

SPT 21世纪高等院校教材

生物工程类

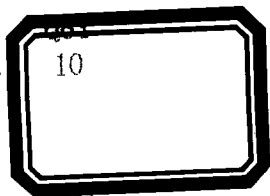
生物反应工程原理



www.sciencep.com

生物反应工程原理





21 世纪高等院校教材(生物工程类)

生物反应工程原理

(第二版)

贾士儒 编著

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书从酶促反应动力学、微生物反应动力学、微生物反应器的操作、动植物细胞培养动力学、生物反应器中的传质过程和生物反应器等几个方面,系统地介绍了生物反应工程的基本理论、基本规律、传递因素对生物反应过程的影响及生物反应器设计和操作的基本原理与方法,并对生物反应工程领域的一些新进展进行了简要介绍。书中还编有大量的例题和复习题。

本书既可作为高等院校生物工程、生物技术、制药工程、发酵工程、食品工程、环境工程等专业的教材,也可供从事生产、科研和设计等有关方面的工作人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

生物反应工程原理/贾士儒编著. —2版. 北京:科学出版社, 2003.1

21世纪高等院校教材(生物工程类)

ISBN 7-03-010799-3

I. 生… II. 贾… III. 生物工程:化学反应工程-高等学校-教材 IV. Q81

中国版本图书馆CIP数据核字(2002)第078493号

策划编辑:谢灵玲/文案编辑:吴寅泰 吴伶伶/责任校对:潘瑞琳
责任印制:刘士平/封面设计:槐寿明

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

1990年6月第 一 版	南开大学出版社出版
2003年1月第 二 版	开本:B5(720×1000)
2003年1月第一次印刷	印张:14 1/2
印数:1-4 000	字数:277 000

定价:22.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

前 言

生物技术是一门多学科、综合性的科学技术。虽然当今生物技术在高科技中还没有IT技术那样突出,但谁也否认不了它在高科技中所处的龙头地位。在解决资源危机、改善医药卫生与环境条件、保持社会与经济的持续性发展方面,生物技术具有无法替代的作用。

从狭义上讲,生物工业是生物技术领域中的重要分支之一,是以在受控条件下利用生命过程本身作为产品的生产和加工的手段,由此产生种类数以千万计的产品,形成新的现代工业。现代生物工业是当今世界举足轻重的工业领域之一。

随着生物技术的发展,传统的经验性生物过程已进入到对生物反应过程进行定量解析或理论分析时代。学习生物反应工程理论,不仅有助于理解现代生物工业,同时有助于对传统生物反应过程即发酵过程的变革,使传统的发酵艺术上升为生物科学。

本人编写的《生物反应工程原理》一书,于1990年由南开大学出版社出版,经过十余年的教学与科学研究实践,原书中的内容需要修改或补充。借再版之机,为便于认识生物反应工程的基础理论,从内容上增加了大量的例题和复习题。另外,以较大的篇幅介绍了生物反应工程领域的新成果,如质粒复制与表达的动力学、超临界相态下的生化反应、丝状真菌发酵过程中菌体形态变化、界面微生物生长模型和双液相生化反应进展等内容。

编写过程中,天津轻工业学院张恺瑞教授帮助修改了部分章节,研究生肖本益、牛瑞阳等同学绘制了有关图表,在此表示感谢。另外,本书编写过程中参考了同行、专家、学者的研究成果或著作,在此一并表示感谢。

由于本人水平有限,错误和不足之处在所难免,恳请读者予以批评指正。

编著者

2002年5月

目 录

前言

第一章 绪论	1
1.1 生物反应工程研究的目的	1
1.2 生物反应工程学科的形成与沿革	2
1.3 生物反应工程的研究内容与方法	3
1.3.1 生物反应动力学	4
1.3.2 生物反应器	4
1.3.3 生物反应过程的放大与缩小	5
复习题.....	6
参考文献.....	6
第二章 酶促反应动力学	7
2.1 酶促反应动力学的特点	7
2.1.1 酶的基本概念	7
2.1.2 酶的稳定性及应用特点	8
2.1.3 酶和细胞的固定化技术	9
2.1.4 酶促反应的特征.....	12
2.2 均相酶促反应动力学.....	12
2.2.1 酶促反应动力学基础.....	13
2.2.2 单底物酶促反应动力学.....	15
2.3 固定化酶促反应动力学.....	26
2.3.1 固定化酶促反应动力学基础.....	27
2.3.2 固定化酶促反应中的过程分析.....	29
2.4 酶的失活动力学.....	34
2.4.1 未反应时酶的热失活动力学.....	34
2.4.2 反应中酶的热失活动力学.....	36
复习题	38
参考文献	40
第三章 微生物反应动力学	42
3.1 基本概念.....	42

3.1.1 微生物的分类与命名	42
3.1.2 微生物的化学组成	43
3.1.3 生长特性	44
3.1.4 影响微生物反应的环境因素	45
3.1.5 微生物反应的特点	47
3.2 微生物反应过程的质量和能量衡算	47
3.2.1 微生物反应过程的质量衡算	47
3.2.2 微生物反应过程的得率系数	50
3.2.3 微生物反应中的能量衡算	54
3.3 微生物反应动力学	58
3.3.1 生长速率	59
3.3.2 生长的非结构模型	61
3.3.3 基质消耗动力学	64
3.3.4 代谢产物的生成动力学	67
复习题	68
参考文献	70
第四章 微生物反应器操作	72
4.1 微生物反应器操作基础	72
4.2 分批式操作	73
4.2.1 生长曲线	74
4.2.2 状态方程式	75
4.2.3 反复分批操作	78
4.3 流加操作	79
4.3.1 无反馈控制的流加操作	80
4.3.2 有反馈控制的流加操作	82
4.4 连续式操作	84
4.4.1 恒化器法连续操作	84
4.4.2 恒浊器法连续操作	94
4.4.3 固定化微生物反应器的连续操作	95
4.4.4 连续培养中的杂菌污染与菌种变异	95
复习题	96
参考文献	98
第五章 动植物细胞培养动力学	100
5.1 动植物细胞培养的特性	100
5.1.1 动物细胞培养的特性	100

5.1.2 植物细胞培养的特性	102
5.2 生长模型与培养条件	103
5.2.1 动植物细胞的生长模型	103
5.2.2 动植物细胞的培养操作	104
复习题	106
参考文献	107
第六章 生物反应器中的传质过程	108
6.1 生物反应体系的流变特性	108
6.1.1 流体的流变学特性	109
6.1.2 发酵液的流变学特性	109
6.2 生物反应器中的传递过程	111
6.2.1 氧传递理论概述	112
6.2.2 细胞膜内的传质过程	114
6.3 体积传质系数的测定及其影响因素	115
6.3.1 体积传质系数的测定	115
6.3.2 影响 k_{La} 的因素	118
6.4 发酵系统中的氧传递	126
6.4.1 氧传递的并联模型	127
6.4.2 发酵系统中的氧衡算——串联模型	128
6.4.3 菌丝团(菌丝球)中氧的传递模型	129
6.5 溶氧方程与溶氧速率的调节	130
6.5.1 溶氧方程	130
6.5.2 单位溶解氧功耗	131
6.5.3 溶氧速率的调节	131
复习题	132
参考文献	133
第七章 生物反应器	135
7.1 生物反应器设计基础	135
7.1.1 生物反应器设计的特点与生物学基础	135
7.1.2 生物反应器中的混合	137
7.1.3 生物反应器中的传热	138
7.2 酶反应器	139
7.2.1 酶反应器及其操作参数	139
7.2.2 理想的酶反应器	142
7.2.3 CSTR型与CPFR型反应器性能的比较	144

7.3	通风发酵设备	150
7.3.1	机械搅拌式发酵罐	150
7.3.2	气升式和鼓泡式反应器	159
7.3.3	自吸式反应器	163
7.3.4	通风固态发酵设备	163
7.4	嫌气发酵设备	164
7.4.1	乙醇发酵设备	164
7.4.2	啤酒发酵设备	165
7.4.3	嫌气连续发酵设备	166
7.5	植物和动物细胞培养反应器	166
7.5.1	植物细胞培养反应器	166
7.5.2	动物细胞培养反应器	167
7.5.3	微藻培养光合生物反应器	168
7.6	生物反应器的比拟放大	169
7.6.1	生物反应器放大的目的及方法	169
7.6.2	通风发酵罐的放大实例	170
	复习题	173
	参考文献	175
第八章	生物反应工程领域的拓展	176
8.1	质粒复制与表达的动力学	176
8.1.1	λ dv 质粒的概述	176
8.1.2	动力学模型的几点假设	177
8.1.3	质粒复制动力学	177
8.1.4	基因表达动力学	180
8.2	超临界相态下的生物反应	182
8.2.1	超临界二氧化碳的特点	182
8.2.2	SC-CO ₂ 中酶的催化反应	182
8.2.3	微生物在 SC-CO ₂ 中的活性变化	183
8.3	菌体形态在发酵过程中的变化	185
8.3.1	菌体形态的量化描述	185
8.3.2	操作参数与菌体形态的关系	187
8.4	界面微生物生长模型	189
8.4.1	界面的概念	189
8.4.2	界面与微生物	190
8.4.3	界面上丝状真菌的生长	191

8.4.4 界面微生物生长动力学模型	192
8.5 双液相生物反应进展	195
8.5.1 双液相酶促反应的进展	195
8.5.2 双液相发酵的进展	199
复习题	205
参考文献	206
附录	212
索引	215

第一章 绪 论

生物反应工程是一门以生物学、化学、工程学、计算机与信息技术等多学科为基础的交叉学科,它以生物反应动力学为基础,将传递过程原理、设备工程学、过程动态学及最优化原理等化学工程学方法与生物反应过程的反应特性方面的知识相结合,进行生物反应过程分析与开发,以及生物反应器的设计、操作和控制等。生物反应工程主要研究生物反应过程中带有共性的工程技术问题。因此,其在生物工业中起着举足轻重的作用。从学科分类看,生物反应工程是工业生物技术的核心。

1.1 生物反应工程研究的目的

生物反应过程与化学反应过程的本质区别在于有生物催化剂参与反应。由于生物催化剂的参与,生物反应过程具有一些自身的特性。例如,与化学反应相比,生物反应是在比较温和的(常温、常压、pH 接近中性等)条件下进行的。虽然生物反应过程与化学反应过程有本质的不同,但是对反应过程进行定量的、动力学方面的研究都是各自所要探讨的最基本的问题。

广义讲,自然界中的生物现象可以说是千变万化(如植物的生长、微生物的无处不在、酶促反应所起的关键作用等),这些变化中起主导作用的是生物催化反应,或者说是生物的生长、繁殖、形成产物、某种物质的减少或增加的过程。例如,微生物的生长繁殖,细胞个数增加,形态不断变化,这些可以用微生物的生长速率来描述。另外,无论是在种类上,还是在规模上,由于新的生物品种的不断发现,对生物反应机制的深入了解,生物反应的种类也在迅速增加,而且很复杂。例如,酶分子在催化反应中会受到反应液中某种成分的诱导或抑制;微生物细胞由于环境因素的影响而出现变异;某些微生物可以通过“气体通道”相互保持联系等。复杂的生物反应过程有时还难以进行综合研究。

狭义讲,生物反应工程是指将实验室的成果经放大而成为可供工业化生产的工艺过程,包括实现工业化生产过程的高效率运转。

一般生物反应过程的示意图如图 1-1 所示。从图 1-1 中可以看出,这一过程的核心就是利用生物催化剂进行生物技术产品的生产。

针对这一工艺过程,从应用微生物学家的观点看,其任务是确定专门用途的微生物品种、菌株及培养基的组成。生化工程学家的任务是设计一个经济上合理的过

程,包括:培养基配制与灭菌、无菌空气的制备、菌种的扩大培养、过程设计、反应器设计与控制、产品回收与分离(包括废水处理)等。这些操作的设计基础是建立在质量传递、热量传递、动量传递和生物反应动力学(即三传一反)的基础之上。生物反应过程研究的目的是提供适宜的动力学速率方程,以描述微生物(或酶、动植物等)反应体系,确定这些方程在设计方面的用途,规划实验室的实验,决定动力学方程所需的速率常数。从生物反应器的设计和操作看,有必要研究生物反应速率和与之相关影响因素之间的定量与定性的关系。

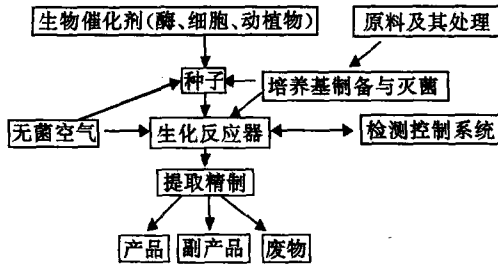


图 1-1 一般生物反应过程示意图

今天,遗传工程技术可成倍地提高产物(蛋白质或其他物质)的产率,但在工业生产中仍离不开对这些“工程菌株”的动力学描述。

1.2 生物反应工程学科的形成与沿革

生物反应工程学科是随着生物技术的发展而逐步形成的。史前时代,人们还不知道什么是酶或微生物时,就已利用它们进行有用物质生产了。例如,龙山文化(距今4000~4200年)已有酒具出现。公元前200年,我国人民就能制作豆腐、酱油和酿醋。生产过程中使用的容器就是最简单、最原始的生物反应器,产物生成过程就是利用生物反应的过程。在我国最早的诗集《诗经》中就提到采用厌氧进行亚麻浸渍处理。公元10年有了天花的活疫苗。很长一段历史过程中,人们虽然已经知道怎样利用生物反应,如提高酒类等发酵制品的风味及质量等,但仍没有认识到其与生物的作用有关。

1857年巴斯德(Pasteur)首次证明乙醇发酵是由酵母引起的,而酵母是活的细胞。随着微生物分离、纯化、培养技术的逐步确立,开创了人类控制微生物反应的新时期。第一次世界大战后,特别是第二次世界大战期间,深层培养技术、无菌空气制备技术的建立,促进了生物制品的大规模工业化生产。这是化学工程工作者积极参与的结果。同时,反映生物与化工两大学科相交叉的新学科——生物化学工程诞生了。

随着生物技术的发展,利用数学、化学工程原理、化学反应工程原理和计算机

技术等进行生物反应过程研究,使培养操作过程的控制更为合理,新的生物反应器不断出现。与此同时,一些新理论、新技术不断涌现,如固定化技术,基因工程技术、信息技术等。这些新理论、新技术推动了生物化学工程学科的发展。促使生物反应工程这一新的分支从生物化学工程领域中产生。

早在1971年英国学者巴特金森(Batkinson)首次提出生化反应工程这一术语,1975年作为生化工程领域开创人之一的日本学者合叶修一出版了关于生化动力学方面的专著《生物化学工程——反应动力学》;1979年日本学者山根恒夫编著了《生物反应工程》一书;1985年德国学者许盖特(Schugerl)出版了《生物反应工程》专著;1993年日本学者川濑义矩出版了《生物反应工程基础》一书;1994年丹麦学者尼尔森(Nielsen)等编著了《生物反应工程原理》一书。在此期间,我国学者也编著、出版了《生物反应工程原理》(1990)、《生物工艺学》(1992)、《生化工程》(1993)和《生化反应动力学与反应器》(1996和1998)等书籍。

当前,生物技术的发展,已影响到人类的生活及工农业、医学卫生、食品、能源、环保等各个领域,也给生物反应工程创造出许多发展的机遇。例如,代谢工程这一新科学领域,正是20世纪90年代基因工程技术与生物反应工程技术不断发展融合的结果。随着人类基因组计划的完成,后基因组计划的进行,有可能给生物反应工程技术带来新的发展机遇。

1.3 生物反应工程的研究内容与方法

根据生物体的不同,生物反应过程可大致分为酶促反应过程、细胞反应过程(包括单一微生物细胞、多种微生物细胞的混合反应、动植物细胞培养等)和废水的生物处理过程(表1-1)。本书试图通过生物反应过程分析和生物反应器选型与设计,阐明酶促反应过程和细胞反应过程的动力学规律。同时,以基本生物反应器为基础,通过例题,讨论了进行生物反应器设计与分析的基本原理和方法。另外,以较大的篇幅,介绍了生物反应工程领域中新的拓展。

表 1-1 生物反应过程的分类及其特征

生物反应过程的分类	酶促反应过程	单一细胞反应过程	多细胞反应过程	废水的生物处理过程
反应水平	分子水平	细胞水平	细胞水平	群体水平
反应的复杂性	简单	较复杂	复杂	很复杂
底物和产物的数量	较少	较多	较多	很多
反应速度的快慢	较快	较快	较慢	很慢

生物反应工程是以工业规模的生物反应过程为主要研究对象,具体研究中要兼顾可操作性。如果换一个角度考察生物反应工程的研究内容,可以将其分为生物

反应动力学、生物反应器和生物反应过程的放大与缩小等 3 个部分。

1.3.1 生物反应动力学

生物反应动力学主要研究生物反应速率和各种因素对反应速率的影响。由于生物反应的复杂性,带来了生物反应的多样性(表 1-1)。这里从以下 3 个方面介绍了生物反应动力学基本内容:①酶促反应动力学的特点、均相和多相系统酶促反应动力学及酶的失活动力学;②微生物反应过程的质量与能量衡算、发酵动力学和微生物的培养操作技术;③影响动植物细胞反应的因素、动植物细胞反应及其反应动力学等。

采用工业生物反应器进行生物反应,伴随有物理现象发生。生物反应从本质讲是在分子水平上进行的。有些生物反应过程中存在气液两相或气液固三相,但实际的生物反应也有在界面上进行的,如蓝色犁头霉(*Absidia coerulea*)菌体 11 β -羟基化反应,就是在两相界面上进行的。对于前者,反应速率的定义为转化量/(单位时间 \times 单位反应容积);后者为转化量/(单位时间 \times 单位反应界面)。

事实上,生物反应均会受到一些物理过程的影响,如传质和传热过程。比较典型的传质过程有好氧发酵过程中的氧的传递,其常与生物反应交织在一起,并影响生物反应速率。

1.3.2 生物反应器

生物反应器是使生物技术转化为产品、生产力的关键设备,其在生物过程中处于中心地位。使用高效率生物反应器的目的是提高产品生成速率,减少有关辅助设备,降低生产成本,获得尽可能大的经济效益。

由于生物反应的多样性(表 1-1),生物反应器的型式也是多样的,但由于生物反应的复杂性,加上外界的影响及相关理论的不完善,目前,生物反应器的型式还不能适应生物反应过程多样性的需要。与化学反应器相比,生物反应器的生产效率较低,反应液中的产物浓度低。为了解生物反应器的基本原理,有必要了解:①生物反应体系中的流变学特性、氧的传递与微生物呼吸、体积溶氧系数及相关因素、溶氧方程及溶氧速率的调节;②酶反应器及其设计、机械搅拌式发酵罐及其设计、气升式生化反应器设计、生物废水处理设备及动植物细胞培养用反应器等;③分批式、流加式和连续式操作,以及动植物细胞培养技术等。

一个新的生物反应过程的开发,最初阶段是发现与认识新的生物反应,然后才进入工程阶段。在工程阶段中,开发工作者首先遇到的是生物反应器的选型,即选择什么型式的生物反应器来进行这一特定的生物反应。确定选型后,进入操作条件

的选择和反应器的工程设计,这时就需要生物反应规律与传递规律相结合来解决。

1.3.3 生物反应过程的放大与缩小

生物反应工程研究的是工业规模的生物反应。当需要研究工业生产中生物反应速率与影响其因素的关系时,不能简单地在使用生物反应器确定它们之间的关系,因为这样的研究成本将十分昂贵。此时,可以根据生产实际,在实验室中使用小型反应器来模拟生产过程,以进行深入研究,这就是生物反应过程的缩小。尽管,生产上的生物反应要复杂得多,但是实验室获得结果,对实际生产还是具有重要的指导意义。

工业生物反应器中,总存在一定程度的物料返混或不均一性,并且生物反应器体积愈大,这种现象可能愈显著。将实验室的结果放大到实际生产(放大过程)难以顺利进行。反应动力学方程中的参数(如浓度、温度、反应时间等),对实验室过程来讲是一些简单的物理量,但在实际生产上,这些简单的物理量也变得复杂了。对放大过程来讲,同样需要生物反应工程指导。

生物反应工程的核心是要研究宏观因素对生物反应过程是否有影响,因此,我们关心的是用什么标准来判别这种影响、影响的程度有多大及这些影响是否有利等。学习生物反应工程理论,要注意以下4点:

(1) 探讨各种类型生物反应的内在规律

虽然生物反应是千变万化、错综复杂的,但总有一定的规律性并表现出一定的类型特征,要善于抓住它的类型特征,寻找、挖掘各种影响因素及其相关性。这是学习《生物反应工程》要严格遵循的思路。

(2) 从概念上注意与相关学科的区别

例如,生物反应工程中的动力学与生物学的动力学有本质的区别,生物学上进行生物反应的研究侧重于反应的历程与机制的研究,而生物反应工程的研究则着重于生物反应速率规律的定性(定量)描述。

(3) 要全面、深入地看待问题

由于生物现象的复杂性,考察不同的对象,应注意方法与尺度,特别要注意全面地看待问题,否则,会导致概念上的混淆和模糊。例如,利用包埋法固定化酶进行催化反应时,由于催化反应是在固定化酶颗粒的内部进行的,颗粒内部的底物浓度和宏观液相中的底物浓度并非同一数值,因此,就要想办法将颗粒内部的底物浓度,通过一定的方式,利用宏观液相中的底物浓度来表示。这时的反应动力学就表征了包括传递过程在内的反应速度,称之为宏观动力学。其与微观动力学不同之处在于它是以催化剂颗粒作为考察对象的。

(4) 确立评价生物反应过程的标准

研究各种因素对生物反应工程中反应速率的影响并确定其利弊,必须首先确定评价反应结果优劣的标准。通常评价生物反应结果的标准有反应周期、转化率或收率等。不能简单地为了提高转化率或收率,延长反应时间,同样,也不能为缩短反应时间,不考虑转化率或收率。

复 习 题

1. 什么是生物反应工程、生化工程和生物技术?
2. 生化反应工程研究的主要内容是什么?
3. 生化反应工程的研究方法有哪些?
4. 解释生物反应工程在生物技术中的作用。

参 考 文 献

- 贾士儒. 1990. 生物反应工程原理. 天津:南开大学出版社
- 伦世仪. 1993. 生化工程. 北京:中国轻工业出版社
- 戚以政,汪叔雄. 1998. 生化反应动力学与反应器. 北京:化学工业出版社
- 俞俊棠,唐孝宣. 1992. 生物工艺学. 上海:华东化工学院出版社
- 山根恒夫. 1985. 生物反应工学. 日本东京:産業図書株式會社
- 川濑义矩. 1993. 生物反应工学の基礎. 日本东京:化学工業社株式會社
- 合葉修一,永井史郎. 1975. 生物化学工程——反应速度論. 日本东京:科學技術社
- Nielsen J, Villadsen J. 1994. Bioreaction engineering principles. New York: Plenum Press

第二章 酶促反应动力学

酶促反应(enzymatic reaction)是生物反应的基础。从酶促反应动力学的研究中不仅可获知酶催化反应机制,还可以对酶促反应速率的规律进行定性或定量的描述,建立可靠的反应动力学方程,进而确定适宜的操作条件。

2.1 酶促反应动力学的特点

2.1.1 酶的基本概念

酶是生物体为其自身代谢活动而产生的生物催化剂,“经典”的酶学理论认为酶是蛋白质催化剂,具有蛋白质所具有的一切性质。20世纪80年代初期,酶学研究表明,除蛋白质外,某些RNA也具有生物催化能力,如四膜虫(*Tetrahymena*)的RNA分子中有一段具有自身切接能力的片段。目前已知的酶有近2500种。根据国际生物化学联合会(International Union of Biochemistry, IUB)国际酶学委员会(Enzyme Commission, EC)于1961年提出的酶的分类与命名方案的规定,根据酶进行催化反应的类型,可将酶分为6类,即氧化还原酶(oxido-reductase)、转移酶(transferase)、水解酶(hydrolase)、裂合酶(lyase)、异构酶(isomerase)和合成(或连接)酶(synthetase, ligase)。

酶除具有一般催化剂所有的共性(如不能改变反应的平衡点,只能改变反应速率)外,还具有生物催化剂的特性。

2.1.1.1 酶作为催化剂的共性

(1) 降低反应的活化能

如过氧化氢的分解,无催化剂存在时,该分解反应的活化能为75.31kJ/mol,加入过氧化氢酶后,该分解反应的活化能仅为8.37kJ/mol。

(2) 酶可加快反应速率

有的可高达 10^{14} 倍,一般酶催化反应速率和在相同pH与温度下非酶催化反应速率可直接比较的例子很少,这是由于非酶催化反应速率太低,不易观察,对可比较的反应,可发现反应速率大大加快,如己糖激酶大于 10^{10} 倍,乙醇脱氢酶大于 2×10^8 倍。