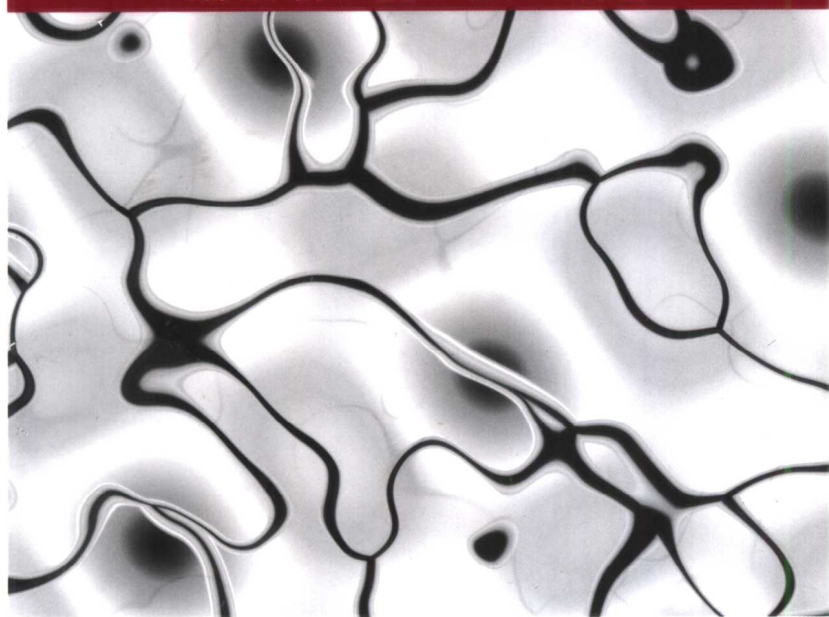


高 等 学 校 教 材

生物反应工程

戚以政 夏 杰 编著



Chemical Industry Press



化学工业出版社
教材出版中心

高等学校教材

生物反应工程

戚以政 夏杰 编著



化学工业出版社
教材出版中心

·北京·

(京)新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

生物反应工程/戚以政,夏杰编著. —北京:化学工业出版社, 2004. 8
高等学校教材
ISBN 7-5025-5024-0

I. 生… II. ①戚…②夏… III. 生物工程: 化学反应工程-高等学校-教材 IV. Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 046610 号

高等学校教材

生物反应工程

戚以政 夏杰 编著

责任编辑: 赵玉清

文字编辑: 周 侗

责任校对: 王素芹

封面设计: 蒋艳君

*

化学工业出版社
出版发行
教材出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010)64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

聚鑫印刷有限责任公司印刷

三河市延风装订厂装订

开本 787mm×1092mm 1/16 印张 21 字数 522 千字

2004 年 7 月第 1 版 2004 年 7 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-5024-0/G · 1333

定 价: 35.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

前 言

生物技术已成为 21 世纪具有巨大发展潜力的高新技术产业。同时，与生物技术紧密联系的生物工程学科也成为一门新兴的前沿学科。作为生物工程学科的一个重要分支——生物反应工程亦受到人们的高度重视。

生物反应工程实质上是一门研究生物反应过程中带有共性的工程技术问题的学科。它既是现代生物工程学科的重要理论基础，也是现代化学工程研究的前沿领域之一。编著本书的目的就是为培养能从事生物技术产品开发和生产的生物工程专业人才提供一部适用的教材和参考书。

生物反应工程的基本内容可分为生物反应过程动力学和生物反应器两大部分。前者着重讨论了酶反应和细胞反应过程的基本动力学规律，并重点探讨了传递因素对反应过程动力学的影响及其处理方法；后者则重点讨论了不同操作方式反应器的设计方法和优化，同时讨论了反应器内各种传递特性及其放大等。

本书力图突出将化学反应工程的原理和方法与解决生物反应过程开发放大中的工程技术问题紧密结合的特点，对有关的基本理论和方法做了比较详细的论述与介绍。同时著者还力图做到把重点放在介绍基本概念和分析解决问题的方法上。每章附有例题和习题，以帮助读者理解和掌握有关概念和方法。

本书在参考了戚以政、汪叔雄编著的《生化反应动力学与反应器》（第二版）的基础上，调整了全书的编写体系，补充了较多新内容，并重新编写了大部分章节，力图使本书更加符合当前生物反应工程学科发展的要求。

全书共分 10 章，其中第 5 章、第 6 章、第 8 章、第 9 章、第 10 章由华东理工大学夏杰副教授编写；第 1 章、第 2 章、第 3 章、第 4 章、第 7 章由北京化工大学戚以政教授编写，并对全书进行了修改和定稿。

在本书的编写过程中，得到了很多同行们的关心和帮助，北京化工大学王炳武老师提供了部分习题答案。在此向他们表示衷心的感谢！

由于作者水平所限，错误和不足之处在所难免，恳切希望广大读者予以批评指正。

编者
2004 年 4 月

目 录

1 绪论	1
1.1 生物反应工程的发展过程	1
1.2 生物反应工程的主要内容	2
1.3 生物反应工程的研究方法	4
2 均相酶反应动力学	6
2.1 酶反应的基本特征	6
2.1.1 酶的催化共性	6
2.1.2 酶的催化特性	7
2.2 单底物酶反应动力学	7
2.2.1 M-M方程的建立	7
2.2.2 动力学特征与参数求取	10
2.2.3 底物抑制动力学	14
2.2.4 产物抑制动力学	14
2.3 有抑制剂的酶反应动力学	15
2.3.1 竞争性抑制动力学	15
2.3.2 非竞争性抑制动力学	17
2.3.3 反竞争性抑制动力学	18
2.3.4 各种抑制的比较	19
2.4 复杂的酶反应动力学	22
2.4.1 可逆反应动力学	22
2.4.2 双底物反应动力学	22
2.4.3 平行反应动力学	23
2.4.4 变构酶反应动力学	24
2.5 反应条件对酶反应速率的影响	25
2.5.1 pH的影响	25
2.5.2 温度的影响	26
2.6 酶的失活动力学	27
2.6.1 未反应时酶的热失活动力学	27
2.6.2 反应时酶的热失活动力学	28
习题	29
3 固定化酶反应过程动力学	32
3.1 固定化酶反应动力学的特征	32
3.1.1 酶的固定化方法	32
3.1.2 酶的固定化对其动力学特性的影响	34
3.1.3 影响固定化酶动力学的因素	34

3.2	外扩散限制效应	38
3.2.1	外扩散速率对酶反应速率的限制效应	38
3.2.2	外扩散限制与化学抑制同时存在的动力学	42
3.3	内扩散限制效应	45
3.3.1	载体的结构参数与微孔内的扩散	45
3.3.2	颗粒内的浓度分布与有效因子	47
3.4	内外扩散同时存在时的限制效应	60
3.4.1	内外扩散同时存在时的有效因子	61
3.4.2	化学抑制和分配效应对有效因子的影响	62
3.5	扩散影响下的表观动力学参数与稳定性	63
3.5.1	扩散对反应速率与浓度关系的影响	64
3.5.2	扩散对反应速率与温度关系的影响	65
3.5.3	扩散对固定化酶失活速率的影响	66
	习题	69
4	细胞反应过程动力学	72
4.1	细胞反应过程计量学	72
4.1.1	细胞反应的元素衡算方程	73
4.1.2	细胞反应过程的得率系数	75
4.2	细胞生长的非结构动力学	79
4.2.1	细胞生长动力学的描述方法	79
4.2.2	无抑制的细胞生长动力学	81
4.2.3	有抑制的细胞生长动力学	85
4.2.4	细胞生长延迟期、稳定期、死亡期和细胞维持动力学	85
4.2.5	温度和 pH 对细胞生长速率的影响	86
4.3	底物消耗与产物生成动力学	88
4.3.1	底物消耗动力学	88
4.3.2	代谢产物生成动力学	90
4.3.3	细胞反应的产热速率	92
4.4	灭菌动力学	93
4.5	细胞反应动力学参数的估算	95
4.5.1	实验反应器	96
4.5.2	动力学参数的估算	97
4.6	固定化细胞反应动力学	105
4.6.1	生物膜内的扩散限制	105
4.6.2	絮凝物内的扩散限制	107
4.7	细胞生长的结构模型	108
4.7.1	分室模型	108
4.7.2	代谢模型	110
4.7.3	重组细胞生长模型	112
	习题	113

5 间歇式操作反应器	117
5.1 生物反应器设计概论	117
5.1.1 分类与特征	117
5.1.2 基本设计方程	120
5.2 间歇式操作反应器的设计	121
5.2.1 间歇式操作的特点	121
5.2.2 反应时间的计算	121
5.2.3 有效体积的计算	126
5.3 反应过程的流体力学	126
5.3.1 反应介质的流变特性	126
5.3.2 影响流变性质的因素	128
5.3.3 流体的剪切作用	129
5.4 氧的传递反应特性	134
5.4.1 气液相间氧的传递与反应	134
5.4.2 液固相间和细胞团内氧的传递	137
5.4.3 影响氧传递的因素	138
5.4.4 体积传质系数的测定	141
5.5 机械搅拌反应器的结构与计算	143
5.5.1 反应器结构与操作参数	143
5.5.2 搅拌功率的计算	146
5.5.3 体积传质系数 $k_L a$ 的计算	149
5.6 反应过程的传热特性	151
5.6.1 反应过程的传热	151
5.6.2 灭菌过程的传热	154
习题	157
6 连续式操作反应器	160
6.1 概述	160
6.1.1 连续操作的特点	160
6.1.2 理想流动反应器的模型方程	161
6.2 连续操作搅拌槽式反应器 (CSTR)	163
6.2.1 酶反应时的单级 CSTR	163
6.2.2 细胞反应时的单级 CSTR	163
6.2.3 带细胞循环的单级 CSTR	173
6.2.4 多级 CSTR 串联	176
6.3 连续操作管式反应器 (CPFR)	180
6.3.1 酶反应时的 CPFR	180
6.3.2 带循环的 CPFR	181
6.3.3 CPFR 与 CSTR 的选择与组合	184
6.4 膜式酶反应器	188
6.4.1 膜生物反应器概述	188

6.4.2 膜式酶反应器及其操作特性	191
习题	195
7 反应器的流动模型与混合特性	199
7.1 停留时间分布	199
7.1.1 停留时间分布的定量描述	199
7.1.2 停留时间分布的实验测定	201
7.1.3 停留时间分布的统计特征值	205
7.2 理想流动模型的停留时间分布	207
7.2.1 CPFRR 的停留时间分布	208
7.2.2 CSTR 的停留时间分布	209
7.3 非理想流动模型	210
7.3.1 槽列模型	211
7.3.2 轴向扩散模型	215
7.3.3 组合模型	220
7.4 流体的混合特性	221
7.4.1 混合的分类	221
7.4.2 微观混合特性的描述	222
7.4.3 微观混合对反应结果的影响	223
7.5 固定床生物反应器	225
7.5.1 固定床酶反应器	225
7.5.2 固态发酵反应器	227
习题	229
8 半间歇半连续操作反应器	232
8.1 概述	232
8.1.1 半间歇半连续操作的特点	232
8.1.2 半间歇半连续操作的分类	232
8.1.3 补料分批操作的适用范围	234
8.2 补料分批培养过程的操作模型	235
8.2.1 基础模型方程的建立	235
8.2.2 恒速流加操作模型	237
8.2.3 恒定生长参数的流加模型	238
8.2.4 定值控制的流加模型	240
8.2.5 反复流加操作模型	242
8.3 补料分批培养过程的优化	243
8.3.1 补料速率的优化	243
8.3.2 补料方式的选择	249
8.4 反应-分离耦合过程	251
8.4.1 膜透析培养过程	252
8.4.2 萃取-培养过程	254
习题	257

9 动植物细胞反应器	259
9.1 动物细胞反应器	259
9.1.1 动物细胞培养过程概述	259
9.1.2 微载体悬浮培养反应器	266
9.1.3 无泡搅拌反应器	269
9.1.4 中空纤维细胞培养反应器	270
9.1.5 流化床细胞培养反应器	271
9.2 植物细胞与光照生物反应器	271
9.2.1 植物细胞培养过程概述	271
9.2.2 植物细胞反应器	273
9.2.3 光照生物反应器	275
9.3 气升式反应器	276
9.3.1 反应器结构与传递特性	276
9.3.2 反应器模型	282
9.3.3 气升式反应器在细胞培养中的应用	284
习题	286
10 生物反应器的放大	287
10.1 放大原理与准则	287
10.1.1 放大原理	287
10.1.2 放大准则	290
10.2 经验放大法	291
10.2.1 通气速率放大	292
10.2.2 搅拌功率及速率放大	293
10.3 缩小-放大法	298
10.3.1 机理分析——时间常数法	298
10.3.2 实验模拟	299
10.3.3 缩小-放大法在生物反应器放大中的应用	300
10.4 其他放大方法	305
10.4.1 因次分析法	305
10.4.2 基础模型法	307
10.4.3 计算流体力学法	307
习题	309
部分习题参考答案	311
主要符号一览表	314
主要参考文献	320
索引	323

1 绪 论

1.1 生物反应工程的发展过程

众所周知，生物技术由于在解决人类所面临的食物、资源、环境和健康等诸多挑战中将会发挥巨大作用，而被世界各国视为 21 世纪最重要的高新技术。生物技术是指应用自然科学和工程学的原理，依靠生物催化剂的作用，将物料进行加工以提供产品或为社会服务的技术。一般生物技术产品的生产过程可用图 1-1 所示的流程示意表示。从该图可以看出，该生产过程应由四个部分组成。

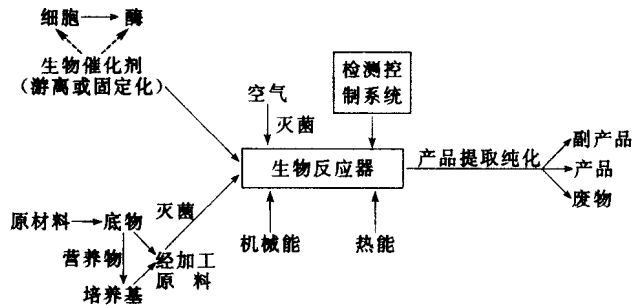


图 1-1 一般生物技术产品的生产过程示意

① 原材料的预处理。包括原材料的选择，必要的物理与化学法加工处理，以及培养基的配制和灭菌等。

② 生物催化剂的制备。包括菌种的选择、扩大培养和接种，酶催化反应中酶的纯化，以及酶的固定化等。

③ 生物反应器。生物反应器是进行生物反应的核心设备。它应为生物催化剂提供适宜的反应环境以达到进行反应的目的。反应器的结构、操作方式和反应条件对原料的转化率、产品的质量和生产成本都有着密切的关系。因而要对反应器中的参数进行检测与控制。

④ 产物的分离纯化。其目的是采用适当的方法将目的产物从反应液中提取出来并加以精制，以求达到所规定的产品质量要求。

将生物技术的实验室成果，经工程开发而成为可供工业生产的工艺过程，人们又常称其为生物反应过程。根据所采用生物催化剂的不同特性，生物反应过程可分为酶催化反应过程、微生物细胞反应过程和动植物细胞反应过程。其特性比较见表 1-1。

表 1-1 各种生物反应过程的特性比较

特 性	酶催化反应	单菌反应体系	多菌混合反应体系	动植物细胞反应体系
反应水平	分子水平	单一群体水平	生态系水平	细胞或组织水平
底物数量	1~2 种	若干种	若干种	若干种
反应过程的复杂程度	简单	一般	复杂	很复杂
产物数量	1~2 种	细胞和若干种代谢产物	若干种菌体和 CO ₂ 、CH ₄ 等	细胞或组织或若干种产物
反应速率或生长速率	快	一般	慢	很慢

从表 1-1 中可以看出,不同生物催化剂的反应过程特性之间的差别是很大的。

生物技术又是一跨学科的综合性的技术。它的发展不仅涉及生物化学、分子生物学、遗传学、微生物学和动植物学等生物类学科知识,同时也应用了化学工程学、电子学、计算机科学等众多工程学科。需要特别指出的是,在生物技术与现代工程技术相结合的基础上发展起来的生物化工技术,不仅提供了高效率的生物反应器、新型的分离技术,还提供了在线控制自动化、工艺过程最优化等系列技术,使生物技术发展到一个新的高度。

20 世纪 40 年代,由于解决了高效通气搅拌供氧技术、无菌空气过滤技术、大型反应器灭菌等一系列工程技术问题,使以青霉素为代表的微生物发酵工业进入一个新的发展阶段,一门反映生物和化学工程交叉的学科——生物化学工程(生化工程)也随之在 20 世纪 40 年代末诞生,并取得了快速的发展。

1964 年 Aiba 等认为通气搅拌与放大是生化工程学科的核心,其中放大是生化工程的焦点,并认为发酵罐的放大等问题不仅仅与发酵罐的特性、液体的流动有关,而且与微生物的代谢反应紧密相联。1973 年, Aiba 等进一步指出,在大规模研究方面,仅仅把重点放在无菌操作、通气搅拌等过程的物理现象解析和设备的开发上是不够的,应当进一步开展对微生物反应本质的研究。其后,生化工程的研究重点就逐步从过程的物理特性研究过渡到对微生物反应进行定量研究上来。

20 世纪 50 年代中后期,有关微生物反应动力学的研究已经逐步发展成为生化工程的一个重要分支——生物反应工程。1971 年英国的阿特金森(B. Atkinson)首先采用了生物反应工程这一术语。1974 年他在编著的《生物反应器》一书中指出,生物反应工程的目的是提供描述微生物体系反应动力学的合适表达式,并能通过实验求出其常数。1979 年,日本学者山根恒夫编著的《生物反应工程》一书认为,生物反应工程是一门以速率为基础,研究酶反应、微生物反应及废水处理过程的合理设计、操作和控制的工程学。1985 年,德国学者卡尔·许格勒(K. Schügerl)提出生物反应工程的研究应当包括两个方面,一是宏观动力学,它涉及生物、化学、物理之间的相互关系;二是生物反应器工程,它主要涉及不同的反应器对生物化学和物理过程的影响。

因此,可以认为生物反应工程是一门以生物反应动力学为基础,研究生物反应器的设计、放大和生物反应过程的优化操作与控制的学科。进行生物反应工程的研究,除了涉及生物化学、微生物学等众多生物学科外,还要应用反应动力学、传递过程原理等化学工程学的原理。生物反应工程已成为生物化学工程学科的一个重要分支。

1.2 生物反应工程的主要内容

生物反应工程的主要内容可分为两大部分:生物反应动力学,生物反应器的设计、优化与放大。

(1) 生物反应动力学

生物反应动力学研究生物反应过程速率及其影响因素,它是生物反应工程学的理论基础之一。这里所讨论的生物反应动力学包含两个层次的动力学:一是本征动力学,又称微观动力学,它是指在没有传递等工程因素影响时,生物反应固有的速率,该速率除与反应本身特性有关外,只与各反应组分的浓度、温度、催化剂及溶剂的性质有关,而与传递因素无关;二是宏观动力学,又可称为反应器动力学,它是指在反应器内所观测到的总反应速率及其与影响因素的关系。这些影响因素包括反应器的传质、传热、物料的流动与混合,以及反应器

的型式和结构以及操作方式等。对生物反应工程而言，更为关注的是生物反应宏观动力学，因为根据宏观动力学及其对反应器空间和反应时间的积分结果，可计算出达到预定反应程度所需的反应时间和反应器体积。

由于生物反应过程的复杂性，也给生物反应动力学带来了多样性。对酶催化反应，反应动力学可表达为分子水平动力学；对细胞反应，其动力学可在细胞水平表达；对废水的生物处理体系，则可表达为微生物群体动力学。每一表达水平都有其特征，这些特征需要有其特有的动力学处理方法。

以细胞反应动力学为例，对不同的研究角度，则有不同的动力学模型。

如果把细胞视为单组分，则环境变化对细胞组成的影响可被忽略，在此基础上建立的模型称为非结构模型。它是在动力学实验的基础上，通过对实验数据拟合而建立的经验性和半经验关联模型。这也是最简单的、应用较普遍的一类模型。但是，该模型只有当细胞内各种成分均以相同比例增加，即处在所谓平衡生长状态，才能采用此类模型。

如果细胞生长时，其内部各组分合成速率不同而使各组分增加的比例不同，则细胞的生长处于非均衡状态，此时必须采用以生物反应机理出发推导而得的结构模型。所以它是在考虑了细胞组成变化的基础上而建立的模型。一般选取 RNA、DNA 及蛋白质含量等作为过程变量，将其表示为细胞组成的函数。但是由于细胞反应过程极其复杂，加上检测手段的限制，使其动力学研究遇到了困难，致使结构模型的应用受到了限制。

对细胞反应动力学，还有考虑个体细胞之间的差异和不考虑其差异的统计模型和非统计模型；认为细胞均匀分散于培养基中和不均匀分散的均相模型和非均相模型。限于本书的性质和要求，对细胞生长反应动力学，将以非结构模型为主，适当介绍结构模型。

要研究细胞反应过程中参与反应的组分变化规律，必须用反应计量学方法来处理。考虑到碳、氢、氧、氮元素的守恒关系，可将反应器中细胞的活动用上述元素的平衡式来表示，因而可用总化学计量方程来对生物反应过程进行宏观处理，而不必掌握每个反应的细节。

也可以在数百种参与代谢的组分中选择有限的几种化合物用在总生长化学计量方程中，据此可得到细胞反应过程总物质和能量变化的规律。为了给出反应可能进行到的最大程度，在生物反应工程中，常用得率系数 Y_{ij} 表示对各种底物生成细胞和代谢产物的潜力进行评估和定量计算。 Y_{ij} 中， i 代表细胞和产物， j 表示底物。通过得率系数可以把消耗量与生成量关联起来，并由此可以推出不同消耗量与不同生成量之间的数量关系。在计算得率系数时也可以与化学计量系数相关联。

(2) 生物反应器的设计、优化与放大

生物反应器是进行生物反应的核心设备。要求它能为进行各种生物反应过程提供良好的反应环境和条件。

生物反应器的设计内容，包括反应器型式、结构和操作方式的选择，以及反应器几何尺寸的确定。

在选择反应器型式、结构和操作方式时，应根据生物反应和物料的特性以及工艺要求而定。不同的反应器型式、结构和操作方式，会有不同的传递特性、不同的流动与混合特性，从而导致了生物反应过程速率和反应结果的不同影响。

确定反应器的几何尺寸时，首先应根据有关衡算式和反应动力学，确定完成规定的生产任务时所需的反应器有效体积，据此进而确定反应器的几何尺寸。

生物反应器的优化包括优化操作和优化设计，亦称为生物反应过程的优化。它是在分析

所涉及生物反应过程特征的基础上,进行有关工程的基础研究,从而制定出最合理的技术方案 and 最优操作条件,进行反应器的最优设计,以达到优质、高产、低消耗的目标。为了使生物反应器在最佳条件下运转,必须对生物反应过程参数进行检测与控制,这是实现生物反应过程优化的基础。

生物反应器的放大是指将实验室规模的研究结果放大到工业规模的生物反应器中进行的技术。它是生物反应过程开发的重要组成部分。生物反应器放大的关键在于能否将实验室的优化环境成功转移到工业反应器中去。为此,需要弄清反应器的几何尺度、操作条件与环境因素之间的确切关系,以使实验室的优化环境能在工业大规模反应器中得以重现。

从生物反应工程考虑,要能正确进行生物反应器的设计、优化和放大,必须对反应器的传递和流动特性进行深入的研究。例如,反应器中气液固相间的传质、反应介质的流体力学特性以及反应器流体的流动模型与混合特性等。这些都是必须掌握的工程基础。

综上所述,生物反应器已不仅是生物反应过程的核心设备,它也成为生物反应过程的核心内容。因此有的学者提出了生物反应器工程的概念。它既包括了生物反应器中进行各种生物反应的动力学特性;也包括了生物反应器的结构、操作方式与反应器内流体流动、混合、流体力学、传质等特性的关系;还有生物反应器的设计与放大、优化操作和控制等。把生物反应的动力学特征与反应器的工程特征相联系起来进行研究,这无疑会对加速实现生物技术的实验研究成果的工业化起到很大的推动作用。随着生物技术的发展,新型生物反应器的研究开发,依然是引起人们重视的一个领域,例如,针对基因工程产品和细胞培养所需的特殊的生物反应器;适应高密度和高黏度培养体系的生物反应器和大型高效节能生物反应器;以及超临界状态下的生物反应和水-有机相体系的双液相生物反应等过程的反应器开发等。

1.3 生物反应工程的研究方法

由于生物反应过程的复杂性,生物反应工程的研究方法经历了长期的探索。从经验模型、半经验模型到数学模型法,直到近年来所提出的多尺度关联分析模型法和计算流体力学研究法。

经验模型法是在不了解或不考虑过程机理的情况下,仅根据一定条件下的实验数据而进行关联所建立的模型。半经验模型法是在对过程机理有一定了解的基础上,结合实验数据而建立的模型。

数学模型法是应用数学语言来表述生物反应过程中各个变量之间的关系。由于采用了数学模型法,可用几个关键变量来代替复杂的反应过程,可将微观现象与宏观现象相关联;可以用来预测反应的结果,也可以用来预测可能是重要的但尚未知或被忽视的变量和参数,可帮助了解反应过程的机理。这就要求所建立的数学模型应与实验结果相吻合。数学模型法不能完全代替实验,但能减少实验的次数。在建立生物反应过程数学模型时,常按下述几个步骤进行。

① 反应过程的适当简化。对复杂的生物反应体系,在不损失其基本信息的前提下应进行适当的简化,可简化为少数几个子系统,这些系统又被认为是最重要的,并由若干关键变量表示,这样才有可能对反应系统进行研究,并且又保证研究结果的准确度。这种合理的简化常称为简化原理。如悬浮在生物反应器液相中的细胞,可视为一开放的“黑箱”体系,忽略细胞内各种生物反应,通过测定它在液相中的浓度变化来考虑其宏观行为,但这并不意味着忽视它的变化。这是一种合理的简化。简化的结果,就可以从宏观角度了解底物消耗、细

胞生长和代谢产物形成的特性，为过程的研究开发提供重要线索。

② 定量化研究。研究生物反应过程必需掌握生物反应过程中各个环节的反应速率和转化率，这些都需要进行量化研究。可以从细胞或酶反应动力学和计量学的研究结果，通过参数检测和实验数据进行定量计算。此时实验过程传感系统配置及测量精度以及数据处理方法等都成为至关重要的问题。随着实时计算机控制和数据采集系统技术的进步，使反应过程的定量化研究具有了实时性和可操作性，为进一步建立反应过程的数学模型打下了基础。

③ 过程分离原理。为了获取有关生物反应和传递过程的数据和规律，采用精心设计的实验方法，使生物反应和传递过程在相互不影响的情况下进行。这种在量化基础上的过程分离，为生物反应过程数学模型结构的确定和建立起到了重要作用。

④ 数学模型的建立。通过建立数学模型，可将实验测得的特定结果通用化和各局部现象综合化，并有可能推理出体系的其他性质。

数学模型法虽然有着广阔的发展前景，但由于生物反应过程的复杂性，至今还有许多领域尚未被人们认识，有些过程也很难用数学模型描述，有些过程的边界条件也不易确定，因而使所建立的数学模型的求解产生了困难，这使数学模型法的应用受到了限制。

对细胞生长和代谢等复杂过程研究，必须考虑反应体系的多问题、多因素、多层次和时变性等特性。为此，国内外一些研究者应用近年来在化学工程领域兴起的多尺度研究方法对生物反应过程进行分析与优化。用这种方法考察生物反应过程，可将生物反应过程分解为反应器操作的宏观尺度、细胞代谢的微尺度和基因表达的纳尺度的多尺度系统，而且认为，随着反应器几何尺度的改变，生物反应体系控制机理的结构也可能发生改变。对这种难以用线性动力学来描述的细胞反应体系，用多尺度的研究方法有可能避免用传统的生物学和化学工程学的方法解决生物反应过程问题所带来的局限性，从而对影响生物反应过程的因素做出多方面、多尺度的综合考虑。用“多尺度”的方法研究生物反应过程，目前尚处于探索阶段，但值得给予关注。

对生物反应工程的研究方法，除上述介绍的外，近年有更进一步的发展。对细胞反应过程，不少研究应用代谢工程和系统生物学等理论、观点与方法，着重从过程的微观本质进行机理分析，由此确立反应器的操作方式和操作条件或过程的调控机制。在反应器特性和放大研究上，目前正在进行应用计算流体力学等理论方法的尝试，并且已显示出良好的发展前景。在生物反应器的计算机控制与过程优化上，模糊推理控制、神经网络和自适应控制等方法正在得到充分的重视与应用，同时生物反应动力学和反应器的模型化已成为模型优化控制的研究重点。

2 均相酶反应动力学

内容要点：了解酶反应的特点；掌握 M-M 方程和各种抑制动力学的特征及其应用；熟悉复杂酶反应及其失活动动力学的处理方法。

均相酶反应，系指酶与反应物系处于同一相——液相的酶催化反应，因此它不存在相间的物质传递。均相酶反应动力学所描述的反应速率与反应物系的基本关系，反映了该反应过程的本征动力学关系，并且酶与反应物的反应，也是分子水平上的反应。因而均相酶反应动力学作为阐明酶反应机理的重要手段而得到了发展。它通过研究影响反应速率的各种因素，通过对各基元反应过程进行静态与动态的分析，从而获得反应机理的有关信息。

酶反应动力学的研究可追溯到 1902 年。V. Henri 首先进行了转化酶、苦杏仁酶和 β -淀粉酶等三种酶的反应实验，研究了其反应机理，并导出了动力学方程式。但他的实验不够正确。1913 年，L. Michaelis 和 M. L. Menten 应用了所谓“快速平衡”解析方法对该速率方程进行了详细的研究，发表了著名的米氏方程，即现在应用的 Michaelis-Menten 方程，常简称为 M-M 方程。1925 年，G. E. Briggs 和 J. B. S. Haldane 发表了“稳态法”解析方法，对 M-M 方程的推导方法进行了修正。后来又有许多学者对酶催化反应动力学进行了多方面的探索，使酶反应动力学的研究有了很大的发展。

对于从事酶应用的工程技术人员，除了需要了解酶的反应机理外，更应着重研究酶的总反应速率，能定量解析影响总反应速率的各种因素，建立可靠的总反应速率方程式，进而设计出合理的反应器和确定最佳操作条件。

用反应动力学来阐明反应机理和将其用于设计反应器及其操作，两者的研究内容与方法是有不同的，前者属于本征生物反应动力学的范畴，后者则属于生物反应工程动力学。显然，后者将是本书讨论的重点。

2.1 酶反应的基本特征

酶是生物为提高其生化反应效率而产生的生物催化剂，其化学本质为蛋白质，少数酶同时含有少量的糖和脂肪。在生物体内，所有的反应均在酶的催化作用下完成，几乎所有生物的生理现象都与酶的作用紧密联系。目前已知的酶多达 2200 种以上。根据国际生物化学协会 (International Union Biochemistry, IUB) 规定的分类方法，可将酶分为六大类，即氧化还原酶、转移酶、水解酶、裂合酶、异构酶、合成酶。作为生物催化剂的酶，它既具有一般催化剂的共性，又应具有生物催化剂的特性。

2.1.1 酶的催化共性

酶参与生物化学反应，它能降低反应的活化能，加快生化反应的速率；但它不改变反应的方向和平衡关系，即它不能改变反应的平衡常数，而只能加快反应达到平衡的速率；酶在反应过程中，其立体结构和离子价态可以发生某种变化，但在反应结束时，一般酶本身不消耗，并恢复到原来状态。例如，过氧化氢的分解，在无催化剂存在时，该分解反应的活化能为 75.31 kJ/mol，在用过氧化氢酶催化时，该分解反应的活化能仅为 8.37 kJ/mol。

2.1.2 酶的催化特性

① 有较高的催化活性。若以 1 mol 酶在单位时间内所能催化底物的最大量 (mol) 表示其活力, 常称为酶的分子活力。根据实验测定, 大部分酶的分子活力 10^3 , 最高可达 10^6 以上。

② 有很强的专一性。酶反应有很高的选择性, 一种酶仅能作用于一种物质或一类结构相似的物质进行某一种反应, 这种特性称为酶的专一性或选择性。酶的专一性是酶作为催化剂最重要的特性, 也是酶反应过程优于一般化学反应过程的最重要的理由之一。

一种酶若只能催化一种化合物进行一种反应, 这种专一性称为绝对专一性, 例如脲酶只能催化尿素水解生成二氧化碳和水。若一种酶能够催化一类具有相同化学键或基团的物质进行某种类型的反应, 这种专一性称为相对专一性, 如脂肪酶可以催化所有酯类化合物水解。若一种酶只能催化某化合物在热力学上可能进行的许多反应中的一种反应, 这种专一性称为酶的反应专一性, 具有不同反应专一性的酶只各自催化不同的反应。例如, 对同一反应物葡萄糖, 以葡萄糖氧化酶为催化剂可得葡萄糖酸; 以葡萄糖异构酶为催化剂可得果糖; 以己糖激酶为催化剂可得葡萄糖-6-磷酸。绝大多数的酶都具有反应专一性。一种酶只能催化一种底物, 则称为酶的底物专一性。一种酶只能作用于所有立体异构体中的一种, 则称为立体专一性。此外, 还有官能团专一性、序列专一性等。利用酶的这种高度的多种专一性, 有可能制备出化学催化反应不能得到的化合物, 这也有利于提高产物的分离纯度。

③ 酶反应常需要辅因子的参与。辅因子是非蛋白化合物。酶与辅因子结合形成有催化活性的复合物, 该复合物也常简称为酶。作为辅因子的有金属离子、辅酶和辅底物。

④ 具有温和的反应条件。酶反应温度一般在生理温度 $25\sim 37^\circ\text{C}$ 的范围, 仅有少数酶反应可在较高温度下进行。同时, 酶反应一般是在接近中性的 pH 条件下进行。

⑤ 酶易变性与失活。酶的化学本质是蛋白质, 因而具有蛋白质的所有性质。其中容易变性的性质, 使得酶在应用时, 常因变性而活力下降, 甚至完全失去活力, 即失活。酶的变性多数为不可逆。引起变性的原因有物理因素及化学因素。物理因素包括热、紫外线、X 射线、声波等; 化学因素包括酸、碱、表面活性剂、重金属盐等化学药品的影响。因而产生了诸如热变性、酸碱变性、氧化变性等。

此外, 酶作为催化剂还存在着酶的提取工艺繁琐、成本昂贵, 以及目前大多数酶反应还只能在水溶液中进行的不足。

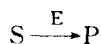
2.2 单底物酶反应动力学

单底物酶反应动力学系指由一种反应底物参与的不可逆反应。属于此类反应的有酶的水解反应和异构化反应。这种简单的单底物酶反应动力学, 是酶反应动力学的基础。

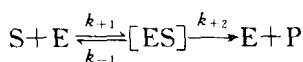
2.2.1 M-M 方程的建立

对酶反应过程的机理, 得到大量实验结果支持的是活性中间复合物学说。该学说认为酶反应至少包括两步, 首先是底物 S 和酶 E 相结合形成中间复合物 [ES], 然后该复合物分解成产物 P, 并释放出 E。

对单一底物参与的简单酶催化反应



其反应机理可表示为



式中 E——游离酶；
 [ES]——酶底物复合物；
 S——底物；
 P——产物；

k_{+1} 、 k_{-1} 、 k_{+2} ——相应各步的反应速率常数。

根据化学反应动力学，反应速率通常以单位时间、单位反应体系中某一组分的变化量来表示。对均相酶反应，单位反应体系常用单位体积表示。因此，上述反应的速率可表示为

$$r_S = -\frac{1}{V} \times \frac{dn_S}{dt}, \quad r_P = \frac{1}{V} \times \frac{dn_P}{dt} \quad (2-1)$$

式中 r_S ——底物 S 的消耗速率，mol/(L·s)；
 r_P ——产物 P 的生成速率，mol/(L·s)；
 V——反应体系的体积，L；
 n_S ——底物 S 的物质的量，mol；
 n_P ——产物 P 的物质的量，mol；
 t——时间，s。

对于底物 S，随着反应的进行，其量由于消耗而逐渐减少，即时间导数 $dn_S/dt < 0$ ，因此用 S 来计算反应速率时，需加一负号，以使反应速率恒为正值。而 P 为产物，情况相反， $dn_P/dt > 0$ ，故用 P 来计算反应速率时，则不需加负号。

根据质量作用定律，P 的生成速率可表示为

$$r_P = k_{+2} c_{[ES]} \quad (2-2)$$

式中 $c_{[ES]}$ ——中间复合物 [ES] 的浓度，它为一难测定的未知量，因而不能用它来表示最终的速率方程。

在推导动力学方程时，对上述反应机理，有下述四点假设。

- ① 在反应过程中，酶的浓度保持恒定，即 $c_{E0} = c_E + c_{[ES]}$ 。
- ② 与底物浓度 c_S 相比，酶的浓度是很小的，因而可以忽略由于生成中间复合物 [ES] 而消耗的底物。
- ③ 产物的浓度是很低的，因而产物的抑制作用可以忽略，也不必考虑 $P + E \rightarrow [ES]$ 这个逆反应的存在。换言之，据此假设所确定的方程仅适用于反应初始状态。
- ④ 生成产物的速率要慢于底物与酶生成复合物的可逆反应速率，因此，生成产物的速率决定整个酶催化反应的速率，而生成复合物的可逆反应达到平衡状态。因此，又称为“平衡”假设。

根据上述假设和式 (2-2)，有

$$r_P = \frac{dc_P}{dt} = -\frac{dc_S}{dt} = k_{+2} c_{[ES]} \quad (2-3)$$

和
$$k_{+1} c_E c_S = k_{-1} c_{[ES]} \quad (2-4)$$

或表示为
$$c_E = \frac{k_{-1}}{k_{+1}} \times \frac{c_{[ES]}}{c_S} = K_S \frac{c_{[ES]}}{c_S} \quad (2-5)$$

式中 c_E ——游离酶的浓度，mol/L；
 c_S ——底物的浓度，mol/L；