

发酵动力学教学释疑解难尝试

韩文清¹ 任志龙¹ 张锐¹ 张明斗² 张邦建^{1*}

(1. 包头轻工职业技术学院生物工程系 内蒙古 包头 014035)

(2. 包头市土右旗职业技术教育中心 内蒙古 包头 014100)

摘要: 在发酵动力学课程教学中, 针对菌体生长速率与菌体比生长速率、菌体实际生长得率系数($Y_{x/s}$)与理论生长得率系数(Y_{gs})、产物实际得率系数($Y_{p/s}$)与理论得率系数(Y_{ps})、补料分批发酵中比生长速率调控等常见知识难点进行了释疑解难尝试, 收到了较好的课堂教学效果。

关键词: 菌体生长速率与比生长速率, 实际得率与理论得率, 比生长速率调控, 释疑解难, 课堂教学效果

Attempt of Trying to Solve the Questions and Difficulties in the Teaching of Fermentation Kinetics

HAN Wen-Qing¹ REN Zhi-Long¹ ZHANG Rui¹ ZHANG Ming-Dou²
ZHANG Bang-Jian^{1*}

(1. Biology Engineering Department of Baotou Light Industry Vocational Technical College, Baotou, Inner Mongolia 014035, China)

(2. The Center of Vocational Education in Tuyouqi in Baotou, Baotou, Inner Mongolia 014100, China)

Abstract: In the course of teaching of the fermentation kinetics, these doubts were cleared up by attempts to get the good result of the classroom teaching, which are the biomass growth rate and specific growth rate, the biomass actual yield coefficient ($Y_{x/s}$) and the theoretical yield coefficient of growth (Y_{gs}), the actual product yield coefficient ($Y_{p/s}$) and the theoretical product yield coefficient (Y_{ps}), specific growth rate control in fed-batch fermentation and other difficulties.

Keywords: Biomass growth rate and specific growth rate, The actual yield and theoretical yield, Specific growth rate control, Clear up doubts, Classroom teaching

发酵动力学是研究生物反应过程中菌体生长、基质消耗、产物生成的动态平衡及其内在规律的一门科学。具体内容有微生物生长过程中质量的平衡、发酵过程中菌体的生长速率、基质消耗速率和产物生成速率的相互关系、环境因素对三者的影响以及

影响反应速率的因素。这些内容的研究, 有助于我们更加深入地认识和掌握发酵过程, 为工业发酵的模拟、优化和控制打下良好的理论基础, 所以对发酵动力学知识的理解和掌握是学好发酵工艺学课程的关键^[1-2]。

在讲授发酵工艺学课程的 3 年教学实践中,笔者感觉选用的教材中一些概念、术语等知识点对高职高专学生来说较为抽象、概括,存在理解、接受较为困难的现象,而一些高职教材又没有妥善处理这些知识点,只是简单沿用和压缩大学本科教材的内容^[3],造成了高职理论教学的欠缺和不足。笔者在课堂教学中试图对这些抽象的知识点逐一进行剖析分析,使问题的理解具体化、直观化,贴近学生的认知水平,以期获得好的教学效果。现分述如下。

1 释疑解难一: 菌体生长速率(u_x)与菌体比生长速率(μ)

教材[4]中叙述到,微生物发酵过程的动力学描述常采用群体来表示。微生物群体的生长速率反映群体生物量的生长速率,一般指群体平均值。

在液体培养基中微生物群体生长(包括细胞体积的增大和群体细胞数量的增加),其生长速率通常用单位体积来表示,指单位体积、单位时间里生长的菌体量(菌体量一般指其干重);比生长速率是表示单位细胞浓度的菌体生长速率,即菌体的生长速率再除以菌体浓度。在平衡条件下,菌体生长速率 u_x 、比生长速率 μ 的定义式分别为^[1,4]:

$$u_x = \frac{dX}{V \cdot dt} = \frac{dc(x)}{dt} \quad (1-1)$$

$$\mu = \frac{u_x}{c(x)} = \frac{dc(x)}{c(x)dt} \quad (1-2)$$

式中, t : 时间, 单位是 h;

V : 发酵液体积, 单位是 L;

X : 菌体干重, 单位是 g;

$c(x)$: 菌体浓度, 单位是 g/L;

μ : 菌体比生长速率, 单位是 h^{-1} ;

u_x : 菌体生长速率, 单位是 $g/(L \cdot h)$ 。

菌体生长速率 u_x 与菌体比生长速率 μ 在表示菌体动态生长过程上到底有何不同? 为便于学生理解这个问题,在教学中举实际数例进行了说明: (1) 设甲发酵罐, 原有菌体浓度 $c(x) = 100 \text{ g/L}$, 若 $u_x = 1 \text{ g/(L} \cdot \text{h)}$, 则有 $\mu = 1/100 \text{ h}^{-1}$; (2) 设乙发酵罐, 原有菌体浓度 $c(x) = 10 \text{ g/L}$, 若 $u_x = 1 \text{ g/(L} \cdot \text{h)}$, 则有 $\mu = 1/10 \text{ h}^{-1}$;

通过数据举例分析, 学生就会明白, 虽然两罐菌体生长速率 u_x (单位时间单位体积菌重增长量)相

等, 但由于浓度(生长基数)不一样, u_x 并不能客观反映两罐菌体的活力状态, 所以用菌体的生长速率 u_x 除以菌体浓度, 才能如实表示菌体真正生长速率, 这个参数就是比生长速率 μ 。

引导学生理解概念的基础上, 可进一步指明, 比生长速率 μ 是发酵工艺控制中一个很有用的动态变量, 在某些代谢产物的发酵生产中, 产物的比生成速率与菌体比生长速率(在一定范围内)有很强的相关性^[5-7], 所以调节发酵液中微生物细胞的比生长速率显得尤为关键; 但这个指标不能直接测量得到, 需要根据动力学方程式分析计算(得出 $\mu = D$, D 为稀释率), 往往通过调节补加料液的流量 F ($F/V = D$, F 为补料培养基的流量, V 为发酵罐中培养基的体积)来进行控制。

$$\text{同理, } -u_s = \frac{-dc(s)}{dt},$$

$$-Q_s \text{ (基质比消耗速率)} = \frac{-u_s}{c(x)} \quad (1-3)$$

$$u_p = \frac{dc(p)}{dt},$$

$$Q_p \text{ (产物的比生成速率)} = \frac{u_p}{c(x)} \quad (1-4)$$

$-u_s$: 基质的消耗速率, $g/(L \cdot h)$;

$c(s)$: 发酵液中基质浓度, g/L ;

$-Q_s$: 基质的比消耗速率, $g/(g \cdot h)$;

u_p : 产物生成速率, $g/(L \cdot h)$;

$c(p)$: 发酵液中产物浓度, g/L ;

Q_p : 产物比生成速率, $g/(g \cdot h)$ 。

2 释疑解难二: 菌体实际生长得率系数($Y_{x/s}$)与理论生长得率系数(Y_{gs}), 产物实际得率系数($Y_{p/s}$)与理论得率系数(Y_{ps})

在教材[4]中都提到了这几个概念, 但没有引入铺垫, 学生有点不知所云。若想弄清楚实际得率与理论得率的区别, 首先要明确发酵过程基质消耗的去向, 不外乎用于 3 个方面, 即维持、菌体生长和产物合成^[2], 于是有:

$$-\Delta S = (-\Delta S)_M + (-\Delta S)_G + (-\Delta S)_P \quad (2-1)$$

$-\Delta S$: 基质消耗总量;

M : (下标)表示维持;

G : (下标)表示菌体生长;

p: (下标)表示产物合成;

$(-\Delta S)_M$: 只用于维持代谢的基质消耗量, g;

$(-\Delta S)_G$: 只用于细胞生长的那部分基质消耗, g;

$(-\Delta S)_P$: 只用于产物生成的那部分基质消耗, g。

为了理解上面式子所表示意思, 还需要学习 3 个概念。

2.1 维持及维持因数

“维持”是指活细胞群体在没有实质性生长(即生长和死亡处于动态平衡状态)和没有胞外代谢产物合成情况下的生命活动。所需能量由细胞物质的氧化或降解产生。这种用于“维持”的物质代谢称为维持代谢, 也叫内源代谢。维持代谢没有物质的净合成, 是为在宏观上保持细胞物质总量平衡而进行的分解代谢。

我们把单位质量干菌体在单位时间内因维持代谢而消耗的基质量定义为维持因数(公式 2-2), 它是微生物菌株的一种特性值, 其值越低, 菌株的能量代谢效率越高。

$$m_s = \frac{1}{X} \times \left(\frac{-dS}{dt} \right)_M = \frac{1}{c(x)} \times \left[\frac{-dc(s)}{dt} \right]_M \quad (2-2)$$

m_s : 以基质消耗表示的维持代谢系数(维持因数), g/(g·h);

X : 菌体干重, g;

S : 基质量, g;

M : (下标)表示维持;

$c(x)$: 菌体浓度, g/L。

2.2 生长得率

菌体的生长量相对于基质消耗量的收得率叫做生长得率(也称实际生长得率, 用 $Y_{x/s}$ 表示), 其定义式为:

$$Y_{x/s} = \Delta X / -\Delta S \quad (2-3)$$

如果把上式右边分母 $(-\Delta S)$ 换成只与细胞生长有关那部分基质消耗(不包括维持代谢和产物合成消耗), 可得出生长得率的另一种表达式:

$$Y_{gs} = \Delta X / (-\Delta S)_G \quad (2-4)$$

纯生长得率(Y_{gs})是理论生长得率, 为生长得率的极限值, 关于特定的基质及在特定环境条件下培养的特定微生物菌株, 它是一个常数, 也称为最大生长得率。

2.3 产物得率

和生长得率一样, 相对于基质消耗量的代谢产物收得率, 也可以分为实际产物得率($Y_{p/s}$)和理论产

物得率(Y_{ps} , 即最大产物得率)两种, 它们的定义分别为:

$$Y_{p/s} = \Delta P / -\Delta S \quad (2-5)$$

$$Y_{ps} = \Delta P / (-\Delta S)_P \quad (2-6)$$

理论产物得率决定于产物的生物合成途径, 故对于由特定基质经特定途径产生的特定产物来说, 它是一个常数, 不因菌株和发酵条件的不同而异。而实际产物得率随菌株代谢效率和发酵条件的不同呈现很大的差异。

为了使上述几个抽象的概念简单直观化, 我们就公式(2-1)通过实际数据举例分析说明:

$$-\Delta S = (-\Delta S)_M + (-\Delta S)_G + (-\Delta S)_P \quad (2-7)$$

$$(-5 \text{ g}) = (-1 \text{ g}) + (-2 \text{ g}) + (-2 \text{ g})$$

基质转换结果: ΔX : 1 g, ΔP : 0.5 g;

实际得率: $Y_{x/s} = 1/5$, $Y_{p/s} = 0.5/5$;

理论得率: $Y_{gs} = 1/2$, $Y_{ps} = 0.5/2$ 。

上式表示每消耗 5 g 营养基质, 使用分配规律是, 1 g 基质用于“维持”, 2 g 用于菌体生长, 另 2 g 只用于产物生成。假设菌体增长量 ΔX 为 1 g, 产物生成量 ΔP 为 0.5 g; 则菌体实际生长得率 $Y_{x/s} = 1/5$, 理论生长得率 $Y_{gs} = 1/2$; 实际产物得率 $Y_{p/s} = 0.5/5$, 理论产物得率 $Y_{ps} = 0.5/2$, 一个看似复杂的问题变得很简单明了了。

以上式中,

X : 菌体干重, g;

ΔX : 干菌体的生长量, g;

S : 基质量, g;

$-\Delta S$: 基质消耗总量, g;

ΔP : 产物生成量, g;

$Y_{x/s}$: 以基质消耗表示的菌体得率系数(即每单位基质变化量产生的菌体变化量), g/g;

Y_{gs} : 以基质消耗表示的菌体纯生长得率系数(理论生长得率系数), g/g;

$Y_{p/s}$ 、 Y_{ps} : 分别以基质消耗表示的实际产物、理论产物得率系数, g/g。

3 释疑解难三: 补料分批发酵中比生长速率的调控

教材[4]在发酵工艺控制部分提出了两个问题:

(1) 调节增加比生长速率与菌体浓度的控制存在着矛盾; (2) 通过调节补料液中生长限制性基质的浓度可以解决这个矛盾。可是教材对为什么会存在矛

盾和上述方法何以能解决这个矛盾, 分析讲解得不够透彻明了。

我们先探讨第 1 个问题, 比生长速率的增加为什么会与菌体浓度的增加存在矛盾呢? 菌体(细胞)浓度(简称菌浓)是指单位体积培养液中菌体的含量, 它是工业发酵控制上的一个重要参数。菌浓的大小与菌体生长速率有密切关系, 按比生长速率定义理解, 比生长速率大的菌体, 菌浓增长也迅速, 反之就缓慢^[2]。但这种情况成立的前提是菌浓还没有达到最大值, 因为菌体浓度存在有极限值。

我们试想一下, 对于需氧型微生物, 随着菌浓的增加, 在营养物质消耗加快的同时, 必然要求培养液有较高的溶氧, 即培养液的摄氧率(OUR)会按比例增加 $[OUR = Q_{O_2} \times c(x), Q_{O_2}$ 为呼吸强度, 即单位重量干菌体每小时耗氧量, $c(x)$ 为菌体浓度]; 此时发酵液表观黏度也增加, 流体学性质也发生改变, 会使氧的传递速率(OTR)成对数地减少^[2]。当需氧速率大于供氧速率($OUR > OTR$)时, 随培养时间的延长, 发酵液中溶解氧就会逐渐减少, 并成为菌体生长的限制性因素。所以摄氧速率与传氧速率相平衡($OUR = OTR$)时的菌体浓度, 是实际生产上菌体浓度所能达到的一个最大值, 也称之为临界菌体浓度。

在补料分批发酵(或连续发酵)中, 通过调节增大稀释率(D), 使比生长速率增大($\mu = D$), 此时产物的合成速率也相应得到提高; 但随着比生长速率的逐渐增加, 就可能使菌体浓度达到甚而超过最大菌浓(临界菌体浓度), 此时产物的合成速率就不再会升高反而下降, 这是生产上所不希望出现的结果。所以在客观上就存在着比生长速率的控制和菌体浓度的控制矛盾。

我们再讨论第 2 个问题, 为什么能通过对补料液中生长限制性基质浓度的调节, 就可以解决比生长速率的控制和菌体浓度的控制的矛盾呢? 我们知道, 在补料分批发酵(或连续发酵)中, 准恒状态下, 比生长速率(μ)即等于稀释率(D), 所以在发酵生产中(抗生素等次级代谢产物的生产), 为了达到所要求的比生长速率(临界比生长速率), 可通过增加稀释率来实现; 考虑到又不能使菌体浓度过多增加, 那么就将补加的料液浓度处理得较为低些, 加入后就对发酵液中总的菌体有很大的稀释作用, 这样就

解决了通过稀释率的增加提高了比生长速率、但又很好地控制了菌体浓度增加的问题, 使其始终保持在临界菌体浓度安全范围内, 让发酵过程处于一种高效合理的生产状态。但改变生长限制性基质浓度在生产上不利于实现, 现实的做法是将补料液中的生长限制性基质固定在较高水平上, 而采用补水的方法调节稀释率和比生长速率。

相反, 有的发酵生产(如氨基酸、维生素等初级代谢产物的生产), 要求较高的菌体浓度, 但不要求有高的比生长速率^[6-8]。在生产中补料时就要减少稀释率及比生长速率, 但又不能使菌体浓度减少, 此时就可以提高补料液中生长限制性基质浓度。

对以上两个问题解析的同时结合补料分批发酵实例辅以说明, 学生理解起来就更容易些了。

4 结语

笔者在讲授“发酵动力学基本概念”一节教学内容时, 为了便于难点突破, 遵循了概念的理解由抽象到具体再上升为抽象的认知原则, 循序渐进, 引领学生在 40 min 内, 完成了菌体生长速率与比生长速率、菌体实际生长得率系数($Y_{x/s}$)与理论生长得率系数(Y_{gs})、产物实际得率系数($Y_{p/s}$)与理论得率系数(Y_{ps})等基本概念、公式的学习, 学生理解掌握情况较往届大为改观。我注重在传授知识的同时训练学生科学的思维方法, 有效地发挥了教师的课堂主导作用^[9]。特别是讲解过程中引用数据说明的方式, 使问题变得更直观明了, 简单易学。这种对概念的辨析和理解方法, 也得到了听课老师们的认同, 尤其较为轻松的学习气氛更为大家所赞赏。该部分教学内容处理和讲解的成功, 进一步增加了我今后做好教学工作的信心和热情。

参考文献

- [1] 宋超先. 微生物与发酵基础教程. 天津: 天津大学出版社, 2007: 175-190.
- [2] 熊宗贵. 发酵工艺原理. 北京: 中国医药科技出版社, 2001: 132-159.
- [3] 郭慧珍. 建设优质高职教材的制约因素及建议. 中国编辑, 2009(2): 26-28.
- [4] 于文国. 微生物制药及反应器. 北京: 化学工业出版社, 2005: 59-75.

- [5] 扶教龙, 杭海峰, 郭美锦, 等. 金色链霉菌连续培养特性及其动力学研究. 高校化学工程学报, 2004, **18**(1): 67-72.
- [6] 王英臣. 菌体比生长速率的酒精发酵动力学研究. 酿酒科技, 2005(9): 48-51.
- [7] 张昀羿, 李元广, 金建, 等. SAM 产生菌酿酒酵母 HYS98 发酵动力学及比生长速率控制策略. 过程工程学报, 2005, **5**(3): 322-326.
- [8] 史新元, 戚以政, 谭天伟. 酵母生产麦角固醇流加培养过程的优化. 北京化工大学学报, 2001, **28**(2): 1-3.
- [9] 林海萍, 张立钦, 张昕, 等. 创新应用型人才培养的课堂教学改革. 微生物学通报, 2009, **36**(12): 1912-1915.

征 稿 简 则

1 刊物简介与栏目设置

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办的, 以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括: 工业微生物学、海洋微生物学、环境微生物学、基础微生物学、农业微生物学、食品微生物学、兽医微生物学、药物微生物学、医学微生物学、病毒学、酶工程、发酵工程、代谢工程等领域的最新研究成果, 产业化新技术和新进展, 以及微生物学教学研究和改革等。设置的栏目有: 研究报告、专论与综述、生物实验室(原技术与方法)、高校教改纵横(原高等院校教学)、名师名课(原名师讲堂)、教学与科研成果展示、显微世界、专题专栏、专家论坛、书讯、会讯等。

2 投稿方式

投稿时请登陆我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/wwxtbcn>, 点击作者投稿区, 第一次投稿请先注册, 获得用户名和密码, 然后依照提示提交稿件, 详见主页“投稿、征稿须知”。

作者必须在网站投.doc 格式的电子稿, 图与文字编好页码、图号后合成一个文件上传。凡不符合(投稿须知)要求的文稿, 本部恕不受理。

3 写作要求

来稿要求论点明确, 数据可靠, 简明通顺, 重点突出。

3.1 篇幅

以 A4 纸 5 号字计算, 综述、教学和方法类文章最好在 4 页以内, 研究报告 4-7 页(以上均包括图表)。

3.2 图表

文中的图表须清晰简明, 文字叙述应避免与图表重复。所有小图的宽度应小于 8 cm(占半栏), 大图的宽度应小于 17 cm(通栏)。

3.3 参考文献及脚注

参考文献按文内引用的先后顺序排序编码, 未公开发表的资料请勿引用。我刊的参考文献需要注明著者(文献作者不超过 3 人时全部列出, 多于 3 人时列出前 3 人, 后加“等”或“*et al.*”, 作者姓前、名后, 名字之间用逗号隔开)、文献名、刊名、年卷期及页码。国外期刊名可以缩写, 但必须标准, 不加缩写点, 斜体。参考文献数量不限。

参考文献格式举例:

- 期刊: [1] 刘杰, 成子强, 史宣玲. SARS 冠状病毒 *nsp14* 基因的克隆和表达. 微生物学通报, 2007, **34**(2): 1-3.
- [2] Kajiura H, Mori K, Tobimatsu T, *et al.* Characterization and mechanism of action of a reactivating factor for adenosylcobalamin-dependent glycerol dehydratase. *J Biol Chem*, 2001, **276**(39): 36514-36519.
- 图书: [3] 钱存柔, 黄仪秀. 微生物实验教程. 北京: 北京大学出版社, 2000: 4.
- [4] 董志扬, 张树政, 方宣钧, 等. 海藻的生物合成及抗逆机理//华路等. 核农学进展. 北京: 中国农业出版社, 1996: 115-120.

脚注(正文首页下方):

基金项目: 项目(No.)

*通讯作者: Tel: ; Fax: ; E-mail:

收稿日期: 2010-00-00; 接受日期: 2010-00-00

(下转 p.760)