

〔日〕山根恒夫著 苏尔馥 胡章助译 顾璆校



生物 反应工程

上海科学技术出版社

生物反应工学
山根恒夫 著
産業図書株式会社・1982

责任编辑 金锦美

生物反应工程

[日]山根恒夫 著

苏尔馥 胡章助 译

顾 璆 校

上海科学技术出版社出版

(上海瑞金二路450号)

新华书店上海发行所发行 常熟市文化印刷厂印刷

开本 787×1092 1/32 印张 12.75 字数 271,000

1989年6月第1版 1989年6月第1次印刷

印数: 1—2900

ISBN 7-5323-0874-X/Q·19

定价: 6.80 元

序 言

目前,生物化学或生物学现象中起主要作用的大规模反应过程的类型和范围正在迅速增加,但大致可分为酶反应过程、微生物反应过程和废水生物处理过程三大类。

生物反应工程学是以速度概念为基础,研究上述这些反应过程的合理(最佳)设计、操作和控制为主要目的的工程学,是生物化学工程(由生物反应工程学、灭菌工程学和基因工程学等组成)的一个分支。生物反应工程学是一门必须应用反应动力学、传递现象论、设备工程学、动态学、最优化等,以及化学工程手段。同时还必须具备生物化学、微生物学和水质环境科学等有关领域知识的边缘学科。

本书企图既突出上述三个过程各自的独立性,又进行相互比较,并抽出上述化学工程各种方法的相同和类似处,进行有机结合地整理和综合成生物反应工程学的一种学科。

本书是青年读者(大学2~4年级程度)的入门书。然而,从学科的性质和读者对象来看,作为反应工程学大都是属于常识性的应用酶学和应用微生物学的内容的叙述。

本书若能引起青年们对这个领域的注意和更大的兴趣,那将是很荣幸的。科技工作者若采用本书的生物化学或生物学方面内容进行新过程的开发和技术革新的话,将使著者更为高兴。

山根恒夫

1979年9月

译 者 的 话

本书是一本取材较新的生物反应工程参考书,内容丰富,写得深入浅出,循序渐进,符合认识规律,利于自学。

本书分酶反应过程、微生物反应过程和废水生物处理过程三大部分,共十八章。第一部分共五章,讨论游离酶和固定化酶的基本特性、反应动力学和酶反应器等。第二部分共八章,主要叙述微生物反应过程的特性、计算、动力学、分批、半分批和连续操作、物质传递、微生物反应动态学和微生物反应器等。第三部分叙述、讨论有关废水生物性质、计量和反应动力学、酶的传递、废水生物处理装置等。这三大部分内容的阐述既保持独立性,又相互联系,前后呼应。书中附有不少插图,可帮助读者学习和理解。

本书可供生化工程、酶工程、微生物工程和环境工程专业的高等学校师生和技术人员参考。

本书的序言、一至五章、十二、十三、十七、十八章以及“本书构成和使用符号”、“关于使用符号说明”、“使用符号表”等部分,由苏尔馥翻译;六至十一章、十四至十六章以及后记部分,由胡章助翻译;顾璆校订全书。对原著中的个别错误,在译校过程中已予订正。

在翻译过程中,译者力求文字通顺,符合原意。但限于水平,缺点和错误在所难免,敬请读者批评指正。

译 者

1987年9月

本书结构和使用的符号

本书由酶反应过程、微生物反应过程和废水生物处理过程三部分组成。本书力求既保持这三部分内容的独立性，从中尽量抽出共同的概念，进行有机地结合。各章(不包括节)的项目对应地列于下表。

过 程 项 目	酶 反 应	微 生 物 反 应	废 水 生 物 处 理
特 性	1.1	2.1	3.1
计 量		2.2	3.2, 3.3
反应动力学	1.2	2.3~2.5	
物质传递	1.3	2.6	
反 应 器 (生物反应器)	1.4	2.7	3.4
动 态 学	1.5	2.8	3.5

各部分各自独立,且都设了章,以保持各部分内容体系的连贯性。如沿着上表纵向读出各章,则可发现三个过程大致都相同。如读出上表横向的同一项目,则可发现三个过程的相同处并突出各自的特点。

用上述方法整理三个过程时,必须密切注意所使用的符号。由于这三个领域和反应工程学各有自己的发展历史,直到现在,各个领域都养成使用各自的独特符号的习惯。如仍

旧沿用各领域惯用符号,就难以提出相同的概念,缺乏统一性。如果舍去各领域惯用符号,完全采用新的符号体系,这样显然不方便阅读。因此,本书仍使用一些惯用符号。我们认为,为要达到统一性,而不得不舍去惯用符号,这对生物工程学将是不恰当的。关于本书所用的符号归纳为说明和使用符号表,收集在书末。从这个说明表可知,本书所使用的符号是惯用的和统一的符号折中产物。当然这决不是最妥当的。请读者批评和指正。对通读本书的读者,希望先读“关于使用符号说明,记住本书所用符号的一般规则。

目 录

本书结构和使用的符号	1
------------------	---

I. 酶 反 应 过 程

1.1 特性	2
1.1-1 酶的分类和命名法	3
1.1-2 酶的特性	5
1.1-3 固定化酶的特性	12
1.1-4 酶反应的特征	17
1.2 均相酶反应动力学	20
1.2-1 单底物反应	22
1.2-2 多底物反应	42
1.2-3 失活动力学	46
1.3 固定化酶反应动力学	50
1.3-1 单个固定化酶颗粒的总反应速度	50
1.3-2 固定化时实际的酶活性回收率	75
1.3-3 固定化酶的失活动力学	77
1.3-4 pH 的影响	80
1.4 酶反应器	84
1.4-1 酶反应器及其反应操作	84
1.4-2 均相酶反应器	90
1.4-3 固定化酶反应器	95
1.5 酶反应动态学	110

II. 微生物反应过程

2.1 特性	120
2.1-1 微生物分类及命名	120
2.1-2 微生物的特性	125
2.1-3 微生物与环境	130
2.1-4 微生物反应的特征	141
2.2 微生物反应的计量	146
2.2-1 菌体得率	148
2.2-2 微生物反应热	153
2.2-3 代谢的物料平衡	156
2.3 微生物反应的动力学	162
2.3-1 生长速度	162
2.3-2 底物消耗速度	173
2.3-3 代谢产物生成速度	175
2.4 分批及半分批操作	180
2.4-1 分批式微生物反应	181
2.4-2 分批式微生物反应的最优化	193
2.4-3 半分批操作及进行溶质分离的分批操作	197
2.5 连续操作	204
2.5-1 OSTR 式连续操作	205
2.5-2 PFR 式连续操作	214
2.5-3 固定化生长微生物反应的连续操作	216
2.6 物质传递	218
2.6-1 微生物的氧消耗速度与氧的需求	219
2.6-2 气体吸收	226
2.6-3 微生物反应体系中的氧传递	237

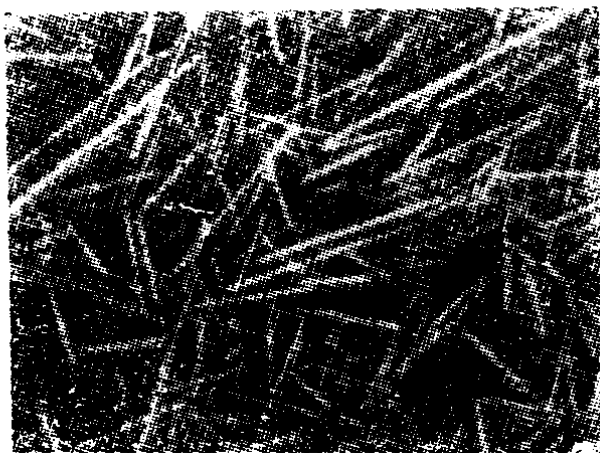
2.6-4 絮凝物及菌团的物质传递	240
2.7 微生物反应器	244
2.7-1 通气搅拌罐	244
2.7-2 气泡塔	250
2.7-3 流化床	255
2.7-4 填充塔	258
2.7-5 测量和控制	259
2.8 微生物反应动力学	261
2.8-1 恒化器的启动	264
2.8-2 稳定状态的稳定性	266
2.8-3 对环境大变动的过渡响应	274

III. 废水生物处理过程

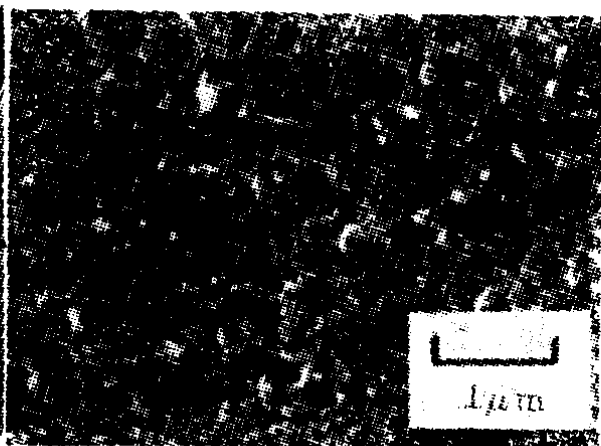
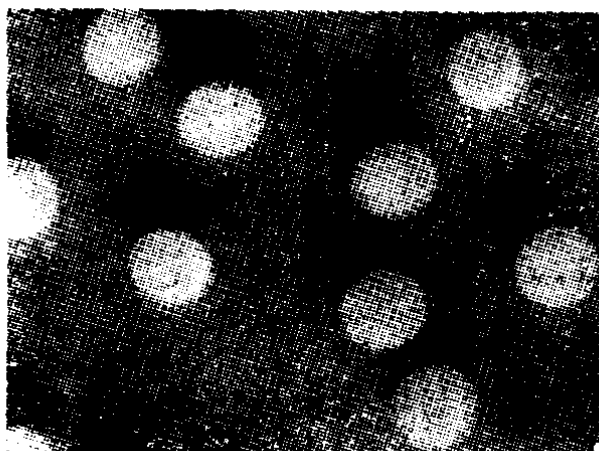
3.1 特性	281
3.1-1 废水的特性	281
3.1-2 废水微生物的特性	292
3.1-3 生物废水处理法的特征	299
3.2 计量及反应动力学	300
3.2-1 需氧生物废水处理过程	302
3.2-2 厌氧过程	325
3.3 氧的传递	335
3.3-1 悬浮微生物絮凝物体系	335
3.3-2 固定微生物薄膜体系	339
3.4 废水生物处理装置	343
3.4-1 活性污泥法	346
3.4-2 洒水滤床法	357
3.4-3 转盘法	359

3.4-4 厌气消化法.....	363
3.5 动态学.....	366
3.5-1 混合培养体系的动态学.....	366
3.5-2 生物废水处理装置内的动态学.....	374
结束语	382
关于使用符号说明	385
符号表	386

1. 酶反应过程



细菌 α -淀粉酶的晶体 (承ナガヤ生物化学工业株式会社提供)。酶的本质是蛋白质, 如进行深度加工, 能分离出纯粹的晶体。但用作工业催化剂, 不必使用纯度这样高的酶。



用 κ -角叉菜胶制备固定化酶凝胶。 κ -角叉菜胶是海产红藻 *Chondrus crispus* (通称 Irish moss) 的提取物, 我们发现这种红藻提取物凝胶对酶和微生物的固定化效果很好, 固定后可制成各种形状使用。左图为珠状物 (直径约 3 毫米) (承田辺制药株式会社、应用生物化学研究所提供)。右图是 2% κ -角叉菜胶凝胶的电子显微镜照片 (承東京农业大学澤山 茂博士提供)。我们可清晰地看到它是种有无数小孔的海绵状制品。如将珠状凝胶充填塔内, 即为固定床反应器。

1.1 特 性

酶是生物为了提高其生化反应效率所产生的生物催化剂，其本质无例外的是蛋白质^①。几乎所有生物的生理现象都与酶作用紧密联系。故在生物化学中，酶的研究占重要地位。

酶的作用人类很早就知道了，如利用酶制作干酪等。但对其本质的研究则直到1897年才正式开始。Buchner兄弟用砂将酵母磨碎、过滤得到滤液；尽管滤液中不再含有活的细胞，却发现它具有把糖发酵转变为乙醇和二氧化碳的能力。以后才证明滤液之所以会使糖发生上述变化是因为滤液中有酶的缘故。希腊文中称酶为酵母的内含物，研究这个历史事实具有深远意义。进入二十世纪，酶大概是蛋白质就成为主要说法。1926年，J. B. Sumner以蛋白质结晶形式分离出尿酶，第一次确认了酶的本质。此后，又从各种生物体中分离得很多的酶。目前，酶已超过1,500种。其中被纯化成为结晶的酶已有几百种以上(参看第一页照片)。

地球上各种生物体内都存在着参与生化反应的酶。有些酶尽管催化同一生物化学反应，但由于它们来自不同种类的生物，因此，酶的结构和性质各异，且微生物的变异株往往产生与亲株在性质上不相同的酶。故目前我们所了解的酶是不

① 部分酶⁴是蛋白质和糖相结合的糖蛋白，或者脂质和蛋白质相结合的脂蛋白。

△ 原文为“一部の酵素”，应为“一部の酵素”。——译者注

够多的,需要进一步深入研究。

1.1-1 酶的分类和命名法

酶的种类不断在增多。为了避免研究或使用过程中的混淆和正确地互相交流,有必要采用国际通用的酶分类和命名的方法。

目前,最广泛应用的是 1964 年国际生化协会(IUB)所采用的 EC (酶学委员会 Enzyme Commission) 分类法。近年来,对这种分类法又作了部分修订和补充。这种分类法具有以下三个主要特征:

(1) 酶不是按结构和性质,而是根据它所能催化的反应种类进行分类。先将酶催化反应大致分为六大类,每一大类再细分为 4~13 亚类。

(2) 酶的名称由两部分组成。开头部分是底物(反应组分)的名称,后面部分表示催化反应的类型,再用-ase 结尾。例如,催化 L-天冬酰胺水解生成天冬氨酸和氨反应的酶,命名为 L-天冬酰胺氨基水解酶,习惯上称谓天冬酰胺酶。

(3) 各种酶的系列编号由四个数字构成(酶号码、EC 数)。第一个编号数字表示酶所属的分类号,第二、第三两个数字分别表示反应的细分类号,第四个数字是根据上面三个数字分类所表示的一类酶中通用的系列号码。如 3.1.1.3 表示第三大类(水解酶)、第一亚类(由酯键产生作用)、第一亚亚类(羧基酯水解),最后一个数字表示甘油酯水解酶(习惯名为脂肪酶),即将甘油三酯水解,生成脂肪酸和甘油二酯的酶。EC 分类法大致见表 1.1-1。

虽然这种分类命名法是正确的,但名称似乎长了一些,实际使用不很方便。另外一种就是习惯名称。因此,EC 命名法

表 1-1-1 酶的分类

大分类 序号	酶的名称	说 明	例(酶的编号)
1	氧化还原酶	生物氧化还原, 即参与呼吸和发酵反应的酶。包括以 NAD 或 NADH 作为辅酶的脱氢酶、其他的氧化酶、以 H_2O_2 为氧化剂的过氧化物酶、引入羟基的羟化酶、在底物的双键处引入分子氧的加氧酶	乙醇脱氢酶 [1.1.1.1] 葡萄糖氧化酶 [1.1.3.4] 过氧化氢酶 [1.11.1.6] 儿茶酚加氧酶 [1.13.1.1]
2	转移酶	催化一碳基(如甲基、甲酰基、羧基等)、醛基和酮基、烷基、含氮基、磷酸基和含硫基等转移反应的酶	丙酮酸激酶 [2.7.1.40] 肌酸激酶 [2.7.3.2]
3	水解酶	催化酯键、糖苷键、肽键等水解的酶	α -淀粉酶 [3.2.1.1] 果胶酶 [3.2.1.15] 糜蛋白酶 [3.4.21.1]
4	裂合酶	催化底物非水解性地脱去某些基团形成双键及其逆反应的酶。作用于 C—C、C—O、C—N、C—S 等键	草酰乙酸脱羧酶 [4.1.1.3] 延胡索酸水化酶 [4.2.1.2] 色氨酸酶 [4.1.99.1]
5	异构酶	催化消旋作用、差向异构化、顺反式转换、分子内氧化还原、分子内转换等反应	葡萄糖异构酶 [5.3.1.18] 类固醇 Δ -异构酶 [5.3.3.1]
6	合成酶	催化 ATP 等的焦磷酸基分解以及两个分子结合生成 C—O、C—S、C—N 和 C—C 等键的酶	乙酰辅酶A合成酶 [6.2.1.1] 谷胱甘肽合成酶 [6.3.2.3]

除前述的“系统命名”外,也允许使用比较方便的“习惯名称”。故我们对系统命名和习惯名称都应知道。除了两三个名词以外,习惯名称的结尾都称为酶(-ase)。

1.1-2 酶 的 特 性

酶的催化特性

酶是催化剂,它应具备一般催化剂的特性。即参与生物化学反应,加速反应速度,能承受变化过程中的物理变化,反应结束时酶本身并不消耗,恢复原来的状态。

热力学方面,催化剂具有降低反应活化能的特性。但它完全不能改变反应的平衡常数。换言之,不论有无催化剂参与,反应的平衡常数仅决定于反应的自由能,催化剂只是促进达到平衡。酶都具备这些特性。

酶作为催化剂的效率是指在最适条件下,一分子酶在单位时间内所能催化的最大底物分子数,称为分子活性。分子活性高,表示它所能催化的反应进行得很快。大多数酶的分子活性,每分钟约为 1,000,但个别情况下,也有达百万以上的。几种酶的分子活性列于表 1.1-2。

表 1.1-2 酶的分子活性

酶	反 应	分子活性 (0~37℃) [分子数·(位点) ⁻¹ ·s ⁻¹]
核糖核酸酶	多核苷酸的磷酸基转移	2~2×10 ³
胰蛋白酶	肽的水解	3×10 ⁻³ ~1×10 ²
木瓜蛋白酶	肽的水解	8×10 ⁻² ~1×10 ¹
菠萝蛋白酶	肽的水解	4×10 ⁻³ ~5×10 ⁻¹
碳酸酐酶	羧基化合物可逆的水合	8×10 ⁻¹ ~6×10 ⁵
反丁烯二酸水合酶	L-苹果酸 $\rightleftharpoons$ 反丁烯二酸+H ₂ O	1×10 ³ (正反应) 3×10 ³ (逆反应)

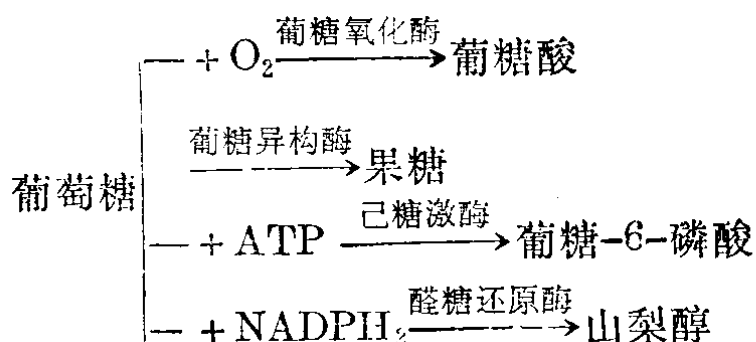
R. W. Maatman; Catal. Rev.8, 23(1973)。

酶在常温、常压、中性附近作为反应的催化剂，具有极高的效率，是可以理解的。

酶的专一性

酶的专一性显然是所有特性中最重要的特性。大多数酶只能催化结构非常相似的化合物进行特定的反应。个别情况下，酶只能催化特定化合物的特定反应。酶催化专一性是酶反应过程比一般化学反应过程要优越的理由之一。

酶只能催化某一化合物在热力学方面可能进行的许多反应中的一种反应。这就叫做酶作用的专一性。具有其他专一性的酶只能催化其他的反应。举例如下：



不同的酶，催化同一底物葡萄糖进行各自的反应，而不能催化其他的反应。除少数例外(容后叙述)，几乎所有的酶都具有这种专一性。

酶催化剂对底物的种类是有选择性的。参与某一定反应的化合物并非都能与某一种酶结合，这就称为底物专一性。如底物是个有光学异构体的化合物，则除了消旋酶和差向异构酶能催化光学异构体相互变换以外，一般说，酶几乎都显示绝对的立体异构专一性。例如，氨基酰化酶催化酰基-L-氨基酸水解，但不能催化酰基-D-氨基酸水解。当底物分子具有两个以上不对称碳原子时，酶的光学专一性有时仅涉及部分底物分子，有时也涉及整个底物分子。另外，某些酶只对特定的

化学键起作用,则称为族类专一性或基团专一性。例如,醇脱氢酶仅作用于伯醇;酯酶仅作用于酯键;胃蛋白酶仅作用于肽键。但 α -半乳糖苷酶、 β -半乳糖苷酶分别催化 α -半乳糖苷和 β -半乳糖苷水解。在上述范围内,它们能催化多数底物发生作用。族类专一性的程度随酶的种类不同而异。有些酶显示高度的族类专一性,如糜蛋白酶选择性地催化由苯丙氨酸和酪氨酸羧基所形成的肽键水解。

蛋白质的特性

酶的本质是蛋白质,具有蛋白质的特性。应用时必须经常记住这些特性,特别是变性。酶常因变性而降低活性,甚至失活。

从多肽键结构考虑,酶和氨基酸一样是个两性化合物,既能与酸、碱相结合,也具有蛋白质所特有的等电点(正负电荷相等、处于电中性、在电场中不移动时的pH值),此时其溶解度最小,酶浓度高时,就会沉淀。多数酶可溶于稀盐和稀醇水溶液,在浓盐溶液中它就沉淀出来,称为盐析。这一事实说明酶反应可在水溶液中进行,但也意味着有一定缺点。

变性多数是不可逆的,但也有可逆的。变性后的蛋白质不溶于水。变性的原因有物理的和化学的两种。物理的原因有热、压力、紫外线、X线、音波、振动和冻结等。化学的原因是添加了酸、碱、丙酮、乙醇、尿素、表面活性剂、重金属盐或氧化剂(包括空气中的氧)等化学试剂。不同相界面处的吸附作用也会引起变性。

1) 热(温度)——不同温度下测定酶反应速度(初速度),可得图1.1-1所示的曲线。反应速度达到最高值时的温度称为最适温度,超过这一温度,反应速度就急剧下降。这就是一般所谓酶蛋白热变性。由图1.1-1可知,即使在最适温度酶