

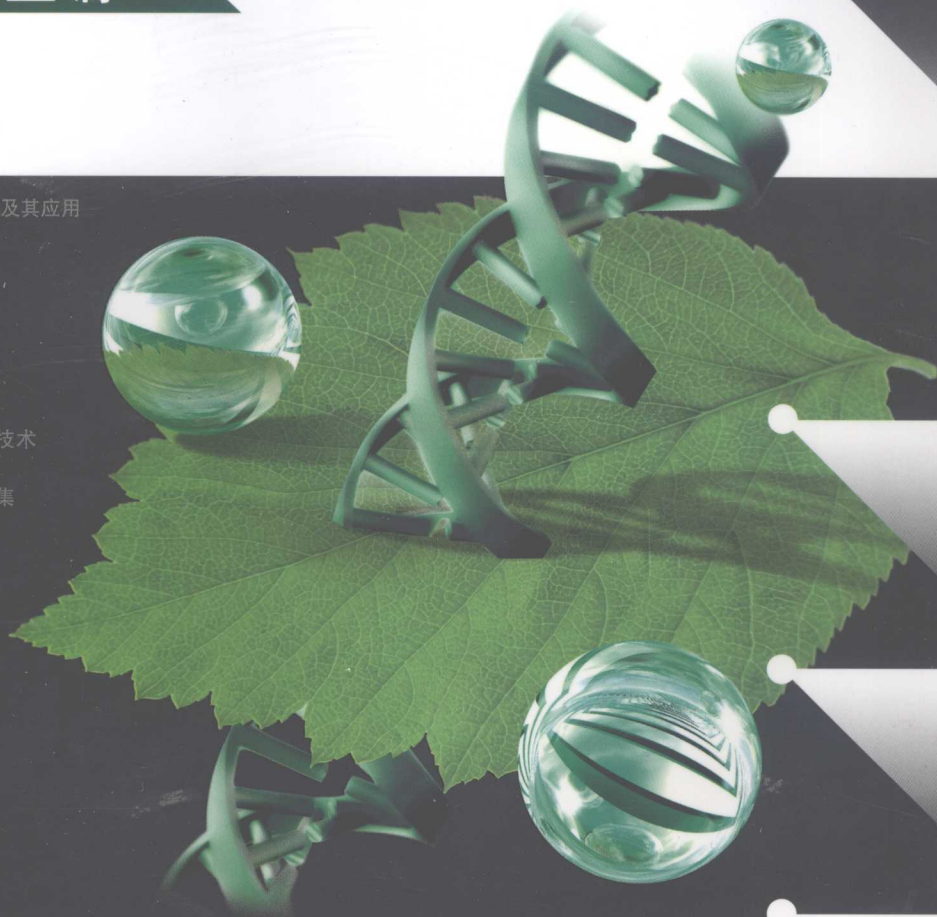
“十五”国家重点图书

现代生物技术丛书

生物化学 工程

谭天伟 主编

- 生物反应过程动力学
- 生物反应器
- 酶和细胞的固定化技术及其应用
- 非水相生物催化
- 生物过程优化控制
- 代谢工程
- 细胞破碎和生化分离技术
- 生物产品的萃取和富集
- 色谱分离技术
- 亲和色谱
- 电泳分离技术



化学工业出版社
生物·医药出版分社

现代生物技术丛书

生物化学工程

谭天伟 主编

许建和 滕虎 戚以政 副主编



化学工业出版社
生物·医药出版分社

· 北京 ·

图书在版编目 (CIP) 数据

生物化学工程/谭天伟主编. —北京: 化学工业出版社,

2008. 1

(现代生物技术丛书)

ISBN 978-7-122-01639-3

I. 生… II. 谭… III. 生物化学-化学反应工程

IV. TQ033

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2007) 第 187802 号

责任编辑: 傅四周 郎红旗

装帧设计: 关 飞

责任校对: 宋 夏

出版发行: 化学工业出版社 生物·医药出版分社 (北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)

印 刷: 北京永鑫印刷有限责任公司

装 订: 三河市万龙印装有限公司

787mm×1092mm 1/16 印张 24 $\frac{3}{4}$ 字数 641 千字 2008 年 3 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询: 010-64518888 (传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 49.00 元

版权所有 违者必究

编者名单

[illegible]

戚以政 谭天伟 滕 虎
修志龙 许建和 尹春华

出版者的话

现代生物技术(生物工程)建立在分子生物学、分子遗传学、生物化学、微生物学、细胞学以及工程技术、计算机技术等基础之上,是21世纪最重要的技术和产业领域之一,正迅速改变着传统的产业格局与人们生活的方方面面。

化学工业出版社一直致力于生物技术类图书的出版工作。早在20世纪80年代末、90年代初,就出版了由我国著名的微生物学家焦瑞身先生组织编写的国内第一套《生物工程丛书》。这是一套普及性科技图书,共有8个分册:《遗传学基础》、《生物化学基础》、《微生物学基础》、《生物工程概论》、《生物化学工程》、《细胞工程》、《酶工程》、《微生物工程》。《生物工程丛书》一经出版,就受到了读者的广泛好评,对促进20世纪90年代我国生物技术的发展起到了积极的推动作用。

进入20世纪90年代后期,生物科学研究更加活跃,新成果层出不穷,并与许多学科交叉融合,涌现了许多新学科、新技术。为此,化学工业出版社于2000年组建了现代生物技术与医药科技出版中心,专门从事生物技术、生物科学及医药科技类图书的出版工作,其宗旨在于:传播生命科学、服务生物产业、促进医药发展。出版中心成立伊始,即着手《生物工程丛书》的修订工作,组成了以焦瑞身先生为首的编委会,在广泛调研、充分论证的基础上,顺应生物技术的发展潮流,对丛书重新设题,推陈出新,更名为《现代生物技术丛书》。

第一批《现代生物技术丛书》共组织了15个分册,其中14个分册已于2000~2006年陆续出版:《基因工程》、《微生物工程》、《酶工程》、《植物细胞工程》、《动物细胞工程》、《蛋白质工程》、《组织工程》、《生物技术与疾病诊断——兼论人类基因治疗》、《环境生物工程》、《生物制药技术》、《生物工程下游技术》(第二版)、《农业生物工程》(第二版)、《生物传感器》、《生物信息学——智能化算法及其应用》,所余分册《糖生物工程》也计划于近期出版。参与编撰《现代生物技术丛书》的专家有180多人,特别是焦瑞身先生尽管年事已高,仍欣然挂帅,多方联系和推荐作者,逐一审订各分册的提纲,并亲自主编了100多万言的《微生物工程》。老一辈科学家鞠躬尽瘁的奉献精神与严谨务实的科学态度,深深地感染了新一代科研专家和出版者,激发了大家认真高效的工作热情,这是该丛书在较短时间内高质量出版的强大动力与工作基础。已出版的12个分册在首印后陆续重印,得到社会广泛好评,无疑是对众多编者辛勤笔耕的最好回馈!

鉴于现代生物技术日益丰富的内涵、较快的技术更新速度以及读者多样化的需求,化学工业出版社拟将《现代生物技术丛书》的出版之路不断延伸下去,分阶段地补充新技术、新内容,力争使丛书跟上生物技术本身的发展步伐,涵盖生物技术的方方面面。为此,近期将推出《现代生物技术丛书》第二批书目,或吸纳近年发展起来的新技术、交叉学科,或赋予传统学科以新内涵,包括《生物芯片技术》、《生物化学工程》、《微生物基因组学》等。

作为出版者，我们衷心希望《现代生物技术丛书》能够更好地服务于读者，为我国生物技术乃至生物科学的快速发展做出应有的贡献，我们也将为此付出最大的努力。同时，欢迎广大读者就丛书的后续书目贡献良策，以及就书中存在的不足和问题随时与我们交换意见。请联系：life@cip.com.cn。

化学工业出版社
生物·医药出版分社
2006年4月

转基因食品的安全性问题，一直是人们关注的焦点。转基因食品是指通过基因工程技术，将一种生物的基因转移到另一种生物体内，使其产生新的性状。转基因食品的安全性问题，主要涉及两个方面：一是转基因食品是否会对人体健康产生危害；二是转基因食品是否会对环境产生危害。目前，国际上对转基因食品的安全性问题，尚无定论。我国政府对此问题，一直持谨慎态度，要求转基因食品必须经过严格的安全评估，方可上市。

转基因食品的安全性问题

转基因食品的安全性问题，一直是人们关注的焦点。转基因食品是指通过基因工程技术，将一种生物的基因转移到另一种生物体内，使其产生新的性状。转基因食品的安全性问题，主要涉及两个方面：一是转基因食品是否会对人体健康产生危害；二是转基因食品是否会对环境产生危害。目前，国际上对转基因食品的安全性问题，尚无定论。我国政府对此问题，一直持谨慎态度，要求转基因食品必须经过严格的安全评估，方可上市。

转基因食品的安全性问题，一直是人们关注的焦点。转基因食品是指通过基因工程技术，将一种生物的基因转移到另一种生物体内，使其产生新的性状。转基因食品的安全性问题，主要涉及两个方面：一是转基因食品是否会对人体健康产生危害；二是转基因食品是否会对环境产生危害。目前，国际上对转基因食品的安全性问题，尚无定论。我国政府对此问题，一直持谨慎态度，要求转基因食品必须经过严格的安全评估，方可上市。

转基因食品的安全性问题，一直是人们关注的焦点。转基因食品是指通过基因工程技术，将一种生物的基因转移到另一种生物体内，使其产生新的性状。转基因食品的安全性问题，主要涉及两个方面：一是转基因食品是否会对人体健康产生危害；二是转基因食品是否会对环境产生危害。目前，国际上对转基因食品的安全性问题，尚无定论。我国政府对此问题，一直持谨慎态度，要求转基因食品必须经过严格的安全评估，方可上市。

转基因食品的安全性问题

转基因食品的安全性问题，一直是人们关注的焦点。转基因食品是指通过基因工程技术，将一种生物的基因转移到另一种生物体内，使其产生新的性状。转基因食品的安全性问题，主要涉及两个方面：一是转基因食品是否会对人体健康产生危害；二是转基因食品是否会对环境产生危害。目前，国际上对转基因食品的安全性问题，尚无定论。我国政府对此问题，一直持谨慎态度，要求转基因食品必须经过严格的安全评估，方可上市。

转基因食品的安全性问题，一直是人们关注的焦点。转基因食品是指通过基因工程技术，将一种生物的基因转移到另一种生物体内，使其产生新的性状。转基因食品的安全性问题，主要涉及两个方面：一是转基因食品是否会对人体健康产生危害；二是转基因食品是否会对环境产生危害。目前，国际上对转基因食品的安全性问题，尚无定论。我国政府对此问题，一直持谨慎态度，要求转基因食品必须经过严格的安全评估，方可上市。

转基因食品的安全性问题

转基因食品的安全性问题，一直是人们关注的焦点。转基因食品是指通过基因工程技术，将一种生物的基因转移到另一种生物体内，使其产生新的性状。转基因食品的安全性问题，主要涉及两个方面：一是转基因食品是否会对人体健康产生危害；二是转基因食品是否会对环境产生危害。目前，国际上对转基因食品的安全性问题，尚无定论。我国政府对此问题，一直持谨慎态度，要求转基因食品必须经过严格的安全评估，方可上市。

序

建立在分子生物学、分子遗传学、生物化学、微生物学、细胞学以及化工、计算技术等基础之上的现代生物技术（生物工程），是 20 世纪后半期国际上突飞猛进的技术领域之一，它为人类保健、农牧业、食品工业、环境保护以及精细化工等产业的发展提供了前所未有的动力。展望新世纪，可以预料生物技术的前景更为光辉灿烂。本丛书将就该领域的研究动态逐个进行详细介绍，这里我们仅概述其突出进展与读者分享。鉴于各领域发展迅速和编者水平有限，丛书定有遗漏和不足之处，敬请读者指正。

一、基因组和后基因组学

人类基因组计划（HGP）正式启动于 1990 年，这是一个跨世纪、跨国界的最伟大的生命科学工程，经美国、英国、法国、德国、日本、中国六国的合作和努力，已于 2001 年完成全部序列测定。这一成就可以与原子弹计划和登月计划相媲美，它将对生命科学和人类健康产生巨大影响。应用各种技术，上千个与疾病相关的基因已被定位，并已有近百个疾病基因被克隆。毫无疑问，这将为新药研究设计和疫苗制备提供依据，且已有多物质进入临床试验。

与此同时，小家鼠、果蝇、线虫、拟南芥、水稻、啤酒酵母，以及多种真菌、细菌的基因组研究相继开展，其中拟南芥基因组的全序列测定业已完成。由于微生物的基因组远小于多细胞真核生物，且细菌和酵母基因中不存在内含子，因而便于分析，迄今已在酵母基因组中发现了一些与人类疾病基因同源的基因，研究这些基因在酵母中的生理功能，将有助于了解相关疾病的发病机理。

今天，一个崭新的领域——生物信息学迅速发展，它将基因的结构、蛋白质功能以及物种的进化在基因信息的基础上统一起来。这一学科的发展，对基因组和后基因组学研究及对人类健康和农业发展将产生深远的影响。

二、基因工程（重组 DNA 技术）

体外 DNA 重组技术始于 1972 年，首先在大肠杆菌中获得成功，继而扩展到其他微生物，生产出了多种新型发酵产品。美国批准上市的基因工程产品有人类胰岛素、人类生长因子、白介素、干扰素、牛型生长激素疫苗等，并不断有新的品种进入临床应用。重组微生物的应用，也为高等生物作为表达外源基因的宿主提供了技术和经验，如哺乳动物细胞株、昆虫细胞株、转基因动物、转基因植物，都有可能作为生产需要糖基化的重组蛋白质的宿主。

我国基因工程研究起步较晚，自 1986 年“863”计划实施以来，生物技术药物的研究和产业化获得迅猛发展，至 1998 年已有 14 种基因工程药物、3 个基因工程疫苗和数十个重组诊断试剂投放市场。

三、转基因作物及其他农业生物工程

农业生物技术中最重要的是转基因作物（GMC）。近 10 年来 GMC 发展速度极快，1996~2001 年全球 GMC 的种植面积增长了 30 倍。2000 年达 4420 万公顷，比 1999 年

增长11%，2001年又在2000年的基础上增长19%，达5260万公顷。GMC种植面积占相关作物全球种植面积的比例依次为：大豆46%、棉花20%、油菜11%、玉米7%。

我国GMC的种植面积在13个国家中居第四位。国产转基因Bt抗虫棉的育成和推广，开创了国内基因工程农业应用的成功范例，仅2001年种植面积就达60万公顷。抗虫棉的杀虫性强，农药用量可减少70%~80%，既降低了用工成本，又保护了环境。

继获得第一代GMC（抗除草剂、抗虫、抗病等）之后，第二代转基因作物已呼之欲出，重点是进一步改良作物品质，提高其营养水平（如“金稻米”等），或以植物作为生物反应器生产医疗保健产品（如口服疫苗等）。同时，针对旱、涝、盐碱、低温等恶劣自然环境，培育各类抗逆作物。

此外重组根瘤菌、重组联合固氮菌、抗病杀虫重组微生物的开发和应用也取得了明显的成效。

四、克隆动物及转基因动物

动物体细胞克隆技术的发展为生产蛋白质类药物、器官移植、挽救珍稀濒危动物以及培育优良品种等奠定了基础。有科学家用山羊胚胎的核转入去核未受精的卵母细胞，产生了克隆动物——Dolly羊，成为科学上的重大突破，并在多种动物中得到重复。

转基因动物的成功引导了一种新型制药工业，即利用转基因山羊、绵羊和乳牛的乳汁来生产治疗人类疾病的蛋白质类药物。转基因动物发展的另一动向是克隆修饰的猪，为人体器官移植提供外源器官，以缓解临床上对人体器官的迫切需求。

体细胞克隆山羊在我国的上海市转基因研究中心及陕西的中国杨凌克隆动物基地都获得了成功。

五、细胞工程和组织工程

多年来我国植物组织培养和细胞工程研究在国际上是领先的。我国学者通过花药和花粉单细胞培养培育出烟草、水稻、小麦、大麦、油菜、甘蔗等作物的新品种、新品系，种植面积逾100万公顷。脱病毒快速繁殖的主要作物有香蕉、马铃薯、甘蔗、木薯、香草兰、草莓、柑橘、苹果、葡萄、花卉和观赏植物。紫草、三七等植物细胞已可在发酵罐中大量培养。我国的传统中药涉及5000种左右植物，细胞培养是中药资源开发的一个重要方面。

我国学者在动物细胞工程方面也做出了重要贡献。例如亲缘关系远近不同的鱼类可进行各种核质组合，在变种间、属间及科间都获得了具有独特性状的核质重组鱼。

动物发育工程中另一重大进展是干细胞株的建立，这已成为国际上研究的热点。干细胞是指未充分分化、但具有再生为各种组织器官和个体潜在功能的细胞。血液干细胞能够分化、生成整个血液系统，用造血干细胞移植来治疗白血病和一些遗传血液病，是医学界正在探索的课题。最近，以色列科学家首次从胚胎干细胞培养出人类心脏组织，它可以正常跳动，并且有新生心脏组织的电特性和机械特性。波兰科学家用脐血干细胞成功地培育出了脑细胞，有可能被用于帕金森病、脑震荡等疾病的治疗和脑部损伤的修复。美国科学家最近成功地将胚胎干细胞分化成人类骨髓中的造血先驱细胞，并进一步培养成红细胞、白细胞和血小板。这些结果预示着人类有可能获得取之不尽的血源。我国科学家已成功地将干细胞体外培养成胃和肠黏膜组织，这是继利用干细胞原位培养皮肤组织全能修复之后，人类再生组织器官方面的又一重大成果。

六、环境生物工程

我国是环境污染较严重的国家,环境生物工程在防治各种污染中将起重要作用。众所周知,油轮海上倾油可引起大面积海域污染,国外虽采用“超级细菌”(含有多个降解烃类的质粒)进行海面浮油处理,但其效果尚有待改进。化学农药对土壤的污染虽可用具专一性降解能力的特种细菌处理,但作用也甚缓慢。相对而言,较为先进的方法是采用可被降解的生物农药。此外,河流、湖泊水域的污染防治,酸雨危害以及城市垃圾的处理等,也都是亟待解决的问题。

七、酶工程

酶工程是现代生物技术的重要组成部分,其特点是利用酶、含酶细胞器或细胞(微生物、植物、动物)作为生物催化剂来完成某些重要的化学反应。应用范围包括医药工业、食品工业、化学工业、诊断分析和生物传感器等。涉及的品种不少,诸如糖化酶、淀粉酶、洗涤用酶以及 β -内酰胺抗生素生产有关的青霉素酰化酶、7-ACA酰化酶等,其市场需求、生产规模和产值均很可观,并已产生巨大的经济效益。随着酶的大量应用,各种酶反应器和固定化技术应运而生,更进一步地推动了酶工程的发展。

当代酶工程发展的趋势之一是寻找耐极端条件的酶,如耐高温、耐酸碱、耐盐等。这些酶存在于嗜高温、嗜酸碱、嗜高盐的细菌中。近年来对这些细菌的研究进展迅速,这将为酶工业提供源源不断的新型酶类。

八、新型能源和清洁能源的开拓

随着化石能源逐年减少,再生能源的研制开发已备受国际关注。虽然我国石油和煤炭储量丰富,但从长远考虑,还需对这一课题予以重视。展望未来,新型能源,特别是清洁能源的开发很有必要。

氢气是无污染的清洁能源,燃烧后不产生二氧化碳、硫、氮氧化物等有害物质,国外的燃氢汽车已研制成功。产氢的微生物甚多,值得重视的是光合细菌,该菌可利用工业废水产氢,同时具有农用肥效的作用。

巴西和美国是燃料乙醇生产技术和商业应用比较成熟的国家。作物秸秆、废报纸等生物材料是生产再生能源的最廉价原料,所生产的燃料乙醇成本可低到每加仑 1.10 美元,虽然仍高于每加仑 0.80~0.90 美元的汽油批发价,但随着技术的改进,生产成本将会逐步降低。

九、新型生物传感器的研制

要研制新型生物传感器,需要新型的酶和生物材料,这些酶需能耐高温、酸、碱或低温。已发现的这类特殊生物材料有嗜盐细菌的紫膜,这是一种光敏材料,可转化光子为 ATP。另一个例子是磁细菌细胞中的微小磁石(Fe_3O_4),对细胞起导航作用。当代正竞相研制 DNA 芯片,以色列学者已用其建成简单的计算机。

生物传感器应用范围广泛,包括临床检测、免疫反应、反应罐过程检测、环保毒物检测等,不胜枚举。

十、生化工程

生化工程包括发酵工艺、过程检测与控制、反应模型建立、反应器的设计和应用,以及产品提取纯化、包装在内的下游加工工艺等方面,这是生物技术产业化的最后重要过程。

本丛书以应用生物技术为主，包括必要的基础知识和前景展望。丛书第一批包括 15 个分册，即《基因工程》、《蛋白质工程》、《酶工程》、《生物信息学——智能化算法及其应用》、《植物细胞工程》、《动物细胞工程》、《微生物工程》、《生物制药技术》、《生物传感器》、《环境生物工程》、《农业生物工程》（第二版）、《糖生物工程》、《生物技术与疾病诊断——兼论人类基因治疗》、《组织工程》、《生物工程下游技术》（第二版）。

每册均由工作在第一线的专家撰写，概要阐述了国内外生物技术的进展和趋势。期望本丛书的出版能够对推动我国生物技术的研发及产业化做出微薄的贡献。

编者衷心寄语青年朋友，认识生物技术的光辉前景，祝愿你们以聪明才智为我国的生物技术做出创新贡献。

佳瑞宇 青 士 学

2002 年 1 月

廖荣林 高首目 452

费建群 著 生物工程

井天

民 1 年 8001

前言

生物化学工程 (biochemical engineering, 简称“生物化工”) 是 20 世纪 40 年代因为青霉素发酵工业化放大而形成的一门新的学科, 是利用生物体系 (包括酶、细胞及多细胞组织等), 结合化学和工程学原理, 进行产品的加工或提供相应的社会服务如环境治理等。酶工程、微生物发酵优化、动植物细胞培养都是生物化工的主要研究领域, 它是化学工程与技术的一个新兴学科, 已在精细化学品如药物中间体、食品添加剂等生产中发挥重要作用。

进入 21 世纪以后, 人类社会面临资源、能源短缺和环境恶化的压力, 必须寻找新的清洁、可持续的化工经济模式。生物化工在新能源 (如燃料乙醇、生物柴油等)、材料 (如生物可降解聚酯) 和化学品 (如丙烯酸酯等) 生产中起着越来越重要的作用。生物化工已成为社会可持续发展和节能降耗的重要学科和研究方法之一, 已成为清洁与可持续的工业生物技术的主要支撑技术之一。

随着现代生物技术的快速发展, 特别是基因组学、代谢工程、生物信息学和现代酶工程技术 (包括酶分子的定向进化等技术) 的发展, 生物化工不断增添着新内容。生物化工是一个不断发展的新兴学科, 从最早的微生物发酵放大、酶反应动力学及固定化酶技术、动植物细胞培养技术等, 发展到现在成为和现代生物技术、计算机控制和放大技术等学科紧密交叉融合的一门学科, 其涉及的技术领域不断扩大。

本书由国内北京化工大学、华东理工大学、大连理工大学等多所高校从事该领域研究的教授在自己多年的教学科研基础上整理而成的, 力图反映生物化工主要领域的一些最新进展, 如代谢工程、非水相催化、新型分离技术等。可以用作生物化工专业的本科和研究生教材, 也可供相关领域的技术及研发人员参考。

本书第 1 章、第 2 章由北京化工大学戚以政教授编写, 谭天伟教授编写了第 7 章到第 11 章, 华东理工大学许建和教授撰写了第 4 章, 大连理工大学滕虎博士与修志龙教授编写第 5 章和第 6 章, 此外北京科技大学尹春华博士负责第 3 章的撰写。北京化工大学研究生赵晓蕾等在文章的校对和文献核对中也付出了大量心血, 谨致谢意。

该书的部分内容得到了国家科技部 973 项目、863 项目和国家自然科学基金项目的资助, 在此深表谢意。

由于编者水平有限, 加上生物化工学科涉及的内容广泛, 技术更新比较快, 书中难免有不妥之处, 敬请相关专家和广大读者批评指正。

973 项目首席科学家
教育部长江学者、特聘教授
谭天伟
2008 年 1 月

目 录

第 1 章 生物反应过程动力学	1
1.1 酶催化反应动力学	2
1.1.1 单底物酶反应动力学	2
1.1.2 酶的抑制动力学	5
1.1.3 多底物酶反应动力学	8
1.1.4 别构酶反应动力学	11
1.1.5 pH 和温度对酶反应的影响	12
1.2 细胞反应过程动力学	15
1.2.1 细胞反应的特征及其动力学的描述方法	15
1.2.2 细胞反应计量学	16
1.2.3 细胞生长的非结构动力学	18
1.2.4 产物生成与底物消耗动力学	20
1.2.5 细胞生长的结构模型	23
1.2.6 细胞生长的分离模型	28
1.3 固定化生物催化反应过程动力学	32
1.3.1 固定化生物催化反应的特征	32
1.3.2 外扩散对反应速率的影响	35
1.3.3 内扩散对反应速率的影响	38
1.3.4 内外扩散同时存在时的有效因子	44
1.3.5 化学抑制和分配效应对扩散过程的影响	46
1.3.6 固定化生物催化剂的表现稳定性	46
主要符号一览表	47
参考文献	48

第 2 章 生物反应器	50
2.1 生物反应器的操作模型	51
2.1.1 间歇操作的搅拌槽式反应器 (BSTR)	52
2.1.2 连续操作的搅拌槽式反应器 (CSTR)	55
2.1.3 连续操作的管式反应器 (CPFR)	61
2.1.4 半间歇式操作的反应器 (Fed-Batch)	63
2.1.5 反应-分离耦合操作的反应器	64
2.2 机械搅拌槽式反应器	65
2.2.1 反应器结构与搅拌装置	65

2.2.2 反应器的传递特性	67
2.2.3 反应器的混合特性	74
2.3 气体搅拌塔式反应器	78
2.3.1 鼓泡式反应器	78
2.3.2 气升式反应器	82
2.4 固定床式生物反应器	85
2.4.1 固定床式反应器	85
2.4.2 固态发酵反应器	87
2.5 膜式生物反应器	89
2.5.1 直接接触式膜式反应器	89
2.5.2 扩散式膜式反应器	90
2.5.3 多相式膜式反应器	90
2.6 生物反应器的动态特性	91
2.6.1 底物限制动力学条件下 CSTR 的稳定性	92
2.6.2 底物抑制动力学条件下 CSTR 的稳定性	93
2.7 生物反应器的放大	94
2.7.1 经验放大法	95
2.7.2 缩小-放大法	96
2.7.3 数学模型法	97
主要符号一览表	100
参考文献	101

第 3 章 酶和细胞的固定化技术及其应用	102
3.1 酶的概述	102
3.2 酶固定化的概念和优点	103
3.3 固定化载体的选择	104
3.3.1 常用的固定化酶载体	104
3.3.2 新型固定化载体	105
3.4 酶的固定化方法	105
3.4.1 常见的固定化法	105
3.4.2 新型固定化方法	112
3.5 固定化酶的性质	114
3.5.1 稳定性	114
3.5.2 最适温度	115
3.5.3 最适 pH 值	115
3.5.4 催化活性	115
3.6 细胞固定化	116
3.6.1 吸附法固定细胞	116

3.6.2 包埋法固定细胞	117	4.8.1 酯合成反应	145
3.7 固定化酶在精细化学品合成方面的 应用	117	4.8.2 酰胺化反应	150
3.7.1 类可脂的合成	117	4.8.3 多肽合成反应	151
3.7.2 酶促长链单脂脂肪酸甘油酯的 合成	118	4.8.4 氧化还原反应	153
3.7.3 酶促维生素 A 棕榈酸酯的合成 ...	119	参考文献	154
3.7.4 酶促维生素棕榈酸异辛酯的 合成	120	第 5 章 生物过程优化控制	157
参考文献	120	5.1 生化过程控制概述	157
第 4 章 非水相生物催化	122	5.2 生化过程状态监测	158
4.1 概述	122	5.2.1 生化过程参数检测方法	158
4.2 典型的生物催化介质系统	124	5.2.2 生物参数在线检测和计算	161
4.2.1 单一的水或缓冲溶液系统	125	5.3 生化过程最优控制	167
4.2.2 水-有机溶剂单相系统	125	5.3.1 生化过程的基本数学描述模型 ...	167
4.2.3 水-有机溶剂两相系统	125	5.3.2 生化过程常规控制方法	168
4.2.4 含有表面活性剂的乳液或微乳液 系统	126	5.3.3 动态最优控制方法	169
4.2.5 微水有机溶剂单相系统	127	5.3.4 利用遗传算法的最优控制方法 ...	171
4.2.6 超临界流体系统	128	5.4 生化过程的在线自适应(预测) 控制	173
4.2.7 离子液体介质系统	128	5.4.1 基于时间序列模型的自适应 控制	173
4.2.8 无溶剂或少溶剂反应系统	129	5.4.2 基于神经网络的自适应控制	177
4.3 非水溶剂的影响及其选择原则	130	5.4.3 结合模糊技术的发酵过程控制 ...	178
4.3.1 非水溶剂对酶选择性的影响	130	5.4.4 基于专家系统的发酵过程控制 ...	180
4.3.2 非水溶剂对酶稳定性的影响	130	5.5 结语	181
4.3.3 非水溶剂的选择原则	131	参考文献	181
4.4 水活度的影响及其控制方法	132	第 6 章 代谢工程	184
4.4.1 酶的柔性及结合水	132	6.1 代谢工程概述	184
4.4.2 水活度与酶的活性	133	6.2 代谢通量分析技术	185
4.4.3 水活度缓冲体系	134	6.2.1 化学计量模型	185
4.5 添加剂对非水相生物催化反应的 影响	135	6.2.2 代谢通量分析	186
4.5.1 无机盐类添加剂	135	6.2.3 代谢通量模型	186
4.5.2 有机助溶剂	135	6.2.4 代谢通量分析的应用	187
4.5.3 多醇类添加剂	136	6.2.5 代谢通量测量技术	187
4.5.4 表面活性剂	136	6.2.6 实例:甘油代谢途径最大理论 得率计算	188
4.6 非水介质中酶的活化方法	137	6.3 代谢控制分析	191
4.6.1 有机溶剂中酶的活力为何不如 水相中高	138	6.3.1 代谢控制分析的一些概念	191
4.6.2 提高有机相酶催化活力的对策 ...	140	6.3.2 代谢调控机理	192
4.7 非水相生物催化的主要特征	141	6.3.3 通量控制系数的确定方法	192
4.7.1 酶在有机溶剂中的催化活性	142	6.3.4 代谢网络的控制分析	193
4.7.2 酶在有机溶剂中的稳定性	142	6.4 代谢途径优化	195
4.7.3 溶剂对酶选择性的调控作用	142	6.4.1 酶反应动力学	195
4.7.4 非水相酶催化的其他特征	144	6.4.2 幂函数近似法	196
4.8 非水相生物催化的典型反应	144	6.4.3 S 系统方法	197
		6.4.4 综合质量作用系统	197
		6.4.5 S 系统的灵敏度分析	198
		6.4.6 代谢途径的 S 系统优化方法 ...	200

6.5	葡萄糖发酵生产乙醇的代谢优化	201
6.5.1	葡萄糖产乙醇代谢机理	202
6.5.2	物料平衡方程	203
6.5.3	动力学模型	204
6.5.4	建立 GMA 方程	206
6.5.5	S 系统表示法	207
6.5.6	模型对数增益分析	208
6.5.7	乙醇生产的优化	209
6.6	结语	211
	参考文献	212
第7章	细胞破碎和生化分离技术	214
7.1	细胞固液分离	214
7.1.1	细胞回收与液固分离	214
7.1.2	过滤	215
7.1.3	微滤	219
7.1.4	离心	221
7.2	细胞破碎和分离提取技术	226
7.2.1	细胞破碎方法及机理	226
7.2.2	机械法	226
7.2.3	物理法	229
7.2.4	化学法	230
7.2.5	生物法	231
7.2.6	超临界细胞破碎技术	232
7.2.7	胞内产物的选择性释放	232
7.3	从发酵液中直接分离产物	235
7.3.1	双水相分离技术	235
7.3.2	膨胀床吸附技术	235
7.3.3	泡沫分离技术	241
	参考文献	244
第8章	生物产品的萃取和富集	246
8.1	生物产品萃取	246
8.1.1	双水相萃取	246
8.1.2	反胶团萃取	251
8.1.3	凝胶萃取	256
8.1.4	固相微萃取	259
8.1.5	超临界萃取	260
8.1.6	超声波和微波萃取	264
8.2	沉淀分离技术	268
8.2.1	沉淀分离技术概述	268
8.2.2	有机溶剂沉淀	268
8.2.3	盐析	269
8.2.4	高聚物沉淀	271
8.2.5	其他沉淀方法	271
8.3	膜分离技术	272
8.3.1	膜分离技术概述	272
8.3.2	超滤膜分离技术	275

8.3.3	纳滤膜分离技术	278
	参考文献	281
第9章	色谱分离技术	284
9.1	色谱技术概述	284
9.1.1	色谱基本原理	284
9.1.2	色谱的分类	285
9.1.3	液相色谱的主要检测器	285
9.1.4	生物分离制备液相色谱的类型和 特点	285
9.2	色谱理论	286
9.2.1	吸附平衡热力学	287
9.2.2	塔板理论	290
9.2.3	非平衡速率理论	291
	主要符号一览表	294
9.3	凝胶色谱	294
9.3.1	凝胶色谱原理	294
9.3.2	凝胶色谱介质	295
9.3.3	凝胶色谱的应用	300
9.4	离子交换色谱	301
9.4.1	离子交换色谱原理	302
9.4.2	离子交换介质	302
9.4.3	离子交换吸附和解吸条件	305
9.4.4	离子交换树脂的再生、操作 方式	306
9.4.5	离子交换色谱的应用	306
9.5	正相色谱和反相色谱	307
9.5.1	正相色谱和反相色谱原理	307
9.5.2	正相色谱和反相色谱的介质	308
9.5.3	流动相的选择	309
9.5.4	正相色谱和反相色谱的放大	310
9.5.5	正相色谱和反相色谱的应用	310
9.6	疏水色谱	313
9.6.1	疏水色谱原理	313
9.6.2	疏水色谱介质制备	314
9.6.3	疏水色谱的吸附和解吸条件	314
9.6.4	疏水色谱的应用	315
9.7	共价色谱	318
9.7.1	共价色谱原理	318
9.7.2	共价色谱的介质合成	319
9.7.3	色谱吸附和解吸条件	319
9.7.4	共价色谱的应用	320
	参考文献	320
第10章	亲和色谱	323
10.1	概论	323
10.1.1	亲和配基	324
10.1.2	亲和洗脱	326

10.2	亲和色谱分离技术	327
10.2.1	亲和色谱的理论	327
10.2.2	亲和色谱介质的制备	328
10.2.3	常见的亲和色谱	335
	参考文献	345
第11章	电泳分离技术	347
11.1	概述	347
11.2	凝胶电泳	349
11.2.1	凝胶电泳的介质	349
11.2.2	凝胶电泳的应用	352
11.3	等电聚焦	355
11.3.1	等电聚焦的基本原理	355
11.3.2	pH 值梯度的形成	356
11.3.3	等电聚焦的应用	357
11.3.4	双向电泳	357

11.4	毛细管电泳	358
11.4.1	毛细管电泳原理	358
11.4.2	毛细管电泳的进样技术	359
11.4.3	毛细管电泳的检测器	360
11.4.4	毛细管电泳的应用	360
11.4.5	亲和毛细管电泳	363
11.4.6	毛细管电泳色谱	364
11.5	制备电泳综述	367
11.5.1	制备等电聚焦	367
11.5.2	自由流动电泳	369
11.5.3	梯度流系统	374
11.5.4	多通道流动电泳	376
11.5.5	制备电泳的发展方向	378
	主要符号一览表	378
	参考文献	378

第1章

生物反应过程动力学

生物反应过程动力学的任务是研究生物反应过程速率的变化规律及其与各种影响因素的关系。它是依据实验和理论的研究结果,用数学模型的方法描述生物反应过程动力学的变化规律。它是生物反应工程的理论基础之一,为生物反应过程的开发、设计、操作和优化,提供了重要的理论依据。

生物反应过程的复杂性,也给生物反应过程动力学的表述带来了多样性。

根据所使用的生物催化剂不同,可分为酶反应动力学和细胞反应动力学。

对于酶反应动力学,又可分为均相酶反应动力学和固定化酶反应动力学。前者的动力学关系式可依据其反应机理表达为分子水平;后者的动力学关系式,则还需要考虑由于固定化酶颗粒的存在所产生的传质速率对反应过程速率的限制效应,可表达至颗粒水平。

对于细胞反应,由于细胞内存在着复杂的生物化学反应,包括通过细胞中的酶系利用底物合成结构单元、聚合成生物大分子以供细胞生长和提供反应所需的能量,以及通过复杂的调控机制有效地分配细胞内各代谢途径的代谢通量等。因此,可以认为细胞反应是由胞内众多酶系反应所组成的反应网络。要对这样复杂的体系进行精确的描述是非常困难的,因此,根据对所建动力学模型的目的和要求,可进行合理的简化。在此基础上,其动力学关系总体上在细胞水平上进行表达,称为细胞反应动力学。若为固定化细胞(包括絮凝团、菌膜、霉菌球等)反应,则需考虑传质因素对其动力学的影响,其动力学同样需要在颗粒水平上表达。

若以是否需要考虑传递因素的影响作为依据对生物反应过程动力学进行分类,则可分为本征反应动力学和宏观反应动力学。

本征反应动力学所描述的动力学关系仅反映了生物反应本身的动力学规律,它是由反应的特性决定的;后者所描述的动力学关系则反映了生物化学反应和传递因素对动力学综合影响的结果。

生物反应过程的进行,最终要在各种反应器中实现。由于生物反应器中各种传递因素的影响程度与反应器的结构和操作方式等有关,此时其宏观反应动力学可表达至反应器水平,称为反应器动力学。

综上所述,生物反应过程动力学可分别在下述四个层次上进行论述,即:

- ① 分子水平的酶催化反应动力学;
- ② 细胞水平的细胞反应动力学;
- ③ 颗粒水平的固定化生物催化反应动力学;
- ④ 反应器水平的生物反应过程动力学。

在上述四个层次的动力学中,前两个属于本征反应动力学范围;后两个则属于宏观反应动力学范围。

本章重点讨论前三个层次的反应动力学,反应器水平动力学将在下一章的有关“生物反

仪器的操作模型”中一并讨论。

1.1 酶催化反应动力学^[1~7,20]

这里所讨论的酶催化反应，是指酶与反应物系处于同一相——液相的酶反应。它所描述的反应速率与反应物系的关系反映了酶反应过程的本征动力学关系。其反应动力学不仅为阐明酶催化反应机理，也为研究具有复杂酶反应网络的细胞反应动力学提供了重要的理论依据。

1.1.1 单底物酶反应动力学

单底物酶反应是指每个酶只有一个底物结合部位的酶催化反应。属于此类反应的有酶催化的水解反应和异构化反应。

1.1.1.1 Michaelis-Menten 方程

对单底物酶催化反应，最简单的反应式可表示为：



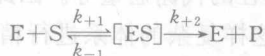
式中 E——游离酶；

[ES]——酶与底物的复合物；

S, P——底物和产物；

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

如果将上述反应限制在反应的初期，则反应体系中，产物浓度可以忽略，由 P 和 E 生成复合物的反应亦可忽略。则上述机理式可简化为：



有平衡近似和稳态近似两种方法求出上述反应的动力学方程。

平衡近似法。该法假设与 [ES] 转化为 E+P 的反应速率相比，E、S 和 [ES] 之间为快速反应，并达到平衡状态。因此，上述反应的速率取决于下式：

$$r_P = k_{+2}c[ES] \quad (1-1)$$

同时假设，在反应过程中酶的浓度是恒定的，即：

$$c_{E_0} = c_E + c[ES] \quad (1-2)$$

则可求得其动力学方程为：

$$r_S = \frac{k_{+2}c_{E_0}CS}{K_S + CS} = \frac{r_{\max}CS}{K_S + CS} \quad (1-3)$$

式中 $K_S = k_{-1}/k_{+1}$ ，解离常数，mol/L；

$r_{\max} = k_{+2}c_{E_0}$ ，最大反应速率，mol/(L·s)。

式(1-3)为 Michaelis-Menten 方程的最初形式。

稳态近似法。1925 年，Briggs 和 Haldane 提出“拟稳态”假设，认为反应过程中，复合物浓度 $c[ES]$ 是不随时间变化的，即：

$$\frac{dc[ES]}{dt} = 0 \quad (1-4)$$

其动力学方程可表示为：

$$r_S = \frac{r_{\max}CS}{K_m + CS} \quad (1-5)$$