

*The Downstream of Biotechnology*

# 生物工程下游技术

——细胞培养、分离纯化、分析检测

主 编 刘国谔

副主编 陈因良 苏天升

张玉奎 夏其昌 耿信笃



化学工业出版社

The Downstream of Biotechnology

生物工程下游技术  
——细胞培养、分离纯化、分析检测

主 编 刘国诠  
副主编 陈因良 苏天升  
张玉奎 夏其昌 耿信笃

化学工业出版社

(京)新登字039号

### 内 容 提 要

本书系统而详尽地介绍了用于生物工程下游的一些关键技术,如生物反应器、大规模细胞培养、动物细胞培养用微载体与微囊化培养方法、破菌技术与设备、有机与无机分离及纯化介质、膜分离介质与器件、蛋白质的制备色谱分离技术与方法、生物工程产品的质量监控与分析检测方法等。本书各章节既独立成章又互相呼应;既着力于发展现状和趋势的讨论,又兼顾了基础知识与背景的阐述。书中列出的大量图表、资料和参考文献又使它起到了案头工具书的作用。本书可作为从事生物技术、分子生物学、微生物学、生物制药等方面科学研究及教学工作的科技人员、大专院校有关专业师生的实用参考书。

**The Downstream of Biotechnology**

### 生物工程下游技术

——细胞培养、分离纯化、分析检测

主 编 刘国诠

副主编 陈因良 苏天升

张玉奎 夏其昌 耿信笃

责任编辑: 叶 露

封面设计: 姜晏芬

\*

化学工业出版社出版发行  
(北京市朝阳区惠新里3号)

北京市百善印刷厂印刷  
新华书店北京发行所经销

\*

开本 787×1092 1/16 印张 19 1/2 字数 487 千字  
1993年7月第1版 1993年7月北京第1次印刷

印数 1—3000

ISBN 7-5025-1202-0/TQ·695

定价: 15.60 元

## 序

生物技术必须实现产业化才能给人民造福，取得应有的社会和经济效益。根据国际上发展生物技术的经验和资料可以得知，在医学生物高技术领域中，下游技术在生物技术产品成本中所占的比例极大，我国发展生物高技术的实践也证明了这一点。可以说，下游技术是生物高技术实现产业化的关键。

生物工程的下游技术并没有明确的定义。在我国，它泛指从工程菌或工程细胞的大规模培养一直到产品的分离纯化、质量监测所需要的一系列单元操作技术。其中，产品的分离纯化是其最重要的组成部分。

在国家的“863”技术和科技攻关计划的支持和推动下，伴随着我国生物高技术的蓬勃发展，我国的生物工程下游技术也从无到有地建立和发展了起来。下游技术的一些重要环节，如动物细胞的大规模培养、分离纯化技术及产品的质量控制在分析等，均已开展了相应的研究工作并取得了可喜的成果。动物细胞培养用微载体、分离纯化用特种膜及器件、分离纯化专用介质的主要品种等，均已研制成功并正开展中试或已组织小规模的生产。一个符合我国国情的初步配套的生物工程下游技术的研究、开发体系正在形成，它必将对我国生物高技术实现产业化发挥出应有的作用。

为了促进我国生物工程下游技术的发展，“863”生物技术专家委员会委托第二主题专家组于1992年5月在西安召开了下游技术研讨会。会上，邀请了活跃在下游技术研究工作第一线的专家、学者作了中心发言，就下游技术发展的现状、趋势及特点进行了交流和讨论。本书就是根据西安研讨会的主要内容加以修改、补充后编写的。

本书系统而详尽地介绍了用于生物工程下游的一些关键技术，如生物反应器、大规模细胞培养、动物细胞培养用微载体与微囊化培养方法、破菌技术与设备、有机与无机分离、纯化介质、膜分离介质与器件、蛋白质的制备色谱分离技术与方法、生物工程产品的质量监控与分析检测方法等。本书各章既独立成章又互相呼应；既着力于发展现状和趋势的讨论，又兼顾了基础知识与背景的阐述。为使读者对生物工程下游技术有一个全面的了解，本书十分重视对原理和实际使用技术的介绍，再加上详尽的图表、资料和参考文献，使本书兼具了工具书的作用。

由于作者们在各自的专业领域中有着丰富的经验和深厚的积累，使得他们对所涉及的论题能驾御自如、游刃有余，他们对下游技术的各个关键环节都有中肯的评述和独到的见解。我相信，这本书对从事于生物工程下游技术研究、教学和生产等方面的广大同仁，定会有所助益。

顾健人\*

1993年7月

---

\* 上海市肿瘤研究所的顾健人教授是“863”生物技术领域第二主题专家组组长。

# 目 录

序

第一篇 生物反应器及大规模细胞培养 .....	1
<b>第一章 生物反应器</b> .....	1
(曹竹安,清华大学)	
第一节 概述 .....	1
第二节 细胞生长及代谢过程动力学 .....	2
一、细胞生长的特点、描述方法的分类 .....	2
二、均衡生长模型 .....	3
1. 细胞生长模型 .....	3
2. 基质消耗的模型 .....	4
3. 产物生成动力学模型 .....	5
三、其它模型 .....	6
第三节 生物反应器的基本类型 .....	8
一、生物反应器的特点及分类 .....	8
二、批式反应器 .....	12
三、连续搅拌罐反应器——恒化器 .....	15
第四节 生物反应器的放大 .....	17
一、概述 .....	17
1. 氧的供给 .....	17
2. 罐内流体的混合 .....	19
二、搅拌及传氧 .....	20
1. 搅拌 .....	20
2. 氧的传递 .....	22
三、生物反应器的放大原则 .....	23
1. 几何相似 .....	23
2. 恒定等体积功率放大 .....	23
3. 恒定传氧系数 $k_L\alpha$ 放大 .....	23
4. 恒定剪切力-恒定叶端速度( $\pi nd_i$ )放大 .....	23
5. 恒定的混合时间 $T_m$ 放大 .....	23
第五节 生物反应器的控制及优化 .....	24
一、生物反应器的控制 .....	24
二、生物培养过程的优化 .....	28
1. 过程变量的关联及敏感量(变量或参数)的获得 .....	28
2. 流加技术的应用 .....	28
符号表 .....	30
参考文献 .....	30
<b>第二章 动物细胞大规模培养和专用生物反应器</b> .....	31

(张元兴 陈志宏 陈因良,华东化工学院生化工程研究所)

第一节 常用的培养方法 .....	31
一、贴壁培养 .....	31
二、悬浮培养 .....	32
三、固定化培养 .....	32
1. 吸附 .....	32
2. 共价贴附 .....	32
3. 离子/共价交联 .....	32
4. 微囊 .....	32
5. 包埋 .....	33
第二节 动物细胞培养的操作方式 .....	33
一、分批式操作 .....	33
二、流加式操作 .....	34
三、半连续式操作 .....	34
四、连续操作 .....	34
五、灌注培养 .....	35
第三节 细胞培养过程的放大 .....	36
一、培养基组成 .....	36
二、限制细胞生长的因素 .....	37
三、污染的控制 .....	37
四、产物表达的控制 .....	37
五、硬件和过程设计参数 .....	38
六、产物收获 .....	38
第四节 动物细胞培养生物反应器 .....	39
一、生物反应器的种类 .....	39
1. 悬浮培养用 .....	39
2. 贴壁培养用 .....	39
3. 包埋培养用 .....	40
二、气升式细胞培养生物反应器 .....	40
三、中空纤维管生物反应器 .....	41
四、通气搅拌生物反应器 .....	42
五、无泡搅拌反应器 .....	43
六、动物细胞反应器的控制 .....	44
参考文献 .....	45
<b>第三章 细胞培养专用微载体 .....</b>	<b>47</b>
(李雨田 陈因良 丁健椿,华东化工学院生化工程研究所)	
第一节 采用微载体培养贴壁细胞是当前最有发展前途的一种培养模式 .....	47
第二节 动物细胞在微载体上贴壁生长机理 .....	48
第三节 优良的微载体应具有的特性 .....	49

第四节 国外微载体研制现状及发展趋势 .....	49
一、交联葡聚糖为基质的微载体 .....	49
1. DEAE-交联葡聚糖 .....	49
2. Cytodex 2 微载体 .....	50
3. Cytodex 3 微载体 .....	50
二、纤维素为基质的微载体 .....	51
三、蛋白质为基质的微载体——变性胶原微载体 .....	51
四、高分子合成材料为基质的微载体 .....	51
1. 聚苯乙烯微载体 .....	51
2. 苯乙烯-二乙烯苯共聚微载体 .....	51
3. 聚甲基丙烯酸羟乙基酯微载体 .....	51
4. 聚乙烯基吡啶微载体 .....	52
5. 聚丙烯酰胺微载体 .....	52
6. 硅橡胶微载体 .....	52
五、无机材料玻璃为基质的微载体 .....	52
1. 中空玻璃微载体 .....	52
2. 明胶涂覆的多孔微载体 .....	52
六、液膜微载体 .....	52
第五节 研制开发国产微载体的必要性 .....	53
参考文献 .....	57
<b>第四章 动物细胞的微囊化培养 .....</b>	<b>58</b>
(吉鑫松 陈国荣 朱冬发 袁中一, 中国科学院上海生物化学研究所)	
第一节 动物细胞的微囊化 .....	58
一、微囊化概述 .....	58
二、动物细胞微囊化方法 .....	59
1. 聚赖氨酸/海藻酸(PLL/ALG)微囊化 .....	59
2. 其它的微囊化方法 .....	60
第二节 微囊化细胞的培养 .....	61
一、微囊化培养的细胞种类 .....	61
二、培养条件 .....	62
第三节 微囊化动物细胞的应用 .....	63
一、生产药物上的应用 .....	63
1. 单克隆抗体的生产 .....	63
2. 高值生化药物的生产 .....	63
3. 干扰素的生产 .....	63
二、在治疗及药物筛选上的应用 .....	64
1. 人工器官 .....	64
2. 抗癌药物的筛选 .....	64

参考文献 .....	64
<b>第二篇 目标产品的分离与纯化 .....</b>	<b>65</b>
<b>第五章 细胞破碎和固液分离 .....</b>	<b>65</b>
(苏志国 张华民 修志龙 姜 炜,大连理工大学化工学院)	
第一节 概述 .....	65
第二节 细胞破碎 .....	65
一、细胞破碎技术的分类 .....	66
二、几种常用的破碎方法 .....	66
1. 高压匀浆法 .....	66
2. 高速珠磨法 .....	68
3. 超声破碎 .....	70
4. 化学渗透法 .....	70
5. 酶溶法 .....	72
三、细胞破碎技术研究的发展方向 .....	73
1. 多种破碎方法相结合 .....	73
2. 与上游过程相结合 .....	73
3. 与下游过程相结合 .....	74
第三节 包含体产物的分离 .....	74
第四节 离心沉降 .....	76
第五节 微孔膜过滤 .....	79
第六节 双水相萃取 .....	84
第七节 避开固液分离的探索 .....	87
一、流化床直接吸附法 .....	87
二、膜直接吸附法 .....	87
参考文献 .....	88
<b>第六章 膜分离技术在生物工程中的应用 .....</b>	<b>91</b>
(刘忠洲,中国科学院生态环境研究中心)	
第一节 概述 .....	91
第二节 几种膜分离过程的定义与分离原理 .....	92
1. 微滤 .....	93
2. 超滤 .....	93
3. 反渗透 .....	94
4. 透析 .....	94
5. 电渗析 .....	94
第三节 膜结构及其分离特性 .....	94
一、微滤膜 .....	94
二、超滤膜与反渗透膜 .....	96
三、电渗析膜 .....	98
第四节 生物工程后处理过程中膜分离技术的选择与应用 .....	99



一、微生物的分离与收集	99
二、酶、蛋白质、抗体、多糖和一些基因工程产品的分离浓缩	103
1. 膜品种与膜规格的选择	103
2. 浓差极化	104
3. 膜污染	104
4. 清洗	106
三、超滤分级	108
四、除水中热源	108
第五节 组件结构	108
第六节 系统设计	109
第七节 超滤亲和纯化	113
第八节 膜反应器	114
第九节 电渗析与反渗透的应用	117
参考文献	118
附录 6-1 国外超滤膜生产厂家及膜性能	120
附录 6-2 我国研制 MF、UF、RO 膜的单位	124
附录 6-3 我国 RO、UF、MF 膜、组件、装置生产单位	125
<b>第七章 生物大分子的色谱分离和纯化</b>	128
(耿信笃 马 凤, 西北大学化学系现代分离科学研究室)	
第一节 基本理论	129
第二节 装置和操作技术	131
第三节 色谱条件及色谱纯化工艺的最优化	132
第四节 应用举例	135
参考文献	140
<b>第八章 非线性色谱原理及其在蛋白质分离与纯化中的应用</b>	143
(黄骏雄, 中国科学院生态环境研究中心)	
第一节 概述	143
一、色谱法的基本特点	143
1. 分离效率高	143
2. 应用范围广	144
3. 操作参数多	144
4. 高灵敏度在线检测	144
5. 快速分离	144
6. 连续自动化操作	144
二、线性色谱与非线性色谱	145
第二节 非线性色谱理论基础	146
一、吸附过程及吸附等温线	146
二、非线性色谱基本理论	149
1. 吸附平衡热力学	149

2. 吸附平衡动力学 .....	150
3. 色谱基本物料平衡方程 .....	150
第三节 非线性色谱的实验方法 .....	151
一、非线性色谱中的固定相及色谱柱 .....	151
1. 固定相 .....	151
2. 色谱柱及填充技术 .....	154
二、样品溶解与进样方法 .....	155
三、非线性色谱中 3 种常用的展开方式 .....	156
1. 超载洗脱 .....	157
2. 前沿分析 .....	157
3. 置换展开 .....	157
四、色谱系统的生物相容性 .....	159
第四节 非线性色谱在分离与纯化蛋白质中的应用 .....	159
参考文献 .....	164
<b>第九章 凝胶过滤及离子交换层析介质</b> .....	165
(王佳兴, 化学工业部晨光化工研究院成都分院)	
第一节 概述 .....	165
第二节 凝胶过滤介质 .....	166
一、凝胶过滤 .....	166
二、凝胶介质应具备的条件 .....	167
三、凝胶过滤介质的种类 .....	167
1. 多糖类骨架的介质 .....	167
2. 合成大分子骨架的介质 .....	167
3. 由天然大分子与合成高聚物构成混合骨架的介质 .....	168
第三节 凝胶过滤介质的主要品种 .....	168
一、葡聚糖系 .....	168
1. 结构 .....	168
2. 性能 .....	168
3. 主要用途 .....	169
4. 衍生系 .....	169
二、琼脂糖系 .....	170
1. Bio-Gel A 系 .....	170
2. Sepharose 系 .....	170
三、聚丙烯酰胺系 .....	172
四、Sephacryl 系 .....	172
五、Superdex 系 .....	176
六、聚乙烯醇系 .....	177
七、Ultrogel 系及 Trisacryl 系 .....	178
八、Bio-Beads S-X 系 .....	179

第四节 离子交换法与离子交换剂的选择.....	179
一、离子交换法 .....	179
二、离子交换剂的选择 .....	180
1. 离子交换剂种类的选择 .....	180
2. 离子交换剂的强弱性 .....	181
3. 选择适宜工作条件,提高工作容量 .....	181
第五节 生化用离子交换剂的特点及种类.....	181
一、生化用离子交换剂的特点 .....	181
1. 亲水性及生物相容性 .....	181
2. 孔结构 .....	182
3. 电荷密度 .....	182
4. 粒度 .....	182
5. 纯度 .....	182
二、生化用离子交换剂的种类 .....	183
1. 通用型离子交换树脂 .....	183
2. 功能基种类 .....	184
3. 生化专用离子交换剂 .....	185
第六节 生化专用离子交换剂品种.....	185
一、纤维素类 .....	185
二、葡聚糖系 Sephadex 离子交换剂 .....	187
三、琼脂糖系离子交换剂 .....	187
1. Bio-Gel A 系离子交换剂 .....	187
2. Sepharose 系离子交换剂 .....	188
四、Toyopearl 离子交换剂 .....	190
五、Mono Beads 系离子交换剂 .....	190
六、聚丙烯酸羟乙基酯系离子交换剂 .....	191
参考文献.....	193
<b>第十章 有机高分子基质的高效液相色谱分离柱填料</b> .....	193
(苏天升,中国科学院化学研究所)	
第一节 概述.....	193
第二节 高分子类型 HPLC 填料的特征 .....	194
第三节 高分子类型 HPLC 填料的制备 .....	194
一、HPLC 技术对于填料的一般要求 .....	194
二、高分子基质微球的合成 .....	195
三、基质微球的化学改性 .....	196
第四节 填料性能的评价.....	196
一、填料物化性质的表征 .....	196
二、填料色谱性能的表征 .....	196
1. 保留值 .....	196

2. 选择性 .....	196
3. 柱效率 .....	197
4. 填充柱的总孔隙度和穿透性 .....	197
5. 分离度 .....	197
第五节 高分子类型的吸附分配 HPLC 填料 .....	197
一、高效反相色谱填料 .....	197
二、高效正相色谱填料 .....	200
三、高效疏水性相互作用色谱填料 .....	200
第六节 高分子类型离子交换 HPLC 填料 .....	201
一、高效离子交换色谱填料 .....	201
二、高效离子色谱填料 .....	205
第七节 高分子类型空间排除 HPLC 填料 .....	207
一、SEC 填料的一般特征与色谱指标 .....	207
1. 排除极限 .....	207
2. 分离范围 .....	207
3. 固流相比 .....	207
二、高效凝胶渗透色谱填料 .....	208
三、高效凝胶过滤色谱填料 .....	209
第八节 高分子类型高效亲和色谱填料 .....	211
参考文献 .....	212
<b>第十一章 无机基质分离介质</b> .....	215
(刘国谔, 中国科学院化学研究所)	
第一节 无机基质 .....	215
一、硅胶 .....	215
1. 硅胶的化学性质 .....	215
2. 硅胶的物理性质 .....	216
3. 多孔硅胶的制法 .....	217
二、可控孔径玻璃 .....	218
三、其它 .....	219
第二节 硅胶的化学修饰 .....	219
一、通过表面硅羟基的化学修饰 .....	220
1. 通过氯化反应 .....	220
2. 通过氯硅烷与硅羟基的反应 .....	220
3. 通过烷氧基硅烷与硅羟基的反应 .....	220
二、通过涂层改进硅胶的表面性质 .....	221
三、整体修饰 .....	221
四、硅烷化试剂 .....	221
第三节 反相介质 .....	223
一、反相介质的合成 .....	223

二、反相介质的表征与评价 .....	224
1. 配基键合密度与残余硅羟基浓度 .....	224
2. 键合相结构与色谱性能的关系 .....	225
三、常见的反相介质 .....	226
第四节 高效亲水凝胶介质 .....	228
一、对高效亲水凝胶介质的要求 .....	228
二、表面亲水层的键合 .....	228
三、常见的无机亲水凝胶介质 .....	228
第五节 高效离子交换色谱介质 .....	229
一、薄壳型离子交换介质 .....	230
二、全多孔硅胶型离子交换介质 .....	230
第六节 高效亲和色谱介质 .....	232
一、高效亲和色谱的特点 .....	233
二、用于高效亲和色谱的基质 .....	233
三、硅胶的活化 .....	234
四、一些商品化的高效亲和介质 .....	235
第七节 高效疏水作用介质 .....	237
综合参考文献 .....	237
参考文献 .....	237
<b>第十二章 羟基磷灰石分离介质</b> .....	240
(余贤真 周纯益, 中国科学院化工冶金研究所)	
第一节 发展概况 .....	240
第二节 HPLC 柱对介质的要求及羟基磷灰石的性能 .....	241
一、高机械强度 .....	241
二、粒子大小、形状和孔隙 .....	241
三、化学和热稳定性 .....	241
四、非可逆性吸附 .....	241
五、表面化学修饰 .....	242
第三节 羟基磷灰石的制备方法 .....	242
一、Tiselius 型羟基磷灰石的制备方法 .....	242
二、日本制备羟基磷灰石的方法 .....	243
三、制备球形羟基磷灰石的新方法 .....	243
1. 球形复合羟基磷灰石 .....	243
2. 均相法球形羟基磷灰石 .....	243
第四节 羟基磷灰石的商品化情况 .....	244
第五节 羟基磷灰石柱色谱机理的研究 .....	247
一、实验 .....	247
二、假定、推论和结论 .....	247
第六节 羟基磷灰石在生物大分子分离纯化中的应用 .....	250

一、一般应用领域 .....	250
二、单克隆抗体的分离纯化 .....	250
三、结构差异很小的蛋白质分离 .....	251
四、有机溶剂体系中的羟基磷灰石 HPLC .....	251
参考文献 .....	251
<b>第十三章 径向色谱柱的发展与应用</b> .....	260
(张玉奎 李 彤,中国科学院大连化学物理研究所 姚志建 徐明波,军事医学科学院基础医学研究所)	
第一节 概述 .....	260
第二节 径向色谱柱结构 .....	261
第三节 径向色谱柱填料 .....	262
第四节 径向色谱柱的应用 .....	263
一、血液制品 .....	264
二、生物样品 .....	266
三、基因工程产品 .....	268
参考文献 .....	269
<b>第十四章 电泳分离技术</b> .....	270
(孙万儒,中国科学院微生物研究所)	
第一节 概述 .....	270
第二节 电泳技术原理 .....	270
第三节 电泳的技术问题和对策 .....	272
第四节 在生物技术研究上应用的电泳技术 .....	274
1. 新的电泳载体 .....	274
2. 显色技术 .....	274
3. 电泳仪及相关设备和材料 .....	274
第五节 生物技术产品分离纯化上应用的电泳技术 .....	274
一、平板电泳 .....	274
1. 水平平板电泳 .....	275
2. 垂直平板电泳 .....	276
二、连续凝胶电泳 .....	276
三、等电聚焦电泳 .....	277
1. 螺旋管等电聚焦电泳 .....	278
2. 水平旋转等电聚焦电泳 .....	278
四、连续流动电泳 .....	280
五、无载体连续流动电泳 .....	281
参考文献 .....	284
<b>第三篇 目标产品的分析检测及质量控制</b> .....	285
<b>第十五章 目标产品的蛋白质分析检测技术与质量控制</b> .....	285
(夏其昌,中国科学院上海生物化学研究所)	

第一节	蛋白质的纯度	285
第二节	氨基酸分析	286
第三节	蛋白质浓度测定和分子量的测定	287
第四节	肽谱	288
一、	裂解方法	288
二、	肽谱分析	289
三、	两种新技术	290
1.	微柱 HPLC	290
2.	毛细管电泳	291
第五节	蛋白质一级结构和突变点的分析	291
第六节	蛋白质的二硫键分析	292
第七节	蛋白质化学分析技术及新发展	293
第八节	其它	294
	参考文献	295

# 第一篇 生物反应器及大规模细胞培养

## 第一章 生物反应器

曹竹安

(清华大学,北京,100084)

### 第一节 概述

各种细胞及其代谢产品的生产过程都要通过细胞的培养,而细胞培养所用的装置就是反应器。在实验室培养用的方瓶、锥形瓶是反应器,扩大所用的各种发酵装置也是反应器,就连菌种保存用的琼脂斜面在培养阶段也是反应器。

细胞的生长、繁殖、代谢作用都是细胞对客观环境的响应,与鸡蛋在合适的条件下孵化为小鸡是一样的。生物反应器的作用就是要为细胞代谢提供一个优化的物理及化学环境,使细胞能更快更好地生长,得到更多的需要的生物量或代谢产物。

有了好的细胞株,良好的培养环境就是决定的因素了。细胞生长需要的条件是:

(1) 良好的物理环境。最主要的有温度、pH 值、溶氧量、合适的混合强度以保证细胞与营养物的接触及细胞的悬浮等。

(2) 合适的化学环境。要求有适宜的各种营养物的浓度,并限制各种妨碍生长代谢的有害物质的浓度。

研究生物反应器的目的,一是要确定为达到一定的生产目的需要多大的生物反应器,什么样的结构更好;二是对已有的生物反应器进行分析,达到优化的目的;三是分析各种生物反应器的数据,从而对细胞的生长、代谢等过程有更深入的理解。

由上所述可以知道,生物反应器是工程学的一个部分,而工程学的最重要的特点就是定量地进行研究。下面各节的讨论多从定量的角度进行分析。

此外生物反应器又是化学工程的一个分支,在反应器的分析方面要用到较多的化学工程的基础知识。其中除了化学反应工程要在下面较详细的介绍以外(结合生物化学反应工程),化学工程还包括下面几个重要的内容。

(1) 流体的输送及混合。其核心问题是流体之间动量的传递、机械能的转化。

(2) 热量的传递。对于生物反应器要考虑发酵热的传出以及发酵罐温度的控制。所用的手段多采用间壁的传热。其传热量大小决定于冷热两流体的温度差及其接触面积的大小。

(3) 物质的传递。在生物反应器内进行着各种物质传递过程,如细胞内外物质的交换、营养物到细胞的传递、氧从气泡到细胞的传递、二氧化碳从细胞到气泡的传出。这些传递过程的强度主要由浓度差以及扩散(传递)的面积决定。



对生物反应器进行定量研究的基础是生物反应动力学。

## 第二节 细胞生长及代谢过程动力学

### 一、细胞生长的特点、描述方法的分类

动力学研究的目的是要定量地描述过程的速率以及影响过程速率的诸因素。生物过程动力学研究的主要问题是生物反应的速率,特别是细胞生长的速率、各种基质组分消耗的速率、代谢产物的生成速率。

(1) **反应速率** 单位时间物质浓度的变化量。如细胞的生长速率可表示为  $dx/dt$ , 其中  $x$  为细胞浓度(g/L),  $t$  为时间(h); 代谢产物的生成速率为  $dp/dt$ , 基质的消耗速率为  $-ds/dt$ , 其中  $p$  及  $s$  分别为产物和基质(碳源、氮源等)的浓度。

(2) **得率系数** 两种物质得失之间的计量比。如菌体生成量(生物量)对基质消耗量的得率系数  $Y_{x/s} = -dx/ds$ , 而产物生成量对基质消耗量的得率系数  $Y_{p/s}$  为  $-dp/ds$ ; ……。特别值得一提的有两点: 一是上面定义式给的是微分量的关系, 即得率系数可能随着生物培养进程有变化, 其原因主要是代谢途径有所变化。对于较简单的过程有时得率系数随时间变化不大, 也可以把得率系数表示为变化总量之间的关系, 如  $Y_{x/s} = -\Delta x/\Delta s$ ; 第二点是在分析代谢过程时常用一个特殊的得率系数——呼吸商, 它是释放出二氧化碳的摩尔数与消耗氧的摩尔数之比。

(3) **比速率** 是单位质量的菌体单位时间引起某物质浓度的变化量。如菌体的比生长速率  $\mu = \frac{1}{x} \frac{dx}{dt}$ , 基质的比消耗速率  $q_s = -\frac{1}{x} \frac{ds}{dt}$ , 产物的比生成速率  $q_p = \frac{1}{x} \frac{dp}{dt}$ 。在作动力学分析时比速率的概念是很重要的, 它表示菌体活力的大小, 能力的大小。

(4) **理想流动与非理想流动** 前已说过动力学讨论的是生物反应速率与各环境因素之间的关系, 在研究中我们希望确切知道在生物反应器内各点环境因素的值。但实际生物反应器尤其是较大的生物反应器由于混合、传热等需要时间, 其内部往往不是均一的, 给研究造成困难, 也给反应器的放大造成困难。在研究小型反应器时根据其流动特点分为两种理想流动模式: 一是全混式, 即反应器内各点浓度及其它条件均一; 二是活塞流式, 即反应器内物质沿一定方向流动, 完全没有反向混合。讨论反应动力学时常常假定生物反应是在全混的状态下进行的。而实际反应装置因其流动特点常常介于上述两种理想流动之间, 讨论及计算比较复杂。

生物反应过程的核心问题是细胞的生长。

细胞的生长(繁殖)、代谢是一个复杂的生物化学过程, 既包括有各种细胞内的生化反应、胞内与胞外的物质交换, 也包含有胞外的物质传递及生化反应。与一般化学工程不同, 这个反应体系的特点是多相、多组分、非线性的体系。多相指的是体系内常含有气相、液相以及菌体(固)相, 而各相状态及物理性质不同, 相内的反应及传递各有特点, 相间还有复杂的相互作用。多组分反映的是在培养液内有各种营养成分, 也有代谢排出的各种产物, 在胞内更有具有不同生理功能的大、中、小分子化合物。非线性指的是细胞的代谢过程通常不能用线性方程或方程组来描述, 即使简化模型中的参数也常具有时变性。

除了上述特点以外, 细胞的培养和代谢还是一个复杂的群体的生命活动, 通常每毫升培养液中含  $10^4 \sim 10^8$  个细胞, 而且象任何有生命的东西一样, 细胞都经历着新生、成长、成熟直至衰老的过程, 在其生命的循环中也存在着退化与变异的问题。