

文章编号:1671-6833(2003)02-0108-05

生物共代谢动力学模型

孙文杰, 刘勇弟

(华东理工大学资源与环境工程学院, 上海 200237)

摘要: 共代谢转化率与生长期生长基质的消耗以及在缺乏生长基质条件下生物量和/或能源物质的消耗有关. 对比了早先提出的关于休眠细胞的三种共代谢动力学模型(1~3), 得出三种模型在高浓度生长基质存在时具有的共同特征, 并提出在生长基质存在条件下非生长基质转化的表达式, 将该表达式与细胞生长表达式合并所构成的方程描述了另一个完整模型(4), 它涵盖了模型 1~3 的特征并同时适用于休眠细胞和生长细胞的共代谢动力学研究. 模型(4)描述了非生长基质的转化及生长基质和生物量的消耗, 预测共代谢导致了生物维持生长所需物质和衰减速率的增加以及共代谢种群比生长速率的降低, 该模型同时还包含了竞争性抑制作用的影响.

关键词: 共代谢; 转化能力; 生物转化; 毒性; 微生物衰退

中图分类号: X 172

文献标识码: A

0 引言

通过共代谢作用, 可以转化许多环境中存在的重要的有毒化合物. 在本文中, 共代谢的定义包含: 在生长基质存在条件下利用生长细胞对非生长基质的转化、在缺乏生长基质条件下利用休眠细胞对非生长基质的转化以及在能源物质存在条件下利用休眠细胞对非生长基质的转化^[1]. 生长基质是指为细胞生长提供还原能力和能源的电子供体, 它可以诱导出许多共代谢所需的酶和辅因子. 能源基质是指提供还原能力和能源但本身无法支持细胞生长的电子供体. 考虑到本文的研究目的, 将共代谢仅限于转化产物不会有助于共代谢种群生长的共代谢, 并假设在生长过程中, 生长基质(非营养物质或电子受体)为生长速率的限制因子.

共代谢是由酶及辅因子缺乏专一性而引起的^[1,2]. 在 1972 年, Horvath^[1] 识别出 20 多种具有共代谢能力的菌种, 自此, 越来越多的微生物种群被识别出来. 例如研究最为广泛的 methanotrophs, 它可以共氧化许多氯代脂肪族化合物、链烷及芳香族化合物^[3]; 其它还有: 可以共氧化多环芳香化合物的 *Pseudomonas*; 脂肪族培养的共氧化(共代谢) *Nocardia*; 可在葡萄糖或醋酸盐存在条件下共

氧化苯胺、酚及它们的一氯取代衍生物的 *Rhodococcus* 等其它许多的微生物.

尽管在传统意义上共代谢总是被应用于氧化作用, 但实际上, 许多的还原转化作用同样适用于早先共代谢的定义范畴, 例如: 它们依靠同时或先前的生长基质和能源物质的利用; 它们的转化率并不能促进生长. 许多单环和双环的氯代化合物可以被还原性的硫酸盐、产甲烷生物、醋酸盐细菌等‘共还原’; 更多的复杂的氯代化合物如 DDT 的还原转化作用已经被发现了; 甚至水解性的共代谢作用也被发现了, 如四氯化碳可以被脱氯菌 *Pseudomonas* 共代谢生成二氧化碳(一种纯的水解作用)^[4~7]. 越来越多的共代谢生物种群的发现, 表明在自然界中还存在着更多的具有共代谢作用的微生物, 只不过还没有被人类所揭示而已. 为了有助于不同来源的共代谢种群的对比和便于工程系统的设计, 我们需要利用数学模型来掌握共代谢的本质特征. 尽管在最近的几年中, 已经出现了一些相关的数学模型来描述共代谢作用, 但这些模型间的关系仍然没有被搞清楚, 而且, 到目前为止的模型仅仅局限于利用非生长细胞的转化作用. 本文主要研究这些模型间的关联, 并提出一种新的且无论生长基质存在与否的模型和方法, 从而将以前的模型进行统一.

收稿日期: 2003-01-10; 修订日期: 2003-02-18

作者简介: 孙文杰(1978-), 男, 河南省安阳市人, 华东理工大学硕士研究生.

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

1 缺乏生长基质和能源物质条件下的共代谢

传统的米-门或莫诺德方程式可适用于休眠细胞的共代谢转化,但这些模型无法解释由于缺乏生长基质或产物毒性抑制等其它因素造成的转化能力的损失.因而,上述方法确定的参数不准确^[8].所以,我们需要修正模型中自身氧化引起的微生物量或酶活力的损失、蛋白质水解、辅因子(如NADH)的消耗、产物毒性等因素的影响作用^[8,9].在近几年中,出现了一系列相关的模型,

表1列出了该类模型的总结,同时列出了类似莫诺德方程式(模型1a和2a)的简化式:当 $S_c \ll K_{sc}$ 时为模型1b和2b;当 $S_c \gg K_{sc}$ 时为模型1c和2c.表1中所列出的3个模型均由下面三个表达式两两组合而成.

$$q_c = \frac{K_c S_c}{K_{sc} + S_c} \tag{1}$$

$$\mu = \frac{dx}{Xdt} = -b \tag{2}$$

$$\frac{dM_c}{dM_b} = T_c^b \tag{3}$$

表1 模型1~3总结
Tab.1 Summary of models 1to 3

模型	基质利用率基本方程	合成后形式
1a	$-\frac{dS_c}{dt} = \frac{K_c S_c X}{K_{sc} + S_c}, -\frac{dX}{dt} = -bX$	$-\frac{dS_c}{dt} = \frac{K_c S_c X_0}{K_{sc} + S_c} e^{-bx}$
1b	$-\frac{dS_c}{dt} = K'_c S_c X, -\frac{dX}{dt} = -bX$	$-\frac{dS_c}{dt} = K'_c S_c X e^{-b(S_c \ll K_{sc})}$
1c	$-\frac{dS_c}{dt} = K_c S, -\frac{dX}{dt} = -bX$	$-\frac{dS_c}{dt} = K_c S_c X e^{-bx} (S_c \gg K_{sc})$
2a	$-\frac{dS_c}{dt} = \frac{K_c S_c X}{K_{sc} + S_c}, \frac{dS_c}{dX} = T_c^b$	$-\frac{dS_c}{dt} = \frac{K_c S_c (X - \frac{S_{c0} - S_c}{T_c^b})}{K_{sc} + S_c}$
2b	$-\frac{dS_c}{dt} = \frac{K'_c S_c X}{K + S_c}, \frac{dS_c}{dX} = T_c^b$	$-\frac{dS_c}{dt} = K'_c S_c (X_0 - \frac{S_{c0} - S_c}{T_c^b}) (S_c \ll K_{sc})$
2c	$-\frac{dS_c}{dt} = K_c X, \frac{dS_c}{dX} = T_c^b$	$-\frac{dS_c}{dt} = K_c (X_0 - \frac{S_{c0} - S_c}{T_c^b}) (S_c \gg K_{sc})$
3	$\frac{dX}{dt} = -BX, \frac{dS_c}{dX} = T_c^b$	$-\frac{dS_c}{dt} = bT_c^b X_0 e^{-bx}$

模型1是由方程1和方程2组成的;模型2是由方程1和方程3组成的;模型3是由方程2和方程3组成的.在模型1和模型3中,转化活力随时间的损失是由共代谢生物量衰减引起的,它是利用简单的一级指数衰减建模的,例如,在Bailey和Ollis^[10]对酶以及Galli和McCarty^[11]对整个细胞提出的一样.在上述两个模型中,生物转化活力的损失完全是时间的函数,而不受非生长基质转化的影响.相比之下,模型2中转化活力的损失直接与非生长基质转化的量成比例.

在模型2和3中,一个关键的概念是共代谢细胞的“转化能力”.它最早是由Alvarez-Cohen和McCarty^[9]提出的,并定义为:对于休眠细胞,单位生物量所转化的非生长基质的质量(dM_c/

dM_b),如方程3所示.在本文中,dM_c/dM_b即定义为生物量转化能力.在模型2和3中,生物量转化能力假定为常数,但在模型1中,生物量转化能力为变量,取决于非生长基质的浓度:

$$\frac{dM_c}{dM_b} = \left(\frac{K_c}{b}\right) \cdot \frac{S_c}{K_{sc} + S_c} \tag{4}$$

方程4是由方程1和方程2组合而成的.当非生长基质浓度S_c接近于K_{sc}时,生物量转化能力为最大值的一半.在低浓度(S_c ≫ K_{sc})的条件下,生物量转化能力随生长基质浓度呈线性增长(如模型1a).在高浓度(S_c ≪ K_{sc})条件下,生物量转化能力成为定值.

通过分别研究模型1~3的比增殖速率μ,可以进一步探索它们之间的关系.在各个模型中,由

于缺乏生长基质,比增殖速率 μ 可以认为是比衰减速率.在模型 1 和 3 中, $\mu=\text{常数}=-b$,而对于模型 2,

$$\mu=\frac{dX/dt}{X}=(\frac{-k_c}{T_c^b})\frac{S_c}{K_{sc}+S_c}=\frac{-q_c}{T_c^b} \quad (5)$$

式 5) 的重要性在于预测了细胞损失率随非生长基质浓度的增加而增加.

2 存在生长基质和能源物质条件下的共代谢

目前用来量化共代谢作用的模型主要是针对休眠细胞的,而更多情况下,在存在生长基质和能源物质(无论这些物质是否包含共代谢所需的酶和辅因子)条件下,共代谢的速率和程度都会随之相应提高^[3].关于生长基质和非生长基质间或多个非生长基质间的竞争性抑制作用^[3]同样被观察到.因而,基质间的相互作用可能是极其复杂的.下面将提出一个关于微生物共代谢量化的模型,该模型无论是否存在竞争性抑制作用,同时适用于生长细胞和非生长细胞.Chang^[13]等已经成功地将该模型应用于描述 *Pseudomonas* 在存在甲烷条件下对 p-xylene 的共代谢作用.

当生长基质和非生长基质间无竞争性抑制作用时,生长基质的比利用率(q_g)满足如下方程:

$$q_g=K_g(\frac{S_g}{K_{sg}+S_g}) \quad (6)$$

类似地,能量物质的消耗满足类似的方程:

$$q_e=K_e(\frac{S_e}{K_{se}+S_e}) \quad (7)$$

非生长基质的消耗可通过与生长基质的消耗建立联系来描述,方程如下:

$$q_c=(T_c^bq_g+K_c)(\frac{S_c}{K_{sc}+S_c}) \quad (8)$$

类似地,非生长基质的转化可通过与能源物质的消耗建立联系来描述,方程为:

$$q_c=(T_c^bq_e+K_c)(\frac{S_c}{K_{sc}+S_c}) \quad (9)$$

式 8) 和 9) 指出非生长基质的最大利用率取决于两个因素:①生长基质 q_g 或能量物质 q_e 的利用率;②在缺乏生长基质条件下细胞对非生长基质的最大利用率.式(8)引入了一个新的概念——生长基质转化能力 T_c^b ,即在生长期消耗单位质量生长基质所转化的非生长基质的质量.它将非生长基质的利用与生长基质的利用联系起来,使得在生长基质存在时非生长基质的比利用率随

之增加(例如当 $q_g>0$).与之相类似的概念是式(9)中的能源物质转化能力 T_e^b .在生长基质或能量物质存在时,较高降解速率的出现可归因于生长基质或能源物质存在(或诱导出现)时,代谢酶的高活力或生物量比自身氧化速率高的生长基质或能源物质的氧化率.

式 6)~(9) 适用于生长基质与非生长基质间不存在竞争性抑制作用的情况.如果微生物组成酶的天然基质不存在时,竞争性抑制作用将不会发生.某些还原性脱氯就属于此类情况,因为当非生长基质(氯代物分子)是电子受体时生长基质是电子供体.然而,对于许多包含双氧化歧化酶和单氧化歧化酶的情况,竞争性抑制作用同样是类似的.当生长基质影响非生长基质的转化时,在式 9) 中, $(K_s)_{\text{apparent}}$ 可代替 K_s , 两者的关系可表示为

$$(K_s)_{\text{apparent}}=K_s(1+\frac{S_g}{K_{ig}}) \quad (10)$$

为了描述相反的情况,例如,非生长基质抑制生长基质和能源物质的利用的竞争性抑制作用,只需将一个类似式(10)的表达式合并到式(5)或(7)中,同时将非生长基质和生长基质的位置交换.同样的表达式可以用来描述多种非生长基质间的竞争性抑制作用.

3 共代谢作用的完整模型

Ritt^[13]将生长细胞所需的生长基质分为用来生长和用来维持细胞所需的生长基质: $q_g=(q_g)_{\text{growth}}+m_b$.通过增添一个附加项到 Ritt 表达式中,可得到一个关于共代谢的表达式:

$$q_g=(q_g)_{\text{growth}}+m_b+(m_b)_{\text{co}} \quad (11)$$

式 11) 假定:由于对细胞施加一个维持负担 $(m_b)_{\text{co}}$,共代谢作用引起对生长基质的额外的需求.这种维持作用是由生物量的共代谢消耗造成的:

$$(m_b)_{\text{co}}=q_c\frac{1}{Y_mT_c^b*} \quad (12)$$

式 12) 引入了真实生物量转化能力的概念,其一般定义为在不存在内源衰减时被单位质量的细胞所转化的非生长基质的质量.因而, q_c/T_c^b* 仅取决于共代谢衰减速率(如式(5)所示), $q_c/Y_mT_c^b*$ 是指用来产生具有共代谢作用的活性生物量(具有减缓基质专一性的酶和辅因子)的生长基质的速率,该活性生物量在随后的共代谢过程中被“浪费”掉.它同时包含用来产生生物量的生长基质,该生物量最终由于非生长基质的毒性、产物

的毒性以及细胞维持能量的消耗而失活或被损坏. 对于有毒或产物有毒的化合物, T_c^{b*} 值相对较小; 相反, 较大的 T_c^{b*} 值预示着化合物无毒. 在式 (11) 的两边乘上 Y_m 来代替式 (12) 中的 $(m_s)_{co}$. 并认为当 $b = m_s Y_m$ 时, $\mu = Y_m (q_g)_{growth}$, 得到方程:

$$\mu = Y_m q_g - b - \frac{q_c}{T_c^{b*}} \quad (13)$$

式 (6) (8) 和 (13) 提供了一个关于整个生长期和衰减期内比生长速率以及生长基质和非生长基质的比利用速率的完整的数学描述. 这些方程组成了一个关于共代谢的模型(模型 4). 模型 4 中的 3 个方程可利用 Kunge-Kutta 的数学拟合方法同时求解, 求解得出在生长基质存在条件下非生长基质的利用速率随之增加; 在缺乏生长基质时非生长基质的转化与生物量的消耗有关.

在缺乏生长基质时, 模型 4 可简化为

$$q_c = K_c = \left(\frac{S_c}{K_{sc} + S_c} \right) \quad (14)$$

$$\mu = -b - \frac{q_c}{T_c^{b*}} \quad (15)$$

前面介绍的所有关于休眠细胞转化的模型都可认为是式 (14) 和 (15) 的特例: 当 $b \gg q_c / T_c^{b*}$ 时得到模型 1, 结论是 $\mu = -b$; 当 $q_c / T_c^{b*} \ll b$ 时得到模型 2, 结论是 $\mu = -q_c / T_c^{b*}$ 和 $T_c^b = T_c^{b*}$; 最后, 当 q_c 为常数时, 得到模型 3, 结论是 $\mu = -b - k_c / T_c^{b*} = \text{常数}$. 因而, 缺乏生长基质时模型 4 可简化为式 (14) 和 (15), 这些表达式都包含了模型 1 到模型 3.

4 结束语

模型 4 包含了共代谢作用的重要特征^[3]: 由内源代谢导致的休眠细胞活性的损失, 由非生长基质转化引起的休眠细胞活性的损失; 在生长基质存在条件下共代谢作用的速率和代谢程度的提高; 在能源物质存在条件下共代谢作用的速率和代谢程度的提高; 潜在的竞争性抑制作用; 在非生长基质存在条件下细胞产率的减少; 在非生长基质存在条件下比生长速率的降低. Chang^[12] 等已经对模型 4 提供了一些实验验证. 但还不够充分, 更多的试验和验证仍然是必需的.

在模型 4 中, 真实生物转化能力 T_c^{b*} 假定是不受基质浓度影响的, 而观测生物转化能力 T_c^b 是随着非生长基质浓度趋向于零而逐渐减小到零

的. 这种剂量反应关系在低基质浓度条件下是不正确的, 因为在某一极限浓度下毒性作用会变得不明显. 在本文总结的所有模型中, 一种限制因素是无法区别是由于毒性或捕食导致细胞死亡还是由于还原能力损失导致细胞失活. 这种不确定性在推流反应器系统的建模中显得尤为重要, 因为共代谢细胞再生长所需的时间是变化的, 该变化取决于细胞所经历的衰减期是真实死亡或仅仅是失活. 所以, 该模型仍有待进一步大量的试验工作来验证和完善.

参考文献:

[1] HORVATH R S. Microbial co-metabolism and the degradation of organic compounds in nature [J]. Bacteriol Rev, 1972, 36: 146~155.

[2] DALTON H, STIRLING D I. Co-metabolism [J]. Phil Trans R Soc Lond, 1982, (297): 481~496.

[3] CRAIG S Giddle. The Kinetics of co-metabolism [J]. Biotechnology and Bioengineering, 1993, 41: 1048~1056.

[4] CRIDDLE C S, DEWITT J T, MCCARTY P L. Reductive dehalogenation of carbon tetrachloride by Escherichia coli k-12 [J]. Appl Environ Microbiol, 1990, 56: 3247~3254.

[5] EGII C, TSCHAN T. Transformation of tetrachloromethane to dichloromethane and carbon dioxide by Acetobacterium woodii [J]. Appl Environ Microbiol, 1988, 54: 2819~2824.

[6] PFAENDER F K, ALEXANDER M. Effect of nutrient additions on the apparent cometabolism of DDT [J]. J Agric Food Chem, 1973, 21: 397~399.

[7] CRIDDLE C S, DEWITT J T, MCCARTY P L. Transformation of carbon tetrachloride by Pseudomonas sp. Strain KC under denitrification conditions [J]. Appl Environ Microbiol, 1990, 56: 3240~3246.

[8] ALVARE Z, COHEN L, MCCARTY P L. A cometabolism biotransformation model for halogenated aliphatic compounds exhibiting product toxicity [J]. Environ Sci Technol, 1991, 25: 1381~1387.

[9] CHENAULT H K, WHITESIDES G M. Regeneration of nicotinamide cofactors for use in organic synthesis [J]. Appl Biochem Biotechnol, 1987, 14: 147~197.

[10] BAILEY J E, OLLIS D F. Biochemical engineering fundamentals [M]. 2nd edition. New York: McGraw-Hill, 1986.

[11] GALLI R, MCCARTY P L. Kinetics of biotransformation of 1, 1, 1-trichloroethane by Clostridium sp. Strain TCA IIB [J]. Appl Environ Microbiol, 1989, 55: 845~851.

[12] CHANG M K, VOICE T C, CRIDDLE C S. Kinetics of competitive inhibition and cometabolism in the biodegradation of carbon tetrachloride by Pseudomonas sp. Strain KC

tion of benzene ,toluenen ,and p -xylene by two Pseu-
domonas isolates [J] .Biotechnol Bioeng ,1993,23:158~
168.

[13] PIRT S J .The maintenance energy of bacteria in growing
cultures [J] .Proc R Soc London Ser ,1965,163:224~
231.

Models of the Kinetics of Biological Co -metabolism

SUN Wen -jie , LIU Yong -di

(College of Resource & Environmental Engineering ,East China University of Science & Technology ,Shanghai 200237,China)

Abstract : Experimental observations indicate that the rates of co -metabolic transformations are linked to the consumption of growth substrate during growth and to the consumption of cell mass and /or energy substrate in the absence of growth substrate .Three previously proposed models (models 1through 3) describing the kinetics of co -metabolism by resting cells are compared ,models 1to 3are shown to converge at high concentrations of the non -growth substrate .An expression describing non -growth substrate transformation in the presence of growth substrate is proposed and this expression is integrated with an expression of cell growth to give a single model (model 4) that encompasses models 1to 3and describes co -metabolism by both resting and growing cells .Model 4couples transformation of non -growth substrate to consumption of growth substrate and biomass ,and predicts that co -metabolism will result in increased maintenance requirements and decay rates and decreased specific growth rates for a co -metabolizing population .Competitive inhibition can also be incorporated in the model .

Key words : co -metabolism ;transformation capacity ;biotransformation ;toxicity ;microbial decay