

生物工程基础

第五章 生物反应器的物理过程特性

主要内容

1、反应介质的流变学特性

2、影响流变学性质的因素

3、机械搅拌的剪切力

3.1 积分剪切因子ISF

3.2 时均切变率

3.3 最小湍流漩涡长度

4、气体搅拌的剪切力

5、气液传质过程特性

5.1 气液氧传递模型

5.2 氧传递速率的影响因素

5.3 体积氧传递系数的计算

5.4 氧的供需关系分析

5.5 最低溶解氧浓度问题

6 混合的概念

7 宏观混合模型

7.1 理想流动与非理想流动

7.2 多釜串联模型

7.3 轴向分散模型

8 混合过程的机制分析

8.1 机械搅拌反应器

8.1.1 主体流动流型

8.1.2 混合时间

8.2 鼓泡塔反应器

8.3 气升式反应器

8.4 填充床反应器

8.5 与混合性能有关的工业反应器选型

9 生物反应器的放大

9.1 放大原理

9.1.1 放大原则

9.1.2 常用的放大方法与放大准则

9.1.3 放大中的关键问题

9.2 基于过程机制分析的放大研究

9.2.1 特征时间与速率控制的概念

9.2.2 碳底物消耗过程的特征时间分析

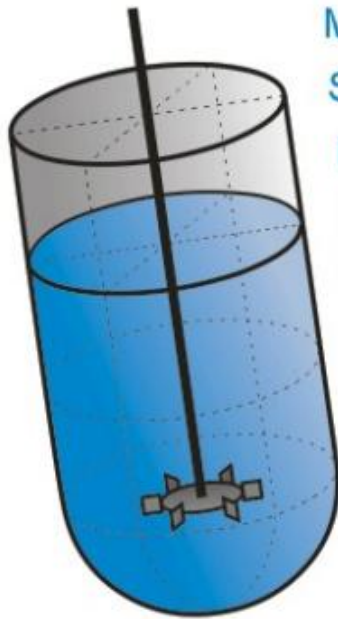
9.2.3 热量生成过程的特征时间分析

9.2.4 机械搅拌反应器的溶氧耗尽问题

9.2.5 鼓泡塔反应器的溶氧耗尽问题

9.3 缩小-放大法

生物反应器的传递特性参数



Hold up

Mixing Time

Stirrer Speed

Power Number

Working Volume

Reynolds number

Maximum Shear Rate

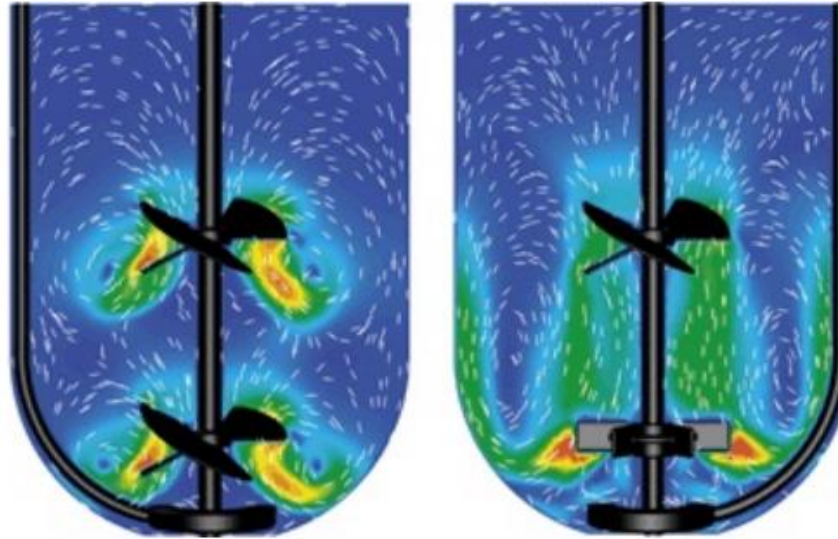
Liquid Dynamic Viscosity

Time Average Shear Rate

Stirrer Power Consumption

Oxygen Transfer Coefficient

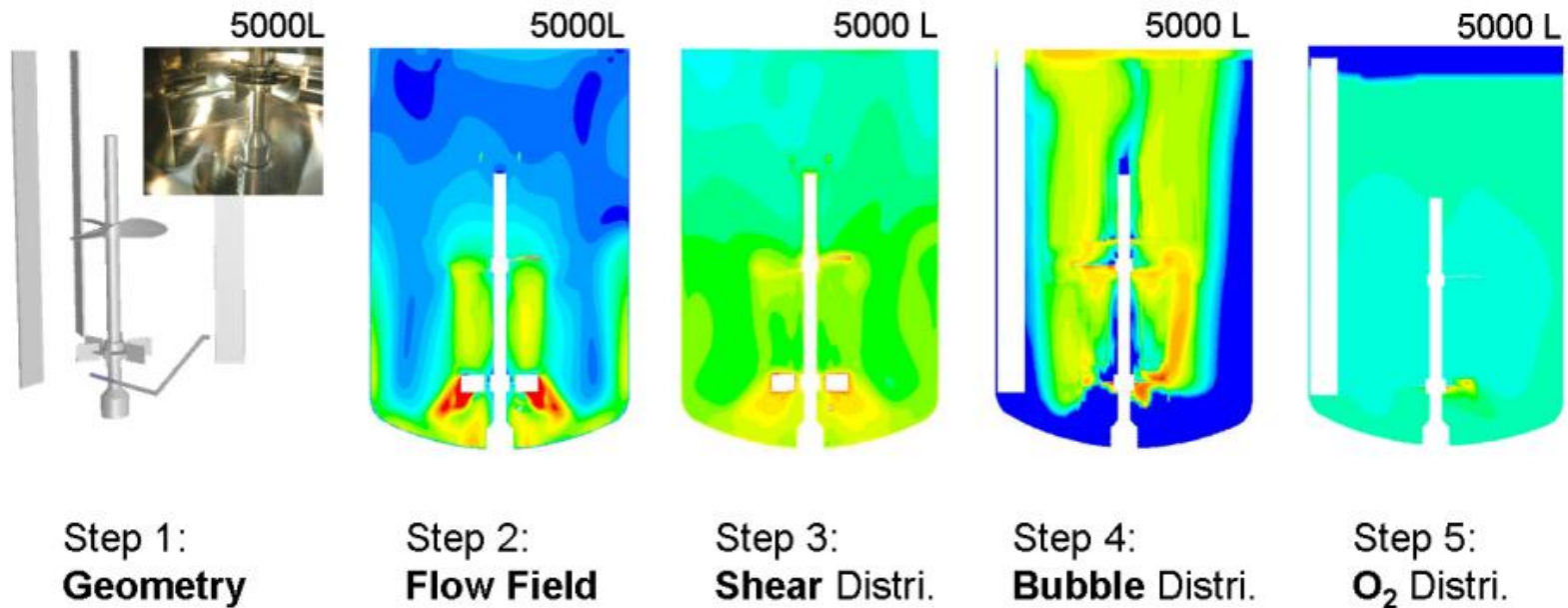
Smallest Turbulent Eddy Length



考虑一下，若在反应器中进行大肠杆菌的高密度，采用流加50%的葡萄糖溶液的操作方式，在反应器的哪个部位有可能存在高糖浓度和低溶氧浓度的区域？

是否各种机械搅拌的配置形成反应器中不同的溶氧浓度梯度？

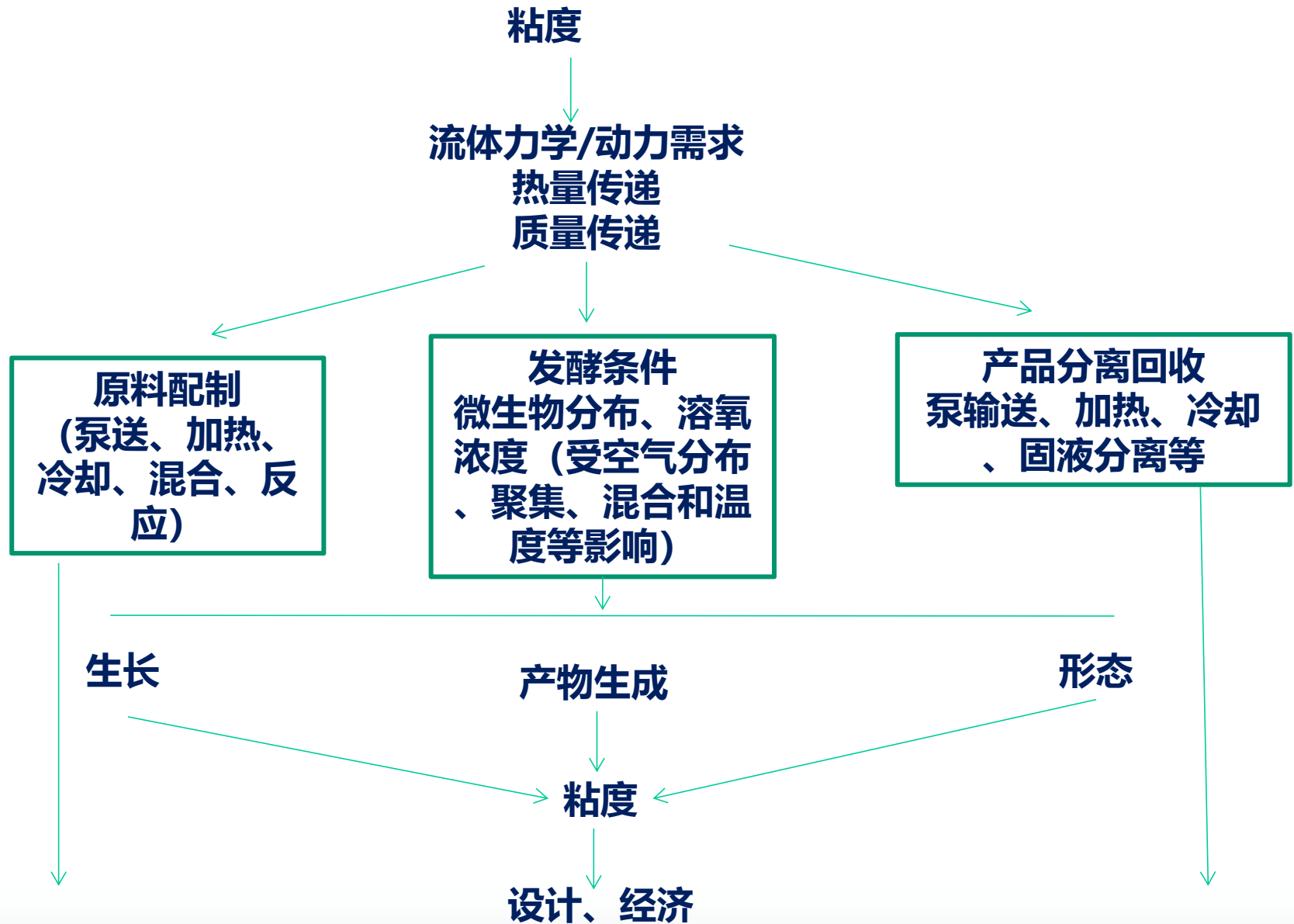
From the geometry of a Bioreactor to its oxygen distribution



在放大过程中几何结构保持完全相似，上述物理参数的分布如何变化？

生物反应器是生物技术开发中的关键性设备，生物技术成果需要生物反应器才能转化为产品，工业生物反应器的成功依赖于生物反应器的效率。

生物反应器的设计必须明确目的反应的变化规律和速率变化。

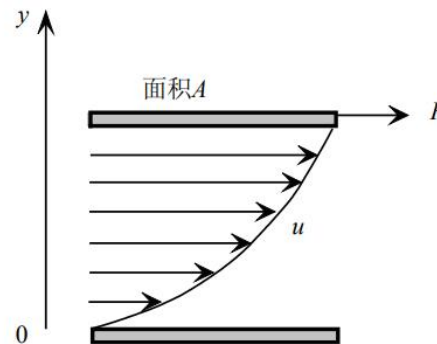


反应介质的流变学特性

粘度的改变会影响液体湍流性、界面张力或液膜阻力等。

微生物生命活动引起发酵液物理性质变化，如粘度、表面张力和离子强度等。

- **流变学特性**：流体在外加剪切力 τ 的作用下所产生的流变特性，简称流变特性。
- 外加剪切力作用会产生相应的**剪切速率 $\dot{\gamma}$** （即**速度梯度或切变率**， N/m^2 或 Pa ）；
- 两者的关系即为流体在给定温度和压力下的流变特性。
- 生物反应器中的**流体剪切力**与反应液的**流变学性质**和**速度梯度**有关。



在切向力作用下平行板内液体的速度分布

反应介质的流变学特性

$$\tau = \tau(\mu, \dot{\gamma})$$

$$\dot{\gamma} = \frac{du}{dy}$$

$\dot{\gamma}$ ——切变率，是动量传递方向上的速度梯度。

牛顿黏性定律：

$$\tau = \mu \dot{\gamma}$$

μ ——流体的黏度， $\text{Pa} \cdot \text{s}$ 。

- **牛顿型流体**：服从牛顿黏性定律的流体。
- **非牛顿型流体**：不服从牛顿黏性定律的流体。

反应介质的流变学特性

非牛顿型流体的类型：

- 拟塑性流体

$$\tau = K\dot{\gamma}^n$$

n ——流动特性指数， $0 < n < 1$ ， K ——稠度系数。

- 胀塑性流体

$$\tau = K\dot{\gamma}^n$$

$n > 1$

- 宾汉塑性流体

$$\tau = \tau_0 + \eta\dot{\gamma}$$

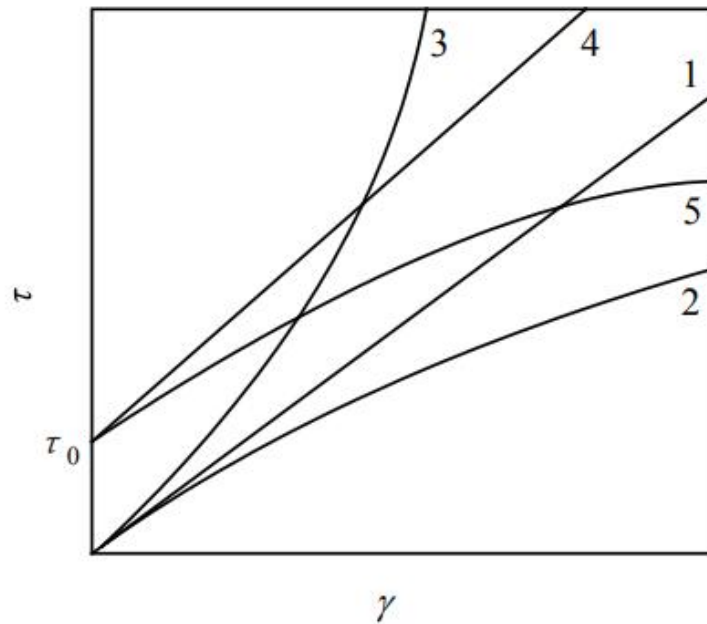
τ_0 ——屈服应力， η ——刚度系数。

- 凯松流体

$$\sqrt{\tau} = \sqrt{\tau_0} + K_C \sqrt{\dot{\gamma}}$$

K_C ——凯松黏度。

反应介质的流变学特性



牛顿流体及非牛顿流体剪切力
与切变率的关系

1-牛顿流体；2-拟塑性流体；3-胀塑性流体；
4-宾汉塑性流体；5-凯松流体

发酵液的流变学特性

产物	微生物	发酵液流变学特性
制霉菌素	诺尔斯氏链霉菌	牛顿型流体
青霉素	产黄青霉菌	拟塑性流体
青霉素	产黄青霉菌	塑性流体
青霉素	产黄青霉菌	涨塑性流体
链霉素	灰色链霉菌	塑性流体
新生霉素	雪白链霉菌	塑性流体
卡那霉素	卡那霉素菌	拟塑性流体
曲古霉素	卡那霉素链霉菌	塑性流体
曲古霉素	卡那霉素链霉菌	拟塑性流体
非洛霉素	卡那霉素链霉菌	拟塑性流体

反应介质的流变学特性

流体的**流变性质**是指上述模型的模型参数，特别是流体的黏度 μ 。

流体的黏度也称为动力黏度。动力黏度也被流体密度 ρ 量化为运动粘度 ν 。

$$\nu = \frac{\mu}{\rho}$$

对非牛顿流体，也有表观粘度 μ_a 的概念。

$$\mu_a = \frac{\tau}{\dot{\gamma}}$$

反应介质的流变学特性

影响发酵液流变学特性的因素

(1) 发酵液中的细胞浓度

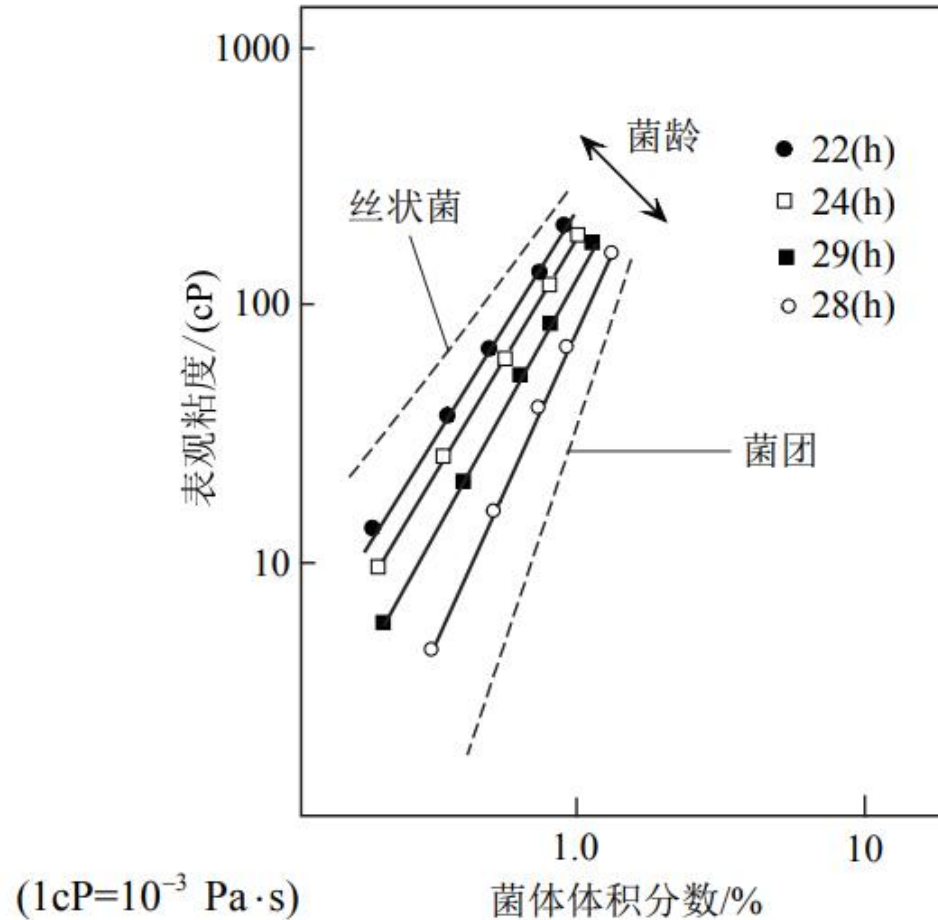
- 发酵细胞浓度低，流变学特性是牛顿型流体；
- 细胞的细菌发酵液
- 水解糖或糖蜜为原料培养酵母的醪液
- 为噬菌体侵害的发酵液等。

培养液的表现黏度与细胞颗粒的体积分数 ϕ 和液相黏度 μ_L 的关系式，

$$\mu_S = \mu_L (1 + 2.5\phi)$$

$$\mu_S = \mu_L (1 + 2.5\phi + 7.25\phi^2)$$

反应介质的流变学特性



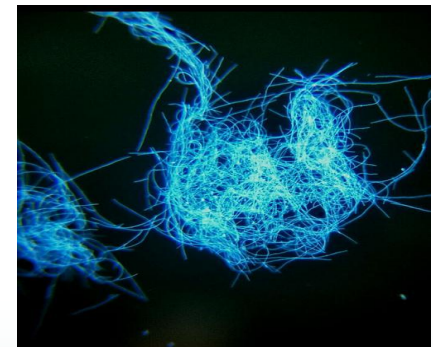
不同形态和菌龄的黑曲霉培养液的表现黏度与菌体浓度的关系

反应介质的流变学特性

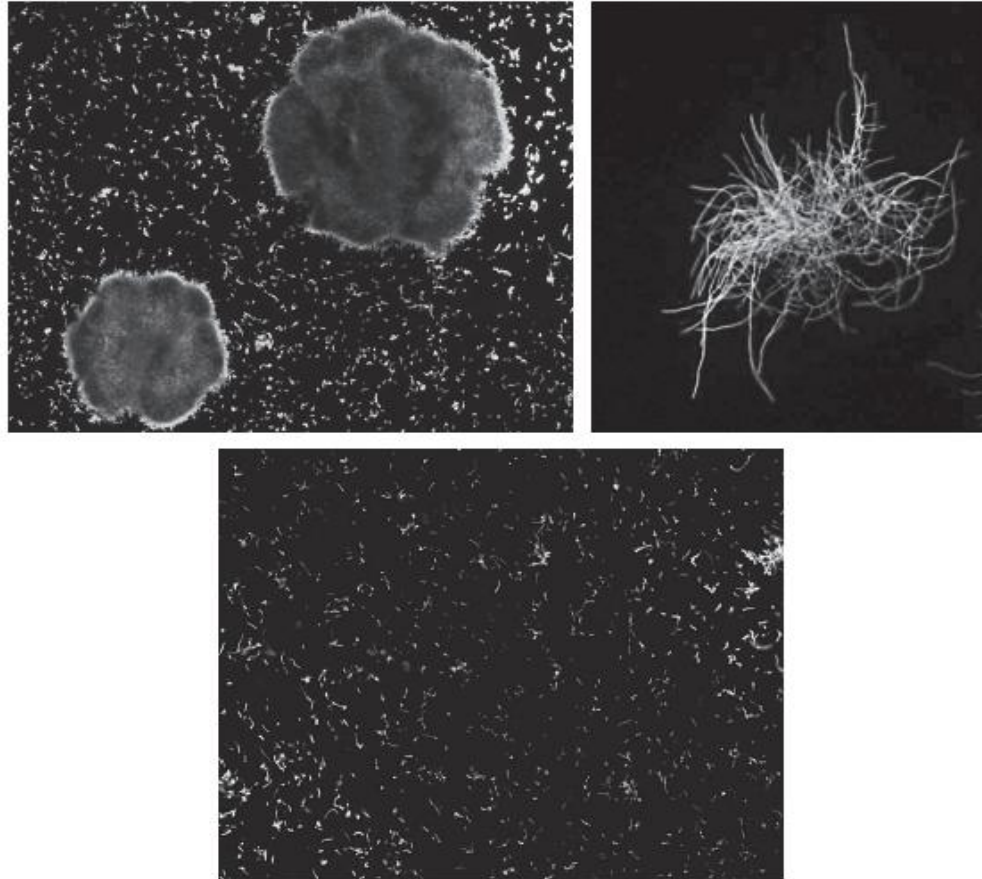
(2) 细胞形态

丝状或团状，流变学特性为非牛顿型流体；

- 丝状菌（霉菌或放线菌）的菌丝体纠缠在一起，使悬浮液粘度达到 Pa.s;
- 团状菌丝体是以稳定的球状积聚生长，直径可达mm级；
- 形态参数：菌丝长度、菌丝直径和菌丝生长端总数。



反应介质的流变学特性



Photographs of different submerged colonial morphologies that can impact gas transfer to hyphal interior. (Photo: Michelle Lea, John Moores University, Liverpool)

与营养物传递有关的菌丝体形态

反应介质的流变学特性

丝状菌发酵:

高粘度培养液的表现粘度随剪切速率的不同而变化

- 搅拌桨附近, 剪切速率大, 培养液粘度低;
- 反应器壁面附近, 剪切速率小, 培养液粘度高, 流动速率较小。

丝状菌的培养液:

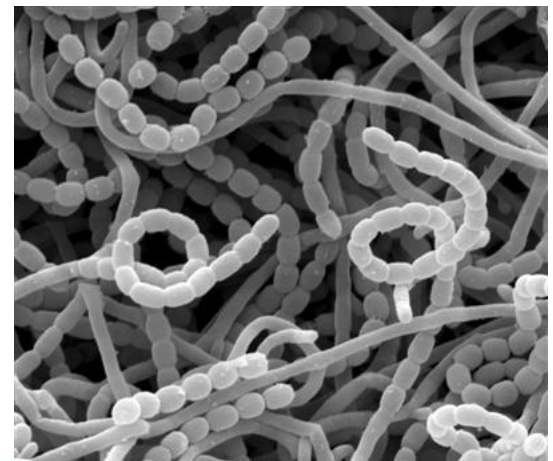
- 非牛顿型流体特性: 一般呈拟塑性流体, 胀塑性流体等非牛顿型流体特性。
- 牛顿型流体特性: 细胞间形成网状结构, 菌团在剪切速率作用下碎成小片, 再絮凝再打碎, 溶液呈牛顿型流体特性。

反应介质的流变学特性

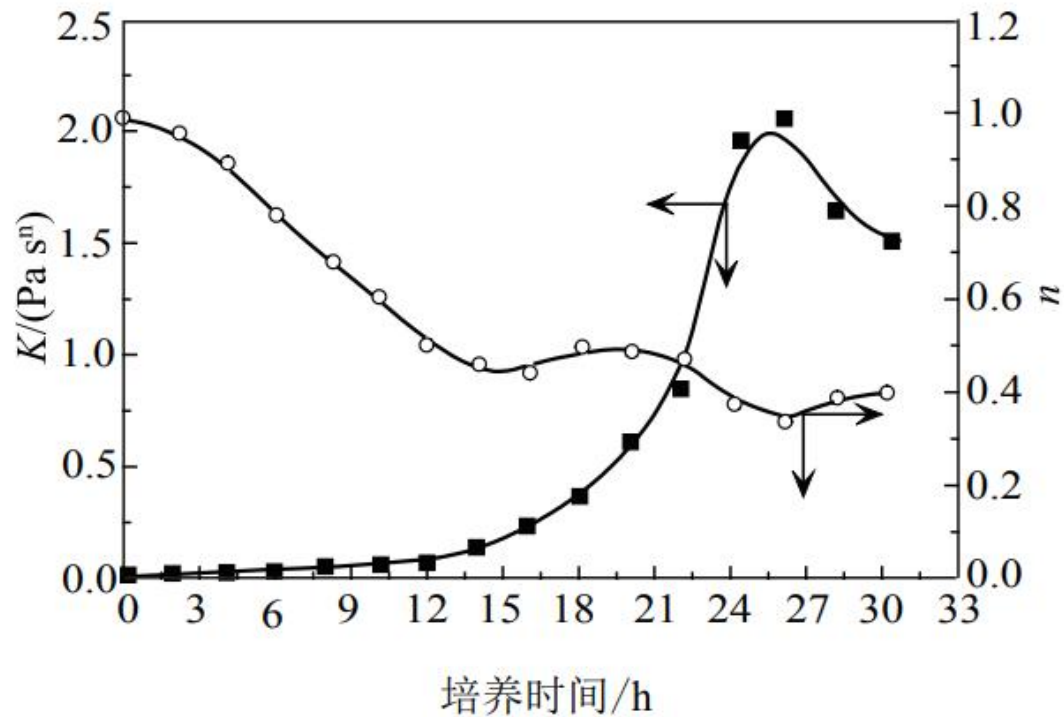
流变学特性随时间的变化而变化

例如：链霉素发酵

- 前24小时，培养液为胀塑性流体特性；
- 48-96小时，培养液呈牛顿型流体特性；
- 120小时，培养液呈拟塑性流体特性。



反应介质的流变学特性



Aspergillus awamori 培养液的稠度
系数 K 和流动特性指数 n 随培养时间的变化

反应介质的流变学特性

微小颗粒悬浮液的粘度是多种因素的函数

- 细胞颗粒的浓度；
- 颗粒的形状和大小；
- 颗粒的变形度、表面特征等；

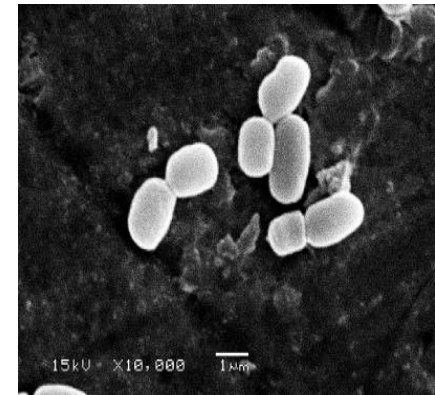
- 宾汉塑性流体

$$\tau = \tau_0 + \eta \dot{\gamma}$$

τ_0 ——屈服应力， η ——刚度系数。

例如：青霉素培养液的屈服应力和刚度系数都随发酵时间的增加而增大。在发酵的前期和后期

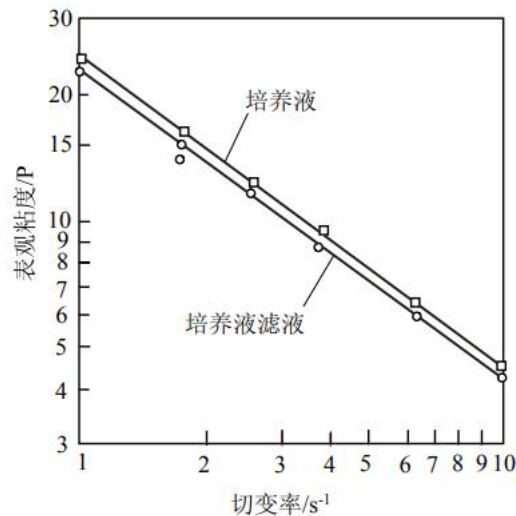
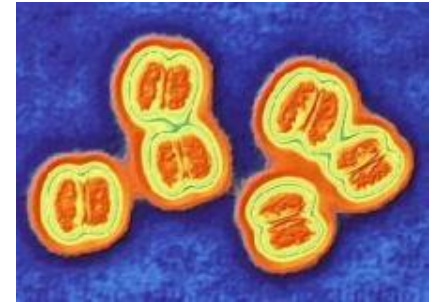
- 刚度系数可增加近百倍；
- 表观粘度明显增加；



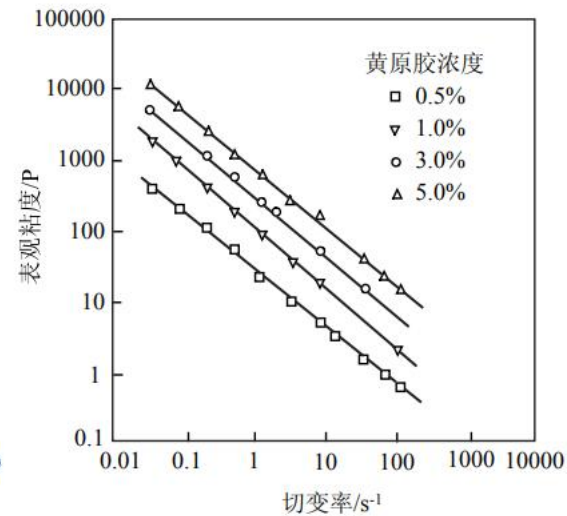
反应介质的流变学特性

产物的性质与浓度

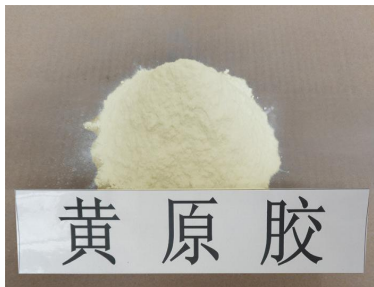
某些胞外产物（如黄原胶）浓度较高时，表观粘度较大。



野油菜黄单胞菌的存在对培养液粘度的影响 ($1P=10^{-1}Pa \cdot s$)



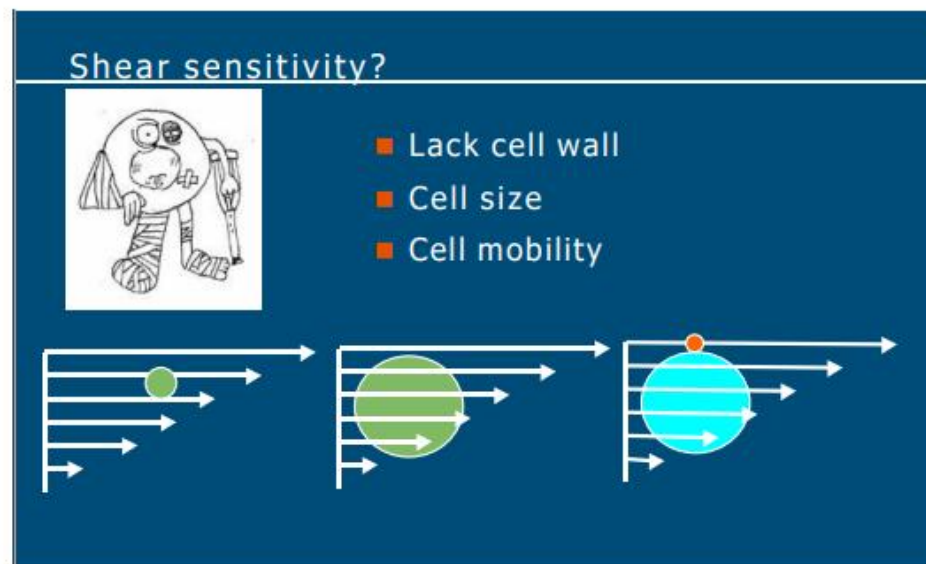
黄原胶浓度对野油菜黄单胞培养液表观粘度的影响 ($1P=10^{-1}Pa \cdot s$)



黄原胶

反应器中的流体剪切作用

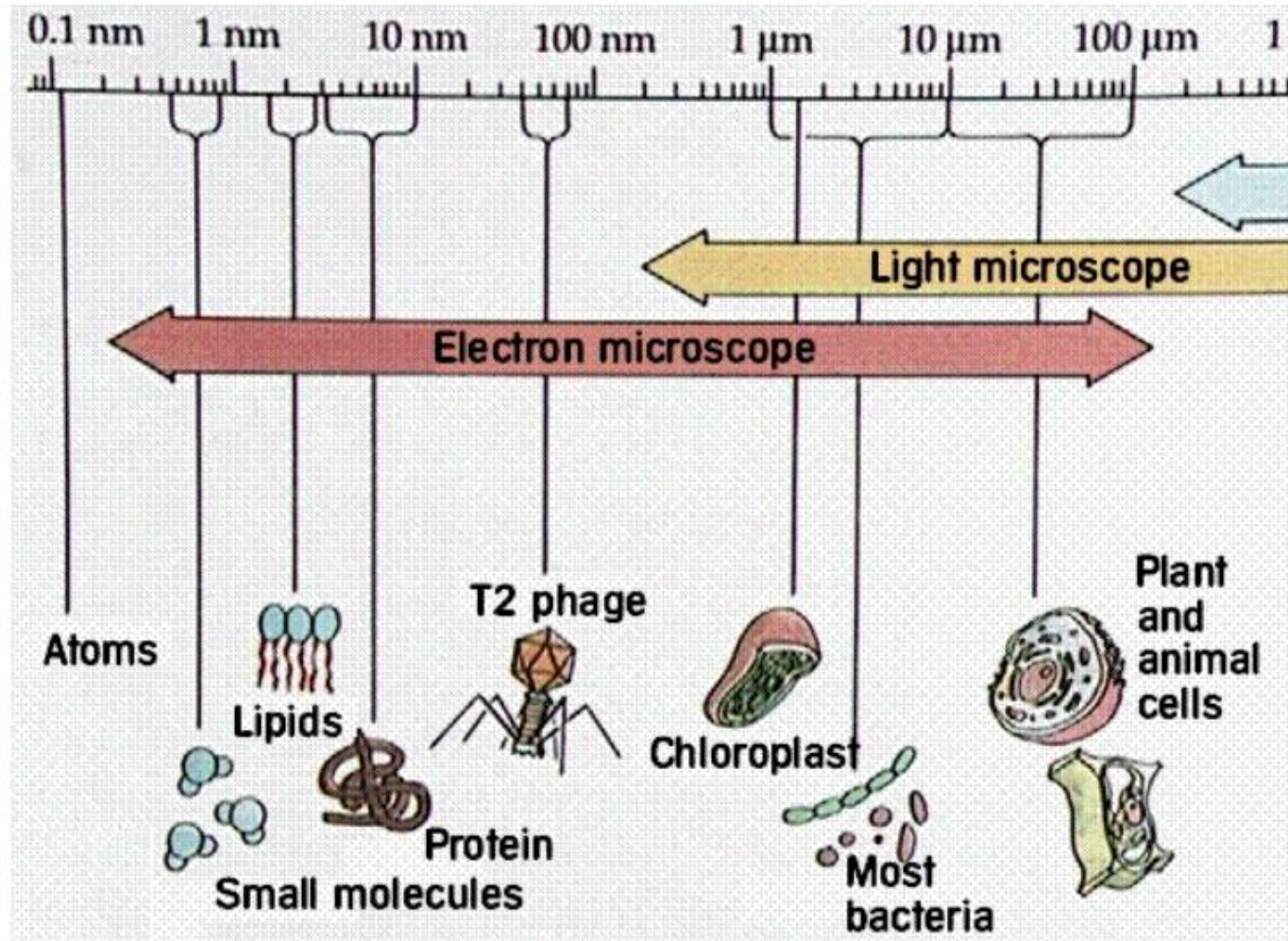
机械搅拌引起的流体剪切力



关键问题：细胞自身的剪切敏感性与哪个参数有关？动物细胞培养反应器的剪切力的主要来源究竟是机械搅拌还是气泡运动？（**流动速度梯度或分布！**）

反应器中的流体剪切作用

机械搅拌的剪切力



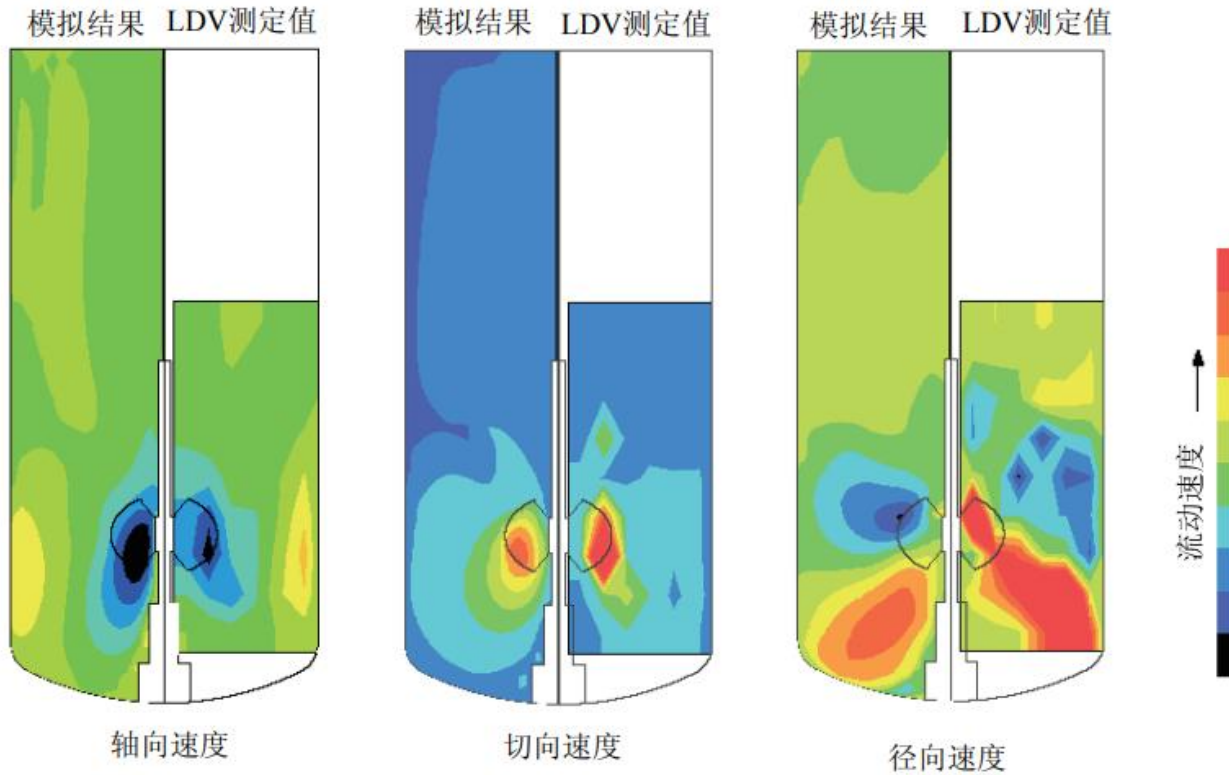
反应器中的流体剪切作用

积分剪切因子ISF

机械搅拌反应器中的流体速度分布与梯度：

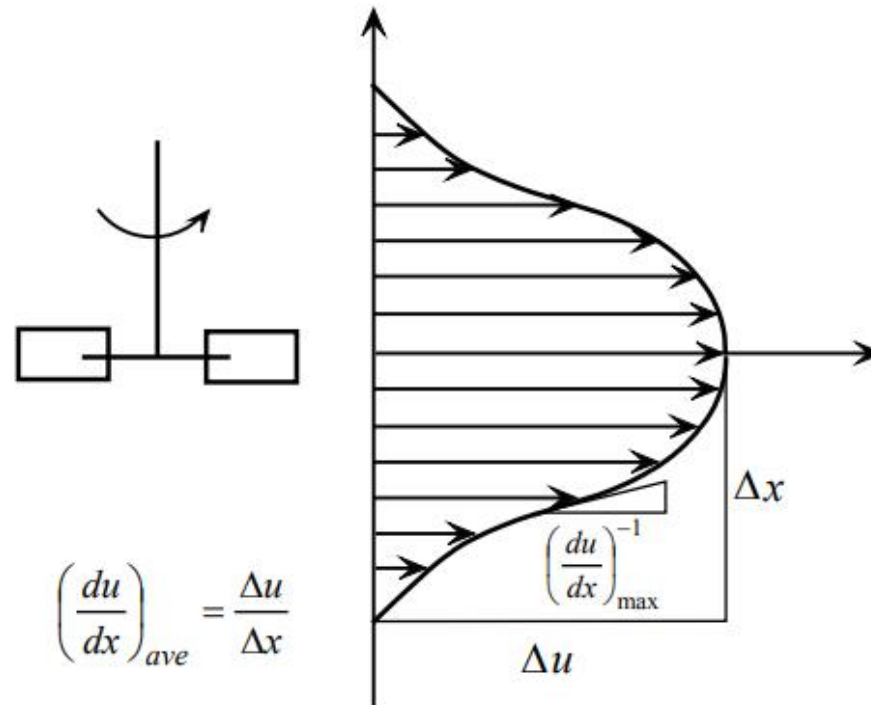
- 搅拌桨叶端附近的流动速度最大
- 反应器壁面的流动速度为零

反应器中的流体剪切作用



机械搅拌反应器流动速度的CFD模拟与激光多普勒法 (LDV) 测定结果的比较

反应器中的流体剪切作用



桨叶附近的速度分布与切变率估计

反应器中的流体剪切作用

(1) 积分剪切因子ISF

叶端速度 $u_{L,tip}$

$$u_{L,tip} = \pi N d$$

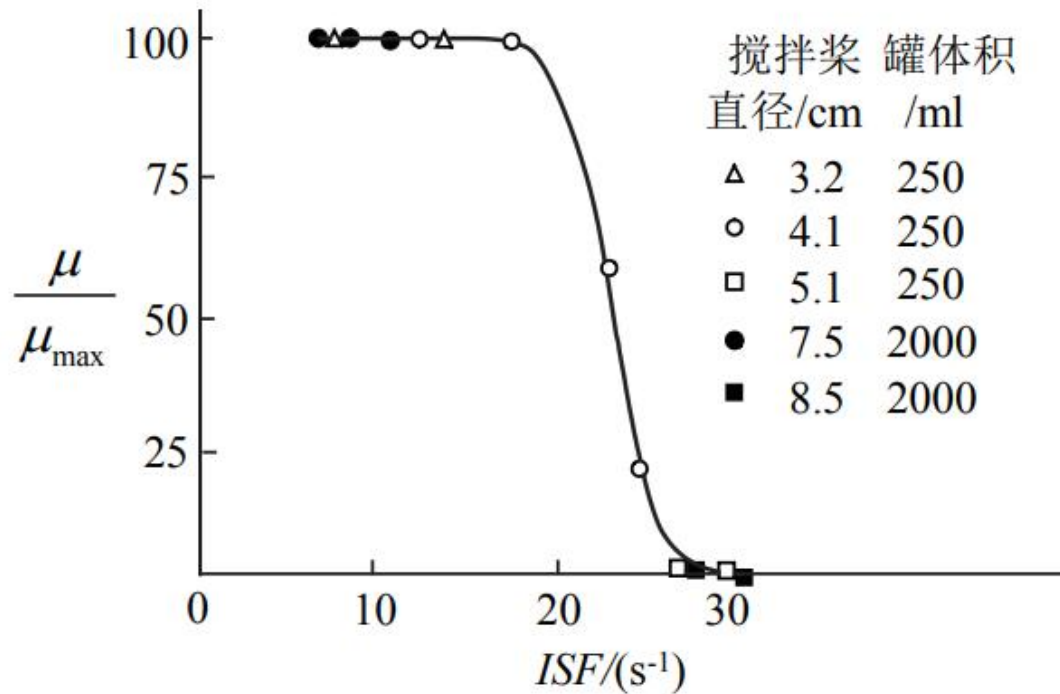
$$ISF = \frac{\Delta u_L}{\Delta x} = \frac{2\pi N d}{D - d}$$

$$ISF = ISF(N, d)$$

u_L 为流动速度，m/s； D 为反应器直径，m。

反应器中的流体剪切作用

(1) 积分剪切因子ISF



FS-4动物细胞的生长速率与积分剪切因子的关系

反应器中的流体剪切作用

(2) 时均切变率 $\dot{\gamma}_{ave}$

表示流体速度分布随空间位置和时间变化。

$$\dot{\gamma}_{ave} = \frac{131.1 N d^{1.8} (D^{0.2} - d^{0.2}) \left(\frac{d_f}{d}\right)^{1.8}}{D^2 - d^2}$$

d_f ——无挡板反应器在机械搅拌下的强制涡流区直径

定义搅拌雷诺数，

$$Re_M = \frac{N d^2 \rho_L}{\mu_L}$$

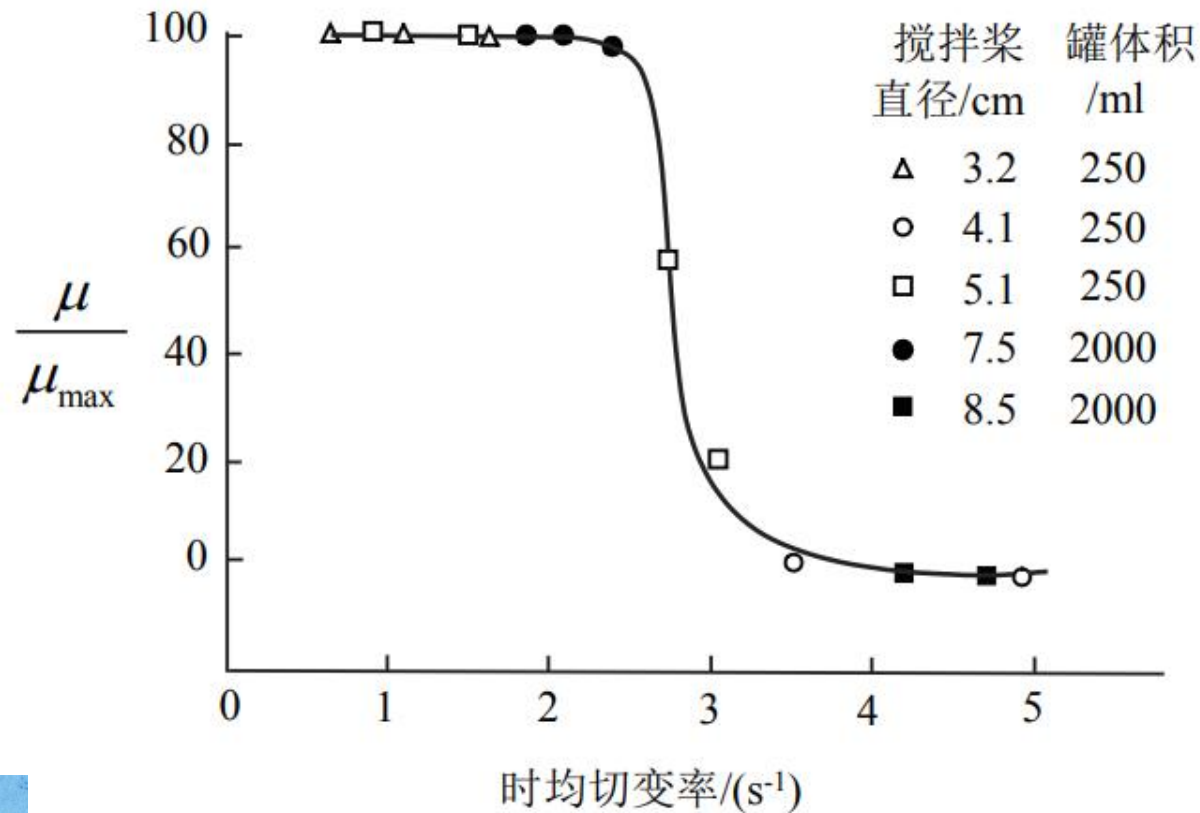
当 $Re_M \gg 625$, $d_f/d = 0.625$,

$$\dot{\gamma}_{ave} = K N$$

$$\dot{\gamma}_{ave} = \dot{\gamma}_{ave}(N, d)$$

反应器中的流体剪切作用

(2) 时均切变率 γ_{ave}

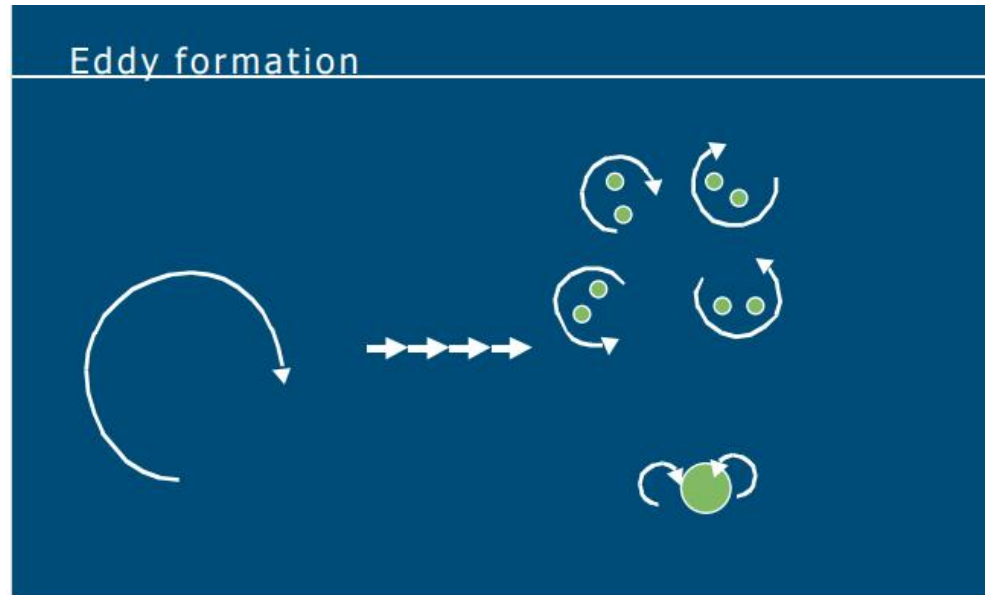


动物细胞的生长速率与时均切变率的关系



反应器中的流体剪切作用

(3)最小湍流漩涡长度 λ



反应器中的流体剪切作用

(3)最小湍流漩涡长度 λ

采用最小湍流漩涡长度估计反应器中流体剪切力的好处：

在湍流条件下，流体的剪切作用与细胞所处环境的速度分布有关，细胞致死与具有一定速度分布的漩涡的相对大小有关。

- 当漩涡尺寸 $>$ 细胞尺寸，并且细胞的密度与流体的密度差别较小时，细胞会随流体一起运动，细胞受到的剪切力较小。
- 当漩涡尺寸 $<$ 细胞尺寸，细胞受到的剪切力较大，细胞可能受到剪切力的作用而损伤。

反应器中的流体剪切作用

(3)最小湍流漩涡长度 λ

$$\lambda = \left(\frac{\nu_L^3}{\varepsilon_T} \right)^{0.25}$$

单位质量流体的平均功率消耗 ε_T 越大，漩涡长度越小。

$$\varepsilon_T = \frac{P}{\rho_L V_L}$$

机械搅拌功率消耗，

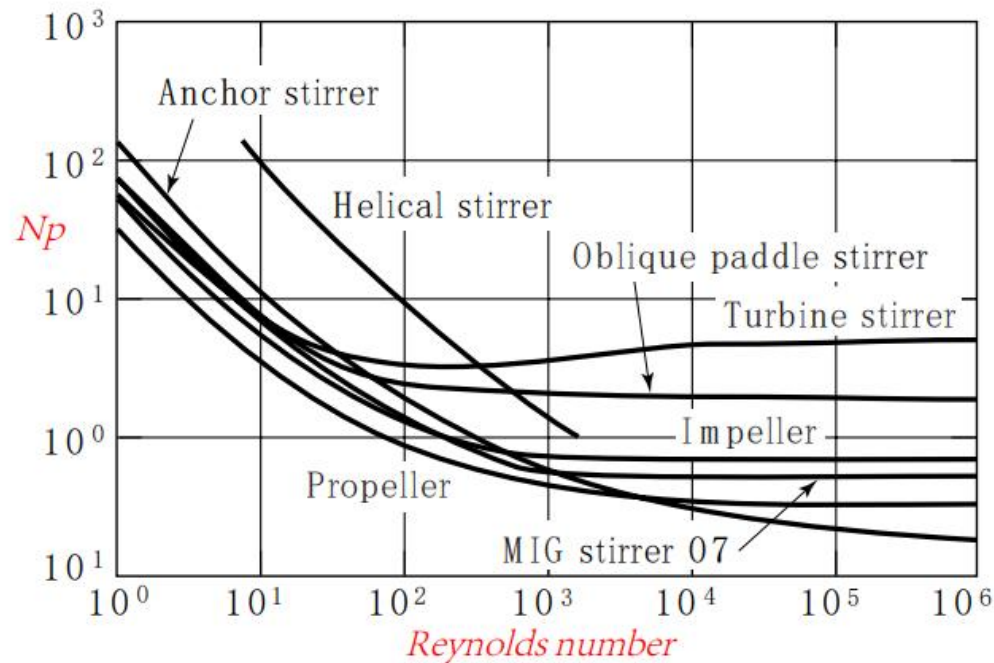
$$P = f(d, N, \rho_L, \mu_L, g)$$

$$P = N_P \rho_L N^3 d^5$$

N_P 为能量利用效率的无量纲准数，是结构参数和搅拌雷诺数的函数，与流动状况有关。

反应器中的流体剪切作用

(3)最小湍流漩涡长度 λ



Performance characteristics of some types of stirrer with Newtonian fluids.

不通气时功率特征数与搅拌雷诺数的关系

反应器中的流体剪切作用

(3)最小湍流漩涡长度 λ

一定的能量输入密度造成一定的湍流强度和剪切力，形成一定的空间平均速度梯度。

定义空间平均速度梯度(the spatially averaged velocity gradient, s^{-1}),

$$G = \left(\frac{e_T}{\nu_L} \right)^{1/2} \quad (23)$$

$$G = \frac{\nu_L}{\lambda^2} \quad (24)$$

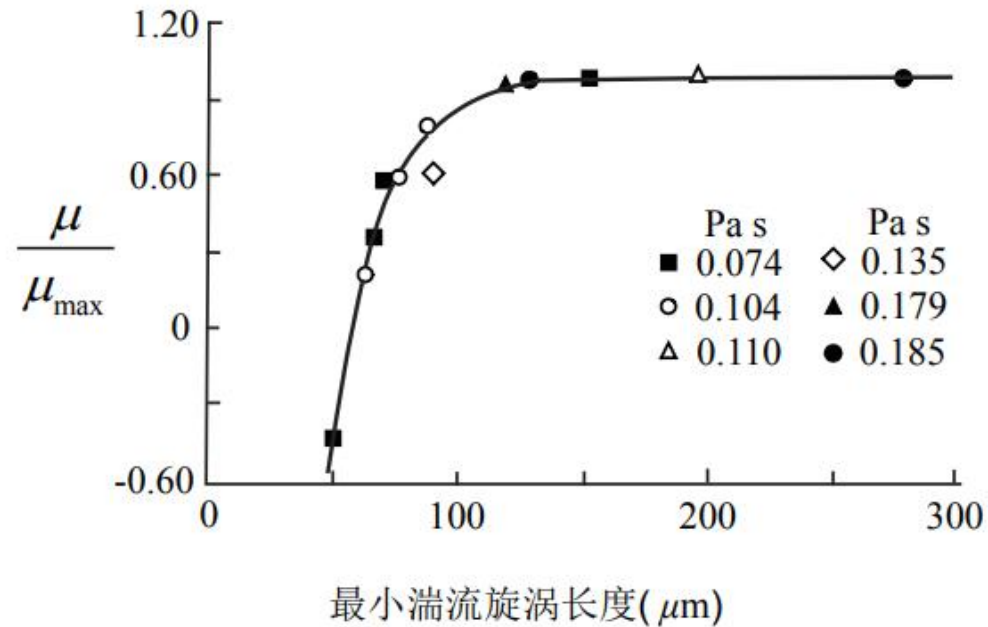
重要结果：剪切力 G 与最小湍流漩涡长度的平方成反比关系！

漩涡长度与细胞比死亡速率的关系，

$$k_d = \frac{A}{\lambda^3} \quad (25)$$

反应器中的流体剪切作用

(3)最小湍流漩涡长度 λ



不同黏度下动物细胞的生长速率与湍流长度的关系

动物细胞的尺寸：10~30 μm 。

反应器中的流体剪切作用

(3)最小湍流漩涡长度 λ

表 1: 工业发酵罐中典型的湍流漩涡长度/ μm

反应器部位	小型罐(100L, 10kW/m ³)	大型罐(1000L, 1kW/m ³)
搅拌器区域	9	16
罐主体部分	24	43

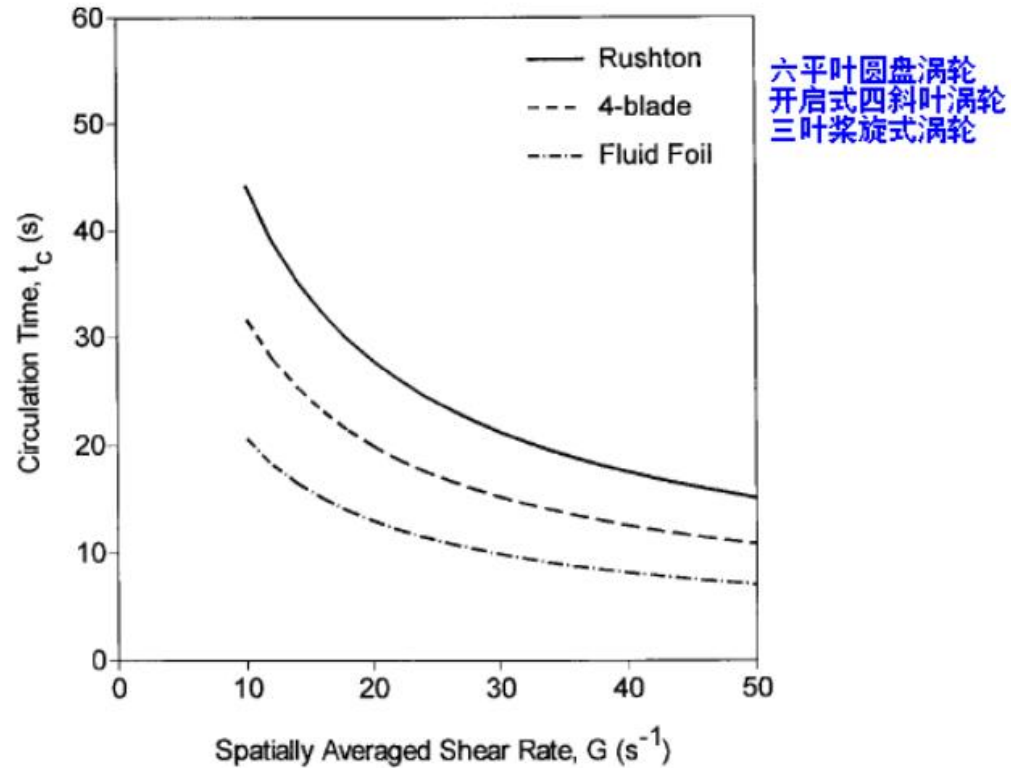
上述数据引起的问题：对尺寸较小的微生物细胞，机械搅拌反应器中的流体剪切力究竟是否对微生物细胞有损伤作用？

研究发现，对装有单组搅拌器的反应器，空间平均速度梯度增大，循环时间减小，则细胞与搅拌器叶端的接触频率增加，受到的最大剪切作用的机会加大。



反应器中的流体剪切作用

(3)最小湍流漩涡长度 λ



循环时间与平均空间速度梯度的关系

反应器中的流体剪切作用

(3)最小湍流漩涡长度 λ

应用上一个常犯的错误！

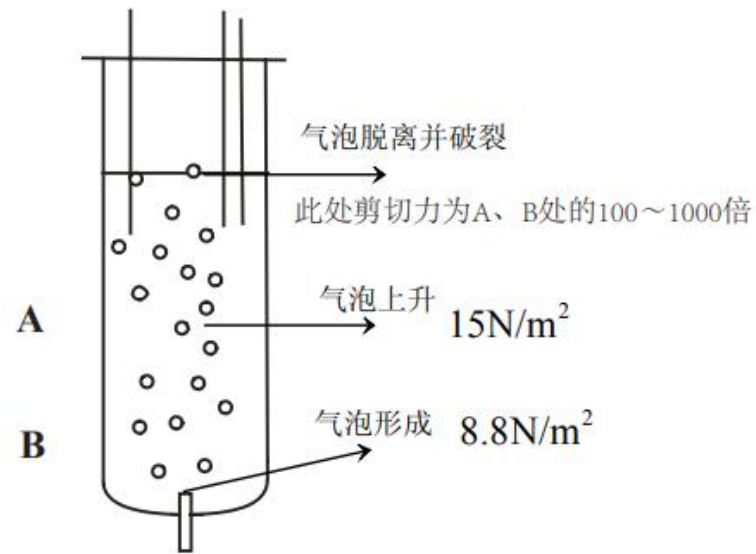
对菌丝体等颗粒，颗粒平均直径，

$$\bar{d}_P \propto \varepsilon_T^{-0.25} \left(\frac{D}{d} \right)^{0.75} \quad (26)$$

因此，在工业上用通气式机械搅拌反应器进行菌丝体通气培养时，在保持功率消耗不变的条件下，应设计尺寸较小的搅拌桨。若要降低混合时间，应增大搅拌速度或降低高径比。

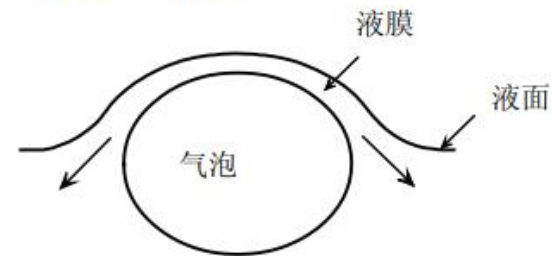
反应器中的流体剪切作用

气流搅拌的剪切力

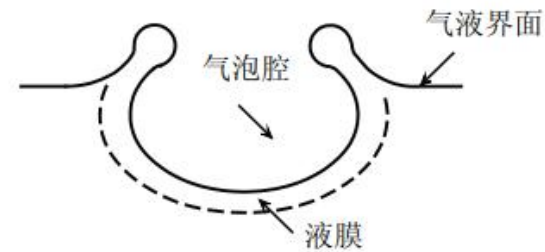


气泡在鼓泡柱反应器中的经历

(a) 气泡处于液面



(b) 气泡脱离液面破裂



气泡在液面的脱离与消失

反应器中的流体剪切作用

气流搅拌的剪切力

气流搅拌反应器中，气液界面更新区域的流动速度梯度的剧烈变化是产生流体剪切力的原因。

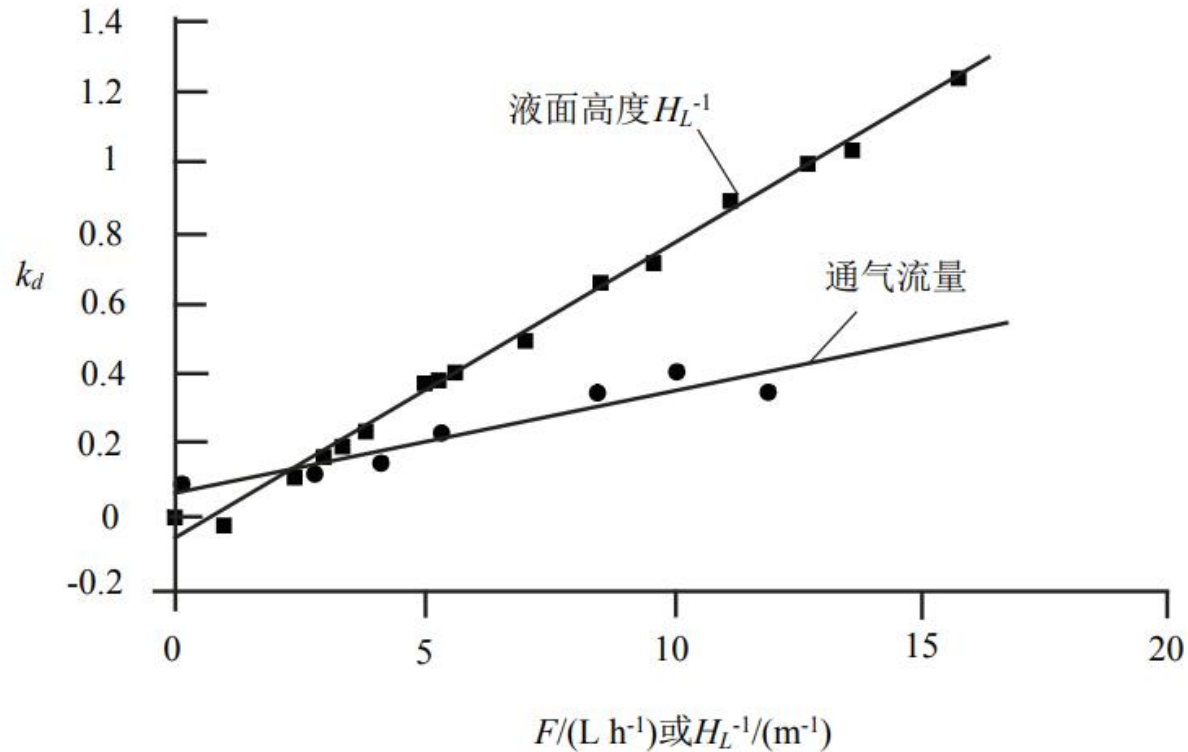
致死体积模型：

$$k_d = k_d(F_G, H_L)$$
$$k_d = \frac{24F_G V_k}{\pi d_B^3 D^2 H_L} \quad (27)$$

通气量 F_G 愈大，液面高度 H_L 愈低，则 k_d 值愈大，细胞死亡速率愈大。

反应器中的流体剪切作用

气流搅拌的剪切力



细胞比死亡速率与通气流量和液面高度的关系

反应器中的流体剪切作用

气流搅拌的剪切力

气泡直径 d_B 与致死体积 V_k :

$$V_k = V_{k0} + kd_B^p \quad (2)$$

气泡直径越小， V_k 越小，流体剪切力越大。在此气泡尺寸下，细胞容易死亡。
鼓泡反应器的时均切变率主要取决于气体表观线速度，

$$\dot{\gamma}_{ave} = kv_{GS}^\alpha \quad (2)$$

$v_{GS} = \frac{F_G}{S}$ ——气体表观线速度

S ——反应器的横截面积

反应器中的流体剪切作用

气流搅拌的剪切力

对气升式反应器，主要影响因素为升液管内气体表观线速度 v_{GR} 和降液管与升液管截面积之比 A_D/A_R ，

$$\dot{\gamma}_{ave} \propto \epsilon_T \quad (30)$$

$$\epsilon_T = \frac{P_G}{\rho_L V_L} = \frac{g v_{GR}}{1 + A_D/A_R} \quad (31)$$

$$P_G = F'_G R T \ln \frac{p_S}{p} \quad (32)$$

气升式反应器的总功率消耗主要取决于通气摩尔流率 F'_G 、气体分布器的开孔率和喷嘴直径、气体分布器出口压力 p_S 和反应器顶部压力 p 。

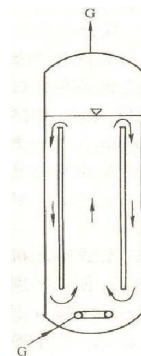


图 1-2-13 气升环流式反应器

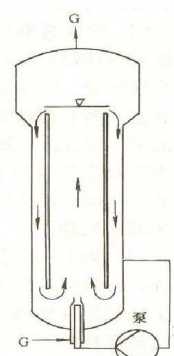


图 1-2-14 气液双喷射气升环流反应器

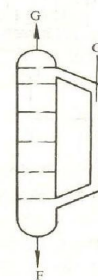


图 1-2-15 多层空气分布板的气升环流发酵罐

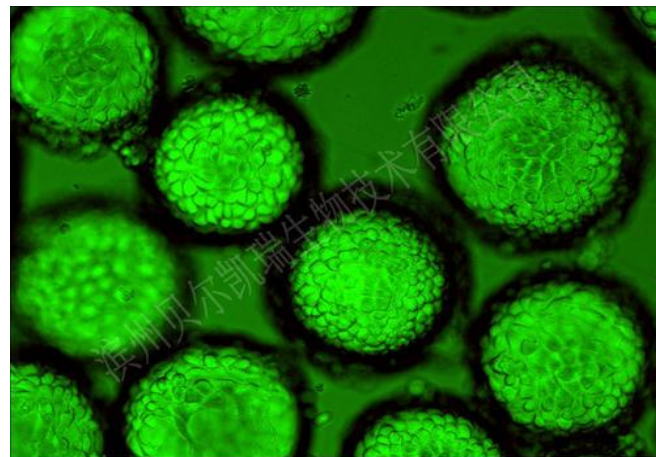
反应器中的流体剪切作用

气流搅拌的剪切力

气升式反应器对动物细胞培养的适用性问题：

气升式反应器由于存在气泡，气泡与液体的气液界面更新时产生的剪切力度对剪切敏感动物细胞培养不利，因此不适合与这类细胞的培养。

但是，改变气液界面的性质可以降低与气泡破碎有关的剪切力。因此，在用气升式反应器进行动物细胞培养时，在培养液中加入Fluronic F-68一类的高分子醇类表面活性剂。



PK-15 细胞在 CephodexD 微载体上的生长状态

例题：重组CHO细胞培养以生产生长激素的过程。此过程采用直径为120 μm 微载体进行细胞贴壁培养，采用有效体积3.5 L机械搅拌反应器，反应器中装有一层涡轮搅拌桨用于物料混合和保持微载体悬浮，空气和 CO_2 通过反应器顶部以表面通气方式输入。物料密度近似为1010 kg/m^3 ，粘度为 $1.3 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$ ，涡轮搅拌桨直径为6 cm，功率特征数 $N_p=5$ 。

试估算允许的最大搅拌转速。在这个搅拌转速下操作，能避免细胞受到湍流剪切力的损伤。

解：一般认为，如果最小湍流漩涡长度 λ 能维持在大于微载体直径的1/2-2/3，则由湍流引起的细胞受到的剪切力损伤可以避免。

已知微载体直径， $d_p = 120 \text{ } \mu\text{m}$ ，因此

$$\lambda = \frac{2}{3} d_p = \frac{2}{3} \times 120 \times 10^{-6} = 8 \times 10^{-5} \text{ (m)}$$

若反应器中的物料为液体，则：

$$v_L = \frac{\mu_L}{\rho_L} = \frac{1.3 \times 10^{-3}}{1010} = 1.29 \times 10^{-6} \text{ (m}^2/\text{s)}$$

所以，单位质量流体的局部功率消耗：

$$e = \frac{v_L^3}{\lambda^4} = \frac{(1.29 \times 10^{-6})^3}{(8 \times 10^{-5})^4} = 0.052 \text{ (m}^2/\text{s}^3)$$

此为反应器中单位质量流体的平均功率消耗的最大值。因此，它的计算应以靠近搅拌桨叶附近的流体质量为基准。此趋于的质量约为 $\rho_L d^3$ ，相应的搅拌功率应为： $P_s = e \rho_L d^3 = 0.052 \times 1010 \times (6 \times 10^{-2})^3 = 1.13 \times 10^{-2} \text{ (W)}$

对于涡轮桨，由 $P_s = N_p \rho_L N^3 d^5$ ，得出

$$N = \left(\frac{P_s}{N_p \rho_L d^5} \right)^{1/3} = \left(\frac{1.13 \times 10^{-2}}{5 \times 1010 \times (6 \times 10^{-2})^5} \right)^{1/3} = 1.4 \text{ (s}^{-1}\text{)} = 85.5 \text{ (r/min)}$$

思考题

1. 由书上 p180 表 6-2 的数据判断出，用最小湍流漩涡长度估算，微生物发酵的通气式机械搅拌反应器内剪切力一般对尺度较小的微生物没有流体剪切作用。判断这种说法的正确与否，并说明理由。
2. 动物细胞培养反应器设计时，为何考虑采用无泡通气方式？
3. 目前对动物细胞株 CHO，对它的培养反应器型式，多用通气式机械搅拌反应器。对这种情况，如何考虑气体分布器设计和通气速率对流体剪切力的影响？