3-3 生物反应器的通风与溶氧 (DO) 传质

- 1、说出氧在培养过程中的传递过程
- 2、影响气液氧传递速率的因素

氧的性质及发酵液中实际需氧量

- **难溶气体**，在 25 度和 105 Pa 时，氧在纯水中的溶解度为 0.25mol/m^3 。
- 培养液中氧的溶解比水中还**小**，因为氧的溶解度随着温度的升高而下降，随着培养液固形物的增多，或粘度的增加而下降。
- 对于发酵液中每小时在 1 m^3 培养液中需要氧是溶解量的 750 倍。如果中断供氧，菌体会在几秒钟内耗尽溶氧。

- 在常压下（20℃）达到平衡时，氧在水中的溶解度仅为6.2ml / L（0.28mmol）。这些氧只能保证氧化8.3mg（即0.046mmol）葡萄糖，仅相当培养基中常用葡萄糖浓度的1‰。
- 除葡萄糖外，培养基中的无机或有机养料一般都可保证微生物使用几小时至几天。
- 对好氧菌来说，生长的限制因子几乎总是氧的供应。
- 只有将培养液装成浅层时，氧才不至于成为限制因子。

细胞对氧的需求

- 氧作为氢受体
- 氧直接参与一些生物反应

一、细胞对氧气的需求

- 1、　多数细胞需利用分子状态的氧
- 2、　细胞利用氧的速率
- 呼吸强度，Q_{O2} ：单位质量的细胞在单位时间内所消耗氧气的量。
- 摄氧率，r ：单位体积培养液的细胞在单位时间内所消耗氧气的量。
- 二者关系：呼吸强度表示微生物的绝对吸氧量，但当培养液中有固体成分存在时，测定困难。用耗氧速率表示。

- 在培养过程中不需要使溶解氧浓度达到或接近饱和值，而只要超过某一**临界氧浓度**即可。
- 当不存在其他限制性基质时，如果溶氧浓度高于临界值，细胞的比耗氧速率保持恒定；
- 如果溶氧浓度低于临界值，细胞的比耗氧速率大大下降，这时细胞处于半厌氧状态。

临界溶氧浓度

- 满足微生物呼吸的最低氧浓度。在临界氧浓度以下，微生物的呼吸速率随溶解氧浓度降低而显著下降。
- 好氧微生物临界氧浓度大约是饱和浓度的 1-25 %。
- 需考查每一种发酵产物的临界氧浓度和最适氧浓度。
- 最适溶氧浓度的大小与菌体和产物合成代谢的特性有关。

供氧与微生物呼吸代谢的关系

- 好氧微生物所含的氧化酶系：过氧化氢酶，细胞色素氧化酶，黄素脱氢酶，多酰氧化酶等。

- 不同好氧微生物所含的氧化酶系的种类和数量不面，在不同环境条件下，各种微生物的吸氧量或呼吸强度不同。

氧的供需

- 实验室中，通过**摇瓶机**往复运动或偏心旋转运动供氧。
- 中试规模和生产规模的培养装置采用**通入无菌压缩空气**并同时进行**搅拌**的方式。
- 近年来开发出**无搅拌装置**的节能培养设备，如气升式发酵罐。
- 细胞对鼓泡通气和机械搅拌产生的**剪切**作用敏感。

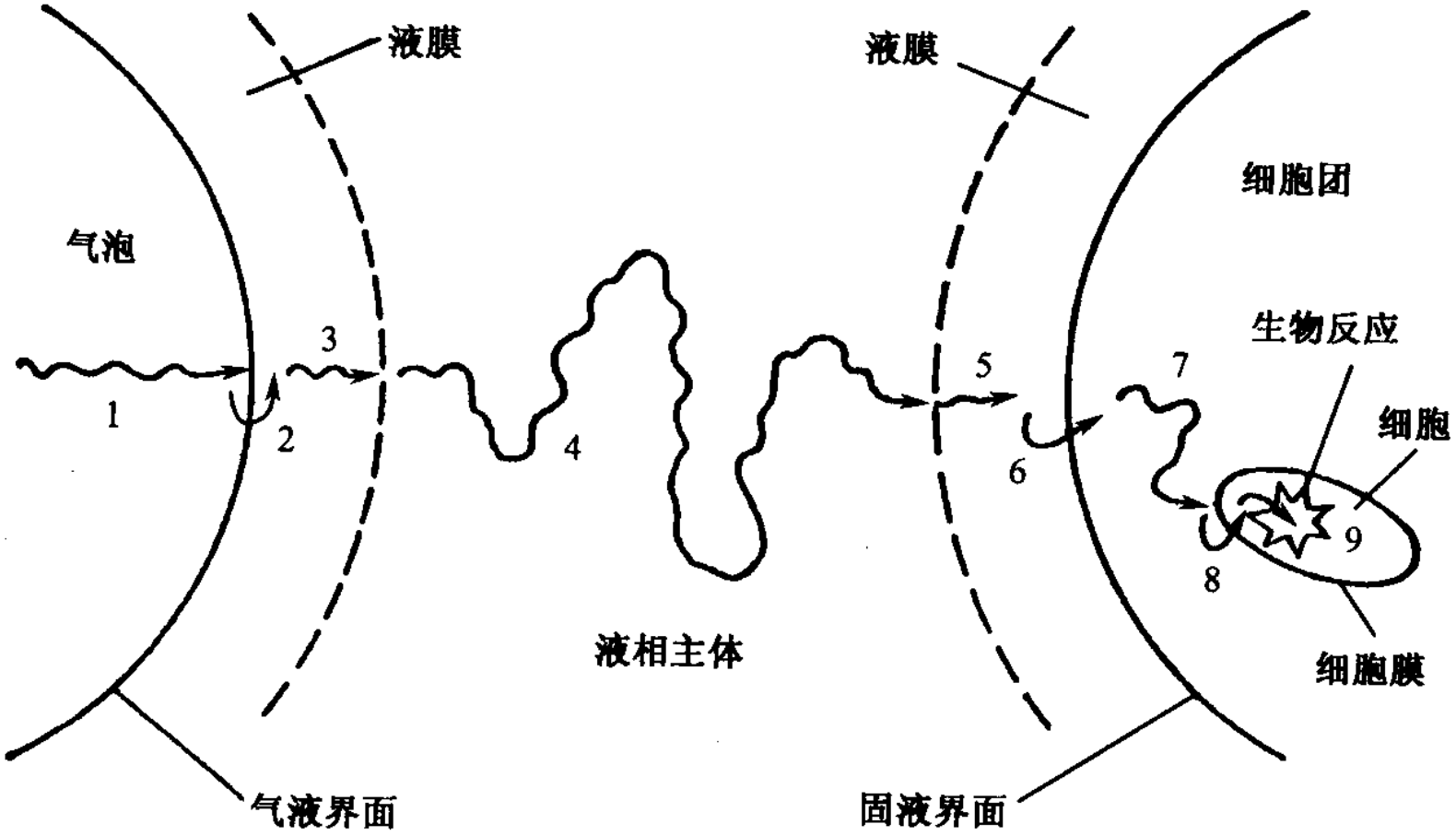

图 3-7　氧从气泡到细胞的传递过程示意图

1. 从气相主体到气-液界面的气膜传递阻力；2. 气-液界面的传递阻力；3. 从气-液界面通过液膜的传递阻力；4. 液相主体的传递阻力；5. 细胞或细胞团表面的液膜阻力；6. 固-液界面的传递阻力；7，细胞团内的传递阻力；8. 细胞壁的阻力；9. 反应阻力

二、培养过程中的氧传递

- （一）、氧气从气泡到细胞内需克服一系列的传递阻力
- 1、　在气泡中氧从气相主体扩散到气 - 液界面的阻力
- 2、　通过气 - 液界面的阻力
- 3、　通过气泡外侧滞流液膜，到达液相主体的阻力
- 4、　液相主体中的阻力

- 5、通过细胞或细胞团外的滞流液膜，到达细胞与液体界面的阻力
- 6、通过液体与细胞之间界面的阻力
- 7、细胞团内的细胞与细胞之间的介质中的扩散阻力
- 8、进入细胞的阻力
- 9、反应阻力

9 大阻力

- 供氧阻力： 1-4
- 耗氧阻力： 5-9

- 3 个界面阻力： 2， 6， 8
- 3 个主体阻力： 1， 4， 7
- 2 个滞流液膜： 3， 5
- 1 个反应阻力： 9

单细胞游离悬浮　　7 消失

细胞吸附在气泡表面　　4、 5、 6、 7、消失

- **1、传递过程的总推动力：**

是气相与细胞内的氧分压 **(pressure)** 之差

- **2、主要阻力：**

气泡 外侧的滞流液膜

- **3、提高推动力或 KLa，氧传递速率增大。**

三、影响气液氧传递速率的因素

- （一）　　影响推动力的因素

1、提高气相氧分压之差（增大罐压）

2、进行富氧通气

（二）　影响气液比表面积 **a** 的因素

当物料一定的条件下，增加单位体积通气情况下的搅拌功率和通气量，　KLa 增大。

（三）　　影响 K_La 的因素

- **KL:** 总传质系数
- **KLa:** 体积溶氧系数

（三） 影响 KLa 的因素

1、操作条件

搅拌转速、搅拌功率、通气速度等，且增大搅拌功率的效果更明显。

2、 流体性质

液体扩散系数增大，或表面张力减小， KLa 增大。

3、其他因素的影响

（1）表面活性剂：加入消泡剂， KLa 会下降

（2）盐浓度（离子强度）：

离子带静电，阻碍了气泡的凝并，a 增大

（3）细胞：细胞浓度增加， KLa 会下降

操作条件

- （1）搅拌使空气分散分散成细小的气泡，防止小气泡的凝并，使 a 增大。
- （2）产生液体涡流，气体停留时间延长。
- （3）造成液体湍动，减小液膜厚度，减小传质阻力。
- （4）营养物质均匀分散，减少缺氧区的形成。

注意事项：

- （1）剧烈的搅拌产生大的剪切力，会损伤细胞
- （2）产生大量搅拌热，加重传热负担
- （3）通气量过大，有“过载”现象

细胞生物反应器的放大

- 生物反应器的开发分三阶段：小试、中试、放大
- （一）　　几何尺寸放大
- （二）　　空气流量的放大
- （三）　　搅拌功率及转速的放大

- 在发酵工业生产上如何保证发酵中氧的供给，以满足生产菌对氧的需求，是稳定和提高生产、降低成本的关键之一。
- 在发酵中氧究竟够不够，即产量是否受到氧的限制，单凭通气量大小是难于确定的。
- 了解通气搅拌对发酵的影响，最简便有效的办法便是就地测量发酵液中氧的浓度。从氧浓度变化曲线可以看出氧供需的规律及对生产的影响。
- 溶氧可作为发酵中氧是否足够的度量，发酵异常情况的指示，发酵中间控制的手段之一和考查设备及工艺条件对氧供需与产物形成影响的指标之一。

发酵过程中溶解氧的变化

- 每种产物发酵的溶氧浓度变化都有自己的规律。
- 明显下降：需氧量超过供氧量，使溶氧浓度明显下降，出现一个低峰，产生菌的摄氧率同时出现高峰。发酵液中的菌浓也不断上升。粘度一般在这个时期也会出现一高峰阶段。这都说明产物物菌正处在对数生长期。

- 过了生长阶段，需氧量有所减少，溶氧浓度以过一段时间的平衡阶段或上随之上升后，就开始形成产物，溶氧浓度也不断上升。低峰出现的时间和低峰溶氧浓度随菌种、工艺和设备供氧能力不同而异。
- 发酵中后期，对于分批发酵，溶氧浓度变化比较小。菌体已进入静止期，呼吸强度变化不大。
- 外界补料，溶氧的变化随补料时的菌龄、补入物质的种类和剂量不同而不同。如补糖，则摄氧率增加，溶氧浓度下降。

- 在生产后期，菌体衰老，呼吸强度减弱，溶氧浓度逐步上升，菌全自溶，溶氧浓度会明显上升。

发酵过程中溶氧变化异常原因

- 耗氧或供氧出现了异常因素或发生了障碍
- 1、引起溶氧异常下降的原因：
- （1）污染好气性杂菌，大量溶氧被消耗
- （2）菌体代谢发生异常，需氧要求增加
- （3）某些设备或工艺控制发生故障或变化，如搅拌功率消耗变小或搅拌速度变慢；消泡剂加入过多
- （4）影响供氧的工艺操作如停止搅拌、闷罐等。

引起溶氧异常升高的原因

- 主要是耗氧出现改变，如菌体代谢异常，耗氧能力下降，
- 污染烈性噬菌体
- 溶氧监测的作用
- （1）从发酵液中的溶解氧浓度变化，可以了解微生物生长代谢是否异常
- （2）工艺控制是否合理
- （3）设备供氧能力是否充足。

溶解氧浓度的控制

- 溶氧浓度决定因素：供氧和需氧两方面。当发酵的供氧量大于需氧量，溶氧浓度就上升，直到饱和。
- 供氧控制：设法提高氧传递的推动力和液相体积氧传递系数 Kla 值。