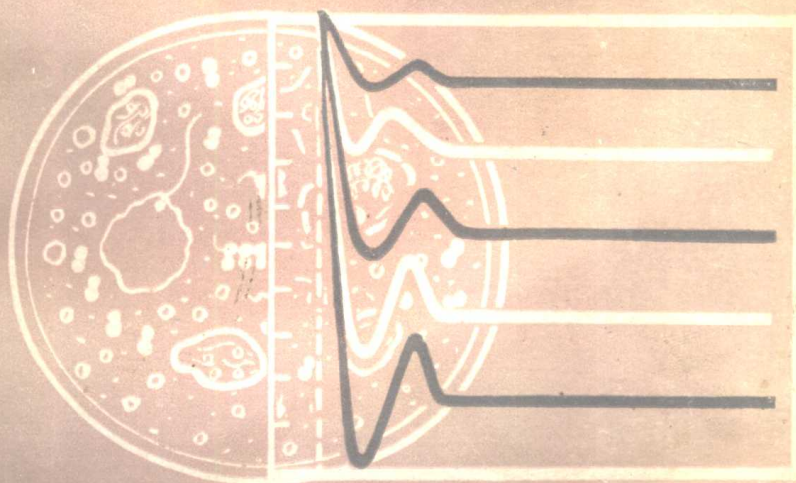


SHENG WU HUA XUE

GONG CHENG

生物化学工程

—反应动力学



〔日〕合葉修一 永井史郎 著

化学工业出版社

生物化学工程

——反应动力学

〔日〕合葉修一 著
永井史郎

胡章助 方常福 吴维江 等译
顾璆 程连芳 校

化学工业出版社

合葉修一 永井史郎
生物化学工学
——**反应速度论**——

科学技术社（日本 金沢市，
昭和50年10月）

生物化学工程
——**反应动力学**

胡章助 方常福 吴维江 等译

顾璆 程连芳 校

责任编辑：张智德

封面设计：季玉芳

*

化学工业出版社出版

（北京和平里七区十六号楼）

化学工业出版社印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

*

开本 $787 \times 1092^{1/32}$ 印张 $10^{5/8}$ 字数242千字印数1—5,400

1984年6月北京第1版1984年6月北京第1次印刷

统一书号15063·3587定价1.10元

内 容 提 要

本书对生物化学工程的基本问题之一——生化反应动力学，从定量的角度作了详细阐述。为便于缺乏工业微生物或生物化学知识的读者阅读本书，在第一章中扼要介绍了微生物反应的基础知识。书中附有不少例题，可帮助读者进一步掌握动力学的理论计算。

本书可供生化工程及微生物工程专业的高等学校师生和发酵工业的技术人员参考；也可供从事食品生产、微生物制药、环境保护和饲料生产等方面工作的科研、设计、生产人员参考。

译 序

如果从1954年黑斯廷斯 (J. J. H. Hastings) 第一次提到生化工程需要处理的十个方面的问题 (即: 深层培养、空气供给及分布方法、大量空气的灭菌、搅拌、结构材料、压力容器、冷却方式、设备和培养基的灭菌、过滤以及由于新的工艺过程所引起的特殊公害和卫生问题) 算起, 已经过去近三十年。这些年来, 生化工程的内容无论在深度或广度上都有了很大的变化。例如, 发酵设备的通气和搅拌, 发酵设备的放大和缩小。以及发酵设备设计和无菌技术等, 在理论和实践上都已经大大地向前推进了。控制培养环境的检测仪表的进展是和新的传感器不断被研制出来分不开的。偶联电子计算机的中试规模的发酵罐在美国、日本等国已有商品出售。而微生物反应动力学和连续 (包括半连续) 培养的理论也已经成为生化工程的重要内容。

生化工程是微生物和生化反应工艺过程发展到一定阶段的产物, 而生化工程的建立和发展也必将推动原有工艺过程的改进和新的工艺过程的开发。生化工程的任务, 简言之就是处理与生物学有关的工艺过程中的工程技术问题。青霉素发酵技术的研制成功, 在生化工程发展史上有着特殊的意义, 其成果就是在通气和搅拌的深层培养罐中进行纯种培养的技术。这一技术稍经修改即可广泛应用于其它抗菌素、氨基酸、甾族化合物和酶的生产。目前, 生化工程应用的领域日益扩大, 除了应用于有机酸、溶剂、多聚物、抗生素、维生素和甾族化合物等的生产以外, 在微生物蛋白制造、废水生化处理、酶的生产以及

超滤和酶的固定化等方面的应用都有着巨大的潜力。而发酵设备和工业规模灭菌技术的改进和提高，仍然是重要的课题。尽管目前由于缺乏某些关键性的传感器和能确切描述发酵过程的动力学模型，限制了电子计算机的应用，但可以肯定，使用电子计算机来进行数据处理和过程控制，自动调节包括主要营养成分、细胞体和代谢产物在内的物理和化学的环境因素已不是很遥远的事情了。

合叶修一教授是生化工程学界的知名学者，也是生化工程的开拓者之一。他多年来执教于日本东京大学和大阪大学。1980年春曾应邀到上海华东化工学院讲学，开设生化工程讲座。目前，国外从生化工程角度介绍微生物反应动力学的专著尚不多见，而本书则系根据合叶修一等人合著的“生化工程，第二版”（Biochemical Engineering, 2nd Edition, 1973年）一书中第2~5章内容，加以改编补充而写成的。本书篇幅不大，但取材丰富，言简意赅，特别是附有大量插图、例题和练习等，对于学习理解助益颇多。

本书的序及第一章由华北药厂吴维江同志译出，第二、三章由华东化工学院顾璆、胡章助同志译出，第四章由沈阳药学院方常福同志译出。顾璆同志和我还校阅了全书。对原书中的个别错误，在译校过程中已予以改正。此译本如能起到使国内的同行有所借鉴的作用，则我们译校者就算为读者尽了自己的职责。最后，衷心希望读者对译本提出批评指正意见。

程连芳 于华北药厂

序

在探讨用微生物（生物催化剂）进行某种物质的工业生产时，大体上有两种研究形式：一种是在各种酶水平上掌握微生物细胞内（外）的生物化学反应，例如，用大量摇瓶在实验室里考察限制反应速率的步骤和最适宜的培养方法，这可以认为是一种小规模的研究形式；另一种是大规模的研究形式，利用小型和中型反应器（培养罐）进行培养试验，并进一步在工业规模上研究生产物的分离和精制方法，以确定在细胞水平上的综合的最适宜培养条件。

一般化学工业上的放大，可以说仅需对其放大原理给予充分的研究就够了。而在应用微生物的放大方面，则需要由小试放大到中试逐步进行探讨，这是生物化学工程的一个基本特征。例如，从摇瓶试验到各种规模的反应器试验，即使培养液的成分、温度、pH等各种条件完全相同，尽管微生物的活性及其培养过程与各个装置间有着必要的相互关联，但是一般说来还有困难，也就是说，小规模与大规模研究的衔接问题仍未获得解决。

生物化学工程研究的基本问题，就是要对生化反应做定量的和动力学方面的考察，故此研究生化工程反应动力学至为重要。以前，对于小规模研究，仅限于一般性剖析，并没有进行综合性研究。另外在大规模研究方面，往往把重点放在无菌操作、通气搅拌等过程中的物理现象的解析和设备的开发上，而对于微生物反应的本质则研究得很不够。

当然，代表微生物反应的生化反应通常是极其复杂的，而且由于环境的影响，各种酶要受到诱导或抑制，加上微生物本身的变异，如果从生物化学角度对基本反应过程分析得越深入，则越难于对这些基本反应过程进行综合研究。这也可以说是需对生物反应进行综合性考察的一个根据。

总之，作者拟以“生化工程”第二版（Biochemical Engineering, 2nd Edition, 东京大学出版社, 1973年）的第2~5章（微生物的生物化学，反应动力学等等）为基础，再补充一些例题和实际练习，对生物化学工程的基本课题——反应动力学进一步从定量的角度加以详细说明。

近年来，由于对工业废水的处理标准要求更加严格，加上世界人口的急速增加而导致食品不足所带来的威胁，因此以研究生物氧化处理污水、废水的各种方法和制造微生物蛋白的发酵工业等，引起了化工技术人员的广泛重视。因此，本书从反应动力学角度，对活性污泥法和微生物蛋白也作简要介绍。

本书可供发酵工业及有关专业技术人员和研究人员参考，为了照顾缺乏工业微生物或生物化学知识的读者的需要，在第一章叙述了微生物反应的基础。对于在各章中出现的主要术语均以日英对照的形式收于书末，正文中尽量避免英文的出现。

对于本书的意图和内容，尤其是在说明方面，疏漏或重复的现象在所难免，恳请读者给予批评，以便今后补正。

在本书出版过程中，承蒙科学技术社的西十郎、孝雄二位的大力支持，在此表示感谢。

合叶修一
永井史郎
1975年1月

目 录

第 1 章 微生物反应的基础	1
1.1 分类和细胞构造	1
1.1.1 高等原生生物	2
1.1.2 低等原生生物	4
1.1.3 病毒和噬菌体	5
1.2 细胞的化学和代谢	6
1.2.1 高分子物质	6
1.2.2 微生物的培养	10
1.2.3 细胞合成	11
1.2.4 ATP	13
1.2.5 氧化、还原和辅酶	15
1.2.6 辅酶 A(CoA)	16
1.2.7 维生素和辅酶	18
1.2.8 ATP的生成(厌氧)——底物水平磷酸化	18
1.2.9 ATP的生成(需氧)——氧化磷酸化	20
1.2.10 能量效率	23
1.3 遗传信息——传递和调节	24
1.3.1 DNA	25
1.3.2 RNA	25
1.3.3 遗传信息的传递	27
1.3.4 蛋白质(酶)的合成	28
1.3.5 细胞内反应的调节	30
参考文献	36
第 2 章 微生物反应(能量论)	37

2.1	平衡热力学和生物体反应	37
2.1.1	能量守恒定律 (第一定律)	37
2.1.2	熵	39
2.1.3	自由能	40
2.1.4	标准自由能变化	41
2.1.5	标准自由能变化和生物反应	48
2.1.6	生长自由能效率	52
2.1.7	ΔG° 和 ΔG	55
2.2	生长得率	57
2.2.1	$Y_{X/S}$	57
2.2.2	Y_{kcal}	60
2.2.3	Y_{ATP}	71
2.2.4	能量偶联型生长的 Y_{ATP}	74
2.2.5	能量非偶联型生长的 Y_{ATP}	81
2.2.6	需氧培养的 $Y_{X/S}$ 、 Y_{kcal} 、 $Y_{X/O}$ 和 Y_{ATP}	86
2.3	能量代谢	91
2.3.1	物料衡算	91
2.3.2	ATP的生成	94
2.3.3	单一碳源与呼吸	100
2.3.4	单一碳源和复合碳源与产物	106
2.3.5	能量非偶联型	114
2.3.6	能量代谢的特性值	118
	使用符号	121
	参考文献	123
第3章	酶反应速度和微生物生长反应模型	127
3.1	反应速度	127
3.1.1	封闭系统反应	127
3.1.2	开放系统反应	131
3.2	酶反应速度	134
3.2.1	单底物的基本反应速度	134

3.2.2	竞争性抑制	136
3.2.3	非竞争性抑制	139
3.2.4	双底物反应	142
3.2.5	相继反应	144
3.2.6	绝对反应速度	148
3.3	生长反应速度	152
3.3.1	分批培养	152
3.3.2	连续培养	165
3.3.3	稳定状态的判断	170
3.3.4	稳定状态与微生物的生理活性	172
3.3.5	单罐连续培养的实践	173
3.3.6	生长反应模型	180
3.3.7	生长抑制的反应模型	185
3.4	生长的动特性	198
3.4.1	微生物反应的振动	199
3.4.2	过渡响应及其解析示例	204
	使用符号	216
	参考文献	219
第4章	微生物反应的应用——发酵生产和废水处理	224
4.1	发酵生产的反应速度	224
4.1.1	乙醇和乳酸	225
4.1.2	醋酸	229
4.1.3	葡萄糖酸	231
4.1.4	谷氨酸	234
4.1.5	水杨酸	238
4.1.6	α -半乳糖苷酶	240
4.1.7	金霉素	245
4.1.8	微生物蛋白	251
4.2	生物氧化法处理废水	258
4.2.1	活性污泥法概述	259

4.2.2	操作因素	261
4.2.3	曝气池和最终沉淀池中的物料平衡	265
4.2.4	有机物的除去速度	269
4.2.5	耗氧速度	271
4.2.6	剩余污泥的生成	274
4.2.7	絮凝物的沉降速度和溢流水质	287
4.2.8	在处理工业废水方面的应用	292
4.2.9	有机物的去除、耗氧反应的模型(补遗)	298
4.3	溶解氧浓度和呼吸速度	301
4.3.1	呼吸反应的动力学	301
4.3.2	k_{La} 和呼吸速度	307
4.3.3	溶解氧浓度和细胞色素的生成	311
4.3.4	微生物反应的控制	315
	使用符号	319
	参考文献	323

第1章 微生物反应的基础

1.1 分类和细胞构造^[1,7]

微生物种类繁多，它通过分解利用自然界中动植物的残骸、排泄物等而生存，对自然界起着净化作用。一方面由于各种酿造食品（酒、酱油、醋等）、医药食品（氨基酸、有机酸、核酸、维生素、抗生素等）的生产，同时也由于最近用活性污泥法处理工业废水的需要，正迫切要求微生物能够发挥出更大的潜力。另外由于微生物细胞含有50~60%的蛋白质，能够利用各种有机物（碳水化合物、醇、有机酸、烃等）作为生长的营养源，故可以利用烃类等作为能源生产微生物蛋白，因此，预期应用微生物的工业今后会有更大的发展。当然也有一些致病菌给人类带来许多害处。有关微生物的形状及其生物学特性比较复杂，已有不少专著做过论述，在此仅对微生物的种类及其异同点作一概述。

生物包括细菌、酵母、蓝藻、原生动物等单细胞生物以及形形色色的植物和动物。这些生物的形态构造及其功能有很大差异，但也有下列共同之处。

1. 以细胞为构造单位，其数目随时间的增加而增加（生长）。
2. 构成细胞的物质大体相同。
3. 细胞内的化学反应（代谢）基本相同。
4. 适应（adaptation）能力较强，能随环境变化而自行

调节。

由上述观点可见，原来单一的生物是在逐渐适应各种环境

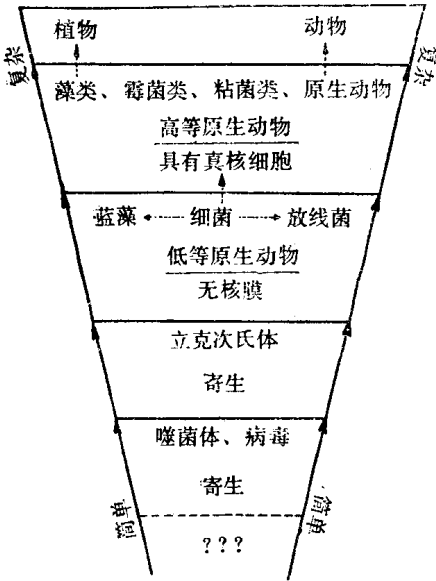


图 1-1 生物的分类(1,2)

大概尺寸(微米); RNA噬菌体: 0.02×0.02 ; 烟草花叶病毒: 0.02×0.3 ;
立克次氏体: 0.5×0.5 ; 细菌(大肠杆菌): 1×2 ; 面包酵母: 5×8 ;
小球藻: 5×5 ; 草履虫: 40×200

变化的过程中不断进化至今的。而且由于这个进化过程中的种种差异，才生成了高等动、植物等种类繁多的新物种。图1-1归纳了生物的构造和机能由简单到复杂的演变过程。

1.1.1 高等原生生物

除动植物以外，从最简单的病毒到藻类、原生动物一般均属于微生物。但是象小球藻、海藻等藻类也可属于低等植物。象草履虫、绿虫等原生动物也可归属于低等动物。真菌的长度不一，最短的只有几个

毫米，最长的可达2米，它包括能在食物(面包、水果等)表面上繁殖的青霉菌和酿酒用的麴霉等。工业上常用这类菌生产柠檬酸、葡糖酸等有机酸和青霉素等抗生素以及许多水解酶类。此外利用葡萄糖生产乙醇的酵母菌和松茸、香茸等蘑菇类也都属于真菌类。

下面以酵母菌为例介绍高等原生生物的构造特征(图1-2)。

特征：酵母菌的线粒体、液泡(vacuole)、核等器官被膜

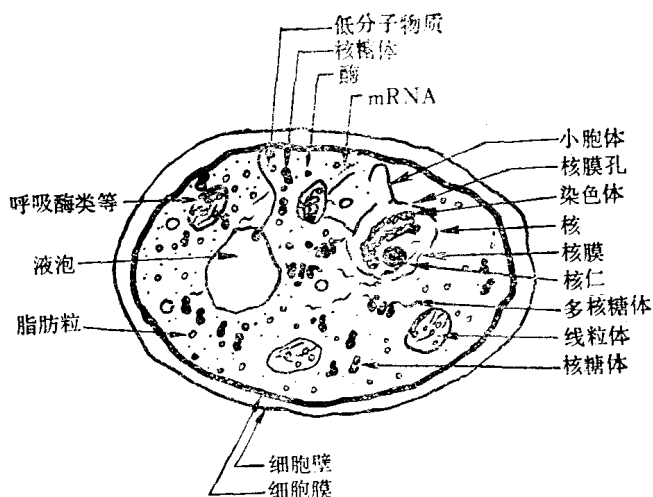


图 1-2 酵母菌的构造模型⁽⁷⁾

所包围，它们具有独立的机能，而细菌则没有这样的独立器官。藻类则有叶绿体，它相当于酵母菌的线粒体。

关于图1-2中各部分的性质简单说明如下。

细胞壁 起着保护细胞内含物的作用，酵母细胞壁的主要成分是含有脂类的葡甘露聚糖蛋白质。而小球藻的细胞壁大多主要由纤维素-蛋白质-脂类的复合物所构成。

细胞膜 是一种半透膜，具有能选择性地透过各种营养物质和某些代谢产物的机能。

核 核被核膜所包围，通过核膜孔，核内、外物质得以流动沟通。核内的主要物质是核仁，还含有核糖核酸、蛋白质以及作为基因主体的染色体（脱氧核糖核酸DNA）。

线粒体 是一个独立器官，随着细胞生长而增大。这是高等原生生物的特征，含有与呼吸反应有关的各种物质，能生成三磷酸腺苷（ATP）高能物质。而小球藻则靠本身的叶绿体

通过光合作用将光能转化为化学能。

1.1.2 低等原生生物

细菌的种类很多，根据其摄取营养的方式，大致可分为：能利用无机物氧化还原时所释放的化学能来固定二氧化碳，以维持生长的自养菌(autotrophism) 以及利用葡萄糖等有机物获得能量的异养菌 (heterotrophism)(参见2.1.6)。

这些细菌都有较高的实用价值，例如利用自养菌进行细菌浸矿 (bacterial leaching)，通过氧化作用，可以把矿石中的有用金属分离出来。另外，利用氢气作能源固定二氧化碳生产食用微生物蛋白，也很有前途。至于异养菌的应用，则历史更早，而且范围也广，如作为乳酸饮料用的乳酸、其它有机酸和谷氨酸等氨基酸，以及最近利用甲醇作为碳源进行微生物蛋白的生产等，都是异养菌的应用实例。

放线菌广泛用于生产链霉素等许多抗生素。在分类学上，放线菌与细菌极为相似，而从其菌丝繁殖方式来看则又和霉菌非常类似。

图1-3是细菌的构造模式图。现将其与高等原生生物的不同点比较说明如下。

a. 高等原生生物的细胞核和线粒体被膜包围着，但如细菌等低等原生生物则没有明确的膜，而在细胞膜的周围布满了呼吸链有关的酶类，起着线粒体的作用。

b. 遗传信息传递物质DNA，呈长环状。图1-3表示出随着细胞的生长正在合成DNA双链（复制，参见图1-14）。

c. 蓝藻等体形较大，但也有类似放线菌呈丝状生长的。革兰氏阳性菌的细胞壁由乙酰胞壁酰肽、磷壁（酸）质和多糖物质构成；革兰氏阴性菌的细胞壁由蛋白质-多糖质-磷脂类和少量的胞壁聚合物组成⁽⁷⁾。

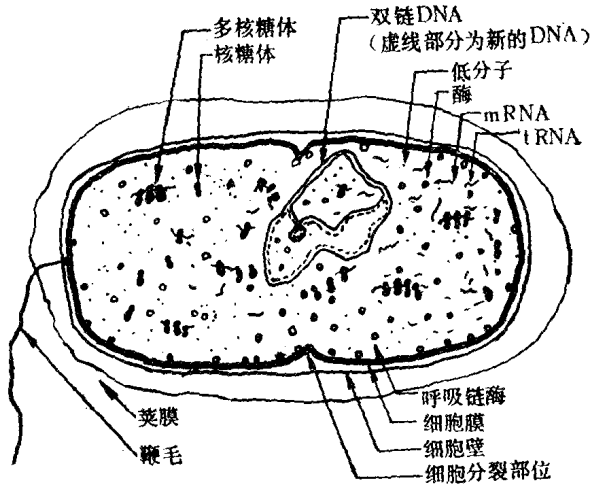


图 1-3 细菌的构造模式图⁽⁵⁾

1.1.3 病毒和噬菌体

病毒和噬菌体既属生物、也属非生物，它们是专性活细胞寄生的大分子微生物。一般说来，寄生在动植物体上的叫病毒，寄生在细菌体上的叫细菌噬菌体，寄生在放线菌体上的叫噬放线菌体。像狂犬病、流感等都是有名的病原性病毒。在发酵生产过程中，污染噬菌体后，其宿主细菌或放线菌就会完全停止生长，故危害极大。噬菌体的主要特征有以下几点。

1. 由DNA和RNA及保护性蛋白质构成。
2. 不含水分而以专性寄生的方式生存。
3. 体型极小（见图1-1），以RNA噬菌体为例，一个被污染的大肠杆菌细胞内，要繁殖到 $10^3 \sim 10^4$ 个噬菌体以后，才能将细胞壁裂解并释放出自由的噬菌体。

引起斑疹伤寒、恙虫病的立克次体是寄生在虱子、壁虱上