

能量耗损相关底物消耗对微生物产率的影响*

刘 雨 高大林 杨学富

(北京轻工业学院化学工程系, 北京 100037)

摘要 根据底物反应平衡, 提出在底物充分的条件下, 微生物消耗的底物总量等于微生物生长所利用的量、微生物维持代谢所利用的量及由于能量代谢分离而消耗的量之和。由此, 建立了描述在底物充分的条件下, 微生物产率与剩余底物浓度相应关系的动力学模型, 证明了观测到的产率随剩余底物浓度的增加而减少的现象。此模型能很好地与实验数据相符。结果表明随剩余底物浓度的增加, 微生物的产率可下降 70% 左右。

关键词 产率, 底物充分条件, 剩余底物浓度, 能量耗损, 动力学模型。

Effect of Substrate Consumption on Growth Yield*

Yu Liu Dalin Cao Xuefu Yang

(Department of Chemical Engineering, Beijing Institute of Light Industry, Beijing 100037, China)

Abstract Based on a balance of substrate reaction, in this study, the total quantity of substrate consumed by microorganisms is taken to be the sums of the quantity of substrate utilization for growth, the quantity of substrate utilization for maintenance and that due to energy spilling. A kinetic model is proposed to describe the dependence of the observed growth yield on residual substrate concentration for substrate-sufficient culture. It is demonstrated that the observed growth yield decreases with increasing the residual substrate concentration. This model describes the literature data satisfactorily. Results show that as the residual substrate concentration increased, the observed growth yield was reduced by more than 70%.

Keywords growth yield, substrate-sufficient culture, residual substrate concentration, energy spilling, kinetic model.

许多研究利用 Pirt 方程来确定微生物的维持能系数和产率^[1-3]。根据 Pirt 理论, 微生物比增长率对其产率有直接影响。已经知道, 微生物在底物充分的条件下, 其底物比去除率、维持需求量和产率等代谢情况都与底物有限的条件下不同^[2, 4-7]。实际上, 大量的研究表明, 在底物充分的条件下, 无论是连续培养还是间歇培养, 观测到产率 Y_{obs} 都随剩余底物浓度的增加而显著减少^[2, 10, 11]。Pirt 理论对底物充分环境下产率随底物的变化情况不能提供有力的解释。Tsai 等人^[5]引入了底物过度利用的概念来解释在底物充分条件下微生物的特殊行为。直到目前, 在建立 Y_{obs} 同剩余底物浓度的定量表达式上的研究还是非常有限的。本研究的主要目的就是建

立 Y_{obs} 与剩余底物浓度的定量模型。

1 Y_{obs} 模型的建立

根据 Pirt^[1] 的维持能方程, 微生物所需的与生长无关的能量被归结为微生物自身的维持作用, 在限制性底物环境下, 其关系可用方程 (1) 来描述:

$$\frac{1}{Y_{obs}} = \frac{1}{Y_g} + \frac{m_s}{\mu_{obs}} \quad (1)$$

式中, Y_{obs} 是观测到的产率, Y_g 是真实产率, μ_{obs}

* 中国教育部海外归国学者科学研究基金资助 (Supported by the Return Chinese Oversea Scholar Fund)

刘雨: 男, 33 岁, 博士后, 教授

收稿日期: 1998-07-30

是观测到的微生物比增长率, m_s 是维持代谢系数。

根据底物的相对多少, 微生物的生长条件可分为底物有限条件和底物充分条件. 本研究仅限于恒化器底物充分条件. 在此条件下, 底物被微生物消耗形成能量和多种细胞内代谢物. 然后这些代谢产物和能量被用于合成生物体、维持代谢需要和形成其它产物, 同时在生物体更新过程中, 也可能通过能量的消耗或无用的循环而消耗掉, 特别是在底物充分的环境下更是如此. 根据底物质量平衡, 底物的消耗总量 (ΔS) 可认为是用于生长的消耗量 (ΔS_g)、用于维持代谢的消耗量 (ΔS_m) 及能量耗损部分 (ΔS_w) 之和, 即:

$$\Delta S = \Delta S_g + \Delta S_m + \Delta S_w \quad (2)$$

式(2)相对于现存的维持能理论, 其特点是考虑了由于能量溅溢而引起的底物消耗. 如果能量代谢能很好地与微生物合成代谢所需的能量相匹配, ΔS_w 就可以忽略. 然而, 在细胞中, 底物的消耗不能有效地调整到与细胞外底物水平相适合^[8, 9]. 由此造成了底物充分条件下比底物有限条件下有更高的底物消耗率和更低的产率. 这可能是由于无用循环、能量耗损、合成能量代谢分离及呼吸链的改变等使底物过度利用^[5, 6, 10].

Zeng 等人^[6]提出了一个半经验模式来描述在底物充分、连续的条件下, 底物的过度消耗量 (Δq_w):

$$\Delta q_w = (\Delta q_w)_{\max} \frac{c_s - c_s^*}{c_s - c_s^* + K_s^*} \quad (3)$$

式中, Δq_w 是底物充分条件下底物的过量消耗率; $(\Delta q_w)_{\max}$ 是底物的最大过量消耗率; c_s 是剩余底物浓度; c_s^* 是底物限制性培养中临界底物浓度; K_s^* 是饱和系数.

用生物体的增长量 (ΔX) 去除式(2), 可得式(4):

$$\frac{\Delta S}{\Delta X} = \frac{\Delta S_g}{\Delta X} + \frac{\Delta S_m}{\Delta X} + \frac{\Delta S_w}{\Delta X} \quad (4)$$

根据产率的概念, 可得以下产率表达式:

真实产率 (Y_g):

$$Y_g = \frac{\Delta X}{\Delta S_g} = \frac{\mu_g}{q_g} \quad (5)$$

式中, μ_g 和 q_g 分别是真实比生长率和用于生长的底物比消耗率.

观测到产率 (Y_{obs}):

$$Y_{\text{obs}} = \frac{\Delta X}{\Delta S} = \frac{\mu_{\text{obs}}}{q_{\text{obs}}} \quad (6)$$

式中, μ_{obs} 是观测到的比增长率, q_{obs} 是观测到的底物比消耗率.

与维持代谢相关的虚拟产率 (Y_m) 为:

$$Y_m = \frac{\Delta X}{\Delta S_m} = \frac{\mu_g}{m_s} \quad (7)$$

与能量耗损相关的虚拟产率 (Y_w) 为:

$$Y_w = \frac{\Delta X}{\Delta S_w} = \frac{\mu_g}{\Delta q_w} \quad (8)$$

将式(5)—(8)代入式(4), 可得:

$$\frac{1}{Y_{\text{obs}}} = \frac{q_g}{\mu_g} + \frac{m_s}{\mu_g} + \frac{\Delta q_w}{\mu_g} \quad (9)$$

用式(3)替换 Δq_w , 得:

$$\frac{1}{Y_{\text{obs}}} = \frac{q_g}{\mu_g} + \frac{m_s}{\mu_g} + \frac{(\Delta q_w)_{\max}}{\mu_g} \frac{c_s - c_s^*}{c_s - c_s^* + K_s^*} \quad (10)$$

在底物有限的环境下, Pirt 理论表明了 μ_{obs} 等于 μ_g , 同时在此条件下, 如 Δq_w 可以忽略, 则式(10)可简化为著名的 Pirt 维持能方程(式1). 在恒化器底物充分的实验研究中, 流进的底物浓度通常很高, 如 O'Brien 等人^[11]采用的葡萄糖液浓度为 40g/L; Brooke 等人^[2]采用 50—150mmol/L 的甲醇溶液; Hueting 等人^[4]报道了 *K. Aerogenes* 在恒化器中限制氮的条件下, 生长率为 0.4/h, 当流进的葡萄糖溶液浓度小于 7.5g/L 时, 剩余葡萄糖浓度非常低. 然而, 当流进的葡萄糖浓度从 7.5g/L 开始增加时, 就可检测出氧化代谢的部分排泄物, 同时剩余葡萄糖浓度也急剧增加. Brooke 等人^[2]也报道了类似的现象, 从这些结果可看出, 在底物充分的条件下, c_s 远大于 c_s^* . 则方程式(10)可简化为:

$$\frac{1}{Y_{\text{obs}}} = \frac{q_g}{\mu_g} + \frac{m_s}{\mu_g} + \frac{(\Delta q_w)_{\max}}{\mu_g} \frac{c_s}{c_s + K_s^*} \quad (11)$$

方程式(11)可整理为:

$$\frac{1}{Y_{\text{obs}}} = \frac{1}{(Y_{\text{obs}})_{\text{max}}} + \frac{1}{(Y_{\text{w}})_{\text{min}}} \frac{c_{\text{s}}}{c_{\text{s}} + K_{\text{s}}^*} \quad (12)$$

式中, $(Y_{\text{obs}})_{\text{max}}$ 和 $(Y_{\text{w}})_{\text{min}}$ 分别是底物有限环境下最大观测到产率和与能量耗损相关的最小产率, 如方程式 (13), (14) 所示:

$$(Y_{\text{obs}})_{\text{max}} = \frac{\mu_{\text{g}}}{q_{\text{g}} + m_{\text{s}}} \quad (13)$$

$$(Y_{\text{w}})_{\text{min}} = \frac{\mu_{\text{g}}}{(\Delta q_{\text{w}})_{\text{max}}} \quad (14)$$

笔者认为, $(Y_{\text{obs}})_{\text{max}}$ 和 $(Y_{\text{w}})_{\text{min}}$ 不随剩余底物浓度变化而变化. 式 (12) 中的各参数可用简单的图解法确定. 很明显, 在 $1/Y_{\text{obs}}-c_{\text{s}}$ 曲线图上, 当 $c_{\text{s}} = 0$ 时, 通过其截距即可确定 $(Y_{\text{obs}})_{\text{max}}$ 的值. 为了确定 $(Y_{\text{w}})_{\text{min}}$ 和 K_{s}^* , 方程式 (12) 可整理为以下形式:

$$\frac{1}{\frac{1}{Y_{\text{obs}}} - \frac{1}{(Y_{\text{obs}})_{\text{max}}}} = (Y_{\text{w}})_{\text{min}} K_{\text{s}}^* \frac{1}{c_{\text{s}}} + (Y_{\text{w}})_{\text{min}} \quad (15)$$

根据方程式 (15), 作 $1/[\frac{1}{Y_{\text{obs}}} - \frac{1}{(Y_{\text{obs}})_{\text{max}}}] - 1/c_{\text{s}}$ 图, 将得到一直线. 直线的截距是 $(Y_{\text{w}})_{\text{min}}$, 斜率等于 $(Y_{\text{w}})_{\text{min}} \cdot K_{\text{s}}^*$.

2 结果与讨论

为了检验提出的 Y_{obs} 模型, 采用文献 [2] 数据. 这些数据是在恒化器甲醇充分的条件下, 以甲醇为营养物的耐热芽孢杆菌的生长过程中得到的. 在限氮、限钾环境下, 以甲醇为营养物的芽孢杆菌为例, 图 1 和图 2 分别展现了参数 $(Y_{\text{obs}})_{\text{max}}$ 、 $(Y_{\text{w}})_{\text{min}}$ 和 K_{s}^* 的图解估计值. 从这些数值可看出, 提出的图解法对于所讨论的情况下参数的确定是适用的. 图 3 和图 4 进一步显示了观测到产率与用式 (12) 计算所得值之间的比较情况. 很显然, Y_{obs} 模型能很好地描述实验数据. 反过来, 这也很好地证明了式 (12) 的有效性. 事实上, 大量的实验数据均支持式 (12) [4, 11].

对于底物充分的条件, 存在着相对于微生物需求的潜在过剩能源. 对于微生物来说, 底物的消耗不能调整到恰好符合能量的需求 [10, 12]. 结果, 底物不能完全被氧化, 形成的各种代谢产

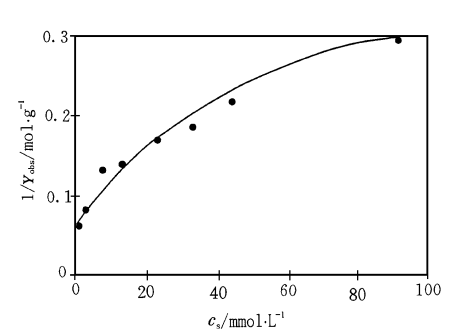


图 1 通过图解法确定芽孢杆菌在恒化器限氮条件下的 $(Y_{\text{obs}})_{\text{max}}$

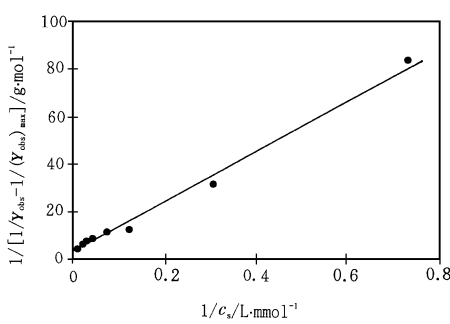
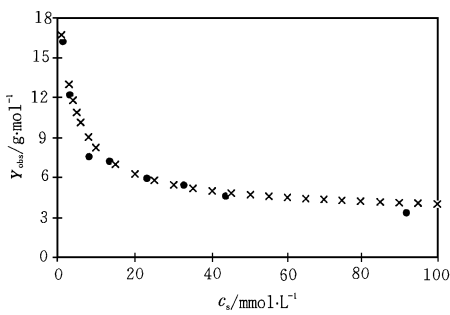


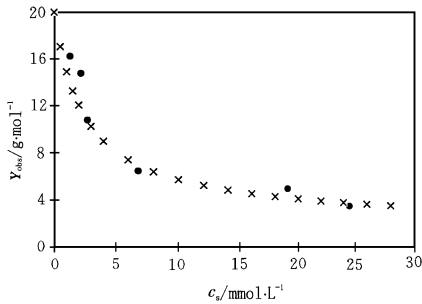
图 2 通过图解法确定芽孢杆菌在恒化器限氮条件下的 $(Y_{\text{w}})_{\text{min}}$ 和 K_{s}^*



模型的预测由交叉线表示, $(Y_{\text{obs}})_{\text{max}} = 20.0 \text{ g/mol}$, $(Y_{\text{w}})_{\text{min}} = 4.18 \text{ g/mol}$, $K_{\text{s}}^* = 23.6 \text{ mmol/L}$.

图 3 芽孢杆菌在恒化器限氮条件下的剩余甲醇浓度与 Y_{obs} 的关系 ($D = 0.2/\text{h}$)

物被排泄到环境中, 这就造成了能量在生物体更新过程中的流失. 这些都降低了能量的转化效率. 实际上, 在底物充分的环境下, 分解代谢与合成代谢的耦合效率通常降低了, 从而需要更多的底物来产生等量的能量以满足微生物的



模型的预测由交叉线表示, $(Y_{\text{obs}})_{\text{max}} = 20.0 \text{ g/mol}$,
 $(Y_w)_{\text{min}} = 2.5 \text{ g/mol}$, $K_s^* = 22.4 \text{ mmol/L}$.
图 4 芽孢杆菌在恒化器限钾条件下的剩余甲醇浓度
与 Y_{obs} 的关系 ($D = 0.2/\text{h}$)

生长. 这也为式(12)提供了微生物学的解释. 事实上, Liu 等人^[8, 10]发现在底物充分的条件下, 无论是间歇培养还是连续培养, 60% 以上的底物消耗都与微生物生长无关.

3 结 语

活性污泥法是目前应用最为广泛的废水生物处理技术. 然而其最大弊端在于污水净化的同时产生了数量惊人的剩余污泥. 在环境工程领域一直缺少有效控制污泥产生的工程手段. 本研究清楚表明, 只要在工程上实现微生物合成、能量代谢的分离, 使得底物消耗流向于能量代谢, 那么微生物的产率将显著下降.

参 考 文 献

1 Pirt S J. The maintenance energy of bacteria in growing cultures. Proc. R. Soc. , 1965, **B163**(2) : 224

2 Brooke A G et al. Metabolic fluxes during the growth of thermotolerant methylotrophic *Bacillus* strains in methanol-sufficient chemostat cultures. Arch. Microbiol. , 1990, **153**(9) : 591

3 Chang J. Determination of the maintenance requirements of activated sludge. Wat. Sci. Tech. , 1993, **28**(5) : 139

4 Huetting S. Influence of the glucose input concentration on growth kinetics of metabolite production by *Klebsiella aerogenes* NCTC 418: growing in chemostat culture in potassium or ammonia-limited environments. Arch. Microbiol. , 1979, **123**(2) : 189

5 Tsai S P. A model for energy-sufficient culture. Biotechnol. Bioeng. , 1990, **35**(1) : 138

6 Zeng A P. A kinetic model for substrate energy consumption of microbial growth under substrate-sufficient conditions. Biotechnol. Prog. , 1995, **11**(1) : 71

7 Liu Y. Bioenergetic interpretation on the S_o/X_o ratio in substrate-sufficient batch culture. Wat. Res. , 1996, **30**(11) : 2766

8 Liu Y et al. A model for energy uncoupling for substrate-sufficient culture. Biotechnol. Bioeng. , 1997, **55**(5) : 571

9 Neijssel O M et al. The regulation of carbohydrate metabolism in *Klebsiella aerogenes* NCTC 418 organisms, growing in chemostat culture. Arch. Microbiol. , 1975, **106**(3) : 251

10 Liu Y. Energy uncoupling in microbial growth under substrate-sufficient conditions. Appl. Microbiol. Biotechnol. , 1998, **49**(5) : 489

11 O'Brien R M et al. Glucose phospho-enolpyruvate phosphotransferase activity and glucose uptake rate of *Klebsiella aerogenes* growing in chemostat culture. J. Gen. Microbiol. , 1980, **116**(2) : 305

12 Liu Y et al. Effect of the S_o/X_o ratio on energy uncoupling in substrate-sufficient batch culture of activated sludge microorganisms. Wat. Res. , 1998, **32**(11) : 2883—2888