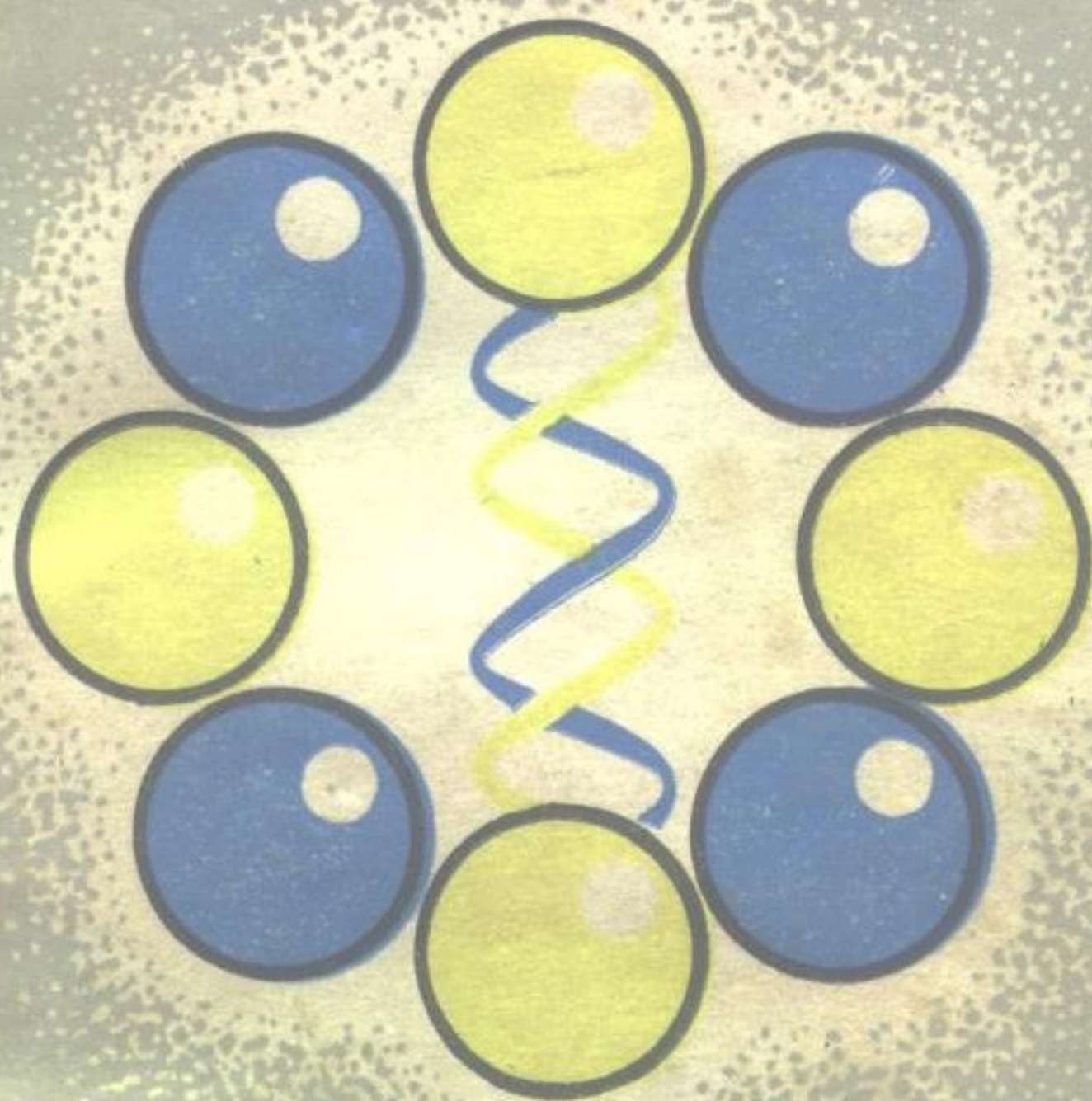


生物工程丛书



生物化学工程

俞俊棠 顾其丰 叶勤 编著

化学工业出版社

生物工程丛书

生物化学工程

俞俊棠 顾其丰 叶勤 编著

化学工业出版社

内 容 提 要

本书为《生物工程丛书》之一。

生物化学工程是应用化学工程的原理和方法将生物工程的实验室成果进行工业开发的交叉学科，是生物工程的一个重要组成部分。本书在绪论中较详尽地阐明了生化工程与生物工程的关系及其研究内容，全书共分八章，按章介绍了本门学科中最基本的内容——细胞培养动力学、细胞生物反应器、灭菌技术、酶反应动力学、酶反应器、产物的分离纯化等。为了适应以往接触生物学知识较少的读者的需要，还专章介绍了有关工业微生物的基本知识。

本书可供从事生物工程研究、教学和生产工作者参考，也可用作本门学科的简明教材。

生物工程丛书

生物化学工程

俞俊英 顾其丰 叶勤 编著

责任编辑：尹建国

封面设计：季玉芳

化学工业出版社出版

(北京和平里七区十六号楼)

化学工业出版社印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

开本 787×1092 1/32 印张12 字数273千字

1991年4月第1版 1991年4月北京第1次印刷

印 数 1—2,310

ISBN 7-5025-0860-0/Q·4

定 价 6.90元

《生物工程丛书》编辑委员会

主任 焦瑞身 (中国科学院上海植物生理研究所)

委员 (按姓氏笔划排列)

李载平 (中国科学院上海生物化学研究所)

李致勋 (复旦大学遗传学研究所)

陈驹声 (上海科技大学生物工程系)

俞俊棠 (华东化工学院生化工程研究所)

熊振平 (上海医药工业研究院)

41999

前 言

当前，以生物工程（生物技术）、微电子、新材料、新能源、海洋工程和空间技术等为主要内容的新技术革命浪潮正在以万钧之势席卷世界各国，迅猛发展。在新技术革命中，生物工程又是各国优先发展的领域，它不仅在近期内能提供新的产业，且为解决人类社会所面临的许多重大问题，如人口和食物、能源和资源、环境和保健等问题发挥重要作用，展示美好的前景。

生物工程的发展将对各国的经济发展带来重大的影响。例如，经济发达国家正在致力于可再生能源（生物物质）的利用，企图代替石油进口，这将减少对石油能源的依赖。又如各国利用固定化菌体或固定化酶大规模生产高果糖浆代替蔗糖，使世界市场糖的价格大幅度下降。再如巴西，开展以酒精代替石油的十年计划，到目前为止，全国汽车所需燃料的43%已使用酒精，而且，由于发酵法制酒精这项生物工程的发展，为巴西创造了500万人新就业机会。显然，对巴西人民生活和国家经济发展起到引人注目的作用。

我国从“六五”计划期间就把生物工程作为重点发展的新技术之一，而且在许多方面已经取得可喜的进展，“七五”计划的规模更加宏大。随着各项计划的落实，生物工程将在医药、农业、工业、食品等方面开拓新的领域，创造巨大的社会效益和经济效益，为国民经济开辟新的原料途径，甚至导致新的产业结构。例如：应用农副产品，生物物质代替矿产资源等。我国

幅员广大，具有丰富的生物资源，这是发展生物工程基本条件之一。毫无疑问，生物工程的发展将为我国十亿人民的物质生活和四化建设大业发挥巨大作用。

为了推动我国生物工程的发展，以具有一定科技知识的读者为主要对象，出版一套全面介绍生物工程的丛书是十分必要的。《生物工程丛书》的目的就是配合这一需要，介绍当代国内外生物工程几个活跃领域的情况，既深入浅出地介绍基础知识和近期的应用，也展示今后的发展方向。当代生物工程一般分为微生物工程、酶工程、细胞工程和基因工程，本丛书均有专册分别予以介绍。为了使读者概括了解当代生物工程的内容，专有一册《生物工程概论》以飨读者。

再者，生物工程是一个知识和技术密集的技术科学，它的基础学科是微生物学、生物化学、遗传学以及生化工程等。因此，我们又邀请有经验的专家编写了《微生物学基础》、《生物化学基础》和《生物化学工程》，作为学习生物工程的基础，希望对读者了解生物工程各个方面是有益的。

本丛书是编辑部邀请国内活跃在生物工程各个领域的专家编写，他们或从事科研，或进行实际生产，都是在百忙之中进行写作，大家的共同愿望是希望这套丛书对有志于从事生物工程工作的读者有所裨益，为我国生物工程的发展出一份力。

焦瑞身

一九八六年

编者的话

生物化学工程作为生物工程的一个重要组成部分，目前已不但为化学工程工作者的重视，被认为是化学工程的前沿内容之一，也为广大从事生物工程上游工作的研究者所关注，希望能较全面地了解其基本内容。为此各方面都亟需有一本能深入浅出和较全面介绍生化工程内容的读物。此外，鉴于目前开设生化工程课程的高校已为数不少，但苦于没一本繁简适中的教材，使教学过程发生一定的困难。本书在编写过程中力图能兼顾上述多方面的要求，但这一尝试是否能成功，尚需最后通过同行专家和广大读者来鉴定。

本书编者虽较长时期从事本学科的教学和科研工作，但自感在取材方面可能有不当之处，在具体内容的阐述上也可能存在讹误，都望同行专家和广大读者不吝指正为感。

本书每章末出现综合参考书刊和参考文献两部分，文中只引用后者。

本书分别由俞俊棠（第一章）、顾其丰（第二、五、六、七及八章）和叶勤（第三、四章）执笔。第二章中部分内容由顾其敏副教授撰写，部分章节曾请陈驹声和顾其威两位教授审阅并提出宝贵意见，在此均表示深切的感谢。

编者

1989年9月于华东化工学院

上海科技大学

目 录

第一章 绪论	1
第一节 生化工程的定义及其与生物工程的关系	1
第二节 生化工程的发展简史	2
第三节 生化工程的基本内容	4
参考文献	8
第二章 工业微生物学概述	9
第一节 工业生产中常用的微生物	10
一、细菌 (<i>Bacteria</i>)	10
二、放线菌 (<i>Actinomycetes</i>)	13
三、酵母菌 (<i>Yeast</i>)	15
四、霉菌 (<i>Molds</i>)	16
第二节 微生物的营养需要	18
一、微生物的一般营养需要	18
二、碳源及其功用	19
三、氮源及其功用	21
四、无机盐及其功用	22
五、维生素	23
第三节 微生物的代谢作用	24
一、糖的酵解途径	25
二、三羧酸循环	25
三、磷酸己糖支路	28
四、E-D 途径	29
第四节 微生物的基因工程	29
第五节 动、植物细胞的培养	33

一、动物细胞培养	33
二、植物细胞培养	34
第六节 工业微生物过程的展望	35
综合参考书刊	37
第三章 细胞培养过程的动力学	38
第一节 细胞浓度的测量	39
一、直接测定法	40
二、间接测定法	42
第二节 分批培养	44
一、分批培养中细胞的生长阶段	45
二、影响比生长速率的因素	51
三、分批培养中的基质消耗和产物生成	58
四、基因重组微生物的分批培养	65
五、分批培养动力学模型的参数估计与培养过程的优化	68
第三节 连续培养	73
一、单级连续培养	73
二、细胞回流时的单级连续培养	77
三、多级连续培养	79
四、连续培养的应用	82
第四节 其它培养方法	87
一、补料分批培养	87
二、透析培养	92
综合参考书刊	99
参考文献	99
第四章 细胞生物反应器	102
第一节 细胞生物反应器的结构	103
一、微生物细胞反应器	103
二、动物细胞生物反应器	112
三、植物细胞生物反应器	115

第二节	细胞生物反应器的搅拌功率	115
一、	在牛顿流体中的搅拌功率	115
二、	在非牛顿流体中的搅拌功率	119
第三节	细胞生物反应器中的氧传递	122
一、	细胞对氧的需求	123
二、	氧的传递过程	129
第四节	影响气液氧传递速率的因素	138
一、	氧的溶解特性	138
二、	影响推动力的因素	146
三、	影响气液比表面积 a 的因素	147
四、	影响 K_L 的因素	148
五、	影响体积传递系数 $K_L a$ 的因素	150
第五节	氧传递系数的测定方法	156
一、	亚硫酸氧化法	157
二、	物料平衡法	158
三、	动态法	158
第六节	细胞生物反应器的热量传递	161
一、	细胞生物反应器的热量平衡	161
二、	生物反应器的传热速率	163
第七节	细胞生物反应器的放大	166
一、	细胞生物反应器的放大方法	166
二、	放大方法的比较	168
	综合参考书刊	170
	参考文献	170
第五章	灭菌技术	175
第一节	微生物的受热死亡动力学	176
一、	微生物的死亡速率	176
二、	温度对死亡速率的影响	180
第二节	培养基灭菌的工程设计	184

一、间歇灭菌	184
二、灭菌概率和标准	190
三、对固体或静止流体的加热灭菌	191
四、连续灭菌	194
五、间歇灭菌与连续灭菌的比较	201
第三节 空气除菌	202
一、空气除菌的要求与方法	203
二、过滤除菌原理	207
三、空气过滤时的对数穿透定律	215
四、空气过滤器设计	219
五、常用过滤介质	220
综合参考书刊	224
参考文献	224
第六章 酶促反应动力学、酶与细胞的固定化	225
第一节 单底物酶促反应动力学	226
一、一般的 Michaelis-Menten 公式	227
二、米氏方程中反应常数 K_m 和 V_{max} 的求取	229
三、有抑制作用时的酶促反应动力学	233
第二节 影响酶活性的其它因素	241
一、溶液中 pH 值对酶动力学的影响	242
二、温度对酶反应速率的影响	243
三、机械力的影响	246
第三节 酶的固定化	247
一、用吸附法固定化酶	250
二、用包埋法固定化酶	251
三、用交联法固定化酶	254
四、用共价结合法固定化酶	255
第四节 完整细胞的固定化	257
一、固定化细胞的基本方法	258

二、用于固定化细胞的各种载体	260
综合参考书刊	263
参考文献	263
第七章 固定化酶系统中的传质及酶反应器	265
第一节 固定化对酶促反应动力学的影响	265
一、影响固定化酶动力学的因素	265
二、非均相酶促反应动力学	270
第二节 外扩散过程的分析	272
一、具有外部传递时的本征速率和有效速率	272
二、底物模数和有效系数	275
三、扩散抑制与化学抑制的相互影响	280
第三节 内扩散过程的分析	286
一、内扩散阻力对米氏动力学的影响	287
二、内扩散与酶抑制	293
三、外扩散与内扩散的联合作用	295
第四节 固定化酶流动反应器	297
一、酶反应器的类型和选择	298
二、理想固定化酶反应器	305
三、酶反应器中传质和反应的分析	312
第五节 固定化活细胞反应器	319
一、定义和假设	319
二、理想反应器的操作方程	321
第六节 固定化酶的应用实例	326
一、L-氨基酸的生产	326
二、果葡糖浆的生产	328
三、酶电极	329
综合参考书刊	331
参考文献	331
第八章 产物的分离及纯化	333

第一节 固体颗粒的去除	334
一、过滤	335
二、离心分离	338
三、沉降	341
第二节 初步分离	342
一、蒸发	343
二、萃取	345
三、沉淀	348
四、膜分离	350
第三节 产品提纯	354
一、吸附层析法	355
二、离子交换层析法	356
三、分子筛层析法	358
四、亲和层析法	358
第四节 产品的最终分离	361
一、喷雾干燥器	362
二、气流干燥器	363
三、沸腾干燥器	364
四、鼓式干燥器	365
五、冷冻干燥	366
第五节 典型生物产品的分离实例	366
综合参考书刊	370
参考文献	370

第一章 绪 论

第一节 生化工程的定义 及其与生物工程的关系

生物化学工程,简称生化工程,它是应用化学工程的原理和方法将生物工程的实验室成果进行工业开发的学科。它既可视作为化学工程的一个分支,又可认为是生物工程的一个组成部分。

生物工程按其性质讲,主要是应用生物学、化学和工程学的原理籍生物催化剂的作用将物料转化为产品或从事社会服务的科学技术(参见图1-1)。图1-1中所指的生物工程(Biological Engineering)是广义的,它一般不直接涉及化学反应,大致包括农业工程、环境卫生工程、医学工程、仿生工程、人体功能工程等,而狭义的生物工程(Biotechnology^①即图1-1中注明的生物技术)却涉及化学反应,并采用了生物催化剂。

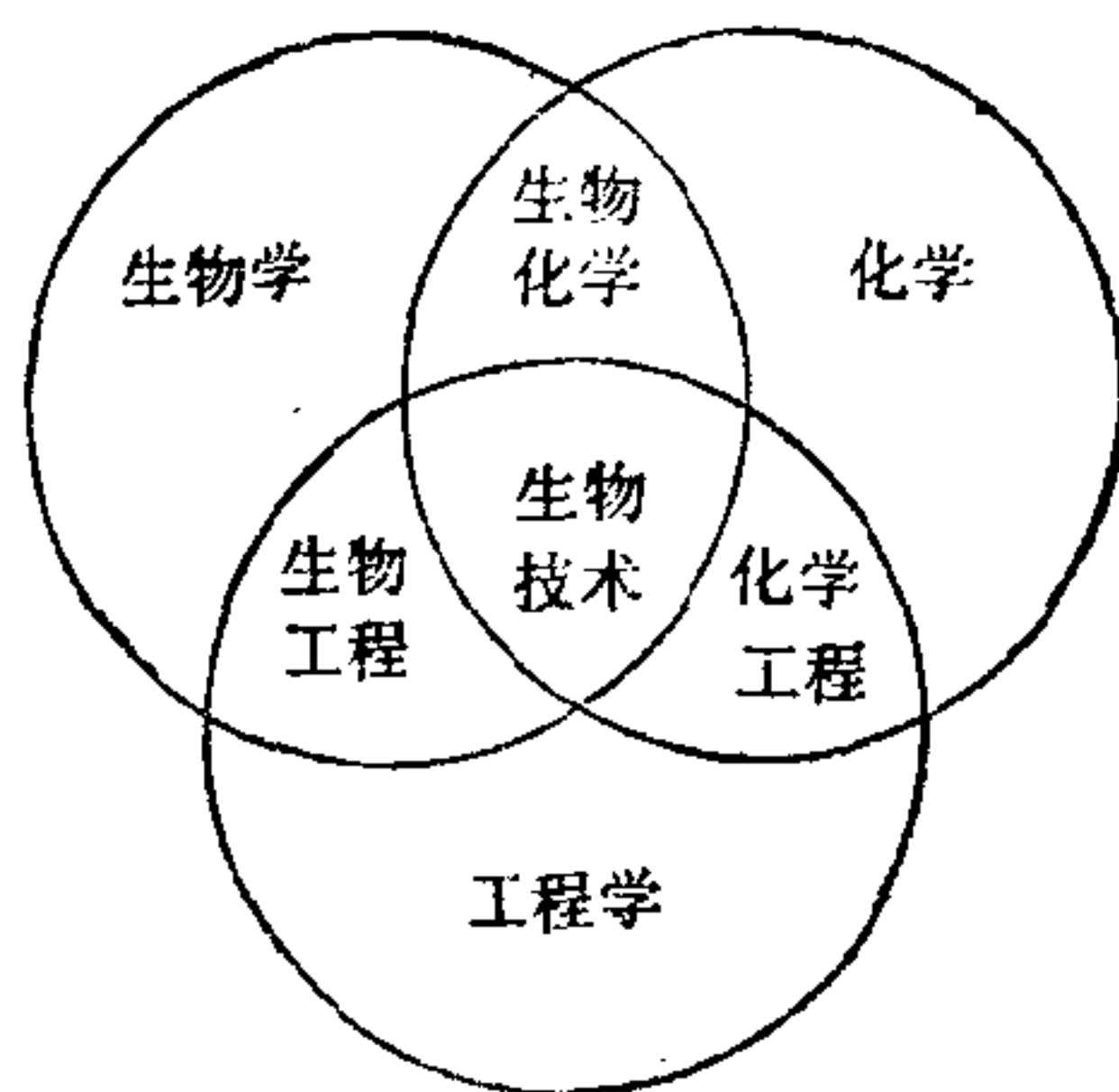


图 1-1 生物工程与基础学科的关系

① Biotechnology 一词按词面以及上文中的词义看,以译为生物技术较好,以免与广义的生物工程混淆。但在本书中因考虑整个《丛书》名词的统一,仍称为生物工程,但指的是狭义的生物工程。

凡由生物工程所引出的生产过程可统称为生物反应过程 (Bioprocess), 它大致可用图 1-2 所示流程表示:

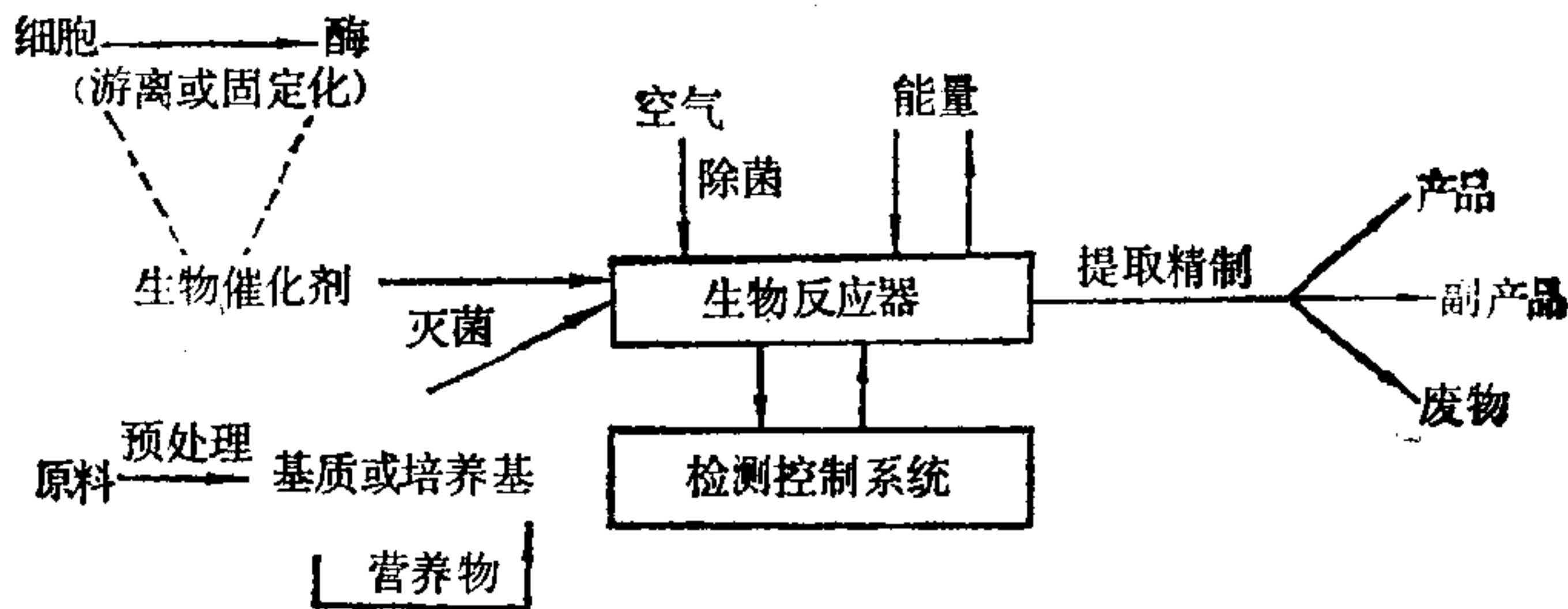


图 1-2 生物反应过程示意图

在生物反应过程中, 若采用活细胞 (包括微生物、动植物细胞) 为生物催化剂时称发酵或细胞培养过程, 若采用游离或固定化酶时称酶反应过程。

生化工程实质上就是研究生物反应过程中带有共性的特殊工程技术问题的学科。

第二节 生化工程的发展简史

传统的微生物发酵制品——发酵食品和饮料已具有悠久的历史, 但其生产技术具有浓厚的地方性和强烈的经验性, 生产设备一般也较简单。19 世纪末和 20 世纪初工业微生物产品虽有所发展, 但其产品如乳酸、乙醇、丙酮-丁醇等大多为厌氧发酵产物, 产物的分子结构比基质更为简单, 属初级代谢产物, 生产技术及设备也并不很复杂。直至本世纪 40 年代, 抗生素的卓越疗效被证实, 需要量日益增加。它们生产技术要求高, 属

好气发酵类型，产物的分子结构复杂为次级代谢产物，在培养液中的含量很低，生产过程中需要维持纯种培养，无菌要求很高。为了增加抗生素的产量，突出的问题是改变原来生产劳动强度大，占地面积多的表面培养法为采用大容积发酵罐生产的沉浸培养法以及采用高效提取精制设备代替原来的实验室提取精制手段。于是一批工程技术人员，特别是化学工程师参加了抗生素生产的工业开发工作。在他们的努力下，适用于纯种和沉浸培养带有通气和搅拌装置的发醇罐终于研制出来。初期生产青霉素的发醇罐容积是 5m^3 ，比起表面培养时的 1L 玻璃瓶来产量顿时大为增加，劳动强度大为降低。此外，他们还成功地解决大量培养基和生产设备的灭菌问题以及采用介质过滤法解决大量无菌空气的制备问题。在提取精制中采用了离心萃取机、冷冻干燥器等新型高效化工设备，对产品的产量、质量和收率均有明显的提高。工程技术人员的参加，不但促进了抗生素生产的工业化，也孕育一门新的交叉学科——生化工程的诞生。1947 年，美国的 Merck 药厂因在建立抗生素工业中的贡献被授予 McGraw-Hill“生化工程专题研究”成果奖。其后生化工程的名称就一直沿用至今。

早期的生化工程主要是为发酵和酶反应过程服务的。在 40 年代抗生素工业发展的基础上，50 年代的氨基酸发酵工业，60 年代的酶制剂工业等多种工业发酵产品和酶反应产品的迅速问世，不能不说其中包含着生化工程学科的贡献。70 年代起 DNA 重组技术和原生质体融合技术不断成熟，新一代的生物工程产品，如干扰素、胰岛素、生长激素、乙肝疫苗、单克隆抗体等已开始少数国家有少量生产，但离工业化完善程度的距离还很远。这一挑战势必激发生化工程工作者的斗志并相信会使生化工程学科赋予新的生命和增添新的篇章。

第三节 生化工程的基本内容

按工程学的定义而言，它是将自然科学的原理应用于工农业生产的某一具体方面并研究该生产领域中带有共性的技术问题规律的学科。生化工程既是为生物反应过程服务，就有必要对此过程作进一步的剖析，以便找出其中带有共性的技术问题。

人们常把生物反应过程（参见图 1-2）中的生物反应器作为过程的中心，而分别把反应前与后的工序称为上游和下游加工（Up stream and down stream processing）。下面将分别环绕上、中、下游来阐明有生化工程的内容。

在上游加工中最重要的是提供和制备高产优质和足够数量的生物催化剂（由常规选育或经现代生物工程方法获得的菌株、细胞系或从中提取的酶，必要时须进行固定化）。这方面的工作通常由生物学方面的工作者来担任，但生化工程工作者应尽可能多地了解它们的生理生化特性和培养特性，为此必须掌握一定的微生物学、细胞学及生理生化知识。此外，还应考虑大规模种子培养或固定化生物催化剂的制备问题以及如何将其在无菌情况下接入生物反应器中等问题。

在上游加工中还包括原材料的物理和化学预处理、培养基的配制和灭菌等问题。这里含有较多的化工单元操作（主要是物料破碎、混和和输送）和热量传递以及灭菌动力学和营养成分的降解动力学等问题。

生物反应器是整个生物反应过程的关键设备。所谓生物反应器是为特定的细胞或酶提供适宜的增殖或进行特定生化反应环境的设备，它的结构、操作方式和操作条件对产品的质量、转化率和能耗有着密切的关系。在生物反应器中存在着气-液