

生化工學

工學博士
國立清華大學化工研究所
教授 陳國誠 編著

國立編譯館 主編
合記圖書出版社 發行

生化工程學

工 學 博 士

陳 國 誠 編 著

國立編譯館出版

合記圖書出版社發行

版權所有
翻印必究

著作權註冊臺內著字第 號
出版登記局版臺業字第〇六九八號

生化工程學

實價：新台幣 元整

編 著：陳 國 誠
發行人：吳 富 章
發行所：合記圖書出版社
總經理：合 記 書 局
郵政劃撥：0006919-2號

地址：台北市吳興街249號
電話：7019404・7071647
分店：台北市石牌路二段120號
電話：8 3 1 6 0 4 5
分店：台北市汀州路755號
電話：3 9 5 1 5 4 4

香港代理：藝文圖書公司

地址：香港九龍又一村之路30號
地上後座
電話：3-805705・3-805807

中華民國七十四年十月 版

自序

第二次世界大戰末期青黴素 (penicillin) 的大量生產，奠定了近代微生物利用工業之基礎。1970年代 P. Berg 教授完成基因重組實驗，使得微生物利用技術進入了劃時代的嶄新紀元。今日生物技術 (Biotechnology) 簡言之，是將生物體內所營運之精巧的生化反應有效地應用在工業製程上，以生產有用物質的技術體系。生物技術的開發與應用範疇相當廣泛，包括醫療、糧食及特用化學品之生產，能源開發及廢物處理、農業育種及礦冶工程等，其所涵蓋的技術領域有微生物、酵素利用技術，醫療材料、人工臟器之製造技術，動、植物細胞培養技術，生物反應器之設計與程序控制，及以細胞融合、基因重組為主體的基因技術等尖端科技。

世界上任何國家發展生物技術之終極目的，不外乎是有利物質的工業生產及其利用。因此，隨著基礎生物科技日新月異的進展，相輔相成的生物化學工程 (Biochemical Engineering) 程序的建立，應是發展生技術整體體系上不可或缺的一環。此一由青黴素的工業生產而萌芽的新生工程領域，直到1965年合葉修一教授等才有專書問世，此書國內早有譯本。雖然國內外關於基礎生物科技之書籍不勝枚舉，但是有關生物化學工程的專業書籍却屈指可數。為了配合今後我國發展生物技術的重點科技政策，便利國內工業界與學術研究機構有志深造的研究工作者之參考，筆者在國立編譯館的贊助下，根據 James E. Bailey 及 David F. Ollis 所著的 "Biochemical Engineering Fundamentals" 編著成書，祈能裨益科技知識中文化，促進技術轉移與生根。本書內容第 1 ~ 12 章儘量參照原著，去蕪存菁；此外，另加「固定化酵素反應器」、「發酵程序之模擬與控制」、「生物技術未來之展望」等三章，皆為筆者數年來的教學與研究心得。若得拋磚引玉，貢獻於讀者，實為萬幸。

本書匆促告成兼以筆者才疏學淺，難免有遺漏謬誤之處，尚祈國內外學者、專家不吝指定。全書在研讀、抄謄、校閱等過程中，本研究所生化工程實驗室1984級畢業生及博士班研究生洪哲穎等同學群策群力、厥功至偉，謹此致謝。最後感謝內人的精神鼓勵與支持。

陳國誠

謹識於清華大學化工研究所

乙丑年七夕

目 錄

第一章	微生物學簡介.....	1
第二章	生命化學物質.....	27
第三章	酵素催化反應之動力學.....	87
第四章	酵素之分離與利用.....	177
第五章	細胞的代謝途徑與能量生成.....	251
第六章	細胞基因及控制系統.....	315
第七章	細胞中關於基質利用，產物收率和菌體增殖之動力學.....	369
第八章	微生物系統的輸送現象.....	449
第九章	生物反應器的分析與設計.....	541
第十章	生化反應器，基質和產物(1)：單一菌種微生物之應用.....	621
第十一章	多種微生物群體交相作用的分析.....	689
第十二章	生化反應器、基質和產物(2)：在自然和應用系統上的混合微生物培養.....	745
第十三章	固定化酵素反應器.....	811
第十四章	發酵程序之模擬與控制.....	835
第十五章	生物技術未來之展望.....	865

第一章 微生物學簡介

微生物 (microorganisms)，這種肉眼看不到的微小生物體與人類活動有多方面的關係。在地球上各種生命形態所構成的整個生命圈 (biosphere) 中，微生物所扮演的主要角色為從太陽攝取能量，藉著本身所具有之生物活性完成生命系統所必需的碳、氮、氧及其他元素之循環的關鍵部份。但是，微生物也是引起人類疾病的主要來源。因此，有人說微生物所引發的瘟疫改造了歷史。

不過，在本書中，我們將著重於探討微生物之特殊目的利用。其應用範圍非常廣泛，包括食品加工，酒類釀造以及維生素 (vitamin) 和激素 (hormone) 等具有複雜分子結構的生理活性物質之生產。此外，對於污水和工業廢水的處理，微生物的作用亦有著不可磨滅之貢獻。我們的主要目標為瞭解和解析這類微生物作用之機構，以使得能以更合理，更有效的方法來設計和操作這些特殊的生化程序。

為了達到這個目的，需要具備有關微生物生長及有關體內物質代謝的基本知識。這些知識加上其他生物系統的特殊功能主宰了生化程序工程 (biochemical process engineering)。讓我們暫時在概念上想像一個複雜而龐大的化學反應器來模擬微生物體的生存，亦即微生物從環境中攝

取稱為養分 (nutrients) 的化學物質，得以生長、繁殖並將生成物排泄於體外之環境中。例如，在污水處理程序中，養分（此處指污水中的有機物質）的消耗即為該處理工程的目的。而微生物的生長却是用它來做為食物來源而產生所必要的微生物體。但對於污水處理而言，從另一方面來看，因養分消耗所產生的微生物菌體却構成了妨害整個處理程序的固體廢物，因此，其數量必須儘可能地降低。最後，微生物的代謝過程中所分泌而放出之物質，其中有不少成為重要的工業化學藥品，例如青黴素 (penicillin) 和乙醇 (ethanol) 等，由此，發展成各種微生物利用工業。養分利用、微生物生長和產物釋放等三者之相對速率與所用微生物之種類及其養分組成和環境因素如溫度等都有密切的關係。要瞭解這些參數之間的相互關係，必須具備由生 (biochemistry)，生物物理學 (biophysics) 由於這些學科的研討在傳統上是不在工程教育的範圍內，因此，我們有花費一些時間和精力來學習的必要。

我們會儘可能地隨時將生物程序的探討從定性的瞭解擴展到定量的數學表達。即使是單細胞微生物也是一個非常複雜的生命系統，然而，通常都是以極簡單及理想化的數學模式來表示。雖然如此，因為這些簡單的模式是建立在微生物學及生化學的基礎上，故不失為表示生化程序之正確而有用的指標，就如同具有流體力學的基本知識可用來建立摩擦係數 (friction factor) 與雷諾數 (Reynold number) 之間的關係一樣。

1.1. 生物物理學與細胞學說

BIOPHYSICS AND THE CELL DOCTRINE

微生物學研究的對象是小的肉眼無法看到的生命有機體。以粗略的測量而言，大多數微生物體的直徑為 0.1 毫米以下。多年以來，微生物學和其他生物科學之分支都持著與物理學相異的學理。咸認為生命體中含有物理和化學定律所不能解釋的“生命力” (vital force)。

這種學說的產生是難怪的，因為，目前的知識水準都知道，即使是最簡單的微生物體所具有的化學反應系，資料和控制系統以及質量輸送之功能等也都具有令人驚異的複雜性、效率性和組織性。這些結論得自無數實驗及研究的結果，包括物理科學的方法。由於這種研究方法已證明了它的確實性和有效性，所以，今日化學和物理原理對於生物系統的可應用性已

成爲生命科學領域中普遍爲人接受之假說。“生物物理學”一詞有時候即用來明確地表示將生物學和物理學組合起來的學問。

對於生命系統瞭解的關鍵性發展，開始於1838年，Schleiden 和 Schwann 首次提出的細胞學說（cell theory）之時。該學說認爲所有的生命系統皆由細胞及其產物所組成。如此一來，就產生了生命基本單位（basic module）或構成單元（building block）的概念。這種共同單位的概念使生命系統的解析可將整體分解成基本單位之方式來進行：首先可研究的是其基本成分：細胞；然後以所得知識來嘗試瞭解整個有機體之運作。

這種分解的價值是基於各種有機體細胞的構造和功能有許多共同特點的事實。有許多例子說明可利用這種事實將細胞實驗所得到的知識成功地外推到整個有機體或他種細胞。細胞共同特性的存在也簡化了瞭解微生物行爲的研究工作。利用顯然可通用的細胞功能之特性，就可建立起瞭解所有生命系統的基本架構。

不過，我們不希望這段文章會造成所有細胞都是相同的誤解。肌肉細胞（muscle cells）顯然地不同於眼細胞或腦細胞。同樣地，還有其他許多不同種類的單細胞有機體（single-celled organisms）。這些都可用將在下一段述說的兩種主要細胞體系來分辨和瞭解。

1.2. 細胞的構造

THE STRUCTURE OF CELLS

電子顯微鏡觀察結果得知有兩種明顯相異的微生物細胞。雖然兩者之間仍具有某些共同特點，但這兩類細胞的組織和功能確實具有可以分別和必須加以討論之相異處。

1.2.1. 原核細胞 Prokaryotic Cells

原核細胞（prokaryotic cells 或 prokaryotes），是相當小而簡單的細胞。這類細胞通常都單獨存在，不與其他細胞聯繫在一起。其形狀可爲球形（spherical），棒狀（rodlike）或螺旋形（spiral），一般尺寸從0.5 到3 微米之間*。[* 1 米（meter）= 10^3 毫米（mm）= 10^6

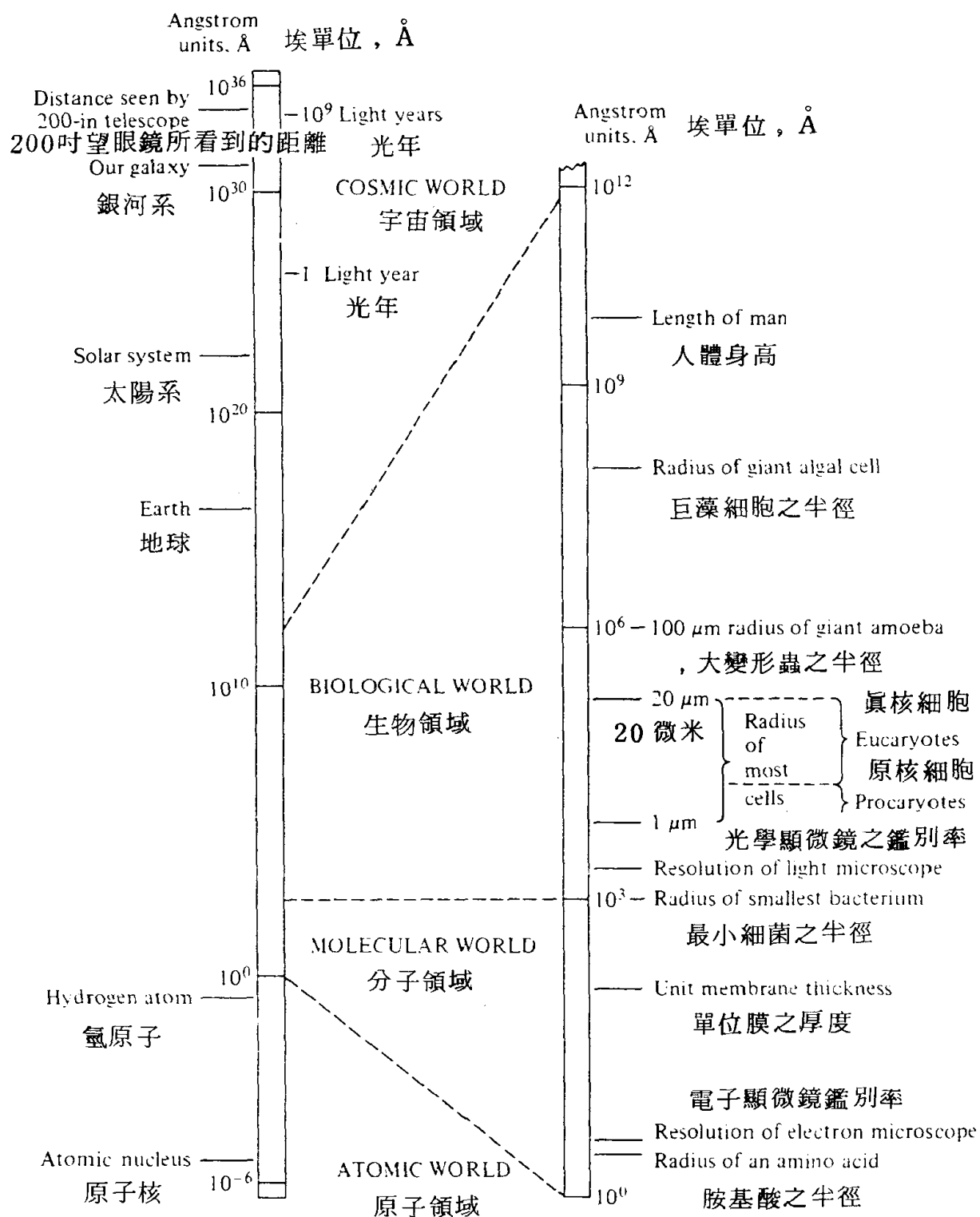


圖 1.1 宇宙中各種領域之尺寸規劃，生物領域所包含之範圍極為廣大。

秒 (μm) = 10^{10} 埃 ($\text{\AA}$, angstrom)]。爲了對這種尺寸有定性的感覺，可將細胞與其他宇宙萬物的相對大小作一直覺的比較。如圖 1 所示，一個原核細胞的大小相對於細胞的值。稍後我們在研究細胞功能的細節時，

就可知道這種大小關係的考慮是很有意義的。原核細胞的體積約為每細胞 10^{-12} 毫升左右，其中百分之 50 到 80 為水分。在粗略估計下，單一原核細胞的質量約為 10^{-12} 克。

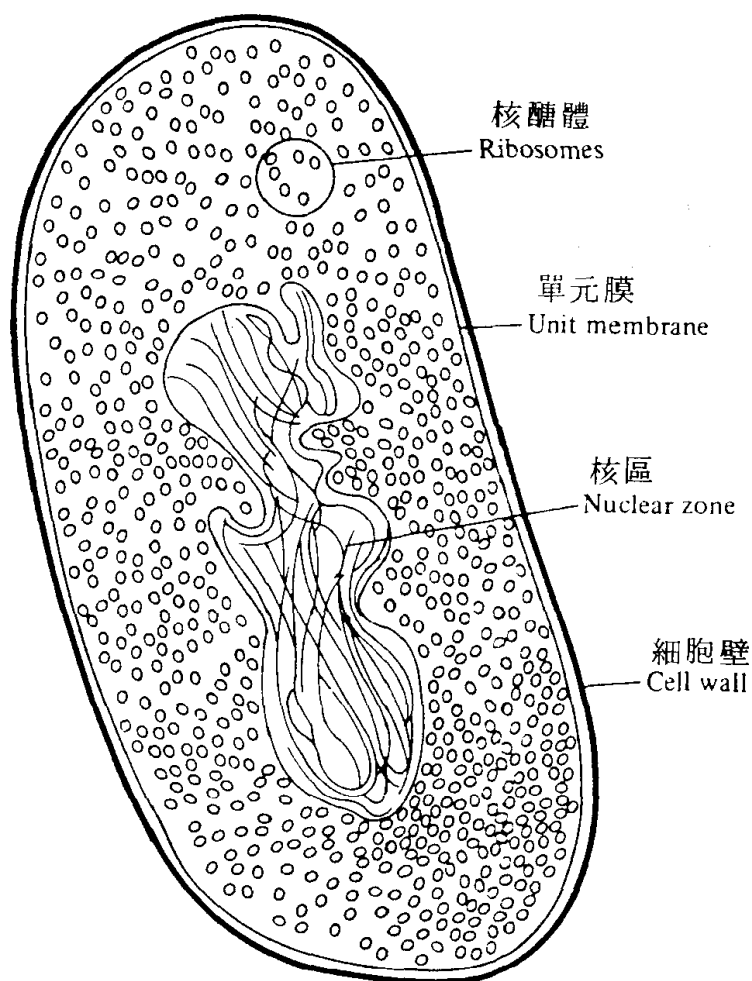


圖1.2 原核細胞，大腸菌 (*Escherichia coli*) 之圖示。這種細菌生活於人類大腸中，有時簡稱為大腸菌 (intestinal bacterium)。這是目前被研究得最完整的細胞。吾人所有的分子階段之遺傳學知識大多來自 *E. coli* 的研究。

這類細胞的生長迅速且遍佈於生物圈中。例如，有些原核細胞可在20分鐘內將其大小、質量和數目複製成兩倍。一般說來，它們常常能接受廣泛種類之養分且又能從其周圍環境得到的幾種養分中選擇最好的加以利用。這種特性和稍後將述及之其他特點，使原核細胞能夠適應的環境極為廣泛。由於原核細胞通常以單獨之單細胞有機體存在，所以，它們所擁有可控制環境的因素很少。如此，其所獨具之養分適應性 (nutrient flexibility) 即為生存的必要特性。原核細胞的迅速生長和生化多元適應性使其成為研究生物化學和生化程序的上好材料。

圖1.2 說明了原核細胞的基本構造。細胞最外層包著堅硬的壁 (wall)，其厚度約 $200 \text{ \AA}$ 。這層壁使細胞具有結構強度足以忍受複雜的外界環

境。緊接著這層壁的內部為細胞膜（cell membrane），一般厚度約70 Å。這層膜具有所有細胞膜共同的構造。有時也稱為原生質膜（plasma membrane）。這種膜有其重要的功能：決定大部份可在細胞與其環境之間輸送的物質及其輸送速率。在細胞內有一個大而界限不明的區域稱為“核區”（nuclear zone），為細胞機能的主要控制中心。細胞內部的粒狀黑點為核糖體（ribosome），為重要生化反應進行之處。其餘部份為所謂的細胞質（cytoplasm）之液體。最後，還有由有機分子構成的膠樣懸浮點，稱為胞溶體（cytosol）。此外，在本圖中不明顯但在其他圖中可以看出的透明、氣泡狀部份則稱為儲藏粒（storage granule）。在確立必要的知識背景及定義一些名詞之後，我們將更詳細地說明原核細胞的構造及其功能。

為了瞭解原核細胞之間的相似性和差異性，我們要以圖1.3所示的另一種原核細胞來比較。同樣地，可以明顯地看出核糖體，核區及細胞壁。但是，這種微生物體還擁有可利用日光作為能源的生化有機體：光合成膜（photosynthetic membrane）。

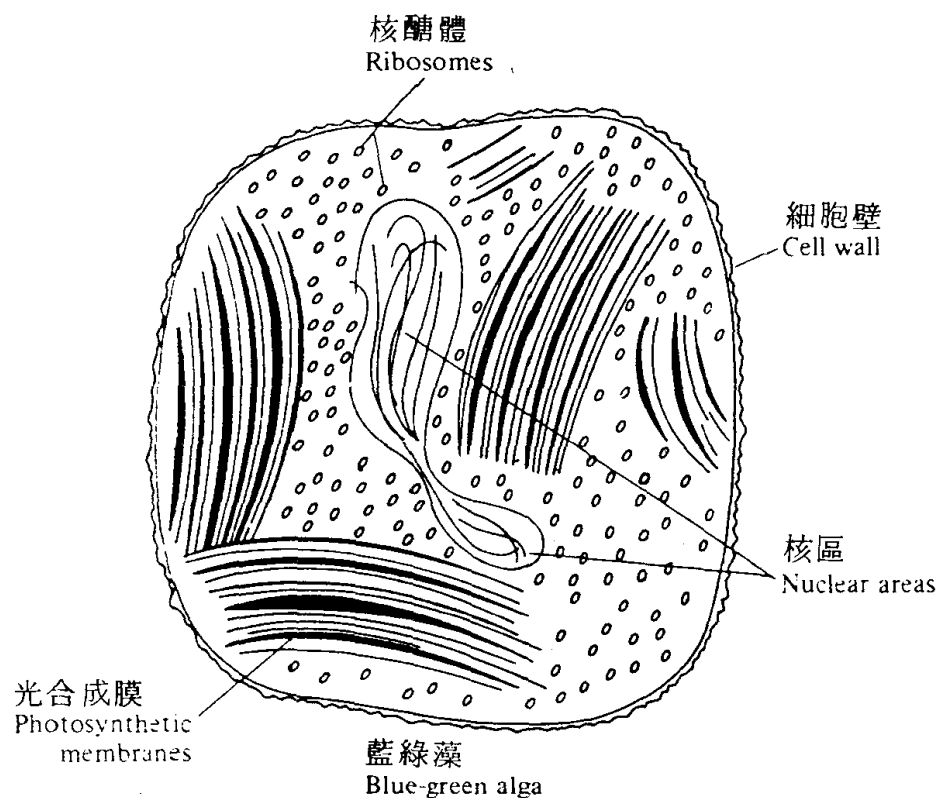


圖1.3 另一種原核細胞，藍綠藻（blue-green alga）。這種細胞具有可進行光合成（photosynthesis）的膜，光合成是一種複雜的生物化學程序，只要細胞內含有適合這種反應的有機分子，即可從日光中獲取能量而將氧氣釋放到大氣中。

1.2.2. 真核細胞 Eucaryotic Cells

真核細胞（eucaryotic cells 或 eucaryotes），為另一類主要的細胞型態。通常，這類細胞比原核細胞大 1,000 到 10,000 倍。所有較高級之有機體細胞都屬於這一類。為了滿足類似動物的多種特殊需要，真核細胞必須具有多種形式，如圖 1.4 所示。這類細胞在高級有機體中共存共輔，就可免除原核細胞所必需的生化適應性。當然，真核細胞並不只限於動物和植物。在下一節中，我們將提到幾種以單細胞有機體形式存在的真核細胞。

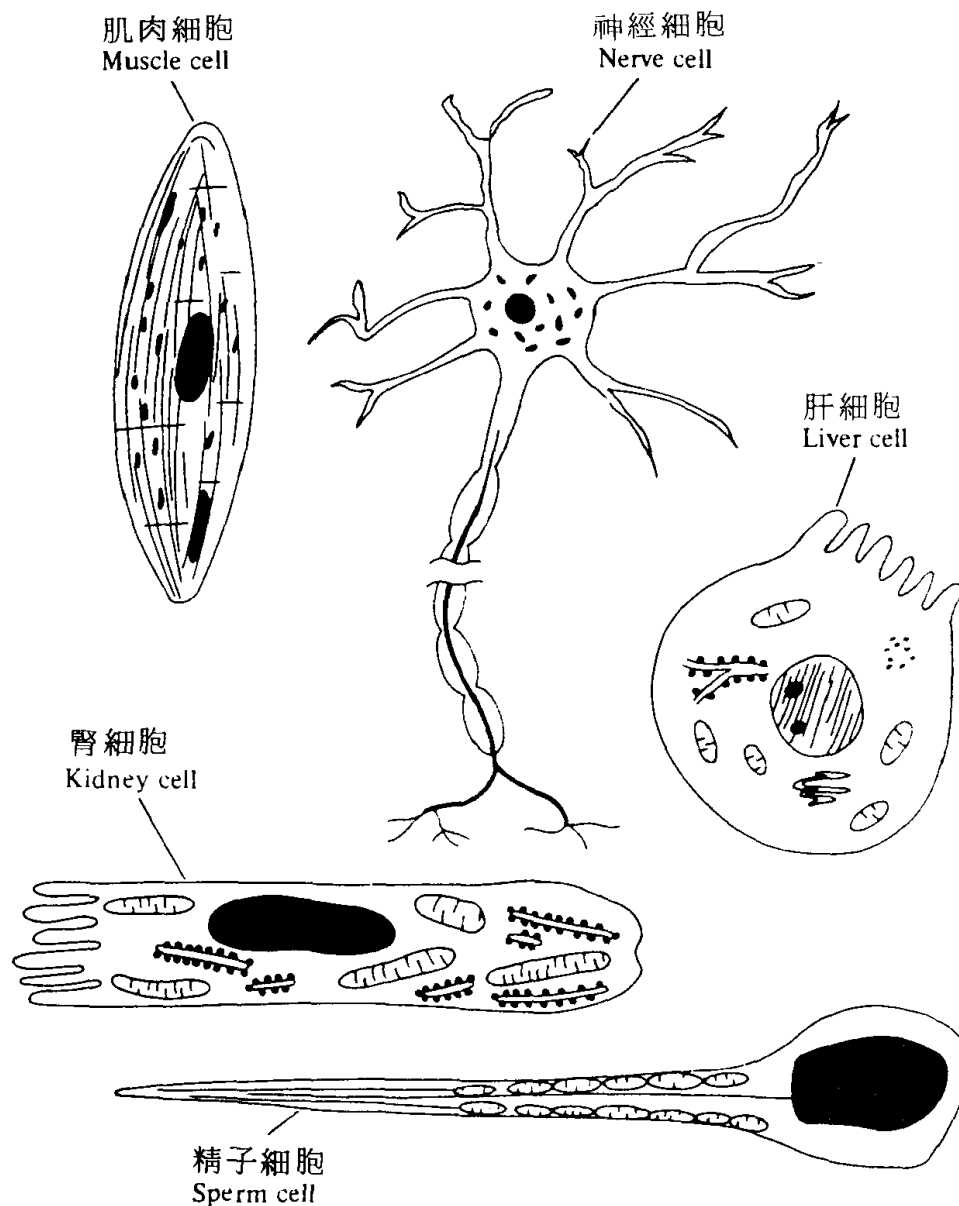


圖 1.4 人體內的幾種真核細胞。

真核細胞的內部構造比原核細胞更複雜得多，這點從圖 1.5 和圖 1.6 就可看出。其構造具有某種程度的空間組織和分化（differentiation）。其內部可分為許多明確的部門，稍後，我們將作更詳細的說明；這些部門具有可控制細胞活動的特殊構造和功能。此處，將只討論真核細胞的一般特點。

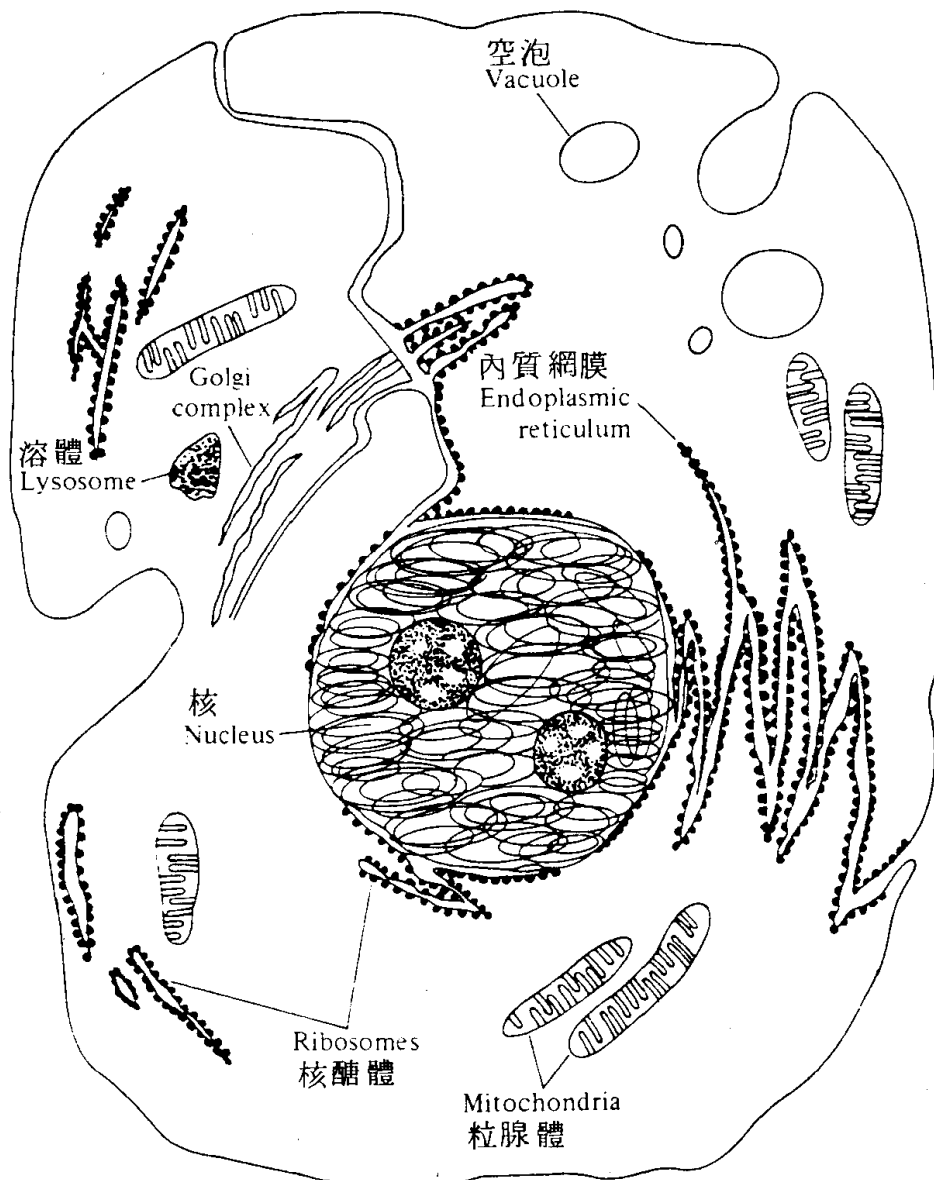


圖 1.5 典型的真核細胞。這種代表性細胞是一種想像的構造，因為不同真核細胞之間有著極大的差異存在。這類細胞大多具有共同特點和成分，使得此圖所示之典型真核細胞成為一個方便而有用的概念。

真核細胞外層也包著類似原核細胞的原形質膜或單位膜（unit membrane）。在此膜的外表面可能也有細胞外套（cell coat）或細胞壁。外層的本質與特種細胞有關。例如，高級動物的細胞通常有一層薄的細胞外套，這種外套所具有的特殊黏著性質是很重要的，它可以將相似細胞結合起來以形成具有特殊功能之器官，如肝等。相反地，植物細胞通常包在

一層非常堅固的厚壁中，如圖 1.7 所示。木材大部份即由死樹細胞壁所構成。

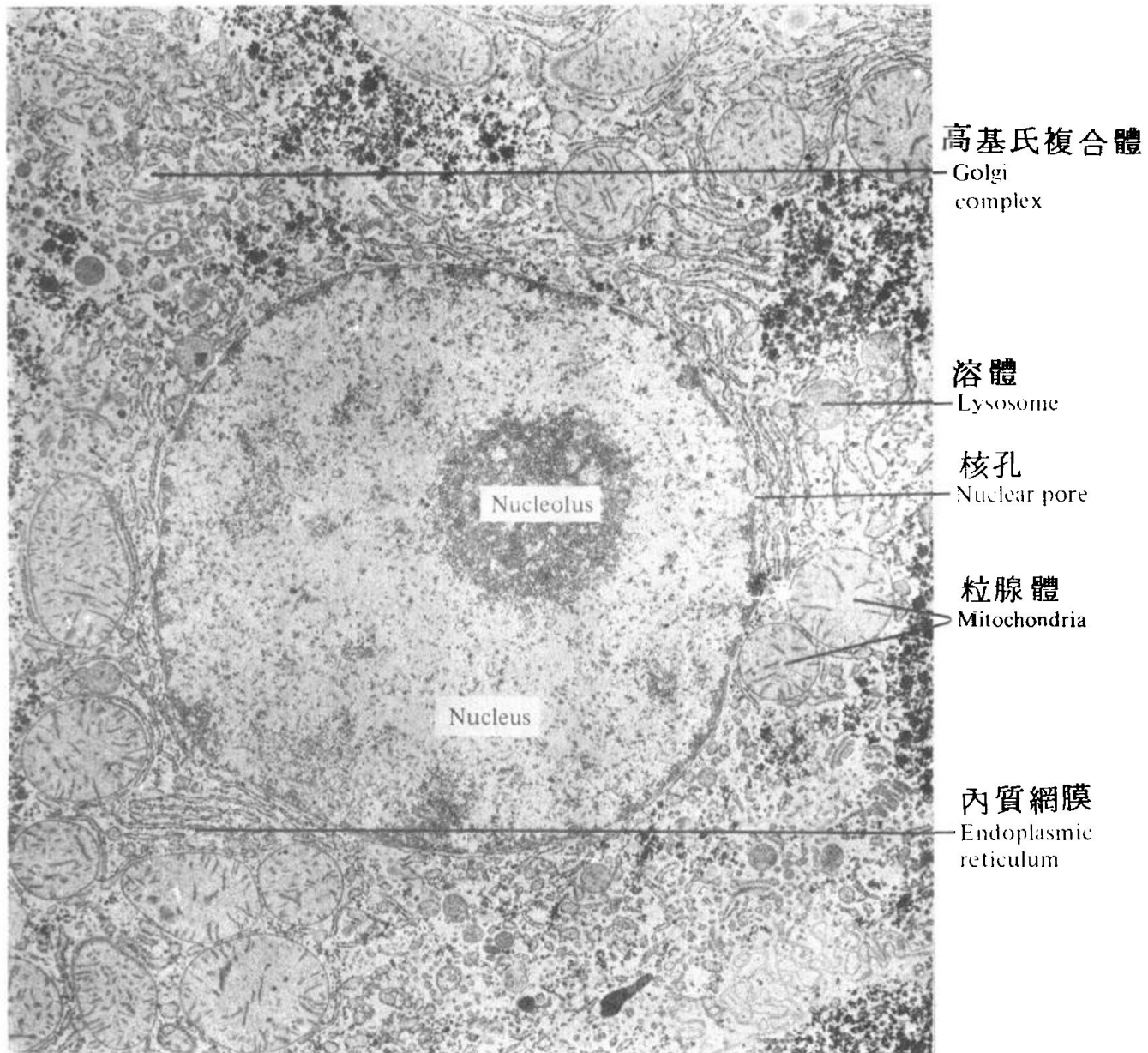


圖 1.6 老鼠肝細胞之電子顯微圖 (X 11,000)。

對於真核細胞內部特殊化 (specialization) 頗為重要的部份為細胞內的單位膜 (unit membrane)。有一個複雜而盤繞著的膜系統，稱為內質網膜 (endoplasmic reticulum)，從細胞膜進入細胞中。細胞內部的核 (nucleus) 包在孔狀膜之內。核糖體，在原核細胞中見過的反應部位，(不過，原核細胞內的核糖體較小)，被包在許多內質網膜的表面之中。核糖體在感覺上就像古典製程工業中被多孔狀載體 (porous support) 包裹著催化反應的金屬晶體粒子。高度盤繞而扭曲的內質網膜就成

為類似包裹著作為催化劑的金屬晶粒之多孔狀載體而使每單位體積可獲得的表面積得以增大。不過，與這種製程系統的相似處却不可再進一步地擴展，因為比較起來，生活細胞具有極端的複雜性和精密性。例如，細胞核的主要功能為控制發生在核糖體的生化活性。而不僅反應速率的調節，且所發生的特殊反應也都決定於細胞核所製造的化學傳訊者（chemical messenger）。

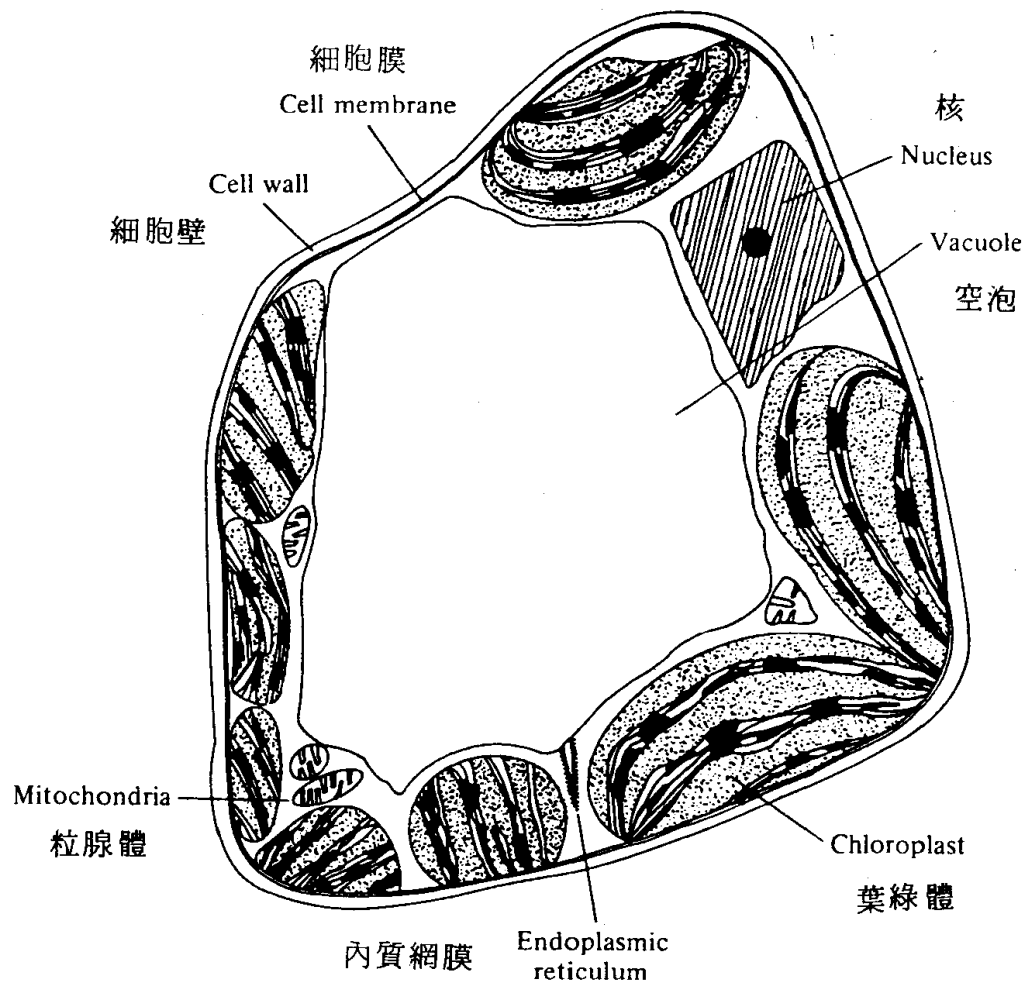


圖 1.7 高級植物之葉細胞。葉綠體（chloroplast）為進行光合成的特殊細胞器官。其他特出部份為堅固的細胞壁和液泡（vacuoles）。

細胞核是被單位膜所包住的幾個內部區之一。這類特殊化而被膜包住的區域全部，即為人所知的細胞器官（organelles）。粒線體（mitochondria）為具有極端特殊化和組織化的細胞器官，所催化反應之產物為細胞的主要能量供應者。所有在能量產生過程中會利用氧氣的真核細胞內都可發現粒線體。而在利用光為初級能量來源的光合成細胞（phototropic cells）內，葉綠體（chloroplast）即為細胞內之主要的能量供給源（參考圖 1.7）。葉綠體和粒線體除了產生能量外，也是其他許多重要生化

反應發生之處。

其他細胞器官：高基氏複合體 (Golgi complex)，溶體 (lysosomes) 和液泡 (vacuoles) 等，都顯示於圖 1.5 到 1.7 中。一般而言，這些細胞器官的功能為將化學反應或某些化學化合物從細胞質隔離出來。不管是從反應效率的觀點或從將其他細胞成分與細胞內含物隔開的觀點來看，這種隔離都是有必要的。

真核細胞的其他內部構造包括參與細胞分裂 (cell division) 和細胞運動 (cell motion) 的成分。由於這些細胞機能不在我們介紹的主要目的內，欲得其詳情者可參考本章後面所列之參考資料。

異種細胞却含有相似細胞器官的發現得以因此改善細胞學說的主要運用優點。現在，可以將細胞本身的活動在觀念上分解成組成細胞器官的活動而予以分別研究。在沒有明確的反對證據之下，不管細胞器官所屬細胞種類為何，都假設類似的細胞器官具有類似的機能。

1.2.3. 細胞分離法 Cell Fractionation

分析研究細胞所含細胞器官的特性時，其主要問題在於如何取得足量的細胞器官供生化分析之用。一般而言，這需要從大量細胞，或細胞族群 (cell population) 分離出大量細胞器官。讓我們以肝細胞為例，遵循針對此目的之一般方法來說明。

首先，將一塊肝組織在攪和器 (blender) 中攪碎。所得細胞懸浮液再置於特殊溶液中以旋轉杵在試管中或以超音波 (ultrasonic sound) 加以勻碎 (homogenized)。此處，所希望的是要將細胞打破但對其所含細胞器官不產生相當的干擾或破壞。下一步，就要將含有各種細胞器官的懸浮液作部份分離 (fractionation)。

對於程序工程師而言，我們知道，任何分離程序是根基於利用所欲分離成分間的物理和 / 或化學性質之差異。分離細胞器官的標準離心技術是利用其物理特性：大小、形狀和密度。我們將以下面的例子來說明基本的離心分析。

例 1.1 離心機內顆粒運動之分析： 假設將半徑為 R ，密度為 P_p 之球形顆粒置於含有密度為 P_f ，黏度為 U_c 流體分質之離心管中。然後，將此管置於離心機中以 ω 之角速度 (angular uelocity) 旋轉，則在顆粒加速作用中止時，可得下列關係式：

顆粒所受拖力 (drag force) = 浮力 (buoyancy force)

$$6\pi\mu_c R u_r = \frac{4\pi R^3}{3} G(\rho_p - \rho_f) \quad (1E1.1)$$

式中 U_r 為顆粒在 r 方向的速度

$$u_r = \frac{dr}{dt} \quad (1E1.2)$$

G 為離心力所產生的加速度

$$G = \omega^2 r \quad (1E1.3)$$

由於在這種情形下，顆粒速度（以及顆粒雷諾數）通常都非常低，因此在方程式（1E1.1）中，利用 Stokes' law 來表示阻力。一般的重力項不出現於式（1E1.1）中，這是因為圖 1E1.1 所示 r 方向是垂直於重力方向之故。而且，在離心機高速旋轉中，所產生的加速度 G 通常比重力加速度大好幾倍。

將此式積分可得顆粒從位置 r_1 移動到 r_2 所需之時間：

$$t = \frac{9}{2} \frac{\mu_c}{\omega^2 R^2 (\rho_p - \rho_f)} \ln \frac{r_2}{r_1} \quad (1E1.4)$$

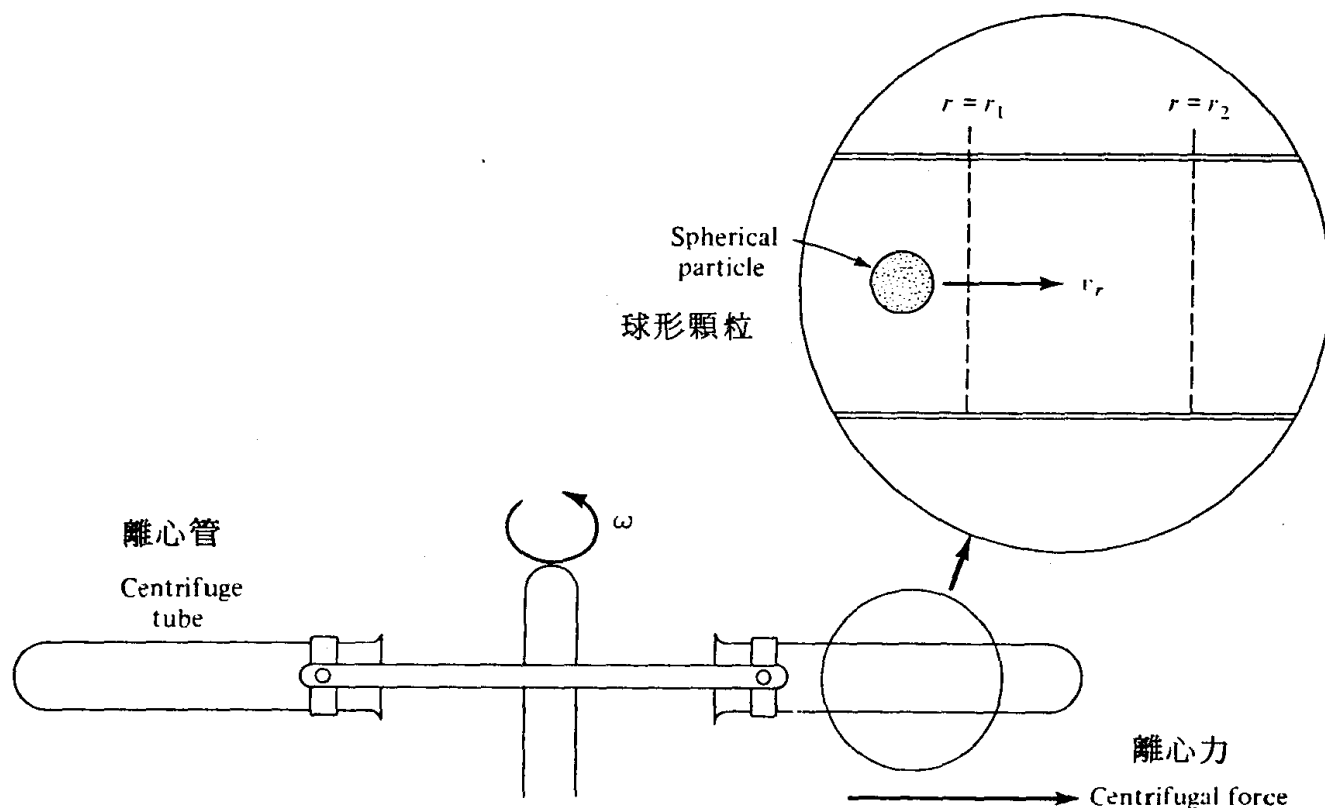


圖 1E1.1 當離心機高速旋轉時，懸浮在離心管中的顆粒從離心機軸向外移動。由於這些顆粒的移動速率決定於它們的大小、形狀和密度，所以與這些性質有所不同之顆粒就可在離心管中分離開來。

大小和 / 或密度不同的顆粒在離心管中分離。

為類似包裹著作為催化劑的金屬晶粒之多孔狀載體而使每單位體積可獲得的表面積得以增大。不過，與這種製程系統的相似處却不可再進一步地擴