

静态混合环流式多糖生物反应器研究

毛忠贵 王鸿祺

(生物工程系)

摘要 在静态混合环流式反应器内,发现高表现粘度的黄原胶水溶液中(7.0~8.0Pa·s),SL型静态混合器对提高 $k_L a$ 比SK型有利。经黄原胶发酵试验,最终发酵液胶浓平均3.02%,反应器电耗6620kwh/t胶。在剪切速率约为 $200s^{-1}$ 的高剪切区内进行气液混合,有利于气液固之间的质量传递和能耗的降低。

主题词 反应器;混合器;黄原胶/多糖生物反应器;静态混合器

中图分类号 TS201.5

0 前言

黄原胶生产菌——甘蓝黑腐病黄单胞菌(*Xanthomonas Campestris*)是一种高气性菌,在一定的发酵条件下,分泌出水溶性的粘性物——黄原胶。在发酵过程中,发酵液中黄原胶浓度渐增,发酵液表观粘度大幅度增加。发酵开始时 $0.001Pa \cdot s$ 左右,到发酵结束时上升到近 $10Pa \cdot s$ 。发酵液的流体性质也从牛顿型流体转变为高度拟塑性的非牛顿型流体,从而导致发酵中后期的质量传递特别是氧的传递非常困难。发酵工业常用的“标准”机械搅拌罐难以胜任黄原胶的发酵任务^[1]。常用的直叶涡轮对黄原胶发酵液的混合效率低^[2,3]。Metzner和Taylor^[4]曾对高粘度拟塑性流体在机械搅拌罐中的流动模型和气液混合情况作了如图1的描述。流体的拟塑性对流动模型和气液混合影响很大,涡轮搅拌桨搅拌区显示出很好的混合。在该区域剪切速率高,流体表现粘度低,而在搅拌区之外,因剪切速率随着离开涡轮的距离的增大

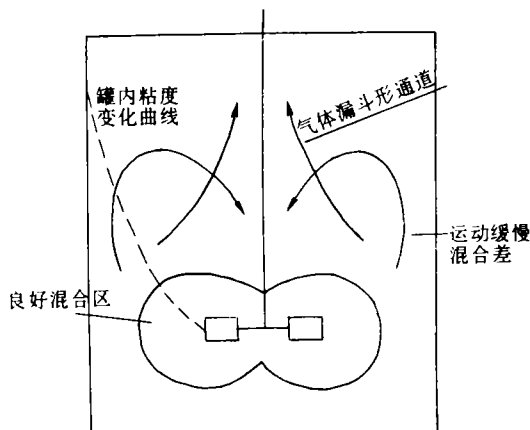


图1 机械搅拌罐中高粘度拟塑性流体流动模型和气液混合情况

收稿日期:1995-01-16

成指数规律地减小^[5],所以表观粘度也就很快升高(图1中虚线所示)。在远离搅拌器的近罐壁处,特别是在档板的后面容易形成静止区,高粘度还会降低搅拌桨叶的泵液能力。无菌空气容易通过罐中心形成的倒漏斗型通道逃逸而不能均匀地和液体混合,从而限制了发酵水平的提高。本文以气液静态混合为主导思想,报道了一种新型的能适合多糖发酵的生物反应器的研制结果。

静态混合器(Static Mixer)是相对于搅拌器而推出的一种新型高效节能混合设备。所谓“静态”是指混合器内没有运动部件。不互溶的两种流体在其中流动,流体通过管状外壳时,受内件的约束,发生分流,合流,旋转,改变流向等运动。结果使每种流体都达到良好的分散,流体间达到良好的混合。这种过程和搅拌混合相比,具有能耗低,分散效果好,投资省,维修费少等优点^[6~8]。

本研究以静态混合器为反应器的重要结构部件,旨在开发一种适合于粘性多糖发酵的生物反应器。

1 材料与方 法

1.1 生物反应器及配套装置

- 1) 生物反应器(图2)
- 2) 空压机 Z-0.025/6 型
- 3) 调速电机 JZT12-4 型
- 4) 单螺杆泵 1G30 型
- 5) 静态混合器 SL,SK 型
- 6) O₂ 分析仪 QZS-510 型
- 7) CO₂ 红外线气体分析器 QGS-08 型

1.2 菌种

甘蓝黑腐病黄单胞菌 N. K. -01 菌株(*Xanthomonas Campestris* N. K-01)。

1.3 培养基

- 1) 斜面培养基(%) 蔗糖 2,蛋白胨 0.5,牛肉膏 0.3,酵母膏 0.1,琼脂 2,pH 7.0.
- 2) 种子培养基(%) 蔗糖 2,蛋白胨 0.5,牛肉膏 0.3,酵母膏 0.1,pH 7.0.
- 3) 发酵培养基(%) 玉米淀粉 4~5,鱼粉 0.6,轻质 CaCO₃ 0.3,pH 7.0.

1.4 操作条件

- 1) 接种量 8%~10%(V/V),种子 28 C,20~24h,镜检合格后使用。
- 2) pH 6.5~7.0.
- 3) 温度 27~29 C.
- 4) 环流量调节 调速电机控制螺杆泵转速。

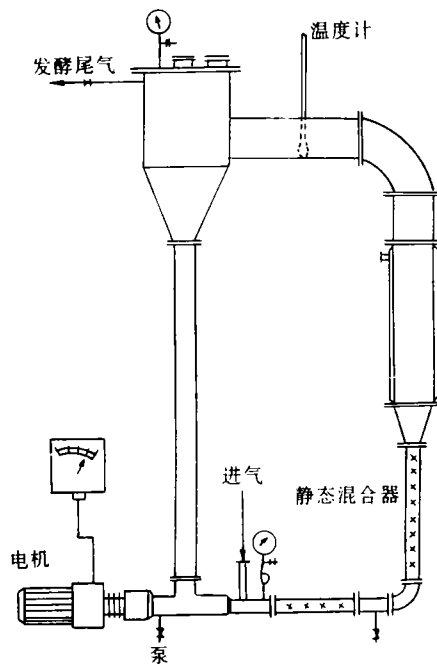


图2 静态混合环流式多糖生物反应器

5) 空气流量 转子流量计调节。

1.5 测定方法

1) 发酵液流变特性及表观粘度测定用 NXS-11 型旋转粘度计,在剪切速率 5.675s^{-1} 或 5.825s^{-1} 下测定表观粘度。

2) 残糖测定 淀粉酶,糖化酶水解后用菲林热滴定法测定。

3) 黄原胶含量测定 无淀粉残余的发酵液 100ml,加 200ml(95%)乙醇,快速搅拌,将絮状沉淀物用 50ml 无水乙醇洗涤两次,滤干后用热气流干燥,称重。

4) 气泡直径 d_{32} Sauter 统计法。

5) k_1a 测定 亚硫酸钠法。

1.6 计算公式

1) 分散相 Sauter 平均直径 d_{32} ^[5]

$$d_{32} = \frac{\sum n_i D_i^3}{\sum n_i D_i^2}$$

n_i 为气泡数目; D_i 为单个气泡直径(mm)。

2) 广义雷诺准数 Re' ^[9]

$$Re' = d^n v^{2-n} \rho / k 8^{n-1} (3n + 1/4n)^n$$

d 为直径(m); n 为流变指数(-); v 为速度(m/s); k 为稠度系数($\text{Pa} \cdot \text{s}^n$); ρ 为流体密度(kg/m^3)。

3) 泵功率(有用功率) N_L , 气体功率 N_g

$$N_L = QH\rho/102$$

$$N_g = M_g [(RT/M)\ln(P_1/P_2) + 1/2v_g^2]^{\text{[10]}}$$

M_g 为空气质量流速(kg/s); M 为空气平均分子量(kg/mol); R 为气体常数($\text{J}/\text{mol} \cdot \text{K}$); T 为绝对温度(K); P_1, P_2 为气体进出口压力(N/m^2); v_g 为进口气体速度(m/s)。

4) 拟塑性流体指数律方程

$$\tau = k(du/dy)^n, \text{圆管内 } \tau = k|du/dr|^n$$

τ 为剪切力(N/m^2); k 为稠度系数($\text{Pa} \cdot \text{s}^n$)。

5) 拟塑性流体在圆管内层流速度分布 v_r , 最大流速 v_{\max} 与平均流速 v_m 关系

$$v_r = v_{\max} [1 - (r/R)^{(n+1)/n}]^{\text{[9]}}$$

$$v_{\max} = v_m [(3n + 1)/(n + 1)]$$

6) 拟塑性流体在圆管内层流剪切速率分布 du/dr 和平均剪切速率 $|du/dr|_m$ 的理论推导

对 $v = v_{\max} [1 - (r/R)^{(n+1)/n}]$ 求导

$$du/dr = -(n + 1)/n \cdot v_{\max} (1/R)^{(n+1)/n} r^{1/n} = -[(3n + 1)v_m/nR](r/R)^{1/n}$$

平均剪切速率

$$\begin{aligned} |du/dr|_m &= 1/A \cdot \int_0^A (-du/dr) dA = 1/\pi R^2 \cdot \int_0^R (-du/dr) 2\pi r dr \\ &= 2\pi/\pi R^2 \cdot \int_0^R [(3n + 1)v_m/nR] \cdot (r/R)^{1/n} r dr \\ &= 2(3n + 1)/(2n + 1) \cdot v_m/R \end{aligned}$$

A 为圆管截面积;R 为圆管半径。

2 实验结果

2.1 静态混合器气液混合试验

以拟塑性流体 CMC 水溶液为连续相,空气为分散相,气液混合实验结果示于图 3。图 3 表明

1) SL 型和 SK 型静态混合器都能在很大表观粘度范围内(0.3~8.09Pa·s)有效地将空气分散并混合在拟塑性流体 CMC 水溶液中,其分散相空气气泡的 Sauter 直径在 1.0~5.0mm 范围内变化。

2) 连续相表观粘度对分散相 Sauter 直径和管内阻力降影响很大。Sauter 直径随连续相表观粘度的增大在不同型号的静态混合器中变化规律不同。SK 型混合器混合效果(d_{32})随连续相表观粘度增大而变差,反映在气泡 Sauter 直径 d_{32} 逐渐增大。而 SL 型在表观粘度小于约 3.8Pa·s 时,混合效果略差于 SK 型,大于 3.8Pa·s 后,特别是表观粘度高达 8.0Pa·s 时,其混合效果明显优于 SK 型。对于阻力降,SL 型和 SK 型都随连续相表观粘度的增加而上升,但 SK 型阻力降始终高于 SL 型。

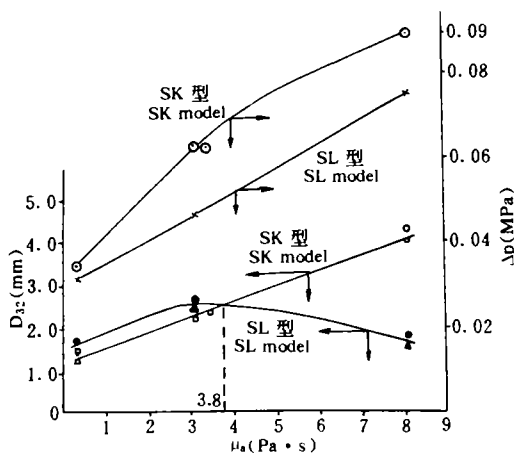


图 3 气泡 Sauter 直径和静态混合器型号与连续相表观粘度关系

● v_L 0.35m/s ▲ v_L 0.21m/s
□ v_L 0.41m/s ○ v_L 0.61m/s

2.2 静态混合环流式多糖生物反应器结构及影响体积传氧速率系数 $k_{1,a}$ 的因素

1) 发酵前期操作参数及反应器结构部件的确定 以液体循环量,空气流量,静态混合器长度和型号为试验因素,以体积传氧速率系数 $k_{1,a}$,单位溶氧功率消耗 N_p 为指标,正交试验法确定发酵前期操作参数和反应器的结构部件。正交试验因素及水平如表1 所示。采用 $L_{16}(4^3 \times 2^6)$ 正交表,对实验数据进行方差分析结果如下:在亚硫酸钠水溶液粘度约为 0.001Pa·s 下,混合器型号对 $k_{1,a}$ 影响最大,SK 型混合器大大优于 SL 型混合器。A,B 因素为影响 N_p 的显著性因素。因发酵前期为菌体生长繁殖期,需氧量大,醪液粘度低,高 $k_{1,a}$ 为追求目标,兼顾功率消耗,故较好的组合应为 $A_2B_1C_1D_1$ 。即液体循环量 520 L/h; 通气量 600 L/h; 反应器结构部件静态混合器长度为 600 mm; 型号 SK 型。

表1 正交试验因素及水平表

因素	A 液体循环量 (L/h)	B 空气流量 (L/h)	C 混合器长度 (m)	D 混合器型号	
1	620	600	0.6	SK	
水	2	520	450	0.8	SL
平	3	410	300		
4	310	150			

2) 黄原胶发酵液表观粘度与 $k_{L,a}$ 关系 在高粘度黄原胶水溶液中, 体积传氧速率系数 $k_{L,a}$ 与液体表观粘度有很大关系, 如图4, $k_{L,a}$ 随液体表观粘度 μ_a 的升高而急剧下降, 当表观粘度大于 $3.0 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ 后, $k_{L,a}$ 的变化趋缓. 在操作条件范围内, 存在下述关系

$$k_{L,a} = 68.9\mu^{-0.254} \quad (k_{L,a}, \text{l/h}; \mu_a, \text{Pa}\cdot\text{s})$$

由于 $k_{L,a}$ 与液体表观粘度关系很大, 正交试验所得结果仅对发酵前期有指导意义.

3) 高粘度拟塑性黄原胶水溶液中影响 $k_{L,a}$ 的其它因素 在高粘度下继续考察反应器操作参数对 $k_{L,a}$ 的影响, 得到图5和图6.

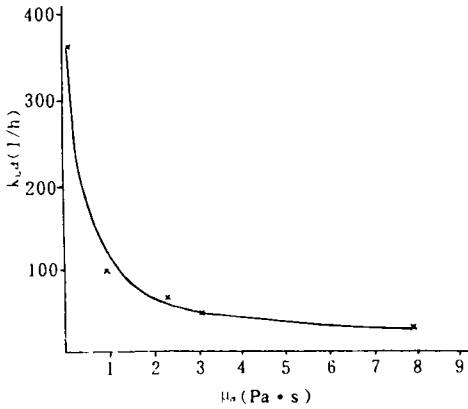


图4 黄原胶水溶液中 $k_{L,a}$ 与液体表观粘度 μ_a 的关系

Q_L : 520~620L/h Q_g : 450~600L/h
SK型 ϕ 25.600mm

非线性回归得

$$k_{L,a} \propto Q_g^{0.56}; \quad k_{L,a} \propto Q_L^{0.14}$$

可见, 加大通气量 Q_g 能有效地提高 $k_{L,a}$, 而液体循环量 Q_L 对 $k_{L,a}$ 影响较小.

更高粘度下 ($7\sim 8 \text{ Pa}\cdot\text{s}$), 考察了通气量以及反应器构件静态混合器的型号对 $k_{L,a}$ 的影响(图7). 增加 Q_g , 以 SL型和SK型静态混合器为气液混合单元的生物反应器中的 $k_{L,a}$ 均

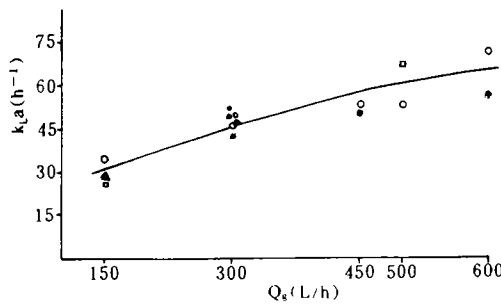


图5 高粘度黄原胶水溶液中 $2.0\sim 3.0 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, 通气量 Q_g 对 $k_{L,a}$ 的影响

\circ μ_a 2.46Pa·s \bullet μ_a 3.0Pa·s
 \triangle μ_a 2.7Pa·s \square μ_a 2.26Pa·s

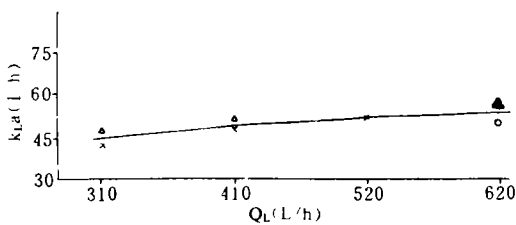


图6 高粘度黄原胶水溶液中 $1.8\sim 3 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, 液体循环 Q_L 与 $k_{L,a}$ 的关系

\times $2.7 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ \circ $3 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, Q_g 450L/h
 \triangle $1.83 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ \blacktriangle $3 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, Q_g 600L/h

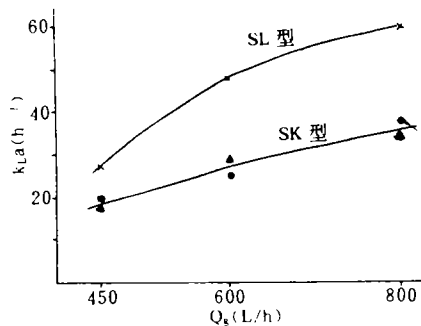


图7 高粘度下 $7\sim 8 \text{ Pa}\cdot\text{s}$, 通气量及静态混合器型号对 $k_{L,a}$ 的影响

\triangle $7.16 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ \bullet $7.84 \text{ Pa}\cdot\text{s}$
 \blacktriangle $7.01 \text{ Pa}\cdot\text{s}$

增加,但SL型明显优于SK型,随着 Q_g 的增加,二者差别加大。

3 黄原胶发酵试验

3.1 发酵试验

反应器15 L,实际装料10 L,接种量8%~10%,初始pH6.8~7.0,发酵过程中用NaOH调节pH6.5~7.0,温度27~29℃,液体循环量390→520L/h,通气量420→1000L/h,以SL型(∅20,L200)+SK型(∅20,L600)静态混合器为反应器构件。

图8为发酵过程有关参数变化曲线。发酵前期,菌体细胞处于对数生长期,发酵液粘度较低。随着发酵的进行,菌体分泌到发酵液中的黄原胶逐渐增多,发酵液粘度逐渐增大,耗糖速率也逐渐加快,24~48h内耗糖速率最大。60h以后,发酵液中残糖已经很低,仅为0.25%左右,耗糖速率,黄原胶浓度和发酵液表观粘度的增加渐缓并趋于停止。

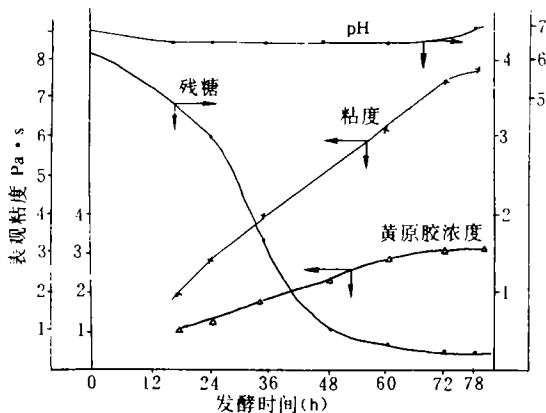


图8 静态混合环流式生物反应器黄原胶发酵曲线

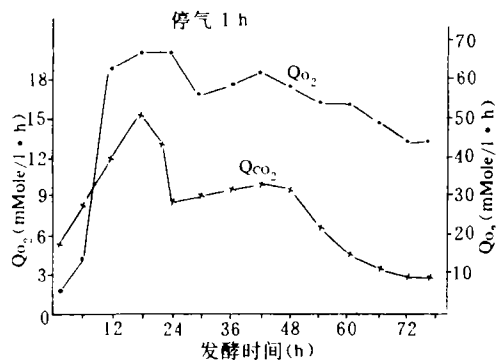


图9 耗氧速率 Q_{O_2} 和 CO_2 排出速率 Q_{CO_2}

图9为发酵过程中耗氧速率和二氧化碳排出速率曲线。发酵初期,随着菌体细胞的增殖,耗氧速率 Q_{O_2} 和二氧化碳排出速率 Q_{CO_2} 都逐渐加快。18~23h时,达到高峰。在23~24h内,停止供气1h,反应器中发酵液处于静止状态。恢复供气后, Q_{O_2} 和 Q_{CO_2} 在10多个小时内都处于较低水平,两曲线同时出现低谷。可见氧的缺乏会导致菌体细胞呼吸能力的下降。发酵中后期,耗氧速率一直较高,可见黄单胞杆菌N. K-01菌株对氧的依赖性较大。发酵后期,发酵液表观粘度高,耗氧速率,二氧化碳排出速率和多糖合成速率都逐渐降低,细胞老化收缩,代谢能力下降。

3.2 发酵过程中发酵液流变学性质

黄原胶发酵液的一个重要性质就是它的高度拟塑性。对其流变学规律的认识,对于多糖生物反应器的小试研究和放大无疑十分重要。

如图10所示,黄原胶发酵液表观粘度与剪切速率关系极大,在剪切速率小于 $20(s^{-1})$ 时,表观粘度随剪切速率的增大而陡降,大于 $40(s^{-1})$ 后逐渐趋于平缓。黄原胶发酵液在24h时就成为高度拟塑性流体,其流变性指数仅为0.154,发酵结束时,流变性指数为0.144,变化很小,稠度系数 k 逐渐增大(表2)。可见,发酵液的高粘度和高度拟塑性等性质存在于约3/4的

发酵周期内。

表2 黄原胶发酵液流变方程

发酵时间(h)	发酵液流变方程
24	$\tau = 8.60 du/dy ^{0.154}$
38	$\tau = 13.60 du/dy ^{0.144}$
48	$\tau = 21.42 du/dy ^{0.145}$
60	$\tau = 29.35 du/dy ^{0.142}$
72	$\tau = 39.31 du/dy ^{0.144}$

3.3 静态混合环流式多糖生物反应器发酵结果

部分发酵结果如表3所示,其中反应器电耗为循环泵及空压机效率以60%计的反应器实际电耗。黄原胶浓度达3.02%,反应器电耗仅为6620kwh/t。表明该多糖反应器有一定的开发前景。

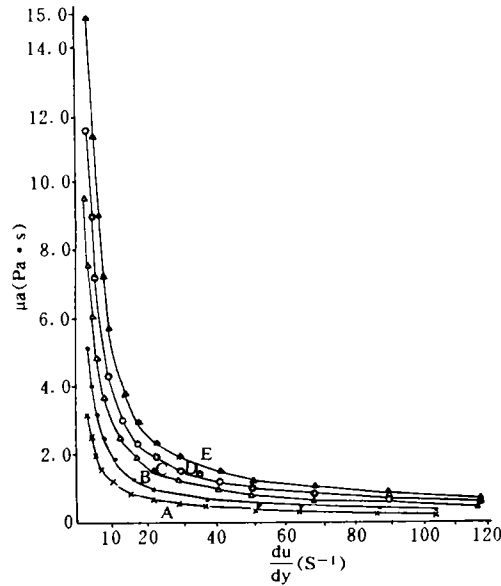


图10 不同发酵时间的黄原胶发酵液表观粘度和剪切速率的关系

A 24h B 38h C 48h D 54h E 72h

表3 黄原胶发酵结果

批次	发酵时间(h)	黄原胶(%)	转化率(%)	丙酮酸(%)	反应器电耗(kwh/t)
1	72	2.87	64.5	3.07	7030
2	89	3.00	67.6	2.80	7020
3	77	3.05	65.6	3.19	6670
4	84	3.15	56.8	3.90	5750
平均	80.5	3.02	63.6	3.24	6620

4 讨论

4.1 “标准”机械搅拌罐对黄原胶发酵的不适应性和环流式多糖生物反应器的环流优点

由于黄原胶发酵液具有高度拟塑性和高粘度等性质,使得“标准”机械搅拌罐在某些方面不适应。

1) 剪切速率分布不均匀,气液混合不良。在搅拌桨叶周围的一小部分高剪切区内,发酵液表观粘度低(图1),气液混合良好。而在高剪切区之外,因剪切速率迅速降低,表观粘度很快升高,流动不畅,特别是在远离搅拌桨的挡板附近,发酵后期甚至成为“死区”(静止)。因而气液混合,接触及表面更新都较差,严重影响质量,热量的传递。Hattori^[13]等人在测定机械搅拌罐中CMC水溶液的 k_La 时发现,罐内各点的 k_La 值差别很大,在某一表观粘度下,搅拌尖端 k_La 约为 $33h^{-1}$,而在桨叶相对的罐壁附近仅为 $4h^{-1}$ 。

2) 流型紊乱,规律性差。由于高度拟塑性性质,处于低剪切区的发酵液不能周期性,有序地通过高剪切平面^[12],和空气的接触以及宏观混合不良。造成质量不能迅速传递,

特别是氧的供应不足,限制了黄原胶发酵水平的提高,而静态混合环流式多糖生物反应器的特点之一是环流。因此,发酵液的循环不受高粘度和拟塑性的限制,能周期性地,有序地被强制通过高剪切区的静态混合器,周期性地和新鲜无菌空气相接触。在静态混合器中发酵液所受到的剪切力较均匀^[11],气泡大小也较均匀,气液接触较好。在适宜的操作条件下,改善了菌体生长和产胶条件。

4.2 静态混合器型号和操作参数对 $k_{L,a}$ 的影响

由于黄原胶发酵液的物性,特别是表观粘度在发酵过程中大幅度变化,所以各种因素对 $k_{L,a}$ 所起的作用也随之发生变化。发酵初期,发酵液粘度低,对流混合机理占主导地位,静态混合器结构(型号)在众因素中对 $k_{L,a}$ 影响最大。SK 型显著优于 SL 型,而在发酵后期,发酵液粘度变得很高,剪切力机理占主导地位。此时 SL 型优于 SK 型(图3也暗示了这一点),而且通风量越大越明显(图7)。因此,将二者组合作为反应器的气液混合构件比较适宜。

发酵前期,液体循环量 Q_L 和通风量 Q_g 都是影响 $k_{L,a}$ 和显著性因素,均为越大越好。到了中后期,发酵液粘度增大,对流混合机理已不占主导地位,液体循环量对 $k_{L,a}$ 的影响($k_{L,a} \propto Q_L^{0.14}$)比通风量对 $k_{L,a}$ 的影响($k_{L,a} \propto Q_g^{0.56}$)要小得多。因此,发酵中后期可适当减小循环量,加大通风量,把能量用在最合理之处。

4.3 静态混合环流式多糖生物反应器的高剪切区分析

静态混合器作为反应器的气液混合部件,是反应器的高剪切区。经理论推导,拟塑性流体通过圆管所受到的平均剪切速率:

$$|du/dr|_m = [2(3n + 1)/(2n + 1)] \cdot v_m/R$$

为简化处理,圆管半径 R 用静态混合器当量半径 R' 代替。如发酵72h时, $n = 0.144$; $v_m = 0.57\text{m/s}$; $R' = 0.0061\text{m}$ 所得广义雷诺准数 Re' 约为 25, $Re' \ll 2100$, 为层流^[9]。可代入上式即得到此时在反应器内的静态混合器中发酵液所受到的平均剪切速率为

$$|du/dr|_m = 207 \text{ s}^{-1}$$

对照图10可知,剪切速率约大于 40 s^{-1} 后,发酵液拟塑性性质趋于消失而接近于牛顿型流体。如发酵72h的发酵液在剪切速率 5.825 s^{-1} 下,其表观粘度为 $8.7 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ 而在剪切速率 207 s^{-1} 下,由流变方程 $\tau = 39.31 |du/dr|^{0.144}$ 计算出的表观粘度仅为 $0.41 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ 。这大大有利于无菌空气和发酵液的混合。另外,因表观粘度的降低而对能量的节约也是十分有利的。发酵过程中,黄原胶生产菌向外分泌黄原胶,使得细胞周围存在一层粘性夹膜,形成营养、氧和产物传递的壁障,静态混合器高剪切区的存在,也可使细胞表面的粘性夹膜变薄从而促进质量的传递^[11]。

静态混合环流式多糖生物反应器较好地利用了发酵液高度拟塑性(剪切变稀)的性质,在高剪切区内进行气液混合,既有利于气、液、固(细胞)间的质量传递,又有利于能耗的降低。

参 考 文 献

- 1 Gary W. Pace, *Advances in Biochemical Engineering*, 1980, 15: 41
- 2 Johnson D N, Hubbard D W. *Biotechnology and Bioengineering*. 1974, 16: 1283

- 3 Hubbard D W. Process Biochem. 1977,12(10)
- 4 Metzner A B, Taylor J S. AIChEJ. 1960,6:109~114
- 5 丁绪维,周理. 液体搅拌. 化工出版社,1983,4:87. 206
- 6 Schott N R, Weinstein B, et al. Chemical Engineering Progress,71(1)
- 7 S. J. Chem. and Alan R. Macdonald, Chemical Engineering, March,1973,19
- 8 叶楚宝. 化学工程, 1985,(1)
- 9 无锡轻工业学院, 天津轻工业学院. 食品工程原理. 上册. 轻工业出版社,1985. 77~93
- 10 Dussap C G, Gros J B. Bulletin de La Societe chimique de France. 1985,(6)
- 11 Margaritis A, Pace G W. Microbial Polysaccharide
- 12 叶楚宝等. 现代化工,1984,(4)
- 13 Hattori K, Yokoo s, Imada O. J. Ferment. Technol. 1976,50:737

Study on a Static Mixing Loop Bioreactor Suited for Polysaccharide Production

Mao Zhonggui Wang Hongqi

(Dept. of Bioengineering)

Abstract In the static mixing loop bioreactor, it was found that when the viscosity of xanthan gum solution reached between $7\sim 8\text{Pa}\cdot\text{s}$, the static mixer model SL was more effective on k_La than the model SK. The finally average concentration of xanthan gum in fermentation broth was $3.02\%(w/w)$. The power consumption of the bioreactor was approximately 6620kwh/t gum . Mixing of air and broth carried out in the high shearing zone with shearing rate at 200s^{-1} approximately was found in favour of the mass transfer among the gas phase, liquid phase and solid phase, and reducing of power consumption.

Subject-words Reactor; Mixer; Xanthan gum / Bioreactor; Static mixer