

高等学校轻工专业试用教材

生化工程

中国轻工业出版社

高等学校轻工专业试用教材

生 化 工 程

伦世仪 主编

中国轻工业出版社

(京)新登字 034 号

内 容 简 介

本书重点阐述了生化工程的基础内容和基本理论。除导言章之外,有培养基灭菌、空气除菌、通气与搅拌、比拟放大、连续培养的基本原理、固定化酶和固定化细胞、微生物生化反应过程的质量和能量衡算,以及微生物生长及发酵反应的数学模型和计算机的应用等八章。

本书为发酵工程专业本科生教材,也可供在发酵工业及相关领域的生产、科研等岗位上的工程技术人员参考。

高等学校轻工专业试用教材

生 化 工 程

伦世仪 主编

李炳华 责任编辑

中国轻工业出版社出版

(北京市东长安街6号)

北京广益印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

各地新华书店经售

850×1168 毫米 1/32 印张: 8.125 字数: 195 千字

1993 年 10 月 第 1 版第 1 次印刷

印数: 1—5000 定价: 4.70 元

ISBN 7-5019-1438-9/Q·001

代 序

科学技术就是先进的生产力，科技人才则是科学技术的“宿主”，是最活跃、最积极的根本因素。毫不例外，发酵学科高级技术人才的培养，对我国发酵工业的现代化、提高其科学水平、缩短其与国际水平的差距，必将发挥决定性作用。

发酵工程学，作为我国发酵工程学科专业的高年级主修课，内容如何选材极为重要，也相当困难。发酵工程学是现代生物工程科学的组成部分，它由早期的酿造工艺衍化至今，已进入高科技领域，其间经历了观念更新和不断变革，来之不易。今日面对浩瀚的科技资料，欲简约概括，选其精义，以奉献于青年学子，加强其基础，引导其方法，使之进窥发酵科学研究与技术开发之门径，而不使误入歧途，则尤为不易。

自 60 年代初，发酵工程设备通用教材之编写至今已历两届，而限于历史条件，无论内容或体系均远不能令人满意。所幸今日之事，已彻底破除因循守旧之思想，决意使工程理论与设备实体分别设课，自成体系，并引入生物工程科学的新成就，加深了发酵工程科学理论。内容涉及细胞组成及其生化反应机理，无不与生化反应动力学、反应工程学以及质量、能量衡算的运用互相关联、贯穿始终，从而使发酵动力学由现象分析进入综合探索、由定性到定量、由表及里，将大有助于微观透视。把一个细胞的代谢作为一座发酵工厂来探讨的研究方法开始引入发酵工程专业教材，必将促进发酵工程科学的发展。由于此书始终贯穿着强化理论体系，以新概念为准绳，并以此体系带动和指导生产实践，若名之“新概念发酵工程学”亦无不可。

以新观点编写新书，要依靠编者，本书主编伦世仪教授从事发酵工程学研究，积累多年教学经验，包括指导博士研究生的心

24962/12

得，其他参加编写诸君亦皆发酵教育界有识之士，可谓“深庆得人”。

吾人常设想发酵通用教材必须推陈出新，而久未实现，有如负欠之累，今承编者出示书稿，顿觉耳目一新，欣幸之余，谨赞数言，兼志贺忱。

王鸿祺

前 言

本书是根据高校轻工类发酵工程专业教材委员会为加强生化工程教学的决议而编写的。全书共九章，参考学时为 40 课时。

其中第三、四、五章是在原《发酵工程与设备》（四院校合编，轻工出版社，北京，1982）第二、三章的基础上补充、修改而成的；其中第二、六、七、八、九章是原书所没有的。

书中第一、二、四、五章由伦世仪执笔，第三章由高孔荣执笔，第六、七章由夏友坤执笔，第八、九章由吴佩琮执笔。

全书由伦世仪教授主编，王鸿祺教授主审。

限于编者水平，不足之处在所难免，敬请读者批评指正。

编者

1992 年 3 月

目 录

第一章 导言	1
第二章 培养基灭菌	5
第一节 分批灭菌	5
一、微生物的热死灭动力学	5
二、分批灭菌的设计	10
第二节 连续灭菌	14
一、连续灭菌器（反应器）的流体流动模型	15
二、连续灭菌设计	22
符号说明	24
参考文献	25
第三章 空气除菌	26
一、空气中的微生物	26
二、空气压缩过程中状态的变化	27
三、空气除菌方法	30
四、典型的空气除菌流程分析	31
五、空气过滤设计	33
六、新型过滤器	42
符号说明	44
参考文献	45
第四章 通气与搅拌	46
第一节 搅拌器轴功率计算	46
一、搅拌器的型式及流型	46
二、搅拌器轴功率计算	49
三、非牛顿流体特性对搅拌功率计算的影响	55
第二节 通气发酵罐中溶氧速率与通气及搅拌的关系	62
一、双膜理论	63

二、测量体积溶氧系数 k_La 的方法	93
三、 k_La 与设备参数及操作变数之间的关系式	73
四、发酵液中的 k_La 与其调节	78
五、传氧效率	80
符号说明	81
参考文献	83
第五章 发酵罐的比拟放大	85
一、以 k_La (或 k_d) 为基准的比拟放大法	86
二、以 P_0/V 相等为准则的比拟放大法	91
三、比拟放大的其他基准	93
四、发酵罐的比拟缩小	98
符号说明	99
参考文献	99
第六章 连续培养的基本原理	101
第一节 微生物生长动力学	101
一、细胞生长动力学	102
二、微生物生长速率与底物浓度——莫诺模型	104
第二节 连续培养动力学及连续培养的应用	108
一、单级恒化器及其操作特征	108
二、部分菌体再循环的单级恒化器	114
三、连续培养的应用	117
符号说明	123
参考文献	125
第七章 固定化酶、固定化细胞	125
第一节 酶、细胞的固定化方法及固定化后的性质	127
一、固定化方法	127
二、固定化酶、细胞的性质	130
第二节 固定化酶、固定化细胞的应用	132
一、固定化酶、细胞在各个领域中的应用及其特征	132
二、固定化酶、细胞的工业化应用实例	134

第三节 固定化酶、固定化细胞反应动力学	142
一、酶促反应动力学	143
二、固定化酶、细胞反应动力学	148
第四节 固定化酶、细胞反应器	152
一、理想反应器米氏酶反应动力学	152
二、理想反应器抑制下的酶反应动力学	155
三、非理想反应器、固定化酶、细胞反应动力学	157
四、固定化酶、细胞反应器的选择	160
符号说明	162
参考文献	163
第八章 微生物生化反应过程的质量和能量衡算	165
第一节 微生物反应过程的碳素衡算	165
一、微生物反应过程中营养物质和产物之间的碳素衡算	166
二、微生物反应过程中主要基质——碳源的衡算	170
三、培养微生物细胞物质为目的的微生物反应过程中 的化学平衡	173
四、微生物反应的化学平衡通式	176
第二节 微生物反应过程 ATP 和氧的衡算	177
一、微生物反应过程的氧衡算	178
二、微生物反应耗氧量的计算	180
三、微生物反应过程碳源消耗的分析	183
四、生物氧化与能量传递	184
五、能量生长偶联型与能量生长非偶联型	187
六、微生物反应过程的 ATP 衡算	191
第三节 微生物反应过程的能量衡算	196
一、有机物氧化焓变和有效电子转移	196
二、自由能消耗对菌体得率 Y_{kl}	198
三、微生物反应过程的能量衡算	200
四、考虑碳源和氮源同时存在情况下的能量衡算	204
五、通风发酵反应热的估计方法	205
符号说明	207

参考文献	209
第九章 微生物生长及发酵反应的数学模型和计算机的应用	212
第一节 微生物生长的数学模型	213
一、紫外线照射菌体细胞悬浮液的时间与菌体细胞存活率关系的数学模型	213
二、微生物种群无限制条件下的对数生长模型	215
三、Monod 模型	216
四、存在抑制条件的微生物生长模型	218
五、产物生成动力学模型	221
第二节 谷氨酸发酵过程数学模型的建立	222
一、谷氨酸发酵菌体增殖的数学模型	223
二、谷氨酸发酵产物积累的数学模型	227
三、谷氨酸发酵的主要基质——糖消耗的数学模型	228
第三节 电子计算机在发酵工业中的应用	229
一、发酵过程生理特性数据的测量与控制	230
二、发酵过程生化特性数据的测量与计算	231
三、发酵过程某些物理化学特性的测定	232
四、电子计算机对面包酵母培养过程的测量与控制	234
五、电子计算机对发酵过程的控制	237
六、发酵产品生产最佳方案的确定	239
符号说明	244
参考文献	245

第一章 导 言

本书为发酵工程专业本科生而写。除基础之外，其主要前修课程为微生物学、生物化学、物理化学和化工原理。

早期的发酵工业只提供很少种类的产品，其中厌氧发酵产品居多，如酒类、乙醇、乳酸、丙酮、丁醇等。厌氧发酵由于不大量供应空气，染杂菌导致生产失败的机会较少，因而深层液体厌氧发酵早就具有相当大的规模。当时只有少数好氧发酵产品采用了深层液体发酵生产法，如面包酵母、醋酸等。前者因为酵母的比生长速率较高，后者因为醋酸的生成导致发酵液中 pH 降低，使随空气进入的杂菌不能获得增殖。

40 年代前期，为了适应二次世界大战救治伤员的迫切需要，急待将 1928 年早就发明的青霉素投入工业化生产，为此发酵工业界遇到了空前的难题。青霉素生产菌株比生长速率很低，在前期生长及后期合成青霉素的长达 100 h（小时）以上的发酵过程中需要溶解氧的不断供应以及严格的无杂菌状态。由于菌丝体的繁殖，发酵液的流变特性显著改变，空气中氧气溶入液体的速率本已十分缓慢，此时更极度下降，为此增大通气流率，使无杂菌的状态更难维持。

在这种形势下，有许多化学工程学者介入了这一难题的攻关。其中最为重要的首次突破大概就是 Elmer L. Gaden, Jr. 在美国哥伦比亚大学化学工程系系主任 Arthur W. Hixon 教授的指导下于 1946~1948 年完成的通风搅拌传质问题的博士论文。人们认为这篇论文是关于通气搅拌发酵罐设计的第一次理性尝试，也标志着生化工程学的诞生。生化工程学首次国际会议于 1949 年举行。

生化工程学的诞生开创了发酵工业的新纪元。好氧发酵产品

得以迅速开发和工业化。近 10 多年来又有愈来愈多的学科和学者参与了这一领域的相互渗透与交融，大大拓宽了它的研究领域，因而现在要给生化工程学一个简洁明确的定义比过去更加困难。

培养基灭菌、空气除菌、通气搅拌、比拟放大等前四章的内容一直是生化工程学所研究的焦点之一。它涉及发酵产品开发过程中从小试放大到工业化生产以及保持发酵体系必需的无杂菌状态的系统的理论和技术。理所当然的是发酵工程从业人员应该具备的最基本的生化工程知识。

微生物的连续培养是 50 年代以来发展起来的新的培养技术。由于连续运转过程中的无杂菌状态难以长时间保持，以及高度透变过的生产菌株在长期运转过程中难免出现回复突变株，而后者的高比生长速率往往使生产归于失败，所以在近代发酵工业中应用连续发酵的例子不多。然而在某些特殊的情况下，如使用高比生长速率的野生菌株为生产菌株，或在发酵环境的物理化学条件不易造成杂菌污染的条件下，连续培养技术则充分显示出其对于分批培养的明显优势而获得大规模的应用。如单细胞蛋白质的连续培养，单只反应器的容积超过 1500 m^3 。特别是废水的好氧及厌氧生物处理，最完整地实践了连续培养的恒化器理论及部分细胞浓缩返馈的理论。如 70 年代末期开发的所谓“第二代厌氧生物处理反应器”，其中上流式厌氧颗粒污泥床反应器的单只容积超过 5500 m^3 。废水的生物处理，实质上就是利用好氧或厌氧微生物群体的连续培养，在扩大的意义上也可以说是一种连续发酵。

连续培养反应器中必然会发生不同程度的返混。这就不能用平均水力时间代入分批反应动力学计算达到一定转化率所需要的反应器体积，因为它还决定于返混的程度。由于培养基的连续灭菌首先遇到了返混问题，故将返混的形成、影响及工程上处理这一问题的方法纳入第二章是比较合理的。关于平均停留时间分布实验求模型法，可在实验中讲授。

70年代初，第一次国际酶工程学术会议召开。酶工程的宗旨在于有效地利用酶。在此前后，用固定化的酰化氨基酸水解酶光学拆分D-、L-氨基酸（1969），用固定化葡萄糖异构酶将葡萄糖异构为果糖（1973），以及用固定化微生物死细胞中的延胡索酸酶将延胡索酸转化成L-苹果酸（1974）等相继投入工业化生产。然而传统的发酵工业产品是靠细胞中的许多种酶，将基质通过一定顺序的许多步酶促反应而生成的，往往需要ATP及多种辅酶的参与和再生，这需要将活的微生物细胞固定化。从70年代末期以来，利用固定化活细胞生产乙醇、有机酸、氨基酸、抗生素以及分解某些毒性化合物的研究获得很大的发展，可以根据催化反应的特点使固定化细胞分别处于生长、静止或死亡状态。由于发酵过程的本质是酶促反应，因而作为更有效地利用酶的理论和技术必将为传统的发酵技术提供改革和创新的机会，这也必然会导致发酵过程和设备的革新。

发酵过程的优化控制，生产强度的提高均离不开动力学研究。这涉及提高生产过程经济效益的一个重要方面。本书除在各章中加强动力学的概念之外，在最后两章又分别讨论了微生物生化反应的动力学问题。微生物生化反应伴随着物质间的转化以及物质与能量间的转化。第八章微生物生化反应过程的质量和能量衡算，着重用质量及能量衡算建立起这种质、能间转化的动力学，并用实验法求出有关的多种质-质转化系数及质-能转化系数。微生物的生长代谢过程尽管非常复杂，但仍存在一定的规律性，这些系数对一定的发酵系统各接近为定值，因而这些系数对于综合评价不同菌株、不同基质发酵生产同一产物的技术经济性能非常重要。

第九章微生物生长及发酵反应的数学模型及计算机的应用，着眼于反应过程中的质-质转化，对微生物在常见条件下的生长动力学及产物生成动力学加以分类描述。建模的方法多以实验结果为依据，并模拟具有相似本质的机制模型。Monod模型可以

看作是对 Michaelis-Menten 酶催化反应动力学的模拟，而存在抑制条件下的生长动力学则多是 Monod 动力学的修饰式。本章所列谷氨酸发酵过程中菌体生长及产物生成的动力学则是在假定的反应机制的基础上建立模型的例子。

发酵过程中应用计算机在线收集和分析数据进行反馈控制是生化工程的重要课题之一。迄今为止，由于微生物过程的一些重要参数的传感器难以符合实用在线测量的要求，使采用计算机对发酵过程实现在线控制遇到了重大障碍。第九章列举了一些避开直接测量难以在线测量的参数，采用在线碳、氧衡算及能量衡算等方法，间接计算、追踪关键参数的反馈控制的实用例子。

总而言之，本书在需要与可能的条件下所精选的以上八章（第二至第九章）的内容，只是生化工程学的基础知识，但它必将大有助于发酵工程技术人员提高其涉猎当代专业文献的能力，有益于他们进行基础技术理论的研究以及在为提高生产过程经济效益的努力中获得成绩。

第二章 培养基灭菌

绝大多数的发酵过程需要在无杂菌条件下进行，因此培养基的灭菌必须合理地设计，使之既能达到所需要的无菌程度，又能保证培养基中有效成分的破坏在允许的范围之内。

培养基的灭菌系指从培养基中杀灭有生活能力的细菌营养体及其孢子，或从中除去之。工业规模上的液体培养基灭菌，杀灭杂菌比除去杂菌更为常用，其中热灭菌法最为简便、有效和经济。

培养基灭菌程度的要求因根据所服务的发酵系统而异。绝对的无菌，不是不可能的，而是不合理的。

对于液体培养基的热灭菌，工程上所要解决的课题是：将培养基中的杂菌总数 N_0 杀灭到可以接受的总数 N ，需要多高的温度、多长的时间为合理？这决定于杂菌孢子的热死灭动力学，反应器的型式和操作方法，还决定于培养基中有效成分受热破坏的可接受范围。

第一节 分批灭菌

一、微生物的热死灭动力学

(一) 热死灭动力学方程

实验证明，微生物营养细胞的均相热死灭动力学符合化学反应的一级反应动力学，即

$$-\frac{dN}{dt} = K \cdot N \quad (2-1)$$

式中 N ——任一时刻的活细菌浓度 (个/L)

t ——时间 (min)

K ——比热死速率常数 (min^{-1})

对 (2-1) 式积分, 取边界条件 $t_0 = 0, N = N_0$, 得

$$\ln \frac{N}{N_0} = -K \cdot t \quad (2-2)$$

或
$$N = N_0 \cdot e^{-Kt} \quad (2-3)$$

维持灭菌温度 T 不变, 经历不同的灭菌时间 t , 检测相应的 N , 按 $\ln \frac{N}{N_0}$ 对 t 作图, 如图 2-1^[1] 所示。直线的斜率为 K 。

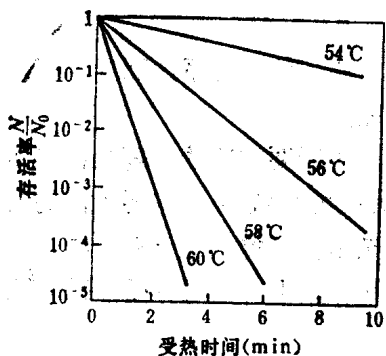


图 2-1 大肠杆菌营养细胞在缓冲液中的热死速率

K 除了决定于菌体的抗热性能之外, 还明显地受灭菌温度 T 的影响。

实验还证明, 细菌孢子的热死动力学与营养体细胞的有所不同, 如图 2-2^[2] 所示。对此现象, 不同学者提出了不同的解释。从图 2-2 可以推测, 细菌孢子壁具有较大的热阻。但霉菌孢子的热阻就比细菌的小得多 (见表 2-1), 这可能与孢子壁的化学

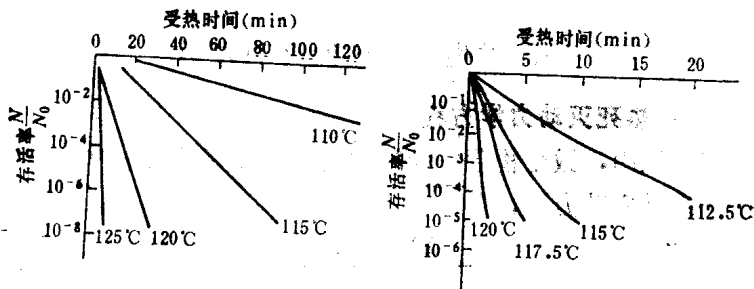


图 2-2 嗜热脂肪芽孢杆菌孢子的热死速率

成分及结构有关。无论如何,当温度超过 120℃ 时,热阻极强的嗜热脂肪芽孢杆菌孢子的热死灭动力学也接近符合一级反应规律。

表 2-1 典型发酵环境中各种微生物对
湿热灭菌的相对热阻^[8]

微生物类型	相对热阻
营养细胞和酵母	1, 0
细菌孢子	3×10^6
霉菌孢子	2~10
病毒与噬菌体	1~5

如以平均的相对热阻来表征不同类型微生物对热死灭的抵抗力,可以看出,对培养基进行热灭菌,必需以细菌孢子为杀灭对象。

营养细胞易于受热死灭,表明其比热死速率常数 K 值很高,在 120℃ 灭菌。其 K 值可大至 10^{10} (min^{-1}) 数量级,而细菌孢子的 K 值在 120℃ 时只有 10^0 数量级。

K 除了决定于菌体的种类及其存在型式之外,还是温度 T 的函数。因此 T 对 K 的影响是热灭菌工程设计中的核心问题之一。

(二) T 对 K 的影响

微生物的热死灭接近于化学反应的一级反应动力学。它的比热死灭速率常数 K 与灭菌温度 T 的关系,实验表明,也可用 Arrhenius 方程来表征,即

$$K = A \cdot e^{-\Delta E / RT} \quad (2-4)$$

式中 A ——频率因子 (min^{-1})

ΔE ——活化能 (J/mol)

R ——通用气体常数 [$\text{J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$]

从 2-4 式可以看出:

(1) 活化能 ΔE 的大小对 K 值有重大影响。其它条件相同