

第27篇 目 录

一般参考文献.....	27-3	27.2.2 氧传递.....	27-14
术语和单位.....	27-3	27.2.3 通气装置.....	27-16
导论	27-4	27.2.4 放大.....	27-17
27.1 生物学概念	27-5	27.2.5 灭菌.....	27-18
27.1.1 细胞.....	27-5	27.3 产物提取	27-22
27.1.2 细菌.....	27-5	27.4 过程模拟	27-24
27.1.3 藻类.....	27-6	27.4.1 结构模型.....	27-24
27.1.4 真菌.....	27-6	27.4.2 连续培养.....	27-24
27.1.5 病毒.....	27-6	27.4.3 数学分析.....	27-25
27.1.6 生物化学.....	27-6	27.4.4 再循环.....	27-26
27.1.7 能量.....	27-8	27.4.5 混合培养.....	27-27
27.1.8 突变和基因工程.....	27-8	27.4.6 计算机和检测仪表.....	27-29
27.1.9 光合作用.....	27-9	27.5 酶反应动力学	27-30
27.2 生物反应器	27-10	27.5.1 酶的固定化和固定化酶工程...	27-31
27.2.1 发酵罐.....	27-10	27.5.2 酶反应器.....	27-32

第27篇 生 化 工 程

作者:

Henry R. Bungay,

George T. Tsao

Arthur E. Humphrey

译者:

陆仕灿

俞俊棠 篇审校人

316456/3515)

316449/0215

第27篇 目 录

一般参考文献.....	27-3	27.2.2 氧传递.....	27-14
术语和单位.....	27-3	27.2.3 通气装置.....	27-16
导论	27-4	27.2.4 放大.....	27-17
27.1 生物学概念	27-5	27.2.5 灭菌.....	27-18
27.1.1 细胞.....	27-5	27.3 产物提取	27-22
27.1.2 细菌.....	27-5	27.4 过程模拟	27-24
27.1.3 藻类.....	27-6	27.4.1 结构模型.....	27-24
27.1.4 真菌.....	27-6	27.4.2 连续培养.....	27-24
27.1.5 病毒.....	27-6	27.4.3 数学分析.....	27-25
27.1.6 生物化学.....	27-6	27.4.4 再循环.....	27-26
27.1.7 能量.....	27-8	27.4.5 混合培养.....	27-27
27.1.8 突变和基因工程.....	27-8	27.4.6 计算机和检测仪表.....	27-29
27.1.9 光合作用.....	27-9	27.5 酶反应动力学	27-30
27.2 生物反应器	27-10	27.5.1 酶的固定化和固定化酶工程...	27-31
27.2.1 发酵罐.....	27-10	27.5.2 酶反应器.....	27-32

一般参考文献

- Alfa, S., A. E. Humphrey, and N. F. Millis, *Biochemical Engineering*, 2d ed., University of Tokyo Press, Tokyo, 1973. Atkinson, B., *Biochemical Reactors*, Pion, London, 1974. Bailey, J. E., and D. F. Ollis, *Biochemical Engineering Fundamentals*, McGraw-Hill, New York, 1977. Bungay, H. R., *Energy: The Biomass Options*, Wiley, New York, 1981. Bushell, M. E., and J. H. Slater (eds.), *Mixed Culture Fermentations*, Academic, New York, 1981. Calcott, P. H., *Continuous Cultures of Cells*, vols. I and II, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1981. Chibata, I., S. Fukju, and L. B. Wingard, *Enzyme Engineering*, vol. 6 of series, Plenum, New York, 1982. Goldstein, I. S. (ed.), *Organic Chemicals from Biomass*, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1981. Grady, C. P. L., Jr., and H. C. Lim, *Biological Wastewater Treatment: Theory and Applications*, Marcel Dekker, New York, 1980. Hollender, A., R. Rabson, P. Rogers, A. San Pietro, R. Valentine, and R. Wolfe, *Trends in the Biology of Fermentation for Fuels and Chemicals*, Plenum, New York, 1982. Kirk, T. K., *Lignin Biodegradation: Microbiology, Chemistry, and Potential Applications*, vols. I and II, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1980. Klas, D. I. (ed.), *Biomass as a Nonfossil Fuel Source*, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1981. Moo-Young and various coauthors, *Advances in Biotechnology: Proceedings of the 6th International Fermentation Symposium, London, Canada*, 4 vols., Pergamon, New York, 1981. Peppler, H. J., and D. Periman, *Microbial Technology*, Academic, New York, 1979. Rose, A. H. (ed.), *Economic Microbiology Series*, Academic, New York, annually. San Pietro, A. (ed.), *Biochemical and Photosynthetic Aspects of Energy Production*, Academic, New York, 1980. Smith, J. E., D. R. Berry, and B. Kristiansen (eds.), *Fungal Biotechnology*, Academic, New York, 1980. Sofer, S. S., and O. R. Zaborak (eds.), *Biomass Conversion Processes for Energy and Fuels*, Plenum, New York, 1981. Solomon, G. L., *Materials and Methods in Fermentation*, Academic, New York, 1969. Stafford, D. A., D. L. Hawkes, and H. R. Horton, *Methane Production from Waste Organic Matter*, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1980. Vogt, P. (ed.), *Energy Conservation and the Use of Renewable Energies in the Bio-Industries*, Pergamon, New York, 1981. Wang, D. I. C., C. L. Cooney, A. L. Demain, P. Dunnill, A. E. Humphrey, and M. D. Lilly, *Fermentation and Enzyme Technology*, Wiley, New York, 1979. Wise, D. L. (ed.), *Fuel Gas Production from Biomass*, vols. I and II, CRC Press, Boca Raton, Fla., 1981. Wiseman, A., *Principles of Biotechnology*, Surrey University Press, Glasgow, 1982.

术语和单位

符号	定义	SI单位	符号	定义	SI单位
A	经验常数	无因次	S	底物浓度	kg/m^3
C	浓度(质量)	kg/m^3	S	剪切力	N/m^2
C	浓度	mol/m^3	S_0	进料底物浓度	kg/m^3
D	直径	m	T	温度	K
D	扩散系数	m^2/s	t	时间	s
D	F/V	s^{-1}	V	反应速度	mol/s
DKI	灭菌中残存十分之一的 时间	θ	V_m	最大反应速度	mol/s
E	活化能	cal/mol	V	空气速度	m/s
F	流动速率或加料速率	m^3/s	V	发酵罐体积	m^3
H	宿主有机体浓度	kg/m^3	V	产物浓度的导数(式(27-30))	$\text{kg}/(\text{m}^3 \cdot \text{s})$
K	速率系数	单位依反应级数而定	VVM	空气体积/发酵液体积/分	无因次
K_m	米氏常数	kg/m^3	X	菌体浓度	kg/m^3
K_{1a}	合在一起的传质系数	s^{-1}	Y	产率系数	kg/kgO_2
K_d	死亡速率系数	s^{-1}	希腊符号		
K_s	Monod系数	kg/m^3	β	无因次米氏常数	无因次
k	动力学常数	依反应级数而定	ΔE	活化能	cal/mol
M	能量维持系数	无因次	μ	比生长速率系数	s^{-1}
N	有机体或孢子数	无因次	μ	最大比生长速率系数	s^{-1}
P	产物浓度	kg/m^3	ω	循环比	无因次
Q_{O_2}	比呼吸速率系数	$\text{kgO}_2/(\text{kg有机体} \cdot \text{s})$	ϕ	西勒模数	无因次
R	通用气体常数	$8314 \text{ J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$			
r	半径	m			

导论

生化工程与化学工程的区别并不在于单元操作及单元过程的原理，而在于前者涉及了生命系统的自然现象。细胞及从细胞中提取的酶在工业上的开发应用必须在生物系统能起作用的条件下才能实现，因此重要的问题，也就是生命系统最大的优点，是在温和条件下进行。在精确控制的pH值、温度、氧化还原电位以及培养基的情况下，应使给定的菌株具有压倒的优势。而在其他条件下操作，不但削弱了反应速率，还会使受污染的微生物疯狂生长。在混合培养系统中，特别是在废水的生物处理中，生物体和环境之间不断进行着相互作用，影响了生物的生长和废水处理的操作和控制。若能充分发挥游离菌株、聚集细胞、混合培养物以及无细胞的酶或组分的复杂生物化学的活力，无疑是向工程方面提出了尖端的、难以对付的挑战。生物系统的稳定性涉及众多生物化学步骤中每一步的协调，基因的控制常遭致突变。某一高产突变株的后代在传代过程中会逆转成低产菌株——这一现象叫做退化。

本篇着重介绍微生物过程和酶的催化作用，限于篇幅关系，省略了医药、动物以及农业工程系统方面的内容。生物三废处理工程方面的内容见第26篇。

虽然发酵饮料的生产已有几千年的历史，但是生化工程至今还没有完全成熟。近年来，除了固定化酶和固定化细胞等一些方面进展很快，其中一部分已经进行了开发外，还有许多激动人心的突破。基因工程正在开辟一条实际的途径，以取得原先只在动植物组织中少量存在的某些物质。目前尚处在次要地位的发酵产品，将会超过较便宜的大宗化学产品。随着石油制品价格的不断上涨，同样的化合物采用发酵法生产将会获得更大利润。

27.1 生物学概念

27.1.1 细 胞

细胞是生命的单位。尽管在多细胞生物中某个细胞的活动离不开其他具有特殊功能的细胞，但是许多生物体是能够独立生活的单细胞。虽然细胞在大小、形状、功能方面很不相同，但是它们有着共同的基本特征。每一细胞都含有细胞质，它是由生化物质组成的胶体系统，含有大量较小的有机分子和无机盐组分。细胞质被一个具有半弹性和选择性渗透作用的细胞膜包裹着，细胞膜控制着进出细胞的分子的运输过程。在线状的染色体上排列着含有控制细胞活动信息的基因，基因作为遗传的单位，决定着从上一代传到下一代的细胞特征。

绝大多数细胞的染色体被一层膜包裹，形成一个显著的核。具有有形核的细胞称为真核细胞。细胞内的其他结构是细胞进行某种活动的特殊场所。例如，光合作用是在被称为叶绿体的细胞器内进行的。

细菌和蓝绿藻的染色体的周围没有膜，而仅有一种不明显的亚细胞结构。蓝绿藻的叶绿素与松散排列在细胞质里的膜联系在一起。而细菌的叶绿素位于泡状的载色体里，这是唯一的含叶绿素的细菌。这些微生物由于没有单独的核而被称为原核生物。

在植物细胞、细菌和蓝绿藻的细胞膜外，有一层起着保护作用的坚硬的细胞壁。某些藻类和原生动物具有象硅石一类无机物质组成的胶质的鞘。

与生化工程关系特别密切的有三类微生物，即细菌、藻类和真菌。第四类是原生动物，它能以更小的生物体为食物，存在于天然水域及用于废水处理过程中。某些被称为噬菌体的病毒同样也很重要，因为它们能感染微生物，而可能使培养物全军覆灭。

27.1.2 细 菌

细菌是微小的单细胞生物，大小从 $0.5\mu\text{m}$ 到 $20\mu\text{m}$ 不等，有的可能更小些，也还有不少细菌的长度超过了 $100\mu\text{m}$ 。细胞壁使得细胞具有一定的形状，有圆形的、卵形的、杆状的，甚至是螺旋形的。某些细菌的形状能随培养条件的不同而变化，这就叫做“多形性”。细胞的排列形式有：串状、链状、或疏散的小团，可以据此来进一步划分其种类。有的细菌也可能产生色素，使某一个种属具有特定的颜色。细菌的细胞质里也可能含有许多能贮存象糖、脂一类物质的颗粒。许多细菌都靠着一根或几根毛发状的附属物，即鞭毛，因而具有能动性。细菌的繁殖采用一个分裂成二个的形式进行——这种过程叫做“二均分裂。”

某些微生物当处于不利的条件下时便产生孢子，而孢子在一个合适的环境中会发芽长成原来的形态。孢子在干燥和极端的温度条件下可能存活。另外，一些微生物在其正常生活史的某一个阶段可形成孢子。

在适当的环境中，许多种属会在它的四周产生胶状物质，用以保护自己，或提供一种附着的手段。如果许多细胞共同享用一种胶状复盖物，那末这种复盖物叫做粘液；反之，仅能复盖单一细胞时，就被称为具有一个荚膜。

微生物的每一个种属在一定的温度和pH值范围长得最好，通常的温度范围是20到40℃。

之间，pH值在中性附近。然而，也有不少种属在极端的条件下生长旺盛。

27.1.3 藻 类

藻类是能进行光合作用的两大类生物体，种类繁多，大小不等，从需要显微镜才能看清的藻类到能长成20米长的巨藻，应有尽有。一些生化药物就是来自属于藻类的海草。在生物废水处理中藻类有几条不同的供氧和消耗营养物的途径。虽然藻类的生长速率比其他绿色植物快得多，作为能量或化学原料在生物物质的生产方面具有巨大的潜力，但在工业发酵中很少用到藻类。Dunaliella是一种在高盐度下生长并能生产甘油的种属，现在一种利用Dunaliella的新型过程正在发展。室外的水池对于藻类的生长来说是很好的，因为藻类的生长需要巨大的表面和很强的光照。

27.1.4 真 菌

作为一族，真菌是以简单的营养体为特征的，从营养体上可以产生进行繁殖的组织物。所有真菌的细胞具有明显的核，在它们生活史的某个阶段，在其特有的子实体中会产生孢子。真菌没有叶绿素，因此需要复杂的有机物作营养源。许多种属可在死去的生物体上生长，而其他一些则作为寄生物而生活。许多真菌能利用碳水化合物、无机氮和盐类。

酵母是由细胞壁包围着的单细胞生物，具有一个明显的核。除了很少的例外，酵母是以出芽方式进行繁殖的，即在母细胞上长出一个新的子细胞。在一定条件下，一个酵母细胞会变成一个子实体，产生四个孢子。

27.1.5 病 毒

病毒没有细胞结构，它的颗粒很小，在光学显微镜下也不能分辨，主要由包着蛋白质外壳的核酸组成。由于缺乏代谢机构，病毒只能在细胞内存在，是高度专一寄主的寄生物。许多细菌和某些霉菌都要遭到病毒颗粒的侵蚀，侵入细菌的病毒叫做噬菌体，它有烈性噬菌体和温和噬菌体两种。烈性噬菌体利用活细胞内的营养物而形成新的噬菌体颗粒，当新的噬菌体颗粒释放时，宿主细胞就会死去并自融。温和噬菌体不立刻对宿主细胞产生威胁，它们附着在细菌的染色体上，只要不被某些物理的或化学的因素激发成烈性噬菌体，它们就会被细菌携带并下传多代。

27.1.6 生物化学

所有的生物体都需要碳源、氮源、硫、磷、水及微量元素，有的还需要特殊的维生素。绿色植物仅仅需要二氧化碳、硝酸盐或铵离子、溶解的矿物质和水就能制造出细胞所有的组分来。光能细菌需要专门氢离子的来源，而化能细菌必须要有可氧化的底物。某些微生物具有依靠还原作用固定大气氮的能力。仅利用简单的无机化合物作营养源的有机体称为自养生物。

需要其他有机体产生的化合物作营养源的有机体称为异养生物。许多异养生物能分泌各种酶（胞外酶），以将大分子水解成能容易进入细胞的较小的单位。

蛋白质是一类大分子化合物，它在作为细胞膜和肌肉的组成部分等方面起着重要作用。保护机体免受外来物质侵入的抗体本身也是蛋白质。在自然界里，作为多肽有规则地排列在蛋白质中的大约有20种氨基酸。因为蛋白质链是很长的，氨基酸的程序是可变的，所以蛋白

质可能出现的种类将是天文数字级的。氨基酸序列是蛋白质的一级结构；多肽链通常是折叠起来的，为蛋白质分子提供了二级结构；通过其他功能团的联结形成三级结构；有些蛋白质分子还可能有空间排列方式，形成一定的聚集体，称为蛋白质的四级结构。对一个多肽的多聚物来说，为了具有包括酶的催化能力在内的生物活性，通常必需一定的分子结构，不仅包括初级和二级结构，而且包括三级结构，有时甚至还包括四级结构。这样一个严密的结构需要，可以解释蛋白质的高度专一性。某些化学物质的存在、过热、辐射或不合适的pH值，都会使蛋白质的结构瓦解，这就叫变性。如果变性不严重，还可以逆转。

酶是一类特殊的蛋白质，它是生物催化剂。它可以降低反应所需的活化能，从而促进反应的进行。酶和另一类叫做辅酶的化合物互相配合共同发挥作用，辅酶不是蛋白质。许多已知的辅酶包含烟酸和核黄素一类维生素作为它们分子结构的一部分。在反应过程中，辅酶在底物分子之间携带反应基团或电子，因为辅酶仅仅是作为携带者，并且一直进行再循环，因此在生产大量生化产品时只需要很少的量。

在细胞中同时进行着数百个反应，其中有许多分支和平行途径。同一个生物物质可能参与好几个不同的反应。通过质量作用定律，由一个反应引起的浓度变化可能影响另一个反应的动力学和平衡浓度。为了防止一种生物物质过多的积累，产物或反应途径的中间体会减慢酶的生产或者抑制已经存在的酶的活性，这就叫做“反馈控制”，如图27-1所示。两种生物物质共同抑制一种酶的这种更复杂的例子也已经弄清楚了。因为某种生物物质的过量积累可能是经济上成功的关键，所以培养出代谢控制缺陷型突变株具有很大的价值。

细胞通过避免合成不需要的酶，提高了它的效率。细胞合成的酶分两类，一类是组成酶，它是细胞一直产生的；另一类是在诱导物存在的情况下才合成的，这种诱导物通常是代谢途径中最初的底物。在一种生物体内诱导产生的酶在另一种生物体内可能是组成酶。

微生物能优先利用某些营养物。利用象葡萄糖这样普通底物的酶是组成酶，它是普通代

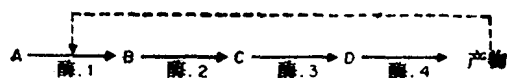


图 27-1 反馈控制。产物抑制第一个酶

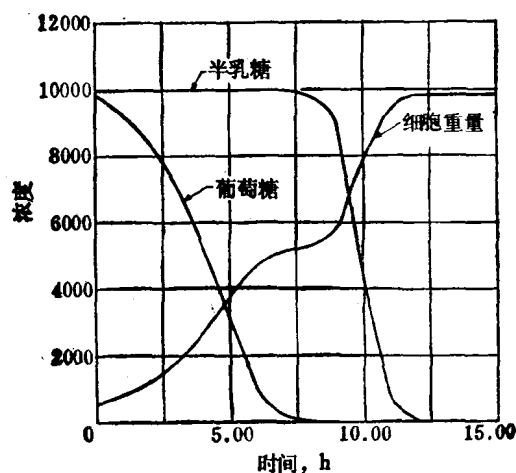


图 27-2 二度生长

谢途径中的酶。只要有一定数量的这种普通底物或代谢物存在，就会阻碍利用象半乳糖这种不大寻常的底物进行酶的合成。这对细胞来说是合乎逻辑的，只要寻常的底物仍被迅速利用，细胞就还保存着它们进行酶合成的资源。如果不同的底物同时存在，那末那些在主要代谢途径上的底物会同时被消耗而其他底物要等普通的底物用完之后才会被消耗。二度生长曲线显示出一个平坦部分，在这段时间里细胞合成了能利用不寻常底物的酶（见图27-2）。同样是不大寻常的底物，也有一个优先利用的问题。混合底物培养表明，只有在一种底物耗尽之后才开始另一种底物的代谢。

27.1.7 能 量

许多代谢反应一旦被激活,即自发地进行,并伴随能量的释放。水解和分子重排都是自发反应的例子。例如,淀粉水解成葡萄糖导致剩余能量的释放。相当多的生化反应不是自发进行的,因而需要输入能量。活的生物系统中这种需要是用一个吸能反应偶联一个放能反应来解决的。如果代谢反应能产生足够多的能量,那末可能用它来合成高能化合物,例如三磷酸腺嘌呤核苷(ATP)。当ATP末端的磷酸键断裂时,产生出二磷酸腺嘌呤核苷和无机磷酸盐,并放出能量;而当有足够的能量时,可再度形成ATP。在生物系统中,最常见的氧化机理是脱氢,相反,加氢就是还原的普遍方式。烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD)和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADP)是帮助进行氧化和还原反应的二个辅酶。大多数氧化反应都偶联还原反应,因此一个反应能够引发另一个反应。然而,能量分段的释放或消耗需要在每一步有推动力,并在每一步有所损耗,因此存在一个总效率的问题。

一个系统总的氧化还原电位决定了细胞能从它的营养物中得到能量的数量。当氧是最终电子受体时,有机分子完全氧化产生的能量最大。然而,在动物内部、污水中、天然水域的底层,以及一些氧很少甚至没有游离氧的环境里,生物体能部分氧化某些底物或能从一部分产物被氧化而另一部分产物被还原的反应中获得一小部分能量。完全氧化的途径可能是不存在的,氧的存在会干扰厌氧代谢的机理,因而使细胞很快地死去。有氧代谢和厌氧代谢效率的差异是显著的,1摩尔葡萄糖有氧代谢能产生的键能相当于33摩尔ATP,而厌氧代谢仅产生2摩尔的ATP。自然厌氧过程积累乙醇、3-羟基丁酮、丙酮、丁醇、乳酸和苹果酸一类化合物,自然有氧代谢过程的产物是水和二氧化碳。工业上有重要价值的好气过程能生产有价值的细胞物质,或者利用某些特殊的突变株来生产抗生素之类产物。

27.1.8 突变和基因工程

将生物体经芥子气、紫外线、X射线等诱变剂处理后,会使染色体受到损坏而增大突变的速率。经过强烈的处理之后,活下来的细胞很少,其中有一些就是突变体。大部分突变对细胞是有害的,但是有很小一部分可能具有经济价值,因为某些基因控制遭到损害,因而可得到更高的产率。为了找到值得进一步研究的很少的菌株,要对大量菌株进行筛选,这工作是既单调又花钱的。

诱变剂可以删除基因,而DNA重组技术可使基因附加上我们所需要的、来自极不相同的细胞的遗传物质。基因可以来自植物、动物或微生物细胞,在一些情况下也可根据已知基因的核酸排列程序在实验室中合成。打开染色体并拼接入外源DNA的概念很简单,但做起来极为复杂。DNA碎片中的基因必须具有来自其他核酸程序的控制信号才能发挥作用。基因和它的控制信号两者都必须拼接至受菌株的染色体中。用酶切开细菌染色体(环状的DNA分子,称为质粒),混入要渗进去的新碎片,然后再用酶将其闭环。每个质粒在细胞分裂时要复制多次,这样这个微生物就获得了新的品质。

基因工程是一种魔术,但更多的是艺术,例如可利用噬菌体的感染向一个细胞引入一个基因或一个酶。某些大肠杆菌、枯草杆菌、酵母和链霉菌的菌株是常用的工具微生物(克隆载体),可把基因导入它们,因为有关它们自身的遗传学特征是很清楚的,这已经成为常规方法了。

进一步阅读资料:

S. Broome and W. A. Gilbert, *Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.)*, **72**, 3961 (1978); S. N. Cohen, A. C. Y. Chang, H. W. Boyer, and R. B. Hellings, *Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.)*, **70**, 3240 (1973); H. A. Erlich, S. N. Cohen, and H. O. McDevitt, *Cell*, **13**, 681 (1978); D. O. Nathans, *Science*, **206**, 903 (1979); A. Skalka and L. Shapiro, *Gene*, **1**, 65 (1976).

27.1.9 光合作用

所有活的细胞都能合成ATP，但是只有绿色植物和一些微生物能够利用辐射能，通过光合作用进行生化反应而形成ATP。被膜包围着的细胞器叫叶绿体，它在细胞中的数目是随种属和环境条件而变化的。较高等植物叶子的叶肉组织里的每个细胞都有大量叶绿体，而一个藻类细胞可能只含有一个叶绿体。叶绿体具有由许多不同色素和酶蛋白组成的多层体，它可在光的电磁激励下转变为化学键能。原核生物——细菌和蓝绿藻(绿藻门)——并不具有叶绿体。取而代之的是它们的光合作用系统和细胞膜或位于载色体这个细胞器上的层状结构联系在一起。载色体与叶绿体不同，它没被一层膜所包围。

所有能进行光合作用的生物都含有一类或多类被称为叶绿素的色素。此外，许多生物体还含有组成细胞特殊颜色的附加色素。

光合作用的最终结果是还原二氧化碳，形成碳水化合物。关键的中间体是磷酸甘油酸，随着二氧化碳中的碳的渗入，生成多种简单的糖类，互相之间不成比例。

27.2 生物反应器

27.2.1 发酵罐

工业发酵通常是在容器里以纯种培养方式进行的，由无菌空气保持正压，以防止其他微生物的污染。然而，用于医药或细菌战的致病微生物的生产是在负压情况下进行的，因为工厂操作者的安全比保持产品的完整重要得多。生物废水处理是利用选定的微生物在较为原始的敞开容器里进行。过去发酵是以无氧过程为特征的，但是现在发酵这个术语已经扩展到了好气过程。

发酵的操作过程有气-液接触、浓度的在线检测、混和、传热、泡沫控制以及加入营养物质或控制pH用的试剂。发酵工业通常使用的是间歇发酵罐，见图27-3。它附有大量的管道，

要避免使用铜或青铜装置，因为铜对许多生物有很大的毒性。例如，在青霉素发酵中，当送料管道中用上一个青铜阀时，产率就要下降50%以上。对较大的罐来说，必须使用冷却盘管或者通过外部热交换器，因为夹套的传热面积

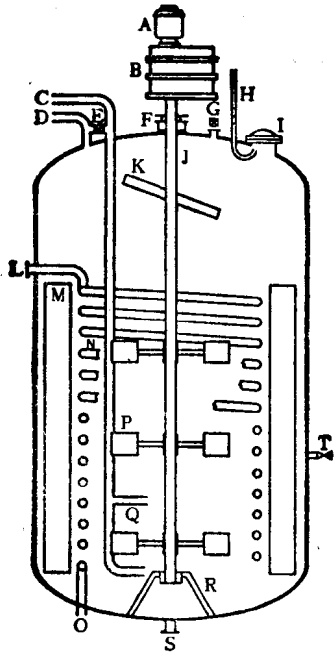


图 27-3 通用式间歇发酵罐

A = 搅拌马达；B = 减速齿轮；C = 空气进口；D = 空气出口；
E = 空气旁路阀；F = 轴封；G = 灯孔视镜；H = 冲视镜管；
I = 带视镜人孔；J = 搅拌轴；K = 泡沫桨；L = 冷却水
出口；M = 挡板；N = 冷却盘管；O = 冷却水进口；P
= 搅拌器；Q = 空气分布器；R = 轴承及托架；S =
出料口（未画汽封）；T = 取样阀（未画汽封）。未
画的还有：维修用的扶梯、泡沫电极、泡沫系统
以及传感器（pH、溶氧、温度等等）

注意：（1）盘管可装在挡板和罐壁之间；（2）盘管接口也可装
在顶上，这样在液面下的开孔最少；（3）搅拌器也可以装成
从底部进罐

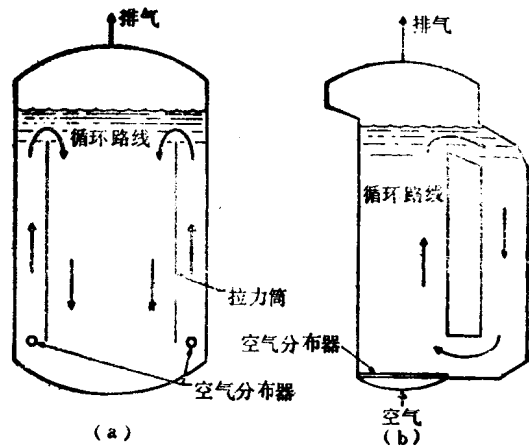


图 27-4 气升式发酵罐。

(a) 同心圆筒式；(b) 外循环式

对于在一定时间内将料液从消毒温度冷却到操作温度是不够的。对需要强烈混和来满足通气

要求并排除因迅速呼吸和生长而产生的代谢热的发酵来说，夹套也可能是不合适的。通用发酵罐的优点是：（1）通气系统中的旁路阀能减少通气，使得泡沫不是很多，以及在接种之后发酵初期，氧化还原电位不是太高；（2）当泡沫量多到接触消沫电极时加入消沫剂；（3）可用蒸汽保护所有的管道、管件使之不受污染；（4）加进罐里的料液液位可用装在罐内的标尺来计量，标尺可用罐内扶梯的踏脚代替；（5）可用对缓慢通过气体分布器的空气泡的静力学平衡来测定罐内物料的重量；（6）很少使用泵，因为要使液体从带压的容器内流出是很容易的。

在以烃类为原料的发酵中，发酵过程需要高效率的氧传递，因而出现了如图27-4所示的气升式发酵罐。世界上最大的发酵罐在英国的比林翰，它高达100m，直径为10m，用来从烃制造单细胞蛋白。

不少人在通用发酵罐上做了多种改进，但是没有一种获得推广。有一种已被放弃了的设计见图27-5，这种发酵罐是靠旋转来给培养基通气的。试验的结果不令人满意，于是加上了通气和搅拌装置而不再试验下去了。一种用来生产抗生素的最大的发酵罐是在卧式圆筒上装了几个搅拌器，如图27-6。多个搅拌器也可用于立式发酵罐。

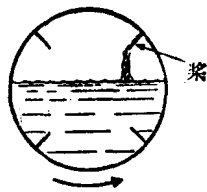


图 27-5 旋转发酵罐

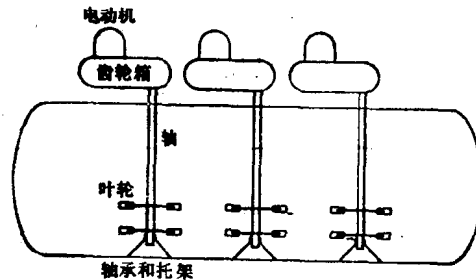


图 27-6 卧式发酵罐

酒精发酵是产物积累抑制微生物培养的一个典型的例子。许多种酵母菌菌株在酒精浓度达到10%时，产生乙醇的速度就显得十分缓慢了；果酒或米酒的生产菌株在酒精浓度超过体积百分比的20%时，产酒也很缓慢。一种称为真空发酵系统的，是用蒸馏法除去生成的酒精，见图27-7，其真空度调到发酵温度（30到40℃）时酒精-水溶液的蒸汽压。这种系统的体积产率远比传统发酵罐的好，但一个致命的缺点是必须将大量的蒸汽进行再压缩，只有这样，才可避免用昂贵的冷盐水，而仅用通常的冷却水就能把酒精冷凝下来。除此之外，发酵产生的大量二氧化碳也要和酒精、水汽一起抽出再压缩。一个更好的设计如图27-8所示，其中发酵罐的操作在正常压力下进行，这样二氧化碳就可以逸出了。培养液通过闪蒸分离器进行循环，酒精就在分离器中被蒸发出来。在这个系统中，蒸汽的挥发能带走代谢热，对于节能是有吸引力的，可是它的原始投资大，用泵输送蒸汽的成本高。若用嗜温微生物在较高温度下进行酒精的发酵会更经济一些，因为蒸汽压较高，需要的真空度和再压缩程度较低。克服产物抑制还有其他办法，如用不混溶的溶剂萃取发酵液，或者采用高密度发酵，在这种高密度发酵中，单位细胞的低生产率由于有大量的细胞而得到了补偿。

从出料中分离细胞并使它们再进入发酵罐可以得到较高的细胞浓度，生物废水处理已经这样做了许多年，并被作为一种标准操作。因为加入的养料稀，培养物长得慢。用沉降方法可很容易收集到细胞团，在循环后，更有助于这些易于沉降细胞的成长。这种选择可能使这

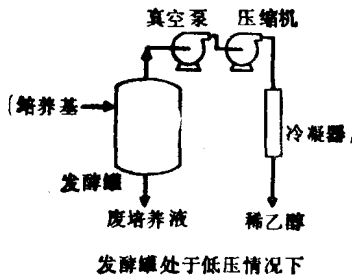


图 27-7 真空发酵系统

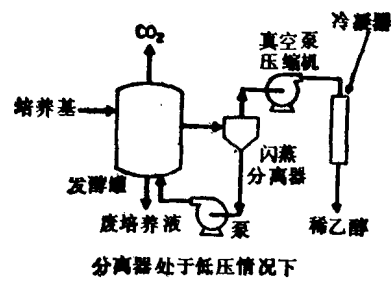


图 27-8 带闪蒸分离器的发酵罐

些细胞占有优势地位。发酵工业比废水处理能提供更多的经费，因此常用离心法收集细胞。在酒精发酵中将酵母细胞循环，能大大减少发酵时间。高度凝集的细胞能滞留在发酵罐中，图27-9所示的塔式发酵罐即将这个原理用于酵母菌株上，使之产生自然的絮状沉淀。在反应器里加上支持物也能留住细胞。有时候，醋能在充满带菌木刨屑的发生器里生产。用于废水处理的滴流过滤器使用岩石或塑料支持物（见26篇）。当简单的吸附不能把细胞拉紧时，可用化学物质将细胞固定在支持物上。凝胶包埋法能提供极高的细胞浓度，因为细胞在凝胶中继续增殖。不同方法的酒精发酵结果见表27-1。

表 27-1 酒精发酵的比较

系 统	典型时间, h	典型的酒精浓度, %
传统方法	72	10
细胞循环法	12	8
塔式发酵罐	3	8
凝胶固定化法	1	10

发酵可以和其他操作结合在一起。例如，纤维素酶水解过程中的反馈抑制可以用发酵方法除去其水解产物——葡萄糖而予以解除。

阀门和泵对无菌操作来讲，总是存在潜在危险的。升杆式阀门在操作时一进一出的动作会将杂菌带到无菌的一边去。隔膜阀仍然是常被采用的，但因加热、冷却及培养基中固体成份的磨损，有时会导致隔膜破裂，使整批物料受到污染。球阀和旋塞对外界并没有绝对的密封，但是阀门开闭运动的方向不会将微生物带到系统中去。这些阀门很少带来污染，并设计成易于就地维修的结构，还有对操作者很方便的地方是，只要看一眼阀柄就知道阀门是开着还是关着。由于手动阀门可能弄错方向，不少批号的操作会被废弃或损坏。对工厂操作来说，隔膜泵是令人满意的。在实验室或中试工厂里，主要是使用蠕动泵（也叫管道挤压泵）。

发酵工厂常利用空气的压差来输送液体。一个或几个多支路的移种站能连接许多容器。因为液体的输送必须在无菌的情况下进行，因此移种站在使用前是一直用蒸汽保压的。典型的汽封排列如图27-10所示。

取样管道通常也有汽封，典型的布置见图27-11。在关闭的情况下，蒸汽形成了对污染的绝对屏障。取样时，蒸汽和疏水线路被关闭，发酵培养液先流入下水道以冷却管道，直至不烫手为止，这样对热敏产品不会因热破坏而导致错误的分析结果。冷却过程最多只能消耗

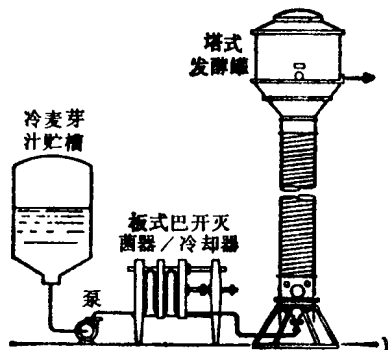


图 27-9 塔式发酵罐

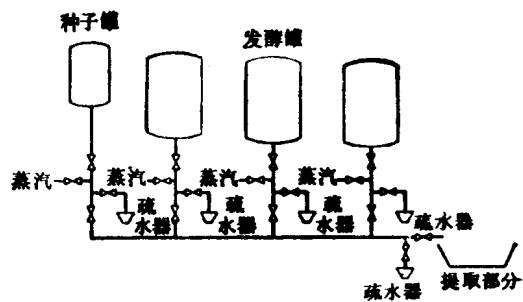


图 27-10 移种和放料站

5 升培养液, 如果操作不注意, 浪费就会多些。中试规模罐的管件较小, 冷却就更容易, 浪费掉的培养基也较少。但是取样过多, 对容积小的发酵罐会成为一个问题。由于这个原因, 设计了另外的取样方法。例如, 用无菌注射器和针尖通过罐壁的橡皮隔膜取样。虽然这些方法看来可靠, 但工厂在遇到污染时, 就倾向于放弃所有这类发明而回到经过试验证实可靠的汽封上去。

在灭菌期间, 发酵罐上所有管道都有蒸汽流通。清洗视镜的好办法是使用冲视镜管的蒸汽冷凝水, 冷凝水后面的蒸汽压力会使它冲到视镜玻璃上。如果不进行清理、冲洗, 视镜玻璃会很快地复盖上一层厚厚的微生物和培养基。

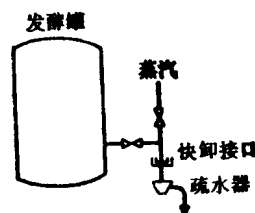


图 27-11 取样管道。(可能还有一个阀门通下水道, 在冷却管道时绕过疏水器)

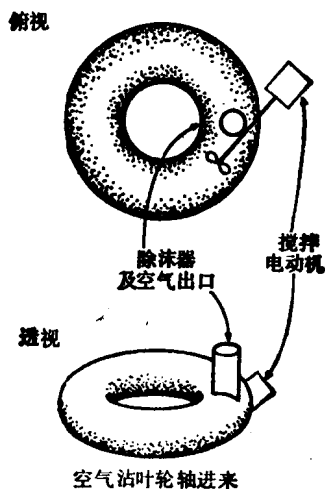


图 27-12 环形发酵罐

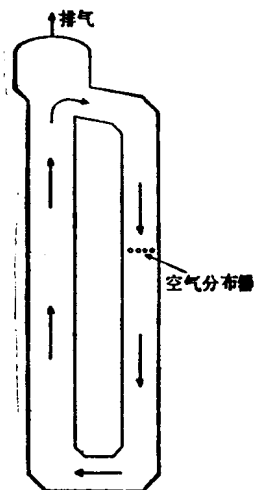


图 27-13 深柱发酵罐

在发酵过程中要添加一些东西是容易的, 而要去掉一些东西却是困难的。曾试过在发酵罐中, 或者在外循环回路中装上膜装置透析掉溶解在其中的组分。细胞排出的废物或代谢物, 可能是具有抑制性的, 有时候, 这些东西又是使细胞失活的因子。透析可使细胞浓度比

对照高10倍到100倍。

另一个设计是如图27-12所示的环形发酵罐，轴向运动使得空气进行良好的混和。再有一种特殊的气升式发酵罐如图27-13所示。物料在中等压力下进入罐内，然后向下被压至高静压区域，在那里给气体的传递提供了一个巨大的推动力。在另一个柱管中，降低压力使气体膨胀，并提供进行循环的脉冲。已有一些实验装置建在电梯的通道中。

象木材这样的固体底物在浆状物浓度超过百分之十左右时，就不能进行搅拌。对于酒精发酵前的糖化过程，保持高的糖浓度能省去蒸发这一步。在间歇反应器里，由于木材难于混和，结果只能得到稀的糖溶液。若将木材放在一个柱管里，并用溶液将其渗滤，就可以防止上述情况发生。当木头溶解了，可再加进一些，所生成的糖还可能在柱管里同时进行发酵。

27.2.2 氧传递

为某些通气发酵提供充足的氧气是一个非常尖锐的工程问题。氧微溶于水，在室温下空气在水中的饱和浓度仅仅是每升含6或7毫克氧。一个激烈的需氧过程，能在停业通气后的几秒钟内即耗尽溶解的氧气。气、液间的传质见第18篇，这里着重介绍常用于生物系统的鼓泡通气。因为气泡的数量和大小很难估计，传递面积通常和传质系数合并成 $K_L a$ 项， K_L 中的下标 L 表示对于象氧这样的难溶气体来说液膜阻力是控制因素。氧浓度和生长的关系式是Michaelis-Menten类型的（见后面的图27-26）。当一个过程的速率受氧限制时，它的比呼吸速率（ Q_{O_2} ）在达到一个高峰区以前随着溶解氧浓度的增加而迅速上升。低于某一引起呼吸严重受到限制的溶解氧浓度，就叫做“临界氧浓度”。对在20到30℃生长的分散良好的细菌、酵母和真菌来说，通常的临界氧浓度范围在0.5到2.0ppm之间。高于临界浓度，氧的比消耗速率随着氧浓度的增加仅有稍微的增加。

以比呼吸速率 Q_{O_2} 对比生长速率系数 μ 所作的图是直线，在纵轴上的截距等于用于维持细胞生命的氧消耗速率。这式子是：

$$\begin{aligned} \text{消耗速率} &= \text{维持消耗} + \text{生长消耗} \\ Q_{O_2} X &= (Q_{O_2})_M X + \mu X (1/Y_G) \end{aligned} \quad (27-1)$$

这里 X 是微生物浓度， Y_G 是单位质量氧的细胞产率， Q 项表示氧消耗速率（ O_2 质量/微生物质量）。

这类关系式适用于包括细胞能量代谢在内的几乎任何底物，并为实验数据和能量计算所证实。然而，它是以完全稳态平衡或接近稳态平衡的假设条件为基础的，而在过渡转变状态期间就不再有效了。当其他需要氧的细胞活动能够被确认时，氧消耗方程应该进行修改。例如，利用氧生成产物时可表示为：

$$\begin{aligned} \text{消耗速率} &= \text{维持消耗} + \text{生长消耗} + \text{产物消耗} \\ Q_{O_2} X &= (Q_{O_2})_M X + \frac{dX}{dt} \frac{1}{Y_G} + \frac{dP}{dt} \frac{1}{Y_P} \end{aligned} \quad (27-2)$$

这里 P 是产物浓度， Y_P 是单位质量氧的产物产率。氧消耗是在生长消耗和与细胞浓度有关的细胞活动的消耗之间进行分配。

因为在稳态条件下氧传递速率必须等于氧消耗速率， $K_L a$ 可由下式计算：

$$K_L a = \text{总的氧消耗速率} / (c^o - c) \quad (27-3)$$

这里 c 是在液相*中氧的浓度, c° 是与气泡中氧浓度相平衡的液相氧浓度, K_{1a} 是体积氧传递速率。

在微生物系统中测量氧传递速率的一个方便的方法是利用响应时间相当快的溶氧电极。敞开系统可用相当便宜的氧电极, 而无菌系统应用耐蒸汽灭菌的电极。氧电极有两种基本类型: 一种是从以氧为基础的电化学电池中产生一个电压; 另一种是极谱电池, 它的电流依赖于氧到达的速率 (见图 27-14)。氧传递能力的测量仅需要暂时中断氧的供应。氧的质量平衡为:

$$dO/dt = \text{供应速率} - \text{消耗速率} \quad (27-4)$$

在停止通气到再通气期间电极信号的曲线见图 27-15。在响应曲线的第一部分中供应速率是零 (自气泡逸完之后), 因此斜率等于微生物的氧消耗速率。当通气再度开始时, 供应速率和消耗速率两项都要被用到, $(c^\circ - c)$ 的值则能从数据中算出。这样, 根据响应曲线在一定点上的斜率, 方程式中除了 K_{1a} 外的所有值都成为已知的了, 从而可以解出 K_{1a} 。

虽可用往发酵罐中充以可氧化的化学品溶液的方法来研究通气速率, 但用这个数值来估算生物系统的速率是有问题的。不仅是因为生物系统的流动型式和气泡大小不同, 而且表面活性剂和悬浮颗粒会严重削弱气体的传递。图 27-16 显示了不同颗粒的影响。一般来说, 球形颗粒影响小, 细长颗粒影响大一些, 而缠在一起的颗粒则显著地削弱传递过程。因为许多霉菌培养物是缠结在一起的, 类脂物和蛋白质具有很强的表面活性, 所以发酵过程中氧的传递要比在简单水溶液中慢得多。

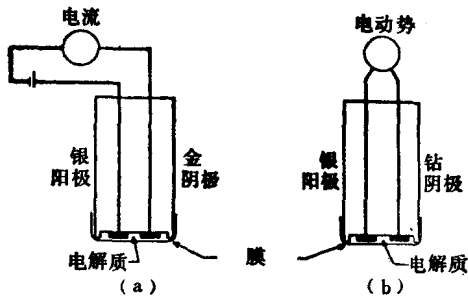


图 27-14 溶氧电极

(a) 极谱型 (外加氧的分解电压, 测量电流); (b) 电压型 (测量电动势)

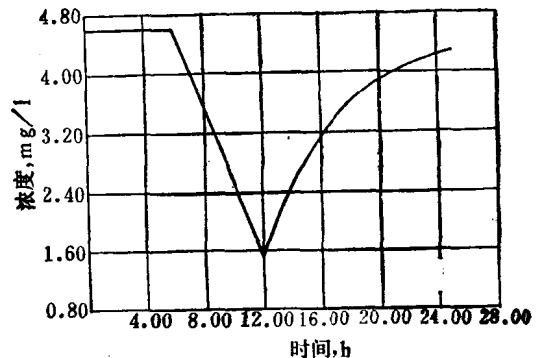


图 27-15 动态法测 K_{1a}

在发酵中很少考虑二氧化碳, 但是它起着重要的作用。它参与碳酸盐平衡, 影响着 pH 值。在高密度、光照良好情况下的藻类培养物中, 用光合作用除去二氧化碳能使 pH 超过 10。不少生化反应与二氧化碳有关, 因此它们的动力学和平衡浓度依赖于气体浓度, 与此有关反应的代谢速率也有可能改变。用提高压力来获得更大推动力以增加氧传递速率的愿望在操作上有时是不能实现的, 这可能是由于溶解的二氧化碳过量。

* 原文为“气泡”, 疑有误。——译者注。

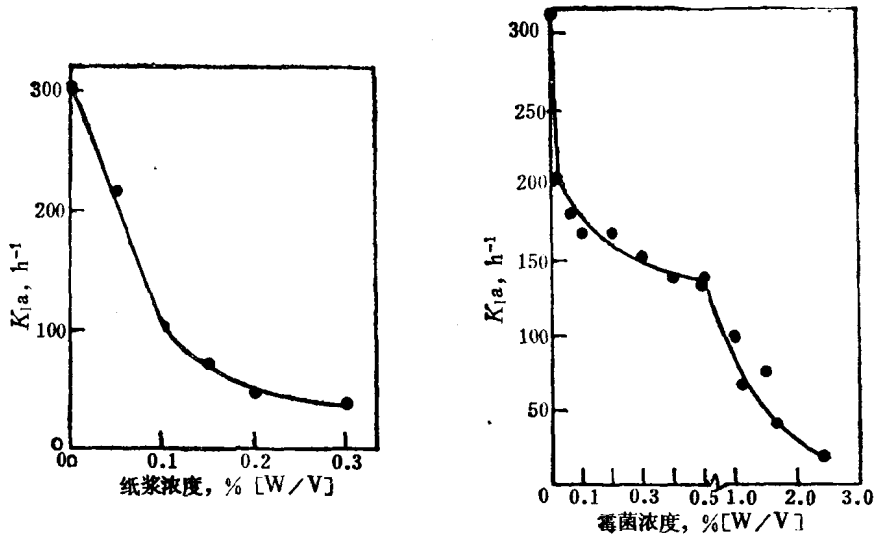


图 27-16 固体物对 K_{1a} 的影响

操作条件: 搅拌转速, 800rpm; 空气流速, 2.5l/min. [M. R. Brierly and R. Steel, Appl. Microbial, 7, 57(1959)]

27.2.3 通气装置

气体分布器在18篇里详细讨论。为了避免微生物生长引起堵塞, 工业发酵采用具有较大开孔的通气管。生物废水处理的活性污泥操作使用相对较小的孔或气体扩散器, 但通常需要采用一些办法将部分通气管吊出容器进行清洗。新近设计的通气装置是为了解决发酵罐内氧传递问题而构思的。气升式发酵罐(图27-4)利用气体的浮力来混和流体, 并引起空气和培养基的密切混和。

表面活性物质也会导致泡沫的形成, 严重时会使整个发酵罐内大部分物料都流失。机械消泡装置是有用的, 但除了起沫倾向不大的情况外, 不能单独使用。机械消泡能够打碎大的或较脆弱的泡沫, 却允许细小的、坚固的泡沫积累起来。表面活性消泡剂可使泡沫的弹性降低, 这样就使机械冲击容易把泡沫打碎。一些消沫系统可见图27-17。某些用作消沫剂的类脂类会被培养物代谢掉, 因此不宜采用。由这些油类提供的营养物可能是有益的, 但是它们比

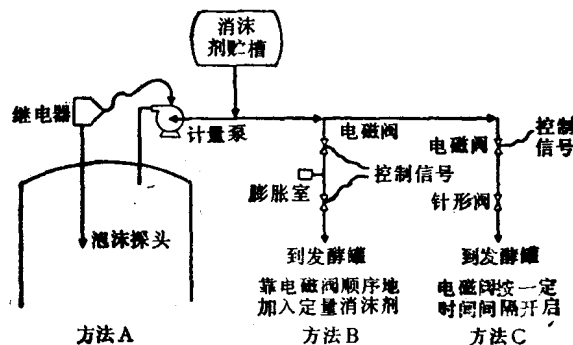


图 27-17 消沫系统