

生物工程基础

第三章 细胞反应动力学

3-3 细胞反应过程的得率系数

定义：细胞利用底物所生成生物质或代谢产物量与底物消耗量比值。

黑箱模型中评估**细胞生长**和**代谢产物生成效率**一种重要参数。

对碳源等物质生成细胞或其它产物**潜力**进行定量评价重要参数。

$$Y_{ji} = \frac{\Delta m_j}{\Delta m_i}$$

Δm_j 为第**j**个组分生成绝对量， Δm_i 第**i**个组分消耗绝对量

总体得率系数：对于分批操作，若对过程开始至时间t进行计算，

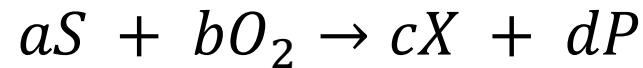
Y_{ji} 为总体得率系数：如细胞对底物的总体得率系数： $Y_{XS} = \frac{c_X(t) - c_{X0}}{c_{S0} - c_S(t)}$

瞬时得率系数：对极小的时间间隔进行计算如

$$Y_{XS} = \frac{dc_X}{-dc_S} = \frac{r_X}{r_S}$$

3-3 细胞反应过程的得率系数

表观得率系数:



质量变化

$$\Delta m_S + \Delta m_O \rightarrow \Delta m_X + \Delta m_P$$

细胞对底物的得率系数

$$Y_{XS} = \frac{\Delta m_X}{\Delta m_S} = \frac{r_X}{r_S}$$

产物对底物的得率系数

$$Y_{PS} = \frac{\Delta m_P}{\Delta m_S} = \frac{r_P}{r_S}$$

3-3 细胞反应过程的得率系数

理论得率系数：

$$\Delta m_{ST} = \Delta m_{SG} + \Delta m_{SM} + \Delta m_{SP}$$

Δm_{ST} ——底物消耗总量；

Δm_{SG} ——用于细胞生长的质量；

Δm_{SM} ——用于维持代谢的质量；

Δm_{SP} ——用于产物生成的质量。

$$Y_{XS}^m = \frac{\Delta m_X}{\Delta m_{SG}}, \quad Y_{PS}^m = \frac{\Delta m_P}{\Delta m_{SP}}$$

由于 $\Delta m_{SG} < \Delta m_{ST}$, $\Delta m_{SP} < \Delta m_{ST}$ 因此

$$Y_{XS}^m > Y_{XS}, \quad Y_{PS}^m > Y_{PS}$$

3-3 细胞反应过程的得率系数

得率系数的实质：

- 反应速率间的比值；
- 环境状态的函数，与细胞的种类及培养基组成有关；
- 效率的度量。细胞生长与代谢在质量和能量上的效率；
 - 生长效率： Y_{XS}
 - 单位底物质量的产物生成效率： Y_{PS}
- 对某个目标产物生成的反应，它表示对底物的收率和选择性，也表示对形成目标产物的代谢途径的迁移程度。

3-3 细胞反应过程的得率系数

常用的得率系数有以下几种定义方式：

以基质消耗为基准的细胞得率系数 Y_{XS}

以氧消耗为基准的细胞得率系数 Y_{XO}

以碳元素消耗为基准的细胞得率 Y_C

细胞反应的代谢产物得率 Y_{PS}

以有效电子为基准的细胞得率 Y_{ave-}

以总有效能为基准的细胞得率 Y_{KJ}

以生成ATP为基准的细胞得率 Y_{ATP}

3-3 细胞反应过程的得率系数

以基质消耗为基准的细胞得率 Y_{XS}

消耗1g 或1 mol 底物所能生成的生物质量称为**细胞得率**或**生长得率** (cell yield or growth yield)

$$Y_{XS} = \frac{\text{生成细胞的质量}}{\text{消耗底物的质量}} = \frac{\Delta X}{-\Delta S}$$

细胞得率的**单位**是g/g或g/mol， 这里细胞指干细胞。

在实际生产中，细胞得率是一个重要的概念，如在单细胞蛋白生产中，选用相对于底物，细胞得率高的菌株是必要的。

几种微生物的细胞得率

微生物	培养基	培养条件	碳源	产物	Y_{XS} g/mol
干酪乳杆菌	复合	厌氧	葡萄糖	乳酸、醋酸、乙醇、甲酸	62.08
无乳链球菌	复合	厌氧	葡萄糖	乳酸、醋酸、乙醇	21.4
	复合	需氧	葡萄糖	乳酸、乙酸、甲酸、3-羟基丁酮	51.6
运动发酵单胞菌	复合	厌氧	葡萄糖	乙醇、乳糖	7.95
	合成	厌氧	葡萄糖	乙醇、乳糖	4.98
	基本	厌氧	葡萄糖	乙醇、乳糖	4.09
产气气杆菌	基本	需氧	葡萄糖	乙醇、乳糖	72.7
	基本	需氧	果糖	乙醇、乳糖	76.1
	基本	需氧	核糖	乙醇、乳糖	56.2
	基本	需氧	琥珀酸	乙醇、乳糖	29.7
	基本	需氧	乳糖	乙醇、乳糖	16.6

3-3 细胞反应过程的得率系数

以氧消耗为基准的细胞得率 Y_{xO}

消耗1g s或1 mol氧所能生成的生物质量称为细胞对氧的得率系数

$$Y_{xO} = \frac{\text{生成细胞的质量}}{\text{消耗氧的质量}} = \frac{\Delta X}{\Delta m_O}$$

细胞得率的单位是g/g或g/mol。

在好氧培养中，由于大部分能量来源于氧化磷酸化途径，因此 Y_{xO} 反应了菌体生长过程中异化代谢的效率。

发酵过程中热的产生和氧的消耗有关， Y_{xO} 的倒数生成1g的菌体所消耗的氧，也反映了发酵过程放热的情况，因而也是反应器设计时关于供氧和冷却方面需要参考的参数。

例题：乙醇为基质，好氧培养酵母，反应方程为：



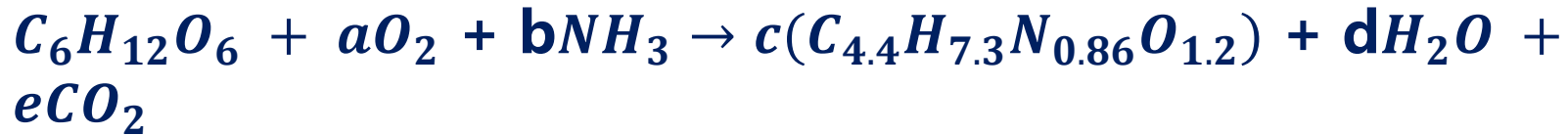
求酵母细胞 $CH_{1.75}N_{0.15}O_{0.5}$ 的培养过程中 Y_{XS} 和 Y_{XO}

解：由定义式

$$Y_{XS} = \frac{\text{生成细胞的质量}}{\text{消耗底物的质量}} = \frac{\Delta X}{-\Delta S} = \frac{0.564(1 \times 12 + 1.75 \times 1 + 0.15 \times 14 + 0.5 \times 16)}{2 \times 12 + 6 \times 1 + 1 \times 16} = 0.292 \text{ (kg/kg)}$$

$$Y_{XO} = \frac{0.564 \times \text{细胞分子量}}{2.394 \times \text{氧的分子量}} = \frac{0.564 \times 23.85}{2.394 \times 32} = 0.176 \text{ (kg/kg)}$$

例题：葡萄糖为碳源， NH_3 为氮源，进行某种细菌的好氧培养，消耗的葡萄糖中有2/3的碳源转化为细胞中的碳，反应方程为：



求上述反应中的得率系数 Y_{XS} 和 Y_{XO}

解：1mol 葡萄糖中含有碳72 g，转化为细胞内的碳为 $72 \times \frac{2}{3} = 48$ g

所以， $c = 48 / (4.4 \times 12) = 0.91$

转化为 CO_2 的碳的质量为：72-48 = 24 g

所以 $e = 24 / 12 = 2$

N平衡：14b = 0.86c × 14 → b = 0.78

H平衡：12 + 3b = 7.3c + 2d → d = 3.85

O平衡：6 + 2a = 1.2c + 2e + d → a = 1.47

消耗1 mol 葡萄糖生成的细胞量：

$0.91 \times (12 \times 4.4 + 7.3 \times 1 + 0.86 \times 14 + 1.2 \times 16) = 83.1$ (g)

所以： $Y_{\text{XS}} = 83.1 / 180 = 0.46$ (g/g); $Y_{\text{XO}} = 83.1 / (1.47 \times 32) = 1.77$ (g/g)

3-3 细胞反应过程的得率系数

以碳为基准的细胞得率

如果反应途径中的含碳化合物分子式全部表示为含1个碳原子的分子式，这样表示的分子的物质的量表示为C-mol，化学计量时的得率系数则以C-mol为计算基准，单位为C-mol/C-mol。例如与**碳元素**相关的**细胞得率**和**产物得率**可表示如下：

$$Y'_{XS} = \frac{\text{细胞产生量} \times \text{细胞含碳量}}{\text{底物消耗量} \times \text{底物含碳量}} = \frac{\Delta m_X \delta_X}{\Delta m_S \delta_S} = Y_{XS} \frac{\delta_X}{\delta_S}$$

$$Y'_{PS} = \frac{\Delta m_P \delta_P}{\Delta m_S \delta_S} = Y_{PS} \frac{\sigma_P}{\sigma_S}$$

$\delta_X, \delta_S, \delta_P$

分别为生物质、底物和产物中所含碳原子的质量分数。

例题：黑醋菌氧化性代谢使D-山梨醇 ($C_6H_{14}O_6$) 转化为L-山梨糖 ($C_6H_{12}O_6$, P), 同时生成二氧化碳和细胞生物质。



试导出表观得率系数 Y'_{XS} 和 Y'_{PS} 表示为RQ和 Y'_{OS} 的计算式。

解

由C-mol为基准作碳平衡计算, 则有:

$$Y'_{XS} + Y'_{PS} + Y'_{CS} = 1$$

由还原度平衡可得:

$$k_X Y'_{XS} + k_P Y'_{PS} - k_S - (-4) Y'_{OS} = 0$$

又由

$$Y'_{CS} = RQ \times Y'_{OS}$$

由以上各式，可导出：

$$Y'_{XS} = \frac{(4 - k_P RQ) Y_{OS} + k_P - k_S}{k_P - k_X}$$

$$Y'_{PS} = \frac{(k_X RQ - 4) Y_{OS} + k_S - k_X}{k_P - k_X}$$

设 $k_S=4.33$, $k_X=4.2$, $k_P=4$, 则：

$$Y'_{XS} = 1.65 - 20(RQ)Y'_{OS}$$

$$Y'_{PS} = -0.65 + (20 - 21RQ)Y'_{OS}$$

由于好氧培养时 Y_{OS}' 与通气速率有关，因此可通过调节通气速率和生理特性参数 RQ 的途径确定最优的生长得率或产物得率。

3-3 细胞反应过程的得率系数

几种微生物以碳为基准的得率系数的实测值

微生物	基质	Y_{XS}'
<i>Klebsiclla aerogenes</i>	葡萄糖	0.49-0.56
<i>Candida utilis</i>	葡萄糖	0.53-0.59
<i>Candida utilis</i>	乙醇	0.58-0.68
<i>Candida brassicae</i>	乙醇	0.47-0.54
<i>Mycobacterium phlei</i>	正烷烃混合物 (C14-C17)	0.65-0.75

3-3 细胞反应过程的得率系数

代谢产物对底物的得率系数 Y_{PS}

在以获得某种代谢物为目的的发酵过程中，最理想的状态是底物的消耗完全用于产物的合成。理论上，微生物反应的代谢产物得率可达到最大值，该值被称为**理论代谢产物得率**，其值可由微生物反应的计量关系式获得。例如，酵母菌利用葡萄糖进行乙醇发酵时，如果葡萄糖全部转化为乙醇，反应平衡式为：



可得：

$$Y_{PS}^m = \frac{2 \times 46}{180} = 0.51 \text{ (g/g)}$$

但通常情况下，微生物的代谢途径很难掌握，可根据碳源衡算和反应动力学参数进行计算。

3-3 细胞反应过程的得率系数

以能量为基准的细胞得率

由于不能直接从所消耗的底物推算出所期待的细胞得率。因此可以从不同底物（如碳源）的细胞得率，换算呈同一基准的能量来评价。

当底物为碳源时：

- 1) 被同化部分以**有效电子**为基准的细胞得率 Y_{ave-} 和总有效能为基准的细胞得率 Y_{kJ} 。
- 2) 被异化的部分碳源是以生成的**ATP**为基准的细胞得率 Y_{ATP} 。

3-3 细胞反应过程的得率系数

以有效电子为基准的细胞得率 Y_{ave-}

微生物反应的特点之一是通过呼吸链（电子传递链）氧化磷酸化为ATP。碳源的分子大小不同，1 mol碳源氧化产生能量不同。

在氧化过程中，可通过有效电子数来推算碳源的能量，当1 mol 碳源完全氧化时，所需要氧的mol数的4倍，称为该底物的有效电子数。

若碳源是葡萄糖，其完全燃烧时每摩尔葡萄糖需要6摩尔氧，所以有效电子数为 $6 \times 4 = 24$

基于有效电子数的细胞得率定义式为：

$$Y_{ave-} = \frac{\Delta X}{\text{底物完全燃烧所需氧的摩尔数} \times 4 \text{ ave-}/\text{mol氧}}$$

计算方法举例：

以葡萄糖为碳源，产气气杆菌的 $Y_{XS} = 72.7$ (g细胞/mol 葡萄糖)，葡萄糖的有效电子数为24 ave-/mol 葡萄糖，所以产期气杆菌的 $Y_{ave-} = 72.7/24 = 3$ (g细胞/ave-)

3-3 细胞反应过程的得率系数

以总有效能为基准的细胞得率 Y_{kJ}

Y_{kJ} 表示微生物细胞所释放的热量相关联，其定义是消耗1 kJ热量所获得干细胞的克数，g 细胞/kJ

基于总有效能的细胞得率定义式为：

$$Y_{kJ} = \frac{\Delta X \text{ (细胞生成量)}}{Ea(\text{细胞储存的自由能}) + Eb(\text{分解代谢所释放的自由能})}$$

Ea 可通过细胞的燃烧热 $\Delta Ha = 22.15 \text{ kJ/g}$ 细胞

Eb 可采用消耗的碳源与代谢产物各自燃烧热之差获得。

多数微生物在好氧培养时的 Y_{kJ} 值为0.028 g 细胞/kJ，在厌氧培养时 Y_{kJ} 的平均值为0.031 g细胞/kJ。对于光能自养微生物，如藻类的 Y_{kJ} 为0.002 g细胞/kJ。

另外， Y_{kJ} 与微生物的反应热相关，可用于微生物反应过程中的能量衡算，表示在微生物反应过程中有多少能量用于细胞合成。

3-3 细胞反应过程的得率系数

以生成ATP为基准的细胞得率 Y_{ATP}

微生物进行细胞合成、物质代谢、能量输送等活动中，所需的能量时由底物氧化而得，但这些能量并不能完全被利用，在底物氧化所产生的自由能中仅以ATP形式回收储存的能量才能为作为生命活动的能量，其余为反应热（代谢热）排出反应系统。因此，以底物异化代谢产生**ATP为基准**生成细胞的得率系数 Y_{ATP} 定义为：

$$Y_{ATP} = \frac{\Delta X \text{ (细胞生成量)}}{\Delta ATP} = \frac{Y_{XS} M_S}{Y_{ATP,S}}$$

式中， $Y_{ATP,S}$ 为相对于底物的ATP生成得率（mol ATP/mol 底物）， M_S 为底物的分子量。

一些微生物的 Y_{XS} 和 Y_{ATP}

微生物	碳源	Y_{XS} g/mol	Y_{ATP} g/mol
产气气杆菌	葡萄糖	26.1	10.3
	果糖	26.7	10.7
	甘露醇	21.8	10.0
阴沟气杆菌	葡萄糖	25.8	11.5
布氏放线菌	葡萄糖	24.7	12.3
双叉双歧杆菌	葡萄糖	37.4	13.1
	乳糖	52.8	10.4
大肠杆菌	葡萄糖	24.0	9.4
<u>植物乳杆菌</u>	葡萄糖	18.8	11.0
运动发酵单胞菌	果糖	9.2	9.2

3-3 细胞反应过程的得率系数

好氧反应中，除底物水平磷酸化生成ATP（厌氧反应）外，还通过氧化磷酸化反应生成大量ATP，因此好氧 Y_{ATP} 大于厌氧。这增加了正确计算 Y_{ATP} 的难度。氧化磷酸化反应的效率通常采用其被酯化的无机磷酸分子数和此时所消耗的氧原子数之比，简称**P/O**来表示，即用每消耗1原子氧生成ATP分子的数量来表示。

一般酵母的 $P/O=1.0$ ；细菌的 P/O 为0.5-1.0。

例题：荧光假单胞菌好氧培养，已知 $Y_{XS}=180\text{ g/mol}$ ， $Y_{XO}=30.4\text{ g/mol}$ ，每消耗1mol 葡萄糖可生成 2 mol ATP，氧化磷酸化P/O=1，求 Y_{ATP} 。

解：根据 Y_{XS} 和 Y_{XO} 的定义，每消耗1mol的葡萄糖，可得到菌体： $\Delta X=180\text{ g}$

消耗氧： $Y_{XO} = \frac{\Delta X}{\Delta O_2} \rightarrow \Delta O_2 = \frac{\Delta X}{Y_{XO}} = \frac{180}{30.4} = 5.92\text{ mol}$

根据P/O=1，生成ATP的量为 $\Delta ATP = 5.92 \times 2 = 11.84\text{ mol}$

则 $Y_{ATP} = \frac{\Delta X}{\Delta ATP} = \frac{180}{11.84+2} = 13.0\text{ (g/mol)}$

3-3 细胞反应过程的得率系数

表 4-2 部分表观得率系数的定义

符号	定义	符号	定义
Y_{XS}	消耗 1mol 或 1g 底物所能生成的生物质量	Y_{CS}	消耗 1mol 或 1g 底物所能生成的二氧化碳量
Y_{PS}	消耗 1mol 或 1g 底物所能生成的产物量	RQ	消耗 1mol 氧所释放的二氧化碳的物质的量
Y_{PX}	生成 1mol 或 1g 生物质时所有的产物生成量	Y_{ATP}	生成 1mol ATP 时所能生成的生物质量
Y_{XO}	消耗 1mol 或 1g 氧所能生成的生物质量	Y_{XH}	生成 1kJ 生物热时所有的生物质生成量

Y_{XS} 适用于比较不同底物的转化效率

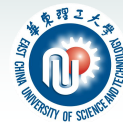
Y_C 适用于考察底物中有多少碳转化为细胞中的碳

Y_{ave-} 表示了反应的能量需求，把细胞的生长效率与其代谢相关联

Y_{ATP} 把不同底物分解代谢中得到的可以利用的能量与生长效率相关联

小结

- 在细胞反应工程中，通过对细胞反应进行**计量学**分析，可得到细胞得率，代谢产物得率
- 根据实际需要，可选取不同的基准计算**细胞得率**
- 计算得到的得率系数可用于评价细胞消耗某种基质（特别是碳源）合成细胞自身或其它产物的**潜力**



作业

某细胞反应平衡式为：



若上述反应中：m=2, l=1, p=13/8, n=1/2, q=1/3。

试求该平衡式中计量系数a、b、c和RQ值，以及Y_{x/s}和Y_{x/o}的值

谢谢!