

固定化酵母细胞连续生产转化糖反应动力学的研究

李凡超 徐京宁 张嗣良 俞俊棠

(华东化工学院生化工程研究所, 上海)

利用海藻酸钠固定化面包酵母细胞, 在搅拌罐和填充柱反应器内连续反应由蔗糖生产转化糖, 对该过程的反应动力学研究表明: 内、外传质阻力, 转化酶活力、料液流量, 搅拌速率和媒体半径对转化率有影响, 本文给出了它们之间相互关系的数学表达式, 本文还定义了阻力因子, 动力因子及返混因子, 并讨论了它们对转化效率所起的作用, 给出了串联反应器操作的有关计算公式, 测定了有关动力学参数, 给出了料液流量控制, 搅拌转速控制, 媒体半径选择和最大转化率操作条件的计算方法, 并在搅拌罐反应器、填充柱反应器和串联搅拌罐反应器中进行了实验和计算, 从实验上验证了动力学理论研究结果。

关键词 数学模型; 转化糖; 固定化细胞; 蔗糖; 动力学

动力学模型

蔗糖在面包酵母的蔗糖转化酶作用下, 生成葡萄糖和果糖, 也称转化糖。转化糖较蔗糖甜度高, 增加了果糖特有的水果香味, 在食品工业中有重要意义。固定化细胞或固定化酶技术用于连续化生产具有许多优点: 细胞或酶的固定化为发酵过程连续化、细胞或酶的再利用和反应液与反应媒介的分离提供了方便, 获得了人们日益增强的兴趣。到目前为止关于固定化细胞或固定化酶技术用于生产过程已有许多文献报导^[1~4], 而有关其动力学的研究也不少^[2,5]。本文研究了固定化酵母细胞连续生产转化糖的动力学过程, 得到了许多有趣的结果, 搞清了以下问题: 1. 外扩散因素是怎么影响转化反应的。如何减小外扩散的影响; 2. 内扩散因素对转化反应影响作用有多大, 如何减小内扩散因素的影响; 3. 媒体内细胞浓度或转化酶活力是否越高越好, 最适宜细胞或酶浓度如何确定; 4. 在一定操作条件下

能获得多大的转化率, 或者, 在什么操作条件下可获得最大转化率、而此最大转化率又为多少? 开展这些问题的研究对固定化细胞技术应用及其理论发展都是有益的。本文采用海藻酸钠物理包埋法, 把面包酵母细胞均匀地固定在圆球形的颗粒(简称媒体)内, 利用细胞所产生的蔗糖转化酶, 在填充柱反应器或搅拌罐反应器内, 把料液中蔗糖反应生成转化糖, 进行连续化生产。

(一) 反应动力学模型及公式推导

1. 在推导反应动力学方程前, 先作下面几点假设:

(1) 媒体为半径(r)均一的球体, 媒体内细胞及转化酶分布是均匀的, 在一定生产周期内酶活不变。

(2) 转化反应符合酶促米氏方程, 菌体维持生存仅消耗产物。

(3) 底物与产物在媒体内建立稳定浓度梯度过程与整个转化过程相比是迅速的, 即媒体内反应始终处于准稳态。

本文于1991年12月19日收到。

(4) 单个媒体转化反应涉及如下三个区域;

I. 本体溶液: 离媒体颗粒表面距离大于 l 的溶液中, 在搅拌或自然对流作用下底物及产物浓度保持一致。

II. 滞流层: 距媒体颗粒表面距离小于 l 的溶液层中, 由于流体的粘性而保持与媒体相对静止, 此层中底物的传递仅靠扩散进行。

III. 媒体内部: 在转化酶催化下, 扩散进来的底物不断生成产物, 后者再扩散出去进入溶液本体。

(5) 平均滞流层厚度 (l) 与媒体和反应液间相对运动速度有关, 在某些情况下此相对运动速度不易测得, 可用搅拌速度 (ω) 替代, 假定 $l = e^{d+b\omega}$ 。式中 d, b 为两常数。

在上述假设下, 我们先研究单个媒体颗粒转化反应过程动力学, 然后再研究整个反应器中反应过程动力学过程。

2. 媒体颗粒反应动力学: 单个媒体颗粒内部及其滞流层中底物浓度满足下方程:

$$D_s \left(\frac{\partial^2 C_s}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C_s}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 C_s}{\partial z^2} \right) = 0$$

$$r \leq (x^2 + y^2 + z^2)^{1/2} \leq r + l \quad (1)$$

$$D_i \left(\frac{\partial^2 C_i}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 C_i}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 C_i}{\partial z^2} \right) = \frac{V_m C_i}{K_m + C_i}$$

$$0 \leq (x^2 + y^2 + z^2)^{1/2} \leq r \quad (2)$$

式中: D_s, D_i 分别为底物在溶液中和媒体中的扩散系数;

K_m, V_m 分别为转化酶反应的表观米氏常数和表观最大反应速率;

C_s 为底物浓度;

x, y, z 是以媒体颗粒球心为坐标原点的空间坐标值。

在球坐标系中上面方程可简化为:

$$D_s \frac{d \left(\rho^2 \frac{dS}{d\rho} \right)}{\rho^2 d\rho} = 0$$

$$r \leq \rho \leq r + l \quad (3)$$

$$D_i \frac{d \left(\rho^2 \frac{dS}{d\rho} \right)}{\rho^2 d\rho} = \frac{V_m S}{1 + S}$$

$$0 \leq \rho \leq r \quad (4)$$

并有如下边界条件:

$$S(r + l) = S_b \quad (5)$$

$$\lambda S(r + 0) = S(r - 0) \quad (6)$$

$$D_s \frac{dS(r + 0)}{d\rho} = D_i \frac{dS(r - 0)}{d\rho} \quad (7)$$

$$\frac{dS(0)}{d\rho} = 0 \quad (8)$$

式中: $S = \frac{C_i}{K_m}$ 称为相对底物浓度。

$S_b = \frac{C_{s,b}}{K_m}$ 为本体溶液中相对底物浓度, 其中 $C_{s,b}$ 为本体溶液中底物浓度;

$V = \frac{V_m}{K_m}$ 为单位体积媒体中相对表

观最大反应速率;

λ 为底物在媒体和溶液间的分配系数;

ρ 为球坐标系中的球半径因子。

方程 (3) 和 (4) 可分别称为滞流层中的拉普拉斯方程和媒体颗粒内部的伪泊松方程。

式 (3) 经分离变量可直接积分出;

$$S = A + \frac{B}{\rho} \quad r \leq \rho \leq r + l \quad (9)$$

其中 A, B 为两待定系数。

式 (4) 目前还得不到精确的解析解, 但考虑到当 $S \gg 1$ 时, $V\overline{S}/(1+\overline{S})$ 与 $V\overline{S}/(1+S)$ 同趋于 V , 相互替代而不会产生计

算误差, 而当 $S \ll 1$ 时, $V\bar{S}/(1+\bar{S})$ 和 $V\bar{S}/(1+S)$ 分别趋于 $V\bar{S}$ 和 $V\bar{S}$, 都是较小的量, 互相替代后也不会产生较大计算误差, 所以以 $V\bar{S}/(1+\bar{S})$ 替代 $V\bar{S}/(1+S)$ 可以得到原问题的一个近似描述。这里 \bar{S} 为媒体中平均相对底物浓度,

$$\bar{S} = \frac{3}{4\pi r^3} \int_0^r 4\pi \rho^2 S(\rho) d\rho \quad (10)$$

反应在准稳态下进行, \bar{S} 为一常数, 从而 $V\bar{S}/(1+\bar{S})$ 也为常数, 于是方程 (4) 表现为下面的泊松方程:

$$D_i \frac{d\left(\rho^2 \frac{dS}{d\rho}\right)}{\rho^2 d\rho} = F \quad (11)$$

$$0 \leq \rho < r$$

式中
$$F = \frac{V\bar{S}}{1+\bar{S}} \quad (12)$$

式(11)分离变量后积分出:

$$S = \frac{F}{6D_i} \rho^2 + A' + \frac{B'}{\rho} \quad (13)$$

$$0 \leq \rho < r$$

式中 A, B 为两待定系数。

应用边界条件(5)~(8)式, 确定出通解(9)和(13)式中的待定系数, 得到 S 的表达式:

$$S = \lambda \left[S_b + \frac{F}{6\lambda D_i} (\rho^2 - r^2) - \frac{Fr^2 l}{3D_i(r+l)} \right] \quad (14)$$

$$0 \leq \rho \leq r$$

$$S = S_b + \frac{Fr^3}{3D_i} \left(\frac{1}{r+l} - \frac{1}{\rho} \right) \quad (15)$$

$$r \leq \rho \leq r+l$$

把式(14)代入 \bar{S} 定义式(10), 积分出:

$$\bar{S} = \lambda \left[S_b - \frac{Fr^2 l}{3D_i(r+l)} - \frac{Fr^2}{15D_i \lambda} \right] \quad (16)$$

把式(12)代入式(16), 整理后得到一个 \bar{S} 与 S_b 关系的二次方程:

$$S_b = \frac{\bar{S}^2 + a\bar{S}}{\lambda(1+\bar{S})} \quad (17)$$

$$\text{或 } \bar{S} = -\frac{1}{2} [\lambda S_b - a + \sqrt{(\lambda S_b - a)^2 + 4\lambda S_b}] \quad (18)$$

式中 $a = 1 + Vr^2$

$$\left[\frac{1}{15D_i} + \frac{\lambda l}{3D_i(r+l)} \right] \quad (19)$$

a 可称为阻力因子, 其意义为阻碍转化反应速率的因素。

由解出的 \bar{S} 可得到单位体积媒体对底物的转化反应速度(式(12))。

3. 媒体在反应器内连续生产转化糖反应动力学: 以下讨论, 设料液通过反应器的流量为 Q , 底物及产物在反应器径向上无浓度分布差异。

(1) 微观区域底物恒算方程式: 若反应器内溶液是以活塞方式由入口朝出口向前推进的(该情况近似适用于填充柱反应器), 沿轴向距入口为 z 处的溶液中相对底物浓度为 $S_b(z)$, 在此处一个高为 dz 的体积元内, 转化反应速度为:

$$\theta F \cdot \pi R^2 dz = \theta \pi R^2 \frac{V\bar{S}}{1+\bar{S}} dz \quad (20)$$

式中 θ 为填充率($\theta =$ 媒体体积: 反应器中媒体体积与料液体积和)。

而单位时间内进入和流出该体积元的相对底物量之差即是在该体积元内转化掉的底物速率, 故有:

$$Q[S_b(z) - S_b(z+dz)] = \theta \pi R^2 \frac{V\bar{S}(z)}{1+\bar{S}(z)} dz \quad (21)$$

或

$$\frac{dS_b(z)}{dz} = -\frac{\theta\pi R^2}{Q} \cdot \frac{V\bar{S}(z)}{1+\bar{S}(z)} \quad (22)$$

如果反应器内溶液流型不完全是活塞流, 假想由于回流或湍流效应, 使实际流过该体积元的溶液流量增大 k 倍, 于是式(22)修正为:

$$\frac{dS_b(z)}{dz} = -\frac{\theta\pi R^2}{kQ} \cdot \frac{V\bar{S}(z)}{1+\bar{S}(z)} \quad (23)$$

由式(23)可知, 当 $k=1$ 时, 适用于活塞流反应器, 当 $k>1$ 时, 适用于非完全活塞反应器, 当 $k=\infty$ 时, 适用于充分搅拌反应器(搅拌罐反应器)。故 k 称为返混因子。

式(23), 分离变量后积分得:

$$\begin{aligned} \bar{S}(z) - \bar{S}(0) + a \ln \frac{\bar{S}(z)}{\bar{S}(0)} \\ + (a-1) \ln \frac{\bar{S}(0)+1}{\bar{S}(z)+1} \\ = -\frac{\pi R^2 V \theta z}{kQ} \end{aligned} \quad (24)$$

式中 $\bar{S}(0)$ 、 $\bar{S}(z)$ 是反应器入口处和距入口距离为 z 处的媒体内平均相对底物浓度, 也即是由 $S_b(0)$ 和 $S_b(z)$ 按(18)式计算的媒体内平均相对底物浓度。

当 $z=H$ 时即得到出液中应满足的关系式(H 为反应器高);

$$\begin{aligned} \bar{S}(H) - \bar{S}(0) + a \ln \frac{\bar{S}(H)}{\bar{S}(0)} \\ + (a-1) \ln \frac{\bar{S}(0)+1}{\bar{S}(H)+1} \\ = -(\phi/k) \end{aligned} \quad (25)$$

$$\text{式中} \quad \phi = \frac{\pi R^2 V \theta H}{Q} \quad (26)$$

ϕ 称为动力因子, 物理意义为推动转化率 β 前进的因素。

(2) 宏观底物恒算方程式: 在整个反应器中反应掉的底物量应等于进出该反应器溶液中所带底物量之差, 即

$$\begin{aligned} \int_0^H \pi R^2 \theta \frac{V\bar{S}(z)}{1+\bar{S}(z)} \cdot dz \\ = Q(S_b^0 - S_b(H)) \end{aligned} \quad (27)$$

式中 S_b^0 为进液中相对底物浓度。

把式(23)代入式(27), 积分出:

$$\begin{aligned} k[S_b(0) - S_b(H)] \\ = S_b^0 - S_b(H) \end{aligned} \quad (28)$$

由式(25)和式(28)可以计算出液中相对底物浓度。

当 $k=\infty$ 时, 由式(28)得: $S_b(0) = S_b(H)$, 即反应器中任一点溶液中底物浓度都相等, 故 \bar{S} 为一常数, 由式(27)直接积分得:

$$\begin{aligned} S_b^0 - S_b = \frac{\pi R^2 H \theta V}{Q} \cdot \frac{\bar{S}}{1+\bar{S}} \\ = \frac{\phi \bar{S}}{1+\bar{S}} \end{aligned} \quad (29)$$

由式(18)和式(29)可以解出:

$$\begin{aligned} S_b = S_b^0 - \frac{\phi}{2(\lambda\phi + a - 1)} \\ \cdot \left\{ (\lambda S_b^0 + a + \lambda\phi) \right. \\ \left. + \sqrt{(\lambda S_b^0 - a - \lambda\phi)^2 + 4\lambda S_b^0} \right\} \end{aligned} \quad (30)$$

或

$$\begin{aligned} \phi = \frac{S_b^0 - S_b}{2\lambda S_b} \cdot \left\{ (\lambda_b + a) \right. \\ \left. + \sqrt{(\lambda S_b - a)^2 + 4\lambda S_b} \right\} \end{aligned} \quad (31)$$

由式(30)可计算搅拌罐反应器在一定操作条件下(所控制的 ϕ 及 a) 出液中相对底物浓度为多少。由式(31)可计算在一定的出液残余底物浓度要求下应控制什么样的操作条件。

(3) 产物恒算方程式: 一个分子底物转化后将生成两个分子的产物, 考虑到

细胞的消耗, 从微观体积元内物料恒算出发, 有:

$$\begin{aligned} kQ \frac{dP_b(z)}{dz} \\ = 2\theta\pi R^2 V \frac{\bar{S}(z)}{1 + \bar{S}(z)} - \alpha\theta\pi R^2 V \end{aligned} \quad (32)$$

式中 P_b 为溶液中相对产物浓度, α 为细胞的相对消耗速率, 即菌体对产物消耗速率与对底物转化速率之比。式(32)积分后得:

$$\begin{aligned} k[\rho_b(H) - \rho_b(0)] \\ = 2[S_b^0 - S_b(H)] - \alpha\phi \end{aligned} \quad (33)$$

从宏观物料恒算出发, 又有:

$$\begin{aligned} [P_b(H) - \rho_b^0] \\ = 2[S_b^0 - S_b(H)] - \alpha\phi \end{aligned} \quad (34)$$

由(33)式和(34)可以解出:

$$\begin{aligned} \rho_b(H) \\ = \rho_b^0 + 2[S_b^0 - S_b(H)] - \alpha\phi \end{aligned} \quad (35)$$

$$\begin{aligned} \rho_b(0) = \rho_b^0 + \frac{2(k-1)}{k} \\ \cdot [S_b^0 - S_b(H)] - \alpha\phi \end{aligned} \quad (36)$$

当 $k \rightarrow \infty$ 时, 对搅拌罐反应器适用, 此时:

$$\begin{aligned} \rho_b = \rho_b(H) = \rho_b(0) \\ = \rho_b^0 + 2(S_b^0 - S_b) - \alpha\phi \end{aligned} \quad (37)$$

式中 ρ_b^0 为进液中相对产物浓度。

(4) 转化率(β), 剩余率(γ)和消耗率(τ)的计算: 定义

转化率(β) = 出液中新增加的产物浓度/两倍进液中底物浓度;

剩余率(γ) = 出液中底物浓度/进液中底物浓度;

消耗率(τ) = 被菌体消耗掉的底物浓度/进液中底物浓度。

即

$$\begin{aligned} \beta &= \frac{\rho_b(H) - \rho_b^0}{2S_b^0} \\ &= 1 - \frac{S_b(H)}{S_b^0} - \frac{\alpha\phi}{2S_b^0} \end{aligned} \quad (38)$$

$$\gamma = \frac{S_b(H)}{S_b^0} \quad (39)$$

$$\tau = \frac{\alpha\phi}{2S_b^0} \quad (40)$$

在一定的操作条件下, 由前有关公式算得的 $S_b(H)$ 代入式(38), 式(39)和式(40)可以分别计算反应器出液中底物转化率(β), 底物剩余率(γ)和媒体对底物的消耗率(τ)。

(5) 串联反应器的操作: 对活塞流反应器而言, 串联操作等价于一个大的反应器, 对非活塞流反应器就不同了(尤其对搅拌罐反应器), 在相同量的媒体条件下, 若分成几个小反应器串联操作, 有可能提高转化率。

由于串联操作时, 前一个反应器的出液即是后一个反应器的进液, 故可由式(38)、(39)和式(40)分别计算每个(第 i 个)反应器的转化率(β_i), 剩余率(γ_i)和消耗率(τ_i), 经过 n 个反应器后, 总转化率($\beta_{总}$), 总剩余率($\gamma_{总}$)和总消耗率($\tau_{总}$)可分别按下三式计算:

$$\beta_{总} = \sum_{i=1}^n \beta_i \prod_{j=1}^{i-1} \gamma_j \quad (41)$$

$$\gamma_{总} = \prod_{i=1}^n \gamma_i \quad (42)$$

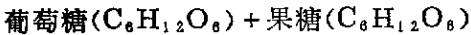
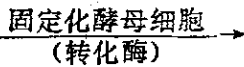
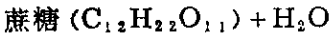
$$\tau_{总} = \sum_{i=1}^n \tau_i \prod_{j=1}^{i-1} \gamma_j \quad (43)$$

由算得的 $\beta_{总}$, $\gamma_{总}$ 和 $\tau_{总}$ 可计算出出液中相对底物浓度, 相对产物浓度和被消耗掉的相对底物浓度。

实验验证与讨论

(一) 实验原理与方法

1. 原理:



2. 面包酵母细胞的固定化及增殖^[4]: 在 3% 无菌海藻酸钠溶液中, 以 5% 的接种量加入面包酵母细胞, 搅均, 注入 0.1 mol/L 的氯化钙溶液中成圆球颗粒, 直径为 4 mm 左右, 20 min 后用无菌水洗涤, 而后转入 5% 蔗糖溶液中, 30°C 下增殖 24 小时, 待用 (文中简称经增殖后的固定化面包酵母细胞海藻酸钠颗粒为媒体)。以上及以下实验在无菌条件下操作。

3. 实验装置及操作方法: (1) 反应装置: 采用了两种连续化反应器, 一为连续搅拌罐式反应器 (CSTR), 见图 1.a, 罐的有效容积约 2 L。二为填充柱式反应器 (PBR), 见图 1.b, 该反应器半径约为 25 mm, 有效体积为 3.4 L, 柱外有通 30°C 恒温循环水的夹套, 柱上下两端各有防止媒体逃逸的隔网, 并用插有导管的橡皮塞塞住。

(2) 转化反应操作: 在把媒体装入反应器前先用排水法量出媒体装入量, 以

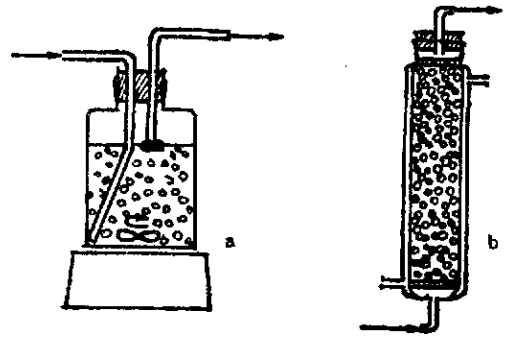


图 1 固定化酵母酶连续反应器示意图

Fig.1 Schematic diagram of immobilized yeast continuous reactors

(a) continuous stirred tank reactor (CSTR)

(a) 连续搅拌罐反应器

(b) packed-bed reactor (PBR)

(b) 填充柱反应器

便计算反应器的填充率 θ 。装好媒体后用蠕动泵按设定流量连续泵入蔗糖溶液 (料液), 待出液中组分恒定时取样用斐林试剂法测定还原糖浓度^[6], 并计算转化率 (β)。

(二) 结果与讨论

1. 单位体积媒体对产物消耗速率的测定: 一般认为, 反应液中有单糖和多糖同时存在时, 细胞总是首先利用单糖, 所以, 在转化糖溶液中, 媒体中的酵母细胞对产物的消耗表现为反应液中葡萄糖浓度降低。在约 20% 的葡萄糖溶液中按填充率 (θ) 为 1:4 装入媒体和料液, 30°C 下搅拌反应, 每隔半小时取样测定还原糖浓度, 实验结果见表 1。

表 1 媒体对葡萄糖的消耗

Table 1 consume glucose of the immobilized yeast cells

Glucose conc. (mol/L)	1.022	1.011	1.000	0.983	0.972	0.967
Reaction time (min)	0	30	60	90	120	150

对表中数据进行线性回归, 得: $C_0 = 1.0216 - 6.35 \times 10^{-4} t$, 相关系数为 0.992 式中 C_0 为葡萄糖浓度, t 为反应时间。

由前理论可知, 应有 $dC_0/dt =$

$-\theta a V_m$, 故有 $a V_m = 2.54 \times 10^{-5}$ 。

2. 单位体积媒体最大酶反应速率 V_m 及表观米氏常数 K_m 的测定: 若反应无内, 外扩散阻力, 则 $S = S_0$, 所以

$$-\frac{dS_b}{dt} = \frac{\theta V S_b}{1 + S_b} \quad (44)$$

或者

$$\frac{dC_{s,b}}{dt} = -\theta V_m \frac{C_{s,b}}{K_m + C_{s,b}} \quad (45)$$

积分后有

$$K_m \ln \frac{C_{s,b}(t)}{C_{s,b}(0)} + C_{s,b}(t) - C_{s,b}(0) = -\theta V_m t \quad (46)$$

所以,若能测得不同反应时间下本体溶液中底物浓度,可以根据上述关系式求出 K_m 和 V_m 值。

实验中把媒体用刀切至媒体再小时,

转化反应速度已基本上不增快(此时单个媒柱体积约 0.5mm^3 左右),搅拌罐中反应时开大搅拌转速,使内外扩散阻力小至可以忽略,测量了反应器中蔗糖浓度与时间关系,结果见表2,(料液为25%的蔗糖溶液, θ 为1:4)。

以 $\sum_{i=1}^5 [K_m \ln \frac{C_{s,b}(i)}{C_{s,b}(0)} + C_{s,b}(i) - C_{s,b}(0) + \theta V_m t(i)]^2$ 为目标函数,用单纯形法对 K_m , V_m 进行最优搜索,得:

$$V_m = 2.80 \times 10^{-4} (\text{mol/L} \cdot \text{sec}),$$

$$K_m = 4.7 \times 10^{-3} (\text{mol/L})$$

根据测出的 αV_m , V_m , K_m 可以算出

$$V = 0.0596, \alpha = 0.0907.$$

表 2 媒体对蔗糖的转化

Table 2 Sucrose invert by immobilized yeast cells

Sucrose conc. (mol/L)	0.64	0.595	0.430	0.261	0.185	0.0934
Reaction time (min)	0	30	60	90	120	150

3. 其他参数估计:底物在固液相间分配系数 λ 近似取为1(λ 取值对计算造成的误差,将在 D_i , D_s 估计中得到校正),由表3、表5和表6中数据,以优化目标函数 $\Sigma(\beta_{\text{实验}} - \beta_{\text{理论}})^2$ 最小为指标,用单纯形法估计出 $D_i = 7.6 \times 10^{-8} (\text{cm/s})$, $D_s = 1.22 \times 10^{-8} (\text{cm}^2/\text{s})$, $d = -2.08$, $b = -0.0326 (\text{min/r})$ 。

4. 动力因子(ϕ)及料液流量(Q)控制:在以下实验及计算中,若不特别指明,实验条件或动力学参数取值如下:对填充柱反应器; $\lambda = 1$, $V = 0.0595$, D_i

$= 7.6 \times 10^{-8} (\text{cm/s})$, $D_s = 1.22 \times 10^{-8} (\text{cm}^2/\text{s})$, $r = 0.2 (\text{cm})$, $\alpha = 0.0907$, $d = -2.08$, $b = -0.0326 (\text{min/r})$, $S = 155.53$, $\theta = 0.74$, $\pi R^2 H = 3.4 \times 10^3 (\text{cm}^3)$, $k = 1$, $\omega = 0 (\text{r/min})$, $Q = 0.8 (\text{L/h})$ 。对搅拌罐反应器; $\theta = 0.25$, $\pi R^2 H = 2 \times 10 (\text{cm}^3)$, $k = \infty$, $\omega = 200 (\text{r/min})$, $Q = 0.6 (\text{L/h})$,其余参数同填充柱反应器。

在填充柱反应器和搅拌罐反应器中,控制不同的料液流量进行实验和计算,结果见表3和表4。

表 3 料液流量(Q)、动力因子(ϕ)对转化率(β)的影响(填充柱反应器)

Table 3 The effect of raw solution flow rate (Q) and kinetic factor (ϕ) on the invert rate (β) (PBR operation)

$Q(\text{L/h})$	1.5	1	0.8	0.4
ϕ	359.9	539.8	674.8	1349.6
$\beta(\text{experimental})$	0.64	0.72	0.73	0.57
$\beta(\text{calculated})$	0.628	0.704	0.719	0.599
Error in calculation	-1.88%	-2.22%	1.51%	-5.09%

表 4 料液流量(Q)动力因子(ϕ)对转化率(β)影响(搅拌罐反应器)Table 4 The effect of raw solution flow rate (Q) and kinetic factor (ϕ) on the invert rate (β) (CSTR operation)

Q (L/h)	0.8	0.6	0.4	0.2
ϕ	134.1	178.8	268.2	536.46
β (experimental)	0.73	0.84	0.83	0.79
β (calculated)	0.756	0.822	0.841	0.803
Error in calculation	3.56%	-2.14%	1.33%	1.65%

实验与理论计算结果表明: (1) β 随 ϕ 增大而变化的趋势为, 由小到大, 再由大减小(产物消耗所致)。(2) ϕ 是推动 β 前进的正因素。(3) 对某一浓度的料液, Q 控制要得当, 以期获得最大转化率。

由于改变 θ 、 V 也会改变 ϕ 大小, 因此

如果 θ 、 V 改变, 相应的最佳料液流量也应改变, 以获得最佳效益。它们之间相互关系, 由式(26)确定。

5. 阻力因子(a)及搅拌转速(ω)、媒体半径(r)的选择: 改变不同搅拌转速和选用不同半径的媒体进行实验及计算, 结果见表5和表6。

表 5 罐反应器搅拌转速(ω)和阻力因子(a)对转化率(β)的影响Table 5 The effect of stirring speed (ω) and resistance factor (a) on the invert rate (β) (CSTR operation)

ω (r/min)	0	60	120	200	300
a	236.51	40.995	23.117	21.942	21.912
β (experimental)	0.32	0.63	0.80	0.84	0.85
β (calculated)	0.344	0.649	0.793	0.822	0.825
γ (calculated)	0.604	0.289	0.154	0.126	0.123
β error in calculation	7.5%	3.02%	-0.875%	-2.14%	-2.94%
γ sucrose remnant rate					

表 6 罐反应器中媒体半径(γ)和阻力因子(a)对转化率(β)的影响Table 6 The effect of immobilized cell size (γ) and resistance factor (a) on the invert rate (β) (CSTR operation)

γ (cm)	0.1	0.2	0.3
a	6.236	21.942	48.120
β (experimental)	0.89	0.84	0.71
β (calculated)	0.890	0.822	0.726
γ (calculated)	0.0582	0.126	0.222
β error in calculation	0%	-2.14%	2.25%
γ sucrose remnant rate			

实验与理论计算结果表明: (1) a 阻碍转化率前进, 因此凡减少 a 的努力对转化反应总是有利的。提高搅拌转速可减少外扩散阻力, 降低媒体半径可减小内、外扩散阻力, 都可减小 a , 但在实际工艺操作时, 过高的搅拌转速会引起能耗增加和媒粒的破碎, 而媒体粒度减小将导致酶的流失及媒体与反应液分离困难。所以 ω 及

γ 选择应综合考虑。

6. 返混因子 k 及反应器串联操作: 前述理论部分已指出, 对非完全活塞流反应器, 返混效果可能降低转化效率, 这个结论可由表7的理论计算数据给出。

这表明, 对非完全活塞流反应器, 把一个大反应器分为几个小反应器串联操作可以减轻返混效应, 从而提高转化效率。我

表 7 填充柱操作中返混因子(k)对转化率(β)的影响

Table 7 The effect of back-mixing facotr (k) on the invert rate (β) (PBR operation)

k	1	2	10	100
S _b (0)	155.53	90.94	52.258	44.841
S _b (H)	13.138	26.35	40.781	44.730
β(calculated)	0.7188	0.6338	0.5410	0.5158
γ(calculated)	0.0845	0.1694	0.2622	0.2876

S_b(0) Inlet stream sucrose concentrtrion
 S_b(H) Outlet stream sucrose concentration
 γ sucrose remnant rate

表 8 两串联罐转化效率与单罐反应结果比较

Table 8 Inert efficiency comparison of two stage reactor with one stage reactor (CSTR operation)

reactor operation	two stage reactor	one stage reator
S _b	14.395	19.540
γ(calculated)	0.0928	0.128
β(calculated)	0.8553	0.822
β(experimental)	0.87	0.84

S_b Outlet stream sucrose concentration
 γ sucrose remnat rate

们在实验和理论计算中安排了两个有效容积为 1L 的搅拌罐式反应器串联操作，在总媒体量及其他操作条件不变条件下，与单个两升的搅拌罐反应器操作进行比较，结果见表 8。

而对四个有效容积为 0.5L 的搅拌罐串联操作的理论计算结果则表明，残糖率可降至 0.0607，转化率则升高至 0.887，与单罐反应比较，残糖降低了 51.8%，转化率则升高了 7.91%。这说明，非活塞流反应器串联操作，的确可以减少返混效应，提高转化率。

7. 最大转化率与操作条件优化：由表 3 和表 4 结果可知，存在一个最佳操作条件 φ_{b...t}，使得转化率达到最大值 β_{m...x}。φ_{b...t} 和 β_{m...x} 计算可由前面有关表达式按隐函数求导法求 dβ/dφ = 0 而推导出。例如对 K=1 的填充柱反应器有：

$$\begin{aligned} \phi_{b...t} &= \bar{S}(0) + a \ln \bar{S}(0) \\ &- (a-1) \ln(1 + \bar{S}(0)) \\ &- \frac{a\lambda}{2-a\lambda} - a \ln \frac{a\lambda}{2} \end{aligned}$$

$$+ \ln \frac{2-\lambda\alpha}{2} \tag{47}$$

$$\begin{aligned} \beta_{m...x} &= 1 - \frac{(1-a)\lambda\alpha^2 + 2a\alpha}{2S_b^0(2-a\lambda)} \\ &- \frac{a\phi_{b...t}}{2S_b^0} \end{aligned} \tag{48}$$

对 k≠1 的反应器，φ_{b...t} 和 β_{m...x} 的表达式太复杂，不便直接计算，只能用数值逼近法求算。

因此若 S_b⁰，a，α 和 k 已知，则 φ_{b...t} 和 β_{m...x} 是可以计算的，或者说在反应器有效体积 πR²H 及填料比 θ 固定后，最佳料流量 Q_{b...t} 是可以计算的。

一般地说，当 S_b⁰ 增大时，相应的 φ_{b...t} 和 β_{m...x} 也增大（未考虑高浓度底物及产物可能对酶活的抑制，也未考虑料液粘度改变可能对外传质产生的影响）。α 减小时，相应的 φ_{b...t} 减小而 β_{m...x} 增大。而当 α 减小时 φ_{b...t} 和 β_{m...x} 同时增大，当 α = 0 时，β_{m...x} = 1。

可以归纳出：

(1) 减小阻力因子是提高转化率最有效的手段, 这要求 r 尽可能小, 而 ω 尽可能大。

(2) ϕ 或 Q 控制要适当, 才能获得最大转化率。

8. 媒体活力的影响及内、外传质阻力影响: 媒体活力与固定化细胞浓度有关, 总的来说媒体活力对转化效率是正效应。一方面媒体活力 (V) 增大使动力因子 (ϕ) 增大, 这是有益的, 另一方面媒体活力增大也使阻力因子 (a) 增大, 由式(19)可知, 阻力因子 (a) 主要由内、外扩散阻力和酶反应阻力因素构成, 即

$$a = 1 + a_{\text{内扩散}} + a_{\text{外扩散}} \quad (49)$$

其中 1 表示酶反应本征阻力系数。内扩散阻力, 外扩散阻力和酶反应阻力所占整个转化反应阻力的比重 (或称阻力比) 分别为:

$$\begin{aligned} \frac{a_{\text{内扩散}}}{a} &= \frac{Vr^2 \frac{1}{15D_i}}{1 + Vr^2 \frac{1}{15D_i} + Vr^2 \frac{\lambda l}{3D_e(r+l)}} \\ &= \frac{Vr^2 \frac{1}{15D_i}}{1 + Vr^2 \frac{1}{15D_i} + Vr^2 \frac{\lambda l}{3D_e(r+l)}} \end{aligned} \quad (50)$$

$$\begin{aligned} \frac{a_{\text{外扩散}}}{a} &= \frac{\frac{\lambda Vr^2 l}{3D_e(r+l)}}{1 + \frac{Vr^2}{15D_i} + \frac{\lambda Vr^2 l}{3D_e(r+l)}} \\ &= \frac{\lambda Vr^2 l}{3D_e(r+l) + 15D_i + \lambda Vr^2 l} \end{aligned} \quad (51)$$

$$\frac{a_{\text{酶反应}}}{a} = \frac{1}{a}$$

$$= \frac{1}{1 + \frac{Vr^2}{15D_i} + \frac{\lambda Vr^2 l}{3D_e(r+l)}} \quad (52)$$

这表明内外扩散阻力与媒体半径 r 平方成正比, 与媒体活力 (V) 成正比。而外扩散阻力还与搅拌速度 (ω) 有关, 所以为了提高转化效率, 仅从增大媒体活力方面来考虑是不完全的, 因为当媒体活力增大到一定程度后, 再继续增大 V 将使内外扩散阻力也同时增大, 理论计算表明, 这种情况下仅提高酶活力对提高转化效率意义不大。理论计算还表明, 若 $a_{\text{外扩散}}/a$ 接近 100% 时, 外扩散阻力为主要矛盾, 应该从减少外扩散阻力入手 (如提高搅拌转速或减少媒体半径), 若 $a_{\text{内扩散}}/a$ 接近 100% 时, 说明内扩散阻力为主要矛盾 (应减小 r 或改变固定化方法), 若 $1/a$ 接近 100% 时, 才应考虑增大酶活, 以达到有效提高转化率的目的。

总 结

综上所述, 本文理论研究结果定量地给出了转化率与其他动力学参数间便于直接计算的解析关系式, 其可用于指导单步转化反应类型的固定化细胞反应器的设计和固定化细胞连续反应工艺条件的优化和控制, 当 $a = 0$ 时, 文中所有公式可用于不存在底物或产物抑制作用的单一底物反应的固定化酶反应系统中。

参 考 文 献

- [1] Allen, I. L., Enzymes and Immobilized cells in Biotechnology, Benjamin/Cummings Publishing Compang, Inc., Canada 1985.
- [2] 居乃斌: 工业微生物, 19(2), 25, 1989.
- [3] 居乃斌: 工业微生物, 19(2), 25, 1989.
- [4] 李永丰等: 工业微生物, 19(1), 16, 1989.
- [5] 张治根等: 生物工程学报, 5(1), 77, 1989.
- [6] 北京大学生物系生物化学教研室, 生物化学实验指导, 人民教育出版社, 北京, 1979年7月第一版, p.24.

A Mathematic Model for the Continuous Production Invert Sugar with Immobilized Yeast Cells

Li Fanchao Xu Jinning Zhang Siliang Yu Juntang
(*Research Insititue of Biochemical Engineering, East China
University of Chemical Technology, Shanghai*)

A mathematic model is proposed for the continuous production invert sugar from sucrose by immobilized yeast cells. The yeast cell are immobilized in Ca^{2+} -alginate and invert sugar is produced in a continuous stirred tank reactor and in a packed bed reactor. The effects of reaction solution flow rate, stirring speed, immobilized cells size and sucrose concentration on the invert rate are given in formula. The reaction kinetic factor, resistance factor and back-mixing factor has been defined and the relationship between invert rate and these factors has been studied. The formulas about multi-stage reactor's operation has been given. The dynamic parameters of the model have been determined. The enzyme activity and the mass diffusion upon the invert rate has been studied and discussed. The principle and method is given which can be used for the control of solution flow rate, the control of stirring speed, the selection of immobilized cell size and the calculation of operation condition for maximum invert rate. The experimental and the calculated results is reported. The mathematic model has been demonstrated by experimental results.

Key words

Mathematic model; invert sugar; immobilized cells; surgar; kinetics