

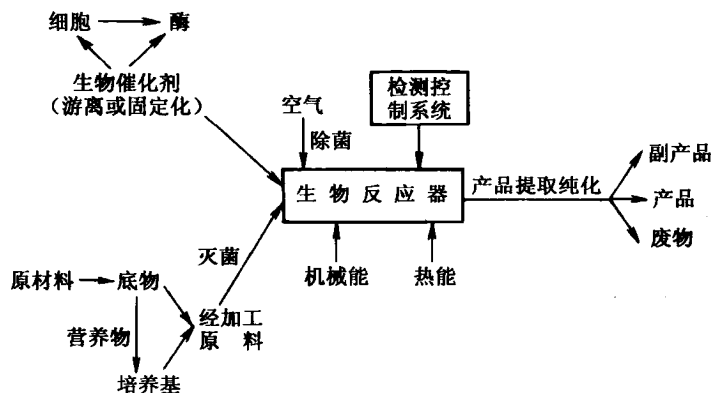
绪论

一、生物制药设备

生物化学工程（biochemical engineering，简称生化工程），它是运用化学工程的原理和方法对实验室所取得的生物技术（biotechnology）成果进行工业开发的科学。也可以说，生化工程是为生物技术服务的化学工程。

化学工程所涉及的主要问题是工厂的设计、建立及运行，使物质发生化学变化来生产产品。生化工程所处理的则是以活的细胞为催化剂或由细胞提取出来的酶为催化剂的反应过程。对这样一种有生物催化剂参与的过程，不仅要对其生物物质的动态有较详尽的了解，而且还需具有较宽广的工程学的知识，才能充分挖掘和利用生物体系的潜力。

凡生物工程所引出的生产过程，可统称为生物反应过程，它大致可用下图所示的流程表示：



生化工程实际上就是研究生物反应过程中带有共性的特殊工程问题，如大规模的种子培养过程、大规模培养基和空气灭菌过程、发酵代谢调控、细胞生长和产物形成动力学、生物反应器的优化操作和设计、生化产品的分离纯化等过程中的工程技术问题。

由于生化工程可视为化学工程的一个分支，又可认为是生物学和化学工程相结合的交叉学科，因而又被称为生物化工。

从以上生化工程所涉及范围可以看出，要想编出内容详细全面必然文字很多。更主要的是生物技术专业的专业课还有《发酵工艺学原理》、《生物药物分离纯化技术》、《生

物技术制药》等多门专业课，这些课程内容有些就属于生化工程范畴。本书力求内容不要重复，重点放在用于大规模生产的生物反应器和与生物反应器相关的设备及分离纯化设备。详细阐述各种设备的工作原理、操作特性、设备计算、放大方法和强化设备性能的途径。该专业所学的最终产品又以药物为主，因此，教材取名为《生物制药设备》，可认为是生化工程的一个组成部分。

二、生物制药设备的基本内容

按工程的定义，它是将自然科学的原理应用于生产的某一具体方面并研究该生产领域中有共性技术规律的科学。生物制药设备是为生物反应过程服务，生物反应过程常把生物反应器作为过程的中心，而分别把反应前与反应后的工序称为上游和下游加工（up stream and down stream processing）。本书将分别围绕反应器上游和下游来阐明生物制药设备的内容。

在上游加工中最重要的是提供制备高产优质和足够的生物催化剂（由常规选育或经现代生物技术方法获得的菌株、细胞系或从中提取的酶，必要时可进行固定化）。这方面的工作通常由生物学方面的工作者来担任。本书主要讨论培养基灭菌问题。这里含有较多的化工单元操作，如流体输送、热量传递及灭菌动力学和营养成分降解动力学等问题。

生物反应器是整个生物反应过程的关键设备。所谓生物反应器，若采用活细胞（包括微生物、动物、植物细胞）为生物催化剂时称发酵或细胞培养过程；若采用游离或固定化酶时称为酶反应过程。两者的区别在于生物反应过程中除得到产品外，还可能得到更多的生物细胞；而酶反应过程中，酶不会增长。生物反应器是为特定的细胞或酶提供适宜增殖或进行特定生化反应环境的设备。它的结构、操作方式和操作条件对产品的质量、转化率和能耗都有着密切的关系。在生物反应器中存在气-液-固三相的混合、传热、传质问题，不少发酵液还呈有非牛顿的流变学特性，因此同样存在大量化学工程的问题。若把生物反应器中的每一个细胞都看成一个微型的反应器，并使每一个细胞都处于同一最佳环境下才能使整个生物反应器维持最佳状态。可见生物反应器中的混合、传热、传质是何等的重要。另外，还要考虑搅拌对不同细胞机械剪力的影响。生物反应器的设计和放大不完全是化学工程问题，它还与细胞的生理特性、繁殖规律、代谢途径等密切相关。总之，生物反应器设计和放大是一个非常复杂，但又必须研究解决的工程技术问题。

大多数生物反应过程是好氧过程，因此该课程还要解决大量无菌空气供应问题，包括空气压缩、预处理和空气除菌等。

由于生物反应过程受环境（温度、pH、溶解氧等）的影响明显，此外，反应时间一般较长等原因，过程一般是分批操作，各种反应参数随时间变化。因此，生物反应过程的参数检测和控制显得十分重要。较理想的控制策略是建立在过程模型化（指单反应过程）或专家系统（复杂反应过程）的基础上利用计算机在线数据检测、数据处理和参数控制。这些内容没有列入该课程之内，在学习其他专业课时应给与足够的重视。

下游加工的任务是将目标产物从反应液中提取出来并加以精制达到规定的质量要

求。应该说这一系列的提取精制是难的。因为在反应液中目标产物的浓度是很低的，最高的乙醇也仅在 10% 左右，抗生素一般不超过 5%，一些基因工程或杂交瘤产品则更低，如胰岛素一般不超过 0.01%，单克隆抗体一般不超过 0.0001%。另一困难是反应液杂质多并与目标产物有相似的结构，还有一些具有生物活性的产品对温度、酸碱度及日光都十分敏感，一些药物或食品类产品对纯度、水分、有害物质含量、无菌及洁净程度都有严格的要求。总之，下游加工的工序多，要求高，往往占生物工程产品成本的一半以上。

一些典型的化工单元操作，如液 - 固分离、液 - 液萃取、蒸馏、蒸发、结晶、离子交换、干燥等常用于下游加工。虽然这些单元操作在化工原理课程中已做了介绍，但生物反应产品要求所用设备一般必须满足高效、快速、低温、洁净等特殊要求，因此有些设备还要结合专业特点重新详细论述。

随着 DNA 重组技术和原生质体融合技术等新一代产品的出现，今后生化工程研究的内容包括新型生物反应器的研究开发，特别是针对基因工程产品和动、植物细胞产品的投产研制新型反应器。还有对分离方法和设备的研究开发，特别是针对蛋白质、多肽的分离。目前用于上述产品的分离方法虽较多，有的只能用于实验室规模，对有关分离方法的原理和设备设计、放大问题还不够成熟。还应该多学科协作，建立各种描述生物反应过程的数学模型，以利于过程的控制和优化及计算机的应用等。总之，生化工程还有很多研究课题和发展余地。

本书将在各章节中介绍有关生物反应器基本理论、培养基灭菌、空气除菌、细胞生物反应器、酶反应器、产品提纯等生化工程中最为基本的内容。同时也简单介绍发酵工厂车间设计的相关主要内容。

生物反应器基本理论

尽管生物反应器这个术语较新，但它的利用却有着悠久的历史。古代欧洲用牛胃盛牛奶，牛胃中的活性物质会把牛奶转化为奶酪，这就是原始的奶酪生产方法。而这牛胃便是原始状态的生物反应器，其中活性物质就是凝乳酶。在生物反应器中，通过产物的合成，廉价的原料升了值。因此，生物反应器的设计和操作，就是一个极其重要的问题。本章主要介绍生物反应器的基本工程概念及设计的基本原理。

第一节 生物反应器的基本工程概念

一、生物反应器的类型

利用生物催化剂进行生物技术产品生产的反应装置称为生物反应器，或者说生物反应器是生物化学反应得以进行的场所。生化反应也是一种或一系列的化学反应，故可根据化学反应工程的分类方法从不同角度对生物反应器进行分类。

按操作方式可分为间歇（分批）操作、连续操作、半连续操作三种类型反应器。

按反应器内流体流动及混合程度，反应器可分为理想反应器和非理想反应器。

按几何构形（高径比或长径比）和结构特征，反应器可分为罐式（槽式或釜式）、管式、塔式、及膜式等几类。罐式反应器高径比小（一般为1~3）并通常装有搅拌器构成所谓的搅拌罐（搅拌釜），它既可以分批操作又可连续操作。管式反应器长径比最大（一般 > 30 ），塔式反应器的高径比介于罐式与管式之间，而且通常是竖直安放的，管式和塔式反应器一般多用于连续操作。膜式反应器是在其他形式的反应器中装有膜件，以使游离酶、固定化酶或固定化细胞保留在反应器内防止随反应产物排出。

按相态反应器又可分为均相和非均相两类。气-固、液-固或气-液-固非均相反应系统中，根据流体与催化剂的接触方式，反应器又可分为固定床及流化床等类。

按所使用的催化剂不同，可分为酶反应器和微生物反应器两类。如葡萄糖被葡萄糖异构酶所催化的反应就是单一的酶催化反应，它所需要的生物反应器就称为酶反应器；而葡萄糖发酵成乙醇是由微生物酵母产生一系列酶在无氧条件下所催化而生产的产品。实现这一系列酶催化的生物反应器称为微生物反应器，俗称发酵罐。

随着生物技术的发展，动、植物细胞培养逐渐从实验室规模过度到生产规模。动、植物细胞培养是指动物或植物细胞在体外条件下进行培养繁殖，此时，细胞虽然生长与

增多，但不再形成组织。动、植物细胞培养与微生物培养有较大区别。首先是动物细胞没有细胞壁，而且大多数哺乳动物细胞需要附着在固体或半固体表面才能生长，并对培养基的营养要求苛刻等因素，所以，强烈的机械搅拌与通气鼓泡产生剪切力都会损伤细胞，使细胞破裂。植物细胞具有细胞壁，可以同微生物一样在液体中悬浮培养。但对流体的剪切力的耐受性比微生物要低，加上动植物细胞的生长比微生物缓慢，并且动、植物细胞培养条件又非常适合杂菌生长，所以在反应器的结构上有其特殊要求。

二、生物反应器设计与开发趋势

(一) 设计内容

(1) 反应器类型：根据生产工艺特征，反应及物料特性等因素确定反应器的操作方式、结构类型、传热和流动方式等。

(2) 设计反应器的结构，确定各种结构参数。即确定反应器内部结构几何尺寸，搅拌器形式、大小及转速，换热方式及换热面积等。

(3) 确定工艺参数及控制方式，如温度、压力、通气量、进料浓度、流量等。

在设计生物反应器时，除了与一般的化学反应器相同的地方外，要考虑一些特殊需要。例如，微生物和动、植物细胞都容易受到杂菌的污染，因此，防止染菌是生物反应器设计必须考虑的一个重要因素，应尽量少用法兰连接多采用焊接连接，反应器内要保持一定正压，避免大气漏入等。

(二) 开发趋势

(1) 建立描述生物反应器过程的各种数学模型，以生物反应为研究对象，将其中的生物反应分解为生化反应、传质过程、流体流动及混合等分过程，分别进行研究，然后联立求解动力学方程、物料及热量衡算式，从而得到所研究的生物反应过程规律的解析表达式，获得较精确的反应过程本质的数学模型，以便用于过程的自动化控制、优化反应器的设计与放大。

(2) 大型化生物反应器的开发研究。生物反应器正向大型方向发展，例如抗生素的发酵容积已达 400m^3 ，氨基酸的生产达到 500m^3 ，生产单细胞蛋白的气升式发酵罐达到 2600m^3 ，处理废水的生物反应器容积超过 $27\ 000\text{m}^3$ ，国内生物反应器容积多在 200m^3 以下。反应器的大型化降低了生产成本，但大型反应器的设计还存在一定的技术问题需要加以解决。

(3) 特殊要求的新型生物反应器的研制开发。例如基因产品、细胞固定化及动、植物细胞培养的工业化反应器、固体发酵反应器、边发酵边分离反应器等开发研制已获得广泛的重视。

第二节 理想反应器

生物反应器型式多种多样，但从结构与操作来分析，有间歇操作发酵罐，连续操作发酵罐和管式反应器等基本型式。这几种反应器内物料的流动状况具有典型性。深入研究其中的物料流动状况对生物反应器的影响，将有助于其他反应器理解。

间歇操作发酵罐特点是物料一次加入，反应完毕后一次放出。在良好的搅拌条件下罐内各点温度、底物浓度可接近均匀一致，罐内底物浓度随时间变化，所以反应速度也随时间变化。单罐间歇发酵是微生物或细胞在一个罐内完成延迟期、对数生长期、衰退期等阶段。微生物或细胞在其后两个非旺盛的生长期时间又相当长，因此，必然导致发酵周期长，发酵罐数多，设备利用率低。

若在发酵罐内连续不断地流加培养液，同时又不断地排出发酵液，进行连续操作，使发酵罐中的微生物或细胞一直维持在优化状态下生长和产物形成，这样就缩短了发酵周期，提高了设备利用率，因此，20世纪50年代后开始有了连续发酵技术。连续操作可用间歇操作相同的设备，这种操作与间歇操作相比反应器内反应温度、底物浓度都不随时间变化，因而反应速度也保持不变。

从理论上讲生物反应器也可在一个管内进行，这种反应器特点是一端加入反应物，从另一端引出反应产物。反应物在管内沿流动方向前进，反应时间是管长的函数，底物浓度和反应速度沿流动方向逐渐降低。在操作达到稳定状态后，沿管长上任一点的浓度、温度、压力等参数都不随时间而改变，因而各点反应速度也不随时间而改变。

一、返混与停留时间分布

在连续操作反应器的有效容积为 V_A ，通过反应器的体积流量为 F ，则 V_A/F 就可求出物料通过反应器所需要时间，称为平均停留时间 (τ)。

在间歇反应器中，物料一次加入，反应完毕后一起放出，全部物料粒子经历相同的反应时间，没有停留时间分布。而在连续反应器中，同时进入反应器的物料粒子，有的很快就从出口流出，有的则经过很长时间才从出口流出，停留时间有长有短，形成一定的分布，称为停留时间分布。

(一) 年龄分布与返混

停留时间分布有两种：一种是指反应器内的物料而言的，称为器内年龄分布，简称年龄分布；另一种是指反应器出口的物料而言的，称为出口年龄分布，也称寿命分布。

(1) 年龄分布 从进入反应器的瞬间开始算年龄，到所考虑的瞬间为止，反应器内的物料粒子，有的已经停留了 $1s$ (年龄 $1s$)，有的已经停留 $10s$ (年龄 $10s$) ……。这些不同年龄的物料粒子混在一起，形成一定分布，称为年龄分布。而不同年龄的物料粒子混在一起的现象称为返混，所以，返混是时间概念上的混合，是反应器内不同停留时间的物料粒子之间的混合，它与停留时间分布联系在一起，有返混必然存在停留时间分布；反之，若没有停留时间分布，则不存在返混。应注意：返混的概念与一般所谓物料混合的含义是不同的。如在间歇操作中，反应器内在强烈的搅拌作用下使器内各处物料均匀混合，但由于物料是一次加入，反应完毕后一起放出，全部粒子在反应器内停留时间相同，所以不存在返混现象。在连续管式反应器中，虽然在层流流动时粒子之间互不干扰，但因管中心粒子流速最大，停留时间最短，靠近管壁的粒子流速小，停留时间长，造成流速不均，就会产生停留时间分布，引起管式反应器的返混。所以，返混是连续操作反应器中特有的现象。

(2) 寿命分布 从进反应器的瞬间开始算年龄，到考虑的时间为止。在反应器出口

的物料中，有的粒子在器内已经停留了 $5s$ ，有的已经停留 $8s$ ……。因为这些粒子已经离开反应器了，它们的年龄也就是寿命。在出口物料中，不同寿命的粒子混在一起，形成一定的分布，称为寿命分布。

年龄分布与寿命分布之间存在一定的关系，已知其中一种分布，即可求出另一种分布，由于反应器内的物料容积大，取样难以代表整个反应器的情况，所以一般都是实验测定寿命分布。

（二）返混产生的原因

（1）涡流与扰动 管式反应器进出口的涡流与扰动，引起物料粒子间的混合，造成返混。

（2）速度分布 管式反应器中沿径向各点速度不同，因而停留时间不同，引起返混。

（3）沟流 填充床中由于沟流等原因使物料粒子以不同流速通过反应器，引起返混。

（4）倒流 连续搅拌罐中由于搅拌作用引起物料倒流，造成返混。

（5）短路与死角 连续反应器中由于短路与死角使物料粒子在反应器内的停留时间不同，造成返混。

由于返混，物料粒子的停留时间长短不一，停留时间短粒子过早离开反应器，而停留时间长的粒子可能进一步成为副产物。所以总的来说，对化学反应返混会使产品收率、质量降低。

如前所述，连续操作对生化反应是有利的。如果在分批培养的某一时刻，向生物反应器中以一定的流量不断加入培养基，同时以相同流量不断取出培养液，由于不断有新鲜培养基补充细胞的消耗，有害代谢物则不断被稀释排出，生物反应器就可长期进行下去。通常这时培养液的组成恒定，所以也称为恒化培养。连续培养在单细胞蛋白、丙酮、啤酒等生产过程中得到应用。不过工业上连续培养的应用远不如分批培养普遍，这主要由两个原因造成。一是连续培养延续时间长，发生杂菌污染机会比较多。第二是长期进行连续培养时细胞变异发生退化的现象就比分批培养突出。当退化的细胞所占比例逐渐增大时，生产能力就会逐渐下降。

总之，返混的概念很重要，不仅在讨论反应器时要应用返混的概念，在无反应的设备内有时也要提到返混。

二、停留时间分布的测定

设备中的返混现象可通过一个简单的实验来观察。见图 1-1，在处于正常流动下的反应器进口处在一极其短的瞬间内迅速加入少量某种示踪剂（输入讯号），与此同时，在反应器出口处连续或间断测定该示踪剂的浓度（输出讯号），并以浓度为纵坐标，以时间为横坐标可标绘出（图 1-2）结果。这种方法称为脉冲示踪法。该实验测出的结果是寿命分布。

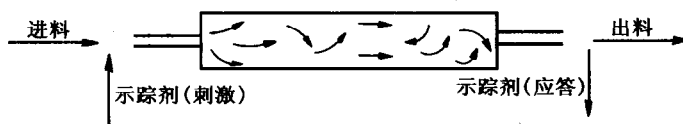


图 1-1 停留时间分布测定

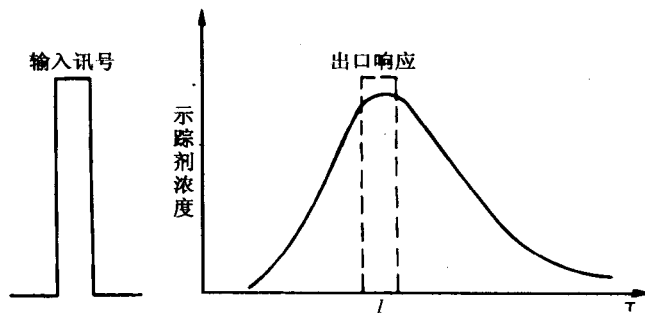


图 1-2 示踪输入讯号与出口响应

显然，如果所测试的设备不存在返混，则出口测得的示踪剂应如（图 1-2）中虚线所示，也就是与输入的讯号完全相同，如果设备内存在一定返混，测出口处示踪剂浓度变化就是图中的实线所示。从图中曲线的形状可以直观地看出具有返混的设备内有一部分示踪剂在平均停留时间之前已排出反应器，这表明必有部分物料的实际停留时间小于平均停留时间；而一部分示踪剂在平均停留时间之后开始排出，由此形成停留时间分布。可以作为示踪剂的物质很多，如有色物质、电解质、放射性物质等。对其要求是不能对流动状态产生任何影响，不参与反应、不挥发、不沉淀、物料容易质量守恒，还要容易分析测定。

除脉冲法外还有阶跃法，其区别是阶跃法是连续向系统加入示踪剂，两种方法都必须保证示踪剂输入点与系统入口截面之间不产生返混现象。

测定停留时间分布可描述返混程度的大小。反应器的结构形式和大小都导致不同的停留时间分布。测定停留时间分布曲线后，可根据曲线的形状做出定性的分析，推断反应器内的流动情况，分析设备的结构形式与操作条件是否合适，以便制定改进措施。所以，停留时间分布已成为连续反应器设计和放大中必须考虑的因素之一。也可根据停留时间分布曲线直接对某些反应器进行定量的计算。

三、理想反应器模型

根据停留时间分布曲线，用数学方程来描述物料在实际反应器内的流动情况，并对反应器进行计算，从理论上说是完全可以的。但数学方程十分复杂，解起来十分困难，不便实用。从工程实际应用出发，不一定对实际反应器内流动状况做其精确的数学描述，而通常是对反应器内的流动状况进行合理的简化。假定反应器内物料是按照某一种模式流动的，这种模式既要能基本反映物料的实际流动状况，又要能比较简便地进行数

学计算，这种合理的简化模式就叫做流动模型。在分析和计算实际反应器时，用对模型的分析 and 计算去代替实际反应器的分析和计算，这种处理问题的方法叫做数学模型法。

物料在实际反应器内的流动状况大致可以分为基本无返混，基本上全混或介于两者之间等三种情况。针对着第一种情况提出了平推流模型，针对第二情况提出了全混流模型，针对第三种情况提出的流动模型有轴向扩散模型和多釜串联模型。

(1) 平推流模型 这是不存在返混的一种理想流动型式。其特点是流体通过细长管道时，在与流动方向垂直截面上，各粒子流速完全相同，就像活塞推过去一样，故称平推流，也称为活塞流。流体粒子在流动方向（轴向）上没有混合与扩散，所以，同时进入反应器的粒子将同时离开反应器，即物料粒子的停留时间都是相同的，不存在返混。流型为平推流的反应器称为平推流反应器或称活塞流反应器（plug flow reactor，简称为PFR）。对于均匀细长的管式反应器，当雷诺数（ Re ）数很大时，流动状况接近平推流；长径比大且流速高的固定床反应器一般也可以用这个理想模型近似模拟。

(2) 全混流模型 这是返混程度为最大的一种理想型式，其特点是新鲜物料一进入反应器就立即均匀分散在整个反应器内，与反应器内原有物料能在瞬间达到完全混合，且能在出口同时检测到新加入的物料粒子。反应器内物料的温度、浓度完全均匀一致，并与出口物料的温度、浓度相同。物料在反应器内的停留时间有长有短，分布的最分散，达到最大返混。相应的反应器称为连续搅拌釜式反应器（continuous stirred tank reactor，简称为CSTR），又称为全混流反应器（简称全混釜）。连续搅拌釜内的物料流动情况接近全混流，尤其是搅拌十分剧烈时，可视为全混流。

上述完全不返混和完全返混的两种极端的流动称为理想流动，相应的反应器称为理想反应器。在实际反应器中的流动往往或多或少的偏离理想流动，称为非理想流动。非理想流动的主要特征是：反应器内流体存在着某种停留时间分布，它既不像平推流那样所有流体微元停留时间都相等；也不像全混流那样由于返混最大而存在着确定已知的停留时间分布。下面两种流型就是针对非理想流动情况。

(3) 轴向扩散模型 轴向扩散模型是当实际与平推流偏离不大，即有返混，但返混程度不大时，对平推流模型做较小的修正而得到的模型。这种模型认为流体之所以偏离平推流而出现返混是由于分子扩散作用而引起的，它相当于在平推流的主体上叠加一个反方向扩散，扩散可用费克定律描述：

$$N_A = -D \frac{dC_A}{dL} \quad (1-1)$$

式中， N_A ——物质 A 的扩散速度， $\text{kmol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ ；

$\frac{dC_A}{dL}$ ——轴向浓度梯度， kmol/m^4 ；

D ——轴向扩散系数， m^2/s 。

符号表示扩散与主流方向相反， D 越大，返混越大。（图 1-3）为轴向扩散模型示意图。

(4) 多釜串联模型 对于偏离全混流模型较小的实际流型，常用多釜串联模型加以描述。多釜串联模型，即假设一个实际设备中的返混情况等于若干个等容积全混釜串联

时的返混。模型中串联的釜数 N 是虚拟的，不一定是整数。它只是多釜串联模型的模式参数。但 N 个虚拟釜的总容积等于实际反应器的容积，所以每一个虚拟釜中的停留时间为实际反应器停留时间的 $1/N$ 。如某一实际反应器内的流动状况相当于 5 个全混流反应器的串联组合，则便可按全混流模型去逐个计算 5 个全混流反应器，以代替对实际反应器的计算，其计算结果应与实际基本相符。由于理想反应器流动状况易知，这样便可大大简化了数学运算，同时也可满足实际要求。

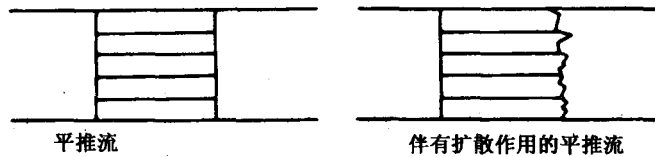


图 1-3 轴向扩散模型示意图

第三节 生物反应器的计算基础

反应器设计的重要任务之一就是根据规定的生产任务和工艺条件确定必要的反应器体积。要想求出反应器体积就必须求出所需反应的时间。

一、反应器设计与操作参数

决定反应器设计和操作性能的参数有空时、转化率、生产率、反应能力等，当副反应不可忽视时，选择性也是很重要的参数。下面以酶反应器为例说明各参数的关系。

(一) 反应器的空时 τ

分批反应器中所有物料的停留时间相同，且等于反应时间；在活塞流反应器中所有物料停留时间和反应时间也相同，且容易求出。对全混反应器情况就不同，这时期用平均停留时间 τ （又称空时）来表示，其定义为：

$$\tau = V_R / F \quad (1-2)$$

式中， V_R ——反应器有效容积， m^3 ；

F ——通过反应器的液体体积流量， m^3/s ；

τ ——处理反应器有效容积 V_R 的物料所需要的时间， s 。

空时的倒数称为空速 (SV)：

$$SV = \frac{1}{\tau} = \frac{F}{V_R} \quad (1-3)$$

SV 则表示单位时间内能够处理相当几倍反应器容积的物料。可见 τ 越小，SV 越大，表明反应器的效率越高。

(二) 转化率 x

转化率是表明反应器内供给的底物发生转化的分率。对间歇操作：

$$x = \frac{[S]_0 - [S]_t}{[S]_0} \quad (1-4)$$

式中, $[S]_0$ ——底物的初始浓度, kmol/m^3 ;

$[S]_t$ ——反应 t 时的底物浓度, kmol/m^3

对连续操作:

$$x = \frac{[S]_{\text{in}} - [S]_{\text{out}}}{[S]_{\text{in}}} \quad (1-5)$$

式中, $[S]_{\text{in}}$ ——进口处底物的浓度, kmol/m^3 ;

$[S]_{\text{out}}$ ——出口处底物浓度, kmol/m^3 。

(三) 反应器生产率 P_r)

反应器生产率也称生产能力, 其单位是 $\text{kmol}/(\text{m}^3 \cdot \text{s})$ 。 P_r 系指单位反应器容积单位时间内所产的产物量。对间歇操作:

$$P_r = \frac{x \cdot [S]_0}{\tau} = \frac{[S]_0 - [S]_t}{\tau} \quad (1-6)$$

对连续操作:

$$P_r = \frac{x \cdot [S]_{\text{in}}}{\tau} \quad (1-7)$$

(四) 反应能力 C_R)

对酶催化反应来说, 其反应能力的单位为 kmol/s 。可用下式表示:

$$C_R = r_{\text{max}} \epsilon V_R \quad (1-8)$$

式中, r_{max} ——最大反应速度, $\text{kmol}/(\text{m}^3 \cdot \text{s})$;

ϵ ——反应器的持液率 (在固定床中 ϵ 约为 0.5~0.7, 而在釜式反应器中其值近乎为 1.0)。

最大反应速度 $r_{\text{max}} = k_2 [E]_0$, k_2 是速度常数, $[E]_0$ 是反应器中酶的浓缩。

(五) 选择性 S_p)

当反应过程中有副反应发生时, 则除生成目的产物外, 还生成其他产物时, 通常使用选择性这个概念。选择性 S_p 是指实际转化成目的产物量与全部底物的理论量之比。

$$S_p = \frac{[P]}{\alpha([S]_0 - [S])} \quad (1-9)$$

式中, $[P]$ ——产物千摩尔浓度, kmol/m^3

α ——反应计量式中每千摩尔底物生成目的产物的理论量 (千摩尔数)。

二、间歇反应器的计算

物料衡算是反应器计算的基本方程式。进行物料衡算时, 通常是对物料中某一组分进行物料衡算。无论对流动系统或对间歇系统, 物料衡算均可用下列普遍式表示:

$$\text{进入量} - \text{排出量} = \text{反应量} + \text{积累量} \quad (1-10)$$

对间歇反应器来说, 由于反应过程中无物料加入与排出, 故:

$$\text{进入量} - \text{排出量} = \text{反应量} + \text{积累量}$$

$$0 \quad 0 \quad rV_R \quad \frac{d(V_R [S])}{dt}$$

$$\text{即} \quad rV_R = \frac{-d(V_R[S])}{dt} \quad (1-11)$$

式中， r ——反应速度， $\text{kmol}/(\text{m}^3 \cdot \text{s})$ ；

t ——反应时间， s 。

对液体反应 $V_R = \text{常数}$ 。

$$\text{故} \quad r = -\frac{d[S]}{dt} \quad (1-12)$$

式(1-12)可以写成：

$$t = -\int \frac{d[S]}{r} \quad (1-13)$$

上式即间歇反应器的设计的基本方程式。对间歇反应器的生产周期还应考虑辅助时间(包括进料、出料、清洗、灭菌等)。

三、平推流反应器的计算

平推流反应器是指其中物料的流动满足平推流假定，即通过反应器的物料以相同的速度向前流动，在流动方向上没有返混，所有物料的停留时间相同，在同一截面上物料组成不随时间变化，但随物料流动方向而改变。由于底物浓度在反应器轴向长度上是变化的，因此必须取反应器中某一微元容积 dV 作物料衡算。见图 1-4。

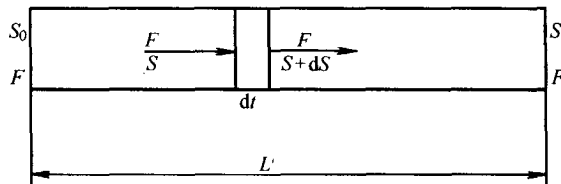


图 1-4 平推流反应器的物料衡算

$$\begin{array}{ccccccc} \text{进入量} & - & \text{排出量} & = & \text{反应量} & + & \text{积累量} \\ F[S] & & F([S] + d[S]) & & rdV & & 0 \end{array}$$

$$\text{即} \quad -Fd[S] = rdV \quad (1-14)$$

对整个反应器而言：

$$\int \frac{-d[S]}{r} = \int_0^V \frac{dV}{F} = \tau$$

$$\text{即} \quad \tau = \int \frac{-d[S]}{r} \quad (1-15)$$

此即平推流反应器的设计方程式。比较式(1-15)与式(1-13)可知：对恒容过程而言，平推流反应器的设计方程与间歇反应器完全一样。即在对同一反应达到相同的反应程度时，底物在管式反应器内停留时间与间歇反应器的反应时间是相同的。所以，可以用间歇反应器中的试验数据进行管式反应器的设计与放大。

平推流反应器与间歇反应器是两种结构型式的不同反应器，它们的物料流动情况也有根本的区别。然而它们的基础设计方程却具有相同的形式。这是因为物料在这两种反

应器中都没有返混，底物经历了相同的变化历程，只是在间歇反应器中，浓度是随时间而变化，在管式反应器中浓度是随空间变化而已。就反应本身而言，间歇反应器与平推流反应器所需要有效容积相同。但间歇反应器存在辅助时间与装料系数，所以它需要的总容积比管式反应器要大。因此，对反应时间短，辅助时间相对较长的反应来说，选用管式反应器较为合适。在某些化学反应中会有这种情况。而在生化反应中反应时间一般都较长并通常反应存在气-液-固三相，所以常采用间歇反应器。

四、全混流的反应器计算

在生化工程中称这类反应器为恒化器（保持适当的流速，使微生物、底物、产物浓度都维持在某一水平上）。在发酵工业中，通常有搅拌、上升气流，或二者皆有。使反应物料在反应器中完全混合。对稳态下的全混流反应器作物料衡算如下：

$$\text{进入量} - \text{排除量} = \text{反应量} + \text{积累量}$$

$$F[S]_0 - F[S] - rV_R = 0$$

$$\tau = \frac{V_R}{F} = \frac{[S]_0 - [S]}{r} \quad (1-16)$$

上式即为全混流反应器的基础计算式。

以上介绍了三种理想反应器设计的基本计算式。从公式可以看出：要想求出反应时间 τ （或 t ），就必须知道有关的反应速率 r 方程。生化反应的 r 大多是很难知道的（对酶催化反应可用米氏方程通过实验测定相应的动力学参数解决 r ），因此，目前大多数生化反应的反应时间还需要通过小试、中试来求得。但上述介绍的内容，对分析实际生化反应器内流动情况及设备的选择是非常重要的。

主要符号表

符 号	意 义	法定单位
D	轴向扩散系数	m^2/s
F	流体体积流量	m^3/s
N_A	物质 A 的扩散速度	$\text{kmol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$
$[P]$	产物千摩尔浓度	kmol/m^3
r	反应速度	$\text{kmol}/(\text{m}^3 \cdot \text{s})$
$[S]$	底物浓度	kmol/m^3
t	反应时间	s
V_R	反应器有效容积	m^3
τ	平均停留时间	s

第二章

培养基灭菌及设备

生物化学反应过程中，特别是各种培养过程中，往往要求在没有杂菌的情况下进行，称为纯种培养（即用特定的菌种进行培养）。纯种培养便于控制，容易得到需要的产品。但是，纯种培养并不容易实现，因为在我们周围存在数以亿万计的杂菌，若杂菌进入生物反应系统中，就会与生产菌争夺营养产生以下不良后果：

由于杂菌的污染，使生物反应的基质或产物，因杂菌的消耗而损失，造成生产能力的下降；

由于杂菌所产生的一些代谢物或有染菌后改变了发酵液的某些理化性质，使产物的提取变得困难，造成收率降低或使产品质量下降；

杂菌可能分解产物，而使生产失败。

杂菌大量繁殖会改变反应介质的 pH，而使生物反应发生异常变化。

若发生噬菌体污染，会使生产菌细胞破裂，而使生产失败。

有些培养过程，由于培养基中的基质不易被杂菌利用，或者由于温度、pH 等不适于杂菌的生长，因而可在不很严格的条件下生产。但多数培养过程都要求在严格的条件下进行纯种培养，所以应采取以下必要措施：

使用的培养基和设备必须经过灭菌；

好氧培养过程中使用的空气应经除菌处理；

设备应密封严密。生物反应器中要维持高于外界环境的压力；

培养过程中加入的物料应经过灭菌；

使用无污染的纯种子等。

第一节 灭菌的基本理论

所谓灭菌，就是指用物理或化学方法杀灭或除去物料或设备中一切有生命物质的过程。

一、常用灭菌方法

(1) 化学药剂灭菌 一些化学药剂能与微生物发生反应而起杀菌作用。常用的化学药剂有甲醛、次氯酸钠、高锰酸钾、苯酚、环氧乙烷、新洁尔灭等。由于化学药剂也会与培养基中的一些成分作用，而且加入培养基后不易去除，所以不用于培养基的灭菌，

只适合局部空间或某些机械的消毒。另外，在植物细胞培养过程中用于培养外的植物体，例如来自温室或田间开放培养的种子、幼苗、组织，这些材料都带有各种微生物，当与培养基接触时，微生物就会迅速生长而抑制培养物的生长，故在培养前必须用化学药剂法对其进行消毒处理。

(2) 射线灭菌 射线灭菌是利用紫外线、高能电磁波或放射性物质产生的高能粒子进行灭菌的方法。波长为 $2.1 \times 10^{-7} \sim 3.1 \times 10^{-7} \text{m}$ 的紫外线有灭菌的作用，最常用的波长为 $2.537 \times 10^{-7} \text{m}$ 的紫外线。但紫外线的穿透力低，所以仅用于表面消毒和空气的消毒。除了紫外线，也可利用 $0.06 \times 10^{-10} \sim 1.4 \times 10^{-10} \text{m}$ 的 X 线或 ^{60}Co 产生的 γ 射线进行灭菌。

(3) 干热灭菌 常用的干热灭菌的条件是在 160°C 保温 1h。进行干热灭菌可使微生物的细胞破坏、蛋白质变性及各种细胞成分发生氧化。干热灭菌不如湿热灭菌有效， Q_{10} （即温度升高 10 灭菌速度常数增加的倍数）仅为 2~3，而湿热灭菌对耐热的芽孢可达 8~10。一些要求保持干燥的实验器具和材料（如培养皿、接种针、固定化细胞所用的载体材料等）可以进行干热灭菌。

(4) 湿热灭菌 即利用饱和蒸汽灭菌。由于蒸汽有较强的穿透力，而且在冷凝时放出大量的冷凝潜热，很容易使蛋白质凝固而杀灭各种微生物。将饱和蒸汽通入培养基中灭菌时，冷凝水会使培养基的浓度下降，所以在配制培养基时应扣除冷凝水的体积，以保证培养基在灭菌后的应有的浓度。蒸汽的价格低廉，来源方便，灭菌效果可靠，是发酵工业最基本的灭菌方法。通常用蒸汽灭菌的条件是在 120°C （100kPa 表压）维持 20~30min。

(5) 过滤除菌 即利用过滤方法阻留微生物，达到除菌的目的。此方法只适用澄清流体的除菌。工业上利用过滤方法大量制备无菌空气，供好氧微生物培养过程使用。在产品提取过程中，也可利用无菌过滤方法处理料液，以获得无菌的产品。

以上几种灭菌方法有时可以结合使用。例如动物细胞离体培养的培养基中通常含有血清、多种氨基酸、维生素等，它们是热不稳定物质，在制备培养基时，可将其中不稳定物质的溶液用无菌过滤方法除菌，其他物质的溶液则可进行蒸汽灭菌，再合并使用。

二、微生物的热死及耐热性

从微生物的整体来看，生长温度范围很广（ $0 \sim 80^\circ\text{C}$ ）。各种微生物按其生长速度可分为三个温度界限，即最低生长温度、最适生长温度、最高生长温度。超出最低和最高生长温度的范围，生命活动就要中断。

一般说来，微生物对低温的敏感性没有对高温敏感性显著。因为微生物对低温的抵抗力一般较高温强，虽然低温可以使一部分微生物死亡，但大多微生物在低温状态下只是代谢活动减弱或降低，菌体处于休眠状态，其生命活力依然存在。然而，微生物在超过最高生长温度时，就会死亡。温度越高死亡越快，这就是常用加热方法灭菌的道理。然而微生物在受热死亡的难易快慢却不一样。有一些微生物受热后很容易死亡，用较低温度和较短的时间便能使它们致死，但另一些微生物则十分顽强，往往需要较高的温度和较长的时间才能把它们杀死。微生物对热的抵抗能力称为微生物的耐热性，是热灭菌

的重要参数。微生物耐热性表示方法有多种，以下是最有代表性的几种：

(1) 1/10 衰减时间和热死速度常数 1/10 衰减时间是表示在一定温度下加热使原有活菌数减少至 1/10 所需要的时间，也称 90% 死灭时间。其倒数为热死速度常数。

(2) 热死（致死）时间 热死时间是指在一定温度下杀死某种微生物所需要的最短时间。

(3) 热死（致死）温度 热死温度是指某种微生物在一定时间（通常加热 10min）内杀死细胞所需要的最低温度。

(4) 热阻及相对热阻 微生物热阻用其热死时间表示。相对热阻系指相同条件下，两种微生物热死时间的比值。（表 2-1）为各种微生物在湿热灭菌条件下的相对热阻。

表 2-1 各种微生物对湿热的相对热阻（与大肠杆菌比较）

微生物	相对热阻
营养细胞和酵母	1.0
细菌芽孢	3×10^6
霉菌孢子	2-10
病毒和噬菌体	1-5

从（表 2-1）中可看出营养细胞容易被杀死。而细菌芽孢因有致密的外皮和干燥的内含物而极难致死，和其他类型的微生物比较，对湿热有很大的热阻。所以，在设计灭菌操作时，必须以细菌芽孢为杀灭对象，因为只有杀灭了芽孢，才可认为其他杂菌一定也被同时杀灭。这一点，也是食品灭菌的依据，同时也是发酵培养基灭菌的基础。

三、培养基的灭菌

（一）微生物的死亡速率

微生物受热死亡是生化反应过程，可用死亡速率表示。对培养基进行湿热灭菌时，培养基中的微生物受热死亡的速率与残存的微生物数量成正比，称对数残留定律。对数残留定律表明：微生物受热被杀死，主要原因是高温能使蛋白质变性。这种反应属于单分子反应，死亡速率可视为一级反应，即活微生物数量愈多，微生物死亡愈快，可用下式表示。

$$-\frac{dN}{d\tau} = KN \quad (2-1)$$

式中， N ——培养基中活微生物个数；

τ ——时间，s；

K ——速度常数或比死亡速率常数， $1/s$ 。

若开始灭菌（ $\tau = 0$ ）时，培养基中活微生物数为 N_0 ，将式 2-1 积分则可得

$$\ln \frac{N}{N_0} = -K\tau \quad (2-2)$$

$$\tau = \frac{1}{K} \ln \frac{N_0}{N} = \frac{2.303}{K} \lg \frac{N_0}{N} \quad (2-3)$$

上式 N 为经过时间 τ 后残留的活微生物数。将存活率 N/N_0 对时间在半对数坐标纸上标绘，可以得到一条直线，其斜率的值即为速度常数 K 。图 2-1 为大肠杆菌在不同温度下的残留曲线。该图表明温度升高， K 值变大，微生物越容易热死； K 值小，表明微生物越不易热死。所以 K 值表明微生物耐热性的强弱。

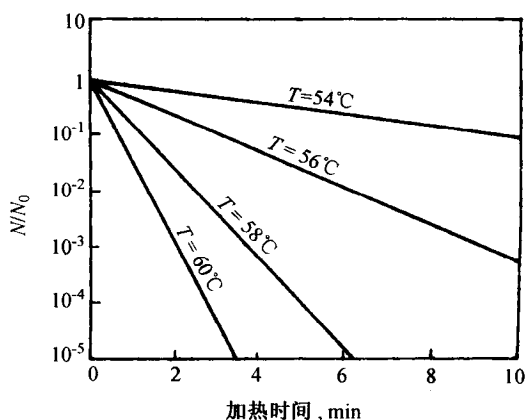
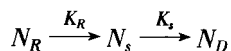


图 2-1 大肠杆菌的典型受热死亡曲线

在一定温度下，速度常数 K 随微生物不同而不同。例如：在 121°C 时，枯草芽孢杆菌 $K = 0.043 \sim 0.063 \text{ 1/s}$ 。嗜热脂肪芽孢杆菌的 $K = 0.031 \text{ 1/s}$ 。产气梭状杆菌的 $K = 0.03 \text{ 1/s}$ 。

某些微生物受热死亡的速率不符合式 2-2 所表示的对数残留定律，将其 N/N_0 对灭菌时间 τ 在半对数坐标纸上标绘，会得到的残留曲线不是直线关系，见图 2-2 所示。这种现象常见于细菌芽孢的受热死亡。有关这一类热死动力学的行为，虽然可用多种模型来描绘，但其中以 Prokop 和 Humphrey 所提出的“菌体相继死亡模型”最为人们所接受。因为这种模型能用最少的动力学参数表达死亡动力学。此模型认为芽孢的死亡不是突然的，它是经历了下列过程才死亡：



这种模型认为：芽孢从耐热的芽孢 (R 型) 变为死亡的 D (型), 中间经历了一个对热敏感的中间芽孢 (S 型)。它的动力学微分方程为：

$$\frac{dN_R}{d\tau} = -K_R N_R \quad (2-5)$$

$$\frac{dN_s}{d\tau} = K_R N_R - K_s N_s \quad (2-6)$$

式中， N_R ——耐热性活芽孢数；

N_s ——敏感性活芽孢数；

N_D ——死亡的芽孢数；

K_R ——耐热性芽孢的比死亡速率常数， $1/\text{s}$ ；

K_s ——热敏性芽孢的比死亡速率常数， $1/\text{s}$ 。