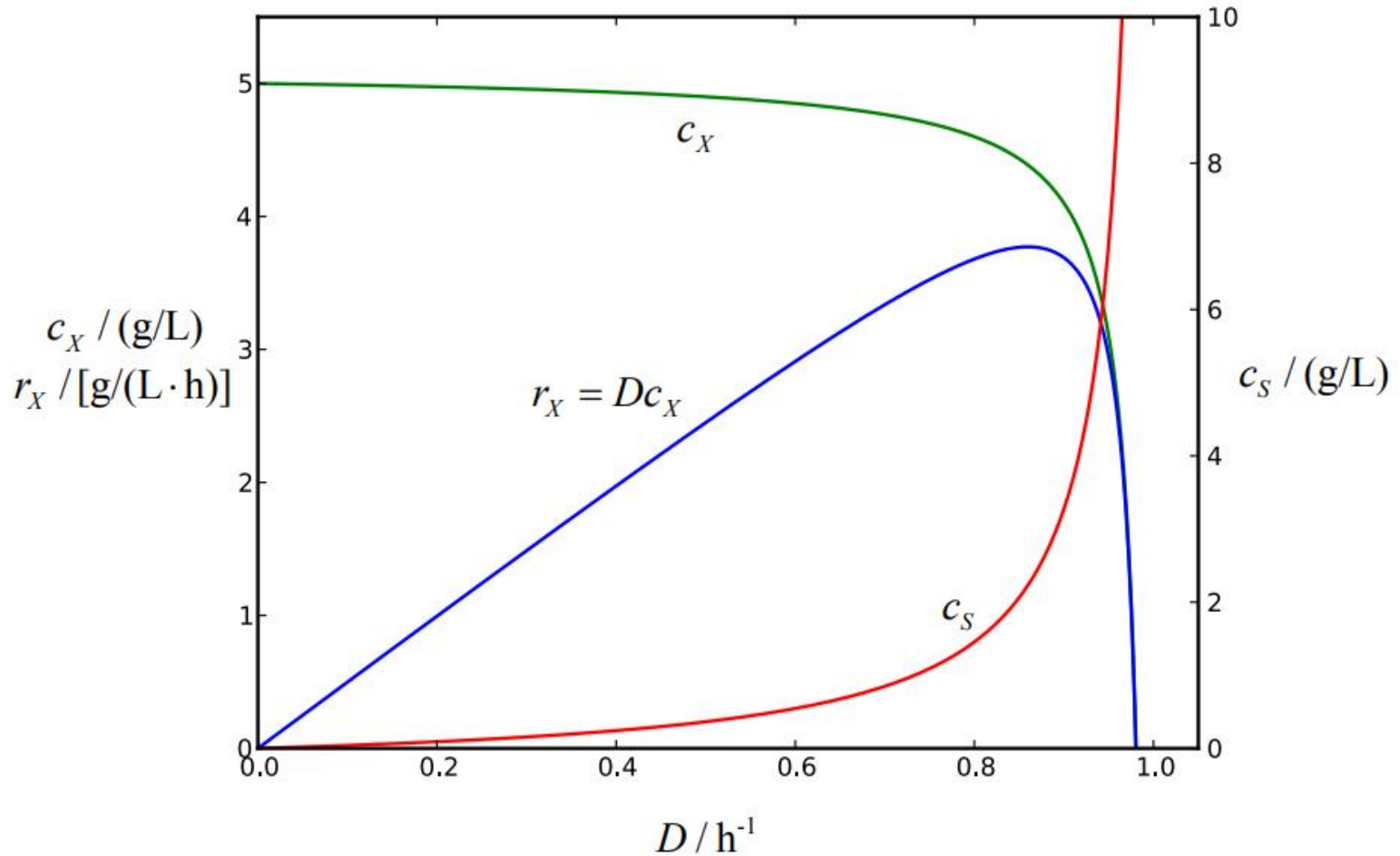
$$t = f(C_{X0}, C_{S0}, Y_{XS}, \mu_{max}, K_S)$$



连续操作反应器中组分浓度变化



单级CSTR中连续培养基本模型



CSTR连续培养的操作特性

补料分批（流加）操作

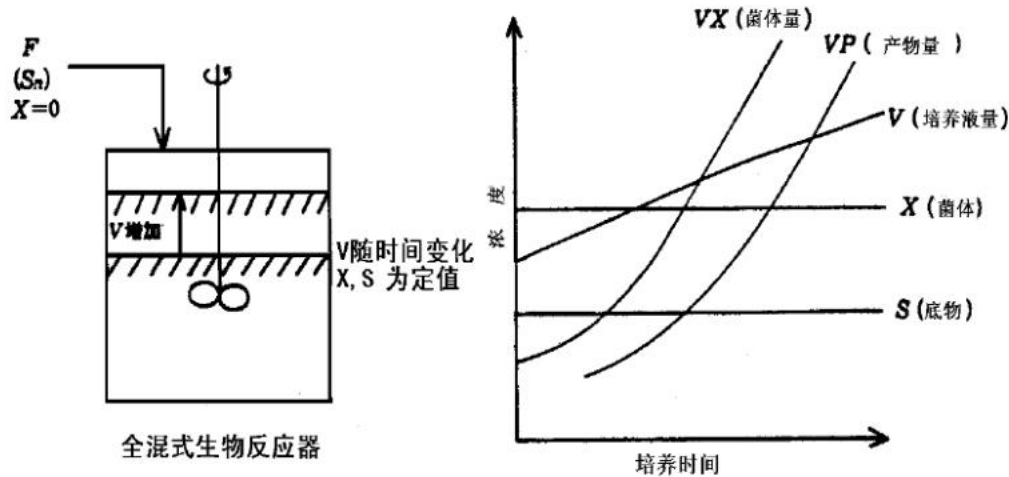
- 1、补料分批操作的分类和特点；
- 2、无反馈控制的补料分批操作
定量流加操作
指数流加操作
- 3、有反馈控制的补料分批操作
pH恒定法
溶氧恒定法

学习目的：掌握补料分批操作的基本原理和方法，了解流加操作方法在生产中的应用。

采用补料分批培养方式的理由

- 能利用细胞生长的**均衡性**和**非均衡性**，通过**比生长速率**的全局调控作用，优化**产物生成速率**。
- 关键底物的流加方式可灵活地，特别是**阶段性调控**细胞的**生长与代谢**，这对获得细胞的高密度起决定性作用。
- 流加方式可控制底物和代谢副产物的**抑制作用**。
- 流加方式可控制培养液中的葡萄糖浓度，能**调控**存在**Crabtree效应**的过程。这种操作方式的反应器中已有的物料对不同时刻的加料中的底物有浓度稀释作用，已存在的物料微团与加料中的物料微团有不同的性质，因此有**返混**。这对需要控制限制性底物浓度较低的不少发酵过程有利。
- 对底物的限制性流加可**控制**关键的**分解代谢阻遏物**对酶或蛋白质的合成的阻遏。
- 对**营养突变体**系统，关键组分的流加对细胞生长非常关键。

补料分批操作的分类和特点



补料分批操作的优点：能够有效控制反应液中底物浓度；

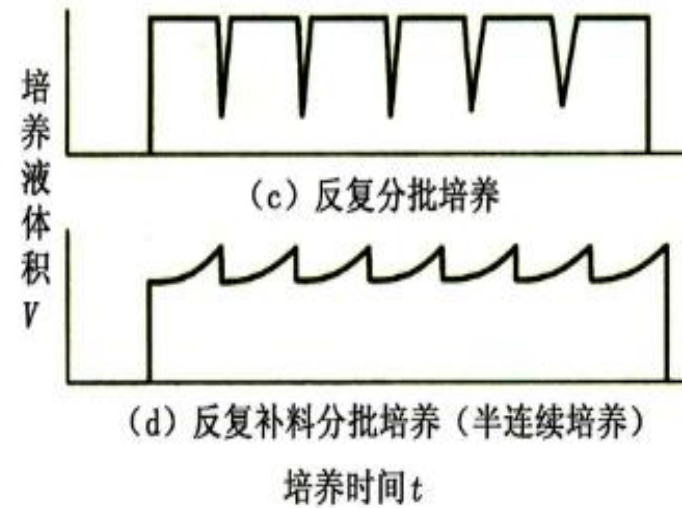
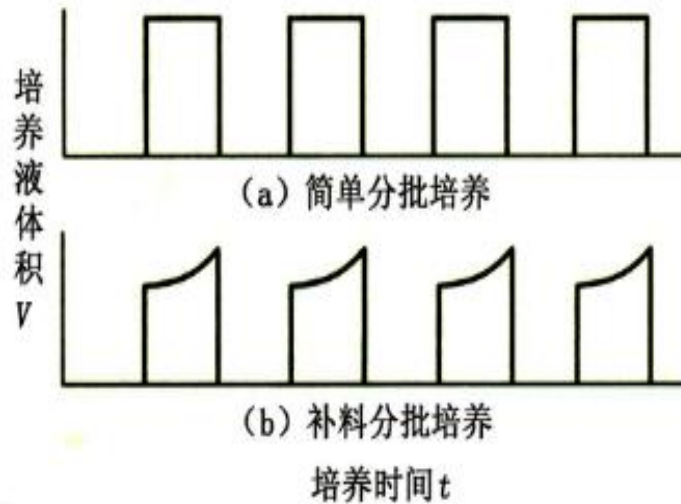
补料分批操作的要点：控制底物浓度；

补料分批操作的核心问题：流加什么和怎样流加，在工程中要特别注意后者。

补料分批操作的分类和特点

补料分批培养 (fed-batch culture) 常称为流加操作

反复补料分批培养 (repeated fed-batch culture)



补料分批操作的分类和特点

底物和副产物的浓度得到控制，酶或细胞的反应环境可处于稳定的最优条件；

可对反应过程灵活调控，获得较高的细胞密度，产物浓度和生成速率；

可应用于连续操作不适合的情况，而过程特性又优于分批操作。

一般生物反应的优化是从操作方式、操作条件和反应器型式进行，在操作条件和反应器型式一定的条件下，为提高宏观反应过程速率，过程优化必须依赖操作方式的优化。而在操作方式中，补料分批（流加）操作是生物反应过程的主要优化手段之一。

微生物流加培养操作的部分实例

产物	流加底物
面包酵母	蜜糖等碳源、氮源
青霉素等抗生素	葡萄糖、氨、前体物
谷氨酸等氨基酸	蜜糖为碳源、氨
葡萄糖酸	葡萄糖、钙盐
维生素B ₂	糖蜜
维生素B ₁₂	葡萄糖、前体物
柠檬酸	碳源、硫铵
单细胞蛋白 (SCP)	碳源、氨
蛋白酶、淀粉酶	碳源、氮源、诱导物

流加操作的分类和特点

从流加方式分类：

无反馈控制流加

恒速流加法

指数流加法

优化流加法

间隙流加法

反馈控制流加

间接控制

直接控制

定值控制

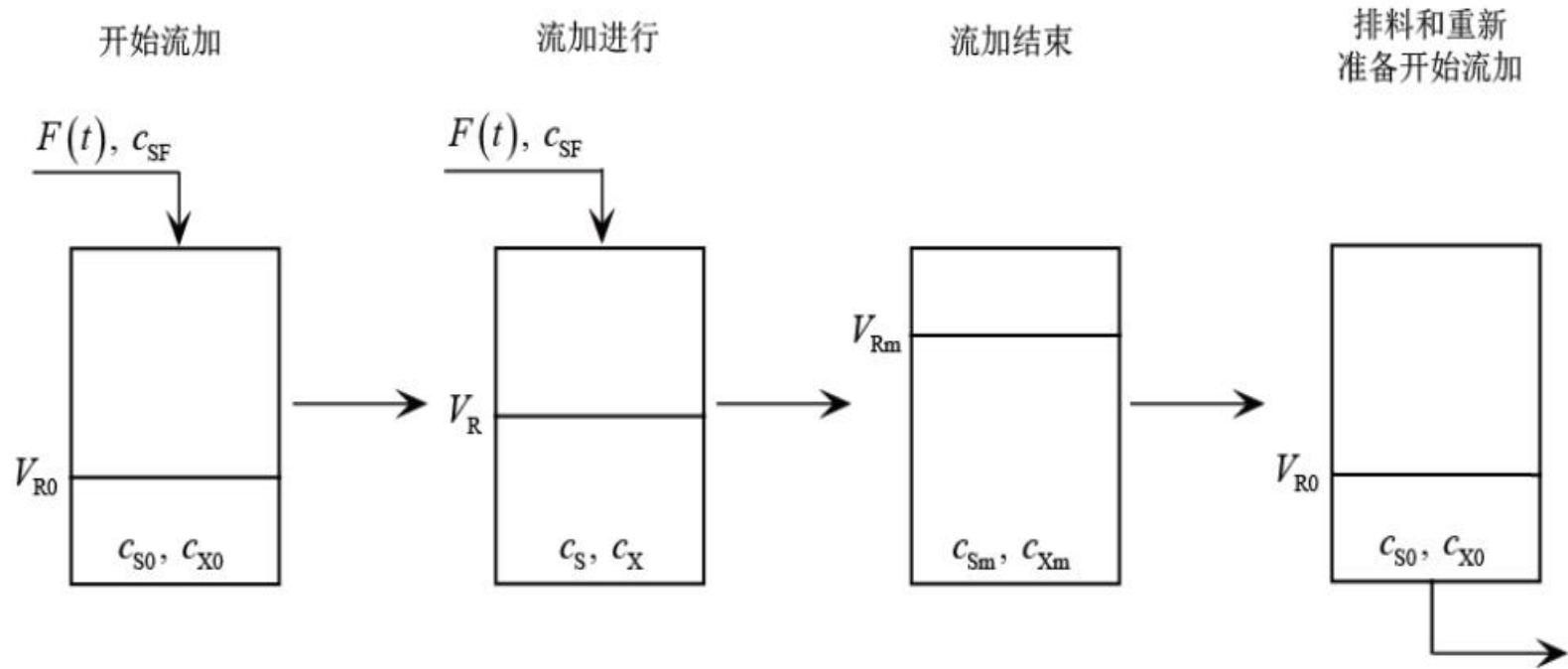
程序控制

最优控制

流加操作的分类和特点

优点	不足	应用场合
高通融性	有非生产周期	不能进行连续式操作；
可任意控制反应器中的底物浓度；	因控制和高价的检测装置，投入较高；	分批操作生产效率低。
可确保微生物所需的环境；	频繁杀菌，易使检测装置损伤；	希望延长反应时间；
如果能够了解菌体在分批过程中的性质，可获得产物高收率。	相对而言，人工操作加大了污染的危险。	出现基质抑制；
		使用营养要求变异株；
		一定培养基成分的浓度是菌体收率或代谢产物生成速率的影响因素；
		需要高菌体浓度。

流加分批操作的基础模型



补料分批培养的加料与出料

流加操作的分类和特点

由于反应液体积变化，流加操作时的 μ , q_s , q_p 定义式为：

$$\mu = \frac{1}{C_X} \frac{dC_X}{dt} \rightarrow$$

$$q_s = \frac{1}{C_X} \left[-\frac{dC_S}{dt} \right] \rightarrow$$

$$q_p = \frac{1}{C_X} \frac{dC_P}{dt} \rightarrow$$

$$\mu = \frac{1}{C_X V_R} \frac{d(C_X V_R)}{dt}$$

$$q_s = \frac{1}{C_X V_R} \left[F C_{SF} - \frac{d(V_R C_S)}{dt} \right]$$

$$q_p = \frac{1}{V_R C_X} \frac{d(V_R C_P)}{dt}$$

式中， V 为反应液体积， F 是体积流量， C_{SF} 是流加液中的底物浓度， $F C_{SF}$ 是底物的流加质量流量。

流加分批操作的基础模型

若作组分质量平衡，以 C 表示溶液中各组分的浓度（包括细胞质量浓度和底物浓度），以 r 表示各组分为基础的反应速率，以 C_F 表示进料中的各组分浓度，假定反应器内物料完全混合，由于补料进行时没有出料，其总量衡算式为：

$$\frac{d(CV_R)}{dt} = V_R r + FC_F$$

或者：

$$V_R \frac{dC}{dt} + C \frac{dV_R}{dt} = V_R r + FC_F$$

又由于：

$$\frac{dV_R}{dt} = F, D = F/V_R$$

则

$$\frac{dC}{dt} = r + D(C_F - C)$$

流加分批操作的基础模型

A、对细胞作质量衡算 $\frac{d(C_X V_R)}{dt} = \mu C_X V_R$

$$\frac{dC_X}{dt} = (\mu - D)C_X$$

B、对底物作质量衡算: $\frac{d(C_S V_R)}{dt} = F C_{SF} - q_S C_X V_R$

$$D = F/V_R \quad \frac{dC_S}{dt} = D(C_{SF} - C_S) - q_S C_X$$

C、对产物作质量衡算: $\frac{d(C_P V_R)}{dt} = F C_{PF} + q_P C_X V_R, C_{PF} = 0$

$$\frac{dC_P}{dt} = q_P C_X - D C_P$$

D、体积变化 $V_R = V_{R0} + \int_0^t F(t) dt$

对于恒流量流加: $F(t) = F = \text{constant}$

$$V_R = V_{R0} + Ft$$

无反馈控制的流加操作

无反馈控制的流加操作时，底物的流加按预先设置的条件进行。
因此，表达系统的**数学模型是否正确就成为反应成败的关键**。流加操作的基本物料衡算式如下所示，**微生物的生长速率为：**

$$\frac{d(V_R C_X)}{dt} = \mu V_R C_X \quad (3)$$

结合 $q_S = \frac{\mu}{Y_{XS}^m} + m_S$ ，流加底物的物料衡算式为：

$$\frac{d(V_R C_S)}{dt} = F C_{SF} - \frac{1}{Y_{XS}^m} \cdot \frac{d(V_R C_X)}{dt} - m_S V_R C_X \quad (4)$$

无反馈控制的流加操作

反应液体积变化的关系式为： $\frac{dV_R}{dt} = F$ ，式中假设为流加液和反应器内液体密度相等。

如果流加底物能够迅速并完全为菌体所消耗，并且维持代谢为零时，可得最大菌体浓度 $C_{x,max}$

当底物流加量等于底物消耗量时，可认为 $dC_s/dt=0$ ，由前面流加底物物料衡算式 (4) 可得： $\frac{F}{V_R} C_{SF} \approx \frac{1}{Y_{XS}^m} \mu C_X$

对于所供给底物的浓度，菌体浓度近似一定，即 $dC_x/dt=0$ 时，

由上式 (3) 得： $\mu = \frac{F}{V_R}$ (= **D**，**稀释率**)

恒速流加的操作模型

特点：后期有“拟稳态特性”，可以**限制细胞生长**， $F(t)$ 为常数，**实现对生长和代谢过程的调控**，使细胞的生长状态有**非均衡性质**。

对细胞浓度的变化：

$$C_X = \frac{V_{R0}C_{X0} + Y_{XS}FC_{SF}t}{V_{R0} + Ft}$$

反应器内细胞总量：

$$C_X V_R = V_{R0}C_{X0} + Y_{XS}FC_{SF}t$$

反应器中的细胞总量为时间的线性函数。

恒速流加的操作模型

流加后期的“拟稳态特性”

$$\begin{aligned}\frac{dc_S}{dt} &= 0 \\ \frac{dc_X}{dt} &= 0 \\ \mu &\approx D = \frac{F}{V_R} \downarrow \\ c_S &= \frac{K_S D}{\mu_{\max} - D}\end{aligned}\quad (5)$$

原因：后期细胞密度较高时，加入的底物立即被消耗掉，此时底物浓度 C_S 很小，但不等于零，而是趋近于零。

拟稳态时，流加的限制性底物全部用于细胞生长，则有

$$C_X = C_{X,max} = Y_{XS} C_{SF} \quad (6)$$

恒速流加的操作模型

当 $V_R \gg V_{R0}$ 时,

$$\frac{d\mu}{dt} = \frac{d}{dt} \left(\frac{F}{V_R} \right) = -\frac{F^2}{(V_{R0} + Ft)^2}$$

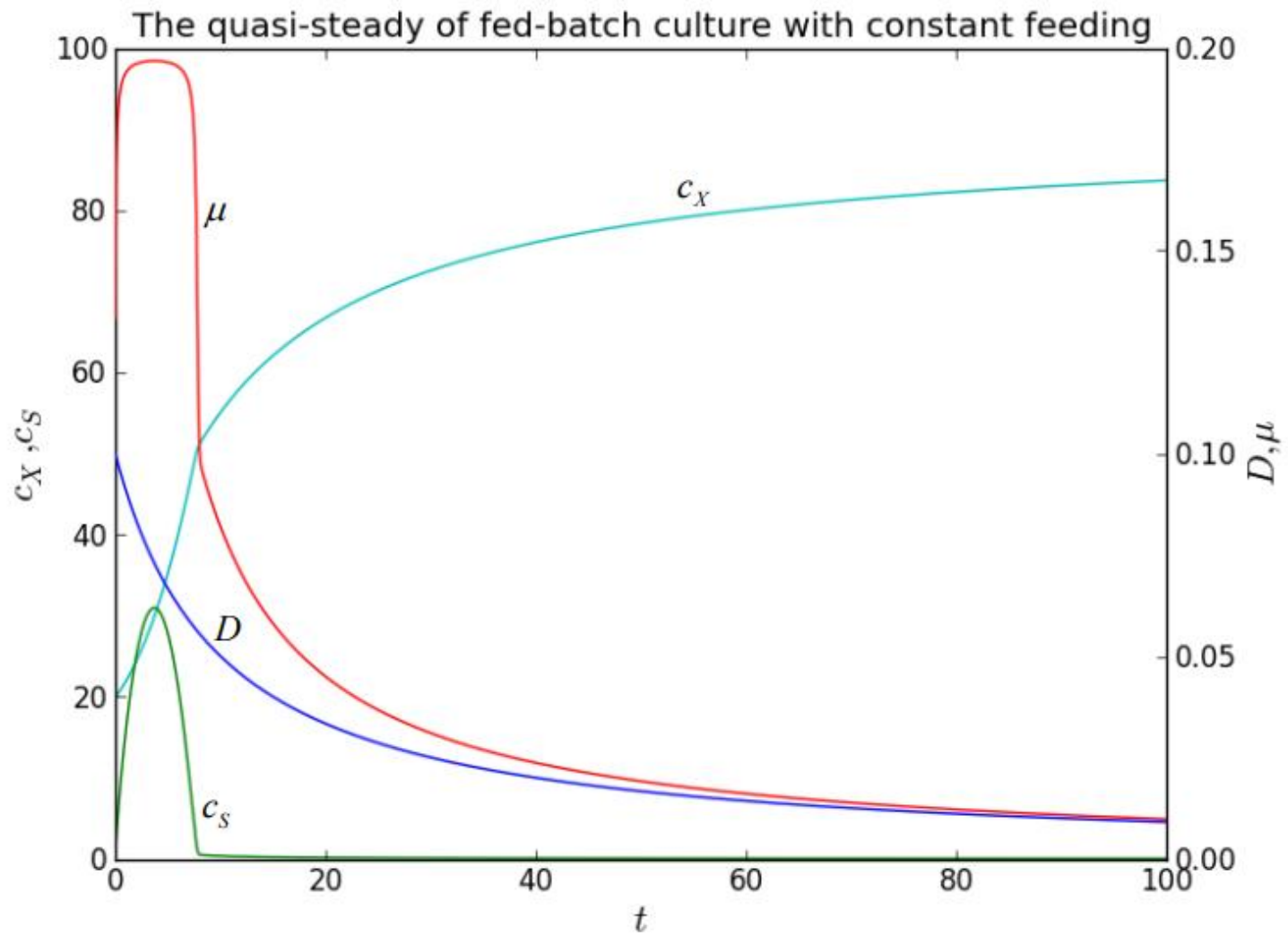
经过长时间的流加培养后,

$$\frac{d\mu}{dt} = -\frac{1}{t^2}$$

对整个过程的产物浓度变化,

$$c_P = c_{P0} \frac{V_{R0}}{V_R} + \frac{1}{V_R} \int_0^t q_P c_{X,\max} \left(\frac{V_{R0}}{V_R} + \frac{Dt}{2} \right) dt$$

$$\frac{dC_p}{dt} = q_P C_X - DC_P$$



无反馈控制的流加操作

恒速流加操作 (F恒定) (更加复杂一点)

菌体生长符合Monod方程, 忽略维持代谢, 当 $t=0$, $C_s=C_{s0}$, $C_x=C_{x0}$, $V_R=V_{R0}$, 由菌体衡算式得:

$$C_X V_R = Y_{XS}(F C_{SF} t + V_{R0} C_{S0}) + C_{X0} V_{R0}$$

得 t 时的菌体浓度为:

$$C_X = \frac{Y_{XS} F C_{SF} t + V_{R0} (Y_{XS} C_{S0} + C_{X0})}{F t + V_{R0}}$$

$$C_S = \frac{K_S F C_{SF}}{(\mu_{max} t - 1) F C_{SF} + \mu_{max} V_{R0} (C_{S0} + C_{X0}/Y_{XS})}$$

这种流加方式的最大特点时**微生物进行线性生长**, 即

$$\frac{d(V_R C_X)}{dt} = K_L$$

式中, K_L 为线性生长速率常数。

一般地, 在线性生长阶段, 底物浓度相当低。

无反馈控制的流加操作

指数流加操作

理想的微生物生长时菌体量随时间以指数函数增加，所以使流加底物的流量以指数函数增加，此操作方法称为指数流加操作。此时，以满足 μ 等于定值为基础流加底物。由Monod方程，可获得 C_S =常数。此时， $dC_x/dt=0$ ，结合前述的拟稳态条件，有如下方程式：

$$\mu = \frac{F}{V_R} = \frac{1}{V_R} \frac{dV_R}{dt}$$

$$\text{则培养体积 } V_R, \quad V_R = V_{R0} \exp(\mu t) \quad (14)$$

$$\text{基于上式，菌体量为：} C_X V_R = C_{X0} V_{R0} \exp(\mu t)$$

$$\text{流量为：} F = F_0 \exp(\mu t) \quad (15)$$

由以上结果可知，采用这种方式操作，不仅保证微生物呈指数增长，底物浓度也一定。

无反馈控制的流加操作

流加底物浓度 C_{SF} 与反应器内反应液最终体积 V_R , 最终菌体量 C_X 和菌体收率 Y_{XS} 有如下关系:

$$C_{SF} = \frac{C_X V_R - C_{X0} V_{R0}}{Y_{XS} (V_R - V_{R0})} \quad (16)$$

拟稳态下, 初始流加速率 F_0 , 可由下式表示:

$$F_0 = \frac{\mu V_{R0} C_{X0}}{C_{SF} Y_{XS}} \quad (17)$$

指数流加操作是建立在对物料平衡及反应动力学两方面, 进行某些合理假设基础上, 产生的一种较为常用的前置流加控制法, 可使限制性底物的供给与反应器中的细胞量随时间的指数增加相适应。

指数流加操作模型

特点：由于流加开始于细胞比生长速率达到一定数值， $\mu = \mu_0$ 后，通过加料流量的指数式控制使整个过程的**比生长速率始终保持此数值**。因此，这种流加方式的细胞生长状态具有**均衡生长**的性质。

$$A = \frac{1}{Y_S (c_{SF} - c_S)}$$

$$\frac{c_X}{c_{X0}} = \frac{\exp(\mu_0 t)}{1 - Ac_{X0} + Ac_{X0} \exp(\mu_0 t)}$$

$$c_X V_R = c_{X0} V_{R0} \exp(\mu_0 t)$$

$$\frac{V_R}{V_{R0}} = 1 - Ac_{X0} + Ac_{X0} \exp(\mu_0 t)$$

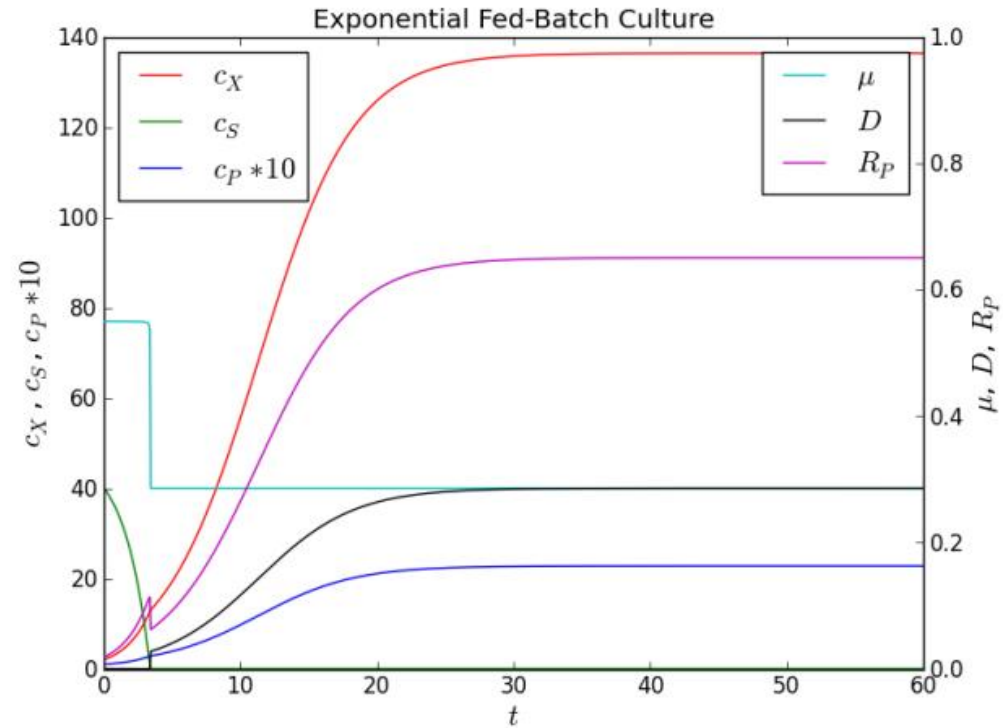
$$F(t) = \mu_0 c_{X0} V_{R0} A \exp(\mu_0 t)$$

指数流加操作模型

指数流加时，由于比生长速率保持不变，培养液中的限制性底物浓度恒定。以Monod方程为例，由于 $\mu = \mu_{max} \frac{C_S}{K_S + C_S}$ ，则：

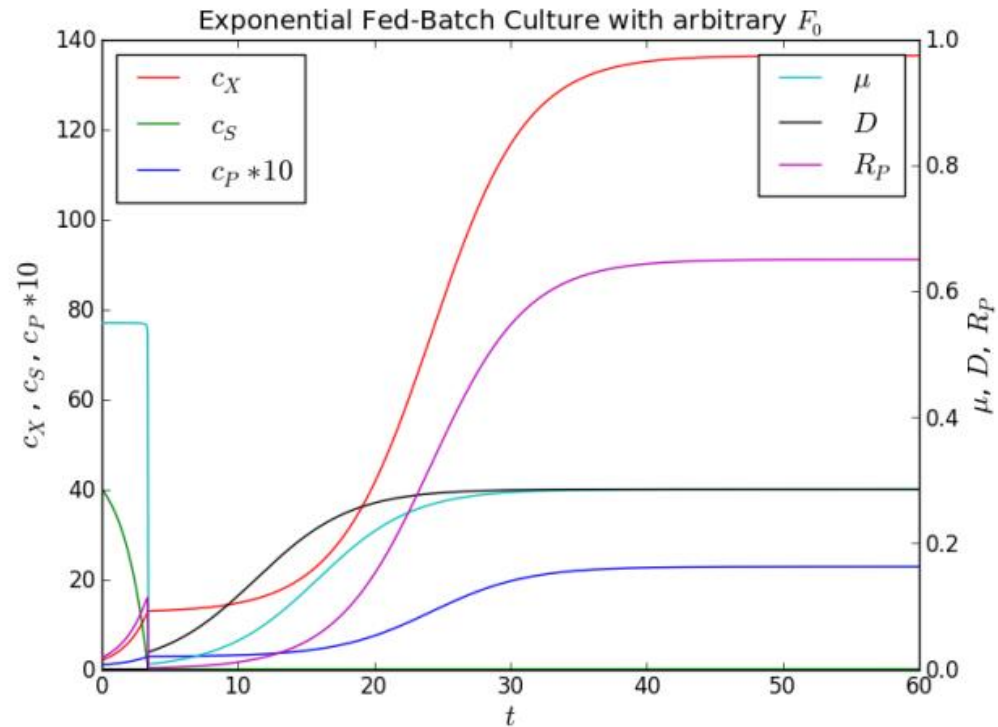
$$C_S = C_S(\mu_0, \mu_{max}, K_S)$$

指数流加操作模型



$$F(t) = \frac{\mu_0 V_{R0} c_{X0}}{Y_{XS} (c_{SF} - c_S)} \exp(\mu_0 (t - t_0)), \quad \mu = \mu_0 = 0.286 \text{h}^{-1}$$

指数流加操作模型



$F(t) = F_0 \exp(\mu_0(t - t_0))$, $\mu_0 = 0.286\text{h}^{-1}$, F_0 任意。

加料后 μ 有个变化过程，最终 $\mu = 0.286\text{h}^{-1}$ 。

无反馈控制的流加操作

指数流加和定流量流加在气提乙醇发酵过程中的应用比较

		细胞生物量 /g/L	转化率	乙醇生成速率 g/(Lh)	葡萄糖消耗 速率g/(Lh)
定流量流加	全过程 (0-119.5 h)	3.34	0.46	2.63	5.23
气提过程	阶段 (26-119 h)	5.97	0.50	2.51	5.19
指数流加	全过程 (0-119.5 h)	5.74	0.45	2.71	6.75
气提过程	阶段 (23-119 h)	7.28	0.49	3.21	6.21

指数流加乙醇气提发酵过程，在**细胞指数生长阶段**稳定控制发酵液中的糖浓度，其发酵水平比定流量流加过程细胞生物量平均增加**1.22倍**，乙醇生产速率和糖消耗速率分别比定流量流加时增加了**1.2倍**和**1.19倍**。

无反馈控制的流加操作

研究表明，乙醇气提发酵过程中，选用适当的指数流加模型，就能够消除**发酵过程中底物和产物的双抑制作用**，简单而有效地改进现有的在线分离乙醇的连续发酵工艺，**提高乙醇的生产速率**。

另外，采用重组大肠杆菌发酵生产胆固醇氧化酶中发现，采用**指数流加策略**可实现重组大肠杆菌的**高密度培养**。

例题

流加底物为葡萄糖，培养大肠杆菌，流加培养开始时 $V_0=1.0\text{ L}$ ， $C_{SF}=80\text{ g/L}$ ， $F=0.2\text{ L/h}$ ，反应方程式可用Monod方程来表示，其中 $\mu_{\max}=0.2\text{ h}^{-1}$ ， $K_s=1.0\text{ g/L}$ ， $Y_{XS}=0.6\text{ g/g}$ (以细胞/葡萄糖计)，流加培养 2 h后，求：

- (1) 此时培养液的体积 V ；
- (2) 拟稳态下反应器中的葡萄糖浓度；
- (3) 反应完成时反应器中菌体浓度。

解：（1） $t=0$ 时，以 $V_R=V_{R0}$ 为边界条件，对 $dV_R/dt=F$ 积分，得反应终止时培养液得体积为：

$$V_R = V_{R0} + Ft = 1.0 + 0.2 \times 2 = 1.4 L$$

$$(2) F/V_R = (D = \mu) = \frac{0.2}{1.4} = 0.143 (h^{-1})$$

Monod方程 变形，拟稳态下底物浓度（5）为：

$$C_S = \frac{DK_S}{\mu_{max} - D} = \frac{0.143 \times 1}{0.2 - 0.143} = 2.5 (g/L)$$

（3）由前式（6）可知，培养终止时菌体浓度为：

$$C_X = Y_{XS} C_{SF} = 0.6 \times 80 = 48 (g/L)$$

实际上，由于每次培养都可能有微妙的变化，因此，**无反馈控制的流加操作，适用范围很窄。**

有反馈控制的流加操作

根据控制方式，反馈控制的流加操作可分为：

间接——取与过程密切相关的，可以测量的参数作为控制指标；
如pH、DO、 C_{CO_2} 等。

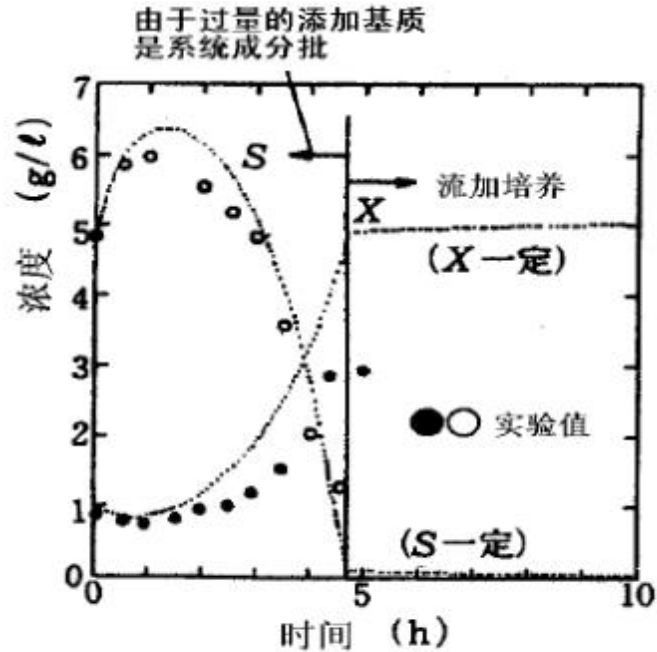
直接——连续或间断测定培养液中流加的底物浓度，以此作为控制指标。

另外，根据流加底物浓度的情况，可分为：

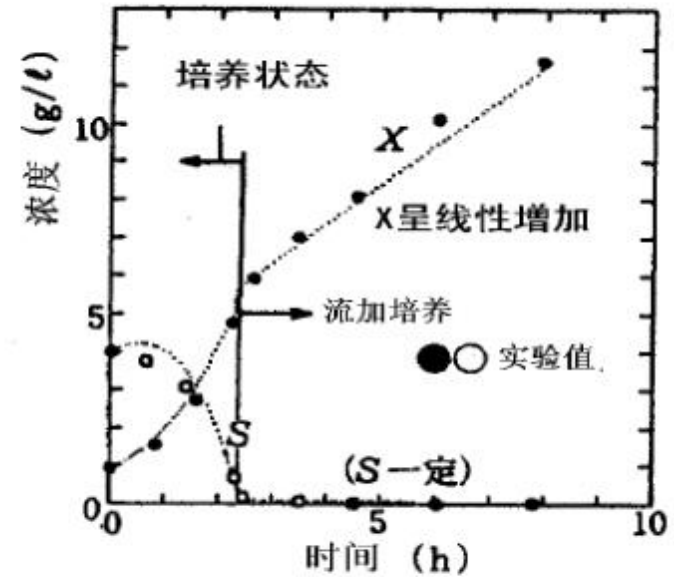
保持一定浓度值（**定值控制**）；

浓度随时间变化（**程序控制**）。

有反馈控制的流加操作



甘油水溶液为
流加基质时 (V增加)



甘油为流加基质时
(V一定)

阴沟肠杆菌定流量流加培养图

有反馈控制的流加操作

上图为甘油为底物进行阴沟肠杆菌定流量流加培养的实验结果与计算机模拟结果。

图中 (a) 时甘油水溶液为流加底物的结果，如图所示，**菌体浓度一定**（但 $C_X V_R$ 以直线方式增加）。

图中 (b) 是甘油直接为流加底物，与甘油水溶液不同，添加底物全部被消耗，反应液的体积 V_R 一定，**菌体浓度按照直线方式增加**，此时，确保了高浓度培养的成功。

有反馈控制的流加操作

pH控制法

pH是对细胞反应过程中有重要影响的参数。基于pH恒定的反馈控制策略就是根据具体的细胞反应过程，将某一pH值作为控制补料的临界值。通过pH的检测与底物的流加进行关联控制，可调节细胞代谢过程，是反应液保持在最佳pH值。

控制机构：例如同时分别流加作为**碳源的底物**（葡萄糖或蔗糖）和作为**氮源的氨水**等碱性物质的手段来控制反应液的酸碱度。

广泛产碱菌在胞内生产聚B-羟基丁酸，恒pH流加培养过程

底物流加速率 F_c /碱液流加速率 $F_B=10$

流加蔗糖浓度500 g/L; 氨水浓度20.0 g/L, pH=6.5

	细胞密度 g/L	PHB 浓度 g/L
恒流量流加	24.7	8.5
指数流加	32.9	16.3
恒pH法流加	35.4	18.2

实验说明**恒pH**流加优于**恒流量**和**指数流加**

恒pH流加操作模型

通过pH的测量用反馈控制的方式控制生理酸性和生理碱性物质的加料速率。两种物质的加料速率满足化学计量关系。

$$\frac{F_S C_{SF}}{F_B C_{OH,F}} = \frac{Y_{XB}}{Y_{XS}}$$

实质上, F_S/F_B 的比值与细胞反应的最优碳氮比有关。

恒定溶解氧流加操作模型

对需氧的细胞反应，**氧的消耗状况与细胞生长和底物消耗**有密切的关系。底物浓度高，细胞浓度与生长速率较高时，耗氧速率快，溶氧浓度下降；底物耗尽时，耗氧速率下降，溶氧浓度升高。

对一细胞反应，可预先设定一临界溶氧浓度 DO_{cri} ，若反应液中溶解氧浓度 DO 低于 DO_{cri} ，表示细胞反应受溶氧限制，影响细胞反应，因而对细胞反应常要求减少甚至停止底物加入，而当实现 $DO > DO_{cri}$ 时，则又自动加入适量底物。

恒定溶解氧流加操作模型

控制的底物是溶解氧时，指数加料法实质上就变为恒溶氧加料法

。

恒溶氧法通过DO值的测量，用反馈控制的方式控制限制性碳源的

流加速率，由于 $\mu = \mu_{O,max} \frac{C_{OL}}{K_O + C_{OL}}$ ，若 C_{OL} 保持不变， μ 值恒定。

参照指数加料的操作特性方程，加料速率 $F(t)$ 满足下式：

$$F(t) = \frac{\mu}{Y_{XO} r_O} C_{XO} V_{RO} \exp(\mu t)$$

保持比生长速率 μ 不变的底物加料速率 $F(t)$ 与摄氧率 r_O 关联。

谷氨酸棒杆菌分批发酵合成REA-11中不同供氧模式比较

	恒定 K_La / h^{-1}			分段供氧 / h^{-1}
项目	40	100	200	100 (0-16 h) , 40 (16h)
REA-11产量 (mg/L)	549.0	463.2	149.1	900.0
生产强度 (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	16.5	13.6	5.8	29.9
絮凝剂产率 (g.g ⁻¹)	0.066	0.053	0.016	0.096
DCW (g.L ⁻¹)	1.16	1.20	1.23	1.20
细胞产率 (g.g ⁻¹)	1.137	1.138	1.136	1.128
比生长速率 (h ⁻¹)	0.096	0.097	0.137	0.135
残糖 (g.L ⁻¹)	1.56	1.28	0.98	0.66
葡萄糖消耗速率 (g.L ⁻¹ .h ⁻¹)	0.248	0.256	0.301	0.348
发酵周期 h	34	34	26	30

采用分阶段供氧控制模式优化REA-11的发酵过程与控制恒定 K_La 进行发酵相比，不仅絮凝剂产量大幅提高，其生产强度也比 K_La 恒定为40，100，200 h^{-1} 的分批发酵过程分别提高了81.2%，120%和420%。

同时，生物絮凝剂的产率比 K_La 为40 h^{-1} 的发酵过程提高了45%

。

例题

青霉素流加培养中，为确保比生长速率 $\mu=0.2 \text{ h}^{-1}$ ，按照**指数流加**葡萄糖 $C_{SF}=0.3 \text{ kg/m}^3$ ，细胞生长可以Monod方程表达， $\mu_{\max}=0.30 \text{ h}^{-1}$ ， $K_s=0.1 \text{ kg/m}^3$ 。流加开始时培养液体积 $V_{R0}=0.005 \text{ m}^3$ ，细胞浓度 $C_{X0}=0.1 \text{ kg/m}^3$ ，细胞得率 $Y_{XS}=0.3 \text{ Kg/Kg}$ (以细胞/葡萄糖计)。

求：流加培养至20 h时反应器内底物浓度和培养液体积，流加开始与20 h时的流加速率。

解：Monod 方程变形后，可得基质浓度

$$C_S = \frac{\mu K_S}{\mu_{max} - \mu} = \frac{0.2 \times 0.1}{0.3 - 0.2} = 0.2 \text{ (kg/m}^3\text{)}$$

20 h 后培养液体积，由式 (14) 计算：

$$V_R = V_{R0} \exp(\mu t) = 0.005 \exp(0.2 \times 20) = 0.27 \text{ m}^3$$

由 (16) 式变形可得：

$$C_X = \frac{1}{V_R} [C_{SF} Y_{XS} (V_R - V_{R0}) + C_{X0} V_{R0}]$$

$$= \frac{1}{0.27} (0.3 - 0.3 \times (0.27 - 0.005) + 0.1 - 0.005) = 0.1 \text{ (Kg/m}^3\text{)}$$

由于 $C_{X0}=0.1 \text{ kg/m}^3$,说明流加处于拟稳态，由 (17) 式，流加操作开始得流量为

$$F_0 = \frac{\mu V_{R0} C_{X0}}{C_{SF} Y_{XS}} = \frac{0.2 \times 0.005 \times 0.1}{0.3 \times 0.3} = 0.0011 \text{ (m}^3\text{/h)}$$

由式 (15) ，流加20 h后得基质流量为：

$$F = 0.0011 \times \exp(0.2 \times 20) = 0.060 \text{ (m}^3\text{/h)}$$

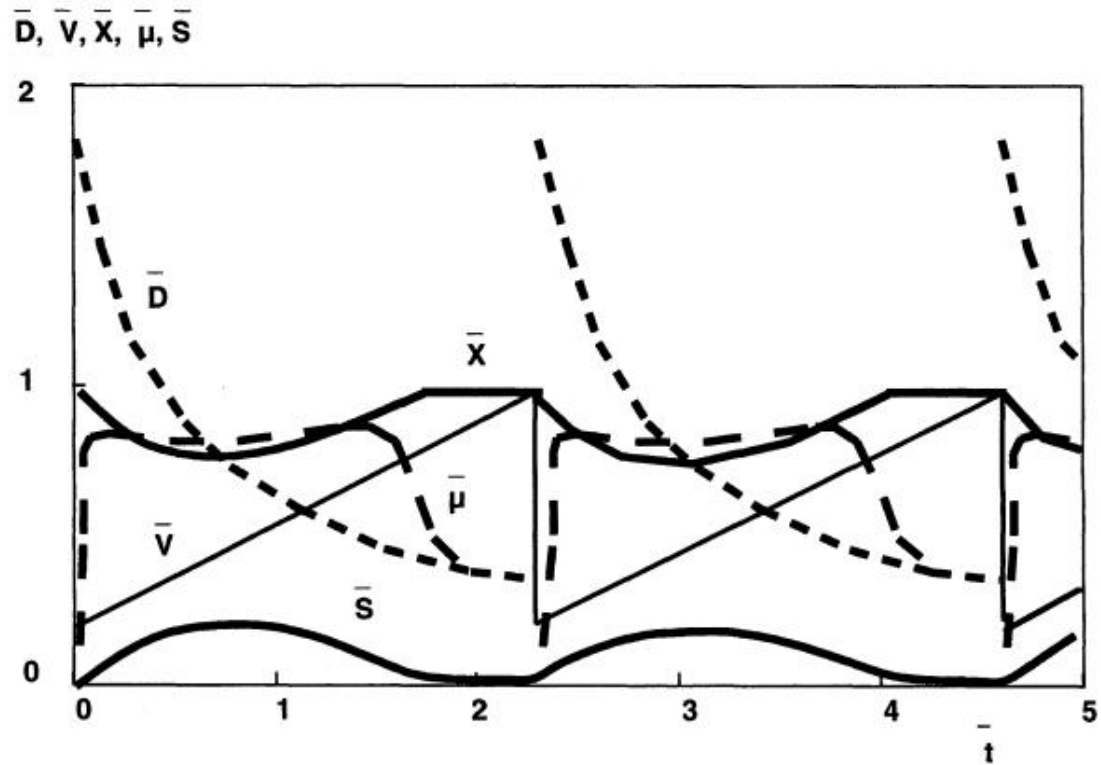
反复流加操作模型

特点：在出料次数频繁时，连续操作的性质增加，会表现出“拟稳态”，产物的空时得率较高。但是，由于过程的持续进行依赖于细胞的生长，因此它对目标产物的生成仅与细胞浓度正相关的过程不适合。

在拟稳态时，产物浓度，
$$C_P = \frac{K}{1-\gamma}$$

$$\gamma = \frac{V_{R0}}{V_{Rm}}$$

$$K = \int_0^{t_F} q_p C_X (\gamma + D_m t) dt$$



底物抑制生长过程的反复补料分批培养动态特性
(两轮操作，将状态参数无量纲化)

小结：由于流加培养操作具有能够有效控制反应液中底物浓度，并能决定流加什么，怎么流加？

因此，是发酵工业中常常使用的，培养微生物获得目的产物的方法。

思考题

- 1、说明采用补料分批培养的指数流加和恒流量流加加料在它们的动力学理由上的区别。
- 2、对恒流量流加、指数流加这两类补料分批培养方式，在操作过程中，是如何控制比生长速率的？有何差别？