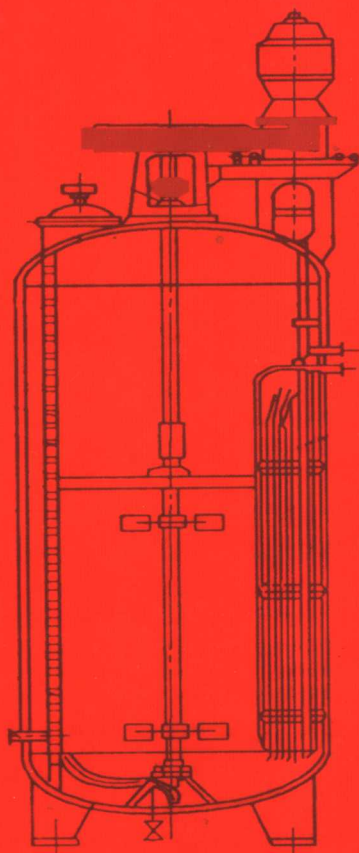
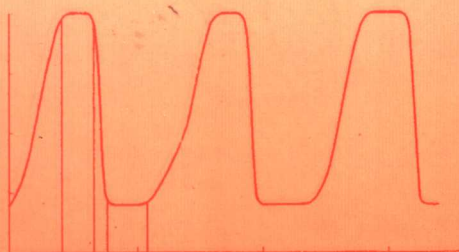


生物过程工程 与设备

陈洪章 等编著

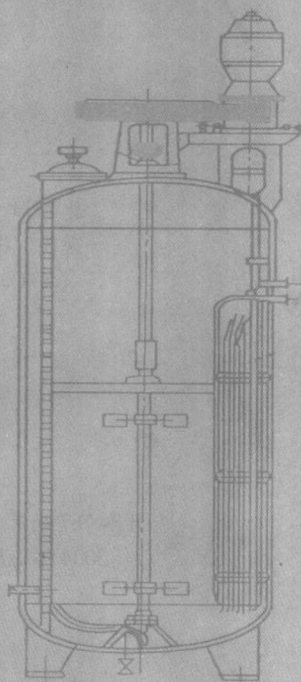
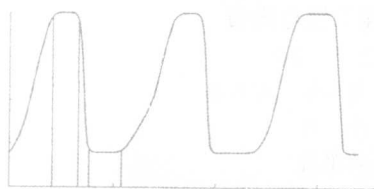


化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

生物过程工程 与设备

陈洪章 等编著



化学工业出版社

现代生物技术与医药科技出版中心

·北京·

(京)新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

生物过程工程与设备/陈洪章等编著. —北京: 化学工业出版社, 2003.12
ISBN 7-5025-5052-6

I. 生… II. 陈… III. 生物工程 IV. Q81

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2003) 第 117947 号

生物过程工程与设备

陈洪章 等编著

责任编辑: 莫小曼 麻雪丽

责任校对: 李 林

封面设计: 蒋艳君

*

化 学 工 业 出 版 社 出版发行
现代生物技术与医药科技出版中心

(北京市朝阳区惠新里 3 号 邮政编码 100029)

发行电话: (010)64982530

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京管庄永胜印刷厂印刷

三河市东柳装订厂装订

开本 787 毫米×1092 毫米 1/16 印张 29 字数 706 千字

2004 年 2 月第 1 版 2004 年 2 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-5052-6/Q·78

定 价: 68.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

京工商广临字朝 2003—035 号

前 言

生物技术是 21 世纪发展最快的学科之一，现已经在学术界和工业界初步显示出其巨大生机。但如何将生物技术与工程的新发明和新成果尽快得到产业化应用是生物技术与工程成果转化的“瓶颈”问题。本书的目的是想将生物技术的基本原理与工程学原理、应用工程实践之间架设一座桥梁，促进现代生物技术与工程产业化的交叉和渗透。生物过程工程与设备的任务是创建高效节能的生物转化工艺、流程和设备，解决实验室成果产业化中的“瓶颈”问题，因此，希望从事生物技术与工程科研院所师生、相关生产企业的生产技术人员实现生物工程上中下游技术生产开发研究的有效沟通，并从中得到启发，以便扫清所面临的生物技术成果从实验室到工程实践中的障碍，在生物技术科研事业和工程化方面为社会做出创造性的贡献。

近年来，国外已有许多这方面的专著或出版物问世，而国内至今未见有一部从基本理论到技术特点等对生物过程工程进行全面介绍的出版物。鉴于此，作者产生了写一本书的念头，以满足国内读者的需求。在经过一段时间收集资料、积累知识和研究工作后，这本书的构思便形成了。在书中，我们没有花很大的篇幅去讨论各种理论模型，尤其是有书可查的基础理论，而是把重点放在生物过程工程所需的设备及其操作、生物工业中常用技术等问题上，并配合一些典型的应用实例，从生物技术的产业化开发角度着眼，尽量把最新的知识介绍给读者。

作者能够撰写此书，首先是在读硕士阶段得益于山东大学微生物技术国家重点实验室老师们在微生物学方面的教育和熏陶；其次，在中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室攻读博士学位期间及留所工作得到的过程工程、生化工程的教育和工程研究实践，特别是我的恩师李佐虎先生给予的指导和帮助。另外，在本书编著过程中，参考了大量国内外前辈和同行们撰写的相关书籍和期刊论文资料。在此一并表示衷心的感谢。

面对目前这样一个蓬勃发展的学科领域，本人深感自己的学识不足；对书中的疏漏之处，诚请读者批评指正，并欢迎来函指导。

陈 洪 章

中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室

E-Mail: hzchen@home.ipe.ac.cn

2003 年 10 月

内 容 提 要

本书着重介绍生物过程工程原理、设备以及生物技术产业化开发技术等。本书共分四篇 15 章：第一篇介绍生物过程工程设备涉及到的原理和最新技术进展；第二篇重点介绍生物过程工程设备种类和特点、操作方法、应用实例及工程常用数据；第三篇对生物技术产业化开发所涉及的工程思路、设计方法和过程技术经济进行了分析；第四篇根据生物过程工程与设备的具体内容，介绍生物过程工程相关的实验技术。

本书可帮助从事生物技术与工程科研院所师生、相关生产企业的生产技术人员解决工作中出现的实际问题，实现生物工程上下游技术、生产、开发、研究的有效沟通。

本书可作为高等院校生物技术各相关专业本科生和研究生教材参考书，同时对从事生物技术工业生产和开发的科研者也是一本有益的参考书。

目 录

绪论	1
0.1 生物技术的发展过程	1
0.2 生物过程工程学基本概念	3
0.3 生物技术设备的基本概念	6
0.4 生物过程工程概述	11

第一篇 生物过程工程原理

第1章 生物反应过程原理	15
1.1 生物反应过程的理论基础	15
1.2 生物反应动力学	23
1.3 生物反应过程的质量传递	35
1.4 生物技术过程中的热传递原理	40
1.5 生物反应过程的质量和能量衡算	52
1.6 生物反应器设计与放大原理	61
第2章 生物产品分离过程原理	68
2.1 生物产品分离过程	68
2.2 生物产品分离的物理学原理	71
2.3 生物产品分离的化学原理	73
2.4 生物产品分离的生物学原理	73
2.5 分离过程的耦合集成	74

第二篇 生物过程工程设备及操作

第3章 生物技术实验室关键设备及操作	81
3.1 无菌操作	81
3.2 摇瓶与摇瓶机	83
3.3 菌种保藏设备	84
第4章 生物反应器	86
4.1 好氧液体生物反应器	86
4.2 厌氧液体生物反应器	98
4.3 固态发酵生物反应器	106
4.4 植物细胞培养反应器	113
4.5 动物细胞培养反应器	118
4.6 固定化酶和固定化细胞反应器	126
第5章 生物产品分离纯化设备	130
5.1 固液分离设备	131

5.2	萃取与超临界流体萃取设备	140
5.3	层析设备	150
5.4	蒸发与结晶设备	155
5.5	蒸馏设备	169
5.6	干燥设备	175
第6章	生物反应过程参数的检测与控制	181
6.1	生物反应过程的主要参数	181
6.2	主要过程参数对生物反应过程的影响及其检测与控制	185
6.3	生物反应过程的优化控制	196
第7章	生物过程工程的关键辅助设备	207
7.1	生物技术大规模无菌操作与空气的净化操作技术	207
7.2	原料预处理设备	228
7.3	物料输送设备	236
7.4	糖化与液化设备	268
7.5	生物过程工程中的供水设备	273
7.6	生物过程工程中的制冷设备	276
7.7	生物技术产业与环境保护设备	282

第三篇 生物过程工程产业化开发

第8章	生物过程工程产业化开发概述	297
8.1	生物过程工程产业化开发类型	297
8.2	生物过程工程开发特点	298
8.3	生物过程工程产业化开发步骤和内容	298
第9章	生物过程工程产业化开发设计	301
9.1	生物过程工程产业化开发设计概述	301
9.2	生物过程工程产业化开发的目标参数	303
9.3	生物过程工程集成化	304
第10章	生物过程工程经济学概述	306
10.1	成本估计	306
10.2	盈利能力分析与清偿能力分析	307
10.3	项目经济评价的基本报表	309
10.4	不确定性分析	309
10.5	过程设计	310
10.6	过程设计实例	311
10.7	生物技术项目可行性研究报告的编写举例	315
第11章	生物过程工程设计概述	322
11.1	生物过程工程设计的重要性和要求	322
11.2	设计过程	323
11.3	设计任务书	325
11.4	设计阶段和内容	326

11.5	厂址与总图布置	328
11.6	工艺流程设计	330
11.7	工艺计算	334
11.8	设备设计选型与车间布置	338
11.9	管道布置设计	341
11.10	生物技术的工艺设计及非工艺设计提交的条件	343
11.11	设计文件	344
第 12 章	生物技术示范工程建设	345
12.1	生物技术示范工程建设形式	345
12.2	生物技术研究中心的特点与作用	345
12.3	生物技术示范工程建设的方法	346
12.4	申请建设国家工程研究中心应具备的条件	346
12.5	工程研究中心的立项程序	346
12.6	国家高技术产业化示范工程	347

第四篇 生物过程工程实验技术

第 13 章	生物过程工程专业实验技术	353
13.1	生物反应过程的实验技术	353
13.2	生物分离过程的实验技术	361
13.3	动物细胞培养技术	368
13.4	植物细胞培养技术	377
13.5	基因工程菌发酵技术	383
第 14 章	生物工艺过程实验	387
14.1	纤维素酶固态发酵实验	387
14.2	乙醇发酵实验	388
14.3	聚氨酯软质泡沫塑料吸附固态发酵碱性蛋白酶	389
14.4	固态发酵抗生素克拉维酸	392
14.5	基因工程干扰素 α -2b 的制备	393
14.6	β -半乳糖苷酶的固定化及应用	395
14.7	乙醇气提发酵与载气蒸馏耦合过程实验	397
14.8	亲和层析法分离纯化链激酶实验	398
第 15 章	生物技术开发实验技术	400
15.1	生物技术开发实验技术概述	400
15.2	生物技术中间试验技术	402
15.3	生物技术设备冷模试验技术	404
附录		413
主要参考文献		408
中文索引		427
英文索引		440

绪 论

0.1 生物技术的发展过程

0.1.1 现代生物技术的产生

0.1.1.1 生物技术、生物工艺和生物工程的异同

在国外，生物工程（bioengineering）一般指医学工程（medical engineering）、农业工程（agricultural engineering）、环境工程（environmental engineering）、卫生工程（sanitary engineering）、人体功能工程（body function engineering）等的总称，其特点是不涉及化学催化反应（chemocatalytic reaction）过程，而仅仅是生物过程（biological process）与物理过程（physical process）的结合。而生物技术（biotechnology，又名生物工艺学）则涉及的是生物催化反应（biocatalytic reaction）过程，国外已把生物技术与生物工程分开来谈。

在国内，生物工程与生物技术的概念有一些混乱，一般生物工程理解为一个广义的概念。因为工程是指根据科学原理和有关技术，组合出高效、合理的一定结构的技术系统（technological system）；而技术（technique）泛指根据生产实践和科学原理发展而成的各种工艺操作方法与技能。这样理解生物技术为狭义上的生物工程。但二者也不是绝对分开的，如美国一著名的生物工程杂志就叫做《Biotechnology and Bioengineering》。在此介绍的应该叫做生物技术。

0.1.1.2 生物技术的定义和特点

生物技术这个词最初是一位匈牙利工程师 Karl Ereky 于 1917 年提出的，当时的含义是指用甜菜（sugar beet）大规模饲养（large-scale feed）猪，即利用生物将原材料（raw and processed materials）转变为产品（product）。实际上生物技术的发展和應用可以追溯到 1000 多年前，酵母、酒精、乳酸等规模化生产，以及后来的抗生素、氨基酸、酶制剂发酵工业。因此，生物技术是一门既有悠久历史，又有崭新内容的科学技术和生产工艺。当然，现代生物技术与传统生物技术之间既有共同之处，又有很大差异和各自的特点。

曾有不少学者或学术组织对生物技术下了各种定义。目前被广泛接受的定义是 1982 年国际合作及发展组织（international cooperation and development organization）对生物技术的定义：生物技术是应用自然科学（natural science）及工程学（engineering science）的原理，依靠微生物、动物、植物体作为反应器将物料进行加工以提供产品来为社会服务的技術。

从这个定义中，可归纳出生物技术三个特点：

- (1) 生物技术的多学科性和综合性；
- (2) 依靠微生物、动植物作为生物催化剂（biological catalyst），有别于化学催化剂

(chemical catalyst);

(3) 最终目的将生物反应开发成为工业生产的工艺过程, 即生物反应过程 (bioprocess)。

0.1.1.3 现代生物技术的产生

1953年 Watson 和 Crick 发现了脱氧核糖核酸 (desoxyribonucleic acid, DNA) 的双螺旋结构 (double helix structure), 奠定了现代分子生物学 (modern molecular biology) 的基础。1973年 Boyer 和 Cohen 发明了 DNA 目的基因重组 (gene recombination) 技术。DNA 重组技术在很大程度上得益于分子生物学、微生物遗传学 (microbial genetics) 和核酸酶学 (ribozymology) 等领域的发展; 反过来 DNA 重组技术的逐步成熟和发展对生命科学的许多领域产生了革命性的影响, 成为 20 世纪以来发展最快的学科之一。而受 DNA 重组技术的影响最为深刻的是生物技术领域, 迅速完成了从传统生物技术向现代生物技术的飞跃。

现代生物技术是随着 DNA 重组技术的发展而提出来的。现代生物技术是充分利用 DNA 重组技术, 把它作为有效手段, 而并非 DNA 重组技术就是现代生物技术。仅仅有 DNA 重组技术实现不了生物技术的产业化 (biotechnological industrialization)。

根据当前生物技术的发展, 给现代生物技术所下定义为以 DNA 重组为主要手段, 依靠清洁、经济的生物反应器 (bioreactor), 利用可再生性资源 (renewable resource) 加工人类所需产品的可持续发展 (sustainable development) 技术。

0.1.2 现代生物技术的前景和发展

0.1.2.1 现代生物技术产业是 21 世纪的朝阳产业

生物技术研究的最终目标是生产商业化产品, 因此, 现代生物技术在一定程度上是由经济的发展所推动的。美国 Genentech 公司于 1979 年获得了世界上第一个基因工程 (gene engineering) 药物——重组人胰岛素 (recombinant human insulin), 1980 年该公司的股票一上市, 其价格在 20min 内由 35 美元升到了 89 美元。说明投资者对现代生物技术投资热情高涨。20 世纪 80 年代曾预测 20 世纪末全世界现代生物技术产品的销售额达到 100 亿美元, 而现在预测可超过 6 000 亿美元。现代生物技术产品可广泛应用于医药卫生、农林牧渔、海洋、轻工食品、化工、能源等领域。现代生物技术与其他高新技术相比具有无比优越性是现代生物技术可解决当前人类面临着人口、资源和环境等一系列可持续发展问题。

现代生物技术为人类生活提供了多方面的便利, 渗透到生活的多个方面。但是生物技术也可能是一柄双刃剑, 因其所具有的巨大力量可能会给社会带来许多意想不到的冲击, 如致命的生物武器, 人类伦理的破坏等。

0.1.2.2 中国现代生物技术的发展

目前中国的生物技术水平在亚洲地区是名列前茅, 并在某些方面处于国际领先地位, 如杂交水稻等。但仍面临着不少问题, 如过多的仿制和低水平重复。

0.1.2.3 现代生物技术最新进展

(1) 人类基因组序列工作框架图的完成 1990 年启动的人类基因组计划 (human genome plan, HGP), 于 2000 年 6 月 26 日宣布人类基因组序列工作框架图的完成 [中国科学院遗传研究所完成了 1%], 为人类今后全面认识人类基因组的功能提供了一个结构基础, 而要“读懂”遗传奥秘, 后基因组生物学时代 (post-genome biology era) 将有更多的事情要做。

(2) 生物芯片 20 世纪 80 年代初提出了核酸杂交测序之后, 20 世纪 90 年代初以美国为主开始了生物芯片 (biochip) 的研制。生物芯片是缩小的生化分析器, 是借用微电子工业比较成熟的微细加工工艺在玻璃、塑料、硅片上加工出微米尺寸的微结构, 在微结构上进行生化反应和分析。这类仪器的出现将给生命科学、医学、化学、新药开发、法医鉴定、环境监督等带来一场革命, 为学术界和工业界所瞩目。生物芯片包括样品制备芯片 (chip preparation)、生化反应芯片 (PCR 扩增) 和基因芯片 (gene chip, DNA 芯片)。基因芯片是利用核酸杂交原理, 将核酸或核酸片段按照一定顺序排列在固定支持物上组成密集的分 子阵列 (molecular array), 来检测未知分子。

(3) 动物生物反应器、植物生物反应器 现代生物技术的发展已经使以下方面成为可能:

- ① 使动植物获得优良的性状;
- ② 使动植物具有抗病、抗虫和抗逆境的能力;
- ③ 转基因动植物生物反应器——这种把外源基因转变成蛋白质的动植物体非常引人注目。

许多有价值的蛋白质及多肽类激素 (peptide hormone) 均在大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、酵母或动植物体外培养细胞 (isolated cell culture) 中得到了表达, 并建立大规模的生产厂。随着转基因技术日趋完善, 生产转基因动物 (transgenic animal) 已成为常规技术。自 1982 年获得转基因鼠以来, 已得到牛、猪、羊、兔等转基因动物。与原核生物相比的优点是真核生物细胞直接生产出具有活性的蛋白质; 其不足是目标产物 (target product) 分离纯化 (separation & purification) 更困难, 高等转基因动物的遗传稳定性差。

0.2 生物过程工程学基本概念

生物过程工程与设备 (bioprocess engineering and equipment) 是从事生物技术和生物技术研究与开发人员都应当了解、熟悉或牢固掌握的一门学科。尽管生物技术所生产的产品性质 (product characteristics)、加工方法 (processing method)、工艺流程 (technological flow) 以及设备型式 (equipment type) 等不完全相同, 甚至差异很大。但是, 它们的某些生产过程却具有一些共同的特点, 即从原料转变为产品, 任何一个生物技术生产过程包括一系列生物反应工程、化学反应过程和物理操作过程, 按照不同方式串联或并联组合而成。一般来说, 在某一生物产品的加工过程中, 生物反应过程是具有决定意义的一步, 因此, 常把生物反应过程作为生物生产过程的核心, 而其他过程是为生物反应过程服务的。所有的生物反应工程、化学反应过程和物理操作过程都是在特定的设备内进行的, 而且, 设备在技术上的先进程度, 对这些过程能否有效进行的影响极大。研究生物反应工程及其相关的化学反应过程、物理操作过程的基本原理和规律, 熟悉实现这些过程操作的设备结构、设计和工作原理、主要性能和有关技术问题以及相关的计算能力, 对于从事生物技术产业化的工程实践均具有重要意义。下面介绍一下有关生物技术过程涉及的工程理念和工程学基本概念。

0.2.1 工程理念

一切工业都必须用适当的生产设备, 按照合理的方式生产人类需要的产品, 并在经济上

获得效益。工程学就是研究工业生产过程系统规律性的科学，实际上探索如何有效地在合理的生产设备将原料转变为工业产品的科学。从上述定义可知，对待任何工程问题，都必须有以下四种工程理念 (engineering thought)：

- 理论上的正确性 (valid theory)；
- 技术上的可行性 (technical feasibility)；
- 操作上的安全性 (safety operation)；
- 经济上的合理性 (economical rationality)。

在这四个理念中，经济上的合理性是核心，发展经济要依靠正确的科学原理和不断创新可行的技术；安全操作 (safety operation) 是实现产品经济生产的重要保证；而强大的经济实力是发展科学技术不可缺少的前提条件。因此，上述四个工程理念本身就是一个相互联系和相互促进的统一体。所谓的工程理念就要从这四个方面的要求出发，全面规划和决定工程问题的观点。

生物过程工程与设备研究开发的重要任务是在保证社会效益的前提下，研究如何去创造最优化 (optimization) 的生物反应生产条件和产生更大的经济效益。在生产各个单元操作中，将优良细胞选育、生物反应工艺过程作为一个整体来对待。对此，应当关注以下几个普遍问题。

0.2.1.1 目的产物中心观点

为了提高产物对原料的转化率 (transformation rate)，就要求在生物反应代谢过程和培养产物分离纯化两个方面给予关注。对于生物反应代谢过程，要促进细胞对营养物质的吸收；减少与目的产物形成无关的代谢支流，使各个分支的物质相对集中流向目的产物；消除目的产物进一步代谢的途径。在设计育种 (breeding) 和生物反应工艺控制中要建立这一工程理念。

而对于培养产物分离纯化的单元操作中，应根据质量守恒定律 (law of mass conservative) 对目的产物进行物料衡算。运用这一概念去分析和解决单元操作集成问题。即

$$\text{输入的产物量} = \text{输出的产物量} + \text{目的产物损失}$$

0.2.1.2 能量最小的观点

在细胞代谢 (cell metabolism) 和生产过程中均消耗一定能量，并以不同形式来提供。对于细胞代谢，生物能 (biological energy) 是细胞独立自主生活的基础，每个细胞都有能量转换机构，这也是生物技术工业具有的生物学属性的重要体现。在控制细胞代谢中，可通过减少支流途径 (by-pass path) 的能量和增加目的产物主流途径的生物能支持，提高能量利用率。而对于生产过程，可根据能量守恒定律 (law of energy conservative) 和能量系统集成 (integrated energy system) 技术进行能量衡算，减少生产过程中能量消耗。

0.2.1.3 细胞经济与生产经济矛盾的观点

在生物进化 (biological evolution) 过程中，细胞形成了越来越完善的代谢调节 (metabolic regulation) 机制，使细胞内复杂的代谢反应能高度有序地进行。因此，处于平衡生长，不会有代谢产物 (metabolites) 的积累。将细胞这种经济的代谢规律称之为细胞经济 (cell economy)。而要细胞过量产生目的产物，对细胞的能量利用和细胞组成物质的合成，都是不经济的。获得细胞代谢产物的过量生产，一是改变细胞的基因型 (genotype) 而改变代谢途径；另一种方法是在基因型不改变的条件下，通过培养条件的改变控制代谢，如厌氧条件 (anaerobic culture) 产生酒精、乳酸等。那么，这种过量表达 (excessive expression) 代

谢产物的细胞有人叫做“病态”细胞 (morbid cell)。工业生产就要利用“病态”细胞的不经济性生产人类所需的、经济的产品。因此,生物技术工业过程的细胞经济与生产经济矛盾的是永远存在的。

0.2.2 工程学基本概念

根据上述四个工程理念,在从事生物技术产业化过程中,总结出工程学的基本概念为衡算概念、速率概念、最优化概念、技术经济概念、上游生物技术工程化的概念、细胞代谢和培养工艺过程一体化的概念。

0.2.2.1 衡算概念

通过质量衡算、热量衡算、动量衡算达到物料和能量有效集成。物料集成是按照质量守恒定律进行物料衡算,运用这一概念去分析和解决工程问题;根据能量守恒定律进行工程过程的系统能量衡算,达到能量最大利用,它是工程能量问题的基本方法。质量、热量和动量衡算概念是保证技术上的可行性和经济上的合理性的重要工程措施和环节。

该概念不仅应用于生物技术过程的单元操作中,而且也在细胞内代谢中得到很好的应用,如代谢工程 (metabolic engineering) 的发展很大程度上得益于衡算概念。

0.2.2.2 速率概念

速率问题是理论上的正确性和技术上的可行性的一个重要衡量标志和判断标准,也是科学技术先进性的反映,更是生物反应工艺、工程探索结果的表现。

一般来讲,过程的速率与过程的推动力 (driving force) 成正比,与过程的阻力 (resistance) 成反比。即

$$\text{过程速率} = f(\text{过程的推动力} / \text{过程的阻力})$$

显然,从工程角度,要提高某一个过程的速率,就应设法增大与该过程有关的推动力,减少该过程的阻力;同时,分析考虑可能影响系数 f 的因素。

0.2.2.3 最优化概念

最优化方法 (optimization method),是现代运筹学 (modern operational research) 的一个重要分支。它所研究的中心问题是如何根据系统的特性去选择满足控制规律的参数,使得系统按照要求运转或工作,同时使系统的性能或指标达到最优化。20世纪50年代以来,随着数学建模 (mathematic modeling) 和计算技术 (counting technique) 的发展,最优化方法在工程领域得到了蓬勃的发展,理论和算法也日趋完善。

在生物技术反应过程优化中,目前主要是采用以动力学 (kinetics) 为基础的最佳工艺控制点为依据的静态 (static state) 操作方法,是化学工程宏观动力学概念在发酵工程 (fermentation technology) 上的延伸。现在,人们逐步认识到以细胞代谢流的分析与控制为核心的生物反应最优化的观点。生物反应过程中的基因、细胞、工程三个水平上进行过程优化。从单元操作到系统工程,从宏观的经验描述到微观的本质认识,对于过程工艺优化具有重要意义。

0.2.2.4 技术经济概念

从生物技术产品开发看,技术经济的概念是始终贯穿在整个开发工作中,对于不同阶段,都应有技术经济评价 (estimates of technical economics)。特别是在小试 (small-scale production) 阶段,往往是不容忽视的。可以通过技术经济分析判断科学自由探索中的潜在应用价值,以便进一步开发。在中试 (pilot-scale production) 和示范工程建设

(demonstrating engineering construction)中,更是不能离开技术经济的参与。只有经过反复技术经济评价。才能确保所开发的生物技术方案的科学性和合理性。

0.2.2.5 上游生物技术工程化的概念

随着基因重组 (gene recombination) 技术、蛋白质修饰 (protein modification) 技术、细胞融合 (cell conjugation) 技术和固定化 (immobilization) 技术的逐步成熟,其上游生物技术 (up-stream bioprocessing) 已进入工程化阶段。其特征是可以根据需要设计改进天然的或构建新的生化物质或体系 (核酸、蛋白质、脂质体及多糖复合物等) 以及新的代谢步骤与途径,并对它们在生物体内外的作用加以研究和应用。如蛋白质改造技术可以按照工程思路产生具有优良性能的新蛋白质;代谢工程在阐明代谢途径及其调控规律的基础上,应用重组 DNA 技术可以改变代谢途径分支点上的流量或引入新代谢步骤与途径构建杂交代谢网络。

0.2.2.6 细胞代谢和培养工艺过程一体化的概念

生物反应过程产物实质上是细胞代谢产物,胞内基因水平 (intracellular gene level) 的信息流决定了细胞代谢流分布的空间与时间的基本特征,而生物反应器只是在环境条件和过程传递特性上,从物料和能量供应上对这一代谢流产生影响。当前生物技术产业化发展的特点是必须将细胞代谢过程 (微观分子细胞水平的代谢调节) 与培养工艺过程 (宏观工程水平的传递特性) 进行深度结合;由宏观推向微观,强调在对细胞代谢深入发展的认识基础上,以多尺度的工程学观点研究过程特性。例如,生物反应过程的核心是生物反应器。传统的观念生物反应器是细胞培养所需设备。但从细胞代谢和培养工艺过程一体化的概念考虑,生物反应器实质是由生命系统 (细胞) 和环境系统组合成的特定空间,而不是单一的装置设备。那么生物反应器工程的定义应是以细胞培养为中心,形成结构合理的、高效的人工生态系统。

0.3 生物技术设备的基本概念

生物技术项目的产业化实现均要经过优良菌株的基因重组构建或选育、工艺、过程和工程等几个环节。其中工艺、过程和工程三个环节都涉及到相应的设备选型或新型设备的开发,来满足生物工艺、过程和工程的实现。即生物反应过程以及相关的化学反应过程和物理操作过程都是通过一定的设备来实现。但设备必须为实现特定的生物反应工艺过程服务。因而,它必须满足该工艺过程的基本要求。例如一定的容积,足够的机械强度 (mechanic intensity),良好的抗腐蚀性 (anti-causticity) 能,同时便于维修,保证操作安全。

0.3.1 生物技术工艺与设备

生物反应工艺及分离纯化操作,包括各种单元操作都是在特定的设备内进行的。生物反应工艺及分离纯化操作本质上分别是由细胞代谢规律和分离纯化所涉及到的流体动力学规律、热交换规律、分子扩散规律来决定的。但是,特定设备在技术上的先进程度,对生物反应工艺及分离纯化操作能否有效进行的影响极大。因此,认识生物反应工艺及分离纯化操作的基本原理和规律,才能进行相关设备的设计、计算、选型,同时,有助于开拓研制新型设备的思路;反之,熟悉掌握相应设备的结构、工作原理、主要性能和有关技术问题,并具有一定的设备计算能力,对于生物反应工艺及分离纯化操作的优化具有重要作用。

0.3.2 生物过程工程与设备

任何一个生物过程工程都是按照不同方式将相关设备组合而成。只有完成了生物技术生产流程设计 (flow design) 后, 才能进行设备设计选型 (type selection), 确定标准设备 (standard equipment) 和非标准设备。而合理的设备设计取决于对于生物技术生产流程的认识程度。因此, 生物过程工程与设备二者在生物技术产业化设计中必须密切结合。

0.3.2.1 生物过程工程与设备的工作领域

随着现代生物技术的发展, 人们逐步认识到生物过程工程与设备在现代生物技术产业化中的重要作用。生物过程工程与设备不仅为传统生物技术产业 (传统发酵工业和传统医药工业) 的改造及现代生物技术产业提供高效率的生物反应器、现代分离纯化材料与技术以及相关的工程装备技术, 还提供单元化生产设备、工艺过程最优化、在线自动控制、系统集成设计等工程概念与技术。生物过程工程与设备已成为现代生物技术产业化的桥梁和瓶颈, 加强对生物过程工程与设备的认识和研究是从事现代生物技术研究必须了解的一个重要方面。

0.3.2.2 生物过程工程与设备的特点

通常以生物反应器为核心将生物生产过程分为上中下游三部分, 上游生物技术的主要任务是构建或选育出社会需要的、稳定的、优良的生产细胞菌株; 而中下游生物技术的任务就是设计经济上合理、理论上正确、技术上可行、操作安全、一整套组合艺术的生物技术过程与设备系统。包括原料组分分离、培养基 (culture medium) 配制与灭菌 (sterilization)、无菌空气 (aseptic air) 的制备、细胞株种子扩大培养 (scale-up culture)、生物反应器无菌操作与控制培养、产物的提取 (extraction)、分离与纯化等。这些操作设计的基础是建立在生物技术过程原理上的, 其操作过程是通过设备来完成; 为了满足新的生物技术工艺条件要求, 又需要开发出新的设备。因此, 生物生产过程就是利用生物细胞的生命活动进行工业生产的工艺过程, 需要通过一定程序的生物技术设备来完成。其生物生产过程的上中下游技术与生物技术设备之间的关系如图 0-1 所示。

在实际生产和生物技术研究, 人们一直极其重视微生物菌株、动植物细胞的基因改良 (gene improvement) 和选育以及新产品的开发, 而忽视生物反应工艺、生物反应与分离设备的改善研究。但是, 一些生物生产过程的成功事例表明, 生物技术工艺的改进起到上游生物技术无法实现的作用, 完全可以改善产品质量, 提高生产效益。如大规模无菌操作系统的完善, 对于发酵工业起到突破性的作用。随着现代生物技术的发展, 对生物技术过程与设备提出了更高的要求, 使对生物反应工艺的研究和优化以及新型设备开发更加重要。

虽然生物反应过程中所用的生物体或代谢途径各有自身的特点, 但表现在生物技术的产业化过程中涉及到的过程与设备有许多共性规律, 只是在不同的具体生产过程对各个环节有着不同的要求而已。

(1) 对于所有微生物或动植物细胞来讲, 提供必要和足够的营养和能量, 才能维持其生命代谢活动。这就涉及细胞培养 (cell culture) 的培养基配制的问题。由于不同微生物或动、植物细胞有着不同的生理、生化特性和生长特点, 对培养基的营养成分有不同的要求; 另外, 培养基中的碳源 (carbon source) 形式、碳氮的比例、微量元素 (trace element) 等对细胞的生长和产物的代谢产生很大的影响。因此, 如何优化培养基是各种生物反应过程所需要解决的共同问题。

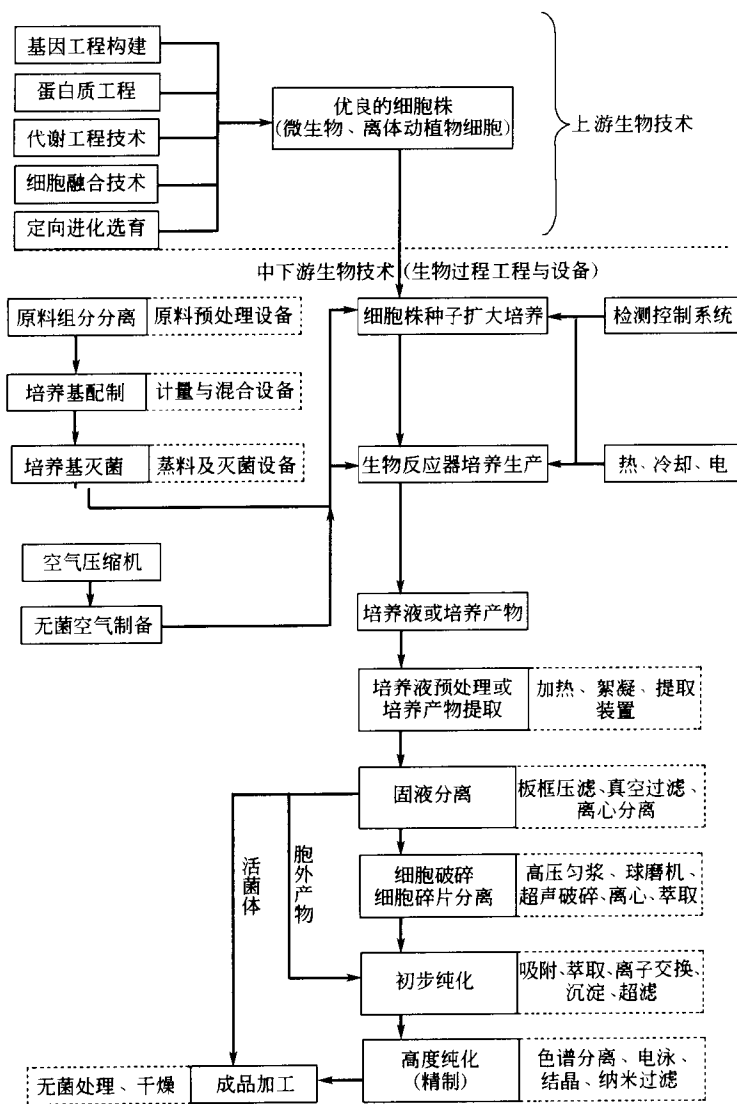


图 0-1 生物生产过程的上中下游技术与生物技术设备之间的关系示意

(2) 培养基原料的预处理 (pretreatment) 不仅影响细胞代谢生长, 而且对于培养基原料成本大小和是否造成环境污染 (environmental pollution) 等具有决定性影响。如以淀粉 (starch) 的生料为原料与选用淀粉相比可降低发酵酒精生产成本。选择适宜原料预处理方法也是生物反应过程常常被忽视的问题。

(3) 如何合理地设计一级、二级或三级种子培养系统, 以及各级种子培养时间 (culture time) 和接种 (inoculation) 比例, 达到种子系统与生产培养过程合理配套, 获得最大的得率 (yield rate)。

(4) 生物反应过程中的细胞培养一般都是纯种培养 (pure culture) 过程。在工业上能否有效防止杂菌污染是决定生产过程正常进行的关键。因此, 必须严格防止杂菌的污染, 在生产过程中的培养基原料、设备、空气的灭菌以及无菌操作过程是生物反应过程生产的最重要环节之一。

(5) 对于好氧的细胞培养 (aerobic cell culture) 过程, 如何保证足够的氧气供给 (oxygen supply), 又尽可能节省能量, 是好氧培养过程的重要组成部分。另外, 如何有效控制大规模细胞培养 (large-scale cell culture) 过程中热量传递 (heat transfer) 也是细胞培养过程必须考虑的问题。

(6) 细胞不可能将底物 (substrate) 全部转化利用, 并且代谢产物几乎以混合物的形式存在, 如何选择合适的分离纯化方法, 使之高效率、低成本地从培养液中得到所需产品是决定生产成败的关键。

0.3.2.3 生物过程工程与设备的发展历程

生物技术的发展过程是以某一个生物过程工程与设备成熟为标志。因此, 生物技术的发展过程也是生物过程工程与设备的发展历程。下面按标志性的生物过程工程与设备来介绍其发展历程。

(1) 传统经验制造技术——天然发酵阶段 (natural fermentation stage) 虽然数千年前, 人们已开始利用微生物, 但对微生物的存在却一无所知。凭着实践经验和生活经历在应用微生物, 并积累了许多经验, 同时也有许多发明和创造。酿酒制醋是人类最早掌握的发酵技术之一, 另外还有酱油、酱、泡菜、奶酒、干酪、面包发酵、沤肥等技术。该阶段的特点如下。

① 靠自然发酵, 只知其然而不知其所以然。

② 历史悠久。可追溯到五六千年前的“仰韶文化时期”。

③ 工艺独特。以中国曲酿酒为例, 它是以前以谷物淀粉为原料, 先经曲 (微生物淀粉酶) 水解成糖液后, 再由酵母发酵成各类风味特殊的曲 (mouldy bran) 酿酒。这种工艺流程是先后利用两种不同功能的微生物所进行的酿酒发酵过程。对于现代发酵工业的混合发酵和序列表发酵都有借鉴性。

④ 经验丰富。以制曲为例, 十分强调对原料筛选, 配比以及制曲管理等都有一套严格规定。

(2) 纯种培养技术的成熟——初级代谢产物生产阶段 (production stage of primary metabolites) 1680 年, 荷兰人吕文虎克 (Anthony Leeuwenhoek, 1632~1723) 首次在雨水和醋中观察到大量活着的微生物 (microorganisms, 当时称微动物), 才知道微生物的存在。1857 年微生物学的鼻祖、以“发酵学之父 (Father of zymology)”美誉著称的法国人巴斯德 (Louis Pasteur, 1822~1895) 首次证明了酒精发酵是由酵母菌引起的, 发酵现象是由微生物所进行的化学反应, 而且不同的发酵与不同的微生物有关。在巴斯德之后, 德国人柯赫 (Robert Koch, 1843~1910) 在研究炭疽病 (anthracnose) 时, 发现动物的传染病是由特定细菌引起的。首先应用固体培养基 (solid culture medium) 分离微生物。当时所用的凝固剂是明胶, 柯赫的学生建议改用琼脂。以后 Petri 又创造了培养皿。在这项研究过程中, 发明了单种微生物的纯培养技术。从此以后, 微生物也和高等生物一样, 可按林奈生物分类法进行分类。几乎同时, 布赫纳 (Bunchnner) 证明了酒精发酵过程是由酶催化 (enzyme catalysis) 的一系列化学反应, 近代微生物学和生物化学应运而生了。布赫纳把大量的蔗糖 (saccharose) 加入用砂磨碎的酵母菌汁中, 目的希望保存这些酵母汁。可发现有二氧化碳和乙醇 (ethanol) 的形成, 这时人们才知道原来任何生物都有引起发酵现象的酶 (enzyme)。后来对微生物的酶进行了详细的研究, 到 20 世纪初, 人们认识到, 生物化学领域中研究过的肌肉糖酵解 (glycolysis) 作用, 与微生物引起的乳酸发酵和乙醇发酵, 在本质上是相似