

CellCul-20A反应器的丝网间液体 交换速率及氧传递模型

王斯靖 陈因良 俞俊棠

(华东化工学院生化工程研究所, 上海 200237)

针对笼式通气搅拌生物反应器的特点, 本文提出了一种简单可信的测量丝网内外液体交换速率的实验方法, 根据此方法, 在CellCul-20 A生物反应器中得出了通过丝网的液体交换速率关联式:

$$\text{单层丝网: } Q_s = 1.93 \times 10^{-5} N^{1.61} + 1.13 \times 10^{-4} U_G^{0.61} \quad (I)$$

$$\text{双层丝网: } Q_s = 3.42 \times 10^{-5} N^{1.49} + 1.46 \times 10^{-4} U_G^{0.68} \quad (II)$$

并在此基础上, 建立了合适的深层通气的氧传递模型, 得到:

$$\frac{1}{(K_L a)_d \cdot V_c} = \frac{1}{Q_s} + \frac{1}{V_b \cdot [(K_L a)_b - (K_L a)_d]} \quad (III)$$

理论分析和实验结果表明, 增大丝网内的液体体积和提高丝网内的氧传递速率, 可以有效地提高反应器的体积氧传递系数。

关键词 生物反应器; 液体交换; 笼式通气装置; 氧传递; 数学模型

为了避免气泡对细胞的剪切伤害作用, 在开发动物细胞培养反应器中, 通常有两条途径。其一是根据扩散原理而进行的无气泡供氧^[1]。另一种是采用丝网将通气腔和有细胞的体系用丝网分隔开, 即所谓笼式通气供氧方式^[2-4]。近年来, 在开发的笼式通气搅拌反应器中, 主要有美国NBS公司生产的单层笼式通气搅拌器和华东化工学院开发的双层笼式通气搅拌器(CellCul-20 A)。国内外主要是对这类反应器的氧传递特性作过一些研究^[4-7], 没有对丝网内外的液体交换速率进行测量。鉴于此, 我们研究设计了一种简单的测量方法, 对CellCul-20 A生物反应器丝网内外的液体交换量进行了研究测量, 在此基础上建立了合适的深层通气的氧传递模型。

动物细胞培养基中一般含有血清, 很容易形成泡沫, 微载体又有集聚于泡沫中的趋势, 气泡也会对细胞造成很大的剪切伤害作用, 因此, 动物细胞培养反应器中的深层通气多采用间接方式。CellCul-20 A生物反应器(其结构示意图及结构参数参见文献[7])是在双层金属丝网隔开的环形区域通气鼓泡。充氧的培养液通过丝网和丝网外面的培养液交换, 从而把溶氧带到了整个反应器中。

深层通气时氧传递过程可以分为两步^[8]。在丝网内, 液体可视为全混, 溶氧浓度为 C_b , 那么丝网内环形鼓泡区的气液传递速率为

$$N_b = (K_L a)_b \cdot V_b \cdot (C^* - C_b) \quad (1)$$

设丝网内外的液体交换速率为 Q_s , 丝网外的液体为全混区域, 通过金属丝网的液体交换的氧传递速率为

$$N_s = (C_b - C_L) \cdot Q_s \quad (2)$$

理论分析和实验方法

(一) 深层通气的氧传递模型

本文于1992年3月31日收到。

丝网外部液体全混区域的氧传递速率为

$$N_2 = V_2 \frac{dC_L}{dt} = (K_L a)_2 \cdot V_2 \cdot (C^* - C_L) \quad (3)$$

对深层通气而言, 丝网外部的液相氧全来自丝网的液体交换, 根据质量衡算有:

$$N_2 = N_1 = N_3 - V_3 \cdot \frac{dC_b}{dt} \quad (4)$$

其中 $V_3 \cdot \frac{dC_b}{dt}$ 为丝网内的溶氧累积速率。

根据上式中 $N_2 = N_1$ 可推得

$$(C_b - C_L) \cdot Q_1 = (K_L a)_2 \cdot V_2 \cdot (C^* - C_L) \quad (5)$$

$$\therefore C_b = \frac{Q_1 - (K_L a)_2 \cdot V_2 \cdot C_L}{Q_1} + \frac{(K_L a)_2 \cdot V_2 \cdot C^*}{Q_1} \quad (6)$$

将(6)式两边对时间求导数得

$$\frac{dC_b}{dt} = \frac{Q_1 - (K_L a)_2 \cdot V_2}{Q_1} \times \frac{dC_L}{dt} \quad (7)$$

联立(3)式和(7)式推得

$$\frac{dC_b}{dt} = \frac{Q_1 - (K_L a)_2 \cdot V_2}{Q_1} \cdot (K_L a)_2 \cdot (C^* - C_L) \quad (8)$$

$$\therefore N_3 - V_3 \frac{dC_b}{dt} = (K_L a)_2 \cdot V_2 \cdot (C^* - C_L) - \frac{Q_1 - (K_L a)_2 \cdot V_2}{Q_1} \cdot V_3 \cdot (K_L a)_2 \cdot (C^* - C_L) \quad (9)$$

将(5)式可变形为

$$\frac{C_L - C_b}{C^* - C_L} = - \frac{(K_L a)_2 \cdot V_2}{Q_1}$$

由上式可推得

$$C^* - C_L = (C^* - C_b) \cdot \frac{Q_1}{Q_1 - (K_L a)_2 \cdot V_2} \quad (10)$$

将(10)式代入(9)式可推得

$$N_3 - V_3 \frac{dC_b}{dt} = V_3 \cdot [(K_L a)_2 - (K_L a)_2] \cdot (C^* - C_b) \quad (11)$$

将(2)、(3)、(11)式代入(4)式得

$$(K_L a)_2 \cdot V_2 \cdot (C^* - C_L) = Q_1 \cdot (C_b - C_L) = V_3 \cdot [(K_L a)_2 - (K_L a)_2] \cdot (C^* - C_b)$$

$$\therefore \frac{1}{(K_L a)_2 \cdot V_2} = \frac{1}{Q_1} + \frac{1}{V_3 \cdot [(K_L a)_2 - (K_L a)_2]} \quad (12)$$

设 $m = 1 - \frac{(K_L a)_2}{(K_L a)_2}$, 那么(12)式变为

$$\frac{1}{(K_L a)_2 \cdot V_2} = \frac{1}{Q_1} + \frac{1}{m V_3 (K_L a)_2} \quad (13)$$

若忽略丝网内溶氧积累的影响, 则有 $N_3 = N_1 = N_2$, 即

$$\frac{1}{(K_L a)_2 \cdot V_2} = \frac{1}{Q_1} + \frac{1}{V_3 (K_L a)_2} \quad (14)$$

因此可视 m 为考虑了丝网内氧积累因素的一个校正因子。

若忽略丝网的传递阻力, 即 $Q_1 \gg (K_L a)_2 \cdot V_2$ 时, 由(12)式可得

$$\frac{1}{(K_L a)_2 \cdot V_2} = \frac{1}{V_3 \cdot [(K_L a)_2 - (K_L a)_2]} \quad (15)$$

$$\text{即 } (K_L a)_2 \cdot (V_2 + V_3) = (K_L a)_2 \cdot V_2 \quad (16)$$

$$\text{式中 } V_2 + V_3 = V_L \quad (17)$$

$$\therefore (K_L a)_2 = (K_L a)_2 \cdot V_2 / V_L \quad (18)$$

(18)式即 Johnson et al^[5] 所采用的方程。

(二)通过丝网的液体交换量的测定方法及原理

对笼式通气搅拌反应器的丝网内外液体交换速率的测定,迄今国内外尚无报道。本文提出一种简单的测量方法:用电解质脉冲示踪法。在丝网内迅速注入一定量的KCl饱和溶液(通过出气管孔),在丝网外用导电电极记录电导率变化所对应的KCl浓度变化,大致曲线如图1所示。测出还未达最大值的某一点 $C_L^i(t_s)$ 所对应的时间 t_s ,即可求出丝网内外的液体交换量 Q_s 。

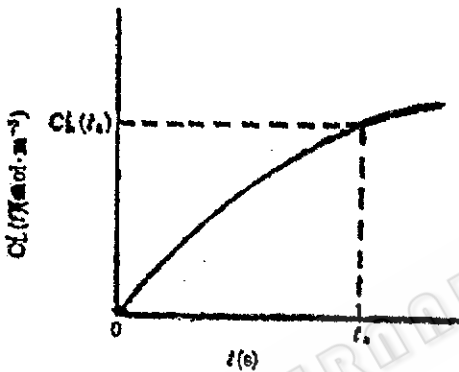


图1 丝网外氯化钾浓度变化示意图
Fig. 1 Diagram of the variety of concentrations of KCl outside the screen

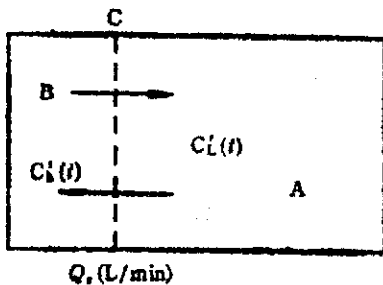


图2 丝网内外液体交换示意图
Fig. 2 Diagram of liquid exchange through the screen
A. Outside the screen;
B. Inside the screen
C. The screen (200 mesh)

度为 C_b^i ,丝网外起初为零,图2所示为丝网内外液体交换示意图。

对整个反应器而言,任一时刻丝网内外KCl含量的总和等于起初注入丝网内的KCl量,因此有:

$$V_1 C_L^i(t) + V_2 C_b^i(t) = V_2 C_b^i \tag{19}$$

$$\therefore C_L^i(t) = \frac{V_2}{V_1} \cdot [C_b^i - C_b^i(t)] \tag{20}$$

$$\begin{aligned} \therefore C_b^i(t) - C_L^i(t) &= C_b^i(t) - \frac{V_2}{V_1} \\ &\cdot [C_b^i - C_b^i(t)] = \frac{V_1 + V_2}{V_1} C_b^i(t) \\ &- \frac{V_2}{V_1} C_b^i \end{aligned} \tag{21}$$

又对丝网内的KCl进行质量衡算有:

$$\begin{aligned} V_1 \cdot \frac{dC_b^i(t)}{dt} &= -Q_s [C_b^i(t) \\ &- C_L^i(t)] \end{aligned} \tag{22}$$

将(21)式代入(22)式得:

$$\begin{aligned} \frac{dC_b^i(t)}{dt} &= -\frac{Q_s}{V_1} \cdot \frac{V_1 + V_2}{V_1} \\ &\cdot C_b^i(t) + \frac{Q_s}{V_1} \cdot \frac{V_2}{V_1} C_b^i \end{aligned} \tag{23}$$

$$\begin{aligned} \therefore \ln[C_b^i(t) - \frac{V_2}{V_1} C_b^i] \\ &= -\frac{Q_s}{V_1 V_1} V_L t + K \end{aligned} \tag{24}$$

K 为积分常数, $t = 0$ 时 $C_b^i(t) = C_b^i$,代入上式

$$\begin{aligned} \text{得 } K &= \ln\left[\frac{V_1}{V_L} C_b^i\right] \text{ 代入(24)式得} \\ \ln\left[\frac{V_L}{V_1} \frac{C_b^i(t)}{C_b^i} - \frac{V_2}{V_1}\right] \\ &= -\frac{Q_s}{V_1 V_1} V_L t \end{aligned} \tag{25}$$

原理及理论推导如下:

设丝网内注入KCl饱和溶液后KCl浓

当丝网外 $C_L^i(t)$ 达到最大值 C^{*i} 时,

有:

$$C_L'(t) = C_b'(t) = C^{*'} = \frac{V_b}{V_L} \cdot C_b' \quad (26)$$

由(25)式可知, 只有当 $t \rightarrow \infty$ 时才有(26)式成立。

设 a 为在时间 t_a 时丝网外 KCl 浓度与丝网内外 KCl 溶液达到平衡时的浓度 $C^{*'}$ 的比值, 即

$$a = \frac{C_L'(t_a)}{C^{*'}} \quad (0 \leq a \leq 1) \quad (27)$$

取 $t = t_a$, 那么

$$C_L'(t_a) = a \cdot C^{*'} = a \cdot \frac{V_b \cdot C_b'}{V_L} \quad (28)$$

将(28)式代入(20)式得

$$C_b'(t_a) = \left(1 - \frac{V_c}{V_L} \cdot a\right) \cdot C_b' \quad (29)$$

那么将(29)式代入(25)式推得

$$Q_s = - \frac{V_b \cdot V_c}{V_L} \cdot \frac{1}{t_a} \ln(1-a) \quad (30)$$

在实验测定时, 取 $a = 0.80$, 那么

$$Q_s = 1.6094 \frac{V_b \cdot V_c}{V_L} \cdot \frac{1}{t_a} \quad (31)$$

式中 V_b 、 V_c 分别为丝网内、外液体体积。设丝网内的容积为 V_s , 那么在没有通气情况下有 $V_b = V_s$, 当丝网内通气鼓泡后, 由于丝网内有气体存在, 因而使 $V_b < V_s$ 。

$$\text{设 } V_G = V_s - V_b \quad (32)$$

V_G 即为因丝网内通气而使丝网外增加的液体体积。通过测定 V_G 而得到 V_b 。

结果与讨论

(一) 丝网间的液体交换

为了弄清笼式通气搅拌反应器的氧传递规律, 测出(12)式中的参数 Q_s , 实验

测定了不同情况下空气-水体系的丝网的液体交换速率。为了比较单双层丝网的作用, 将内层丝网和导流筒的间隙上下封住, 丝网内的液体就只能通过外层丝网相交换了, 这样即可考察单层丝网的作用。

1. 转速对丝网的液体交换速率的影响: 在通气量 $Q = 0$ 、不同的转速情况下, 测定了丝网的液体交换量。图 3 为单、双层丝网的液体交换速率随转速变化之比较。双层丝网较之单层丝网, 不仅丝网面积增大, 而且丝网内的流体流动也发生了显著变化。对双层丝网而言, 液体主要是从内层丝网进, 从外层丝网出; 而对单层丝网而言, 液体均须通过外层丝网进出。

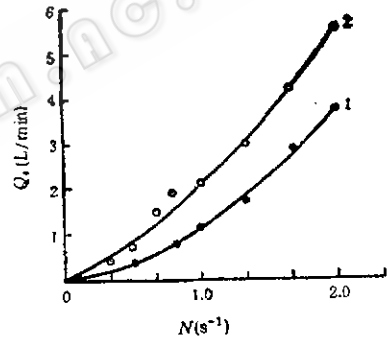


图 3 转速对丝网的液体交换速率的影响 ($Q = 0$)
Fig. 3 Effects of agitating speed on liquid exchange rate through the screen ($Q = 0$)

1. Single screen cage,
2. Double screen cage

将 Q_s 和 N 用最小二乘法关联, 分别得
双层丝网: $Q_s = 3.42 \times 10^{-5} N^{1.49}$

$$(33)$$

单层丝网: $Q_s = 1.93 \times 10^{-5} N^{1.91}$

$$(34)$$

2. 通气量对丝网的液体交换速率的影响: 在转速为 50 r/min 情况下, 考虑通气量对液体交换速率的影响。为了防止出气管的液体夹带而造成测量的误差, 用 80 目丝网封住出气管口, 这样气体可出

来, 而液体则很少夹带。示踪剂KCl饱和溶液从出气管注入丝网内。气体喷射鼓泡输入的能量使交换速率大为提高。实验测定时 t_s 较小, 气量较大的情况下会带来较大的误差。故对双层丝网只测定了 $Q \leq 3 \text{ L/min}$ 、单层丝网只测定了 $Q \leq 5 \text{ L/min}$ 时的液体交换量。由(32)式可知, 在通气情况下确定 V_c , 须先确定不同通气速率下的 V_c 。

在装上消泡腔(出气管没有封住)

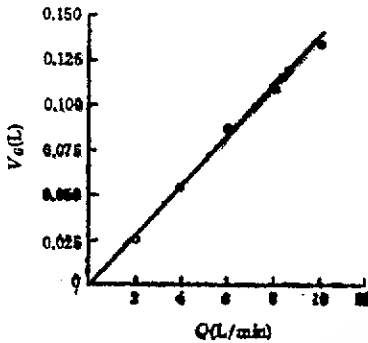


图 4 丝网内气体所占体积与通气速率之间的关系
Fig. 4 Relation between gas volume inside the screen cage and aeration rate

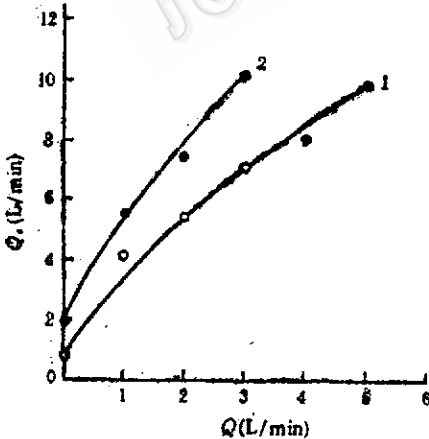


图 5 通气速率对丝网的液体交换速率的影响(50 r/min)

Fig. 5 Effects of aeration rate on liquid exchange rate through the screen (50 r/min)

1. Single screen cage,
2. Double screen cage

的情况下, 测定了不同通气速率下的 V_c 值, 如图 4。实验发现, 用 80 目的丝网封住出气管与因装消泡腔而带来的丝网内液位下降程度接近, 因此可用图 4 的 V_c 值计算测液体交换量时的 V_c 值。图 5 表示通气速率对丝网的液体交换速率的影响。

搅拌转动和气体鼓泡输入的能量带来丝网内外液体的交换。在通气搅拌时, 通过丝网的液体交换可以看作是这两种作用的叠加, 故而可用下式来进行关联:

$$Q_e = A \cdot N^{0.7} + B \cdot U_G^{0.6} \quad (35)$$

根据实验数据的拟合, 得出

$$\begin{aligned} \text{双层丝网: } Q_e &= 3.42 \times 10^{-5} N^{1.49} \\ &+ 1.46 \times 10^{-4} U_G^{0.68} \end{aligned} \quad (36)$$

$$\begin{aligned} \text{单层丝网: } Q_e &= 1.93 \times 10^{-5} N^{1.81} \\ &+ 1.13 \times 10^{-4} U_G^{0.81} \end{aligned} \quad (37)$$

(二) 深层通气的氧传递

根据建立的深层通气的氧传递模型, 由(12)式推得

$$\begin{aligned} (K_L a)_b &= (K_L a)_d \\ &+ \frac{1}{V_b \left[\frac{1}{(K_L a)_d \cdot V_c} - \frac{1}{Q_e} \right]} \end{aligned} \quad (38)$$

已测知丝网的液体交换速率 Q_e 和深层通气的氧传递系数 $(K_L a)_d$ ^[7], 那么由(38)式即可求出丝网内鼓泡区的体积氧传递系数 $(K_L a)_b$, 如图 6。根据经验关联式

$$(K_L a)_b = a U_G^b \quad (39)$$

用最小二乘法关联得

$$\text{双层丝网: } (K_L a)_b = 0.0248 U_G^{1.09} \quad (40)$$

$$\text{单层丝网: } (K_L a)_b = 0.0232 U_G^{1.10} \quad (41)$$

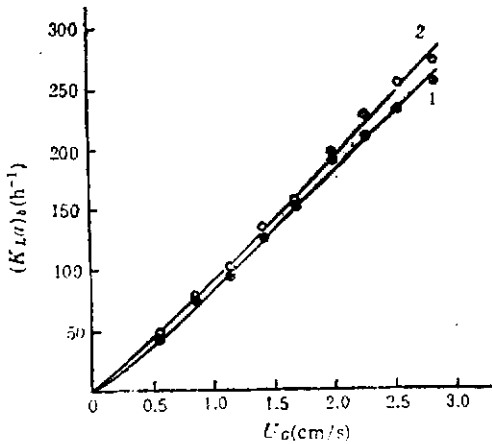


图 6 丝网内的体积氧传递系数与通气速率的关系
Fig. 6 Relation between $(K_{La})_s$ and aeration rate
1. Single screen cage;
2. Double screen cage

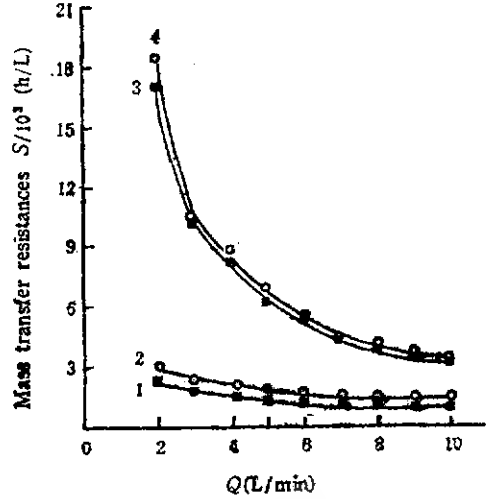


图 7 鼓泡传递阻力与丝网传递阻力的比较
Fig. 7 Comparison between mass transfer resistances for bubbling and screen passing

- 1 Mass transfer resistances for screen passing (double screen cage)
- 2 Mass transfer resistances for screen passing (single screen cage)
- 3 Mass transfer resistances for bubbling (double screen cage)
- 4 Mass transfer resistances for bubbling (single screen cage)

前已述及, 对于笼式通气搅拌装置的生物反应器, 深层通气的氧传递阻力包括丝网内的气液传递阻力和液体从丝网内传到丝网外的传递阻力。根据(12)式, 对这两种阻力 $\frac{1}{V_s [(K_{La})_s - (K_{La})_d]}$ 和 $\frac{1}{Q_s}$

进行比较, 如图 7 所示。

从图 7 可知, 氧的传递阻力主要在于丝网内的气液传递阻力。尤其是在低气量的情况下, 丝网内的气液传递阻力远大于丝网的液体传递阻力。但随着气量的增大, 这两种阻力相差变小。在实际的细胞培养过程中, 通气量一般较小。基于此, 为了提高反应器的氧传递速率, 降低丝网内的气液传递阻力比降低丝网的液体交换阻力更为有效, 因而要设法增大 $V_s [(K_{La})_s - (K_{La})_d]$ 。这可通过两条途径。其一、增大丝网内鼓泡区的液体体积 V_s ; 其二, 提高丝网内鼓泡区的体积氧传递系数 $(K_{La})_s$, 诸如选用合适的气体分布器, 采取增大丝网内气液混和效果的措施等。

符号说明

a	反应器中丝网外 KCl 浓度与平衡浓度的比值	
A, B	数据拟合常数	
C*	液相溶解氧饱和浓度	$\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$
C_L	丝网外液相溶解氧浓度	$\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$
C_s	丝网内液相溶解氧浓度	$\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$
C^{*s}	丝网内外氯化钾平衡时的浓度	$\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$
C_s'	丝网内液相氯化钾溶液浓度	$\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$
C_L'	丝网外液相氯化钾溶液浓度	$\text{mol} \cdot \text{m}^{-3}$
$(K_{La})_s$	丝网内体积氧传递系数	s^{-1}
$(K_{La})_d$	深层通气的体积氧传递系数	s^{-1}
m	校正因子	
N	转速	s^{-1}
N_s	丝网内的氧传递速率	$\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$
N_d	丝网外的氧传递速率	$\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$
N_s	通过丝网的氧传递速率	$\text{mol} \cdot \text{s}^{-1}$
Q	通气速率	$\text{l} \cdot \text{min}^{-1}$
Q_s	丝网的液体交换速率	$\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$
S	传质阻力	$\text{h} \cdot \text{L}^{-1}$
t	时间	s

t_0	丝网外氯化钾浓度达到 $a \cdot c^*$ 所需的时间	s	V_G	丝网内气相体积	m^3
U_G	丝网内表观气速	$cm \cdot s^{-1}$	V_L	反应器总的液体体积	m^3
V_d	丝网内液体体积	m^3	V_s	丝网内容积	m^3
V_z	丝网外液体体积	m^3	$\alpha, \alpha', \beta, \beta'$	数据拟合常数	

参 考 文 献

- [1] Lehmann, J. et al., *Animal Cell Biotechnology*, vol.3., (Spier, R. E. and Griffiths. J. B. eds) Academic Press (London), 221, 1988.
- [2] Spier, R. E. et al., *Dev. Biol. Stand.*, 55:151, 1983.
- [3] Whiteside, J. P., *Dev. Biol. Stand.*, 60:283, 1985.
- [4] Reuvery, S. et al., *Am. Biotechnol. Lab.*, 28, Jan/Feb, 1986.
- [5] Johnson, M. et al., *Biotechnol. Bioeng.*, 35:43, 1990.
- [6] 张元兴, 陈因良: 华东化工学院学报, 15(4):504, 1989.
- [7] 王斯靖, 陈因良等: 生物工程学报, 9(1):16, 1993.

Liquid Exchange and Oxygen Transfer Models in CellCul-20A Bioreactor

Wang Sijing Chen Yinliang Yu Juntang

(Research Institute of Biochemical Engineering, East China University of
Chemical Technology, Shanghai 200237)

In this paper, based on the mass transfer characteristics of the stirred bioreactor with a cage aeration device, a novel experimental method and the correlations of liquid exchange rates have been presented for measuring the liquid exchange rates through the metal screen. On these bases, a mathematical model of oxygen transfer on deep aeration has been established. The theoretical analyses and the experimental results show that the total oxygen transfer capacity can be enhanced by increasing the cage volume and oxygen transfer efficiency inside the cage.

Key words Bioreactor; liquid exchange; cage aeration device; oxygen transfer; mathematical model