

生化反应动力学与反应器

(第二版)

戚以政 汪叔雄 编著

化学工业出版社

·北京·

(京) 新登字 039 号

图书在版编目 (CIP) 数据

生化反应动力学与反应器 / 戚以政, 汪叔雄编著. — 2 版.
北京: 化学工业出版社, 1999. 8
ISBN 7-5025-2572-6

I. 生… II. 戚… III. ①生物化学-化学反应 反应动力学 ②生物化学-化学反应工程-反应器 IV. TQ933

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (1999) 第 29995 号

生化反应动力学与反应器

(第二版)

戚以政 汪叔雄 编著

责任编辑: 潘正安 马 强

责任校对: 陶燕华

封面设计: 蒋艳君

化学工业出版社出版发行

(北京市朝阳区惠新甲 3 号 邮政编码 100029)

新华书店北京发行所经销

北京市彩桥印刷厂印刷

(天津市东柳装订厂装订)

开本 850×1168 毫米 1/32 印张 13 $\frac{1}{2}$ 字数 357 千字

1999 年 8 月第 2 版 1999 年 8 月北京第 1 次印刷

印 数 10 000

ISBN 7-5025-2572-6 / TQ · 1117

定 价: 24.00 元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责调换

内 容 提 要

本书以进行生化反应过程分析和反应器设计的需要为目的，阐明酶催化反应过程和细胞反应过程动力学的基本规律，并侧重讨论了传递因素对生化反应过程速率的影响及其处理方法。同时以基本的生化反应器为基础，详细讨论了进行反应器设计与分析的基本原理与方法，探讨了各种生化反应器内的传递特性及其影响。介绍了建立生化反应器流动模型的基本理论和方法，并对正在开发的新型生化反应器做了简要介绍。书中编有例题和习题。本书既可作为高等学校生物工程专业的教材使用，又可供从事生产、科研和设计工作的有关人员参考。

第二版前言

趁本书再版之机，我们对其进行了下述修改和补充。

内容上增加了生化反应器传递特性、动态特性和细胞生长结构动力学的有关内容；编写体系上将原第 6、7 两章进行了调整，增加生化反应器传递过程一章；习题数量增加了近一倍。

进行上述修改和补充的目的：一是更加突出用化学工程的原理和方法解决生化反应技术放大问题的特点；二是有利于读者对内容的深入理解和灵活掌握；三是力求使本书既可满足本科生教材的需要，又可做研究生重点参考书。

我们建议，若将本书作为本科生教材使用，则可将细胞生长结构动力学、生化反应器的动态特性和其流动模型等有关内容略去。

本书的第二版经编著者共同讨论、由戚以政执笔完成。

本书出版以来，受到许多读者的关心，并对本书提出了很好的修改建议；此次再版，又得到北京化工大学化新教材建设基金及有关单位的资助。在此衷心地表示感谢！

编著者

1999 年 3 月

第一版前言

当前，生物技术被认为是具有巨大发展潜力的高新技术之一。同时，与生物技术相联系的生化工程也被视为当前化学工程研究的前沿领域之一。作为生化工程的一个重要学科分支——生化反应工程也有了迅速的发展，并逐步显示出它的重要性。

近年来，随着中国生物技术的发展，生化工程的研究开发也日益受到有关方面的重视。与此相适应的，对从事生化工程研究开发的人才的培养也有了明显的发展，国内已有不少的高等学校为此设置了生物化工专业并开设了有关专业课程。编著本书的目的之一就是为生物化工专业的学生在学习了生物化学、微生物学、物理化学和化工原理的基础上，学习生化反应工程课提供一部适用的教材或参考书。

生化反应工程的基本内容可分为生化反应过程动力学和生化反应器两个方面。对于动力学着重讨论了酶催化反应过程与微生物反应过程的基本动力学规律，并重点探讨了传递因素对反应动力学的影响及其处理方法；对于生化反应器的设计与分析，则重点讨论了理想反应器，并适当介绍了对非理想流动反应器的处理方法，对新型生化反应器亦做了简要介绍。正是基于生化反应过程动力学与生化反应器是生化反应工程基本内容的考虑，为了突出重点，故本书命名为《生化反应动力学与反应器》。

本书力图突出用化学反应工程的原理与方法解决生化反应过程开发放大的工程技术问题的特点，因而对有关的基本理论与方法做了比较详细的讨论与介绍。在编写本书时，著者还力图做到把重点放在介绍主要概念及分析和解决问题的方法上，对已在其他课程讲授的内容本书不再重复。同时还附有例题和习题，以帮助读者理解和掌握有关概念与方法。

全书系由北京化工大学戚以政（撰写第1、2、3、4、6章）和浙

江大学江叔雄（撰写第 5、7 章）共同编著，并由戚以政对全书进行了整理、修改和定稿。

在本书的编著过程中，得到了很多同行们的关心和指导，在此向他们表示衷心的感谢！

由于作者水平有限，错误和不足之处在所难免，恳切希望读者予以批评指正。

编著者

1995 年 2 月

目 录

第 1 章 绪论	1
1.1 生化反应过程概述	1
1.1.1 生化反应过程的任务	1
1.1.2 生化反应过程的特点	2
1.1.3 生化反应过程的分类	3
1.2 生化工程与生化反应工程	4
1.2.1 生化工程的研究对象	4
1.2.2 生化反应工程的内容	5
1.2.3 生化反应工程的研究方法	8
第 2 章 均相酶催化反应动力学	10
2.1 酶催化反应的基本特征	11
2.1.1 酶的催化共性	11
2.1.2 酶的催化特性	11
2.2 简单的酶催化反应动力学	13
2.2.1 Michaelis-Menten 方程	15
2.2.2 Briggs-Haldane 方程	16
2.2.3 动力学特征与参数求取	20
2.3 有抑制的酶催化反应动力学	27
2.3.1 竞争性抑制动力学	27
2.3.2 非竞争性抑制动力学	30
2.3.3 反竞争性抑制动力学	32
2.3.4 线性混合型抑制动力学	33
2.3.5 底物的抑制动力学	35
2.3.6 产物的抑制动力学	36
2.3.7 各种抑制的比较	37
2.4 复杂的酶催化反应动力学	41
2.4.1 多底物酶反应动力学	41

2.4.2	变构酶催化反应动力学	43
2.5	影响酶催化反应速率的因素	45
2.5.1	pH 值的影响	45
2.5.2	温度的影响	47
2.6	酶的失活动力学	48
2.6.1	未反应时酶的热失活动力学	49
2.6.2	反应时酶的热失活动力学	51
	习题	52
第 3 章	固定化酶催化反应过程动力学	56
3.1	固定化酶催化的动力学特征	58
3.1.1	酶的固定化对其动力学特性的影响	59
3.1.2	影响固定化酶动力学的因素	60
3.2	外扩散限制效应	64
3.2.1	外扩散速率对酶催化反应速率的限制	65
3.2.2	外扩散限制与化学抑制同时存在的动力学	72
3.3	内扩散限制效应	76
3.3.1	载体的结构参数与微孔内的扩散	77
3.3.2	微孔内反应组分的浓度分布	80
3.3.3	内扩散有效因子	87
3.4	内外扩散同时存在时的限制效应	100
3.4.1	内外扩散同时存在时的有效因子	100
3.4.2	化学抑制和分配效应对有效因子的影响	103
3.5	扩散影响下的表观动力学参数与稳定性	105
3.5.1	扩散对反应速率与浓度关系的影响	105
3.5.2	扩散对反应速率与温度关系的影响	108
3.5.3	扩散对固定化酶失活速率的影响	109
	习题	114
第 4 章	细胞反应过程动力学	117
4.1	细胞反应过程计量学	118
4.1.1	细胞反应的元素衡算方程	118
4.1.2	细胞反应过程的得率系数	121
4.2	细胞生长的非结构动力学	127
4.2.1	细胞生长动力学的描述方法	127

1.2.2	分批培养时细胞生长动力学	130
4.2.3	无抑制的细胞生长动力学	133
4.2.4	有抑制的细胞生长动力学	137
1.2.5	温度和 pH 值对细胞生长速率的影响	140
4.3	基质消耗与产物生成动力学	142
4.3.1	基质消耗动力学	142
4.3.2	代谢产物生成动力学	145
4.3.3	细胞反应中的产热速率	148
4.4	细胞死亡动力学	119
4.5	细胞反应动力学参数的估算	153
4.5.1	实验反应器	153
4.5.2	动力学参数的估算	156
4.6	固定化细胞反应动力学	167
4.6.1	生物膜内的扩散限制	168
4.6.2	絮凝物内的扩散限制	170
4.7	细胞生长和代谢的结构模型	172
4.7.1	室模型	172
4.7.2	代谢模型	175
4.7.3	产物生成模型	177
	习题	179
第 5 章	生化反应器的设计与分析	185
5.1	生化反应器设计概论	185
5.1.1	生化反应器的分类	185
5.1.2	生化反应器的基本设计方程	190
5.2	间歇操作搅拌槽式反应器 (BSTR)	192
5.2.1	反应时间的计算	192
5.2.2	反应器有效体积的确定	198
5.2.3	间歇反应过程的优化	199
5.3	连续操作的搅拌槽式反应器 (CSTR)	202
5.3.1	CSTR 的基本设计式	202
5.3.2	酶催化反应时的单级 CSTR	203
5.3.3	细胞反应时的单级 CSTR	205
5.3.4	带有细胞循环的单级 CSTR	217

5.3.5	多级 CSTR 串联	221
5.4	连续操作的管式反应器 (CPFR)	226
5.4.1	CPFR 的基本设计式	226
5.4.2	酶催化反应时的 CPFR	228
5.4.3	带有循环的 CPFR	230
5.4.4	CPFR 与 CSTR 的性能比较	234
5.5	半间歇半连续操作的生化反应器	242
5.5.1	流加操作反应器	242
5.5.2	生化反应-分离耦合过程	248
5.6	动植物细胞培养反应器	255
5.6.1	笼式通气搅拌反应器	257
5.6.2	贴壁培养反应器	258
5.6.3	微载体悬浮培养反应器	258
5.6.4	植物细胞培养反应器	262
5.7	生化反应器的动态特性	263
5.7.1	稳定性分析的基础	264
5.7.2	具有基质限制动力学时 CSTR 的稳定性	267
5.7.3	具有基质抑制动力学时 CSTR 的稳定性	270
5.7.4	微小扰动时 CSTR 的瞬时动态特性	274
	习题	279
第 6 章	生化反应器的传递过程	290
6.1	发酵介质的流变特性	290
6.1.1	流变模型	290
6.1.2	影响发酵介质流变特性的因素	292
6.2	氧的传质反应模型	294
6.2.1	气液相间氧的传质与反应	296
6.2.2	液固相间氧的传质	300
6.2.3	细胞团内氧的传质与反应	301
6.2.4	影响氧传质速率的因素	302
6.3	机械搅拌槽式反应器的传递特性	307
6.3.1	反应器的结构	307
6.3.2	搅拌功率的计算	312
6.3.3	流体的混合与分散	316

6.3.1	传质系数 k_{La} 的计算	319
6.4	气体搅拌塔式反应器的传递特性	321
6.4.1	反应器的结构	322
6.4.2	反应器的操作状态	323
6.4.3	气泡直径的确定	326
6.4.4	气含率与传质系数	328
6.5	生化反应过程的传热特性	332
6.5.1	生化反应器的传热过程	332
6.5.2	灭菌过程中的传热	337
	习题	342
第7章	生化反应器的流动模型与放大	345
7.1	停留时间分布	345
7.1.1	停留时间分布的定量描述	346
7.1.2	停留时间分布的实验测定	349
7.1.3	停留时间分布函数的统计特征值	355
7.2	生化反应器的理想流动模型	359
7.2.1	活塞流模型	359
7.2.2	全混流模型	361
7.3	生化反应器的非理想流动模型	364
7.3.1	槽列模型	366
7.3.2	一维扩散模型	370
7.3.3	组合模型	378
7.4	非理想流动对细胞反应过程的影响	380
7.4.1	对连续灭菌过程的影响	380
7.4.2	对鼓泡塔反应器内细胞生长的影响	383
7.4.3	对气升式反应器内细胞生长的影响	388
7.5	流体的混合特性	390
7.5.1	微观混合特性	391
7.5.2	宏观混合特性	393
7.6	生化反应器的放大	397
7.6.1	经验放大法	397
7.6.2	因次分析法	402
7.6.3	时间常数法	404

7.6.4 数学模拟法	406
习题	408
主要符号一览表	411
主要参考文献	415

第 1 章 绪 论

1.1 生化反应过程概述

1.1.1 生化反应过程的任务

将生物技术的实验室成果经工艺及工程开发而成为可供工业生产的工艺过程，常称为生化反应过程。其实质是利用生物催化剂从事生物技术产品的生产过程。

这里所提到的生物技术，依据国际经济合作及发展组织在 1982 年所提出的定义是：生物技术是应用自然科学及工程学的原理，依靠生物催化剂的作用将物料进行加工以提供产品成为社会服务的技术。欧洲生物技术学联合会认为：生物技术学是自然科学（包括分子生物学、生物化学、化学和物理学）和工程科学（化学反应工程学、电子学等）的综合应用，以便将生物体和细胞（微生物和动植物细胞）及其组成物，用于为社会提供其所需的商品和服务。国际纯粹与应用化学联合会对生物技术所作的定义是：生物技术是将生物化学、生物学、微生物学和化学工程应用于工业生产过程及环境保护的技术。

虽然对生物技术的定义不完全相同，但归纳起来有三个主要特征：①是一门多学科、综合性的科学技术；②反应过程中需要有生物催化剂（酶、细胞等）的参与；③最终目的是建立工业生产过程或进行社会服务。

由于生物技术的最终目的是建立工业生产过程，并且又以生化反应过程为其核心，因此又将其称为生物反应过程，亦可称为生化反应过程。

一般的生化反应过程可用图 1-1 所示的流程示意图表示。从该图可以看出，生化反应过程应由四个部分组成。

(1) 原材料的预处理。包括原材料的选择，必要的物理与化学方

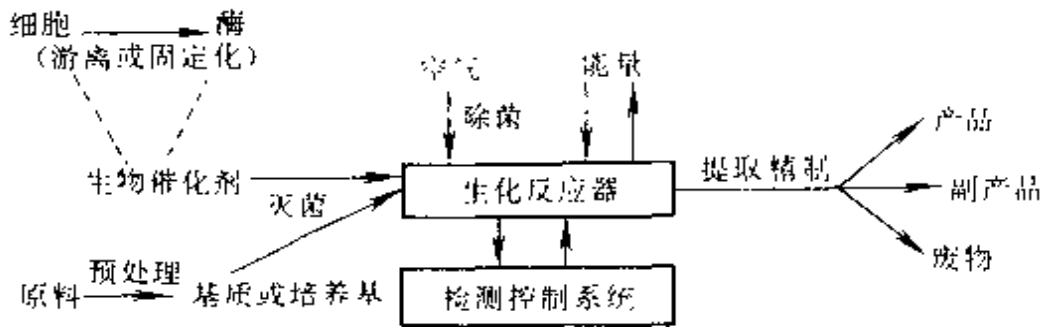


图 1-1 一般生化反应过程示意图

法加工、培养基的配制和灭菌等。

(2) 生物催化剂的制备。包括菌种的选择、扩大培养和接种，酶催化反应中酶的纯化、酶的固定化等。

(3) 生化反应器及反应条件的选择与监控。生化反应器是进行生化反应的核心设备。它应为细胞或酶提供适宜的反应环境以达到细胞生长和进行反应的目的。反应器的结构、操作方式和操作条件对反应原料的转化率、产品的质量 and 生产成品有着密切的关系。同时反应参数的检测与控制对生化反应过程的顺利进行也是十分重要的。

(4) 产物的分离纯化。其目的是用适当的方法和手段将含量甚少的目的产物从反应液中提取出来并加以精制以达到规定的质量要求。

根据上述分析可以看出，整个生化反应过程可以以生化反应器为核心，而分别把反应前与后称为上游加工和下游加工。

1.1.2 生化反应过程的特点

(1) 是一门综合性学科。它是生物学（包括生物化学、分子生物学、微生物学等）、化学、工程学（包括化学工程、机械工程等）等多学科的交叉与综合。

(2) 采用生物催化剂。生物催化剂是游离或固定化细胞或酶的总称，它们在生化反应过程中起着核心作用。与化学催化剂相比较，它具有反应速率快，催化选择性高、反应条件温和的优点，也具有易失活、稳定性差的不足。

(3) 采用可再生资源为主要原料，因而原料来源丰富，价格低廉，

过程中废物的危害性较小，但由于原料成分难以控制，会给产品质量带来一定的影响。

(4) 与一般化工产品生产相比，其生产设备比较简单、能耗较低。但某些生化反应由于其特殊性质而使反应基质和产物的浓度均不能太高，因而反应器生产效率较低。反应液中产物浓度低，对产物分离提纯造成了困难。

1.1.3 生化反应过程的分类

随着生物技术的发展，生化反应过程的种类和规模都在不断地扩大。目前已进行工业生产的主要有酶催化反应过程、细胞反应过程以及废水的生物处理过程。

(1) 酶催化反应过程。采用游离酶或固定化酶为催化剂时的反应过程，称为酶催化反应过程。生物体中所进行的反应，几乎都是在酶的催化下进行的。工业生产中所用的酶，或是经提取分离得到的游离的酶，或是固定于各种载体上的固定化酶。

(2) 细胞反应过程。采用活细胞为催化剂时的反应过程。这既包括一般的微生物细胞发酵反应过程，也包括固定化细胞反应过程和动植物细胞的培养过程。

(3) 废水的生物处理过程。它是利用微生物本身的分解能力和净化能力，除去废水中污浊物质的过程。废水生物处理过程与微生物细胞反应过程虽然都是利用微生物的反应过程，但与后者相比，废水的生物处理过程具有下述特点。

① 是由细菌等菌类、原生动物、微小后生动物等各种微生物构成的混合培养系统。

② 几乎全都采用连续操作。

③ 微生物所处的环境条件波动大。

④ 反应的目的是消除有害物质而不是生成代谢产物和微生物细胞本身。

废水的生物处理已日益受到人们的重视，由于篇幅所限，本书将不再予以介绍，需要者可查有关专著。

本书重点讨论酶催化反应过程和细胞反应过程。

1.2 生化工程与生化反应工程

1.2.1 生化工程的研究对象

生物化学工程，简称生化工程。它是运用化学工程的原理与方法将生物技术的实验室成果进行工业开发的一门学科。它既可视作化学工程的一个分支，又可认为是生物技术的一个重要组成部分。简言之，生化工程是为生物技术服务的化学工程。

所谓化学工程的原理与方法是指研究化工生产过程共同规律的一门工程学科，它用以解决生产过程中有关化学反应、原料的处理和产物的分离、能量的传递、设备的设计与放大、过程的控制和优化等一系列工程技术问题。按照化学工程的基本内在规律，化学工程学科可分为传递过程、分离工程、反应工程、化工热力学、化工过程系统工程等五大分支学科。其中反应工程是研究包括反应动力学，反应器的结构、设计、放大，以及反应器优化的一个重要学科分支。因此，生化工程实质上就是研究生化反应过程中带有共性的工程技术问题的学科。

在生化反应过程的上游加工中最重要的是生物催化剂（包括菌株、酶及其固定化）的制备，虽然这方面的工作通常由生物学方面的工作者担任，但作为生化工程工作者也必须掌握生物催化剂的生理生化特性和培养特性，解决大规模种子培养或固定化生物催化剂的制备以及如何将其在无菌情况下接入生化反应器中等问题。

上游加工中还包括原材料的物理和化学处理、培养基的配制和灭菌等问题，这里包含有物料破碎、混合和输送等多种化工单元操作以及热量传递、灭菌动力学和设备等有关工程问题。

生化反应器是整个生化反应过程的关键设备。它是为特定的细胞或酶提供适宜的生长环境或进行特定生化反应的设备，它的结构、操作方式和操作条件与产品的质量、产量和能耗有着密切的关系。生化反应器中存在着物料的混合与流动、传质与传热等大量的化学工程问题；存在着氧和基质的供需和传递、发酵动力学、酶催化反应动力学、发酵液的流变学以及生化反应器的设计与放大等一系列带有共性的工

程技术问题；同时还包括生化反应过程的参数检测和控制。有关这一中游加工过程的工程问题已发展成生物工程的重要学科分支——生化反应工程。这是本书的基本内容，后面还要详细予以讨论。

生化反应过程的下游是对目的产物的提取与精制。这一过程是比较困难的。这是因为一方面生化反应液中目的产物的浓度是很低的，例如，浓度最高的乙醇仅为10%左右，氨基酸不超过8%，抗生素不超过5%，酶制剂不超过1%，胰岛素不超过0.01%，单克隆抗体不超过0.0001%；另一方面反应液杂质常与目的产物有相似的结构，加上一些具有生物活性的产品对温度、酸碱度都十分敏感，一些作为药物或食品的产品对纯度、有害物质含量都有极严格的要求。总之，下游加工过程步骤多、要求严，其生产费用往往占生化产品生产成本的二分之一以上。

采用的分离纯化手段包括一些典型的化工单元操作，如萃取、吸附、蒸馏、蒸发、沉淀、结晶、干燥等；还有一些用于分离精细产品的手段如离子交换、色层分离、电泳、超滤、反渗透、电渗析、双水相萃取、超临界萃取等。

虽然人类生产和应用生物产品已有很长的历史，但是直到20世纪40年代，由于抗生素工业的兴起与发展，才使人们认识到，由于工程技术人员的参加，不但促进了抗生素生产的工业化，也同时孕育了一门新的交叉学科——生物工程。1947年，美国的Merck制药厂因在建立抗生素工业中的贡献而被授予“生物工程专题研究”成果奖，其后生物工程一词就一直沿用至今。生物技术的发展，离不开生物工程的发展，随着新生物产品的不断出现，必将促进生物工程的进一步发展。

生物工程发展至今，已产生了生化反应工程（或称生物反应工程）和生化分离工程两个重要学科分支，分别担负解决生化反应过程中与反应和分离有关的技术问题。

1.2.2 生化反应工程的内容

随着生物工程的发展，作为生物工程的一个重要内容和化学反应工程的一个分支——生化反应工程也有了迅速发展，并逐步显示出它的重要性。生化反应工程是以生化反应动力学为基础，通过运用传递

过程原理、设备工程学、过程动态学及最优化原理等化学工程学的方法,进行生化反应过程的工程分析与开发,以及生化反应器的设计、放大、操作和控制等。

1971年英国的阿特金森(B. Atkinson)首先采用了生化反应工程这一术语,1974年编著了《生化反应器》一书;1979年日本的山根恒夫编著了《生物反应工程》;1985年德国的许盖尔特(Schügerl)又发表了《生物反应工程》专著。这些都对生化反应工程的发展做出了贡献。

生化反应工程的主要研究内容如下所述。

1.2.2.1 生化反应动力学

生化反应动力学是研究生化反应过程的速率及其影响因素,这是生化反应工程学的理论基础之一。这里所研究的生化反应过程动力学应包括两个层次的动力学,一是本征动力学,又称微观动力学,它是指没有传递等工程因素影响时,生化反应固有的速率。该速率除反应本身的特性外,只与各反应组分的浓度、温度、催化剂及溶剂性质有关,而与传递因素无关,二是宏观动力学,又可称为反应器动力学,它是指在一反应器内所观测得到的总反应速率及其影响因素,这些影响因素包括反应器的形式和结构、操作方式、物料的流动与混合、传质与传热等。

由于生化反应过程的复杂性,给生化反应动力学带来了多样性。例如对酶催化反应,反应动力学可表达为分子水平动力学;对微生物发酵反应,其动力学可在细胞水平上来表达;对废水的生物处理,则可表达为群体动力学。每一表达水平都有其独特特征,这些特征需要有其特有的动力学处理方法。

1.2.2.2 生化反应器

(1) 生化反应器中的传递特性。传递特性即质量、热量及动量的传递。这些传递特性将影响到反应器内基质和产物的浓度分布及温度分布,进而影响到反应器内某一组分的反应速率。例如氧在发酵液中的传质速率,固定化酶颗粒及菌丝团和菌体絮凝物内反应组分的扩散传质,这些传质速率对反应结果都会产生一定的影响,甚至成了反应

过程的控制步骤。这些传递因素最终将影响到反应器的设计和放大。

(2) 生化反应器的设计与放大。在进行反应器设计时，首先要对反应器进行选型，确定操作方式，然后再进行设计计算。反应器的选型及操作方式，要根据反应的本征动力学特性、生产工艺要求及物料特性来决定。采用不同的反应器型式和不同的操作方式，会对反应动力学和反应器的生产效率产生明显的不同影响。

生化反应过程还要求生化反应器能在不同规模上为酶的催化反应、细胞的生长和代谢产物的生成提供良好的环境条件，要求能根据实验室的研究结果放大到工业生产规模，这无疑应是生化反应工程的一个重要内容。

(3) 生化反应器的优化与控制。生化反应器优化包括优化操作和优化设计，它们是在分析所涉及的生化反应过程特征的基础上，进行有关工程的基础研究，从而制定出最合理的技术方案和最优操作条件，进行反应器的最优设计，以达到优质、高产、低消耗的目的。为了使生化反应器在最佳条件下运转，必须对生化反应过程的参数进行检测与控制，这是生化反应过程实现优化的基础。

综上所述，生化反应器不仅是生化反应过程的核心设备，也是生化反应工程所研究的中心内容。因此近年来在生物技术领域中又提出了生化反应器工程（或生物反应器工程）这一术语。它包括了在生化反应器中进行酶反应、细胞反应和动植物细胞培养的反应特性；生化反应器的结构、操作条件与混合、传质、传热的关系；生化反应器的设计与放大；生化反应器的优化操作与控制等。这样把生化反应的特征（主要指动力学）与反应器的特征相联系起来进行研究，无疑会对加速实现生物技术实验室成果的工业化起到很大的推动作用。本书也正是基于同一宗旨，重点介绍与讨论生化反应动力学与生化反应器。

随着生物技术的发展 and 新一代生物工程产品的出现，今后生化反应工程的研究内容应包括以下几方面。

① 新型生化反应器的研究开发，特别是针对基因工程产品和动植物细胞培养所需的特殊生化反应器。对前者要考虑“生物安全”及重组菌不稳定的问题；对后者要考虑动植物细胞对机械剪切和环境影响

敏感的问题以及培养周期长防止污染的问题。此外，还应研制适应高粘度、高密度发酵或培养的生化反应器以及一些大型的高效节能生化反应器。

② 各种描述生化反应过程的数学模型的建立，将有利于过程的优化操作与控制以及计算机的应用。为此要对反应动力学、反应器内混合传递特性进行研究。

③ 生产过程参数检测与控制手段的改进，重点解决能在线检测参数的传感器和计算机控制的软硬件。

1.2.3 生化反应工程的研究方法

虽然生化反应工程的研究、开发与放大，目前仍然是以经验方法为主，但随着科学技术的发展，用数学模型法对生化反应工程有关内容进行的研究也正在迅速发展。

数学模型法就是用数学语言来表达生化反应过程中各个变量之间的关系。由于采用了数学模型法，可用几个关键变量来代替复杂的反应过程；可将微观现象同宏观现象相联系；可以用来预测反应的结果；可以用于检测出可能是重要的但尚未知或被忽视了变量和参数；可帮助搞清反应机理。这就要求所建立的模型是为一定的需要服务的，并且已与实验结果相吻合。数学模型法不能完全代替实验研究，而只能减少实验的次数。

数学模型的建立方法可分为三种。一种是从过程机理出发推导得到的，称为机理模型或结构模型；另一种称为半经验模型，它是在对过程机理有一定了解的基础上结合实验数据得到的模型；最后一种是在完全不了解或不考虑过程机理的情况下，仅根据一定条件下的实验数据进行的数学关联，称为经验模型。在生化反应工程中，由于生化反应过程极为复杂，故多采用半经验模型或经验模型。

在建立生化反应过程的数学模型时，由于考虑到生化反应过程会受到多种因素的影响，就要以反应器为研究对象，将其分解为生化反应、传递过程及流体流动与混合等分过程分别进行研究。分别建立动力学方程式、物料衡算式、热量衡算式、动量衡算式以及参数计算式，并对上述方程联立求解，从而得到所研究的生化反应过程的解析表达

式。这些方程式的具体形式除取决于反应本身的特性以外，还与反应器的型式、流体的流动与混合状态有关。

至于建立半经验模型或经验模型，一般是先确定模型的基本结构，再根据实验数据确定模型参数，从而得到过程的模型。

对生化反应过程建立模型时，并不要求无所不包地把各种因素都考虑和罗列进去，这不仅使问题复杂而得不到解决，而且也是不必要的。恰恰相反，应当努力进行合理的简化，使之易于求解而又符合实际。

例如，对一复杂的生化反应过程，可简化为少数几个子系统，这些系统被认为是最重要的，并由若干关键变量表示。由于生物学和物理学的复杂性，这种简化必须不损失其基本的信息，才是合理的简化。这被称之为简化原理。如悬浮在生化反应器液相中的微生物细胞常常被当作“黑匣子”处理，通过测定它在液相中的浓度变化来考察其宏观行为，但这并不意味着忽视它的变化；又如为了获取有关生化反应和传递过程有关数据和规律，采用精心设计实验的方法，使生化反应和传递过程在相互不影响的情况下进行。这种方法被称为分离原理，实质上也是建模中的一种简化。

总之，生化反应工程的研究方法还处在不断发展、不断提高的阶段。虽然数学模型法被认为是目前最科学的方法，它可以免除许多由于认识上的盲目性而造成的差错和浪费，并把生产技术建立在较高的技术水平之上，但是，这个目标不是轻易可以达到的。特别是对生化反应过程，由于生物反应过程的复杂性，至今还有许多的领域尚未被人们所认识，有些过程很难用数学方程描述，有些过程的边界条件也很难确定，因而致使建立数学模型或进行模型求解难以实现。在这种情况下，只能建立一些局部的或较粗糙的模型，并辅之以适当的经验方法来解决，即为半经验、半理论的部分解析法，称为半经验模型方法。它虽不及完全的数学模型法那样引人入胜，但比起完全的经验方法要好得多了，它也是目前解决生化反应工程中有关问题的比较有效的方法。

第 2 章 均相酶催化反应动力学

均相酶催化反应，系指酶与反应物系处于同一相——液相的酶催化反应。因此它不存在相间的物质传递。均相酶催化反应动力学所描述的反应速率与反应物系的基本关系，反映了该反应过程的本征动力学关系，而且酶与反应物的反应，乃是分子水平上的反应。因而均相酶催化反应动力学作为阐明酶催化反应机理的重要手段而得到了发展。它通过研究影响反应速率的各种因素，通过对各基元反应过程进行静态与动态的分析，从而获得反应机理的有关信息。

酶催化反应动力学的研究可追溯到 1902 年。V. Henri 首先进行了转化酶、苦杏仁酶和 β -淀粉酶等三种酶的催化反应实验，研究了其反应机理，并导出了动力学方程式。但他的实验不够正确。1913 年，L. Michaelis 和 M. L. Menten 应用了所谓“快速平衡”解析方法对该速率方程进行了详细的研究，发表了著名的米氏方程，即现在应用的 Michaelis-Menten 方程，常简称为 M-M 方程。1925 年，G. E. Briggs 和 J. B. S. Haldane 发表了“稳态法”解析方法，对 M-M 方程的推导方法进行了修正。后来又有许多学者对酶催化反应动力学进行了多方面的探索，使酶催化反应动力学的研究有了很大的发展。

对于从事酶应用的工程技术人员，除了需要了解酶催化的反应机理外，更应着重研究酶的总反应速率，能定量解析影响总反应速率的各种因素，建立可靠的总反应速率方程式，进而用于计算反应时间、最佳反应条件，以设计出合理的反应器。

用反应动力学来阐明反应机理和将其用于设计反应器及其操作，两者的研究内容与方法是有所不同的，前者属于本征生化反应动力学的范畴，后者则属于生化反应工程动力学。显然，后者将是本书讨论的重点。

2.1 酶催化反应的基本特征

酶是生物为提高其生化反应效率而产生的生物催化剂，其化学本质为蛋白质，少数酶同时含有少量的糖和脂肪。在生物体内，所有的反应均在酶的催化作用下完成，几乎所有生物的生理现象都与酶的作用紧密相联系。目前已知的酶多达 2200 种以上。根据国际生物化学协会 (International Union Biochemistry, IUB) 规定的分类方法，不管酶的结构和性质如何，仅根据它所能催化反应的类型，可将酶分为六大类，即氧化还原酶、转移酶、水解酶、裂合酶、异构酶、合成酶。

做为生物催化剂的酶，它既具有一般催化剂的共性，又应具有生物催化剂的特性。

2.1.1 酶的催化共性

酶参与生物化学反应，它能降低反应的活化能，加快生化反应的速率；但它不改变反应的方向和平衡关系，即它不能改变反应的平衡常数，而只能加快反应达到平衡的速率；酶在反应过程中，其立体结构和离子价态可以发生某种变化，但在反应结束时，一般酶本身不消耗，并恢复到原来状态。例如，过氧化氢的分解，在无催化剂存在时，该分解反应的活化能为 75.31kJ/mol ，在用过氧化氢酶催化时，该分解反应的活化能仅为 8.37kJ/mol 。

2.1.2 酶的催化特性

(1) 有较高的催化效率。酶的催化效率主要有以下几种表示方法。

① 酶的分子活力。在最适宜的条件下，每 1mol 酶在单位时间内所能催化底物的最大量 (mol)。

② 酶的催化中心活力。在单位时间内，每一个酶的催化中心所催化底物的量 (mol)。

③ 酶活力。在特定的条件下，每 1min 能催化 $1\mu\text{mol}$ 底物转化为产物时所需要的酶量，称为一个酶单位，或称为国际单位，用 U 表示。酶活力还可用比活力表示，比活力系指每 1mg 酶所具有的酶单位数，用 U/mg 表示。1972 年国际酶学委员会 (Enzyme Commission, EC) 提出，酶活力一律以 katal 为单位，记为 kat 。在特定条件下，每秒钟能

催化 1mol 底物转化的酶量定义为 1kat，而比活力则为每 1kg 酶所具有的 katal 数，即 kat/kg。

酶的催化中心活力又常称为酶的转换数，表 2-1 列出了酶催化和化学催化反应的转换数大小的比较，从表中明显可以看出，酶的转换数大大高于化学催化剂，尤其在生理温度下更为明显。

表 2-1 酶催化与化学催化反应转换数的比较

催 化 剂	反 应	转换数 mol·(中心点·s)	温度 C
酶催化剂			
菠萝蛋白酶	肽的水解	$1 \times 10^3 \sim 5 \times 10^4$	0~37
木瓜蛋白酶	肽的水解	$8 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$	0~37
胰蛋白酶	肽的水解	$3 \times 10^3 \sim 1 \times 10^4$	0~37
碳酸酐酶	羧基化合物的可逆反应	$8 \times 10^4 \sim 6 \times 10^5$	0~37
化学催化剂			
硅胶-氧化铝	异丙基苯裂解	3×10^3	25
硅胶-氧化铝	异丙基苯裂解	2×10^4	420
二氧化钒	环己烷脱氢	7×10^3	25
二氧化钒	环己烷脱氢	1×10^2	350

根据实验测定，大部分酶的分子活力为 10^3 ，最高可达 10^6 以上。可以认为，酶在常温、常压、中性条件下作为反应的催化剂，具有很高的催化效率，即有很高的催化活性。

(2) 有很强的专一性。酶催化反应有很高的选择性，一种酶仅能作用于一种物质或一类结构相似的物质进行某一种反应，这种特性称为酶的专一性或选择性。酶的专一性是酶作为催化剂最重要的特性，也是酶催化反应过程优于一般化学反应过程的最重要的理由之一。

一种酶若只能催化一种化合物进行一种反应，这种专一性称为绝对专一性，例如脲酶只能催化尿素水解生成二氧化碳和水。若一种酶能够催化一类具有相同化学键或基团的物质进行某种类型的反应，这种专一性称为相对专一性，如脂肪酶可以催化所有酯类化合物水解。若一种酶只能催化某化合物在热力学上可能进行的许多反应中的一种反应，这种专一性称为酶的反应专一性，具有不同反应专一性的酶只各自催化不同的反应。例如，对同一反应物葡萄糖，以葡糖氧化酶为催

化剂可得葡糖酸；以葡糖异构酶为催化剂可得果糖；以己糖激酶为催化剂可得葡糖-6-磷酸。绝大多数的酶都具有反应专一性。一种酶只能催化一种底物，则称为酶的底物专一性。一种酶只能作用于所有立体异构体其中的一种，则称为立体专一性。此外，还有官能团专一性、序列专一性等。利用酶催化的这种高度的多种专一性，有可能制备出化学催化反应所不能得到的化合物，这也有利于提高产物的分离纯度。

(3) 具有温和的反应条件。酶催化反应温度一般在生理温度 25~37℃ 的范围，仅有少数酶反应可在较高温度下进行。同时，酶催化反应一般是在接近中性的 pH 值条件下进行。

(4) 酶易变性与失活。酶的化学本质是蛋白质，因而具有蛋白质的所有性质。其中容易变性的性质，使得酶在应用时，常因变性而活力下降，甚至完全失去活力，即失活。酶的变性多数为不可逆。引起变性的原因有物理因素及化学因素。物理因素包括热、紫外线、X 射线、声波等；化学因素包括酸、碱、表面活性剂、重金属盐等化学药品的影响。因而产生了诸如热变性、酸碱变性、氧化变性等。

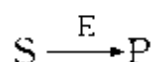
此外，酶作为催化剂还存在着酶的提取工艺繁琐、成本昂贵，以及目前大多数酶催化反应还只能在水溶液中进行的不足。

2.2 简单的酶催化反应动力学

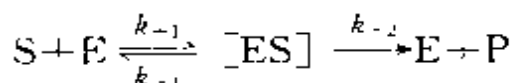
简单的酶催化反应动力学系指由一种反应物（底物）参与的不可逆反应。属于此类反应的有酶催化的水解反应和异构化反应。这种简单的单底物酶反应动力学，是酶反应动力学的基础。

对酶催化反应过程的机理，得到大量实验结果支持的是活性中间复合物学说。该学说认为酶催化反应至少包括两步，首先是底物 S 和酶 E 相结合形成中间复合物 [ES]，然后该复合物分解成产物 P，并释放出 E。

对单一底物参与的简单酶催化反应：



其反应机理可表示为



式中 E 为游离酶；[ES] 为酶底物复合物；S 为底物；P 为产物； k_{+1} 、 k_{-1} 、 k_{+2} 为相应各步的反应速率常数。

根据化学动力学，反应速率通常以单位时间、单位反应体系中某组分的变化量来表示。对均相酶催化反应，单位反应体系常用单位体积表示。因此，上述反应的速率可表示为

$$r_s = -\frac{1}{V} \frac{dn_s}{dt}, \quad r_p = \frac{1}{V} \frac{dn_p}{dt} \quad (2-1)$$

式中 r_s —— 底物 S 的消耗速率， $\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{s})$ ；

r_p —— 产物 P 的生成速率， $\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{s})$ ；

V —— 反应体系的体积，L；

n_s —— 底物 S 的物质的量，mol；

n_p —— 产物 P 的物质的量，mol；

t —— 时间，s。

对于底物 S，随着反应的进行，其量由于消耗而逐渐减少，即时间导数 $dn_s/dt < 0$ ，因此用 S 来计算反应速率时，需加一负号，以使反应速率恒为正值。而 P 为产物，情况相反， $dn_p/dt > 0$ ，故用 P 来计算反应速率时，则不需加负号。

根据质量作用定律，P 的生成速率可表示为

$$r_p = k_{+2} C_{[ES]} \quad (2-2)$$

式中 $C_{[ES]}$ —— 中间复合物 [ES] 的浓度，它为一难测定的未知量，因而不能用它来表示最终的速率方程。

在推导动力学方程时，对上述反应机理，有下述三点假设：

(1) 在反应过程中，酶的浓度保持恒定，即： $C_{E_0} = C_E + C_{[ES]}$ 。

(2) 与底物浓度 C_s 相比，酶的浓度是很小的，因而可以忽略由于生成中间复合物 [ES] 而消耗的底物。

(3) 产物的浓度是很低的，因而产物的抑制作用可以忽略，也不必考虑 $P + E \longrightarrow [ES]$ 这个逆反应的存在。换言之，据此假设所确定

方程仅适用于反应初始状态。

根据上述假设，有 Michaelis-Menten 和 Briggs Haldane 两种方法推导出各自的速率方程。

2.2.1 Michaelis-Menten 方程

该法认为酶催化反应机理中，生成产物一步的速率要慢于底物与酶生成复合物的可逆反应的速率，因此，生成产物一步的速率决定整个酶催化反应的速率，而生成复合物的可逆反应达到平衡状态。因此又称为“平衡”假设。这个假设类似于非均相催化化学动力学的假设，这是由于酶分子具有大而且复杂的三维结构，因而与化学反应的固体催化剂相类似。同时，底物与酶的结合力又很弱，假设其反应速率很快也是合理的。

根据上述假设和式 (2-2)，有

$$r_p = \frac{dC_p}{dt} = -\frac{dC_s}{dt} = k_{-2}C_{[ES]} \quad (2-3)$$

$$\text{和} \quad k_{+1}C_E C_S = k_{-1}C_{[ES]} \quad (2-4)$$

$$\text{或表示为} \quad C_E = \frac{k_{-1}C_{[ES]}}{k_{+1}C_S} = K_S \frac{C_{[ES]}}{C_S} \quad (2-5)$$

式中 C_E —— 游离酶的浓度，mol/L；

C_S —— 底物的浓度，mol/L；

K_S —— 解离常数，mol/L。

反应体系中酶的总浓度 C_{E_0} 为

$$C_{E_0} = C_E + C_{[ES]} \quad (2-6)$$

$$\text{所以} \quad C_{E_0} = K_S \frac{C_{[ES]}}{C_S} + C_{[ES]} = C_{[ES]} \left(1 + \frac{K_S}{C_S} \right)$$

即

$$C_{[ES]} = \frac{C_{E_0} C_S}{C_S + K_S} \quad (2-7)$$

将式 (2-7) 代入式 (2-3)

得

$$r_p = \frac{k_{-2} C_{E_0} C_S}{K_S + C_S} = \frac{r_{p,\max} C_S}{K_S + C_S} \quad (2-8)$$

式中 $r_{P,\max}$ —— P 的最大生成速率, mol/(L·s);

C_{E_0} —— 酶的总浓度, 亦为酶的初始浓度, mol/L。

式 (2-8) 即为 Michaelis-Menten 方程, 简称为 M-M 方程或米氏方程。该式中有两个动力学参数, 即 K_s 和 $r_{P,\max}$ 。

其中
$$K_s = \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{C_s C_E}{C_{ES}} \quad (2-9)$$

K_s 的单位与 C_s 的单位相同。当 $r_P = \frac{1}{2} r_{P,\max}$ 时, 根据式 (2-8), 存在 $K_s = C_s$ 关系, K_s 表示了酶与底物相互作用的特性, 因而是一个重要的动力学参数。

另一重要参数为 $r_{P,\max} = k_{-2} C_{E_0}$, 它表示了当全部的酶都呈复合物状态时的反应速率。 k_{-2} 表示单位时间内一个酶分子所能催化底物发生反应的分子数, 因此它表示了酶催化反应能力的大小, 不同的酶反应, 其值不同 (参考表 2-1)。

k_{-2} 又称酶的转换数。同时又可看出, $r_{P,\max}$ 正比于酶的初始浓度 C_{E_0} 。在实际应用中常将 k_{-2} 和 C_{E_0} 合并为一个参数, 这是由于要准确知道酶的分子量和所加入酶的纯度是很困难的, 因而要用摩尔浓度准确表示酶的浓度也是很难的。

2.2.2 Briggs-Haldane 方程

当从中间复合物生成产物的速率与其分解成酶与底物的速率相差不大时, Michaelis-Menten 的平衡假设不适用。1925 年, Briggs 和 Haldane 提出了拟稳态假设。他们认为由于反应体系中底物浓度要比酶的浓度高得多, 中间复合物分解时所得到的酶又立即与底物相结合, 从而使反应体系中复合物浓度维持不变, 即中间复合物的浓度不再随时间而变化, 这就是“拟稳态”假设。这是从反应机理推导动力学方程又一重要假设。

根据反应机理和上述假设, 有下述方程式:

$$\frac{dC_P}{dt} = k_{+2} C_{[ES]} \quad (2-10)$$

$$-\frac{dC_S}{dt} = k_{+1} C_E C_S - k_{-1} C_{[ES]} \quad (2-11)$$

$$\frac{dC_{[ES]}}{dt} = k_{+1}C_E C_S - k_{-1}C_{[ES]} - k_{+2}C_{[ES]} \approx 0 \quad (2-12)$$

将式 (2-12) 代入式 (2-11), 求得:

$$r_P = \frac{dC_P}{dt} = -\frac{dC_S}{dt} = k_{+2}C_{[ES]} \quad (2-13)$$

又因为有:

$$C_E = C_E - C_P + C_{[ES]} \quad (2-14)$$

所以

$$C_{[ES]} = \frac{C_E C_S}{\frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} + C_S} \quad (2-15)$$

$$r_P = k_{+2} \frac{k_{+1} C_E C_S}{k_{-1} + k_{+2} + C_S} = \frac{r_{P,m} C_S}{K_m + C_S} \quad (2-16)$$

式中 K_m ——米氏常数, mol/L。

K_m 与 K_s 的关系为

$$K_m = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} = K_s + \frac{k_{+2}}{k_{+1}} \quad (2-17)$$

当 $k_{+2} \ll k_{-1}$ 时, $K_m = K_s$ 。这意味着生成产物的速率大大慢于酶底物复合物解离的速率。这对许多酶反应也是正确的。因为生成的复合物的结合力是很弱的, 因而其解离速率很快; 而复合物生成产物则包括化学键的生成和断开, 其速率当然要慢得多。

根据式 (2-17) 其中 k_{-1} 和 k_{+2} 表示的是中间复合物 [ES] 解离的速率常数; k_{+1} 则表示的是生成中间复合物 [ES] 的速率常数。因此当 K_m 值大时, 表示复合物 [ES] 的结合力弱, 易解离; 当 K_m 值小时, [ES] 不易解离。 K_m 值的大小与酶、反应物系的特性以及反应条件有关。因此它是表示某一特定的酶催化反应性质的一个特征参数。表 2-2 列出了某些酶反应的 K_m 值。

表 2-2 某些酶反应的 K_m 值

酶	底物	K_m 值/ (mmol/L)
葡萄糖氧化酶	D-葡萄糖	7.7
L-氨基酸氧化酶	L-亮氨酸	1.0
乳糖酶	乳糖	7.5

续表

酶	底物	K_m 值' (mmol L)
天冬酰胺酶	L-天冬酰胺	0.018
尿素酶	尿素	1.0
蔗糖酶	蔗糖	50
醇脱氢酶	乙醇	13
葡糖淀粉酶	麦芽糖	1.2

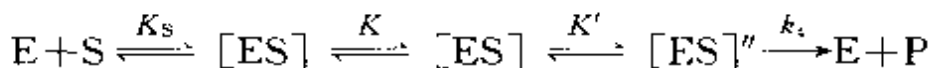
对另一动力学参数 $r_{P,\max} = k_{-2} C_{E_0}$, 其中 k_{-2} 称为转换数, 可表示为:

$$k_{-2} = \frac{r_{P,\max}}{C_{E_0}} \quad (2-18)$$

当将上述 M-M 方程或 B-H 方程应用于存在多个中间复合物时, 可定义一催化活性中心速率常数 k_{cat} , 并假定每个酶分子仅有一个活性中心, 则有:

$$k_{cat} = \frac{r_{P,\max}}{C_{E_0}} \quad (2-19)$$

对 M-M 和 B-H 动力学, $k_{cat} = k_{+2}$ 。而对于有多个中间复合物的机理, 例如:

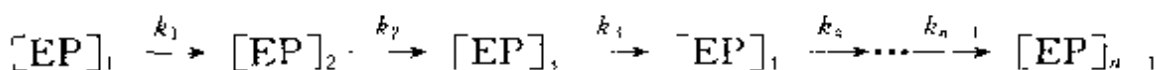


$$\text{则有: } k_{cat} = \frac{k_4 K K'}{1 + K + K'} \quad (2-20)$$

$$\text{而且: } K_m = \frac{K_S}{1 + K + K'} \quad (2-21)$$

此时 $K_m < K_S$, 显然与式 (2-17) 的结果相反, 可用此来揭示酶催化反应中间复合物的特征。

又因为 k_{cat} 表示了酶的活性中心在单位时间内能转化底物分子为产物的最大数, 称为酶的转换数。可取它的倒数作为时间常数, 用来研究一复杂的反应途径。例如:



在稳态假设下, 有下述关系存在:

$$\frac{1}{k_{obs}} = \frac{1}{k_1} + \frac{1}{k_2} + \frac{1}{k_3} + \frac{1}{k_4} + \dots + \frac{1}{k_{n+1}} \quad (2-22)$$

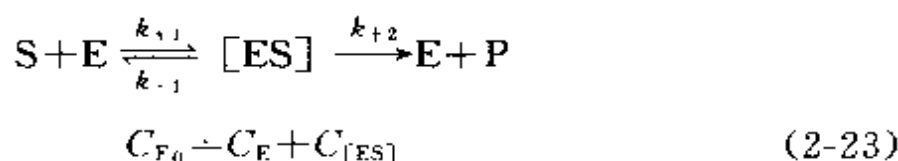
表 2.3 总结了 M-M 方程和 B-H 方程推导过程中的异同点。

表 2-3 M-M 方程与 B-H 方程比较

项 目	M-M 方程	B-H 方程
假 设	①酶和底物生成不稳定复合物 [ES]，酶催化反应是经该中间复合物完成的 即 $E + S \xrightleftharpoons[k_{-1}]{k_{+1}} [ES] \xrightarrow{k_{+2}} E + P$	②[ES]的生成速率与其解离速率相等，其浓度不随时间而变化 $\frac{dC_{[ES]}}{dt} = 0$
	② [ES] 在反应开始后与 E 及 S 迅速达到动态平衡 $K_S = \frac{k_{-1}}{k_{+1}}$	③底物浓度远高于酶的浓度。 $C_S \gg C_E$
	酶量守恒	$C_{E_0} = C_E + C_{[ES]}$
产物生成速率	$r_P = k_{+2} C_{[ES]}$	
动力学方程	$r_P = \frac{r_{P,max} C_S}{K_S + C_S}$	$r_P = \frac{r_{P,max} C_S}{K_m + C_S}$
K_S 与 K_m	$K_S = \frac{k_{-1}}{k_{+1}}$	$K_m = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}}$

但在具体应用时，人们亦将 B-H 方程称为 M-M 方程，而方程的形式采用式 (2-16) 的表述形式。并且为了表述方便，该式中最大反应速率今后一律采用 r_{max} 表示。

在上述 M-M 方程和 B-H 两个方程的推导中，都假设 $C_{E_0} \ll C_{S_0}$ ，因而 $C_{[ES]}$ 值也是很小的。如果酶的浓度很高，此时 $C_{[ES]}$ 值在反应过程中有可能是很高的。若仍然采用上述方程会带来较大误差。此时物料平衡和速率方程可表示为：



$$C_{S_0} = C_S + C_{[ES]} + C_P \quad (2-24)$$

$$-\frac{dC_S}{dt} = k_{+1}(C_{E_0} - C_{[ES]}) (C_{S_0} - C_{[ES]} - C_P) - k_{-1}C_{[ES]} \quad (2-25)$$

$$\frac{dC_{[ES]}}{dt} = k_{+1}(C_{E_0} - C_{[ES]}) (C_{S_0} - C_{[ES]} - C_P) - (k_{-1} + k_{+2})C_{[ES]} \quad (2-26)$$

$$\frac{dC_P}{dt} = k_{+2}C_{[ES]} \quad (2-27)$$

对上述方程一般得不到解析解，而只能数值解。

2.2.3 动力学特征与参数求取

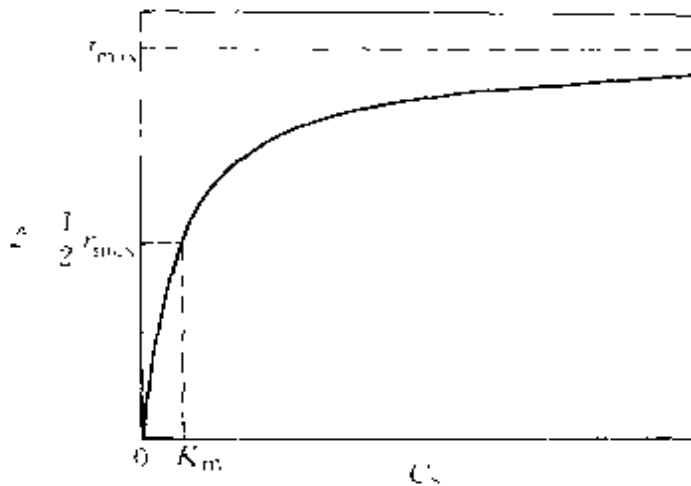


图 2-1 当 C_{E_0} 一定时， r_s 与 C_s 的关系曲线

M-M 方程所表示的动力学关系为反应速率与底物浓度的关系，即 r_s - C_s 的关系，见图 2-1。

从图 2-1 的 r_s 与 C_s 的关系曲线可以看出，该曲线表示了三个不同动力学特点的区域。

当 $C_s \ll K_m$ ，即底物浓度比 K_m 值小得很多时，该曲线近似为一直线。这表示反应

速率与底物浓度近似成正比的关系，此时酶催化反应可近似看作为一级反应：

$$r_s = \frac{r_{\max} C_s}{K_m} = K C_s \quad (2-28)$$

这是因为当 K_m 值很大时，大部分酶为游离态的酶，而 $C_{[ES]}$ 的量很少。要想提高反应速率，只有通过提高 C_s 值，进而提高 $C_{[ES]}$ ，才能使反应速率加快。因而此时反应速率主要取决于底物浓度的变化。

根据式 (2-28)，可以推出

$$r_{\max} t = K_m \ln \frac{C_{S_0}}{C_s} \quad (2-29)$$

或

$$C_s = C_{s_0} \exp \left[-\frac{r_{\max}}{K_m} t \right] \quad (2-30)$$

式中 C_{s_0} ——底物的初始浓度, mol/L。

当 $C_s \gg K_m$ 时, 该曲线近似为一水平线, 表示当底物浓度继续增加时, 反应速率变化不大。此时酶催化反应可视为零级反应, 反应速率将不随底物浓度的变化而变化。这是因为当 K_m 值很小时, 绝大多数酶呈复合物状态, 反应体系内游离的酶很少, 因而即使提高底物的浓度, 也不能提高其反应速率。

根据式 (2-16), 同样可以推出

$$r_s \approx r_{\max} \quad (2-31)$$

即 $r_{\max} t = C_{s_0} - C_s \quad (2-32)$

或 $C_s = C_{s_0} - r_{\max} t \quad (2-33)$

当 C_s 与 K_m 的数量关系处于上述两者之间的范围时, 则符合 M-M 方程所表示的关系式。

根据式 (2-16), 结合 $t=0$ 、 $C_s=C_{s_0}$ 的初值积分得到

$$r_{\max} t = (C_{s_0} - C_s) + K_m \ln \frac{C_{s_0}}{C_s} \quad (2-34)$$

或

$$r_{\max} t = C_{s_0} X_s + K_m \ln \frac{1}{1 - X_s} \quad (2-35)$$

式中 $X_s = \frac{C_{s_0} - C_s}{C_{s_0}}$, X_s 为底物转化率。

上述 M-M 方程的表示形式一般称之为双曲线型。Levenspiel 提出亦可用幂函数形式表示米氏方程, 其形式为

$$r_s \approx r_{\max} C_s \frac{K_m}{K_m + C_s} \quad (2-36)$$

此式的优点是容易直观看出 r_s 与 C_s 的关系。

绝大多数的酶催化反应, 其反应速率与酶的浓度成正比关系, 只有极少数的酶反应例外, 如蛋白酶催化水解反应。

要建立一个完整的动力学方程, 必须要通过动力学实验确定其动力学参数。对 M-M 方程, 就是要确定 r_{\max} (或 k_{+2}) 和 K_m 值。但直接

应用 M-M 方程求取动力学参数所遇到的主要困难在于该方程为一非线性方程。为此常将该方程加以线性化，通过作图法直接求取动力学参数。应该指出，这种方法虽然简单，但准确程度较差。通常有下述几种作图方法。

(1) Lineweaver-Burk 法 (简称 L-B 法)。将 M-M 方程取其倒数得到下式

$$\frac{1}{r_s} = \frac{1}{r_{\max}} + \frac{K_m}{r_{\max}} \frac{1}{C_s} \quad (2-37)$$

以 $1/r_s$ 对 $1/C_s$ 作图得一直线见图 2-2 (a)，该直线斜率为 K_m/r_{\max} ，直线与纵轴交于 $1/r_{\max}$ ，与横轴交于 $-1/K_m$ 。此法又称双倒数图解法。

该法由于采用两个独立变量 C_s 和 r_s ，因而采用较多。但是，在底物浓度很低时，相应速率也很慢，再取倒数，会使测量误差进一步放大。

(2) Hanes-Woolf 法 (简称 H-W 法)，又称 Langmuir 作图法。将式 (2-37) 两边均乘以 C_s ，得到

$$\frac{C_s}{r_s} = \frac{K_m}{r_{\max}} + \frac{C_s}{r_{\max}} \quad (2-38)$$

以 C_s/r_s 对 C_s 作图，得一斜率为 $1/r_{\max}$ 的直线，见图 2-2 (b)，直线与纵轴交点为 K_m/r_{\max} ，与横轴交点为 $-K_m$ 。

(3) Eadie-Hofstee 法 (简称 E-H 法)。将 M-M 方程重排为

$$r_s = r_{\max} - K_m \frac{r_s}{C_s} \quad (2-39)$$

以 r_s 对 r_s/C_s 作图，得一斜率为 $-K_m$ 的直线，见图 2-2 (c)，它与纵轴交点为 r_{\max} ，与横轴交点为 r_{\max}/K_m 。

上述方法的共同点，是要从动力学实验中获取不同 C_s 值的 r_s 值，而 r_s 值不能由实验直接取得。实验中能直接得到的是不同时间 t 时的浓度 C_s 值 (或 C_p 值)。为此需要根据速率的定义式 $r_s = \frac{-dC_s}{dt}$ ，在 C_s 与 t 的关系曲线上求取相应各点切线的斜率，才能确定不同时间的反应速率。这种求取动力学参数的方法又称之为微分法。显然，用这种

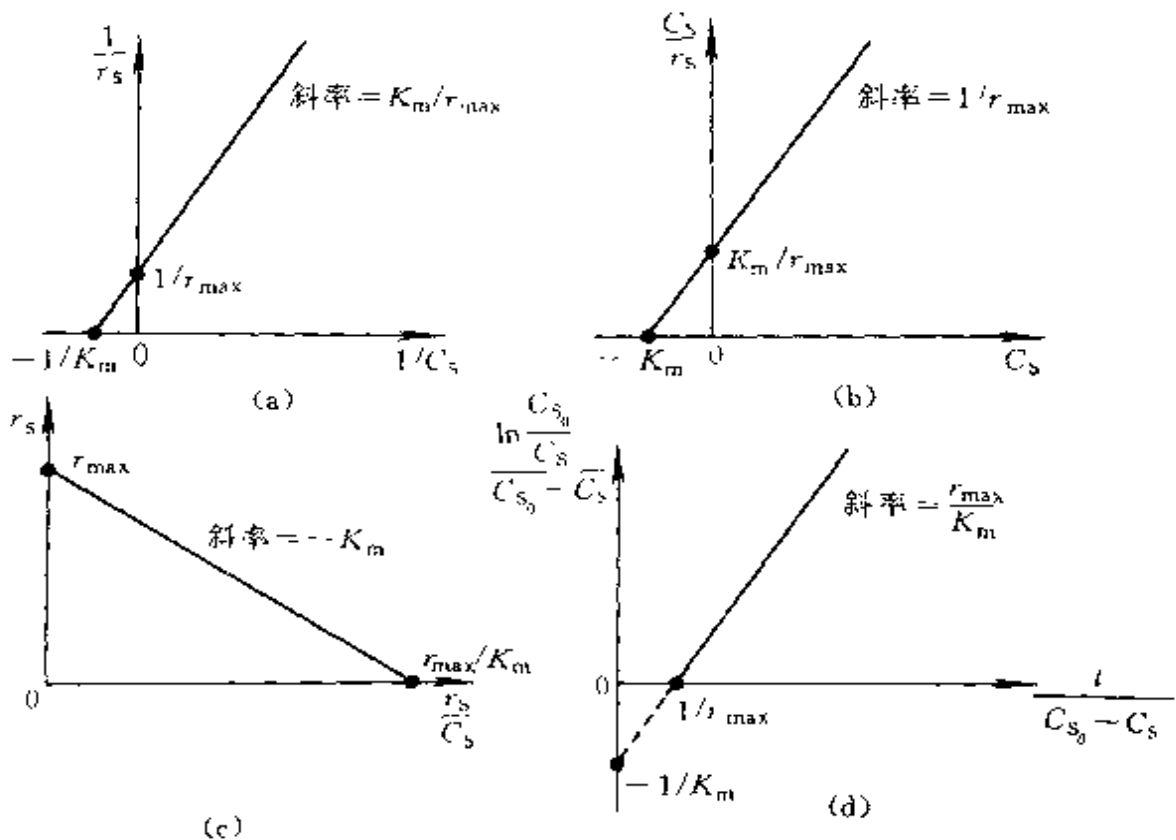


图 2-2 应用直线作图法求取动力学参数

(a) L-B 法; (b) H-W 法; (c) E-H 法; (d) 积分法

微分作图法求取反应速率会带来较大的误差。

(4) 积分法。将动力学实验中测得的时间与浓度数据直接代入 M-M 方程的积分形式 (2-34)，经整理得到

$$\frac{\ln \frac{C_{S_0}}{C_S}}{C_{S_0} - C_S} = \frac{r_{\max}}{K_m} \frac{t}{C_{S_0} - C_S} - \frac{1}{K_m} \quad (2-40)$$

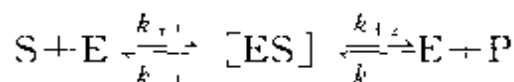
$\frac{\ln \frac{C_{S_0}}{C_S}}{C_{S_0} - C_S}$ 与 $\frac{t}{C_{S_0} - C_S}$ 对应作图，得到图 2-2 (d)，据此图亦可求取动

力学参数值。积分法的主要问题，是要保证随着反应的进行，反应产物的增加对反应速率不产生影响，否则不符合 M-M 方程成立的前提条件。

随着数学与计算技术的发展，现在可用非线性最小二乘法来回归

处理实验数据，直接求取动力学参数。

【例 2.1】 葡萄糖在葡萄糖异构酶存在时转化为果糖的反应机理式为：



试分别采用：(1) M-M 方程；(2) B-H 方程的推导方法，求其速率方程式。并对按 B-H 方程推导结果进行简化处理。

解 (1) M-M 方程推导方法。

$$r_P = \frac{dC_P}{dt} = k_{+2}C_{[ES]} - k_{-2}C_EC_P$$

因为

$$C_E = C_{E_0} - C_{[ES]}$$

所以

$$\begin{aligned} r_P &= k_{+2}C_{[ES]} - k_{-2}C_P(C_{E_0} - C_{[ES]}) \\ &= (k_{+2} + k_{-2}C_P)C_{[ES]} - k_{-2}C_PC_{E_0} \end{aligned}$$

根据平衡假设：

$$C_{[ES]} = \frac{k_{+1}}{k_{-1}}C_EC_S = \frac{k_{+1}}{k_{-1}}C_S(C_{E_0} - C_{[ES]})$$

$$C_{[ES]} = \frac{C_S C_{F_0}}{\frac{k_{-1}}{k_{+1}} + C_S}$$

$$r_P = \frac{k_{+2}C_{E_0} \left\{ C_S - \frac{k_{-1}k_{-2}}{k_{+1}k_{+2}}C_P \right\}}{\frac{k_{-1}}{k_{+2}} + C_S}$$

(2) B-H 方程推导方法

$$\frac{dC_{[ES]}}{dt} = k_{-1}C_EC_S + k_{-2}C_EC_P - k_{+1}C_{[ES]} - k_{+2}C_{[ES]} = 0$$

根据

$$C_E = C_{E_0} - C_{[ES]}$$

代入上式，得到：

$$C_{[ES]} = \frac{C_{F_0}(k_{-1}C_S + k_{-2}C_P)}{(k_{-1} + k_{+2}) + k_{+1}C_S + k_{-2}C_P}$$

$$r_P = \frac{k_{+2}C_{E_0} \left\{ C_S - \frac{k_{-1}k_{-2}}{k_{+1}k_{+2}}C_P \right\}}{\frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} + C_S + \frac{k_{-2}}{k_{+1}}C_P}$$

因为存在有:

$$k_{11} \text{ 和 } k_{-1} \gg k_{12} \text{ 和 } k_{-2}$$

所以

$$\frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{-1}} \approx \frac{k_{-1}}{k_{-1}}$$

$$\frac{k_{-2}}{k_{+1}} \approx 0$$

因此按 B-H 法求得的速率方程可简化为:

$$r_p = - \frac{k_{+2} C_{E_0} \left[C_S - \frac{k_{-1}}{k_{-1} + k_{+2}} C_P \right]}{\frac{k_{-1}}{k_{+2}} + C_S}$$

【例 2.2】 有一均相酶催化反应, K_m 值为 $2 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$, 当底物的初始浓度 C_{S_0} 为 $1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 时, 若反应进行 1min, 则有 2% 的底物转化为产物。试求出: (1) 当反应进行 3min, 底物转化为产物的百分数是多少? 此时底物和产物的浓度分别是多少? (2) 当 C_{S_0} 为 $1 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 时, 也反应了 3min, 底物和产物的浓度又是多少? (3) 最大反应速率 r_{\max} 值为多少?

解 (1) 根据题意, $C_{S_0} < 0.01 K_m$, 此时一般认为可按一级反应处理。其动力学方程可表示为

$$\ln \frac{C_{S_0}}{C_S} = \frac{r_{\max}}{K_m} t = K t \quad (\text{A})$$

因为 已知 $t = 1 \text{ min}$ 时, $X_S = 0.02$

所以 $C_S = C_{S_0} (1 - X_S) = 1 \times 10^{-5} (1 - 0.02) = 0.97 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$

将已知数据代入式 (A) 中, 求得

$$K = 0.0202 \text{ min}^{-1}$$

当 $t = 3 \text{ min}$ 时, 可以求得

$$C_S = 0.94 \times 10^{-5} \text{ mol/L}, X_S = 6\%, C_P = 6 \times 10^{-7} \text{ mol/L}$$

(2) 当 $C_{S_0} = 1 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$ 时, 仍可视为一级反应, 所以当 $t = 3 \text{ min}$ 时, 同样可求得

$$X_S = 6\%, C_S = 0.94 \times 10^{-6} \text{ mol/L}, C_P = 6 \times 10^{-8} \text{ mol/L}$$

(3) 根据 $K = \frac{r_{\max}}{K_m} = 0.0202 \text{min}^{-1}$

得 $r_{\max} = K K_m = 4.04 \times 10^{-5} \text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$

【例 2.3】 室温下蔗糖在蔗糖酶的催化作用下水解得到产物。蔗糖的初始浓度 $C_{s_0} = 1.0 \text{mmol}/\text{L}$ ，酶的初始浓度 $C_{E_0} = 0.01 \text{mmol}/\text{L}$ 。现在一间歇式操作的实验反应器测得了不同时间下蔗糖的浓度（见表 2A 中前两行的数据），根据实验提供的数据确定：（1）该反应速率能否用 M-M 方程描述？（2）如可以，试求动力学参数 K_m 和 k_{+2} 的值。

表 2A 时间与蔗糖浓度的关系

t/h	$C_s/(\text{mmol}/\text{L})$	$\frac{\ln C_{s_0}/C_s}{C_{s_0}-C_s}/(\text{mmol}/\text{L})^{-1}$	$\frac{t}{C_{s_0}-C_s}/[\text{h}/(\text{mmol}/\text{L})]$
1	0.84	1.090	6.250
2	0.68	1.205	6.250
3	0.53	1.351	6.383
4	0.38	1.561	6.452
5	0.27	1.794	6.849
6	0.16	2.182	7.143
7	0.09	2.646	7.692
8	0.04	3.353	8.333
9	0.018	4.091	9.165
10	0.006	5.147	10.060
11	0.005	6.006	11.028

解 （1）根据实验提供的数据，以 $\frac{\ln \frac{C_{s_0}}{C_s}}{C_{s_0}-C_s}$ 对 $\frac{t}{C_{s_0}-C_s}$ 对应作图，结果为一一直线（图 2A），这证明了该反应速率符合 M-M 方程。

（2）通过该直线的斜率和截距求出

$$K_m = 0.197 \text{mmol}/\text{L}$$

又因为 $\frac{r_{\max}}{K_m} = \frac{k_{+2} C_{E_0}}{K_m} = 1.0$ ，故 $k_{+2} = 19.7 \text{h}^{-1}$ 。

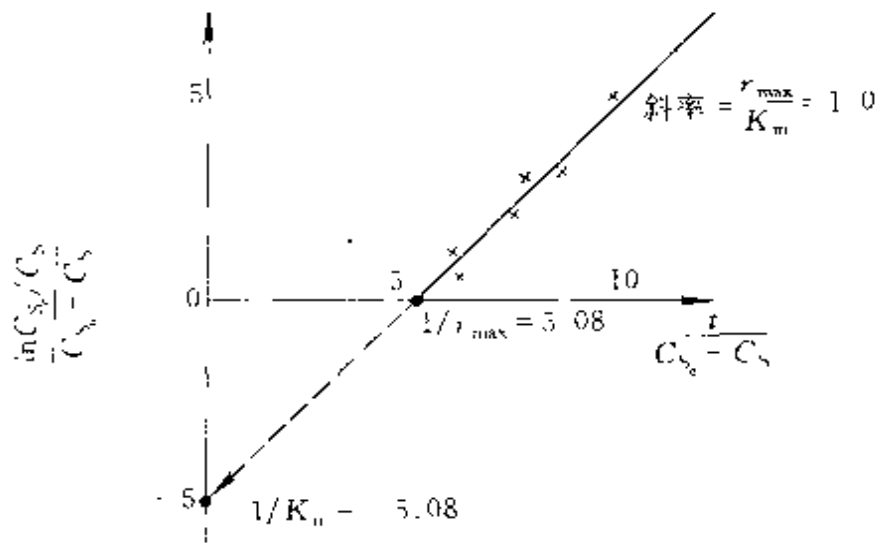


图 2A 积分法求取动力学参数

2.3 有抑制的酶催化反应动力学

前一节中讨论的简单酶催化反应动力学有一个显著的特点，即反应速率与底物浓度的关系是一种单调增加的函数关系。而实际上有些酶的催化反应，由于底物浓度过高，其反应速率反而会下降，此种效应称之为底物的抑制作用。更为重要的是，在酶催化反应中，由于某些外源化合物的存在而使反应速率下降，这种物质称为抑制剂。

抑制作用分为可逆抑制与不可逆抑制两大类。如果某种抑制可用诸如透析等物理方法把抑制剂去掉而恢复酶的活性，则此类抑制称为可逆抑制，此时酶与抑制剂的结合存在着解离平衡的关系。如果抑制剂与酶的基团成共价结合，则此时不能用物理方法去掉抑制剂。此类抑制可使酶永久性地失活。例如重金属离子 Hg^{2+} 、 Pb^{2+} 等对木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶的抑制都是不可逆抑制。有关不可逆抑制将在 2.6 中讨论，本节重点讨论可逆抑制及底物抑制和产物抑制的动力学。

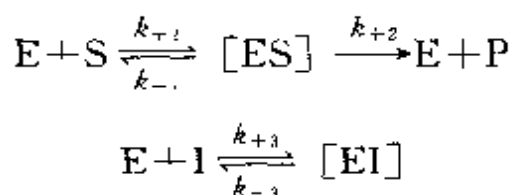
根据产生抑制的机理不同，可逆抑制又分为竞争性抑制、非竞争性抑制、反竞争性抑制和混合型抑制。

2.3.1 竞争性抑制动力学

若在反应体系中存在有与底物结构相类似的物质，该物质也能在

酶的活性部位上结合，从而阻碍了酶与底物的结合，使酶催化底物的反应速率下降。这种抑制称为竞争性抑制，该物质称为竞争性抑制剂。其主要特点是，抑制剂与底物竞争酶的活性部位，当抑制剂与酶的活性部位结合之后，底物就不能再与酶结合，反之亦然。在琥珀酸脱氢酶催化琥珀酸为延胡索酸时，丙二酸是其竞争性抑制剂。

竞争性抑制的机理式为



式中 I——抑制剂；

[EI]——非活性复合物。

上述反应中底物的反应速率方程应为

$$r_{SI} = k_{+2} C_{[ES]} \quad (2-41)$$

根据稳态假设，可列出下述方程：

$$\frac{dC_{[ES]}}{dt} = k_{+1} C_E C_S - (k_{-1} + k_{+2}) C_{[ES]} = 0 \quad (2-42)$$

$$\frac{dC_{[EI]}}{dt} = k_{+3} C_E C_I - k_{-3} C_{[EI]} = 0 \quad (2-43)$$

$$\text{又} \quad C_{E_0} = C_E + C_{[ES]} + C_{[EI]} \quad (2-44)$$

式中 C_I ——抑制剂浓度；

$C_{[EI]}$ ——非活性复合物浓度。

该式经整理可得下式：

$$r_{SI} = \frac{r_{\max} C_S}{K_m \left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right) + C_S} = \frac{r_{\max} C_S}{K_{mi} + C_S} \quad (2-45)$$

式中 r_{SI} ——有抑制时的反应速率，mol/(L·s)；

K_{mi} ——有竞争性抑制时的米氏常数，mol/L；

K_I ——抑制剂的解离常数，mol/L。

从式(2-45)可以看出，竞争性抑制动力学的主要特点是米氏常数值的变化。当 C_I 增加，或 K_I 减小，都将使 K_{mi} 值增大，使酶与底物的

结合能力下降, 活性复合物减少, 因而使底物反应速率下降。

无抑制与竞争性抑制的反应速率与底物浓度的关系曲线如图 2-3 所示。

对式 (2-45) 取其倒数, 得到

$$\frac{1}{r_{SI}} = \frac{1}{r_{\max}} + \frac{K_m}{r_{\max}} \left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right) \frac{1}{C_S} \quad (2-46)$$

或

$$\frac{1}{r_{SI}} = \frac{1}{r_{\max}} + \frac{K_{mI}}{r_{\max}} \frac{1}{C_S} \quad (2-47)$$

以 $\frac{1}{r_{SI}}$ 对 $\frac{1}{C_S}$ 作图, 如图 2-4 所示。该直线斜率为 K_{mI}/r_{\max} , 纵轴交点为 $1/r_{\max}$, 横轴交点为 $-1/K_{mI}$ 。

又

$$K_{mI} = K_m \left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right) = K_m + \frac{K_m}{K_I} C_I \quad (2-48)$$

以 K_{mI} 对 C_I 作图, 可得图 2-5, 并据此图求出 K_m 和 K_I 值。

抑制剂的解离常数 K_I 可表示为

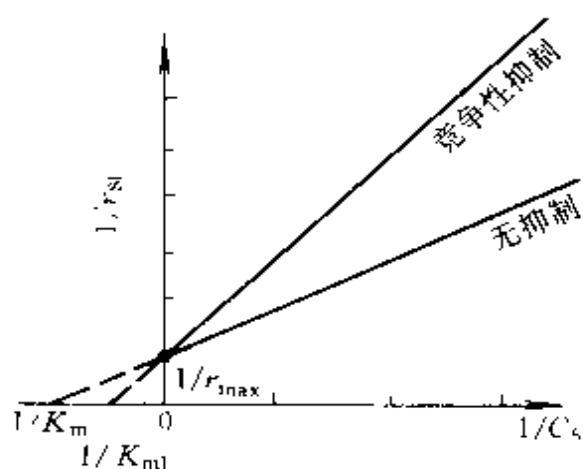


图 2-4 竞争性抑制的 L-B 图

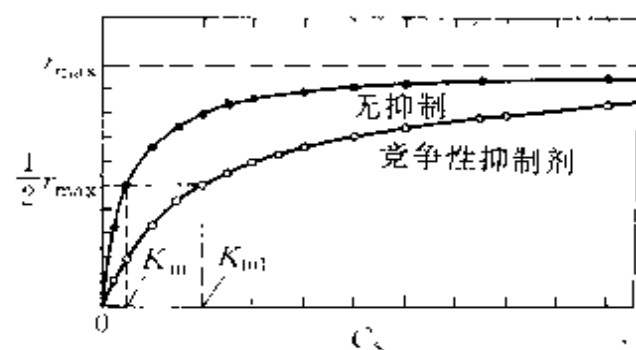


图 2-3 竞争性抑制的 r_S-C_S 关系图

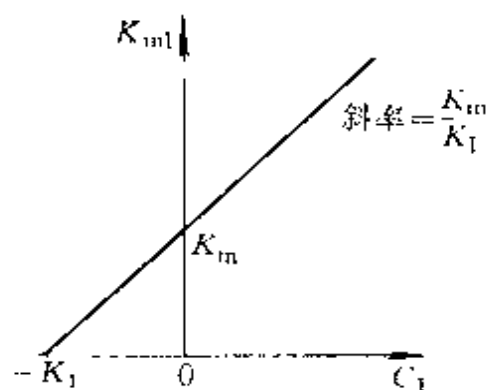


图 2-5 竞争性抑制的 K_{mI} 与 C_I 关系图

$$K_i = \frac{k_{-1}}{k_{13}} \quad (2-49)$$

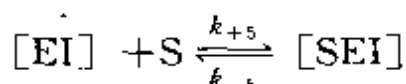
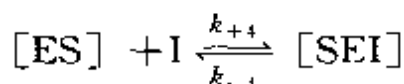
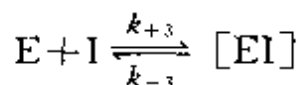
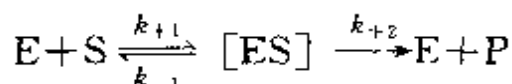
由此可以看出, K_i 愈小, 表明抑制剂与酶的结合力愈强, 对酶的催化反应能力的抑制作用就越强。

当酶的活性部位与一个抑制剂分子相结合时, K_{mi} 与 C_i 的关系为一直线可称为线性竞争抑制; 如果酶的活性部位与两个以上的抑制剂分子相结合, 则 K_{mi} 与 C_i 的关系为一抛物线, 可称为抛物线型的竞争抑制。

2.3.2 非竞争性抑制动力学

若抑制剂可以在酶的活性部位以外与酶相结合, 并且这种结合与底物的结合没有竞争关系, 这种抑制称为非竞争性抑制。此时抑制剂既可与游离的酶相结合, 也可以与复合物 $[ES]$ 相结合, 生成了底物-酶-抑制剂的复合物 $[SEI]$ 。绝大多数的情况是复合物 $[SEI]$ 为一无催化活性的端点复合物, 不能分解为产物, 即使增大底物的浓度也不能解除抑制剂的影响。还有一种是三元复合物 $[SEI]$ 也能分解为产物, 但对酶的催化反应速率仍然产生了抑制作用。核苷对霉菌酸性磷酸酯酶的抑制属于非竞争性抑制。

非竞争性抑制的普遍机理式可表示为



对上述机理同样存在下述关系:

$$C_{E_0} = C_E + C_{[ES]} + C_{[EI]} + C_{[SEI]} \quad (2-50)$$

式中 $C_{[SEI]}$ —— 底物-酶-抑制剂三元复合物浓度。

$$\frac{dC_{[ES]}}{dt} = \frac{dC_{[EI]}}{dt} = \frac{dC_{[SEI]}}{dt} = 0 \quad (2-51)$$

$$r_{SI} = k_{+2} C_{[ES]} = \frac{r_{\max} C_S}{\left(1 + \frac{C_I}{K_I}\right) (K_m + C_S)} = \frac{r_{1,\max} C_S}{K_m + C_S} \quad (2-52)$$

式中 $r_{1,\max}$ 存在非竞争性抑制时的最大反应速率。

这表明, 对非竞争性抑制, 由于抑制剂的作用使最大反应速率降低了 $\left(1 + \frac{C_I}{K_I}\right)$ 倍, 并且 C_I 增加、 K_I 减小都使其抑制程度增加。此时 r_{SI} 对 C_S 的关系如图 2-6 所示。

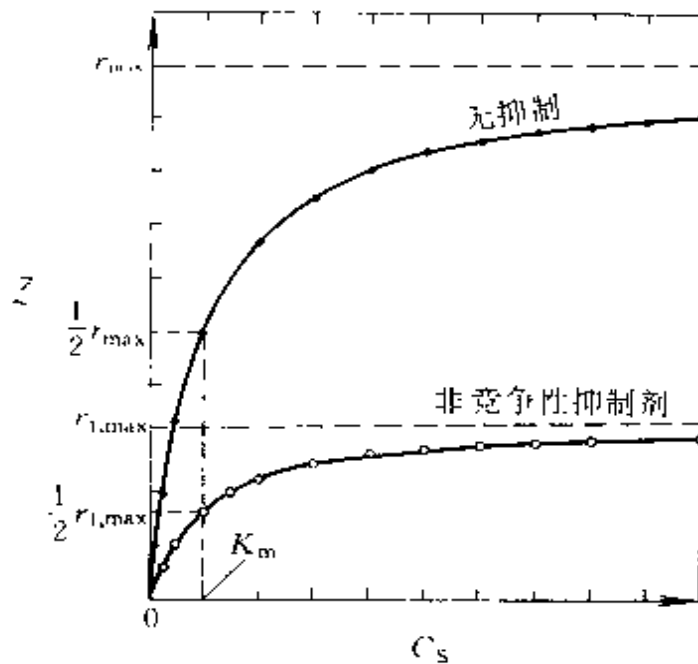


图 2-6 非竞争性抑制的 r_{SI} 与 C_S 关系图

根据 L-B 作图法, 式 (2-52) 可整理成

$$\frac{1}{r_{SI}} = \frac{\left(1 + \frac{C_I}{K_I}\right)}{r_{\max}} + \frac{\left(1 + \frac{C_I}{K_I}\right) K_m}{r_{\max}} \frac{1}{C_S} \quad (2-53)$$

或

$$\frac{1}{r_{SI}} = \frac{1}{r_{1,\max}} + \frac{K_m}{r_{1,\max}} \frac{1}{C_S} \quad (2-54)$$

以 $\frac{1}{r_{SI}}$ 与 $\frac{1}{C_S}$ 作图, 可得如图 2-7 所示的直线关系。并求出 K_m 和 $r_{1,\max}$ 值。又根据

$$\frac{1}{r_{1,\max}} = \frac{1 + \frac{C_1}{K_I}}{r_{\max}} = \frac{1}{r_{\max}} + \frac{1}{r_{\max}K_I}C_1 \quad (2-55)$$

通过实验测得不同 C_1 下的 $r_{1,\max}$ 值，进而决定 K_I 值。

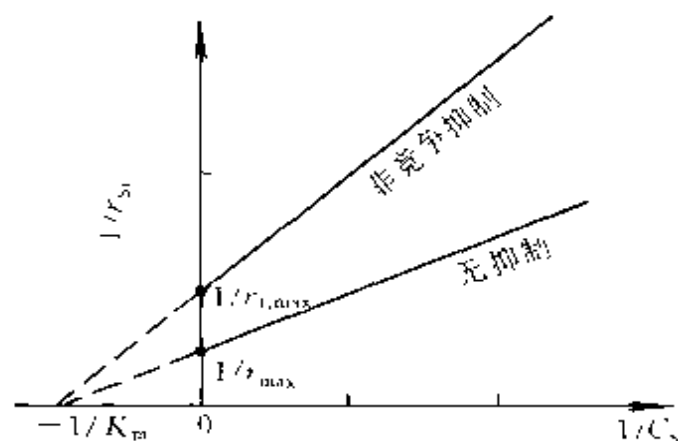


图 2-7 非竞争性抑制的 L-B 图

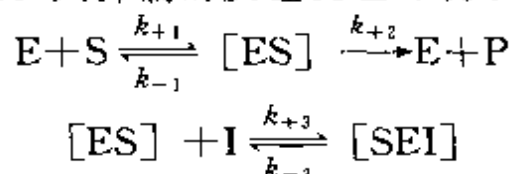
如果三元复合物 $[SEI]$ 也能分解为产物，则在机理式中增加了一步： $[SEI] \xrightarrow{k_{+6}} [E] + P$ ，同样可整理成形式上与式 (2-52) 类似的速率方程式，所不同的仅是 $r_{1,\max}$ 所包含的参数上。如何判断复合物 $[SEI]$ 是否分解为产物，可通过改变抑制剂用量并测定底物的反应速率来判断。

当 C_1 增加到某一程度， r_{SI} 减小直至趋于零，则为 $[SEI]$ 不能分解为产物；如果随着 C_1 的增加， r_{SI} 趋近一一定值，则为 $[SEI]$ 能分解为产物。

非竞争性抑制与竞争性抑制的主要不同点是：对竞争性抑制，随着底物浓度的增大，抑制剂的影响可减弱；而对非竞争性抑制，即使增大底物浓度也不能减弱抑制剂的影响。从这个意义上讲，竞争性抑制作用是可逆的，非竞争性抑制作用是不可逆的。

2.3.3 反竞争性抑制动力学

反竞争性抑制的特点是抑制剂不能直接与游离酶相结合，而只能与复合物 $[ES]$ 相结合生成 $[SEI]$ 复合物。如胍对芳香基硫酸酯酶的抑制作用就属于此类。其抑制的反应机理可表示为下式：



根据拟稳态假设和物料平衡，经整理后可得到其速率方程为

$$r_{SI} = \frac{r_{\max}C_S}{K_m + C_S \left(1 + \frac{C_1}{K_I} \right)} \quad (2-56)$$

或
$$r_{SI} = \frac{r_{1,\max} C_S}{K'_{mI} + C_S} \quad (2-57)$$

$$r_{i,\max} = r_{\max} / \left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right) \quad (2-58)$$

$$K'_{mI} = K_m / \left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right) \quad (2-59)$$

根据上述各定义式，可以推出

$$\frac{r_{1,\max}}{K'_{mI}} = \frac{r_{\max}}{K_m} \quad (2-60)$$

以 r_{SI} 对 C_S 作图，得到如图 2-8 所示曲线。

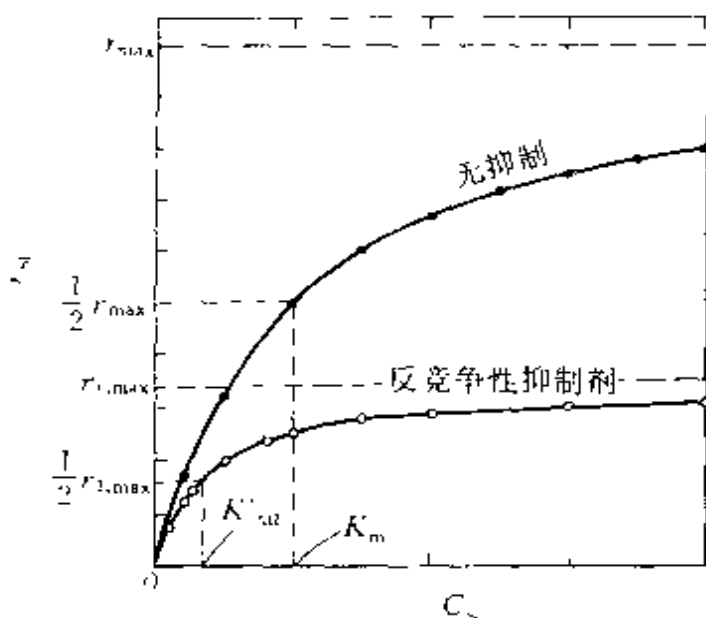


图 2-8 反竞争性抑制的 r_{SI} 与 C_S 关系图

根据 L-B 作图法，式 (2-56) 可改写为

$$\frac{1}{r_{SI}} = \frac{K_m}{r_{\max}} \frac{1}{C_S} + \frac{1}{r_{\max}} \left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right) \quad (2-61)$$

以 $1/r_{SI}$ 对 $1/C_S$ 作图，得到图 2-9。

利用该图求取动力学参数。

2.3.4 线性混合型抑制动力学

线性混合型的最简单机制可用下

式表示：

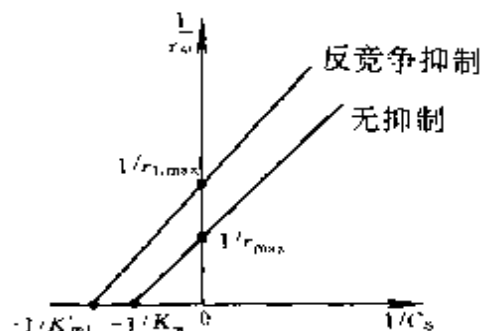
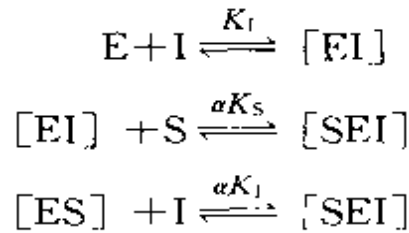


图 2-9 反竞争性抑制的 L-B 图



从上式来看，它基本上与非竞争性抑制的模型相同，所不同的是，当 $[EI]$ 与 S 相结合成 $[SEI]$ 时，由于抑制剂的存在影响了 $[EI]$ 与 S 的结合，因而其解离常数由 K_S 变为 αK_S ，同样 $[ES]$ 与 I 结合时，其解离常数由 K_I 变为 αK_I 。

$$\text{在上述机理中, } K_S = \frac{k_{-1}}{k_{+1}}, \quad K_I = \frac{k_{-3}}{k_{+3}} \quad (2-62)$$

根据上述机理式，可推出其速率方程为

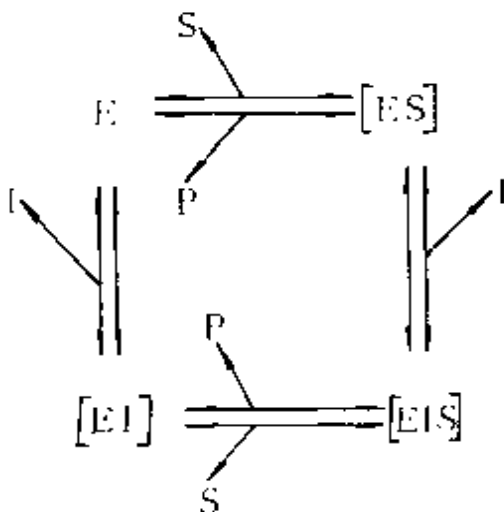
$$r_{SI} = \frac{r_{1,\max} C_S}{K_{mI} + C_S} \quad (2-63)$$

对此种抑制，

$$r_{1,\max} = \frac{r_{\max}}{\left(1 + \frac{C_I}{\alpha K_I}\right)} \quad (2-64)$$

$$K_{mI} = K_m \frac{\left(1 + \frac{C_I}{K_I}\right)}{\left(1 + \frac{C_I}{\alpha K_I}\right)} \quad (2-65)$$

式中 α —— K_S 和 K_I 的修正系数，当 $\alpha=1$ ， $K_I = \alpha K_I$ 时，上述抑制实为非竞争性抑制。



前面已讨论了竞争性抑制、非竞争性抑制、反竞争性抑制及混合型抑制的动力学方程，虽然各具特点，但可用一普遍化的机制和公式来表示。

普遍化的机制可表示为左图。

若无 $[EIS]$ 存在，则为竞争性抑制；若 E 和 $[EI]$ 与 S 有同等的结合力，且 $[EIS]$ 无反应活性，则为非竞争性抑制；若无 $[EI]$ 存在，且 $[EIS]$ 无反应活性，

则为反竞争性抑制。

普遍化的公式可表示为：

$$r_{SI} = \frac{r_{\max} C_S}{K_m \left(1 + \frac{C_I}{K_{IS}} \right) + C_S \left(1 + \frac{C_I}{K_{SI}} \right)} \quad (2-66)$$

式中 K_{IS} 、 K_{SI} 分别为 $[EI]$ 与 S 和 $[ES]$ 与 I 相结合形成 $[SEI]$ 的解离常数。

当 $K_{IS} = K_{SI}$ 时，为非竞争性抑制；当 $K_{SI} \rightarrow \infty$ 时为竞争性抑制，当 $K_{IS} \rightarrow \infty$ 时为反竞争性抑制，当 $K_{IS} \neq K_{SI}$ 且均为常数值时，称为混合抑制。

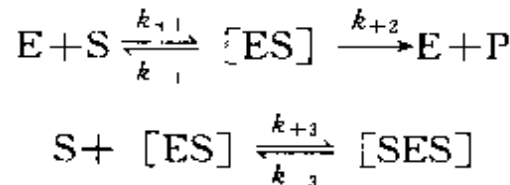
表 2-4 列出了某些酶抑制剂的解离常数。

表 2-4 某些酶抑制剂的解离常数值

酶	底物	抑制剂	解离常数 K_I mmol/L
醇脱氢酶	乙醇	乙醛	0.67
β -淀粉酶	淀粉	环己淀粉	0.2
天冬氨酸酶	L-天冬氨酸	羟胺	30.0
富马酸酶	富马酸盐	内二酸盐	10.0
葡糖异构酶	D-葡萄糖	木糖醇	4.5
乳酸脱氢酶	乳酸盐	丙酮酸盐	0.18

2.3.5 底物的抑制动力学

有些酶催化反应，在底物浓度增加时，反应速率反而会下降，这种由底物浓度增大而引起反应速率下降的作用称为底物抑制作用。此时的反应机理式为



式中 $[SES]$ 不具有催化反应活性，不能分解为产物的三元复合物。

应用稳态法处理，可得到底物抑制的酶催化反应动力学方程为

$$r_{SS} = \frac{r_{\max} C_S}{K_m + C_S + \frac{C_S^2}{K_{SI}}} \quad (2-67)$$

或
$$r_{SS} = \frac{r_{\max} C_S}{1 + \frac{K_m}{C_S} + \frac{C_S}{K_{SI}}} \quad (2-68)$$

式中 r_{SS} ——底物抑制的反应速率, mol/(L·s);
 K_{SI} ——底物抑制的解离常数, mol/L。

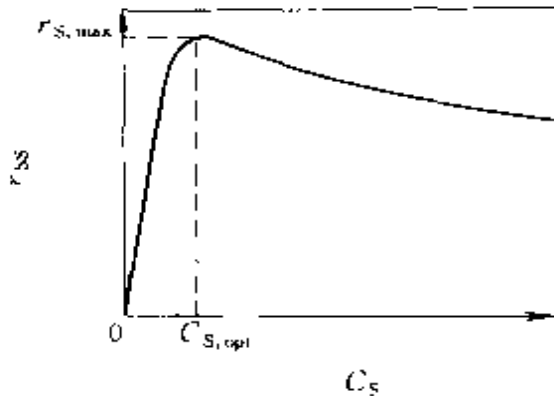


图 2-10 底物抑制的 r_{SS} 与 C_S 关系图

当底物抑制时, r_{SS} 与 C_S 的关系表示在图 2-10 中。

根据图 2-10, 速率曲线有一最大值, 即 $r_{S,max}$ 为最大底物消耗速率。相对应的底物浓度值 $C_{S,opt}$ 可通过下式求出:

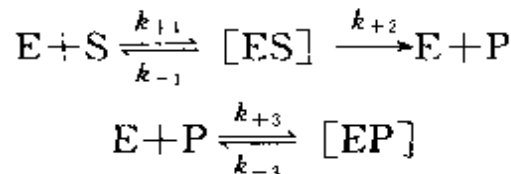
$$\left. \frac{dr_{S,max}}{dC_S} \right|_{C_{S,opt}} = 0 \quad (2-69)$$

$$C_{S,opt} = \sqrt{K_m K_{SI}} \quad (2-70)$$

式中 $C_{S,opt}$ ——为最佳底物浓度。

2.3.6 产物的抑制动力学

产物抑制系指当产物与酶形成复合物 [EP] 后, 就停止继续进行反应的情况, 特别是当产物浓度较高时有可能出现这种抑制。其反应机理如下:



所生成 [EP] 为无活性的端点复合物。

应用稳态法推导得出如下反应速率方程式:

$$r_S = \frac{r_{\max} C_S}{K_m \left(1 + \frac{C_P}{K_P} \right) + C_S} \quad (2-71)$$

式中 $K_P = \frac{k_{-3}}{k_{+3}}$, 称为产物抑制解离常数。

与无抑制相比较, 最大反应速率 r_{\max} 值不变, 米氏常数增大了

$\left(1 + \frac{C_P}{K_P}\right)$ 倍，同竞争抑制一样，使反应速率下降。

2.3.7 各种抑制的比较

这里主要对竞争性抑制、非竞争性抑制和反竞争性抑制等三种有代表性的抑制动力学特点进行比较。

表 2-5 列出了上述三种抑制时的动力学参数的表示。

表 2-5 有抑制时酶催化反应的动力学参数

抑制形式	最大速率	米氏常数
竞争性抑制	r_{\max}	$K_m \left(1 + \frac{C_I}{K_I}\right)$
非竞争性抑制	$r_{\max} / \left(1 + \frac{C_I}{K_I}\right)$	K_m
反竞争性抑制	$r_{\max} / \left(1 + \frac{C_I}{K_I}\right)$	$K_m / \left(1 + \frac{C_I}{K_I}\right)$

若以 L-B 作图法进行比较，可参看图 2-4、图 2-7、图 2-9。从图中可以看出，若以无抑制 ($C_I=0$) 的 L-B 直线为参照，当为竞争性抑制时，其 L-B 直线与纵轴交点和无抑制的交点相同，而与横轴交点则为 $-1/K_{m1}$ ；当为非竞争性抑制时，其 L-B 直线与横轴交点和无抑制的交点相同，而与纵轴交点则为 $1/r_{1,\max}$ ；当为反竞争性抑制时，其 L-B 直线和无抑制的 L-B 直线相平行。

若用 E-H 作图法将无抑制与上述三种抑制表示在同一图上，则如图 2-11 所示。

根据 E-H 作图法的公式，可求得在有抑制时，其式应表示为

$$r_{SI} = r_{1,\max} - K_{m1} \frac{r_{SI}}{C_S} \quad (2-72)$$

以 r_{SI} 为纵坐标， r_{SI}/C_S 为横坐标，得到了不同抑制时的直线与纵、横轴的交点与斜率，分别表述如下。

无抑制时，直线斜率为 $-K_m$ ，与纵轴交点为 r_{\max} ，与横轴交点为 r_{\max}/K_m 。

竞争性抑制，直线斜率为 $-K_m \left(1 + \frac{C_I}{K_I}\right)$ ，与纵轴交点为 r_{\max} ，与横

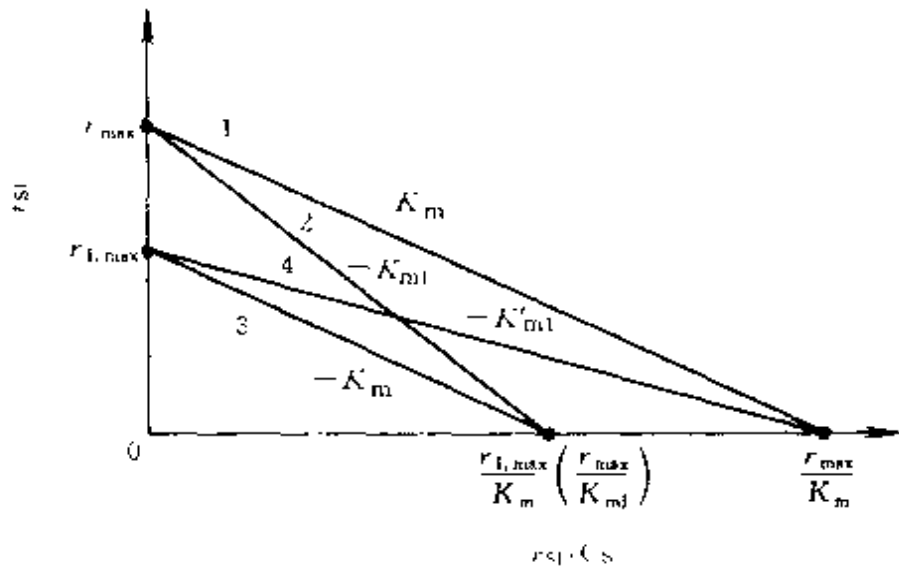


图 2-11 无抑制与三种抑制的 E H 图

1 无抑制；2 竞争性抑制；3 非竞争性抑制；4 反竞争性抑制

轴交点为 $r_{max}/K_m \left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right)$ 。

非竞争性抑制，直线斜率为 $-K_m$ ，与纵轴交点为 $r_{max}/\left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right)$ ，与横轴交点为 $r_{max}/K_m \left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right)$ 。

反竞争性抑制，直线斜率 $-K_m/\left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right)$ ，与纵轴交点为 $r_{max}/\left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right)$ ，与横轴交点为 r_{max}/K_m 。

上述各点均表示在图 2-11 中。

为了表示抑制剂对酶催化反应的抑制程度，可定义一抑制百分数 i 来表示。其定义式为

$$i = \frac{r_s - r_{SI}}{r_s} = 1 - \frac{r_{SI}}{r_s} \quad (2-73)$$

式中 r_s ——无抑制时酶反应速率， $\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{s})$ ；

r_{SI} ——有抑制时酶反应速率， $\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{s})$ ；

i ——抑制百分数。

根据式 (2-73) 可看出， i 值愈大，表示抑制的程度愈大； i 值愈小，抑制程度愈小。显然存在 $0 \leq i \leq 1$ 。

对竞争性抑制：

$$i = 1 - \frac{r_{SI}}{r_S} = 1 - \frac{r_{\max} C_S}{K_{m1} + C_S} \bigg/ \frac{r_{\max} C_S}{K_m + C_S} = \frac{C_I}{K_I \left(1 + \frac{C_S}{K_m} \right) + C_I} \quad (2-74)$$

根据此式可看出，当 C_S 增加，抑制百分数减小，即抑制程度下降。对非竞争性抑制，可推出

$$i = \frac{C_I}{K_I + C_I} \quad (2-75)$$

这表示对非竞争性抑制，抑制程度与 C_S 的大小无关。

对反竞争性抑制，可以求出

$$i = \frac{C_I}{K_I \left(1 + \frac{K_m}{C_S} \right) + C_I} \quad (2-76)$$

这表示当 C_S 增加，抑制程度 i 反而增加。可通过上述方法来判断抑制的类型。

【例 2.4】 在含有相同酶浓度的五个反应物系中，分别加入不同浓度的底物，并测定其初始速率，然后再在同样五个反应物系中分别加入浓度为 2.2×10^{-4} mmol/L 的抑制剂，并测其初始的反应速率，其数据见下表。

底物初始浓度 C_{S_0} mmol/L	无抑制时速率 r_{S_0} mmol/(L · min)	有抑制时速率 r_{SI} mmol/(L · min)
0.10	28	18
0.15	36	24
0.20	43	30
0.50	63	51
0.70	74	63

试根据上述数据决定其抑制类型及动力学参数值。

解 以 L-B 作图法来判断抑制类型并求其参数。假定在有抑制剂存在时，其抑制机理为竞争性抑制，据此可利用式 (2-47) 和式 (2-48) 来判断抑制类型和求其动力学参数。将上述实验数据分别取其倒数，以 $1/r_{SI}$ 对 $1/C_S$ 作图，得到如图 2B 所示两条直线，它们在纵轴上有一共同交点，这表明该抑制为竞争性抑制。

根据图 2B, 可得 $r_{\max} = 100 \text{mmol}/(\text{L} \cdot \text{min})$, $K_m = 0.24 \text{mmol}/\text{L}$,
 $K_{mI} = K_m \left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right) = 0.44 \text{mmol}/\text{L}$, 并得到 $K_I = 0.27 \text{mmol}/\text{L}$ 。

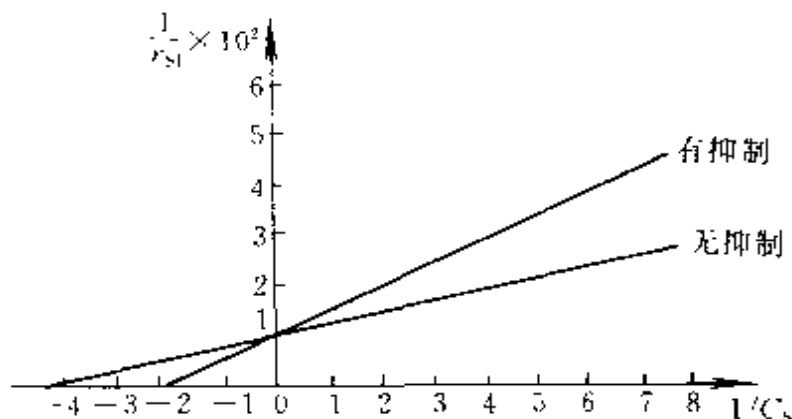


图 2B L-B 法作图求动力学参数值

【例 2.5】 某酶的 K_m 值为 $4.7 \times 10^{-5} \text{mol}/\text{L}$, 如果 r_{\max} 值为 $2.2 \times 10^{-5} \text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$, 在底物浓度为 $2 \times 10^{-4} \text{mol}/\text{L}$ 和在 (1) 竞争性抑制剂与 (2) 非竞争性抑制剂的浓度均为 $5 \times 10^{-4} \text{mol}/\text{L}$ 情况下, 其反应速率分别为多大? 假定在上述情况下 K_I 值均为 $3 \times 10^{-4} \text{mol}/\text{L}$, 则在上述两种抑制情况下的抑制程度各有多大?

解 (1) 对竞争性抑制, 根据式 (2-45), 可列出下式:

$$r_{SI} = \frac{r_{\max} C_S}{K_m \left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right) + C_S} = \frac{2.2 \times 10^{-5} \times 2 \times 10^{-4}}{4.7 \times 10^{-5} \left(1 + \frac{5 \times 10^{-4}}{3 \times 10^{-4}} \right) + 2 \times 10^{-4}}$$

$$= 13.54 \times 10^{-6} \text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$$

(2) 对非竞争性抑制, 根据式 (2-52) 可列出下式:

$$r_{SI} = \frac{r_{\max} C_S}{\left(1 + \frac{C_I}{K_I} \right) (K_m + C_S)} = \frac{2.2 \times 10^{-5} \times 2 \times 10^{-4}}{\left(1 + \frac{5 \times 10^{-4}}{3 \times 10^{-4}} \right) (4.7 \times 10^{-5} + 2 \times 10^{-4})}$$

$$= 6.68 \times 10^{-6} \text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$$

(3) 求抑制程度

当无抑制剂存在时的反应速率

$$r_S = \frac{r_{\max} C_S}{K_m + C_S} = \frac{2.2 \times 10^{-5} \times 2 \times 10^{-4}}{4.7 \times 10^{-5} + 2 \times 10^{-4}} = 17.8 \times 10^{-6} \text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$$

所以上述两种抑制的抑制程度应分别为

$$\text{竞争性抑制} \quad i = 1 - \frac{r_{S_1}}{r_S} = 1 - \frac{13.54 \times 10^{-6}}{17.80 \times 10^{-6}} = 0.24$$

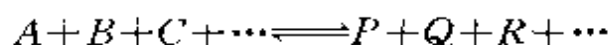
$$\text{非竞争性抑制} \quad i = 1 - \frac{6.68 \times 10^{-6}}{17.80 \times 10^{-6}} = 0.625$$

2.4 复杂的酶催化反应动力学

2.4.1 多底物酶反应动力学

前面讨论的都是指单底物的酶催化反应，而实际的酶催化反应是很复杂的。

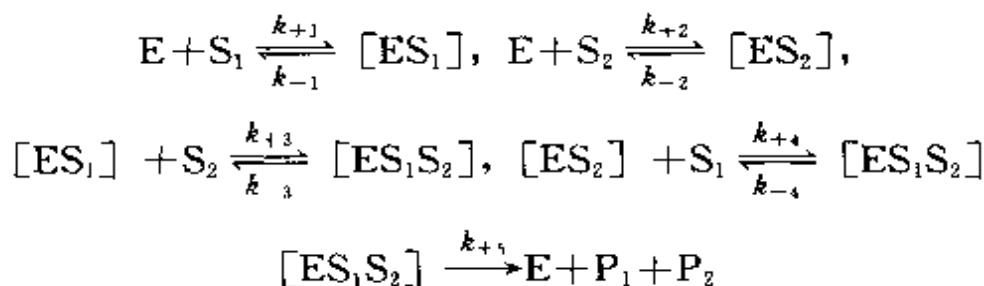
对于一般的酶催化反应可用下列通式表示



在这种情况下，动力学方程中包含 A 、 B 、 C 、 \dots 及 P 、 Q 、 R 、 \dots 的浓度项，因而非常复杂，动力学参数也很多。属于这类多底物的酶有氧化酶、转移酶、连接酶等。这里仅讨论双底物酶催化反应的动力学。

对双底物酶催化反应的机理，一般认为要让两个底物同时与酶活性部位相结合形成复合物似乎不太可能，而是认为双底物酶反应系统中复合物的形成有三种最简单的情况，即随机机制、顺序机制和乒乓机制。

(1) 随机机制。两个底物 S_1 和 S_2 随机地与酶结合，产物 P_1 和 P_2 也随机地释放出来。许多激酶类的催化机制属于此种。其机理可表示为



反应速率可表示为

$$r_S = k_{+5} C_{[ES_1S_2]} \quad (2-77)$$

当假定 C_{S_2} 恒定时，经推导可得

$$r_{S_1} = \frac{r_{S_2, \max} C_{S_1}}{K_{mS_2} + C_{S_1}} \quad (2-78)$$

$$r_{S_2, \max} = \frac{r_{\max}}{\left(1 + \frac{K_3}{C_{S_1}}\right)}, \quad K_{mS_2} = \frac{K_4 \left(1 + \frac{K_2}{C_{S_2}}\right)}{\left(1 + \frac{K_3}{C_{S_1}}\right)} \quad (2-79)$$

$$K_2 = \frac{k_{-2}}{k_{-1}}, \quad K_3 = \frac{k_{-3}}{k_{-4}}$$

当假定 C_{S_1} 恒定时，同样可推导得

$$r_{S_2} = \frac{r_{S_1, \max} C_{S_2}}{K_{mS_2} + C_{S_2}} \quad (2-80)$$

$$r_{S_1, \max} = \frac{r_{\max}}{\left(1 + \frac{K_4}{C_{S_1}}\right)}, \quad K_{mS_1} = \frac{K_4 \left(1 + \frac{K_1}{C_{S_1}}\right)}{\left(1 + \frac{K_4}{C_{S_1}}\right)} \quad (2-81)$$

$$K_1 = \frac{k_{-1}}{k_{+1}}, \quad K_4 = \frac{k_{-4}}{k_{+4}}$$

如果 C_{S_1} 和 C_{S_2} 均在变化，则可得一普遍的关系式

$$r_s = \frac{r_{\max}}{1 + \frac{K_4}{C_{S_1}} + \frac{K_3}{C_{S_2}} \left(1 + \frac{K_1}{C_{S_1}}\right)} \quad (2-82)$$

式中 C_{S_1} 和 C_{S_2} ——分别为底物 S_1 与 S_2 的浓度；

K_1 、 K_3 、 K_4 ——分别为相应各步的解离常数。

(2) 顺序机制。两个底物 S_1 和 S_2 与酶结合成复合物是有顺序的，酶先与底物 S_1 结合形成 $[ES_1]$ 复合物，然后该复合物 $[ES_1]$ 再与 S_2 结合形成具有催化活性的 $[ES_1S_2]$ 。按同样推导方法求出下述方程式：

$$r_s = \frac{r_{\max}}{1 + \frac{K_{mS_1}}{C_{S_1}} + \frac{K_{mS_2}}{C_{S_2}} + \frac{K_m K_{mS_1}}{C_{S_1} C_{S_2}}} \quad (2-83)$$

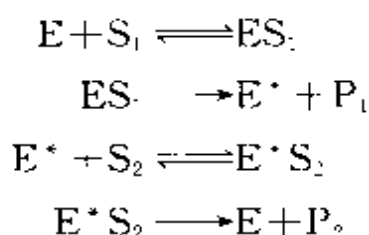
式中 K_m —— S_1 为单底物时的米氏常数，mol/L；

K_{mS_1} —— S_2 浓度饱和时， S_1 的米氏常数，mol/L；

K_{mS_2} —— S_1 浓度饱和时， S_2 的米氏常数，mol/L。

大部分脱氢酶属于顺序机制。

(3) 乒乓机制。最主要特点是底物 S_1 和 S_2 始终不同时与酶结合，其机理可表示如下：



式中 E^* —— 修改过的酶。

这种构型的修改有利于酶与 S_2 相结合，当生成第二个产物 P_2 以后，酶又从 E^* 恢复到 E 构型，以有利于与 S_1 相结合。推出其速率方程式为

$$r_s = \frac{r_{\max}}{1 + \frac{K_{mS_1}}{C_{S_1}} + \frac{K_{mS_2}}{C_{S_2}}} \quad (2-84)$$

式中各符号意义同式 (2-83)。

综合上述各种双底物酶催化反应动力学的形式，Dalziel 提出一普遍化公式为：

$$\frac{C_{E_0}}{r_{S_0}} = \theta_0 + \frac{\theta_1}{C_{S_1}} + \frac{\theta_2}{C_{S_2}} + \frac{\theta_{12}}{C_{S_1}C_{S_2}} \quad (2-85)$$

式中 r_{S_0} —— 反应的初始速率；

θ_i —— 包括动力学速率常数的参数。

显然，式 (2-85) 与式 (2-82)、式 (2-83) 和式 (2-84) 是一致的。

2.4.2 变构酶催化反应动力学

变构酶又称为调节酶，它是一种寡聚酶。这类酶具有变构部位和活性部位。当底物分子与这类酶结合时，能诱导酶的结构改变，增加酶与底物的结合能力，表现出底物对酶的激活效应。已知属于此类型的酶有磷酸果糖激酶、天冬氨酸转氨甲酰酶、苏氨酸脱氨酶、己糖激酶等。

变构酶的作用机理十分复杂。已提出的模型有渐变模型、同构模型等。对变构酶催化反应动力学的描述通常采用的是 Hill 方程，可表示为：

$$r_s = \frac{r_{\max} C_s^n}{K_H + C_s^n} \quad (2-86)$$

式中 n Hill 指数。

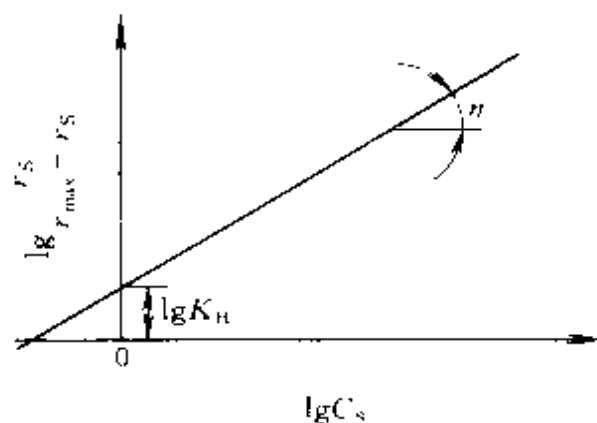


图 2-12 求 Hill 方程的动力学参数

n 表示了每个酶分子与底物结合部位的数目，通常为 $1 \sim 3.2$ 之间。当 $n=1$ 时，Hill 方程与 M-M 方程相同。 K_H 为一常数。它由米氏常数 K_m 和所结合底物相互作用的因子组成，也可表示为 K_m^n 。用 Hill 方程的对数式可估计其模型参数 n 和 K_H 值。对 Hill 方程移项并进行整理、取对数，可得到下式

$$\lg \frac{r_s}{r_{\max} - r_s} = n \lg C_s - \lg K_H \quad (2-87)$$

用 $\lg r_s / (r_{\max} - r_s)$ 对 $\lg C_s$ 作图 (见图 2-12)，得到斜率是 n 和截距是 $-\lg K_H$ 的直线。所求得的 n 值不一定是整数。

Hill 方程是一经验性方程。根据式 (2-86)，以 r_s / r_{\max} 为纵坐标， $C_s / \sqrt[n]{K_H}$ 为横坐标对应作图，得到如图 2-13 所示的曲线，这些曲线的形状

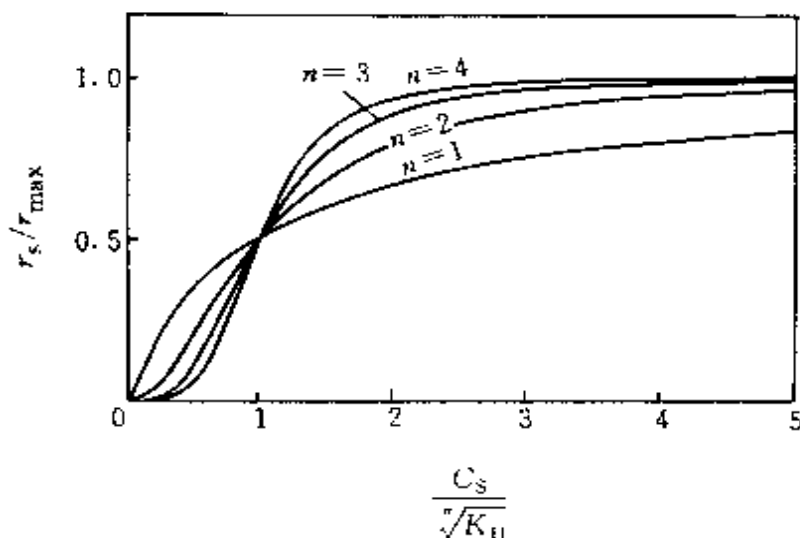


图 2-13 根据 Hill 方程作的 r_s C_s 关系曲线

与 n 值有关, 当 $n=1$, 曲线为双曲线 (即 M-M 曲线), 随着 n 值增大, 曲线的 S 形状愈加明显。

2.5 影响酶催化反应速率的因素

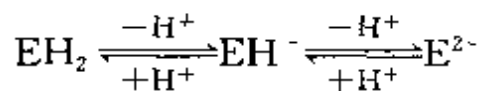
影响酶催化反应速率的因素是很多的, 从内部因素来分析, 包括酶的结构特性和底物的结构特性; 从外部因素来看, 包括各种物质的浓度因素 (例如酶的浓度、底物和产物的浓度、抑制剂的浓度等) 和操作条件 (如温度、压力、离子强度、pH 值等)。内部因素是由反应体系所决定的, 这不是本门课程讨论的内容。外部因素中有关各物质的浓度的影响前几节中已讨论过。因此, 本节重点讨论对酶催化反应速率影响最明显的两个因素, 即 pH 值和温度。

2.5.1 pH 值的影响

酶分子上有许多酸性和碱性的氨基酸侧链基团, 如果酶要表现其活性, 则这些基团必须有一定的解离型式。随着 pH 值的变化, 这些基团可处在不同的解离状态, 而具有催化活性的离子基团仅是其中一种特定的解离形式, 因而随着 pH 值的变化, 具有催化活性的这种特殊的离子基团在总酶量中所占的比例就会不同, 因而使酶所具有的催化能力也不同。

根据上述分析, Michaelis 对 pH 值与酶活力的关系提出三状态模型的假设, 其基本点如下。

① 假定酶分子有两个可解离的基团, 随着 pH 值的变化, 分别呈现出 EH_2 、 EH^- 及 E^{2-} 三种状态, 即



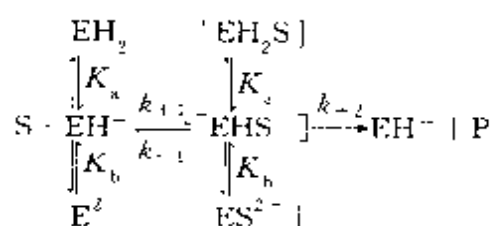
酸性条件下, 酶呈 EH_2 状态; 当 pH 增加, 酶以 EH^- 状态存在; 当 pH 继续增加, 酶以 E^{2-} 状态存在。

② 上述三种解离状态中, 只有 EH^- 型具有催化活性。

③ 底物 S 的解离状态不变。

④ 速率控制步骤为由 EHS 生成产物 P 的速率。

反应机理式可表示为



根据酶催化反应动力学的一般原理，可有下列的基本关系式：

$$\frac{dC_{\text{EHS}^-}}{dt} = 0 \quad (2-88)$$

$$C_{\text{E}_0} = C_{\text{EH}_2} + C_{\text{EH}^-} + C_{\text{E}^2} + C_{\text{[EH}_2\text{S]}} + C_{\text{[EHS}^-]} + C_{\text{[ES}^{2-}]} \quad (2-89)$$

$$r_s = r_p = k_{12} C_{\text{[EHS}^-]} \quad (2-90)$$

若定义

$$K_a = \frac{C_{\text{EH}^-} C_{\text{H}^+}}{C_{\text{EH}_2}}, \quad K_b = \frac{C_{\text{E}^2} C_{\text{H}^+}}{C_{\text{EH}^-}} \quad (2-91)$$

$$K'_a = \frac{C_{\text{[EHS}^-]} C_{\text{H}^+}}{C_{\text{[EH}_2\text{S]}}}, \quad K'_b = \frac{C_{\text{[ES}^{2-}]}}{C_{\text{[EHS}^-]}} C_{\text{H}^+}$$

经整理可得到下式

$$\begin{aligned}
 r_s = k_{12} C_{\text{[EHS}^-]} &= \frac{k_{12} C_{\text{E}_0} C_{\text{S}}}{f_1 K_m + f_2 C_{\text{S}}} \\
 &= \frac{\frac{r_{\text{max}}}{f_2} C_{\text{S}}}{K_m \left(\frac{f_1}{f_2} \right) + C_{\text{S}}} = \frac{r_{\text{max}} C_{\text{S}}}{K'_m + C_{\text{S}}} \quad (2-92)
 \end{aligned}$$

$$f_1 = \frac{C_{\text{H}^-}}{K_a} + 1 + \frac{K_b}{C_{\text{H}^-}}, \quad f_2 = \frac{C_{\text{H}^+}}{K'_a} + 1 + \frac{K'_b}{C_{\text{H}^+}} \quad (2-93)$$

式中 K_a 、 K'_a 、 K_b 、 K'_b ——式 (2-91) 所定义的电离平衡常数；

C_{H^+} ——氢离子浓度。

由上式可以看出， f_1 和 f_2 均与 pH 值有关。图 2-14 表示了 pH 值的变化对反应速率相对值的影响。从该图可以看出，对酶催化反应，适

宜的 pH 值约处于 6~9 之间。

2.5.2 温度的影响

对酶催化反应，只有在较低的温度范围内，其反应速率才会随温度的升高而加快，超过某一温度，即酶被加热到生理允许温度以上，酶的反应速率反而随着温度的升高而下降。这是因为温度升高，虽然可加速酶的催化反应速率，同时也加快了酶的热失活速率。

在适宜的温度内，酶催化反应速率常数中的 k_{+2} 与温度的关系符合 Arrhenius 方程，即

$$k_{+2} = A \exp(-E_a/RT) \quad (2.94)$$

式中 A ——指前因子；

E_a ——反应活化能；

R ——气体常数；

T ——绝对温度。

如果以 $\lg k_{+2}$ 对 $1/T$ 对应作图，可得一直线，由该直线的斜率可求得活化能 E_a 值 [见图 2-15 中的直线 1]，该直线是以肌球蛋白酶催化的 ATP 水解反应的数据做出的。

酶反应的 E_a 值，通常是正值，如能服从式 (2-94)，当温度升高时，反应速率应会不断地增大，但实际上并非如此，该式只局限于比较狭小的较低温度范围内才成立。在较高的温度范围内，酶因热失活，具有活性的酶量减少，因而使反应速率下降。因此出现一最佳的温度范围。图 2-15 中曲线 2 表示的是过氧化氢酶催化 H_2O_2 分解时反应速率与温度的关系，该反应的反应速率也就是氧的产生速率。

根据 Eyring 的过渡状态理论，描述 k_{+2} 与 T 的关系式可表示为

$$k_{+2} = A' T \exp(-\Delta H^*/RT) \quad (2-95)$$

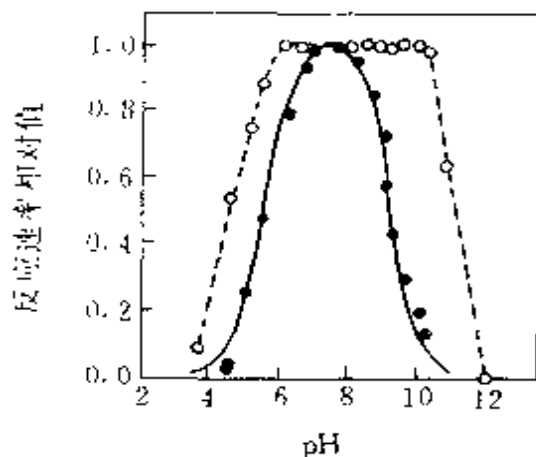


图 2-14 猪胰脏 α -淀粉酶的稳定性和活性与 pH 值的关系曲线

(○) 稳定性-pH 曲线；(●) 活性 pH 曲线

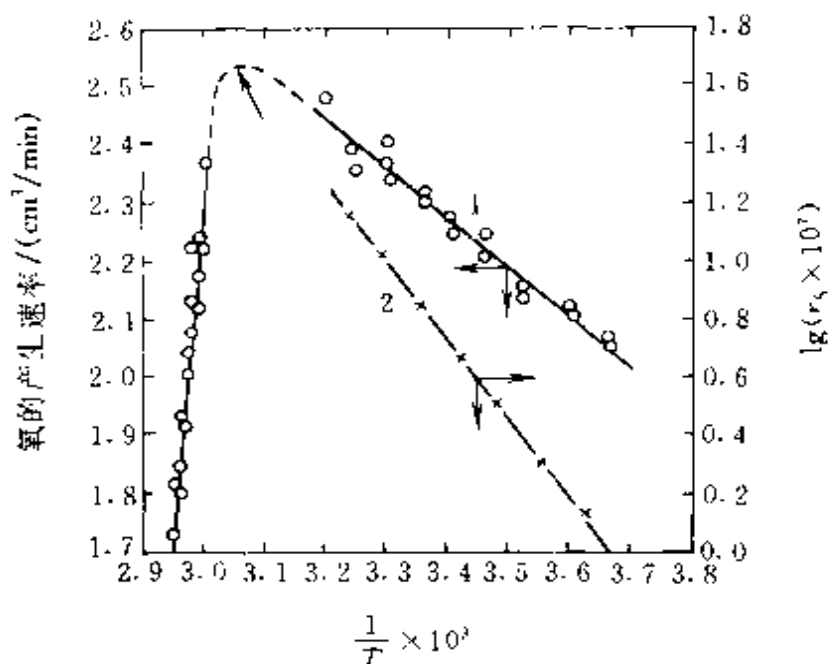


图 2-15 酶催化反应速率的阿累尼乌斯图解

1 - 肌球蛋白酶为催化剂的 ATP 水解；2 - 过氧化氢酶催化 H_2O_2 分解

式中 ΔH^* —— 反应的标准活化焓变；

A' —— 修正的指前因子。

当酶催化反应服从 M-M 的快速平衡机理时， K_s ($\approx K_m$) 与温度的关系可以认为服从 Van't-Hoff 方程，即

$$K_s = A'' \exp(-\Delta H/RT) \quad (2-96)$$

式中 ΔH —— 反应热；

A'' —— 修正指前因子。

如果在 M-M 方程中表示温度的影响，则有下列式

$$r_s = \frac{A' T \exp(-\Delta H^*/RT) C_{F_0} C_s}{A'' \exp(-\Delta H/RT) + C_s} \quad (2-97)$$

2.6 酶的失活动力学

酶是一种不稳定的物质，常因温度、pH 等因素的影响而产生不可逆的活性下降。一般是胞外酶较为稳定，而胞内酶在外部环境中容易失活。酶在保存和参与反应时均可能失活，前者的失活又称为稳定性。在使用时酶的失活规律对于酶催化反应过程的设计和控制都是十分重

要的。其中酶的热失活，或称为热变性是最重要的 - 种酶失活形式，下面主要讨论此种失活的动力学。

2.6.1 未反应时酶的热失活动力学

了解未反应时酶的热稳定性是关系到酶的保存。测定酶在未反应时的热稳定的方法，是在一定条件下，使酶溶液恒温保持一定的时间，然后再在最适宜的 pH 和温度下测定残存的酶活力，即残存酶活。在不同温度下反复测定，即可得到图 2-16 中所表示的一条曲线。该曲线所表示的酶失活特性，称为酶的热稳定性。若改变保温时间，则会得到不同的稳定曲线。如要了解酶在未反应时的失活速率，可将残存的酶活性对其失活时间作图，则又可得到如图 2-17 所示的曲线，该曲线称为失活曲线。这些曲线反映了酶的真正热稳定性。

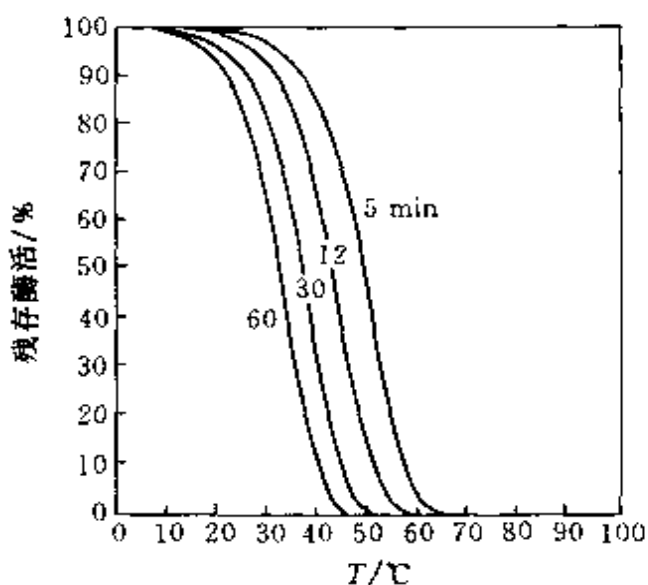


图 2-16 酶的热稳定性
(图中数字为恒温失活时间)

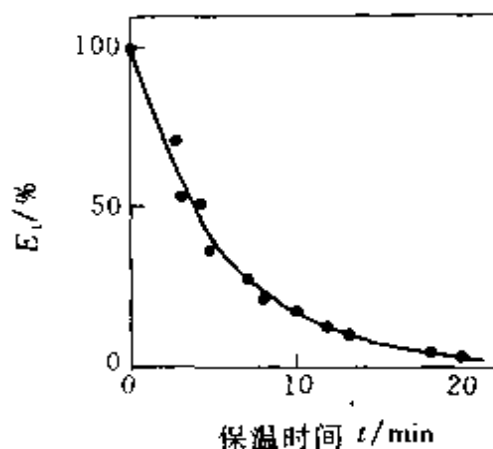
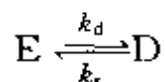


图 2-17 葡糖淀粉酶的
失活曲线

酶的热变性失活很复杂。一般将其分为可逆失活与不可逆失活两大类，并提出了多种失活动力学模型。下面主要介绍最简单的失活动力学模型，即一级失活模型。

以 E 和 D 分别表示活性酶与失活酶，则失活反应方程式可以表示为



式中 k_d 、 k_r 分别表示正反应和逆反应的速度常数。

时间为 t 时，活性酶 E 的浓度为 C_{E_t} ，则活性酶的浓度随时间的净减少速率为

$$\frac{dC_{E_t}}{dt} = k_d C_{E_t} - k_r C_{D_t} \quad (2-98)$$

系统中酶的总浓度若以 C_{E_0} 表示，则存在下述关系式：

$$C_{E_0} = C_{E_t} + C_{D_t} \quad (2-99)$$

式中 C_{D_t} —— 失活酶的浓度。

将式 (2-99) 代入式 (2-98) 中，并利用初始条件 $t=0$ ， $C_{E_t} = C_{E_0}$ ，解方程 (2-98)，经整理可得下式：

$$C_{E_t} = \frac{C_{E_0}}{k_d - k_r} \{k_r + k_d \exp[-(k_d + k_r)t]\} \quad (2-100)$$

对不可逆失活反应， $k_r = 0$ ，因此

$$C_{E_t} = C_{E_0} \exp(-k_d t) \quad (2-101)$$

多数酶的热失活服从 (2-101) 式。 k_d 可称为衰变常数、一级失活速率常数，单位为 $[\text{时间}]^{-1}$ 。 k_d 的倒数称为时间常数 t_d 。当 C_{E_t} 为 C_{E_0} 的一半时的时间称为半衰期，用 $t_{1/2}$ 表示。 k_d 、 t_d 和 $t_{1/2}$ 之间的关系可表示为

$$k_d = \frac{1}{t_d} = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} \quad (2-102)$$

温度对失活速率的影响体现在失活速率常数上。对一级失活模型，有

$$k_d = A_d \exp(-E_d/RT) \quad (2-103)$$

式中 k_d —— 失活速率常数；

A_d —— 失活反应的 Arrhenius 方程中的指前因子；

E_d —— 失活反应活化能。

又根据式 (2-101) 和式 (2-103)，可得到同时考虑温度与时间对失活影响的下述公式：

$$\frac{C_{E_t}}{C_{E_0}} = \exp[-A_d t \exp(-E_d/RT)] \quad (2-104)$$

该式为温度和时间的二元函数（参看图 2-16）。

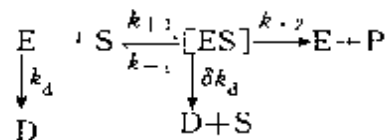
蛋白质的失活活化能约在 125kJ/mol 以上，比一般化学反应活化能来得大，这说明酶的失活速率受温度变化的影响程度较大。酶的失活速率还与酶的纯度有关，酶溶液愈稀，愈不稳定。

2.6.2 反应时酶的热失活动力学

反应时酶的稳定性将直接关系到酶的使用寿命，因而特别重要。酶在反应中的稳定性称为操作稳定性。

在酶催化反应时，由于有底物和产物的存在，使酶的稳定性或者得到了加强，或者又有所减弱。

对于底物浓度的变化对酶稳定性的影响，提出了下述模型。



根据上述机理可以看出，无论是游离酶还是酶的复合物均有可能失活，其失活速率方程可表示为

$$-\frac{dC_{E_t}}{dt} = k_d \frac{K_m + \delta C_S}{K_m + C_S} C_{E_t} \quad (2-105)$$

式中 $K_m = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}}$;

$$C_{E_t} = C_{E_f} + C_{[\text{ES}]}$$

C_{E_f} ——游离酶；

δ ——底物对酶稳定性的影响系数。

根据上述模型可知：

① $\delta=1$ 时，底物对酶失活没有影响。

② $\delta=0$ 时，酶完全被底物所保护，复合物 [ES] 完全不失活，此时只有游离酶失活。

③ $0 < \delta < 1$ 时，底物对酶有部分保护作用，能在一定程度上抑制酶的失活。

④ $\delta > 1$ 时，底物加速酶的失活。

若只有游离酶失活时，其分批反应的动力学方程为

$$-\frac{dC_S}{dt} = \frac{k_{+2} C_S}{K_m + C_S} \left(C_{E_0} - \frac{k_d K_m}{k_{+2}} \ln \frac{C_{S_0}}{C_S} \right) \quad (2-106)$$

如果还要考虑到在反应时温度对酶失活的影响。显然其速率方程更加复杂。这里只讨论零级不可逆酶催化反应的情况。

对零级不可逆反应， C_s 值趋于无穷大，因此有

$$-\frac{dC_s}{dt} = k_{+2}C_{E_t} \quad (2-107)$$

对该式积分，得到

$$C_{S_0} - C_{S_t} = k_{+2} \int_0^t C_{E_t} dt \quad (2-108)$$

当 C_s 足够大时，式 (2-105) 可简化为

$$-\frac{dC_{E_t}}{dt} = k_d C_{E_t} = k'_d C_{E_t} \quad (2-109)$$

进行积分得到

$$C_{E_t} = C_{E_0} \exp(-k'_d t) \quad (2-110)$$

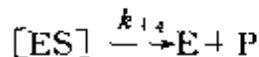
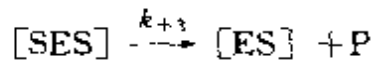
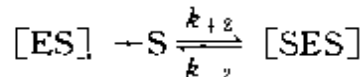
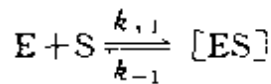
将式 (2-110) 代入式 (2-108)，并进行积分，得

$$C_{S_0} - C_{S_t} = \frac{k_{+2} C_{E_0}}{k'_d} [1 - \exp(-k'_d t)] \quad (2-111)$$

式中 k_{+2} 、 k'_d 均为温度的函数。

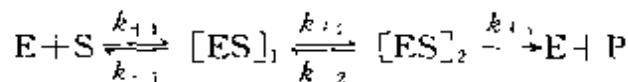
习 题

2.1 假设某酶有两个活性中心，它要经过下述机理步骤，底物才能转化为产物：



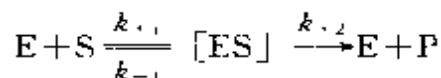
试根据稳态假设，求其速率方程式。

2.2 某酶催化反应机理中有多种复合物存在，表示为



试分别利用 (1) M-M 方程推导方法和 (2) B-H 方程推导方法, 求其速率方程式。

2.3 某酶催化反应机理式为



若假定上述反应机理式中, $k_{-1} \ll k_{+2}$, $k_{-1} \ll k_{+1}$, 试推导其速率方程。

2.4 一批进行的均相酶催化反应, 底物的初始浓度为 $3 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, $K_m = 1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$, 经过 2min 后, 底物转化了 5%。假定该反应符合 M-M 方程, 试问当该反应经过 10min、30min 和 60min 时, 该底物转化了多少?

2.5 Eadie 在 1942 年测量了乙酰胆碱(底物)在某酶上进行水解反应的初始速率, 数据如下:

底物浓度/(mol/L)	反应初速率 mol/(L·min)	底物浓度/(mol/L)	反应初速率 mol/(L·min)
0.0032	0.111	0.0080	0.166
0.0019	0.148	0.0095	0.200
0.0062	0.153		

试用 (1) L-B 法; (2) H-W 法; (3) E-H 法估计其动力学参数值。

2.6 某酶催化反应, 其 $K_m = 0.01 \text{ mol/L}$ 。为了求其最大反应速率 r_{\max} 值, 现通过实验测得该反应进行到 5min 时, 底物已转化了 10%, 已知 $C_{S_0} = 3.4 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$, 并假定该反应可用 M-M 方程表示。试求:

- (1) 最大反应速率 r_{\max} 为多少?
- (2) 反应 15min 后, 底物浓度为多少?

2.7 试根据下列实验数据确定 r_{\max} 、 K_m 和 K_i 值, 并说明该酶催化反应是属于竞争性抑制还是属于非竞争性抑制。

$C_S \times 10^4 / (\text{mol/L})$	$r_{S_0} / [\mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})]$	
	无抑制剂	有抑制剂, $C_i = 2.2 \times 10^{-4} \mu\text{mol/L}$
1.0	28	17
1.5	36	23
2.0	43	29
5.0	65	50
7.5	74	61

2.8 某一酶催化反应的 K_m 值为 $4.7 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$, $r_{\max} = 22 \mu\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$,

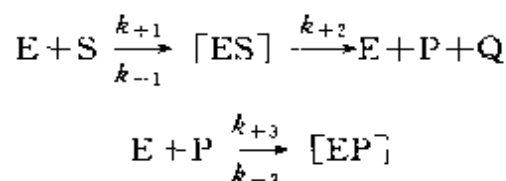
$C_s = 2 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$, $C_i = 5 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$, $K_i = 3 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$. 试分别计算在竞争性抑制、非竞争性抑制、反竞争性抑制三种情况下的反应速率和抑制程度。

2.9 Eadie 测量了存在和不存在某抑制剂情况下乙酰胆碱在某酶作用下进行的水解反应的初始速率, 数据如下:

底物浓度/(mol/L)	反应初始速率/[mol/(L·min)]	
	无抑制剂	有抑制剂
0.0032	0.111	0.059
0.0049	0.148	0.071
0.0062	0.153	0.091
0.0080	0.166	0.111
0.0095	0.200	0.125

- (1) 判断该抑制作用是竞争性还是非竞争性?
- (2) 用 L-B 法求在有抑制剂存在时的动力学参数。

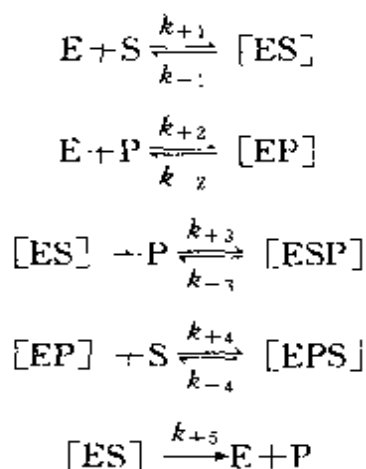
2.10 Scott 等提出乳糖在乳糖酶存在时水解机理如下:



式中 S、P、Q 分别为乳糖、半乳糖和葡萄糖。

- (1) 用稳态法推导半乳糖生成的速率方程;
- (2) 判断半乳糖对此反应是竞争性还是非竞争性抑制?

2.11 下列反应为--有产物抑制的酶催化反应:



- (1) 根据平衡假设, 推导其速率方程;
- (2) 如果 $[ESP] = [EPS]$, 推导的方程如何简化?

(3) 如果存在有 $\frac{k_{-1}}{k_{+1}} = \frac{k_{-2}}{k_{+2}}$ 和 $\frac{k_{-1}}{k_{+1}} = \frac{k_{-3}}{k_{+3}}$ 的关系则由 (2) 求得的方程中最大速率和米氏常数应如何表示?

2.12 在某种水解酶的作用下葡萄糖-6-磷酸可以分解为葡萄糖和磷酸。在一定的酶浓度下, 测得 M-M 方程中的参数 $K_m = 6.7 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$, $r_{\max} = 3 \times 10^{-7} \text{ mol/(L} \cdot \text{min)}$ 。对该反应, 半乳糖-6-磷酸是一竞争性抑制剂。当 $C_{S_0} = 2 \times 10^{-6} \text{ mol/L}$, $C_{I_0} = 1 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$ 时, 测得反应速率 $r_{ST} = 1.5 \times 10^{-7} \text{ mol/(L} \cdot \text{min)}$ 。试求 K_{m1} 和 K_i 值。

2.13 蔗糖在酶的作用下水解为葡萄糖和果糖, 下表表示在各种初始浓度下, 蔗糖在前 10min 内转化的量:

蔗糖初始浓度/(g/L)	10min 内蔗糖转化量/(g/L)	蔗糖初始浓度/(g/L)	10min 内蔗糖转化量/(g/L)
48.9	1.9	199.1	2.7
67.0	2.1	299.6	2.5
98.5	2.4	400.2	2.3

(1) 根据表中数据, 预测其反应机理, 并推导其速率方程;

(2) 利用实验数据, 确定其动力学参数。

2.14 某底物所进行的酶催化反应为一竞争性抑制反应, 反应速率用 CO_2 释放速率表示, 根据下表中提供的数据, 求该反应的动力学参数值。

底物浓度 $\mu\text{mol/ml}$	抑制剂浓度 $\mu\text{mol/ml}$	CO_2 释放速率 $\mu\text{mol/(ml} \cdot \text{min)}$	底物浓度 $\mu\text{mol/ml}$	抑制剂浓度 $\mu\text{mol/ml}$	CO_2 释放速率 $\mu\text{mol/(ml} \cdot \text{min)}$
4.7	0	0.0434	10.8	30.30	0.0266
4.7	7.58	0.0285	30.3	0	0.1111
4.7	30.30	0.0133	30.3	7.58	0.0909
10.8	0	0.0713	30.3	30.30	0.0581
10.8	7.58	0.0512			

2.15 在以腺苷三磷酸酯酶为催化剂进行的 $\text{ATP} \rightleftharpoons \text{ADP} + \text{P}_i$ 反应中, 酶的分子量为 5×10^4 , K_m 为 $1 \times 10^{-4} \text{ kmol/m}^3$, k_{+2} 为 166 s^{-1} 。该酶失活遵循一级动力学, 其半衰期 $t_{1/2} = 414 \text{ s}$ 。如果加入体积为 0.001 m^3 的间歇反应器中的酶量为 10 g , 反应 12 h 后测定产物浓度为 0.002 kmol/m^3 , 试确定该酶的纯度 (以 $C_{E_0 \text{ 变质的}} / C_{E_0 \text{ 加入的}}$ 值表示)。底物的初始浓度为 0.02 kmol/m^3 。

第 3 章 固定化酶催化反应过程动力学

固定化酶亦称固相酶或水不溶酶。它是通过物理或化学的方法使溶液酶转变为在一定的空间内其运动受到完全约束、或受到局部约束的一种不溶于水，但仍具活性的酶。它能以固相状态作用于底物进行催化反应。

固定化酶的主要优点是，在催化反应以后很容易从反应系统中分离出来，不仅固定化酶可以反复使用，而且产物不受污染容易精制；固定化后的酶大多数情况下其稳定性增加，仅有少数的稳定性下降；固定化酶有一定的形状和一定的机械强度，可以装填在反应器中长期使用，便于实现生产连续化和自动化。因此固定化酶在生产中的应用日渐增多，为酶催化的应用开辟了新的途径。固定化酶在医药和食品等工业部门有着很大的实用价值。如用固定化氨基酸酰化酶生产 L-氨基酸、固定化青霉素酰胺酶水解青霉素 G 生产 6-氨基青霉烷酸、固定化葡萄糖异构酶生产高果糖浆、固定化糖化酶生产葡萄糖等。

固定化酶的制备方法可分为载体结合法、交联法、包埋法三大类。

载体结合法是将酶结合于水不溶性载体的一种固定化方法。根据结合的形式不同，又可分为物理吸附法、离子结合法和共价结合法等。物理吸附法是指酶被物理吸附于不溶性载体的一种固定化方法。载体有活性炭、多孔玻璃、氧化铝、硅胶、淀粉、合成树脂等。此法具有酶活性中心不易被破坏，酶结构变化少的优点，但它有酶与载体相互作用力弱，酶易脱落的缺点。离子结合法是酶通过离子键结合于具有离子交换基的水不溶性载体的固定化方法。此法的载体有多糖类离子交换剂和合成高分子离子交换树脂。例如 DEAE-纤维素、GM-纤维素等。此法操作简单、条件温和，酶的高级结构和活性中心的氨基酸残基不易被破坏，能得到酶活回收率较高的固定化酶。但是载体与酶的结合力较弱，容易受缓冲液种类或 pH 的影响，在离子强度高的条件下

反应时，酶易从载体上脱落。共价结合法是酶以共价键结合于载体的固定化方法，它是载体结合法中应用最多的一种。此法或是将载体有关基团活化，然后与酶有关基团发生偶联反应；或是在载体上接一个双功能试剂，然后将酶偶联上去。可与载体结合的酶的功能团有氨基、羧基、羟基、酚基等。共价结合法反应条件比较苛刻，操作复杂，并且易引起酶高级结构产生变化，破坏了部分活性中心，酶活回收率一般为30%左右。代表性的方法有重氮法、溴化氰法等。

第二大类是交联法。它是用双功能或多功能试剂使酶与酶之间交联的固定化方法。此法与其价结合法一样也是利用共价键固定酶的，不同的是它不使用载体。做为交联剂的有形成希夫碱的戊二醛、形成肽键的异氰酸酯、发生重氮偶合反应的双重氮联苯胺等。此法反应条件较激烈、酶活回收率低。

第三类是包埋法。此法可分为网格型和微囊型两种，将酶包埋在高分子凝胶细微网格中的称为网格型；将酶包埋在高分子半透膜中的称为微囊型。包埋法一般很少改变酶的高级结构，酶活回收率较高，因此可用于许多酶的固定化，但必须巧妙地设计反应条件。包埋法只适合作用于小分子底物和产物的酶，因为只有小分子才可以通过高分子凝胶的网格进行扩散。适于网格型的高分子化合物有聚丙烯酰胺、聚乙烯醇、淀粉、明胶、海藻酸等。微囊型固定化酶颗粒一般为直径是几微米到几百微米的球状体，比网格型颗粒小得多。有利于底物和产物的扩散。但反应条件要求高，制备成本也高。制备微囊型固定化酶常用界面沉淀法、界面聚合法、二级乳化法以及脂质体包埋法等。

图 3-1 表示了各种固定化酶的方法。

通过不同方法制得的固定化酶，还必须制成不同型式的组件装在反应器中进行酶催化反应，例如制成颗粒状、膜状、管状（中空纤维状）。

酶的固定化，不仅使酶的活性发生了变化，而且由于固定化酶的引入，反应体系变为多相体系，例如液-固体系、气-液-固体系等。因此在研究固定化酶催化反应动力学时，不仅要考虑酶催化反应的本征动力学规律，更要研究反应物的质量传递规律，要研究物质的质量传

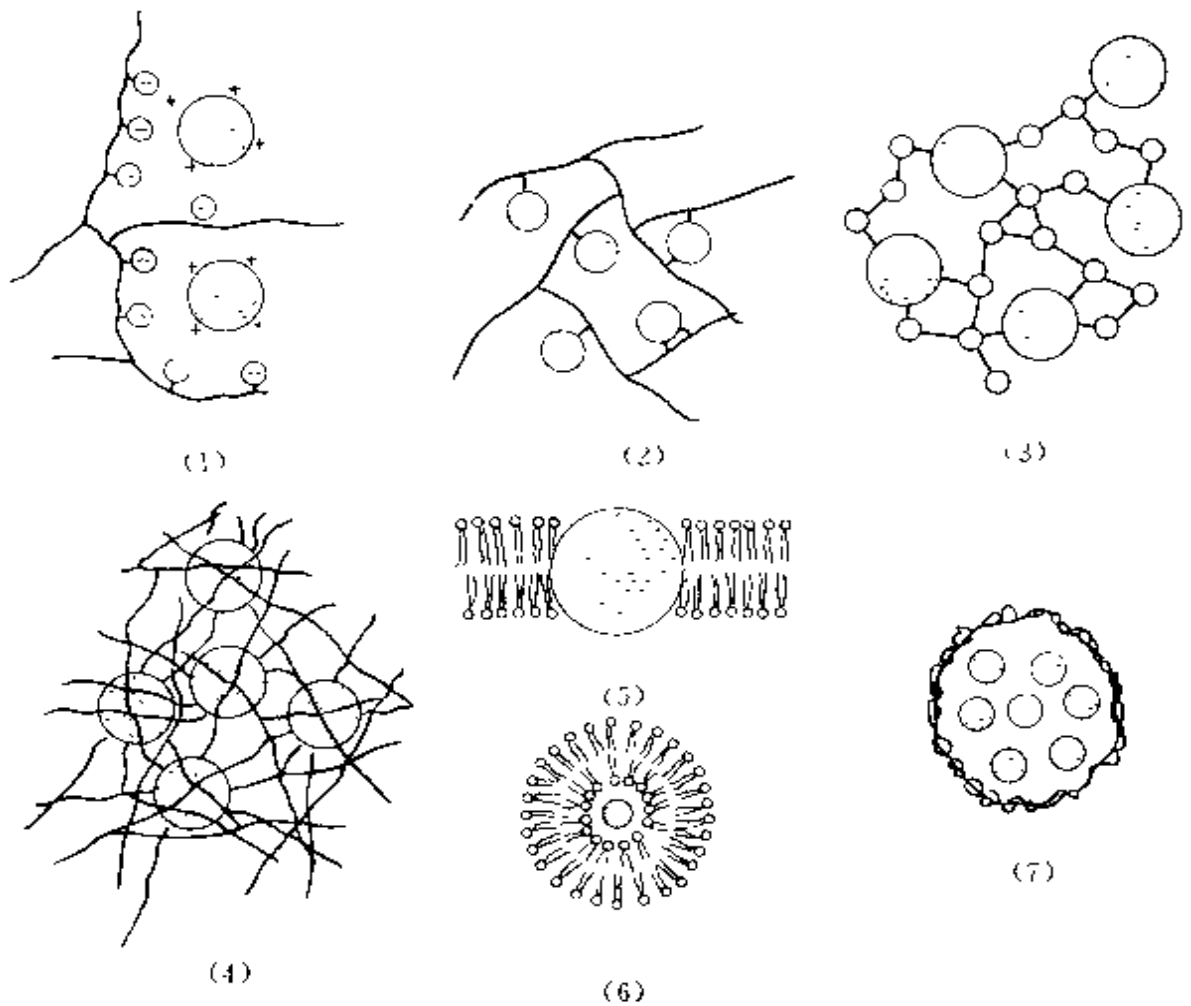


图 3-1 固定化酶的模式

(1) 离子结合；(2) 共价结合；(3) 交联；(4) 聚合物包埋；
(5) 疏水作用；(6) 脂质体包埋；(7) 微胶囊

递对酶催化反应过程的影响。建立起同时包括物质传质速率和催化反应速率的动力学方程。这种方程一般称为宏观动力学方程。它是设计固定化酶催化反应器和确定其操作条件的理论基础，也是本章讨论的重点。

3.1 固定化酶催化的动力学特征

溶液酶经固定化后变为固定化酶，其性质将会发生很大的变化。这种变化是很复杂的，常因酶的种类、所催化的反应、所用的载体和采用的固定化方法的不同而不同。

3.1.1 酶的固定化对其动力学特性的影响

(1) 活性的变化。酶在固定化时，总会有一部分未被固定而残留在溶液中，造成了酶的部分损失；同时由于各种原因也会造成已被固定的酶的活性有所下降。这是大多数固定化酶的情况，只有个别的酶在固定化后活性未变或反而升高。

如果固定化酶的动力学仍服从 M-M 方程，则可通过米氏常数 K_m 值的大小来反映酶在固定化前后活性的变化。表 3-1 列出了某些游离的溶液酶和固定化酶的米氏常数值。

表 3-1 某些游离酶和固定化酶的米氏常数

酶	固定化试剂	底物	K_m (mol/L)
肌酸激酶	无	ATP ^①	6.5×10^{-4}
	对氨基纤维素	ATP	8.0×10^{-4}
乳酸脱氢酶	无	NADH ^②	7.8×10^{-6}
	丙酮-玻璃	NADH	5.5×10^{-6}
α -糜蛋白酶	无	ATEE ^③	1.0×10^{-3}
	可溶性葡萄糖	ATEE	1.3×10^{-3}
无花果蛋白酶	无	BAEE ^④	2×10^{-2}
	CM 纤维-70	BAEE	2×10^{-2}
胰蛋白酶	无	BAA ^⑤	6.8×10^{-3}
	马来酸/1,2-亚乙基	BAA	2.0×10^{-1}

① 三磷酸腺苷；② 烟酰胺腺嘌呤二核苷酸；③ *N*-乙酰-L-酪氨酸乙酯；④ *N*-苯酰精氨酸乙酯；⑤ 苯酰精氨酸胺。

从表 3-1 中可以看出，大多数酶在固定化后，其 K_m 值增加，表示催化反应活性将下降。也有少数酶固定化后活性无变化，甚至有所增大。评价这种活性变化可用下述两种指标来衡量：酶活力表现率和酶活力收率。

酶活力表现率系指实际测定的固定化酶的总活力与被固定化了的酶在溶液状态时的总活力之比。

酶活力收率系指实际测定的固定化酶的总活力与固定化时所用的全部游离酶的活力之比。

上述两种指标之差别在于是否考虑了所剩余的未被固定化的酶。

(2) 稳定性的变化。一般认为酶被固定化后，其稳定性有所增加，无论是保存时的稳定性，还是使用时的稳定性均有提高。据理论推测，酶固定化后其半衰期将增加一倍。同时，固定化酶的热稳定性也有所提高，要比溶液酶提高 10 多倍。这是因为酶固定化后，酶的空间结构变得更为坚固，加热时不易变形，增加了酶的热稳定性。

3.1.2 影响固定化酶动力学的因素

(1) 空间效应。酶的活性部位和变构部位的性质取决于酶分子的三维空间结构。酶在固定化过程中，由于存在着酶和载体的相互作用，从而引起了酶的活性部位发生某种扭曲变形，改变了酶活性部位的三维结构，减弱了酶与底物的结合能力，此种现象称为构象效应。

载体的存在又可产生屏蔽效应，或称为位阻效应。因为载体的存在使酶分子的活性基团不易与底物相接触，从而对酶的活性部位造成了空间障碍，使酶的活性下降。例如在葡聚糖凝胶上共价交联胰蛋白酶和木瓜蛋白酶的活性低于结合在琼脂糖的活性，其原因是葡聚糖凝胶的空间屏障大于琼脂糖。上述两种效应如图 3-2 所示。

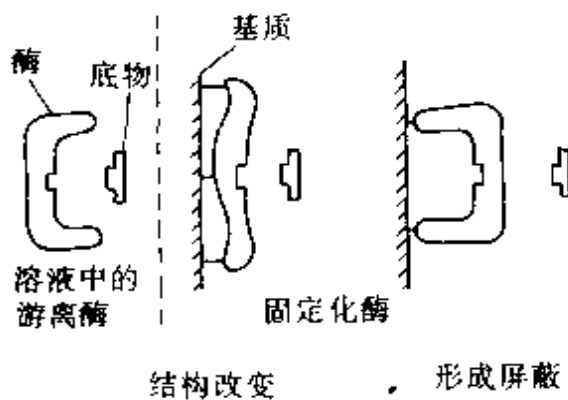


图 3-2 固定化酶的结构改变
和屏蔽效应

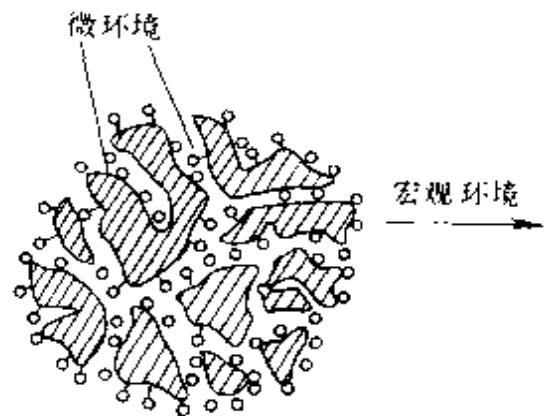


图 3-3 含有固定酶的多孔
载体示意图

(2) 分配效应。当固定化酶处在反应体系的主体溶液中时，反应体系成为固液非均相体系。人们常把固定化颗粒附近的环境称为微环境，或称微观环境，而把主体溶液体系称为宏观反应体系，或称为宏观环境。由于固定化酶的亲水性、疏水性及静电作用等引起固定化酶载体内部底物或产物浓度与溶液主体浓度不同的现象称为分配效应。

换言之，造成了底物浓度在两个环境中的不同，也必然使酶的催化反应速率有所不同。图 3-3 表示了微观环境与宏观环境的差别。

这种分配效应一般采用液固界面内外侧的底物浓度之比，即分配系数来定量表示。假定界面内侧的底物浓度为 C_{s_g} ，界面外侧的底物浓度为 C_s ，则分配系数 K 可表示为：

$$K = C_{s_g} / C_s \quad (3-1)$$

图 3-4 表示了颗粒界面附近的底物浓度分布与 K 值的关系。图中 C_{s_0} 为液相主体的浓度， C_{s_1} 为外扩散造成的界面外侧浓度。 C_{s_g} 为由分配效应造成的微环境的底物浓度。

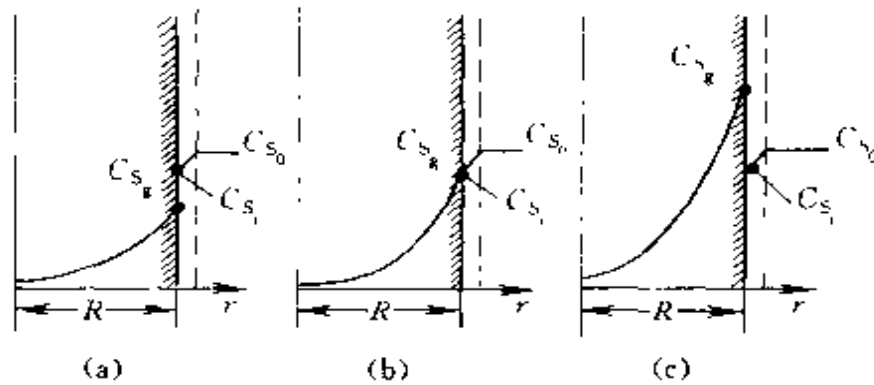


图 3-4 相对于各种 K 的粒子界面附近的基质浓度侧形

(a) $K < 1$; (b) $K = 1$; (c) $K > 1$

下面以静电效应的影响为例讨论分配效应对酶催化动力学的影响。

通常酶可能被固定在带电荷的酶膜上或载体上。底物在溶液中也都会离子化，这样在固定的电荷和移动离子之间，常会发生静电交互作用，产生分配效应。使底物或产物浓度之间出现了不均匀分布。

根据 Boltzman 分配定律，分配系数 K 可以表示为

$$K = \exp\left\{\frac{-ZFU}{RT}\right\} \quad (3-2)$$

式中 Z ——底物分子所带电荷；

F ——法拉第常数；

U ——静电电势；

R ——气体常数；

T ——绝对温度。

当载体与底物所带电荷相反时,即 Z 为正、 U 为负时, K 大于 1, 当两者带有相同电荷时, 则 K 小于 1。

对固定化酶催化反应, 其底物浓度应取在固定化酶内外表面附近的微环境的数值, 根据米氏方程, 其速率应表示为:

$$r_s = \frac{r_{\max} C'_s}{K_m + C'_s} \quad (3-3)$$

根据式(3-1)和式(3-2), 式(3-3)又可表示为:

$$r_s = \frac{r_{\max} C_s \exp(-ZFU/RT)}{K_m + C_s \exp(-ZFU/RT)}$$

$$= \frac{r_{\max} C_s}{K'_m + C_s} \quad (3-4)$$

$$K'_m = K_m / \exp(-ZFU/RT) \quad (3-5)$$

当 Z 及 U 为异号, K'_m 小于 K_m ; 反之, 则 K'_m 大于 K_m ; 当任何一方电荷为零时, K_m 不变。

从上述分析看, 静电效应的影响主要表现在对 K_m 值的影响。当载体与底物带不同电荷时, K_m 值减小, 反应速率增大; 带有相同电荷时, K_m 值增大, 反应速率减小。其根源在于使微环境与主体溶液之间的浓度出现了差异。

(3) 扩散效应。固定化酶对底物进行催化反应时, 底物必须从主体溶液传递到固定化酶内部的催化活性中心处, 反应得到的产物又必须从酶的催化活性中心传递到主体溶液中。这种物质的传递过程包括分子扩散和对流扩散。这种扩散过程的速率在某些情况下可能会对反应速率产生限制作用, 特别是由于生物物质在液体中的扩散速率相当缓慢, 而酶的催化活性又很高时, 这种扩散限制效应会相当明显。

扩散限制效应可分为外扩散限制效应和内扩散限制效应。

外扩散是指底物从液相主体向固定化酶的外表面的一种扩散, 或是产物从固定化酶的外表面向液相主体中的扩散。外扩散是发生在催化反应之前或之后。由于外扩散阻力的存在, 使底物或产物在液相主体和固定化酶外表面之间存在着浓度梯度。

内扩散系指对一有微孔载体的固定化酶，其底物从固定化酶外表面扩散到微孔内部的酶催化中心处，或是产物沿着相反途径的扩散。对底物来讲，内扩散限制与酶催化反应同时进行。

图 3-5 形象地表示了一球形固定化酶颗粒内外扩散特征及其浓度分布。

从图 3-5 中可以看出，由于扩散限制效应的存在，底物浓度从液相主体到固定化酶外表面，再到内表面是依次降低，而产物浓度分布则与此相反。

在上述讨论中，空间效应难以定量描述，并且它与固定化的方法、载体的结构及性质、底物分子大小和形状等因素有关。这应属于酶工程要讨论的范围。空间效应的影响一般是通过校正动力学参数 r_{\max} 和 K_m 来体现的。在此基础上建立起的动力学方程一般称之为本征动力学，所测得的速率称为本征反应速率。本征动力学是指酶的真实动力学行为，包括溶液酶和固定化酶在内。对后者，它仅将空间效应的影响考虑在内。从这个意义上讲，固定化酶的本征动力学与溶液酶的本征动力学是有差别的。

分配效应造成的结果是使微观环境与宏观环境之间的底物浓度出现了差别，因而影响了酶催化的反应速率。如果在上述本征动力学的基础上，仅仅考虑由于这种分配效应面造成的浓度差异对动力学产生的影响，所建立的动力学称为固有动力学。对该种动力学比较简单的处理方法是：动力学方程仍然服从 M-M 方程形式，仅对动力学参数予以修正。

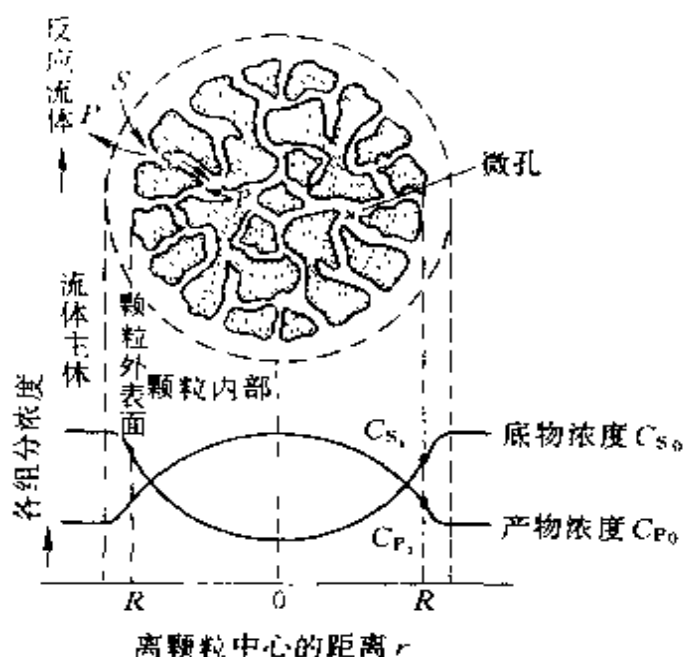


图 3-5 固定化酶载体内及其周围的物质传递及浓度分布（没有分配效应）

不论分配效应是否存在，固定化酶受到扩散限制时所观察到的速率统称为有效反应速率，或称为宏观反应速率。据此所建立的动力学方程称为宏观动力学方程，或称为有效动力学方程。由于生物物质在溶液内和固定化酶微孔内的扩散速率是比较慢的，因而扩散阻力是影响固定化酶催化活力的主要因素。并且所建立的宏观动力学方程也不完全服从 M-M 方程形式。图 3-6 表示了上述三种不同动力学之间的关系。

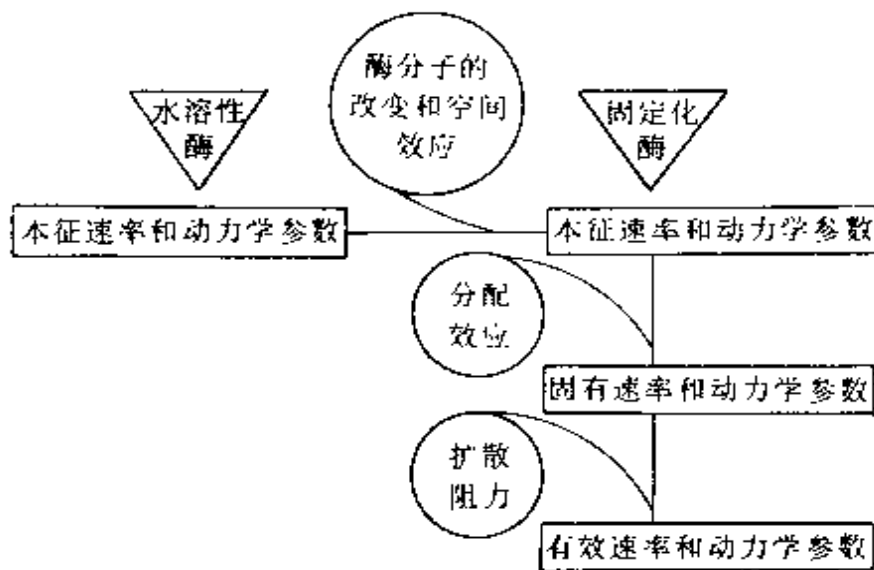


图 3-6 不同的速率和参数以及它们之间的关系

从上述讨论可以看出，对固定化酶催化反应动力学，不仅要考虑固定化酶本身的活性变化，而且还要考虑到底物等物质的传质速率的影响，而传质速率又与底物等物质的性质和操作条件以及载体的性质等因素有关。因此对这样一个实为非均相（液-固）体系所建立的宏观动力学方程不仅包括酶的催化反应速率，而且还包括了传质速率。这是固定化酶催化反应过程动力学的最主要特征。

3.2 外扩散限制效应

为了集中研究外扩散限制效应，常选择液体不能渗透的无电活性的固定化酶膜或固定化酶颗粒做为研究的模型。此时，固定化酶与液相反应物系相接触时，该反应过程包括三步：①底物从液相主体扩散

到达固定化酶的外表面；②底物在固定化酶的外表面上进行反应；③产物从酶外表面扩散进入液相主体。其中，①和③为单纯的传质过程，②为催化反应过程。并且可以认为，上述三步是一串联过程。其中任意一步的速率发生某种变化，都会影响到整个过程的速率。

3.2.1 外扩散速率对酶催化反应速率的限制

假定对一非带电的固定化酶，其外表面上的反应速率符合 M-M 方程形式，即

$$R_{S_1} = \frac{r_{\max} C_{S_1}}{K_m + C_{S_1}} \quad (3-6)$$

式中 R_{S_1} ——底物在固定化酶外表面上的消耗速率，又称宏观反应速率， $\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{s})$ ；

C_{S_1} ——底物在固定化酶外表面上的浓度， mol/L 。

底物由液相主体扩散到固定化酶外表面的速率应表示为

$$R_{S_d} = k_L a (C_{S_0} - C_{S_1}) \quad (3-7)$$

式中 R_{S_d} ——底物由液相主体扩散到固定化酶外表面的速率， $\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{s})$ ；

k_L ——液膜传质系数， m/s ；

a ——单位体积的物系中所具有的传质表面积， m^{-1} ；

$k_L a$ ——体积传质系数， s^{-1} ；

C_{S_0} ——底物在液相主体中的浓度， mol/L 。

定态条件下，应存在 $R_{S_1} = R_{S_d}$ ，即

$$k_L a (C_{S_0} - C_{S_1}) = \frac{r_{\max} C_{S_1}}{K_m + C_{S_1}} \quad (3-8)$$

该式表示了在定态条件下，外扩散传质速率等于在固定化酶外表面上底物的反应速率。

当外扩散传质速率很快，而固定化酶外表面反应速率相对较慢，并成为该反应过程速率的控制步骤时，则酶的外表面上底物浓度应为液相主体溶液的浓度，即为 C_{S_0} 。此时的反应速率应为

$$R_{S_1} = \frac{r_{\max} C_{S_0}}{K_m + C_{S_0}} = r_{S_0} \quad (3-9)$$

与式(3-6)相比较,存在有 $C_{S_0} = C_{S_i}$ 。因此式(3-9)为一没有外扩散传质速率影响的本征反应速率,或称为在此条件下可能达到的最大反应速率,用 r_{S_0} 表示。

当外扩散传质速率很慢,而酶表面上的反应速率很快,此时外扩散速率成为反应的控制步骤。固定化酶外表面上底物浓度趋于零。

故 $R_{S_i} = k_{l,a}C_{S_0} = r_d$ (3-10)

式(3-10)为在此条件下可能的最大传质速率,用 r_d 表示。

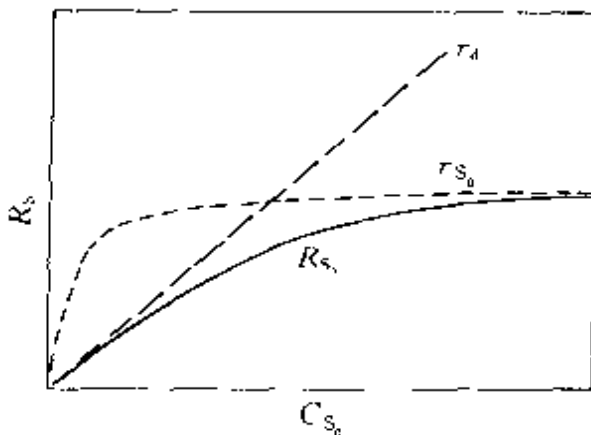


图 3-7 有效速率 R_{S_i} 、反应最大速率 r_{S_0} 及扩散最大速率 r_d 与主体浓度 C_{S_0} 之间的关系

从式(3-9)和式(3-10)可看出, r_{S_0} 与 C_{S_0} 、 r_d 与 C_{S_0} 的关系分别为非线性和线性的关系,如图 3-7 所示。

从图 3-7 可以看出,

当 C_{S_0} 值较低时, $r_{S_0} > r_d$, 为外扩散控制, 此时有

$$R_{S_i} = r_d \quad (3-11)$$

当 C_{S_0} 值较高时, $r_{S_0} < r_d$, 为动力学控制, 此时有

$$R_{S_i} = r_{S_0} \quad (3-12)$$

当 C_{S_0} 处于中间范围,称为过渡区,反应速率与扩散速率相差不大,若要求取有外扩散影响下的反应速率,即宏观反应速率 R_{S_i} ,可采用两种方法求出。

(1) 由 C_{S_i} 值确定 R_{S_i} 。因为根据式(3-8),可得出下式:

$$C_{S_0} - C_{S_i} = \frac{r_{\max}}{k_{l,a}K_m} \frac{C_{S_i}}{1 + C_{S_i}/K_m} \quad (3-13)$$

引入 $\bar{C}_S = C_{S_i}/C_{S_0}$, $\bar{K} = K_m/C_{S_0}$

并定义 $Da = \frac{r_{\max}}{k_{l,a}C_{S_0}}$ (3-14)

则式(3-13)可表示为

$$1 - \bar{C}_S = Da \frac{\bar{C}_S}{\bar{K} + \bar{C}_S} \quad (3-15)$$

式中 \bar{C}_s —— 无因次底物浓度；

\bar{K} —— 无因次米氏常数；

Da —— 无因次准数，常称 Damköhler(丹克莱尔)准数。

求解式(3-15)可得

$$C_s = \frac{\alpha}{2} \left[1 \pm \sqrt{1 - \frac{4\bar{K}}{\alpha^2} - 1} \right] \quad (3-16)$$

$$\alpha = Da + \bar{K} - 1 \quad (3-17)$$

当 $\alpha > 0$ ，式(3-16)括号内取“+”号；当 $\alpha < 0$ ，则应取“-”号。

根据式(3-16)可求出 C_s 值，继而根据式(3-6)求出宏观反应速率 R_{S_1} 值。

在上述方法中， Da 无疑是一个重要无因次数群。其物理意义可表示为：

$$Da = \frac{\text{最大反应速率}}{\text{最大传质速率}} \quad (3-18)$$

因此，当 $Da \ll 1$ 时，酶催化最大反应速率要大大慢于底物的扩散速率。此时该反应过程为反应动力学控制。

当 $Da \gg 1$ 时，则底物最大扩散速率要大大慢于酶催化底物的反应速率，此时该反应过程为传质扩散控制。

根据式(3-8)，底物在固定化酶外表面处的浓度应同时满足传质速率方程式和反应速率方程式，因此可通过作图法求出 C_{S_1} 值和相应的速率值（如图 3-8 所示）。

图中曲线 1 为底物 S 的反应本征动力学曲线；直线 2 为传质速率方程所规定；直线斜率为 $k_L a$ ；直线与曲线交点为方程(3-8)的解，对应横坐标值为其表面底物浓度 C_{S_1} ，交点对应的纵坐标值为所求的表面反应速率 R_{S_1} 。2 与 2' 分别表示不同的液相主体浓度。

如果是带电的固定化酶放在电离了的底物溶液中，则表示外扩散速率影响的宏观速率应为

$$R_{S_1} = M k_L a (C_{S_0} - C_{S_1} e^{\lambda}) = \frac{r_{\max} C_{S_1}}{K_m + C_{S_1}} \quad (3-19)$$

同样，引入

$$\bar{K} = K_m / C_{S_0}, \bar{C}_s = C_{S_1} / C_{S_0},$$

$$Da = r_{\max} / M k_L a C_{S_0}$$

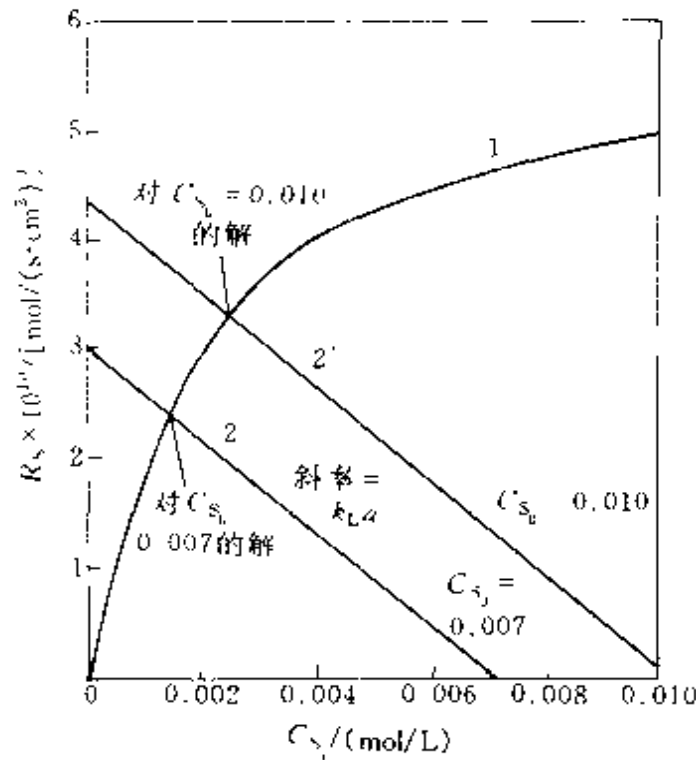


图 3-8 无孔固定化酶外表面处反应速率图解法示意图

1—本征动力学曲线；2、2'—传质方程

得到

$$(1 - \bar{C}_s e^{\lambda}) (\bar{K} + \bar{C}_s) = Da$$

根据上式可求出 C_{s_0} 值，并代入式(3-31)中，求得宏观反应速率 R_{s_0} ，

$$R_{s_0} = \frac{r_{\max}}{2[\alpha^2 + \alpha - 4Da]^{1/2}} \quad (3-20)$$

$$\alpha = 1 + Da + \bar{K}e^{\lambda} \quad (3-21)$$

式中 R_{s_0} —— λ, Da, \bar{K} 的函数；

λ —— 与静电分布有关的参数；

M —— 修正系数。

其他符号同式(3-15)的说明。

(2) 引入外扩散有效因子 η_E ，求 R_{s_0} 值。 η_E 的定义可表示为：

$$\eta_E = \frac{\text{有外扩散影响时的实际反应速率}}{\text{无外扩散影响时的反应速率}} = \frac{R_{s_0}}{r_{s_0}} \quad (3-22)$$

将式(3-6)和式(3-9)代入上式，并引入无因次形式，可求得

$$\eta_E = \frac{\bar{C}_s(1+\bar{K})}{C_s + \bar{K}} \quad (3-23)$$

所以,有外扩散影响时的实际反应速率可由下式求出:

$$R_{S_1} = \eta_E r_{S_0} = \eta_E \frac{r_{m,x} C_{S_0}}{K_m + C_{S_0}} \quad (3-24)$$

从该式可以看出,当 $\eta_E \approx 1$ 时, $R_{S_1} \approx r_{S_0}$, 这表明固定化酶外表面处底物浓度与液相主体浓度相同,此时反应没有受到外扩散传质速率的限制影响;当 $\eta_E < 1$ 时,则表明由于外扩散传质速率较慢,已在某种程度上限制了反应速率;当 $\eta_E \ll 1$ 时,则认为此时的宏观反应速率实际上已由外扩散传质速率所控制。

因此,当反应过程为外扩散控制时, $Da \gg 1$, 并有:

$$\eta_E \approx \frac{1 + \bar{K}}{Da} \quad (3-25)$$

此时反应宏观速率可表示为:

$$R_{S_1} = k_L a C_{S_0} \quad (3-26)$$

为一级反应动力学特性。

当反应过程为反应动力学控制时, $Da \ll 1$, 并有:

$$\eta_E \approx 1 \quad (3-27)$$

$$R_{S_1} = r_{S_0} \quad (3-28)$$

为了使 η_E 尽可能增大到 1, 应控制操作条件使 Da 值尽可能小, 即提高 $k_L a$ 值。一个有效的方法是提高液体流速。在消除了外扩散的影响时所测得的宏观反应速率实际上反映了本征反应速率。

若引入无因次底物液相主体浓度为 $\beta = \frac{C_{S_0}}{K_m}$, 将不同 β 值

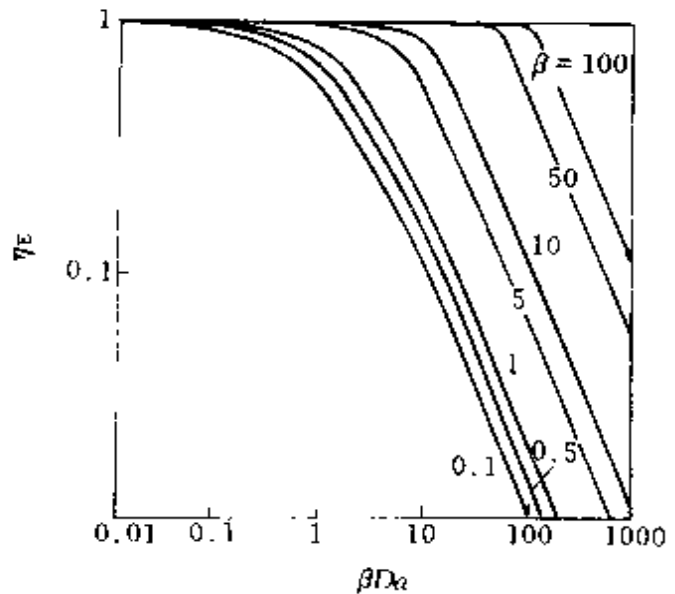


图 3-9 外扩散有效因子 η_E 与 Da 的关系曲线

下, η_E 与 Da 的关系表示如图 3-9。注意该图纵坐标为 η_E , 横坐标为 βDa , 从其所表示的意义分析, βDa 与 Da 是相一致的。

从图 3-9 可看出, 当 Da 和 β 已知, 可确定 η_E 值。但要已知 β 和 Da 值, 则需要已知其本征动力学参数 r_{\max} 和 K_m , 而这些参数的取得又是不能在受到外扩散影响的反应中求得的。除非已经知道其本征动力学参数, 否则采用上述方法确定 η_E 值是很困难的。对此, 可采用下述方法解决。

引入一可观察丹克莱尔准数, 以 \overline{Da} 表示; 其定义为

$$Da = \frac{R_s}{k_L a C_{S_0}} \quad (3-29)$$

式中 R_s 是在某固定化酶催化下实测的有外扩散影响时的反应速率, 即宏观反应速率。

在上述定义式中, 没有反应的本征动力学参数。因此用 \overline{Da} 来求 η_E 值要比用 Da 更为方便。

$$\text{因为} \quad R_s = \eta_E \frac{r_{\max} C_{S_0}}{K_m + C_{S_0}} = \eta_E \frac{r_{\max}}{1 + K} \quad (3-30)$$

$$\text{所以} \quad \overline{Da} = \frac{\eta_E r_{\max}}{(1 + K) k_L a C_{S_0}} = \frac{\eta_E Da}{1 + K} = \frac{\eta_E Da \beta}{1 + \beta} \quad (3-31)$$

在不同 $\beta(C_{S_0}/K_m)$ 值下, η_E 与 \overline{Da} 作图, 如图 3-10 所示。根据该图, 很容易由 \overline{Da} 值确定 η_E 值。

外扩散对反应过程速率的影响还可从 E-H 图看到。根据式 (3-24), 经整理可得到下式:

$$\frac{R_s}{r_{\max}} = \eta_E \frac{R_s K}{r_{\max}} \quad (3-32)$$

以 R_s/r_{\max} 对 $R_s K/r_{\max}$ 对应作图, 可得到如图 3-11 的标绘曲线。

从图 3-11 中可明显看出, 当 Da 值较小时, 为动力学控制, 该关系表示为一直线; 随着 Da 值的增大, 外扩散影响程度在增加, 关系曲线明显偏离直线。通过该图可检验外扩散对反应的限制程度。

对任意 n 级反应 $A \rightarrow R$, 其本征速率方程为 $r_s = k_r C_A^n$

式中 r_s 为 A 组分的反应速率; k_r 为反应速率常数; C_A 为 A 组分的浓度; n 为该反应的反应级数。

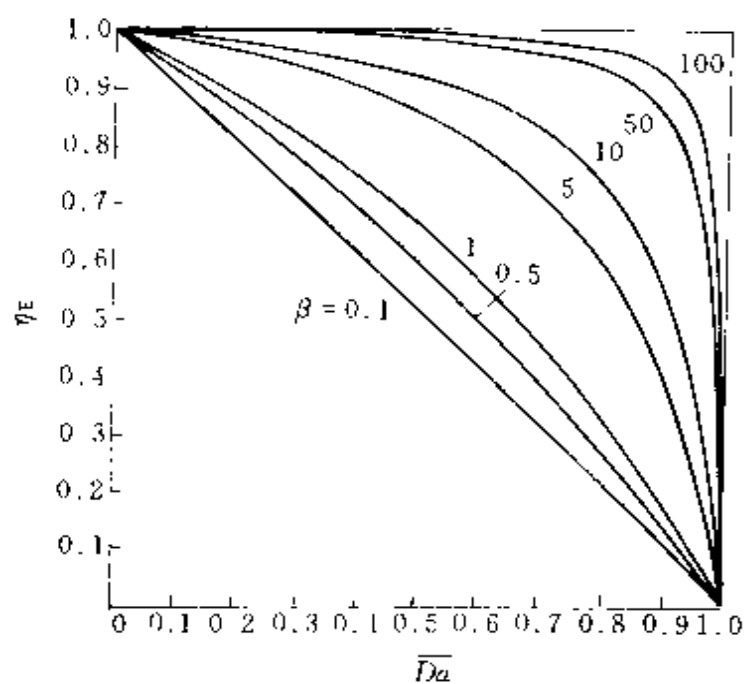


图 3-10 外扩散有效因子 η_E 与表观丹克莱尔准数关系曲线

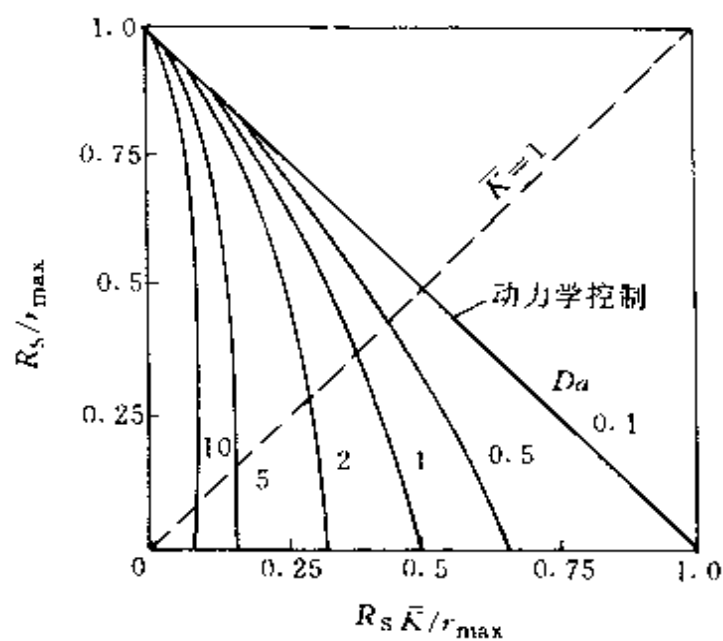


图 3-11 由于外扩散限制引起米氏动力学的偏离

令

$$Da = \frac{k_r C_a^{n-1}}{k_L a} \quad (3-33)$$

对一级不可逆反应, $n=1$, 则有:

$$\eta_E = \frac{1}{1 + Da} \quad (3-34)$$

对二级不可逆反应, $n=2$, 则有

$$\eta_F = \frac{1}{4Da^2} (\sqrt{1+4Da} - 1)^2 \quad (3-35)$$

不同级数的 $\eta_E \sim Da$ 关系表示在图 3-12 中。

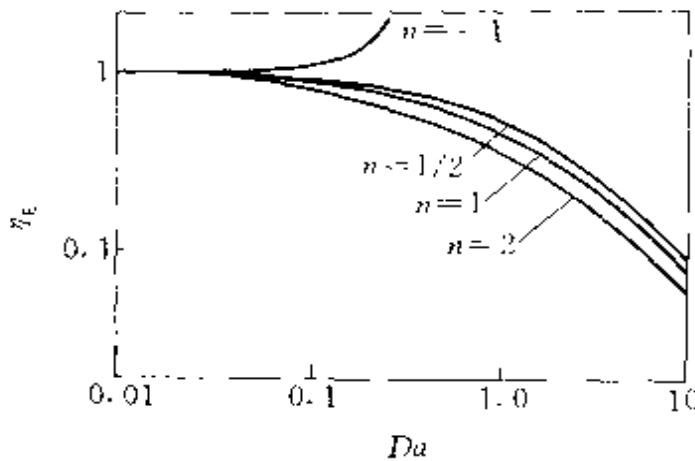


图 3-12 外扩散有效因子 η_E 与 Da 、 n 的关系

从图 3-12 中可以看出, 除反应级数为负值外, η_F 总是随着 Da 的增加而下降。并且反应级数愈大, 其下降程度愈严重, 此时愈应重视采取措施以降低外扩散阻力。对固定化酶催化反应, 当 $C_S \ll K_m$ 时, 显然更应注意消除外扩散传质速率的影响。

如果同时考虑固定化酶外表面上的外扩散和静电造成的分配效应的影响, 则其有效因子可表示为

$$\eta_{EF} = \frac{2(1+K)}{(\alpha^2 + \alpha - 4Da)^{1/2}} \quad (3-36)$$

$$\alpha = 1 + Da + K e^{\lambda} \quad (3-37)$$

3.2.2 外扩散限制与化学抑制同时存在的动力学

(1) 非竞争性化学抑制。若既有外扩散限制又有非竞争性化学抑制时, 其宏观动力学方程可表示为:

$$R_{S_1} = k_L a (C_{S_0} - C_{S_1}) = \frac{r_{max} C_{S_1}}{(K_m + C_{S_1}) \left(1 + \frac{C_{I_1}}{k_I} \right)} \quad (3-38)$$

引入无因次参数

$$\bar{C}_S = C_{S_1} / C_{S_0}, \quad \bar{K} = K_m / C_{S_0}, \quad Da = \frac{r_{max}}{k_L a C_{S_0}} \quad (3-39)$$

由式(3-44)可求出

$$(1 - \bar{C}_s) = \frac{Da}{\left[1 + \frac{C_1}{K_1}\right]} \frac{\bar{C}_s}{(K + \bar{C}_s)} - Da_1 \frac{C_s}{(\bar{K} + C_s)} \quad (3-40)$$

上述各式中, K_{S_1} 为同时存在外扩散限制和非竞争性抑制时的宏观速率; Da_1 为包括化学抑制影响的丹克莱尔准数。

若定义 η_{IE} 为同时存在化学抑制和外扩散限制的有效因子, 则可表示为

$$\eta_{IE} = \frac{\bar{C}_s(1 + \bar{K})}{(\bar{C}_s + \bar{K})} \frac{1}{\left[1 + \frac{C_1}{K_1}\right]} \quad (3-41)$$

$$\text{若无外扩散限制, } C_s = 1, \eta_{IE} = \eta_I = \frac{1}{1 + \frac{C_1}{K_1}} \quad (3-42)$$

$$\text{若无化学抑制, } C_1 = 0, \eta_{IE} = \eta_E = \frac{\bar{C}_s(1 + \bar{K})}{(\bar{C}_s + \bar{K})} \quad (3-43)$$

上述各式中, η_{IE} 为同时存在外扩散限制和化学抑制时的有效因子; η_I 为仅有化学抑制作用时的有效因子; η_E 为仅有外扩散限制作用时的有效因子。

将 $\eta_{IE} \sim Da \sim C_1/K_1$ 之关系作图, 如图 3-13 所示。从图中可以看出, 当 $Da < 0.1$ 时, 为动力学控制, 该曲线则表示了无外扩散限制, 而存在化学抑制时的关系曲线。若此时又无化学抑制, 则 $\eta_{IE} = 1$, 并且随着 C_1/K_1 的增加, η_{IE} 在急剧下降。

随着 Da 的增加, 外扩散限制作用增大。当 $Da < 50$ 时, 为外扩

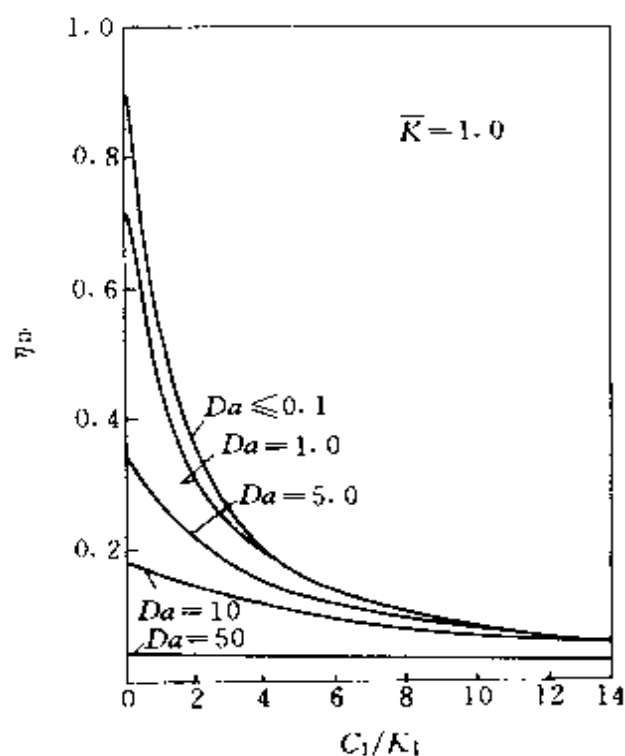


图 3-13 非竞争性抑制物对固定化酶活性的影响

散限制与化学抑制同时存在影响。在此范围内,当 C_l/K_1 一定时,随着 Da 的增加,曲线变得平缓,这表示随着外扩散限制程度的增大,化学抑制的程度相对在减小。

当 $Da > 50$ 时,外扩散成为控制步骤,此时化学反应速率很快。即使化学抑制作用较大,但它对 η_{1E} 的影响程度也小,因而此时 η_{1E} 与 C_l/K_1 的关系近似为一水平线,即 η_{1E} 与 C_l/K_1 值的变化无关,这表明外扩散的限制作用在一定程度上掩盖了化学抑制的影响,这种现象称之为化学与扩散的负协同效应。

对上述非竞争性抑制的讨论,同样适用于竞争性抑制、反竞争性抑制等。

(2) 底物抑制。若一固定化酶催化反应,除了存在有外扩散限制,同时还存在有底物抑制,此时有效速率根据式 (2-68) 和式 (3-7) 可表示为

$$R_{SS} = \frac{r_{max}}{1 - \frac{K_m}{C_{S1}} - \frac{C_{S1}}{K_{S1}}} - k_{1E} a (C_{S0} - C_{S1}) \quad (3-44)$$

定义下述无因次变量和参数: $\bar{C}_{S1} = C_{S1}/K_m$ 为无因次底物浓度; $\mu = r_{max}/(k_{1E} a K_m)$ 为底物模数,其物理意义与 Da 相同,只是具体定义式稍有差别; $K = K_m/K_{S1}$ 为无因次抑制常数, K 值愈大,抑制程度愈大。

上述定义中,底物模数也是表示了反应速率与外扩散传质速率的比值。 μ 值愈大,外扩散限制愈严重。将上述无因次变量和参数引入式 (3-44) 中,可得到下式

$$K\bar{C}_{S1}^2 + (1 - K\bar{C}_{S0})\bar{C}_{S1} + (1 + \mu - \bar{C}_{S0})\bar{C}_{S1} - \bar{C}_{S0} = 0 \quad (3-45)$$

其中 $\bar{C}_{S0} = C_{S0}/K_m$, 为液相主体无因次底物浓度,其他符号见式 (3-44)。

在一定的 \bar{C}_{S0} 和 μ 值下,由式 (3-45) 可得到三个不同的 \bar{C}_{S1} 值,即得到三个不同的速率。这一结果表示在图 3-14 中。当底物浓度增加时,固然可增加反应速率,但底物浓度增加太多,又会引起抑制作用,反应速率反而下降,因此在底物抑制时,反应速率曲线将是一具有最高点的曲线。另一方面,底物的传质速率与浓度呈直线关系(图中虚

线)。当体系为定常态时,反应速率与传质速率应是相等的。因此由两线的交点,可得到表面上三个特定的浓度,并据此可求出三个可能的定态速率。但中间一点的速率是不稳定的,而其余两个点所确定的定态速率才是稳定的。这是因为对中间一点,当表面底物浓度低于中间点值时,反应速率大于扩散速率,使表面浓度下降;当表面底物浓度高于中间点时,扩散速率大于反应速率,使表面浓度升高,因此外界的微小干扰都能使其偏离原来的定态操作点,而到达另一定态操作点。因此,中间点常称为不稳定的定态点,而另外两个定态点称为稳定的定态点。这是反应器操作动态特性的一个重要内容,将在第5章予以详细讨论。

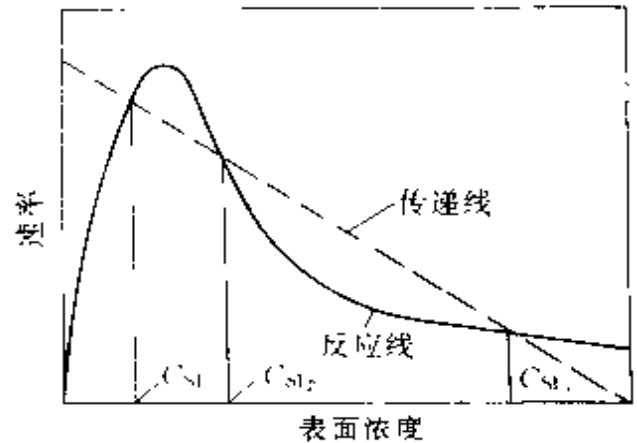


图 3-14 在非均相酶系统中,底物抑制和底物扩散相互作用的图示说明

(3) 产物抑制。如果是产物抑制,则需要考虑产物在微环境内的积累。常引入一外部积累因数 α_c 以描述固定化酶催化反应中产物抑制的特点。

$$\alpha_c = \frac{k_t K_m}{k_p K_p} \quad (3-46)$$

式中 k_p ——产物传质系数;

K_p ——产物抑制常数。

如果 $\alpha_c < 1$,表明产物传质速率较快,此时产物在酶表面上无积累; $\alpha_c > 1$,则表明产物在酶表面上有积累,会使有效反应速率下降。如图 3-15 所示。图中纵坐标以无因次有效速率 R_s/r_{max} 表示,横坐标以 \bar{C}_{S_0} 表示。该图是在 $\mu = 0.1$ 、 $C_p/K_p = 0.01$ 时绘制的。

从图 3-15 可看出, α_c 值愈大,产物在固定化酶外表面上积累愈多,因而有效速率下降;当 α_c 值很小时,表面无产物积累,曲线呈双曲线型,表明无产物抑制存在。

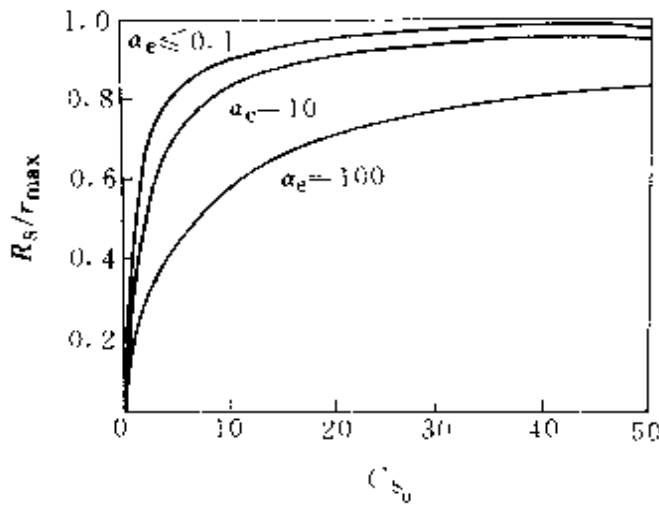


图 3-15 竞争性产物抑制时, 积累因子 α_e 和底物浓度 C_{S_0} 与无因次速率的关系

【例 3.1】 某酶固定在无微孔的球形载体上, 在排除外扩散影响的条件下测得其动力学参数值为 $r_{\max} = 4 \times 10^{-5} \text{ mol}/(\text{L} \cdot \text{s})$, $K_m = 2 \times 10^{-5} \text{ mol}/\text{L}$ 。现将该固定化酶颗粒放在一底物浓度为 $1 \times 10^{-5} \text{ mol}/\text{L}$ 的液相反应器中进行酶催化反应, 并已知在该操作条件下流体的体积传质系数为 $4 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ 。

试求 (1) 底物在固定化酶外表面上的反应速率为多少? (2) 该固定化酶的外扩散有效因子是多少?

解 (1) 根据式(3-14)、式(3-16)、式(3-17), 可分别求出

$$Da = \frac{r_{\max}}{k_L a C_{S_0}} = \frac{4 \times 10^{-5}}{4 \times 10^{-3} \times 1 \times 10^{-5}} = 10,$$

$$K = \frac{K_m}{C_{S_0}} = \frac{2 \times 10^{-5}}{1 \times 10^{-5}} = 2,$$

$$\alpha = Da + K - 1 = 10 + 2 - 1 = 11,$$

$$\bar{C}_S = \frac{\alpha}{2} \left[\sqrt{1 + \frac{4K}{\alpha^2}} - 1 \right] = \frac{11}{2} \left[\sqrt{1 + \frac{4 \times 2}{121}} - 1 \right] = 0.18$$

所以 $C_{S_1} = C_{S_0} \times \bar{C}_S = 0.18 \times 1 \times 10^{-5} = 0.18 \times 10^{-5} \text{ mol}/\text{L}$ 。

$$R_{S_1} = \frac{r_{\max} C_{S_1}}{K_m + C_{S_1}} = \frac{4 \times 10^{-5} \times 0.18 \times 10^{-5}}{2 \times 10^{-5} + 0.18 \times 10^{-5}} = 0.33 \times 10^{-5} \text{ mol}/(\text{L} \cdot \text{s})$$

(2) 根据式(3-36), 其外扩散有效因子为

$$\eta_E = \frac{\bar{C}_S(1+K)}{(\bar{C}_S+K)} = \frac{0.18(1+2)}{(0.18+2)} \approx 0.25$$

3.3 内扩散限制效应

对包埋或吸附于多孔性载体中的固定化酶, 其催化反应发生的主要部位是在颗粒的内部。内扩散的阻力主要来自于微孔内的阻力。这

种内扩散阻力的大小与固定化酶颗粒内部的物理结构参数、反应物系的性质等因素有关。

3.3.1 载体的结构参数与微孔内的扩散

在讨论内扩散对固定化酶催化反应动力学的影响时，常将均匀分布着酶的多孔球形颗粒或多孔膜做为研究的模型。因此要首先研究颗粒载体的结构参数和流体在载体微孔内的扩散。

(1) 载体结构参数。这些参数主要包括：

① 比表面积 S_g 。系指单位质量载体所具有的内表面积，可以 m^2/g 表示。通过实验测定，一般载体的比表面积可达 $200 \sim 300 m^2/g$ 。

② 微孔半径 \bar{r} 。多孔载体的内表面积与微孔孔径大小有关。孔径愈小，比表面积愈大。若单位质量载体所具有的孔体积以 V_g 表示，则平均微孔半径应为：

$$r = \frac{2V_g}{S_g} \quad (3-47)$$

③ 孔隙率 ϵ_p 。载体的孔隙率为某载体颗粒内孔隙所占有的体积与该颗粒体积之比值。因此 ϵ_p 值恒小于 1。它在数值上与 V_g 的关系是

$$\epsilon_p = V_g \rho_p \quad (3-48)$$

式中 ρ_p 为表观密度，它表示了单位颗粒体积中所含有固体的质量。

④ 颗粒当量直径。为了表示不同形状的固定化酶颗粒的大小，一般采用下述方法。

一种方法是以与颗粒相当的球体直径表示颗粒的大小。若以与颗粒体积相等的球体直径 d_v 表示，则称为体积相当直径；若以与颗粒外表面积相等的球体直径 d_s 表示，则称为外表面积相当直径；若以与颗粒的比表面积相等的球体直径 d_{s_g} 表示，则称为比表面积直径。对同一非球形颗粒，按上述不同的定义表示的当量直径在数值上是不同的。假定某任一形状的固定化酶颗粒，其体积为 V_p ，外表面积为 A_p ，则根据上述定义的各当量直径分别为

$$d_v = \left(\frac{6V_p}{\pi} \right)^{1/3}$$

$$d_s = \sqrt{\frac{A_p}{\pi}} \quad (3-49)$$

$$d_{s^*} = 6 \frac{d_s}{\psi}$$

另外一种方法是引入形状系数的概念，用 ψ 表示。其定义为与颗粒体积相同的球体的外表面积 A_s 与颗粒的外表面积 A_p 之比值，即

$$\psi = A_s / A_p \quad (3-50)$$

由于体积相同的几何体中以球体的外表面积为最小，因此一般是 $A_s < A_p$ ， $\psi < 1$ 。对于球形颗粒，则有 $\psi = 1$ 。 ψ 表示了任意颗粒的外形与球形相接近的程度，又可称为圆球度。

⑤ 颗粒密度。颗粒密度有三种定义方法，

$$\text{颗粒表观密度} \quad \rho_p = \frac{\text{固体的质量}}{\text{颗粒的体积}}$$

$$\text{颗粒真密度} \quad \rho_t = \frac{\text{固体的质量}}{\text{固体的体积}}$$

$$\text{颗粒堆密度} \quad \rho_b = \frac{\text{固体的质量}}{\text{床层的体积}}$$

上述三种密度的差别仅在于体积计算的不同，显然存在 $\rho_p > \rho_t > \rho_b$ 。

(2) 液体在微孔内的扩散。当微孔内不存在由压力差造成的层流流动时，则某一组分的扩散可以认为是以浓度差为推动力而进行的。对于气相分子在微孔内的扩散，则由于微孔半径 r 与分子运动的平均自由程 λ 的相对大小不同，微孔内的扩散机理可分为两种。

一种称为分子扩散，又称正常扩散。此种扩散的阻力来自于分子之间的碰撞，扩散速率主要受到分子之间相互碰撞的影响，而与微孔直径的大小无关。

另一种为努森 (Knudson) 扩散。其扩散过程的阻力主要来自于分子与孔壁之间的碰撞，而分子之间的碰撞影响较小。它常发生在微孔直径较小的情况。

微孔内某一组分所进行的扩散属于哪一种扩散机理，这与分子运动的平均自由程 λ 和微孔直径 r 的相对大小有关。当 $\lambda/2r \leq 1 \times 10^{-2}$

时，为分子扩散；当 $\lambda/2r \geq 10$ 时，为努森扩散。介于上述范围之间属于两种扩散机理并存。

当流体为液相时，由于液体的分子平均自由程很小，因而液体在微孔内的扩散机理一般视为分子扩散。其扩散速率由分子扩散系数决定，而液体的分子扩散系数一般要比气体的分子扩散系数小得多。

微孔内液体分子的扩散速率，用 Fick 定律描述：

$$N_s = -D_e \frac{dC_s}{dz} \quad (3-51)$$

式中 N_s ——组分 S 的扩散通量；

z ——沿扩散方向的距离；

D_e ——组分 S 在微孔内的有效扩散系数。

有些固定化酶颗粒，其颗粒内部的微孔是弯弯曲曲的，而不是整齐的圆柱形、微孔的大小也不均匀，微孔彼此之间可能封闭，也可能连通。因此与在主体溶液中进行的分子扩散相比，扩散阻力明显增大，其扩散系数要比分子扩散系数减小。

当固定化酶颗粒内微孔是任意取向，颗粒的孔隙率为 ϵ_p 时，对颗粒单位外表面积而言，微孔开口面积所占的分率亦为 ϵ_p ；各微孔之间由于会相互交叉，各微孔的形状和同一微孔的不同部位的截面积也存在差异，由于这些因素使得组分在颗粒内的扩散距离与在一圆柱形微孔的扩散距离显然是不同的，常引入一校正参数 τ_p ，称为曲折因子，或称为弯曲系数、沟路曲折系数等。同时还要考虑到对酶催化反应体系，有时底物或产物可能为大分子组分，此时微孔孔壁会对这些大分子组分扩散产生一定的阻碍作用，常用位阻因子 H 表示。因此，有效扩散系数 D_e 与分子扩散系数的关系式为：

$$D_e = D \frac{\epsilon_p}{\tau_p} H \quad (3-52)$$

式中 ϵ_p ——固定化酶颗粒的孔隙率，其值为 0~1；

τ_p ——曲折因子，其值一般为 1.4~7；

H ——位阻因子，其值为 0~1。

位阻因子 H 表示了微孔孔壁与扩散溶液之间的空间阻碍作用。当

微孔半径比溶液分子半径大得多时，则 H 近似为 1，式 (3-52) 中可不包括 H 参数。但在某些情况下，例如蛋白质溶液扩散，其半径与微孔半径几乎为同一数量级，此时，位阻因子 H 就变得重要。这时的扩散又常称为受阻扩散。

$$H = f(\gamma) \quad (3-53)$$

式中 γ ——溶液分子半径与微孔半径之比。

从式 (3-52) 可以看出，在微孔内进行扩散时，其扩散系数要比在液相主体中扩散明显减小。对于常用固定化酶凝胶， D_e/D 大约为 0.5~0.8。但对于微胶囊固定化酶，由于颗粒内亦为液相，因此 $D_e \approx D$ 。表 3-2 列出了某些底物的水溶液在生物凝胶中的有效扩散系数值。

表 3-2 某些底物水溶液在生物凝胶中的有效扩散系数值

底物	生物凝胶	浓度 % (质量)	温度 / (°C)	有效扩散系数 / (m ² /s)
葡萄糖	海藻酸钙	2	25	6.1×10^{-10}
乙醇	海藻酸钙	2	25	1.0×10^{-9}
蔗糖	明胶	0	5	2.85×10^{-10}
蔗糖	明胶	3.8	5	2.09×10^{-10}
蔗糖	明胶	5.7	5	1.86×10^{-10}
蔗糖	明胶	7.6	5	1.35×10^{-10}
乳糖	明胶	25	5	0.37×10^{-10}
色氨酸	海藻酸钙	2	30	6.67×10^{-10}

3.3.2 微孔内反应组分的浓度分布

在微孔内，由于内扩散阻力的存在，反应组分在微孔内的浓度分布是不均匀的。对底物，它在固定化酶颗粒或膜的外表面处浓度最高，而在颗粒中心处浓度最低，形成了一个由表及里的逐渐降低的浓度分布，而反应产物的浓度分布则与之相反（参看图 3-5）。又由于在微孔内扩散与反应同时进行，因而沿着微孔方向，底物的浓度及反应速率同时在下降。因此要描述浓度及反应速率的变化规律，必须首先建立包括扩散与反应在内的质量衡算方程式。由于内扩散状况与固定化酶

颗粒几何形状有关，并且固定化酶颗粒多为球形和片状（膜状），下述讨论将以球形固定化酶为主，同时简要介绍片状的主要结果。

(1) 质量衡算方程。一普遍而完整的质量衡算方程应表示为

$$\begin{aligned} & \left[\begin{array}{l} \text{流入系统} \\ \text{的质量} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{l} \text{离开系统} \\ \text{的质量} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{l} \text{系统内产生} \\ \text{的质量} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{l} \text{系统内消耗} \\ \text{的质量} \end{array} \right] \\ & = \left[\begin{array}{l} \text{系统内累积} \\ \text{的质量} \end{array} \right] \end{aligned} \quad (3-54)$$

对球形颗粒，常取一壳层，做此壳层的质量衡算，因而称为壳层质量衡算。如图 3-16 所示。

球形颗粒半径为 R ，在距球心为 r 处取一壳层，其厚度为 Δr 。底物通过微孔由外向内扩散，且通过此壳层。底物在 $(r + \Delta r)$ 处扩散进入，在 r 处离开，并在壳层内发生酶催化反应而消耗底物。

在推导其质量衡算方程时，做如下几点假设。

① 固定化酶颗粒是等温的。虽然温度对反应速率有着很大的影响，但一般情况下，固定化酶颗粒内的温度梯度是可以忽略的，假定颗粒内等温不仅可行，而且也简化了模型。

② 传质机理仅为扩散效应。一般假定颗粒对流体是不能渗透的，微孔内流体的对流流动也是可以忽略的。这个假设对很多固定化酶是正确的，但也有例外。若有对流流动存在，模型要予以修正。

③ 扩散效应用费克定律描述。有效扩散系数为一常数。换言之， D_e 不依位置的不同而变化。

④ 颗粒是均匀的，不仅其活性分布均匀，载体也是均匀的。

⑤ 底物分配系数是 1。对大部分底物和固定化酶，该假设也是正确的。

⑥ 固定化酶颗粒处于稳态之下。即催化活性无变化。

⑦ 底物和产物的浓度仅沿 r 方向而变化。

根据上述假设，对图 3-16 中壳层做质量衡算方程。在方程 (3-54) 中，第 1、2 两项用费克定律表示，且 D_e 为常数；第 3 项对底物讲为零，第 4 项以底物消耗速率乘以壳层体积表示；第 5 项为零。故

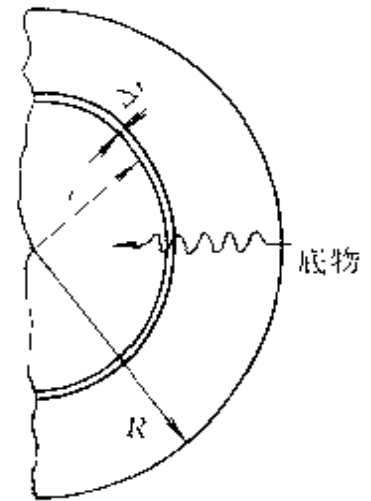


图 3-16 对球形颗粒的壳层做衡算

可列出:

$$D_e \left(\frac{dC_s}{dr} 4\pi r^2 \right) \Big|_{r-\Delta r} - D_e \left(\frac{dC_s}{dr} 4\pi r^2 \right) \Big|_r = 4\pi r^2 r_s \Delta r \quad (3-55)$$

取 $\Delta r \rightarrow 0$, 将上式重新整理为:

$$4\pi(r+dr)^2 D_e \left[\frac{dC_s}{dr} + \frac{d}{dr} \left(\frac{dC_s}{dr} \right) dr \right] - 4\pi r^2 D_e \frac{dC_s}{dr} = 4\pi r^2 dr r_s \quad (3-56)$$

除以 $4\pi r^2$, 消去 $(dr)^2$, 得到:

$$D_e \left(\frac{d^2 C_s}{dr^2} + \frac{2}{r} \frac{dC_s}{dr} \right) = r_s \quad (3-57)$$

要得到具体结果, 上述方程的解法显然与动力学 r_s 的形式有关。根据 M-M 方程的特点, 并力争能得到解析的结果, 有必要分别对一级 ($C_s \ll K_m$)、零级 ($C_s \gg K_m$) 和 M-M 反应三种动力学情况下的浓度分布进行讨论。

(2) 一级动力学的浓度分布。对方程 (3-57), 若引入: $\bar{r} = r/R$,

$\bar{C}_s = C_s/C_{s_0}$, 并令: $\phi_1 = \frac{R}{3} \sqrt{\frac{k_1}{D_e}}$, $r_s = k_1 C_s$, 则该方程式变为:

$$\frac{d^2 \bar{C}_s}{d\bar{r}^2} + \frac{2}{\bar{r}} \frac{d\bar{C}_s}{d\bar{r}} = 9\phi_1^2 \bar{C}_s \quad (3-58)$$

边界条件: $\bar{r} = 1$ 处, $\bar{C}_s = 1$;

$$\bar{r} = 0 \text{ 处, } \frac{d\bar{C}_s}{d\bar{r}} = 0。$$

上述边界条件又称对称条件, 所求浓度分布为对称分布。

定义 $\bar{\alpha} = \bar{r} C_s$

则式 (3-58) 可表示为:

$$\frac{d^2 \bar{\alpha}}{d\bar{r}^2} = 9\phi_1^2 \bar{\alpha} \quad (3-59)$$

该方程通解为:

$$\bar{\alpha} = C_1 \cosh(3\phi_1 \bar{r}) + C_2 \sinh(3\phi_1 \bar{r})$$

或
$$\bar{C}_s = \frac{1}{\bar{r}} [C_1 \cosh(3\phi_1 \bar{r}) + C_2 \sinh(3\phi_1 \bar{r})] \quad (3-60)$$

式中 C_1 和 C_2 均为积分常数。根据边界条件求出 C_1 和 C_2 。

当 $\bar{r} = 0$, $\frac{d\bar{C}_s}{d\bar{r}} = 0$, 则 $C_1 = 0$

当 $\bar{r}=1$, $\bar{C}_s=1$, 则 $C_2 = \frac{1}{\sinh 3\phi_1}$

所以

$$\bar{C}_s = \frac{\sinh(3\phi_1 \bar{r})}{\bar{r} \sinh(3\phi_1)}$$

或表示为

$$C_s = C_{s_0} \frac{R \sinh\left(3\phi_1 \frac{r}{R}\right)}{r \sinh(3\phi_1)} \quad (3-61)$$

上述式中, C_{s_0} 、 R 、 ϕ_1 均为已知, 可求得 C_s - r 的具体结果。式中 $\sinh(x)$ 称为双曲正弦函数。具体定义式为 $\sinh(x) = \frac{e^x - e^{-x}}{2}$ 。

图 3-17 表示了不同 ϕ 值时 \bar{C}_s - \bar{r} 的关系曲线, 即浓度分布图。

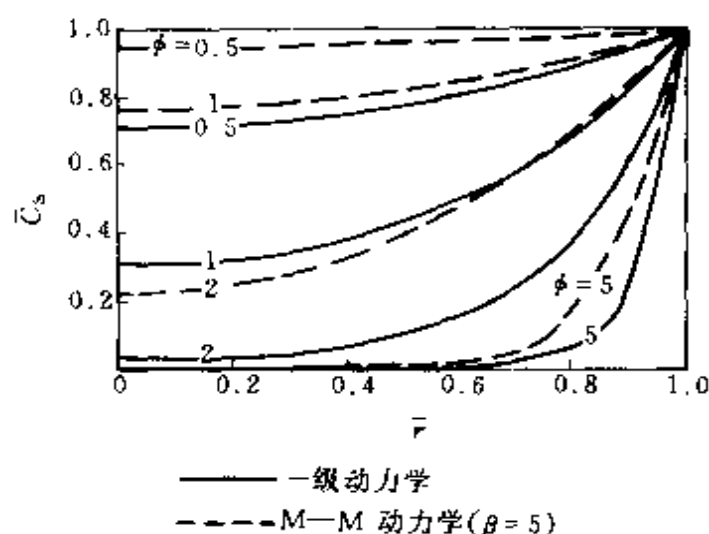


图 3-17 不同 ϕ 值时底物浓度分布图

对 M-M 反应, 当 $C_s \ll K_m$ 时, 可做一级反应处理, 此时 $k_1 = \frac{r_{\max}}{K_m}$ 。

从图 3-17 可以看出, 当 ϕ_1 值较小时, 例如 $\phi_1 \leq 1$, 扩散速率要明显快于反应速率, 因此底物可以扩散进入颗粒中心, 并且使底物浓度沿 r 方向的分布是平坦的。当 ϕ_1 值较大时, 例如 $\phi_1 \geq 5$, 扩散速率要明显慢于反应速率, 大部分底物在接近颗粒外表面处消耗掉。例如当 $\phi_1 = 5$ 时, 在 $r \leq 0.6$ 处, 底物浓度接近于零。

(3) 零级动力学的浓度分布。根据方程 (3-57)，对零级反应动力学，可得到下式：

$$\frac{d^2 C_s}{dr^2} + \frac{2}{r} \frac{dC_s}{dr} = \frac{k_0}{D_e} \quad (3-62)$$

对 M M 反应，当 $C_s \gg K_m$ 时，可做零级反应处理。此时 $k_0 = r_{max}$ 。

对零级反应动力学，主要特点是其反应速率与底物浓度高低无关，而仅与 k_0 有关。但是，也应当明确，要发生反应，必须有底物存在，若无底物存在（即 $C_s = 0$ ），反应也不会发生。如果由于内扩散阻力较大，造成了固定化酶颗粒内部在球心 0 到某一位置 R_c 处这之间无底物存在，即 $C_s = 0$ ，这同样对固定化酶催化能力产生了影响。故方程 (3-62) 仅对 $C_s > 0$ 时才能成立。

对方程 (3-62)，同样引入 $\alpha = rC_s$ ，则有

$$\frac{d^2 \alpha}{dr^2} = \frac{k_0}{D_e} r \quad (3-63)$$

积分之，得到

$$\alpha = \frac{1}{6} \frac{k_0}{D_e} r^3 + C_1 r + C_2$$

因此

$$C_s = \frac{1}{6} \frac{k_0}{D_e} r^2 + C_1 + \frac{C_2}{r} \quad (3-64)$$

边界条件：

$$r=0, \quad \frac{dC_s}{dr} = 0$$

$$r=R, \quad C_s = C_{s_0}$$

根据第 1 个边界条件， $C_2 = 0$ ；根据第 2 个边界条件有：

$$C_1 = C_{s_0} - \frac{1}{6} \frac{k_0}{D_e} R^2$$

因此方程 (3-63) 的解

$$\begin{aligned} C_s &= C_{s_0} + \frac{k_0 R^2}{6 D_e} \left(\frac{r^2}{R^2} - 1 \right) \\ &= C_{s_0} + \frac{k_0}{6 D_e} (r^2 - R^2) \end{aligned} \quad (3-65)$$

上述方程是当 $C_s > 0$ 时才是正确的。通过上式可求出当 $C_s = 0$ 时

的临界半径 R_c 值。

当 $C_s=0$ 时, 式 (3-65) 可变为:

$$\frac{1}{6} \frac{k_0 R^2}{\bar{C}_{S_0} D_c} \left\{ \frac{R_c^2}{R^2} - 1 \right\} + 1 = 0 \quad (3-66)$$

所以

$$\frac{R_c}{R} = \sqrt{1 - \frac{6C_{S_0} D_c}{k_0 R^2}} \quad (3-67)$$

R_c 称为临界半径, 在 $r < R_c$ 处无底物存在, 也无反应发生。在某一扩散条件下可通过式 (3-67) 确定该值。显然在 $0 < r < R_c$ 处, 催化剂并未得到利用。为了节省固定化酶, 其颗粒大小应做成保证在球心处, 即 $r=0$ 处, 正好 $C_s=0$, 此时求得半径称为最大颗粒半径 R_{max} :

$$R_{max} = \sqrt{\frac{6D_c C_{S_0}}{k_0}} \quad (3-68)$$

只要颗粒半径 $R \leq R_{max}$, 就可保证颗粒内 $C_s > 0$ 。

(4) M-M 动力学的浓度分布。根据方程 (3-57), 对 M-M 反应动力学, 可得到下式:

$$D_c \left(\frac{d^2 C_s}{dr^2} + \frac{2}{r} \frac{dC_s}{dr} \right) = r_s = \frac{r_{max} C_s}{K_m + C_s} \quad (3-69)$$

引入无因次参数 $\bar{r} = r/R$, $\bar{C}_s = C_s/C_{S_0}$, $\beta = C_{S_0}/K_m$

$$\phi_m = \frac{R}{3} \sqrt{\frac{r_{max}}{K_m D_c}} \quad (3-70)$$

则式 (3-69) 可表示为

$$\frac{d^2 \bar{C}_s}{d\bar{r}^2} + \frac{2}{\bar{r}} \frac{d\bar{C}_s}{d\bar{r}} = 9\phi_m^2 \frac{\bar{C}_s}{1 + \beta \bar{C}_s} \quad (3-71)$$

式 (3-71) 的边界条件为

球形颗粒中心处 $\left. \frac{d\bar{C}_s}{d\bar{r}} \right|_{\bar{r}=0} = 0$;

球形颗粒外表面处 $\bar{C}_s|_{\bar{r}=1} = 1$ 。

在式 (3-71) 中, 它描述了球形固定化酶微孔内底物浓度 \bar{C}_s 与扩散距离 \bar{r} 的关系。该方程只能用数值法求解。得到如图 3-18 所示的关系曲线。

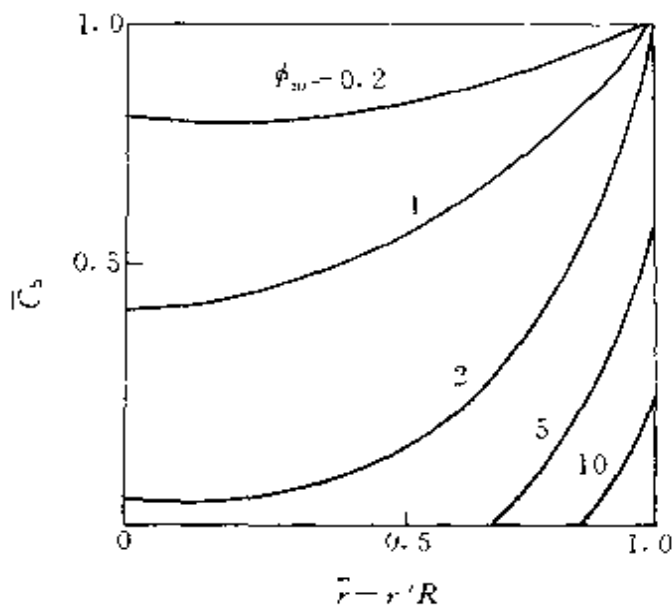


图 3-18 球形固定化酶颗粒内底物浓度分布与 ϕ_m 、 \bar{r} 关系

从图 3-18 可以明显看出, 对同一位置 r 处, 随着 ϕ_m 值的增加, 底物浓度 C_s 在减少; 对同一 ϕ_m 值, 当 $r=1$, $C_s=1$, 当 $r=0$, C_s 为最低值。前者表明, 随着内扩散阻力的增大, 底物浓度下降; 后者表明, 愈往颗粒内部, 底物浓度愈小。

并且当扩散速率较快时, C_s 可以达到颗粒中心处, 此时 $R_c=0$; 当扩散速率较慢时, 底物在还未达到颗粒的中心处已反应掉, 在 $r < R_c$ 处, $C_s=0$, 此

时 $R_c > 0$ 。

需要指出的是在本节讨论内扩散时, 忽略掉外扩散的影响, 因此在所有公式中都使 $C_s = C_{s_0}$ 。

表 3-3 汇总了求球形和片状固定化酶颗粒内在稳态下不同动力学时浓度分布的解析式。

表 3-3 不同动力学的稳态浓度分布公式

反应动力学	固定化酶颗粒	浓度分布公式
-级反应 $r_s = k_1 C_s$	球形	$C_s = C_{s_0} \frac{R \sinh\left\{r \sqrt{k_1/D_c}\right\}}{r \sinh\left\{R \sqrt{k_1/D_c}\right\}}$ (3-61)
	片状	$C_s = C_{s_0} \frac{\cosh\left\{l \sqrt{k_1/D_c}\right\}}{\cosh\left\{L \sqrt{k_1/D_c}\right\}}$ (3-72)
零级反应 $r_s = k_0$	球形	$C_s = C_{s_0} + \frac{k_0}{6D_c} (r^2 - R^2)$ (3-65)
	片状	$C_s = C_{s_0} + \frac{k_0}{2D_c} (l^2 - L^2)$ (3-73)

① L 为片状厚度, l 为由内表面到某一厚度的距离。

3.3.3 内扩散有效因子

前面讨论的仅是在球形和膜片形固定化酶内底物浓度的分布，它反映了内扩散阻力对浓度分布的影响，我们的目的是要求出内扩散阻力对反应速率的影响，要能定量地算出在有内扩散影响时的有效反应速率。为此现在采用的方法是引入内扩散有效因子的概念来进行处理。

内扩散有效因子 η 的定义为

$$\eta = \frac{\text{颗粒内的实际有效反应速率}}{\text{颗粒内无浓度梯度时的反应速率}} = \frac{R_s}{R_{s_i}} \quad (3-74)$$

式中 R_{s_i} ——颗粒内底物浓度均为其颗粒外表面处的浓度 C_{s_i} 时的反应速率，如果不存在外扩散影响，则 $C_{s_i} = C_{s_0}$ ，即表面浓度等于液相主体浓度，因此 $R_{s_i} = R_{s_0}$ 。

有了式 (3-74)，可方便地求出有内扩散影响时的反应速率：

$$R_s = \eta R_{s_i} \quad (3-75)$$

在无外扩散影响时，又可表示为

$$R_s = \eta R_{s_0} \quad (3-76)$$

下面将讨论 η 的计算。

(1) 一级动力学的有效因子。当无内外扩散影响存在时，一球形固定化酶总的本征反应速率可表示为：

$$R_{s_0} = \frac{4}{3} \pi R^3 k_1 C_{s_0} \quad (3-77)$$

根据式 (3-75)，若要求 η 值，必先要求出 R_s 值。颗粒内任一点实际进行的反应速率取决于 k_1 和该点的底物浓度，而整个颗粒的催化反应速率则是这些各点速率的总和。

对一球形固定化酶颗粒，在稳态条件下，颗粒内实际有效反应速率应等于从颗粒外表面向微孔内的扩散速率，即

$$R_s = 4\pi R^2 D_c \left. \frac{dC_s}{dr} \right|_{r=R} \quad (3-78)$$

根据式 (3-76)、式 (3-77) 和式 (3-78)，可得到：

$$\eta = \frac{3}{R} \frac{D_c}{k_1 C_{s_0}} \left. \frac{dC_s}{dr} \right|_{r=R} \quad (3-79)$$

根据式 (3-61)，将其变化为：

$$C_s = \frac{C_{s0} R \sinh\left(3\phi \frac{r}{R}\right)}{\sinh(3\phi)} \quad (3-80)$$

因此

$$\left. \frac{dC_s}{dr} \right|_{r=R} = \frac{C_s}{R} \left[\frac{1}{\tanh(3\phi)} - \frac{1}{3\phi} \right] \quad (3-81)$$

其中 $\tanh(x) = \frac{e^x - e^{-x}}{e^x + e^{-x}}$ ，双曲正切函数，将式(3-81)代入式(3-79)

$$\eta_1 = \frac{1}{\phi_1} \left[\frac{1}{\tanh(3\phi_1)} - \frac{1}{3\phi_1} \right] \quad (3-82)$$

式中 η_1 ——球形固定化酶催化一级不可逆反应时的有效因子。

对膜状固定化酶，按上述同样方法可求出一级动力学的有效因子为

$$\eta_1 = \frac{\tanh(\phi_1)}{\phi_1} \quad (3-83)$$

$$\phi_1 = L \sqrt{\frac{k_1}{D_e}} \quad (3-84)$$

式中 L ——膜状固定化酶的特性尺寸。当酶膜与底物单面接触时， L 为其总厚度；当酶膜两面均与底物接触时， L 为其总厚度的一半。

对圆柱状固定化酶，其有效因子可表示为

$$\eta_1 = \frac{1}{\phi_1} \frac{I_1(2\phi_1)}{I_0(2\phi_1)} \quad (3-85)$$

式中 I_0 、 I_1 ——分别为零级和一级贝塞尔函数。

$$\phi_1 = \frac{R}{2} \sqrt{\frac{k_1}{D_e}} \quad (3-86)$$

式中 R ——圆柱体半径。

不同形状固定化酶的 η_1 - ϕ_1 关系曲线表示在图 3-19 中。

从图 3-19 可以明显看出，随着梯勒模数 ϕ_1 的增加，有效因子 η_1 下降，说明内扩散对速率的限制效应增大；当 $\phi_1 < 0.4$ 时， $\eta_1 \approx 1$ ，为动力学控制；当 $\phi_1 > 3$ 时， $\eta_1 \approx \frac{1}{\phi_1}$ ，为内扩散控制。当 $0.4 < \phi_1 < 3$ 时，

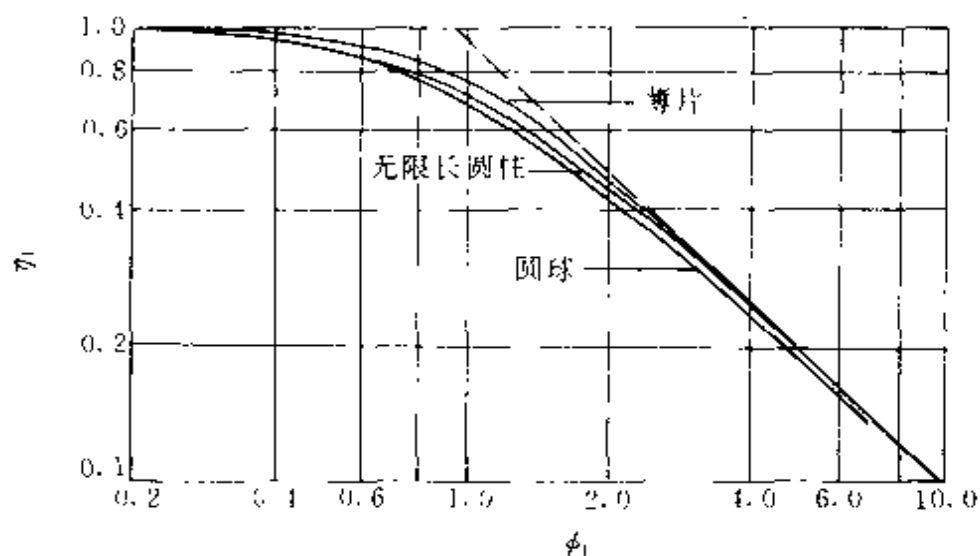


图 3-19 不同形状固定化酶的 η_1 - ϕ_1 关系

为过渡区。

从图中还可以看出，固定化酶的几何形状的不同，对其 η_1 与 ϕ_1 的关系的影响实际上是不大的，因此图上三条曲线几乎重合。特别是当 ϕ_1 值较小或较大时更为明显。只有在 $0.4 < \phi_1 < 3$ 时，三者才有较明显的差别，但也不过为 10%~20%。因此，在计算不同几何形状固定化酶催化一级不可逆反应的有效因子时，只要先分别求出不同形状时的梯勒模数值，再用式 (3-82) 就可求出不同形状固定化酶的有效因子，这样做不会带来大的误差。

(2) 零级动力学的有效因子。根据零级反应的动力学特点，只要在整个球形固定化酶颗粒内有底物存在，而不管其浓度高低，都存在有：

$$R_s = R_{s_0} = \frac{4}{3} \pi R^3 k_0 \quad (3-87)$$

$$\text{此时} \quad \eta_0 = 1 \quad (3-88)$$

如果由于内扩散限制的影响，使得底物在颗粒某一位置，即 R_c 处， $C_s = 0$ ，反应速率也为零。常将 $\frac{4}{3} \pi R_c^3$ 称为该球形颗粒的无活性区。此时，该球形颗粒实际反应速率应为：

$$R_s = \frac{4}{3} \pi (R^3 - R_c^3) k_0 \quad (3-89)$$

因此
$$\eta_0 = \frac{\frac{4}{3}\pi(R^3 - R_c^3)k_c}{\frac{4}{3}\pi R^3 k_c} = 1 - \left(\frac{R_c}{R}\right)^3 \quad (3-90)$$

将式 (3-67) 代入式 (3-90), 有:

$$\eta_0 = 1 - \left[1 - \frac{6D_c C_{s_2}}{R^2 k_c}\right]^{\frac{1}{3}} \quad (3-91)$$

也可以通过定义一 Thiele 模数 ϕ_0 来求 η_0 值。对球形固定化酶:

$$\phi_0 = \frac{R}{3\sqrt{2}} \sqrt{\frac{k_1}{D_c C_s}} \quad (3-92)$$

当 $0 < \phi_0 \leq 0.577$ 时, 颗粒内 $C_s > 0$, $\eta_0 = 1$;

当 $\phi_0 > 0.577$ 时, η_0 与 ϕ_0 有下述关系:

$$\eta_0 = 1 - \left[\frac{1}{2} + \cos\left(\frac{\phi + 4\pi}{3}\right) \right]^{\frac{1}{3}} \quad (3-93)$$

其中
$$\phi = \cos^{-1}\left(\frac{2}{3\phi_0^2} - 1\right) \quad (3-94)$$

随着 ϕ_0 的增大, η_0 下降。图 3-20 表示了对零级反应动力学的 η_0 - ϕ_0 关系曲线。

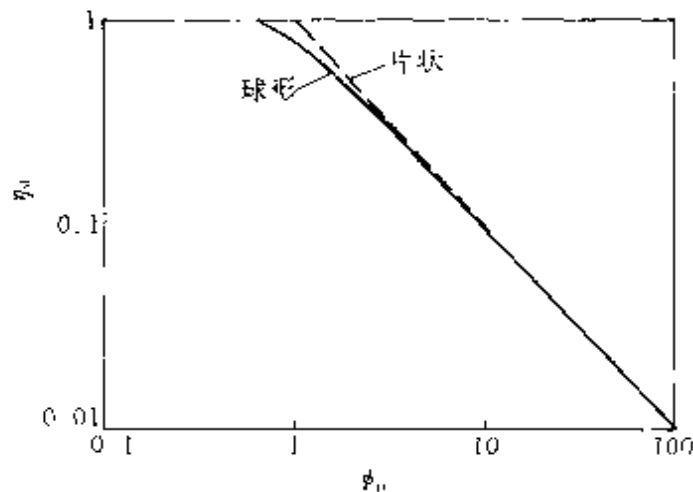


图 3-20 零级动力学时 η_0 - ϕ_0 关系曲线

对片状固定化酶, 其结果见表 3-4。

(3) M-M 动力学的有效因子。由于 M-M 反应动力学的非线性的

特点，我们既不能求得颗粒内浓度分布的解析解，也不能求得有效因子 η_M 的解析解。一般仍采用数值解方法。图 3-21 即为对片状固定化酶催化剂进行 M-M 反应动力学时 η_M 与 ϕ_m 的关系曲线， ϕ_m 的定义见表 3-4，该曲线通过数值解而得到。

表 3-4 不同动力学与几何形状时 η - ϕ 关系式

反应动力学	固定化酶形状	η - ϕ 关系式
一级动力学 $r_s = k_1 C_s$	球形	$\eta_1 = \frac{1}{\phi_1} \left[\frac{1}{\tanh(3\phi_1)} - \frac{1}{3\phi_1} \right]$ (3-82)
	片状	$\eta_1 = \frac{\tanh(\phi_1)}{\phi_1}$ (3-95)
零级动力学 $r_s = k_0$	球形	$\eta_0 = 1 \quad 0 < \phi_0 \leq 0.577$
		$\eta_0 = 1 - \left[\frac{1}{2} + \cos\left(\frac{\phi + 4\pi}{3}\right) \right]^3$ (3-93)
	$\Psi = \cos^{-1} \left\{ \frac{2}{3\phi_0^2} - 1 \right\} \quad \phi_0 > 0.577$ (3-94)	
	片状	$\eta_0 = 1 \quad 0 < \phi_0 \leq 1$ (3-96)
$\eta_0 = \frac{1}{\phi_0} \quad \phi_0 > 1$ (3-97)		

从图中可以看出， η_M 值介于 η_0 和 η_1 之间，准确的结果取决于 β

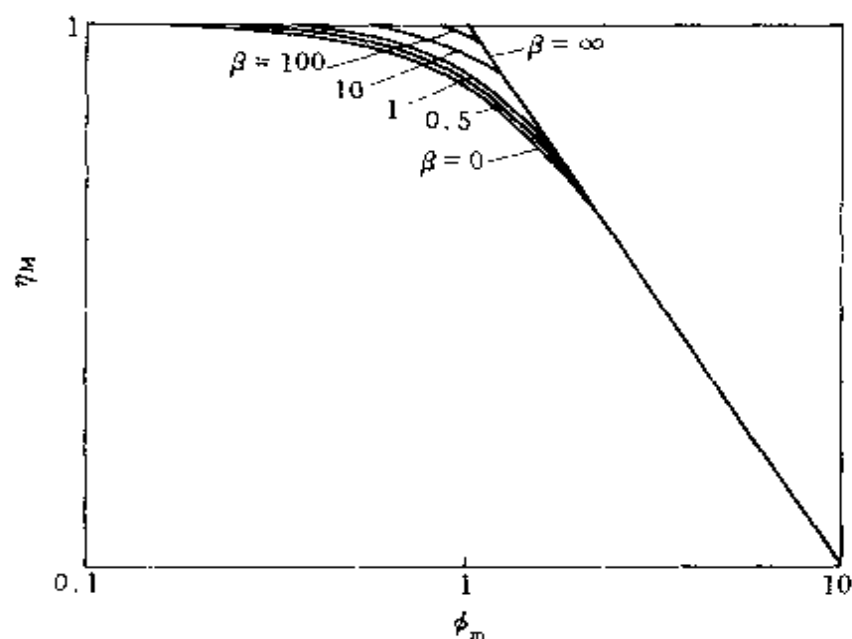


图 3-21 片状固定化酶时 η_M - ϕ_m 关系曲线

值, $\beta = \frac{C_{S_0}}{K_m}$ 。当 $\beta \approx \infty$, 为零级动力学特点; 当 $\beta = 0$, 则为一级动力学特点。当为上述两种情况时, 当然可分别采用前面讨论的对这两种动力学的解析解来求有效因子值。当 β 值处于上述两种情况之间, 则需要用数值解来求其 η_M 值, 或者采用近似公式来求其 η_M 值。

Kobayashi 等提出一近似解法为

$$\eta_M = \frac{\eta_0 + a \left(\frac{K_m}{C_{S_0}} \right)^b \eta_1}{1 + a \left(\frac{K_m}{C_{S_0}} \right)^b} \quad (3-98)$$

对膜状固定化酶, $a = b = 1$;

对球形固定化酶, $a = 2.6$, $b = 0.8$ 。

上式中, η_0 为零级动力学有效因子, 求其 ϕ_0 值时, 令 $k_0 = r_{\max}$; η_1 为一级动力学有效因子, 求其 ϕ_1 值时, $k_1 = r_{\max}/K_m$ 。

计算结果表明, 用式 (3-98) 来计算, 对片状固定化酶, 求得的 η_M 值最大偏差为 0.089, 对球形固定化酶, η_M 值最大偏差为 0.09。

当然, 如果已经有了 $\eta_M - \phi_m$ 的曲线图, 则可利用表 3-5 提供的求 ϕ_m 公式, 直接求出 ϕ_m 值, 再利用有关图, 即可求出 η_M 值。

表 3-4 列出了不同动力学和几何形状时有效因子的计算公式。

(4) 梯勒模数的计算。在以上的讨论中, 我们引入了一个重要无因次模型参数, 即梯勒模数 ϕ (即 Thiele modulus)。

ϕ 的物理意义可表示为:

$$\phi = \frac{\text{表面浓度下的反应速率}}{\text{内扩散速率}} \quad (3-99)$$

ϕ 值的大小表示了以固定化酶外表面的浓度为基准的反应速率与内扩散传质速率的相对大小。 ϕ 值愈大, 表示内扩散传质速率相对于反应速率较慢, 内扩散阻力对反应速率的限制程度就大; 反之, ϕ 值愈小, 内扩散传质速率较快, 对反应速率的限制程度愈小。因此可通过 ϕ 值的大小来判断内扩散阻力对酶催化反应的影响程度。

对任何反应动力学和任何形状的固定化酶, 一普遍化的梯勒模数 ϕ 的定义式如下:

$$\phi = \frac{V_P r_s(C_s)}{A_P \sqrt{2} \int_{C_{s,q}}^{C_s} D_e r_s dC_s} \quad (3-100)$$

式中 V_P ——固定化酶颗粒体积；

A_P ——固定化酶颗粒外表面积；

C_s ——固定化酶颗粒外表面底物浓度；

$r_s|_{C_s}$ $C_s=C_s$ 时的反应速率；

D_e ——底物的有效扩散系数；

$C_{s,q}$ ——平衡时底物浓度，对不可逆反应， $C_{s,q}=0$ 。

根据上式，可求出不同动力学和不同形状的固定化酶催化反应的梯勒模数计算公式，具体见表 3-5。

表 3-5 不同动力学和几何形状时 ϕ 的计算公式

反应动力学	固定化酶形状	梯勒模数计算式
一级动力学 $r_s = k_1 C_s$	普遍式	$\phi_1 = \frac{V_P}{A_P} \sqrt{\frac{k_1}{D_e}} \quad (3-101)$
	球形	$\phi_1 = \frac{R}{3} \sqrt{\frac{k_1}{D_e}} \quad (3-102)$
	片状	$\phi_1 = L \sqrt{\frac{k_1}{D_e}} \quad (3-84)$
零级动力学 $r_s = k_0$	普遍式	$\phi_0 = \frac{1}{\sqrt{2}} \frac{V_P}{A_P} \sqrt{\frac{k_0}{D_e C_s}} \quad (3-103)$
	球形	$\phi_0 = \frac{R}{3\sqrt{2}} \sqrt{\frac{k_0}{D_e C_s}} \quad (3-92)$
	片状	$\phi_0 = \frac{L}{\sqrt{2}} \sqrt{\frac{k_0}{D_e C_s}} \quad (3-104)$
M-M 动力学 $r_s = \frac{r_{\max} C_s}{K_m + C_s}$	普遍式	$\phi_m = \frac{1}{\sqrt{2}} \frac{V_P}{A_P} \sqrt{\frac{r_{\max}}{D_e C_s} \left(\frac{\beta}{1+\beta} \right)} \left[1 + \frac{1}{\beta} \ln \left(\frac{1}{1+\beta} \right) \right]^{-1/2} \quad (3-105)$
	球形	$\phi_m = \frac{R}{3\sqrt{2}} \sqrt{\frac{r_{\max}}{D_e C_s} \left(\frac{\beta}{1+\beta} \right)} \left[1 + \frac{1}{\beta} \ln \left(\frac{1}{1+\beta} \right) \right]^{-1/2} \quad (3-106)$
	片状	$\phi_m = \frac{L}{\sqrt{2}} \sqrt{\frac{r_{\max}}{D_e C_s} \left(\frac{\beta}{1+\beta} \right)} \left[1 + \frac{1}{\beta} \ln \left(\frac{1}{1+\beta} \right) \right]^{-1/2} \quad (3-107)$

从表 3-5 中可以得出以下结论。

(1) 颗粒大小(或厚度)对 ϕ 值有着明显的影响,颗粒大小可以用 V_p/A_p 值表示,又称为其特性尺寸。该值愈大, ϕ 值也愈大,则 η 值反而下降;反之, V_p/A_p 值减小, ϕ 值也减小,则 η 值增大。因此为了减少内扩散限制效应,措施之一是应尽可能采用小颗粒固定化酶。

(2) 微孔孔径大小的影响。从 ϕ 的定义式中可以看出,若能增大 D_e 值,可使 ϕ 减小, η 值增大,内扩散限制效应减轻。提高 D_e 值的重要手段是增大微孔孔径,以减少底物或产物在微孔内的扩散阻力。

因此,从减小内扩散限制效应角度考虑,固定化酶宜采用小粒度、大孔径。

(3) 从 ϕ 的定义式中还可看出,当动力学参数 k_1 、 k_0 和 r_{\max} 值增大时,也会导致 ϕ 值增大,因而使 η 值下降。这可理解为,当 V_p/A_p 和 D_e 值一定时,由于动力学参数值的增大,使内扩散限制效应的影响程度相对加大。

还需要指出的是,在 ϕ 值公式中所有采用的动力学参数 (k_1 、 k_0 、 r_{\max}) 皆为本征动力学参数,换言之,这些参数的数值必须是在无内外扩散影响下所测得的值。另外,上述 ϕ 值公式中所用浓度皆表示为颗粒外表而浓度 C_s , 这是在有外扩散时的浓度,若不考虑外扩散影响,则可用 C_{s_0} (液相主体浓度) 表示。包括 β 值,亦可用 C_{s_0}/K_m 表示。

(5) 表观梯勒模数法求有效因子。前已述及,在以前讨论的确定有效因子所有方法中,都需要预先已知其反应的本征动力学参数,为此必须在已消除内外扩散影响的前提条件下进行动力学实验才能求得、给动力学实验带来了麻烦。为此,引入表观梯勒模数方法来求 η 。

表观梯勒模数的定义式为:

$$\Phi = \left(\frac{V_p}{A_p} \right)^2 \frac{R_s}{D_e C_s} \quad (3-108)$$

在无外扩散影响下, C_s 可用 C_{s_0} 表示。

式中 R_s 为在有内扩散影响下实测的宏观反应速率,不同动力学, Φ 与 ϕ 有各自关系式。

对一级反应动力学:

$$\Phi = \eta_1 \phi_1^2 \quad (3-109)$$

对零级反应动力学：

$$\Phi = 2\eta_0 \phi_0^2 \quad (3-110)$$

对 M-M 反应动力学：

因为

$$\eta_M = \frac{R_s}{R_{s_0}} = \frac{R_s}{\frac{r_{\max} C_{s_0}}{K_m + C_{s_0}}} = \frac{R_s (K_m + C_{s_0})}{r_{\max} C_{s_0}}$$

分子分母同乘以 $\left(\frac{R}{3}\right)^2 \frac{1}{D_c K_m C_{s_0}}$ ，则有：

$$\eta_M = \frac{\left(\frac{R}{3}\right)^2 \frac{R_s}{D_c C_{s_0}} \left(\frac{K_m + C_{s_0}}{K_m}\right)}{\left(\frac{R}{3}\right)^2 \frac{r_{\max}}{K_m D_c}} = \frac{\Phi(1+\beta)}{\phi_m^2}$$

$$\Phi = \frac{\eta_M \phi_m^2}{(1+\beta)} \quad (3-111)$$

在不同的 β 值下，以 $\eta_M \sim \Phi$ 对应作图，得到图 3-22 所示的关系曲线。

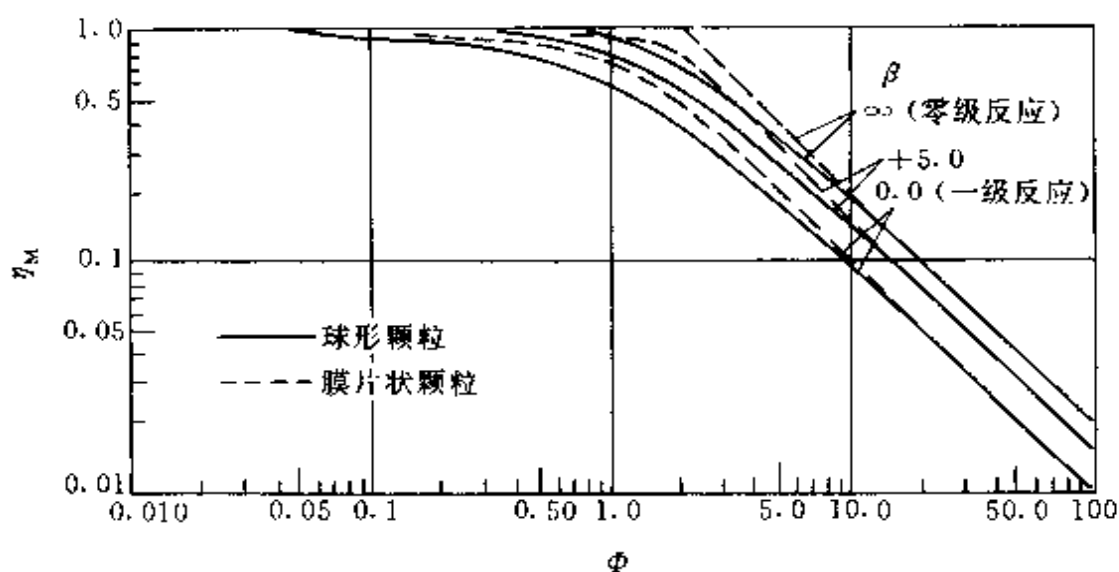


图 3-22 固定化酶催化剂的有效系数 η_M 与表观梯勒模数 Φ 的关系

从图 3-22 中可以看出, 当 $\beta=0$ 为一级反应; 当 $\beta=\infty$ 为零级反应; 当 $0<\beta<\infty$ 则为 M-M 反应的区域。在同一 Φ 值下, β 值的变化对有效因子值影响不是很大。

此法的优点是, 只要能通过实验测出某一固定化酶颗粒的实际反应速率 R_s 值, 就可根据式 (3-108) 决定其 Φ 值, 进而可以用图 (3-22) 决定不同 β 值下的 η_M 值, 而无须预先知道其本征参数值。

对 M-M 反应, 采用表观梯勒模数法求其 η_M 值, 仍然要已知 β 值, 即要预先确定本征参数 K_m 值, 这对用表观梯勒模数求 η_M 值带来了困难。但它至少可以告诉你 η_M 值的上限 (零级反应时 η_0 值) 和下限 (即 η_1 值) 的范围。

对于 Φ 值, 存在有:

当 $\Phi < 0.3$ 时, $\eta = 1$;

当 $\Phi > 3$ 时, 内扩散影响变得非常明显;

当 $\Phi > 10$ 时, 对一级动力学, $\eta_1 \approx \frac{1}{\Phi}$; 对零级动力学, 有 $\eta_0 \approx \frac{2}{\Phi}$ 。

上述关系称为 Weisz 判据。

【例 3.2】 以相同的酶和载体做成三种体积相等而形状不同的固定化酶颗粒, 一种为球形; 另一种为高与直径相等的圆柱体; 还有一种为高与直径相等而壁厚为直径 1/3 的圆环体。

催化剂颗粒体积均为 0.1cm^3 , 颗粒表观密度为 1.2g/cm^3 , 所进行的酶催化反应可作为一级不可逆反应处理。

在反应条件下, 反应速率常数为 $50\text{cm}^3/(\text{s} \cdot \text{g 颗粒})$, 催化剂微孔内的有效扩散系数为 $0.01\text{cm}^2/\text{s}$ 。在该反应体系中, 单位体积液相中含有的固定化酶量为 20g/L 。已知液相中底物浓度为 0.1mol/L , 并且可不考虑外扩散阻力和分配效应等因素的影响。

试求相应于上述三种固定化酶颗粒的反应速率分别为多少 (假定对不同形状的固定化酶均可采用球形的计算有效因子的公式进行)? 计算的反应速率的单位分别用 $\text{mol}/(\text{s} \cdot \text{g 颗粒})$ 、 $\text{mol}/(\text{s} \cdot \text{cm}^3 \text{液相})$ 表示。

解 (1) 求梯勒模数 ϕ_1 。对一级不可逆反应, $\phi_1 = \frac{V_P}{A_P} \sqrt{\frac{k_1}{D_e}}$ 。为此

必须先求出球形、圆柱形、圆环形三种不同形状固定化酶的特性尺寸 V_p/A_p 值。并分别用下标 I、II、III 来表示。

$$\text{球形: } \frac{V_{P_I}}{A_{P_I}} = \frac{R_I}{3} = \frac{1}{3} \left(\frac{3}{4\pi} V_{P_I} \right)^{1/3} = 0.096 \text{ cm}$$

$$\text{圆柱形: } \frac{V_{P_{II}}}{A_{P_{II}}} = \frac{R_{II}}{3} = \frac{1}{3} \left(\frac{V_{P_{II}}}{2\pi} \right)^{1/3} = 0.084 \text{ cm}$$

$$\text{圆环形: } \frac{V_{P_{III}}}{A_{P_{III}}} = \frac{R_{III}}{4} = \frac{1}{4} \left(\frac{9}{16\pi} V_{P_{III}} \right)^{1/3} = 0.065 \text{ cm}$$

对一级不可逆反应的 ϕ_1 值, 其定义中 k_1 的因次应为时间⁻¹, 而根据题意, 提供的反应速率常数的因次为 $\text{cm}^3/(\text{s} \cdot \text{g 颗粒})$, 因此其速率常数是以固定化酶的单位质量为基准的, 常以 k_w 表示。 k_w 与 k_1 之间的关系为

$$k_1 = k_w \rho_p = 50 \text{ cm}^3/(\text{s} \cdot \text{g}) \times 1.2 \text{ g/cm}^3 = 60 \text{ s}^{-1}$$

因此可分别求出各自的 ϕ_1 值如下:

$$\phi_{1I} = 7.35; \phi_{1II} = 6.51; \phi_{1III} = 5.04$$

(2) 求 η_1 值。对球形固定化酶, 一级不可逆反应, 其 η_1 值的计算公式为

$$\eta_1 = \frac{1}{\phi_1} \left[\frac{1}{\tanh(3\phi_1)} - \frac{1}{3\phi_1} \right]$$

将 ϕ_{1I} 、 ϕ_{1II} 、 ϕ_{1III} 分别代入此式中, 可求出:

$$\eta_{1I} = 0.13; \eta_{1II} = 0.15; \eta_{1III} = 0.19$$

(3) 求 R_s 值。如果 R_s 以 $\text{mol}/(\text{s} \cdot \text{g 颗粒})$ 表示, 则其本征速率可表示为

$$\begin{aligned} r_{sw} &= k_w C_{S_0} = 50 \text{ cm}^3/(\text{s} \cdot \text{g}) \times 0.1 \times 10^{-3} \text{ mol/cm}^3 \\ &= 5 \times 10^{-3} \text{ mol}/(\text{s} \cdot \text{g 颗粒}) \end{aligned}$$

根据 $R_s = \eta_1 \cdot r_{sw}$ 分别求出

$$R_{sI} = 0.64 \times 10^{-3} \text{ mol}/(\text{s} \cdot \text{g 颗粒})$$

$$R_{sII} = 0.73 \times 10^{-3} \text{ mol}/(\text{s} \cdot \text{g 颗粒})$$

$$R_{sIII} = 0.93 \times 10^{-3} \text{ mol}/(\text{s} \cdot \text{g 颗粒})$$

如果 R_s 以 $\text{mol}/(\text{s} \cdot \text{cm}^3 \text{ 液相})$ 表示, 则其本征速率应表示为 $r_{sv} =$

$k_v C_{S_0}$, 应注意这里的 k_v 是以反应物系的体积来定义的。 k_v 与 k_w 之间存在下述关系。

$$k_v V = k_w W$$

因 $k_v = k_w \frac{W}{V} = 50 \times \frac{20}{1000} = 1 \text{ s}^{-1}$

所以 $r_{S_1} = 1 \times 0.1 \times 10^{-3} = 0.1 \times 10^{-3} \text{ mol}/(\text{s} \cdot \text{cm}^3 \text{ 液相})$

$$R_{S_1} = 1.29 \times 10^{-3} \text{ mol}/(\text{s} \cdot \text{cm}^3 \text{ 液相})$$

$$R_{S_2} = 1.46 \times 10^{-3} \text{ mol}/(\text{s} \cdot \text{cm}^3 \text{ 液相})$$

$$R_{S_3} = 1.89 \times 10^{-3} \text{ mol}/(\text{s} \cdot \text{cm}^3 \text{ 液相})$$

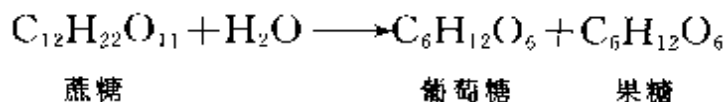
【例 3.3】 求游离酶和固定化酶反应速率。

蔗糖酶固定在直径为 1mm 的球形离子交换树脂上, 在床层中酶的量 $0.05 \text{ kg}/\text{m}^3$, 在一小的柱形反应器中装有 20 cm^3 固定化酶颗粒。浓度为 $16 \text{ mmol}/\text{L}$ 的 75 ml 蔗糖溶液快速流过床层。在另一个反应器等量的游离酶与同体积蔗糖溶液相混合, 并假定游离酶和固定化酶的动力学特性是相同的, 即 $K_m = 8.8 \text{ mol}/\text{m}^3$, $k_{12} = 2.4 \times 10^{-3} \text{ mol}/(\text{g} \cdot \text{s})$, 蔗糖在离子交换树脂中有效扩散系数 D_e 为 $2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ 。试求

(1) 游离酶的反应速率是多少?

(2) 固定化酶的反应速率是多少?

解 该反应式为:



已知 $K_m = 8.8 \text{ mol}/\text{m}^3$

$$D_e = 2 \times 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s} = 2 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$$

$$R = \frac{d}{2} = \frac{1}{2} \text{ mm} = 5 \times 10^{-4} \text{ m}$$

当流体快速通过床层时, 外扩散可以认为已消除, 因此有:

$$C_s = C_{s_0} = 16 \text{ mmol}/\text{L} = 16 \text{ mol}/\text{m}^3$$

$$\text{酶的总量} = 20 \text{ cm}^3 \times 0.05 \text{ kg}/\text{m}^3 = 1 \times 10^{-6} \text{ kg}$$

(1) 当为游离酶时

酶的浓度:

$$C_{E_0} = \frac{1 \times 10^{-5} \text{kg}}{75 \text{cm}^3} = 1.33 \times 10^{-7} \text{kg/m}^3$$

假定所有的酶分子都有活性中心, 则

$$\begin{aligned} r_{\max} &= 2.4 \times 10^3 \text{mol}/(\text{g} \cdot \text{s}) \times 1.33 \times 10^{-7} \text{g/m}^3 \\ &= 3.19 \times 10^{-4} \text{mol}/(\text{s} \cdot \text{m}^3) \end{aligned}$$

反应速率为

$$\begin{aligned} r_s &= \frac{r_{\max} C_{S_0}}{K_m + C_{S_0}} = \frac{3.19 \times 10^{-4} \text{mol}/(\text{s} \cdot \text{m}^3) \times 16 \text{mol/m}^3}{8.8 \text{mol/m}^3 + 16 \text{mol/m}^3} \\ &= 2.06 \times 10^{-2} \text{mol}/(\text{s} \cdot \text{m}^3) \end{aligned}$$

反应器内总反应速率

$$\begin{aligned} R_s &= r_s V_1 = 2.06 \times 10^{-2} \text{mol}/(\text{s} \cdot \text{m}^3) \times 75 \text{cm}^3 \\ &= 1.55 \times 10^{-6} \text{mol/s} \end{aligned}$$

(2) 为固定化酶时, r_{\max} 应以催化剂体积为基准, 因此

$$\begin{aligned} r_{\max} &= 2.4 \times 10^3 \text{mol}/(\text{g} \cdot \text{s}) \times 0.05 \text{kg/m}^3 \\ &= 0.12 \text{mol}/(\text{s} \cdot \text{m}^3 \text{颗粒}) \end{aligned}$$

求 η_M 值
$$\beta = \frac{C_{S_0}}{K_m} = \frac{16 \text{mol/m}^3}{8.8 \text{mol/m}^3} = 1.82$$

根据
$$\phi_m = \frac{R}{3\sqrt{2}} \sqrt{\frac{r_{\max}}{D_e C_{S_0}} \left(\frac{\beta}{1+\beta} \right) \left[1 + \frac{1}{\beta} \ln \left(\frac{1}{1+\beta} \right) \right]^{-1/2}}$$

所以

$$\begin{aligned} \phi_m &= \frac{5 \times 10^{-4} \text{m}}{3\sqrt{2}} \sqrt{\frac{0.12 \text{mol}/(\text{s} \cdot \text{m}^3)}{(2 \times 10^{-10} \text{m}^2/\text{s}) (16 \text{mol/m}^3)} \left(\frac{1.82}{1+1.82} \right)} \\ &\quad \left[1 + \frac{1}{1.82} \ln \left(\frac{1}{1+1.82} \right) \right]^{-1/2} = 0.71 \end{aligned}$$

当 $\phi_m = 0.71$ 、 $\beta = 1.82$ 时很难直接从有关图上直接确定 η_M 值。这里借助于式 (3-95) 即:

$$\eta_M = \frac{\eta_0 + a \left(\frac{K_m}{C_{S_0}} \right)^b \eta_1}{1 + a \left(\frac{K_m}{C_{S_0}} \right)^b}$$

$$\begin{aligned}\phi_0 &= \frac{R}{3\sqrt{2}} \sqrt{\frac{k_c}{D_e C_{S_0}}} = \frac{R}{3\sqrt{2}} \sqrt{\frac{r_{\max}}{D_e C_{S_0}}} \\ &= \frac{5 \times 10^{-4} \text{ m}}{3\sqrt{2}} \sqrt{\frac{0.12 \text{ mol/ (m}^3 \cdot \text{s)}}{(2 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}) (16 \text{ mol/m}^3)}} = 0.72\end{aligned}$$

对零级反应, 已知 ϕ_0 时, 可从已知公式或图中直接求出 $\eta_0 = 0.93$
同样方法求 ϕ_1

$$\begin{aligned}\phi_1 &= \frac{R}{3} \sqrt{\frac{k_1}{D_e}} = \frac{R}{3} \sqrt{\frac{r_{\max}}{K_m D_e}} \\ &= \frac{5 \times 10^{-4} \text{ m}}{3} \sqrt{\frac{0.12 \text{ mol/ (s} \cdot \text{m}^3)}{(8.8 \text{ mol/m}^3) (2 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s})}} = 1.4\end{aligned}$$

同样可求出 $\eta_1 = 0.54$

对球形: $a = 2.6$, $b = 0.8$ 将有关数值代入求 η_M 的式中:

$$\eta_M = \frac{0.93 + 2.6 \left(\frac{8.8}{16} \right)^{0.8} \times 0.54}{1 + 2.6 \left(\frac{8.8}{16} \right)^{0.8}} = 0.67$$

因此, 在装有固定化酶的反应器中, 总反应速率应为

$$R_S = 1.55 \times 10^{-6} \text{ mol/s} \times 0.67 = 1.04 \times 10^{-6} \text{ mol/s}$$

3.4 内外扩散同时存在时的限制效应

本节除了讨论内外扩散同时存在时的限制效应外, 还要讨论化学抑制与内扩散并存和分配效应与扩散并存时有效因子的求法。

3.4.1 内外扩散同时存在时的有效因子

为了讨论方便, 下面讨论的反应假定为一级不可逆反应, 若同时存在有内外扩散的影响, 可定义一总有效因子 η_T , 令

$$\eta_T = \frac{R_S}{r_{S_0}} \quad (3-112)$$

式中 r_{S_0} ——以液相主体的底物浓度为基准的本征反应速率。

对一级不可逆反应, r_{S_0} 可表示为

$$r_{S_0} = k_1 C_{S_0} \quad (3-113)$$

稳定条件下, 存在有:

$$R_s = k_L a (C_{S_c} - C_{S_1}) = \eta_1 k_1 C_{S_1} = \eta_T k_1 C_{S_0} \quad (3-114)$$

根据上式, 首先可得出

$$C_{S_1} = \frac{C_{S_0}}{1 + \eta_1 \frac{k_1}{k_L a}} = \frac{C_{S_0}}{1 + \eta_1 Da} \quad (3-115)$$

又可推得

$$R_s = \eta_1 k_1 \frac{C_{S_0}}{1 + \eta_1 Da} = \frac{\eta_1}{1 + \eta_1 Da} k_1 C_{S_0} = \eta_T k_1 C_{S_0} \quad (3-116)$$

式中 k_1 ——反应速率常数;

$k_L a$ ——体积传质系数。

其他符号同前各式。因此, 内外扩散同时存在时的有效因子为

$$\eta_T = \frac{\eta_1}{1 + \eta_1 Da} \quad (3-117)$$

当无内扩散影响时, $\eta_1 = 1$, $\eta_T = \frac{1}{1 + Da}$;

当无外扩散影响时, $Da = 0$, $\eta_T = \eta_1$ 。

为了表示内外扩散速率之间相对关系, 定义一无因次准数——Biot 准数(Bi)

$$Bi = \frac{\text{外扩散速率}}{\text{内扩散速率}} = \frac{V_p k_L}{A_p D_e} \quad (3-118)$$

Bi 准数愈大, 外扩散阻力对总反应速率的影响程度就愈小, 而内扩散阻力对总反应速率的影响程度愈大; 当 Bi 准数愈小时, 结果则与上述相反。

根据式 (3-14)、式 (3-102) 和式 (3-118), 可导出 Da 、 Bi 和 ϕ_1 之间的关系式为

$$Da = \frac{\phi_1^2}{Bi} \quad (3-119)$$

式 (3-119) 表示了一级不可逆反应的本征速率、内扩散速率和外扩散速率三者之间的关系。

对式 (3-117) 取其倒数, 可得到:

$$\frac{1}{\eta_1} - \frac{1}{\eta_1} - Da = \frac{1}{\eta_1} + \frac{\phi_1^2}{Bi} \quad (3-120)$$

该式表示了内外扩散同时存在时的总有效因子的计算公式。由于该式中同样存在有本征速率常数 k_1 ，求取时颇感不易，为此同样引入表观梯勒模数 Φ 以求 η_1 。对一级不可逆反应，存在有

$$\Phi = \eta_1 \phi \quad (3-121)$$

根据该式可作出图 3-23 所示的关系曲线。由于在该图中所涉及的变量——有效反应速率 R 、液相主体浓度 C_m 、固定化酶特性尺寸 V_p/A_p 、以及有效扩散系数 D_e 等均易测得，故由图 3-23 很容易求得反应的总有效因子 η_1 值。

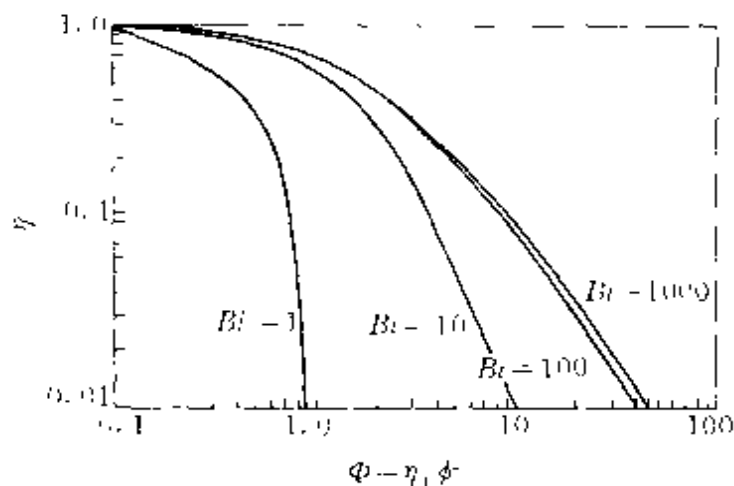


图 3-23 不同 Bi 值时，总有效系数 η_1 与表观模数 Φ 之间的关系（动力学行为是一级）

对于 M-M 反应，Yamane 利用下式估算在有内外扩散同时影响时，

$$\eta_{MT} = \frac{\eta_{0T} + a \left(\frac{K_m}{C_{S0}} \right)^b \eta_{1T}}{1 + a \left(\frac{K_m}{C_{S0}} \right)^b} \quad (3-122)$$

式中 η_{MT} ——M-M 反应的总有效因子；
 η_{0T} ——零级反应的总有效因子；
 η_{1T} ——一级反应的总有效因子。

该式显然与式 (3-95) 有着相似的形式。

3.4.2 化学抑制和分配效应对有效因子的影响

(1) 化学抑制。内扩散阻力与酶化学抑制之间的关系类似于前面讨论的外扩散阻力与酶化学抑制之间的关系。若假定为非竞争抑制,进行一级不可逆反应,此时的梯勒模数可表示为

$$\phi_{it} = \frac{V_p}{A_p} \sqrt{\frac{k}{D_c(1+C_1/K_1)}} = \frac{\phi}{(1+C_1/K_1)^{1/2}} \quad (3-123)$$

式中 ϕ_{it} 内扩散阻力限制与化学抑制同时存在时的梯勒模数。

由该式可以看出,当有化学抑制存在时,梯勒模数 ϕ_{it} 值减小,因此内扩散限制效应将随之减少。图 3-24 表示了内扩散限制与化学抑制的联合作用结果。该图表明,当反应体系中存在有内扩散限制时,增大抑制剂的浓度所引起的反应速率降低,要比无内扩散时的抑制程度小。如同外扩散的情况一样,这种作用或称为化学与扩散的负协同效应,或称为抗激发交互作用。对此种现象可解释为,抑制剂的抑制作用,只能影响酶的活性,不能影响扩散过程,在无内扩散限制时,酶活性是决定反应速率的主要因素,因而抑制剂的浓度能显著地改变反应速率。但在有内扩散限制时,由于酶活性对反应的影响已经相应减弱。所以抑制剂引起反应速率的下降,也显示出减少的趋势。

酶的变性也可被视为一种特殊的抑制——不可逆抑制。内扩散抑制与变性之间也存在有抗激发交互作用。从这种意义上来讲,内扩散阻力的存在,将减弱固定化酶的变性,有利于增加固定化酶的表现稳定性。

(2) 分配效应。如果在某种情况下,需要同时考虑分配效应的影

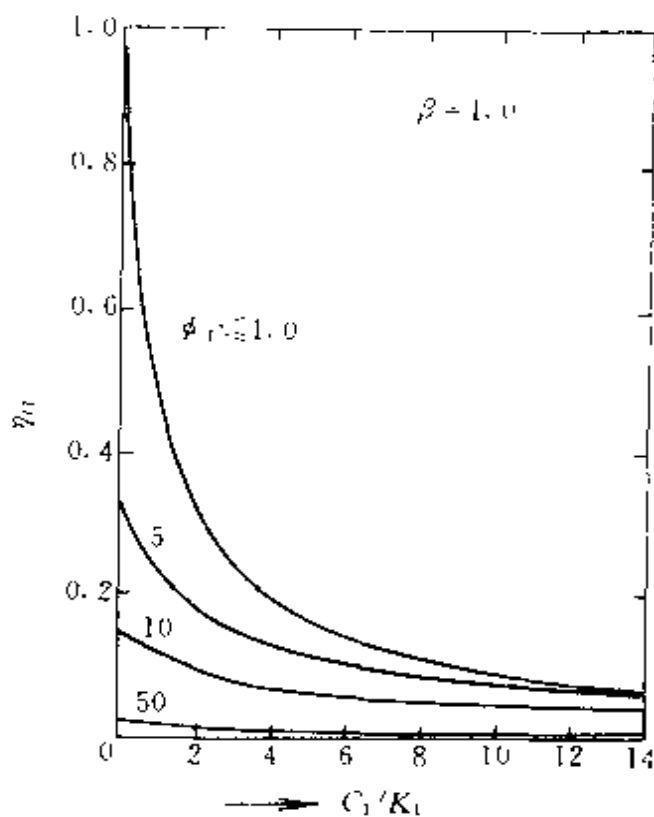


图 3-24 存在内扩散限制时,非竞争性抑制物对固定化酶活性的影响

响, 则其总有效因子可将分配效应包含在内, 即

$$\eta_T = f(\phi, Bi, K) \quad (3-124)$$

对一级不可逆反应, 若为球形固定化酶, 其总有效因子可表示为

$$\frac{1}{\eta_T} = \frac{\phi_1}{K \left[\coth(3\phi_1) - \frac{1}{3\phi_1} \right]} \frac{\phi_1^2}{Bi} \quad (3-125)$$

式中 K — 分配系数。

对膜片状固定化酶, 则为

$$\frac{1}{\eta_T} = \frac{\phi_1}{K \tanh(\phi_1)} \frac{\phi_1^2}{Bi} \quad (3-126)$$

对 M-M 方程, 同样无法求出解析解。但当 $Bi \rightarrow \infty$ 时, 即可不考虑外扩散阻力的影响时, 可用下述的表观梯勒模数来计算 η_T 值。

$$\Phi = \frac{\phi_1}{G \sqrt{2} \left(1 + \frac{K_m}{C_s} \right) \sqrt{K - \frac{K_m}{C_s} \ln \left(1 + K \frac{C_s}{K_m} \right)}} \quad (3-127)$$

式中 G —— 对膜片状固定化酶取 1, 对圆柱形取 2, 对球形取 3。

图 3-25 表示了内外扩散效应和分配效应以及底物抑制同时存在时对球形固定化酶有效因子的影响。

从图中可以看出, 在同样 ϕ_1 和 Bi 值条件下, 随着分配系数 K 的增大, η_M 下降; 在同样 ϕ_1 和 K 值条件下, 随着 Bi 值增大, η_M 值在一定范围内增加。并且, 当 ϕ_1 大于某一值后, 随着 ϕ_1 的增大 η_M 急剧下降。

从图 3-25 中还可以看到, 在某些情况下, 有效因子 η_T 会出现 >1 的情况。一般认为有两种原因会造成 $\eta_T > 1$, 一是在底物对反应有抑制时, 由于微孔内底物浓度要低于其外表面处底物的浓度, 此时在微孔内底物反应速率可能会高于颗粒外表面处底物的反应速率, 因而会出现 $\eta_T > 1$ 的情况; 另一个原因是, 如果催化反应为一放热反应, 则有可能造成颗粒内部温度要高于其外表面温度, 从而使底物在微孔内的反应速率高于其外表面的反应速率, 这样也会出现 $\eta_T > 1$ 。这一点对强放热反应尤为明显。因此前而所讨论的计算有效因子的公式都是在假定等温条件的前提下进行的。

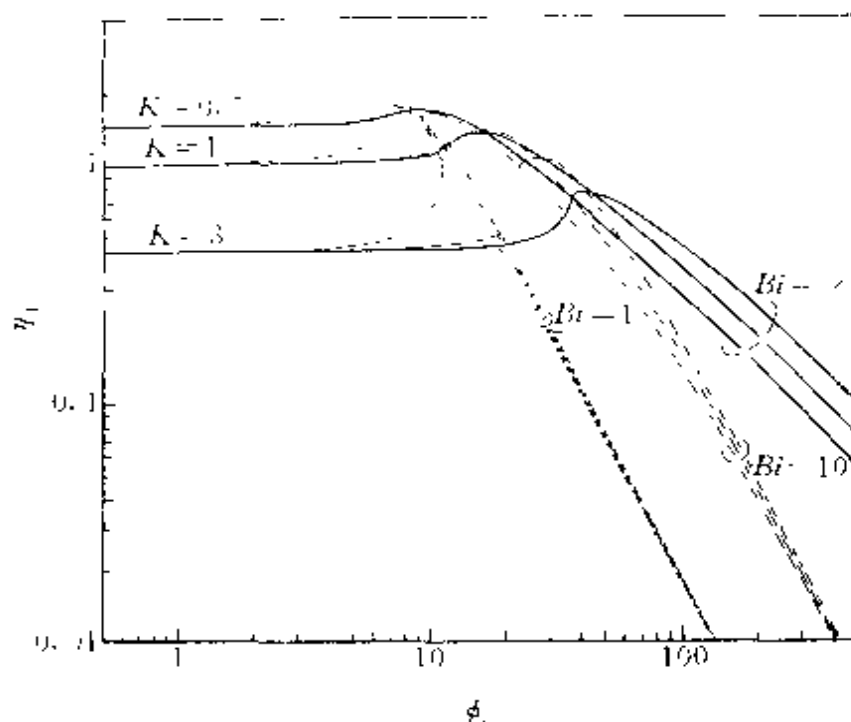


图 3-25 对球形颗粒内外扩散、分配效应、底物抑制同时存在时 $\eta-\phi$ 关系图

3.5 扩散影响下的表观动力学参数与稳定性

如果在有内、外扩散干扰的情况下进行动力学实验，以求取固定化酶催化某一反应的本征动力学参数，此时会得到失真的动力学信息，可能导致得到错误的结论。

众所周知，本征动力学所反映的基本关系有两个方面，一是反应速率与反应物浓度的基本关系；二是反应速率与外界条件的关系，特别是与反应温度的关系。如果扩散影响严重，则将会对这种基本关系产生干扰，以至于得不到本征参数。

同时，酶的失活状况如何，也是决定酶在实际中应用状况的一个重要因素，扩散对固定化酶失活速率的影响也是本节要探讨的一个重要内容。

3.5.1 扩散对反应速率与浓度关系的影响

这种影响可从其 L-B 图和 E-H 图中曲线的变化特征可以看出。下述讨论都仅仅涉及内扩散的影响。

有效反应速率可表示为:

$$R_s = \eta_M \frac{r_{\max} C_s}{K_m + C_s} \quad (3-128)$$

对上式取倒数, 移项整理得到下式

$$\frac{r_{\max}}{R_s} = \frac{1}{\eta_M} + \frac{1}{\eta_M} \frac{K_m}{C_s} \quad (3-129)$$

在不同的 η_M 值 (亦为 ϕ 值) 下, 按 L. B 法作图, 得到如图 3-26 的关系。从图中可以看出, 随着 ϕ 值增大, 所得结果更加偏离直线。

式 (3-128) 亦可整理为

$$\frac{R_s}{r_{\max}} = \eta_M - \frac{R_s}{r_{\max}} \frac{K_m}{C_s} \quad (3-130)$$

以 R_s/r_{\max} 对应于 $\frac{R_s K_m}{r_{\max} C_s}$, 在不同 ϕ 值下, 按 E. H 法作图, 得到图 3-27。

从图中同样可以看出, 随着 ϕ 值增大, 所得结果严重偏离直线。这说明, 在有扩散影响, 特别是影响严重时, 由上述作图法所求取的动力学参数已不是其本征动力学参数。

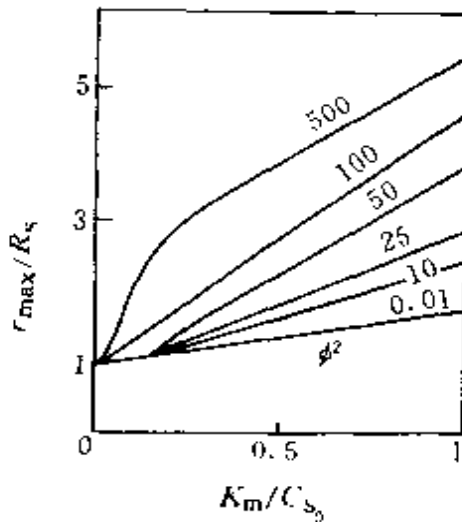


图 3-26 不同 ϕ 值下

$\frac{r_{\max}}{R_s}$ 与 $\frac{K_m}{C_{s_0}}$ 的 L. B 图

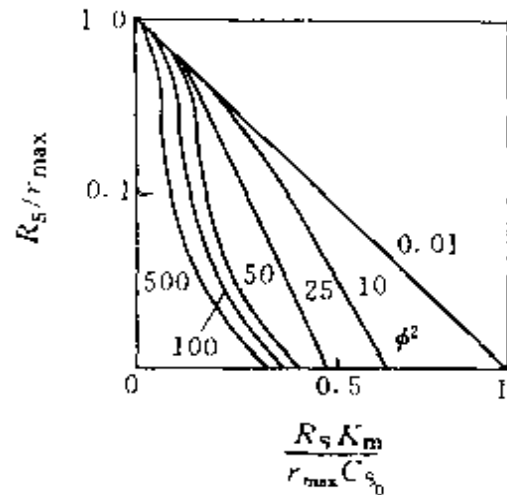


图 3-27 不同 ϕ 值下

$\frac{R_s}{r_{\max}}$ 与 $\frac{R_s K_m}{r_{\max} C_{s_0}}$ 的 E-H 图

对任一反应, 其本征反应动力学采用幂函数的形式表示为

$$r_s = k_r C_s^n \quad (3-131)$$

当有扩散影响时，其有效反应速率方程可同时表示为

$$R_s = \eta k_r C_s^n \quad (3-132)$$

和

$$R_s = k_r C_s^{n'} \quad (3-133)$$

很明显，式(3-133)是把扩散的影响也包括在反应级数 n' 中。 n 和 n' 都表示了反应速率对浓度变化的敏感程度。 n 为无扩散影响时的反应级数； n' 为有扩散影响时的反应级数；前者常称本征反应级数，后者常称表观反应级数。

分别对式(3-132)和式(3-133)取对数并微分，则得到

$$\frac{d \ln R_s}{d \ln C_s} = n + \frac{d \ln \eta}{d \ln C_s} \quad (3-134)$$

$$\frac{d \ln R_s}{d \ln C_s} = n' \quad (3-135)$$

因此有
$$n' = n + \frac{d \ln \eta}{d \ln C_s} = n + \frac{d \ln \eta}{d \ln \phi} \frac{d \ln \phi}{d \ln C_s} \quad (3-136)$$

对任意 n 级反应，梯勒模数可用下述定义式表示。

$$\phi = \frac{V_p}{A_p} \sqrt{\frac{n+1}{2} C_s^{n-1} \frac{k_r}{D_c}} \quad (3-137)$$

对 ϕ 取对数求导可得到

$$\frac{d \ln \phi}{d \ln C_s} = \frac{n-1}{2}$$

因此
$$n' = n + \frac{n-1}{2} \frac{d \ln \eta}{d \ln \phi} \quad (3-138)$$

当无内扩散影响时， $\eta=1$ ， $n'=n$ ；

当内扩散影响严重时， $\eta = \frac{1}{\phi}$ ， $\frac{d \ln \eta}{d \ln \phi} = -1$ 。

因此
$$n' = \frac{n+1}{2} \quad (3-139)$$

从式(3-139)可以看出，当内扩散影响严重时，表观级数并不等于该反应的本征级数（只有一级反应例外）。其原因这是由于扩散速率（即传质速率）与浓度的关系为一级动力学关系，因而得出式(3-139)所表示的结果。并且从式(3-139)可以看出，扩散的影响总是使本征反应级数大于1的反应，其表观级数下降，例对 $n=2$ 的反应，其表观

级数为 1.5；使本征反应级数小于 1 的反应，其表观级数升高，例对 $n = \frac{1}{2}$ 的反应，其表观级数为 $\frac{3}{4}$ 。

对 M-M 反应，Levenspiel 提出若采用幂函数形式表示其动力学，可表示为：

$$r_s = \frac{r_{\max} C_s}{K_m + C_s} \approx r_{\max} C_s^{-\frac{K_m}{C_s}} \quad (3-140)$$

则在有内扩散严重影响时，其表观反应级数可表示为：

$$n' = \frac{2K_m + C_s}{2(K_m + C_s)} \quad (3-141)$$

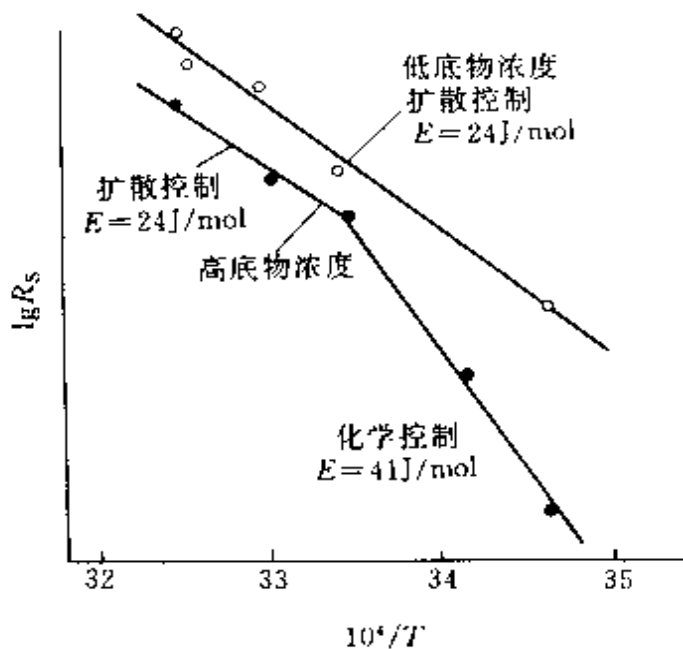


图 3-28 固定化乙酰胆碱酯酶的 $\lg R_s - \frac{1}{T}$ 作图

3.5.2 扩散对反应速率与温度关系的影响

以最简单的一级不可逆反应 $r_s = k_r C_s$ 为例，当内扩散影响严重时，其有效反应速率，可表示为

$$\begin{aligned} R_s &= \eta k_r C_s = \frac{1}{\phi} k_r C_s \\ &= \sqrt{\frac{D_c}{k_r}} k_r C_s \\ &= \sqrt{k_r D_c} C_s \quad (3-142) \end{aligned}$$

k_r 与 D_c 和温度的关系可用 Arrhenius 方程表示

即

$$k_r = k_0 \exp[-E_r/RT] \quad (3-143)$$

$$D_c = D_0 \exp[-E_D/RT] \quad (3-144)$$

所以
$$\sqrt{k_r D_c} = \sqrt{k_0 D_0} \exp\left[-\frac{(E_r + E_D)}{2RT}\right] \quad (3-145)$$

因此，表观活化能为

$$E' = (E_r + E_D)/2 \quad (3-146)$$

上述各式中, k_0 为反应的指前因子; D_0 为扩散的指前因子; E_r 为反应活化能; E_D 为扩散活化能; E' 为表观活化能。

通常 $E_r \gg E_D$, 因此 $E' \approx \frac{E_r}{2}$, 即扩散控制时, 表观活化能约等于本征活化能的一半。图 3-28 表示了某一固定化酶催化反应速率与温度的关系的具体例子。从图中可以看出, 在低温段, 为动力学控制, 反应活化能较高; 在高温段, 为扩散控制, 反应活化能较低。还可看出, 在低底物浓度下, 易受扩散控制, 活化能也较低。

3.5.3 扩散对固定化酶失活速率的影响

在有内扩散影响时, M-M 反应的宏观动力学可表示为:

$$R_s = \eta \frac{r_{\max} C_{S_0}}{K_m + C_{S_0}} = \eta \frac{k_{+2} C_{E_0} C_{S_0}}{K_m + C_{S_0}} \quad (3-147)$$

取对数

$$\ln R_s = \ln \eta + \ln \frac{k_{+2} C_{S_0}}{K_m + C_{S_0}} + \ln C_{E_0} \quad (3-148)$$

假定酶的失活是由于活性酶的总量下降, 而活性酶的比活性不变, 即随着时间的延长, k_{+2} 不变, 而 C_{E_0} 在减少。即 t 上升, C_{E_0} 下降, k_{+2} 不变。

随 t 而变化为下式:

$$\frac{d \ln R_s}{dt} = \frac{d \ln \eta}{dt} + \frac{d \ln C_{E_0}}{dt} \quad (3-149)$$

因为
所以

$$\eta = f(\phi)$$

$$\frac{d \ln R_s}{dt} = \frac{d \ln \eta}{d \ln \phi} \frac{d \ln \phi}{dt} + \frac{d \ln C_{E_0}}{dt} \quad (3-150)$$

对球形 M-M 反应, 有 $\phi = \frac{R}{3} \sqrt{\frac{k_{+2} C_{E_0}}{K_m D_c}}$

所以

$$\frac{d \ln \phi}{dt} = \frac{1}{2} \frac{d \ln C_{E_0}}{dt} \quad (3-151)$$

$$\frac{d \ln R_s}{dt} = \frac{d \ln \eta}{d \ln \phi} \times \frac{1}{2} \frac{d \ln C_{E_0}}{dt} + \frac{d \ln C_{E_0}}{dt}$$

$$\begin{aligned} &= \frac{d \ln C_E}{dt} \left(1 + \frac{1}{2} \frac{d \ln \eta}{d \ln \phi} \right) \\ &= \alpha \frac{d \ln C_T}{dt} \end{aligned} \quad (3-152)$$

$$\alpha = 1 + \frac{1}{2} \frac{d \ln \eta}{d \ln \phi} \quad (3-153)$$

式中 α 为失活系数。

当无内扩散影响时, $\eta=1$, $\frac{d \ln \eta}{d \ln \phi}=0$, $\alpha=1$

当内扩散影响严重时, $\eta \approx \frac{1}{\phi}$, $\frac{d \ln \eta}{d \ln \phi} = -1$, $\alpha=0.5$

因此 $0.5 \leq \alpha \leq 1$

如果失活遵循一级动力学, 则有

$$-\frac{d \ln C_{E_0}}{dt} = k_d \quad (3-154)$$

又因为 $\frac{d \ln R_S}{dt} = \alpha \frac{d \ln C_{E_0}}{dt} = -\alpha k_d$

可改写为

$$-\frac{d \ln R_S}{dt} = \alpha k_d \quad (3-155)$$

显然 $\alpha k_d < k_d$ (3-156)

因此可以认为, 由于扩散影响的存在使固定化酶表观稳定性增加, 表观失活速率减慢。图 3-29 表示了失活系数 α 与梯勒模数 ϕ 的关系曲线。图

中实线为 $\beta = \frac{C_s}{K_m} = 0$, 即服从一级动力学 $\alpha-\phi$ 关系, 其他虚线为不同 β 值时 $\alpha-\phi$ 关系。从图中可以看出, 随 ϕ 的增大, α 在下降, 最小为 $\alpha=0.5$ 。

对一级不可逆反应, 假定 $t=0$ 时, 宏观反应速率为 $R_S(0)$, 时间 $t=\theta$ 时 (无因次时间), 宏观反应速率为 $R_S(\theta)$, 当仅考虑内扩散影响, 且内扩散影响严重时, 有

$$\frac{R_S(\theta)}{R_S(0)} \approx \exp(-\theta/2) = \exp(-\theta) \quad (3-157)$$

式中 θ 为无因次时间, $\theta = k_d t$;

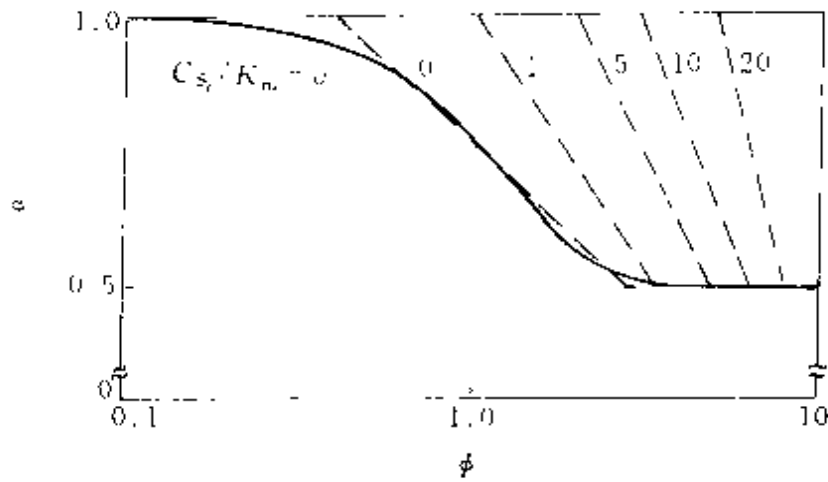


图 3-29 对片状固定化酶失活系数 α 与 ϕ 的关系曲线

$\bar{\theta}$ ——表观无因次时间。

当 $C_{E_1} = \frac{1}{2}C_{E_0}$ 时，已在第 2 章中提出：

$$k_d = \frac{\ln 2}{t_{1/2}} \quad (3-158)$$

$$\theta = \ln 2 \frac{t}{t_{1/2}} \quad (3-159)$$

$$t_{1/2} = \ln 2 \frac{t}{\theta} \quad (3-160)$$

由于

$$\theta = \frac{1}{2}\theta$$

故表观半衰期 $t'_{1/2} = 2t_{1/2}$ ，即表观半衰期增加一倍。

当 $K=1$ ，以 $\phi_1(0)$ 和 Bi 为参数，可得到如图 3-30 所示的 $R_{S(\theta)}/R_{S(0)}-\theta$ 的图解。从图中可以看出，随着 $\phi_1(0)$ 值的增大和 Bi 值的减小，酶失活速率明显减慢。这说明随着内扩散阻力的增大，酶失活速率在减缓。因此可得出如下结论：颗粒内外的扩散传质阻力能提高固定化酶的表现稳定性。

【例 3.4】 根据已知实验结果估计固定化酶催化反应的本征动力学参数和内扩散的影响。

假定反应本征动力学具有 M-M 方程的形式。为了估计固定化酶的扩散与本征动力学参数，现进行两组实验，一组用大颗粒，半径为

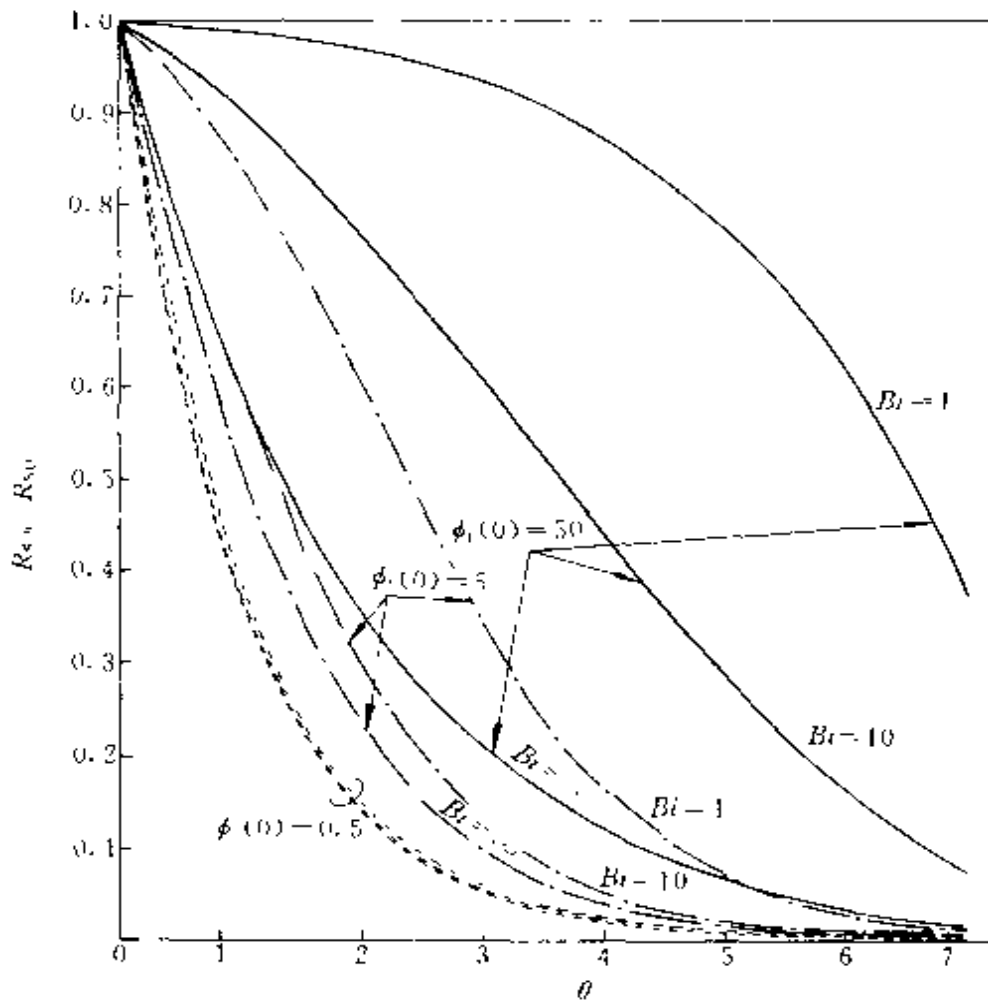


图 3-30 有失活时固定化酶总反应速率随时间的变化(一级反应, $K=1$)

60 μm ,使其为内扩散控制;另一组用小颗粒,半径为 10 μm ,使其成为动力学控制,两者均为球形固定化酶颗粒。分别改变底物浓度的数值,同时测定相应的反应速率,按 E-H 作图法得到了如图 3A 所示的形式。

本实验采用的酶为 α -胰凝乳蛋白酶,固定在一种琼脂糖上,底物为 N -乙酰- L -酪氨酸乙酯(ATEE)。

试根据提供的图形和有关数据,估计参数 r_{max} 、 K_m 、 ϕ 和 D_e 值。

解 (1) 对小颗粒固定化酶,由于为动力学控制,无内扩散影响,因此在 E-H 图上为一直线;对大颗粒固定化酶,为内扩散控制,在 E-H 图上应为一曲线。

(2) 对小颗粒固定化酶,其速率方程为 M M 方程。按 E-H 作图法的公式应为

$$\frac{r_s}{C_s} = \frac{r_{\max}}{K_m} - \frac{1}{K_m} r_s$$

从图 3A 中可直接得到

当 $r_s/C_s = 0$, $r_s = r_{\max} = 11.3 \mu\text{mol}/(\text{cm}^3 \cdot \text{s})$;

当 $r_s = 0$, $\frac{r_{\max}}{K_m} = 4.4$,
 $K_m = 2.60 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$

(3) 对大颗粒固定化酶, 为内扩散控制, 其速率可表示为

$$R_s = \eta_M \frac{r_{\max} C_s}{K_m + C_s}$$

按 E-H 作图法可得到

$$\frac{R_s}{C_s} = \eta_M \frac{r_{\max}}{K_m} - \frac{R_s}{K_m}$$

从图中亦可直接求得

当 $\frac{R_s}{C_s} = 0$, $R_s = \eta_M r_{\max}$, 并
 由于此时 $C_s \gg K_m$, 可近似做
 零级反应处理。 $\eta_M \approx 1$, $R_s = r_{\max}$ 。

当 $R_s = 0$, $\frac{R_s}{C_s} = \eta_M \frac{r_{\max}}{K_m}$, 由于 $C_s \ll K_m$, 可视为一级反应。当内扩散控制时, $\eta_M \approx \frac{1}{\phi}$ 。

所以, $\frac{R_s}{C_s} = \frac{1}{\phi} \frac{r_{\max}}{K_m} = 1.86$, r_{\max} 和 K_m 均已求出, 故 $\phi = 2.34$ 。又因

$\phi = \frac{R}{3} \sqrt{\frac{r_{\max}}{K_m D_e}}$, 将有关数据代入此式, 求出 $D_e = 3.2 \times 10^{-6} \text{cm}^2/\text{s}$ 。

所求参数结果为

$$r_{\max} = 11.3 \mu\text{mol}/(\text{cm}^3 \cdot \text{s}); K_m = 2.60 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$$

$$\phi = 2.34; D_e = 3.2 \times 10^{-6} \text{cm}^2/\text{s}$$

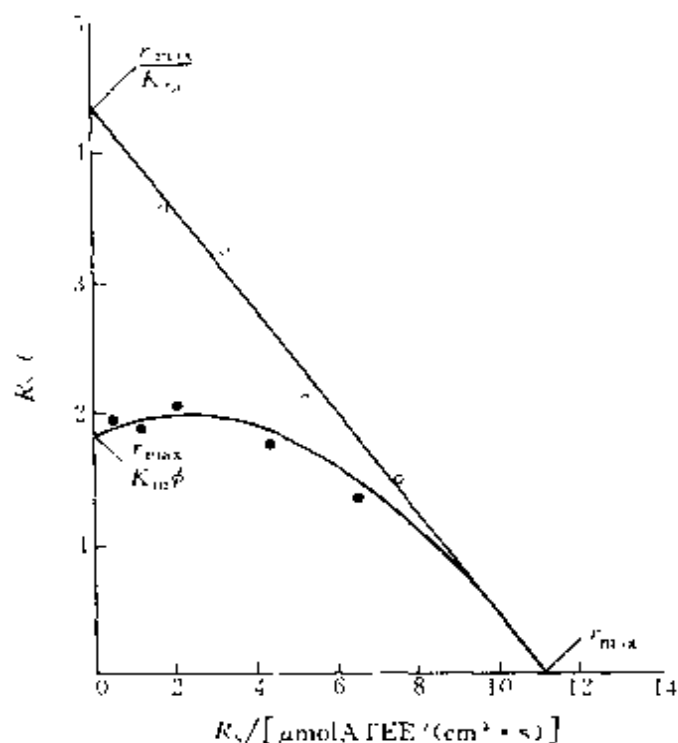


图 3A 胰凝乳蛋白酶经固定化后, 实验数据的 Eadie-Hofstee 标绘, 底物: *N*-乙酰-*L*-酪氨酸乙酯 (ATEE); 固定化酶颗粒:
 $R = 60 \mu\text{m}$ $R = 10 \mu\text{m}$

习 题

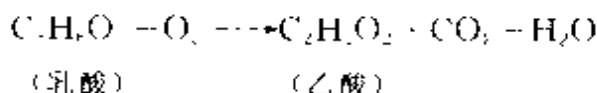
3.1 某酶固定在无微孔的膜状载体上,已知该酶催化一反应的本征参数为

$$r_{\max} = 6 \times 10^{-2} \text{ mol}/(\text{L} \cdot \text{s}), K_m = 3 \times 10^{-2} \text{ mol}/\text{L}$$

该反应底物在液相主体中的浓度为 $1 \times 10^{-2} \text{ mol}/\text{L}$,在反应条件下,流体的传质系数为 $1 \times 10^{-1} \text{ s}$ 。试求:

- (1) 底物在固定化酶外表面上的反应速率为多少?
- (2) 该反应的外扩散有效因子为多少?

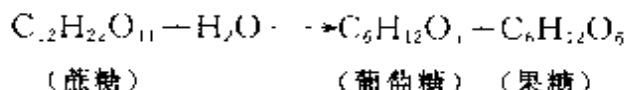
3.2 *L*-乳酸 2-单加氧酶固定在球形琼脂颗粒上,进行下述酶反应:



球形颗粒直径 1mm,浸入一完全混合溶液中,该溶液溶氧为 0.5mmol/L,在高乳酸浓度下氧是速率控制的底物。氧在琼脂中有效扩散系数 $D_e = 2.1 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$, $K_m = 0.015 \text{ mmol}/\text{L}$, $r_{\max} = 0.12 \text{ mol}/(\text{kg 酶} \cdot \text{s})$,颗粒内含有 0.012kg 酶/ m^3 凝胶,外扩散限制效应可忽略不计。若氧的消耗按零级动力学处理,试求:

- (1) 画出在球形颗粒内氧的浓度分布。
- (2) 催化剂活性体积所占的分率是多少?
- (3) 确定最大反应速率时所允许的最大颗粒直径是多少?

3.3 蔗糖酶催化下述反应



蔗糖酶固定在直径为 1.6mm 有微孔球形树脂颗粒上,其密度为 $0.1 \mu\text{mol 酶}/\text{g 颗粒}$,蔗糖水溶液在树脂中有效扩散系数为 $1.3 \times 10^{-11} \text{ m}^2/\text{s}$,该反应在一篮式离心反应器内进行,外扩散限制影响可消除。蔗糖浓度为 $0.85 \text{ kg}/\text{m}^3$ 。反应的表现速率为 $1.25 \times 10^{-3} \text{ kg}/(\text{s} \cdot \text{m}^3 \text{ 树脂})$, $K_m = 3.5 \text{ kg}/\text{m}^3$ 。试求

- (1) 内扩散有效因子是多少?
- (2) 本征一级反应速率常数为多少?

3.4 某一溶液酶催化某底物进行反应,服从 M-M 反应动力学,其动力学参数为: $K_m = 0.05 \text{ mol}/\text{L}$, $r_{\max} = 10 \text{ mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$ 。将该酶固定在某一不溶性载体上,结果发现,该酶固定化后进行同一反应时,其表观动力学参数 $K'_m = 0.08 \text{ mol}/\text{L}$,而 $r'_{\max} = r_{\max}$,试求当底物浓度为 $1 \text{ mol}/\text{L}$ 时,其有效因子是多少?

3.5 在一多孔的球形固定化酶颗粒内发生一级不可逆反应,试证明当反应过程完全受颗粒的内扩散控制时,该固定化酶的有效因子与其粒径有下述关系:

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{d_2}{d_1}$$

式中 η_1, η_2 分别为粒径为 d_1 和 d_2 的固定化酶球形颗粒的有效因子。

3.6 如果在酶膜上进行酶催化反应, 已知 $C_s \ll K_m$, 试证明该酶膜的内扩散有效因子 η_1 与梯勒模数 ϕ_1 的关系式为

$$\eta = \frac{\tanh(\phi_1)}{\phi}$$

若该酶膜厚度为 L , 当该酶膜的一面或两面与底物接触时, ϕ_1 值应如何表示?

3.7 在一球形固定化酶颗粒上进行底物的分解反应, 已知在颗粒半径为 $R_1 = 0.3\text{cm}$ 时, 已消除了内扩散影响, 并测得其本征动力学参数为 $r_{\max} = 20\mu\text{mol}/(\text{cm}^3 \cdot \text{s})$, $K_m = 5\mu\text{mol}/\text{cm}^3$, 为了减少反应器床层压力降, 将固定化酶颗粒度增大到 $R_2 = 3\text{cm}$, 并在同样条件下进行反应。

若该反应可按一级不可逆反应处理, 试求此时固定化酶的有效因子是多少?

3.8 纤维二糖在固定在藻朊酸钠凝胶上的 β -葡萄糖苷酶的作用下水解为葡萄糖, 该固定化酶为球形, 其直径 $d = 2.5\text{mm}$ 。假设在颗粒内发生的反应为零级反应, $k_0 = 0.0765\text{mol}/(\text{s} \cdot \text{m}^3)$, 纤维二糖通过颗粒内有效扩散系数 $D_e = 0.6 \times 10^{-5}\text{cm}^2/\text{s}$, 试求当纤维二糖在液相主体中浓度为 $10\text{mol}/\text{m}^3$ 时, 该固定化酶有效因子是多少?

3.9 下列数据为不同大小的有微孔的固定化酶颗粒下进行实验时所测得的:

颗粒直径 d	1mm	0.1mm	0.01mm
宏观速率 R_s	$200 \frac{\mu\text{mol}}{\text{cm}^3 \text{cat} \cdot \text{min}}$	$1000 \frac{\mu\text{mol}}{\text{cm}^3 \text{cat} \cdot \text{min}}$	$1000 \frac{\mu\text{mol}}{\text{cm}^3 \text{cat} \cdot \text{min}}$
底物浓度 C_s	100mmol/L	100mmol/L	100mmol/L

试求:

(1) 假设 $\overline{Da} \ll 0.1$, $\beta \approx 0$, 则直径为 1mm 颗粒的有效因子是多少?

(2) 估算其 D_e 为多少?

3.10 某固定化酶为球形, 其 R 为 4mm, 底物为葡萄糖, 其反应动力学按零级动力学处理, $k_0 = 2 \times 10^{-3}\text{mol}/(\text{m}^3 \cdot \text{s})$, D_e 为 $1.2 \times 10^{-5}\text{m}^2/\text{s}$, 试求当保证不存在葡萄糖限制作用时, 葡萄糖浓度应为多少?

3.11 某生物膜催化剂, 其厚度为 2mm, 氧的消耗按一级动力学处理。已知 $k_1 = 6\text{min}^{-1}$, $D_e = 1 \times 10^{-4}\text{m}^2/\text{s}$, 试求其有效因子 η_1 值是多少? 如果 k_1 下降到

0.06min⁻¹,其有效因子又为多少?

3.12 某固定化酶为球形颗粒,消耗氧为零级动力学,速率常数 $k_m = 3.6 \text{ mol}/(\text{kg} \cdot \text{h})$,如果颗粒半径为 6mm,对氧的有效扩散系数 $D_e = 1 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$,试问:

(1) 氧在该反应系统变成限制因素的可能性有多大?

(2) 若将该固定化酶做成条状,每一条体积为 $6 \times 10^{-6} \text{ m}^3$,表面积为 $3 \times 10^{-1} \text{ m}^2$,这种变化对其有效因子数值有何变化?

3.13 某球形固定化酶半径为 6mm,颗粒内含有的酶量为 1g 酶/kg 颗粒,并且反应的量为 7.2g 底物/(kg 颗粒 · h),底物有效扩散系数为 $0.5 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$,假定反应为零级动力学,速率常数正比于颗粒中酶的浓度,试决定该反应体系中有有效因子是多少? 该系统中用多少酶?

3.14 某底物在一厚度为 $1 \cdot 10^{-2} \text{ cm}$ 的酶膜上单面地进行催化反应,已知其本征参数 $r_{\text{max}} = 20 \mu\text{mol}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$, $K_m = 5 \mu\text{mol}/\text{cm}^3$,并已测得 $D_e = 1 \times 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{s}$, $k_L = 2 \times 10^{-2} \text{ cm}/\text{s}$,在反应条件下测得其有效速率为 $1.84 \mu\text{mol}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$

假设该反应可按一级不可逆反应处理,试求在此条件下其本征反应速率应为多少?

3.15 Weisz 在 1962 年提出一个有趣的看法,认为大自然的创造往往是十分恰当的。他认为细胞的直径一般在 $5 \sim 50 \mu\text{m}$ 的范围内。这个直径既不太大——太大易有内扩散限制效应;又不过小——过小表面积又太大。而细胞内所进行的反应可以认为是用不同的酶进行的一系列酶催化反应。

试利用下述数据论证上述观点。

细胞吸氧的速率为 $7.44 \times 10^{-4} \text{ mol}/(\text{cm}^3 \cdot \text{s})$,氧的浓度为 $1 \times 10^{-6} \text{ mol}/\text{cm}^3$,它在细胞内的有效扩散系数可用其在水中的扩散系数计算,其值为 $1 \times 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{s}$,假定该反应为一级不可逆反应。试确定:

(1) 若无内扩散影响,该细胞最大直径应为多少?

(2) 若细胞直径为 $50 \mu\text{m}$,此时 ϕ 值应为多少?

本题不考虑细胞膜本身和外扩散阻力的影响。

第 4 章 细胞反应过程动力学

细胞反应过程系指以细胞为其反应主体的一类生化反应过程。这些反应过程包括微生物反应和动植物细胞培养过程。其中微生物反应包括由诸如细菌、酵母菌和霉菌等这些微小的生物体所催化的生化反应过程。

细胞反应过程有如下主要特征。

(1) 细胞是反应过程的主体。首先，它是反应过程的生物催化剂，它摄取了原料中的养分，通过细胞内的特定酶系进行复杂的生化反应，把原料转化为有用的产品；同时，它又如同一个微小的反应容器，原料中的反应物透过细胞周围的细胞壁和细胞膜，进入细胞内，在酶的作用下进行催化反应，把反应物转化为产物，接着这些产物又被释放出来。因此，细胞的特性及其在反应过程的变化，将是影响细胞反应过程的关键因素。

(2) 细胞反应过程的本质是复杂的酶催化反应体系。细胞内所进行的一切分解和合成反应，可统称为代谢作用。细胞在反应过程中，一方面从外界摄取营养物质，在细胞内经过各种变化，把这些物质转化为细胞自身的组成物质，这种变化称为同化过程；另一方面细胞内的组成物质又不断地分解成代谢物而排出，这种变化又称为异化作用。从简单的小分子物质转化为较复杂或较大物质的合成过程是需要能量的；而分解作用所形成的小分子物质又可做为合成作用的原料，同时伴随着能量的释放。因此，通过分解与合成的作用，使细胞内保持物质和能量的自身平衡。

细胞内的代谢作用正是由这种无数错综复杂的反应所组成的。每一种物质的代谢也不是一步反应，而是通过一系列有序的反应来完成的。而且，细胞内的一切化学反应几乎都是在酶催化下进行的。例如，酵母菌利用葡萄糖发酵生成乙醇的过程，就是要经过 12 步连续的反

应，分别在 12 种酶催化下进行，因此细胞反应与前两章讨论的酶催化反应有很多相同之处，例如对环境条件的要求、基本的动力学规律等。

(3) 细胞反应与酶催化反应也有着明显的不同。首先，酶催化反应仅为分子水平上的反应，而且在酶催化反应过程中，酶本身不能进行再生产；而细胞反应为细胞与分子之间的反应，并且在反应过程中，细胞自己能进行再生产，即在反应进行的同时，细胞也得到生长。其次，在细胞反应过程中细胞的形态、组成、活性都处在动态变化过程。例如，在反应过程中，细胞要经历生长、繁殖、维持、死亡等若干阶段，不同的阶段，有不同的活性。从细胞组成分析，它包含有蛋白质、脂肪、碳水化合物、核酸等，这些成分含量大小也随着环境的变化而变化。细胞能利用其代谢机制进行定量调节以适应外界环境的变化。

上述这些因素，造成了描述、控制和开发细胞反应过程的复杂性。

4.1 细胞反应过程计量学

反应计量学是对反应物的组成和反应转化程度的数量化研究，它与反应热力学和动力学一起构成了反应工程学的理论基础。根据反应计量学，可以知道反应过程中各有关反应组分组成的变化规律以及各反应之间的数量关系，但对细胞反应过程，由于众多组分参与反应和代谢途径的错综复杂，并在细胞生长的同时还伴随着代谢产物生成的反应，因此要用标以正确系数的反应方程式表示由反应组分组成的培养基转化为生成物的反应几乎是不可能的，这就需要采用另外一些方法来加以简化处理。

4.1.1 细胞反应的元素衡算方程

为了表示出细胞反应过程各物质和各组分之间的数量关系，最常用的方法是对各元素进行原子衡算。首先要确定细胞的元素组成和其分子式。为了简化，一般将细胞的分子式定义为 $\text{CH}_2\text{O}_a\text{N}_b$ ，而忽略了其他微量元素 P、S 和灰分等。不同的细胞，其组成当然是不同的。即使同一种细胞，由于其处在不同生长阶段，其组成也是有差别的。为此，常需要确定一平均细胞组成。表 4-1 表示各种不同微生物细胞的元

素组成情况。从该表中可以看出，生长速率的变化对同一种细胞元素组成虽有影响，但要比不同种细胞之间对元素组成的影响要小。并且还可看出，对同一种微生物细胞，当限制培养基发生变化时，细胞元素组成亦在变化。

表 4-1 几种微生物细胞的元素组成和经验分子式

微生物	限制性 基质	比生长速 率 μ/h^{-1}	C% (质量)	H% (质量)	N% (质量)	O% (质量)	经验分子式	分子式 分子量
细菌			53.0	7.3	12.0	19.0	$CH_{1.66}N_{0.20}O_{0.27}$	20.7
细菌			47.1	7.8	13.7	31.3	$CH_2N_{0.25}O_{0.5}$	25.5
产气菌			48.7	7.3	13.9	21.1	$CH_{1.78}N_{0.24}O_{0.34}$	22.5
产气菌	甘油	0.1	50.6	7.3	13.0	29.0	$CH_{1.74}N_{0.22}O_{0.43}$	23.7
产气菌	甘油	0.85	50.1	7.3	14.0	28.7	$CH_{1.73}N_{0.24}O_{0.43}$	24.0
酵母			47.0	6.5	7.5	31.0	$CH_{1.66}N_{0.13}O_{0.40}$	23.5
酵母			50.3	7.4	8.8	33.5	$CH_{1.75}N_{0.15}O_{0.5}$	23.9
假丝酵母	葡萄糖	0.08	50.0	7.6	11.1	31.3	$CH_{1.825}N_{0.19}O_{0.47}$	24.0
假丝酵母	葡萄糖	0.45	46.9	7.2	10.9	35.0	$CH_{1.64}N_{0.20}O_{0.66}$	25.6
假丝酵母	乙醇	0.06	50.3	7.7	11.0	30.8	$CH_{1.82}N_{0.19}O_{0.46}$	23.9
假丝酵母	乙醇	0.43	47.2	7.3	11.0	34.6	$CH_{1.84}N_{0.20}O_{0.55}$	25.5

典型的细胞组成可以表示为 $CH_{1.8}O_{0.5}N_{0.2}$ 。因此，对 1mol 细胞定义为 1mol 碳所含有的量，例如 $CH_xO_yN_z$ 。

首先考虑一无胞外产物的简单生化反应：



式中 CH_mO_n —— 碳源的元素组成；

$CH_xO_yN_z$ —— 细胞的元素组成。

对 C、H、O 和 N 做元素平衡，得到下列方程：

$$C: \quad 1 = c + e \quad (4-2)$$

$$H: \quad m + 3b = cx + 2d \quad (4-3)$$

$$O: \quad n + 2a = cy + d + 2e \quad (4-4)$$

$$N: \quad b = cz \quad (4-5)$$

方程 (4-1) 中有 a 、 b 、 c 、 d 和 e 五个未知数需要五个方程才能解

出。对需氧反应，可利用呼吸商的定义式来作为第 5 个方程：

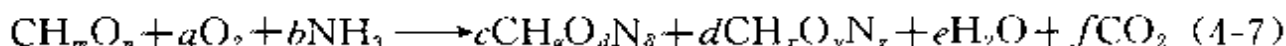
$$RQ = \frac{\text{CO}_2 \text{ 产生速率}}{\text{O}_2 \text{ 消耗速率}} = \frac{e}{a} \quad (4-6)$$

RQ 值可通过实验测出。

有了上述结果，可确定方程 (4-1) 的计量系数。

对一有胞外产物的更复杂的反应，增加了至少一个计量系数。为此引入还原度的概念，并用于生化反应中质子-电子平衡。还原度用 γ 表示。某一化合物的还原度为该组分中每一克碳原子的有效电子当量数。对某些关键元素的还原度是：C=4，H=1，N=-3，O=-2。在一化合物中任何元素的还原度等于该元素的化合价。根据上述数值，我们可以看出， CO_2 、 H_2O 和 NH_3 ，其还原度为零。

现考虑有单一胞外代谢产物的复杂反应：



应用还原度概念于上述方程中，我们可得到细胞、基质和产物的还原度分别为：

$$\text{细胞：} \quad \gamma_b = 4 + a - 2\beta - 3\delta \quad (4-8)$$

$$\text{基质：} \quad \gamma_s = 4 + m - 2n \quad (4-9)$$

$$\text{产物：} \quad \gamma_p = 4 + x - 2y - 3z \quad (4-10)$$

从方程 (4-7)，我们可写出有效电子平衡方程为：

$$\gamma_s - 4a = c\gamma_b + d\gamma_p \quad (4-11)$$

式 (4-11) 又可表示为：

$$1 - \frac{c\gamma_b}{\gamma_s} + \frac{d\gamma_p}{\gamma_s} + \frac{4a}{\gamma_s} \quad (4-12)$$

即

$$1 = \zeta_b + \zeta_p + \epsilon \quad (4-13)$$

式中 ϵ ——基质中传递到氧的有效电子数的分率；

ζ_b ——进入细胞中有效电子数分率；

ζ_p ——进入胞外产物中有效电子数的分率。

在对式 (4-7) 做元素衡算时，由于在生化反应中水是大量存在的，因而准确决定所生成的水量是很困难的，因而做 H 和 O 的元素平衡方

程无意义。这样只剩下 C、N 的元素平衡方程。

$$C: \quad 1 = c + d + f \quad (4-14)$$

$$N: \quad b = c\sigma + dx \quad (4-15)$$

实验中还发现,对许多不同的微生物细胞,即使用不同的基质,其还原度(γ_b)的数值是非常接近的。例如对细菌和酵母菌,采用的碳源分别为葡萄糖、乙醇、乙酸和正构烷烃等,细胞的还原度的平均值为 4.291 ± 0.172 。因此可近似视为常数。这样在求方程(4-7)六个未知数(a 、 b 、 c 、 d 、 e 、 f)时可利用方程(4-7)(4-11)(4-14)(4-15)和(4-6)以及 γ_b 为一常数来解出。

4.1.2 细胞反应过程的得率系数

得率系数可用于对碳源等物质生成细胞或其他产物的潜力进行定量评价。最常用的几种得率系数有下述几种:

(1) 对基质的细胞得率 $Y_{x/s}$ 。定义式为:

$$Y_{x/s} = \frac{\text{生成细胞的质量}}{\text{消耗基质的质量}} = \frac{\Delta x}{-\Delta S} \quad (4-16)$$

在分批培养时,培养基的组成在不断地变化,因此细胞得率系数一般不能视为常数。在某一瞬时的细胞得率常称为微分细胞得率(或瞬时细胞得率),其定义式又可表示为:

$$Y_{x/s} = \frac{r_x}{r_s} \quad (4-17)$$

在分批培养过程中,总的细胞得率可用下式计算:

$$Y_{x/s} = \frac{C_{x_t} - C_{x_0}}{C_{S_0} - C_{S_t}} \quad (4-18)$$

式中 C_{x_0} 、 C_{S_0} ——反应开始时细胞和基质浓度;

C_{x_t} 、 C_{S_t} ——反应结束时细胞和基质浓度。

与 $Y_{x/s}$ 相似的还有对氧的细胞得率 $Y_{x/o}$ 和对基质的产物得率 $Y_{P/s}$, 其定义式分别为:

$$Y_{x/o} = \frac{\text{生成细胞的质量}}{\text{消耗氧的质量}} = \frac{\Delta x}{-\Delta O} \quad (4-19)$$

$$Y_{P/s} = \frac{\text{生成代谢产物的质量}}{\text{消耗基质的质量}} = \frac{\Delta P}{-\Delta S} \quad (4-20)$$

(2) 对碳的细胞得率 Y_c 。基质作为碳源时，无论是需氧还是厌氧培养，宏观上碳源的一部分被同化为细胞组成物质，其余部分则被异化，分解为二氧化碳及其他代谢产物。为了表示由碳同化为细胞过程的转化效率，采用对碳的细胞得率 Y_c 表示。

$$Y_c = \frac{\text{生成细胞量} \times \text{细胞含碳量}}{\text{消耗基质量} \times \text{基质含碳量}} = \frac{\Delta x \sigma_x}{(-\Delta S) \sigma_s} = \frac{\sigma_x}{\sigma_s} Y_{x/s} \quad (4-21)$$

式中 σ_x 和 σ_s ——分别为单位质量细胞和单位质量基质中所含碳原子的质量。

Y_c 一定是小于 1，一般在 0.4~0.9 左右的范围内。由于 Y_c 仅考虑基质与细胞的共同项——碳，可以认为它比 $Y_{x/s}$ 更合理。

(3) 宏观得率与理论得率。当细胞生长的同时，还伴有其他反应如代谢产物的生成时，则所消耗的基质一部分用于细胞的生长，一部分用于生成代谢产物。此时计算对基质的细胞得率有两种方法。

假设细胞反应过程中所消耗基质的总量为 ΔS_T ，其中用于细胞生长的基质数量为 ΔS_G ，用于生成代谢产物的基质数量为 ΔS_R 。

$$\text{若定义} \quad Y_{x/s} = \frac{\Delta x}{-\Delta S_T} = \frac{\Delta x}{-(\Delta S_G + \Delta S_R)} \quad (4-22)$$

此时求得的对基质的细胞得率称为宏观得率。

$$\text{若定义} \quad Y_{x/s}^* = \frac{\Delta x}{-\Delta S_G} \quad (4-23)$$

此时求得的对基质的细胞得率称为理论得率，由于细胞代谢过程很复杂， ΔS_G 一般是未知数， $Y_{x/s}^*$ 较难直接确定。 $Y_{x/s}^*$ 又常称为最大可能得率。由于 $\Delta S_G < \Delta S_T$ ，因此 $Y_{x/s}^* > Y_{x/s}$ 。

(4) 对能量的细胞得率。人们进一步要求能从基质直接估算细胞得率，如果能做到这一点，则在进行研究开发工作时，就能有效地选择基质，也可以将细胞得率的理论计算值作为探索最优培养条件的目标。为此，采取了将不同基质的细胞得率换算为同一能量基准，并且考虑了细胞异化代谢途径中从基质获得能量的形式。

如果采用基质完全氧化时失去每 1mol 有效电子时的细胞生成量做为对有效电子的细胞得率，则用 Y_{ave} 表示；如果采用 1kJ 基质燃烧热产生细胞干

重的得率，则用 Y_{kj} 表示；如果采用异化过程中生成每 1mol ATP 时所增加的细胞量表示，即为对 ATP 生成的细胞得率，用 Y_{ATP} 表示。

细胞通过基质的氧化而获得细胞合成、物质代谢、能动的物质传递过程等生命活动所必需的能量。但是，它并不是利用了基质氧化的全部能量，而只有在氧化反应中以生成 ATP 形式获得的自由能，才能被细胞生命活动所利用，其余部分作为反应热释放到环境中。据此，应以异化代谢过程中 ATP 的生成量作为细胞得率的基准。此时细胞得率 Y_{ATP} 的定义可表示为：

$$Y_{ATP} = \frac{\Delta x}{\Delta ATP} = \frac{Y_{x/S} M_S}{Y_{ATP/S}} \quad (\text{g/mol}) \quad (4-24)$$

式中 $Y_{ATP/S}$ ——相对于基质的 ATP 生成得率，即每消耗 1mol 基质所生成的 ATP 的量，mol/mol；

M_S ——基质的分子量。

根据大量实验发现，在厌氧培养时， Y_{ATP} 值与细胞、基质的种类无关，基本上为常数，即 $Y_{ATP} \approx 10$ 。并且该值可看作是细胞物生长的普遍特征值。据此，如果产生能量的异化代谢途径为已知，则从式 (4-24) 可得到下式：

$$Y_{x/S} = 10 \frac{Y_{ATP/S}}{M_S} \quad (4-25)$$

根据上式可以预测从一定数量的基质所能得到的细胞量。

只要能正确计算出 1mol 基质所生成的 ATP 的量 (mol)，就可算出各种情况下的 $Y_{x/S}$ 值。例如对在最低培养基中进行厌氧培养时，单一碳源中一部分作为能源通过异化代谢分解，其余部分用于同化构成细胞。假设用于同化的碳源与 ATP 生成无关，对于异化代谢的碳源，服从 $Y_{ATP} \approx 10$ 。这时细胞得率 $Y_{x/S}$ 的计算式为：

$$Y_{x/S} = 10 Y_{ATP/S} / \left(M_S - 10 Y_{ATP/S} \frac{\sigma_x}{\sigma_S} \right) \quad (4-26)$$

另一种对能量的细胞得率为 Y_{ave} ，可表示为

$$Y_{ave} = \frac{\text{细胞质量}}{\text{基质的有效电子数}} = \frac{Y_{x/S}}{Y_{ave/S}} \quad (4-27)$$

式中 $Y_{avr/s}$ —— 基质的有效电子数，等于 1mol 底物完全燃烧所需氧的量 (mol) 的 4 倍。例如，对葡萄糖，1mol 葡萄糖完全燃烧需 6mol 氧，因此其 $Y_{avr/s} = 1 \times 6 \times 4 = 24$ 。

还有一种能量对细胞得率为 Y_{kj} ，它与细胞反应中所释放的热量相关联。

$$Y_{kj} = \frac{\Delta x}{\Delta Q} \quad (4-28)$$

式中 ΔQ —— 在细胞反应过程中所释放出的热量，可通过焓平衡求出。

$$\Delta Q = (-\Delta H_s)(-\Delta S) + (-\Delta H_N)(-\Delta N) - (-\Delta H_c)(\Delta x) - \sum_j (-\Delta H_{p_j})(\Delta P_j) \quad (4-29)$$

式中 $(-\Delta H_s)$ 、 $(-\Delta H_N)$ 、 $(-\Delta H_c)$ 、 $(-\Delta H_{p_j})$ 分别为碳源、氮源、细胞和产物的燃烧热。 ΔS 、 ΔN 、 Δx 和 ΔP_j 分别为碳源、氮源、细胞和代谢产物的消耗或生成量。其中 $(-\Delta H_s)$ 、 $(-\Delta H_N)$ 和 $(-\Delta H_{p_j})$ 可从手册中查到。而 $(-\Delta H_c)$ 可由下述经验式求出：

$$(-\Delta H_c) = 8.076C + 34.462 \left\{ H - \frac{O}{8} \right\} \quad (4-30)$$

式中 C、H、O —— 细胞中碳、氢和氧的质量分率。对大多数微生物细胞，以无灰分、干重为基准、其燃烧热的平均值为 22.65kJ/mol。

(5) 得率系数与计量系数。当细胞反应服从式 (4-7) 所表述的计量关系时，则其得率系数与计量系数的关系可表示为：

$$Y_{x/s} = \frac{M_x}{M_s} c \quad (4-31)$$

$$Y_{x/o} = \frac{M_x}{M_o} \frac{c}{a} \quad (4-32)$$

$$Y_{p/s} = \frac{M_p}{M_s} d \quad (4-33)$$

式中 M_x 、 M_s 、 M_o —— 分别为细胞、基质、氧和代谢产物的分子量；
 a 、 c 、 d —— 分别为式 (4-7) 的计量系数。

表 4-2 汇集了部分宏观得率系数的定义。

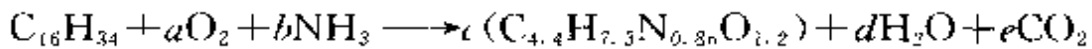
表 4 2 部分宏观得率系数汇总表

得率系数	组分间的反应或关系	定义及单位
$Y_{x/s}$	$S \rightarrow x$	消耗 1g 基质所获得细胞数 (g) g 细胞/g 基质
$Y_{x/O}$	$O_2 \rightarrow x$	消耗 1g 氧所获得细胞数 (g) g 细胞/g O_2
$Y_{p/s}$	$S \rightarrow P$	消耗 1g 基质所获得产物数 (g) g 产物/g 基质
$Y_{c/s}$	$S \rightarrow CO_2$	消耗 1g 基质所获得 CO_2 数 (g) g CO_2 /g 基质
$Y_{p/O}$	$O_2 \rightarrow P$	消耗 1g O_2 所获得产物数 (g) g 产物/g O_2
$Y_{x/p}$	$P \sim x$	每得到 1g 产物同时得到的细胞数 (g) g 细胞/g 产物
$Y_{x/c}$	$CO_2 \sim x$	每得到 1g CO_2 同时得到的细胞数 (g) g 细胞/g CO_2
$Y_{c/p}$	$P \sim CO_2$	每得到 1g 产物同时得到的 CO_2 数 (g) g CO_2 /g 产物
Y_{ATP}	$ATP \sim x$	消耗 1mol ATP 所获得细胞数 (g) g 细胞/mol ATP

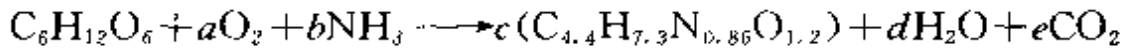
【例 4.1】 假设通过实验测定, 反应基质十六烷烃或葡萄糖中有 2/3 的碳转化为细胞中的碳:

(1) 计算下述反应的计量系数:

十六烷烃:



葡萄糖:



(2) 计算上述两反应的得率系数 $Y_{x/s}$ (g 干细胞/g 基质) 和 $Y_{x/O}$ (g 干细胞/g 氧)。

解 (1) 求计量系数

(a) 对正十六烷烃:

1mol 基质中含有碳量为 $16 \times 12 = 192g$

转化为细胞的碳量为 $192 \times 2/3 = 128g$

根据反应计量方程式, 则有:

$$128 = 4.4 \times 12c$$

则 $c = 2.42$

转化成 CO_2 的碳量 = $192 - 128 = 64g$

同样有 $64 = 12e$

则 $e = 5.33$

对 N 做平衡

$$14b = 0.86 \times 14c = 0.86 \times 14 \times 2.42$$

$$b = 2.085$$

对 H 做平衡

$$34 \times 1 + 3b = 7.3c + 2d$$

$$d = 12.43$$

对 O 做平衡

$$2a \times 16 = 1.2c \times 16 + 2e \times 16 - 16d$$

$$a = 12.427$$

(b) 葡萄糖:

1 mol 基质含有的碳为 72g

转化为细胞的碳为 $72 \times 2/3 = 48\text{g}$

则有

$$48 = 4.4c \times 12$$

$$c = 0.909$$

转化为 CO_2 的碳量为 $72 - 48 = 24\text{g}$

$$24 = 12e, e = 2$$

N 平衡

$$14b = 0.86c \times 14$$

$$b = 0.782$$

H 平衡

$$12 + 3b = 7.3c + 2d$$

$$d = 3.854$$

O 平衡 $6 \times 16 + 2 \times 16a = 1.2 \times 16c + 2 \times 16e + 16d$

$$a = 1.473$$

(2) 求得率系数

(a) 正十六烷烃:

根据式 (4-31) 和式 (4-32)

$$Y_{x/s} = \frac{91.34}{226} \times 2.42 = 0.98\text{g 干细胞/g 基质}$$

$$Y_{x/o} = \frac{91.34}{32} \times \frac{2.42}{12.427} = 0.557\text{g 干细胞/g 氧}$$

(b) 葡萄糖:

$$Y_{x/s} = \frac{91.34}{180} \times 0.909 = 0.461\text{g 干细胞/g 基质}$$

$$Y_{x,o} = \frac{91.34}{32} \times \frac{0.309}{1.473} = 1.76 \text{ g 细胞/g 氧}$$

4.2 细胞生长的非结构动力学

4.2.1 细胞生长动力学的描述方法

细胞反应过程，包括细胞的生长、基质的消耗和代谢产物的生成。要定量描述细胞反应过程的速率，显然细胞生长动力学是其核心。

(1) 动力学模型的简化。细胞的生长、繁殖代谢是一个复杂的生物化学过程。该过程既包括细胞内的生化反应，也包括胞内与胞外的物质交换，还包括胞外的物质传递及反应。该体系具有多相、多组分、非线性的特点。多相指的是体系内常含有气相、液相和固相；多组分是指在培养液中有多种营养成分，有多种代谢产物产生，在细胞内也有具有不同生理功能的大、中、小分子化合物；非线性指的是细胞的代谢过程通常需用非线性方程来描述。同时，细胞的培养和代谢还是一个复杂的群体的生命活动，通常每 1ml 培养液中含 $10^4 \sim 10^8$ 个细胞，每个细胞都经历着生长、成熟直至衰老的过程，同时还伴有退化、变异。因此，要对这样一个复杂的体系进行精确的描述几乎是不可能的。为了工程上的应用，首先要进行合理的简化，在简化的基础上建立过程的物理模型，再据此推出数学模型。

主要简化的内容有下列几点。

第一，细胞反应动力学是对细胞群体的动力学行为的描述，而不是对单一细胞进行描述。所谓细胞群体是指细胞在一定条件下的大量聚集。

第二，不考虑细胞之间的差别，而是取其性质上的平均值，在此基础上建立的模型称为确定论模型；如果考虑每个细胞之间的差别，则建立的模型为概率论模型。日前在应用时一般取前者。

第三，细胞的组成也是复杂的，它含有蛋白质、脂肪、碳水化合物、核酸、维生素等，而且这些成分的含量大小随着环境条件的变化而变化。如果是在考虑细胞组成变化的基础上建立的模型，则称为结构模型。该模型能从机理上描述细胞的动态行为。在结构模型中，一般选取 RNA、DNA、糖类及蛋白质的含量做为过程的变量，将其表示

为细胞组成的函数。但是，由于细胞反应过程极其复杂，加上检测手段的限制，以至缺乏可直接用于在线确定反应系统状态的传感器，给动力学研究带来了困难，致使结构模型的应用受到了限制。

如果把细胞视为单组分，则环境的变化对细胞组成的影响可被忽略，在此基础上建立的模型称为非结构模型。它是在实验研究的基础上，通过物料衡算建立起经验或半经验的关联模型。

在细胞的生长过程中，如果细胞内各种成分均以相同的比例增加，则称为均衡生长。如果由于各组分的合成速率不同而使各组分增加的比例也不同，则称为非均衡生长。从模型的简化考虑一般采用均衡生长的非结构模型。

第四，如果将细胞作为与培养液分离的生物相处理所建立的模型称为分离化模型，一般在细胞浓度很高时常采用此模型，在此模型中需要说明培养液与细胞之间的物质传递作用。如果把细胞和培养液视为一相一液相，则在此基础上所建立的模型为均一化模型。

根据上述讨论，对细胞群体有图 4-1 所示的 4 种模型。

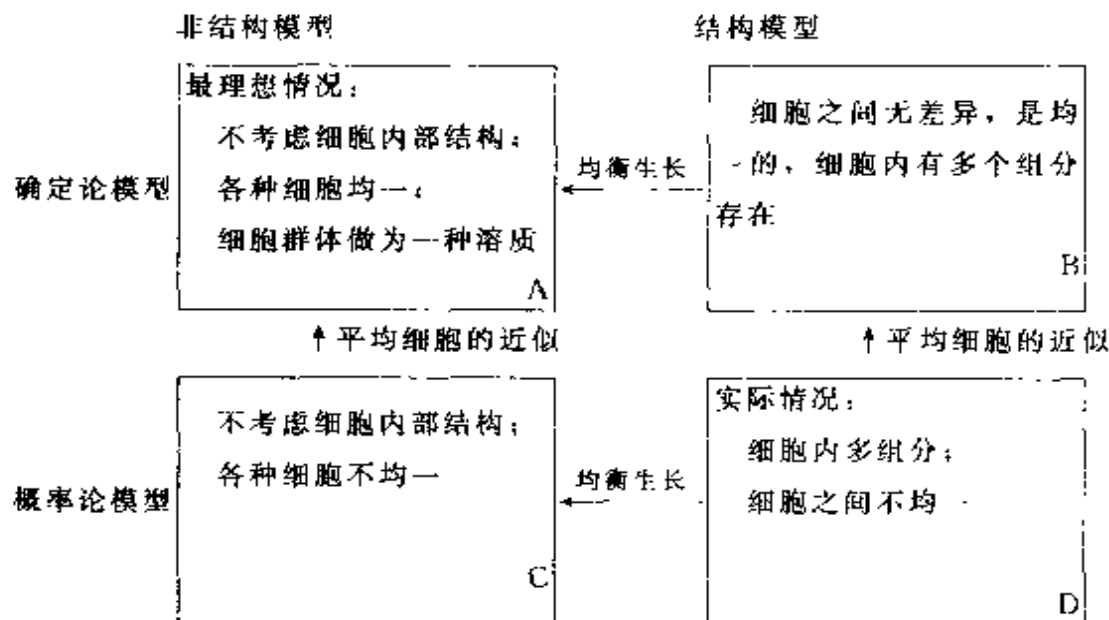


图 4-1 对细胞群体的描述模型

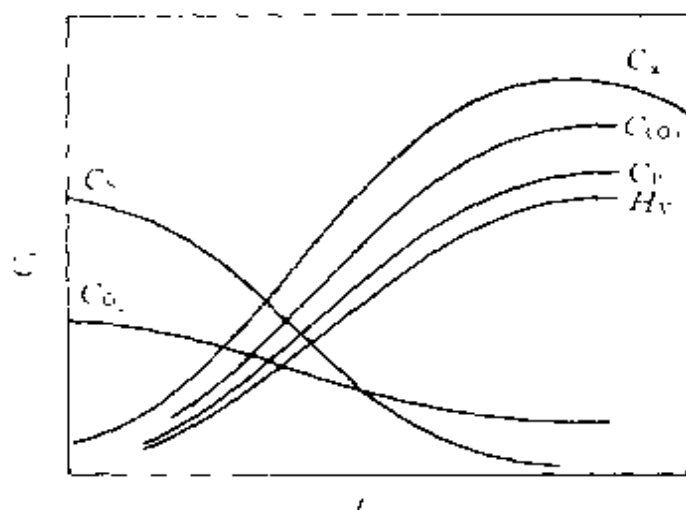
图中 D 为细胞群体的实际情况，但由于在求解及分析中是最繁杂的，应用很困难。

图中 A 为确定论的非结构模型，是最为简化的情况，通常也称为均衡生长模型。由于此模型既不考虑细胞内各组分，又不考虑细胞之

间的差异，因此可以把细胞看成为一种“溶质”，从而简化了细胞内外的传递过程的分析，也简化了过程的数学模型。这对于很多细胞反应过程的分析、特别是对过程的控制，均衡生长模型是可以满足要求的。这是本节所要讨论的主要内容。

图中 B 表示的是确定论结构模型，将在本章第 7 节中予以介绍。图中 C 表示的概率论非结构模型，应用很少，本书不再予以讨论。

(2) 反应速率的定义。如果在间歇操作的反应器中进行某一细胞反应过程，则可得细胞浓度 (C_x)、基质浓度 (C_s)、代谢产物浓度 (C_p)、溶氧浓度 (C_{O_2}) 和二氧化碳浓度 (C_{CO_2}) 以及反应热效应 (H_v) 等随反应时间的变化曲线，如图 4-2 所示。从该



图中可以看出细胞的生长、基质的消耗和产物生成的变化情况，要描述这种变化，这里采用绝对速率和比速率两种定义方法。

① 绝对速率 (又简称为速率)。如同前面提到酶催化反应速率概念一样，表示为单位时间、单位反应体积某一组分的变化量。对于在图 4-2 中所表示的各种变量，可用下述表达式来表示其速率。

细胞生长速率为：

$$r_x = \frac{dC_x}{dt} \quad (4-34)$$

C_x 为细胞的浓度，对于细胞，一般无法用摩尔浓度表示，而是以质量表示，并且不考虑细胞中的大量水分，常用单位体积培养液中所含细胞 (或称菌体) 的干燥质量表示。

基质和氧的消耗速率 r_s 、 r_o 为：

$$r_s = -\frac{dC_s}{dt} \text{ 和 } r_o = -\frac{dC_{O_2}}{dt} \quad (4-35)$$

产物 CO_2 和反应热的生成速率 r_p 、 r_s 、 r_{H_v} 为

$$r_p = \frac{dC_p}{dt}, \quad r_s = -\frac{dC_s}{dt}, \quad r_{H_v} = \frac{dC_{H_v}}{dt} \quad (4-36)$$

这些速率的单位是 $[\text{g}/(\text{L} \cdot \text{h})]$ 或 $[\text{kJ}/(\text{L} \cdot \text{h})]$, 表示在恒温 ($T = \text{常数}$) 和恒容 ($V_R = \text{常数}$) 的情况下这些组分的生长、消耗和生成的绝对速率值。

② 比速率。该速率是以单位浓度细胞 (或单位质量) 为基准而表示的各个组分变化速率

细胞生长比速率:

$$\mu = \frac{1}{C_x} \frac{dC_x}{dt} \quad [\text{h}^{-1}] \quad (4-37)$$

基质消耗比速率:

$$q_s = \frac{1}{C_x} \frac{dC_s}{dt} \quad [\text{h}^{-1}] \quad (4-38)$$

氧消耗比速率:

$$q_o = \frac{1}{C_x} \frac{dC_o}{dt} \quad [\text{h}^{-1}] \quad (4-39)$$

产物生成比速率:

$$q_p = \frac{1}{C_x} \frac{dC_p}{dt} \quad [\text{h}^{-1}] \quad (4-40)$$

反应热生成比速率:

$$q_{H_v} = \frac{1}{C_x} \frac{dC_{H_v}}{dt} \quad [\text{kJ}/(\text{g} \cdot \text{h})] \quad (4-41)$$

式中 C_x 、 C_s 、 C_o 、 C_p 分别为细胞、基质、氧和产物的浓度;

C_{H_v} —— 产热强度, 即单位反应体积所产生热量。

从上述各式中可以看出, 比速率与催化活性物质的量有关, 因此比速率的大小反映了细胞活力的大小。

4.2.2 分批培养时细胞生长动力学

分批培养又称间歇培养。它是在反应器中装入培养基, 灭菌, 接种, 然后维持一定的条件进行培养。在培养过程中, 除了需氧培养过程需要通入无菌空气、消除泡沫用的消泡剂以及维持一定 pH 所用酸

碱外,不再加入其他物料。待反应进行到一定程度后,将全部反应液放出,进行后处理。对分批培养,细胞的浓度变化见图4-3。从该图中细胞浓度变化规律来分析,细胞的生长过程包括下列阶段,即延迟期、指数生长期、减速期、静止期和衰亡期。

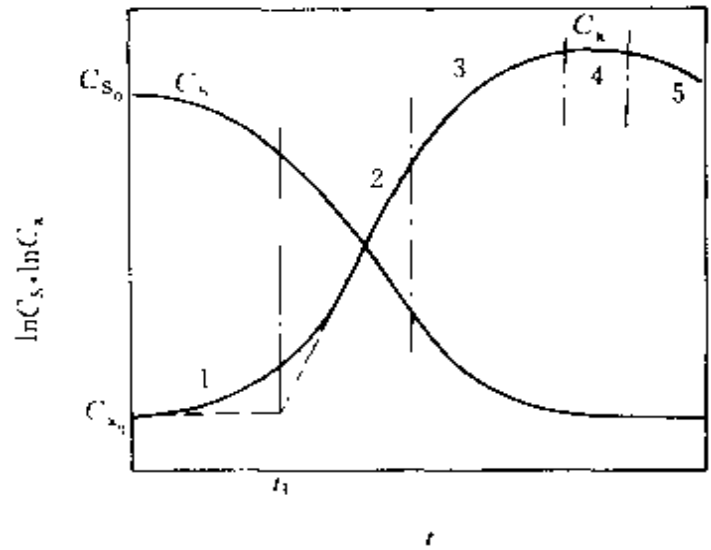


图 4-3 细胞间歇培养各个时间的浓度-时间曲线图

1—延迟期; 2—指数期; 3—减速期; 4—静止期; 5—衰亡期; t_L —延迟期时间

(1) 延迟期。系指培养基接种后,细胞质量浓度在一段时间内无明显增加的这一阶段。它是细胞在环境改变后表现出来的一个适应阶段。如果新培养基中含有较丰富的某种营养物质,而在老环境中则缺乏这种物质,细胞在新环境中就必须合成有关的酶来利用该物质,从而表现出延迟期。许多胞内酶需要辅酶或活化剂,它们又是一些小分子或离子,具有较大通过细胞膜的能力,当细胞转移到新环境时,这些物质可能因扩散作用从细胞中向外流失,这也是产生延迟期的一个原因。延迟期长短与菌种的种龄和接种量的大小有关。年青的种子延迟期短,年龄老的种子延迟期长。对于相同种龄的种子,接种量愈大延迟期愈短。

在延迟期内,细胞的质量会稍有增加,但细胞的数目基本不变。当由于细胞接种量过少而造成的延迟期,又可称假延迟期。当培养基中含有多于一个碳源时,还会观察到多个延迟期存在,称为二次生长现象。

延迟期的时间一般由实验确定。

(2) 指数生长期。指数生长期,又称对数期,在此阶段中,培养基中营养物质较充分,细胞的生长不受限制,细胞浓度随时间呈指数生长。由于在此阶段,细胞分裂繁殖最为旺盛,生理活性最高,因此在工业细胞反应中,常转接处于指数生长期中期的细胞,以保证转接后细胞能迅速生长,微生物反应能快速进行。

在指数生长期内，细胞质量和数目均随时间呈指数增加。并且由于细胞中各组分都以相同速率增加（均衡生长假设），细胞平均组成近似恒定。以细胞质量或细胞数目来确定的细胞比生长速率也是相同的。细胞生长速率与细胞浓度是一级动力学关系。

$$\frac{dC_x}{dt} = \mu C_x \quad (4-42)$$

在指数生长阶段，细胞的生长不受基质浓度限制，比生长速率 μ 达到最大值 μ_{max} 并保持不变，因而存在有 $\mu = \mu_{max}$ 。

所以
$$\frac{dC_x}{dt} = \mu_{max} C_x \quad (4-43)$$

当 $t=0$ 时， $C_x = C_{x_0}$

则
$$\ln \frac{C_x}{C_{x_0}} = \mu_{max} t \quad (4-44)$$

$$C_x = C_{x_0} e^{\mu_{max} t} \quad (4-45)$$

细胞质量浓度增加一倍时所需时间为：

$$t_d = \frac{\ln 2}{\mu_{max}} = \frac{0.693}{\mu_{max}} \quad (4-46)$$

式中 t_d — 倍增时间。

微生物细胞 μ_{max} 值较大，倍增时间约为 0.5~5h，而动植物细胞 μ_{max} 值则小得多，如动物细胞的倍增时间约为 15~100h，植物细胞倍增时间约为 24~74h。

(3) 减速期。减速期的存在是由于当细胞大量生长后，培养基中基质浓度已下降，加上有害代谢物的积累，使细胞生长速率开始减缓，从而进入减速期。在减速期内，细胞生长速率与细胞浓度仍符合一级动力学关系，即：

$$\frac{dC_x}{dt} = \mu C_x \quad (4-47)$$

但其中 μ 值受到基质浓度的限制。

(4) 静止期。静止期的出现是由于营养物质已耗尽或有害物质的积累，使细胞浓度不再增加，细胞生长速率等于细胞的死亡速率，此时细胞的纯生长速率为零。在此阶段，总的细胞质量浓度可能是不

变的，但活细胞的数目却在减少，并且细胞仍存在着代谢活性，产生代谢产物。

此时有：

$$\frac{dC_x}{dt} = (\mu - k_d)C_x = 0 \quad (4-48)$$

式中 k_d ——细胞死亡速率常数。

$$\text{最大细胞浓度：} \quad C_{x,\max} = C_x \exp(\mu t) \quad (4-49)$$

(5) 衰亡期。衰亡期是由于细胞生长环境严重恶化，活细胞死亡速率加速，其浓度快速下降，但由于有部分活细胞早在静止期内开始死亡，造成静止期与衰亡期有时很难严格区别。

细胞死亡速率亦遵循一级动力学：

$$\frac{dC_x}{dt} = -k_d C_x \quad (4-50)$$

在某一时间 t ，活细胞浓度可表示为：

$$C_x = C_{x,\max} \exp(-k_d t) \quad (4-51)$$

从上述分析来看，细胞的生长可分为多个不同的阶段，每个阶段都有自己的动力学特点。其中尤以指数生长期和减速期最为重要。下面就细胞在不同的生长阶段和不同环境条件下的动力学特性进行讨论。

4.2.3 无抑制的细胞生长动力学

现代细胞生长动力学的奠基人 Monod 早在 1942 年就指出，细胞的比生长速率与限制性基质浓度的关系可用下式表示，

$$\mu = \mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s} \quad (4-52)$$

该方程称为 Monod 方程，它在形式上与酶催化动力学的 M-M 方程相似，但 Monod 方程是从经验得出的，常称为形式动力学，而 M-M 方程则是从反应机理推导的。该方程中， μ 为比生长速率 (s^{-1})； μ_{\max} 为最大比生长速率 (s^{-1})； C_s 为限制性基质浓度 (g/L)； K_s 为饱和常数 (g/L)，其值等于比生长速率恰为最大比生长速率的一半时的限制性基质浓度。

Monod 方程是典型的均衡生长模型，其基本假设如下。

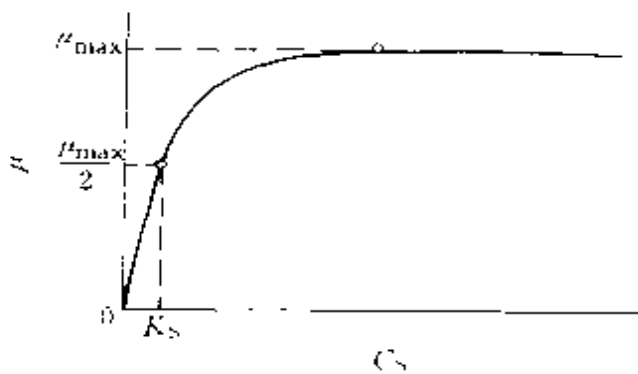


图 4-4 细胞的比生长速率与限制性
基质浓度的关系

① 细胞的生长为均衡式生长, 因此描述细胞生长的唯一变量是细胞的浓度;

② 培养基中只有一种基质是生长限制性基质, 而其他组分为过量, 不影响细胞的生长;

③ 细胞的生长视为简单的单一反应, 细胞得率为一常数。根据 Monod 模型方程, 其 μ 与 C_s 的关系如图 4-4 所示。

当限制性基质浓度很低时, $C_s \ll K_s$, 此时若提高限制性基质浓度, 可以明显提高细胞的生长速率。此时有:

$$\mu \approx \frac{\mu_{\max}}{K_s} C_s \quad (4-53)$$

细胞比生长速率与基质浓度为一级动力学关系。

此时,

$$r_x \approx \frac{\mu_{\max}}{K_s} C_s C_x \quad (4-54)$$

当 $C_s \gg K_s$ 时, $\mu \approx \mu_{\max}$, 若继续提高基质浓度, 细胞生长速率基本不变。此时细胞比生长速率与基质浓度无关, 为零级动力学特点。

此时,

$$r_x \approx \mu_{\max} C_x \quad (4-55)$$

当 C_s 处于上述两种情况之间, 则 μ 与 C_s 关系符合 Monod 方程关系。根据式 (4-47) 和式 (4-52), 有:

$$r_x = \frac{dC_x}{dt} = \mu C_x = \frac{\mu_{\max} C_s}{K_s + C_s} C_x \quad (4-56)$$

又根据式 (4-18), 有:

$$C_s = C_{s_0} - \frac{1}{Y_{x/S}} (C_x - C_{x_0}) \quad (4-57)$$

将式 (4-57) 代入 (4-56) 式,

$$r_x = \mu_{\max} \frac{C_{s_0} - \frac{1}{Y_{x/S}} (C_x - C_{x_0})}{K_s + C_{s_0} - \frac{1}{Y_{x/S}} (C_x - C_{x_0})} C_x \quad (4-58)$$

若 C_x 很小可忽略, 则上式可简化为

$$r_x = \mu_{\max} \frac{C_{S_0} - \frac{1}{Y_{x/S}} C_x}{K_S + C_{S_0} - \frac{1}{Y_{x/S}} C_x} C_x \quad (4-59)$$

当反应开始时, C_x 值相对较低, 此时提高 C_x 值, 有利于其生长速率的提高; 当反应后期, C_x 值较高, 而相应 C_S 值很低, 此时若继续提高 C_x 值, 则其生长速率继续下降, 根据式 (4-59) r_x-C_x 关系曲线如图 4-5 所示, r_x 有一最大值。

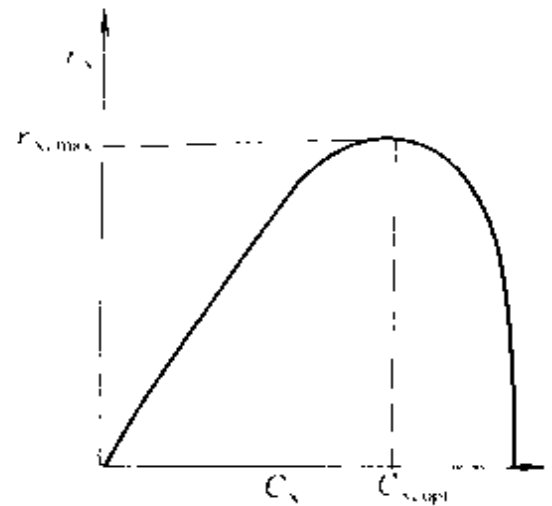


图 4-5 r_x-C_x 关系曲线

Monod 方程表述简单, 应用范围广泛, 是细胞生长动力学最重要方程之一。但是, Monod 方程仅适用于细胞生长较慢和细胞密度较低的环境

下。因为只有这时, 细胞的生长才能与基质浓度 C_S 呈一简单关系式。如果基质消耗速率过快, 则极有可能产生有害的副产物; 在细胞浓度很高时, 则有害的副产物可能更多。因此, 人们又提出另外一些无抑制的细胞生长动力学。例如:

对由于初始基质浓度过高而造成细胞生长过快的细胞反应, 可采用下述方程:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_S}{K_S + K_{S_0} C_{S_0} + C_S} \quad (4-60)$$

式中 C_{S_0} ——基质初始浓度;

K_{S_0} ——无因次初始饱和常数。

由于 $K_{S_0} C_{S_0}$ 项的存在, 导致 μ 下降。

还有一些可代替 Monod 方程的各种表达式:

Tessier 方程:

$$\mu = \mu_{\max} (1 - e^{-KC_S}) \quad (4-61)$$

Moser 方程:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_s}{K_s + C_s} \quad (4-62)$$

Contois 方程:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_s}{K_s C_x + C_s} \quad (4-63)$$

Blackman 方程:

当 $C_s \geq 2K_s$ 时, $\mu = \mu_{\max}$;

$$\text{当 } C_s < 2K_s \text{ 时, } \mu = \frac{\mu_{\max} C_s}{2K_s} \quad (4-64)$$

在上述方程中, Tessier 方程有两个动力学参数 (μ_{\max} , K); Moser 方程有三个参数 (μ_{\max} , K_s , n), Moser 方程是这些方程中最普遍的一种, 当 $n=1$, 即为 Monod 方程。Contois 方程适合于在高密度下细胞生长, 方程中 K_s 与细胞密度相乘。Blackman 方程虽然与实验数据拟合有时要比 Monod 方程更好, 但其不连续性对其应用带来了麻烦。根据上述方程可看出, 细胞比生长速率随基质浓度下降而下降, 有的还与细胞浓度成反比关系。

Konak 提出更普遍化经验关联式为:

$$\frac{d\left(\frac{\mu}{\mu_{\max}}\right)}{dC_s} = K \left(\frac{\mu}{\mu_{\max}}\right)^m \left(1 - \frac{\mu}{\mu_{\max}}\right)^n \quad (4-65)$$

式中 K 、 m 、 n —— 参数, 对不同方程代表不同的值, 具体见表 4-3。

表 4-3 方程 (4-65) 中的常数值

模 型	K	m	n
Monod	$1/K_s$	0	2
Tessier	$1/K_s$	0	1
Moser	$n/\sqrt[n]{K_s}$	$1 - \frac{1}{n}$	$1 + \frac{1}{n}$
Contois	$1/(K_s C_x)$	0	2

在上述各方程中, 讨论的都是单一基质限制下细胞比生长速率与该基质浓度的关系。如果反应中限制性基质不是一种, 而是两种或多种, 则上述模型方程已不适用。为此人们又提出了其他模型方程。

以双基质限制为例，有两类方程可供采用：
累加动力学：

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_{s_1}}{K_{s_1} + C_{s_1}} \cdot \frac{\mu_{\max} C_{s_2}}{K_{s_2} + C_{s_2}} \quad (4-66)$$

相互影响动力学：

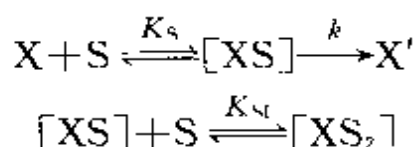
$$\mu = \mu_{\max} \left[\frac{C_{s_1}}{K_{s_1} + C_{s_1}} \times \frac{C_{s_2}}{K_{s_2} + C_{s_2}} \right] \quad (4-67)$$

4.2.4 有抑制的细胞生长动力学

对细胞反应，某些物质的存在，也会使细胞生长的比速率下降。对细胞生长起到一定的抑制作用。这些抑制剂的存在，或是改变了细胞和细胞中酶的渗透性，或使细胞中酶的聚集体发生解离，或影响酶的合成，或影响细胞的活性功能，等等，这些抑制一般包括基质抑制和产物抑制。

(1) 基质抑制动力学。当基质浓度很高时，细胞的生长反而会受到基质的抑制作用。同底物对酶催化反应的抑制一样，基质对细胞生长的抑制同样可以分为竞争性、非竞争性和反竞争性抑制。

对反竞争性抑制，其抑制机理可假设为：



式中 $K_s = \frac{C_x C_s}{C_{[XS]}}$ ，饱和常数；

$K_{SI} = \frac{C_{[XS]} C_s}{C_{[XS_2]}}$ ，抑制常数；

$[XS_2]$ —— 复合物，它不能生成新细胞；

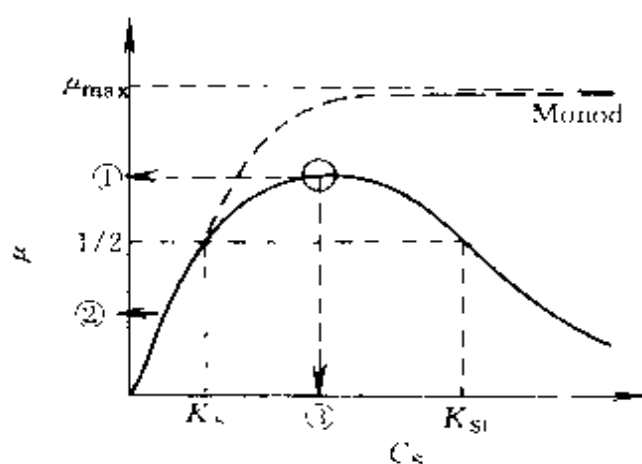
X' —— 生成新的细胞。

因此细胞生长比速率为：

$$\mu = k C_{[XS]} \quad (4-68)$$

对反竞争性基质抑制，细胞比生长速率又可表示为：

$$\mu = \mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s + \frac{C_s^2}{K_{SI}}} = \mu_{\max} \frac{C_s}{C_s \left(1 + \frac{C_s}{K_{SI}} \right)} \quad (4-69)$$



$$\textcircled{1} \frac{\mu_{\max}}{1+2\sqrt{K_S/K_{SI}}} \quad \textcircled{2} \mu = \frac{\mu_{\max}}{K_S} C_S \quad \textcircled{3} \sqrt{K_S K_{SI}}$$

图 4-6 有基质抑制的动力学曲线之一

该式表示的曲线如图 4-6 所示。

从图中可以看出，当基质浓度低时，细胞比生长速率随基质浓度的提高而增大，并达到最大值；当基质浓度继续提高时， μ 反而下降。根据方程 (4-69)，当 μ 值为最大时：

$$\frac{d\mu}{dC_S} = 0 \quad \text{则 } C_{S,\text{opt}} = \sqrt{K_S K_{SI}} \quad (4-70)$$

此时

$$\mu_{\text{opt}} = \frac{\mu_{\max}}{1+2\sqrt{K_S/K_{SI}}} \quad (4-71)$$

对竞争性基质抑制，可得到：

$$\mu = \mu_{\max} \frac{C_S}{K_S \left(1 + \frac{C_S}{K_{SI}} \right) + C_S} \quad (4-72)$$

对非竞争性基质抑制，则有：

$$\mu = \mu_{\max} \frac{C_S}{(C_S + K_S) \left(1 + \frac{C_S}{K_{SI}} \right)} \quad (4-73)$$

图 4-7 表示了在分批培养时，某一竞争性基质抑制对细胞生长的影响。从图中可以看出，基质的抑制作用是相当明显的，使细胞培养

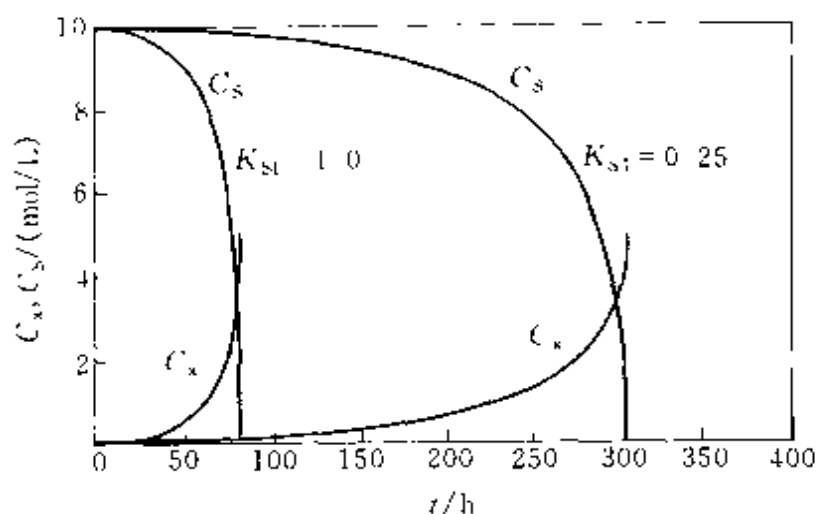


图 4-7 竞争性抑制对分批生长的影响

周期明显的延长。

(2) 产物抑制动力学。细胞反应过程中，有些代谢产物浓度较高时，也会抑制细胞的生长和其代谢能力，产物的抑制也可分为竞争性和非竞争性抑制。在某些情况下，代谢产物抑制的机理虽不清楚，但仍可采用一些近似的经验表达式表示其抑制动力学。其中较普遍采用的是与非竞争抑制动力学相似的表达式：

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_S}{K_S + C_S} \times \frac{K_{IP}}{K_{IP} + C_P} \quad (4-74)$$

式中 K_{IP} ——产物抑制常数。

其他形式的动力学还有：

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_S}{K_S + C_S} e^{-K_{IP} C_P} \quad (4-75)$$

式 (4-75) 中的指数项按泰勒级数展开，并只保留第 1 项，可得到下式：

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_S}{K_S + C_S} (1 - K_{IP} C_P) \quad (4-76)$$

如果根据实验能够确定，当代谢产物浓度为 $C_{P,\max}$ 值时，细胞的生长受到完全的抑制，则产物对细胞生长的抑制动力学可采用下式表示：

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_S}{K_S + C_S} \left(1 - \frac{C_P}{C_{P,\max}} \right)^n \quad (4-77)$$

式中 n 为经验参数，由实验数据确定。

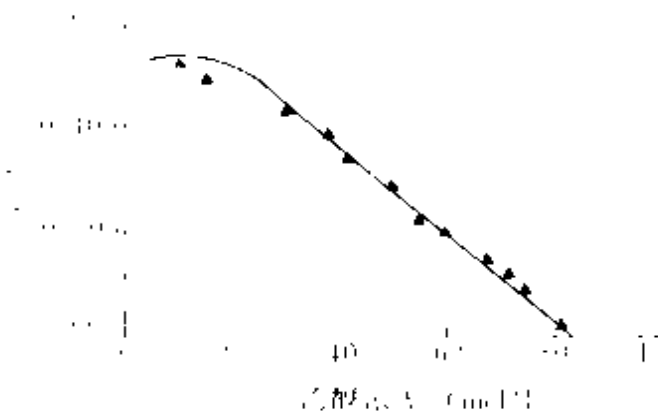


图 4.8 乙醇浓度对单孢菌比生长速率的影响

($\mu_{\max} = 0.66 \text{ h}^{-1}$, $C_{P,\max} = 82.5 \text{ mol/L}$)

代谢产物对细胞生长的抑制中，最具代表性的是发酵法生产乙醇时，乙醇对酵母菌或其他菌类的抑制作用。图 4.8 表示了在一定运动发酵单孢菌 (*Z. mobilis*) 作用下发酵生产乙醇时，乙醇浓度对该菌比生长速率的影响，从图中可以明显看出，当乙醇浓度增加，单孢菌比生长速率快速下降。

(3) 逻辑方程。Verhulst-Pearl 提出，在某一特定环境条件下，应有一最大的细胞质量浓度，以 C_x 表示，它相当于生物学中的负载能力，该值与基质浓度 C_s 有关。利用上述概念，提出了逻辑方程 (Logistic equations)，在该方程式中将比生长速率与尚未利用的负载能力相关联，即：

$$\mu = K \left(1 - \frac{C_x}{C_{x_n}} \right) \quad (4-78)$$

因此

$$\frac{dC_x}{dt} = KC_x \left(1 - \frac{C_x}{C_{x_n}} \right) \quad (4-79)$$

式中 K 、 C_{x_n} 为参数，均由实验确定。

对上式进行积分，可得到：

$$C_x = \frac{C_{x_n} e^{Kt}}{1 + \frac{C_{x_n}}{C_{x_0}} (e^{Kt} - 1)} \quad (4-80)$$

逻辑方程是应用较为普遍的方程之一。

4.2.5 温度和 pH 值对细胞生长速率的影响

在细胞反应过程中，除了满足细胞生长的营养需要外，还需要维持细胞生长的适宜操作条件，其中温度和 pH 值是两个重要的因素：

(1) 温度。温度对细胞内所进行的各种生化反应和其生长速率都有很大的影响。一般动物细胞的培养温度为 31~39℃，植物细胞为 25~30℃，微生物细胞则根据其最适宜培养温度可分为低温菌、中温菌、高温菌、特耐高温菌和超级高温菌。它们的生长温度范围见表 4-4。当温度偏低时，细胞的生长速率较慢；随着温度的升高，生长速率增大；当温度超出一定范围时，由于细胞内结构物质的变性而导致其生长速率急速下降，甚至死亡。

表 4-4 微生物细胞的生长温度 /℃

种 类	最低温度	最适温度	最高温度
低温菌	-5~5	15~18	19~22
中温菌	10~15	30~45	35~45
高温菌	25	45~75	60~80
特耐高温菌	50	60~75	75~90
超级高温菌			≥100

在适宜的温度范围内，细胞生长速率也可表示为

$$\frac{dC_x}{dt} = (\mu - k_d)C_x \quad (4-81)$$

式中 k_d —— 细胞死亡比速率常数。

μ 和 k_d 随温度的变化可分别表示为：

$$\mu = Ae^{E_s/RT} \quad (4-82)$$

$$k_d = A_0e^{-E_d/RT} \quad (4-83)$$

式中 E_s 和 E_d 分别为细胞的生长和热死亡的活化能。对 E_s 其典型数值为 25~33kJ/mol；对 E_d 则为 104~122kJ/mol，这表明，细胞的热死亡速率比其生长速率对温度变化的敏感性更大。

细胞的最适生长温度不一定就是其代谢产物的最佳生成温度。生产上常采用在细胞生长前期控制温度使其有利于细胞生长，待细胞浓度达到一定程度之后再转换到最佳产物生成温度，以得到较多产物。在某些情况下，例如单细胞蛋白的生产，最佳温度则以追求基质对细胞得率系数 $Y_{x/s}$ 最大为目标。当温度高于最佳温度时，细胞对维持能需要增加，即维持系数将随温度的增加而增加，这样会导致得率系数下降。

(2) pH 值。pH 也是影响细胞生长的一个重要因素。对于细胞能够进行生长的 pH 范围大约为 3~4 个 pH 单位，而最适宜的 pH 范围为 1~2 个 pH 单位。每一类细胞对 pH 值的要求是不同的。大多数细菌生长的最适 pH 为 6.3~7.5；霉菌和酵母菌生长最适 pH 为 3~6；放线菌生长最适 pH 为 7~8，对植物细胞，生长最适 pH 为 5~6；对动物细胞则为 6.5~7.5。

在细胞生长过程中，由于对基质的利用，随着反应过程中有机酸或氨基氮的生成，使 pH 产生变化。正常情况下，在细胞生长阶段，pH 会有上升或下降的变化；在产物生成阶段，pH 趋于稳定；在细胞自溶阶段，pH 又会上升。由此可见，在适合于细胞生长的环境条件下，细胞本身具有一定调节 pH 的能力，使 pH 处于适宜状态。但是当外界条件变化过于剧烈，细胞就失去调节能力，pH 就会发生波动。在实际中，通过 pH 电极连续测定 pH 的变化，并同时通过补加酸或碱，使 pH 维持在最适宜范围内。

4.3 基质消耗与产物生成动力学

4.3.1 基质消耗动力学

(1) 基质的消耗速率与比消耗速率。基质的消耗速率可通过细胞得率系数与细胞生长速率相关联。如果基质仅用于细胞的生长，则单位体积培养液中基质 S 的消耗速率 r_s 可表示为：

$$r_s = \frac{1}{Y_{x/S}} r_x = \frac{1}{Y_{x/S}} \mu C_x = \frac{1}{Y_{x/S}} \mu_{\max} \frac{C_s}{K_S + C_s} C_x \quad (4-84)$$

r_s 的因次可用 $g/(L \cdot s)$ 表示。

基质的比消耗速率定义为相对单位质量细胞单位时间内的基质消耗量，用 q_s 表示。

$$q_s = \frac{1}{C_x} r_s = \frac{1}{C_x} \frac{1}{Y_{x/S}} r_x = \frac{1}{Y_{x/S}} \mu = \frac{1}{Y_{x/S}} \mu_{\max} \frac{C_s}{K_S + C_s} \quad (4-85)$$

若定义 $q_{s,\max} = \frac{1}{Y_{x/S}} \mu_{\max}$

则 $q_s = q_{s,\max} \frac{C_s}{K_S + C_s} \quad (4-86)$

因此, $q_{s,\max}$ 称为基质最大比消耗速率。

在需氧的细胞反应中, 氧在培养过程中是起呼吸的最终电子受体作用, 最终生成水并释放出反应的能量, 因此氧也是在反应过程中随着能源基质的消耗而消耗。

单位体积培养液中的细胞在单位时间内摄取 (消耗) 氧的量称为摄氧率 (OUR) 或氧的消耗速率 (r_{O_2}), 可表示为

$$r_{O_2} = \frac{1}{Y_{x/O_2}} r_x \quad (4-87)$$

r_{O_2} 与细胞浓度之比, 为比耗氧速率 q_{O_2} , 或称为呼吸强度。亦可表示为

$$q_{O_2} = \frac{1}{Y_{x/O_2}} \mu \quad (4-88)$$

因此

$$r_{O_2} = q_{O_2} C_x \quad (4-89)$$

q_{O_2} 的数值因所使用的细胞、培养条件不同而有所不同, 一般约为 $0.05 \sim 0.25 \text{ h}^{-1}$ 左右。

(2) 包括维持代谢的基质消耗动力学。对于在热力学上远离平衡态的活细胞, 为了维持其生命, 必须要获取高能物质并将其化学能转变为热能, 用以维持其渗透压, 修复 DNA、RNA 和其他大分子, 因此能量不仅要消耗于细胞的生长上, 而且也要消耗在维持细胞结构上。因此对基质消耗的物料衡算方程中必须考虑维持代谢这一项。基质消耗速率可表示为:

$$r_s = \frac{1}{Y_{x/s}^*} r_x + m C_x \quad (4-90)$$

式中 $Y_{x/s}^*$ 一生成细胞的干重与完全消耗于细胞生长的基质的质量之比, 它表示了在无维持代谢时的细胞得率, 可称为最大细胞得率;

m ——细胞的维持系数, 其单位为 $\text{g}/(\text{g} \cdot \text{s})$ 或 s^{-1} 。

式 (4-90) 两边均除以 C_x , 得到

$$q_s = \frac{1}{Y_{x/s}^*} \mu + m \quad (4-91)$$

将式 (4-85) 代入式 (4-90), 又可得

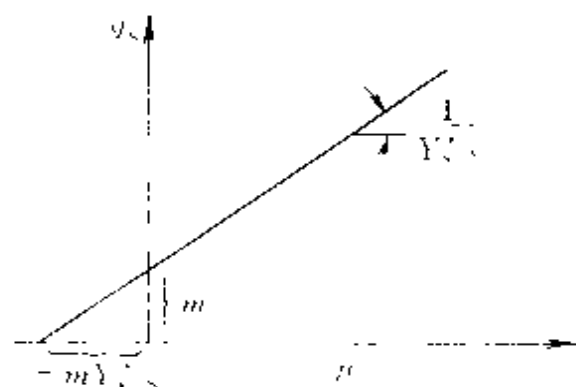


图 4-9 有内源代谢的动力学模型求取参数

求出 $Y_{x,s}^*$ 和 m 值。图 4-9 是以 q_s 对 μ 作图，求出有关参数值。

对于氧的消耗，同样也存在：

$$r_{O_2} = \frac{1}{Y_{x,O_2}^*} r_x + m_{O_2} C_x \quad (4-93)$$

$$q_{O_2} = \frac{1}{Y_{x,O_2}^*} \mu + m_{O_2} \quad (4-94)$$

(3) 包括产物生成的基质消耗动力学。基质在细胞内合成产物的模型取决于产物的生成是否与能量代谢过程相偶联。当产物的生成是以产能途径进行时，则由于细胞生长和维持能，生成产物则是不可避免的，如图 4-10 (a) 所表示的那样，此时无单独基质流进入细胞用于生成产物，而所生成产物所消耗的基质来自于用于细胞生长和维持能的基质，并且消耗于维持能的基质对细胞

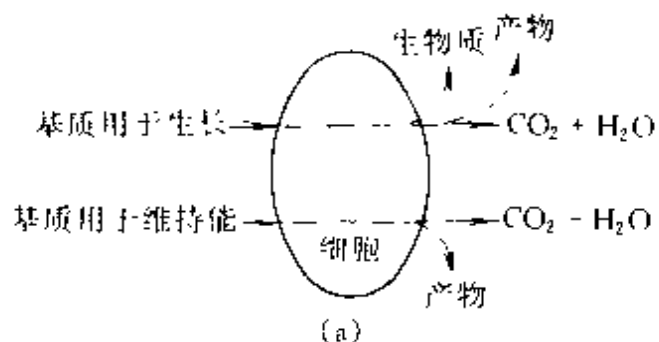
$$\frac{1}{Y_{x,s}} = \frac{1}{Y_{x,s}^*} + \frac{m}{\mu} \quad (4-92)$$

式中 $Y_{x,s}$ —— 对基质的总消耗而言的细胞得率，即宏观得率；

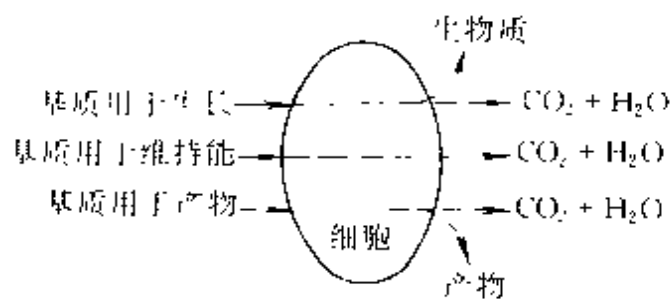
$Y_{x,s}^*$ —— 对用于细胞生长所消耗基质而言的细胞得率，即理论得率。

以式 (4-91) 的 q_s 对 μ 或以式

(4-92) 的 $\frac{1}{Y_{x,s}}$ 对 $\frac{1}{\mu}$ 分别作图，均可



(a)



(b)

图 4-10 基质消耗与产物生成关系示意图

生长无作用，因此它为单独基质流进入细胞内。此时产物直接与能量产生相联系，基质消耗的速率方程不包括单独用于生成产物项，用于生成产物所消耗基质已经包括在用于细胞生长和维持能中所消耗基质项中，因此基质消耗动力学仍可采用式 (4-90) 和式 (4-91)。

如果产物生成不与或仅仅部分与能量代谢相联系，则用于生成产物的基质或全部或部分系以单独物流进入细胞内，如图 4-10(b) 所示。此时产物生成与能量代谢仅为间接相偶合。基质消耗速率取决于三个因素：细胞生长速率、产物生成速率和基质消耗于维持能的速率，这些不同则可利用得率系数和维持系数相关联，表示为：

$$r_s = \frac{1}{Y_{x/s}^*} r_x + mC_x + \frac{1}{Y_{p/s}} r_p \quad (4-95)$$

式 (4-95) 又可表示为：

$$-\frac{dC_s}{dt} = \frac{1}{Y_{x/s}^*} \mu C_x + mC_x + \frac{1}{Y_{p/s}} q_p C_x \quad (4-96)$$

式中 $Y_{p/s}$ ——产物的得率系数；

q_p ——产物的比生成速率。

$$q_p = \frac{1}{C_x} \frac{dC_p}{dt} \quad (4-97)$$

q_p 相当于单位质量细胞生成产物的速率。

当限制性基质的消耗速率也用比消耗速率 q_s 表示时，则有

$$q_s = \frac{1}{Y_{x/s}^*} \mu + m + \frac{1}{Y_{p/s}} q_p \quad (4-98)$$

有关基质消耗动力学的上述讨论都是建立在单一的限制性基质的基础上。如果对一细胞反应，同时有多种基质存在，此时基质的消耗利用机理，可为同时消耗、依次消耗和交叉消耗等多种情况，此时基质消耗动力学的模型将变得十分复杂，有兴趣者可查阅有关专著。

4.3.2 代谢产物生成动力学

细胞反应生成的代谢产物有醇类、有机酸、抗生素和酶等，涉及范围很广。并且由于细胞内生物合成的途径十分复杂，其代谢调节机制也是各具特点。因此，至今还没有达到可用统一的模型来描述代谢产物生成动力学。

Gaden 根据产物生成速率与细胞生长速率之间的关系, 将其分为三种类型。

类型 I 称为相关模型。是指产物的生成与细胞的生长相关的过程, 产物是细胞能量代谢的结果。此时产物通常是基质的分解代谢产物, 代谢产物的生成与细胞的生长是同步的。属于此类型的反应有乙醇、葡萄糖酸、乳酸的生产等。其动力学方程可表示为

$$r_P = Y_{P/X} r_X = Y_{P/X} \mu C_X \quad (4-99)$$

$$q_P = Y_{P/X} \mu \quad (4-100)$$

式中 $Y_{P/X}$ ——单位质量细胞生成的产物量。

从图 4-11 可以看出, 此时产物的浓度-时间曲线与细胞相似; 产物、细胞和基质三者的速率-时间曲线和比速率-时间曲线的变化趋势

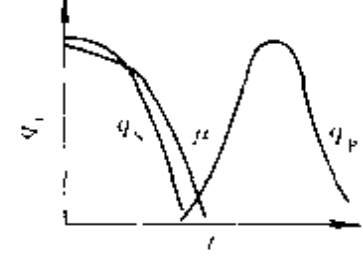
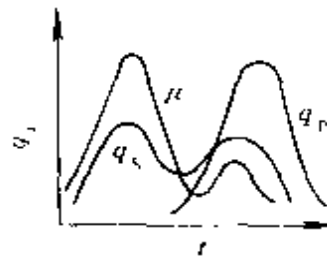
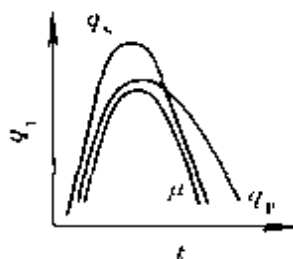
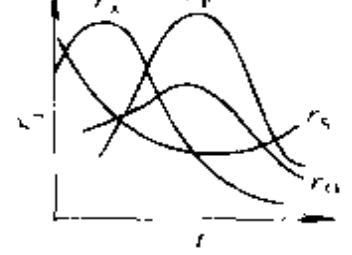
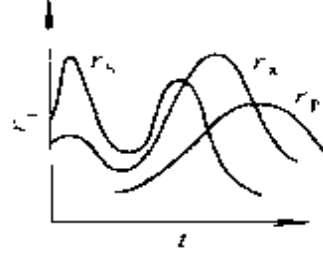
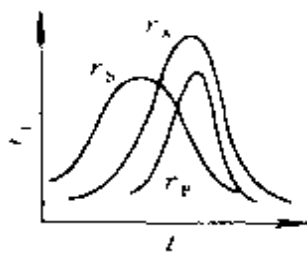
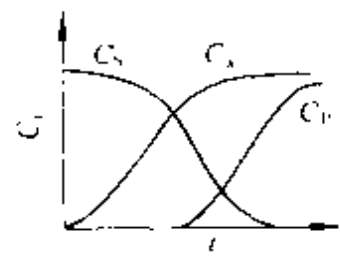
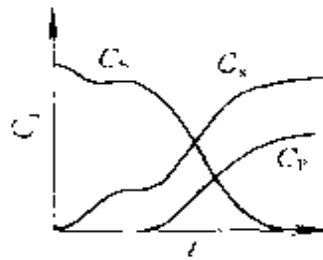
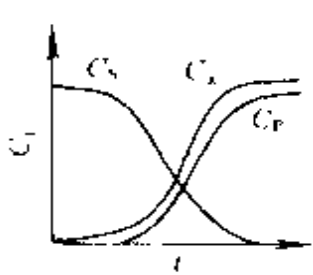


图 4-11 产物生成相关模型动力学特征示意图

图 4-12 产物生成部分相关模型动力学特征示意图

图 4-13 产物生成非相关模型动力学特征示意图

是同步的，都有一最大值，最大值出现的时间相差不大。

类型 I 称为部分相关模型。该类反应产物的生成与基质消耗仅有间接的关系。产物是能量代谢的间接结果。在细胞生长期内，基本无产物生成。属于此类型的有柠檬酸和氨基酸的生产。同样从图 4-12 可以看出，对此类生长模型，其 μ 和 q_s 下降到一定值后，产物生成才较明显， q_p 增大，当进入产物生成期， q_p 与 μ 和 q_s 基本同步。其动力学方程可表示为

$$r_p = \alpha r_x + \beta C_x \quad (4-101)$$

式中 α 、 β — 常数，等号右边第一项与细胞生长有关，第二项仅与细胞浓度有关。

$$q_p = \alpha \mu + \beta \quad (4-102)$$

该式又称为 Luedeking-Piret 方程。

类型 II 称为非相关模型。产物的生成与细胞的生长无直接联系。它是二级代谢产物。它的特点是当细胞处于生长阶段时，并无产物积累，而当细胞生长停止后，产物却大量生成。属于此类型的有抗生素、微生物毒素等代谢产物的生成。同样从图 4-13 可以看出，在反应前期 r_p 、 q_p 都很小，反应后期 r_p 、 q_p 值很大，而 r_x 、 μ 则很小，甚至为零。此时产物生成速率可表示为

$$r_p = \beta C_x \quad (4-103)$$

$$q_p = \beta \quad (4-104)$$

将 q_p 与 μ 之间关系作图可表示在图 4-14 中。

从图中可以看出，除了前述的产物生成的三种类型动力学外还有两种模型：一种是 q_p 与 μ 为负相关联系的模型，例如黑曲霉生产黑素，其 q_p 与 μ 关系可表示为

$$q_p = q_{p,\max} - Y_{p/x} \mu \quad (4-105)$$

另外一种模型是 q_p 与 μ 无相关联系的模型。

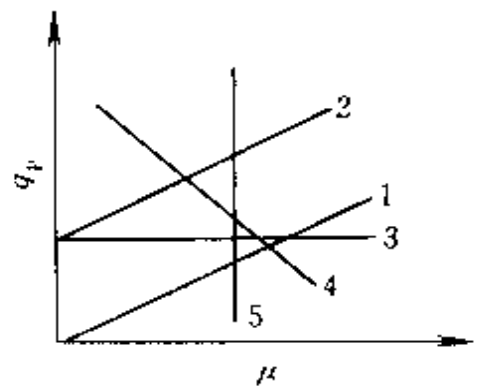


图 4-14 q_p 与 μ 的不同形式
1—与生长相关；2—与生长部分相关；3—与生长非相关；4—与生长负相关；5—与生长无关

对产物生成动力学的描述还提出了其他一些模型。例如，当要考虑到产物可能存在分解时，则方程 (4-101) 可改写为

$$r_p = \alpha r_x + \beta C_x - k_d C_p \quad (4-106)$$

式中 k_d ——产物分解常数。

当考虑到细胞活性上存在差异时，假定高活性细胞所占比例为 Φ ，低活性细胞所占比例为 $1 - \Phi$ ，则产物生成速率可表示为

$$r_p = K_1 \Phi C_x + K_2 (1 - \Phi) C_x \quad (4-107)$$

此模型称为细胞活性分布模型。

4.3.3 细胞反应中的产热速率

细胞反应为一放热反应，与化学反应相比，其放热量虽然不大，但由于细胞的生长对温度变化十分敏感，因此对反应热的移除，反应温度的控制，要求是很严格的。细胞反应过程产热速率可用与生成产物相似的方程来进行处理。若使用比产热速率概念，则有以下式：

$$q_{H_v} = \frac{1}{C_x} \frac{dH_v}{dt} = \frac{1}{Y_{x/H_v}} \mu + \frac{1}{Y_{p/H_v}} q_p + m_{H_v} \quad (4-108)$$

式中 q_{H_v} ——比产热速率，J/(g·h)；

Y_{x/H_v} ——细胞热量得率，g/J；

Y_{p/H_v} ——产物热量得率，g/J；

m_{H_v} ——热量维持系数，J/(g·h)。

对需氧反应过程，可引入下述关系式。

$$q_{H_v} = \frac{1}{Y_{O_2/H_v}} q_{O_2} = \Delta H_R^0 q_{O_2} \quad (4-109)$$

式中 ΔH_R^0 ——消耗单位质量氧的反应热，例如在复合培养基中生长时，丝状真菌的 ΔH_R^0 值约在 0.385~0.494MJ/mol 之间、细菌的 ΔH_R^0 值在 0.385~0.565MJ/mol 之间，其值以细菌、酵母和霉菌的顺序减少；

Y_{O_2/H_v} ——氧的热量得率。

$$r_{H_v} = \Delta H_R^0 r_{O_2} \quad (4-110)$$

细胞反应热的计算可以利用反应中各组分的燃烧热的数据来估

算, 这些数据大部分可从有关手册中查到, 细胞的燃烧热约为 $17.6 \times 10^3 \text{ J/g}$ 干细胞。通过燃烧热, 可得到每生成单位质量细胞的反应热 ΔH_R^s 和每消耗单位质量基质的反应热 ΔH_R^s 值。

例如对酿酒酵母需氧分批培养时, 其产热速率可表示为

$$r_{H_V} = K_1 \mu C_x + \frac{K_2}{Y_{x/s}} \mu C_x - K_3 q_P C_x \quad (4-111)$$

式中 $K_1 = \frac{\Delta H_x - \Delta H_s}{M_x}$; $K_2 = \frac{-\Delta H_s}{M_s}$, $K_3 = \frac{-\Delta H_P}{M_P}$;

r_{H_V} —— 反应产热速率, $\text{J}/(\text{h} \cdot \text{L})$;

$-\Delta H_s$ 、 $-\Delta H_x$ 、 $-\Delta H_P$ —— 分别是基质、氨、细胞和产物的燃烧热, J/mol ;

M_x 、 M_s 、 M_P —— 细胞、基质、产物的分子量。

根据式 (4-111) 可得到每生成单位质量细胞的反应热的表达式为

$$-\Delta H_R^s = K_1 + \frac{K_2}{Y_{x/s}} - K_3 \frac{q_P}{\mu} \quad (4-112)$$

同样, $-\Delta H_R^s = \left(K_1 + \frac{K_2}{Y_{x/s}} - K_3 \frac{q_P}{\mu} \right) Y_{x/s}$ (4-113)

因此, 放热速率可简单表示为

$$r_{H_V} = \frac{dH_V}{dt} = \Delta H_R^s r_x = \Delta H_R^s r_s \quad (4-114)$$

式中 ΔH_R^s —— 生成单位质量细胞的反应热, J/g ;

ΔH_R^s —— 消耗单位质量基质的反应热, J/g 。

4.4 细胞死亡动力学

为了保证细胞反应过程的正常进行, 必须实行严格的灭菌, 以杜绝杂菌进入反应系统。实际应用中主要采用加热方法进行灭菌。

细胞受热后均会死亡, 但不同的细胞, 在受热后死亡的难易及快慢却不一样。有的细胞在较低的温度和较短的时间, 便能使其死亡; 但另外一些细胞则有极强的耐热性, 需要用较高的温度和较长的时间, 才能把其杀死。一般而论, 营养细胞容易被杀死; 而芽胞则因有致密的外皮和干燥的内含物, 因而极难致死。图 4-15 表示了大肠杆菌 (营养

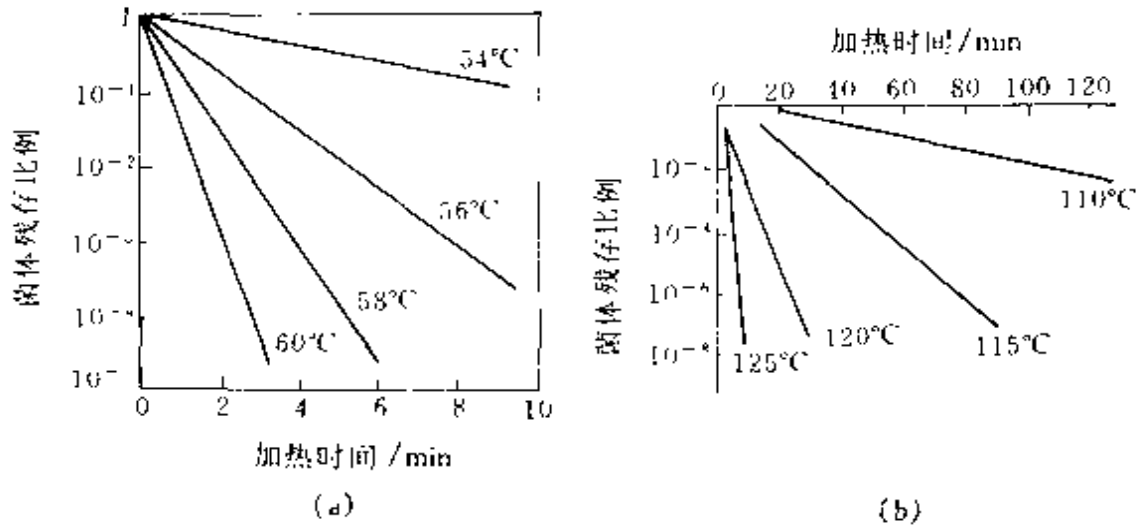


图 4-15 某些营养细胞和芽孢杆菌受热死亡的实验数据

细胞)和枯草芽孢杆菌(芽孢)在一定温度范围内死亡的实验结果。从图中可以看出,芽孢的耐热性远大于其他任何一种杂菌的耐热性,因此在设计灭菌操作时,必须以芽孢作为灭菌对象,只要杀灭了芽孢,其他杂菌也一定能被杀灭。

细胞受热死亡的原因,主要是因为高温能使细胞内的一些重要蛋白质,如酶等发生凝固、变性,从而导致细胞无法生存而死亡。细胞受热死亡的规律有多种类型,但最常见的为对数死亡律和非对数死亡律。

对数死亡律表明,细胞的死亡速率可用一级动力学表示:

$$-\frac{dC_N}{dt} = k_d C_N \quad (4-115)$$

式中 C_N ——活细胞的浓度,以活细胞的个数/ml 或 g 活细胞/ml 表示;

k_d ——比死亡速率常数, min^{-1} 。

当 $t=t_0$ 时, $C_N=C_{N_0}$, 由积分式 (4-115) 可得

$$\ln \frac{C_N}{C_{N_0}} = -k_d t \quad (4-116)$$

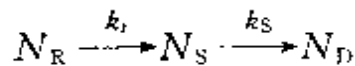
$$C_N = C_{N_0} \exp(-k_d t) \quad (4-117)$$

在某一确定温度下,以细胞数 C_N 对时间作图,可得到图 4-16。从

图中可以看出，为了达到一定的无菌水平 ($C_{N_{St}}$)，显然需要一定的灭菌时间 t_{St} ，通常 $C_{N_{St}}$ 值约为 10^{-4} 个细胞/ml。

如果以式 (4-117) 作图，得到如图 4-15 的线性形式，死亡速率常数 k_d 仅是温度的函数。

热死亡的非对数动力学行为，常见于芽孢的受热死亡，有关该类热死亡动力学的行为，虽可用多种模型描述，但以菌体循序死亡模型最为人们所接受，因其模型参数少，又最易为人们所理解。此模型认为，芽孢的死亡不是突然的，而是渐变的，它要经历下列过程才会死亡：



即芽孢从耐热的芽孢 (R 型) 转化为死亡 (D 型)，中间要经历一个中间态芽孢 (S 型)。其动力学方程为

$$\frac{dC_{N_R}}{dt} = -k_r C_{N_R} \quad (4-118)$$

$$\frac{dC_{N_S}}{dt} = k_r C_{N_R} - k_s C_{N_S} \quad (4-119)$$

式中 C_{N_R} 、 C_{N_S} 、 C_{N_D} ——分别为耐热芽孢、中间芽孢和死亡芽孢的浓度，以芽孢数/ml 或 g 芽孢/ml 表示；

k_r ——耐热芽孢的比失活速率常数， min^{-1} ；

k_s ——中间芽孢的比失活速率常数， min^{-1} 。

对上述两个方程求解得

$$\frac{C_N}{C_{N_0}} = \frac{k_r}{k_r - k_s} \left[\exp(k_s t) - \frac{k_s}{k_r} \exp(-k_r t) \right] \quad (4-120)$$

式中 C_N ——在任一时间具有活力的芽孢浓度，即 $C_N = C_{N_S} + C_{N_R}$ ；

C_{N_0} ——最初的活芽孢浓度。

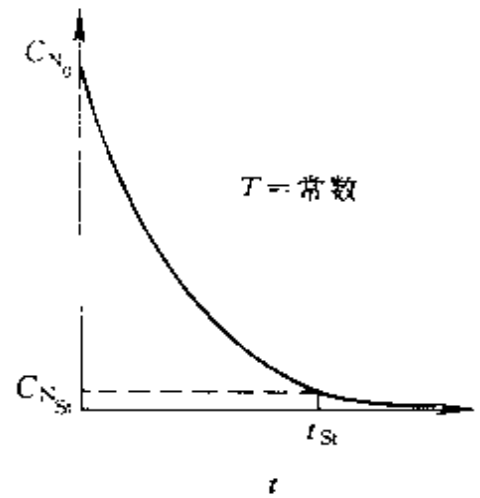


图 4-16 在恒温下，细胞数 C_N 与时间 t 的关系曲线

以适当的动力学常数，按式(4-120)标绘，可得图4-17所示的曲线。

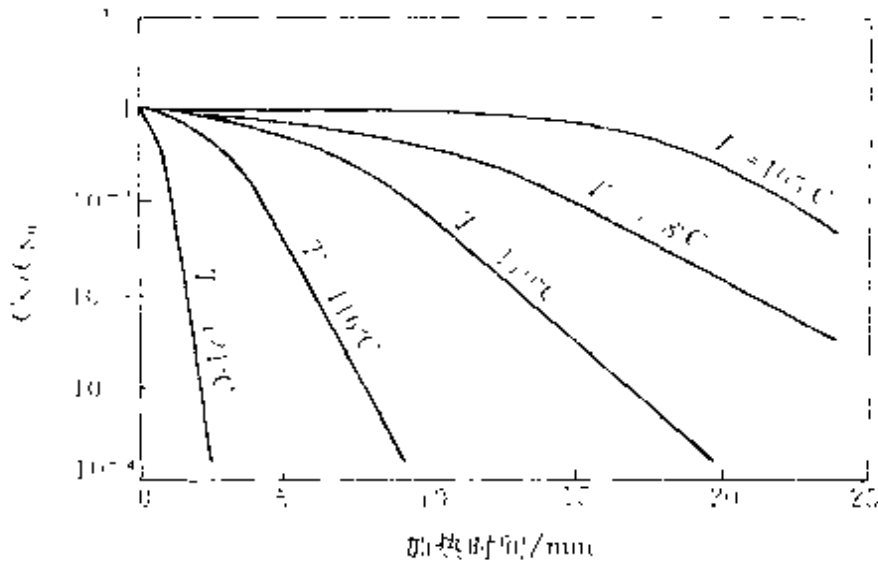


图 4-17 细菌芽孢的典型受热死亡曲线

在培养基被加热灭菌时，要求既达到灭菌的目的，同时又不破坏培养基中营养成分。根据动力学分析已知，微生物受热死亡时的活化能，一般要比营养成分热分解的活化能大得多，这意味着当温度升高

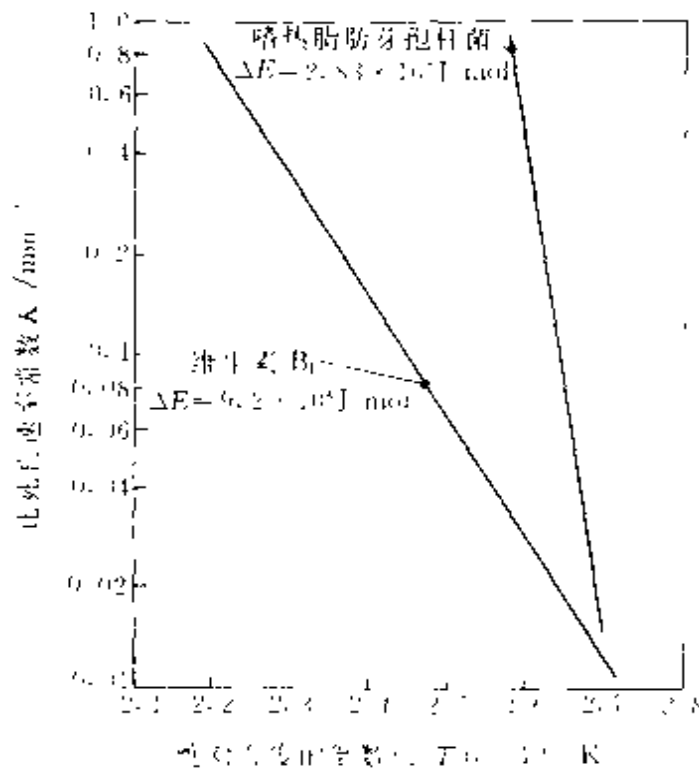


图 4-18 嗜热脂肪芽孢杆菌和维生素 B₁ 的阿累尼乌斯标绘

时,微生物死亡速率的增加,要比营养成分破坏速率的增加大得多。例如,一般芽孢的活化能(ΔE)约为293kJ/mol,而营养成分的活化能为84kJ/mol。图4-18表示了嗜热脂肪芽孢杆菌的死亡和维生素 B_1 的热分解。从图中可以看出,当温度升高时,维生素 B_1 的分解速率虽然增加,但嗜热脂肪芽孢杆菌的死亡速率却增加得更快。根据计算,当温度从105℃升到130℃时,芽孢的 k 值从 0.1min^{-1} 增至 26.82min^{-1} ,增大了268倍;同样的温度变化, B_1 分解破坏的 k 值从0.019增加到0.117,仅为原来的6.16倍,可见,温度的变化对营养成分破坏的影响,明显小于芽孢的热死亡。这是采用高温、瞬时灭菌法的理论基础。

4.5 细胞反应动力学参数的估算

对一实际的细胞反应,其动力学方程是不能完全依据推理的方法导出的,一般只能通过实验确立。动力学实验的目的有:①确定反应速率与反应物浓度间的函数关系,这实质上是确立速率方程的基本型式;②确定动力学参数,例如细胞反应中 μ_{\max} 和 K_s 的数值;③确定动力学参数与反应条件,例如与温度、pH值等因素的关系。显然,动力学方程是否合适,动力学参数的值是否正确,取决于实验设备和实验方法能否提供正确的动力学信息,取决于实验数据的处理方法是否准确。如果要求取本征动力学参数,还必须设法消除传质和传热的影响,以免造成实验反应器内存在浓度梯度和温度梯度。为了讨论方便,本节集中讨论在恒温条件下进行的液相反应体系。

对一细胞反应,常将其反应基质的浓度与时间的关系,或细胞浓度与时间的关系,或代谢产物浓度与时间的关系表示成两种形式,一种是其浓度随时间的变化速率与浓度的关系;另一种是浓度与时间的关系。前者又可称为速率-浓度关系,它可以直接用于微分动力学方程,因此该法又称为微分法;后者实质上表示的是动力学方程的积分形式,因此该法又称积分法。

4.5.1 实验反应器

从研究动力学的观点考虑,可将实验反应器分为积分反应器和微分反应器两大类。两者的差别可从图4-19中看出。该图纵坐标为反应

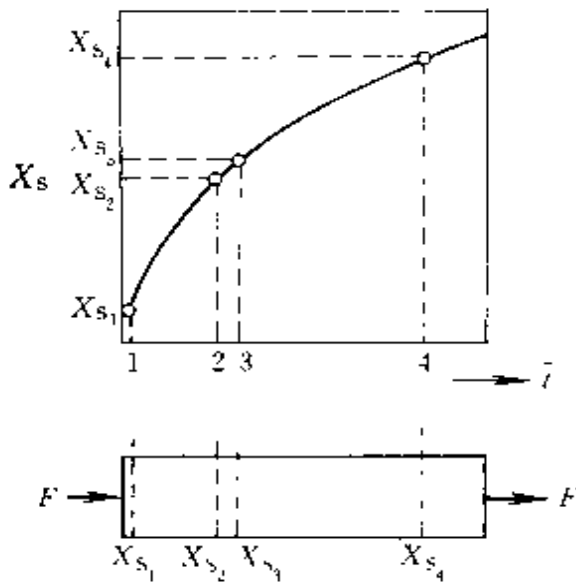


图 4-19 积分反应器与微分反应器的差别

基质的转化率 X_s ，横坐标为反应基质在反应器内反应的时间。如果在反应器中进出口间基质的转化率很小，例如从 X_{s_1} 到 X_{s_2} ，换言之，也可以认为反应基质在进出口浓度差很小，则此反应器称为微分反应器，一般认为当转化率 X_s 小于 10% 时可定义其为微分反应器；如果反应器进出口间基质转化率高，浓度变化大，例如从 X_{s_1} 到 X_{s_3} ，则此反应器称为积分反应器。

(1) 积分反应器。典型的实验积分反应器为间歇操作反应器和

反应时间长的管式反应器。

间歇操作反应器的主要特点是，在接种后所进行的微生物反应过程中，既无反应基质的加入，也无代谢产物的排出（氧和二氧化碳的加入与排出例外），反应过程中浓度随时间而变化。

管式反应器的主要特点是反应物料连续稳定地加入和流出，反应基质、细胞和产物的浓度沿反应器的轴向位置而变化。图 4-20 表示的是管式积分反应器的示意图。图 (1) 为进出口浓度差较大的管式反应

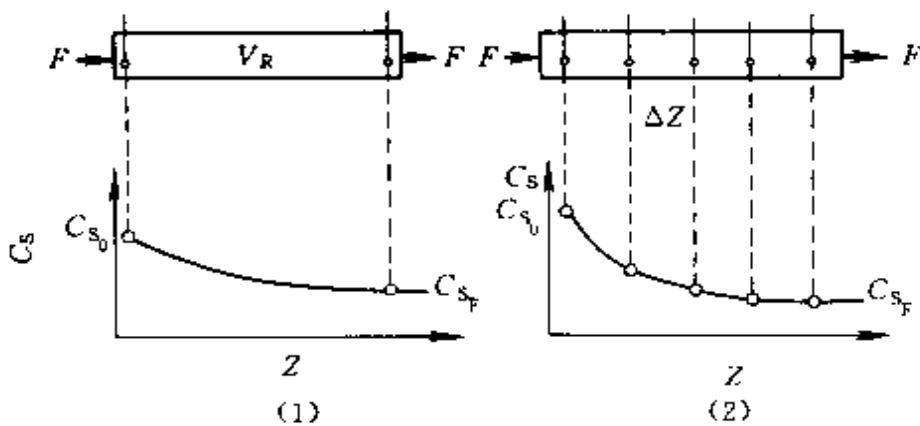


图 4-20 积分反应器的分类

(1) 真积分反应器；(2) 准积分反应器

器，图（2）为沿反应器轴向不同位置设有多个取样口，以便测量实际浓度分布的管式反应器。前者称真积分反应器；后者称为准积分反应器。

积分反应器所提供的数据往往是传递因素和反应之间复杂的相互作用的结果，这是它的一个缺陷。

（2）微分反应器。典型的微分反应器有连续操作的搅拌槽式反应器和反应时间很短的管式反应器。图 4-21 表示了微分反应器的浓度分

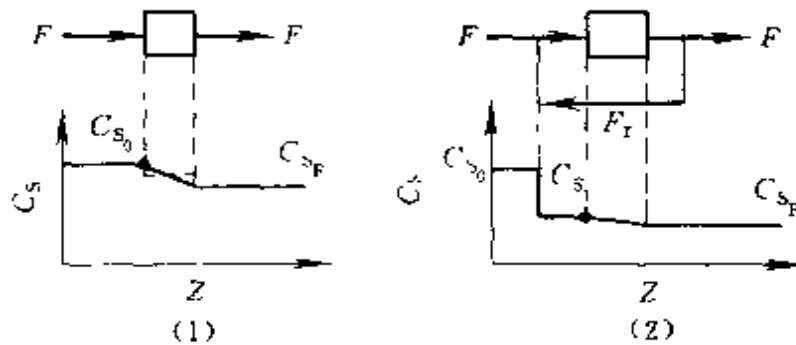


图 4-21 微分反应器的分类

（1）真微分反应器；（2）准微分反应器

布情况。其中图（1）表示的是所谓真微分反应器，其反应结果造成了反应器进出口浓度变化很小；图（2）表示的是准微分反应器，它是通过把大量反应产物从反应器出口循环到反应器入口的办法而使反应器进出口浓度变化很小。在微分反应器内一般无浓度梯度和温度梯度。微分反应器的优点在于其速率与变量的关系可用代数方程组来描述，因而实验数据处理方便。但要想得到反应全过程的数据，则必须设置不同的反应情况进行实验。微分反应器的另一个问题是由于进出口浓度差很小，因而对分析方法要求极高。对此，可采用图 4-21 中准微分反应器的操作方式来解决。因当有大量物料循环时，虽然反应器的实际进料浓度和出料浓度差仍然很小，但新鲜进料和出料的浓度差却很大，从而降低了分析工作的难度。这种带循环的反应器，还可称之为“无梯度反应器”。当循环量足够大时，该反应器在动力学上相当于连续搅拌槽式反应器。这种反应器综合了微分反应器和积分反应器的优点。因而在动力学实验中得到了广泛的应用。

4.5.2 动力学参数的估算

(1) 积分法求取动力学参数。如果动力学实验中所测得的数据是浓度与时间的关系时，可用下述方法求取动力学参数。

将所假设的动力学方程进行积分求得积分式，再将其线性化，然后把实验数据代入作图，若得一直线，便认为所假设的动力学方程是正确的，并据此求取动力学参数。这里的关键是其积分式的形式。

对幂函数型动力学，其积分式为：

$$\frac{1}{C_s^{n-1}} - \frac{1}{C_{s_0}^{n-1}} = (n-1)k_r t \quad (4-121)$$

式中 n ——反应级数；

k_r ——反应速率常数；

t ——时间；

C_{s_0} ——基质初始浓度；

C_s ——任一时间 t 时的基质浓度。

上式不适合于 $n=0$ 的反应。线性化作图可表示为图 4-22，并由图可确定动力学参数。

对酶催化反应的 M-M 方程。已推得其积分式为

$$r_{\max} t = (C_{s_0} - C_s) + K_m \ln \frac{C_{s_0}}{C_s} \quad (4-122)$$

移项整理为

$$\frac{\ln \frac{C_{s_0}}{C_s}}{C_{s_0} - C_s} = \frac{r_{\max}}{K_m} \frac{t}{C_s} - \frac{1}{K_m} \quad (4-123)$$

线性化作图，如图 4-23 所示，亦可确定其动力学参数。

对细胞反应，描述整个反应体系至少要有两个微分方程，一是细胞的生长，另一个是基质的消耗。需要联立求解该微分方程组才能得到变量 C_x 或 C_s 的解，其解将是很复杂的。

例如：

$$\frac{dC_s}{dt} = q_{s,\max} \frac{C_s}{K_s + C_s} C_x \quad (4-124)$$

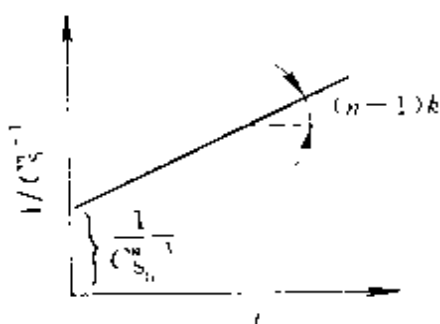


图 4-22 积分法确定 Monod 方程动力学参数

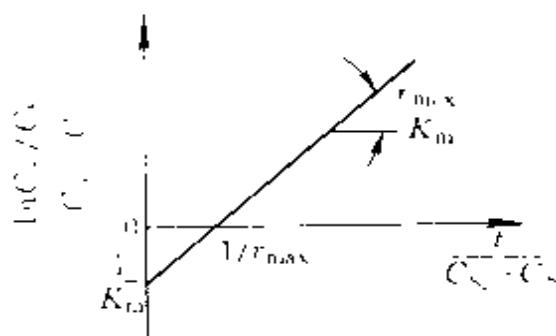


图 4-23 积分法确定 M-M 方程动力学参数

引入得率系数 $Y_{x/s}$ 以消去一个变量:

$$C_x - C_{x_0} = Y_{x/s}(C_{s_0} - C_s) \quad (4-125)$$

若对式 (4-124) 进行积分, 则得到一个非常复杂的积分式:

$$\frac{1}{t} \ln \frac{C_{x,\max} - Y_{x/s} C_s}{C_{x_0}} = \frac{q_{s,\max} Y_{x/s} C_{x,\max}}{C_{x,\max} + Y_{x/s} K_s} - \frac{Y_{x/s} K_s}{C_{x,\max} + Y_{x/s} K_s} \frac{1}{t} \ln \frac{C_{s_0}}{C_s} \quad (4-126)$$

式中 $q_{s,\max}$ —— 基质 S 的最大比消耗速率;

$C_{x,\max}$ —— 最大细胞浓度;

C_{x_0} —— 初始时细胞浓度;

C_s —— 任一时间 t 时基质浓度;

C_{s_0} —— 初始基质浓度。

根据上式作图求其参数显然是很困难的。

Gates 利用下式进行图解试差法求取动力学参数。

$$\frac{1}{t} \ln \frac{C_s}{C_{s_0}} = c \left[\frac{\ln(1+ad)}{t} \right] - b \quad (4-127)$$

式中 $a = Y_{x/s}/C_{x_0}$;

$$b = \frac{\mu_{\max}}{Y_{x/s} K_s} (C_{x_0} + Y_{x/s} C_{s_0});$$

$$c = 1 + \frac{C_{x_0} + Y_{x/s} \cdot C_{s_0}}{Y_{x/s} K_s};$$

$$d = C_{s_c} - C_{s_0}.$$

假设 a 值, 以 $\frac{1}{t} \ln \left(\frac{C_s}{C_{s_0}} \right)$ 对 $[\ln(1+ad)/t]$ 作图, 进行叠代直至为一直

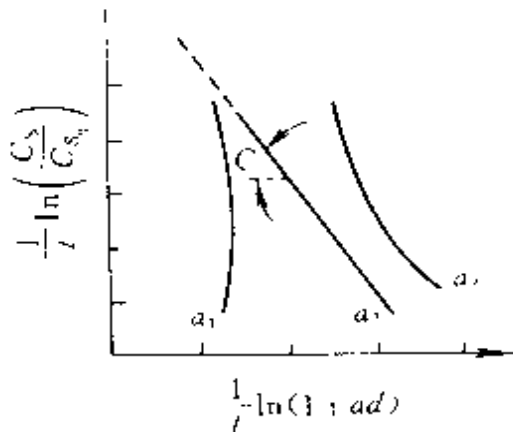


图 4-24 利用试差法求取 Monod 动力学的参数

a_1, a_2 —不同的试差结果;
 a_3 —最终试差结果

当 $C_S \gg K_S$ 时, $\mu = \mu_{\max}$, $C_x = C_{x_0} e^{\mu_{\max} t}$

因此

$$\frac{-dC_S}{dt} = \frac{\mu_{\max}}{Y_{x/S}} C_x = \frac{\mu_{\max}}{Y_{x/S}} C_{x_0} e^{\mu_{\max} t} \quad (4-130)$$

积分之, 得到:

$$\frac{C_{S_0} - C_S}{C_{x_0}} = \frac{1}{Y_{x/S}} (e^{\mu_{\max} t} - 1) \quad (4-131)$$

可由上式作图为一一直线, 其斜率为 $1/Y_{x/S}$ 。

从上述讨论可以看出, 应用积分法进行动力学参数估算, 只有对最简单的动力学形式才是可行的。当对较复杂的动力学, 用积分法是相当困难, 甚至不可能。

(2) 微分法求取动力学参数。微分法是根据不同实验条件下测得的反应速率, 直接由速率方程估计参数值。

对于幂函数型动力学, 例如 $r_S = k_r C_S^n$, 两边取对数, 则有 $\ln r_S = \ln k_r + n \ln C_S$, 根据实验数据, 以 $\ln r_S$ 对 $\ln C_S$ 对应作图, 可确定参数 k_r 和 n 值。需要指出的是, 如果是在微分反应器进行的动力学实验, 则可根据实验数据直接求出其反应速率值; 如果是在积分反应器进行的动力学实验, 此时得到的则是浓度随时间变化曲线, 如果要求出在某一时刻

线, 据此直线估算其动力学参数, 此法表示在图 4-24 中。

当基质浓度较低时, 即 $C_{S_0} \ll K_S$, 可以利用一级反应动力学来表示基质的消耗速率。

$$\frac{-dC_S}{dt} = \frac{1}{Y_{x/S}} \frac{\mu_{\max} C_S}{K_S} C_x \quad (4-128)$$

当 $C_x = C_{x_0} = \text{常数}$ 时, 可积分得

$$\ln \frac{C_{S_0}}{C_S} = \left(\frac{\mu_{\max}}{Y_{x/S} K_S} \right) C_{x_0} t \quad (4-129)$$

根据上式, 用半对数坐标作图, 可求出括号中参数。

问时的反应速率，则可用图解法，数值法和解析法求出其相应的反应速率值，再用上述方法确定其动力学参数。图 4-25 表示了典型的用微分法处理实验数据的示意图。其中函数 $f(C)$ 代表模型中假设的函数关系。

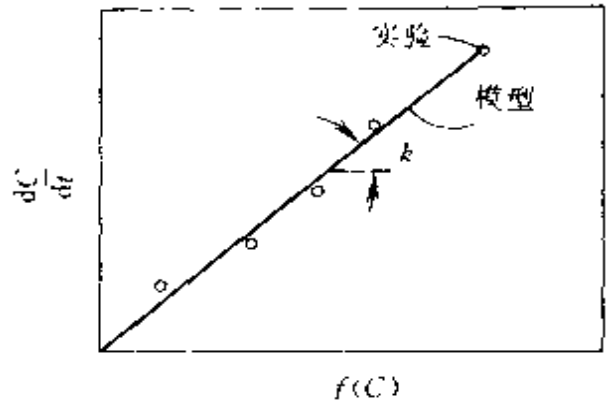


图 4-25 微分法求取动力学参数

对细胞反应，细胞的比生长速率 μ 可在一定的时间范围内，直接用图解微分法来求取：

$$\mu = \frac{1}{\bar{C}_x} \cdot \frac{\Delta C_x}{\Delta t} \quad (4-132)$$

式中 \bar{C}_x ——测定的时间区间 Δt 内细胞浓度的平均值。

根据式 (4-132)，可求出其不同时间下细胞的比生长速率值。根据 $\mu \sim s$ 的关系式 (Monod 方程) 有：

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s}{\mu_{\max}} \frac{1}{C_s} + \frac{1}{\mu_{\max}} \quad (4-133)$$

以 $1/\mu$ 对 $1/C_s$ 做图，可确定动力学参数。

从实验数据的获取到动力学参数的求取，整个过程表示在图 4-26 之中。

又可将 Monod 方程，按 E-H 作图法改写为

$$\frac{\mu}{C_s} = \frac{\mu_{\max}}{K_s} - \frac{1}{K_s} \mu \quad (4-134)$$

作图表示成图 4-27。

为了减少误差，将式 (4-134) 改写为下式：

$$\frac{C_s}{\mu} = \frac{K_s}{\mu_{\max}} + \frac{C_s}{\mu_{\max}} \quad (4-135)$$

该式做图表示在图 4-28 中，此法又常称为 Langmuir 作图法。

目前在求取动力学参数的方法上应用微分法较多，辅之以线性化作图更为方便，而积分法往往由于积分的困难而难以采用。

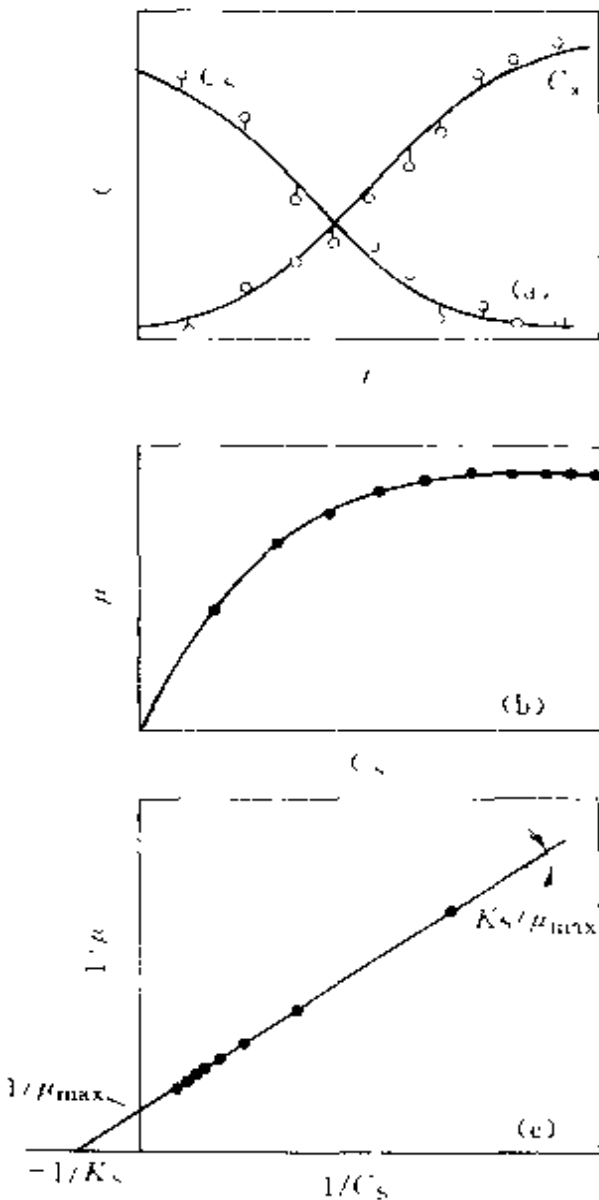


图 4-26 由实验数据利用作图法求取动力学参数示意图
 (a) 实验数据 (C_s 、 $C_x \sim t$)；
 (b) 按 Monod 方程 ($\mu \sim C_s$)；
 (c) 作图法求取参数 (L-B 法)

随着计算技术的发展，用回归法求取动力学参数日益受到人们的重视，因为回归法在具体应用时，既不受参数数目多少的限制，又不受动力学方程的形式和实验方法的约束，具有普遍的适用性。常用的方法是最小二乘法。

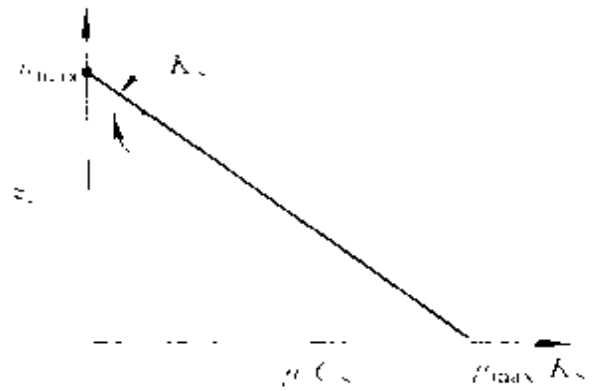


图 4-27 利用微分作图法求取 Monod 动力学参数

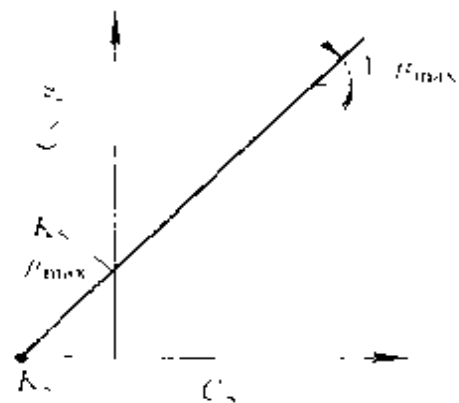


图 4-28 用 Langmuir 作图法求取 Monod 动力学参数

最小二乘法的原则是使残差的平方和为最小，所谓残差就是实验测定值 r_{exp} 和模型计算值 r_{sim} 之差，因此残差平方和可表示为：

$$\Phi = \sum_{i=1}^M (r_{exp} - r_{sim})^2 = \text{最小} \quad (4-136)$$

式中 M —— 实验数据组数。

该式表示了实验测得反应速率 r_{exp} 与由模型方程计算所得反应速率 r_{sim} 之差的平方和，应保证最小。而模型方程是假设的，其速率大小又与动力学参数有关，因此该式又变为残差平方和 Φ 值与动力学参数的函数，问题就是动力学参数等于什么值时 Φ 值为最小。这需要按一般求最大值的办法处理，将式 (4-136) 分别对所要求取的动力学参数求导数，并令其微分方程等于零，得到一组代数方程，方程数目由需求动力学参数决定。解上述方程组，即可求得动力学参数。因此用最小二乘法进行动力学参数估算，可归结为求解下述方程组。

$$\frac{\partial \Phi}{\partial k_i} = 0 \quad i=1, 2, \dots, N \quad (4-137)$$

式中 k_i —— 要求的动力学参数；

N —— 动力学参数的数目。

由于大多数情况下动力学方程是非线性的，因此所得到的方程组也是非线性代数方程组。这种方法叫做非线性最小二乘法或非线性回归。当然，求解非线性代数方程组也是比较困难的，特别是方程数目较多时。此时如能将动力学方程加以线性化，则在数学处理上会方便些。由于计算机技术的发展，进行非线性回归，现常用 Runge-kutta 法，并结合最优化中的 Pontryagin 最大值原理来进行数值解。其详细内容可参考有关数理统计的专著。

【例 4.2】 Monod 在其发表的论文中首次提出了以他的名字命名的著名 Monod 方程。作为该方程的实验基础，他提供了在间歇操作的釜式反应器中进行的四组反应实验结果。反应器中进行的是在乳糖溶液中培养细菌的生长。下面摘录了其中一组实验数据，试用 Monod 方程拟合上述实验数据，并求其动力学参数（实验数据见表 4A）。

表 4A 实验数据

序号	Δt	\bar{C}_S	C_x	ΔC_x	\bar{C}_x	$\frac{1}{\bar{C}_S} \times 10^3$	\bar{r}_x	$\frac{\bar{C}_x}{\bar{r}_x}$	$\frac{\bar{r}_x}{\bar{C}_x}$
1	0.54	137	15.5~23.0	7.5	19.3	7.3	13.89	1.39	0.72
2	0.36	114	23.0~30.0	7.0	26.5	8.8	19.14	1.36	0.74
3	0.33	90	30.0~38.8	8.8	34.4	11.1	26.67	1.29	0.78
4	0.35	43	38.8~48.5	9.7	43.6	23.3	27.71	1.58	0.63
5	0.37	29	48.5~58.3	9.8	53.4	34.5	26.49	2.02	0.50
6	0.38	9	58.3~61.3	3.0	59.8	111.1	7.89	7.58	0.13
7	0.37	2	61.3~62.5	1.2	61.9	500.0	3.24	19.12	0.05

解 根据细胞生长动力学, 细菌的生长速率可表示为

$$r_x = \frac{dC_x}{dt} = \mu C_x$$

因此

$$\mu = \frac{r_x}{C_x} = \mu_{\max} \frac{C_S}{K_S + C_S}$$

$$\frac{C_x}{r_x} = \frac{K_S}{\mu_{\max}} \times \frac{1}{C_S} + \frac{1}{\mu_{\max}}$$

根据实验提供的数据, 在一很短的实验时间间隔内, 上式可表示为

$$\frac{\bar{C}_x}{\bar{r}_x} = \frac{\Delta C_x}{\Delta t}$$

$$\frac{\bar{C}_x}{\bar{r}_x} = \frac{K_S}{\mu_{\max}} \times \frac{1}{\bar{C}_S} + \frac{1}{\mu_{\max}}$$

以 $\bar{C}_x/\bar{r}_x - 1/\bar{C}_S$ 作图, 得到图 4A, 图中为一直线, 表明细菌在乳糖中的生长符合 Monod 方程, 并由该图确定其动力学参数。

根据图 $-1/K_S = -0.033$,
 $K_S = 30.3$

$$1/\mu_{\max} = 1.35, \mu_{\max} = 0.74$$

$$\text{因此 } r_x = \frac{0.74 C_S C_x}{30.3 + C_S}$$

【例 4.3】某一发酵过程是在一连续搅拌的釜式反应器中进行, 反应基质连续稳定地加入, 反

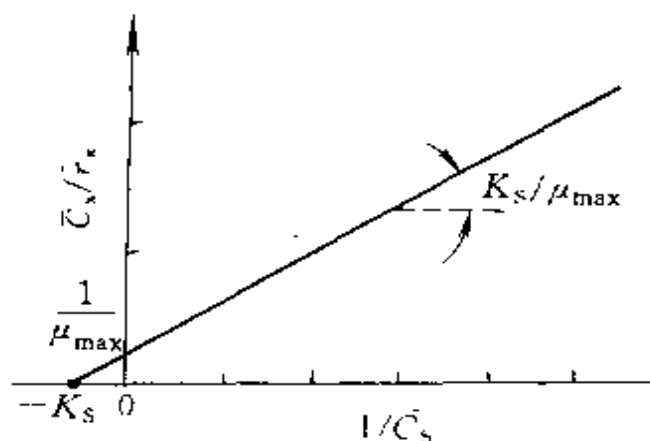


图 4A $1/\bar{C}_S - \bar{C}_x/\bar{r}_x$ 关系图

应产物连续稳定流出。假设其发酵反应可表示为 $S + X \longrightarrow X + P$

若已知 $C_{s_0} = 0$, $C_{p_0} = 0$, 反应器有效体积为 1L。现改变加入反应器内基质的流量和浓度, 同时测定反应器出口未反应基质和细菌的浓度, 得到的数据列在表 4B。

表 4B 反应器出口未反应物的数据

序号	$V/(L/h)$	$C_{S_0}/(mol/L)$	$C_s/(mol/L)$	$C_x/(g/L)$	τ_m/h	$\frac{1}{C_s}/(L/mol)$
1	2	200	22	17.8	0.5	0.045
2	4	100	50	5.0	0.25	0.020
3	6	100	85	1.5	0.17	0.012
4	10	250	200	5.0	0.10	0.005

试根据上述数据, 确定其速率方程式。

解 根据题意可知, 在稳态操作下, 做细胞的物料平衡, 因反应器内细胞在单位时间内的生长量为 $V_R r_x$, 单位时间内从反应器出来的细胞量为 VC_x , 稳态下两者应相等。故有

$$VC_x = V_R r_x$$

移项整理

$$\frac{V}{V_R} = \frac{r_x}{C_x} = \mu$$

若定义 $\frac{V}{V_R} = D$, D 称为稀释率, 因单位为时间⁻¹, 因此存在

$$D = \mu = \mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s}$$

取倒数

$$\frac{1}{D} = \frac{K_s}{\mu_{\max}} \frac{1}{C_s} + \frac{1}{\mu_{\max}}$$

又因为 $\frac{V_R}{V} = \tau_m$, τ_m 为物料在反应器内平均停留时间。因此有

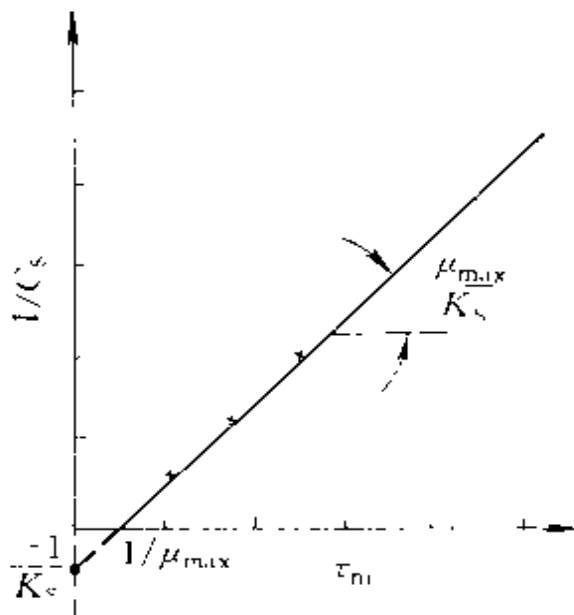
$$\tau_m = 1/D$$

因此上式又可表示为:

$$\tau_m = \frac{K_s}{\mu_{\max}} \frac{1}{C_s} + \frac{1}{\mu_{\max}}$$

移项整理

$$\frac{1}{C_s} = \frac{\mu_{\max}}{K_s} \tau_m - \frac{1}{K_s}$$

图 4B τ_m-1/C_S 关系图

以 $1/C_S-\tau_m$ 对应作图，为一直线，由此可确定其动力学参数 μ_{\max} 和 K_S 值（见图 4B）。

根据图 4B，

当 $1/C_S=0$ ， $1/\mu_{\max}=\tau_m$

当 $\tau_m=0$ ， $-1/K_S=-1/C_S$

因此求出 $\mu_{\max}=20\text{h}^{-1}$

$K_S=200\text{mol/L}$

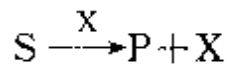
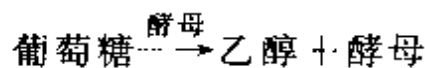
细胞生长动力学为

$$r_x = \frac{20C_S C_x}{200 + C_S}$$

【例 4.4】 Aiba 等人在一连

续稳定进出料的搅拌槽式实验反

应器中进行葡萄糖发酵生产乙醇的动力学研究，其反应式可表示为



实验数据列在表 4C 中。

表 4C 实验数据

$C_{x_0}=0$ $C_P=0$			$C_{x_0}=0$ $C_P=20\text{g/L}$		
τ_m/h	$C_S/(\text{g/L})$	$1/C_S/(\text{L/g})$	τ_m/h	$C_S/(\text{g/L})$	$1/C_S/(\text{L/g})$
11.90	0.054	18.52	11.90	0.070	14.29
10.00	0.079	12.66	10.00	0.095	10.53
6.25	0.138	7.25	6.25	0.182	5.49
5.05	0.186	5.38	5.05	0.250	4.00
4.13	0.226	4.42	4.13	0.384	2.60

现已知 $C_{P,\max} \approx 120\text{g/L}$ ，试求包括葡萄糖消耗及乙醇抑制影响的酵母生长的速率方程式。

解 对一连续稳定操作的搅拌槽式反应器做反应产物的物料平

衡，同样可得到下式：

$$V(C_P - C_{P_0}) = V_R r_P$$

移项

$$\frac{V_R}{V} = \frac{C_P - C_{P_0}}{r_P}$$

故有

$$\tau_m = \frac{C_P - C_{P_0}}{r_P}$$

假定 r_P 与 r_x 为 Gaden 定义的 I 型动力学，则有 $r_P = Y_{P/x} r_x$

$$\text{式中 } Y_{P/x} = \frac{C_P - C_{P_0}}{C_x - C_{x_0}}$$

当 $C_{x_0} = 0$, $C_{P_0} = 0$ 时, $C_P = Y_{P/x} C_x$, 并有:

$$\tau_m = \frac{C_P}{Y_{P/x} r_x}$$

又根据 Ghose 提出的乙醇对酵母生长的抑制的方程式在不考虑反应基质的限制时, 有

$$r_x = \mu_1 C_x = \mu_{\max} \left(1 - \frac{C_P}{C_{P,\max}} \right) C_x$$

式中 μ_1 —— 有产物抑制时的比生长速率;

$C_{P,\max}$ —— 允许最大产物浓度, 若大于此值细胞将不再生长。

因此,

$$\begin{aligned} \tau_m &= \frac{C_P}{\mu_{\max} \left(1 - \frac{C_P}{C_{P,\max}} \right) C_P} \\ &= \frac{1}{\mu_{\max} \left(1 - \frac{C_P}{C_{P,\max}} \right)} \end{aligned}$$

整理, $\mu_{\max} \tau_m = \frac{C_{P,\max}}{C_{P,\max} - C_P}$

为求取动力学参数, 将

上式重排为

$$C_P = C_{P,\max} - \frac{C_{P,\max}}{\mu_{\max} \tau_m}$$

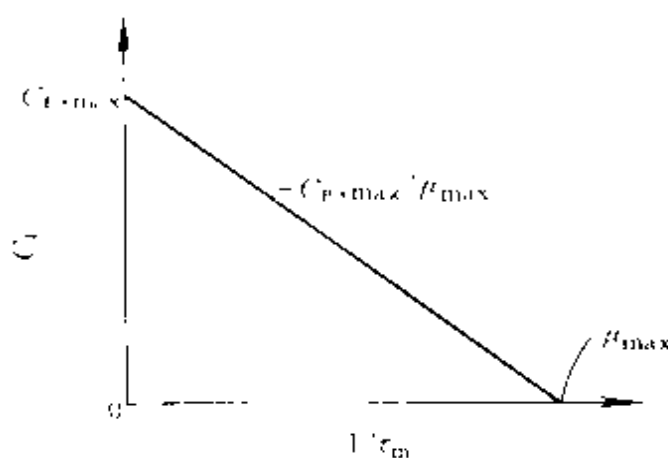


图 4C $1/\tau_m - C_{P,\max}$ 关系图

以 C_P-1/τ_m 对应作图, 表示在图 4C 中, 由该图可确定其动力学参数。

Levenspiel 提出了另一种产物对细胞生长抑制的表达式为:

$$\mu_1 = \mu_{\max} \left(1 - \frac{C_P}{C_{P,\max}} \right)^n$$

其中 $n \neq 1$ 。根据上述推导过程, 同样可得到下式

$$\mu_{\max} \tau_m = \left(\frac{C_{P,\max}}{C_{P,\max} - C_P} \right)^n$$

$$\ln \tau_m = \ln \mu_{\max} + n \ln \left(\frac{C_{P,\max}}{C_{P,\max} - C_P} \right) \quad (A)$$

由此确定其动力学参数 μ_{\max} 和 n 值。

上述两种公式中都没有考虑基质对反应的限制作用。当既要考虑产物抑制又要考虑基质限制时, 则有

$$r_x = \mu_{\max} \left(1 - \frac{C_P}{C_{P,\max}} \right)^n \frac{C_S}{K_S + C_S} C_x$$

以
$$\mu_1 = \mu_{\max} \left(1 - \frac{C_P}{C_{P,\max}} \right)^n$$

代入上式, 则有

$$\frac{r_x}{C_x} = \mu = \mu_1 \frac{C_S}{K_S + C_S}$$

对连续操作搅拌槽式反应器, 因有 $\mu = D = \frac{1}{\tau_m}$, 因此可求得下式。

$$\tau_m = \frac{K_S}{\mu_1 C_S} + \frac{1}{\mu_1} \quad (B)$$

以 τ_m-1/C_S 对应作图, 可确定 K_S 和 μ_1 值, 再通过改变 C_P 值, 求出不同 C_P 值下的 μ_1 值, 以确定参数 n 值 (见图 4D 所示)。

根据式 (B) 和所提供的实验数据, 作图 4E。并由图中可求得参数为

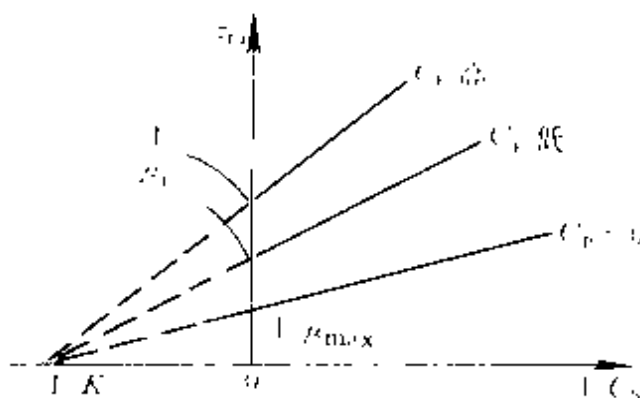
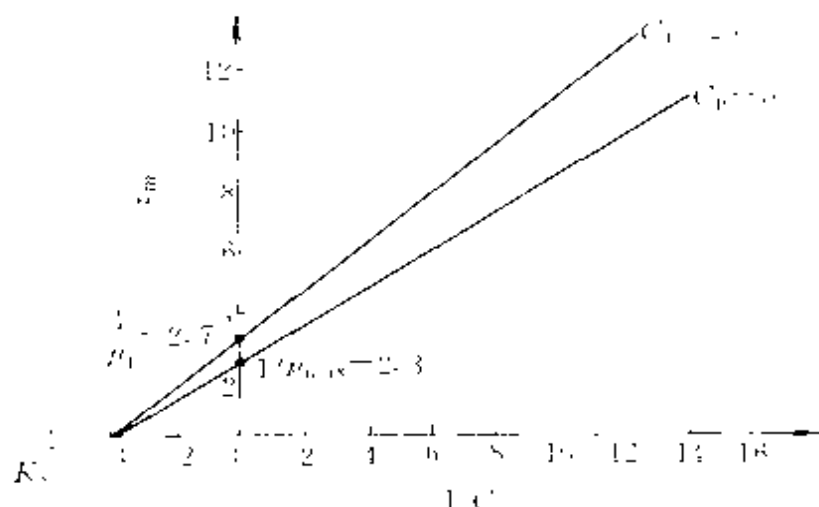


图 4D $1/C_S-1/\mu_1$ 关系图

图 4E $1/C_s-r_m$ 关系图

$$K_s = 0.25 \text{ g/L}, \mu_{\max} = 0.45 \text{ h}^{-1}, \mu_1 = 0.37 \text{ h}^{-1}$$

又根据式 (A)，取对数后可求出 $n \approx 1.12$ 。

因此，得到了既反映产物乙醇的抑制作用又包括葡萄糖限制影响的酵母生长速率方程为

$$r_x = 0.45 \left(1 - \frac{C_p}{120} \right)^{1.12} \frac{C_s C_x}{0.25 + C_s} \quad \text{g/(h} \cdot \text{L)}$$

4.6 固定化细胞反应动力学

固定化细胞，系指将完整的细胞限定在一定空间内活动的一种固定化生物催化剂。采用固定化细胞培养与悬浮细胞培养有着明显的优点。有利于提高反应器中细胞的浓度；有利于提高反应器加料速率；免去了昂贵的细胞回收和循环过程；有利于提高反应器的生产能力等。固定化细胞技术虽然发展历史不长，但其应用范围已超过固定化酶的应用。现除了固定化微生物细胞外，又发展到固定植物细胞、动物细胞，甚至固定亚细胞颗粒等。细胞固定化方法，可分两大类：一类为活性固定化法，其中包括共价法，交联法和包埋法；一类为被动固定化法，其中包括吸附法和移植法。所固定的细胞可以是处于生长状态的活细胞、休眠状态的活细胞和死亡的细胞（细胞内的酶仍具有活力）。

固定化细胞反应过程。同固定化酶催化反应过程一样，存在着扩

散传质速率对其反应速率的限制作用，包括内扩散和外扩散，有关这方面的模型已在第3章详细讨论过。但是，对固定化细胞，存在着固定化细胞生物膜的厚度和细胞絮凝物的大小均随细胞生长而增加的现象，这是固定化酶体系中没有遇到的问题。下面重点讨论这两种情况下的内扩散传质速率对生化反应速率的影响。

4.6.1 生物膜内的扩散限制

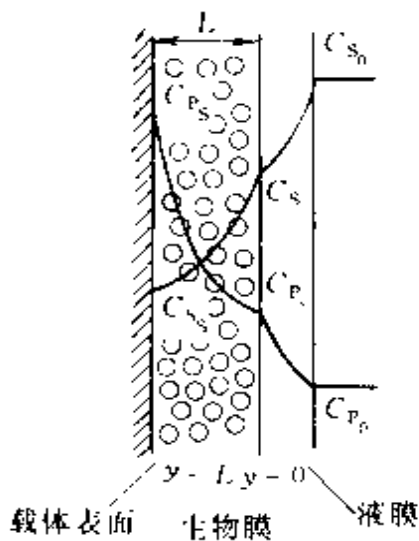


图 4-29 生物膜浓度分布示意图

式中 D_e ——S 的有效扩散系数；

$Y_{x/S}$ ——对基质 S 的细胞得率。

$$\begin{aligned} \text{边界条件:} \quad y=0 \quad C_s &= C_{s_0} \\ y=L \quad \frac{dC_s}{dy} &= 0 \end{aligned}$$

L 为生物膜厚度。

如果液相处于激烈湍动状态，则生物膜表面的液膜阻力可忽略掉，此时 $C_{s_0} = C_{s_0}$ 。 C_{s_0} 为液相主体 S 的浓度。

若定义一基质 S 的最大消耗速率为 r_{\max} ，令

$$r_{\max} = \frac{\mu_{\max} C_x}{Y_{x/S}} \quad (4-139)$$

则式 (4-138) 可重写为：

$$D_e \frac{d^2 C_s}{dy^2} = \frac{r_{\max} C_s}{K_s + C_s} \quad (4-140)$$

由于生物膜厚度增加的速率要比基质消耗速率慢得多，因此在--较短周期内，该系统可假设为拟稳态，而且假设生物膜内的细胞具有相同的生理状态。这样，在表述生物膜内的物料平衡时，其动力学参数可取其平均值。

在生物膜内，限制性基质 S 的浓度分布如图 4 29 所示。

对基质 S，做生物膜内的物料平衡式，在稳态下得到为：

若表示为无因次形式，令

$$\bar{C}_s = \frac{C_s}{C_{s_0}}, \quad \bar{y} = \frac{y}{L}, \quad \beta = \frac{C_{s_0}}{K_s}$$

和
$$\phi = L \sqrt{\frac{\mu_{\max} C_x}{Y_{x/s} D_e K_s}} = L \sqrt{\frac{r_{\max}}{D_e K_s}} \quad (4-141)$$

则有
$$\frac{d^2 \bar{C}_s}{d \bar{y}^2} = \frac{\phi^2 \bar{C}_s}{1 + \beta \bar{C}_s} \quad (4-142)$$

方程 (4-142) 只有数值解。而对零级和一级反应才有解析解。

在不存在扩散限制时，基质通过生物膜最大消耗速率应为

$$N_s A_s = -A_s D_e \left. \frac{dC_s}{dy} \right|_{y=0} = \frac{r_{\max} + C_{s_0}}{K_s + C_{s_0}} (L A_s) \quad (4-143)$$

式中 A_s — 可为基质流过的生物膜表面积， cm^2 ；

N_s — 基质流量， $\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ ；

L — 生物膜厚度， cm 。

若存在扩散限制时，基质消耗速率可表示为：

$$N_s A_s = -A_s D_e \left. \frac{dC_s}{dy} \right|_{y=L} = \eta \left[\frac{r_{\max} C_{s_0}}{K_s + C_{s_0}} \right] L A_s \quad (4-144)$$

η 为有效因子。当不存在内扩散限制时， $\eta=1$ ，存在内扩散限制时， $\eta < 1$ ， η 是 ϕ 和 β 的函数。图 4-30 表示了在不同 ϕ 值时 η - β 的关系曲线。当 $\phi < 1$ 时，可以认为内扩散消除，由于生物膜在慢慢地生长，则 ϕ 值将逐渐地在增大；如果由于剪切力的存在使生物一部分死掉，则 ϕ 急剧下降。

η 可用下式计算：

对 $\omega \leq 1$

$$\eta = 1 - \frac{\tanh \phi}{\phi} \left(\frac{\omega}{\tanh \omega} - 1 \right) \quad (4-145)$$

对 $\omega > 1$

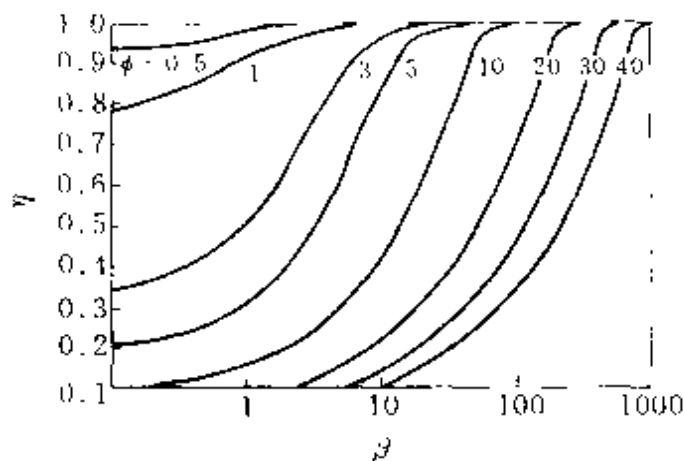


图 4-30 生物膜的 η - β - ϕ 关系曲线

$$\eta = \frac{1}{\omega} - \frac{\tanh \phi}{\phi} \left[\frac{1}{\tanh \phi} - 1 \right] \quad (4-146)$$

式中 ω 为修正梯勒模数:

$$\omega = \frac{\phi \frac{C_{S_0}}{K_S}}{\sqrt{2} \left(1 + \frac{C_{S_0}}{K_S} \right)} \left[\frac{C_{S_0}}{K_S} - \ln \left(1 + \frac{C_{S_0}}{K_S} \right) \right]^{-1.2} \quad (4-147)$$

4.6.2 絮凝物内的扩散限制

对于生成絮凝物的细胞反应, 常将絮凝物当做球形颗粒处理。对于在惰性球形载体上形成生物膜的反应, 也一并在这里讨论。上述两种情况见图 4-31 中所示。

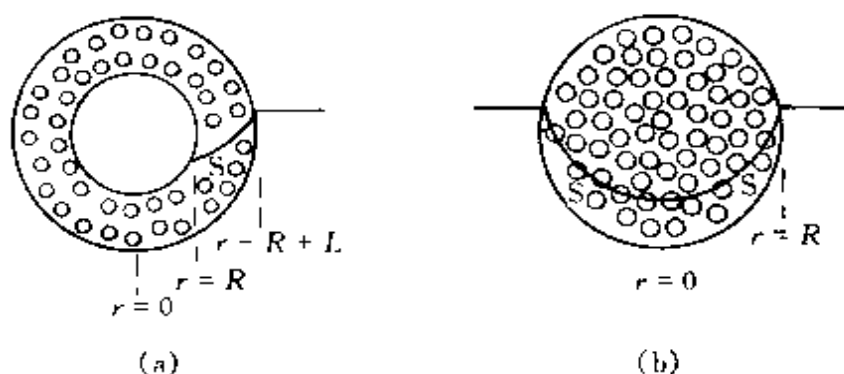


图 4-31 絮凝物内基质浓度分布

(a) 球形载体表面上成膜; (b) 球形絮凝物

对上述情况可用相同方程来确定基质浓度分布和其消耗速率。

在絮凝物内基质的衡算方程为:

$$\frac{d^2 \bar{C}_S}{dF^2} + \frac{d \bar{C}_S}{dF} = \frac{\phi^2 \bar{C}_S}{1 + \beta \bar{C}_S} \quad (4-148)$$

式中 $\bar{C}_S = \frac{C_S}{C_{S_0}}, \bar{r} = \frac{r}{R}, \beta = \frac{C_{S_0}}{K_S}$

$$\phi = R \sqrt{\frac{\mu_{\max} C_{S_0}}{Y_{x/S} D_c K_S}} = R \sqrt{\frac{r_{\max}}{D_c K_S}} \quad (4-149)$$

边界条件

$$r=1 \text{ 时 } \bar{C}_S = 1$$

$$\bar{r}=0 \text{ 时 } \frac{dC_s}{dr}=0$$

对单一絮凝物颗粒，基质消耗速率可表示为：

$$N_s A_p = -A_p D_c \left. \frac{dC_s}{dr} \right|_{r=R} = \eta \left[\frac{r_{\max} C_{S_0}}{K_s + C_{S_0}} \right] V_p \quad (4-150)$$

式中 A_p 、 V_p ——分别为球形絮凝物的表面积和体积。

有效因子 η 是 ϕ 和 β 的函数。 η 随 ϕ 和 β 的变化规律与图 4-30 所表示的相类似。只不过在 $1 < \phi < 10$ 的中间范围内球形 η 值稍低于膜状的值。

方程 (4-148) 只有对一级和零级反应有解析解。在基质浓度较低时，反应速率可近似表示为一级：

$$r_s = \frac{\mu_{\max} C_s}{Y_{x/s} K_s} C_x = \frac{r_{\max}}{K_s} C_s \quad (4-151)$$

则其有效因子可表示为：

$$\eta = \frac{1}{\phi} \left[\frac{1}{\tanh 3\phi} - \frac{1}{3\phi} \right] \quad (4-152)$$

$$\phi = \frac{V_p}{A_p} \sqrt{\frac{r_{\max}}{K_s D_c}} \quad (4-153)$$

上述两式与固定化酶催化反应 (3-82) 和 (3-70) 式具有相同的形式，只是 ϕ 定义式中 r_{\max} 有不同涵义。

对于 $C_s \gg K_s$ ，反应速率可近似做零级动力学处理。

$$\text{此时 } r_s = \frac{\mu_{\max} C_x}{Y_{x/s}} = r_{\max} \quad (4-154)$$

解方程 (4-148)，其解为：

$$C_s = C_{S_0} - \frac{r_{\max}}{6D_c} (R^2 - r^2) \quad (4-155)$$

同样存在着在某一半径位置时，基质的浓度为零，该距离称为临界半径 r_{cr} 。根据方程 (4-155)，有

$$\left(\frac{r_{cr}}{R} \right)^2 = 1 - \frac{6D_c C_{S_0}}{r_{\max} R^2} \quad (4-156)$$

在 $0 < r < r_{cr}$ 范围，基质浓度为零。此时，基质仅在球形絮凝物外壳内消耗，有效因子为：

$$\eta = 1 - \left[\frac{r_{cr}}{R} \right]^3 \quad (4-157)$$

或

$$\eta = 1 - \left(1 - \frac{6D_c C_{S_0}}{r_{max} R^2} \right)^{3/2} \quad (4-158)$$

上述两式分别与式 (3.90) 和式 (3.91) 相同。

对球状菌丝体本身的生长速率, 还提出了一些方程, 例如:

$$r_x = k_1 C_x \exp(-k_2 t) \quad (4-159)$$

该式称为逻辑方程, k_1 , k_2 为动力学参数。

$$r_x = 3\alpha \bar{d}_p \mu C_x^{2/3} \quad (4-160)$$

该式称为立方根方程, α 为动力学参数, \bar{d}_p 为菌丝体外围区平均厚度。

4.7 细胞生长和代谢的结构模型

前面讨论的细胞生长动力学系以一个变量——细胞的浓度变化速率来表示的, 可称之为均衡生长的非结构动力学模型。该模型形式简单, 数学处理方便。但它没有反映存在于细胞内复杂的代谢反应, 也不能期望用这些简单模型来预测当外界条件发生变化时细胞的动态特性, 也限制了对细胞内调控机制的认识。因为这些认识对于实现生化反应器或生化反

应过程的控制也是很有必要的。基于上述考虑, 许多学者提出了细胞非均衡生长的结构动力学模型, 其中包括有室模型、代谢模型、产物生成结构模型以及基因调控和单细胞模型等。这里仅对前三个模型做一简要介绍。

4.7.1 室模型

Williams 提出的双室模型是结构模型中最简单的一种。该模型认为细胞的生长可分为生物物质的合成室——K 室和结构基因室——G 室两部分。K 室主要由 RNA 和少量代谢物组

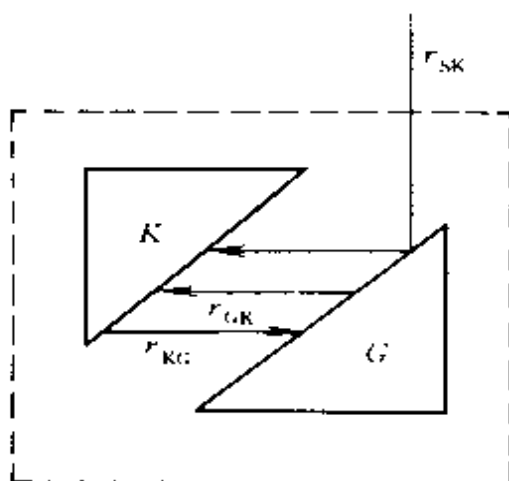


图 4-32 细胞生长的双室模型示意图

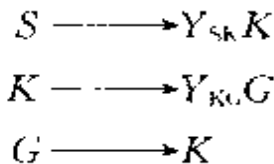
r_{SK} 基质向 K 室的转化速率;

r_{KG} K 室向 G 室的转化速率;

r_{GK} —G 室向 K 室的解聚速率

成；G室主要由DNA和蛋白质组成。并且认为，由于RNA在蛋白质合成中起着核心作用，RNA的合成是限制因素。细胞生长的两室模型如图4-32所示。

根据图4-32，该模型可用下述反应式来加以表示：



Y_{SK} 和 Y_{KG} 为上述反应的计量系数。

根据上述反应式，每一步的速率表达式如下：

① 基质S转化为K室的速率可表示为：

$$\begin{aligned} r_{SK} &= f_1(C_S)f_2(W_G)C_x \\ &= \frac{q_{S,\max}C_S}{K_S+C_S} \frac{W_G}{K_G+W_G} C_x \end{aligned} \quad (4-161)$$

式中 W_G ——G室的质量分率；

K_G ——G室的饱和常数。

② K室转化成G室的速率为：

$$\begin{aligned} r_{KG} &= f_3(W_K)C_x \\ &= K_{KG}W_KW_GC_x \\ &= K_{KG}W_K(1-W_K)C_x \end{aligned} \quad (4-162)$$

该式假定K室到G室的速率受到K、G室内的浓度及细胞浓度的影响。 K_{KG} 代表了 r_{KG} 所能达到的最大值。 W_K 为K室的质量分率。并且有 $W_K+W_G=1$ 。

③ 生物质由G室向K室转化的速率为：

$$r_{GK} = m_GW_GC_x = m_G(1-W_K)C_x \quad (4-163)$$

式中 m_G ——G室比转化速率。

从该式可以看出， r_{GK} 与 (W_GC_x) 是一级反应。并假定从G室到K室无质量损失，得率系数为1。

进一步可列出基质浓度、细胞浓度和G室的变化速率的平衡方程式：

$$-\frac{dC_S}{dt} = q_{S,\max} \frac{C_S}{K_S+C_S} \frac{W_G}{K_G+W_G} C_x + F_S \quad (4-164)$$

式中 F_s 流向系统的基质流量。

$$\frac{dC_x}{dt} = Y_{SKQ_{S,\max}} \frac{C_s}{K_s + C_s} \frac{W_G}{W_G + W_K} C_x + (Y_{KG} - 1) f_3(W_G) C_x + F_x \quad (4-165)$$

式中 F_x 流向系统的细胞干重的流量。

$$\begin{aligned} -\frac{dW_G}{dt} = & Y_{SKQ_{S,\max}} \frac{C_s}{K_s + C_s} \frac{W_G}{W_G + W_K} W_K + f_3(W_G) \times \\ & [W_G + Y_{KG}(1 - W_G)] - m_G W_G \end{aligned} \quad (4-166)$$

上述各式中 F_s 和 F_x 与反应过程的操作方式有关。

若为分批操作, $F_s = F_x = 0$ 。

若为带有反馈的连续操作, $F_s = D(C_{S_0} - C_s), F_x = -W_D DC_s$ 。

若为流加操作, $F_s = V(t), F_x = 0$ 。

上式中 $f_3(W_G) = K_{KG} W_K W_G$ 。 W_D 为连续培养中未循环流出物分率。

上述模型表现了在实验中所观察到的一些特性, 做为一种处理过渡态的方法是很有价值的, 它要比非结构模型方法更接近实际。根据上述模型所进行的计算机模拟表示在图 4-33 中。图中各曲线表示了基质 S 、总生物质 X 、 G 和 K 室生物质 X_G 和 X_K 的浓度随时间变化的曲线关系。

还有的学者利用上述室模型预测了细胞间歇培养时, 细胞质量变化上存在一个延迟期, 而细胞数目在延迟期内却没有变化; 在细胞生长期, 细胞质量和数目均呈指数增加; 到达静止期的时间却是细胞质量优先于细胞数目。这些现象在进行细菌的间歇培养时得到了实验的验证。

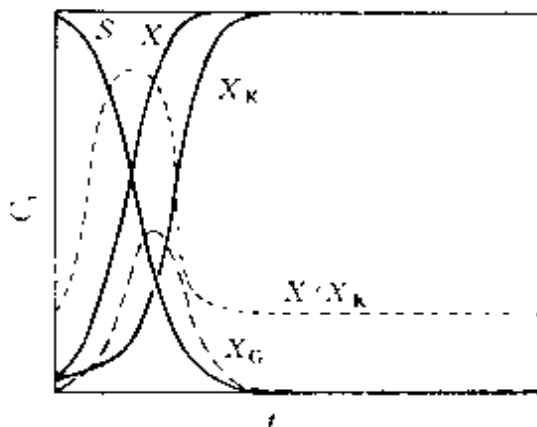


图 4-33 结构模型的浓度-时间曲线

S —基质; X 总生物质;

X_K — K 室生物质; X_G — G 室生物质

最近又提出包括 R 、 K 和 G 室的三室模型。 K 室为细胞中 RNA, G 室为蛋白质, R 室为其余的生物物质, 包括糖酶和前体分子, 如核酸和氨基酸等, 它已应用于描述活性污泥的动态学上。

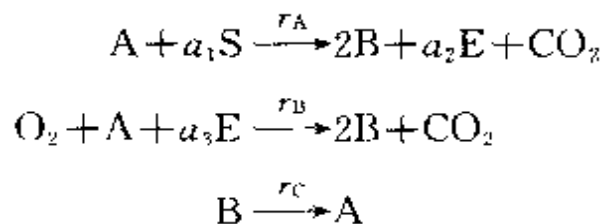
4.7.2 代谢模型

代谢模型也是结构模型中的一种。考虑细胞内代谢反应的类型和特性，无疑是很重要的。细胞内的代谢途径可区分为分解代谢与合成代谢。在分解代谢时，含有能量的物质，如碳水化合物、烃类和其他含碳化合物被降解为 CO_2 或其他末端产物，其能量贮存在 ATP、GTP 和其他富能化合物。在合成代谢中，所生成的中间和末端产物是合并入细胞的组成的，例如 DNA、RNA、脂类和糖类等，以及它们的前体物——氨基酸、嘌呤等，合成反应所需能量是通过 ATP 和其他在代谢中所产生的高能磷酸酯提供的。由于这些高能物质在细胞内含量是很小的，合成代谢与分解代谢以及 ATP 的转换是相联系的。这意味着能量的产生和能量的消耗必须在细胞内实施严格的调控，因此在建立复杂模型时必须考虑细胞内的碳和能量流。下面以酵母的需氧生长模型的建立为例。

对啤酒酵母的细胞循环、调控和代谢方面已研究了很多。该酵母或经呼吸途径，使葡萄糖转化为 CO_2 和细胞；或经酵解途径，导致乙醇、 CO_2 和细胞的生成。在低的细胞生长速率时，代谢是完全氧化的，其呼吸商 (RQ) 为 1， $Y_{x/s}$ 是 0.50。这种情况能维持到临界生长速率。超出这个范围，代谢很快就变为酵解性的。在酵解途径中，产率系数 $Y_{x/s}$ 下降， CO_2 的比释放速率 q_{CO_2} 和乙醇的生成速率在增加。

该模型认为酵母细胞包括两部分：A 部分进行基质消耗和能量的产生；B 部分进行繁殖和分枝。B 部分以一定速率转化为 A 部分，而 A 消耗基质并以一变化速率产生 B。对于呼吸和发酵的调控，最近的研究证明，高代谢流是直接由呼吸抑制所引起的，葡萄糖浓度仅起到第二位的作用，因此下面提出的模型中，糖酵解和呼吸都是由 A 部分进行的，并且提供了生长能量。

下面反应式是描述上述反应过程的。



上式中 $A+B=X$ (细胞总的质量); E 为乙醇。

假设下列速率表达式:

$$r_A = K_1 A \frac{C_S}{K_S + C_S} \quad (4-167)$$

$$r_B = K_2 A \frac{C_E}{K_E + C_E} \quad (4-168)$$

$$r_C = KB \quad (4-169)$$

芽生过程 ($B \rightarrow A$) 假设以一定速率进行, 而呼吸和发酵则遵循 Monod 动力学。

对每个组分可列出质量衡算式

$$\frac{dB}{dt} = 2r_A + 2r_B - r_C \quad (4-170)$$

$$\frac{dA}{dt} = -r_A - r_B + r_C \quad (4-171)$$

$$\frac{dC_E}{dt} = a_2 r_A - a_3 r_B \quad (4-172)$$

$$\frac{dC_S}{dt} = -a_1 r_A \quad (4-173)$$

可从得率系数估算出 a_1 和 a_3 值。对发酵, $Y_{x/s} = \frac{1}{a_1} = 0.15$, 对呼吸 $Y_{x/s} = \frac{1}{a_3} = 0.45$, a_2 可从生产乙醇的计量系数求出。

葡萄糖的比消耗速率为:

$$q_s = -\frac{1}{C_x} \frac{dC_S}{dt} = -\frac{a_1 r_A}{C_x} \quad (4-174)$$

乙醇比生成速率为:

$$q_E = \frac{1}{C_x} \frac{dC_E}{dt} = \frac{a_2 r_A - a_3 r_B}{C_x} \quad (4-175)$$

氧的比消耗速率为:

$$q_{O_2} = \frac{\alpha r_B}{C_x} \quad (4-176)$$

α 为常数, 可从计量系数中求出, 其值为 0.048。

CO_2 的比生成速率可从碳平衡中求得:

$$q_{CO_2} = (0.40q_s - 0.52q_E - 0.48\mu) / 12 \quad (4-177)$$

其他有关参数可从实验数据中求出。

利用上述模型预测结果与实验值比较表示在图 4-34 中, 从图中可以看出, 模型预测结果还是很好的。

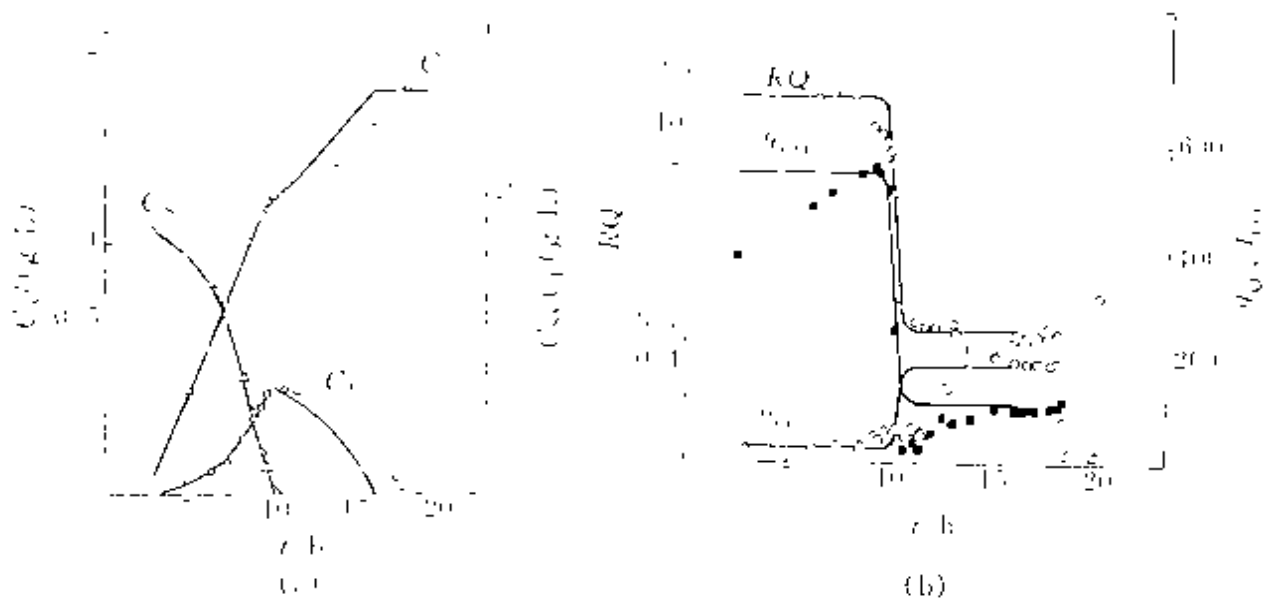


图 4-34 模型预测值与实验值 (曲线为预测值、点为实验值)

(a) C_x 、 C_s 、 C_f 与 t 的关系; (b) RQ 、 q_{CO_2} 、 q_{O_2} 与 t 的关系

4.7.3 产物生成模型

在讨论非结构模型时, 根据 Gaden 的分类, 产物的生成模型可表示为与细胞的生长有关、无关和部分有关三种。但在很多情况下, 这种简单的模型, 并不能指导人们去提高产物的得率和浓度, 而是需要一些能更详细反映代谢反应的模型, 而且由于对各种产物的代谢途径现在已了解较多, 所建立的模型现已能包括限制速率和营养物传递动力学。这里重点介绍用于生产抗菌素的细胞成熟模型。

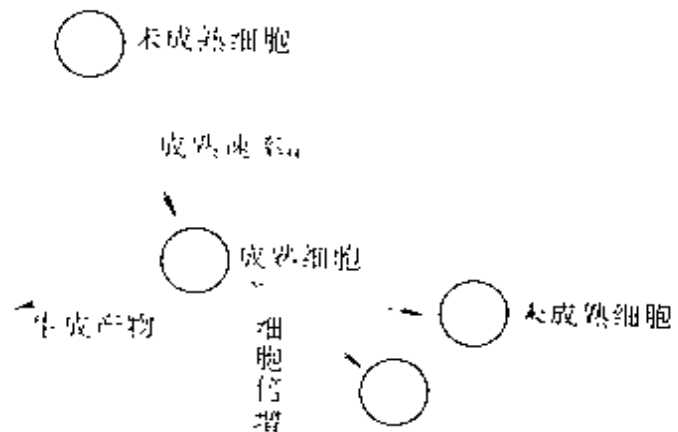


图 4-35 成熟细胞与未成熟细胞模型示意图

许多二级代谢物，包括大部分真菌抗菌素，或产生于细胞生长后期（繁殖期）或在静止期，而且常被归之为与生长无关一类产物。用单细胞微生物时，当细胞停止分裂时才有抗菌素出现。对这种次级代谢物生成过程的模拟可以采用一个简单的方法，将细胞年龄分布的概念包括在模型中。细胞可分成两个年龄组：有产物合成能力的成熟细胞和无产物合成能力的未成熟细胞。成熟细胞（ X_2 ）的生长速率用 Monod 动力学方程描述（常数为 α 和 β ），未成熟细胞（ X_1 ）则以一级速率生成成熟细胞（常数为 a_{12} ）。细胞的成熟和生长过程如图 4-35 所示。

假设：未成熟细胞浓度为 C_{x_1} ，成熟细胞浓度为 C_{x_2} ，产物浓度为 C_p 。则对分批培养时的质量平衡可写成：

$$\frac{dC_{x_1}}{dt} = -a_{12}C_{x_1} + \frac{2\alpha C_s C_{x_2}}{C_s + \beta} \quad (4-178)$$

$$\frac{dC_{x_2}}{dt} = a_{12}C_{x_1} - \frac{\alpha C_s C_{x_2}}{C_s + \beta} \quad (4-179)$$

$$\frac{dC_s}{dt} = -\frac{1}{Y_{x/s}} \frac{\alpha C_s C_{x_2}}{C_s + \beta} \quad (4-180)$$

$$\frac{dC_p}{dt} = \frac{1}{K} \frac{dC_{x_2}}{dt} \quad (4-181)$$

当产物生成速率假设与成熟细胞浓度成正比时，则细胞群体（ $C_{x_1} +$

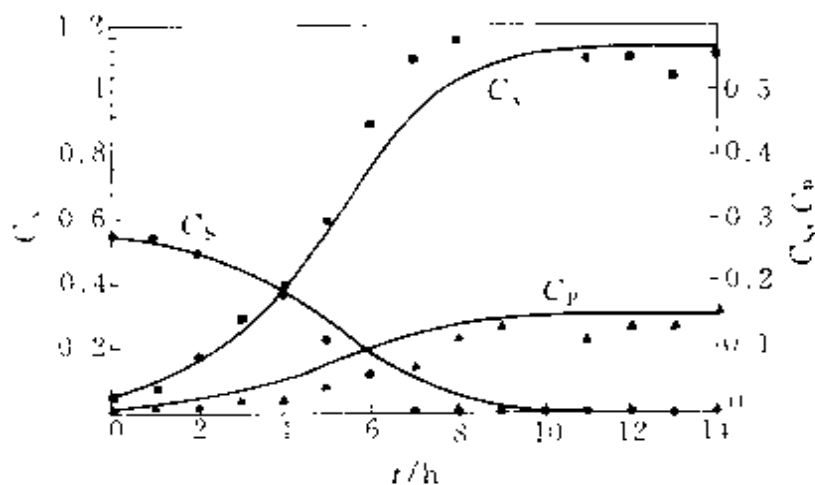


图 4-36 模型预测与实验值

($a_{12} = 0.905 \text{ h}^{-1}$, $\alpha = 1.190 \text{ h}^{-1}$, $\beta = 0.75 \text{ g/L}$, $Y_{x/s} = 0.51$, $K = 3.79$)

C_{x_2}) 生长速率与基质浓度的关系仍符合 Monod 方程。产物生成速率也与成熟细胞的生成速率成正比。根据上述模型模拟了用短芽孢杆菌生产短杆菌肽的过程曲线，并与实验结果进行了比较，具体见图 4-36。

习 题

4.1 在啤酒酵母的生长实验中，消耗 0.2kg 糖，得到 0.0746kg 酵母细胞，释放 0.121kgCO₂，并消耗了 0.0672kgO₂，试写出其质量平衡式，并求出：

(1) 酵母细胞得率 $Y_{x/s}$ 。

(2) 呼吸商 RQ 。

4.2 以葡萄糖为培养基、在需氧条件下间歇培养啤酒酵母，得到实验结果如下表所示。该实验采用初始基质浓度为 8.96kg/m³，实验时测得气相数据为标准状态下的数据。

时间 h	细胞干重 kg/m ³	乙醇 kg/m ³	基质 kg/m ³	CO ₂ 含量 %(体积)	O ₂ 含量 %(体积)	空气流量 m ³ /h	反应器体积 m ³
1.0	0.05	0.15	8.65	0.26	0.06	100.6×10 ⁻³	5.95×10 ⁻³
3.0	0.14	0.30	8.44	0.51	0.07	100.6×10 ⁻³	5.43×10 ⁻³
5.0	0.35	0.66	6.38	1.13	0.16	103.2×10 ⁻³	4.92×10 ⁻³
7.0	0.82	1.55	2.58	1.27	0.15	198.0×10 ⁻³	4.41×10 ⁻³
9.0	1.68	2.61	0.00	1.16	0.31	200.5×10 ⁻³	3.89×10 ⁻³

试求：

(1) $Y_{x/s}$ 、 q_{O_2} 和 q_{CO_2} 值。

(2) RQ 值。

(3) 求出当时间 $t=9.0h$ 时的碳平衡关系。

4.3 下表数据为大肠杆菌在一连续搅拌槽式反应器中培养的数据，该培养为需氧，葡萄糖作为生长限制基质，其初始浓度 C_{S_0} 为 0.968kg/m³。

稀释率 D/h^{-1}	基质浓度 $C_S/(kg/m^3)$	细胞浓度 $C_x/(kg/m^3)$	稀释率 D/h^{-1}	基质浓度 $C_S/(kg/m^3)$	细胞浓度 $C_x/(kg/m^3)$
0.06	0.006	0.427	0.60	0.122	0.434
0.12	0.013	0.434	0.66	0.153	0.422
0.24	0.033	0.417	0.69	0.170	0.430
0.31	0.040	0.438	0.71	0.221	0.390
0.43	0.064	0.422	0.73	0.210	0.352
0.53	0.102	0.427			

试求：

(1) μ_{\max} 和 K_S 值。

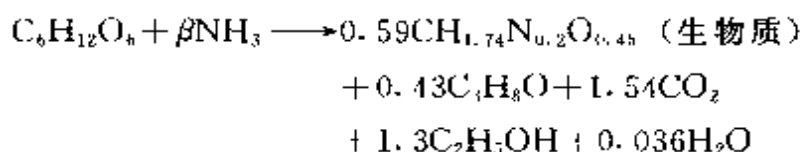
(2) m_S 和 $Y_{x,s}$ 值。

(3) q_{O_2} 值。

(4) 假设细胞化学式表示为 $C_5H_7NO_2$ ，在 $\mu = 0.5h^{-1}$ ， $RQ=1$ 时，只有 CO_2 和 H_2O 生成，而无其他代谢产物。

试求：葡萄糖转化为细胞的计量关系式。

4.4 酵母菌在厌氧条件下，以葡萄糖为基质进行生长，可用下述总反应式进行描述：



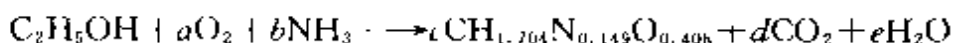
试确定：

(1) 得率系数 $Y_{x,s}$ 值。

(2) 确定产率系数 $Y_{EtOH,s}$ 、 $Y_{CO_2,s}$ 、 $Y_{C_2H_5OH,s}$ 值。

(3) 确定系数 β 值。

4.5 酵母在需氧条件下，以乙醇为基质进行生长可表示下列总反应式：



试求：

(1) 当 $RQ=0.66$ 时， a 、 b 、 c 和 d 的值。

(2) 确定 $Y_{x,s}$ 和 Y_{x,O_2} 值。

4.6 在有氧条件下，杆菌在甲醇上生长，在进行间歇培养时得到结果如表所示：

时间/h	C_x /(g/L)	C_S /(g/L)	时间/h	C_x /(g/L)	C_S /(g/L)
0	0.2	9.23	12	3.2	4.6
2	0.211	9.21	14	5.6	0.92
4	0.305	9.07	16	6.15	0.077
8	0.98	8.03	18	6.2	0
10	1.77	6.8			

试求：

(1) μ_{\max} 值。

(2) $Y_{x,s}$ 值。

(3) 细胞质量倍增时间 t_d 值。

(4) 饱和常数 K_S 值。

(5) 在 $t=10\text{h}$ 时比生长速率 μ 值。

4.7 在一间歇反应器中进行乳糖溶液中的纯菌种培养实验, 得到如下实验数据。

序号	$\Delta t/\text{h}$	$C_s/(\text{g/L})$	$C_x/(\text{g/L})$
1	0.52	158	15.8~22.8
2	0.38	124	22.8~29.2
3	0.32	114	29.2~37.8
4	0.37	94	37.8~48.5
5	0.36	25	48.5~59.6
6	0.37	19	59.6~66.5
7	0.38	2	66.5~67.8

试根据上述实验数据, 按 Monod 方程决定其参数值。

4.8 在一连续操作的搅拌槽式实验反应器中用乳糖培养大肠杆菌, 该反应器体积为 1L , 加入乳糖的初始浓度为 $C_{s_0} = 160\text{mg/L}$, 当采用不同加料速度时, 得到下述结果。

$V/(\text{L/h})$	$C_s/(\text{mg/L})$	$C_x/(\text{mg/L})$	$V/(\text{L/h})$	$C_s/(\text{mg/L})$	$C_x/(\text{mg/L})$
0.2	4	15.6	0.8	40	12
0.4	10	15	1.0	100	6

试求大肠杆菌生长的速率方程式。

4.9 一连续操作的搅拌槽式反应器, 体积为 1m^3 , 加入基质的初始浓度为 500mol/m^3 , 在不同进料量时均维持反应器出口中生成的酵母的量相同, 为 100g/h 。当进料量为 $0.5\text{m}^3/\text{h}$ 时, 得到 $C_s = 100\text{mol/m}^3$; 当进料量为 $1\text{m}^3/\text{h}$ 时, 得到 $C_s = 300\text{mol/m}^3$ 。酵母的生长可表示为 Monod 方程, 试确定其动力学参数值。

4.10 在用需氧生物处理废水的活性污泥法中, 由有机物生成菌体活性污泥。试回答下述问题。

(1) 若能由 BOD 消除速率推算污泥生成速率则是很有意义的。设 BOD 消除速率为 r_s , 污泥生成速率为 r_x , 试证明下式成立:

$$r_x = Y_{x/s}^* r_s - (mY_{x/s}^*) C_x$$

$$\mu = Y_{x/s}^* q_s - (mY_{x/s}^*)$$

式中 $Y_{x/s}^*$ —— 真污泥转化系数;

$mY_{x/s}^*$ —— 作为一个参数称为污泥自氧化速率系数。

(2) 氧不仅消耗用以合成菌体(污泥), 而且也用于污泥自身的氧化过程。氧的消耗速率 r_{O_2} 及比耗氧速率 q_{O_2} 可用下式表示。

$$r_{O_2} = ar_s + b C_x$$

$$q_{O_2} = aq_s + b$$

试证明上式中:

$$a = Y_{x/s}^* / Y_{x/O_2}^*$$

$$b = m_{O_2} (Y_{x/s}^* / Y_{x/O_2}^*) m$$

4.11 在分批培养条件下,以葡萄糖作为限制基质培养大肠杆菌。在不同培养时间测得细胞和基质浓度列于下表:

时间/h	细胞浓度 C_x /(kg·m ⁻³)	基质浓度 C_s /(kg·m ⁻³)	时间/h	细胞浓度 C_x /(kg·m ⁻³)	基质浓度 C_s /(kg·m ⁻³)
0	0.20	25.0	2.5	4.42	15.7
0.33	0.21	24.8	2.8	6.9	10.2
0.5	0.22	24.8	3.0	9.4	5.2
0.75	0.32	21.6	3.1	10.9	1.65
1.0	0.47	24.3	3.2	11.6	0.2
1.5	1.00	23.3	3.5	11.7	0.0
2.0	2.10	20.7	3.7	11.6	0.0

试求:

- (1) 做出 $\mu-t$ 关系曲线。
- (2) 确定 μ_{max} 值。
- (3) 细胞对基质的表观得率值。

4.12 Aiba 等曾报道了某啤酒酵母在一连续搅拌槽反应器中得到的实验结果,如下表所示,进口物流中不含有酵母和产物。

稀释率 D/h^{-1}	葡萄糖进料 浓度 C_{S_0} /(g/L)	葡萄糖出口 浓度 C_s /(g/L)	出口中乙醇浓度 C_p /(g/L)	出口中细胞浓度 C_x /(g/L)
0.084	21.5	0.054	7.99	2.00
0.100	10.9	0.079	4.70	1.20
0.160	21.2	0.138	8.57	2.40
0.198	20.7	0.186	8.44	2.33
0.242	10.8	0.226	4.51	1.25

- (1) 试确定细胞生长的速率方程。
- (2) 试确定产物乙醇的生成速率方程。

4.13 Andrews 提出用下列模型描述某基质抑制的细胞生长动力学:

$$\mu = \frac{\mu_{max}}{1 + \frac{C_s}{K_s} + \frac{C_s^2}{K_{s1}}}$$

假设在 CSTR 中进行研究, $V_R = 1L$, 进口物流和基质浓度是变化的。测得稳态下反应器出口基质浓度如表中所示:

加料速率 $V/(L/h)$	进口基质浓度 $C_{S_0}/(g/L)$	出口基质浓度 $C_S/(g/L)$	加料速率 $V'(L/h)$	进口基质浓度 $C_{S_0}/(g/L)$	出口基质浓度 $C_S/(g/L)$
0.20	30	0.5	0.80	30	10
0.25	30	0.7	0.50	60	30
0.35	30	1.1	0.60	60	22
0.50	30	1.6	0.70	60	15
0.70	30	3.3			

试确定:

(1) 该反应动力学参数 (μ_{max} , K_S , K_{S_1})。

(2) 如果 $Y_{x/S} = 0.46$, 当 $V = 0.20L/h$ 时, 反应器出口物料中 C_x 为多少?

4.14 酵母在葡萄糖上生长并生成乙醇过程动力学可用下述公式表示:

$$\frac{dC_x}{dt} = \mu_{max} \left(1 - \frac{C_P}{C_{P,max}} \right) \left(\frac{C_S}{K_S + C_S} \right) C_x$$

$$-\frac{dC_S}{dt} = \frac{1}{Y_{x/S}} \frac{dC_x}{dt}$$

$$\frac{dC_P}{dt} = \frac{1}{Y_{x/P}} \frac{dC_x}{dt}$$

已知: $K_S = 1.6g/L$, $\mu_{max} = 0.24h^{-1}$, $Y_{x/P} = 0.16$, $Y_{x/S} = 0.06$, $C_{P,max} = 100g/L$, $C_{P_0} = 0$, $C_{x_0} = 0.1g/L$, $n = 2$ 。

试计算:

(1) 当 $C_{S_0} = 100g/L$ 时 C_x 、 C_P 和 C_S 与时间 t 的函数关系。

(2) 指出初始基质浓度对 C_x-t 曲线关系有何影响。

(3) 指出当 $C_{S_0} = 100g/L$ 时, μ_{max} 对 C_x-t 曲线有何影响。

4.15 某细胞生长动力学可表示为:

$$r_x = \mu_{max} (1 - e^{-C_S/K_S}) C_x$$

$$\mu_{max} = 0.365h^{-1}, K_S = 6.8g/L, Y_{x/S} = 0.45,$$

试求:

(1) 如果在一 10LCSTR 中培养, $V_0 = 2.8L/h$, $C_{S_0} = 13g/L$, 则 $C_x = ?$

(2) 利用 $\mu-C_S$ 曲线解释上述模型与 Monod 模型的不同。

4.16 在不同温度下, 测出某一枯草杆菌的活孢子数目与时间关系如下表:

时间/min	孢子数目			
	$T=85^{\circ}\text{C}$	$T=90^{\circ}\text{C}$	$T=110^{\circ}\text{C}$	$T=120^{\circ}\text{C}$
0.0	2.40×10^9	2.40×10^9	2.40×10^9	2.40×10^9
0.5	2.39×10^9	2.38×10^9	1.08×10^9	2.05×10^7
1.0	2.37×10^9	2.30×10^9	4.80×10^8	1.75×10^5
1.5	-	2.29×10^9	2.20×10^8	1.30×10^3
2.0	2.33×10^9	2.21×10^9	9.85×10^7	-
3.0	2.32×10^9	2.17×10^9	2.01×10^7	-
4.0	2.28×10^9	2.12×10^9	4.41×10^6	-
6.0	2.20×10^9	1.95×10^9	1.62×10^5	-
8.0	2.19×10^9	1.87×10^9	6.88×10^3	-
9.0	2.16×10^9	1.79×10^9	-	-

试求：

- (1) 该孢子的热死活化能值。
- (2) 100°C 时其比死亡速率常数值为多少？
- (3) 在 100°C 时，要杀死样品中 99% 的孢子，需要多长时间？

4.17 为了发酵，采用蒸汽对间歇发酵罐中液体培养基进行灭菌。已知其含有杂菌的初始浓度为 10^8 个杂菌/L。根据要求，最终可以接受的含杂菌浓度为 10^{-3} 个杂菌/L。现假定该杂菌为嗜热脂肪芽孢杆菌，已知其热死活化能为 283kJ/mol ，阿累尼乌斯常数为 $10^{16.2}\text{s}^{-1}$ 。若处理的培养基为 1m^3 ，试求分别在 80°C 、 121°C 和 140°C 进行灭菌时，各需要多长时间？

4.18 某细胞固定在褐藻酸盐的球形颗粒上，平均颗粒直径 5mm ，氧的消耗速率在其液相主体浓度为 $8 \times 10^{-3}\text{kgO}_2/\text{m}^3$ 时是 $8.4 \times 10^{-5}\text{kgO}_2/(\text{s} \cdot \text{m}^3 \text{ 催化剂})$ 。氧在颗粒内的有效扩散系数为 $1.88 \times 10^{-9}\text{m}^2/\text{s}$ ，假设氧在固定化细胞外表面的浓度等于其液相中浓度，并且氧的消耗遵循零级动力学规律。

试求：

- (1) 判断内扩散对反应是否有影响。
- (2) 若颗粒内扩散的影响消除，则其反应速率是多少？

4.19 黑曲霉能形成平均直径为 5mm 的团粒。氧在该团粒中的有效扩散系数为 $1.75 \times 10^{-9}\text{m}^2/\text{s}$ 。在一固定床反应器，氧在液相主体浓度为 $8 \times 10^{-3}\text{kg}/\text{m}^3$ 时，其消耗速率是 $8.7 \times 10^{-5}\text{kg}/(\text{s} \cdot \text{m}^3 \text{ 生物质})$ ，氧的消耗遵循零级动力学。液固间传质系数为 $3.8 \times 10^{-5}\text{m}/\text{s}$ 。

试求：

- (1) 氧的消耗是否受到外扩散的影响？
- (2) 外扩散有效因子是多少？
- (3) 如果内外扩散阻力均消除，其速率是多少？

第5章 生化反应器的设计与分析

5.1 生化反应器设计概论

5.1.1 生化反应器的分类

生化反应器是利用生物催化剂进行生化反应的设备，可从多个角度对其进行分类。

按照所使用的生物催化剂的不同，可将其分为酶催化反应器和细胞生化反应器。酶催化反应器中所进行的生化反应比较简单，酶如同化学催化剂一样，在反应过程中本身无变化。细胞生化反应器中所进行的生化反应则十分复杂，在进行生化反应的同时，细胞本身也得到了增殖，并且为了使细胞能维持其催化活性，在反应过程中必须避免受到外界各种杂菌的污染。

根据反应器的操作方式，可分为间歇操作、连续操作和半间歇操作等多种方式。

间歇操作又称为分批操作，采用此种操作方式的反应器又称为间歇反应器。以酶为催化剂的间歇操作式反应器，在开始反应到反应结束的整个反应过程中，无底物和产物的加入和输出。反应过程中，底物浓度、产物浓度均只随反应时间而变化。以细胞为催化剂的间歇反应器，则在加入反应基质后，进行灭菌（或在灭过菌的反应器中加入经过灭菌的培养基），接种，维持一定的反应条件进行反应。接种以后，除了好氧反应需要在反应过程中通入无菌空气、消除泡沫所用的消泡剂以及维持一定 pH 值所用酸碱之外，反应过程中不再加入反应基质，也不输出产物，只有待反应进行到规定的程度后，才将全部发酵液放出，进行后处理。反应器经清洗、灭菌后，重新加入培养基，继续进行反应，在此反应过程中，基质浓度、产物浓度以及细胞浓度均随反应进行的时间而变化，尤其是细胞本身将经历不同的生长阶段，显示

出不同的催化活力。因此，间歇操作反应器的基本特征是：反应物料一次加入一次卸出；反应器物系的组成仅随时间而变化。因此它属于一非稳态过程。由于间歇式反应器适合于多品种、小批量、反应速率较慢的反应过程，又可以经常进行灭菌操作，因此它在生化反应器中占有重要位置。

采用连续操作的反应器叫作连续式反应器。这一操作方式的特点是原料连续输入反应器，反应产物则连续地从反应器中流出。反应器内任何部位的物系组成均不随时间而变，故连续操作反应器多属于稳态操作。连续操作反应器一般具有产品质量稳定、生产效率高的优点，适合于大批量生产。特别是它可以克服在进行间歇操作时，细胞反应所存在的由于营养基质耗尽或有害代谢产物积累所造成的反应只能在一段有限的时间内进行的缺点。对于实行连续操作，可以向反应器内以一定流量不断加入新的基质，同时以相同流量不断取出反应液，这样就可以不断补充细胞需要的营养物质，而有害代谢产物则不断被稀释而排出，生化反应可以连续稳定地进行下去。但是连续操作一般易发生杂菌污染，而且操作时间过长，细胞又易退化变异。

半间歇半连续操作系指原料与产物只有其中的一种为连续输入或输出，而其余则为分批加入或输出的操作，相应的反应器称为半间歇式反应器或半连续反应器。半间歇操作是一种同时兼有间歇操作和连续操作某些特点的操作。半间歇操作对生化反应有着特别重要的意义。例如存在有基质抑制的细胞反应，当基质浓度过高时会对细胞的生长产生抑制作用，若利用半间歇半连续操作，则可控制基质浓度处在较低的水平，以解除其抑制作用。对细胞反应，此种半间歇半连续操作又常称补料分批培养，或称流加操作技术。在此种操作过程中，由于加料，反应液体积逐渐增大，到一定时间应将反应液从反应器中放出。如果只取出部分反应液，剩下的反应液继续进行补料培养，反复多次进行放料和补料操作，此种方法又称重复补料或重复流加操作。

从上述讨论可以看出，根据操作方式对生化反应器进行分类是能反映出反应器的某些本质特征的，因而是常用的一种分类方法。

常用的另一种反应器分类方法是根据反应器的结构特征来进行。

其中包括釜式、管式、塔式、膜式等。它们之间的主要差别反映在其外型（长径比）和内部结构上的不同。

还有一种反应器分类方法是根据反应器所需的能量的输入方式来进行的，其中有通过机械搅拌输入能量的机械搅拌式生化反应器；有利用气体喷射动能的气升式生化反应器和利用泵对液体的喷射作用而使液体循环的生化反应器等。

Moser 等根据生物催化剂在反应器中的分布方式，提出生化反应器可分为生物团块（包括细胞、絮凝物、菌丝体）反应器和生物膜反应器两大类。如果按固相催化剂的运动状态来分类，又可分为填充床、流化床、生物转盘等多种型式反应器。如果按反应体系的相态来分类，则可分为均相与非均相两大类。对生化反应，真正的均相反应是可溶的酶催化反应；对细胞反应，虽有细胞团块存在，但有时也可按拟均相处理。确定其是均相还是非均相，主要看是否存在有传递因素的影响。

对生化反应器的另外一种重要的分类方法是根据反应物系在反应器内的流动与混合状态来进行的，常以反应器内流体的流动类型表示。对不同流型的反应器，反应器内各组分的浓度等状态参数的分布各不相同，而流动类型又是决定反应进行状况的重要工程因素。对连续操作的反应器，物料的混合状况表示了物料在反应器内停留时间的分布状况，常将这种具有不同停留时间的物料之间的混合称之为返混，以区别于通常所说的混合。当反应器内完全不存在物料粒子之间的返混时，这种流动称为活塞流，该反应器称为活塞流反应器；当反应器内不同粒子之间存在着最大返混时，流体的流动称为全混流，该反应器称为全混流反应

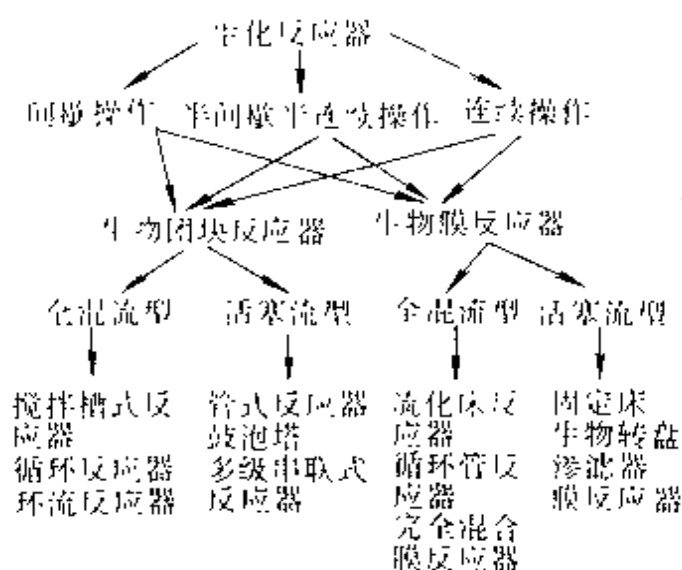


图 5-1 生化反应器的分类

器。显然，活塞流与全混流是反应器内返混情况的两个极端，一个是完全不存在返混，一个是返混达到最大，因此在上述两种假设流动状况下所建立的反应器模型称为理想流动模型；而在实际的生化反应器内流体的返混状况往往介于上述两种极端情况之间，因而称为非理想流动模型。因此按流动模型来分，可分为理想反应器与非理想反应器；在理想反应器中又可分为活塞流和全混流反应器。对生化反应器进行这种分类有利于对反应器进行模拟与放大。

图 5-1 是根据反应器的操作方式、催化剂分布方式、流体流动状况和反应器的结构特征等工艺因素所进行的分类。

图 5-2 表示了以酶为催化剂时的若干种反应器的型式。

图 5-3 为以细胞为催化剂的若干典型生化反应器的示意图。

生化反应器目前正在向大型化和自动化方向发展。生产单细胞蛋白的反应器最大容积已达 2300m^3 ，废水处理反应器的体积已达

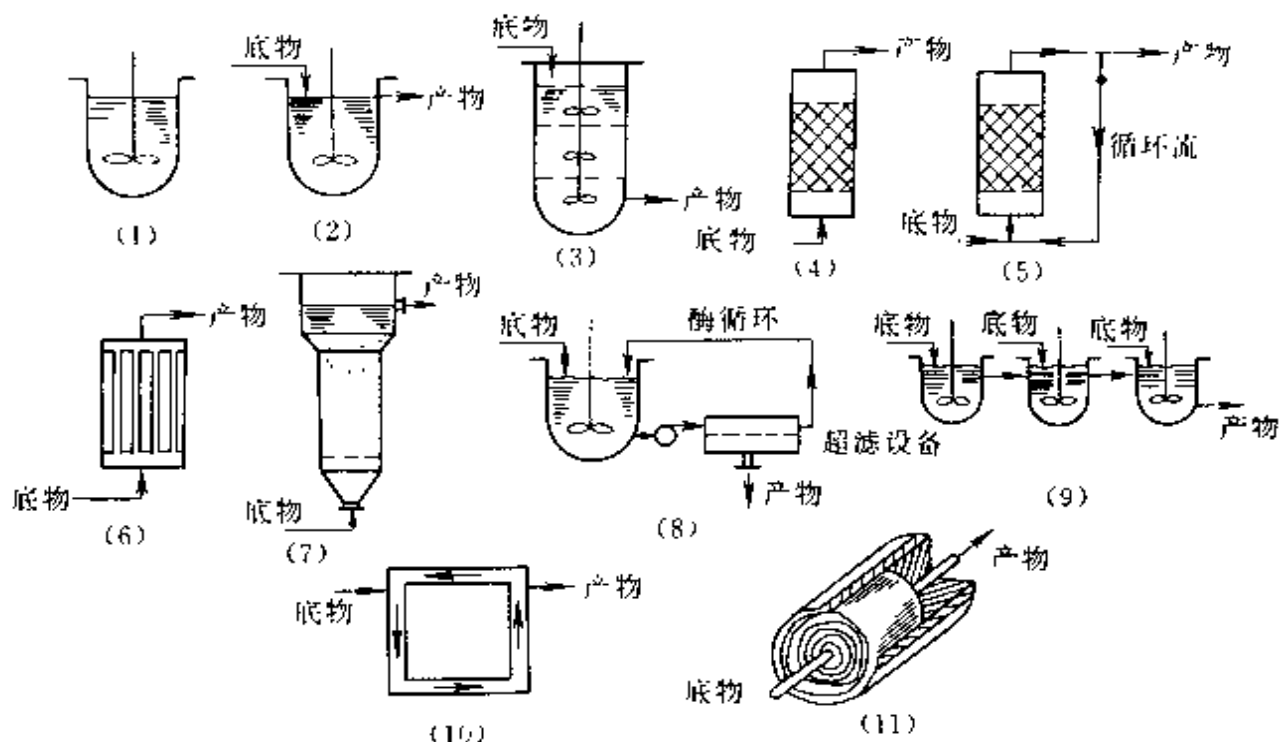


图 5-2 几种酶反应器及操作方式示意图

- (1) 间歇式搅拌罐；(2) 连续式搅拌罐；(3) 多级连续搅拌罐；(4) 填充床（固定床）；
 (5) 带循环的固定床；(6) 列管式固定床；(7) 流化床；(8) 搅拌罐-超滤器联合装置；
 (9) 多釜串联半连续操作；(10) 环流反应器；(11) 螺旋卷式生物膜反应器

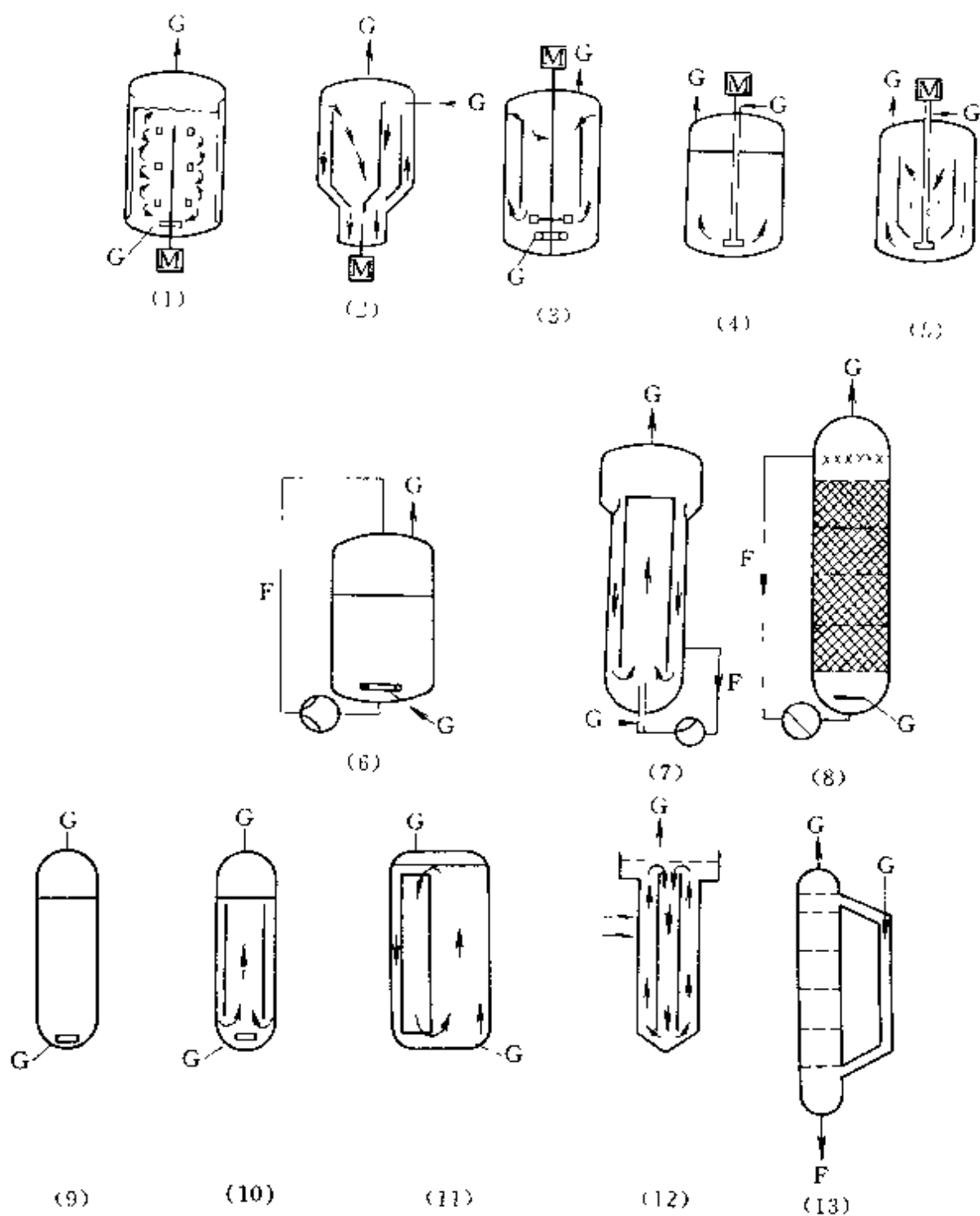


图 5-3 几种细胞反应器示意图

M—电动机；G—气体；F—发酵液；

(1) 通用式；(2)，(3) 伍式；(4) 自吸式；(5) 强制循环式；(6) 泵循环式；

(7) 泵循环自吸式；(8) 填充塔式；(9) 气泡塔式；(10) 环隙气升式；

(11) 内循环式；(12) 深柱式；(13) 外循环式

2700m³。由于反应器体积的增大，也就降低了生产成本。但是反应器大型化会受到传热和传质能力的限制，随着生物催化剂活性的提高和反应器体积的增大，对生化反应器传递性能的要求将会更高。实现自动检测和控制系统将使生化反应器在最佳条件下操作成为可能，近年来获得广泛重视。

另外一些特殊用途的生化反应器也得到了较快的开发和应用，例如用于动植物细胞培养的有悬浮培养用的气升式、贴壁培养用的陶质矩形通道蜂窝状反应器等。还有用于固态发酵的转鼓式反应器以及反应和分离相耦合的反应装置等。

5.1.2 生化反应器的基本设计方程

生化反应器设计的最基本内容有：①选择合适的反应器型式，根据反应及物料的特性和生产工艺特征，确定反应器的操作方式、结构类型、传递和流动方式等；②确定最佳操作条件及其控制方式，如温度、压力、pH、通气量、物料流量等；③计算出所需反应器体积，设计各种结构参数等。

反应体积的确定是反应器设计的核心内容。在反应器型式和操作条件已定的情况下来确定反应器体积，这取决于反应器内反应组分的转化速率，而转化速率又取决于反应物系的组成和操作条件。但是，对大多数反应器而言，反应器内反应物系的组成、操作参数总是随着反应时间或反应器内的位置而改变的，或随两者同时而变，因此在反应器内的反应速率（包括基质的消耗速率、细胞生长速率和产物生成速率）均是变化的。为了确定反应体积，就需要找出这些参数在反应器内变化的数学关系式，即反应器设计的基本方程。

反应器设计的基本方程有三类：①描述浓度变化的物料衡算式；②描述温度变化的能量衡算式。或称为能量方程；③描述压力变化的动量衡算式。建立这三类方程的依据分别是质量守恒定律、能量守恒定律和动量守恒定律。

应用上述三大定律来建立基本方程之前，首先需要确定变量，其次是确定控制体积。

变量分因变量和自变量两种。在反应器设计和分析中，建立物料

衡算式时通常以反应组分的浓度或某组分的转化率做为因变量；能量衡算式和动量衡算式则分别以反应物系的温度和压力做为因变量。

对于自变量，有时间自变量和空间自变量两种。对于定态过程，由于因变量与时间无关，因此在建立衡算式时就不须考虑时间变量，非定态过程则两种自变量均要考虑。考虑空间自变量时，一般只限于一维——以反应器的轴向距离为空间自变量。

所谓控制体积是指建立衡算式的空间范围，即在多大的空间范围内进行衡算。其选择原则是以能把反应速率视作定值的最大空间范围作为控制体积。例如，假定反应区内浓度均匀和温度均匀的反应器，就可取整个反应区体积作为控制体积，因为此时反应区内任何位置的化学反应速率都是一样的。如果不是这样，则只能取一微元体积作为控制体积了。所谓微元体是指一微分体积，它应能反映出可能发生的全部过程和现象，它的体积要比分子、细胞大得多，但最大应以在微元体内各处参数均匀为限。因此，重点研究的是微元体内大量的分子和大量细胞的反应行为以及微元体间的物质、能量传递的宏观规律，而不是研究个别分子和个别细胞的行为。

为了建立前面提到的基本方程，还应包括反应动力学方程式，热力学计算式和各种传递参数的计算式等。

(1) 物料衡算式。物料衡算的基础是质量守恒定律，根据这一定律可对任一封闭体系进行物料衡算。对生化反应，衡算的组分可选底物和产物，也可以做细胞的衡算。衡算的时间基准，可取某一段时间或取某一瞬时的微分时间。衡算的空间范围可对一微元体积或对整个反应系统进行衡算，前者称为微分物料衡算，后者称为总物料衡算。

对反应基质和产物微物料衡算，其基本关系式为

$$\left[\begin{array}{l} \text{组分进入该体} \\ \text{积单元的量} \end{array} \right] = \left[\begin{array}{l} \text{组分流出的体} \\ \text{积单元的量} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{l} \text{体积单元内组分} \\ \text{转化的量} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{l} \text{体积单元内} \\ \text{组分累积量} \end{array} \right] \quad (5-1)$$

上式是对反应物（底物和基质）而言，若对产物，则等号右边第二项应改为组分生成量，并应取负值。

若对细胞作物料平衡，则有：

$$\begin{aligned} & \left[\begin{array}{l} \text{细胞进入该体} \\ \text{积单元的量} \end{array} \right] - \left[\begin{array}{l} \text{细胞流出该体} \\ \text{积单元的量} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{l} \text{体积单元内细} \\ \text{胞生长量} \end{array} \right] \\ & + \left[\begin{array}{l} \text{体积单元内} \\ \text{细胞死亡量} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{l} \text{体积单元内} \\ \text{细胞累积量} \end{array} \right] \end{aligned} \quad (5-2)$$

在定常态下，即所有状态参数均不随时间变化时，上述衡算式中累积项均为零。

(2) 能量衡算式。对大多数反应器，一般对能量衡算式只做热量衡算，此时称为热量衡算式。在一定的时间内，可表示为

$$\left[\begin{array}{l} \text{单位时间内} \\ \text{输入的热量} \end{array} \right] = \left[\begin{array}{l} \text{单位时间内} \\ \text{输出的热量} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{l} \text{单位时间内} \\ \text{的反应热} \end{array} \right] + \left[\begin{array}{l} \text{单位时间内} \\ \text{累积的热量} \end{array} \right] \quad (5-3)$$

如果反应为放热反应，则等号右边第二项取负号；如果为吸热反应，则应取正号。

对于动量衡算，由于生化反应器一般可做恒压处理，因此动量衡算式可略去。

总之，上述基本衡算式，根据各自的守恒定律，均符合下列模式：

$$\text{输入} = \text{输出} + \text{消耗} + \text{累积} \quad (5-4)$$

各种衡算式都包括四大项，但根据不同的情况可进行简化。各种衡算式之间都是耦联的，必须同时求解。

5.2 间歇操作搅拌槽式反应器 (BSTR)

间歇操作搅拌槽式反应器的主要特点是分批装料和卸料，因此其操作时间系由两部分组成，一是进行反应所需要的时间，即开始进行反应直到达到所要求的反应程度为止所需要的时间，常以 t_r 表示，它的大小与该反应的动力学与所要求的反应程度有关；另一部分为辅助操作时间，包括装料、灭菌、卸料、清洗等所需时间之总和，以 t_b 表示。设计间歇操作反应器的重点就在于确定 t_r 值，而 t_b 则是根据生产经验来确定的。

5.2.1 反应时间的计算

对间歇搅拌槽式反应器做物料衡算时，应掌握其两个主要特性：一

是在反应进行过程中无物料的输出和输入；二是由于搅拌的作用，反应器内物料充分混合，浓度均匀，而且反应物系的浓度仅随反应时间而变化。因此可以对整个反应器做物料平衡。根据式(5-1)，对间歇操作的搅拌槽式反应器，其物料衡算式应为

反应组分转化速率 = - 反应组分的累积速率

$$\begin{aligned} \text{即} \quad V_R r_S &= - \frac{dN_S}{dt} \\ r_S &= - \frac{1}{V_R} \frac{dN_S}{dt} \end{aligned} \quad (5-5)$$

式中 V_R —— 反应器有效体积；
 N_S —— 组分 S 的量，mol。

$$\text{对液相反应} \quad r_S = - \frac{dC_S}{dt} \quad (5-6)$$

若令 $t=0$ ， $C_S=C_{S_0}$ ； $t=t_r$ ， $C_S=C_S$ ，分离变量积分之，得到

$$t_r = - \int_{C_{S_0}}^{C_S} \frac{dC_S}{r_S} \quad (5-7)$$

若以转化率 X_S 表示，则有：

$$t_r = C_{S_0} \int_0^{X_S} \frac{dX_S}{r_S} \quad (5-8)$$

式(5-7)和(5-8)表示了反应物 S 反应到某一程度时所需要的反应时间 t_r 的大小，为一普遍关系式，对不同的反应，有不同的 r_S 形式，代入上式，即可求得 t_r 值。

(1) 均相酶催化反应。当为单底物无抑制的反应时，可将 M-M 方程代入式(5-8)，

$$\begin{aligned} t_r &= C_{S_0} \int_0^{X_S} \frac{dX_S}{\frac{r_{\max} C_S}{K_m + C_S}} \\ &= \frac{C_{S_0}}{r_{\max}} \int_0^{X_S} \left(1 + \frac{K_m}{C_S} \right) dX_S \end{aligned}$$

积分之，得到

$$r_{\max} t_r = C_{S_0} X_S + K_m \ln \frac{1}{1 - X_S} \quad (5-9)$$

$$r_{\max} t_r = (C_{S_0} - C_S) + K_m \ln \frac{C_S}{C_{S_0}} \quad (5-10)$$

当 $C_{S_0} \ll K_m$ 时,

$$r_{\max} t_r = K_m \ln \frac{1}{1 - X_S} = K_m \ln \frac{C_{S_0}}{C_S} \quad (5-11)$$

当 $C_{S_0} \gg K_m$ 时,

$$r_{\max} t_r = C_{S_0} X_S = C_{S_0} - C_S \quad (5-12)$$

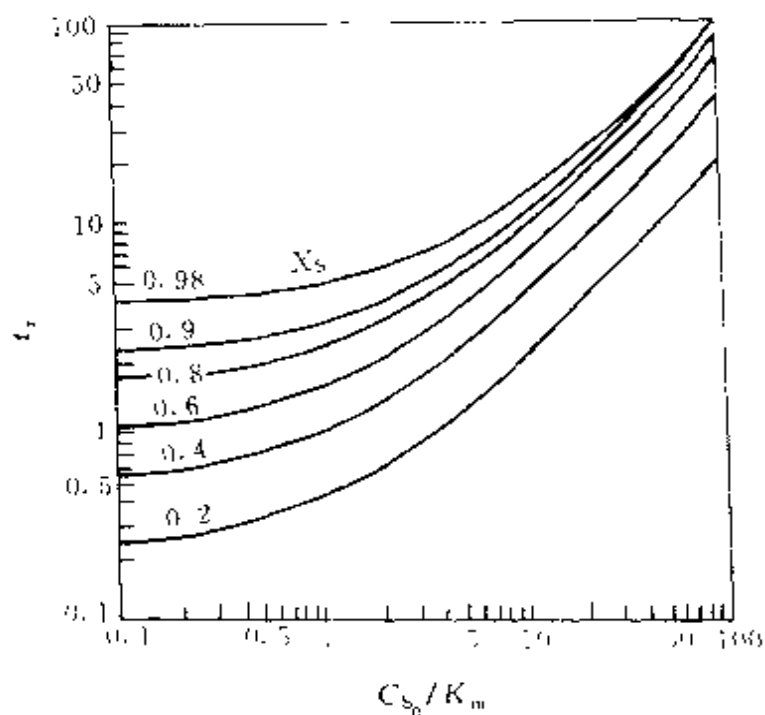


图 5-4 不同转化率 X_S 下, 间歇反应时间 t_r 与 C_{S_0}/K_m 关系

对不同 X_S 值, 以 $t_r \sim C_{S_0}/K_m$ 对应作图, 得到图 5-4。从图中可以看出当 C_{S_0}/K_m 值较小时, 近似为一级反应。当 X_S 一定, t_r 将不随 C_{S_0}/K_m 值而变化; 当 C_{S_0}/K_m 值较大时, 近似为零级反应, 此时 t_r 将随 C_{S_0}/K_m 值成比例增加。

如果在酶催化反应过程中, 酶发生失活现象, 若为不可逆失活, 则

$$r_{\max} = k_{+2} C_F = k_{+2} C_{E_0} \exp(-k_d t_r) \quad (5-13)$$

代入式 (5-8), 积分得

$$t_r = -\frac{1}{k_d} \ln \left\{ 1 - \frac{k_d}{k_{+2} C_{E_0}} \left[C_{S_0} X_S + K_m \ln \frac{1}{1 - X_S} \right] \right\} \quad (5-14)$$

此式表示了在不同失活速率下, 达到一定转化率所需要的反应时间。

(2) 固定化酶催化反应。假定反应器中液相物料占的体积分数为 ϵ_L , 固定化酶占的体积分数则为 $(1 - \epsilon_L)$, 酶反应应发生在固相, 又考虑到存在内扩散的影响, 则在单位时间内, 反应器中底物消耗量应表

示为: $(1-\epsilon_L) V_R \eta r_s$; 累积项则应表示为反应器内液相中底物随时间的变化率 $\epsilon_L V_R \frac{dC_S}{dt}$ 。

列出物料衡算式:

$$(1-\epsilon_L) V_R \eta r_s = -\epsilon_L V_R \frac{dC_S}{dt}$$

积分之, 可得到

$$t_r = \frac{\epsilon_L}{1-\epsilon_L} \int_{C_{S_0}}^{C_S} \frac{dC_S}{\eta r_s} = \frac{C_{S_0} \epsilon_L}{1-\epsilon_L} \int_0^{X_S} \frac{dX_S}{\eta r_s} \quad (5-15)$$

或表示为

$$t_r = C_{S_0} \frac{V_L}{V_P} \int_0^{X_S} \frac{dX_S}{\eta r_s} \quad (5-16)$$

式中 V_P — 固相催化剂体积;

V_L — 液相体积;

r_s — 以催化剂体积定义的反应速率;

η — 内扩散有效因子。

如果反应速率是以单位催化剂的质量来定义的, 此时速率以 r_{s_w} 表示, 则有:

$$t_r = C_{S_0} \frac{V_L}{W} \int_0^{X_S} \frac{dX_S}{\eta r_{s_w}} \quad (5-17)$$

式中 W — 催化剂质量。

从式 (5-15) 和式 (5-17) 可以看出, 要积分该式, 必须先求出 η - X_S 的关系式, 才能进行积分。根据以前的讨论可知, 只有进行的是一级不可逆反应, 即 $C_{S_0} \ll K_m$ 时, 内扩散有效因子 η 与转化率 X_S 的大小无关, η 可作常数处理。此时有

$$r_{\max} t_r \eta \frac{1-\epsilon_L}{\epsilon_L} = K_m \ln \frac{C_{S_0}}{C_S} = K_m \ln \frac{1}{1-X_S} \quad (5-18)$$

如果固定化酶颗粒很小, 反应为动力学控制, $\eta=1$, 则可表示为

$$r_{\max} t_r \frac{1-\epsilon_L}{\epsilon_L} = C_{S_0} X_S + K_m \ln \frac{1}{1-X_S} \quad (5-19)$$

(3) 细胞反应。由于间歇操作的细胞反应过程的动力学比较复杂, 很难用一个统一的动力学方程来表示全过程, 并且由于细胞生长过程

又包括延迟期、指数生长期、减速期、静止期等，使得反应时间 t_r 的范围亦难以十分明确。比较容易确定的是指数生长期和减速期所需要的时间。

如果指数期开始时，细胞的浓度为 C_{x_0} ，指数期末细胞浓度为 C_{x_1} ，减速期末细胞浓度为 C_{x_2} ，则所需要的反应时间 t_r 应包括指数生长期所需时间 t_{r_1} 与减速期所需时间 t_{r_2} 之和。即

$$t_r = t_{r_1} + t_{r_2} \quad (5-20)$$

而

$$t_{r_1} = \int_{C_{x_0}}^{C_{x_1}} \frac{dC_x}{r_{x_1}}, \quad t_{r_2} = \int_{C_{x_1}}^{C_{x_2}} \frac{dC_x}{r_{x_2}} \quad (5-21)$$

在指数期内，基质浓度高，营养物充分，细胞生长不受限制，比生长速率可达到最大值，即 $r_{x_1} = \mu_{\max} C_x$ (5-22)

$$t_{r_1} = \int_{C_{x_0}}^{C_{x_1}} \frac{dC_x}{\mu_{\max} C_x} \quad (5-23)$$

$$\mu_{\max} t_{r_1} = \ln \frac{C_{x_1}}{C_{x_0}} \quad (5-24)$$

对减速期，由于基质的消耗，细胞的生长速率会受到基质浓度的限制，此时有

$$r_{x_2} = \mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s} \quad (5-25)$$

$$\mu_{\max} t_{r_2} = \int_{C_{x_1}}^{C_{x_2}} \frac{K_s + C_s}{C_s C_x} dC_x \quad (5-26)$$

并根据

$$C_{S_2} = C_{S_1} - \frac{1}{Y_{x/S}} (C_{x_2} - C_{x_1}) \quad (5-27)$$

积分得到：

$$\mu_{\max} t_{r_2} = \left(1 + \frac{K_s}{\bar{k}} \right) \ln \frac{C_{x_2}}{C_{x_1}} - \frac{K_{S_1}}{\bar{k}} \ln \frac{C_{S_2}}{C_{S_1}} \quad (5-28)$$

式中

$$\bar{k} = \frac{K_s}{C_{S_1} + \frac{1}{Y_{x/S}} C_{x_1}} \quad (5-29)$$

但是，由于 C_{x_1} 值很难确定，而 C_{x_2} 值很易确定，因此采用一种近

似的计算方法，即从指数期开始到减速期末，总的反应时间 t_r 用一个统一公式来计算：

$$t_r = \int_{C_{x_0}}^{C_{x_t}} \frac{dC_x}{r_x} \quad (5-30)$$

$$r_x = \mu_{\max} \frac{C_S}{K_S + C_S} C_x$$

$$\mu_{\max} t_r = \left(1 + \frac{K_S}{\bar{K}}\right) \ln \frac{C_{x_t}}{C_{x_0}} - \frac{K_S}{\bar{K}} \ln \frac{C_{S_t}}{C_{S_0}} \quad (5-31)$$

$$\bar{K} = \frac{K_S}{C_{S_0} + \frac{1}{Y_{x/S}} C_{x_0}} \quad (5-32)$$

虽然此法不够严谨，但所求得 t_r 值足以保证反应的要求。也有学者提出，直接采用下式求出 t_r

$$t_r = \frac{1}{\mu_{\max}} \ln \frac{C_{x_t}}{C_{x_0}} \quad (5-33)$$

如果对反应基质做衡算，则有：

$$r_S V_R = \left(\frac{\mu}{Y_{x/S}} + \frac{q_P}{Y_{P/S}} + m_S \right) C_x V_R \quad (5-34)$$

$$\frac{d(C_S V_R)}{dt} = - \left(\frac{\mu}{Y_{x/S}} + \frac{q_P}{Y_{P/S}} + m_S \right) C_x V_R \quad (5-35)$$

当 $\mu = \mu_{\max}$ ，且 V_R 维持恒定时则有：

$$\frac{dC_S}{dt} = - \left(\frac{\mu_{\max}}{Y_{x/S}} + \frac{q_P}{Y_{P/S}} + m_S \right) C_x \quad (5-36)$$

若 $C_x = C_{x_0} \exp(\mu_{\max} t)$ (5-37)

并且式 (5-36) 中括号内各项在细胞培养时都为常数，则该式可积分为：

$$t_r = \frac{1}{\mu_{\max}} \ln \left[1 + \frac{C_{S_0} - C_{S_t}}{\left(\frac{1}{Y_{x/S}} + \frac{q_P}{\mu_{\max} Y_{P/S}} + \frac{m_S}{\mu_{\max}} \right) C_{x_0}} \right] \quad (5-38)$$

所求 t_r 为最终基质浓度为 C_{S_t} 时所需间歇培养的时间。

如果无代谢产物生成，式 (5-38) 还可简化为：

$$t_r = \frac{1}{\mu_{\max}} \ln \left[1 + \frac{C_{S_0} - C_{S_t}}{\left(\frac{1}{Y_{x'S}} + \frac{m_S}{\mu_{\max}} \right) C_{x_0}} \right] \quad (5-39)$$

如果维持能也可忽略，则有：

$$t_r = \frac{1}{\mu_{\max}} \ln \left[1 + \frac{Y_{x'S}}{C_{x_0}} (C_{S_0} - C_{S_t}) \right] \quad (5-40)$$

对代谢产物做衡算，假设 $r_P = q_P C_x$ ，则：

$$\frac{d(C_P V_R)}{dt} = q_P C_x V_R \quad (5-41)$$

$$\frac{dC_P}{dt} = q_P C_{x_0} \exp(\mu_{\max} t) \quad (5-42)$$

当 q_P 为常数时，则有：

$$t_r = \frac{1}{\mu_{\max}} \ln \left[1 + \frac{\mu_{\max}}{C_{x_0} q_P} (C_{P_t} - C_{P_0}) \right] \quad (5-43)$$

5.2.2 反应器有效体积的确定

从上述讨论可以看出，对间歇操作的反应器，反应物要达到一定的反应程度，或细胞要达到一定浓度所需要的反应时间，仅与过程的速率有关，而与反应器大小无关。对间歇操作反应器，其有效体积大小是由反应物料的处理量来确定的。

间歇操作反应器的一个操作周期的时间为 t ，则有：

$$t = t_r + t_b \quad (5-44)$$

式中 t_r ——进行反应所需时间；

t_b ——辅助操作时间。

根据规定的生产任务，要求该反应器在单位时间内所应处理的物料体积为 V_0 ，则该反应器的有效体积为：

$$V_R = V_0 (t_r + t_b) \quad (5-45)$$

如果要求单位时间内得到产物的量为 P_r ，则有：

$$V_0 = \frac{P_r}{C_{S_0} X_S} \quad (5-46)$$

式中 C_{S_0} 、 X_S 分别为反应物初始浓度和其最终转化率。

【例 5.1】 在一间歇操作的反应器内进行一均相的无抑制的酶催化反应, 已经测得该酶催化反应的动力学参数为 $k_{+2} = 1 \text{ min}^{-1}$, $K_m = 2 \text{ mol/L}$, 加入酶的初始浓度 $C_{E_0} = 1 \text{ mol/L}$ 。加入反应底物的初始浓度为 2 mol/L 。

试求 要求每 1h 生产某产品 1000 mol , 反应底物的转化率为 0.80 , 并且每一操作周期内所需要的辅助时间为 10 min 。此时所需要的反应器有效体积 V_R 为多少?

解 (1) 先求出达到一定转化率所需反应时间, 根据题意, 本反应符合 M-M 方程。因此, 根据

$$r_{\max} t_r = C_{S_0} X_S + K_m \ln \frac{1}{1 - X_S}$$

和 $r_{\max} = k_{+2} C_{E_0} = 1 \times 1 = 1 \text{ mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$

将已知值代入上式

$$1 \times t_r = 2 \times 0.8 + 2 \ln \frac{1}{1 - 0.8}$$

$$t_r = 4.82 \text{ min}$$

(2) 求反应器有效体积 V_R 。根据 $V_R = V_0(t_r + t_b)$ 和 $P_r = V_0 C_{S_0} X_S$, 可分别求出

$$V_0 = P_r / C_{S_0} X_S = \frac{1000/60}{2 \times 0.80} = 10.42 \text{ L/min}$$

$$V_R = 10.42(4.82 + 10) = 154.4 \text{ L}$$

5.2.3 间歇反应过程的优化

无论是酶催化反应, 还是细胞反应, 总是希望能以最小的费用而获得最大的利益。作为优化目标的函数, 可以取产量、生产率和利润, 也可以对这些指标进行多目标函数优化。最优化的变量有反应结束的时间-即反应时间 t_r 、培养基组成、温度、pH 值等。

对简单的酶催化反应, 在进行间歇操作反应时, 其考虑的变量是反应时间 t_r 值, 因在间歇操作中, 每一操作周期都包括反应时间和辅助时间。对一定反应和反应器, 其辅助时间是一定值。在反应过程中,

反应底物浓度是逐渐下降的；反应产物的生成速率则随着底物浓度的降低而下降。随着反应时间的延长，底物的转化率会随之提高，产品产量亦会增加，但是以单位操作时间计算的产物产量并不一定增加。所以，若以单位操作时间的产物产量做为目标函数，就必然存在一个最优反应时间，而使该函数值为最大。

对一定反应 $S \rightarrow P$

若产物浓度为 C_P ，则单位操作时间的产物产量为

$$F_P = \frac{V_R C_P}{t_r + t_b} \quad (5-47)$$

若使 F_P 为最大，则对反应时间 t_r 求导并令其=0，

$$\frac{dF_P}{dt_r} = \frac{V_R \left[(t_r + t_b) \frac{dC_P}{dt_r} - C_P \right]}{(t_r + t_b)^2} = 0 \quad (5-48)$$

则得到
$$\frac{dC_P}{dt_r} = \frac{C_P}{t_{r,opt} + t_b} \quad (5-49)$$

式中 $t_{r,opt}$ —— 最优反应时间。

此式为单位时间产物产量为最大所必需满足的条件，并由此可求最优反应时间。下面用图解法求解。

首先根据式 (5-10) 做出反应时间 t_r 与 C_S 的关系曲线，并将其换算为 t_r 与 C_P 的关系曲线，如图 5-5 所示。过原点沿横轴负方向截取

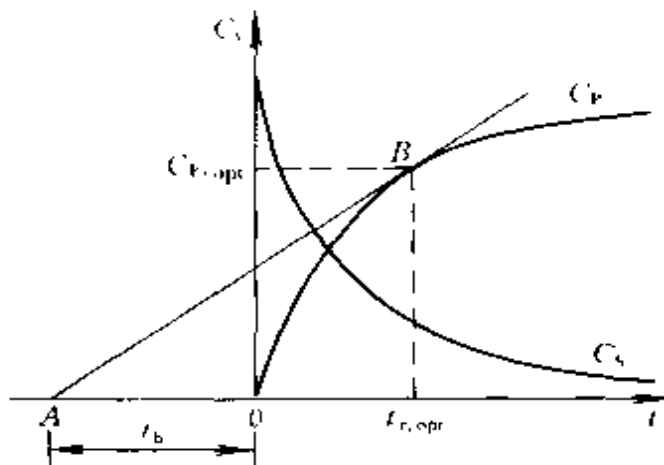


图 5-5 使生产率最高的最优反应时间图解

$OA = t_b$ ，然后自 $A(-t_b, 0)$ 作 C_P-t 曲线的切线 AB ，则 B 点所对应的时间即为最优反应时间。由图可以看出，最优反应时间下产物浓度为 $C_{P,opt}$ ，切线 AB 的斜率也等于 dC_P/dt_r 。

需要指出的是，上述结果是以单位时间产物产量最大为目标函数的，如果以消耗原料为最少做目标函数，则反应

时间愈长，原料消耗愈少。因此，优化目标函数不同，结果也就不同，这一点务必注意。综合考虑各方面的因素，应以生产费用最低做为优化目标函数较适宜。若设单位时间内反应操作费用为 a_r ，辅助操作费用为 a_b ，固定资产折旧费为 a_f ，产物浓度为 C_P ，则单位质量产物的总费用 C_T 为

$$C_T = \frac{a_r t_r + a_b t_b + a_f}{V_R C_P} \quad (5-50)$$

要使生产成本最低，应使 $dC_T/dt_r = 0$

$$\frac{dC_T}{dt_r} = \frac{1}{V_R C_P^2} \left[a_r C_P - (a_r t_r + a_b t_b + a_f) \frac{dC_P}{dt_r} \right] = 0 \quad (5-51)$$

则

$$\frac{dC_P}{dt_r} = \frac{C_P}{t_{r,opt} + (a_b t_b + a_f)/a_r} \quad (5-52)$$

采用和图 5-5 相同的方法求出 $t_{r,opt}$ 值。

对某些简单的反应，还可用解析法求出最佳反应时间。

假定某反应服从 M-M 方程，且不考虑酶的失活，产物初始浓度 $C_{P_0} = 0$ ，则有

$$r_P = \frac{dC_P}{dt_r} = \frac{r_{max} C_{S,opt}}{K_m + C_{S,opt}} = \frac{C_{S_0} - C_{S,opt}}{t_{r,opt} + t_b} \quad (5-53)$$

式中 $C_{S,opt}$ ——最佳基质浓度。

若以转化率表示， $C_{S,opt} = C_{S_0} (1 - X_{S,opt})$

代入式 (5-53) 得到

$$r_{max} (t_{r,opt} + t_b) = X_{S,opt} \left(C_{S_0} + \frac{K_m}{1 - X_{S,opt}} \right) \quad (5-54)$$

又因为对 M-M 方程，有方程 (5-9)，将其代入式 (5-54)，经整理可得下式。

$$r_{max} t_b = K_m \left(\frac{X_{S,opt}}{1 - X_{S,opt}} + \ln \frac{1}{1 - X_{S,opt}} \right) \quad (5-55)$$

根据上式确定最佳转化率 $X_{S,opt}$ 值，再代入式 (5-54)，进而求出 $t_{r,opt}$ 值。

5.3 连续操作的搅拌槽式反应器 (CSTR)

连续操作的搅拌槽式反应器是应用得很普遍的一种生化反应器。属于此类反应器的有单级 CSTR、多级 CSTR 串联、带有循环的 CSTR 等多种形式。

5.3.1 CSTR 的基本设计式

单级 CSTR 的典型结构如图 5-6 所示。它的主要特性是，反应物

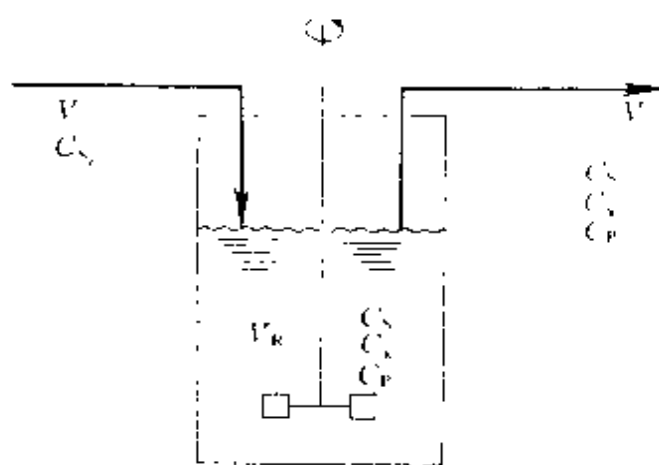


图 5-6 连续全混流生化反应器

V —流入培养液的体积流量； C_{s_0} —流入培养液中生长限制性底物的浓度； V_R —反应器内液体的体积； C_s 、 C_x 、 C_p —分别为定常态下的 X 、 S 和 P 的浓度

连续稳定地加入到反应器中，同时反应产物也连续稳定地离开反应器，并保持反应体积不变。反应器内物系的组成将不随时间而变。因此称为定态操作；由于反应器内装有高速的搅拌混合装置，使得物料在空间上达到充分混合，物系组成亦不随空间位置而改变，此种情况又称为集中参数模型；同时又由于一方面反应物料连续进出反应器，另一方面又受到搅拌的充分混合作用，使得在反应器内停留时间不同的微元

体亦达到了最大的“混合”。这种停留时间不同的微元体之间的“混合”，一般称之为返混。而单级 CSTR 可使这种返混的程度达到最大。因而又常把单级 CSTR 称为全混流反应器。

对单级 CSTR 所处理的物料多为液相，因此可视为在恒容下操作，并常采取各种方法维持反应在等温条件下进行。

根据上述分析，若对单级 CSTR 做物料衡算，显然存在可以对整个反应器做物料衡算和衡算方程中并无累积项的特点。

以反应组分 S 为例，做其平衡关系式，

$$\text{输入速率} = \text{输出速率} + \text{反应消耗速率}$$

$$\text{即} \quad F_{S_0} = F_S + r_S V_R \quad (5-56)$$

式中 F_{S_0} 、 F_S —— 单位时间组分 S 的量, mol。

又因为 $F_S = F_{S_0}(1 - X_S)$, 因此式 (5-56) 又可表示为

$$F_{S_0} X_S = r_S V_R$$

$$\text{因此} \quad \frac{V_R}{F_{S_0}} = \frac{X_S}{r_S} \quad (5-57)$$

$$\text{又由于} \quad F_{S_0} = V_0 C_{S_0}$$

$$\text{故} \quad \frac{V_R}{V_0} = \frac{C_{S_0} X_S}{r_S} = \frac{C_{S_0} - C_S}{r_S} \quad (5-58)$$

若令 $\tau_m = \frac{V_R}{V_0}$, 则有:

$$\tau_m = \frac{C_{S_0} X_S}{r_S} = \frac{C_{S_0} - C_S}{r_S} \quad (5-59)$$

式中 τ_m —— CSTR 的空时, 或称平均停留时间。

式 (5-57)、式 (5-58) 和式 (5-59) 均为单级 CSTR 的基本设计关系式。从上述公式可以看出, 它把达到一定的反应程度与其所需要的反应器体积直接相联系, 并且得到的都是简单的代数关系式。

还需要指出的是, 由于在单级 CSTR 中物料之间的混合程度达到最大, 因而使反应器出口物料的组成与反应器内各处物料组成完全相同, 因此式 (5-58) 和式 (5-59) 中的浓度 C_S 或转化率 X_S 亦为反应器内部的浓度和转化率。

又由于单级 CSTR 中, 存在有不同停留时间物料之间的返混, 因此式 (5-59) 中的时间 τ_m 只代表物料在反应器内的平均停留时间, 而不代表某一微元体的真实停留时间。因此 τ_m 又称为平均停留时间或空时。

如果某反应的动力学方程已知, 以速率的倒数与 C_S 和 X_S 分别作图, 如图 5-7 所示。根据式 (5-57) 和式 (5-58), 图中阴影面积分别为 V_R/F_{S_0} 和 V_R/V_0 。

5.3.2 酶催化反应时的单级 CSTR

如果为均相酶催化反应, 其动力学又符合最简单的 M-M 方程, 将其动力学方程式直接代入式 (5-59) 中, 很易得到下式。

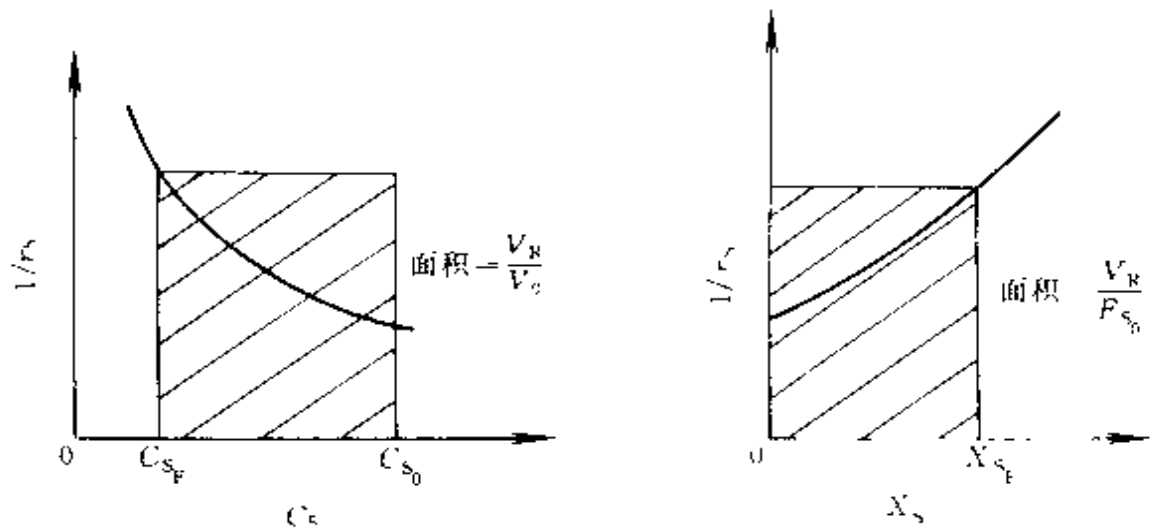


图 5-7 单级 CSTR 设计关系式的图示

$$r_{\max} \tau_m = (C_{S_0} - C_S) + K_m \frac{C_{S_0} - C_S}{C_S} \quad (5-60)$$

$$r_{\max} \tau_m = C_{S_0} X_S + K_m \frac{X_S}{1 - X_S} \quad (5-61)$$

若存在底物抑制，则有：

$$r_{\max} \tau_m = C_{S_0} X_S + K_m \frac{X_S}{1 - X_S} + \frac{C_{S_0}^2}{K_{S1}} (X_S - X_S^2) \quad (5-62)$$

若为竞争性产物抑制，则有

$$r_{\max} \tau_m = C_{S_0} X_S + K_m \frac{X_S}{1 - X_S} + \frac{K_m}{K_P} \frac{C_{S_0} X_S^2}{1 - X_S} \quad (5-63)$$

若为非竞争性产物抑制，则为：

$$r_{\max} \tau_m = C_{S_0} X_S + K_m \frac{X_S}{1 - X_S} + \frac{K_m}{K_P} \frac{C_{S_0} X_S^2}{1 - X_S} + \frac{C_{S_0}^2 X_S^2}{K_P} \quad (5-64)$$

如果为固定化酶催化反应，由于有液固两相和内扩散影响的存在，底物的物料平衡式为

$$F_{S_0} = F_S + (1 - \epsilon_L) V_R \eta r_{SP} \quad (5-65)$$

式中 r_{SP} —— 以固定化酶颗粒体积为基准所定义的催化反应速率。

$$\tau_m = \frac{V_R}{V_0} = \frac{C_{S_0} - C_S}{(1 - \epsilon_L) \eta r_{SP}} \quad (5-66)$$

当 r_{SP} 仍符合 M-M 动力学时, 则上式可表示为

$$r_{max} \tau_m (1 - \epsilon_L) \eta = C_{S_0} X_S + K_m \frac{X_S}{1 - X_S} \quad (5-67)$$

需要指出的是, 这里 $\tau_m = \frac{V_R}{V_0} = \frac{V_L + V_S}{V_0}$, 其中 V_L 为液相体积, V_S 为固定化酶体积, 因此 $\tau_m = \tau_L + \tau_S$, 只有 τ_L 代表了反应物料在反应器内平均停留时间。并且存在有

$$\tau_L = \epsilon_L \tau_m \quad (5-68)$$

如果反应速率以固定化酶单位质量为基准, 则有:

$$r_w = \frac{W}{V_0} = \frac{C_{S_0} X_S}{\eta r_{sw}} \quad (5-69)$$

式中 τ_w —— 重时;

r_{sw} —— 以固定化酶质量为基准定义的催化反应速率。

5.3.3 细胞反应时的单级 CSTR

在进行细胞反应时, 根据达到稳定状态的方式不同, 此种型式的连续操作, 可分为两种。一种方式是在没有任何反馈控制机构时, 以一定不变的流量供给培养基, 通过细胞自身的催化的性质而达到稳定的操作状态。另一种方式是有反馈控制机构条件下, 控制培养基的加料速率, 以维持反应器内细胞浓度为一定。前者常称为恒化器, 后者常称为恒浊器。由于前者控制简单, 在实际应用中占绝大多数, 因此本节主要讨论恒化器。

在 CSTR 中进行细胞反应时, 由于 CSTR 具有的返混性质, 只要反应器内有细胞存在, 则依靠细胞的自催化能力, 即使加入的反应基质中不含有细胞, 在一定加料速率范围内 CSTR 亦能在稳态下操作。

首先对细胞做质量衡算:

$$\text{细胞质量增加速率} = \text{加入细胞} - \text{流出细胞} + \text{细胞生长的速率} \quad (5-70)$$

可表示为:

$$\frac{d(V_R C_x)}{dt} = V_0 C_{x_0} - V_0 C_x + V_R \left(\frac{dC_x}{dt} \right)_{\pm k} \quad (5-71)$$

$$V_R \frac{dC_x}{dt} + C_x \frac{dV_R}{dt} = V_0 C_{x_0} - V_R C_x + V_R \left(\frac{dC_x}{dt} \right)_{\text{生长}}$$

$$\frac{dC_x}{dt} = \frac{V_0}{V_R} C_{x_0} - \frac{V_0}{V_R} C_x + \left(\frac{dC_x}{dt} \right)_{\text{生长}} \quad (5-72)$$

对单级 CSTR, 维持 V_R 为恒定, 故

$$\frac{dV_R}{dt} = 0 \quad (5-73)$$

式中 $\frac{dC_x}{dt}$ —— 在反应混合物中细胞浓度变化速率;

$\left(\frac{dC_x}{dt} \right)_{\text{生长}}$ —— 由于细胞生长对反应混合物中细胞浓度变化速率的贡献。

如果符合 Monod 方程, 则有:

$$\left(\frac{dC_x}{dt} \right)_{\text{生长}} = \mu C_x = \frac{\mu_{\max} C_S}{K_S + C_S} C_x \quad (5-74)$$

因此, 式 (5-72) 可表示为:

$$\frac{dC_x}{dt} = \frac{V_0}{V_R} C_{x_0} - \frac{V_0}{V_R} C_x + \left(\frac{dC_x}{dt} \right)_{\text{生长}} \quad (5-75)$$

若定义
$$D = \frac{V_0}{V_R} \quad (5-76)$$

则
$$\frac{dC_x}{dt} = D(C_{x_0} - C_x) + \left(\frac{dC_x}{dt} \right)_{\text{生长}} \quad (5-77)$$

D 称为稀释率, 其因次为时间⁻¹。

又根据 CSTR 的特性, 加料中 $C_{x_0} = 0$, 则:

$$\frac{dC_x}{dt} = \mu C_x - DC_x = (\mu - D) C_x \quad (5-78)$$

同样, 对基质 S 做质量平衡, 亦有下式:

$$\begin{aligned} \frac{dC_S}{dt} &= D(C_{S_0} - C_S) - r_S \\ &= D(C_{S_0} - C_S) - \frac{1}{Y_{x/S}} \mu C_x \end{aligned} \quad (5-79)$$

对单级 CSTR, 稳态条件下, 应存在 $\frac{dC_x}{dt} = 0$, $\frac{dC_S}{dt} = 0$ 。因此, 从方程

(5-78), 可得:

$$\mu = D \quad (5-80)$$

从方程 (5-79), 有:

$$D(C_{S_0} - C_S) = \frac{1}{Y_{x/s}} \mu C_x \quad (5-81)$$

由于 $D = \mu$, 故:

$$C_{S_0} - C_S = \frac{1}{Y_{x/s}} C_x \quad (5-82)$$

由式 (5-80) 可以看出:

对在单级 CSTR 中进行的细胞反应, 在进入稳态操作后, 细胞的比生长速率与反应器的稀释率相等, 这是单级 CSTR 进行细胞反应的一个非常重要的特性。在进行间歇细胞反应时, 在反应过程中一般无法控制细胞的比生长速率, 而在单级 CSTR 中, 则可通过改变培养基的流加速度就可以改变稳态下细胞的比生长速率。

从式 (5-80) 还可以看出, μ 为比生长速率, 它是细胞的生长特性参数之一; D 是一操作参数, 它为单位时间内加入 CSTR 中培养液体积占反应器中总培养液体积的分率, 它的大小可通过调节 V_0 来实现, 这样就把操作变量与细胞生长特性相联系, 因而可较方便地研究细胞的生长特性。

又根据在稳态条件下, 对单级 CSTR, 存在有:

$$D = \mu = \mu_{\max} \frac{C_S}{K_S + C_S} \quad (5-83)$$

所以, 可得到下式:

$$C_S = \frac{K_S D}{\mu_{\max} - D} \quad (5-84)$$

式中 C_S ——在某一稀释率下 CSTR 中的基质浓度。

CSTR 中细胞浓度, 亦可表示为:

$$C_x = Y_{x/s}(C_{S_0} - C_S) = Y_{x/s} \left(C_{S_0} - \frac{K_S D}{\mu_{\max} - D} \right) \quad (5-85)$$

式 (5-84) 和式 (5-85), 所表示的 C_S 与 C_x 分别与 D 的关系可参看图 5-8。

根据对稀释率 D 的定义, 若定义

$$\tau_m = \frac{1}{D} = \frac{V_R}{V_f} \quad (5-86)$$

τ_m 称为物料在反应器中平均停留时间。

则式 (5-84) 可改写为:

$$C_s = \frac{K_s}{\mu_{\max} \tau_m - 1} \quad (5-87)$$

式 (5-59) 亦可表示为:

$$\tau_m = \frac{C_{S_0} - C_s}{r_s} = \frac{(C_{S_0} - C_s) Y_{x/s} (K_s + C_s)}{\mu_{\max} C_s C_x} \quad (5-88)$$

在单级 CSTR 中, 进行符合 Monod 模型的简单的细胞反应, 其优化的目标函数一般以单位时间单位体积的细胞产量 P_x 为最大, P_x 一般称为细胞的产率。其定义为

$$P_x = DC_x \quad \text{g}/(\text{L} \cdot \text{min}) \quad (5-89)$$

所以
$$P_x = DY_{x/s} \left(C_{S_0} - \frac{K_s D}{\mu_{\max} - D} \right) \quad (5-90)$$

P_x 与 D 的关系亦表示在图 5-8 中。从该图中可知 P_x 有一极大值, 令

$$\frac{dP_x}{dD} = 0 \quad (5-91)$$

求得当 P_x 为最大时, 相应的稀释率称为最佳稀释率 D_{opt} , 并有

$$D_{\text{opt}} = \mu_{\max} \left[1 - \sqrt{\frac{K_s}{K_s + C_{S_0}}} \right] \quad (5-92)$$

此时反应器中细胞浓度值为

$$C_{x,\text{opt}} = Y_{x/s} \left[C_{S_0} + K_s - \sqrt{K_s (C_{S_0} + K_s)} \right] \quad (5-93)$$

所以, $(P_x)_{\text{max}} = D_{\text{opt}} C_{x,\text{opt}} = Y_{x/s} \mu_{\max} C_{S_0} \left[\sqrt{\frac{K_s + C_{S_0}}{C_{S_0}}} - \sqrt{\frac{K_s}{C_{S_0}}} \right]^2 \quad (5-94)$

图 5-8 表示了 C_s 、 C_x 和 P_x 与 D 的关系。

对 C_s 与 D 的关系, 从图中可以看出, 当 D 值较小时, 随 D 的增加, C_s 逐渐在增加, 当 D 值较大时, C_s 将迅速上升, 当 D 大到某一值时, $C_s = C_{S_0}$ 。

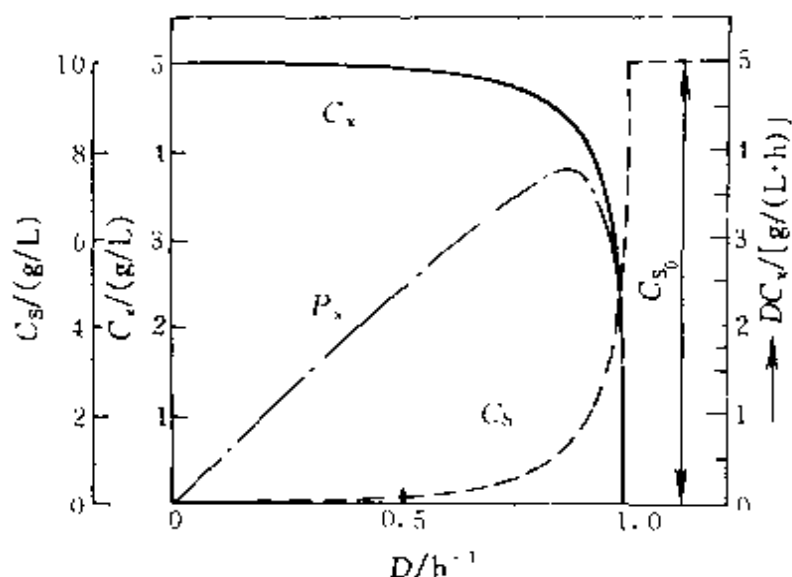


图 5-8 单级 CSTR 中 C_x 、 C_s 和 P_x 与 D 的关系

对 C_x 与 D 的关系, 当 D 值较小时, 反应器内细胞浓度较高, 随着 D 的增加, C_x 在逐渐下降, 当 D 增大到某一值时, $C_x=0$ 。

对 P_x 与 D 的关系, 当 D 值在一定范围内增加时, P_x 亦随之增大, 当 D 继续增大时, P_x 反而下降。因此存在有一最佳稀释率 D_{opt} , 在此稀释率下操作, P_x 为此条件下最大值。

图 5-8 表示的具体参数为 $\mu_{max}=1.0\text{h}^{-1}$, $Y_{x/s}=0.5$, $C_{s_0}=10\text{g/L}$, $K_s=0.2\text{g/L}$ 。

根据上述分析和式 (5-84), 可有, 当 $C_s=C_{s_0}$ 时,

$$D_c = \frac{\mu_{max} C_{s_0}}{K_s + C_{s_0}} \quad (5-95)$$

这意味着, 当稀释率增大到 D_c 值时, CSTR 的出口物料中 (也包括反应器内) 细胞浓度为零, 反应基质浓度为新加入基质浓度, 反应器已不能正常操作。因此 D_c 称为临界稀释率, 是操作中允许的上限。此时称反应器处于“洗出”操作状态。

如果 $C_{s_0} \gg K_s$, 上述有关关系式可简化为

$$D_c \approx D_{opt} \approx \mu_{max} \quad (5-96)$$

$$C_{x,opt} \approx Y_{x/s} C_{s_0} \quad (5-97)$$

$$(P_x)_{max} \approx D_c Y_{x/s} C_{s_0} \quad (5-98)$$

Levenspiel 定义一参数 N , 表示为

$$N = \sqrt{1 + \frac{C_{S_0}}{K_S}} \quad (5-99)$$

对 Monod 动力学, 为

$$D_{opt} = \mu_{max} \frac{N-1}{N} \quad (5-100)$$

$$C_{x,opt} = Y_{x/S} C_{S_0} \frac{N}{N+1} \quad (5-101)$$

$$(P_x)_{max} = \mu_{max} Y_{x/S} C_{S_0} \frac{N-1}{N+1} \quad (5-102)$$

基质消耗速率为最大处的基质浓度为

$$C_{S,opt} = C_{S_0} \frac{1}{N+1} \quad (5-103)$$

有了上述分析, 可以对单级 CSTR 进行优化设计和优化操作。

从上述分析又可以看出, 对在 CSTR 中进行细胞反应时, D 是有限制的。一般认为, 当 D 小于 μ_{max} 值时, 才存在一稳定操作状态, 如果 $D = \mu_{max}$, 则 C_x 值是不确定的; 当 D 大于 μ_{max} 值时, 则 C_x 将减少并直到零。

在设计 CSTR 时, 式 (5-80) 和式 (5-82) 必须同时得到满足。

对式 (5-82), 当基质完全耗尽时, 细胞是不能再生长; 对式 (5-80), 表示的则是动力学限制的关系, μ 做为 C_S 的函数。

归纳起来, 基于 Monod 动力学的单级 CSTR, 有下述关系:

$$\mu = \mu_{max} \frac{C_S}{K_S + C_S} \quad (5-104)$$

$$C_S = C_{S_0} - \frac{1}{Y_{x/S}} C_x \quad (5-105)$$

$$D = \mu = \mu_{max} \frac{\left(C_{S_0} - \frac{1}{Y_{x/S}} C_x \right)}{K_S + C_{S_0} - \frac{1}{Y_{x/S}} C_x} \quad (5-106)$$

$$C_{S_0} = \frac{\mu_{max} \frac{1}{Y_{x/S}} C_x - K_S D - D \frac{1}{Y_{x/S}} C_x}{\mu_{max} - D} \quad (5-107)$$

上式中 C_{S_0} 为要求达到一定 C_x 值时, 所要求加料中基质浓度。

如果反应过程有代谢产物生成, 则可对产物做质量平衡。有下式:

$$V_0 C_{P_0} + V_R r_P = V_0 C_P + V_R \frac{dC_P}{dt} \quad (5-108)$$

一般情况下 $C_{P_0} = 0$, 若又为稳态操作, 则有

$$r_P = DC_P \quad (5-109)$$

$$C_P = \frac{r_P}{D} = \frac{Y_{P,x} \mu C_x}{D} = \frac{q_P C_x}{D} \quad (5-110)$$

或
$$C_P = Y_{P/S} (C_{S_0} - C_S) - Y_{P/S} \left(C_{S_0} - \frac{K_S D}{\mu_{\max} - D} \right) \quad (5-111)$$

上述推导是假定产物生成类型是属于生长相关型; 产物浓度 C_P 与稀释率 D 的依赖关系类似于 C_x 与 D 的关系 (参看图 5-8)。如果 q_P 与生长速率无关, 则产物浓度 C_P 与稀释率 D 成反比, 并且其 DC_P 的积在较宽稀释率下恒定 (见图 5-9 中的 (a) 图); 如果为部分相关模型, C_P 与 D 的关系见图 5-9 中的 (b) 图。

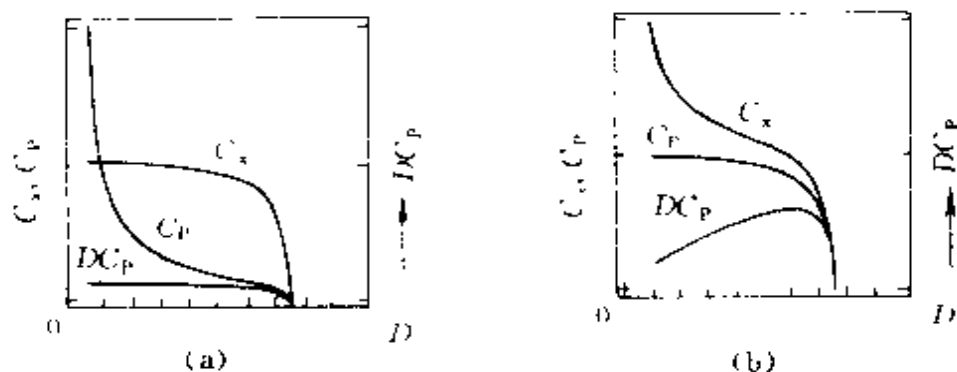


图 5-9 在 CSTR 中无产物抑制非生长相关型 (a) 和部分相关型 (b) 的 C_x 、 C_p 、 DC_p 随 D 变化的曲线

如果产物对细胞生长有抑制作用, 此时衡算方程式可表示为

$$\frac{dC_x}{dt} = \mu_1 C_x - DC_x \quad (5-112)$$

$$\frac{dC_s}{dt} = D(C_{S_0} - C_s) - \mu_1 C_x \frac{1}{Y_{x/S}} \quad (5-113)$$

$$\frac{dC_p}{dt} = q_P C_x - DC_p \quad (5-114)$$

若取
$$\mu = \mu_{\max} \left(1 - \frac{C_P}{C_{P,\max}} \right)$$

则有
$$\tau_m = \frac{1}{D} = \frac{C_P - C_{P_0}}{r_P} = \frac{C_P - C_{P_0}}{\mu_{\max} \left(1 - \frac{C_P}{C_{P,\max}} \right) (C_P - C_{P_0} + Y_{P,x} C_{x_0})}$$
 (5-115)

当 $C_{x_0} = C_{P_0} = 0$ 时, 上式可简化为

$$\mu_{\max} \tau_m = \frac{C_{P,\max}}{C_{P,\max} - C_P} \quad (5-116)$$

如果发生“洗出”现象, $C_P = 0$, 则应存在有

$$(\mu_{\max} \tau_m)_c = 1 \quad (5-117)$$

如果寻求最佳稀释率, 则应令 $\frac{dr_P}{dC_P} = 0$, 求得

$$C_{P,\text{opt}} = \frac{1}{2} C_{P,\max} \quad (5-118)$$

故
$$(\mu_{\max} \tau_m)_{\text{opt}} = \frac{C_{P,\max}}{C_{P,\max} - \frac{1}{2} C_{P,\max}} = 2 \quad (5-119)$$

$$(\mu_{\max} \tau_m)_{\text{opt}} = 2 (\mu_{\max} \tau_m)_c \quad (5-120)$$

亦可表示为
$$(\tau_m)_{\text{opt}} = 2 (\tau_m)_c \quad (5-121)$$

$$D_{\text{opt}} = \frac{1}{2} D_c \quad (5-122)$$

上述结果表示在图 5-10。

如果有细胞的内源代谢或死亡存在, 则对 CSTR 做细胞质量衡算, 表示为

$$\frac{dC_x}{dt} = DC_{x_0} + (\mu - k_d - D)C_x \quad (5-123)$$

当 $C_{x_0} = 0$ 时, 上式为:

$$\frac{dC_x}{dt} = (\mu - k_d - D)C_x \quad (5-124)$$

式中 k_d ——细胞内源代谢或死亡速率常数, h^{-1} 。

在稳态条件下, 存在有

$$D = \mu - k_d \quad (5-125)$$

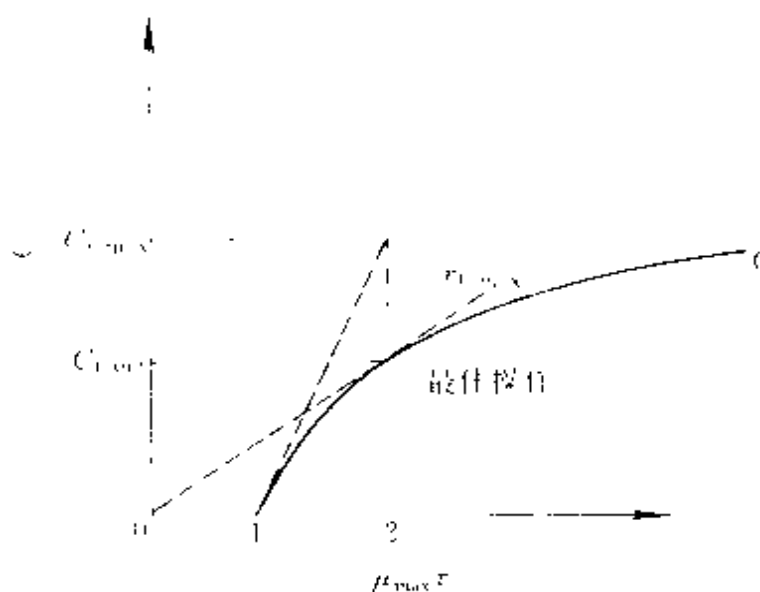


图 5-10 CSTR 中产物有抑制时最佳操作示意图

1—洗出点；2 最佳操作点

或
$$\mu = D + k_d \quad (5-126)$$

如果对反应的限制基质，则有：

$$\frac{dC_s}{dt} = D(C_{s_0} - C_s) - \frac{1}{Y_{x/s}^*} (D + k_d) C_x \quad (5-127)$$

在稳态条件下， $\frac{dC_s}{dt} = 0$ ，重新整理上式，有：

$$D \left(\frac{C_{s_0} - C_s}{C_x} \right) - \frac{1}{Y_{x/s}^*} (D + k_d) = 0 \quad (5-128)$$

又因为为有：

$$\frac{C_{s_0} - C_s}{C_x} = \frac{1}{Y_{x/s}^*} \quad (5-129)$$

所以，式 (5-128) 可改写为：

$$\frac{1}{Y_{x/s}^*} D - \frac{1}{Y_{x/s}^*} D - \frac{1}{Y_{x/s}^*} k_d = 0 \quad (5-130)$$

$$\frac{1}{Y_{x/s}^*} = \frac{1}{Y_{x/s}^*} + \frac{m_s}{D} \quad (5-131)$$

这里 $m_s = \frac{k_d}{Y_{x/s}^*}$ m_s 称为维持系数。

当存在内源代谢时，有

$$C_s = \frac{K_s(D+k_d)}{\mu_{max} - D - k_d} \quad (5-132)$$

$$C_x = Y_{x/s}^*(C_{s_0} - C_s) \frac{D}{D+k_d} \quad (5-133)$$

如果既有内源代谢又有代谢产物生成，则对基质的质量平衡可表示为：

$$D(C_{s_0} - C_s) = \frac{1}{Y_{x/s}^*} (D+k_d)C_x + \frac{1}{Y_{p/s}^*} q_p C_x \quad (5-134)$$

此时求出：

$$C_s = \frac{K_s(D+k_d)}{\mu_{max} - D - k_d} \quad (5-135)$$

$$C_x = Y_{x/s}^*(C_{s_0} - C_s) \left[\frac{D}{D+k_d + q_p \frac{Y_{x/s}^*}{Y_{p/s}^*}} \right] \quad (5-136)$$

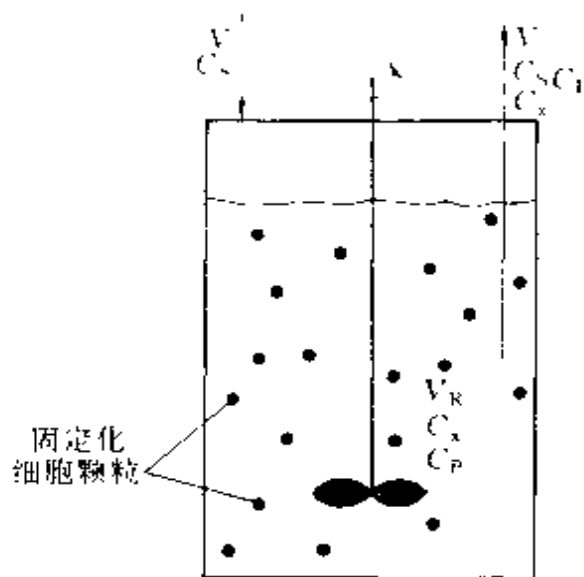


图 5-11 具有固定化细胞的 CSTR

如果在单级 CSTR 中进行的是固定化细胞催化反应，如图 5-11 所示。

在该反应器内，含有细胞的球形颗粒保持悬浮和完全的混合，反应器中单位液相体积含有固定化酶的浓度定义为 $C_{x_{im}}$ ，并假定 $C_{x_{im}}$ 是一常数，这意味着所有固定化细胞颗粒全部保留在反应器内而不随产物流走，而且新产生的细胞全部都释放到培养基中。培养基中游离细胞浓度为 C_{x_s} 。假设固定化细胞和游离细胞具有相同的本征比生长速率 μ ，并假设忽略细胞的内源代谢和死亡，而且产物的合成仅与内源代谢直接相关。

做游离细胞的质量平衡，则应考虑该游离细胞是由游离细胞和固定化细胞两部分产生的，因此可表示为：

$$VC_{x_s} = V_R \mu C_{x_s} + V_R \mu C_{x_{im}} \quad (5-137)$$

如果扩散影响了固定化细胞的生长速率,则上式中 $\mu C_{x_{im}}$ 必需改写为 $\eta_T \mu C_{x_{im}}$ 。 η_T 为表示扩散影响的总有效因子。

式 (5-137) 可表示为:

$$DC_{x_s} = \mu(C_{x_s} + \eta_T C_{x_{im}})$$

或
$$D = \mu \left[1 + \frac{\eta_T C_{x_{im}}}{C_{x_s}} \right] \quad (5-138)$$

从上式来看,当 $C_{x_{im}} = 0$ 时, $D = \mu$ 。只要 $C_{x_{im}} > 0$, 则有 $D > \mu$ 。由此看来,对固定化细胞的 CSTR, D 可以在大于 μ 的情况下操作,这是它的一个优点。

若对基质做衡算,则可得到下式:

$$D(C_{S_0} - C_S) = \frac{\mu}{Y_{x/S}} (C_{x_s} + \eta_T C_{x_{im}}) \quad (5-139)$$

当 μ 用 Monod 方程表示时,可有:

$$\frac{\mu_{max} C_S}{K_S + C_S} = \frac{D(C_{S_0} - C_S) Y_{x/S}}{(C_{S_0} - C_S) Y_{x/S} + \eta_T C_{x_{im}}} \quad (5-140)$$

将上述关系式作图表示为图 5-12。从图中可以看出:

当 $C_{x_{im}} = 0$, 此时 $D = \mu$, 可求得如图所示的 D_c ;

当 $C_{x_{im}} > 0$, 此时 $D > \mu$ 。

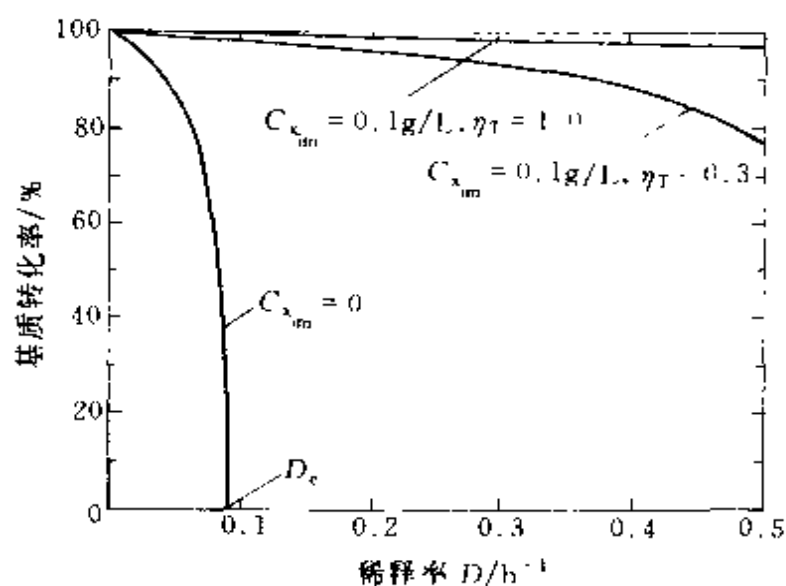


图 5-12 CSTR 有无固定化细胞时基质转化率与稀释率的关系

在某一稀释率 D 时, 有了固定化细胞, 可以明显提高基质转化率, 但是随着扩散限制作用的加大, 反应速率明显在下降。

【例 5.2】 在甘露糖醇中培养大肠杆菌, 其动力学方程为

$$r_x = \frac{1.2 \times C_s}{2 + C_s} C_x \quad \text{g}/(\text{L} \cdot \text{min})$$

已知 $C_{s_0} = 6\text{g/L}$ $Y_{x/s} = 0.1$

试问 (1) 当甘露糖醇溶液以 $1\text{L}/\text{min}$ 的流量进入体积为 5L 的 CSTR 中进行反应时, 其反应器内细胞的浓度及其生长速率为多少?

(2) 如果寻求使大肠杆菌在 CSTR 内的生长速率达到最大, 试问最佳加料速率应为多少? 大肠杆菌的生长速率为多大?

解 (1) 根据题意, 单级 CSTR 在稳态下有

$$\mu = D = \frac{V}{V_R} = \frac{1}{5} = 0.2 \text{min}^{-1}$$

$$\text{又 } \mu = \mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s}, \text{ 故有 } 0.2 = \frac{1.2 \times C_s}{2 + C_s}$$

解得 $C_s = 0.4\text{g/L}$

$$C_x = Y_{x/s}(C_{s_0} - C_s) = 0.1(6 - 0.4) = 0.56\text{g/L}$$

$$r_x = \mu C_x = 0.2 \times 0.56 = 0.112\text{g}/(\text{L} \cdot \text{min})$$

(2) 根据 D 的定义, 在生产速率为最大时, 最佳加料速率 $V_{\text{opt}} = D_{\text{opt}} V_R$

$$D_{\text{opt}} = \mu_{\max} \frac{N-1}{N}$$

$$N = \sqrt{1 + \frac{C_{s_0}}{K_s}} = \sqrt{1 + \frac{6}{2}} = 2$$

故

$$D_{\text{opt}} = 1.2 \times \frac{2-1}{2} = 0.6 \text{min}^{-1}$$

$$V_{\text{opt}} = 0.6 \times 5 = 3\text{L}/\text{min}$$

$$r_{x,\max} = (P_x)_{\max} = \mu_{\max} Y_{x/s} C_{s_0} \frac{N-1}{N+1}$$

$$= 1.2 \times 0.1 \times 6 \times \frac{2-1}{2+1}$$

$$= 0.24\text{g}/(\text{L} \cdot \text{min})$$

5.3.4 带有细胞循环的单级 CSTR

将单级 CSTR 流出的反应液进行分离，经浓缩后的细胞悬浮液被送回 CSTR 中，就成为带有细胞循环的 CSTR 操作，其示意图见图 5-13。细胞的循环相当于不断给反应器接种，不但提高了生化反应器中细胞的浓度，也有利于提高反应器操作的稳定性，从而使 CSTR 生产率显著增加，过程扰动的影响降至最低。

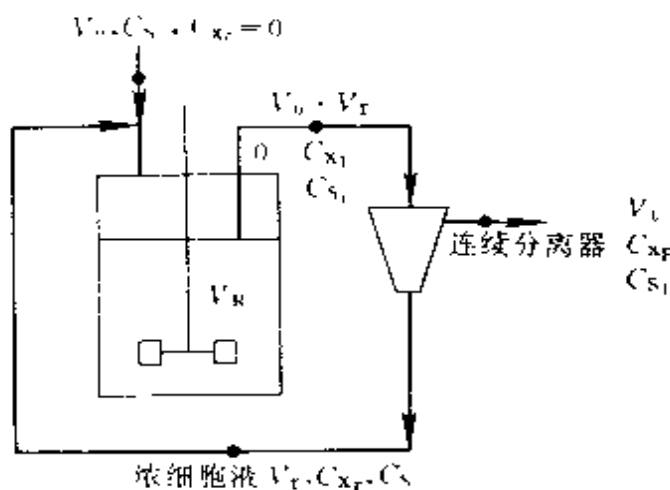


图 5-13 进行细胞循环的单级连续培养

若定义
物料循环比（体积比）

$$R = \frac{V_r}{V_0} \quad (5-141)$$

细胞浓缩系数

$$\beta = \frac{C_{x_r}}{C_{x_1}} \quad (5-142)$$

根据带循环 CSTR 特性应有 $R > 0$, $\beta > 1$ 。在稳态条件下，对 CSTR 做细胞的衡算，如下式。

$$\begin{aligned} \text{输入量} + \text{循环量} + \text{生长量} &= \text{输出量} \\ V_0 C_{x_0} + V_r C_{x_1} + V_R r_x &= (V_0 + V_r) C_{x_1} \end{aligned} \quad (5-143)$$

因为 $C_{x_0} = 0$, $V_r = R V_0$, $r_x = \mu C_x$, $\frac{V_0}{V_R} = D$

则上式可整理为

$$D = \frac{\mu}{1 + R - R\beta} = \frac{\mu}{W} \quad (5-144)$$

$$\text{或} \quad \mu = D(1 + R - R\beta) \quad (5-145)$$

由此式可以看出，在有细胞循环时，CSTR 中的细胞在稳态下的比生长速率与其稀释率不再相符，而且由于浓缩系数 $\beta > 1$ ，因此 $1 + R - R\beta$ 恒小于 1，故稀释率恒大于比生长速率。

对基质 S 做衡算

输入 + 循环 = 消耗 + 输出

$$V_0 C_{S_0} + R V_0 C_{S_1} = V_R r_S + V_0 (1+R) C_{S_1} \quad (5-146)$$

经整理得到
$$D(C_{S_0} - C_{S_1}) = \frac{1}{Y_{x,S}} \mu C_{x_1}$$

所以
$$C_{x_1} = \frac{Y_{x,S}}{W} (C_{S_0} - C_{S_1}) \quad (5-147)$$

因此反应器中细胞的浓度为无循环时的 $1/W$ 倍。同样可推得：

$$C_{S_1} = \frac{K_S W D}{\mu_{\max} - W D} \quad (5-148)$$

$$C_{x_1} = \frac{Y_{x,S}}{W} \left\{ C_{S_0} - \frac{K_S W D}{\mu_{\max} - W D} \right\} \quad (5-149)$$

与无循环相比，由于循环的作用使得反应器出口基质浓度 C_{S_1} 进一步降低，有利于基质的转化，同时 C_{x_1} 值提高，也有利于提高细胞的生产率。

带有循环的 CSTR，其临界稀释率可表示为

$$D_c = \frac{1}{W} \frac{\mu_{\max} C_{S_0}}{K_S + C_{S_0}} \quad (5-150)$$

故
$$D_c = \frac{1}{W} D_c \quad (5-151)$$

$$D_{c'} > D_c \quad (5-152)$$

由于循环作用，使其临界稀释率提高，允许的加料速率亦可提高。如果加料速率不变，则所需反应器体积可减小。

上述各式中， V_0 、 C_{S_0} 为反应器新加入基质的体积流量和浓度； C_{S_1} 、 C_{x_1} 为反应器出口处（亦为反应器内）基质和细胞浓度； V_r 、 C_{x_r} 为循环物料的体积流量和其细胞浓度； D_c 、 $D_{c'}$ 分别为无循环和有循环时的临界稀释率。

图 5-14 表示了细胞循环与不循环时，细胞浓度和细胞产率随 D 变化的比较。

从该图可看出，对细胞进行提浓循环，明显可以提高细胞在 CSTR 中的浓度和 DC_x 值。当然，如果对细胞不提浓而仅仅循环，则此种循

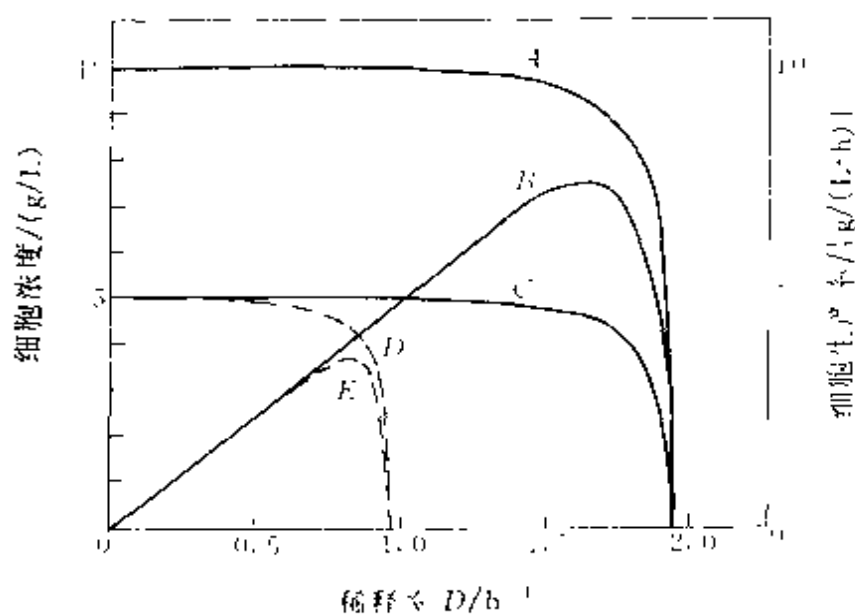


图 5-14 细胞循环与不循环的比较

A、B、C- 循环；D、E- 不循环；A、D 反应器中细胞浓度；
B、E- 细胞产率；C 出口细胞浓度

环将无意义。

图 5-14 中所使用的参数为 $\mu_{max} = 1.0 h^{-1}$, $Y_{x/s} = 0.5$, $K_s = 0.2 g/L$, $C_{s_0} = 10 g/L$, $R = 0.5$, $\beta = 2$ 。

从图 5-15 又可以看出，提高浓缩系数，增大循环细胞浓度，有利

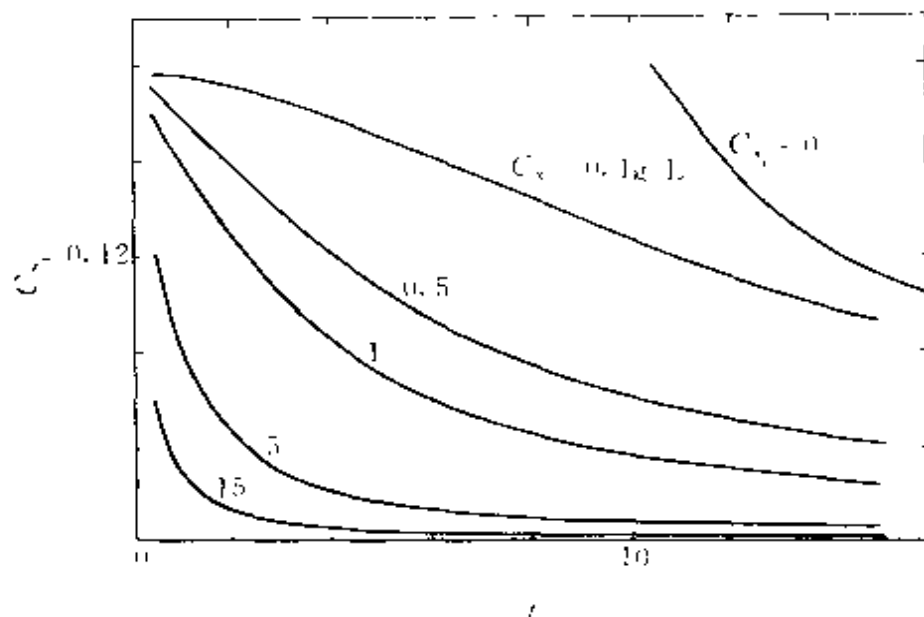


图 5-15 循环细胞浓度对 CSTR 性能的影响

于提高基质的利用程度，也有利于增加反应器对加料速率变化的稳定性。

【例 5.3】 在一带循环的单级 CSTR 中进行下述反应 (图 5A)

$$r_x = \frac{2 \times C_s}{1 + C_s} C_x \quad \text{g}/(\text{L} \cdot \text{min})$$

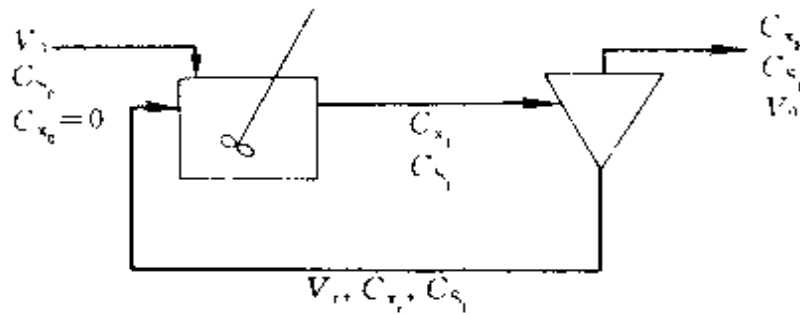


图 5A 反应过程

已知 $C_{x_0} = 0$, $C_{S_0} = 3\text{g/L}$, $V_0 = 1\text{L}/\text{min}$, $Y_{x/S} = 0.5$,

$$V_R = 1\text{L}, \quad V_r = \frac{1}{2}V_0, \quad C_{x_r} = 4C_{x_F}$$

试求 C_{x_1} 、 C_{S_1} 、 C_{x_r} 、 C_{x_F} 各为多少?

解 循环比 $R = \frac{V_r}{V_0} = \frac{1}{2}$, $\frac{C_{x_r}}{C_{x_F}} = \frac{\beta}{W} = \frac{\beta}{1 + R - R\beta} = 4$

得到 $\beta = 2$, 故 $W = \frac{1}{2}$

又因为 $D = \frac{V_0}{V_R} = 1\text{min}^{-1}$

所以 $C_{S_1} = \frac{K_s W D}{\mu_{\max} - W D} = \frac{1 \times \frac{1}{2} \times 1}{2 - \frac{1}{2} \times 1} = \frac{1}{3}\text{g/L}$

$$C_{x_1} = \frac{Y_{x/S}}{W} (C_{S_0} - C_{S_1}) = \frac{0.5}{0.5} \left(3 - \frac{1}{3} \right) = \frac{8}{3}\text{g/L}$$

$$C_{x_F} = C_{x_1} W = \frac{8}{3} \times \frac{1}{2} = \frac{4}{3}\text{g/L}$$

$$C_{x_r} = 4C_{x_F} = 4 \times \frac{4}{3} = 5\frac{1}{3}\text{g/L}$$

5.3.5 多级 CSTR 串联

多级 CSTR 串联可分为三大类 (图 5-16)。

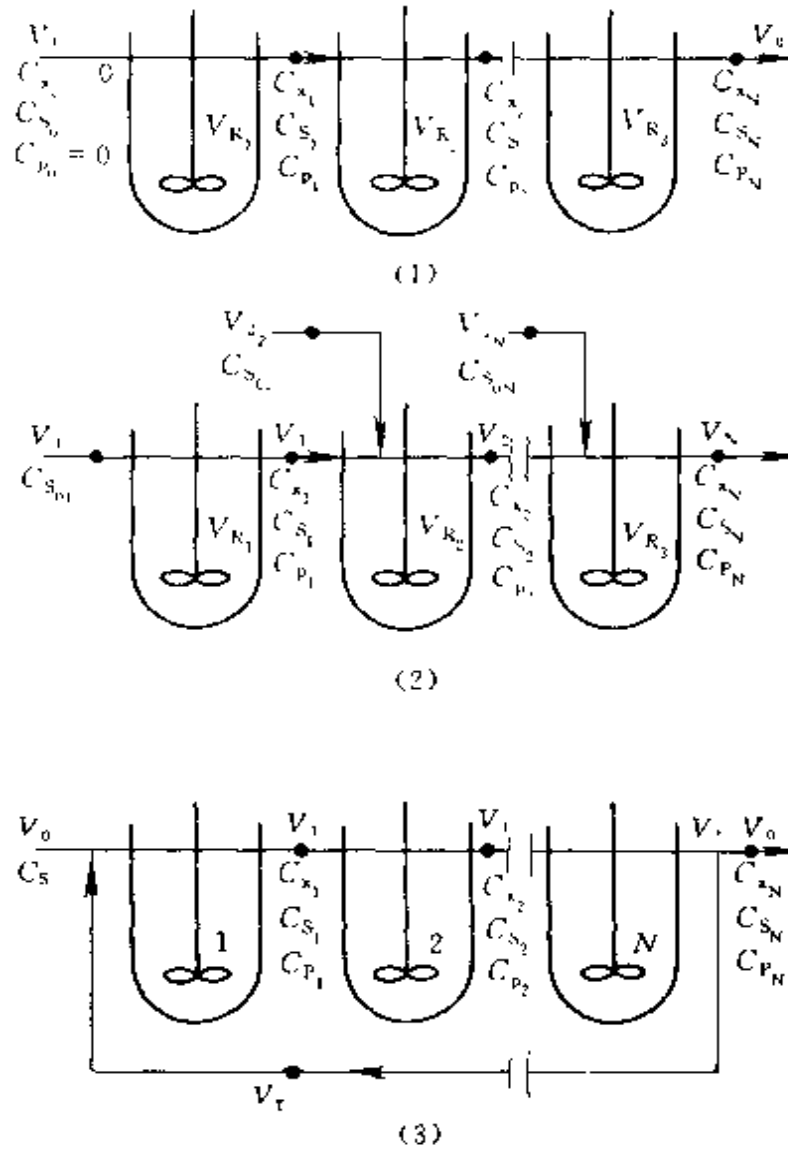


图 5-16 不同类型的多级 CSTR 操作

(1) 单流多级系统; (2) 多流多级系统; (3) 带循环的多级系统

(1) 单流多级系统。指单股基质以恒速逐级流过串联系统。具有的特征是, 第一级与 CSTR 相同; 后面的级对前面的级没有影响; 各级的稀释率仅仅依赖于该级反应器体积, 若体积都相同, 则各级稀释率亦都相同。

(2) 多流多级系统。指有多股基质输入, 具有的特征是, 第一级与 CSTR 相同; 前面的级与后面的级无关; 不同流入基质可独自改变

流量，各级稀释率是独立变量。

(3) 带循环的多级系统。采用多级 CSTR 串联系统的主要优点有：基质利用充分、转化率高，这对价格昂贵的基质，如甾体的转化是很有意义的，对环保中废水处理也很重要；维持较长的停留时间，对使用复合基质而需要稳定生长期的生物过程很有好处；可在每级反应器中维持反应所需最适的操作条件。

在实际应用中，一般最多不超过三级，因为反应器级数愈多，过程复杂性增加，而带来的效益并不明显。

单流多级 CSTR 串联。对此种操作一般假设：

- ① 一股进料、稳态操作。
- ② 各个 CSTR 体积相等。
- ③ 每一个反应器内为全混流，各反应器之间无返混。
- ④ 各反应器操作条件相同，得率为常数。

以最简单的两级反应器系统为例来进行分析。其中第一级与单级 CSTR 相同，而第二级因有细胞的加入，衡算方程更为复杂。

现做第二级反应器的物料衡算。

$$\text{对 } X \quad V_R \frac{dC_{x_2}}{dt} = VC_{x_1} - VC_{x_2} + V_{R'}r_{x_2} \quad (5-153)$$

$$\frac{dC_{x_2}}{dt} = DC_{x_1} - DC_{x_2} + \mu_2 C_{x_2} \quad (5-154)$$

$$\text{稳态下求得} \quad \mu_2 = D \left[1 - \frac{C_{x_1}}{C_{x_2}} \right] \quad (5-155)$$

$$\text{对 } S \quad V_R \frac{dC_{s_2}}{dt} = VC_{s_1} - VC_{s_2} - \frac{V_R}{Y_{x/S}} \mu_2 C_{x_2} \quad (5-156)$$

$$\frac{dC_{s_2}}{dt} = DC_{s_1} - DC_{s_2} - \frac{1}{Y_{x/S}} \mu_2 C_{x_2} \quad (5-157)$$

$$\text{稳态下求得} \quad \mu_2 = Y_{x/S} D \left[\frac{C_{s_2} - C_{s_1}}{C_{x_2}} \right] \quad (5-158)$$

从式 (5-155) 可以看出，由于 $0 < \frac{C_{x_1}}{C_{x_2}} < 1$ ，因此存在有 $\mu_2 < D$ ，即在第二级 CSTR 中细胞的比生长速率小于稀释率。

联立式 (5-155) 和式 (5-158), 消去 μ , 求得

$$C_{x_2} = Y_{x/s}(C_{s_1} - C_{s_2}) \quad (5-159)$$

若 C_{s_1} 已知即可求出 C_{x_2} 。为求 C_{s_2} , 可先将式 (5-158) 和 Monod 动力学方程相联立, 消去 μ_2 得

$$C_{x_2} = \frac{Y_{x/s}D}{\mu_{\max}C_{s_2}}(K_S + C_{s_2})(C_{s_1} - C_{s_2}) \quad (5-160)$$

再将式 (5-159) 与上式相联立, 消去 C_{x_2} 得

$$Y_{x/s}(C_{s_1} - C_{s_2}) = \frac{Y_{x/s}D}{\mu_{\max}C_{s_2}}(K_S + C_{s_2})(C_{s_1} - C_{s_2}) \quad (5-161)$$

即得二次方程:

$$(\mu_{\max} - D)C_{s_2}^2 - \left(\mu_{\max}C_{s_1} - \frac{K_S D^2}{\mu_{\max} - D} + K_S D \right) C_{s_2} + \frac{K_S^2 D^2}{\mu_{\max} - D} = 0 \quad (5-162)$$

解此方程, 可求出不同稀释率下第二级反应器中 C_{s_2} , 进而确定 C_{x_2} 值。此方程 C_{s_2} 有两个解: 一个小于 C_{s_1} , 一个大于 C_{s_1} 。第一个解是有意义的, 第二个解虽然在数学上是实根, 但在生物学上可以认为是虚根, 它表示的是“负生长”, 即表示细胞转化为反应物, 显然不合理。

图 5-17 表示的是二级串联系统中, 稳态操作时, 细胞浓度、基质浓度与稀释率的关系。从图中可以看出, 两级串联 CSTR 在同样的 D_c 值下被洗出, 当 $D < D_c$ 时, $C_{x_2} > C_{x_1}$; 即使在比较接近 D_c 值时, C_{s_2} 比 C_{s_1} 低得多, 这表明在两级串联时基质利用比较完全, 但在第二级中, 细胞的生长要缓慢得多。

若 N 个 CSTR 相串联, 对第 N 个反应器做物料衡算式为:

$$V_{R_N} \frac{dC_{x_N}}{dt} = VC_{x_{N-1}} - VC_{x_N} + V_{R_N} \mu_N C_{x_N} \quad (5-163)$$

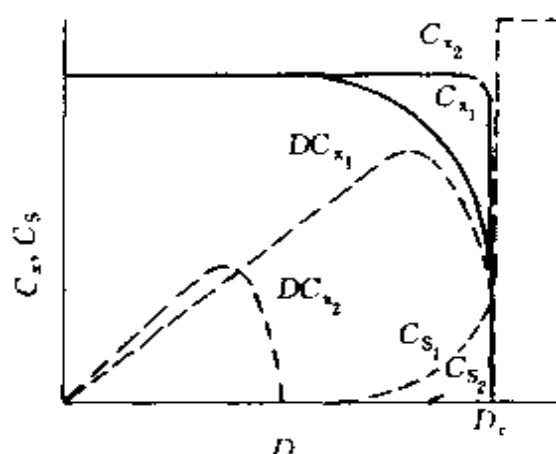


图 5-17 二级连续培养时各级细胞浓度、限制性基质浓度及细胞生产率与稀释率的关系

$$V_{R_N} \frac{dC_{S_N}}{dt} = VC_{S_{N-1}} - VC_{S_N} - V_{R_N} \frac{1}{Y_{x/S}} \mu_N C_{x_N} \quad (5-164)$$

$$V_{R_N} \frac{dC_{P_N}}{dt} = VC_{P_{N-1}} - VC_{P_N} + V_{R_N} Y_{P,x} \mu_N C_{x_N} \quad (5-165)$$

稳态下, 有:

$$C_{x_N} = \frac{DC_{x_{N-1}}}{D - \mu_N} \quad (5-166)$$

$$C_{S_N} = C_{S_{N-1}} - \frac{1}{D} \frac{1}{Y_{x/S}} \mu_N C_{x_N} \quad (5-167)$$

$$C_{P_N} = C_{P_{N-1}} + \frac{1}{D} Y_{P,x} \mu_N C_{x_N} \quad (5-168)$$

级数 N 和其他参数可用下述方法进行估算, 如图 5-18 所示。

首先根据间歇实验反应器的动力学数据做出 $r_x - C_x$ 的关系曲线, 即为 $r_{x_N} = \mu_N C_{x_N}$;

又根据物料衡算式, 对细胞在稳态下可得

$$D(C_{x_N} - C_{x_{N-1}}) = r_{x_N} \quad (5-169)$$

$$C_{x_N} = C_{x_{N-1}} + \frac{r_{x_N}}{D} \quad (5-170)$$

以 $C_{x_N} - r_{x_N}$ 作图为一一直线, 该直线斜率为 D 。如图 5-18 所示。

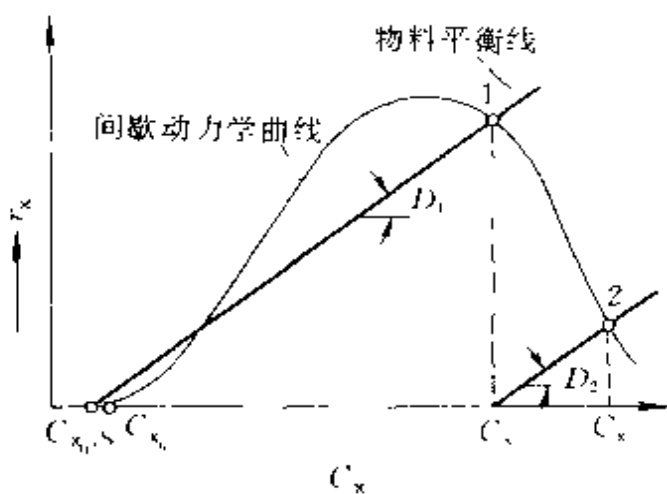


图 5-18 图解法求多级 CSTR 串联的各参数

对第一级 CSTR, 图中以 C_{x_1} 为起点, 按方程 (5-170) 作所对应的直线, 其斜率为 $D = \mu_1$, 该直线与动力学曲线交点 1 的横坐标, 为 $N=1$ 时反应器内细胞浓度 C_{x_1} 。曲线与该直线在下部有一交点代表一个不稳定操作点。同样对 $N=2, 3$ 也可作出相应直线, 每条直线均以串联反应器中前级反应器的浓度为起点, 以 D 为直线斜率。

根据图 5-18, 若已知反应器个数 N 和稀释率 D , 则可通过上述作图法求出每一级出口的组成。如果已知反应器个数 N 和要求的最终细胞浓度 (基质浓度), 则可通过试差法决定 D 值, 如果已知 D 和最终 C_{x_N} 值, 亦可决定 N 值。

需要指出的是, 前面讨论的稀释率都假定为

$$D = \frac{V}{V_{R_1}}$$

式中 V —— 加料速率;

V_{R_1} —— 任一个 CSTR 的有效体积, 并且一般假定每个 CSTR 的体积是相等的, 因此 D 亦相同。

图 5-18 中作的各条直线斜率相等。如果各级 CSTR 体积不等, 则各反应器 D 不同, 各直线斜率将不相等。

根据图 5-17 可以看出, 对两级 CSTR 相串联时, 存在有 $DC_{x_2} < DC_{x_1}$, 从这个意义上讲, 对串联 CSTR, 其细胞产率是很难实现优化设计的。但又很明显存在着 $C_{S_2} < C_{S_1}$, 串联可以使反应基质利用率进一步提高。但是级数再增加到三级或四级, 所得到的结果与图 5-17 中 C_{x_2} 、 C_{S_2} 相差不大, 因此对提高细胞产量来说采用更多的 CSTR 串联意义不是很大, 但可以提高细胞的质量。

【例 5.4】 已知某一细胞反应, 其细胞生长符合 Monod 动力学模型, 其 $\mu_{\max} = 0.5 \text{ h}^{-1}$, $K_s = 2 \text{ g/L}$, $C_{S_0} = 50 \text{ g/L}$, $Y_{x/s} = 1$, 试问:

(1) 在单一 CSTR 进行反应, 稳态下操作且无细胞死亡, 欲达到最大的细胞生产率, 其最佳稀释率是多少?

(2) 采用同样大小 N 个 CSTR 相串联, 其 D 值相同, 若要求最终反应基质浓度降至 1 g/L , 试求 N 应为多少?

$$\begin{aligned} \text{解 (1) 根据 } D_{\text{opt}} &= \mu_{\max} \left[1 - \sqrt{\frac{K_s}{K_s + C_{S_0}}} \right] \\ &= 0.5 \left[1 - \sqrt{\frac{2}{2 + 50}} \right] = 0.402 \text{ h}^{-1} \end{aligned}$$

(2) 对第一个反应器, 其出口浓度分别为

$$C_{S_1} = \frac{K_S D_{opt}}{\mu_{max} - D_{opt}} = \frac{2 \times 0.402}{0.5 - 0.402} = 8.2 \text{ g/L}$$

$$C_{x_1} = Y_{x,s}(C_{S_0} - C_{S_1}) = 1 \times (50 - 8.2) = 41.8 \text{ g/L}$$

将 C_{S_1} 、 C_{x_1} 代入下式：

$$C_{S_2} = C_{S_1} - \frac{1}{D} \frac{1}{Y_{x,s}} \mu_2 C_{x_1}$$

$$C_{x_2} = \frac{DC_{x_1}}{D - \mu_2}$$

因此

$$\begin{aligned} C_{S_2} &= C_{S_1} - \frac{1}{D} \frac{1}{Y_{x,s}} \mu_2 \frac{DC_{x_1}}{D - \mu_2} \\ &= 8.2 - 2.48 \mu_2 \frac{0.402 \times 41.8}{0.402 - \mu_2} \end{aligned}$$

又因为

$$\mu_2 = \mu_{max} \frac{C_{S_2}}{K_S + C_{S_2}} = \frac{0.5 C_{S_2}}{2 + C_{S_2}}$$

所以经整理得到

$$C_{S_2}^2 - 228.7 C_{S_2} + 67.1 = 0$$

解之

$$C_{S_2} = 0.3 \text{ g/L}$$

故采用 $N=2$ ，即两个等体积 CSTR 串联能满足本题要求。并求得

$$\mu_2 = 0.065 \text{ h}^{-1}$$

$$C_{x_2} = 49.7 \text{ g/L}$$

5.4 连续操作的管式反应器 (CPFR)

5.4.1 CPFR 的基本设计式

理想的 CPFR 是假设流体在一细长的空管中，以平稳、等速、不受干扰的方式向前流动，其流动模型符合活塞流流动模型的基本假设。这些基本假设是，通过反应器的微元体沿同一方向以相同的速度向前移动；在微元体的流动方向上不存在“返混”现象；所有微元体在反应器中的停留时间都是相同的；与流体流动方向相垂直截面上物料的组成均一且不随时间变化。

根据上述假设，由于活塞流管式反应器内的参数均不随时间变化，

但却沿着管式反应器的轴向位置而变，因此只能取一微分体积做其物料衡算。

在等温条件下，其组成沿物料流动方向而变化。现取长度为 dL 、体积为 dV_R 的任一微元体积做物料衡算，如图 5-19。

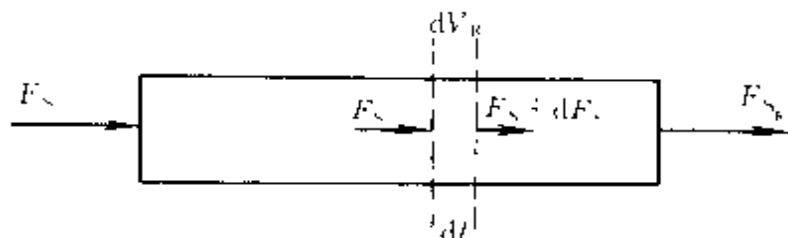


图 5-19 活塞流管式反应器物料衡算示意图

稳态下，对反应组分做衡算

输入量 = 输出量 + 反应量

$$F_S = F_S + dF_S + dV_R r_S \quad (5-171)$$

故有
$$-dF_S = dV_R r_S$$

又因为
$$F_S = F_{S_0} (1 - X_S), dF_S = -F_{S_0} dX_S$$

因此
$$F_{S_0} dX_S = dV_R r_S \quad (5-172)$$

对整个反应器积分，可得

$$V_R = F_{S_0} \int_0^{X_S} \frac{dX_S}{r_S} \quad (5-173)$$

又因为 $F_{S_0} = V_0 C_{S_0}$, $\tau_P = V_R / V_0$

式 (5-173) 又可表示为

$$\tau_P = C_{S_0} \int_0^{X_S} \frac{dX_S}{r_S} = \int_{C_S}^{C_{S_0}} \frac{dC_S}{r_S} \quad (5-174)$$

上述各式中， F_{S_0} 、 V_0 、 C_{S_0} 为单位时间输入反应器组分 S 的质量 (mol/s)、体积 (L/S) 和其浓度 (mol/L)； C_S 、 X_S 为反应器出口处组分 S 的浓度和其转化率； V_R 为反应器体积 (L)； τ_P 为 CPFRR 的空时 (s)。

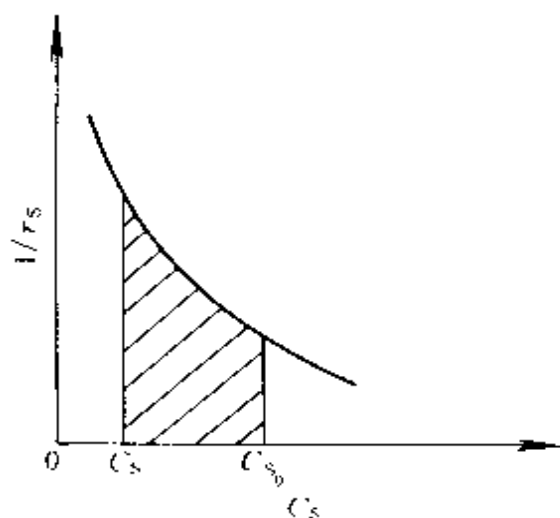


图 5-20 活塞流反应器的图解示意图

(5-174) 式为活塞流管式反应器的基础设计式, 若动力学简单, 上式可直接积分; 动力学复杂, 则可用图解积分, 如图 5-20 所示。

接近于活塞流的反应器是管式反应器, 它与传统的搅拌槽式反应器相比, 有许多优点。例如, 具有较高的产率; 较好的传热传质性能; 容易实现优化控制——程序控温、多点加料等。因此管式反应器可用于特殊的生化过程, 例如对剪切敏感的组织培养过程、废水处理过程、固定化酶和固定化细胞的反应过程, 以及要求严格控制反应时间的生化过程, 例如灭菌和食品高温消毒等。

5.4.2 酶催化反应时的 CPFR

对单底物, 无抑制的 M-M 方程, 代入式 (5-174) 中, 积分可得

$$r_{\max} \tau_P = (C_{S_0} - C_S) + K_m \ln \frac{C_{S_0}}{C_S} \quad (5-175)$$

或

$$r_{\max} \tau_P = C_{S_0} X_S + K_m \ln \frac{1}{1 - X_S} \quad (5-176)$$

从上述两式可以看出, 该关系式与 BSTR 反应器的关系式相似, 只需将 τ_P 取代 t_r 即可。

当底物有抑制时, 可通过积分得到

$$r_{\max} \tau_P = C_{S_0} X_S + K_m \ln \frac{1}{1 - X_S} + \frac{C_{S_0}^2}{2K_{SI}} (2X_S - X_S^2) \quad (5-177)$$

当为竞争性产物抑制时

$$r_{\max} \tau_P = C_{S_0} X_S \left(1 - \frac{K_m}{K_P} \right) + K_m \left(1 + \frac{C_{S_0}}{K_P} \right) \ln \frac{1}{1 - X_S} \quad (5-178)$$

当为非竞争产物抑制时

$$r_{\max} \tau_P = C_{S_0} X_S \left(1 + \frac{C_{S_0}}{K_P} - \frac{K_m}{K_P} \right) - C_{S_0}^2 \frac{(2 - X_S) X_S}{2K_P} + \left(1 + \frac{C_{S_0}}{K_P} \right) K_m \ln \frac{1}{1 - X_S} \quad (5-179)$$

若为固定化酶催化反应, 定义 $\tau_P = \frac{V_R}{V_0}$, ϵ_L 为反应器中液相占有体积分率, 则其关系式为

$$\tau_P = - \frac{1}{1 - \epsilon_L} \int_{C_{S_0}}^{C_S} \frac{dC_S}{\eta r_S} \quad (5-180)$$

如果为动力学控制, $\eta=1$, 反应符合 M-M 方程, 则上式可积分为

$$r_{\max}(1-\epsilon_L)\tau_P = C_{S_0}X_S + K_m \ln \frac{1}{1-X_S} \quad (5-181)$$

如果 $C_{S_0} \ll K_m$, 反应可按一级不可逆反应处理, 固定化酶为球形, 则式 (5-180) 可积分为:

$$r_{\max}(1-\epsilon_L)\tau_P = \frac{K_m \ln \frac{1}{1-X_S}}{\frac{1}{\phi} \left[\frac{1}{\tanh(3\phi)} - \frac{1}{3\phi} \right]} \quad (5-182)$$

若固定化酶为片状, 则有以下式:

$$r_{\max}(1-\epsilon_L)\tau_P = \frac{K_m \ln \frac{1}{1-X_S}}{\frac{\phi}{\tanh(\phi)}} \quad (5-183)$$

当采用固定化酶时, 上述管式反应器一般改称为固定床酶催化反应器。

【例 5.5】 在一系列管式固定床反应器中进行固定化酶催化反应, 假定物料在反应器内的流动为活塞流。固定化酶为球形颗粒, 直径为 0.5cm, 床层中液相体积分率为 0.5, 底物在催化剂微孔内的有效扩散系数 $D_e = 1.5 \times 10^{-2} \text{cm}^2/\text{s}$, 该反应的本征动力学参数 $r_{\max} = 2.64 \text{mol}/(\text{L} \cdot \text{s})$, $K_m = 0.91 \text{mol}/\text{L}$, 已知其 $C_{S_0} \ll K_m$, 忽略外扩散的影响, 试求当反应器出口处底物的转化率为 0.7 时, 该底物在反应器中的反应时间为多少?

解 根据式 (5-180)

$$\tau_P = - \frac{1}{1-\epsilon_L} \int_{C_{S_0}}^{C_S} \frac{dC_S}{\eta r_S}$$

(1) 求有效因子 η 值。根据题意 $C_{S_0} \ll K_m$, 近似为一级反应处理。

$$\phi_1 = \frac{R}{3} \sqrt{\frac{r_{\max}/K_m}{D_e}} = \frac{0.5}{3 \times 2} \sqrt{\frac{2.64/0.91}{1.5 \times 10^{-2}}} = 1.16$$

$$\begin{aligned} \eta &= \frac{1}{\phi_1} \left[\frac{1}{\tanh(3\phi_1)} - \frac{1}{3\phi_1} \right] \\ &= \frac{1}{1.16} \left[\frac{1}{\tanh(3 \times 1.16)} - \frac{1}{3 \times 1.16} \right] = 0.62 \end{aligned}$$

(2) 求物料停留时间。因为 $C_{S_0} \ll K_m$ ，故 $r_s = \frac{r_{\max}}{K_m} C_{S_0}$ 。

$$\begin{aligned} \tau_p &= \frac{1}{1 - \epsilon_L} \int_{C_{S_0}}^{C_S} \frac{dC_S}{\eta r_s} = \frac{1}{(1 - \epsilon_L)} \times \frac{K_m}{\eta r_{\max}} \int_{C_{S_0}}^{C_S} \frac{dC_S}{C_S} \\ &= \frac{-K_m}{(1 - \epsilon_L) \eta r_{\max}} \int_0^{X_S} \frac{-dX_S}{1 - X_S} = \frac{-K_m}{(1 - \epsilon_L) \eta r_{\max}} \ln(1 - X_S) \end{aligned}$$

将已知数据代入 $\tau_p = 1.34\text{s}$

5.4.3 带有循环的 CPFR

由于 CPFR 具有轴向上无返混的特点，因此在进行细胞反应时，必须向反应器中不断地进行接种，反应才能正常进行，否则，细胞将被洗出，细胞反应不能进行。因此对细胞反应，一般不单独使用 CPFR。

解决不断接种的方法有两种，一是 CPFR 加上循环；二是将 CSTR 与 CPFR 相组合。这里先讨论带有循环的 CPFR，至于 CSTR 与 CPFR 的组合将在 5.4.4 中讨论。

对 CPFR，使部分细胞从其出口循环到反应器入口，其目的是使 CPFR 中始终保持有细胞存在，因此一般可不必再增设一细胞提浓装置，而只要把 CPFR 出口含有细胞的物料的一部分循环到入口即可。具体物料流向见图 5-21。

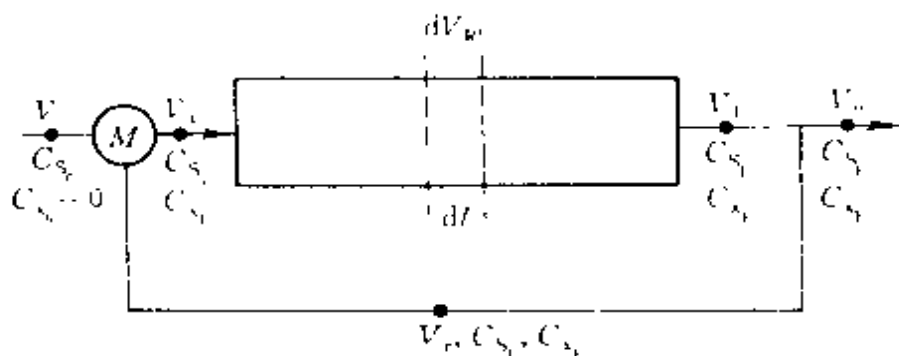


图 5-21 带循环 CPFR 物料关系图

对 CPFR，当无循环时，其设计式为

$$\tau_p = \frac{V_R}{V_0} = \int_{C_{S_0}}^{C_S} \frac{dC_S}{r_s} = \int_{C_{S_0}}^{C_S} \frac{Y_{x/s}(K_s + C_s)}{\mu_{\max} C_s C_x} dC_S \quad (5-184)$$

当有循环时，循环物料是通过一辅助管线而循环回到反应器入口，反应器内流体流动仍为活塞流，因此上述设计关系式仍适用。需要变

更的是，反应器所处理的物料的体积流量和反应器的入口处物料浓度。

仍定义一循环比 $R = V_r/V_0$ ，则反应器入口处物料处理量为

$$V_1 = V_0 + V_r = V_0(1 + R) \quad (5-185)$$

反应器入口处的浓度可通过做 M 点物料平衡求出

$$V_0 C_{s_0} + R V_0 C_{s_f} = V_1 C_{s_1} = V_0(1 + R) C_{s_1} \quad (5-186)$$

故
$$C_{s_1} = \frac{C_{s_0} + R C_{s_f}}{1 + R} \quad (5-187)$$

和
$$X_{s_1} = \frac{X_{s_0} + R X_{s_f}}{1 + R} \quad (5-188)$$

当 $X_{s_0} = 0$ 时
$$X_{s_1} = \frac{R}{1 + R} X_{s_f} \quad (5-189)$$

将上述结果代入式 (5-174) 中，得到

$$\tau_P = \frac{V_R}{V_0} = (1 + R) \int_{C_{s_f}}^{\frac{C_{s_0} + R C_{s_f}}{1 + R}} \frac{dC_s}{r_s} \quad (5-190)$$

和
$$\tau_P = C_{s_0}(1 + R) \int_{\frac{R}{1 + R} X_{s_f}}^{X_{s_f}} \frac{dX_s}{r_s} \quad (5-191)$$

根据
$$r_s = \frac{1}{Y_{x/s}} r_x = \frac{1}{Y_{x/s}} \frac{\mu_{\max} C_s}{K_s + C_s} C_x \quad (5-192)$$

$$C_x = C_{x_0} + Y_{x/s}(C_{s_0} - C_s) \quad (5-193)$$

若 $C_{x_0} = 0$ ，则可对式 (5-190) 积分，并求得

$$\mu_{\max} \tau_P = (1 + R) \left[\frac{K_s}{C_{s_0}} \ln \frac{C_{s_0} + R C_{s_f}}{R C_{s_f}} + \ln \frac{1 + R}{R} \right] \quad (5-194)$$

此式为 $C_{x_0} = 0$ 时的总循环方程式，根据此方程， τ_P 、 R 、 C_{s_f} 三个变量中只要已知其中两个，就可确定第三个。

对带循环的 CPFR，可通过改变循环比，以使过程优化。例如，若使细胞的产量为最大，可

令
$$\frac{dC_x}{dR} = 0 \quad (5-195)$$

得到
$$\frac{K_s}{C_{s_0}} \ln \frac{C_{s_0} + R C_{s_f}}{R C_{s_f}} + \ln \frac{1 + R}{R} = \frac{1 + R}{R} \frac{K_s}{C_{s_0} + R C_{s_f}} + \frac{1}{R} \quad (5-196)$$

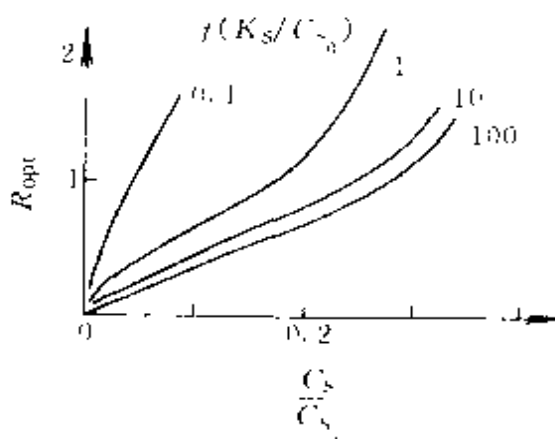


图 5-22 最佳循环比与 $\frac{K_s}{C_{s_0}}$ 和 $\frac{C_s}{C_{s_0}}$ 的关系

解法进行。如图 5-23 所示。

最佳 R 值为 K_s/C_{s_0} 和 C_s/C_{s_0} 的函数，用试差法求解式 (5-196)，可表示为图 5-22。

从该图可以看出，随着 K_s/C_{s_0} 的减小和 C_s/C_{s_0} 的增大，使 R_{opt} 值相应增大。

对一般酶催化反应，其优化的目的是在底物达到规定转化率 X_s 值时，选择某一最佳循环比，使所需反应器体积为最小。对此，可采用图

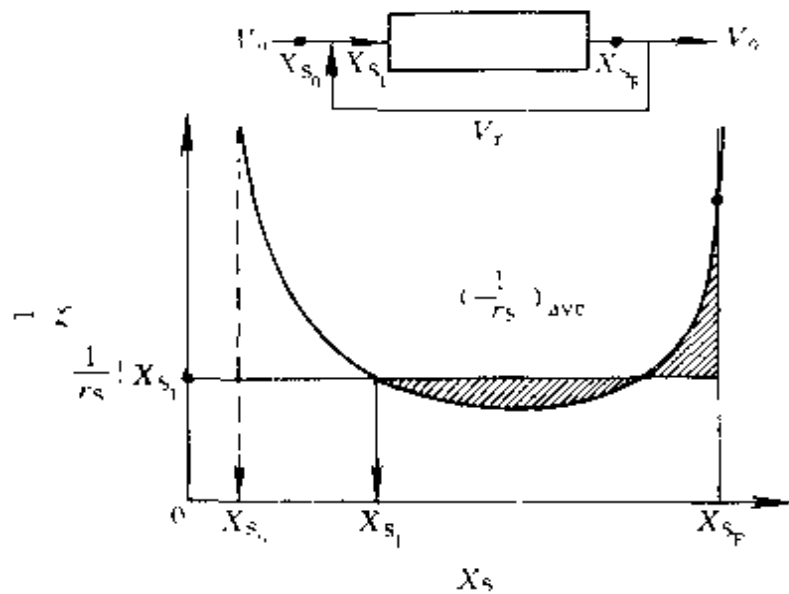


图 5-23 最佳循环比的确定

确定最佳循环比的原则是使反应器入口处物料反应速率的倒数等于物料在反应器内速率倒数的平均值。以数学形式表示为

$$\frac{1}{r_s} \Big|_{X_{s_1}} = \frac{\int_{X_{s_1}}^{X_{s_f}} \frac{dX_s}{r_s}}{X_{s_f} - X_{s_1}} \quad (5-197)$$

对在 CPFRR 中进行细胞反应，若采用循环已浓缩过的细胞来操作，会使 CPFRR 的操作性能有所改善，即 D_c 值可增大，图 5-24 表示

了这一点。

从图中可以看出，当循环比 R 和细胞提浓系数 β 增加，其临界稀释率 D_c 亦在提高。

如果采用固定化细胞为催化剂，则反应器又可采用固定床、流化床和气升式等各种类型。图 5-25 表示的为固定床和流化床式固定化细胞反应器。

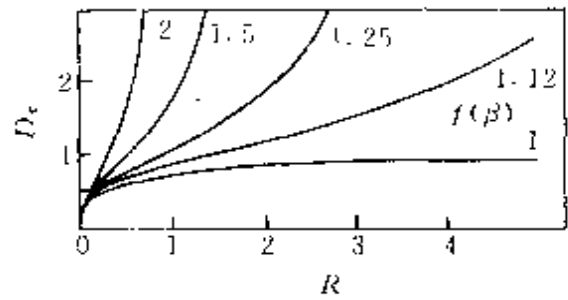


图 5-24 带循环的 CPFPR 中
细胞浓度对 D_c 的影响
 β 细胞提浓系数

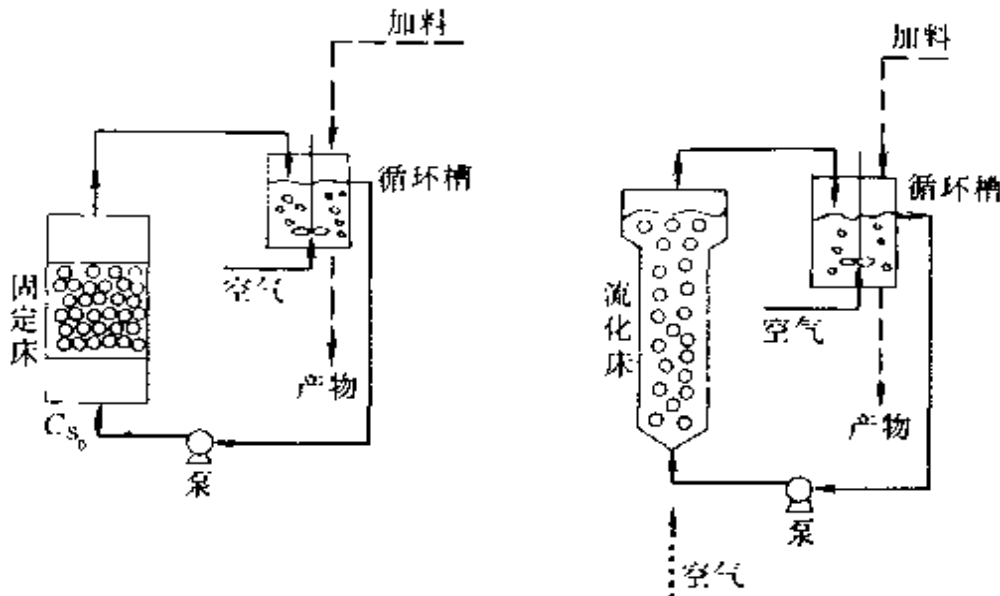


图 5-25 具有固定化细胞的固定床和流化床反应器

对某些反应体系，如固定化细胞体系要求很高的物料循环以维持反应器内均匀条件，则其操作模型接近于 CSTR；而对另外一些体系，要求其不循环或循环量很少，则可处理为 CPFPR 模型。如果按 CPFPR 模型处理，做某一基质物料平衡：

$$-FdC_{s_0} = N_{sa}AdZ \quad (5-198)$$

式中 C_{s_0} ——液相本体浓度，并且是床层高度的函数， mg/cm^3 ；

F ——液体培养基流量， cm^3/h ；

N_s ——基质进入生物膜通量， $\text{mg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{h})$ ；

a 单位反应器体积具有的生物膜或载体颗粒表面积, cm^2/cm^3 ;

A ——床层模截面积, cm^2 ;

dZ ——床层微分单元高度, cm 。

因为

$$N_s = -D_e \left. \frac{dC_s}{dy} \right|_{y=L} = \eta \left[\frac{r_{\max} C_{S_0}}{K_s + C_{S_0}} \right] L \quad (5-199)$$

所以

$$-F \frac{dC_{S_0}}{dZ} = \eta \frac{r_{\max} C_{S_0}}{K_s + C_{S_0}} LaA \quad (5-200)$$

$$K_s \ln \frac{C_{S_{0r}}}{C_{S_0}} + (C_{S_{0r}} - C_{S_0}) = \frac{\eta r_{\max} LaA}{F} H \quad (5-201)$$

式中 $C_{S_{0r}}$ 进口处基质的主体浓度;

L ——生物膜或载体颗粒特征长度 ($L = V_p/A_p$);

H ——床层总高度。

如果进料中基质浓度太低, 则基质消耗速率为一级动力学, 则可得下式:

$$\ln \frac{C_{S_0}}{C_{S_{0r}}} = -\frac{\eta r_{\max} LaA}{FK_s} H \quad (5-202)$$

此时基质浓度沿着床层高度呈指数下降。上述方程可用于设计固定化细胞反应器, 以决定达到某一基质转化水平时所需要的床层高度。

5.4.4 CPFR 与 CSTR 的性能比较

本章中所讨论的生化反应器的浓度-时间 ($C-t$)、浓度-空间 ($C-Z$) 分布曲线如图 5-26 所示。

从该图可以看到, 对间歇操作的搅拌槽式反应器 (BSTR) 虽具有理想的最大混合状态, 在反应器空间上没有浓度分布, 但因反应过程与时间有关, 因而有浓度-时间分布。并且所有反应物料随着反应时间变化的经历都相同, 具有相同的反应时间。

半连续半间歇操作的搅拌槽式反应器 (SCSTR) 的空间-浓度分布与 BSTR 相同, 具有均一化特点, 其时间-浓度分布比较复杂, 下一节

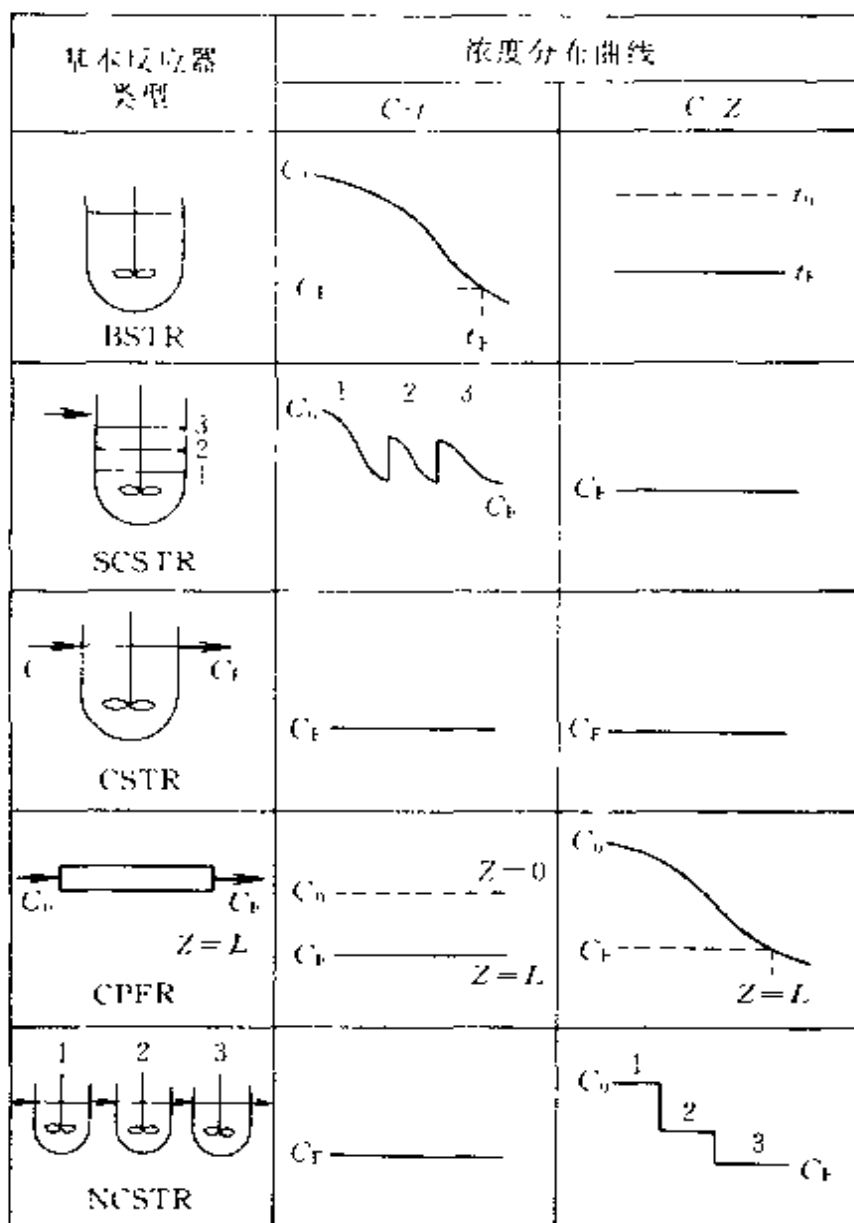


图 5-26 基本反应器的浓度分布图

中将予以详细讨论。

连续操作的搅拌槽式反应器(CSTR),其空间-浓度和时间-浓度分布均是单一值,并且反应器出口浓度与反应器内的浓度相同。又由于反应器内各微元体具有最大程度的返混,因而造成各微元体存在着不同的停留时间。

连续操作的活塞流反应器(CPFR),在空间-浓度分布上沿着反应器的轴向有一浓度分布,但空间上任一点的浓度却不随时间而变,并且由于在此反应器内,轴向返混程度为零,因此所有微元体在反应器

内的停留时间均相同。对一恒容过程，CPFR 的浓度-空间曲线与 BSTR 的浓度-时间曲线相当，有着相同的变化历程，这一点，对掌握 BSTR 与 CPFR 的共同特性是非常重要的。

对多个 CSTR 相串联体系 (NCSTR)，每一级反应器的操作方式、浓度-空间曲线和浓度-时间曲线均与 CSTR 相同，但整个串联系统的浓度-空间曲线呈现典型的阶跃变化，当串联反应器较多时，其浓度-空间曲线接近于 CPFR 的分布曲线。

根据上述分析，可以看出：CSTR 和 CPFR 是理想流动生化反应器的两个典型代表。对 CSTR，反应器内反应组分浓度均一，且等于出口值，返混程度最大；对 CPFR，反应组分（例如基质）沿着轴向由高到低逐渐下降，且返混不存在。这两种极端不同的特性，是优是劣，与反应器中所进行的反应本身的动力学特点密切相关，下面根据不同反应的动力学特点对 CSTR 与 CPFR 进行深入的比较。

(1) 酶催化反应过程。首先以单底物、无抑制的均相酶催化反应为例，根据前面已得出的基本关系式 (5-61) 和式 (5-176)，对同一反应体系，在相同的反应条件下达到相同的转化率时，CSTR 与 CPFR 两者所需反应器的体积之比为

$$\frac{V_{R,CSTR}}{V_{R,CPFR}} = \frac{X_s + \frac{K_m}{C_{s_0}} \left(\frac{X_s}{1-X_s} \right)}{X_s + \frac{K_m}{C_{s_0}} \ln \frac{1}{1-X_s}} \quad (5-203)$$

以 K_m/C_{s_0} 为参数，以 $\frac{V_{R,CSTR}}{V_{R,CPFR}} - C_{xs}$ 对应作图，得到如图 5-27 所示的结果。从图中可以看出，对 M-M 方程可得出下述结果。

① 达到同一转化率时，CSTR 所需体积要比 CPFR 所需体积大，或需要更多的酶。并且转化率愈高，两者比值愈大，这表明，转化率愈高，返混对反应影响程度愈大。

② 随着 K_m/C_{s_0} 值从零到无穷大，反应速率与反应物浓度的关系由零级升为一级，两种反应器之体积比随之增大，这表明，随着反应级数提高，返混的影响程度亦在增大。

对底物有抑制的酶催化反应，由于在 CPFR 中维持了比 CSTR 中

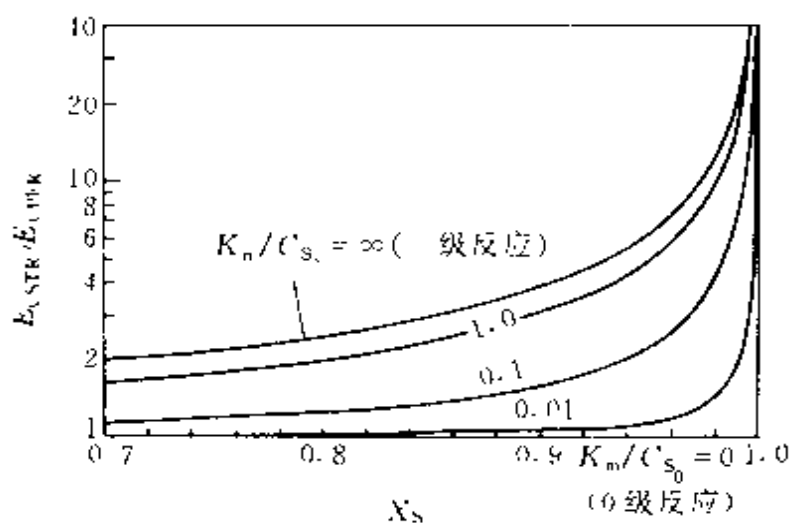


图 5-27 V 一定时 CSTR 和 CPFK 为达到相同转化率 X_s 所需酶总量之比与 X_s 的关系

更高的底物浓度，因而在 CPFK 中底物的抑制作用更加强烈，此时显然采用 CSTR 更为有利。

如果为产物抑制的酶催化反应，由于在 CSTR 中维持了比 CPFK 中较高的产物浓度，因而在 CSTR 中产物的抑制作用更加明显，此时显然采用 CPFK 更为有利。

(2) 细胞反应过程。以最基本的单基质无抑制的动力学为例。

$$r_x = \mu C_x = \mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s} C_x \quad (5-204)$$

$$r_s = \frac{1}{Y_{x/s}} \mu C_x = \frac{1}{Y_{x/s}} \mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s} C_x \quad (5-205)$$

若列入
$$Y_{x/s} = \frac{C_x - C_{x_0}}{C_{S_0} - C_s}$$

则有
$$C_s = C_{S_0} - \frac{1}{Y_{x/s}} C_x + \frac{1}{Y_{x/s}} C_{x_0} \quad (5-206)$$

$$C_x = C_{x_0} + Y_{x/s} (C_{S_0} - C_s) \quad (5-207)$$

当 $C_{x_0} = 0$ ，将上述两式代入式 (5-204) 和式 (5-205) 中，可得到

$$r_x = \frac{\mu_{\max} \left(C_{S_0} - \frac{1}{Y_{x/s}} C_x \right)}{K_s + C_{S_0} - \frac{1}{Y_{x/s}} C_x} C_x \quad (5-208)$$

$$r_s = \frac{\mu_{m,s} C_s}{K_s + C_s} (C_s - C_x) \quad (5-209)$$

根据式 (5-208), 当 C_x 值较小时, 提高 C_x 值, r_x 增大; 当 C_x 值较高时, 提高 C_x 值, r_x 减小, 因此 r_x-C_x 为一有最大值的曲线关系。

同样根据式 (5-209), r_s-C_s 的关系曲线亦为一有最大值的曲线。

式 (5-208) 和式 (5-209) 分别以 $\frac{1}{r_x}-C_x$ 或 $\frac{1}{r_s}-C_s$ 表示成图 5-28 的形式。曲线的最低点实为速率最大值, 相对应横轴点为最佳细胞浓度 $C_{x,opt}$ 和最佳基质浓度 $C_{s,opt}$ 。

根据图 5-28, 定性比较 CSTR 与 CPFR 的特性。

对单级 CSTR, 其设计关系式, 可以表示为

$$\begin{aligned} \tau_m &= \frac{V_R}{V_0} = \frac{C_{s_0} - C_s}{r_s} \\ &= \frac{C_x - C_{x_0}}{r_x} \quad (5-210) \end{aligned}$$

在图 5-28 中可以看出, 当 $C_x = C_{x_1}$ 时, 图中矩形 $abdc$ 的面积即为其 τ_m 值; 当 $C_x = C_{x_2}$ 时, 图中矩形 $a''b''dc''$ 的面积为其 τ_m 值; 当 $C_x = C_{x,opt}$ 时, 图中矩形 $a'b'dc'$ 的面积为其 τ_m 值; 显然, 若反应器内

细胞浓度能控制在 $C_{x,opt}$ 下操作, 则所属 CSTR 反应器的体积为最小:

对 CPFR 其设计关系式可以表示为:

$$\tau_p = \frac{V_0}{V_R} = \int_{C_{x_0}}^{C_x} \frac{dC_x}{r_x} \quad (5-211)$$

当 $C_x = C_{x_1}$ 时, $aedc$ 所包围的面积即为所求 τ_p 值; 当 $C_x = C_{x_2}$ 时, $a''edc''$ 所包围的面积即为所求 τ_p 值; 当 $C_x = C_{x,opt}$ 值, $a'edc'$ 所包围的面积即为所求 τ_p 值。

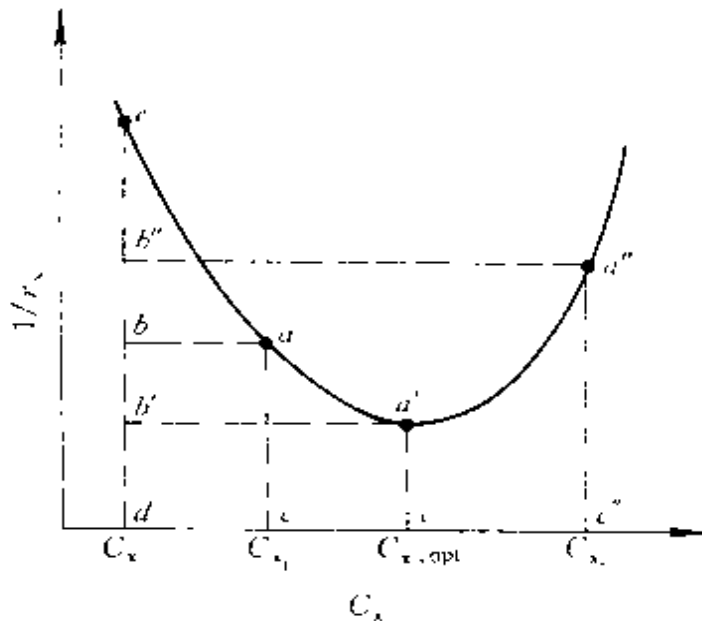


图 5-28 图解法确定反应器体积示意图

从其面积大小可定性的看出：

当 $C_x \leq C_{x,opt}$ 时， $\tau_p > \tau_m$ ；

当 $C_x > C_{x,opt}$ 时，很有可能出现 $\tau_p < \tau_m$ 。

根据上述分析，对细胞反应的最基本动力学，若以所需反应器体积最小做为优化目标来考虑，当 $C_x \leq C_{x,opt}$ 时，采用 CSTR 有利，当 $C_x > C_{x,opt}$ 时，采用 CSTR 与 CPFR 相串联可使所需总反应器体积为最小，如图 5-29 所示。

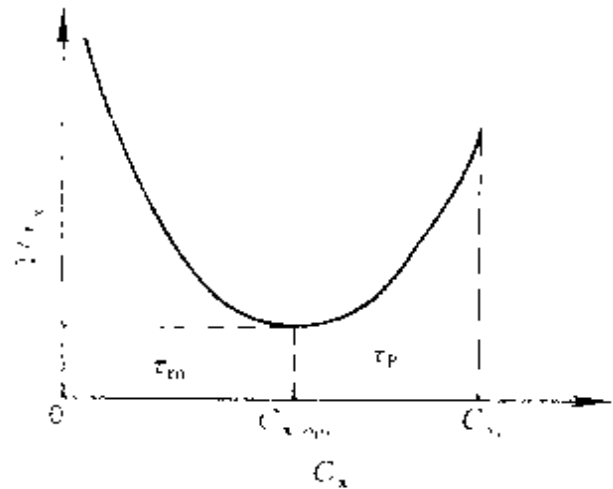


图 5-29 CSTR 与 CPFR 组合时确定反应器体积示意图

根据该图，可采用 CSTR 在前、CPFR 在后相互串联的反应器组合方式。CSTR 维持在最大速率下操作，反应器内细胞浓度为 $C_{x,opt}$ ，同时为 CPFR 连续稳定地提供细胞。从使所需反应器体积为最小的目标来说，对细胞反应，此种组合方式为最佳组合方案之一。

如果由于某种原因，一定要采用 CPFR 操作，则可通过采用不同的加料、出料方式以改善 CPFR 的性能，亦可达到提高速率、减少所需反应器体积的目的。如图 5-30 所示。

其中 (a) 图表示的是无抑制情况，为了保证 CPFR 正常连续操作，使细胞循环回到反应器入口。并可提高细胞生长速率。

(b) 图表示的是基质对细胞生长有抑制的情况，为了减少基质抑制，沿 CPFR 轴向位置实施多点加料，以使反应器维持在尽可能低的基质浓度，以减少其抑制作用。

(c) 图为反应产物有抑制时的情况，为了减少产物抑制，应及时将反应产物排出反应器以外，降低反应器中产物浓度。

(d) 图为基质和产物均对细胞生长有抑制时的情况，故沿反应器轴向实施多点加入基质和多点排出产物的措施以减少其抑制作用。

根据上述对种种反应情况的分析，如果仍以达到某一反应程度（例如转化率 X_s ）时所需反应器有效体积大小做为比较的标准，对各种

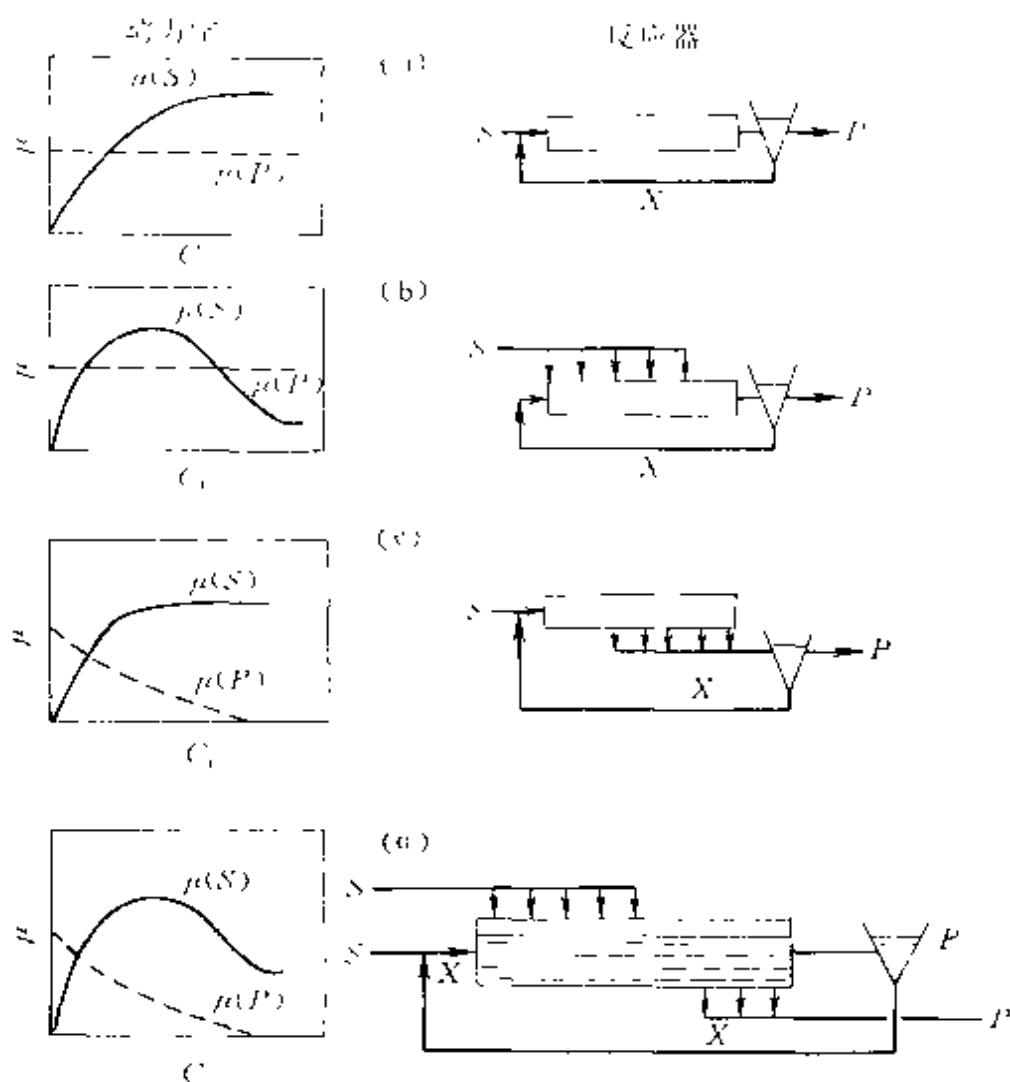


图 5-30 不同动力学时 CPFR 的最佳加料方式

反应动力学可归纳为三种情况。

第一种动力学是浓度与速率的关系为单调上升的关系，即随着反应组分浓度的增加，反应速率亦增加，浓度下降，速率亦下降，这是简单酶催化反应和很多化学反应的动力学特点，对此种反应动力学采用 CPFR 有利。

第二种动力学是反应组分浓度与速率系单调下降的关系，即随着组分浓度的升高，反应速率在下降。这种情况比较少见，它仅出现在化学反应动力学中反应级数为负值的情况。对此种动力学采用 CSTR 有利于减少所需要的体积。

第三种动力学即为随着浓度的变化反应速率有最大值的情况，一

般出现在细胞反应过程、自催化反应过程。此时采用 CSTR 与 CPFR 相串联的形式有利于减少反应器体积。

上述三种动力学情况分别表示在图 5-31 中的曲线 1、2、3。

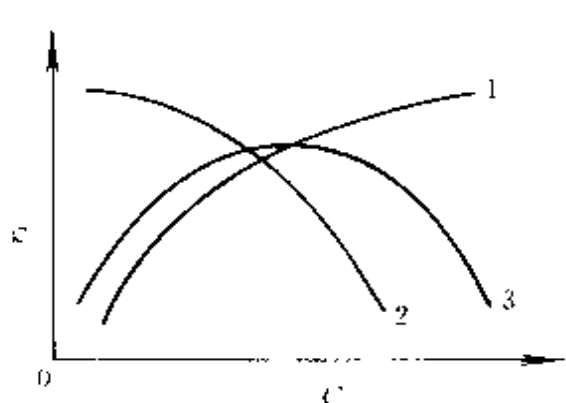


图 5-31 不同的 r, C 的动力学关系

- 1 速率与浓度单调上升；2 速率与浓度单调下降；3—速率与浓度有最大值

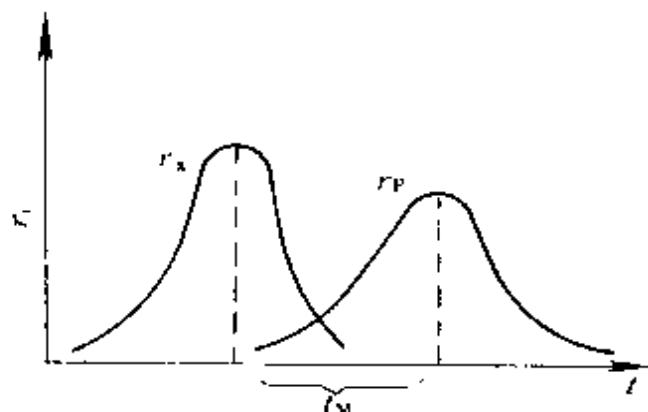


图 5-32 根据速率与时间关系估算 t_M 值

需要特别指出的是，上述讨论仅仅是从如何使反应速率为最大、所需反应器为最小的角度来考虑反应器的选择。而实际上选用何种反应器除了要考虑上述因素外，还要考虑到一些其他因素。例如，在细胞反应中，某些次级代谢产物的生成速率 r_P 达到最大值时所需要的时间要比细胞生长速率达到最大值时延迟某一时间 t_M （见图 5-32），如果为了追求最大的 r_P 值，在连续操作的反应器中则必须保持 $t = t_M$ 的条件，即细胞在反应器中的平均停留时间必须等于细胞的成熟时间 t_M 。对 CSTR，由于返混的作用，将使一部分细胞在反应器中停留时间要小于 t_M ，因而这一部分细胞对生产代谢产物没有作出贡献，而只有另外一部分细胞由于其 $t \geq t_M$ 才能生成代谢产物。而对 CPFR，由于无返混存在，所有细胞在反应器的停留时间皆可控制在 $t = t_M$ 的水平上，可使代谢产物的产率达到最好的结果。还有一些次级代谢产物，如青霉素，在反应器停留时间过长会分解，CSTR 中由于有一部分可能 $t > t_M$ ，易分解，而 CPFR 则易控制为 t_M ，代谢产物不易分解。

综上所述，要选择一适宜的反应器型式和操作方式需要综合考虑多方面因素，才能做出客观的选择。

5.5 半间歇半连续操作的生化反应器

半间歇半连续操作反应器是指在反应进行的过程中，或是反应物连续加入，而产物则一次性排出的过程；或是反应物一次加入，而产物则连续不断排出的过程。

从生化反应过程动力学的讨论我们已经知道，对很多的生化反应过程，常常涉及到基质的抑制和产物的抑制两个重要问题。为了解决上述两个问题，人们已提出了两个新型生化反应过程，即流加操作技术和反应分离耦合技术。前者是一典型的半间歇半连续操作式的生化反应器，后者不仅包括反应器，还包括分离设备，并且既可间歇操作，也可连续操作和半间歇半连续操作。也一并放在本节予以讨论。

5.5.1 流加操作反应器

流加操作反应器是指在进行生化反应过程中，仅按确定的某一种加料策略加入反应基质，而又不同时取出反应产物的一种生化反应器。对很多生化反应过程，实施流加操作，其目的—是可以减缓基质对细胞生长的抑制作用，二是可以实现细胞的高密度培养。这样既可提高反应器生产能力，也有利下游加工过程。因此，流加操作已广泛应用于生化反应过程，例如抗菌素、氨基酸、酶、维生素和单细胞蛋白的生产中已都采用流加操作反应器。

对流加操作反应器建立衡算模型时，应注意到该反应器在进行反应的过程中，反应器中物料体积是随时间变化的，组分的浓度也是随时间而变化的，因此衡算往往以总量变化来进行。常用的衡算模型为：

$$\frac{d(V_R C_x)}{dt} = \mu(V_R C_x) \quad (5-212)$$

$$\frac{d(V_R C_s)}{dt} = V C_{s_0} - q_s(V_R C_x) \quad (5-213)$$

$$\frac{d(V_R C_p)}{dt} = q_p(V_R C_x) - k_p(V_R C_x) \quad (5-214)$$

$$\frac{dV_R}{dt} = V \quad (5-215)$$

式中 C_x 、 C_s 、 C_p 细胞、基质和产物浓度；
 C_{s_0} 加料浓度；
 V_R 反应器物料体积；
 V 加料速率；
 μ 、 q_s 、 q_p 细胞、基质和产物相应的比速率；
 k_p 产物的降解速率常数。

对流加操作反应器，常采用的流加速率为恒速流加，指数流加和变速流加等。恒速流加时，限制性基质以恒定不变流速加入反应器，操作简单，其稀释率 $\left(\frac{V}{V_R}\right)$ 随时间而下降，在 D 下降过程中，仍基本上保持着 $\mu \approx D$ 的关系，因此称为拟稳态操作，指数流加系指加入基质速率随时间呈指数变化，例如可表示为：

$$V_t = V_0 \exp(\mu t) \quad (5-216)$$

采用指数流加显然是考虑到细胞生长特性——指数生长而提出的。

变速流加又称为延伸流加。其主要策略是控制限制性基质浓度在反应过程中保持恒定，即 $\frac{dC_s}{dt} = 0$ ，此时细胞总量为：

$$V_R C_x = V_{R_0} C_{x_0} \exp(\mu t) \quad (5-217)$$

$$\mu = f(C_{s_0})$$

式中 C_{s_0} 为要求控制的基质浓度。

采用变速流加显然也是考虑到要消除高基质浓度对细胞的抑制作用。

当采用恒速流加和指数流加时，可以按预先设定的规律加以控制，常称为无反馈控制；若实施变速流加，则必须实行反馈控制。通过检测反应过程中某些重要参数的变化，来确定相应的基质流加速度。

常用的检测参数有以下几个。

(1) 发酵液中基质的浓度。通过在线测定发酵液中限制性基质浓度的大小，及时调节该基质加入速率，既保证细胞生长对基质的需要，又控制发酵液中基质浓度不超过规定值，以减少抑制作用，但实现在线检测有时会遇到困难。

(2) 呼吸商 呼吸商 (RQ) 表示的是细胞生长过程中 CO_2 的生成速率 (CER) 与 O_2 的消耗速率 (OUR) 之比值, 即: $RQ = \frac{CER}{OUR}$

呼吸商反映了细胞内代谢机制的变化规律。例如以葡萄糖为基质的酵母发酵过程, 呼吸商大小与代谢途径有下述关系, 表示在表 5-1 中。

RQ 值	代谢途径特点
>1.0	EMP 途径, 生成乙醇
1.0	无乙醇生成
0.93	生成柠檬酸
0.8~0.7	内源代谢
0.6~0.7	以乙醇为基质

由于 CER 和 OUR 比较容易实现在线测量, 并且 RQ 又反映了反应代谢机理的变化, 它已成为采用较多的检测参数, 以做为控制流加速率的根据。

还有的直接以摄氧率 (OUR) 或 CO_2 生成速率 (CER) 做为控制

参数, 来调节流加速率。

随着优化技术的发展, 人们对流加操作的优化进行了大量研究。其中, H. C. Lim 等人的研究成果最具概括性, 现予以简要介绍。

首先将生化反应过程的动力学特性分为三类。

类型 I 细胞比生长速率与基质浓度为单调增加, 代谢产物比生成速率与基质浓度为非单调增加, 即出现最大值, 可简单表示为:

$\mu-C_s$ 单调增加;

q_p-C_s 非单调增加。

表示为图 5-33 中的 I 图。

这表明细胞生长不受基质抑制。

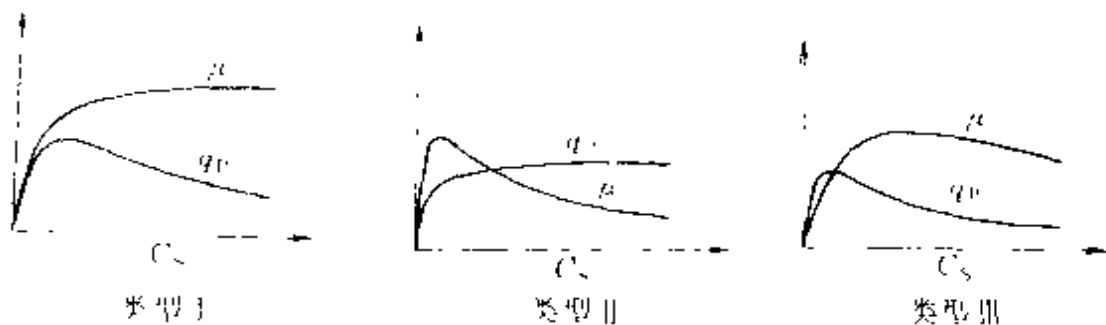


图 5-33 三种类型动力学曲线图

属于此类动力学特点的有青霉素和氨基酸的发酵过程。

类型Ⅱ $\mu-C_s$ 为非单调增加；

q_p-C_s 为单调增加。

表示为图 5-33 中的Ⅱ图。

这表明细胞生长受到 C_s 的抑制。

属于此类动力学特点的有谷氨酸和维生素 B_{12} 的发酵。

类型Ⅲ μ 和 q_p 与 C_s 的关系均为非单调增加，即都有一最大值，表示在图 5-33 中Ⅲ图。表明细胞生长和产物生成速率均受到 C_s 的抑制。属于此类动力学特点的有果糖生产和乙醇的发酵过程。

优化的目标函数可有三种：最大的代谢产物的生产率；最低生产成本和最短的反应操作时间。

该过程优化时所受到的约束条件为：

$$V_R(t_f) = V_{Rf}$$

和

$$0 = V_{\min} \leq V_t \leq V_{\max}$$

式中 t_f 反应终止的时间。

过程的初始条件，作者提出了四种，即 (A) C_{s_0} , C_{x_0} 均为低值；(B) C_{s_0} 值较高；(C) C_{s_0} 和 C_{x_0} 值均较适宜；(D) C_{s_0} 值低而 C_{x_0} 值高。

针对三类不同动力学，三种不同优化目标函数和四种不同初始条件，根据进行优化计算的数学方法，进行了处理。图 5-34 表示的就是根据第一种优化目标——最大代谢产物产率而求出的不同动力学、不同初始条件时最佳加料速率分布图。即 $V(t)-t$ 的关系曲线。

以对第Ⅰ类动力学各图为例加以说明。

先看 A 图。图中纵坐标为加料速率，最小值为 0（即为停止流加，此时可认为是间歇培养），最大值为 V_{\max} ，这是允许最大加料速率。图中横坐标为时间，其中 t_1 为停止流加时间； t_2 为奇异控制加料开始的时间； t_3 为反应器装料容积已达到规定要求的时间（亦为停止流加时间）； t_f 为反应终止的时间。

对 A 图，由于 C_{s_0} 值很低，而且 $\mu-C_s$ 之间又是单调上升的。因此为了使细胞生长处于最佳状态，因此开始时应采用加料速率为 V_{\max} 。当

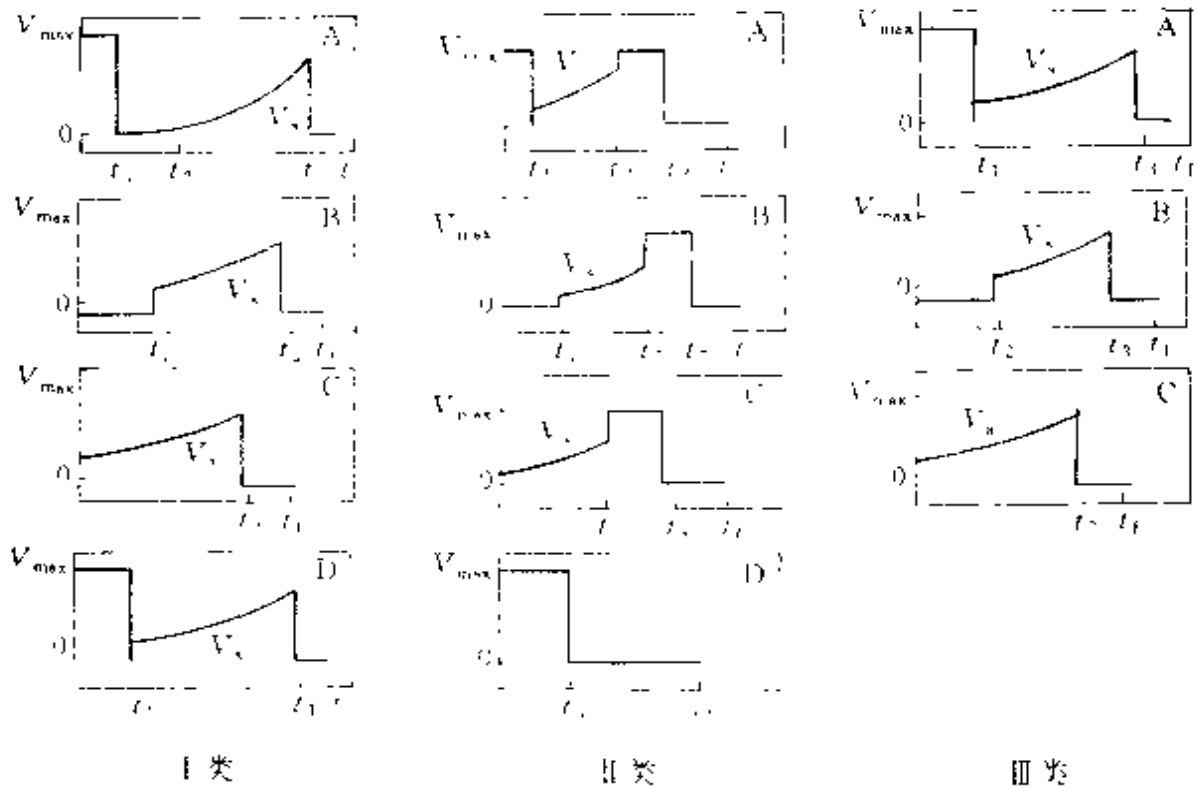


图 5-34 不同动力学不同初始条件时最佳加料速率分布图

由于细胞质量的增加优于产物生成速率时，加料可以停止，因为后者会受到 C_s 的抑制作用。此时时间为 t_1 。一直到 C_s 、 C_x 、 C_p 达到某一值时，即时间为 t_2 ，则奇异控制开始进料，并且一直到反应器达到规定的装料容积，则停止加料，此时时间为 t_3 。并一直进行间歇反应到最后，时间为 t_f （或固定最后时间 t_f ，或规定反应终结时基质浓度）。

同样，对 B 图，由于 C_{s_0} 值较高，则开始时应停止加料。对 C 图，由于 C_{s_0} 值较适宜，一开始采用奇异控制加料速率。对 D 图，则与 A 图相似。

从上面分析可以看出，最优加料速率分布变成了加料速率与时间 t 的关系。在 t_1 、 t_2 、 t_3 和 t_f 四个时间中， t_f 为反应终止的时间， t_3 为反应器达到规定装料要求的时间，因此 t_f 和 t_3 均易确定。而只有 t_1 和 t_2 是未知的，需要加以确定。

对于进行奇异控制时加料速率 V_s ，作者提出了包括状态向量 (C_{s_1} 、 C_{x_1} 和 C_{p_1}) 的方程式。

从加料速率的变化特点来看，上述优化的流加过程可由最大加料速率、最小加料速率（或称为间歇操作）、奇异加料速率（或称变化的

中间加料速率)和间歇操作四个阶段组成。其最佳排列取决于 μ 和 q_p 的特性和初始条件。

将这些研究结果用于青霉素和酵母发酵,得到了很好的效果,例如,青霉素的产率由优化加料前的 0.682g/h 提高到优化后的 0.952g/h ;酵母由优化前 0.51g/h 提高到 0.73g/h 。

【例 5.6】 以甘油为基质,采用恒流量流加操作方式培养泄殖腔肠杆菌,试根据下述数据求出菌体浓度和基质浓度随时间的变化关系。

$$\text{已知: } \mu = \frac{0.77C_s}{1.5 \times 10^{-2} + C_s} \text{h}^{-1}, Y_{x/s} = 0.57\text{g/g}, C_{x_0} = 0.90\text{g/L},$$

$$V_{C_{s_0}} = 9.20\text{g/h}, V_R \approx V_{R_0} = 2.84\text{L}$$

解 对菌体总量做衡算

$$\frac{d(V_R C_x)}{dt} = \mu(V_R C_x) \quad (\text{A})$$

即

$$2.84 \frac{dC_x}{dt} = 2.84 \mu C_x$$

$$C_x = C_{x_0} \exp(\mu t) \quad (\text{B})$$

对基质总量做衡算

$$\frac{d(V_R C_s)}{dt} = V C_{s_0} - \frac{1}{Y_{x/s}} \frac{d(V_R C_x)}{dt} \quad (\text{C})$$

$$2.84 \frac{dC_s}{dt} = 9.20 - \frac{1}{0.51} \times 2.84 \frac{dC_x}{dt}$$

$$\frac{dC_s}{dt} = 3.24 - 1.75 \frac{dC_x}{dt}$$

积分后并经整理,

$$C_s = 3.24t - 1.75(C_x - 0.90) \quad (\text{D})$$

用试差法求解。取 $t=1\text{h}$,假定 C_{s_1} ,由(D)式求出 C_{x_1} 值,再通过 C_{s_1} 求取 μ_1 值,再由(B)式求取 C_{x_1} 值,若计算的两个 C_{x_1} 值相同,则假定 C_{s_1} 正确,否则需重新假设 C_{s_1} ,继续进行计算。计算结果如图5B所示。

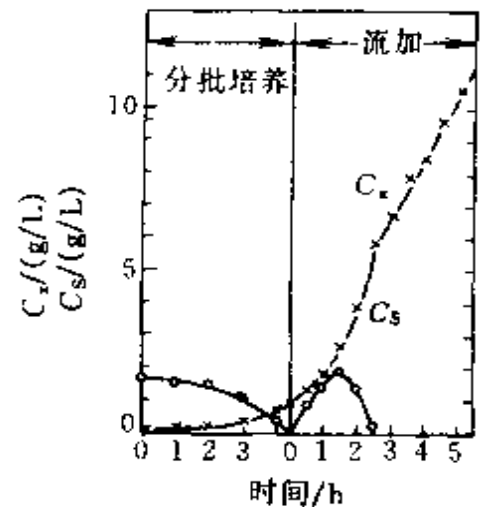


图 5B 流加甘油时泄殖腔肠杆菌的恒流量半分批培养过程

5.5.2 生化反应 分离耦合过程

生化反应-分离耦合过程, 又称原位产物分离过程, 简称 ISPR (In Situ Product Removal)。就是在生化反应发生的同时, 选择一种合适的分离方法及时地将对生化反应有抑制或毒害作用的产物或副产物选择性原位移走, 从而实现产物从其细胞周围的即时分离。

在细胞培养过程中, 产物和副产物的抑制作用是一种常见的现象。这种抑制将抑制细胞的生长、降低了细胞活力, 常常成为制约过程效率提高的“瓶颈”。如果能实现产物的及时移走, 则可减轻其抑制作用, 达到提高生产效率的目的。如果方法选择适当, 还可简化分离过程, 降低分离过程的费用。

生化反应与产物分离耦合过程一般有两种类型, 一种是在生化反应器内, 通过反应介质与分离剂直接接触, 使反应产物部分地通过分配转移到分离剂中, 从而使反应介质中产物浓度降低, 消除产物的抑制作用。另一种是将反应器中的反应介质引到外部的分离器中, 使产物得到分离, 并将分离产物后的介质循环回生化反应器。前一种方法比较简单, 可在原生化反应器中进行, 但由于分离剂与细胞等直接接触, 因此分离剂必须是生物兼容的。后一种虽然过程复杂一些, 但分离剂不与细胞直接接触, 而且也有利于产物的进一步分离和提纯。当前研究开发较多的有生化反应与吸附、萃取、气提和膜分离等分离方法的耦合过程。而膜在生化反应中的功能又有超滤、渗透蒸发、膜萃取和透析等。

图 5-35 和图 5-36 分别表示了上述两种反应 分离耦合过程。

总之, 耦合过程是一种集成式单元操作, 其生物反应器具有特殊的结构, 在选择具体方式时, 必须考虑产物的特性及具体的生化反应体系, 才能做出合理的选择和设计。

采用耦合过程来生产的生化物质已达几十种, 但主要还是集中在乙醇、丙酮-丁醇、乙酸、乳酸、丙酸和丁酸的发酵过程。

下面介绍几种主要的耦合过程。

(1) 通过气体汽提和减压分离 这主要应用于乙醇发酵和丙酮、丁醇、乙醇发酵体系。由于这些物质沸点较低、易挥发, 可采用汽提

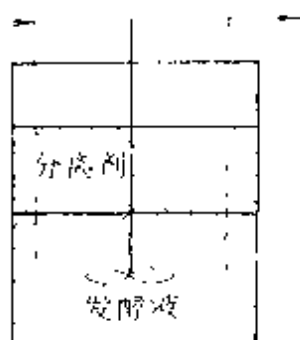


图 5-35 采用分离剂的反应
分离耦合装置

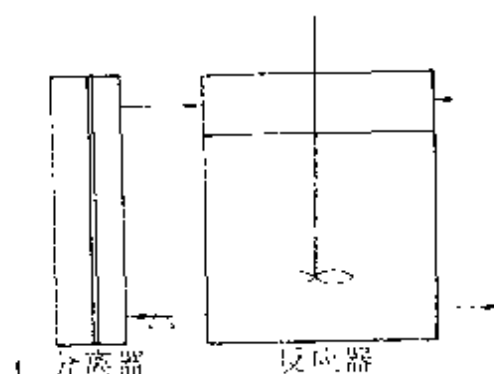


图 5-36 采用外部分离循环的
反应分离耦合装置

和减压分离方法。在乙醇发酵时可用 CO_2 进行汽提，因为 CO_2 为发酵过程副产物，做为汽提剂使用也是很方便的。

(2) 通过吸附或离子交换进行分离的耦合过程。例如，对某些可逆酶催化反应，可通过吸附的方法及时从反应体系移走产物，则可提高该酶催化反应的转化率。高果糖浆的生产是一典型例子。如果采用移动床吸附掉葡萄糖和高果糖混合物中的高果糖，就可得到 95% 的高果糖产品，若无吸附分离，则只能得到 42% 的高果糖。

还可通过分离产物以控制发酵过程的适宜的 pH 值。典型例子是乳酸发酵，其 pH 应控制在 5~6 之间，但由于乳酸的生成，又产生了抑制作用，不仅降低乳酸生成速率，还消耗了用以控制 pH 值的碱，而采用吸附或离子交换方法，则可不必要消耗碱来调节 pH 值。

(3) 通过溶剂萃取进行分离的耦合过程。包括有机溶剂萃取和双水相萃取两种类型。

对有机溶剂要求有生物相溶性，对产物有利的分配系数、低的互溶性、低的粘度、不易乳化和高的化学稳定性等。萃取发酵已用于乙醇和丙酮、丁醇、乙醇发酵体系。

双水相萃取应用于耦合过程，则需要考虑生物催化剂，底物和产物的分配效应、酶的活性和稳定性，以及过程的成本等因素。

(4) 膜式生化反应器。膜反应器是近年来生化反应器研究中的一个重要领域。这是因为膜反应器一方面可使酶或细胞重复使用以使反应体系维持较高的酶浓度和细胞浓度，另一方面又可把产物不断地从反应体系中分

离出去以减少产物对反应的抑制作用，提高反应器生产能力。

根据膜反应器的不同特征，可进行如下的分类。

① 根据反应器内酶的状态，可分为游离态和固定化酶膜反应器。前者酶溶于反应物内；后者则把酶结合在膜的表面形成酶膜。其优点是酶的密度大，缺点是底物和产物通过膜的速率很慢，往往成为反应过程的控制因素。

② 根据底物和产物通过膜的传质推动力的不同，可分为压差推动和浓度差推动的膜反应器。

③ 根据膜材料的特性不同，可分为微滤膜反应器、反渗透膜反应器、超滤膜反应器和透析膜反应器，以及对称膜和非对称膜反应器等。

④ 根据膜反应器的结构型式，可分为平板膜、螺旋卷绕膜、管状膜及中空纤维膜等膜反应器。

⑤ 根据反应和分离的耦合方式不同，可分为循环式和一体式膜反应器。

下面重点介绍循环式膜反应器和中空纤维膜反应器。

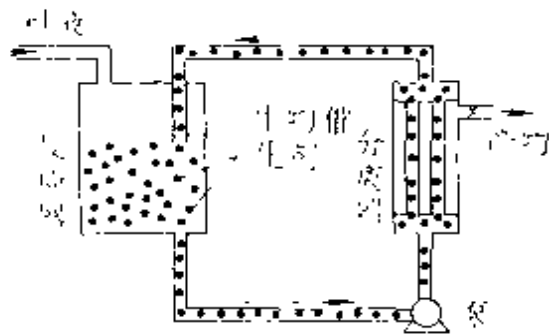


图 5-37 循环式膜反应器

液流速以减少浓差极化。属于此类反应器的有超滤膜酶反应器、透析膜酶反应器等。

这一类反应器已先后在酶催化橄榄油水解反应、葡萄糖发酵制乙醇、发酵法制取丙酮和丁醇等反应中得到了应用。

对于循环式膜反应器，传质的主要阻力来自于膜本体或因浓度极化而沉积在膜表面的胶层。

b. 中空纤维膜反应器。此类反应器是把酶结合于半透性的中空纤

a. 循环式膜反应器。循环式膜反应器的特点是反应器与分离装置是分开的，生物催化剂在分离装置中与反应混合物分离，然后再循环至反应器中应用，如图 5-37 所示。此种膜反应器具有较大灵活性；在反应器中调节合适混合速度以得到最佳反应速率；在分离器中控制料

维上，这种半透膜只允许底物和产物等小分子量物质通过，而分子量较大的酶则不能。由于中空纤维膜的比表面积较大、管径很小，并能承受较大的压力，因而是目前应用较广的膜反应器。

最简单的是管式中空纤维膜反应器(图 5-38)。这种反应器是利用成束的非对称膜制成的中空纤维，组装成类似于管壳式换热器结构的膜器而制成。酶或细胞可以包埋在纤维中心孔道

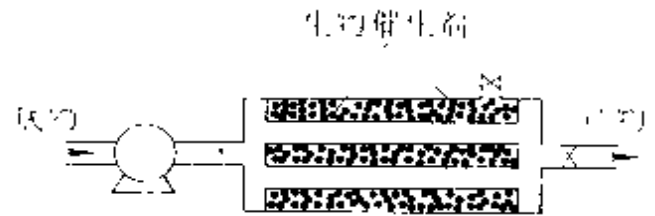
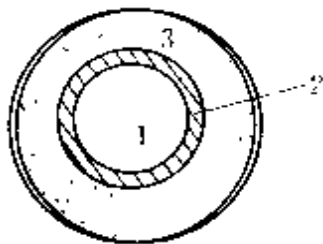
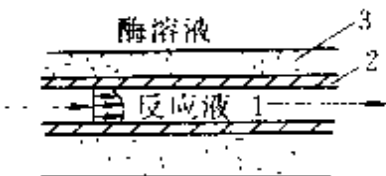


图 5-38 管式中空纤维膜反应器示意图

中或固定于纤维之间的空隙中。底物的输入可有不同的方式：底物可直接通入到包埋有酶或细胞的反应区进行反应，反应后的液体透过膜从另一侧取出，透过膜的推动力是压差；底物也可从包埋有酶或细胞的膜的另一侧进入反应器，以扩散的形式通过膜与酶或细胞相接触，反应产物再扩散回到原通道流出。此类膜反应器的长度是一个限制因素，膜器太长，底物沿轴向有较大的浓度梯度，因而造成了入口处营养过多，出口处营养又不足，这对反应是不利的。这可采用增大流速和周期性更换流向来解决。



不对称中空纤维径向剖面图



不对称中空纤维轴向剖面图

图 5-39 含酶中空纤维剖面图

1—内腔；2—致密超薄层；

3—多孔海绵体

常用的中空纤维具有非对称结构。典型尺寸是外径 $300\sim 900\mu\text{m}$ ，内径为 $200\sim 500\mu\text{m}$ ，内腔壁为一致密层，并有一具有选择透过性的超薄表皮层，厚约 $0.1\sim 0.5\mu\text{m}$ ，外面又是一层厚约 $75\sim 200\mu\text{m}$ 的大孔海绵支撑层，其孔隙率可达 $80\%\sim 90\%$ ，酶溶液就包含在这些海绵体的孔隙中(图 5-39)。

中空纤维膜的材料，最常用的是纤维素衍生物，如硝化纤维、醋酸纤维素，也有用聚酰胺、聚砜的。它们都具有较大表面积。

从图 5-39 可以看出，反应底物溶液从

中空纤维的内腔通过，它通过扩散由表皮层进入海绵状多孔层时，就在包封在里面的酶的作用下进行反应。反应所生成的产物通过扩散再回到纤维内腔中的液体中。这样，含反应底物的溶液从纤维的一端进去，在另一端则可得到反应产物和未反应的底物。如果纤维壁内包封的酶浓度足够高，则底物转化成产物的转化速率就完全受反应底物扩散到酶上的速度和产物从酶中扩散出来的速度所控制。

每个中空纤维含酶膜组件中一般含有 1000~12000 根不对称纤维膜，其外型与结构类似于管壳式换热器。

此种含酶膜反应器有下述优点：①含酶溶液被固封在不对称中心纤维海绵状结构层的孔隙中，由于酶在溶液中是自由的，消除了其他固定化酶技术中存在的对酶的位阻现象和减活作用；②此种酶反应器传质阻力较小；③可用对海绵层进行冲洗的方法来除去或更换酶。

将膜反应器应用于生化反应-分离耦合过程，则膜的功能有所变化。

第一种是膜做为超滤器使用。主要应用于高分子量物质如淀粉、纤维素和蛋白质的水解反应。此时，高分子量物质和生物催化剂（酶）在膜的一侧，而低分子量水解产物则通过超滤膜到达膜的另一边，因此产物不能抑制反应的进行。

第二种是膜蒸发。此时采用的往往是疏水性微孔膜。所得蒸发冷凝液往往是浓缩了的产品。常用于乙醇和丙酮丁醇发酵体系。

第三种是膜萃取发酵。此时物质传递仅发生在膜的微孔，不需要对溶剂实施分散的机械设备，溶剂也不会乳化，减少溶剂对细胞的毒性影响。目前也主要用于乙醇发酵体系。

第四种是膜透析。透析是物质分子以浓度差为推动力扩散透过半透膜而得以分离，这样将小分子的产物从细胞所在的环境中除去。膜透析是应用得较早的膜过程之一。膜透析过程一般有四种操作方式（图 5-40）：①当 $F_r > 0$, $F_t > 0$ ，则接受槽和发酵反应器皆为连续操作；② $F_r = 0$, $F_t = 0$ ，则两者皆为间歇操作；③当 $F_r = 0$, $F_t > 0$ 则接受槽为间歇，发酵反应器为连续；④ $F_r > 0$, $F_t = 0$ 则与③恰好相反。

产物通过透析膜的透析速率与膜的透析系数、面积以及膜两侧的浓度差有关。

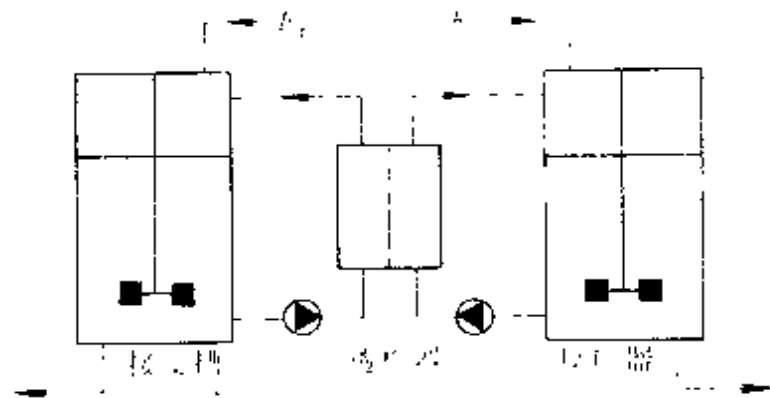


图 5-40 典型的膜透析装置

$$N = P_{m_b} A \Delta C_p \quad (5-218)$$

式中 N ——透析速率, kg/h;

P_{m_b} ——膜的透析系数, m/s;

A ——膜面积, m^2 ;

ΔC_p ——膜两侧产物浓度差, g/m^3 。

上式中透析系数反映了各种因素的总阻力,也包括外部传递阻力,用双膜理论来表示:

$$\frac{1}{P_{m_b}} = \frac{1}{P_{m_b}^0} + \sum_i \frac{\delta_i}{D} \quad (5-219)$$

式中 $P_{m_b}^0$ ——膜的真实透析系数;

D ——分子扩散系数;

δ_i ——传递限制的液膜厚度。

因此,透析速率直接依赖于膜表面液体流速,液膜厚度随膜附近液体流速的增加而降低。

对接受槽(又可称透析槽或贮槽)的一般衡算式中,应不包括细胞,其形式为

积累 = 输入 - 输出 + 透析

$$\text{基质 S: } V_r \frac{dC_{Sr}}{dt} = F_r (C_{Sr}^0 - C_{Sr}) + P_{m_b} A (C_{Pt} - C_{St}) \quad (5-220)$$

$$\text{产物 P: } V_r \frac{dC_{Pr}}{dt} = F_r (C_{Pr}^0 - C_{Pr}) + P_{m_p} A (C_{Pt} - C_{Pt}) \quad (5-221)$$

式中 V_r ——接受槽的体积；

C_{Sf}, C_{Pr} ——分别为接受槽中基质和产物浓度；

C_{Sf}, C_{Pf} ——分别为发酵反应器中基质和产物浓度。

对发酵反应器做衡算，一般形式为

累积 = 进入 - 离开 ± 渗透 ± 反应

$$\text{基质 S: } V_f \frac{dC_{Sf}}{dt} = F_f(C_{Sf}^0 - C_{Sf}) - P_{m_s} A(C_{Sf} - C_{Sr}) - r_s V_f \quad (5-222)$$

$$\text{细胞 X: } V_f \frac{dC_{xf}}{dt} = F_f(C_{xf}^0 - C_{xf}) + V_f r_x \quad (5-223)$$

$$\text{产物 P: } V_f \frac{dC_{Pf}}{dt} = F_f(C_{Pf}^0 - C_{Pf}) - P_{m_p} A(C_{Pf} - C_{Pr}) - V_f r_p \quad (5-224)$$

利用上述五个衡算方程式，再加上有关动力学，完全可以对膜透析过程进行数学描述。

如果为连续培养、连续透析的过程，它是唯一的稳态操作方程。在反应器和接受器中均可达到稳定状态，上述各式中的时间导数皆为零，并由此得到了细胞浓度 (C_x)、细胞生产率 (DC_x)、细胞生产效率 ($(DC_x)_{\text{实}} / (DC_x)_{\text{理}}$) 与稀释率 D 之间的关系，表示在图 5-41 中。从图中可以看出，透析培养的细胞浓度高于非透析培养，特别在低稀释率时，透

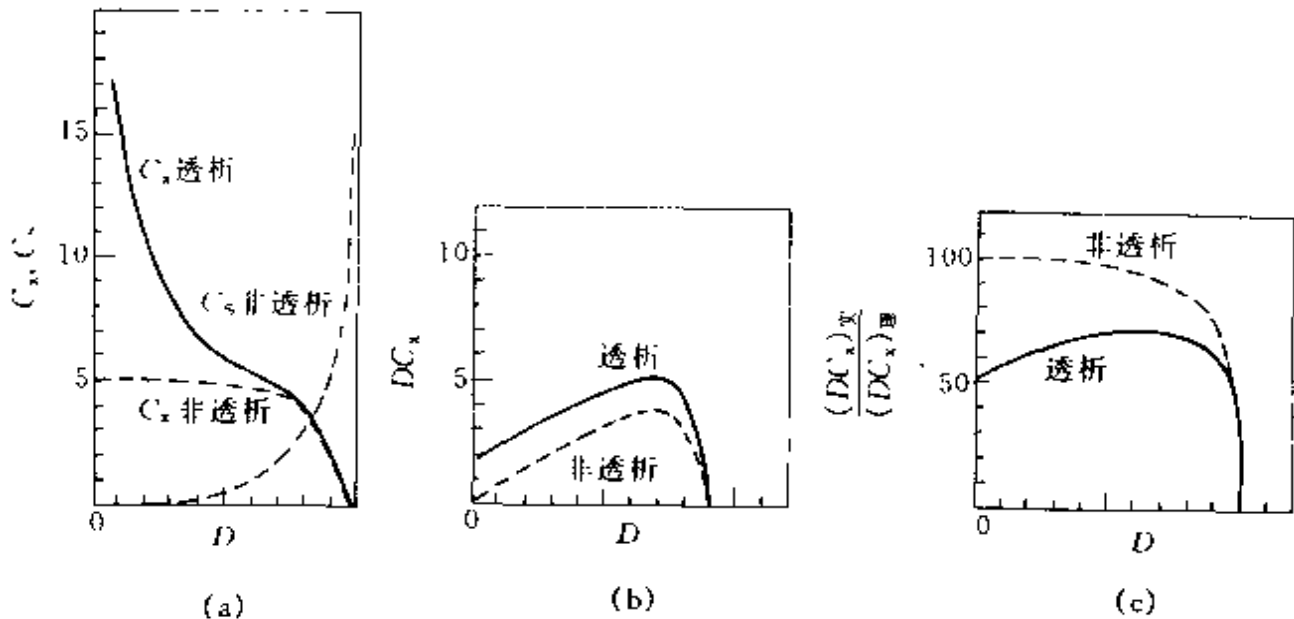


图 5-41 通过计算比较透析与非透析培养操作

(a) 细胞和基质浓度；(b) 生产率 DC_x ；(c) 生产效率之比

析培养可以得到很高的细胞浓度，透析培养中细胞生产率也高于非透析培养，但是其细胞生产效率 $[(DX)_{\infty}]/(DX)_{\infty}$ 却下降。

在上述连续透析、连续培养过程中，发酵反应器内流体流动显然为全混流。

5.6 动植物细胞培养反应器

动植物细胞培养是指动物或植物细胞在体外条件下进行培养繁殖，此时细胞虽然生长与增多，但不再形成组织。

进行动植物细胞的体外培养，能够生产许多有价值的生物制品，包括重要的疫苗、诊断试剂、单克隆抗体、生物碱、甾体化合物等等，具有良好的发展前景。

动植物细胞培养与微生物细胞培养有很大的区别，首先动物细胞是没有细胞壁的，而且大多数哺乳动物细胞需要附着在固体或半固体表面上才能生长；其次是动物细胞对培养基的营养要求相当苛刻，要求含有多种氨基酸、维生素、无机盐、血清等物料；而且对培养环境条件十分敏感，对温度、pH值、溶氧浓度等条件都比微生物培养要严格得多。由于动物细胞无细胞壁保护，所以对因搅拌而产生的流体剪切力十分敏感，强烈的机械搅拌与通气鼓泡所引起的过大剪切力都会损伤细胞，使细胞破裂。植物细胞虽具有细胞壁，但对流体剪切力的耐受程度也要比微生物细胞差。另外，由于动植物细胞的生长要比微生物细胞缓慢得多，一般只有在高细胞密度条件下，才能得到一定浓度的产物。又由于动植物细胞培养所需时间要比微生物细胞长，又非常容易染菌，因此需要有严格的防污染措施。表5.2列出了微生物细胞与动植物细胞之间的差异。

动植物细胞的生长和产物的形成同样也是多种环境因素(如温度、pH值、营养成分、溶氧和渗透压等)和胞内复杂代谢反应的综合结果。而这些反应又都与胞内多种酶密不可分。但这些反应的机理以及各种环境条件与这些反应的关系目前尚不清楚。因此，动植物细胞反应动力学的研究，目前在很大程度上是借鉴微生物细胞反应动力学的理论和描述方法，并且还处于起始阶段，很不成熟。

表 5-2 微生物细胞与动植物细胞的比较

项 目	微生物细胞	哺乳动物细胞	植物细胞
大小 (直径)	1~10 μm	10~100 μm	10~100 μm
在液体中的生长	悬浮生长,有时聚集成团	有些可悬浮生长,多数依赖表面	可悬浮生长,常聚集成团
营养要求	简单	极复杂	复杂
生长速率	一般较快,倍增时间 0.5~5h	慢,倍增时间 15~100h	慢,倍增时间 24~74h
代谢控制	内部控制	内部,激素	内部,激素
对环境的敏感性	一般耐受范围较大	无细胞壁,对环境极敏感	耐受范围较大
细胞分化	无	有	有
对剪切的敏感性	低	极高	高

例如,对悬浮培养,细胞生长仍采用 Monod 模型,对贴壁依赖性细胞的生长,提出了

$$\mu = \mu_{\max} \left\{ 1 - \exp \left[-C \left(\frac{C_{x,\max} - C_x}{C_x} \right) \right] \right\} \quad (5-225)$$

式中 $C_{x,\max}$ 最大细胞密度;
 C 可调的模型参数。

动植物细胞培养过程中,按其加出料方式依然可分为间歇式(分批式)培养、连续式培养、流加式培养等。

常采用的培养方法有悬浮培养、贴壁培养、微载体培养、包埋培养等。

由于动植物细胞培养的特殊性,使得开发适用于动植物细胞培养的反应器受到人们的重视。种类愈来愈多,规模也越来越大。种类有:搅拌槽式反应器、气升式反应器、膜式反应器、蜂窝状反应器、管式反应器、填充床式反应器和流化床反应器等。同时反应器的生产规模愈来愈大,如有的公司已建立了规模为 10000L 的反应器用于培养杂交瘤细胞生产单克隆抗体,还有的公司建立了规模为 8000L 的反应器用于生产病毒疫苗和干扰素等生物制品。

本节主要介绍有动植物细胞培养特点的若干种反应器。

5.6.1 笼式通气搅拌反应器

根据动植物细胞培养的特点，要求搅拌浆转动时，不仅产生的剪切力小，还要混合性能好。笼式通气搅拌反应器基本上能满足上述要求。该反应器又称为气腔式动物细胞培养反应器（见图 5-42）。

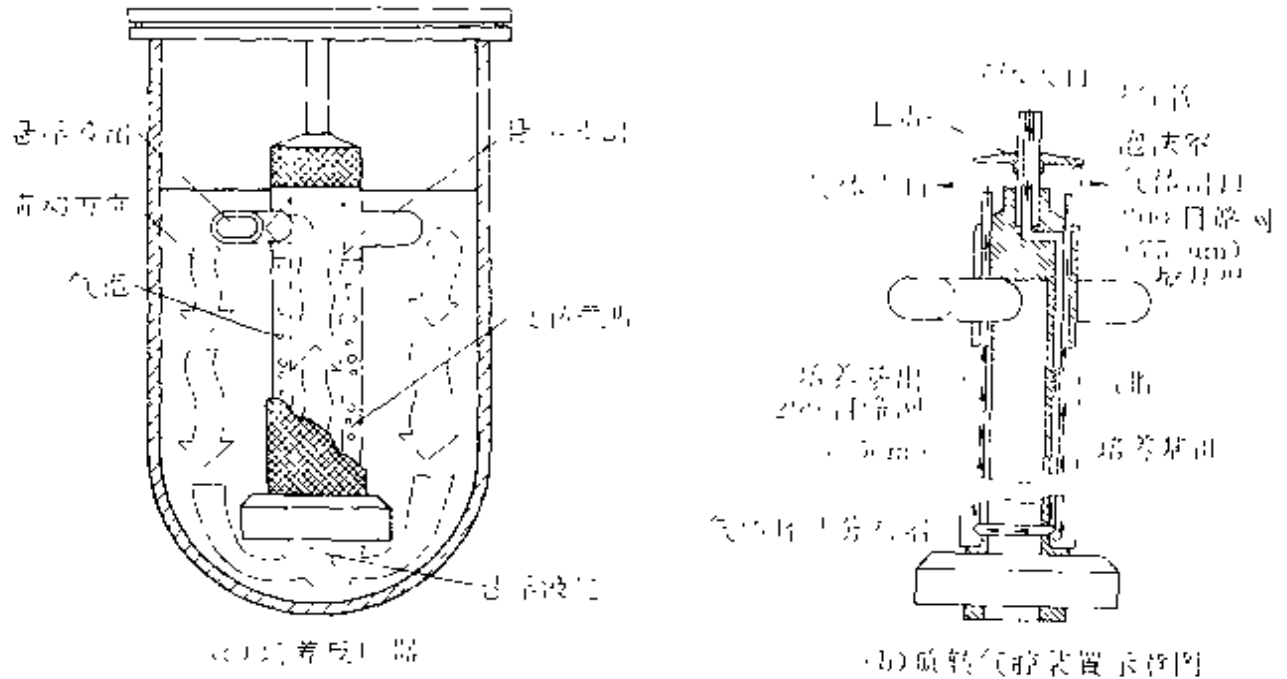


图 5-42 笼式通气搅拌反应器

在该反应器内装有一笼式通气搅拌器。该搅拌器为上下装有通气腔和消泡腔的一个旋转圆筒，在圆筒上部装有 3~5 个中空导向搅拌桨叶，在圆筒外壁上用 200 目的不锈钢丝网制成的一个环状气腔，称为通气腔，气液交换就是在此通气腔内实现的。气腔下面有一圈气体分布管。反应器旋转时，圆筒由轴联动一起以 0~50r/min 的转速旋转，由于中空导向桨叶的搅动作用，液体与微载体的悬浮液由圆筒下部吸入，从中空导向桨叶流出，形成循环流动。在气腔内气体由分布管鼓泡，气体溶于液体中，依靠气腔丝网外液体的循环流动及扩散作用，使溶于液体中的气体均匀地分布到反应器内，使用 200 目的丝网的作用是保证微载体不进入到气腔，而气泡也不流入到培养悬浮液中，避免了气泡直接与动物细胞的接触。在鼓泡通气过程中所产生的泡沫经管道进入液面上部的消泡腔内。泡沫经不锈钢丝网破碎分散成气液两部分，从而达到深层通气而避免产生泡沫。反应器内的流体由于搅拌和

循环的作用，混合状况良好。并且流体所受到的剪切力很小。

5.6.2 贴壁培养反应器

大部分动物细胞是属于贴壁依赖性细胞，包括非淋巴组织的细胞和许多异倍体细胞都属于这一类型。这一类细胞的特点是它需要附着在固体或半固体的表面上才能生长，原来是圆形的细胞一经贴壁就迅速铺展，然后开始有丝分裂，并很快进入对数生长期。一般在数天后铺满生长表面，形成致密的细胞单层，所以贴壁培养又称为单层培养。

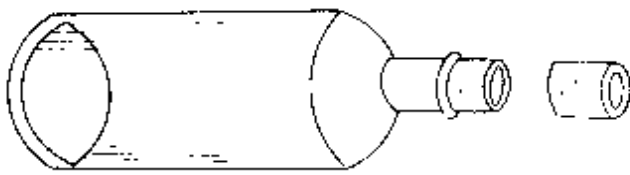


图 5-13 贴壁培养用的滚瓶

传统的培养装置，采用的是滚瓶系统，如图 5-43 所示。将滚瓶装入培养液并接种后，放到一个装置上，使滚瓶缓慢旋转，动物细胞就在滚瓶内壁贴壁生长繁殖，到一定时候将细胞收获。目前有不少生物制品厂是用 4~30L 大小的滚瓶进行动物细胞贴壁培养来生产疫苗。

采用滚瓶系统进行培养，其结构简单，投资少，技术成熟，放大只是简单地增加滚瓶数。但其缺点是劳动强度大；单位体积所能提供的细胞生长的表面积小，只有 0.35 左右；占用空间大，按体积计算细胞产率低；监测和控制环境条件受到限制，这样就限制了动物细胞的大规模培养。

近年来发展了中空纤维反应器，该反应装置由中空纤维管组成，每根中空纤维管内径为 $200\mu\text{m}$ ，壁厚为 $50\sim 75\mu\text{m}$ 。中空纤维管的管壁是半透性的多孔膜，氧和二氧化碳等小分子可以自由地透过膜双向扩散，而大分子有机物则不能透过。动物细胞贴附在中空纤维管外壁生长，可很方便地获取营养物质和溶氧。由于该装置内可装有成千根的中空纤维管，故其生长面积与容积之比可达 40 余倍，其溶氧的传质速率也可达到 $0.6\text{mmol}/(\text{L}\cdot\text{h})$ ，为大规模动物细胞培养创造了条件。图 5-44 表示的是用于动物细胞培养的中空纤维反应器。

5.6.3 微载体悬浮培养反应器

用微珠作载体，使单层动物细胞生长于微珠表面，并在培养液中进行悬浮培养。这种培养方式是将单层培养和悬浮培养相结合，这是

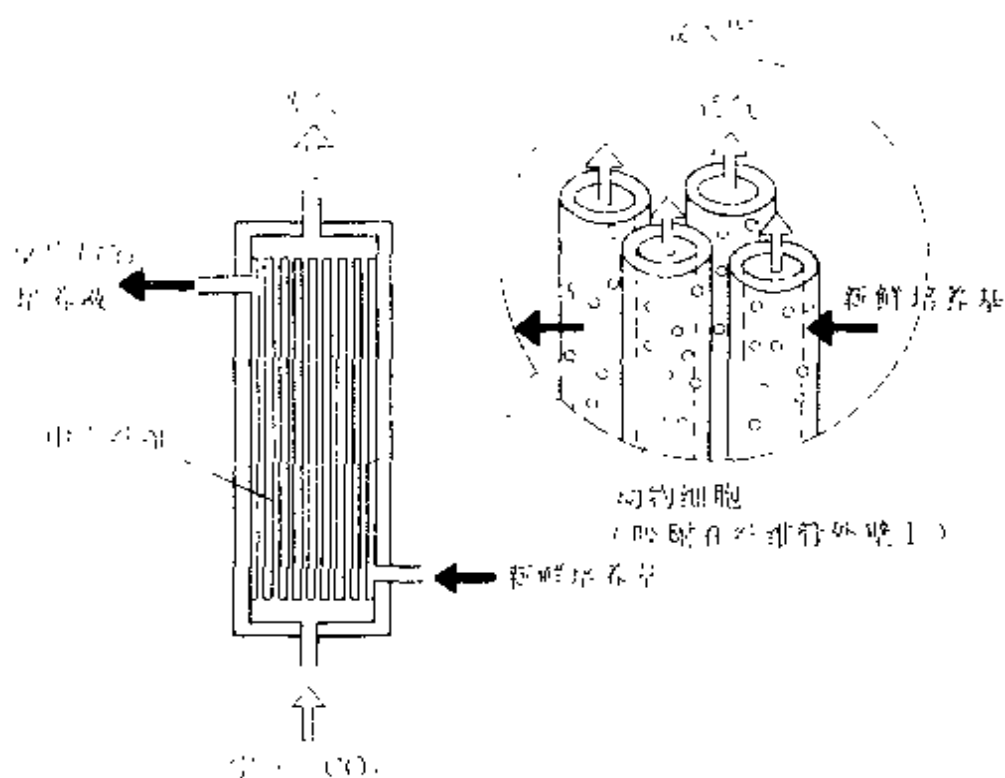


图 5-44 动物细胞培养用中空纤维反应器

大规模动物细胞培养的最有前途的方法。

贴壁培养动物细胞的载体微珠称为微载体。该微载体可用交联葡聚糖、纤维素、聚丙烯酰胺、明胶、硅橡胶做为基质而制成。微载体球径约为 $40\sim 120\mu\text{m}$ ，经生理盐水溶胀后，其直径约为 $60\sim 280\mu\text{m}$ 。在用于动物细胞培养时，要求球径较均匀，径差小于 $20\sim 25\mu\text{m}$ 。其密度在 $1.03\sim 1.05\text{g/ml}$ ，以便在反应器内经缓慢搅拌后，微载体能悬浮起来。

采用微载体悬浮培养的优点是：①单位体积具有的表面积大，如 1.0g 微载体，有的能提供 $5000\sim 6000\text{cm}^2$ 的表面积，因此它的单位体积培养基的细胞产率高；②由于把悬浮培养和贴壁培养融合在一起，具有两种培养的优点，有利于培养环境条件的检测和控制，培养系统重现性好；③放大容易，现已有用 1000L 的规模来生产 β -干扰素用的二倍体细胞。

对微载体悬浮培养同样要求具有合适的搅拌方式，以使微载体既能在培养液中悬浮循环流动，又不因过高的剪切力而使细胞受到破坏；

要求用特殊的方式来传递氧，以满足所需要的溶氧浓度；要求严格控制 pH 值，使其误差小于 0.05。

适合于做微载体悬浮培养的反应器有多种型式。包括前面讨论的笼式通气搅拌反应器和中空纤维反应器也都适用于微载体悬浮培养。还有蜂窝状反应器和流化床反应器。

蜂窝状反应器是一圆筒内装有一只有许多陶质矩形通道的蜂窝状圆柱体。通道可为正方形，也可为长方形，面积为 $1\sim 5\text{mm}^2$ ， 1cm^2 截面积有 68 个通道；每 1cm^3 体积，能提供细胞生长表面积 32cm^2 。若为大型反应器，则能容纳 5×10^{10} 个细胞。该种反应器既可用于培养悬浮生长的细胞，又可用于培养贴壁依赖性生长细胞，放大即通过增加设备套数。现已用于生产单克隆抗体。

流化床反应器的基本原理是使支持细胞生长的微粒呈流化状态。这种微粒直径约为 $50\mu\text{m}$ ，具有像海绵一样多孔性，可由胶原制备，再

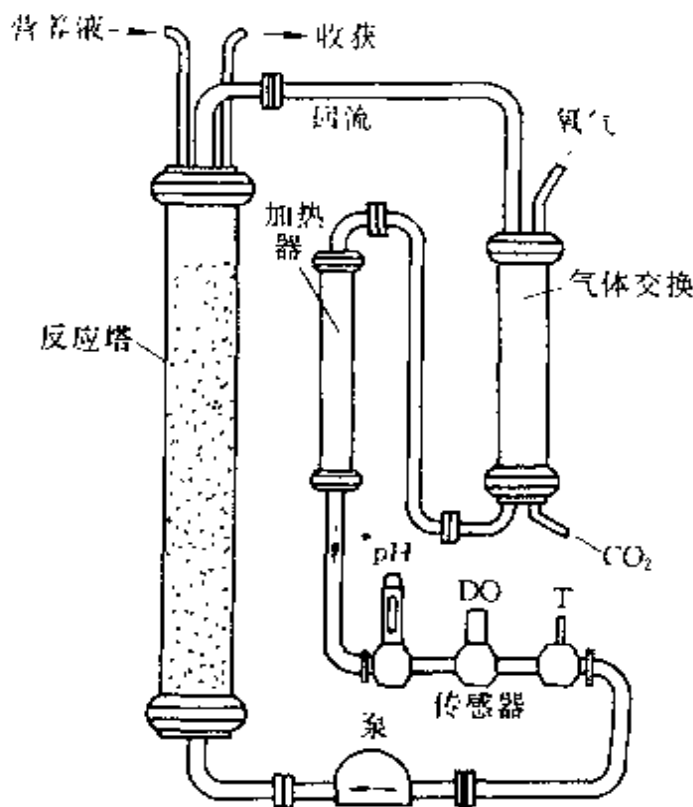


图 5-45 用于动物细胞培养的流化床反应器

用非毒性物质增加其相对密度达到 1.6 以上，以便在它高速向上流动的培养液中呈流态化。接种之后，通过反应器垂直向上循环流动的培养基使其成为流化床，并不断提供给细胞必要的营养成分，使细胞得以在微粒中生长。同时，新鲜培养基不断加入，而产物又不断被排出。图 5-45 即为流化床反应器示意图。该反应器同时采用膜式气体交换器。以能快速提供高密度细胞所需要的氧气，同时能及时排出 CO_2 。流化床反应器具有培养的细胞密度高的优点，它既可用于培

养贴壁依赖性细胞，也可培养非贴壁依赖性细胞。

Croughan 等对采用微载体悬浮培养的搅拌槽式反应器的设计进行了研究，提出细胞此时生长动力学可表示为：

$$\frac{dC_x}{dt} = (\mu - q_1 - q_2 C_m) C_x \quad (5-226)$$

式中 μ ——比生长速率， s^{-1} ；

q_1 ——一级比死亡速率，是描述由于微载体旋涡造成的细胞死亡， s^{-1} ；

q_2 ——碰撞死亡速率常数，是描述由于微载体之间发生碰撞而造成细胞死亡， cm^2/s^1 ；

C_m ——微载体浓度，微载体数目/ml。

当反应器搅拌速率很慢时， q_1 和 q_2 基本可以忽略。

要使反应器中细胞浓度能达到最大，关键还是氧的供给速率能否保证。列出氧的平衡式

$$R_{O_2} C_{x,max} = k_1 a (C_{O_2}^* - C_{O_2}) \quad (5-227)$$

式中 R_{O_2} ——每个细胞消耗氧的速率；

$C_{x,max}$ ——最大细胞浓度；

$C_{O_2}^*$ ——与气相成平衡的溶氧浓度；

C_{O_2} ——培养基中溶氧浓度。

对很多细胞，有：

$$R_{O_2} = \frac{1}{Y_{x,O_2}} \mu + m_{O_2} \quad (5-228)$$

式中 m_{O_2} ——氧的维持系数，即细胞在不生长时，所消耗氧的速率。

对微载体培养，细胞比生长速率是细胞和微载体两者的函数，当微载体的影响可表示为影响的百分数 Z 时，有下述关系存在。

当 $Z > 40$ ， $\mu = \mu_{max} (100 - Z) / 60$

当 $Z \leq 40$ ， $\mu = \mu_{max}$

并且推出下述关联式：

$$Z = \frac{100 C_x}{500 (C_m)^{0.80}} \quad (5-229)$$

式中 C_m ——微载体浓度，微载体数目/ml。

$$\mu_{r,max} = \frac{4.3 \times 10}{C_m^{0.25}} \quad (5.230)$$

因此，当细胞浓度达到最大时，则由于接触抑制和生长抑制所规定的比生长速率与由于搅拌和微载体造成死亡比速率是相等的。

表 5-3 列举了进行动物细胞培养的两类典型反应器的性能比较。可以看出，如果微载体悬浮培养反应器能很好解决氧的传递问题，该种反应器将是很有发展前途的。

表 5-3 动物细胞大量培养反应器性能比较

性能	中空纤维反应器	微载体悬浮培养反应器
比表面积	30.7	31~35
高细胞密度下氧传递能力	好，但某些细胞因存在氧浓度梯度生长受限制	需要用特殊装置才能提高氧的传递能力，防止气泡损伤动物细胞
细胞所处环境	存在浓度梯度	均
控制环境能力	中等	好
反应器受污染后再生能力	困难	较易
计算机优化控制	实施较困难	实施容易
检测细胞生长	较困难	较方便
最高细胞密度	1×10^6 细胞/ml	分批培养： $5 \sim 6 \times 10^6$ 细胞/ml 灌注培养： $4 \sim 5 \times 10^7$ 细胞/ml
放大的可能性	好，但受到调节和控制方面的限制，由于营养液及氧的浓度的梯度影响了反应器的规模	好，但受到氧的传递、微载体的成本及操作技术方面的限制

5.6.4 植物细胞培养反应器

通过植物细胞的离体培养可以获得许多重要的物质，且不受自然条件的影响。日本专卖公司已用 $21m^3$ 的反应器进行烟草细胞的连续培养，细胞的生产率每日可达 $5.82kg/m^3$ 。日本三井石油株式会社用 750L 植物细胞反应器生产染料紫草宁，已可满足国内需要量的 43%。

植物细胞培养的特点是：①生长速率慢；②有坚固的细胞壁，代谢产物不分泌到胞外而留在细胞内，因此要得到大量次级代谢产物，必须进行高密度培养；③植物培养细胞易发生反分化，从而导致目的产物含量低于原植物体的含量。

因此，利用植物细胞培养生产的物质，一般仅限于那些难于化学合成、无法用微生物合成和附加值很高的物质。

用于植物细胞培养的反应器有通气搅拌式、鼓泡式、气升式、填充床、流化床和膜反应器等，下面择其重要者做一简单介绍。

(1) 通气搅拌式反应器。植物细胞培养一般对氧的传质要求为 k_1a 在 $5\sim 20\text{h}^{-1}$ 之间。因此一般不需要机械搅拌。并且用机械搅拌消耗功率多，剪切造成影响也大。因此，对植物细胞培养，采用通气搅拌式反应器更为有效。特别是对低或中等需氧体系。因为通气搅拌式反应器通常要比机械搅拌反应器设计得更高，流体静压增加，导致氧溶解度增加，提高了氧的传质速率。气体搅拌反应器主要有两类：鼓泡塔和气升式反应器。气升式是在鼓泡塔基础上改进而得到的。它利用气体的运动来促使液体循环，液体循环促进了氧的传质和流体的混合。由于采用气升式反应器，增加了混合效果，使长春花细胞浓度高达 30mg/L 。总之，采用气体搅拌式反应器，其结构简单，氧传质效率高，剪切力低，很适合于植物细胞培养。有关气升式反应器详细情况将在第 6 章给予详细介绍。

(2) 填充床反应器。在反应器中，细胞可以位于支持表面，也可包埋于支持物之中。培养基流经支持物颗粒。当细胞被固定于支持物之中时，该反应器单位体积能容纳大量细胞。但此种反应器流体混合效果差，控制均匀的条件较困难。另外一个困难是床层易被小颗粒或已破碎的颗粒堵塞，流体流动困难，床层阻力降增大。

为了解决上述矛盾，可采用流化床，利用流体的能量使颗粒呈流态化状态，并提高了传质效率。常采用大气量以使固定化植物细胞颗粒悬浮，同时保持低流速，可使液体循环。以使反应基质转化完全。

流化床反应器用于植物细胞培养的最大不足是剪切力和颗粒之间的碰撞会损伤细胞。

5.7 生化反应器的动态特性

反应器的动态特性系指反应器在进行某一反应过程时，其操作运行状态随时间变化的特性。从生化反应本身的特点分析，反应过程的

动态特征是大量存在的。例如：酶催化反应过程中酶的失活；细胞反应过程中细胞活力的变化；混合培养体系中各种细胞之间的相互作用等。上述现象均为生化反应过程的动态特性。动态特性主要包括两方面内容：一是反应器的稳定性，即当外界某操作条件发生扰动时，反应器操作中哪些稳态点是稳定的，那些又是不稳定的；二是指反应器动态特性的变化轨迹，即当操作条件发生扰动时，稳态点变化的轨迹和特点。

本章以连续操作搅拌槽式反应器（CSTR）中的恒化器为讨论对象，这是因为其动态特性具有典型的代表性。

研究反应器动态特性的目的是更加合理设计反应器，特别是在建立正确的反应器控制策略和模型方面，反应器的动态特性是其重要的依据。

5.7.1 稳定性分析的基础

前已述及，反应器的稳定性系指反应器系统在其处于稳定的运行状态时，当某些操作参数出现一些微小的扰动时，整个反应器系统的稳定操作状态能否基本保持不变的一种特性。反应器稳定性的实质是其抗干扰能力大小的一种表现。当外界的干扰消失后，若系统能回到原来的稳定状态，则称该系统是稳定的，其操作点称为稳定的稳态点，若在外界干扰下，系统自动偏离原来的稳态点而到达另一个新的稳态点操作，则称该反应器处于不稳定操作状态，原来的稳态点则为不稳定的稳态点。

根据造成反应器产生不稳定的内在原因上的不同，反应器的不稳定性可分为两类：一类称之为反应动力学的不稳定性，它是由反应动力学的某种特性所引发的，例如在 CSTR 中进行有基质抑制动力学特性的反应过程；另一类称为热不稳定性，它是由于反应过程热效应与传热过程的耦合而产生的。如果操作控制不当，将使反应器内部温度失控，反应器无法维持正常操作，甚至产生“飞温”的严重后果。热不稳定性易发生于强放热体系，它是化学反应工程的一个重要内容。而由于动力学的原因所产生的不稳定性则是本节要讨论的内容。

当体系的变化是微小的，或在时间上变化是缓慢的。则视为自激

体系，其动态体系可用下述向量函数关系式表示：

$$\frac{dX}{dt} = f(X) \quad (5-231)$$

式中 X 包括反应过程中，基质、细胞和代谢产物的浓度向量。

当体系的变化是大幅度的，或在时间上变化是激烈的，则视为非自激体系，其动态体系需用下述包括时间变量在内的向量函数关系式表示：

$$\frac{dX}{dt} = f(X, t) \quad (5-232)$$

在讨论 CSTR 的稳定性时，一般都将其视为自激体系。

对反应器稳定性进行分析时，所采用的方法是李雅普诺夫 (Lyapunov) 所建立的线性稳定性分析方法。

根据方程 (5-231)，当 $f(X) = 0$ ，可得到该方程的解，即其稳态解，该解称奇异点，表示为 \bar{X} 。在奇异点附近，若引入一向量 ΔX ，表示体系与该奇异点的偏离，则有：

$$X = \bar{X} + \Delta X \quad (5-233)$$

式 (5-231) 可按泰勒级数形式展开，并舍去高级项，取线性近似，则有：

$$f(X) = f(\bar{X} + \Delta X) \approx f(\bar{X}) + \left. \frac{\partial f}{\partial X} \right|_{X=\bar{X}} \Delta X \quad (5-234)$$

因为 \bar{X} 是方程 (5-231) 的根，故有 $f(\bar{X}) = 0$

所以

$$f(X) \approx \left. \frac{\partial f}{\partial X} \right|_{X=\bar{X}} \Delta X \quad (5-235)$$

将式 (5-233) 和式 (5-235) 代入式 (5-231) 中，则有：

$$\frac{d(\Delta X)}{dt} = \left. \frac{\partial f}{\partial X} \right|_{X=\bar{X}} \Delta X = A \Delta X \quad (5-236)$$

A 为 n 阶方阵，其元素为 a_{ij} ，可表示为：

$$a_{ij} = \left. \frac{\partial f_i}{\partial X_j} \right|_{(\bar{X}_1, \bar{X}_2, \dots, \bar{X}_n)} \quad (5-237)$$

在进行稳定性分析时，需要求出上述矩阵 A 的特征方程的根，即 A 的本征值 λ 。

本征值 λ 可用下式求出：

$$\det(A - \lambda I) = 0 \quad (5-238)$$

式中 I —— $n \times n$ 单位矩阵；

λ ——本征值；

$(A - \lambda I)$ ——矩阵 A 的特征方程。

当有两个变量时，式 (5-236) 成为二元线性齐次系统。对该系统的稳定性分析，得到一比较精确的解析解，并可进行分类。所求得的本征值 λ 一般情况下包括实数和虚数两部分，即：

$$\lambda = a + bi \quad (5-239)$$

如果 λ 仅有实数且为负值而无虚数时（即 $b_i = 0$ ），则该稳态为渐近稳定态，奇异点称为稳定节点。例如， $\lambda_1 < \lambda_2 < 0$ ； $\lambda_1 = \lambda_2 < 0$ 等。

如果 λ 实数部为负值且有虚数部时，则该稳态为稳定的稳态，奇异点称为稳定焦点。例如： $\lambda = a \pm bi$ ， $a < 0$ 。

如果 λ 实数部为正值时，则该稳态为不稳定的稳态。奇异点称为不稳定节点。表 5-4 表示了上述稳定性分析的主要判据。

表 5-4 稳定性分析主要判据

本征值		特 点	类 型
实数部	虚数部		
负	=0	指数下降到零	稳定节点
正	=0	指数增长	不稳定节点
负	≠0	阻尼振荡	稳定焦点
正	≠0	无阻尼振荡	不稳定焦点
零	≠0	持续振荡	涡点

表 5-4 中所表示的五种稳态情况的特点还可表示在图 5-46 中。

上述结论是以线性方程为基础而求得的。根据微分方程有关理论可知，如果对线性方程的计算结果表明体系是稳定的，只要是在很微小的扰动下，即使对非线性系统，则该系统也将是稳定的。这表明，如果扰动很小，对非线性系统也可用上述判据来判定反应器的稳定特性。

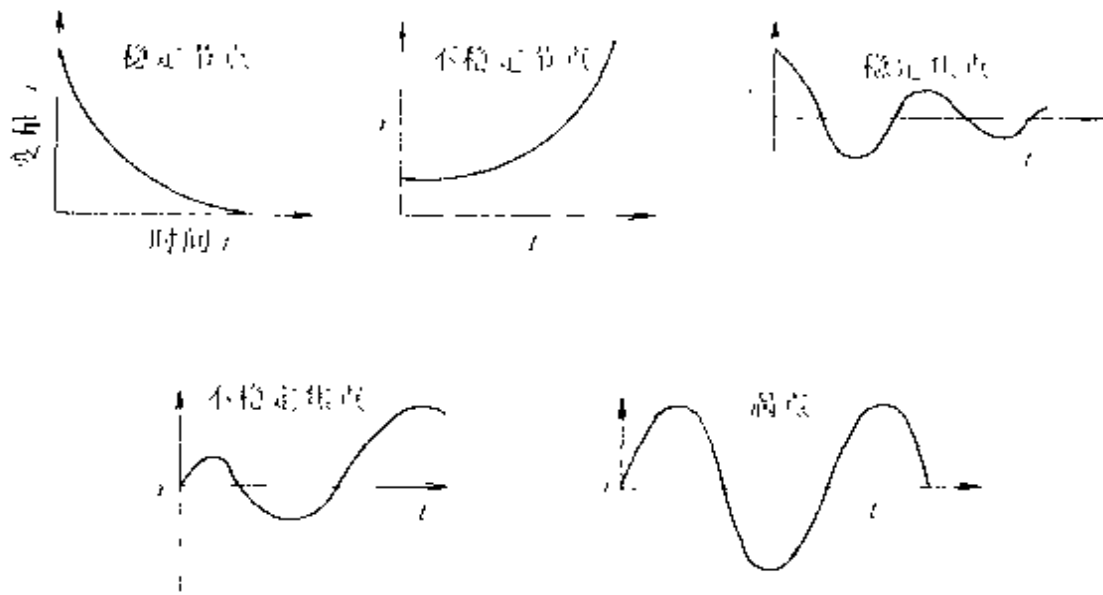


图 5-46 五种稳态点的图示

如果扰动产生很大偏离，采用上述方法就不能得到正确结论，往往是求助于其他方法来解决。

下面所进行的对 CSTR 的稳定性分析，就是根据表 5-4 的判据来进行的。

5.7.2 具有基质限制动力学时 CSTR 的稳定性

基质限制动力学的最基本方程为 Monod 方程。具有 Monod 动力学的 CSTR，其物料衡算式可表示为：

$$\frac{dC_x}{dt} = (\mu - D)C_x - \left(\mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s} - D \right) C_x \quad (5-240)$$

$$\frac{dC_s}{dt} = D(C_{s_0} - C_s) - \frac{C_x}{Y_{x/s}} \mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s} \quad (5-241)$$

当 $D < \mu_{\max}$ 和 $C_{s_0} > \frac{K_s D}{\mu_{\max} - D}$ 时，上述方程的稳态解为：

$$\bar{C}_s = \frac{K_s D}{\mu_{\max} - D} \quad (5-242)$$

$$\bar{C}_x = Y_{x/s} \left(C_{s_0} - \frac{K_s D}{\mu_{\max} - D} \right) \quad (5-243)$$

\bar{C}_s 和 \bar{C}_x 表示在稳态下基质和细胞的浓度。

如果此时有微小的扰动，则可表示为：

$$C_x = \bar{C}_x + x \quad (5-244)$$

$$C_s = \bar{C}_s + y \quad (5-245)$$

x 和 y 为与稳态下细胞和基质浓度的微小偏离。若将式(5-244)和式(5-245)代入方程(5-240), 并加以线性化处理, 则有:

$$\frac{dx}{dt} = a_{11}x + a_{12}y \quad (5-246)$$

式中

$$a_{11} = \frac{\partial f_1}{\partial C_x} = 0$$

$$a_{12} = \frac{\partial f_1}{\partial C_s} = \frac{(\mu_{\max} - D)Y_{x/s}[(\mu_{\max} - D) - K_s D]}{K_s \mu_{\max}}$$

f_1 系指式(5-240)。

同样将式(5-244)和式(5-245)代入方程(5-241)中, 进行线性化处理, 则有:

$$\frac{dy}{dt} = a_{21}x + a_{22}y \quad (5-247)$$

式中

$$a_{21} = \frac{\partial f_2}{\partial C_x} = -Y_{x/s}$$

$$a_{22} = \frac{\partial f_2}{\partial C_s} = \left[D + \frac{a_{12}}{Y_{x/s}} \right]$$

f_2 系指式(5-241)。

该系统的特征方程为:

$$\begin{vmatrix} a_{11} - \lambda & a_{12} \\ a_{21} & a_{22} - \lambda \end{vmatrix} = 0 \quad (5-248)$$

该方程的本征值为:

$$\lambda_1 = -D \quad (5-249)$$

$$\lambda_2 = -\frac{a_{12}}{Y_{x/s}} = -\frac{(\mu_{\max} - D)[C_{s_0}(\mu_{\max} - D) - K_s D]}{K_s \mu_{\max}} \quad (5-250)$$

在 $D < \mu_{\max}$ 的条件下, λ_1 和 λ_2 均为负值。根据表 5-4 中所列判据, 表明在具有 Monod 动力学 CSTR 体系是稳定的, 所得到的稳点操作点是稳定的稳态点。当外界产生某些微小干扰时, 该体系也能通过自我控制的能力, 重新回到原来的稳态点。

当 $D > \mu_{\max}$ 时, 其稳态点的值为:

$$\begin{aligned}\bar{C}_s &= C_{s_0} \\ \bar{C}_x &= 0\end{aligned}$$

显然, 这是 CSTR 的洗出点的值, 通过与上述方法相同的处理, 它的特征方程的本征值同样只有实数部, 且为负值。因此其洗出点也是稳定的稳态点。

上述 CSTR 的稳态点是在满足 $C_{s_0} > \frac{K_s D}{\mu_{\max} - D}$ 的前提下求出的, 如果一旦出现 $C_{s_0} < \frac{K_s D}{\mu_{\max} - D}$ 的情况, 研究发现其本征值为正值, 则上述两个稳态点的值均为 $\bar{C}_s = C_{s_0}$ 和 $\bar{C}_x = 0$, 并且都是不稳定的稳态点。

当基质的一部分用于维持能时, 则有:

$$\frac{1}{Y_{x/s}} = \frac{1}{Y_{x/s}^*} + \frac{m_s}{\mu} \quad (5-251)$$

CSTR 的衡算方程式为:

$$\frac{dC_x}{dt} = \left[\mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s} - D \right] C_x \quad (5-252)$$

$$\frac{dC_s}{dt} = D(C_{s_0} - C_s) - \frac{C_x}{Y_{x/s}^*} \mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s} - m_s C_x \quad (5-253)$$

在稳态下
$$\bar{C}_s = \frac{K_s D}{\mu_{\max} - D} \quad (5-254)$$

$$\bar{C}_x = \frac{D Y_{x/s}^* (C_{s_0} - \bar{C}_s)}{D + m_s Y_{x/s}^*} \quad (5-255)$$

令
$$C_x = \bar{C}_x + x \quad (5-256)$$

$$C_s = \bar{C}_s + y \quad (5-257)$$

将其分别代入式 (5-252) 和式 (5-253), 并进行线性化处理, 可得:

$$\frac{dx}{dt} = a_{11}x + a_{12}y \quad (5-258)$$

$$\frac{dy}{dt} = a_{21}x + a_{22}y \quad (5-259)$$

式中 $a_{11} = 0$

$$a_{12} = -\frac{DY_{x,s}^*(\mu_{\max} - D)[C_{s0}(\mu_{\max} - D) - K_S D]}{K_S \mu_{\max} (D - m_s Y_{x,s}^*)}$$

$$a_{21} = -\frac{D}{Y_{x,s}^* + m_s}$$

$$a_{22} = -\frac{D + a_{12}}{Y_{x,s}^*}$$

特征方程的本征值 λ 为:

$$\lambda = \frac{-(D + a_{12})/Y_{x,s}^* \pm \sqrt{[(D + a_{12})/Y_{x,s}^*]^2 - 4a_{12}m_s}}{2} \quad (5-260)$$

当 $D < \mu_{\max}$ 时, a_{12} 为一正数。当 m_s 满足下述条件:

$$4a_{12}m_s > \left[\frac{D + a_{12}}{Y_{x,s}^*} \right]^2 \quad (5-261)$$

则其特征值 λ 为一带有负实数部的复数, 仍为稳定的稳态点。但由于 m_s 的引入, 在一定条件下, 体系受到扰动后会产生一定振荡, 最后达到稳态点。并且由于 $(D + a_{12})/Y_{x,s}^*$ 项不为零, 该振荡为一阻尼振荡, 或称减幅振荡。

5.7.3 具有基质抑制动力学时 CSTR 的稳定性

具有基质抑制动力学方程为:

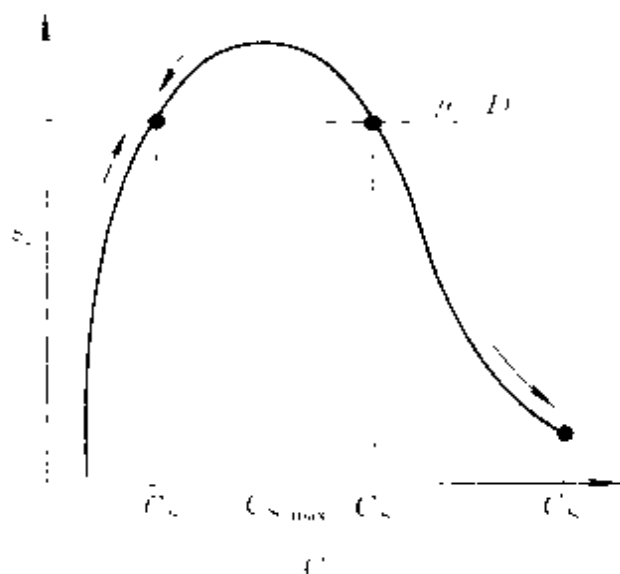


图 5-47 存在基质抑制时双稳态生长 $\mu - C_s$ 曲线示意图

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_s}{K_S + C_s + \frac{C_s^2}{K_{SI}}} \quad (5-262)$$

μ 与 C_s 的关系曲线如图 5-47 所示。

根据式 (5-262), 有

$$\frac{d\mu}{dC_s} = \frac{\mu_{\max} (K_S K_{SI} - C_s^2)}{\left(K_S + C_s + \frac{C_s^2}{K_{SI}} \right)^2} \quad (5-263)$$

从图 5-47 和式 (5-263), 可以得到下述结果:

当 $C_s = C_{s, \max}$ 时, $\mu = \mu_{\max}$, 此时 $\frac{d\mu}{dC_s} = 0$, $C_{s, \max} = \sqrt{K_s K_{SI}}$;

当 $C_s < C_{s, \max}$ 时, $\frac{d\mu}{dC_s} > 0$, $C_s < \sqrt{K_s K_{SI}}$;

当 $C_s > C_{s, \max}$ 时, $\frac{d\mu}{dC_s} < 0$, $C_s > \sqrt{K_s K_{SI}}$;

当 $D = \mu$ 时, $\mu(C_s) - \mu(C_{s_1}) = D$

CSTR 的质量衡算式为:

$$\frac{dC_x}{dt} = \left[\frac{\mu_{\max} C_s}{K_s + C_s + \frac{C_s^2}{K_{SI}}} - D \right] C_x \quad (5-264)$$

$$\frac{dC_s}{dt} = D(C_{s_1} - C_s) - \frac{1}{Y_{x/s}} \frac{\mu_{\max} C_s C_x}{K_s + C_s + \frac{C_s^2}{K_{SI}}} \quad (5-265)$$

稳态下, $\frac{dC_x}{dt} = \frac{dC_s}{dt} = 0$, 求得稳态解为:

$$\bar{C}_s = \frac{K_{SI}}{2D} (\mu_{\max} - D) \pm \sqrt{(\mu_{\max} - D)^2 - \frac{4K_s D^2}{K_{SI}}} \quad (5-266)$$

$$C_x = Y_{x/s} (C_{s_1} - \bar{C}_s) \quad (5-267)$$

在 $D < \mu_{\max}$ 时, 从式 (5-266) 可以看出, 有基质抑制时, 存在两个稳态点, 相应的基质浓度为 C_{s_1} 和 \bar{C}_{s_2} , 细胞浓度为 \bar{C}_{x_1} 和 \bar{C}_{x_2} 。

在 $D > \mu_{\max}$ 时, 同样存在洗出态, 此时有 $\bar{C}_s = C_{s_1}$, $\bar{C}_x = 0$ 。

当对体系施以微小扰动时, 对式 (5-264) 和式 (5-265) 进行线性化处理, 同样得到:

$$\frac{dx}{dt} = a_{11}x + a_{12}y \quad (5-268)$$

$$\frac{dy}{dt} = a_{21}x + a_{22}y \quad (5-269)$$

上述方程中的系数为:

$$a_{11} = 0$$

$$a_{21} = \frac{K_s}{C_s} D \left[1 - \frac{D}{\mu_{\max}} \left(1 + 2 \frac{C_s}{K_{SI}} \right) \right]$$

$$a_{21} = -\frac{D}{Y_{s_1}}$$

$$a_{22} = -\left[D + \frac{a_{12}}{Y_{s_1}}\right]$$

特征方程的本征值为：

$$\lambda_1 = -\frac{a_{12}}{Y_{s_1}} \quad (5-270)$$

$$\lambda_2 = -D \quad (5-271)$$

上式中 λ_2 一定为负实数。 λ_1 需视 a_{12} 的值而定。根据 $\mu(C_{s_1}) = \mu(C_{s_2}) = D$ ，又根据式 (5-262)，可推出下式：

$$\frac{\mu_{\max}}{\mu} = \frac{K_S}{C_S} + 1 + \frac{C_S}{K_{SI}} \quad (5-272)$$

又因为 $D = \mu$ ，故有

$$\frac{\mu_{\max}}{D} = \frac{K_S}{C_S} + 1 + \frac{C_S}{K_{SI}} \quad (5-273)$$

在同一 $-D$ 值下，有：

$$\frac{\mu_{\max}}{D} = \frac{K_S}{C_{S_1}} + 1 + \frac{C_{S_1}}{K_{SI}} = \frac{K_S}{C_{S_2}} + 1 + \frac{C_{S_2}}{K_{SI}} \quad (5-274)$$

又因为：

$$\text{当 } C_{S_1} < C_{S,\max} \text{ 时, } \frac{d\mu}{dC_S} > 0, K_S K_{SI} \geq C_{S_1}^2, K_S \geq \frac{C_{S_1}^2}{K_{SI}},$$

$$\text{则: } \frac{\mu_{\max}}{D} \geq 1 + \frac{2C_{S_1}}{K_{SI}}, \text{ 即 } \frac{D}{\mu_{\max}} \leq 1 + \frac{2C_{S_1}}{K_{SI}}.$$

故： a_{12} 为正值， λ_1 为负实数。

所以，当 $C_S = \bar{C}_{S_1}$ 时，该稳态点为稳定的稳态点。

$$\text{当 } C_{S_2} > C_{S,\max} \text{ 时, } \frac{d\mu}{dC_S} < 0, K_S \leq \frac{C_{S_2}^2}{K_{SI}},$$

$$\text{则: } \frac{D}{\mu_{\max}} \geq 1 + 2 \frac{C_{S_2}}{K_{SI}}$$

此时， a_{12} 为负值， λ_1 为正实数，故 $C_S = \bar{C}_{S_2}$ 时，该稳态点是不稳定的稳态点。对该点，当扰动消除后，将不能回复到原来的稳态点进行操作，而是到达另一稳定的稳态点。

若为洗出态，其 $\bar{C}_s = 0$ ， $\bar{C}_x = C_{s_0}$ ，式 (5-268) 和式 (5-269) 的系数为：

$$a_{11} = \frac{\mu_{max}}{K_s + 1 + \frac{C_{s_0}}{K_{s1}}} - D$$

$$a_{12} = 0$$

$$a_{21} = \frac{1}{Y_{x/s}} \frac{\mu_{max}}{K_s + 1 + \frac{C_{s_0}}{K_{s1}}}$$

$$a_{22} = -D$$

特征方程的本征值为：

$$\lambda_1 = \frac{\mu_{max}}{K_s + 1 + \frac{C_{s_0}}{K_{s1}}} - D \quad (5-275)$$

$$\lambda_2 = -D \quad (5-276)$$

或当 $D > \mu_{max}$ ，或 $C_{s_0} < C_{s_1}$ ，或 $C_{s_0} > C_{s_2}$ 时， $\lambda < 0$ ，则洗出态是稳定的；

而当 $C_{s_1} < C_{s_0} < C_{s_2}$ 时， $\lambda_1 > 0$ ，则该洗出态是不稳定的。

归纳上述讨论：对具有基质抑制动力学的 CSTR 各稳态点的稳定性的主要结果归纳在表 5-5 中。

表 5-5 具有基质抑制动力学时 CSTR 各稳态点的稳定性

D	C _{s0}	稳态点		稳定性
		\bar{C}_s	\bar{C}_x	
$D > \mu_{max}$		\bar{C}_{s_1}	0	稳定
$0 < D \leq \mu_{max}$	$C_{s_0} < C_{s_1}$	\bar{C}_{s_1}	0	稳定
	$C_{s_1} \leq C_{s_0} < C_{s_2}$	\bar{C}_{s_2}	0	不稳定
		\bar{C}_{s_1}	\bar{C}_{x_1}	稳定
		\bar{C}_{s_0}	0	稳定
	$C_{s_0} > C_{s_2}$	\bar{C}_{s_1}	\bar{C}_{x_1}	稳定
\bar{C}_{s_2}		\bar{C}_{x_2}	不稳定	

根据图 5-47 所示曲线和表 5-5 所列出结果，对具有抑制动力学 CSTR，共有三个稳态点。其中 $(\bar{C}_{x_1}, \bar{C}_{s_1})$ 点和洗出点 $(\bar{C}_{x_2} = 0,$

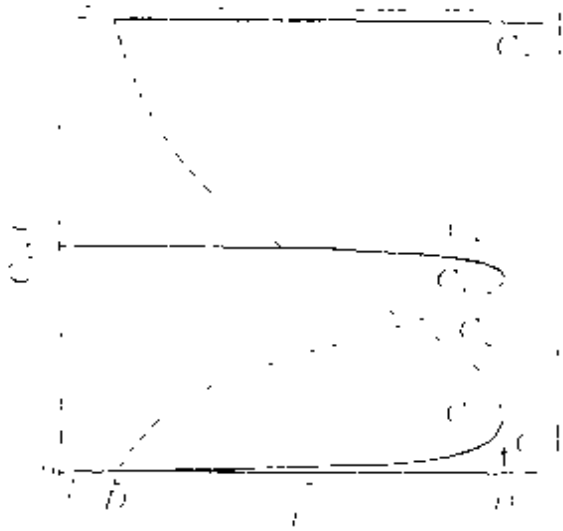


图 5-48 存在基质抑制时, 对 CSTR 性能的影响两个稳态点 $[\bar{C}_{s_1}, \bar{C}_{x_1}]$ 和 $[\bar{C}_{s_2}, \bar{C}_{x_2}]$; 一个非稳态点 $[\bar{C}_{s_3}, \bar{C}_{x_3}]$

$\bar{C}_s = \bar{C}_{s_0}$) 两个点是稳定的稳态点, 而 $(C_{x_2}$ 和 $C_{s_2})$ 点则是不稳定的稳态点。图 5-48 表示了上述三个稳态点随 D 的变化情况。

5.7.4 微小扰动时 CSTR 的瞬时动态特性

瞬时动态特性是指当反应器的运行状态受到干扰后, 其运行状态是如何变化的。例如, 对稳定体系, 它是如何回复到原来的操作状态的; 对非稳定体系, 它是如何过渡到另一新的稳定操作状态的。这些动态变化的轨迹, 反映了反应器瞬时动态操作的特性。通过对其研究, 为

解决反应器的控制提供理论依据。

当所研究的体系是由两个变量 (例如 C_s 和 C_x) 所组成时, 可将这两个变量与时间变量所组成的平面 (例如 C_s-t 和 C_x-t), 除去时间因素, 并将其变化的轨迹共同投影在由该两个变量所组成的平面上, 该平面称为相平面, 所得到的图又称为操作图, 通过该图, 可得到在不同干扰下各变量的变化轨迹。

首先讨论具有 Monod 动力学时 CSTR 的瞬时动态特性。

对式 (5-240) 和式 (5-241), 消去时间变量, 得到:

$$\frac{dC_x}{dC_s} = \frac{C_x \left[\mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s} - D \right]}{D(C_{s_0} - C_s) - \frac{C_x}{Y_{x,s}} \mu_{\max} \frac{C_s}{K_s + C_s}} \quad (5-277)$$

在 C_x 和 C_s 均大于零的范围的, 借助于下述三个方程式将由 C_x 和 C_s 所组成的相平面分成六个子区域, 如图 5-49 所示。

$$C_s = \frac{K_s D}{\mu_{\max} - D} \quad (5-278)$$

$$C_s = -C_{s_0} - \frac{1}{Y_{x/s}} C_x \quad (5-279)$$

$$D(C_s - C_s) = \frac{C_x}{Y_{x/s}} \mu_{max} \frac{C_s}{K_s + C_s} \quad (5-280)$$

图 5-49 中, A、B、C 三条线分别表示式 (5-278)、式 (5-279) 和式 (5-280)。

根据式 (5-278), 当 D 一定, 则 C_s 也一定, 故 A 为一水平线。

根据式 (5-279), 当 C_{s_0} 一定, 则随 C_x 的增加, C_s 必下降, 故 B 为一斜线。

根据式 (5-280), C 线为一曲线。

当 D 和 C_{s_0} 一定时, 三条线交点为该体系的稳态点, 即图 5-49 中的 Q 点, 该点所对应的值为 \bar{C}_x 和 \bar{C}_s 。

为了理解在图 5-49 中不同区域内的动态特性, 有必要了解在各个区域内 C_x 和 C_s 的关系, 该关系称为对时间的应答关系。具体特点见表 5-6 和图 5-50。

表 5-6 C_x 和 C_s 在各子区域的时间应答特性

开始区域	$C_x(t)$	$C_s(t)$	开始区域	$C_x(t)$	$C_s(t)$
I	$C_{x,max}$	$C_{s,min}$	IV	$C_{x,min}$	$C_{s,max}$
II	$\frac{dC_x}{dt} > 0$	$\frac{dC_s}{dt} < 0$	V	$\frac{dC_x}{dt} < 0$	$\frac{dC_s}{dt} > 0$
III	$\frac{dC_x}{dt} > 0$	$C_{s,max}$	VI	$\frac{dC_x}{dt} < 0$	$C_{s,min}$

表 5-6 中所表示的是 $C_x(t)$ 和 $C_s(t)$ 在每个子区域内的变化特点和规律。

图 5-50 中所表示的是相应各个子区域内 C_x 和 C_s 值与时间的瞬时应答曲线。

表 5-6 和图 5-50 中所表示的结果是一致的。这些关系表示了对 Monod 动力学的 CSTR, 从不同的初态达到稳定的瞬时动态行为。

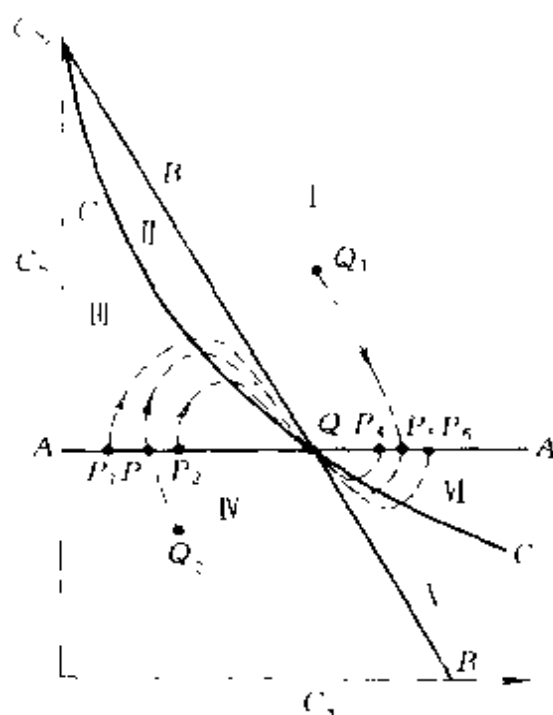


图 5-49 Monod 模型的相平面图

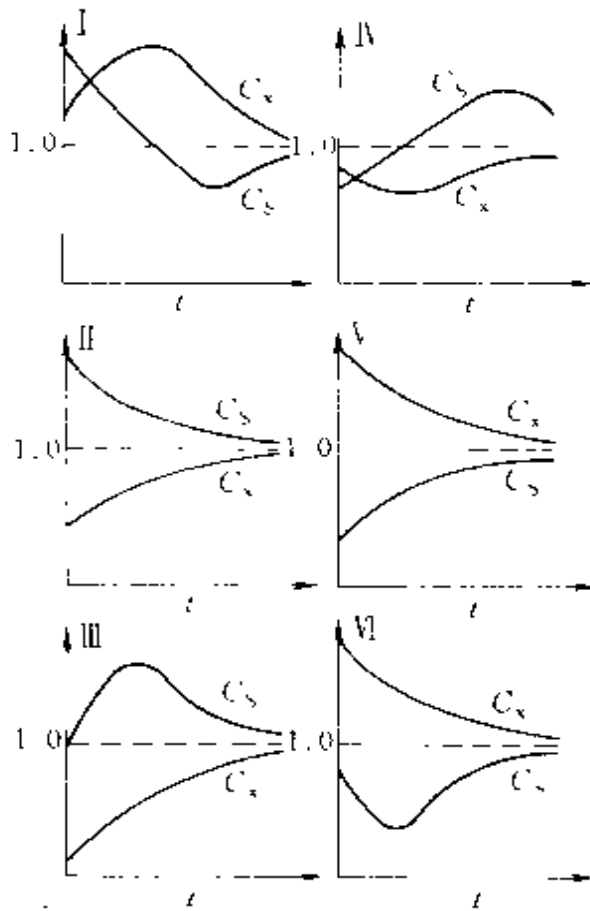


图 5-50 时间函数的各种应答曲线

根据上述分析，我们可以看出，如果外界的扰动使 C_{s_0} 增加（见图 5-49），使其原稳态点由 Q 点偏离到区域 I 的 Q_1 点处，当扰动消失后，它将沿着图中 P_1 、 P_2 、 P_3 等虚线所表示的轨迹，回复到其稳态点，从这些虚线变化的轨迹看，对 $C_{s(t)}$ 有下凹关系，即存在 $C_{s,\min}$ ；对 $C_{x(t)}$ 有上凸关系，即存在 $C_{x,\max}$ 值。

如果外界干扰使 C_{s_0} 下降，其稳态点由 Q 偏离到区域 IV 的 Q_2 处，当扰动消失后，它将沿着图 5-49 中 P_1 、 P_2 、 P_3 等虚线的轨迹回复到稳态点 Q 处，从其变化轨迹看，对 $C_{s(t)}$ 有一上凸关系，对 $C_{x(t)}$ 有下凹关系，这些结果与表 5-6 和图 5-50 中所表示的规律是一致的。

如果 D 发生波动，则其稳态点将沿着图 5-49 所描述的 C 线变化，随着稀释率 D 的下降，导致 C_s 减小， C_x 增大，稳态点沿着 C 线从左边上部到右边的下部移动。

在讨论反应器稳定性时，采用了特征方程的本征值 λ 的特点来判断稳态点的稳定性，又根据上述分析，可采用相平面图来表示不同的稳态点的稳定情况，现将这两者相联系，可得到如图 5-51 所示的不同稳定情况的相平面图。

当 $\lambda_1 < \lambda_2 < 0$ 时，为稳定节点，其相平面图为图 5-51 中 (a) 图；
 当 $\lambda_1 = \lambda_2 < 0$ 时，为稳定节点，相平面图为图 5-51 中 (b) 图；
 当 $\lambda_1 < 0 < \lambda_2$ 时，为不稳定鞍状点，其相平面图为图 5-51 中 (c) 图；
 当 $\lambda = -a \pm bi$ ，而 $a < 0$ ，为稳定焦点，相平面图为图 5-51 中 (d) 图。
 另外一些不稳定系统，例如 $\lambda_1 \leq \lambda_2 > 0$ ，或 $\lambda = a \pm bi$ ， $a > 0$ ，则其

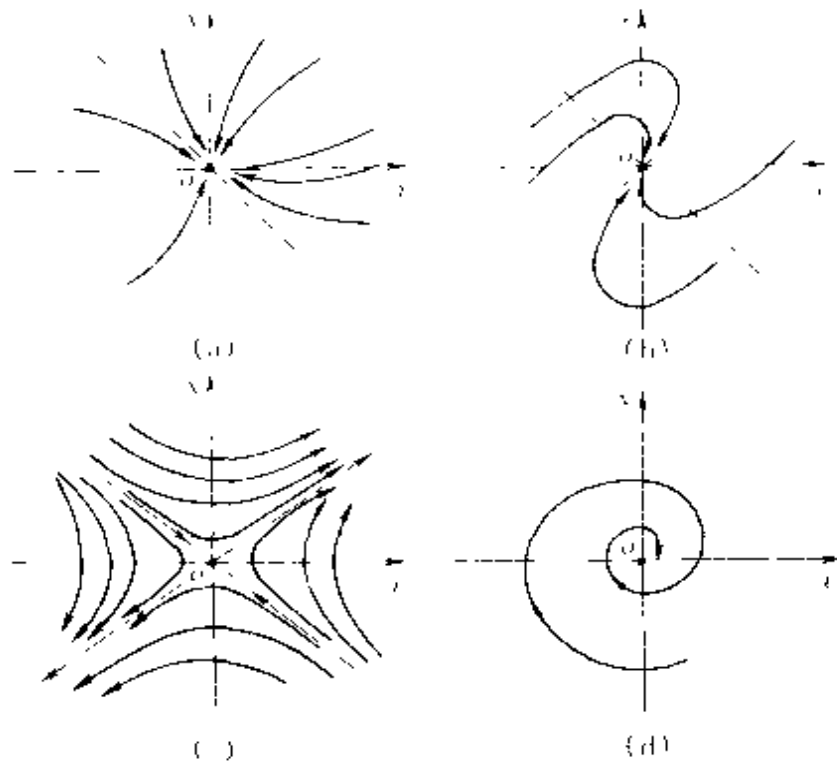


图 5-51 二元线性系统的相图

相平面图只要把相对应的稳定体系的相平面图中的箭头改为相反方向即可。

图 5-52 为对具有 Monod 动力学的 CSTR 的瞬时动态特性模拟计算的相平面图，图中的点为其稳定的稳态点，不同曲线表示动态变化的轨迹。

若为基质抑制动力学，则相平面如图 5-53 所示。

根据

$$D = \mu = \frac{\mu_{\max}}{1 + \frac{K_S}{C_S} + \frac{C_S}{K_{SI}}} \quad (5-281)$$

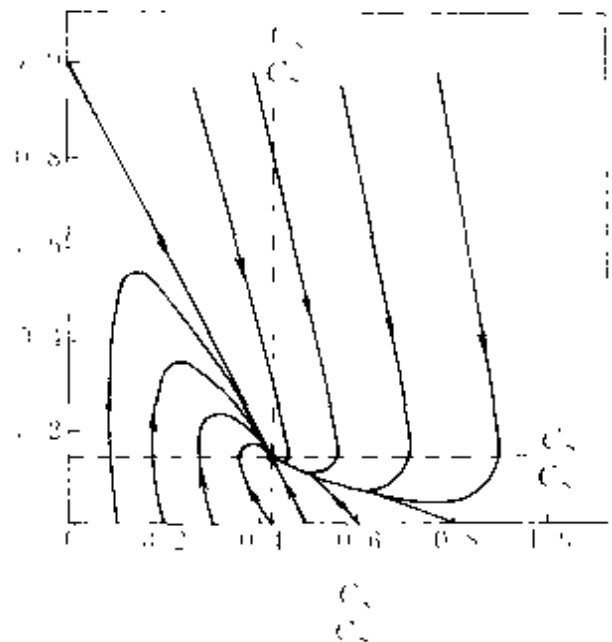


图 5-52 具有 Monod 动力学时 CSTR 的瞬时动态特性相平面图

($\mu_{\max} = 0.5 \text{ h}^{-1}$, $K_S = 0.1 C_{S0}$,
 $D = 0.3 \text{ h}^{-1}$, $Y_{x/S} = 0.5$)

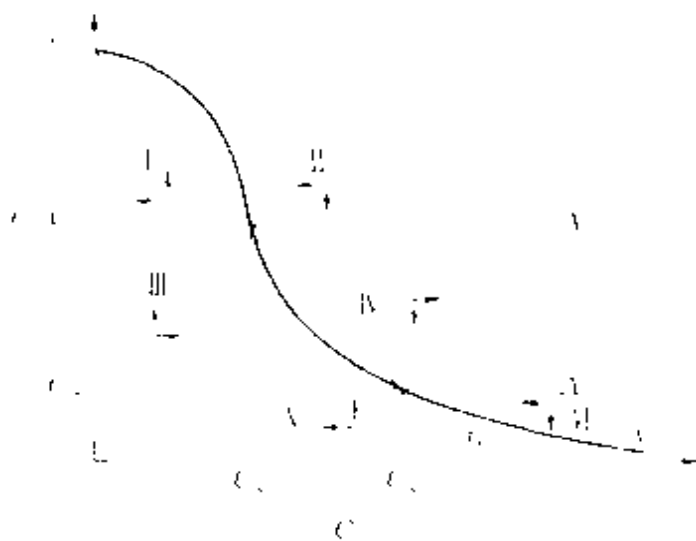


图 5-53 具有基质抑制动力学相平面图

$$C_x = C_{s_0} - \frac{1}{Y_{x/s}} C_x \quad (5-282)$$

$$D(C_{s_0} - C_s) = \frac{C_s}{Y_{x/s}} \left[\frac{\mu_{max}}{K_s + C_s} - \frac{C_s}{K_{SI}} \right] \quad (5-283)$$

和 $D = \mu(C_{s_1}) - \mu(C_{s_2})$ (5-284)

在图 5-53 中分别为 A_1 $[D = \mu(C_{s_1})]$, A_2 $[D = \mu(C_{s_2})]$, B [式 (5-282)] 和 C [式 (5-283)] 线。在该图中由直线 A_1 、 A_2 和 B 把整个相平面分成六个子区域，每个子区域中 C_x 和 C_s 随 t 变化的规律见表 5-7。该变化规律在图 5-53 中是用箭头表示其向量符号。

表 5-7 有抑制相平面图的 $\frac{dC_x}{dt}$ 和 $\frac{dC_s}{dt}$ 的符号

子区域	I	II	III	IV	V	VI
$\frac{dC_x}{dt}$	-	+	+	-	-	-
$\frac{dC_s}{dt}$	+	-	+	-	+	-

同样，对具有基质抑制动力学的 CSTR 的瞬时动态特性进行了模拟计算，得到相平面图如图 5-54 所示。

从图 5-54 中可以看出，当 $C_{s_0} > C_{s_2}$ 时，共有三个稳态点，其中 1 点是稳定的稳态点，2 点是不稳定的稳态点，3 点是稳定的洗出点。图中各曲线是其瞬时动态变化的轨迹。

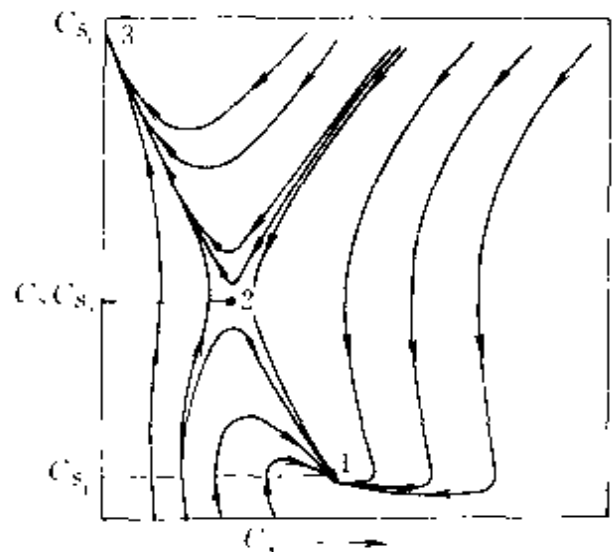


图 5-54 具有基质抑制时的相平面图

习 题

5.1 在一间歇发酵罐内,厌氧条件下利用 *Zymomonas mobilis* 进行葡萄糖转化为乙醇的反应,细胞对基质的得率 $Y_{x/s}=0.06$,产物对细胞得率 $Y_{p/x}=7.7$,细胞维持系数 $m_s=2.2\text{h}^{-1}$,与代谢产物生成比速率 q_p 有关的常数 $\beta=1.1\text{h}^{-1}$,*Z. mobilis*的最大比生长速率 $\mu_{\max}=0.3\text{h}^{-1}$,在50L培养基中接种5g菌种,培养基中葡萄糖浓度为12g/L,试确定下述情况下所需间歇培养的时间:

- (1) 生产10g细胞;
- (2) 葡萄糖转化率为0.90时;
- (3) 生产100g乙醇。

5.2 某酶催化反应,已知其 $r_{\max}=9\text{mmol}/(\text{L}\cdot\text{h})$, $K_m=8.9\text{mmol}/\text{L}$, $C_{s_0}=12\text{mmol}/\text{L}$,酶失活半衰期为4.4h,试求若该反应在一间歇操作反应器中进行,当底物转化率为0.90时,所需要的反应时间是多少?

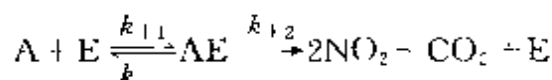
5.3 在一间歇操作的反应器中进行均相酶催化反应 $S \rightarrow P$,已知该反应的动力学方程为

$$r_s = \frac{200C_s C_{E_0}}{2 + C_s} \quad \text{mol}/(\text{L}\cdot\text{min})$$

已知 $C_{E_0}=0.001\text{mol}/\text{L}$, $C_{s_0}=10\text{mol}/\text{L}$

试求当反应底物S的浓度下降到0.025mol/L时,所需要的反应时间是多少?

5.4 在脲酶作用下尿素(A)的分解反应可用下式来表示:



当 $C_{F_0}=5\text{g}/\text{L}$ 时, $r_{\max}=3.33\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{s})$, $K_m=0.0266\text{mol}/\text{L}$ 。若该反应在一间歇式反应器中进行,尿素的初始浓度 $C_{A_0}=0.1\text{mol}/\text{L}$,脲酶的初始浓度 $C_{F_0}=0.001\text{g}/\text{L}$,试求将80%的尿素分解所需要的时间。

5.5 对某一 $S \rightarrow P$ 的均相酶催化反应,假定该反应动力学方程符合M-M方程形式,且已知其 $K_m=1.2\text{mol}/\text{L}$, $r_{\max}=3 \times 10^{-2}\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{min})$ 。

根据设计要求年产产物P为72000mol,并已知 $C_{s_0}=2\text{mol}/\text{L}$, $X_s=0.95$ 。全年反应器的操作时间为7200h,其中BSTR的每一操作周期内所需辅助时间为2h。若分别采用BSTR和CSTR进行上述反应,试求所需反应器有效体积应为多少?

5.6 在一定的酶浓度存在下,液相底物S分解为产物P,该反应仅有底物S影响其反应速率,其动力学数据如下:

$C_S/(\text{mol/L})$	1	2	3	4	5	6	8	10
$r_S/[\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})]$	1	2	3	4	4.7	4.9	5	5

现在 CSTR 中进行此分解反应，保持相同的酶浓度和其操作条件。试求：

(1) 当 $V_R = 250\text{L}$, $C_{S_0} = 10\text{mol/L}$, $X_S = 0.80$ 时，进料体积流量 V_0 应为多少？

(2) 当 $V_0 = 100\text{L/min}$, $C_{S_0} = 15\text{mol/L}$, $X_S = 0.80$ 时，反应器有效体积 V_R 为多大？

(3) 当 $V_R = 3\text{m}^3$, $V_0 = 1\text{m}^3/\text{min}$, $C_{S_0} = 8\text{mol/L}$ ，反应器出口基质浓度和反应器内基质浓度各为多少？

(4) 当 $V_R = 1\text{m}^3$, $V_0 = 1\text{m}^3/\text{min}$, $C_{S_0} = 15\text{mol/L}$ ，其出口基质浓度为多少？

5.7 酪氨酸酶固定在直径为 2mm 的球形颗粒上用于转化酪氨酸，该反应在 CSTR 中进行。该固定化酶 $K_m = 2\text{mol/m}^3$ ，加料溶液中含有 15mol/m^3 的酪氨酸。由于底物成本高，要求其转化率为 0.99。反应器内颗粒浓度为 $0.25\text{m}^3/\text{m}^3$ ，本征最大速率常数 $r_{\max} = 1.5 \times 10^{-2}\text{mol}/(\text{s} \cdot \text{m}^3 \text{颗粒})$ ，酪氨酸有效扩散系数为 $7 \times 10^{-10}\text{m}^2/\text{s}$ ，外扩散影响可忽略不计，并且在整个反应过程中，酶的活性是稳定的，试确定每天处理 18m^3 酪氨酸溶液时所需要反应器体积。

5.8 *Zymomonas mobilis* 细胞在 CSTR 中进行培养， $V_R = 60\text{m}^3$ ，加料中含有 12g/L 葡萄糖，已知 $Y_{x/s} = 0.06$, $Y_{p/x} = 7.7$, $\mu_{\max} = 0.3\text{h}^{-1}$, $m_s = 2.2\text{h}^{-1}$, $q_p = 3.4\text{h}^{-1}$ 。试求：

(1) 稳态下，CSTR 中基质浓度为 1.5g/L 时，所要求的流量是多少？

(2) 在上述流量下其细胞浓度是多少？

(3) 在 (1) 流量下，产物乙醇浓度是多少？

5.9 在 5m^3 CSTR 中进行连续发酵，加料中基质浓度为 20kg/m^3 ，该反应的有关参数为： $\mu_{\max} = 0.45\text{h}^{-1}$, $K_S = 0.8\text{kg/m}^3$, $Y_{x/s} = 0.55$ 。试求：

(1) 当基质达到 90% 转化时，所要求的加料速率是多少？

(2) 当 $X_S = 0.90$ 时，如何操作使细胞产率达到最大？最大产率是多少？

5.10 在 CSTR 中进行某一有抑制的反应，其比生长速率可表示为：

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_S}{K_S + C_S + C_I \frac{K_S}{K_I}}$$

已知： $C_{S_0} = 10\text{g/L}$, $K_S = 1\text{g/L}$, $C_I = 0.05\text{g/L}$, $Y_{x/s} = 0.1$, $C_{x_0} = 0$, $K_I = 0.01\text{g/L}$, $\mu_{\max} = 0.5\text{h}^{-1}$ 。

试求：

(1) 当 $C_I = 0$ 时，写出 C_S 和 C_x 各自与 D 的关系式；

(2) 当在 CSTR 中有抑制剂存在时, 写出流出物中 C_s 和 C_x 各自与 D 的关系式;

(3) 表示出细胞产率 $P_x = DC_x$ 值与 D 的关系式。

5.11 某假单孢菌用于从甲醇生产单细胞蛋白, 已知 $Y_{x,s} = 0.41$, $K_s = 0.7 \text{ mg/L}$, $\mu_{\max} = 0.41 \text{ h}^{-1}$, 培养器中甲醇浓度 1% (W/V), 要求甲醇转化率为 0.98, 反应器体积 1000 m^3 , 该反应器可以间歇操作, 也可连续操作。若为间歇操作, 接种量为 0.01% (W/V), 在每次间歇操作中辅助操作时间为 20h。如果连续操作, 停工检修期每年为 25 天。若忽略细胞维持能对基质的要求, 试比较一年内间歇与连续两种操作情况下的产量各是多少?

5.12 某假单孢菌在乙酸上生长时, 其质量倍增时间为 2.4h, $K_s = 1.3 \text{ g/L}$, $Y_{x,s} = 0.46$, 在 CSTR 中进行反应, 加料中含有 38g/L 乙酸。

试求:

- (1) 当 D 为其最大值一半时, $C_s = ?$
- (2) 当 $D = 0.8D_c$ 时 $C_s = ?$
- (3) $D_c = ?$
- (4) 当 $D = 0.8D_c$ 时, 细胞产率是多少?

5.13 某一微生物反应, 其速率方程为

$$r_x = \frac{2C_s C_x}{1 + C_s} \quad \text{g}/(\text{m}^3 \cdot \text{h})$$

现已知 $C_{s_0} = 3 \text{ g/m}^3$, $C_{x_0} = 0$, $Y_{x,s} = 0.5$, $V_R = 1 \text{ m}^3$

若该反应在 CSTR 反应器中进行。

试求:

- (1) 该反应的最佳加料速率应为多少? 此时反应器出口 C_x 、 C_s 、 DC_x 各为多少?
- (2) 当加料速率为 $1/3 \text{ m}^3/\text{h}$ 时, C_x 、 C_s 、 DC_x 又为多少?

5.14 某微生物在甘露醇中的生长符合下述动力学:

$$r_x = \frac{1.5C_s C_x}{3.0 + C_s} \quad \text{g}/(\text{m}^3 \cdot \text{h})$$

式中 C_s ——甘露醇的浓度;

C_x ——微生物的浓度。

已知每生长 1g 微生物要消耗 10g 甘露醇, 今在一体积为 5 m^3 的 CSTR 中进行上述反应, 并已知 $V_0 = 1 \text{ m}^3/\text{h}$, $C_{s_0} = 6 \text{ g/m}^3$, $C_{x_0} = 0$ 。试求反应器出口中微生物浓度是多少? 若将 CSTR 的体积改为 0.75 m^3 , 其他条件不变, 此时会产生何种变

化? 若在最佳条件下进行反应, 其出口浓度为多少?

5.15 在某种细菌作用下, 碎纸降解可生成葡萄糖, 反应在 CSTR 反应器中进行, $V_R = 50\text{L}$, 若反应生成葡萄糖量过多, 它又会对细菌产生抑制作用, 成为速率控制因素。实验结果为:

当 $V_2 = 16\text{L/h}$ 时, $C_{P_1} = 54\text{m mol/L}$;

当 $V_2 = 4\text{L/h}$ 时, $C_{P_2} = 75\text{m mol/L}$

试根据上述实验数据确定, 为了在单位时间内生产最大量的葡萄糖, 其加料速率应为多少? 此时葡萄糖的生产速率又是多少?

5.16 某细胞反应体系的动力学方程为:

$$r_x = \mu C_x$$

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_s}{K_s + C_s}$$

$$r_s = \frac{1}{Y_{x,s}} r_x$$

$$r_i = (\alpha\mu + \beta)C_x$$

已知其动力学参数为: $\mu_{\max} = 0.7\text{h}^{-1}$, $Y_{x,s} = 0.5$, $K_s = 20\text{mg/L}$, $Y_{P,x} = 0.15$, $\alpha = 0.1$, $\beta = 0.02\text{h}^{-1}$, $C_{s_0} = 1\text{g/L}$ 。

试求:

(1) 确定当 DX_p 为最大时的 $D_{opt} = ?$

(2) 确定当 DX_x 为最大时的 $D_{opt} = ?$

5.17 某微生物反应的动力学方程为

$$r_x = \frac{2C_s C_x}{1 + C_s} \quad \text{g}/(\text{L} \cdot \text{min})$$

已知 $C_{x_0} = C_{P_0} = 0$, $C_{s_0} = 3\text{g/L}$, $Y_{x,s} = 0.5$

试确定

(1) 在单一 CSTR 中, $V_R = 1\text{L}$, $V_0 = 1\text{L/min}$, 求出口 $C_s = ?$

(2) 在同一 CSTR 中, 如果 $V_0 = 3\text{L/min}$, 其出口 $C_s = ?$

(3) 如果在 $V_0 = 3\text{L/min}$ 下操作, 得到出口 $C_s = 1/3\text{g/L}$, 则其 CSTR 的体积 $V_R = ?$

(4) 在两相串联 CSTR 中进行上述反应, 每一 CSTR 的体积均等于 1L , 加料速率 $V_0 = 1\text{L/min}$, 此时得到的最低 C_s 值为多少?

(5) 如果对上述反应采用菌体提浓后再循环的操作方式, 已知 $C_{s_0} = 3\text{g/L}$, $Y_{x,s} = 0.5$, $V_R = 1\text{L}$, $V_0 = 1\text{L/min}$, $C_{x_0} = C_{P_0} = 0$, $R = 1/2$, $\frac{C_{x_f}}{C_{x_i}} = 4$, 求最终离开反

应系统的 C_{x_f} 和 C_{s_f} 各为多少?

5.18 若在一 CSTR 中进行微生物反应, 其速率方程为:

$$r_x = -\frac{2C_s C_x}{1 - C_s} \quad \text{g}/(\text{m}^3 \cdot \text{h})$$

已知 $C_{s_0} = 3\text{g}/\text{m}^3$, $C_x = C_{x_0} = 0$, $V_R = 0.5\text{m}^3$, 每生成 1g 微生物消耗 2.5g 的基质 S,

(1) 试求在单一 CSTR 中在最佳操作条件下反应器中基质浓度。

(2) 若采用带循环反应系统, 循环比为 1/3, $\frac{C_{x_f}}{C_{x_0}} = 6$, 试求在总反应系统的出口处基质的浓度 C_s 和菌体浓度 C_x 各为多少?

5.19 在一带循环的 CSTR 进行某细胞培养, 已知, 加料速率 $V = 100\text{ml}/\text{h}$, 反应器有效体积 $V_R = 1000\text{ml}$, 葡萄糖为限制性基质, $Y_{x/s} = 0.5$, $C_{s_0} = 10\text{g}/\text{L}$, $\mu_{\max} = 0.2\text{h}^{-1}$, $K_S = 1\text{g}/\text{L}$, 循环参数 $R = 0.7$, $\beta = 1.5$,

试求:

(1) 比生长速率 $\mu = ?$

(2) 循环物流中基质浓度和细胞浓度各为多少?

(3) 离开细胞分离器的细胞浓度是多少?

5.20 在一流加反应器中进行葡萄糖溶液流加发酵过程, 当该流加系统可视为拟稳态操作时, 在发酵时间为 2h 时, 有下列数据:

$$V_R = 1000\text{ml}, V = \frac{dV_R}{dt} = 200\text{ml}/\text{h}$$

$$C_{s_0} = 100\text{g}/\text{L}, \mu_{\max} = 0.3\text{h}^{-1}, K_S = 1\text{g}/\text{L}, Y_{x/s} = 0.5, C_{x_0} = 30\text{g}/\text{L}.$$

试求:

(1) 反应器中初始培养液的体积是多少?

(2) 确定反应器中基质浓度为多少?

(3) 确定反应器中生物量为多少? ($t = 2\text{h}$)

5.21 在 V_R 为 1000L 的 CSTR 中用葡萄糖作为基质发酵生产某细胞, 该细胞生长遵循 Monod 动力学, 已知 $\mu_{\max} = 0.4\text{h}^{-1}$, $K_S = 1.5\text{g}/\text{L}$, $Y_{x/s} = 0.5$, 加料中 $C_{s_0} = 10\text{g}/\text{L}$, 加料速率 $V = 100\text{L}/\text{h}$.

试求:

(1) 细胞生产速率是多少?

(2) 如果采用循环操作, 循环物流流量为 10L/h, 循环时 $C_{x_f}/C_{x_0} = \beta = 5$, 此时细胞生产速率又是多少?

5.22 在一两段 CSTR 串联系统, 其中 $V_{R_1} = 500\text{L}$, $V_{R_2} = 300\text{L}$, 第一个 CSTR 用于生产细胞, 第二个 CSTR 用于生产代谢产物。对第一个反应器加料速率为 $V = 100\text{L/h}$, 加料中葡萄糖浓度为 $C_{S_0} = 5\text{g/L}$, 并已知 $\mu_{\max} = 0.3\text{h}^{-1}$, $K_S = 0.1\text{g/L}$, $Y_{x/s} = 0.4$ 。

试确定:

- (1) 在第一个 CSTR 出口物流中细胞和基质的浓度为多少?
- (2) 假定在第二个 CSTR 中细胞的生长可忽略, 已知 $q_p = 0.02\text{gP}/(\text{gcell} \cdot \text{h})$, $Y_{P/S} = 0.6$, 求出在第二个 CSTR 出口物流中基质和产物的浓度。

5.23 在一流加操作反应器中进行青霉素的生产, 用葡萄糖做培养基。在拟稳态下, 反应器初始物料体积 $V_{R_0} = 500\text{L}$, 加料速率 $V = 50\text{L/h}$, $C_{S_0} = 300\text{g/L}$, $C_{x_0} = 20\text{g/L}$, $\mu = 0.2\text{h}^{-1}$, $K_S = 0.5\text{g/L}$, $Y_{x/s} = 0.3$ 。

试求:

- (1) 在 $t = 10\text{h}$ 时, $V_R = ?$
- (2) 在 $t = 10\text{h}$ 时, $C_S = ?$
- (3) 在 $t = 10\text{h}$ 时, $C_x = ?$

5.24 在一两段 CSTR 串联系统用于生产二级代谢产物。每一反应器有效体积 $V_R = 0.5\text{m}^3$, 加料速率为 50L/h , 第一个反应器为菌丝体生长, 第二个反应器用于代谢产物合成。加料中基质浓度为 10g/L , 其他参数为: $Y_{x/s} = 0.5$, $K_S = 1.0\text{kg}/\text{m}^3$, $\mu_{\max} = 0.12\text{h}^{-1}$, $m_S = 0.025\text{kg}/(\text{kg} \cdot \text{h})$, $q_p = 0.16\text{h}^{-1}$, $Y_{P/S} = 0.85$, 并假设在第一反应器中忽略产物合成, 在第二反应器中忽略细胞生长。

试求:

- (1) 确定进入第二反应器的细胞和基质的浓度是多少?
- (2) 基质总转化率是多少?
- (3) 代谢产物最终浓度是多少?

5.25 某一均相酶催化反应, 在活塞流反应器中进行, 其动力学方程为

$$r_s = \frac{0.1C_S}{1 + 0.5C_S} \quad \text{mol}/(\text{L} \cdot \text{min})$$

若进料流量为 $25\text{L}/\text{min}$; 反应底物 S 在反应器出口已转化了 95%, 底物初始浓度为 $2\text{mol}/\text{L}$ 时, 所需反应器体积为多大?

5.26 某微生物反应的动力学方程为

$$r_s = \frac{1}{Y_{x/s}} \frac{6C_S C_x}{0.2 + C_S} \quad \text{mol}/(\text{m}^3 \cdot \text{min})$$

该反应在带有产物循环的活塞流反应器中进行, 反应器体积为 0.01m^3 , 并已知 $C_{s_0}=0$, 试分别求出在下列条件下该反应系统中进料的体积流量。

- (1) 要求由 $C_{s_0}=5\text{mol}/\text{m}^3$ 下降到 $C_s=1\text{mol}/\text{m}^3$, $R=3$;
- (2) 要求由 $C_{s_0}=12\text{mol}/\text{m}^3$ 下降到 $C_s=1\text{mol}/\text{m}^3$, $R=8$;
- (3) 要求由 $C_{s_0}=5\text{mol}/\text{m}^3$ 下降到 $C_s=1\text{mol}/\text{m}^3$, $R=1$ 。

5.27 某液相酶催化反应具有下列动力学数据:

$C_s/(\text{mol}/\text{L})$	1	2	4	6	8	10
$r_s/[\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{min})]$	0.125	0.333	1	1	0.25	0.1

已知 $C_{s_0}=10\text{mol}/\text{L}$, $V_0=100\text{L}/\text{min}$, $X_s=0.90$ 。

(1) 若采用带循环的活塞流反应器, 试求其最佳循环比及相应的反应器有效体积;

(2) 若要使反应器体积最小, 如何设计最佳反应器组合方案? 画出示意图, 并指出每个反应器有效体积大小。

5.28 在工业污水中含有有害物质 S, 在一种特殊酶作用下, S 会降解为一无害化合物, 反应系统为液相, 反应速率仅取决于 C_s 值的变化。

$C_s/(\mu\text{mol}/\text{L})$	1	2	3	4	5	7	8	10	12	20
$r_s/[\mu\text{mol}/(\text{L}\cdot\text{min})]$	0.1	0.25	0.6	1.25	2	0.8	0.5	0.3	0.25	0.2

现处理物料 $V_0=10\text{L}/\text{min}$, $C_{s_0}=10\mu\text{mol}/\text{L}$, $X_s=0.90$ 。

试求:

- (1) 若采用 CPFR, $V_R=?$
- (2) 若采用带循环 CPFR (无提浓装置), 其循环量为多大?
- (3) 若用一个 CSTR, $V_R=?$
- (4) 如何组织使所需 V_R 为最小? 并求其 $V_R=?$

5.29 用固定化酵母使葡萄糖转化为乙醇, 反应在固定床反应器中进行, 乙醇生成比速率 $q_p=0.2\text{h}^{-1}$, 床层中平均细胞浓度 $C_x=25\text{g}/\text{L}$ (干重), 假定酵母在床层中不生长。由于固定化酵母颗粒很小, 有效因子 $\eta\approx 1$, 加料速率 $V=400\text{L}/\text{h}$, $C_{s_0}=100\text{g}/\text{L}$, 床层直径 1m , $Y_{p/s}=0.49$ 。

试求:

- (1) 当反应器出口处葡萄糖转化率为 0.98 时, 床层高度应为多少?
- (2) 求出反应器出口物料中乙醇浓度值。

5.30 同上述反应体系, 若仍采用固定床反应器, 加料中葡萄糖在液相主体

中浓度为 5g/l ，培养基加料速率 $V = 2\text{L/min}$ ，颗粒直径 $d_p \sim 0.5\text{cm}$ ，反应速率有关常数为 $r_{\max} = 100\text{mg}/(\text{cm}^3 \cdot \text{h})$ ， $K_S = 10\text{mg}/\text{cm}^3$ ，动力学方程式可表示为：

$$r_s = \frac{r_{\max} C_s}{K_S + C_s}$$

单位体积反应器所具有固定化酵母颗粒的表面积 $a = 2.5\text{cm}^2/\text{cm}^3$ ，床层横截面积 $A = 100\text{cm}^2$ ，若在低基质浓度下，上述反应可当做一级反应动力学处理，试求出当葡萄糖最终转化率为 0.80 时所需要床层高度是多少？为了计算有效因子，假设 $k_1 = r_{\max}/K_S$ ， $D_c = 1 \times 10^{-6}\text{cm}^2/\text{s}$ 。

5.31 有均相酶反应系统，由底物 S 生成产物 P 的速率方程为

$$r_s = r_p = \frac{k_1 C_{E_0} C_s}{K_m + C_s}$$

式中 $K_m = 1 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ ， $C_{S_0} = 3 \times 10^{-3}\text{mol/L}$ 。

该反应若在 BSTR 中进行时，经过 2min 反应后，基质转化率为 5% ；

现若将此均相反应放在如图 5C 所示带有膜透析稳态系统中进行，假定反应器为全混流，膜透析器中酶不损失，并已知 $V_D = \frac{1}{3}\text{L/s}$ ， $V_R = 1000\text{L}$ 。

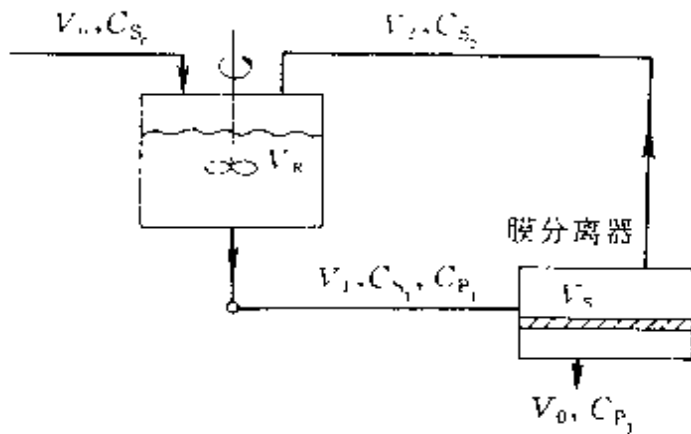


图 5C 膜透析反应系统

试求 C_{S_1} 和 C_{P_1} 各为多少？

5.32 某酵母生长动力学如下

$$\mu = \frac{0.976 C_s}{(2.03 + 0.214 C_s^2)(1 + I^2)} \quad (\text{h}^{-1})$$

式中 C_s ——基质浓度， g/L ；

I ——修正系数。

I 与时间关系为

$$I = 0 \quad t \leq 2\text{h}$$

$$I = 0.5(t - 2) \quad t > 2\text{h}$$

相应基质的比消耗速率为

$$q_s = 1.44 \times \mu + 1.84 \times 10^{-3} \quad (\text{h}^{-1})$$

(1) 试求在上述情况下，发酵液应维持的最佳基质浓度；

(2) 若采用流加操作方式来生产酵母, 并已知发酵初 $C_{s_0} = 2.38\text{g/L}$, $C_{s_1} = 6.0\text{g/L}$, $V_R = 12\text{L}$, 试确定: 发酵进行到何时开始流加? 流加速率为多少? 若发酵已进行了 10h , 酵母产量为多少?

5.33 某细胞反应, 加料初始浓度 $C_{s_0} = 10\text{kg/m}^3$, 反应器总体积 $V_R = 0.10\text{m}^3$, 该反应遵循 Monod 动力学, 其参数为 $\mu_{\max} = 0.4\text{h}^{-1}$, $K_s = 2\text{kg/m}^3$, $Y_{x/s} = 0.5$, 加料速率 $V = 15 \times 10^{-3}\text{m}^3/\text{h}$.

试求:

(1) 当用一个 CSTR, $V_R = 0.10\text{m}^3$ 细胞最大产率是多少?

(2) 当用两个 CSTR 串联, 并且 $V_R = V_{R_1} + V_{R_2}$, $V_{R_1} = V_{R_2}$, 细胞最大产率是多少?

(3) 当用一个 CSTR (V_{R_1}) 和一个 CSTR (V_{R_2}) 相串联, 并且 $V_R = V_{R_1} + V_{R_2}$, $V_{R_1} = V_{R_2}$ 则细胞最大产率是多少?

5.34 蔗糖在蔗糖酶催化下的反应遵循底物抑制动力学。将一固定化的蔗糖酶用于 CSTR 中。忽略传质因素的影响。加料初始浓度为 100mol/m^3 。如果在蔗糖浓度为 20mol/m^3 时其反应速率为最大, 则加料速率此时应为多大? 已知该反应 $K_m = 8\text{mol/m}^3$, $r_{\max} = 4.45 \times 10^{-3}\text{mol}/(\text{m}^3 \cdot \text{s})$, $V_R = 0.001\text{m}^3$ 。

5.35 某细胞反应在一 CSTR 中进行, 它为 S-基质有抑制的反应, 动力学为:

$$\mu = \frac{\mu_{\max} C_s}{K_s + C_s + \frac{C_s^2}{K_{si}}}$$

动力学参数为: $\mu_{\max} = 0.2\text{h}^{-1}$, $K_s = 2 \times 10^{-3}\text{kg/m}^3$, $K_{si} = 150 \times 10^{-3}\text{kg/m}^3$, $C_{s_0} = 0.2\text{kg/m}^3$, $Y_{x/s} = 0.5$, 稀释率 $D = 0.1\text{h}^{-1}$ 。

试问可能存在多少稳态? 并确定每一稳态的稳定性。

5.36 某细胞生长动力学为 Monod 方程:

$$r_x = \frac{0.935 C_s C_x}{0.71 + C_s} \quad \text{g}/(\text{L} \cdot \text{h})$$

在体积为 10L 的 CSTR 中进行培养。基质加料速率 $V_0 = 7\text{L/h}$, 初始浓度 $C_{s_0} = 10\text{g/L}$, $Y_{x/s} = 0.6$ 。

试求:

(1) 出口物料中 C_x 和 C_s 为多少?

(2) 如果采用两个 CSTR 串联, 每个反应器 $V_R = 10\text{L}$, 则第二个反应器出口 C_x 和 C_s 为多少?

(3) 如果加料速率从 7L/h 提高到 10L/h , 并采用两个 CSTR 串联, 将会发生

什么现象？为什么？

5.37 Herbert 等报道某细胞生长动力学为 Monod 动力学形式，并已知 $\mu_{max} = 0.85h^{-1}$ ， $K_s = 1.23 \times 10^{-2}g/L$ ， $Y_{x/s} = 0.53$ ，若已知加料速率控制在 $100L/h$ ，加料初始浓度 $C_{s_0} = 3g/L$ ，最终离开反应器的浓度为 $C_s = 0.1g/L$ 。

试求：

(1) 试设计一最佳反应器组合，使得到细胞产率为最大；

(2) 如果 K_s 改变为 $1.23g/L$ ，最佳反应器组合又如何变化？（最佳组合指反应器类型和体积）。

5.38 假设某细胞生长服从 Monod 动力学，已知， $\mu_{max} = 0.5h^{-1}$ ， $K_s = 2g/L$ ，若在 CSTR 中进行培养，其加料 $V_0 = 100g/h$ ， $C_{s_0} = 50g/L$ ， $Y_{x/s} = 0.5$

试求：

(1) 当细胞生产速率为最大时， $V_R = ?$

(2) 在上述情况下， C_x 和 C_s 各为多少？

(3) 如果将上述反应器出口物料接着进入第二个 CSTR，并使最后 $C_s = 1g/L$ ，则第二个 CSTR 体积应为多少？

(4) 如果第二个反应器体积等于第一个反应器的体积，则第二个反应器出口 C_x 和 C_s 为多少？

5.39 用 $V_R = 10m^3$ 的 CSTR 进行酵母培养生产乙醇，若其为 Monod 动力学，已知 $K_s = 0.025g/L$ ， $\mu_{max} = 0.25h^{-1}$ ， $Y_{p/s} = 0.44$ ， $Y_{x/s} = 0.019$ ， $C_{s_0} = 50g/L$ 。

试求：

(1) 当乙醇生产速率达到最大时，加料速率应为多少？

(2) 如果要使加入的基质 95% 转化，则乙醇生产速率为多大？

(3) 如果 $V_R = 5m^3$ ，如何完成转化 95% 的任务？

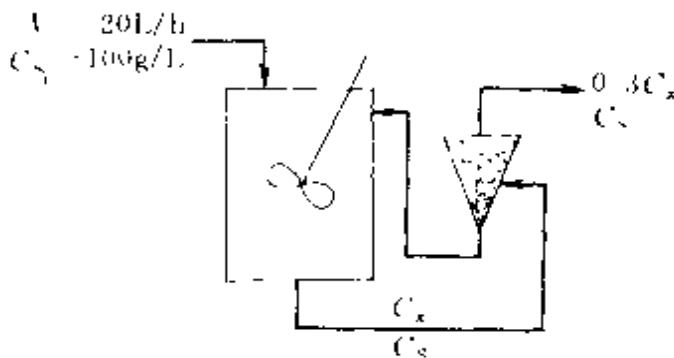


图 5D 带有细胞循环系统

5.40 酵母在一带循环的 CSTR 中进行培养，已知 $V_R = 30L$ ，细胞提浓分离装置设计成使其出口浓度 C_x 为进口浓度的 30%，而基质浓度相同，如图 5D 所示，该反应遵循 Monod 动力学，其参数为：

$K_s = 0.05g/L$ ， $\mu_{max} = 0.3h^{-1}$ ， $Y_{x/s} = 0.025$ 。并已知 $C_{s_0} = 100g/L$ ， $V_0 = 20$

1.7h。

试求 CSTR 中 C_x 和 C_s 各为多少？

5.41 螺旋霉素发酵过程中，当基质和氧供应充分时，其菌体生长符合下式

$$\frac{dC_x}{dt} = 0.1061C_x - 0.00124C_x^2$$

现工厂采用 CPER 进行该菌的生产，用反应器出口的部分发酵液作为接种液进行循环操作，假定反应器出口菌体浓度为该菌生长所能达到的最高浓度的 90%，试问最佳循环比是多少？

5.42 已知青霉素发酵过程中，青霉菌丝的生长、产物生成和基质消耗动力学为：

$$\mu = \frac{0.11C_s}{1.2 + C_s} \quad (\text{h}^{-1})$$

$$q_p \begin{cases} = 0 & (t \leq 29\text{h}) \\ = \frac{0.04C_s}{0.001 + C_s + 10C_s^2} & (t > 29\text{h}) \end{cases}$$

$$q_s = \frac{\mu}{0.47} + \frac{q_p}{1.2} + 0.029 \quad (\text{h}^{-1})$$

已知发酵的初始条件为： $C_{x_0} = 1.5\text{g/L}$ ， $C_{s_0} = 70\text{g/L}$ ， $C_p = 0$ ， $V_{R_0} = 8.0\text{L}$ 。若流加糖浓度为 500g/L ，反应器的有效容积为 10L ，最大流加速率为 500ml/h ，试求最佳流加方案。

第 6 章 生化反应器的传递过程

6.1 发酵介质的流变特性

流变特性系指流体混合时的流动特性。生化反应器中发酵液的流变特性将影响其混合的程度及其传质和传热的速率。

发酵液是由液相和固相（细胞以及不溶性组分）构成的多相体系，对细菌或酵母发酵液，一般说来粘度较低，流动性好，热量质量传递速率较快。如果采用特殊的培养技术得到了高浓度细胞发酵液，则会因为其粘度的大大增加而造成热量，质量传递困难。在多种抗生素、有机酸等发酵产品生产中，由于发酵液中有大量菌丝体或菌球的存在，使发酵液粘度大为增加，并呈现非牛顿流动特性。这些流体流动性差，易使混合不充分，传热和传质产生困难，因此必须予以充分的重视。

6.1.1 流变模型

流变模型系指能反映流体流动特性的模型。流体的流动特性又经常以剪应力与速度梯度的关系来表示。

在两块相互靠近的平行板之间充满流体，其中下板固定不动，而在上板施加一作用力 F ，使上板以一定的速度 u 运动（图 6-1）。与上板接触的流体层以相同的速度随上板一起运动，与下板接触的流体则

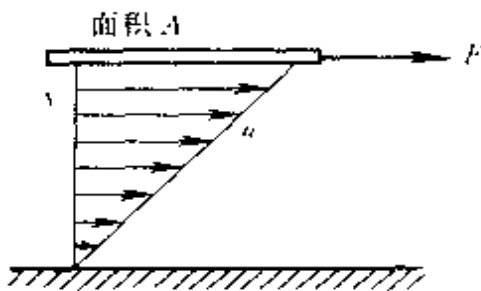


图 6-1 在切向力作用下平行板内液体的速度分布

保持静止，中间各层因流体的内摩擦而产生速度不等的平行运动，即流体层中产生速度梯度。若定义单位流体面积上的剪切力 (F/A) 为剪应力 τ ，同时又定义速度梯度为 du/dy ，则流体的流动特性就是根据

剪应力 τ 与剪切速率梯度 $\frac{du}{dy}$ 之间的关系而加以区分的。

(1) 牛顿型流体。当剪应力与速率梯度成正比时，即

$$\tau = \mu \frac{du}{dy} = \mu \dot{\gamma} \quad (6-1)$$

称为牛顿型流体。其中 μ 为流体的粘度，也是该式的比例常数。将 τ 对 $\dot{\gamma}$ 进行标绘，得到一条通过原点的直线，该直线斜率为其粘度（图 6-2 曲线 1）。 $\dot{\gamma}$ 又常称为切变率。

流动特性服从牛顿粘性定律的流体称为牛顿流体，气体、低分子的液体常为牛顿型流体。不服从牛顿粘性定律的流体为非牛顿流体，其剪应力与切变率之比不是常数，而是随切变率在变化，因而没有确定的粘度值。根据其剪应力与切变率的关系，非牛顿型流体也分为多种类型。

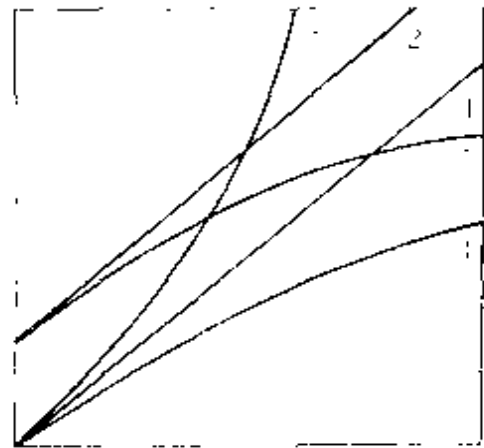


图 6-2 牛顿流体及一些非牛顿流体剪应力 τ 与切变率 $\dot{\gamma}$ 的关系

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

(2) 宾汉 (Bingham) 塑性流体。它的流动特性可用下式表示：

$$\tau = \tau_0 + \eta \dot{\gamma} \quad (6-2)$$

式中 τ_0 ——屈服应力；

η ——刚度系数。

宾汉塑性流体的特点是当剪应力小于屈服应力 τ_0 时，流体不发生流动，只有当剪应力超过屈服应力时流体才发生流动。它的流动曲线为一不通过原点的直线（图 6-2 曲线 2），在纵轴上的截距是屈服应力 τ_0 。属于此类流体的有黑曲霉、产黄青霉和灰色链霉菌等丝状菌发酵液。

(3) 拟塑性流体。它的流动特性可用下式表示：

$$\tau = K \dot{\gamma}^n \quad 0 < n < 1 \quad (6-3)$$

式中 K ——稠度系数；

n ——流动特性指数。

它的特点是稠度系数 K 越大，流体就越稠， n 值愈小，流体的非

牛顿特性越明显。拟塑性流体的流动曲线见图 6-2 的曲线 3。许多高分子化合物，如羧甲基纤维素、黄原胶等的水溶液是拟塑性流体，还有青霉、曲霉、链霉菌的培养液也表现拟塑性流动特性，还有一些生产多糖的微生物发酵液以及高浓度的植物细胞悬浮液等也呈拟塑性流动特性。

(4) 胀塑性流体。它的流动特性亦具有指数规律：

$$\tau = K\dot{\gamma}^n \quad n > 1 \quad (6-4)$$

n 的数值越大，流体的非牛顿特性越明显。属于这种流动特性的有淀粉等，在发酵液中较少见。 τ 与 $\dot{\gamma}$ 的关系见图 6-2 中曲线 4。

(5) 凯松 (Casson) 流体。其流动模型为

$$\tau^{1/2} = \tau_0^{1/2} + K_C \dot{\gamma}^{1/2} \quad (6-5)$$

式中 τ_0 ——屈服应力；

K_C ——凯松粘度。

属于此类流体的有血液、熔化的巧克力等（图 6-2 中曲线 5）。

根据上述讨论，对流体的流变特性可用一个总表达式表示。

$$\tau = \tau_0 + K(\dot{\gamma})^n \quad (6-6)$$

该方程称为幂定律方程。

对牛顿型流体： $\tau_0 = 0$ ， $n = 1$ ， $K = \mu_0$ 。

对拟塑性流体： $\tau_0 = 0$ ， $n < 1$ 。

对胀塑性流体： $\tau_0 = 0$ ， $n > 1$ 。

对宾汉塑性流体： $n = 1$ 。

业已证实，很多发酵液属于非牛顿流体。并可以看出，非牛顿流体没有确定的粘度值，通常把剪应力与切变率之比称为表观粘度，即

$$\mu_a = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \quad (6-7)$$

由图 6-2 可以看出，宾汉流体、拟塑性流体和凯松流体的表观粘度随切变率的增大而减小，胀塑性流体的表观粘度则随切变率的增大而增大。

6.1.2 影响发酵介质流变特性的因素

发酵液流变特性主要取决于细胞的浓度和其形态，因为虽然发酵

介质组成十分复杂，但水所占比例一般为最大，除了溶解于水的各种营养成分及细胞的代谢产物外，还有大量细胞和构成发酵介质的不溶性固相物质存在。一般在发酵介质中液相部分粘度很低，但随着细胞浓度的增加，发酵介质的粘度也相应增大。图 6-3 是多形汉逊氏酵母培养液的粘度与细胞浓度的关系。

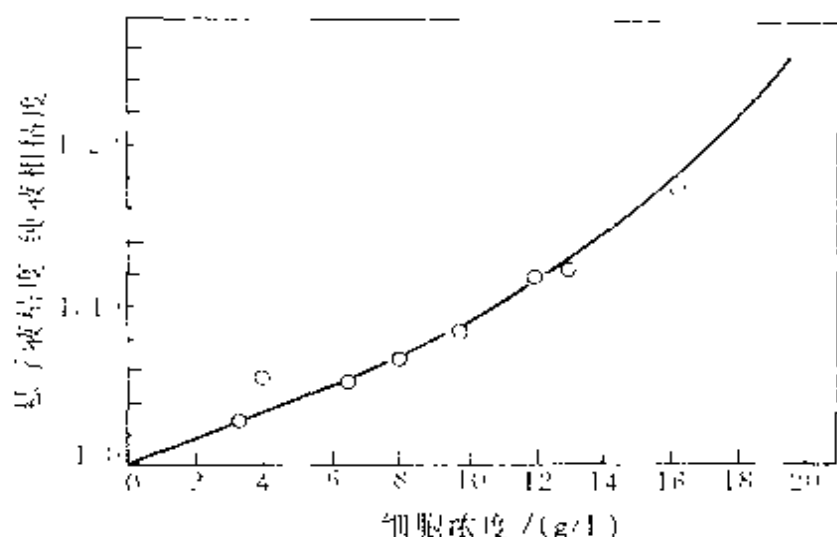


图 6-3 多形汉逊酵母培养液的粘度与细胞浓度的关系

另外，若细胞为丝状形态、多糖和胞外蛋白质的代谢产物等都会导致发酵介质成为非牛顿性流体。

当发酵介质中细胞浓度较低，且其形态为球形时，通常为牛顿性流体，酵母和细菌发酵液具有这种特性。此时流体的粘度可用 Einstein 式进行计算：

$$\mu_s = \mu_L (1 + 2.5\phi) \quad (6-8)$$

式中 μ_s —— 发酵液粘度；

μ_L —— 发酵液中纯液相部分的粘度；

ϕ —— 颗粒的体积分率。

当细胞浓度很高时（一般为体积分率大于 40%），上述线性关系不再成立，Vand 提出下述关系式

$$\mu_s = \mu_L (1 + 2.5\phi + 7.25\phi^2) \quad (6-9)$$

还有一些其他的经验关联式。

当发酵介质的粘度与细胞浓度的关系明确时，可通过测定发酵介

质的粘度来确定细胞的浓度。

同时，细胞的形态对发酵介质流动特性也有很大的影响，对具有拟塑性的高分子溶液和丝状菌悬浮液，当切变率低时，由于分枝的链状分子或菌丝体互相牵制，因而表观粘度较高；随着切变率的增大，则由于菌丝体被拉直，甚至发生分裂，导致其表观粘度下降。例如，被认为属于凯松流体的青霉素发酵液，它的屈服应力和凯松粘度与青霉菌的浓度和形态有关。可表示为：

$$\tau_0 \propto C_x^{1.2} L_x^{0.3} \quad (6-10)$$

$$K_1 \propto C_x L_x^{0.6} \quad (6-11)$$

式中 C_x —— 菌体浓度；

L_x —— 主干菌丝长度与其直径之比；

L_{th} —— 菌丝总长度与菌丝生长端总数之比。

影响发酵介质流变特性的另一因素为胞外产物。对于一些多糖发酵体系，例如对野油菜黄单胞菌培养液的拟塑性则主要是由黄单胞菌分泌的胞外多糖黄原胶引起的，而细胞的存在则对培养液流变特性的影响很小。此时决定发酵介质的流变特性的主要因素则是多糖的浓度。随着多糖浓度的增加，发酵介质表观粘度大大增加。

6.2 氧的传质反应模型

在细胞反应过程中，大都采用深层培养的方法大量生产细胞及有用的代谢产物。对需氧的细胞反应，常常需要不断地向培养基中供氧，以满足细胞生长代谢的需要。特别是对大规模生产的细胞反应器，则需要通入无菌压缩空气并同时进行搅拌的方式，以满足供氧的需要。

对于需氧的细胞反应，氧气首先要从气相通过扩散进入液相，进而又经过在液相中的扩散进入细胞的内部进行呼吸反应。图 6-4 给出了氧从气泡传递到细胞内部的示意图。

从图 6-4 可以看出，氧在传递过程中有下述各项传递阻力：

- ① 氧从气相主体扩散到气-液界面的阻力 R_1 ；
- ② 通过气-液界面的阻力 R_2 ；
- ③ 通过气泡外侧的滞流液膜，到达液相主体的阻力 R_3 ；

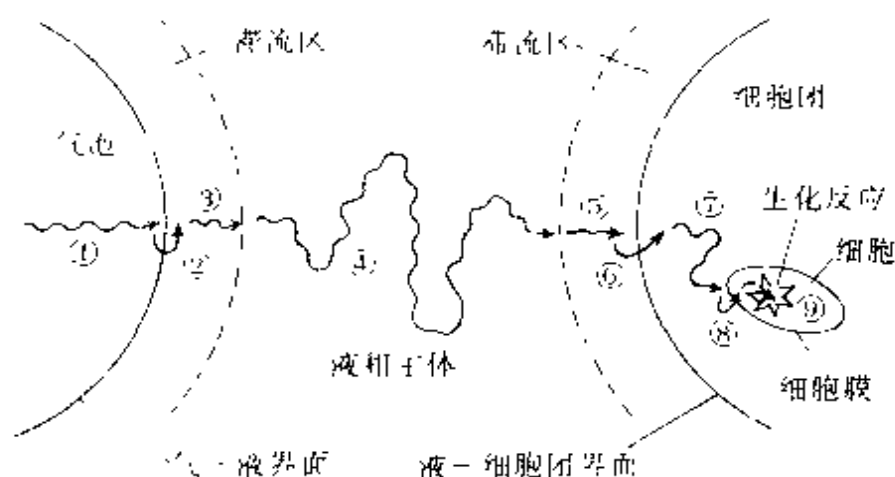


图 6-1 氧从气泡传递到细胞的示意图

- ① 液相主体中的传递阻力 R_1 ;
- ⑤ 通过细胞或细胞团外的滞流液膜, 到达细胞团与液体界面的阻力 R_5 ;
- ⑥ 通过液体与细胞团之间界面的阻力 R_6 ;
- ⑦ 细胞团内在细胞与细胞之间的介质中的扩散阻力 R_7 ;
- ⑧ 进入细胞的阻力 R_8 。

其中, ①~④项属供氧方面的阻力; ⑤~⑧项为耗氧方面的阻力。当单个细胞以游离状态悬浮于液体中时第⑦项阻力消失。

图 6-5 则表示了氧在三相过程中的浓度 (C_O) 分布, 并表示了各步骤的传质系数和膜的厚度。

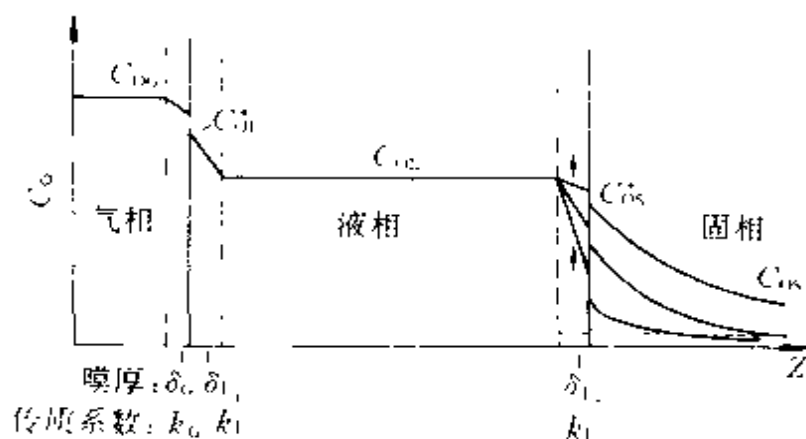


图 6-5 氧在气-液-固三相中浓度分布模型

从图 6-5 可以看出,影响氧的传质系数的参数有气-液相界面上的气膜传质系数 k_G 和液膜传质系数 k_L , 以及固-液界面上的液膜传质系数 k_{L_1} 和在固相内部的传质速率。

氧在克服上述阻力进行传递的过程中,其总推动力就是气相与细胞内氧分压之差。这一总推动力消耗于从气相到细胞内的各项串联的传递阻力。当氧的传递达到稳态时,总的传递速率与串联的各步传递速率相等,这时通过单位面积的传递速率为:

$$N_{O_2} = \frac{\text{推动力}}{\text{阻力}} = \frac{\Delta p_i}{1/k_i} \quad (6-12)$$

式中 N_{O_2} —— 氧的传递通量, $\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$;

Δp_i —— 各步的传递推动力 (分压差), Pa;

$1/k_i$ —— 各步的传递阻力, $\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{Pa}/\text{mol}$ 。

6.2.1 气液相间氧的传质与反应

在上述气液传质过程中,一般认为气液界面和液相主体的传质阻力都很小,可以忽略不计。因此,主要阻力来自于气膜和液膜。气液界面附近的

氧分压或溶解氧浓度变化的情况见图 6-6, 当气液传质过程处于稳态时,通过气膜和液膜的传质速率应相等。即符合下述关系:

$$N_{O_2} = \frac{p - p_1}{1/k_G} = \frac{C_1 - C_L}{1/k_L} \quad (6-13)$$

式中 p —— 气相主体氧分压, Pa;

p_1 —— 气液界面氧分压, Pa;

C_1 —— 气液界面氧浓度, mol/m^3 ;

C_L —— 液相主体氧浓度, mol/m^3 ;

k_G —— 气膜传质系数, $\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{Pa})$;

k_L —— 液膜传质系数, m/s 。

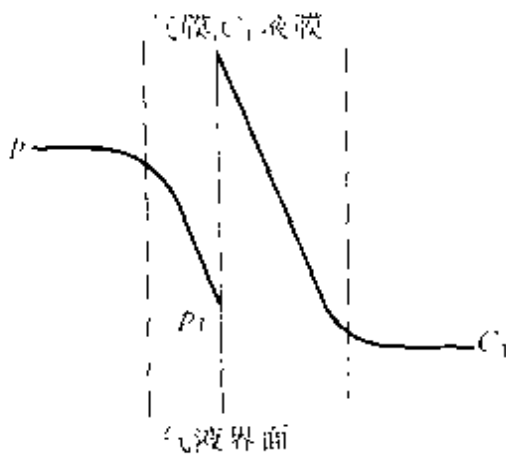


图 6-6 气液界面附近氧分压与浓度的变化

若对总传质过程定义 K_G 为以氧分压为推动力的总传质系数 $[\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{Pa})]$, K_L 为以氧浓度为推动力的总传质系数 (m/s) , 则各项阻力之间有:

$$\frac{1}{K_G} = \frac{1}{k_G} + \frac{H}{k_L} \quad (6-14)$$

$$\frac{1}{K_L} = \frac{1}{k_L} + \frac{1}{Hk_G} \quad (6-15)$$

对于难溶的气体氧, 存在有:

$$\frac{1}{Hk_G} \ll \frac{1}{k_L} \quad (6-16)$$

所以
$$K_L \approx k_L \quad (6-17)$$

因此, 氧的气液传质速率方程可表示为:

$$OTR = k_L a (C_{OL}^* - C_{O_L}) \quad (6-18)$$

式中 OTR ——单位体积培养液中氧的传质速率, $\text{mol}/(\text{m}^3 \cdot \text{s})$;

a ——比表面积, m^2/m^3 ;

$k_L a$ ——体积传质系数, s^{-1} ;

C_{OL}^* ——与气相分压相平衡的液相氧浓度, mol/m^3 。

上述描述方法同样适用于二氧化碳等其他气体在气液相的传质过程。

如果在某一需氧的细胞反应过程中, 生物体为单细胞, 其大小可能仅为几微米, 而液膜厚度可能为几十微米, 此时在液膜内就包含着细胞, 细胞有可能被吸附在气液界面上, 此时图 6-4 中, ④、⑤、⑥、⑦、⑧各项阻力均可忽略不计。氧可被认为一面溶解于液相, 一面消耗于反应, 反应体系可做拟均相处理。

氧在气-液相界面液膜上的浓度分布可分为五种情况, 如图 6-7 所示。

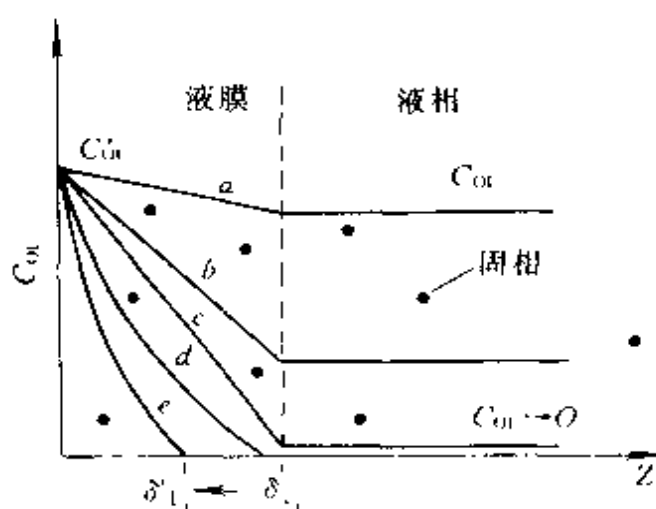


图 6-7 气-液-固过程的拟均相模型

从图中可以看出,对曲线 *a*,其相界面上氧的浓度 C_{OL}^* 与液相主体中氧的浓度 C_{OL} 近似相等,这表明此时氧的传质速率快,液膜阻力小,而反应速率相对较慢,为动力学控制;对曲线 *c*,液相主体中氧的浓度近似为零,这表明此时反应速率快,传质速率慢,为传质控制。而曲线 *b* 则处于中间状态。图中曲线 *d* 和 *e* 则表示了反应对传质速率的强化。

假定反应为一级不可逆反应,传质和反应两个因素都同时在起作用,在稳态下,其宏观反应速率,或称有效反应速率,可表示如下式:

$$R_{O_2} = \frac{C_{OL}^*}{\frac{1}{k_r} + \frac{1}{k_L a}} \quad (6-19)$$

$$\text{若为动力学控制, } R_{O_2} \approx k_r C_{OL}^* = k_r C_{OL} \quad (6-20)$$

$$\text{若为传质控制, } R_{O_2} = k_L a C_{OL}^* \quad (6-21)$$

若为过渡状态,式(6-19)可进一步整理为

$$\begin{aligned} R_{O_2} &= k_r C_{OL}^* \frac{1}{1 + \frac{k_r}{k_L a}} = k_r C_{OL}^* \frac{1}{1 + Da} \\ &= \eta k_r C_{OL}^* \end{aligned} \quad (6-22)$$

若反应符合 Monod 形式,氧的消耗速率与传质速率在稳态下可表示为

$$R_{O_2} = q_{O_2} C_x = q_{O_2, \max} \frac{C_{OL}}{K_{O_2} + C_{OL}} C_x = k_L a (C_{OL}^* - C_{OL}) \quad (6-23)$$

上述各式中, R_{O_2} 为氧的宏观反应速率; C_{OL}^* 为气液相界面上氧的浓度; k_r 为反应速率常数; $k_L a$ 为氧的体积传质系数; C_{OL} 为液相中氧的浓度; Da 为丹克莱尔准数; η 为有效因子; K_{O_2} 为氧的饱和常数。

$$\text{当 } C_x \text{ 一定时, 有 } r_{O_2, \max} = q_{O_2, \max} C_x \quad (6-24)$$

式(6-23)可表示为

$$R_{O_2} = r_{O_2, \max} \frac{C_{OL}}{K_{O_2} + C_{OL}} = k_L a (C_{OL}^* - C_{OL}) \quad (6-25)$$

$$\text{若定义 } Da = \frac{r_{O_2, \max} / K_{O_2}}{k_L a} \quad (6-26)$$

以 $R_{O_2}/r_{O_2,\max}$ 为纵坐标, C_{O_2}/K_{O_2} 为横坐标, 在不同 Da 值下作图, 得到如图 6-8 所示的结果。从图中可以看出, 随着传质速率的减小, 氧的宏观反应速率将随之减少。

根据图 6-8, 对微生物反应体系, 氧的传质除在气液界面的液膜阻力外, 还在液固界面上有液膜阻力, 两个液膜的传质系数分别表示为 k_{L_1} 和 k_{L_2} 。根据研究的结果认为, 如果固相为 $0.5 \sim 2\text{mm}$ 的细胞团, 则存在 $k_{L_2}a_s < k_{L_1}a_1$, 此时 k_{L_2} 为主要传质阻力;

如果固相为 $d_p = 10\mu\text{m}$ 的絮凝物, 则有 $k_{L_2}a'_s > k_{L_1}a_1$ 关系, 气液界面上氧的传质速率将起控制作用。

如上所述, 讨论的都是传质因素对反应的限制的情况, 下面从另一个角度来讨论反应与传质之间的相互作用, 即传质速率因反应而被强化的情况。

对一伴随有反应的气液相传质过程, 假定其有效速率为 R_s , 而其纯传质速率为 R_d , 根据传质被强化的观点, 引入增强因子 E , 表示为

$$E = \frac{\text{有反应时从气相传递到液相的速率}}{\text{无反应时从气相传递到液相的速率}} = \frac{R_s}{R_d} \quad (6-27)$$

由于 $R_s \geq R_d$, 所以 $E \geq 1$ 。如果能求出 E 值, 则很容易求出 R_s 值。

同其他情况一样, 也是根据速率常数的相对大小来区分动力学控制和扩散控制。习惯上用一无因次准数 Ha (Hatta 准数) 来描述其相对 K 值, Ha 的定义式为

$$Ha = \frac{1}{k_1} \sqrt{\frac{2}{n+1} DC_s^{n-1} k_1} \quad (6-28)$$

式中 n ——反应级数;

D ——扩散系数。

Ha 又可称为膜反应参数, 它表示了膜内可能的最大反应速率与

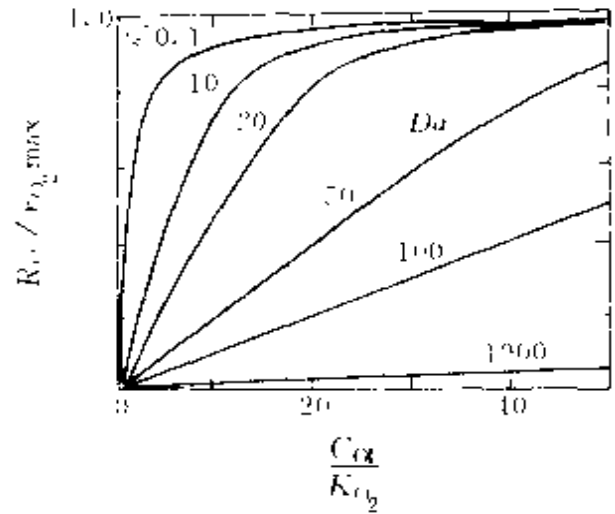


图 6-8 氧的外扩散对反应有效速率的影响

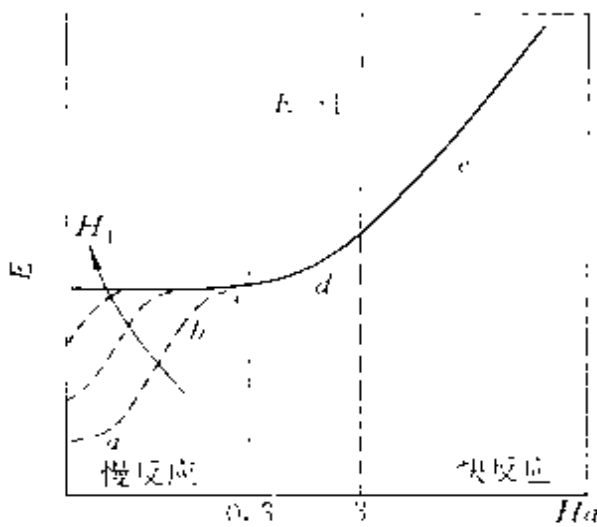


图 6-9 气液相反应中 $E-Ha$ 的关系曲线

(曲线 a 、 b 、 c 、 d 、 e 参看图 6.7 的说明)

$Ha \leq 0.3$, 为慢反应区, 此区反应速率很慢或极慢, 因而反应速率对传质速率无影响, 即无强化作用。过程的速率取决于传质速率, 即物理吸收速率, 因此也可称为传质限制区。反应完全发生在液相主体内。在此区内, 由于反应器的特征数 HI 的不同, 曲线分布略有差别。 HI 值是表征了反应器内全部液相体积与气液相界面的液膜体积之比, 即 $HI = V_L / A\delta_L$ 。该参数表示了反应器气液交换表面的相对大小。

$Ha \geq 3$, 为快反应区, 此时反应速率很快, 并且几乎完全发生于相界面的液膜中, 此时反应速率对传质有强化作用, 过程的速率由反应速率决定, 亦可称为纯动力学限制区。

$0.3 < Ha < 3$ 为中间过渡区, 在此区域内反应较快, 部分反应在气液界面上反应, 因此强化了传质速率。

从上述分析可以看出, 对气液相传质与反应的关系可以表示为:

$$\text{对慢反应, } Ha \leq 0.3, E = 1 \quad (6-30)$$

$$\text{对中速反应, } 0.3 < Ha < 3, E = \frac{Ha}{\tanh Ha} \quad (6-31)$$

$$\text{对快速反应, } Ha \geq 3, E = Ha \quad (6-32)$$

上述讨论的内容同时涉及到氧在气液相间的传质和反应, 又可称为气液反应宏观动力学。

6.2.2 液面相间氧的传质

稳态时, 氧通过细胞或细胞团外液膜的传质速率为:

通过膜的最大传质速率之比。对不同的反应, 通过各种近似解, 表示了 E 与 Ha 的关系, 即

$$E = f(Ha) \quad (6-29)$$

增强因子 E 与 Ha 的关系可用图 6-9 表示。图中 $E-Ha$ 关系曲线可分为三个部分。

$Ha \leq 0.3$, 为慢反应区, 此区反应速率很慢或极慢, 因而反应速率对传质速率无影响, 即无强化作用。过程的速率取决于传质速率, 即物理吸收速率, 因此也可称为传质限制区。

$$(OTR) = k_{L_2} \bar{a}_{LS} (C_{O_L} - C_{O_S}) \quad (6-33)$$

式中 k_{L_2} —— 液固间传质系数；

\bar{a}_{LS} —— 液固比表面积；

C_{O_L} —— 液体主体中氧的浓度；

C_{O_S} —— 细胞或细胞团外表面处氧浓度。

假定细胞或细胞团为球形，且细胞密度与液体密度非常接近时，则有：

$$k_{L_2} = 2D_{L_2}/d_P \quad (6-34)$$

式中 d_P —— 细胞或细胞团直径；

D_{L_2} —— 氧在液相中分子扩散系数。

当 C_{O_S} 为零时，可求出液体和细胞间最大传质速率为：

$$\begin{aligned} (OTR)_{\max} &= k_{L_2} \bar{a}_{LS} C_{O_L} \\ &= 2 \left(\frac{D_{L_2}}{d_P} \right) n \bar{a}_{LS} C_{O_L} \end{aligned} \quad (6-35)$$

式中 $(OTR)_{\max}$ —— 最大氧传质速率， $\text{mol}/(\text{m}^3 \cdot \text{s})$ ；

n —— 单位体积培养液中细胞个数；

\bar{a}_{LS} —— 每个细胞的平均表面积。

若取 $D_{L_2} = 10^{-9} \text{m}^2/\text{s}$ ， $d_P = 5.8 \times 10^{-6} \text{m}$ ， $n = 10^{15} \text{个}/\text{m}^3$ ， $C_{O_L} = 2 \times 10^{-3} \text{kg}/\text{m}^3$ ，求出：

$$(OTR)_{\max} = 2.28 \text{mol}/(\text{m}^3 \cdot \text{s})$$

在与上述条件相同时，每立方米培养液需氧量（摄氧量）约为 $0.052 \text{mol}/(\text{m}^3 \cdot \text{s})$ ，因此，细胞周围液膜阻力可以忽略不计，氧的传质速率是很快的。

6.2.3 细胞团内氧的传质与反应

氧进入细胞团内，一方面向细胞内部扩散，一方面又被其细胞消耗，浓度不断下降。

如果把细胞看成一个耗氧的均匀的球体。设其半径为 R ，密度为 ρ_0 ，取其半径 r 处一层厚度为 dr 的壳层做物料衡算（参看图 3-16）同样可求出：

$$D_e \left[\frac{dC_O}{dr^2} - \frac{2}{r} \frac{dC_O}{dr} \right] = \frac{\rho_s q_{O,max} C_O}{K_O + C_O} \quad (6-36)$$

式中 D_e ——氧在细胞团内的有效扩散系数；

C_O ——离球心 r 处氧的浓度；

$q_{O,max}$ ——氧的最大呼吸强度；

K_O ——氧的饱和常数。

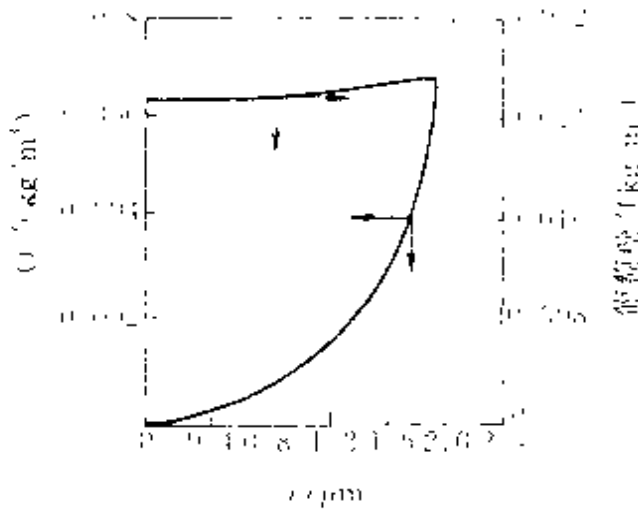


图 6-10 细胞团内氧和葡萄糖的浓度分布

式 (6-36) 的边界条件是：

$$r=R, C_O=C_{OL};$$

$$r=0, \frac{dC_O}{dr}=0 \quad (6-37)$$

假定细胞团半径 $R=2 \times 10^{-3} \text{ m}$, $D_e=1.9 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$, $\rho_s=75 \text{ kg/m}^3$, $q_{O,max}=3.5 \times 10^{-1} \text{ mol}/(\text{kg} \cdot \text{s})$, $K_O=4.47 \times 10^{-2} \text{ mol/m}^3$, 而以葡萄糖作为反应基质时, $q_{S,max}=1890 \text{ mol}/(\text{kg} \cdot \text{s})$, $K_S=5.56 \text{ mol/m}^3$ 。根据上述数据, 代入式 (6-36) 和

式 (6-37), 用数值法求解, 结果如图 6-10。从图中可以看出, 细胞团内葡萄糖浓度变化很小, 而氧的浓度则随半径减小而迅速下降, 这表明在细胞团的中央, 细胞的呼吸受到限制。

6.2.4 影响氧传质速率的因素

根据氧的气液传质速率方程：

$$OTR=k_L a(C_{OL}^* - C_{OL}) \quad (6-38)$$

凡是能影响 $(C_{OL}^* - C_{OL})$ 和 k_L 以及 a 的因素都会影响氧的传质速率。

(1) 氧在培养基中的溶解度。氧是一种难溶的气体。在 25°C 和 $1 \times 10^5 \text{ Pa}$ 时, 空气中的氧在纯水中的溶解度仅为 0.26 mol/m^3 左右。由于在培养基中含有大量有机物和无机盐, 氧在其中的溶解度就更低。

氧在水中的溶解度随温度的升高而降低。在常压和温度为 $4 \sim$

33°C的范围内，与空气相平衡时，纯水中氧的浓度可用下述经验式求出：

$$C_w^* = \frac{14.6}{t+31.6} \quad (6-39)$$

式中 C_w^* ——与空气平衡时纯水中氧的浓度，mol/m³；
 t ——温度，°C。

在电解质溶液中，由于发生盐析作用，使氧的溶解度下降。氧在电解质溶液中的溶解度可由下式计算：

$$\lg \frac{C_w^*}{C_w^*} = KC_F \quad (6-40)$$

式中 C_w^* ——氧在电解质溶液中的溶解度，mol/m³；
 C_F ——电解质溶液的浓度，kmol/m³；
 K ——常数，它与气体种类、电解质种类和温度有关。

若是若干种电解质的混合溶液，可用下式计算：

$$\lg \frac{C_w^*}{C_w^*} = \sum_i h_i I_i \quad (6-41)$$

式中 h_i ——第 i 种离子的常数，可由手册中查到；
 I_i ——离子强度。

I_i 值可由下式求出：

$$I_i = \frac{1}{2} Z_i^2 C_{E_i} \quad (6-42)$$

式中 Z_i ——第 i 种离子的价数；
 C_{E_i} ——第 i 种离子的浓度。

若为非电解质溶液，氧的溶解度则可用下式求出：

$$\lg \frac{C_w^*}{C_w^*} = KC_N \quad (6-43)$$

式中 C_w^* ——氧在非电解质溶液中的溶解度；
 C_N ——非电解质或有机物浓度。

发酵介质中，一般会同时含有电解质和非电解质，氧在其中的溶解度可用下式求出：

$$\lg \frac{C_w^*}{C_m^*} = \sum_i h_i I_i + \sum_j \lg \frac{C_w^*}{C_n^*} \quad (6-44)$$

式中 C_m^* —— 氧在培养基中的溶解度。

为了提高氧在培养基中的溶解度，有时可采用提高反应器操作压力和富氧通气的方法。但其操作和设备费用较高。

(2) 氧的传质系数 k_L 。根据前面的讨论可知，在氧的气液传质过程中，阻力主要来自于气泡外侧的液膜，根据 Fick 第一定律，可知：

$$k_L = \frac{D_L}{\delta_L} \quad (6-45)$$

式中 D_L —— 氧在液膜中扩散系数；

δ_L —— 液膜厚度。

根据上式， k_L 与 D_L 成正比，与 δ_L 成反比，也有的作者提出 k_L 与 D_L 的平方根成正比。总之，当 D_L 增加， k_L 亦在增加。

对在水溶液中低分子量溶质，其 D_L 值为 0.5 到 $2.0 \times 10^{-5} \text{cm}^2/\text{s}$ 的范围。

对非粘性流体，扩散系数的计算可采用 Stokes-Einstein 方程进行估算：

$$D_L = \frac{KT}{6\pi r_0 \mu} \quad (6-46)$$

式中 r_0 —— 溶质球形半径；

μ —— 溶剂粘度；

K —— Boltzmann 常数；

T —— 绝对温度，K。

当溶质量较少时，可用下式计算，结果更为准确。

$$D_L = 7.4 \times 10^{-8} \frac{T(XM)^{1/2}}{\mu_L V_m^{0.6}} \quad \text{cm}^2/\text{s} \quad (6-47)$$

式中 M —— 溶质分子量；

V_m —— 溶质在其沸点下的摩尔体积；

μ_L —— 液体粘度；

T —— 绝对温度；

X —— 溶剂的缔合因子。

V_m 可从手册中查到, 氧和二氧化碳的 V_m 值分别为 25.6 和 34.0 m^3/mol , 水的缔合因子为 2.6。

(3) 气液比表面积 a 。气液比表面积的大小取决于截留在液体中的气体体积以及气泡的大小。一般讲, 截留在液体中的气体愈多, 气泡的直径愈小, 气液比表面积就愈大。

假设在体积为 V_L 的液体中所截留的气体体积为 V_G , 气泡的直径为 d_B , 则比表面积 a 为:

$$a = \frac{6V_G}{d_B V_L} \quad (6-48)$$

若定义

$$\frac{V_G}{V_L} = H_0$$

式中 H_0 —— 气体截留率。

则式 (6-48) 成为:

$$a = \frac{6H_0}{d_B} \quad (6-49)$$

从该式可以看出 H_0 愈大, d_B 愈小, 则比表面积 a 值愈大, 气泡在液体中上升时, 受到静压力逐渐变小, 同时会发生凝并, 如果有搅拌作用, 气泡又被分散, 因此气泡的大小是有分布的。气泡的平均直径可由下式求出:

$$d_m = \frac{\sum m_j d_{Bj}^3}{\sum m_j d_{Bj}^2} \quad (6-50)$$

式中 m_j —— 直径为 d_{Bj} 的气泡个数。

因此, 式 (6-49) 应表示为:

$$a = \frac{6H_0}{d_m} \quad (6-51)$$

假定反应器中培养液高度为 H_L , 气泡的上升速度为 W_B , 通气流量为 Q_G 时, 则有:

$$\begin{aligned} \frac{H_L}{W_B} &= \frac{H_0 V_L}{Q_G} \\ H_0 &= \frac{Q_G H_L}{W_B V_L} \end{aligned} \quad (6-52)$$

所以
$$a = \frac{6Q_g H_1}{d_m W_b V_L} \quad (6-53)$$

从上式可以看出，增大通气量，可使比表面积 a 值增大。

(4) 体积传质系数 $k_L a$ 。由于气液比表面积 a 的测定很困难，一般将其与液膜传质系数相合并，作为一个参数来处理，即 $k_L a$ 。影响 $k_L a$ 的因素很多，包括反应器的几何形状、气体线速度、气体的通入量、搅拌桨类型与转数、输入能量的大小、培养基的粘度和表面张力等等。归纳起来，一是物系的性质因素，如粘度，扩散系数、表面张力等；二是操作条件的因素，如温度、压力的变化和通气量以及搅拌转数的大小等；三是反应器的结构因素，如反应器的结构型式、搅拌方式等。

综合操作条件和物系性质的影响，可表示为

$$k_L a = f(d_i, n, u_s, D_i, \mu, \rho, \sigma, g) \quad (6-54)$$

式中 d_i —— 搅拌桨直径；

n —— 搅拌桨转数；

u_s —— 通气表观线速度。

因此要求得准确的传质系数 $k_L a$ 值必须通过实验来测定。已在实际中使用的 $k_L a$ 测定方法有亚硫酸氧化法、物料衡算法和动态法。

亚硫酸氧化法一般适用于在非培养情况下测定反应器的氧传质系数。其基本原理为，在反应器中加入含有铜离子或钴离子为催化剂的亚硫酸钠溶液，进行通气搅拌，亚硫酸钠与溶解氧生成硫酸钠。由于反应进行很快，反应速率由气液相的氧传质速率控制，而与亚硫酸钠的浓度无关，并且由于氧化反应速率很快，液相中氧浓度 $C_{O_2} = 0$ ，因此，氧的传质速率可表为：

$$OTR = k_L a C_{O_2}^* \quad (6-55)$$

据此式可求出 $k_L a$ 值。但由于亚硫酸钠溶液与实际的培养液在性质上有很大差别，不能很好模拟培养液的情况。

物料衡算法是根据对培养液中的氧进行物料衡算有下式：

$$\frac{dC_{O_2}}{dt} = k_L a (C_{O_2}^* - C_{O_2}) - r_{O_2} \quad (6-56)$$

在稳态下，
$$\frac{dC_{O_2}}{dt} = 0$$

所以
$$k_L a = \frac{r_{O_2}}{C_{O_L}^* - C_{O_L}} \quad (6-57)$$

式中 r_{O_2} ——氧的消耗速率，又称摄氧率，可由进气和排气中氧的分压求出。

动态法是根据当停止向培养液通气时，培养液中溶氧浓度的变化速率可以求出摄氧率，而当溶氧浓度下降到一定程度时（不低于临界溶氧浓度），再恢复通气，则培养液中氧浓度又逐渐升高，直至恢复到原先的水平，见图 6-11。式 (6-56) 可改写为：

$$C_{O_L} = \left\{ -\frac{1}{k_L a} \right\} \left(\frac{dC_{O_L}}{dt} + r_{O_2} \right) + C_{O_L}^* \quad (6-58)$$

根据恢复通气后溶氧变化的曲线，求出一定溶氧浓度对应的 $\frac{dC_{O_L}}{dt}$ （即曲线的斜率），将 C_{O_L} 对 $\left(\frac{dC_{O_L}}{dt} + r_{O_2} \right)$ 作图可以得一直线，其斜率为 $-1/k_L a$ ，在 C_{O_L} 轴上的截距为 $C_{O_L}^*$ ，见图 6-12。

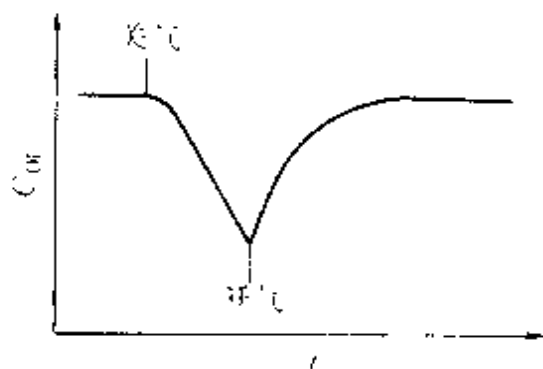


图 6-11 停气和开气后培养液中溶氧浓度的变化

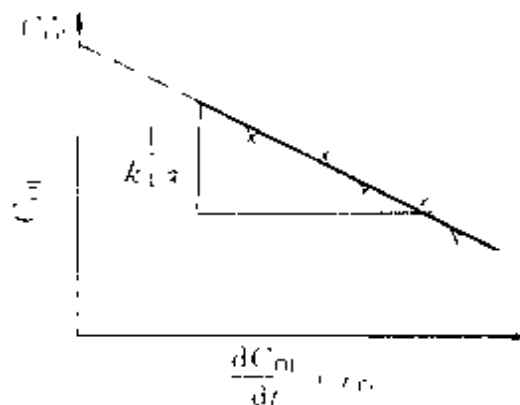


图 6-12 利用动态过程的数据求 $k_L a$ 和 $C_{O_L}^*$

动态法的优点是只需测定溶氧浓度 C_{O_L} 随时间变化曲线，非常方便地求出 $k_L a$ 值。

6.3 机械搅拌槽式反应器的传递特性

6.3.1 反应器的结构

通用的机械搅拌槽式反应器的结构如图 6-13 所示。

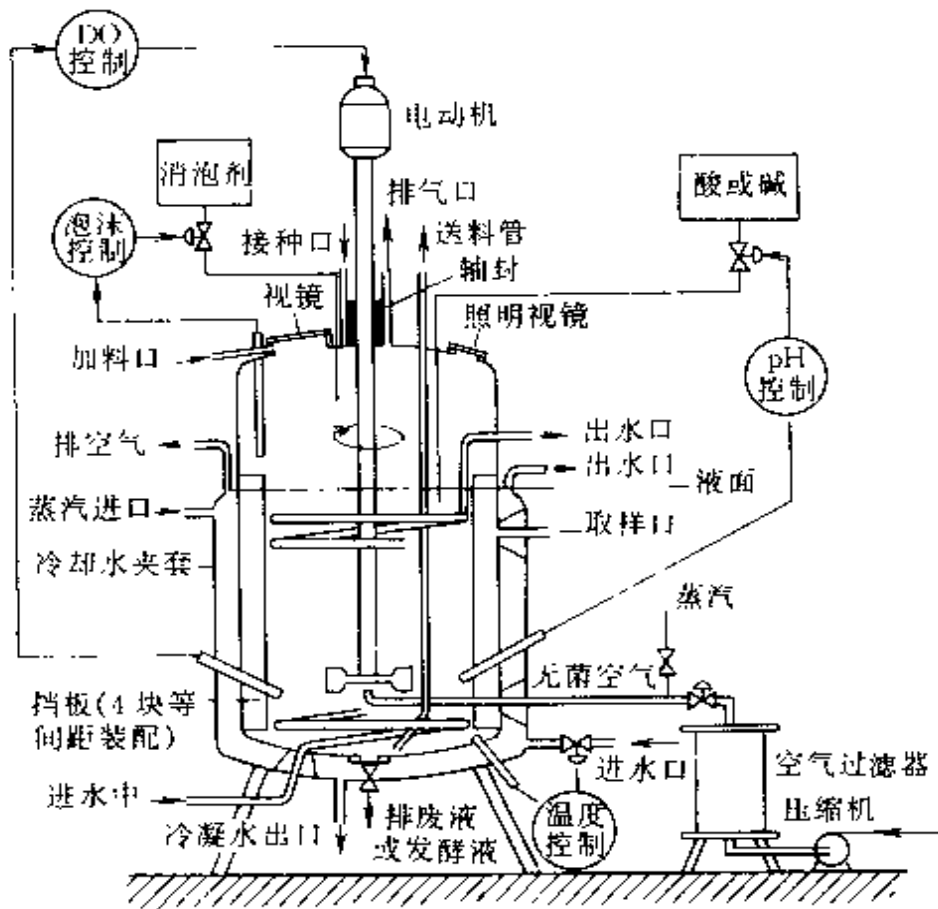


图 6-13 机械搅拌式发酵罐示意图

它的基本结构包括有筒体、搅拌装置、换热装置、挡板、消泡器、电动机与变速装置、空气分布装置等，并在壳体的适当部位设置排气、取样、放料、接种、酸、碱等管道接口以及人孔、视镜等部件。

通用发酵罐的几何尺寸已趋于标准化，具体尺寸比例如下（见图 6-14）：

$$\frac{H}{D} = 1.7 \sim 3;$$

$$\frac{d}{D} = \frac{1}{2} \sim \frac{1}{3};$$

$$\frac{W}{D} = \frac{1}{8} \sim \frac{1}{12};$$

$$\frac{B}{D} = 0.8 \sim 1.0;$$

$$\frac{s}{d} = 1 \sim 2.5$$

上述符号的意义见图 6-14。

通用发酵罐内设置机械搅拌的目的首先是打碎空气气泡，增加气液接触界面，以提高气液面的传质速率；其次是为了使发酵液充分混合，也使液体中的固形物料能保持悬浮状态。

搅拌桨可以使被搅拌的流体产生圆周运动，称为径向流（或又称原生流）。径向流在受到挡板的作用后又产生了轴向流（或称次生流）。图 6-15 表示了径向流和轴向流的示意图。

显然，径向流的圆周运动对流体的混合与传质所起的作用较小，而轴向流对其影响较大。径向流速仅与搅拌桨转数成正比，而轴向流速则与搅拌桨转数的平方成正比。因此，当转速提高时，由于轴向流速的加快而使流体的混合、传质速率加快。因此，新型桨型的开发主要侧重于使轴向流速得到加强。图 6-16 表示的是几种有利于加强轴向流速的几种搅拌桨。

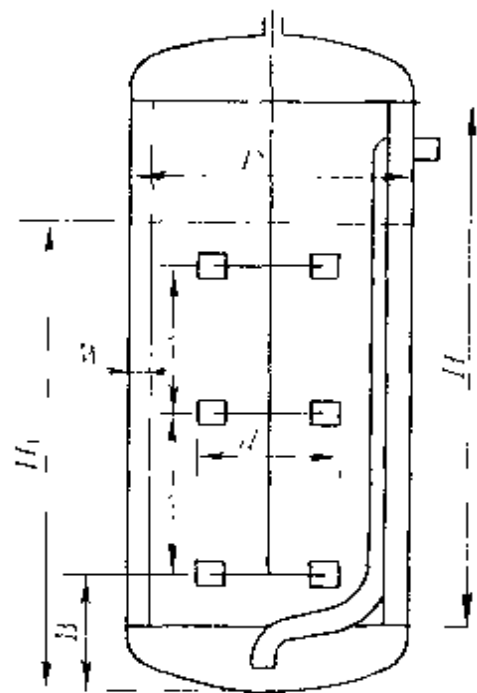


图 6-14 通用式发酵罐的几何尺寸比例

H —筒身高度； D —罐径； W —挡板宽度； H_1 —液位高度； d —搅拌器直径； s —两搅拌器间距； B —下搅拌器距底间距

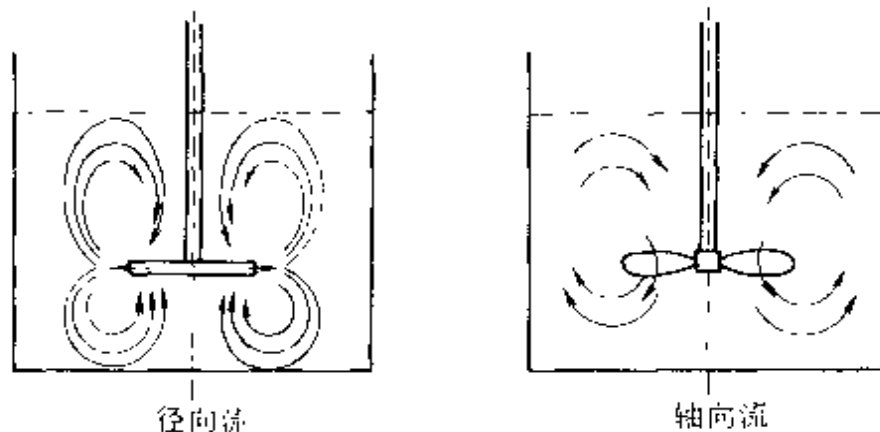


图 6-15 搅拌槽中径向流和轴向流示意图

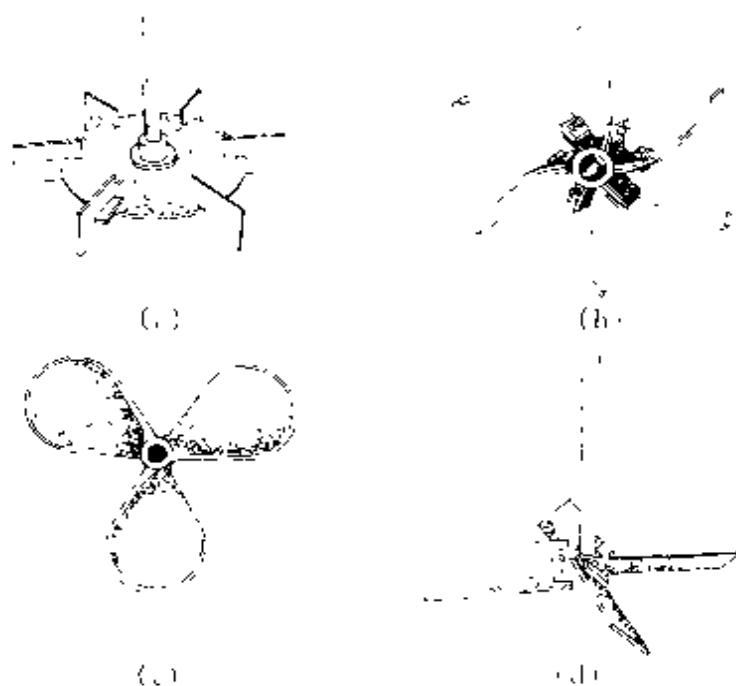


图 6-16 几种有利于产生轴向流的涡轮式搅拌桨
(a) 圆盘型；(b) 曲线型；(c) 螺旋桨型；(d) 45°角型

在上述圆盘涡轮式，螺旋桨式、螺旋涡轮式和倾斜平板涡轮式四种搅拌桨中，工业上在目前仍以圆盘涡轮式较多。常用的圆盘涡轮式搅拌桨有平叶式、弯叶式和箭式三种，叶片数量一般为六个。在相同搅拌功率下，比较粉碎气泡的能力是平叶大于弯叶，弯叶大于箭叶，但其翻动流体的能力则与上述情况相反。为了使发酵罐内的流体充分地被搅动，应根据发酵罐的容积，在同一搅拌轴上配置多个搅拌器，其数量应视罐内液位的高度、发酵液特性和搅拌器的直径等因素而定。

为了防止搅拌器运转时流体产生漩涡，而有利于产生次生流，在发酵罐内壁需安装挡板。一般要求发酵罐流体在被搅拌时，应达到“全挡板条件”。所谓全挡板条件是指在搅拌罐中增加挡板或其他附件时，搅拌功率不再增加，而漩涡基本消失。满足全挡板条件的挡板数及宽度，可按下式求出：

$$\frac{W}{D} m_b = 0.4 \quad (6-59)$$

式中 W ——挡板宽度，m；
 D ——罐直径，m；

m_0 ——挡板块数。

一般发酵罐中安装 4 块挡板，挡板宽度为 $(1/6 \sim 1/10) D$ ，这已满足全挡板条件。

通用式发酵罐内的空气分布管是将无菌空气引入到发酵液中的装置，由于气泡的粉碎主要依靠搅拌器的剪切破碎作用，同时也为了防止培养液中固体物料堵塞空气分布管，常采用单孔管，并且开口向下。也有的采用带小孔的环状空气分布管。

在发酵过程中，生化反应和机械搅拌所产生的热量必须及时移除，才能保证发酵在恒温下进行。换热装置有夹套和蛇管两种，一般容积为 5m^3 以下的发酵罐用外夹套作为换热装置，大于 5m^3 的发酵罐则采用蛇管换热。

由于发酵液中含有大量的蛋白质等发泡物质，在强烈的通气搅拌下将会产生大量泡沫从而容易导致发酵液外溢和增加染菌机会，因此必须消除泡沫，消除的方法除了加消泡剂外，也可用机械消泡装置。

还有一种机械搅拌自吸式发酵罐，它的主要特点是无需其他气源供应压缩空气，其最关键部件是带有中央吸气口的搅拌器，该搅拌器是带有固定导轮的三棱空心叶轮。当叶轮旋转时，叶片与三棱形平板内空间的流体被甩出而形成局部真空，于是将罐外空气通过搅拌器中心的吸入管吸入罐内，并与高速流动的流体密切接触形成细小气泡分散在流体之中，气液混合物通过导轮流到发酵液主体。

自吸式发酵罐的缺点是进罐空气处于负压，因而增加了染菌机会。其次是此类罐搅拌转速甚高，有可能使菌丝被搅拌器切断，使其正常生长受到影响，它在食醋发酵、酵母培养、生化曝气方面已得到了应用。

为了进一步了解在机械搅拌槽式反应器内的质量传递特性，有必要根据图 6-17 所表示的途径，以环绕搅拌桨周围流体的流动模型和流体的性质为依据，深入探讨它对功率消耗，流体混合与分散以及质量传递等方面的影响。

由于这些过程的机理是十分复杂的，因此，只能通过实验方法来求出经验关联式，并确定其参数，并且其应用范围受到一定限制。

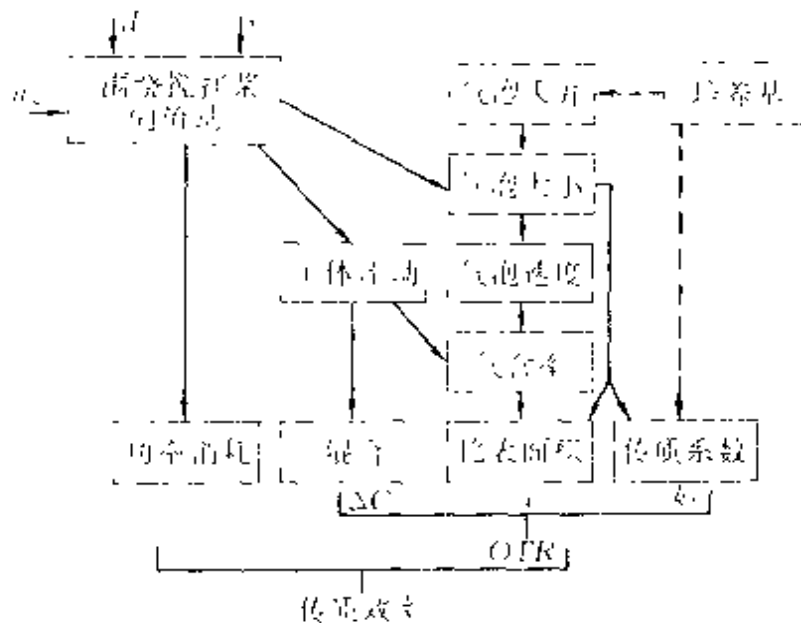


图 6-17 模拟搅拌槽反应器传质效率时包括的参数

6.3.2 搅拌功率的计算

在机械搅拌发酵罐中，搅拌器输出的轴功率 P (W) 与下述因素有关：发酵罐直径 D (m)、搅拌器直径 d (m)、液柱高度 H_L (m)、搅拌器的转速 n (r/min)、液体粘度 μ (Pa·s)、流体密度 ρ (kg/m³)、重力加速度 g (m/s²) 以及搅拌器形式和结构等。因为 D 、 H_L 均与 d 之间有一定比例关系，于是：

$$P = \phi(n, d, \rho, \mu, g) \quad (6-60)$$

通过因次分析及实验证实，对牛顿型流体而言，可得到下列准数关联式：

$$\frac{P}{n^3 d^5 \rho} = K \left(\frac{nd^2 \rho}{\mu} \right)^x \left(\frac{n^2 d}{g} \right)^y \quad (6-61)$$

式中 $\frac{P}{n^3 d^5 \rho} = N_p$ ，称为功率准数；

$\frac{nd^2 \rho}{\mu} = Re_M$ ，称为搅拌情况下的雷诺准数；

$\frac{n^2 d}{g} = Fr_M$ ，称为搅拌下的弗鲁特准数；

K - 与搅拌器类型、发酵罐几何尺寸有关的常数。

故式 (6-61) 又可改写为

$$N_p = K (Re_M)^x (Fr_M)^y \quad (6-62)$$

经实验证实, 在全挡板条件下, 液面未出现漩涡, 此时指数 y 为零, $(Fr_M)^y = 1$ 。

当 $D/d=3$ 、 $H_L/d=3$ 、 $B/d=1$ 、挡板数为 4 的情况下, 对涡轮式、螺旋桨式和平桨式三种桨型的功率准数与雷诺数的关系, 表示如图 6-18。

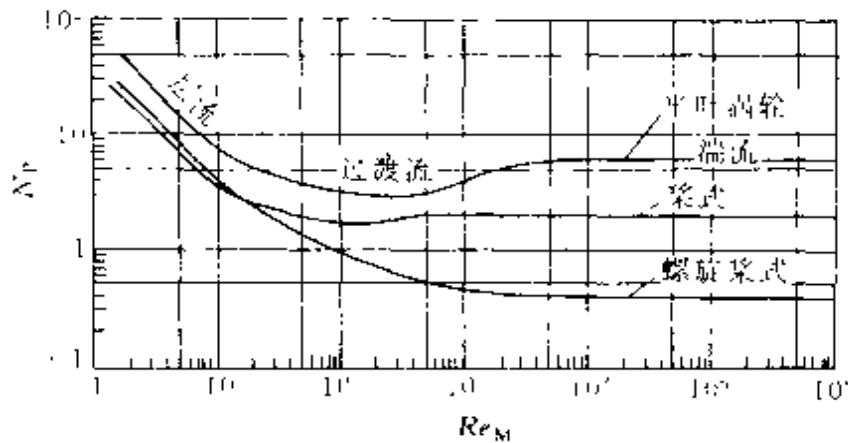


图 6-18 几种搅拌器的功率准数 N_p 与雷诺准数 Re_M 的关系

从图中可以看出:

当 $Re_M < 10$ 时, 液体处于层流状态, 此时 $x = -1$,

$$N_p = K Re_M^{-1} \quad (6-63)$$

$$P = K n^2 d^3 \mu \quad (6-64)$$

当 $Re_M > 10^4$ 时, 液体处于湍流状态, 此时 $x = 0$,

$$N_p = K \quad (6-65)$$

$$P = K n^3 d^5 \rho \quad (6-66)$$

此时搅拌功率 P 与流体粘度无关, 并且此时 N_p 不随 Re_M 而变化, 为一常数。例如对圆盘六平叶涡轮 $N_p \approx 4.7$, 而对圆盘六箭叶涡轮 $N_p \approx 3.7$ 。

当 $10 < Re_M < 10^4$ 时, 液体处于过渡流状态, K 与 x 均随 Re_M 变化。

在一般情况下, 搅拌器大多在湍流状态下操作, 故可用式 (6-66) 来计算搅拌器的轴功率。

由于一般发酵罐中 $D/d \neq 3$ 、 $H_L/d \neq 3$ ，其搅拌功率可用下式校正：

$$P^* = fP \quad (6-67)$$

f 为校正系数，它由下式来确定：

$$f = \frac{1}{3} \sqrt{\left| \frac{\overline{D}}{d} \right| \left| \frac{\overline{H_L}}{d} \right|} \quad (6-68)$$

式中，带 * 号者代表实际搅拌设备情况。

由于工业发酵罐的高径比 (H/D) 一般为 2~3，因此在同一轴上往往装有多层搅拌器。对于多层搅拌器的轴功率可按下式估算：

$$P_m = P(0.4 + 0.6m) \quad (6-69)$$

式中 m —— 搅拌器层数。

当发酵罐中通入压缩空气后，搅拌器的轴功率输出将下降到原来的 $\frac{1}{2} \sim \frac{1}{3}$ ，减少程度与通气量存在着一定关系。为了估算通气条件下的搅拌功率，可引入一通气准数 N_g ，它表示了发酵罐内空气的表观流速与搅拌器叶端速度之比，可表示为：

$$N_g = \frac{Q_G}{nd^3} \quad (6-70)$$

式中 Q_G —— 工况通气量，

m^3/s ；

d —— 搅拌器直径，

m ；

n —— 搅拌器转数，

s^{-1} 。

若以 P_g 表示通气搅拌功率， P_0 为不通气搅拌功率，则

当 $N_g < 0.035$ 时，

$$P_g/P_0 = 1 - 12.6N_g \quad (6-71)$$

当 $N_g \geq 0.035$ 时，

$$P_g/P_0 = 0.62 - 1.85N_g \quad (6-72)$$

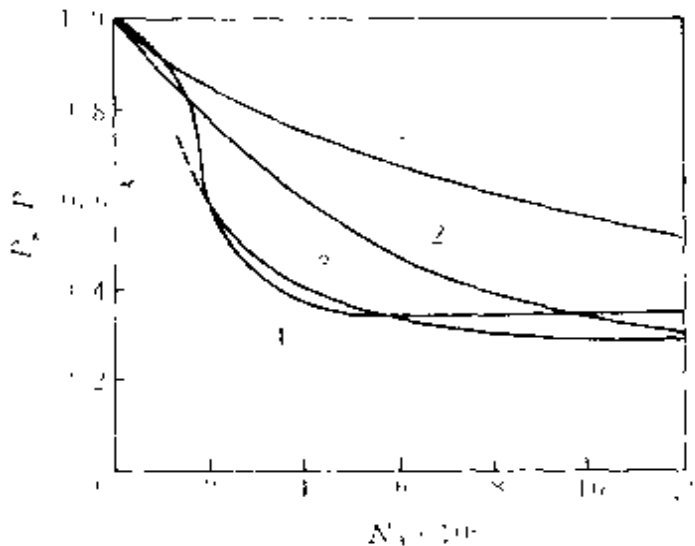


图 6-19 各种搅拌情况下，通气与不通气功率之比与通气准数的关系

1- 平桨涡轮 ($n_b=8$)；2- 叶盘式 ($n_b=6$)；

3- 叶盘式 ($n_b=4$)；4- 短桨

图 6-19 表示了在各种搅拌情况下, 通气与不通气功率之比与通气准数的关系。

当发酵液密度为 $800 \sim 1650 \text{ kg/m}^3$, 粘度为 $9 \times 10^{-4} \sim 0.1 \text{ Pa} \cdot \text{s}$ 时, 可用 Michel 公式来估算涡轮搅拌器的通气搅拌功率:

$$P_g = C \left(\frac{P^2 n d^3}{Q_G^{0.56}} \right)^{0.45} \quad (6-73)$$

当 d/D 在 $\frac{1}{3} \sim \frac{2}{3}$ 之间变化时, C 值为 $0.101 \sim 0.157$ 之间。

式 (6-73) 为一经验公式, 应注意其使用单位。式中 n 为搅拌转数, 为 r/min , Q_G 为工况下通气量, 单位为 m^3/min 。

Reuss 用因次分析法提出下列关系式:

$$\frac{P_g}{P_0} = 0.031 F_r^{-1.6} Re^{0.064} N_s^{-0.38} \left(\frac{D}{d} \right)^{0.8} \quad (6-74)$$

式中 F_r —— Froude 准数;

Re —— Reynold 准数;

N_s —— 通气准数;

D —— 反应器直径;

d —— 搅拌桨直径。

Hughmark 从 248 组实验数据中整理出下式

$$\frac{P_g}{P_0} = 0.1 \left(\frac{Q_G}{nV_L} \right)^{-0.25} \left(\frac{n^2 d}{gh_r V_L^{0.67}} \right)^{-0.2} \quad (6-75)$$

式中 V_L —— 液相体积;

h_r —— 搅拌桨叶宽度。

上式计算值与实验值误差为 11%。

Brown 提出更为简单的关联式:

$$\frac{P_g}{P_0} = a \exp(-bQ_G) \quad (6-76)$$

式中 a, b —— 与气体流速和搅拌桨直径有关的参数。

若以 P_g/P_0 对流动准数 N_s 对应作图, 上述三个关系式所表示的曲线同图 6-19 相一致。

对非牛顿性流体, 由于其粘度随搅拌桨转数不同而变化, 因此先

要求出粘度与转数的关系，再依次确定 Re_M 、 N_p 、 P 和 P_g 。

6.3.3 流体的混合与分散

在一需氧反应的机械搅拌槽式反应器中，搅拌器的周围是其流体进行分散最有活力的区域。因此了解围绕搅拌器周围流体的流动特性是很重要的，该流动特性取决于搅拌器的结构，搅拌转速和通入气体速率等因素。

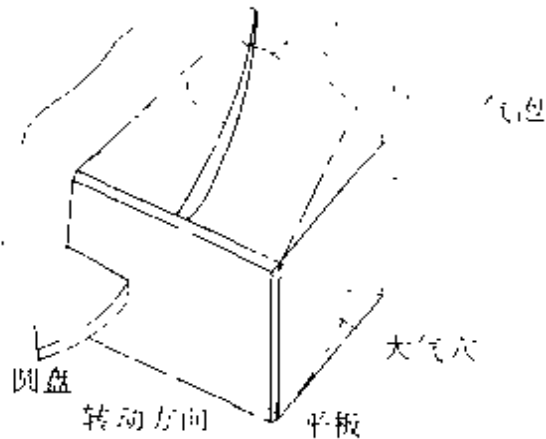


图 6-20 搅拌桨平板后面形成的气穴

实验研究表明，在搅拌器转动时，在桨叶的后面，存着一个有尾部涡流的气穴，该气穴的形状将随空气加入速率而变化。当气体加入速率较小时，气体将进入涡流中心、称为进气涡流气穴；当气体加入速率提高，气穴将逐渐被气体所充满，涡流在缩小；进一步加大气体通入速率，导致形成更大的空穴。图 6-20 表示当气体加入速率很大时，在搅拌器桨叶的后面所形成的的大气穴的示意图。

反应器内气液总的流动模式同样也是取决于搅拌器的结构、搅拌速度和空气通入速率。当搅拌器的结构一定时，则主要是搅拌速度和空气通入速率。不同搅拌速度和不同空气通入速率所引起的机械搅拌槽式反应器内气液流动的变化如图 6-21 所示。从该图中可以看出；随着转数和通气速率的变化，流动状况可分为下述三种状态。

第一种为很高的气体通入速率和低的搅拌转速，此时气泡没有分布，而是沿搅拌轴轴向逸出，故称为逸出搅拌状态，如图 6-21 中 (a)。

第二种为没有气体循环的搅拌状态，如图 6-21 中 (b) 和 (c)。此时虽能将气体很好进行分散，但在整个反应器内气体分布还欠均匀。

第三种称为有气体循环的搅拌状态，如图 6-21 中的 (d)。此时搅拌速率高，通气速率低，有大量流体在循环，整个反应器内气体分布均匀。此时传质速率达到最大。

对上述三种状态，应尽量避免第一种流动状态，因其传质效果最

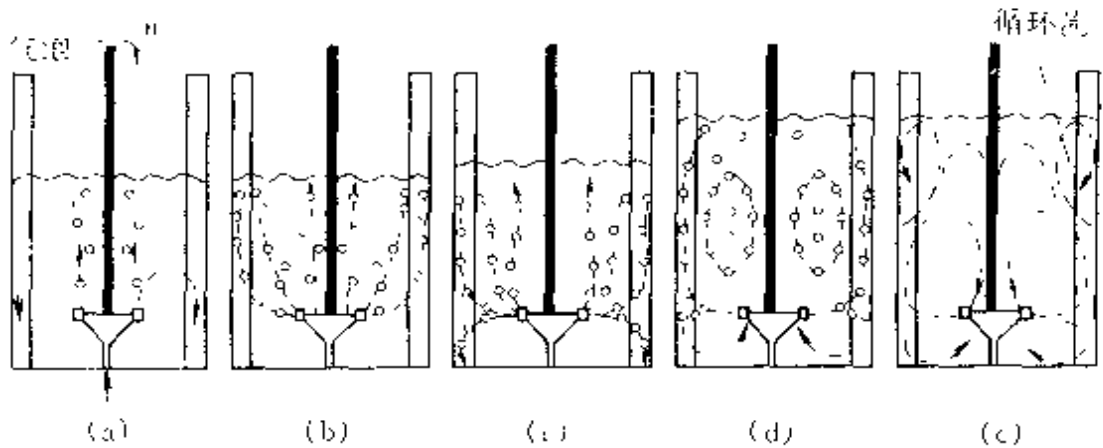


图 6-21 搅拌槽反应器中改变转速或气速时气体的流动状况

(a) 很高气速或很低转速；(b) 较高气速或较低转速；(c) 中等气速或转速；
(d) 低气速或高转速；(e) 非搅拌状态

差。第三种状态其传质效果最好。

若从不完全循环第二状态过渡到完全循环第三状态，通气准数 N_a 与 Froude 准数应有下述关系：

$$N_a = 13F_r^{0.5} \left(\frac{D}{d} \right)^{-5} \quad (6-77)$$

若以搅拌桨叶的叶端速度 (πnd) 和通气速率 (V_g) 对应作图，如图 6-22 所示。如果我们已知 D 和 d 值，原则上可通过控制通气速率和转数，以求得到最大传质速率。

对机械搅拌槽式反应器，还要求物料混合均匀，反应器内不存在浓度梯度。因此有时要求能求出流体混合均匀的时间。

研究结果表明，对单纯的液相体系，混合时间容易求出。提出下列关联式

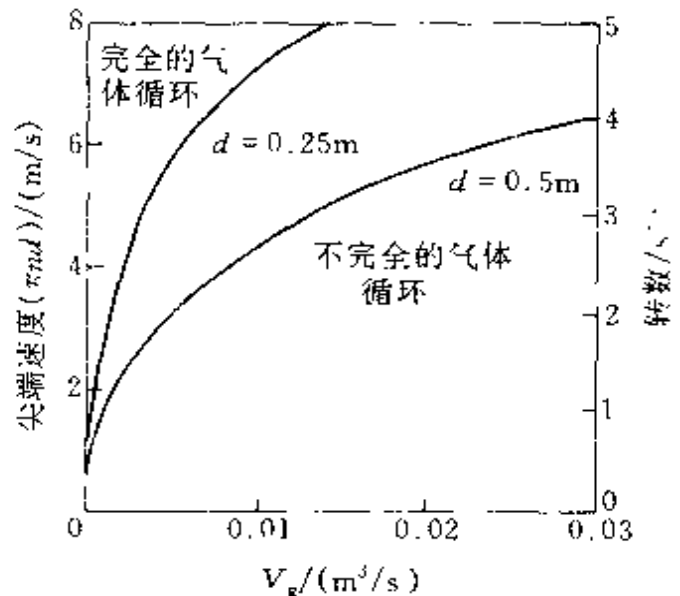


图 6-22 不同气速和尖端速度时，气体从不完全循环到完全循环

的示意图 $\left(\frac{D}{d} = 2.5 \right)$

$$nt_m = 1.2 \left[\frac{D}{d} \right]^{1/3} \left[\frac{H}{D} \right] N_P^{1/3} \left[\frac{d}{h_r} \right]^{1/3} \quad (6-78)$$

式中 n —— 搅拌器转数；
 t_m —— 混合时间；
 D —— 反应器直径；
 d —— 搅拌桨直径；
 H —— 液层高度；
 h_r —— 桨叶高度；
 N_P —— 搅拌器功率准数。

对气液体系，通过实验测定的结果表明，液体混合时间增加 1.2 到 2 倍。

气体之间的混合主要发生在搅拌桨叶后部的气穴中，如果气泡在形成后会聚结的话，这些气泡就会非常迅速地在搅拌器附近聚结。气泡的聚结决定了平均气泡尺寸。并且也影响到气体的循环量大小。循环量大小又直接影响到气液传质中气相浓度的推动力大小。

从提高传质速率考虑，要求气泡直径较小，以提供大的气液传质表面积。气泡直径大小除了与搅拌桨特性有关外，还与液体的性质、离子强度、表面张力和粘度等因素有关。

气含率的大小也是影响气液传质的一个重要参数。用 ϵ_G 表示，其定义式为：

$$\epsilon_G = \frac{V_G}{V_G + V_L} \quad (6-79)$$

式中 V_G —— 气相体积；
 V_L —— 液相体积。

在机械搅拌槽式反应器中，很多研究者将 ϵ_G 与输入功率数和表观气速相关联，如：

$$\epsilon_G = 0.13 \left(\frac{P_g}{V} \right)^{1/3} u_s^{2/3} \quad (6-80)$$

$$\epsilon_G = K \left(\frac{P_g}{V} \right)^{1/3} u_s^{1/2} \left(\frac{d}{D} \right) d^{-1/6} \quad (6-81)$$

上述方程的关联是根据在水中测得实验数据而得到的。实验发现,如果在水中加入盐类,当离子强度为 0.4mol/L 时,会强烈抑制气泡的聚并,有可能使气泡减小,并增加气含率,图 6-23 说明该种现象。从图中可以看出,当盐的浓度提高, ϵ_G 明显增加,对发酵液,由于其中会含有各种盐类,其气含率会比在纯水中有所提高。

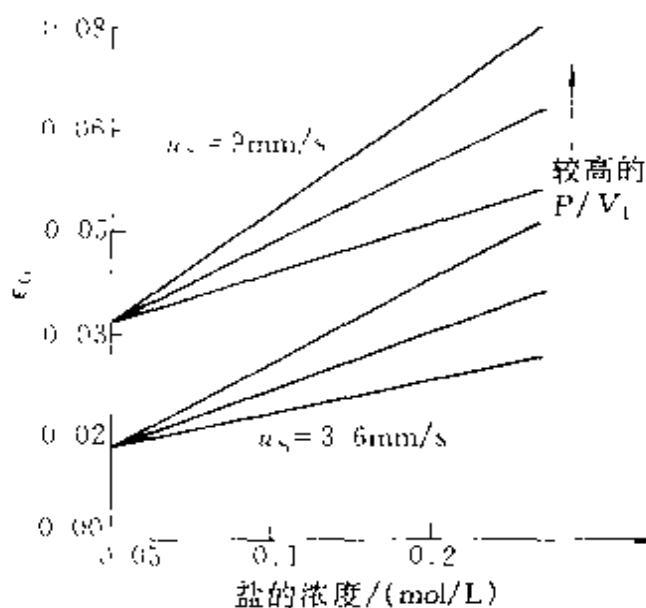


图 6-23 盐浓度的变化对气含率的影响

6.3.4 传质系数 $k_L a$ 的计算

对搅拌槽式反应器中气液传质系数进行了广泛而大量的研究,最成功的关联形式为:

$$k_L a = K \left(\frac{P_g}{V_L} \right)^\alpha u_s^\beta \quad (6-82)$$

式中 $\alpha = 0.4 \sim 1.0$;

$\beta = 0.0 \sim 0.8$;

K 为系数。

也有的作者将上式改写为与反应器结构参数 d 和转数 n 相关联,表示为下式:

$$k_L a = k n^\alpha d^\beta u_s^\gamma \quad (6-83)$$

这样可与搅拌转数、搅拌桨直径和气体流速相联系。

图 6-24 表示的在不同表观气速下对纯水和含离子溶液的 $k_L a$ 与 P_g/V_L 的关系曲线。

对于有多挡搅拌器的大型反应器,表示为:

$$k_L a = K (2.0 + 2.8m) \left[\left(\frac{P_g}{V} \right)^{0.4} u_s^{0.5} n^{0.5} \right]^\gamma \quad (6-84)$$

式中 γ ——经验常数,可取 $1.4 \sim 1.6$;

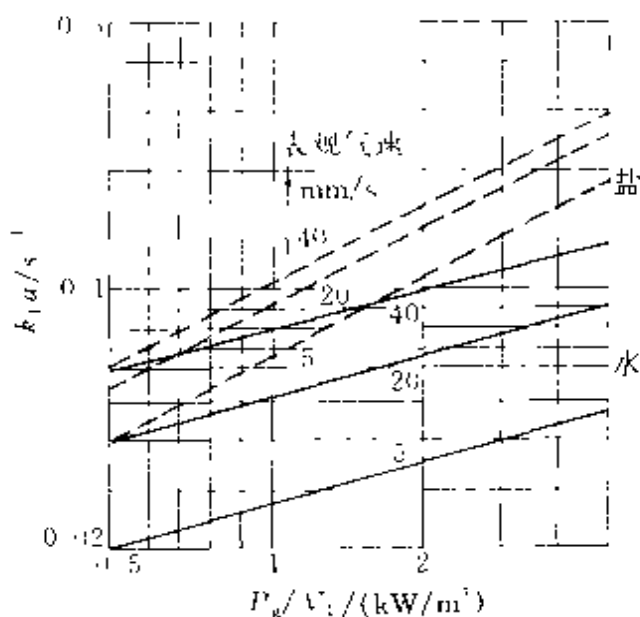


图 6-24 不同表观气速下对纯水和含离子溶液的 $k_L a$ 与 P_g/V_L 的关系

m — 搅拌器挡数；

n — 搅拌器转数。

通气速度 u_s 为单位横截面积上的通气量。而通气量常用 [VVM] 表示，它是指培养液体积除以每分钟通气量所得的商，通常为 1~2 [VVM]。

根据实验结果，当 $V_L < 2.6 \text{ m}^3$ ， $500 < \frac{P_g}{V_L} < 1000$ ， $u_s < 4 \text{ cm/s}$ 时，可关联出空气水体系为：

$$k_L a = 2.6 \times 10^{-2} \left(\frac{P_g}{V_L} \right)^{0.4} u_s^{0.5} \quad (6-85)$$

综合考虑设备结构、操作条件和流体性质对传质系数的影响，可以认为：

$$k_L a = f(d, n, u_s, \mu, \rho, \sigma, g) \quad (6-86)$$

通过因次分析，上式可表示为：

$$\frac{k_L a d_i^2}{D_L} = K \left(\frac{\rho n d_i^2}{\mu} \right)^{a_1} \left(\frac{n^2 d_i}{g} \right)^{a_2} \left(\frac{\mu}{\rho_L D_L} \right)^{a_3} \left(\frac{\mu u_s}{\sigma} \right)^{a_4} \left(\frac{n d_i}{u_s} \right)^{a_5} \quad (6-87)$$

在 $D/d_i = 2.5$ ， $H_L = D$ 的反应器中，Yagi 等对于牛顿性流体（不同浓度的甘油溶液和淀粉水解液），得到下述结果： $K = 0.06$ ， $a_1 = 1.5$ ， $a_2 = 0.19$ ， $a_3 = 0.5$ ， $a_4 = 0.6$ ， $a_5 = 0.32$ 。

对含有羧甲基纤维素和聚丙烯酸钠的非牛顿性流体中，则有下列式：

$$\frac{k_L a d_i^2}{D_L} = 0.06 \left(\frac{\rho_L n d_i^2}{\mu} \right)^{1.5} \left(\frac{n^2 d_i}{g} \right)^{0.19} \left(\frac{\mu}{\rho_L D_L} \right)^{0.5} \times \left(\frac{\mu u_s}{\sigma} \right)^{0.6} \left(\frac{n d_i}{u_s} \right)^{0.32} [1 + 2(\lambda n)^{0.5}]^{-0.67} \quad (6-88)$$

式中 λ — 非牛顿流体粘弹性的松弛时间，又称 λn 为其 Deborah 准数。

对含有金色链霉菌死菌体的模拟发酵液（该发酵液呈拟塑性流动特性），得到下述关联式：

$$\frac{k_L u d_t^2}{D_1} = 0.46 \times 10^{-3} \left\{ \frac{\rho_L n d_t^2}{\mu_s} \right\}^{1.65} \left\{ \frac{n^2 d_t}{g} \right\}^{0.127} \left\{ \frac{\mu_s}{\rho_L D_1} \right\}^{0.7} \times \left\{ \frac{\mu_s \mu_s}{\sigma} \right\}^{0.37} \left\{ \frac{n d_t}{u_s} \right\}^{0.17} n_f^{2.7} \left[\frac{\rho_L (1-n_f)}{C_s} \right]^{0.16} \left\{ \frac{\mu_s}{\mu_L} \right\}^{1.04 n_f - 0.222} \quad (6.89)$$

式中 n_f ——丝状菌悬浮液的流动特性指数；

C_s ——固相物浓度；

μ_s ——表观粘度；

μ_L ——液相粘度。

6.4 气体搅拌塔式反应器的传递特性

气体搅拌塔式反应器是一种高径比较大的非机械搅拌式生化反应器。流体的流动与混合主要依靠压缩空气所带入的能量。它的原型是一单圆筒形的塔，结构非常简单。现已开发出多种型式，有多层孔板的鼓泡式反应器，有内设拉力筒、外设循环管的环流式反应器等。具体可参看图 6.25。

与机械搅拌式生化反应器相比，塔式细胞反应器的主要优点是：①

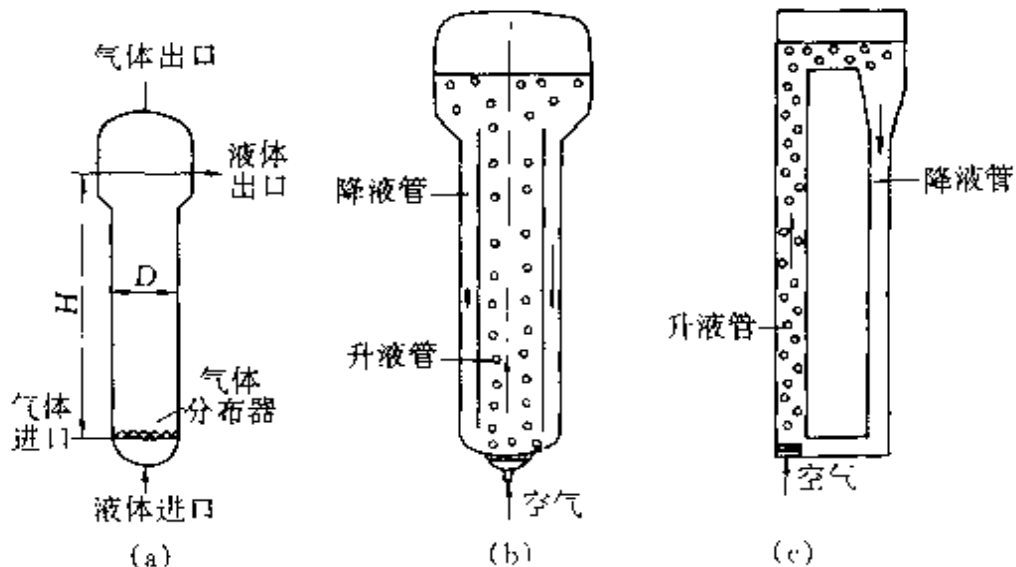


图 6-25 几种气体搅拌塔式反应器示意图

(a) 普通鼓泡塔；(b) 内循环气升式；(c) 外循环气升式

省去了轴封，从根本上排除了因轴封而造成染菌；②反应器结构简单；③功率消耗小；④减少了剪切作用对细胞的损害。塔式反应器生产规模愈大，愈能显示其优势。现在世界上已建成具有 2600m^3 容积的用于生产单细胞蛋白的塔式反应器，有用于废水处理的环流式反应器，其容积已达到 2000m^3 。

虽然塔式反应器形式多样，但最有代表性的是鼓泡塔和气升式反应器。

6.4.1 反应器的结构

该类反应器中结构最为简单的鼓泡式反应器。其内部为一空塔，底部用气体分布器来分布气体。

图 6-25 中的 (a) 表示普通的鼓泡塔式反应器。

由于鼓泡塔内推动气液混合和传质最主要的动力来自于在鼓泡塔内气体分布器处气泡的生成。为此人们开发了多种气体分布器，包括动态分布器和静态分布器，如图 6 26 所示，一般鼓泡塔用于低粘度体系和生产规模较大过程，也可用于对剪切敏感的反应体系。鼓泡式反

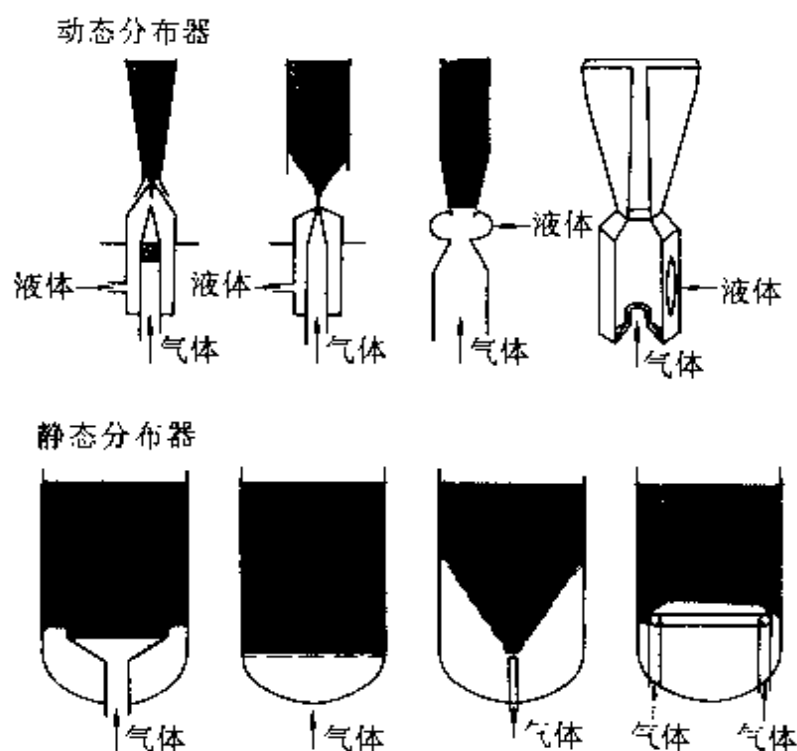


图 6-26 动态与静态气体分布器示意图

反应器显然存在着流体循环流动强度不够的弱点,从而影响了其传质效果,环流反应器就是人们为增强反应器内的传递效果而有意识强化这种循环流动而开发的一种反应器。见图 6-25 中 (b) 和 (c),它是利用反应器中上升管中富气液体和降液管中无气液体之间的比重差来实现流体的连续循环流动,由于有较高的循环速率,使混合与传质效率大为提高。同时又使反应器内溶解氧由于细胞的消耗而减少,当其通过环流管时由于气液接触而重新达到饱和。

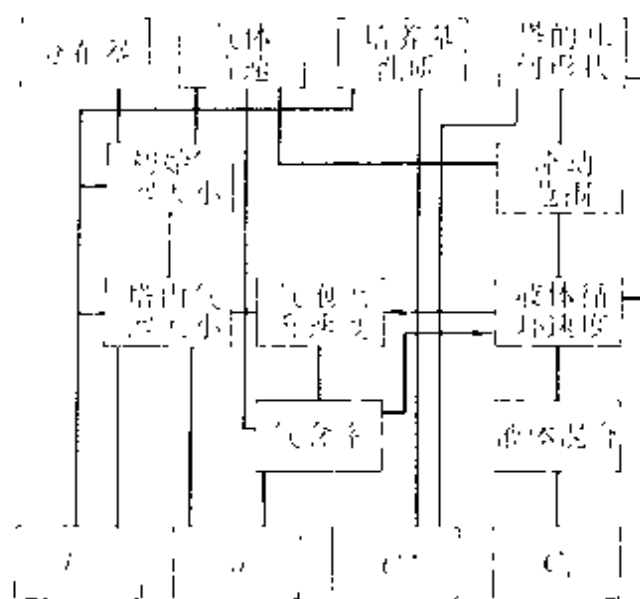


图 6-27 鼓泡塔内包括的参数之间的关系

要掌握本类反应器的传递特性,最重要的是了解有关气泡的形成、聚并和再分散及其导致的流动特性。图 6-27 表示的是在鼓泡塔内这些过程之间的关系。下面的讨论也是为这些关系提供某些经验关联式。

6.4.2 反应器的操作状态

在鼓泡式反应器内,一般是液相为连续相,气相为分散相。反应器内流体的流动状况主要是随气速的大小而变化的。其流动状态可分为下述三个区域:

(1) 均匀鼓泡区域。当表观气速小于 0.05m/s 时,一般处于该区域。此时,气泡呈分散状态,且大小均匀,液体的扰动也不显著。

(2) 非均匀湍动鼓泡区域。在较高的表观气速下,均匀鼓泡状态不能再维持。此时部分气泡聚并成大气泡,塔内气液剧烈而无定向搅动。同时也造成了大量液体的循环流动,此时气体以大气泡和小气泡两种形态与液体接触,大气泡上升速度较快,停留时间较短;小气泡上升速度较慢,停留时间较长,因而形成不均匀接触的流动状态。

(3) 栓塞气泡流动区域。在塔的直径较小、表观气速较高的情况下会出现栓塞气泡流动状态,这时由于大气泡直径被塔的器壁所限制。

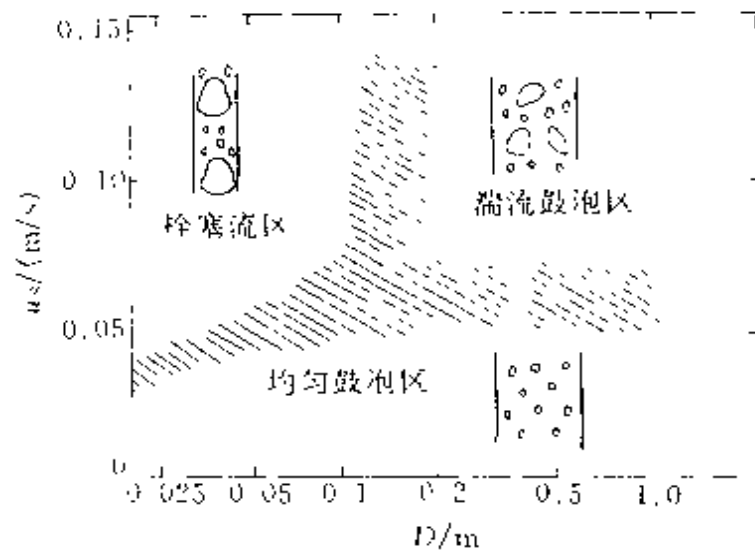


图 6-28 鼓泡塔流动状态分区区域图

图 6-28 表示了鼓泡塔内各流动状态区域示意图。图中三个区域的交界处为其相应区域的过渡区，这是由于气体分布器的型式、液体物化性质和流速在一定程度上影响了流动区域的转移。

从均匀鼓泡区到非均匀湍动鼓泡区的转变过程中，当气体通入量增加时，原有小气泡的上升速度已不能满足较高的气体通入量的要求，部分小气泡就发生聚并，形成大气泡，得到较大上升速度，因而构成了不均匀流动的湍动鼓泡区。在该区域内，液体产生较大的循环速度，在塔的中部，液体随气泡夹带上升，而在其近壁处，液体又回流向下，液体循环示意图如图 6-29 所示。

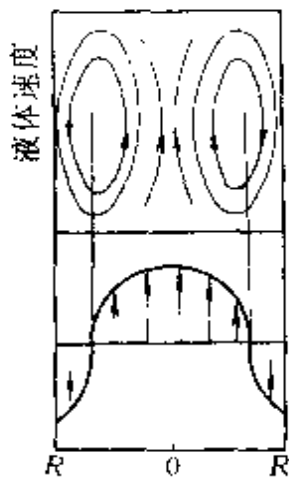


图 6-29 液体循环示意图

根据测定，当直径为其塔径的 0.7 处，其轴向流速为零。大于此塔径处，液体向下流动，小于此塔径处，液体向上流动。

此时液体循环速度可用下式表示：

$$u_{lc} = 1.18 [gD(u_s - \epsilon_0 u_{hs})]^{1/3} \quad (6-90)$$

式中 u_{lc} ——液体循环速度；

g ——重力加速度；

D ——塔的直径；

u_s —— 气体表观速度；

ϵ_G —— 气含率；

u_{bs} —— 单一气泡相对于液体上升速度。

对非均匀鼓泡区， $u_s > \epsilon_G u_{bs}$ ，式 (6-90) 又可简化为

$$u_{bc} = 1.18(gDu_s)^{1/3} \quad (6-91)$$

式 (6-90) 和式 (6-91) 适用于 $u_s = 0 \sim 0.4 \text{ m/s}$ 和 $D = 0.1 \sim 7.5 \text{ m}$ 的范围内。

对环流反应器，对其流动速度有一定要求。例如对进行细胞反应，培养基必须维持一定的环流速度才能不断补充氧，使培养基能始终保持一定的溶氧浓度，以适应反应的需要。

发酵液在环流管内循环一次所需要的时间，则称为循环周期。对不同的微生物，由于菌体的耗氧速率不同，所要求的循环周期亦有所不同。如果供氧速率跟不上，会使菌体活力下降从而减少产物的产率。例如，用黑曲霉发酵生产糖化酶时，当菌体浓度为 7% 时，其循环周期要求 2.5~3.5 min，不得大于 4 min，否则会造成缺氧而使糖化酶活力急剧下降。

循环周期可由下式求出：

$$\tau_r = \frac{V_L}{Q_c} = \frac{V_L}{\frac{\pi}{4} d^2 u_{cl}} \quad (6-92)$$

式中 τ_r —— 循环周期，s；

V_L —— 发酵液体积， m^3 ；

Q_c —— 发酵液环流量， m^3/s ；

u_{cl} —— 发酵液在环流管内流速， m/s 。

环流管内液体环流速度 u_{cl} 与气液比 A 值的关系如图 6-30 所示。

气液比 A 定义为发酵液的

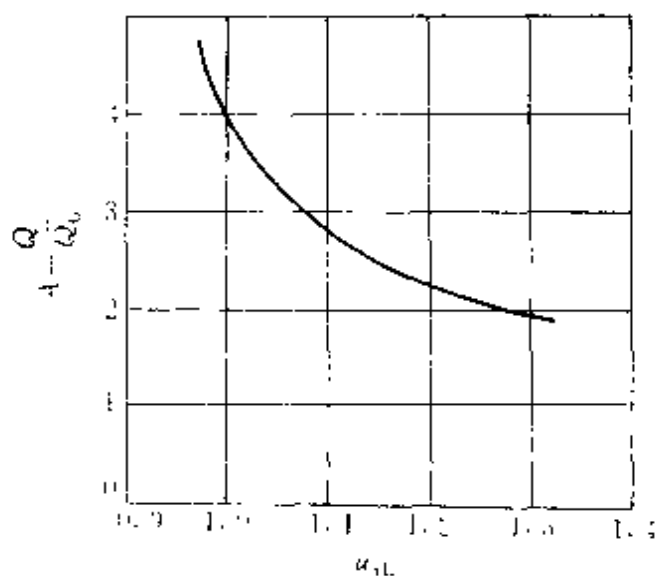


图 6-30 气液比 A 与环流速度 u_{cl} 的实验曲线

环流量与通气量之比。

$$A = \frac{Q_c}{Q_g} \quad (6-93)$$

环流管内液体环流速度可取 $1.2 \sim 1.4 \text{ m/s}$ 。一般认为 u_{r1} 与 \sqrt{H} 成正比， H 为液面高度。

6.4.3 气泡直径的确定

气动搅拌反应器中最基本的因素是气泡的运动，气泡的大小是该种反应器设计的关键参数。它的运动规律决定了反应器传递的性能。因此，必须要了解气泡的大小、生长及其运动规律，才能进一步掌握液相内的气含量、气液相界面状况，以及气液相间的传质。

(1) 单一气泡直径的确定。单一气泡的直径可按孔口雷诺数的大小，分为三个区域。

区域 I：流速很慢的区域。生成的气泡在塔内按其原样大小上升，气泡之间无合并及分裂。此时气泡可视为球形，其直径可根据气泡所受浮力与孔周边对气泡附着力之间的平衡求得，气泡直径为：

$$d_B = 1.7 \left[\frac{\sigma d_0}{(\rho_L - \rho_G)g} \right]^{1/3} \quad (6-94)$$

式中 σ ——表面张力；

d_0 ——分布器孔口直径。

区域 II： $200 < Re_0 < 2100$ ，为中等流速区域。

随着气流速度增加，前后气泡就要相互影响，此时气泡不再是一个一个单独行动，而是以连珠泡状向上运动。虽然气泡大小均匀，但其直径大于式 (6-94) 所描述的气泡直径。

$$d_B = 1.17 u_{S_0}^{0.4} d_0^{0.6} g^{-0.2} \quad (6-95)$$

式中 u_{S_0} ——分布器孔口处气体的速度。

区域 III： $Re_0 > 4000$ ，为大流速区域。在此区域内，气泡变成不稳定的，其平均直径随 Re_0 的增加而下降，此系气泡破碎所致。

当 $4000 < Re_0 \leq 7000$ 时，

$$\bar{d}_B = 100 Re_0^{0.4} \left(\frac{\sigma d_0^2}{(\rho_1 - \rho_0) g} \right)^{-0.1} \quad (6-96)$$

当 $Re_0 > 10000$ 时,

$$\bar{d}_B = 0.0071 Re_0^{-0.5} \quad (6-97)$$

式中 \bar{d}_B 为大小不等的气泡等体积表面比的当量平均直径。

图 6-31 表示了空气-水体系所测得的 $d_B, V_0 d_0$ 的关系曲线。从图中可以看出, 当 d_0 值愈小, d_B 值就愈小。

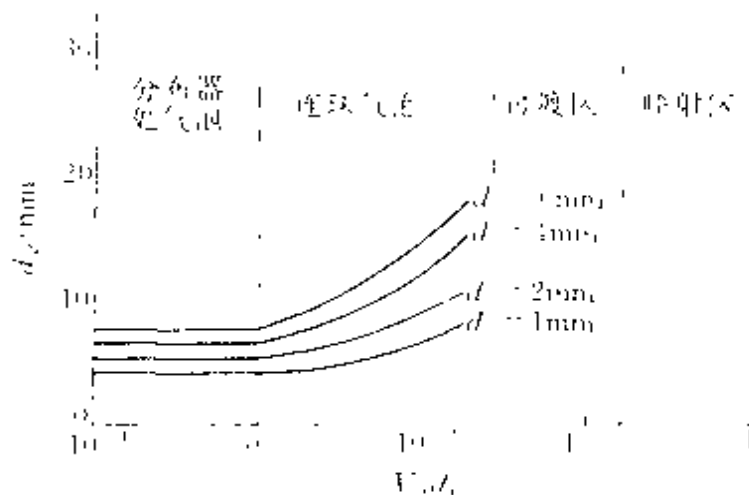


图 6-31 空气-水体系中孔板处气泡的形成

上述实验结果都是以空气-水作为研究体系而得到的。对非纯水的聚结体系 (例如水中含有盐类体系), 其气泡直径可用下式计算:

$$d_B = 0.0061 (u_{S_0} d_0)^{0.1} d_0^{0.08} \left(\frac{\sigma}{\sigma_w} \right)^{0.38} \quad (6-98)$$

式中 σ_w —— 水的表面张力。

图 6-32 表示了对聚结体系和非聚结体系所测得 d_B 值。从图中可以看出, 对非聚结体系 $d_B < 1\text{mm}$, 而对聚结体系, 其 d_B 为 2~4mm, 而且在气速增大时, d_B 明显增大。

当气泡所受浮力等于阻力时, 该气泡作稳定状态上升, 其上升速度将随气泡直径而变化。一般规律时, 当 $d_B < 0.7\text{mm}$ 时, 气泡为球形, 气泡在液相中做直线上升, 其上升速度符合 Stokes 定律; 当 $0.7 <$

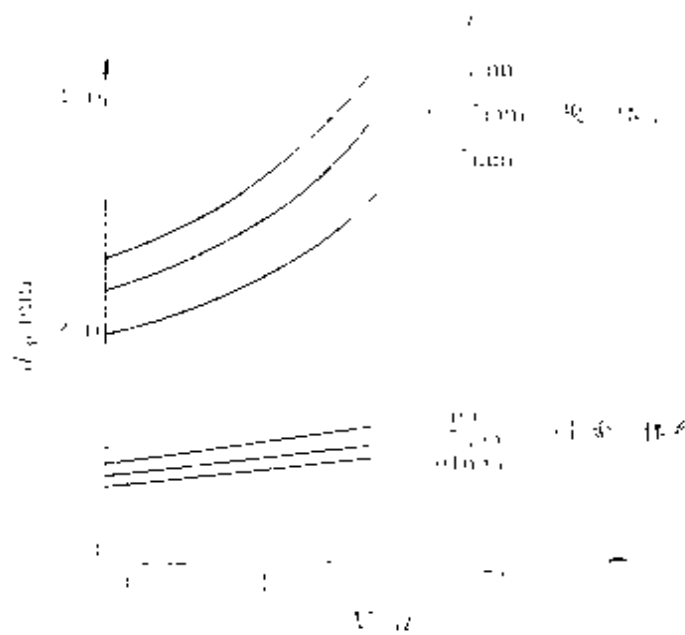


图 6-32 聚结体系与非聚结体系气泡大小的比较

$d_B < 1.4\text{mm}$ 时, 气泡在上升过程中发生循环, 上升速度加快; 当 $1.4 < d_B < 6\text{mm}$ 时, 气泡不再是球形, 而是近似椭圆形, 在液体中以螺旋状轨迹上升, 并形成涡流; 当 $d_B > 6\text{mm}$ 时, 气泡成笠帽状, 随着气泡直径的增加, 气泡上升速度继续加快。

(2) 气泡群的大小及其分布。对在塔内, Akita 通过因次分析得到计算平均气泡大小的准数关联式为:

$$\frac{d_{Bw}}{D} = 26 \left(\frac{gD^2\rho_w}{\sigma_w} \right)^{0.26} \left(\frac{gD^3}{\mu_w^2} \right)^{0.12} \left(\frac{U_s}{\sqrt{gD}} \right)^{0.12} \quad (6-99)$$

上述结果是对水-空气体系做出的。对非水体系, 可用下式换算:

$$d_B = d_{Bw} \left(\frac{\rho_w}{\rho_l} \right)^{0.26} \left(\frac{\sigma_l}{\sigma_w} \right)^{0.50} \left(\frac{\mu_l}{\mu_w} \right)^{0.24} \quad (6-100)$$

上述结果, 是指全塔平均气泡直径。实际上, 气泡直径沿径向存在一个直径分布。Falkov 等提出用下式描述其分布:

$$d_B = \left(9 \cdot 5.2 \frac{r}{R} \right) \times 10^{-3} \quad (6-101)$$

在塔内气泡群的上升速度和单个气泡上升速度也会不同, 气泡群上升速度由于相互碰撞而下降。

6.4.4 气含率与传质系数

(1) 气含率 ϵ_G 的计算。对气动搅拌反应器, 了解反应器气含率的大小, 无疑对氧的传质有着密切关系。

Schügerl 等提出, 气含率 ϵ_G 可简单表示为:

$$\epsilon_G = a_n^n \quad (6-102)$$

n 取决于流体操作状态、气体分布器的型式和培养基的组成。在均

匀鼓泡流区域 n 为 0.7~1.0；在非均匀鼓泡流区域 n 为 0.4~0.7。

G. Mijnebeck 指出，对非聚结体系均匀鼓泡流，且为大的气体分布器时，可用下式：

$$\epsilon_G = \frac{u_s}{0.25} \quad (6-103)$$

若为非均匀鼓泡流，则有：

$$\epsilon_G = 0.6u_s^{0.7} \quad (6-104)$$

对气升式反应器，若将液体循环速度考虑进去，则有：

$$\epsilon_G = \frac{u_s}{0.25 + u_{LC}} \quad (6-105)$$

式中 u_{LC} —— 液体循环速度。

根据式 (6-103) 和式 (6-105) 可得到图 6-33 所表示的曲线 a 和 b。

从图中可以看出，当 u_s 较低、处于均匀鼓泡操作范围时，式 (6-103) 还是相当精确的。 ϵ_G 与 u_s 存在着线性关系，特别是对非聚结体系，此时也拟合很好（曲线 f 和 g）。对非均匀鼓泡区所得到的曲线 c、d 和 e 都与曲线 b 相类似。

还有很多研究者提出了一些试图能把各种因素都考虑进去的普遍关系式。

Hikita 提出：

$$\epsilon_G = 0.672b \left(\frac{u_s \mu_L}{\sigma} \right)^{0.578} \left(\frac{\mu_L g}{\rho_L \sigma^3} \right) \left(\frac{\rho_G}{\rho_L} \right)^{0.062} \left(\frac{\mu_G}{\mu_L} \right)^{0.107} \quad (6-106)$$

式中 b —— 与离子强度有关参数。

上述公式是根据对蔗糖水溶液、甲醇水溶液和正丁醇溶液以及盐的水溶液分别进行的实验数据整理而得到的。反应器直径 10cm，气速为 3.8~42cm/s。

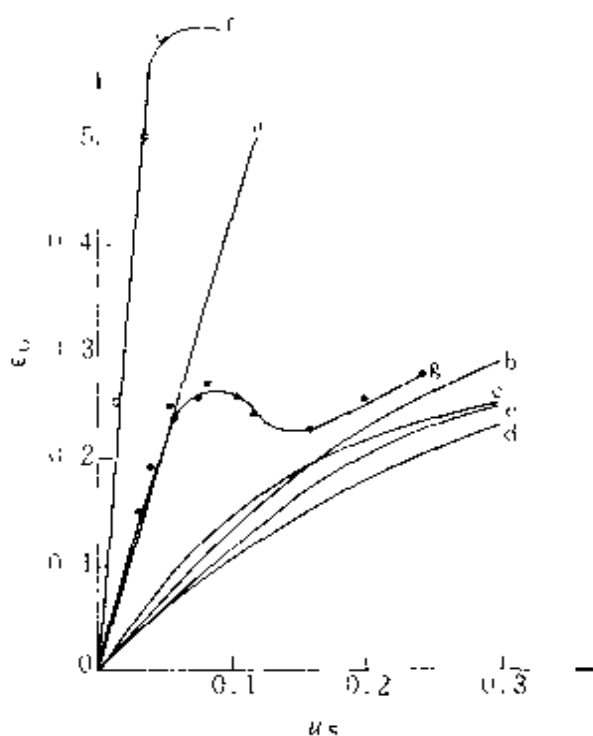


图 6-33 鼓泡塔中气含率
(空气-水体系)

Weiland 等在一 9.5m 高的带有外部环流的塔式反应器中进行了实验。得到与式 (6-104) 相同形式:

$$\epsilon_G = \alpha u_s^\beta \quad (6-107)$$

在不同实验条件下, $\alpha = 55.8 \sim 62.3$, $\beta = 0.725 \sim 0.803$ 。

在循环管内液体循环速度为:

$$u_{11} = 1.15 u_s^{0.41} \quad (6-108)$$

Schumpe 等报道了用甘油、CMC、PAA、黄原胶等高粘度基质进行实验所测得的有关气含率的关联式, 为:

$$\epsilon_G = 0.36 \left(\frac{g D^3 \rho_L}{\sigma} \right)^{0.15} \left(\frac{g D^3 \rho_L}{\mu_L} \right)^{0.69} \left(\frac{u_s}{\sqrt{g} D_L} \right)^{0.43} \quad (6-109)$$

Moo-Young 等也用上式对菌丝体培养液的气含率进行了描述。

对气升式反应器, 还应注意的是, 由于与一般鼓泡反应器的结构不同, 该反应器内各处的气含率是不同的。有升液管气含率 ϵ_r 、降液管气含率 ϵ_d 及全反应器平均气含率 ϵ_G 。

它们之间显然存在下述关系:

$$\epsilon_r > \epsilon_G > \epsilon_d \quad (6-110)$$

有人推荐, ϵ_r 和 ϵ_d 可分别用下式求出:

$$\epsilon_r = \frac{u_s}{0.24 + 1.35(u_s + u_L)^{0.98}} \quad (6-111)$$

$$\epsilon_d = 0.98 \epsilon_r \quad (6-112)$$

(2) 体积传质系数 $k_L a$ 的计算。Hikita 推荐的关系式为:

$$k_L a = \frac{14.9 g b}{u_s} \left(\frac{u_s \mu_L}{\sigma} \right)^{1.76} \left(\frac{\mu_L^4 g}{\rho_L \sigma^3} \right)^{0.284} \left(\frac{\mu_G}{\mu_L} \right)^{0.243} \left(\frac{\mu_L}{\rho_L D_m} \right)^{-0.604} \quad (6-113)$$

b 为与离子强度有关参数, 对非电解质溶液, $b=1$; 对电解质溶液 $b=1 \times 10^{0.0681} \sim 1.114 \times 10^{0.0211}$ 。

其实验范围 $u_s = 4.2 \sim 38 \text{cm/s}$

对非电解质溶液: $\rho_L = 0.79 \sim 1.24 \text{g/L}$; $\mu_L = 0.66 \sim 17.8 \text{mPa} \cdot \text{s}$,
 $\mu_G = (0.8 \sim 1.81) \times 10^{-2} \text{mPa} \cdot \text{s}$, $\sigma = 30 \sim 76 \text{mN/m}$;

对电解质溶液: $\rho_L = 1.01 \sim 1.17 \text{g/L}$, $\mu_L = 0.9 \sim 1.87 \text{mPa} \cdot \text{s}$,

$\sigma = 71.9 \sim 79.6 \text{ mN/m}$ 。

Robinson 等推荐采用下述关联式,用于鼓泡塔和有外循环气升式反应器的体积传质系数的计算,实验所采用的物系为牛顿性流体(糖液)和非牛顿性流体(羧甲基纤维素溶液)。

$$k_L a = 0.5 \times 10^{-2} u_{sr}^{0.52} D_m^{0.5} \rho_L^{0.63} \left[1 - \left(\frac{A_d}{A_r} \right) \right]^{0.82} \mu_{eff}^{0.85} \sigma^{-0.1} \quad (6-114)$$

式中 u_{sr} —— 上升管中气体表观速度;

A_r, A_d —— 上升管和降液管横截面积;

μ_{eff} —— 培养基有效动力粘度;

D_m —— 扩散系数。

Schumpe 等报道了采用下式求 $k_L a$ 值。

$$Sh = 0.021 S_c^{0.50} B_o^{0.21} G_e^{0.6} F_r^{1.49} \quad (6-115)$$

式中 $Sh = \frac{k_L a d_c^2}{D_m}$, $S_c = \frac{\mu_{eff}}{\rho_L D_m}$, $B_o = \frac{g d_c^3 \rho_L}{\sigma}$, $G_e = \frac{g d_c^3 \rho_L^2}{\mu_{eff}^2}$, $F_r = \frac{u_s}{\sqrt{g d_c}}$

上述结果是对甘油、CMC 和菌丝体溶液等体系进行实验时的数据进行整理而得到的。

G. Mijnbeek 提出,对一般鼓泡反应器, $k_L a$ 可用下述简单公式求出:

$$k_L a = \alpha u_s^\beta \quad (6-116)$$

α, β 为经验参数,对不同体系和条件, α 和 β 有不同数值。

例如,对非聚结非粘性体系、具有大孔分布器的鼓泡反应器、温度为 20°C 时,有:

$$k_L a = 0.32 u_s^{0.7} \quad (6-117)$$

对同样体系和同样操作条件,但为小孔径气体分布器,则其 $k_L a$ 值将大于式(6-117)所求的值。Deckwer 提出了在鼓泡塔内粘度对 $k_L a$ 的影响可表示为:

$$k_L a = C \mu_L^{-0.84} \quad (6-118)$$

图 6-34 表示了对粘滞体系搅拌槽和鼓泡塔内传质系数大小的比较。

从图中可以看出,随着体系粘度的增加, $k_L a$ 值均下降,鼓泡塔下降更为严重。

图 6-35 则表示了在搅拌槽和鼓泡塔中所消耗的能量大小与 $k_L a$

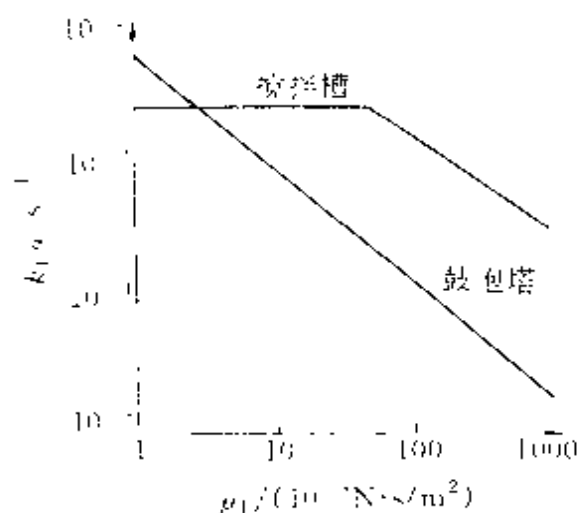


图 6-34 对粘滞体系搅拌槽与鼓泡塔传质系数的比较

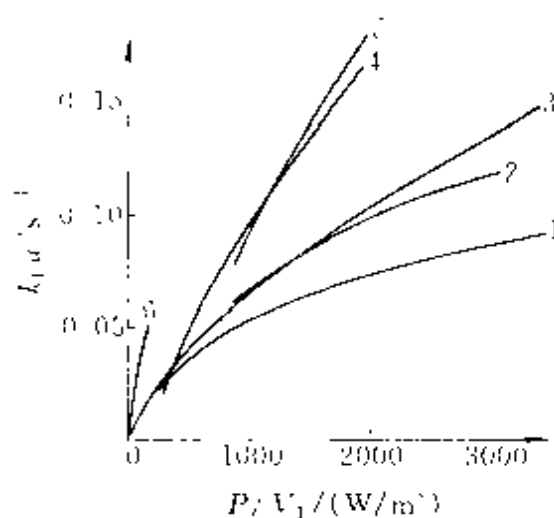


图 6-35 搅拌槽与鼓泡塔中
能耗与 $k_L a$ 关系

1, 2, 3- 纯水体系; 4, 5, 6- 盐水体系;
1, 2, 4, 5- 搅拌槽; 3, 6- 鼓泡塔; 1,
4- 气速 0.02m/s; 2, 5- 气速 0.04m/s

值的关系的比较。其中能耗包括搅拌和通气所消耗能量的总和。从图中可以看出，在 $k_L a$ 值相同时，鼓泡塔能耗要比机械搅拌槽能耗小。

6.5 生化反应过程的传热特性

6.5.1 生化反应器的传热过程

细胞的生命活动同时伴随着能量的转换。通过生物氧化，培养基中能源释放出能量，用于维持细胞的生命活动并进行生物合成反应。其中未能用于生物反应的部分则以热的形式放出而使培养基温度上升。使培养基温度上升的另一原因是机械搅拌，机械搅拌所消耗的能量最终转化成熟。此外，在需氧培养时通气操作可以带走部分显热，通气同时造成水分的蒸发则带走蒸发热，同时细胞反应器与周围的环境也会发生热量交换。因此要使细胞反应器内维持一定的温度，就要根据热量产生和损失的情况，除去或补充热量。

对于分批培养过程，当保持反应温度不变时，可以写出下述热量平衡方程：

$$Q_E = Q_B + Q_A - Q_S - Q_V - Q_R \quad (6-119)$$

式中 Q_E —— 单位体积培养基中除去热量速率, $J/(m^3 \cdot s)$;

Q_B —— 单位体积培养基中因生化反应的放热速率, $J/(m^3 \cdot s)$;

Q_A —— 单位体积培养液中因搅拌造成的放热速率, $J/(m^3 \cdot s)$;

Q_S, Q_V —— 分别为单位体积培养液因通气带走的显热和蒸发热速率, $J/(m^3 \cdot s)$;

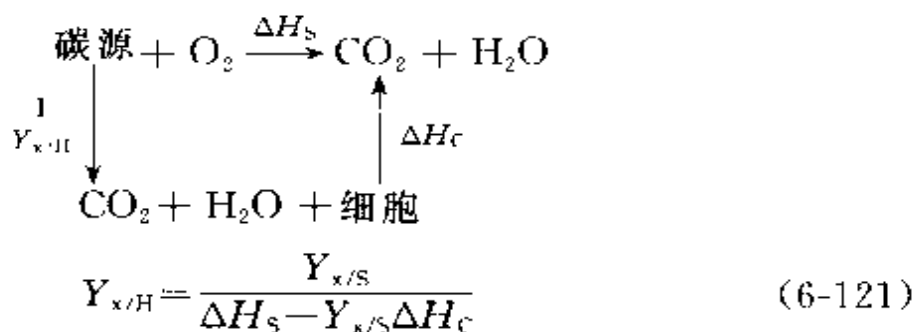
Q_R —— 单位体积培养液向周围环境的散失热量速率, $J/(m^3 \cdot s)$ 。

在式(6-119)中, Q_B 的值则随细胞的种类、培养时间、碳源的种类以及浓度变化很大。Cooney 等对大肠杆菌、枯草杆菌、假丝酵母和黑曲霉的生化反应热做了研究, 发现这几种微生物在以葡萄糖, 糖蜜或豆饼粉做碳源的培养基中, 反应热与培养基的摄氧率成正比:

$$Q_B = 519r_{O_2} \quad (6-120)$$

根据培养液的耗氧速率很容易估算出生化反应的放热速率。

生化反应的放热速率也可根据碳源的燃烧热计算。假定反应中碳源转化成细胞、 CO_2 和 H_2O , 则生化反应热与细胞燃烧热之和应与碳源的燃烧热相等:



式中 $Y_{x/H}$ —— 细胞对碳源燃烧热的得率系数, kg/J ;

ΔH_S —— 碳源的燃烧热, J/kg ;

ΔH_C —— 细胞燃烧热, J/kg ;

$Y_{x/S}$ —— 细胞得率。

细胞的燃烧热一般为 $(2.0 \sim 2.5) \times 10^7 J/kg$ 。

则反应热 Q_B 可由式(6-122)求出:

$$Q_B = \frac{\mu C_x}{Y_{x/H}} \quad (6-122)$$

Q_A 为机械搅拌造成产热速率。一般根据搅拌时所消耗的功率换算而来。对通用机械搅拌细胞反应器功率消耗值为 $0.5 \sim 5 \text{ kW/m}^3$ 的范围。

Q_S 为通气带走或带人的显热，可根据下式求出：

$$Q_S = C_{Pg}(T_g - T_b)F_g \rho_g \quad (6-123)$$

式中 C_{Pg} —— 气体比热容， $\text{J}/(\text{kg} \cdot ^\circ\text{C})$ ；

T_g —— 空气进入时的温度， $^\circ\text{C}$ ；

T_b —— 反应器内培养基温度， $^\circ\text{C}$ ；

F_g —— 单位体积培养基单位时间内所通入空气流量， $\text{m}^3/(\text{s} \cdot \text{m}^3)$ ；

ρ_g —— 空气密度， kg/m^3 。

若 $T_g > T_b$ ，则为带人热量；若 $T_g < T_b$ ，则为带走热量。

Q_V 为水蒸发所带走热量，由下式计算：

$$Q_V = \Delta H_V F_g \left(\frac{P_0}{P_i} C_{w_0} - C_{w_i} \right) \quad (6-124)$$

式中 ΔH_V —— 水蒸发潜热， J/kg ；

F_g —— 单位体积培养基在单位时间内所通入空气流量， s^{-1} ；

P_0 —— 标准压力，即定义 F_g 时的压力， N/m^2 ；

P_i —— 反应器顶部压力， N/m^2 ；

C_{w_0} —— 在罐温和顶压时水蒸气浓度， kg/m^3 ；

C_{w_i} —— 进罐内空气中水蒸气的浓度， kg/m^3 。

Q_R 为向环境散失热量的速率，可根据下式求出：

$$Q_R = h_w A_0 (T_b - T_S) \quad (6-125)$$

式中 h_w —— 总的传热系数， $\text{J}/(\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot ^\circ\text{C})$ ；

A_0 —— 单位体积反应器所具有传热表面积， m^2/m^3 ；

T_b 、 T_S —— 分别为反应器内和环境的温度， $^\circ\text{C}$ 。

生化反应器的传热速率可用下式表示：

$$Q_E V_R = h_w A \Delta T_m \quad (6-126)$$

式中 V_R —— 培养基体积， m^3 ；

h_w ——总传热系数, $J/(m^2 \cdot s \cdot ^\circ C)$;

A ——反应器的总传热面积, m^2 ;

ΔT_m ——培养液与冷却水间平均温差, $^\circ C$ 。

平均温差 ΔT_m 可按下式计算:

$$\Delta T_m = \frac{(T_b - T_1) - (T_b - T_2)}{\ln \frac{T_b - T_1}{T_b - T_2}} \quad (6-127)$$

式中 T_b 、 T_1 、 T_2 ——分别表示培养基、冷却水入口和冷却水出口温度, $^\circ C$ 。

热量传递阻力包括培养基的传热阻力、换热器壁的传热阻力、污垢层传热阻力以及冷却水的传热阻力等, 可表示为下式:

$$\frac{1}{h_w A} = \frac{1}{\alpha A_1} + \frac{\delta_1}{\lambda_1 A_1} + \frac{\delta}{\lambda A_m} + \frac{\delta_2}{\lambda_2 A_2} + \frac{1}{\alpha_w A_2} \quad (6-128)$$

式中 α 、 α_w ——分别为培养基和冷却水的给热系数, $J/(m^2 \cdot s \cdot ^\circ C)$;

δ ——换热器壁壁厚, m ;

λ ——换热器壁导热系数, $J/(m \cdot s \cdot ^\circ C)$;

δ_1 、 δ_2 ——分别为换热器壁两侧的垢层厚度, m ;

λ_1 、 λ_2 ——分别为垢层的导热系数, $J/(m \cdot s \cdot ^\circ C)$;

A_1 、 A_2 ——分别为培养基和冷却水的传热面积, m^2 ;

A_m ——换热器的对数平均表面积, m^2 , 其值用下式计算:

$$A_m = \frac{A_1 - A_2}{\ln \left(\frac{A_1}{A_2} \right)}$$

对搅拌槽式反应器中液体的给热系数可根据下式估算:

$$\alpha = 0.464 \frac{\lambda}{D} \left(\frac{d_1 n \rho}{\mu_L} \right)^{2/3} \left(\frac{C_p \mu_L}{\lambda} \right)^{1/3} \left(\frac{\mu_L}{\mu_w} \right)^{0.14} \quad (6-129)$$

式中 D 、 d_1 ——分别为反应器和搅拌器的直径;

μ_L 、 μ_w ——分别为培养基在反应器内和换热器壁温度下的粘度。

如果将式 (6-129) 扩展到反应器的几何形状, 则有:

$$\frac{\alpha D}{\lambda} = 0.85 \left[\frac{d, n \rho_1}{\mu_1} \right]^{0.4} \left[\frac{C_P \mu_L}{\lambda} \right]^{-0.1} \left[\frac{\mu_L}{\mu_w} \right]^{0.7} \left[\frac{H}{D} \right]^{0.55} \left[\frac{d}{D} \right]^{0.13} \quad (6-130)$$

式中 H ——反应器内液层高度。

当反应器内装有蛇管时，则有

$$\frac{\alpha d_i}{\lambda} = 0.17 \left[\frac{d_i n \rho_1}{\mu_1} \right]^{0.4} \left[\frac{C_P \mu_L}{\lambda} \right]^{-0.1} \left[\frac{d}{D} \right]^{0.1} \left[\frac{d_i}{D} \right]^{0.5} \quad (6-131)$$

式中 d_i ——蛇管的直径。

对宾汉姆塑性流体，在有六桨涡轮搅拌时其关联式为

$$\frac{\alpha D}{\lambda} = 0.276 \left(1 - \frac{\tau_0}{\tau} \right)^{0.516} Pr_B^{1/3} Re_B^{3/4} \quad (6-132)$$

式中 $Re_B = \frac{\rho d_i^2 n}{\mu_B}$;

$$Pr_B = \frac{C_P \mu_B}{\lambda};$$

$$\frac{\tau_0}{\tau} = \frac{\tau_0}{\mu_B r};$$

$$r = 1.15 B n;$$

$$B = 9.5 + \frac{9S^2}{S^2 - 1};$$

$$S = \frac{D}{d_i}.$$

对鼓泡式反应器，对一般牛顿性流体，可用下式：

$$\alpha = 0.1 \rho_L C_P u_s \left[\frac{u_s^3 \rho_L}{\mu_L g} \left(\frac{C_P \mu_L}{\lambda} \right)^2 \right]^{-1/4} \quad (6-133)$$

式中 u_s ——空气表观速度。

若为宾汉姆塑性流体，则有：

$$\frac{\alpha D}{\lambda} = 0.138 \left(1 - \frac{\tau_0}{\tau} \right)^{0.516} Pr_B^{1/3} Re_{BC}^{3/4} Fr^{-1/4} \quad (6-134)$$

式中 $Re_{BC} = \frac{\rho D u_s}{\mu_B}$, $Pr_B = \frac{C_P \mu_B}{\lambda}$, $Fr = \frac{u_s^2}{Dg}$ 。

对小型反应器，常设置夹套作为换热装置。随着反应器规模的增大，单位体积所具有的换热面积急剧下降，此时一般在内部设置蛇管

或排管作为换热器，如图 6-36 所示，图中 (c) 的排管既可起换热作用，又可起挡板作用。

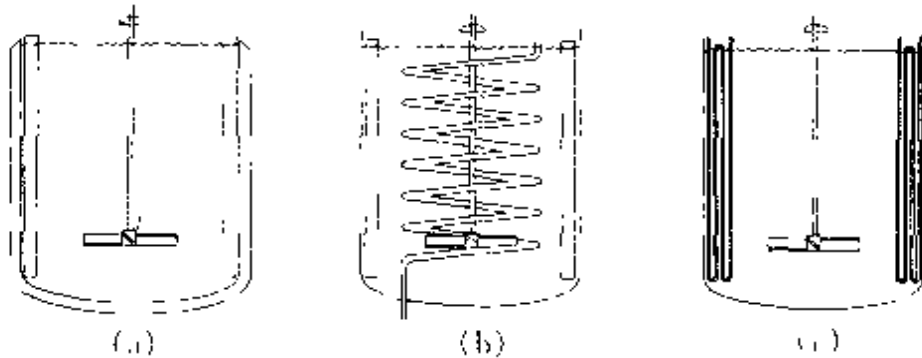


图 6 36 搅拌槽加热的几种方式示意图

(a) 夹套加热；(b) 蛇管加热；(c) 挡板加热

6.5.2 灭菌过程中的传热

生化反应过程，特别是细胞培养过程，常要求在没有杂菌污染的情况下进行。因此要进行严格的灭菌。常用的灭菌方法有化学药剂灭菌、射线灭菌、加热灭菌和过滤灭菌等。对培养基灭菌，则主要是加热法，特别是利用蒸汽进行湿热灭菌。

(1) 分批灭菌过程中的传热。分批灭菌就是将配制好的培养基放在反应器中或其他设备中，通入蒸汽将培养基和所用设备一起进行灭菌的操作过程，这种操作过程投资少、设备简单、灭菌效果可靠，是中小型装置常用的灭菌方法。所用一般为 $(3 \sim 4) \times 10^5 \text{ Pa}$ (表压) 蒸汽。

分批灭菌包括加热升温、保温和冷却三个阶段，灭菌则主要是在保温阶段实现的。

图 6-37 中 (a) 图表示培养基分批灭菌过程中温度随灭菌时间的变化。

图 6-37 中 (b) 图则表示在分批灭菌过程中活细胞随时间在减少的情况。图中 N_0 为初始活杂菌总数； N_1 是加热阶段结束时活菌总数； N_2 是保温阶段结束时活菌总数； N_f 是冷却阶段结束时活杂菌总数。 t_1 、 t_2 和 t_f 分别为相应阶段结束时的时间。

在分批灭菌中，总的灭菌结果取决于加热、保温和冷却三个阶段

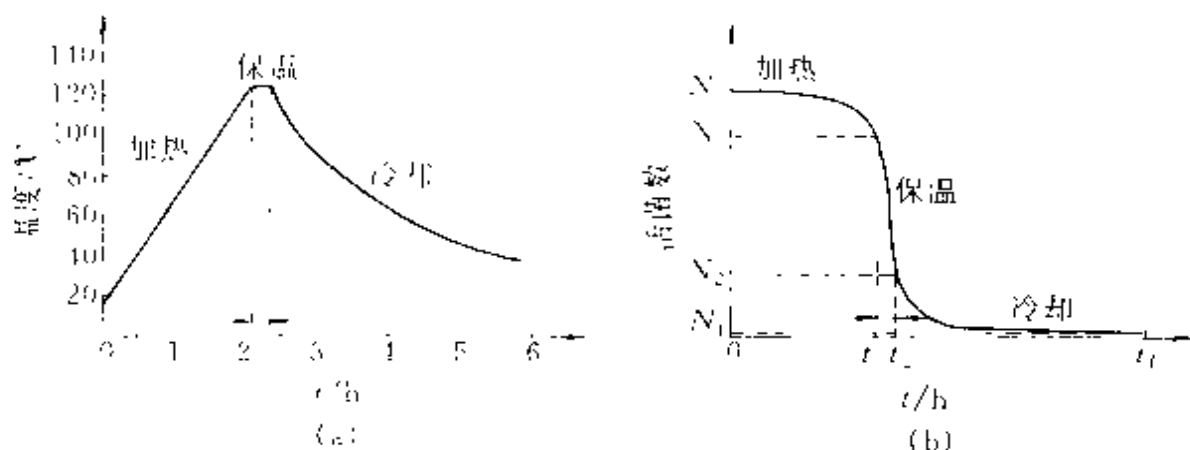


图 6-37 分批灭菌时温度和活菌数随时间的变化

(a) 温度~时间变化图; (b) 活菌数~时间变化图

的总和。表示为:

$$\nabla_{\text{总}} = \nabla_{\text{加}} + \nabla_{\text{保}} + \nabla_{\text{冷}} \quad (6-135)$$

式中 $\nabla_{\text{总}}$ ——整个分批灭菌过程的灭菌度。

根据细胞死亡动力学可知:

$$\nabla_{\text{总}} = \ln \frac{N_0}{N} = \int_0^t k dt \quad (6-136)$$

对保温阶段, 由于温度和时间均恒定, 故 $\nabla_{\text{保}}$ 的值也为常数。

但对加热和冷却则是非定态过程, 它们的温度随时间而异, 因此死亡速率常数 k 也是时间的函数, 即

$$T = F(t)$$

$$k = f(t)$$

因此要求出 $\nabla_{\text{加}}$ 和 $\nabla_{\text{冷}}$ 的结果; 必须把 $T = F(t)$ 和 $k = f(t)$ 的具体函数关系代入。

对升温阶段, 若采用蒸汽夹套间接加热时, 夹套蒸汽温度保持不变, 而培养基温度则不断上升。

设蒸汽温度为 T_s , 在时间间隔 dt 中, 培养基温度变化为 dT , 根据热平衡:

$$GC_P dT = hA(T_s - T)dt \quad (6-137)$$

式中 G 培养基的质量;

C_P 培养基的比热容;

h ——夹套或蛇管的总传热系数；

A ——传热面积；

T ——培养基温度；

T_s ——蒸汽温度。

式 (6-138) 积分后，可得：

$$t = \frac{GC_p}{hA} \ln \frac{T_s - T_i}{T_s - T_f} \quad (6-138)$$

式中 T_i 、 T_f ——分别为升温开始和结束时培养基的温度。

夹套的总传热系数 h 大约在 $230 \sim 350 \text{ J}/(\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{C})$ ，蛇管的总传热系数可取 $350 \sim 520 \text{ J}/(\text{m}^2 \cdot \text{s} \cdot \text{C})$ 。

对蒸汽夹套加热，可以得到加热时间和温度的变化关系式

$$T = T_s [1 + \beta \exp(-\alpha t)] \quad (6-139)$$

式中 $\alpha = \frac{hA}{GC_p}$ ；

$$\beta = \frac{T_i - T_s}{T_s}$$

如果用蒸汽直接加热，则升温时间为：

$$t = \frac{GC_p(T_f - T_i) + Q}{(\lambda - C_w T_s)S} \quad (6-140)$$

式中 Q ——操作过程中损失的热量；

λ ——蒸汽的热焓；

C_w ——冷凝水的比热容；

S ——通入蒸汽的质量。

当忽略热损失时，得到加热时间和温度变化的关系式为：

$$T = T_i \left(1 + \frac{\alpha t}{1 + \beta t} \right) \quad (6-141)$$

式中 $\alpha = \frac{IS}{GC_p T_i}$ ；

$$\beta = \frac{S}{G}$$

I ——以培养基初温为基准的蒸汽热焓。

式 (6-139) 为指数型关系；式 (6-141) 则为双曲线关系。若用电

加热，则表示为线性关系。

上述表示 $T-t$ 函数关系，与实际情况尚有出入，因上述公式中未考虑发酵介质的性质等因素对传热的影响。若用上述公式会带来一定误差。

在冷却阶段，夹套或蛇管中冷却水的温度以及培养基的温度都随时间在不断变化。根据热衡算可以得到：

$$GC_p \frac{dT}{dt} = WC_w (T_{w_0} - T_{w_1}) = hA \Delta T_m \quad (6-142)$$

式中 W — 冷却水的质量流量；

C_w — 冷却水热容；

T_{w_0} 、 T_{w_1} — 冷却水出口和进口温度；

ΔT_m — 培养基和冷却水的平均温差。

对式 (6-142) 进行积分，可得：

$$t = \frac{GC_p}{WC_w} \left\{ \frac{\beta}{\beta-1} \right\} \ln \frac{T_1 - T_{w_1}}{T_i - T_{w_1}} \quad (6-143)$$

式中 T_1 、 T_i — 分别为冷却阶段开始和结束时的培养基温度。

培养基温度与降温时间的关系式为：

$$T = T_{w_1} [1 + \beta \exp(-\alpha t)] \quad (6-144)$$

$$\alpha = \frac{WC_w}{GC_p} \left[1 - \exp \left(-\frac{hA}{WC_w} \right) \right]$$

$$\beta = \frac{T_1 - T_{w_1}}{T_i - T_{w_1}}$$

式 (6-144) 所表示的亦为指数型关系。

图 6-38 表示在分批灭菌时，加热和冷却阶段温度随时间变化的各种关系曲线。

一般来说：完成整个分批灭菌周期约需 3~5h，对于各个阶段的灭菌贡献，大致如下： $\nabla_{加}/\nabla_{总}=0.2$ ， $\nabla_{保}/\nabla_{总}=0.75$ ， $\nabla_{冷}/\nabla_{总}=0.05$ 。由此可见，灭菌过程中保温阶段是主要的，冷却阶段的灭菌作用一般很小。

(2) 连续灭菌过程的传热。连续灭菌是将培养基在向反应器输送

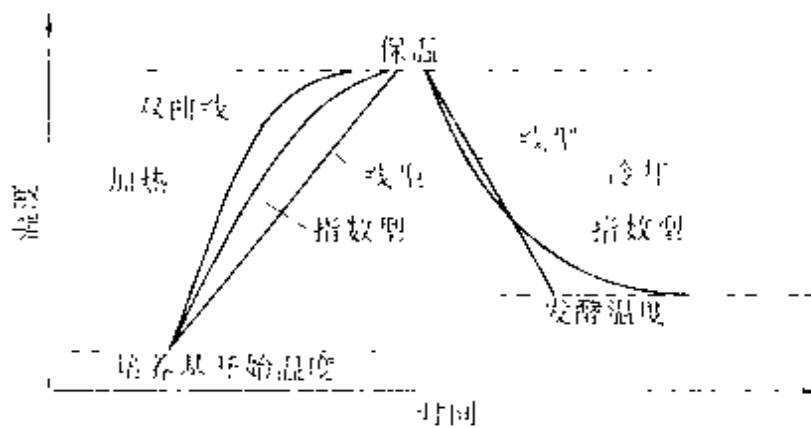


图 6-38 分批灭菌时各种加热冷却方式的温度-时间变化

的同时进行加热、保温和冷却过程以进行灭菌。该灭菌过程分别在不同的设备，但却是同时进行的，因此对连续灭菌系统，需分别设置加热、保温和冷却设备。

实现连续灭菌，有两种方案。一是利用热交换器对发酵介质进行间接加热和冷却，其特点是单位体积热交换器具有较高的传热面积。第二种是用蒸汽直接喷射加热发酵介质。被加热后的介质继而通过保温，最后用闪蒸膨胀法进行冷却，该方法的特点加热、冷却过程进行很快，有利于实现灭菌要求的高温短停留时间。目前应用较多的是第二种方法。

图 6-39 表示了上述两种连续灭菌过程的示意图；图 6-40 则表示

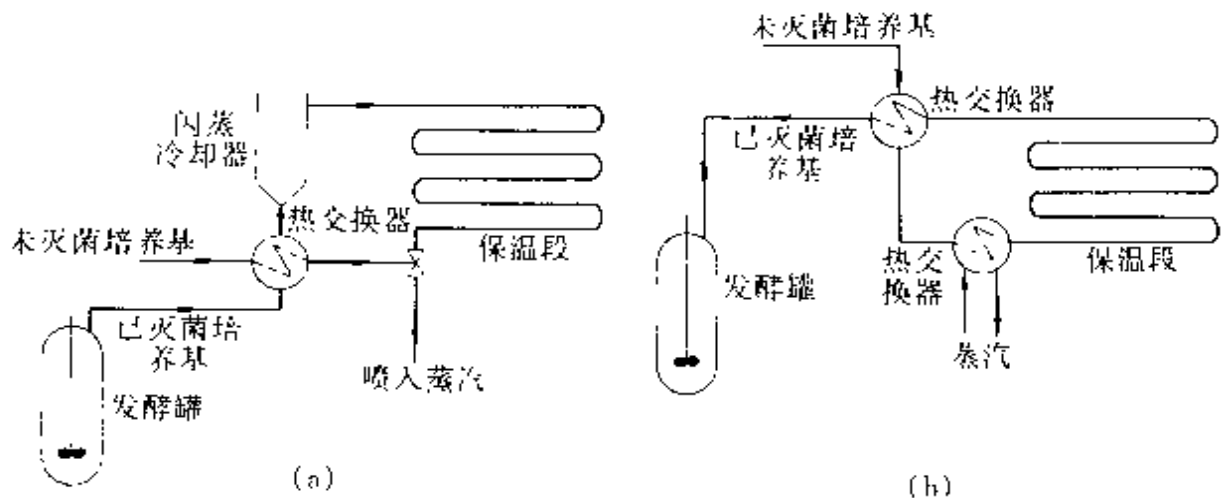


图 6-39 连续灭菌过程的两种工艺

(a) 连续蒸汽喷射同闪蒸冷却；(b) 用热交换器加热和冷却

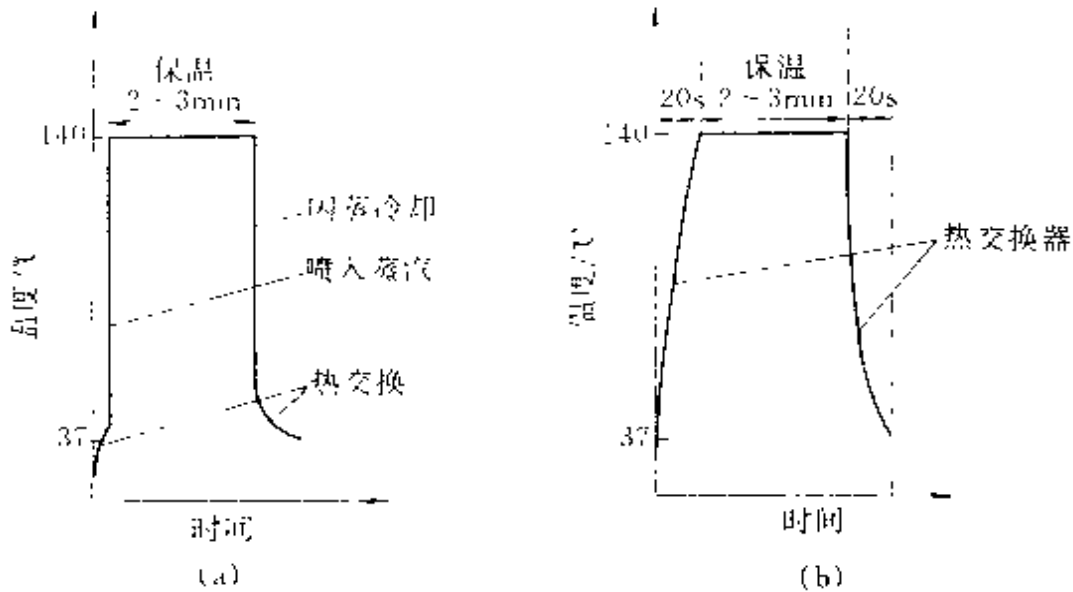


图 6-40 两种连续灭菌工艺的温度-时间变化曲线

(a) 连续蒸汽喷射同闪蒸冷却的温度-时间曲线；

(b) 热交换器加热冷却的温度-时间曲线

上述两种连续灭菌过程的温度随时间变化示意图。

假定培养基流量为 F_M ，进入加热器的温度为 T_P ，灭菌温度为 t ，根据热衡算，可以得到加热蒸汽用量为

$$S = K \frac{F_M \rho C_p (T - T_P)}{\lambda - C_w T} \quad (6-145)$$

式中 λ ——蒸汽热焓；

C_w ——冷凝水比热容；

K ——系数，一般取 1.2。

对连续灭菌过程，更为重要的是保证发酵介质有适宜的保温时间，时间过长过短都对发酵不利，因此物料在设备内停留时间长短，或称为停留时间分布状况如何，对连续灭菌过程的影响更为重要，这一点将在第七章进行讨论。

习 题

6.1 在一间歇操作的实验反应器中进行微生物反应，并用亚硫酸钠氧化法测定其 $k_L a \cdot C_i^* = 0.1 \text{ mol}/(\text{l} \cdot \text{h})$ ，细胞在指数生长期内的倍增时间为 30min，

$Y_{x, O_2} = 0.6$ 。试求：

- (1) 在指数生长期内，细胞的比生长速率为多少？
- (2) 当发酵液中溶氧浓度接近于耗尽时，细胞浓度 C_x 值为多大？
- (3) 在低的氧溶解度下， μ 成为 C_L 的函数

$$k_L a (C_L^* - C_L) = \frac{1}{Y_{x, O_2}} C_x \mu_{\max} \frac{C_L}{K_{O_2} + C_L}$$

式中 $K_{O_2} = 0.05 \text{ mmol/L}$ ；

$$C_L^* = 0.21 \text{ mmol/L}。$$

并且认为当 $C_L \geq 0.9C_L^*$ 时为生长限制，当 $C_L \leq 0.1C_L^*$ 时为传质限制，试根据上式确定生长与传质同时存在限制时 C_x 值的范围是多少？

6.2 *E. coli* 菌分别在一带有棉花塞三角瓶和 CSTR 两种装置中进行培养。它们的 $k_L a$ 值分别为 0.02 和 0.1 s^{-1} ，培养基用葡萄糖，在恒温 30°C 和常压下进行。可将培养基当做水来处理。假设每小时消耗 0.27 g 氧可得到 1 g 干菌体。

试求在上述两种培养器中所能得到的最大菌体浓度。

6.3 将 5 L 培养基放在一反应器中。当通入空气后，培养基体积增加到 6 L 。通过测量培养基中气泡直径为 5 mm ，若假定气泡直径都相同，试计算该反应器内具有的传质比表面积大小。

6.4 今有一发酵罐，内径为 2 m ，装液高度为 3 m ，安装一六弯叶涡轮搅拌器，搅拌器直径为 0.7 m ，转速为 150 r/min ，设发酵液密度为 1050 kg/m^3 ，粘度为 $1 \text{ N} \cdot \text{s/m}^2$ ，试求搅拌器所需功率大小。

6.5 与上题相同条件下，若在发酵罐中通入空气量为 $6 \text{ m}^3/\text{min}$ （操作状态下），试求通气时所需搅拌功率。

6.6 某细菌发酵罐，其直径 1.8 m ，搅拌桨为六弯叶涡轮，其直径为 0.6 m ，罐内装四块标准挡板，搅拌桨转速为 168 r/min ，通气量为 $1.42 \text{ m}^3/\text{min}$ （操作状态），罐压为 0.152 MPa (1.5 atm) 绝对压力，发酵液粘度为 $1.96 \times 10^{-3} \text{ N} \cdot \text{s/m}^2$ ，密度为 1020 kg/m^3 ，试求其轴功率。

6.7 内径为 1.75 m 的通气搅拌罐的搅拌器为一有 3 只直径为 0.7 m 的涡轮，罐内培养液体积 $V_L = 4.2 \text{ m}^3$ ，搅拌转数 $n = 150 \text{ r/min}$ ，空气的空塔速度为 48 cm/min 。若求 $k_L a$ ，其值为多少？假设 $r = 1.4$ ，比例系数为 21。

6.8 一搅拌桨功率准数 $N_p = 10$ ，搅拌器转数 $n = 1 \text{ s}^{-1}$ ，搅拌桨直径 $d = 1 \text{ m}$ ，培养基密度 1000 kg/m^3 ，搅拌桨直径与其宽度之比为 4。试求在非通气情况下搅拌桨输入功率为多少？如果转数增加，则其输入功率为多少？

6.9 有两个搅拌槽式反应器，反应器内液体装料高度与反应器直径之比为

1. 两个反应器内都装有平桨涡轮搅拌器, $d_i = 0.4D$ 。其中一个反应器液体体积为 10L, 另一个为 10m^3 。反应器的通气速率皆为 1.0VVM, 假定发酵液类似于水溶液, 试确定每个反应器的传质系数 $k_L a$ 值。

6.10 50m^3 生物反应器, 其高径比 $H/D = 2.5$, 反应器的工作容积占 60%。装有一两挡的标准的平桨涡轮用于酵母生长。该反应器为一 CSTR 操作, 稀释率 $D = 0.3\text{h}^{-1}$, 酵母生长服从 Monod 动力学, $\mu_{\max} = 0.4\text{h}^{-1}$, $K_S = 2\text{kg}/\text{m}^3$, 加料中葡萄糖的浓度为 $50\text{kg}/\text{m}^3$, 通气速率为 0.5VVM, 搅拌桨转数为 60r/min, 酵母对基质的得率系数 $Y_{x/s} = 0.5$, 培养基的密度为 $1200\text{kg}/\text{m}^3$, 粘度为 $0.02\text{N} \cdot \text{s}/\text{m}^2$ 。

试判断该体系是传质限制还是反应控制?

第 7 章 生化反应器的流动模型与放大

在第 5 章中，我们重点讨论了两种典型的连续操作的反应器——CSTR 和 CPFR。对同一反应体系，在相同的条件下，其反应结果却有很大的差别，究其原因是由参与反应的物料在反应器内的流动状况不同，即停留时间分布的不同。因此还必须进一步研究流动系统的停留时间分布的定量描述方法。

在讨论 CSTR 和 CPFR 时，又引入了全混流和活塞流的概念，并称其为理想流动模型。如果在实际工业反应器中流体流动不符合上述两种理想流动模型，就需要建立另外的流动模型，统称为非理想流动模型。

而实际工业反应器，一般都需要采用非理想流动模型来描述。建立上述各种流动模型的基础是其物料在反应器内的停留时间分布。

7.1 停留时间分布

从前面讨论的反应动力学和各种反应器的设计关系式中，都可以看出反应进行的程度与反应物料在反应器内停留时间的长短有关，时间越长，反应进行得越完全。因此，研究反应物料在反应器内的停留时间问题将具有十分重要的意义。

对于间歇操作反应器，因为反应物料是同时加入，反应产物又是同时卸出，所以在任何时间时，反应器内所有反应物料在其中的停留时间都是一样的，不存在任何停留时间分布问题。

对于流动系统，由于流体连续不断流入系统，同时又连续地由系统流出，流体在反应器内的停留时间问题就会变得复杂。由于流体在系统中流速分布的不均匀、流体的分子扩散和湍流扩散、搅拌引起的强制对流，以及由于反应器的设计、加工和安装不良而产生的死区、沟流和短路等原因，使得流体粒子在系统中的停留时间有长有短，有些

物料粒子很快离开了反应器，有些粒子则经历很长的一般时间后才离开，因而形成了停留时间分布。

由于流体是连续的，而流体分子的运动又是无序的，因此要使所有的分子都遵循同一的途径向前移动是不可能的，它完全是一个随机过程。因此不能对单个分子考察其停留时间，而是对一堆分子所组成的流体，称之为流体粒子或微元体进行考察。这种流体粒子的体积比起系统的体积小可以忽略不计，但其所包含的分子又足够多，具有确切的统计平均性质。

有两种不同的停留时间分布，一种是寿命分布，另一种是年龄分布。前者指的是流体粒子从进入系统起到离开系统止，在系统内的停留时间；后者则是对存留在系统中的流体粒子而言，从进入系统中算起在系统中停留的时间。因此，寿命分布是指系统出口处流体粒子的停留时间分布，年龄分布是对系统中某一位置而言的停留时间分布。在实际应用于生化反应器时，寿命分布应用较多，因此这里所说的停留时间分布一般系指寿命分布。

停留时间分布理论不仅是化学反应和生化反应工程学科的重要组成部分，而且还广泛用于吸收、萃取、蒸馏和结晶等分离过程与设备的设计及其模拟，以及其他涉及流动系统的领域。停留时间分布的应用主要有两个方面，一是对已有的操作设备进行停留时间分布的测定，以分析其工况，提供改进操作性能的有用信息，对操作性能不佳的设备提供改进方向和措施；另一方面的应用则是通过停留时间分布建立合适的流动模型，作为进行反应器设计所需的物料、热量衡算的基础。

7.1.1 停留时间分布的定量描述

物料粒子在反应器内的停留时间分布是一个随机过程。对随机过程可用描述概率分布的方法来描述物料粒子的停留时间分布，即停留时间分布密度函数和停留时间分布函数。

(1) 停留时间分布密度函数 $E(t)$ 。为了简单起见，这里讨论的流体流动常假定为流体在流动过程中密度保持不变，且无反应发生，并且为一定态流动的闭式体系。所谓闭式体系，是假定流体粒子一旦进入系统再也不返回到输入流体的导管中，而由输出管流出的流体粒子

也不再返回到系统中,简言之就是在系统进口处流体粒子有进无出,而在系统出口处则有出无进。这种假定,也是符合大多数实际情况的。

假设进入系统的流体是无色的。当其流动已达稳态情况下,于某一时间(记为 $t=0$)极快地向反应器入口流中加入 100 个红色粒子,同时在系统出口处记下不同时间间隔内流出的红色粒子数。根据观察结果,以出口流中的红色粒子数对时间作图,得到如图 7-1 所示的停留时间分布直方图。例如,由图可见,从加入红色粒子时算起,第 4 分钟到第 5 分钟期间,出口物料中红色粒子的数目为 12 个,因此可以认为 100 个红色粒子中有 12% 在系统中的停留时间介于 4min 至 5min 之间。如果假定红色粒子和主流体之间除了颜色上的差别以外,其余所有性质均相同,那么也就可以认为主流体在系统中的停留时间,同样也是有 12% 的流体粒子为 4min 至 5min 之间。上述方法得到的是离散的停留时间分布。假定用红色流体代替红色粒子,连续检测出口流中红色流体的浓度,同时也将观测的时间间隔缩到非常小,得到的将是一条连续的停留时间分布曲线,如图 7-2 所示。图中斜线所包围的面积

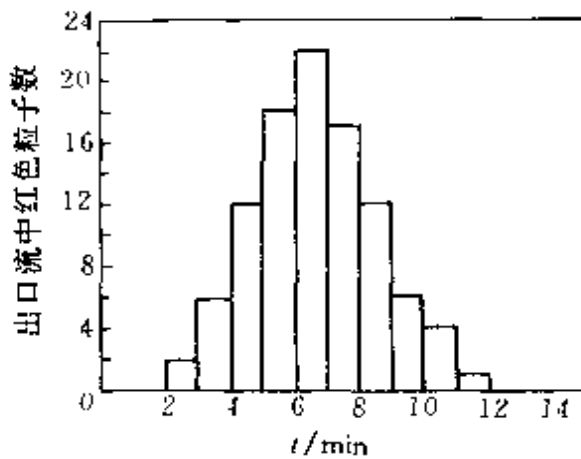


图 7-1 停留时间分布的直方图

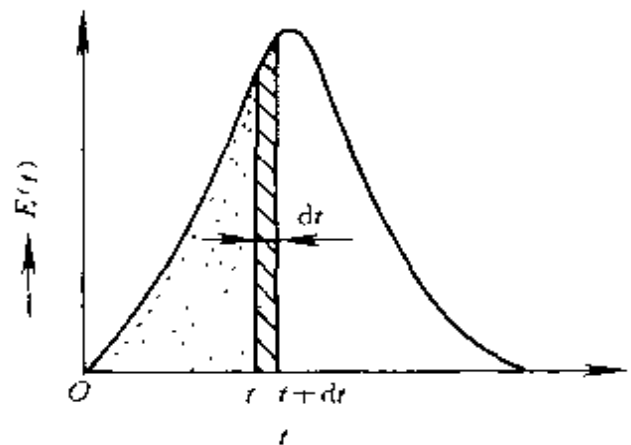


图 7-2 停留时间分布密度函数

表示在 t 至 $t+dt$ 之间离开系统的粒子占 $t=0$ 时进入系统的流体粒子的分率。

为了对上述结果进行定量描述,特定义一停留时间分布密度函数 $E(t)$ 。其定义是:在同时进入系统的 N 个流体粒子中,其中停留时间介于 t 和 $t+dt$ 之间的流体粒子所占的分率 dN/N 定义为 $E(t)dt$,其

中 $E(t)$ 称之为停留时间分布密度函数。它和系统的性质有关，其因次为 [时间]⁻¹。根据概率论的观点， $E(t)$ 不是概率，但却能反映出变量 t 出现的可能性大小，或为变量 t 出现在某一区间的平均概率密度，当区间愈小，愈能说明在某一点处的特性。在实际应用中，把 $E(t)dt$ 作为概率，其意义更加直接。

根据 $E(t)$ 的性质，显然存在下列各式：

$$E(t) = 0 \quad (t < 0) \quad (7-1)$$

$$E(t) \geq 0 \quad (t \geq 0) \quad (7-2)$$

$$\int_0^{\infty} E(t) dt = 1 \quad (7-3)$$

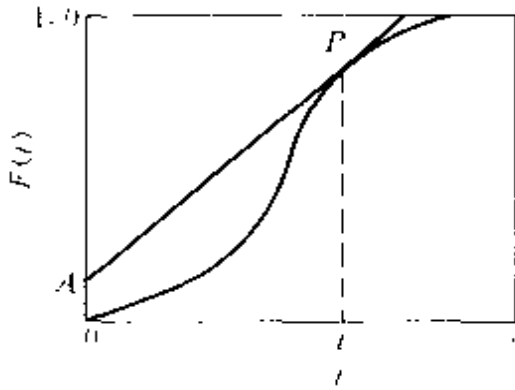


图 7-3 停留时间分布函数

上述关系亦表示在图 7-2 中。

式 (7-3) 叫做归一化条件。这是因为 $E(t) dt$ 表示了停留时间在 t 到 $t+dt$ 之间的流体粒子所占的分率，所以其总和应等于 1。

(2) 停留时间分布函数 $F(t)$ 。如果将流过系统的物料粒子中停留时间小于 t (或者表示为停留时间介于 0 到 t) 的物料粒子所占的分率，用一无因次量 $F(t)$ 表示，则 $F(t)$ 称为停留时间分布函数，亦可称 $F(t)$ 为物料粒子的停留时间小于 t 的概率。图 7-3 为一典型的 $F(t)$ 图，从图中可以看出， $F(t)$ 是一条单调递增的曲线，其最大值为 1，即 $F(\infty) = 1$ ；而最小值为零，即 $F(0) = 0$ 。总之， $F(t)$ 永远为正值，并且 $F(t)$ 为一因次量。

根据各自的定义， $F(t)$ 与 $E(t)$ 之间有下列关系式。

$$F(t) = \int_0^t E(t) dt \quad (7-4)$$

$$E(t) = \frac{dF(t)}{dt} \quad (7-5)$$

因此，根据式 (7-4)，在图 7-2 中表示 $F(t)$ 函数，即为时间 t 由零到 t 时曲线下所包围的面积；根据式 (7-5)，在图 7-3 中表示 $E(t)$ 函数，则在相应曲线某一点做切线 \overline{AP} ，该直线的斜率即为相应的 $E(t)$ 值。由

$E(t)$ 求 $F(t)$ ，为一积分关系，由 $F(t)$ 求 $E(t)$ ，则为一微分关系。两种表示方式，只要知道其中的一种即可求出另一种。

为了应用方便，常使用无因次停留时间 θ ，其定义为：

$$\theta = \frac{t}{\bar{t}^*} \quad (7-6)$$

其中 \bar{t}^* 为时间参数。对于在闭式系统中流动的不可压缩流体， \bar{t}^* 亦等于其平均停留时间 \bar{t} 。因此

$$\bar{t}^* = \bar{t} = \frac{V_R}{V} \quad (7-7)$$

式中 V_R ——反应器有效体积；

V ——物料的体积流速。

如果一个流体粒子的停留时间介于区间 $(t, t+dt)$ 内，则它的无因次停留时间也一定介于区间 $(\theta, \theta+d\theta)$ 内，这是因为所指的是同一事件，所以介于这些区间的概率也一定相等。于是有

$$E(t)dt = E(\theta)d\theta \quad (7-8)$$

将 $\theta = t/\bar{t}^*$ 代入该式，化简后得到

$$E(\theta) = \bar{t}^* E(t) \quad (7-9)$$

$$\begin{aligned} \text{又因为 } F(t) &= \int_0^t E(t)dt = \int_0^\theta \frac{E(\theta)}{\bar{t}^*} d(\theta\bar{t}^*) \\ &= \int_0^\theta E(\theta)d\theta = F(\theta) \end{aligned}$$

$$\text{故} \quad F(t) = F(\theta) \quad (7-10)$$

并存在下列各式

$$\int_0^\infty E(\theta)d\theta = 1 \quad (7-11)$$

$$E(\theta) = \frac{dF(\theta)}{d\theta} \quad (7-12)$$

7.1.2 停留时间分布的实验测定

停留时间分布的实验测定方法是示踪应答法，用示踪剂跟踪流体在系统内的停留时间。根据示踪剂加入方式的不同，可分为脉冲法、阶跃法和周期输入法。这里仅讨论前两种方法。

不论采用何种方法，所选择的示踪剂应具有：①对流体流动状况

没有影响；②示踪剂不参与反应、不挥发、不沉淀；③易于检测。

(1) 脉冲法。脉冲法是在设备内流体流动达到稳定之后，在一极短的时间内，在系统入口处向流进系统的流体加入一定量的示踪剂，同时在出口处检测流出物料中示踪剂浓度随时间的变化。图 7-4 即为脉冲法测定停留时间分布的示意图。

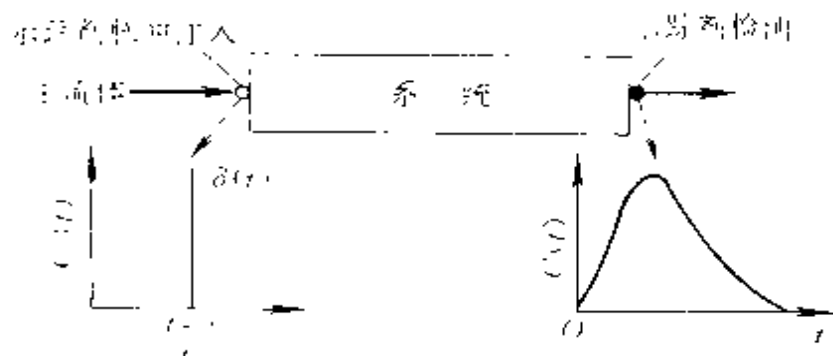


图 7-4 脉冲法测定停留时间分布

所以要强调在极短时间内将示踪剂加入，是为了把全部示踪剂看成是在同一时间内加入到系统中，并把输入时间定为 $t=0$ ，这样可比较准确地确定停留时间。这样的脉冲称为理想脉冲（参看图 7-4），在数学上可用 δ 函数（又称 Dirac 函数）表示，该函数是处理集中于一点的物理问题常用的数学工具。

当输入示踪剂后，立即检测系统出口处流体中示踪剂浓度随时间的变化 $C(t)$ （参看图 7-4）。常用的检测方法有电导率、放射性物质的放射速率等。

假定加入示踪剂总量为 M ，其中停留时间为 t 的示踪剂所占的分率为 $E(t)dt$ ，则停留时间为 t 的示踪剂的量应为 $ME(t)dt$ ；从出口检测来看，假定主流体流量为 V ，在时间为 t 时测得出口处示踪剂的浓度为 $C(t)$ ，作进出口同一时间示踪剂的物料平衡：

$$ME(t)dt = VC(t)dt$$

故
$$E(t) = \frac{V}{M}C(t) \quad (7-13)$$

式中 $C(t)$ 出口流体中示踪剂浓度，它随时间 t 而变化；

M 、 V 常数。

示踪剂的加入量有时难以直接测出，可通过下式求出。

$$M = V \int_0^{\infty} C(t) dt \quad (7-14)$$

因此

$$E(t) = \frac{C(t)}{\int_0^{\infty} C(t) dt} \quad (7-15)$$

从上式可以看出，用脉冲法测得出口中示踪剂浓度随时间 t 的变化也表示了 $E(t)$ 函数随时间 t 的变化。

如果实验测得的是离散性数据，则可用下式进行估算。

$$E(t) = \frac{C(t)}{\sum_0^{\infty} C(t) \Delta t} \quad (7-16)$$

根据 $F(t)$ 函数的定义，利用脉冲法的实验所测得数据，可得到求 $F(t)$ 的下列各式。

$$F(t) = \frac{\int_0^t C(t) dt}{\int_0^{\infty} C(t) dt} \quad (7-17)$$

和

$$F(t) = \frac{\sum_0^t C(t) \Delta t}{\sum_0^{\infty} C(t) \Delta t} \quad (7-18)$$

如果系统出口检测的是其他物理量，只要这些物理量与浓度成线性关系，也可直接将测定的各响应值代入上述各式，即可求出 $E(t)$ 和 $F(t)$ 。

对某一实验装置用脉冲法测定流体粒子的停留时间分布时，所得到出口物料中示踪剂的浓度随时间的变化如图 7-5 中(a)图所示。因为存在有下述示踪剂的衡算关系：

$$\frac{M}{V} = \int_0^{\infty} C(t) dt \quad (7-19)$$

因此图 7-5 中(a)图曲线下面积为 M/V 。

如果以 $E(t)$ 为纵坐标，则得到图 7-5 中(b)图，该图曲线下所包围

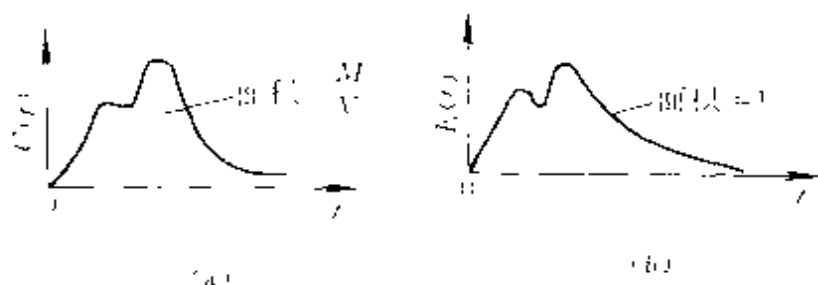


图 7.5 脉冲法出口示踪剂浓度变化示意图

面积为 1。

【例 7.1】 在一闭式搅拌槽反应器中，脉冲注入示踪剂，同时开始测定出口物流中示踪剂的浓度随时间变化的数值，其结果见表 7A 中 1、2 两列数据，试根据实验数据求 $E(t)$ 和 $F(t)$ 值。

解 对脉冲法，根据出口响应值，利用式(7-16)和式(7-17)，考虑到各响应值之间 Δt 相同的特点，可用下式分别求 $E(t)$ 和 $F(t)$ 值。

$$E(t) = \frac{C(t)}{\Delta t \sum_0^{\infty} C(t)}$$

$$F(t) = \frac{\sum_0^t C(t)}{\sum_0^{\infty} C(t)}$$

只要求出 $\Delta t \sum_0^{\infty} C(t)$ 、 $\sum_0^t C(t)$ 和 $\sum_0^{\infty} C(t)$ ，分别代入上式，即可求出 $E(t)$ 和 $F(t)$ 。

根据已给实验数据，

$$\sum_0^{\infty} C(t) = 6.5 + 12.5 + 12.5 + 10.0 + 5.0 + 2.5 + 1.0 = 50 \text{ g/L}$$

$$\Delta t \sum_0^{\infty} C(t) = 120 \times 50 = 6000 \text{ s} \cdot \text{g/L}$$

因此

$$E(t) = \frac{C(t)}{6000}, F(t) = \frac{\sum_0^t C(t)}{50}$$

具体计算结果见表 7A 中第 $F(t)$ 、 $E(t)$ 两列。

表 7A 脉冲法实验和计算数据

t/s	$C(t)/(g/L)$	$\sum_0^t C(t)/(g \cdot L)$	$F(t)$	$E(t) \times 10^3/s^{-1}$
0	0.0	0.0	0.0	0.0
120	6.5	6.5	0.13	1.038
240	12.5	19.0	0.38	2.083
360	12.5	31.5	0.63	2.083
480	10.0	41.5	0.83	1.670
600	5.0	46.5	0.93	0.833
720	2.5	49.0	0.98	0.417
840	1.0	50.0	1.00	0.167
960	0.0	50.0	1.00	0.0
1080	0.0	50.0	1.00	0.0

(2) 阶跃法。阶跃法的实质是将系统中作稳态流动的流体切换为流量相同的含有示踪剂的流体，或者相反。前一种称为升阶法；后一种称为降阶法。阶跃法与脉冲法的根本区别是前者连续向系统加入示踪剂，一直到实验测定结束，而后者则是在一极短的时间内加入全部示踪剂。图 7-6 表示了阶跃法测定的示意图。

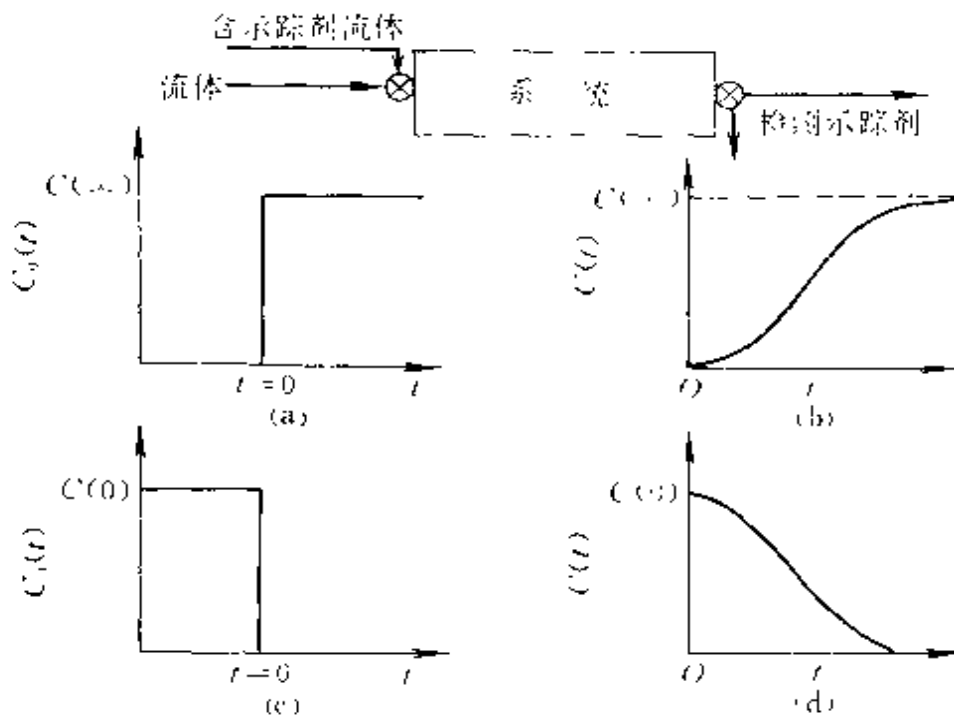


图 7-6 阶跃法测定停留时间分布

(a) 升阶法的输入信号；(b) 升阶法的输出信号；

(c) 降阶法的输入信号；(d) 降阶法的输出信号

假定含示踪剂的流体中示踪剂的浓度为 $C(\infty)$ ，并且在整个实验阶段保持不变。并把开始切换含示踪剂的流体的时间定为 $t=0$ ，因此输入的阶跃函数可表示为：

$$C_0(t) = 0 \quad (t < 0) \quad (7-20)$$

$$C_0(t) = C(\infty) - \text{常数} \quad (t \geq 0) \quad (7-21)$$

无论是升阶法还是降阶法，切换前后进入系统的流体流量必须相等。升阶法的出口流体中示踪剂从无到有，其浓度随时间而单调地递增[如图 7-6(b)所示]，最终达到与输入的示踪剂浓度 $C(\infty)$ 相等。同样做 dt 时间内示踪剂的平衡。

入口处输入示踪剂的量为 $VC(\infty)dt$ ，出口处从系统中流出示踪剂的量则为 $VC(t)dt$ ，而这部分示踪剂在系统内的停留时间必定是小于或等于 t ，所以由 $F(t)$ 的定义可得

$$F(t) = \frac{VC(t)dt}{VC(\infty)dt} = \frac{C(t)}{C(\infty)} \quad (7-22)$$

由此可见，由阶跃法响应曲线直接求得的是停留时间分布函数，而由脉冲法响应曲线直接求得的则是停留时间分布密度函数。造成这种差别的根本原因在于脉冲法是在一极短时间内把示踪剂全部加入到系统中，而阶跃法则是连续通入示踪物一直到实验结束，这样对阶跃法出口处某一时间 t 所得到的示踪剂浓度就包含了停留时间从零到 t 的全部示踪剂。

降阶法是以不含示踪剂的流体切换含示踪剂的流体，其输入函数为

$$C_0(t) = C(0) = \text{常数} \quad t < 0 \quad (7-23)$$

$$C_0(t) = 0 \quad t \geq 0 \quad (7-24)$$

图 7-6(c) 为其几何图示。相应的输出响应曲线如图 7-6(d) 所示，示踪剂的浓度由 $C(0)$ 随时间单调地递减至零。因为是用无示踪剂的流体来切换含示踪剂的流体，所以在时间为 t 与 $t+dt$ 间检测到的示踪剂在系统中的停留时间必然大于或等于 t ，因此，比值 $C(t)/C(0)$ 应为停留时间大于 t 的物料所占的分率，从而有

$$1 - F(t) = \frac{C(t)}{C(0)} \quad (7-25)$$

并可利用 (7-25) 式由阶跃响应曲线计算停留时间分布函数。

根据图 7-6 中 (b) 图, 当纵坐标以阶跃法得到的出口示踪剂浓度表示时, 图中曲线所包围面积应等于 $tC(\infty)$, 并且当 $t \rightarrow \infty$ 时, $C(t) = C(\infty)$; 如果纵坐标以 $F(t)$ 表示, 图中曲线所包围面积为 \bar{t} , 并且当 $t \rightarrow \infty$ 时, $F(t) = 1$ 。

阶跃法主要问题是示踪剂耗量较大。而脉冲法的主要困难是如何使示踪剂的输入时间缩到最短, 这对于平均停留时间短的流动系统难度更大些。但是由于脉冲法直接测得的是 $E(t)$ 函数, 并且实际中应用较多的也是 $E(t)$ 函数, 示踪剂耗量也少, 因而脉冲法应用更普遍些。

在实际应用时, 无论采用哪一种测定方法, 都必须保证在示踪剂输入点与系统入口截面之间不产生返混现象, 也就是说使被测系统为闭式系统, 这样才可获得准确的停留时间分布函数。

7.1.3 停留时间分布函数的统计特征值

为了对不同流动状况下的停留时间分布函数进行定量比较, 可以采用随机函数的特征值予以表示。常用的随机函数统计特征值有两个, 即数学期望和方差。

(1) 数学期望。数学期望也就是均值。对停留时间分布而言, 即为平均停留时间 \bar{t} 。均值为对原点的一阶矩, 可根据一阶矩的定义, 求得平均停留时间为:

$$\bar{t} = \frac{\int_0^{\infty} tE(t)dt}{\int_0^{\infty} E(t)dt} = \int_0^{\infty} tE(t)dt \quad (7-26)$$

数学期望 \bar{t} 为随机变量的分布中心, 在几何图形上, 它是 $E(t)$ 曲线所包围面积的重心在横轴上的投影, 如图 7-7 所示。无因次平均停留时间可表示为:

$$\bar{\theta} = \int_0^{\infty} \theta E(\theta)d\theta \quad (7-27)$$

式 (7-26) 又可以 $F(t)$ 函数表

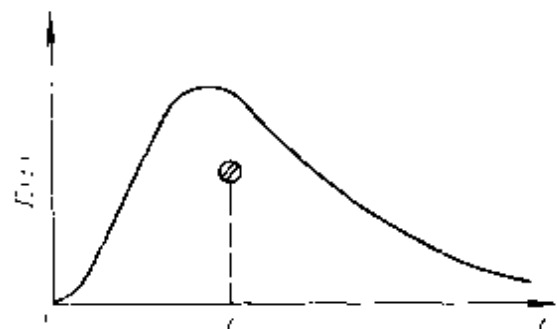


图 7-7 由 $E(t)$ 函数确定 \bar{t}

示为:

$$\bar{t} = \int_0^1 t dF(t) \quad (7-28)$$

如果实验得到的为离散型数据,则有

$$\bar{t} = \frac{\sum t E(t) \Delta t}{\sum E(t) \Delta t} \quad (7-29)$$

若为脉冲法得到的响应曲线,则可表示为

$$\bar{t} = \frac{\sum t C(t) \Delta t}{\sum C(t) \Delta t} \quad (7-30)$$

若为阶跃法得到的响应曲线,则可表示为

$$\bar{t} = \int_0^1 t dF(t) = \frac{1}{C(\infty)} \int_0^{C(\infty)} t dC(t) \quad (7-31)$$

此式相当于图 7-8 中阴影部分面积除以纵坐标值,即为 \bar{t} ,从该图可以看出:

$$\int_0^{C(\infty)} t dC(t) = \int_0^T C(\infty) dt - \int_0^T C(t) dt \quad (7-32)$$

式中 T 为出口流体中示踪剂浓度等于 $C(\infty)$ 时的时间。所以, \bar{t} 又可表示为:

$$\begin{aligned} \bar{t} &= \frac{1}{C(\infty)} \left[\int_0^T C(\infty) dt - \int_0^T C(t) dt \right] \\ &= \int_0^T \left[1 - \frac{C(t)}{C(\infty)} \right] dt \quad (7-33) \end{aligned}$$

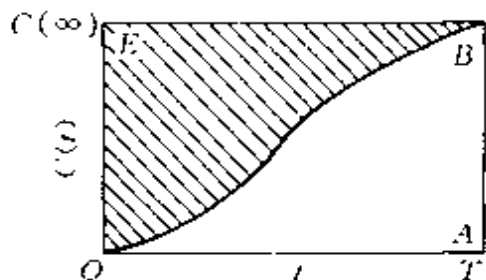


图 7-8 阶跃响应曲线

(2) 方差。所谓方差是指对于平均值的二次矩。方差表示的是对平均值的

离散程度,方差愈大,分布愈宽,因此方差又称为散度。当方差值大,表示停留时间分布中长短不一参差不齐的程度愈大。方差常以 σ_t^2 表示,其定义式为

$$\sigma_t^2 = \frac{\int_0^{\infty} (t - \bar{t})^2 E(t) dt}{\int_0^{\infty} E(t) dt} = \int_0^{\infty} (t - \bar{t})^2 E(t) dt \quad (7-34)$$

和

$$\sigma_t^2 = \int_0^{\infty} t^2 E(t) dt - \bar{t}^2 \quad (7-35)$$

$$\sigma_t^2 = \int_0^1 t^2 dF(t) - \bar{t}^2 \quad (7-36)$$

对脉冲实验数据

$$\sigma_t^2 = \frac{\int_0^{\infty} t^2 C(t) dt}{\int_0^{\infty} C(t) dt} - \bar{t}^2 \quad (7-37)$$

对阶跃法实验得到的数据

$$\begin{aligned} \sigma_t^2 &= \frac{1}{C(\infty)} \int_0^{C(\infty)} t^2 dC(t) - \bar{t}^2 \\ &= 2 \int_0^{\bar{t}} t \left[1 - \frac{C(t)}{C(\infty)} \right] dt - \bar{t}^2 \end{aligned} \quad (7-38)$$

需要指出的是，式 (7-30)、式 (7-33)、式 (7-37) 和式 (7-38) 中虽然出口示踪剂浓度都用 $C(t)$ 表示，但要注意脉冲法和阶跃法所测得的 $C(t)$ 值是不同的。

方差亦可用无因次方差 σ_{θ}^2 表示为：

$$\sigma_{\theta}^2 = \int_0^{\infty} (\theta - \bar{\theta})^2 E(\theta) d\theta = \int_0^{\infty} \theta^2 E(\theta) d\theta - 1 \quad (7-39)$$

σ_{θ}^2 与 σ_t^2 之关系为

$$\sigma_{\theta}^2 = \frac{1}{(\bar{t}^*)^2} \sigma_t^2 \quad (7-40)$$

对于闭式体系 $\sigma_{\theta}^2 = \frac{1}{\bar{t}^2} \sigma_t^2 \quad (7-41)$

由于方差是表示停留时间分散程度的量度，方差愈小，停留时间分布愈窄，愈趋向于其平均停留时间，此时流体流动愈接近于活塞流；相反，方差愈大，停留时间分布愈宽，流动状况愈接近于全混流，图 7-9 表示了不同方差值时的停留时间分布。当用无因次方差 σ_{θ}^2 表示时，则有：

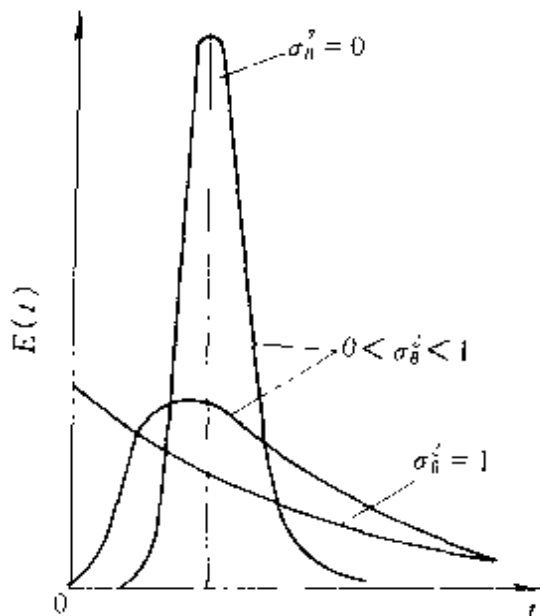


图 7-9 停留时间分布与方差关系

$$\text{活塞流} \quad \sigma_t^2 = 0 \quad (7-42)$$

$$\text{全混流} \quad \sigma_t^2 = 1 \quad (7-43)$$

$$\text{对一般实际流动状况} \quad 0 < \sigma_t^2 < 1 \quad (7-44)$$

【例 7.2】 用脉冲法测定一流动反应器的停留时间分布，得到出口流体中示踪剂的浓度 $C(t)$ 与时间 t 的关系见表 7B 中 $t, C(t)$ 两行，试根据提供的数据求其平均停留时间和方差。

解 根据脉冲实验数据，用下列两式计算。

$$\bar{t} = \frac{\sum_0^{\infty} tC(t)\Delta t}{\sum_0^{\infty} C(t)\Delta t}$$

$$\sigma_t^2 = \frac{\sum_0^{\infty} t^2C(t)\Delta t}{\sum_0^{\infty} C(t)\Delta t} - (\bar{t})^2$$

又因为所有时间间隔 Δt 相同，因此为求出 \bar{t} 和 σ_t^2 只要分别求出 $\sum_0^{\infty} C(t)$ 、 $\sum_0^{\infty} tC(t)$ 和 $\sum_0^{\infty} t^2C(t)$ 值，代入上式即可求出 \bar{t} 和 σ_t^2 值。具体见表 7B。

表 7B 脉冲实验和计算数据

t/min	$C(t)/(\text{g}/\text{m}^3)$	$tC(t)/(\text{g} \cdot \text{min}/\text{m}^3)$	$t^2C(t)/(\text{min}^2 \cdot \text{g}/\text{m}^3)$
0	0	0	0
2	1	2	4
4	4	16	64
6	7	42	252
8	9	72	576
10	8	80	800
12	5	60	720
14	2	28	392
16	1.5	24	384
18	1	18	324
20	0.6	12	240
22	0.2	4.4	96.8
24	0	0	0
	$\sum_0^{\infty} C(t) = 39.3$	$\sum_0^{\infty} tC(t) = 358.4$	$\sum_0^{\infty} t^2C(t) = 3852.8$

$$\bar{t} = \frac{358}{39.3} = 9.12 \text{ min}$$

$$\sigma_i^2 = \frac{3852}{39.3} - (9.12)^2 = 14.866 \text{ min}^2$$

$$\sigma_s^2 = \frac{1}{t^2} \sigma_i^2 = \frac{1}{(9.12)^2} \times 14.866 = 0.179$$

7.2 生化反应器的理想流动模型

在前一章中，重点讨论了两个理想流动的生化反应器 CSTR 和 CPFR，多次强调了反应器内流体流动属于两个理想流动模型——全混流和活塞流。本节将进一步对这两种理想流动模型的实质做进一步的讨论，阐明其停留时间分布的数学描述。并且由于实际反应器的流动状况均介于这两种极端情况之间，理想流动模型又是建立非理想流动模型的基础。因此，弄清这两种理想流动模型的停留时间分布是很有必要的。

7.2.1 活塞流模型

所谓活塞流，就是指垂直于流体流动方向的横截面上所有的流体粒子的年龄相同。因此，不存在不同年龄的流体粒子之间的混合，或者说不存在不同停留时间的流体粒子之间的混合。需要强调的是，这种混合是宏观尺度的，所以又称为宏观混合。这种宏观混合的程度系用停留时间分布来表示。对活塞流，虽然同一横截面上流体粒子年龄相同，但这一截面与另一截面上的流体粒子的年龄则是不相同的。因此，可以认为活塞流不存在轴向混合，或者说返混为零。显然，活塞流是一种极端的理想流动状况。它的根本特征就是同时进入系统的流体粒子也同时离开系统，亦即系统出口流体粒子具有相同的寿命。因此，若在 $t=0$ 时向活塞流反应器的进口以 δ 函数的形式脉冲输入示踪剂时，则其出口流体中示踪剂的浓度也呈 δ 函数的形式，如图 7-10 所示。对活塞流反应器出口响应值进行分析，可得：

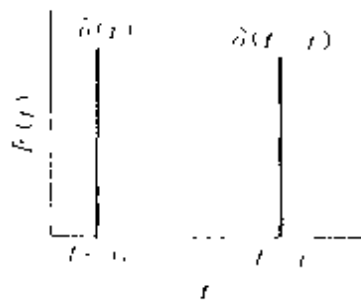


图 7-10 活塞流反应器的 $E(t)$ 图

当 $t \neq t$ 时 $E(t) = 0$

当 $t = t$ 时 $E(t) = \infty$ (7-45)

活塞流模型的停留时间分布密度函数可以表示为:

$$E(t) = \delta(t - t_c) \quad (7-46)$$

式中 t_c 脉冲发生时间。

对脉冲输入 $E(t) = \delta(t - 0) = \delta(t)$ (7-47)

对脉冲响应 $E(t) = \delta(t - \bar{t})$ (7-48)

若以无因次时间表示, 脉冲响应为 $E(\theta) = \delta(\theta - 1)$ 。

对 δ 函数, 数学上有两个重要性质:

$$\textcircled{1} \quad \int_0^{\infty} \delta(t - t_0) dt = 1 \quad (7-49)$$

$$\textcircled{2} \quad \int_0^{\infty} \delta(t - t_0) f(t) dt = f(t_0) \quad (7-50)$$

利用上述性质, 可求出活塞流反应器的无因次平均停留时间 $\bar{\theta}$ 和方差 σ_{θ}^2 为:

$$\bar{\theta} = \int_0^{\infty} \theta E(\theta) d\theta = \int_0^{\infty} \theta \delta(\theta - 1) d\theta = 1 \quad (7-51)$$

$$\begin{aligned} \sigma_{\theta}^2 &= \int_0^{\infty} \theta^2 E(\theta) d\theta - \bar{\theta}^2 \\ &= \int_0^{\infty} \theta^2 \delta(\theta - 1) d\theta - 1 = 1 - 1 = 0 \end{aligned} \quad (7-52)$$

由式 (7-52) 知, 活塞流反应器停留时间分布的无因次方差 σ_{θ}^2 为零, 这表明所有的流体粒子在反应器内的停留时间相同。方差越小, 说明分布越集中, 分布曲线就越窄。停留时间分布方差等于零这一特征说明系统内不存在返混。正因如此, 当活塞流反应器的停留时间与间歇反应器反应时间相同时, 两者的反应效果也相同。

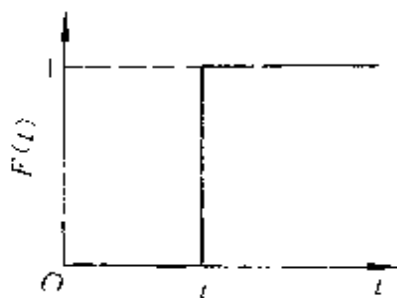


图 7-11 活塞流反应器的 $F(t)$ 图

图 7-11 为活塞流反应器的停留时间分布函数 $F(t)$ 图。该函数为一阶跃函数, 其数学表达式为:

$$F(t) = \begin{cases} 0 & t < \bar{t} \\ 1 & t \geq \bar{t} \end{cases} \quad (7-53)$$

或为
$$F(\theta) = \begin{cases} 0 & \theta < 1 \\ 1 & \theta \geq 1 \end{cases} \quad (7-54)$$

上述结果亦不难理解。因为活塞流反应器的停留时间均一，并等于 \bar{t} ，不可能有小于 \bar{t} 的流体粒子存在，因此当 $t < \bar{t}$ 时， $F(t)$ 等于零；当 $t = \bar{t}$ 时，全部流体粒子的停留时间均为 t ，所以 $F(t) = 1$ 。从图 7-11 亦可看出，其输入为阶跃函数，输出亦为阶跃函数，这也是活塞流反应器停留时间分布的重要特点。

7.2.2 全混流模型

全混流反应器内的流体由于受到强烈的搅拌作用，进入反应器的流体粒子有一部分在反应器内停留时间很短，很快从出口离开了反应器，也会有一部分粒子到了出口附近，刚要离开又被搅了回来，致使这些粒子在反应器中停留时间极长。因此流体粒子在全混流反应器中的停留时间将是有长有短、参差不齐的，即存在着不同停留时间的流体粒子之间的混合，称为宏观混合或称返混。这种返混程度与搅拌有关，搅拌越强烈，返混程度越严重。当返混程度达到最大时，则反应器内不同停留时间的流体粒子间达到最大的混合，或称为完全混合，此时反应器内物料浓度处处相同，这就是全混流模型。

假设阶跃法连续进入全混流反应器流体中的示踪剂的浓度为 $C(0)$ ，反应器出口流体中示踪剂浓度为 $C(t)$ ，流体的体积流量为 V ，做示踪剂的物料平衡。

$$V_R \frac{dC(t)}{dt} = V(C(0) - C(t))$$

$$\frac{dC(t)}{dt} = \frac{1}{t}(C(0) - C(t)) \quad (7-55)$$

当 $t=0, C(t)=0$ ；积分式(7-55)，可得

$$\ln \frac{C(0) - C(t)}{C(0)} = -\frac{t}{t}$$

$$1 - \frac{C(t)}{C(0)} = e^{-t/t} \quad (7-56)$$

因此

$$F(t) = \frac{C(t)}{C(0)} = 1 - e^{-t/\bar{t}} \quad (7-57)$$

$$E(t) = \frac{dF(t)}{dt} = \frac{1}{\bar{t}} e^{-t/\bar{t}} \quad (7-58)$$

又因为,对全混流反应器有 $D = \frac{1}{\bar{t}}$, 因此

$$F(t) = 1 - e^{-Dt} \quad (7-59)$$

和 $E(t) = De^{-Dt} \quad (7-60)$

式中 D —— 稀释率;

\bar{t} —— 平均停留时间。

以无因次时间 θ 表示, 则有

$$F(\theta) = 1 - e^{-\theta} \quad (7-61)$$

$$E(\theta) = e^{-\theta} \quad (7-62)$$

图 7-12 表示了全混流反应器的 $E(t)$ 及 $F(t)$ 图。

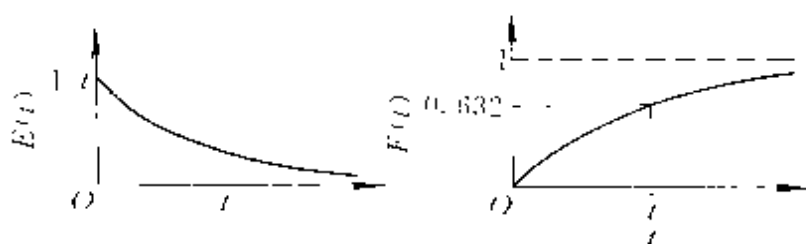


图 7-12 全混流反应器的 $E(t)$ 图和 $F(t)$ 图

从图 7-12 可以看出,在全混流反应器中, $E(t)$ 随时间的增加而单调下降, 并且当 $t \rightarrow \infty$ 时, $E(t) \rightarrow 0$ 。这说明流体粒子在全混流反应器中的停留时间极度参差不齐, 从零到无限大, 应有尽有。返混程度达到最大, 这是宏观混合的另一极端情况。全混流反应器的 $F(t)$ 曲线与一般的流动系统的 $F(t)$ 曲线形式相同, 都是随时间而递增的曲线, 差别仅在于前者曲线斜率系随时间的增加而减少, 而后者则存在最大斜率。

根据式 (7-57), 当 $t = \bar{t}$ 时, $F(t) = 0.632$, 这表明在全混流反应器中停留时间小于其平均停留时间的物料粒子占的分率为 63.2%, 其余 36.8% 的粒子的停留时间要大于其平均停留时间。

以无因次时间表示其平均停留时间和方差为:

$$\bar{\theta} = \int_0^{\infty} \theta E(\theta) d\theta = \int_0^{\infty} \theta e^{-\theta} d\theta = 1 \quad (7-63)$$

$$\sigma_s^2 = \int_0^{\infty} \theta^2 E(\theta) d\theta - 1 = \int_0^{\infty} \theta^2 e^{-\theta} d\theta - 1 = 2 - 1 = 1 \quad (7-64)$$

故
$$\sigma_s^2 = t^2 \quad (7-65)$$

由上述各式可见，返混程度达到最大时，停留时间的无因次方差 $\sigma_s^2=1$ ，若为活塞流时 σ_s^2 为零，因此，一般流动情况下停留时间分布的方差介于零到 1 之间，其值愈大，返混愈严重。

讨论了活塞流模型与全混流模型的停留时间分布上的差异之后，更可加深对两种不同反应器在反应特性上的不同。在第 5 章中，曾对全混流反应器与活塞流反应器在浓度分布上做了比较，得到的结论是，对于一般正常动力学，即随着反应组分浓度的提高，反应速率单调增加的动力学，活塞流反应器优于全混流反应器。这里从停留时间分布的不同做进一步说明：若两个反应器进行的反应相同，反应条件也相同，并且其平均停留时间也相等。对活塞流反应器，所有流体粒子的停留时间都等于平均停留时间；然而全混流反应器却并非如此。根据前面的分析，对全混流反应器，停留时间小于平均停留时间的流体粒子为 63.2%，这部分流体的转化率必然小于活塞流反应器，其余 36.8% 的反应物料，虽然由于其停留时间大于平均停留时间而使其反应转化率高于活塞流反应器，但却抵偿不了由于停留时间短而损失的转化率。因此，活塞流反应器的转化率要高于全混流反应器。由此可见，使停留时间分布集中，可以提高反应器的生产强度。当然这只是从流体的停留时间去分析，反应的情况还与流体间的微观混合程度有关。本章最后部分将讨论这个问题。

【例 7.3】 活塞流与全混流停留时间分布的比较。

反应器有效体积为 8L，物料体积流量为 2L/s。若为脉冲法输入示踪剂，其量为 $M=56\text{mol}$ ；若用阶跃法输入示踪剂，单位时间加入示踪剂量 $m=14\text{mol/s}$ 。试求：

- (1) 根据脉冲数据求出 \bar{t} 、 $E(t)-C(t)$ 、 $E(\theta)-E(t)$ 之关系。
- (2) 根据阶跃法数据求其 \bar{t} 、 $C(t)$ t 的关系。

解 (1) 脉冲法

对活塞流
$$t = V_R / V = 8 / 2 = 4\text{s}$$

$$E(t) = \frac{V}{M} C(t) = \frac{2}{56} C(t) = \frac{1}{28} C(t)$$

$$E(\theta) = \bar{t} E(t) = 4E(t)$$

对全混流

$$\bar{t} = V_R/V = 4s$$

$$C(t) = \frac{M}{V} E(t) = \frac{M}{V} \times \frac{1}{\bar{t}} e^{-t/\bar{t}} = \frac{56}{2} \times \frac{1}{4} \times e^{-t/4} = 7e^{-t/4}$$

$$E(t) = \frac{1}{\bar{t}} e^{-t/\bar{t}} = \frac{1}{4} e^{-t/4}$$

$$E(\theta) = e^{-\theta}$$

(2) 阶跃法

对活塞流 $\bar{t} = 4s$

$$\text{当 } t = \bar{t} \text{ 时 } C(t) = C(\infty) = \frac{m}{V} = \frac{14}{2} = 7 \text{ mol/L}$$

对全混流 $\bar{t} = 4s$

$$\text{当 } t \rightarrow \infty \text{ 时 } C(t) = C(\infty) = 7 \text{ mol/L}$$

$$\text{当 } t = \bar{t} \text{ 时 } F(t) = \frac{C(t)}{C(\infty)} = 0.632, C(t) = 4.424 \text{ mol/L}$$

7.3 生化反应器的非理想流动模型

前面讨论的是两种理想流动状况——活塞流与全混流。而实际的反应器中流体流动状况介于上述两者之间，有些与其接近，有的则偏离较大。凡不符合理想流动状况的流动，均称为非理想流动。对一实际工业生化反应器，其流动状况偏离理想流动状况的原因可归结为下述几个方面。

(1) 滞流区的存在。所谓滞流区是指反应器中流体流动极慢以至于几乎不流动的区域，因此又可称为死区。滞流区的存在使得一部分流体的停留时间极长，其停留时间分布密度函数 $E(t)$ 曲线的特征是拖尾很长。滞流区主要产生于设备死角中，如设备两端、挡板与设备交接处等。

(2) 沟流与短路的存在。对某些反应器，例如以固定化酶为催化剂的填充床反应器，由于固定化酶颗粒装填不匀，从而造成一低阻力

通道，使得部分流体快速地从此通道流过，从而形成沟流。还有一种情况为短路，使流体在设备内的停留时间极短。存在沟流和短路时的停留时间分布的特点是 $E(t)$ 曲线一般存在双峰，第一个峰为沟流或短路造成的。并且在存在沟流或短路时，由实测的停留时间分布所计算的平均停留时间要小于时间参数 \bar{t}^* ，若相反，有滞流区而无沟流或短路时，则会出现 $\bar{t} > \bar{t}^*$ 。

(3) 循环流。鼓泡塔、釜式反应器和流化床内都有可能存在流体循环运动，尤其是近年来开发的新型生化反应器中有目的地设置导流筒以强化传质，也强化了循环流的存在，此时停留时间分布曲线存在多峰现象。

造成非理想流动的原因还有：由于流体流速分布的不均匀造成流体在反应器内的停留时间有长有短；由于分子扩散及涡流扩散的存在而造成流体粒子之间的混合，从而使停留时间分布偏离理想流动。图 7-13 表示了上述各种原因造成的停留时间分布曲线的特征。

对非理想反应器应如何来预测反应的结果呢？这需要对其流动状况建立适宜的流动模型。建立流动模型的依据是停留时间分布，采用的方法是对理想流动模型进行修正，或者是将理想流动模型与滞流区、沟流和短路等做不同的组合，所建立的模型应便于数学处理，模型参

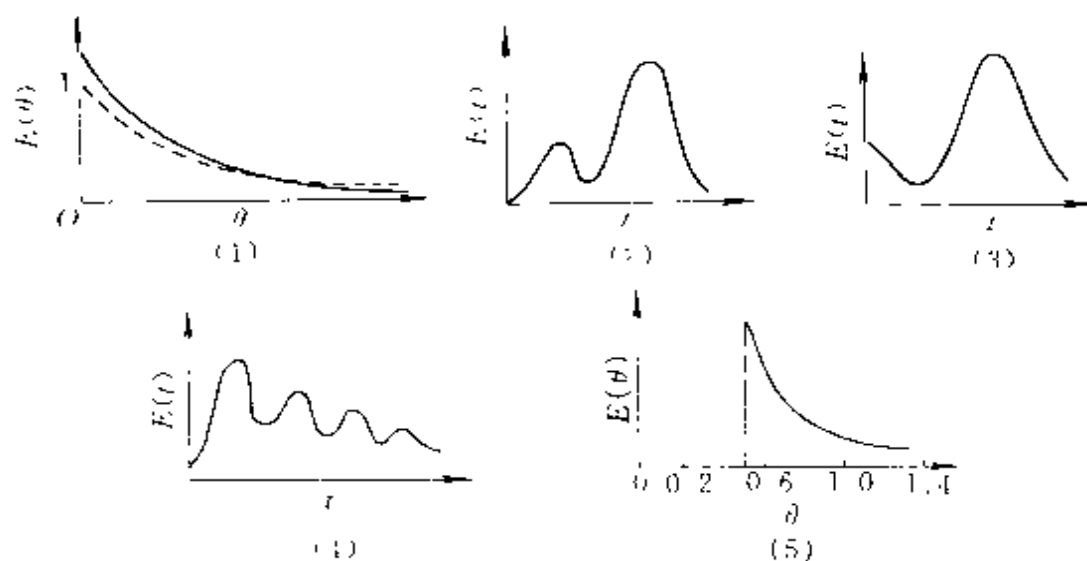


图 7-13 各种非理想流动的停留时间分布曲线的特征

(1) 滞流区；(2) 沟流；(3) 短路；(4) 循环流；(5) 层流

数一般不宜超过两个，且能正确反映模拟对象的物理实质。下面介绍若干个非理想流动模型。

7.3.1 槽列模型

槽列模型又称多釜串联模型，该模型比较简单，任何动力学方程均可应用。

在前一章的讨论中，我们已经发现多个搅拌槽式反应器相串联时，它的性能介于活塞流和全混流之间，并且串联的釜数愈多，愈接近于活塞流。因此，可以用 N 个全混釜相串联来模拟一个实际的反应器。 N 为该模型的参数， $N=1$ 时为全混流， $N=\infty$ 时为活塞流。 N 的取值不同，反映了实际反应器的不同返混程度， N 的数值由其停留时间分布来确定。为此首先要确定多釜串联时的停留时间分布。

槽列模型如图 7-14 所示。

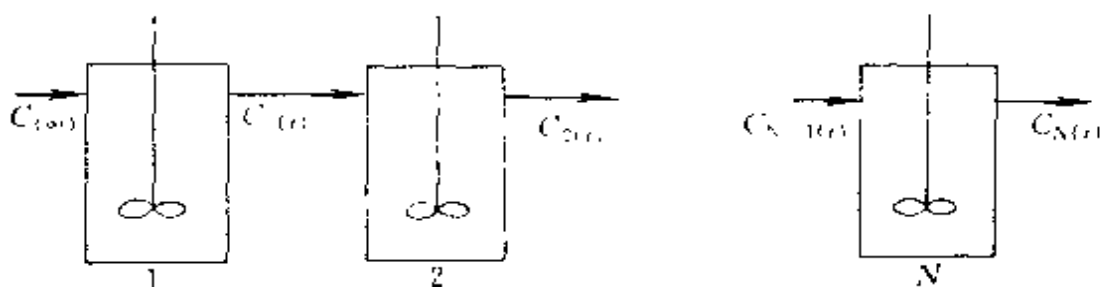


图 7-14 槽列模型示意图

假定：每一反应器内为全混流，反应器之间无返混存在，反应器体积均相同，物料输入与输出的体积流量相等。

若用阶跃法输入示踪剂，入口处示踪剂浓度为 $C(\infty)$ ，当 N 个 CSTR 相串联时，

对第一个 CSTR，已知其停留时间分布函数为

$$F_1(t) = \frac{C(t)}{C(\infty)} = 1 - e^{-t/\bar{t}_1} \quad (7-66)$$

$$\bar{t}_1 = \frac{V_{R1}}{V}$$

对第二个 CSTR 做示踪物平衡，可得

$$VC_1(t) - VC_2(t) = V_{R2} \frac{dC_2(t)}{dt}$$

$$\frac{dC_2(t)}{dt} + \frac{1}{t_2}C_2(t) = \frac{1}{t_2}C(\infty)(1 - e^{-t/t_2}) \quad (7-67)$$

又因为存在有 $\bar{t}_1 = \bar{t}_2 = \bar{t}$, 所以有:

$$\frac{dC_2(t)}{dt} + \frac{1}{\bar{t}}C_2(t) = \frac{1}{\bar{t}}C(\infty)(1 - e^{-t/\bar{t}}) \quad (7-68)$$

式(7-68)为一阶线性微分方程式。解之得:

$$F_2(t) = \frac{C_2(t)}{C(\infty)} = 1 - e^{-t/\bar{t}} \left[1 + \frac{t}{\bar{t}} \right] \quad (7-69)$$

同理
$$F_3(t) = 1 - e^{-t/\bar{t}} \left[1 + \frac{t}{\bar{t}} + \frac{1}{2!} \left(\frac{t}{\bar{t}} \right)^2 \right] \quad (7-70)$$

$$F_N(t) = 1 - e^{-t/\bar{t}} \left[1 + \frac{t}{\bar{t}} + \frac{1}{2!} \left(\frac{t}{\bar{t}} \right)^2 + \dots + \frac{1}{(N-1)!} \left(\frac{t}{\bar{t}} \right)^{N-1} \right]$$

$$= 1 - e^{-t/\bar{t}} \sum_{i=0}^{N-1} \frac{\left(\frac{t}{\bar{t}} \right)^i}{(N-1)!} \quad (7-71)$$

若以总平均停留时间 \bar{t} 表示, 则有:

$$F_N(t) = 1 - e^{-Nt/\bar{t}} \sum_{i=0}^{N-1} \frac{(Nt/\bar{t})^i}{(N-1)!} \quad (7-72)$$

式中 $\bar{t} = \frac{V_R}{V} = \frac{NV_{R_1}}{V} = N\bar{t}_1$ (7-73)

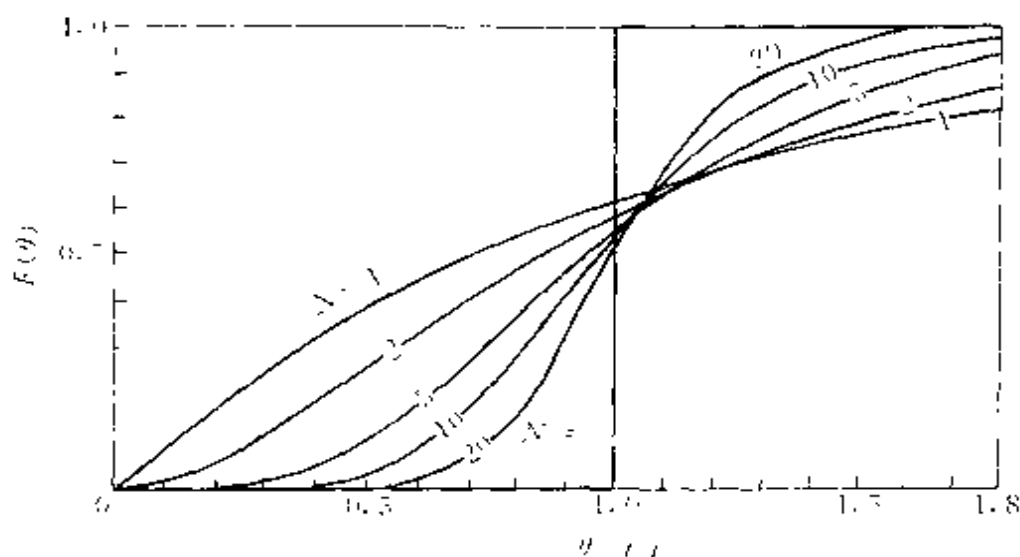
以 θ 表示, 则为:

$$F_N(\theta) = 1 - e^{-N\theta} \sum_{i=0}^{N-1} \frac{(N\theta)^i}{(N-1)!} \quad (7-74)$$

上述各式中, $C(\infty)$ 为第一反应器入口处示踪物浓度; $C_1(t)$ 、 $C_2(t)$ 为第一、二反应器出口处示踪物浓度; V_{R_1} 、 V_{R_2} 为第一、二反应器的有效体积; \bar{t} 为总的平均停留时间; t_1 、 t_2 、 t_i 为第一、二和第 i 个反应器的平均停留时间; $F_1(t)$ 、 $F_2(t)$ 、 $F_N(t)$ 为第一、二和第 N 个反应器的停留时间分布函数; θ 为无因次停留时间; N 为求的模型参数。

当 N 不同时, $F_N(\theta)$ 有不同的分布, 结果如图 7-15 所示, 从图可见, $N=1$ 为全混流, $N=\infty$ 为活塞流, $1 < N < \infty$ 为非理想流动的 $F(\theta)$ 曲线, 并且随着 N 值增大, $F(\theta)$ 曲线愈接近于活塞流。

将式 (7-74) 对 θ 求导, 可得停留时间分布密度函数为:

图 7-15 多釜串联模型的 $F(\theta)$ 图

$$E(\theta) = \frac{N^N}{(N-1)!} \theta^{N-1} e^{-N\theta} \quad (7-75)$$

不同 N 值时所计算的 $E(\theta)$ 曲线表示在图 7-16 中。从该图可以看出, 随着 N 的增加, $E(\theta)$ 分布变窄, 接近于活塞流。

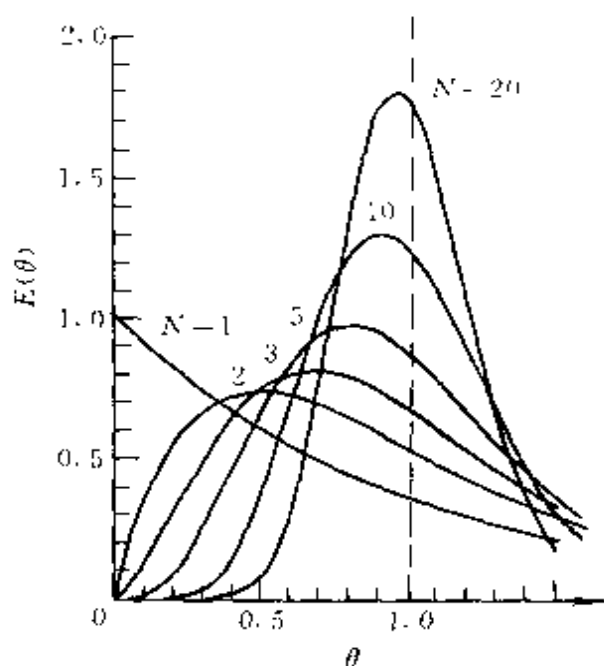


图 7-16 多釜串联的停留时间分布曲线

无因次平均停留时间为:

$$\begin{aligned} \bar{\theta} &= \int_0^{\infty} \theta E(\theta) d\theta \\ &= \int_0^{\infty} \frac{\theta N^N \theta^{N-1} e^{-N\theta}}{(N-1)!} d\theta \\ &= 1 \end{aligned} \quad (7-76)$$

无因次方差为:

$$\begin{aligned} \sigma_{\theta}^2 &= \int_0^{\infty} \theta^2 E(\theta) d\theta \\ &= \int_0^{\infty} \frac{N^N \theta^{N+1} e^{-N\theta}}{(N-1)!} d\theta - 1 \\ &= \frac{N+1}{N} - 1 \\ &= \frac{1}{N} \end{aligned} \quad (7-77)$$

由该式可以看出, 当 $N=1$, $\sigma_{\theta}^2=1$ 为全混流; 当 $N \rightarrow \infty$, $\sigma_{\theta}^2=0$,

为活塞流。当 N 为任何正数时，其方差应介于 0 与 1 之间。对 N 的不同取值便可模拟不同的停留时间分布。

应用槽列模型来模拟一个实际反应器的流动状况时，首先要测定该反应器的停留时间分布，然后求出该分布的方差，再根据式(7-77)求其模型参数 N 。这也就是说该反应器的停留时间分布与 N 个等体积 CSTR 相串联时的停留时间分布相当，两者的平均停留时间相等，方差相等。采用上述方法来估计模型参数 N 的值时，可能出现 N 为非整数的情况，此时应把小数部分视作一体积较小的 CSTR。粗略的估算可把小数圆整成整数。有了 N 值，就可按照前一章中多个 CSTR 串联时的设计方法进行计算。

Moser 等采用较方便方法确定 N 值。根据对反应器所测定的 $E(t)$ 函数分布，将 $E(t)$ 达最大值时的时间 t_{\max} 与 N 相关联，从图 7-17 中直接查得 N 值。其中 (b) 图横坐标为 t_{\max}/\bar{t} ， \bar{t} 为平均停留时间，此法适用范围为 $1 \leq \frac{t}{t-t_{\max}} \leq 3$ 。

用范围为 $1 \leq \frac{t}{t-t_{\max}} \leq 3$ 。

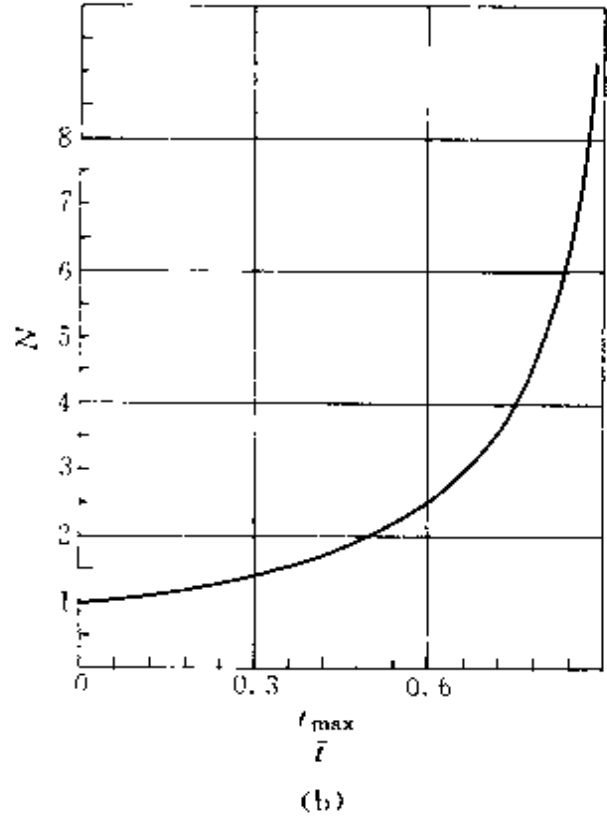
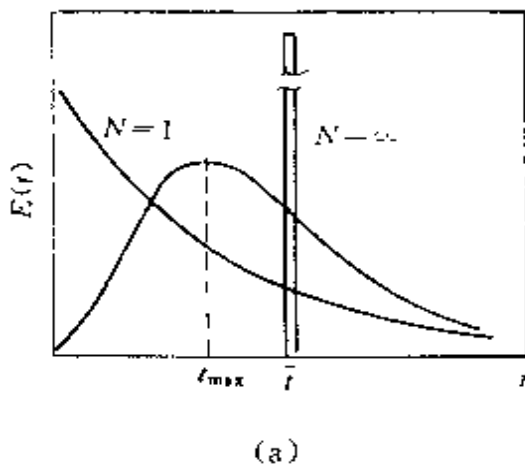


图 7-17 根据 $E(t)$ 曲线估算 N 值示意图

(a) 由 $E(t)-t$ 图确定 t_{\max} 值；(b) 由 t_{\max} 值确定 N 值

【例 7.4】 对一闭式液相生化反应器，用脉冲法测定其停留时间分布，得到表 7C 中 t 、 $C(t)$ 两行数据，试用槽列模型计算。若在该反应器进行某生化反应，该反应可按一级不可逆反应处理，已知该反应 $r_{\max}/K_m = 0.307 \text{min}$ ，试求其转化率 X_s 。

解 首先求出 $E(t)$ 以及 $tE(t)$ 和 $t^2E(t)$ 值，均列于表 7C 中。

表 7C 脉冲法测定和计算数据

t/min	$C(t)/(\text{g}\cdot\text{L})$	$E(t)/\text{min}^{-1}$	$tE(t)$	$t^2E(t)/\text{min}$
0	0	0	0	0
5	3	0.03	0.15	0.75
10	5	0.05	0.50	5.00
15	5	0.05	0.75	11.25
20	4	0.04	0.80	16.00
25	2	0.02	0.50	12.50
30	1	0.01	0.30	9.00
35	0	0	0	0
Σ		0.20	3.00	54.50

根据上述数据，可分别求出

$$t = \frac{\sum tE(t)}{\sum E(t)} = \frac{3.00}{0.20} = 15 \text{min}$$

$$\sigma_t^2 = \frac{\sum t^2E(t)}{\sum E(t)} - t^2 = \frac{54.5}{0.20} - 15^2 = 47.5 \text{min}^2$$

$$\sigma_\theta^2 = \frac{\sigma_t^2}{t^2} = \frac{47.5}{15^2} = 0.211$$

$$N = \frac{1}{\sigma_\theta^2} = \frac{1}{0.211} = 4.74$$

对一级不可逆反应

$$1 - X_s = \frac{C_s}{C_{s_0}} = \frac{1}{\left(1 + \frac{r_{\max} t}{K_m N}\right)^N} = \frac{1}{\left(1 + 0.307 \times \frac{15}{4.74}\right)^{4.74}} = 0.04$$

$$X_s = 0.96$$

7.3.2 一维扩散模型

对于管式反应器，常常由于存在有分子扩散、涡流扩散以及流速分布不均匀等原因，而使流体流动状况偏离了活塞流，此时可用一维

(轴向)扩散模型来模拟。该模型假设：①流体以恒定流速 u 通过系统；②在垂直于流体运动方向的横截面上径向浓度分布均一，即径向混合达到最大；③由于分子扩散、涡流扩散以及流速分布而产生的扩散，仅发生在流动方向，即轴向上，并以轴向扩散系数 D_z 表示这些因素的综合作用，且用费克定律加以描述，并且假定同一反应器内轴向扩散系数不随时间及位置而变，其数值大小仅与反应器的结构、操作条件及流体的性质有关。

根据上述假设，可建立轴向扩散模型的数学方程式。由于该系统为一分布参数系统，因此应取一微元体做示踪剂的平衡，假定系统内无反应发生，则根据输入 = 输出 + 累积，其中输入和输出皆包含有对流与扩散两项，最后得到示踪剂的平衡关系式为：

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_z \frac{\partial^2 C}{\partial l^2} - u \frac{\partial C}{\partial l} \quad (7-78)$$

式中 C ——某组分浓度；
 D_z ——轴向扩散系数；
 u ——流体线速度；
 t ——时间；
 l ——轴向距离。

该式即为一维扩散模型方程式。该方程式有两个自变量，即时间 t 和轴向距离 l ，故模型方程为一偏微分方程。由式 (7-78) 同时可以看出，一维扩散模型实质上是在活塞流模型上再叠加一扩散项，即式 (7-78) 中右边的第一项。通过此项反映了返混程度的大小。若 $D_z=0$ ，式 (7-78) 简化为活塞流模型方程：

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -u \frac{\partial C}{\partial l} \quad (7-79)$$

因此通过 D_z 值的大小不同，一维扩散模型可以模拟从活塞流至全混流间的任何非理想流动，但实际上，只有在返混不太大时该模型才较准确。

引入下列无因次变量，使式 (7-78) 化为无因次形式

$$\theta = t/\bar{t}^*, \quad \bar{C} = C/C_0, \quad Z = l/L$$

则有

$$\frac{D_z}{uL} \frac{\partial \bar{C}}{\partial Z^2} - \frac{\partial \bar{C}}{\partial Z} = \frac{\partial \bar{C}}{\partial \theta} \quad (7-80)$$

$\frac{D_z}{uL}$ 称为轴向扩散准数，为一无因次数群，其值为零，则为活塞流，其值愈大，表示返混程度愈严重，其值若为无限大，则为全混流。在实际应用时，常令

$$Pex = \frac{uL}{D_z} = \frac{\text{对流传递速率}}{\text{扩散传递速率}} \quad (7-81)$$

Pex 称为轴向 Peclet (彼克列) 准数，因此式 (7-80) 又可表示为

$$\frac{1}{Pex} \frac{\partial \bar{C}}{\partial Z^2} - \frac{\partial \bar{C}}{\partial Z} = \frac{\partial \bar{C}}{\partial \theta} \quad (7-82)$$

Pex 表示了对流流动和轴向扩散传递的相对大小，反映了返混的程度。当 $Pex \rightarrow 0$ 时，对流传递速率较之扩散传递速率要慢得多，为全混流情况，当 $Pex \rightarrow \infty$ ，此时扩散传递相对于对流传递可略去不计，即为活塞流。因此， Pex 愈大，轴向返混程度愈小。 Pex 成为轴向扩散模型的模型参数。

方程 (7-82) 的初始条件与边界条件很是复杂，一般认为有两类边界条件。一类是当流体流经边界时流型不变，称之为开式边界条件；另一类是流体流型发生改变，称之为闭式边界条件，因此就有可能组合成四种边界条件，如图 7-18 所示。

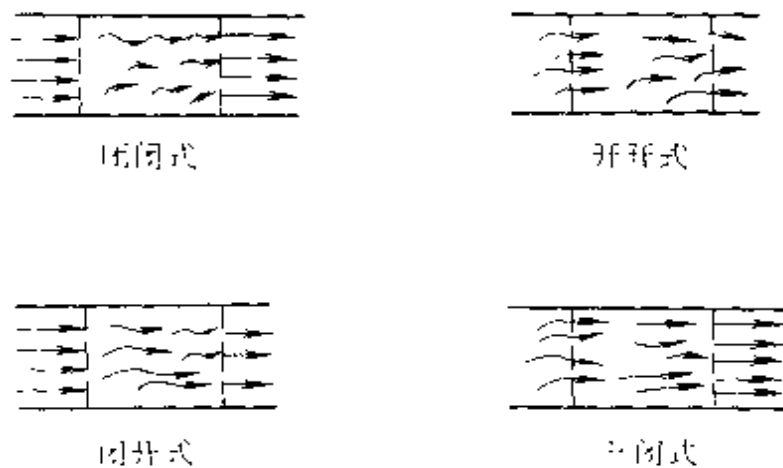


图 7-18 四种边界条件示意图

不同 Pe_z (或 $\frac{D_z}{uL}$) 值时, 以 $E(\theta)$ 和 $F(\theta)$ 对 θ 作图, 得图 7-19 和图 7-20, 从图中可以明显看出, 随着 Pe_z 的增大 ($\frac{D_z}{uL}$ 的减小), 停留时间分布变窄。

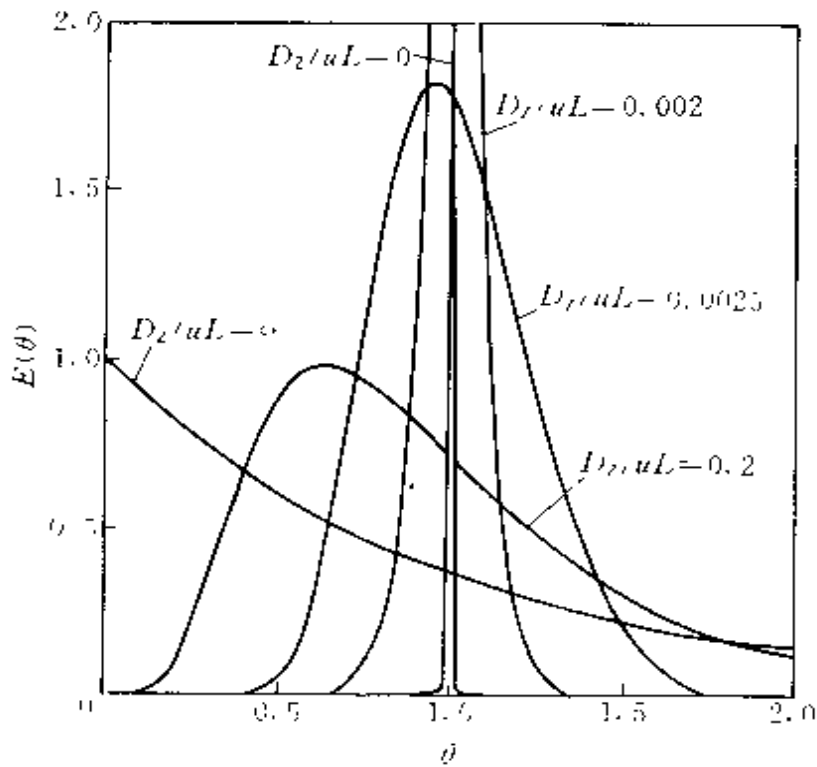


图 7-19 轴向扩散模型的 $E(\theta)$ 图

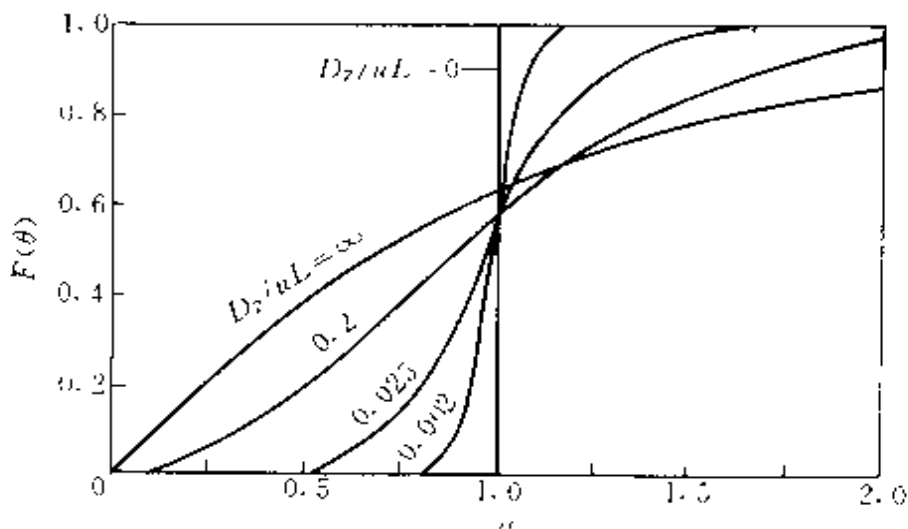


图 7-20 轴向扩散模型的 $F(\theta)$ 图

不同的边界条件，所得示踪物响应曲线形状会有很大不同，但都可求得其停留时间分布的特征值及其与模型参数 Pe_z 的关系式。

(1) 闭闭式容器

$$t = \bar{t}^*, \bar{\theta} = 1 \quad (7-83)$$

$$\sigma_{\bar{\theta}}^2 = 2 \left(\frac{1}{Pe_z} \right) - 2 \left(\frac{1}{Pe_z} \right)^2 (1 - e^{-Pe_z}) \quad (7-84)$$

(2) 开闭式和闭开式容器

$$\bar{t} = \bar{t}^* \left(1 + \frac{1}{Pe_z} \right) \quad (7-85)$$

$$\bar{\theta} = 1 + \frac{1}{Pe_z} \quad (7-86)$$

$$\sigma_{\bar{\theta}}^2 = \frac{2}{Pe_z} + 3 \left(\frac{1}{Pe_z} \right)^2 \quad (7-87)$$

(3) 开开式容器

$$\bar{t} = \bar{t}^* \left(1 + \frac{2}{Pe_z} \right) \quad (7-88)$$

$$\bar{\theta} = 1 + \frac{2}{Pe_z} \quad (7-89)$$

$$\sigma_{\bar{\theta}}^2 = \frac{2}{Pe_z} + 8 \left(\frac{1}{Pe_z} \right)^2 \quad (7-90)$$

当流体的返混程度很小时，可不考虑上述边界条件的影响， Pe_z 可由下式直接求出：

$$\sigma_{\bar{\theta}}^2 = \frac{2}{Pe_z} \quad (7-91)$$

若设计一反应器，停留时间分布未知，此时可根据有关关联式来估算 Pe_z ，例如，对空管反应器为：

$$\frac{1}{Pe_z} = \frac{1}{ReSc} + \frac{ReSc}{192} \quad (7-92)$$

上式适用范围是 $1 < Re < 2000$ ， $0.23 < Sc < 1000$ 。若为湍流，则为下式

$$Pe_z = Re^{0.125} \quad (7-93)$$

根据式 (7-77) 和式 (7-91)，槽列模型参数 N 和返混不大的一维

扩散模型参数 Pe_z 之间存在下述关系

$$N = \frac{1}{2} Pe_z \quad (7-94)$$

对于其他情况, Pawlowsk 建议可近似采用下式进行估算

$$N = 1 + \frac{1}{2} \sqrt{1 + Pe_z^2} \quad (7-95)$$

对于带有循环的 CPFRR 装置, 此时的 Pe_z 系由循环比 R 决定, 如图 7-21 所示。从该图可以看出, 随着循环比的增大, Pe_z 值急剧下降, 表明反应器特性由活塞流特性变为有返混的搅拌槽式反应器的特性。

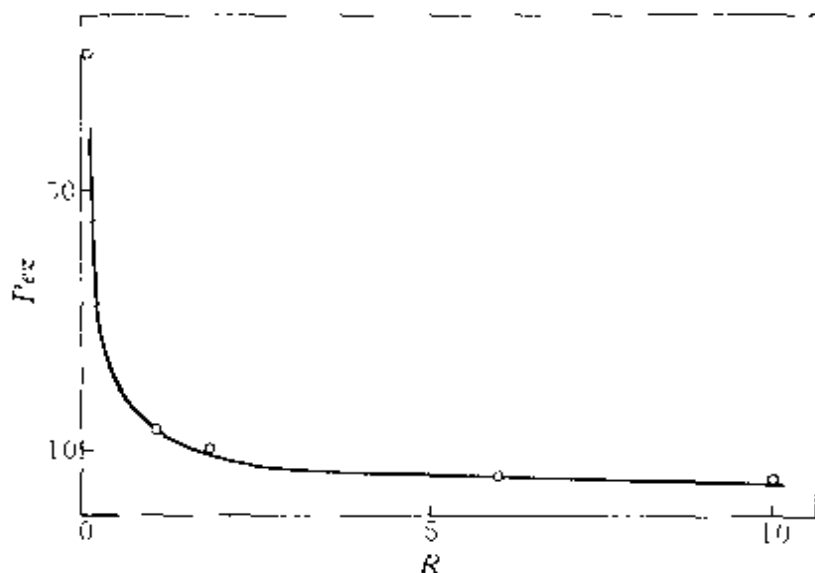


图 7-21 对带循环的管式反应器循环比 R 对 Pe_z 的影响

对于有一级反应时的定态系统的非理想流动, 同样可做微元体的某组分 S 的物料衡算有:

$$\frac{1}{Pe_z} \frac{d^2 \bar{C}_s}{dZ^2} - \frac{d\bar{C}_s}{dZ} - k_r \bar{t} \bar{C}_s = 0 \quad (7-96)$$

边界条件为:

$$Z=0, \frac{d\bar{C}_s}{dZ} = Pe_z (1 - \bar{C}_s) \quad (7-97)$$

$$Z=1, \frac{d\bar{C}_s}{dZ} = 0 \quad (7-98)$$

式 (7-96) 的解为:

$$\frac{C_s}{C_{s_0}} = \frac{4\alpha \exp\left(\frac{Pe z}{2}\right)}{(1+\alpha)^2 \exp\left(\frac{\alpha}{2} Pe z\right) - (1-\alpha)^2 \exp\left(-\frac{\alpha}{2} Pe z\right)} \quad (7-99)$$

$$\alpha = \sqrt{1 + \frac{4k_r \bar{t}}{Pe z}} \quad (7-100)$$

式中 k_r —— 一级不可逆反应速率常数；

C_{s_0} —— 入口处组分浓度；

\bar{t} —— 平均停留时间。

当 $Pe z > 100$ 时，表明实际反应器与理想活塞流偏差很小，停留时间分布曲线变得对称，则

$$\frac{C_s}{C_{s_0}} = \exp\left[-k_r \bar{t} + \frac{(k_r \bar{t})^2}{Pe z}\right] \quad (7-101)$$

在反应器体积相等，反应温度相同时，实际反应器与理想活塞流反应器出口组分浓度之比为：

$$\frac{C_{s_{*}}}{C_{s_{\#}}} = \exp\left[\frac{(k_r \bar{t})^2}{Pe z}\right] \quad (7-102)$$

【例 7.5】 对一闭式反应器，采用脉冲法测定反应器出口示踪剂浓度，表示在表 7D 中 t 、 $C(t)$ 两行，若在该生化反应器中进行某均相酶催化反应，其动力学可按一级动力学处理，并已知其反应速率常数 $k_r = 0.2 \text{ min}^{-1}$ 。

试用槽列模型和一维扩散模型求反应器出口底物转化率 X_s 为多少？

解 (1) 求模型参数 N 和 $Pe z$ ，将已知的和计算的有关数据列在表 7D 中。

表 7D 实验测定和计算数据

t/min	0	2	4	6	8	10	12	Σ
$C(t)/(\text{g/L})$	0	2	10	8	4	2	0	26
$tC(t)/(\text{g} \cdot \text{min}/\text{L})$	0	4	40	48	32	20	0	144
$t^2C(t)/(\text{g} \cdot \text{min}^2/\text{L})$	0	8	160	288	256	200	0	912

$$\bar{t} = \frac{\sum tC(t)}{\sum C(t)} = \frac{144}{26} = 5.54$$

$$\sigma_t^2 = \frac{\sum t^2 C(t)}{\sum C(t)} - \bar{t}^2 = \frac{912}{26} - (5.54)^2 = 4.39$$

$$\sigma_{\bar{t}}^2 = \frac{\sigma_t^2}{\bar{t}^2} = \frac{4.39}{(5.54)^2} = 0.143$$

$$N = \frac{1}{\sigma_{\bar{t}}^2} = \frac{1}{0.143} = 6.99 \approx 7.0$$

$$\sigma_{\bar{t}}^2 = \frac{2}{Pez} - \frac{2}{Pez^2} (1 - e^{-Pez})$$

$$0.143 = \frac{2}{Pez} - \frac{2}{Pez^2} (1 - e^{-Pez})$$

$$Pez \approx 13$$

(2) 求反应器出口底物转化率 X_s

槽列模型

$$\begin{aligned} X_s = 1 - \frac{C_s}{C_{s_0}} &= 1 - \frac{1}{\left(1 + k_r \frac{t}{N}\right)^N} = 1 - \frac{1}{\left(1 + 0.2 \frac{5.54}{7}\right)^7} \\ &= 1 - 0.358 = 0.642 \end{aligned}$$

一维扩散模型

$$\begin{aligned} \alpha &= \sqrt{1 + 4k_r \bar{t} \frac{1}{Pez}} = \sqrt{1 + 4 \times 0.2 \times 5.54 \frac{1}{13}} = 1.158 \\ X_s &= 1 - \frac{C_s}{C_{s_0}} \\ &= 1 - \frac{4\alpha \exp\left\{\frac{Pez}{2}\right\}}{(1 + \alpha)^2 \exp\left\{\frac{\alpha}{2} Pez\right\} + (1 - \alpha)^2 \exp\left\{-\frac{\alpha}{2} Pez\right\}} \end{aligned}$$

$$= 1 - \frac{4 \times 1.158 \exp\left\{\frac{13}{2}\right\}}{(1+1.158)^2 \exp\left\{\frac{1.158}{2} \times 13\right\} - (1-1.158)^2 \exp\left\{-\frac{1.158}{2} \times 13\right\}}$$

$$= 1 - 0.356$$

$$= 0.644$$

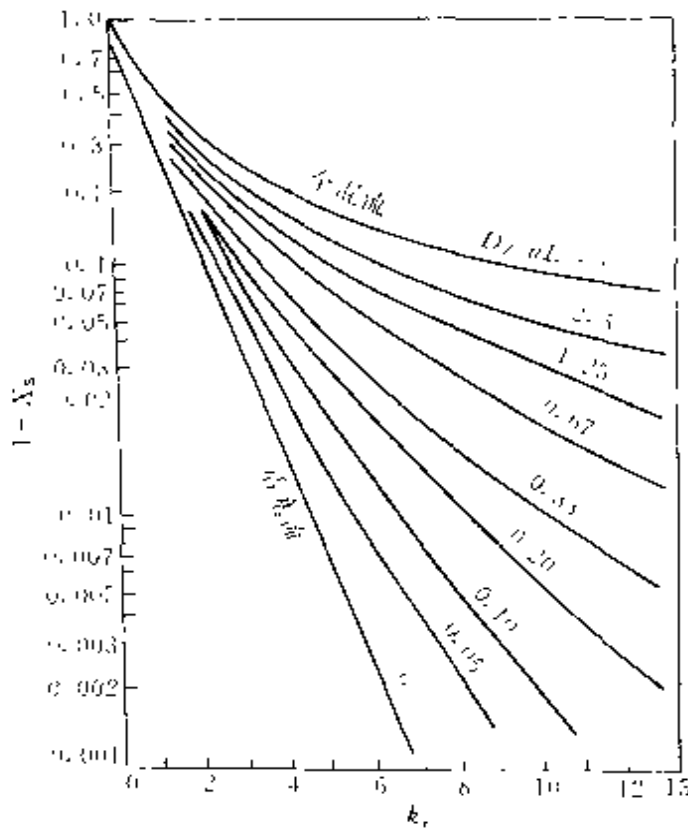


图 7-22 用轴向扩散模型计算
一级反应的转化率

图 7-22 表示了用一维扩散模型计算一级反应的转化率。

图 7-22 表示了不同 $k_1 \bar{t}$ 值下, 某组分未转化率 ($1 - X_s$) 与轴向扩散准数 $\frac{D_z}{uL}$ 的关系。从该图可以看出, 在同一 $k_1 \bar{t}$ 值下, $\frac{D_z}{uL}$ 愈大 (即 Pe_z 值愈小), 返混程度愈大, 其 $1 - X_s$ 值愈大, 则转化率 X_s 值愈小; 若相反, $\frac{D_z}{uL}$ 值小, 返混程度愈小, 则 X_s 值愈大。这说明, 非理想流动造成的结果, 对提高反应转化率不利。从图中还可以看出, 转化率

愈高, 非理想流动与理想流动的特性偏差愈大。

7.3.3 组合模型

对于许多实际反应器, 上述模型有时还不能令人满意地表述其流动状况, 为此, 提出多参数的种种组合模型。它是把真实反应器内的流动状况设想为若干种简单模型的组合, 譬如由活塞流、全混流、死区、短路和循环流等组合而成, 有的还加上错流, 时间滞后等因素构成多种模型。由于组合模型中各单独部分的停留时间分布函数 $E(t)$ 和 $F(t)$ 均已知, 因此各组合模型的有关函数亦可推导出来。

以机械搅拌槽式反应器为例，对体积较大的工业规模反应器，反应器内流体流动状况肯定是要偏离完全混合流动，因此必须考虑不完全混合的因素。

Cholette 考虑了对理想连续搅拌槽式反应器偏离的两种可能性：一是部分反应物料不与反应器内物料相混合的短路流；一是反应器内的死区。这些都是对反应无用的区域。剩余的反应体积内的物料则为全混流。因此这样建立的模型包括三个参数，即短路流与总流量之比、反应器中的死区和活区（即全混流区）的大小，因此组合模型又称多参数模型，或称为结构模型。具体模型如图 7-23 所示。

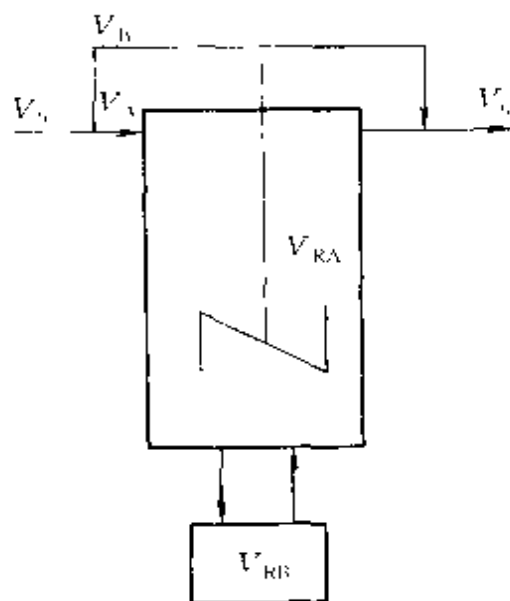


图 7-23 带有死区和短路的组合模型示意图

同样根据示踪物的物料平衡求出其停留时间分布。

同样根据示踪物的物料平衡求出其停留时间分布。

$$V_0 = V_A + V_B \quad (7-103)$$

$$V_R = V_{RA} + V_{RB} \quad (7-104)$$

$$V_{RA} \frac{dC_A(t)}{dt} = V_A C_{A(0)} - V_A C_{A(t)} \quad (7-105)$$

积分之得：

$$\frac{C_{A(t)}}{C_{A(0)}} = 1 - \exp\left(-\frac{V_A}{V_{RA}} t\right) \quad (7-106)$$

反应器出口的物料量为活性区反应器的物料量与短路的物料量之和，即为：

$$V_0 C(t) = V_A C_{A(t)} + V_B C_{(0)} \quad (7-107)$$

故 $F(t)$ 曲线服从下式：

$$F(t) = \frac{V_A}{V_0} \left[1 - \exp\left(-\frac{V_A}{V_{RA}} t\right) \right] + \frac{V_B}{V_0} \quad (7-108)$$

对式 (7-108) 取对数呈线性化通过作图可估算出 V_B 和 V_{RA} 值，这样可确定各部分体积和流量的数值。该模型可以用于模拟机械搅拌槽

中，搅拌桨类型、搅拌桨转数、内部构件及其排布的影响，以开发适用于大规模生产的反应设备。

7.4 非理想流动对细胞反应过程的影响

本节主要是应用一维扩散模型以描述管式连续灭菌装置、鼓泡塔式和气升式环流反应器为例，讨论非理想流动对某些生化反应过程的影响。

7.4.1 对连续灭菌过程的影响

连续灭菌工艺过程及其温度变化可参看图 6-36 和图 6-39。

在进行培养基的连续灭菌过程中，一般先将培养基加热到 130C ，再放入管式保温器中，在灭菌温度下维持一定时间，一般为 5min ，然后快速冷却送入反应器中。维持段是一关键步骤，必须维持一定温度和停留时间。如果在维持器中存在返混，各培养基停留时间不同，则有可能使一部分培养基超过规定的灭菌时间，使此部分培养基受到破坏，而又有一部分培养基由于其停留时间过短而达不到灭菌要求，因此应要求维持段灭菌时间尽可能相同。

在设计管式维持器时，根据规定的灭菌要求，如果培养基的流动为活塞流，则很容易求出所需灭菌时间，进而确定管内径和管长。但实际上，培养基在维持器内不可能呈活塞流流动。仅从其管内径向流体流速分布来看，若培养基处于滞流状态时，管内速度分布呈抛物线，管中心部位最大流速为平均流速的 2 倍。当培养基处于湍流时，中间最大流速为平均流速 1.22 倍。若在设计管式维持器时，以平均流速设计管长，势必会造成边缘部分培养基

的过热，为了较好地设计管长，可采用一维扩散模型进行模拟计算。

根据一维扩散模型的建立方法，结合微生物杂菌的受热死亡动力学，来建立在连续管式灭菌装置保温段中一微分管长的微生物杂菌的物料平衡，如图 7-24 所示。

在长度为 l 的灭菌管道内，微生物

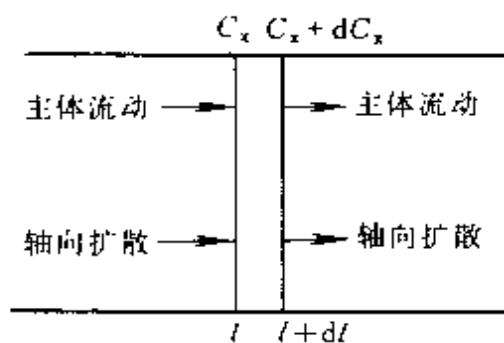


图 7-24 管式保温灭菌器的扩散模型

随主体流动和轴向扩散两种方式进入该微分段，并在该微分段内部分微生物热死亡，未死亡的微生物将随主体流动和轴向扩散离开该微分段。

其物料平衡关系为：

$$(\text{主体流动进入}) + (\text{轴向扩散进入}) - (\text{主体流动出来}) - (\text{轴向扩散出来}) = (\text{受热死亡}) \quad (7-109)$$

若流体流速为 u ，活菌浓度为 C_x ，管道的横截面积为 A ，微分段长度为 dl ，则有：

$$\text{流入} \quad uAC_x$$

$$\text{流出} \quad uA(C_x + dC_x)$$

$$\text{扩散进入} \quad -D_z A \frac{\partial C_x}{\partial l}$$

$$\text{扩散离开} \quad -D_z A \frac{\partial}{\partial l} \left(C_x + \frac{\partial C_x}{\partial l} dl \right)$$

$$\text{活菌的死亡} \quad k_d C_x A dl$$

$$\text{累积} \quad A \left(\frac{\partial C_x}{\partial t} \right) dl$$

当过程处于稳态时，可得到：

$$D_z \frac{d^2 C_x}{dl^2} - u \frac{dC_x}{dl} - k_d C_x = 0 \quad (7-110)$$

边界条件为：

$$l=0 \text{ 时} \quad -D_z \frac{dC_x}{dl} = u(C_{x_0} - C_x)$$

$$l=L \text{ 时} \quad \frac{dC_x}{dl} = 0$$

当实行无因次化时，式 (7-110) 变为：

$$\frac{1}{Pez} \frac{d^2 \bar{C}_x}{dZ^2} - \frac{d\bar{C}_x}{dZ} - k_{at} \bar{C}_x = 0 \quad (7-111)$$

式 (7-111) 的边界条件为：

$$Z=0 \text{ 时} \quad \frac{d\bar{C}_x}{dZ} = Pez(1 - \bar{C}_x)$$

$$Z=1 \text{ 时} \quad \frac{d\bar{C}_x}{dZ} = 0$$

式 (7-111) 的解为与式 (7-99) 相同的结果，即

$$\left(\frac{C_x}{C_{x_0}}\right)_{t=L} = \frac{N}{N_0} = \frac{4\alpha \exp\left\{\frac{Pez}{2}\right\}}{(1+\alpha)^2 \exp\left\{\frac{\alpha}{2} Pez\right\} + (1-\alpha)^2 \exp\left\{-\frac{\alpha}{2} Pez\right\}}$$

$$\alpha = \sqrt{1 - \frac{4k_d \bar{t}}{Pez}}$$

式中 k_d ——活菌的死亡速率常数；

C_x ——进入管式维持器入口处活菌的浓度；

C_{x_0} ——无因次活菌的浓度；

N_0 ——维持器入口处活菌数目；

N ——维持器出口处活菌数目；

\bar{t} ——平均停留时间。

根据式(7-99)和式(7-100)，可求出在不同 Pez 值下， N/N_0 与 $k_d \bar{t}$ 之间关系，见图 7-25。对于要求同样的 N/N_0 值，随着 Pez 值的减小，平均停留时间也要增长。如果维持时间保持一定，则随着 Pez 值的减小，即返混程度的增大，活菌残存比例将增加，例如，当 $\bar{t}=5s$ ， $k_d=10s^{-1}$ ，若为活塞流，则 $N/N_0=1.8 \times 10^{-22}$ 。

当 $Pez=200$ $N/N_0=1 \times 10^{-18}$

当 $Pez=100$ $N/N_0=1 \times 10^{-16}$

当 $Pez=50$ $N/N_0=2 \times 10^{-12}$

这表明，随着 Pez 值减少，返混程度增加，活菌残存率在增加，灭菌不彻底。

若培养基以活塞流通过保温维持灭菌段，则式(7-99)可简化为：

$$\left(\frac{C_x}{C_{x_0}}\right)_{t=L} = \exp(-k_d \bar{t}) \quad (7-112)$$

具体设计管式保温维持器，可按下述顺序进行：首先确定培养基的灭菌要求，即培养基中残存的活菌数（可取 0.001），根据 N/N_0 和 $Pez=1000$ ，由图 7-25 确定 $k_d \bar{t}$ ，在灭菌温度下 k_d 已知，由此可确定 \bar{t} 值。然后设管式保温维持器的内径，根据培养基的流量确定流速，进而决定管长 L 。

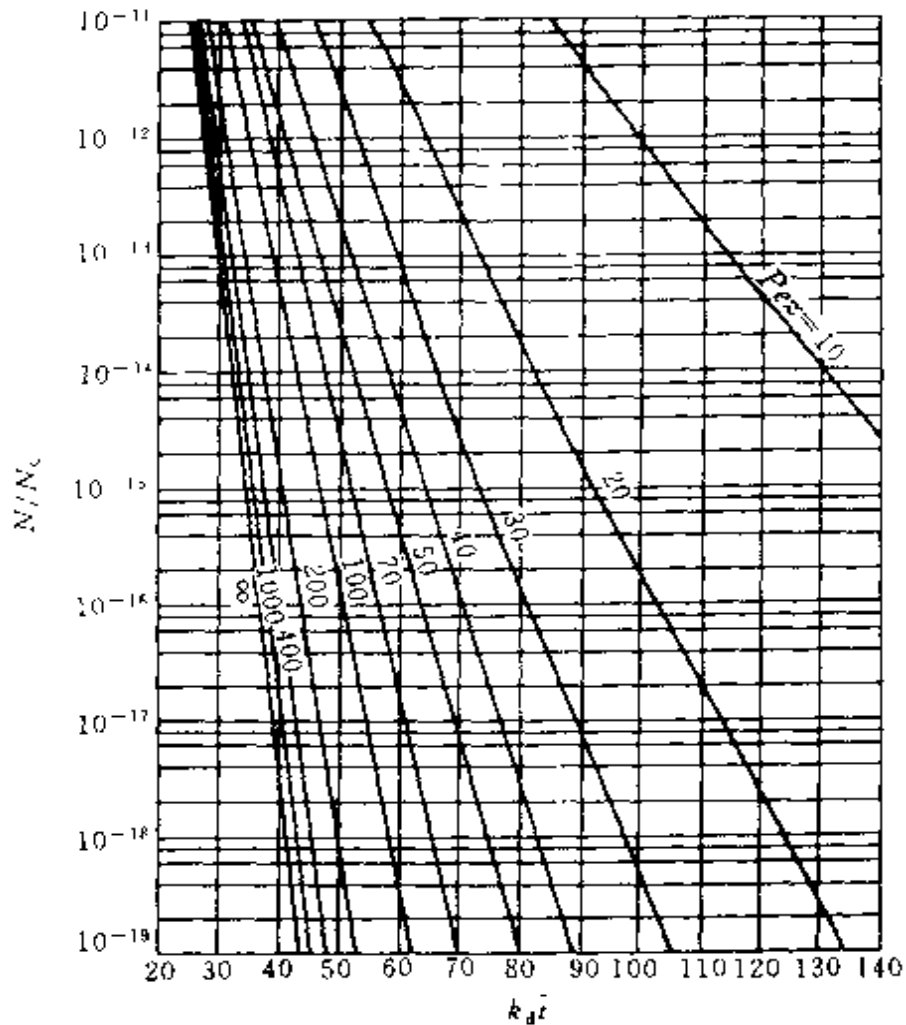


图 7-25 管式保温灭菌器 N/N_0 与 $k_d \bar{t}$ 的关系

最后进行校核。由 u 、 d 以及物料粘度 μ_1 ，密度 ρ_1 求出 Re ，并根据 Pe_z 与 Re 之间关系式 (7-93) 求出 Pe_z ，若 $Pe_z > 1000$ ，则所设计 d 、 L 可用，否则需改变管径，重新计算。

7.4.2 对鼓泡塔反应器内细胞生长的影响

鼓泡塔反应器可为半间歇半连续操作，也可为连续操作。当为半间歇半连续操作时，液相为间歇操作，而气相为连续操作。此时气相一般可按活塞流模型处理，而液相则为全混合流型。当鼓泡塔为完全连续操作时，气液可并流向上或者是气液相逆流。在连续操作时，若为均匀鼓泡区，气液相的流型均可近似做活塞流处理，当处于过渡流及非均匀鼓泡区时，气体及流体均产生返混，可按有返混的轴向扩散模型处理。该模型的质量衡算方程式为：

累积项 = 对流项 + 扩散项 + 传质项 ± 反应项

若以菌体浓度表示, 则为

$$\frac{\partial C_x}{\partial t} = -u \frac{\partial C_x}{\partial l} + D_L \frac{\partial^2 C_x}{\partial l^2} + k_L a (C_x^* - C_x) + R_x \quad (7-113)$$

式中 C_x — 菌体浓度;

u — 流体线速度;

D_L — 液相扩散系数;

$k_L a$ — 体积传质系数;

C_x^* — 菌体的饱和浓度;

R_x — 菌体生长速率;

t — 时间;

l — 塔的轴向距离。

① 若菌体的生长为非限制型, 即此时菌体的生长不受基质的限制, 符合 $\mu = \mu_{\max}$, $r_x = \mu_{\max} C_x$ 的生长动力学。

假定在稳态下操作, 且无界面传质, 并有 $C_{x_0} > 0$, 则对式 (7-113) 进行无因次化处理, 可得

$$\frac{1}{Pez} \frac{d^2 \bar{C}_x}{dZ^2} - \frac{d\bar{C}_x}{dZ} + Da \bar{C}_x = 0 \quad (7-114)$$

边界条件为

$$\begin{aligned} Z=0 \quad \bar{C}_x - \frac{1}{Pez} \frac{d\bar{C}_x}{dZ} &= 1 \\ Z=1 \quad \frac{d\bar{C}_x}{dZ} &= 0 \end{aligned}$$

式中 $Pez = \frac{uL}{D_L}$, Peclet 准数;

$Da = \mu_{\max} \frac{L}{u}$, Damköhler 准数;

$\bar{C}_x = \frac{C_x}{C_{x_0}}$;

$Z = \frac{l}{L}$ 。

式 (7-114) 的解如下:

当 $Pe_z > 4Da$ 时

$$\bar{C}_s = \frac{2 \exp\left\{\frac{Pe_z}{2} Z\right\} \left[\sinh \frac{q}{2} Pe_z (1-Z) + 2q \cosh \frac{q}{2} Pe_z (1-Z) \right]}{(1+q') \sinh \frac{q}{2} Pe_z + 2q \cosh \frac{q}{2} Pe_z} \quad (7-115)$$

式中 $q = (1 - 4Da/Pe_z)^{1/2}$

当 $Pe_z = 4Da$ 时

$$\bar{C}_s = \frac{1 + Pe_z(1-Z)/2}{1 + Pe_z/4} \exp\left\{\frac{Pe_z}{2} Z\right\} \quad (7-116)$$

当 $Pe_z < 4Da$ 时

$$\bar{C}_s = \frac{2 \exp\left\{\frac{Pe_z}{2} Z\right\} \left[\sinh \frac{Pe_z}{2} b (1-Z) + b \cosh \frac{Pe_z}{2} b (1-Z) \right]}{(1-b^2) \sinh \frac{Pe_z}{2} b + 2b \cosh \frac{Pe_z}{2} b} \quad (7-117)$$

式中 $b = (4Da/Pe_z - 1)^{1/2}$

式(7-114)的解如图7-26所示。图中分(I)、(II)、(III)三个区域。式

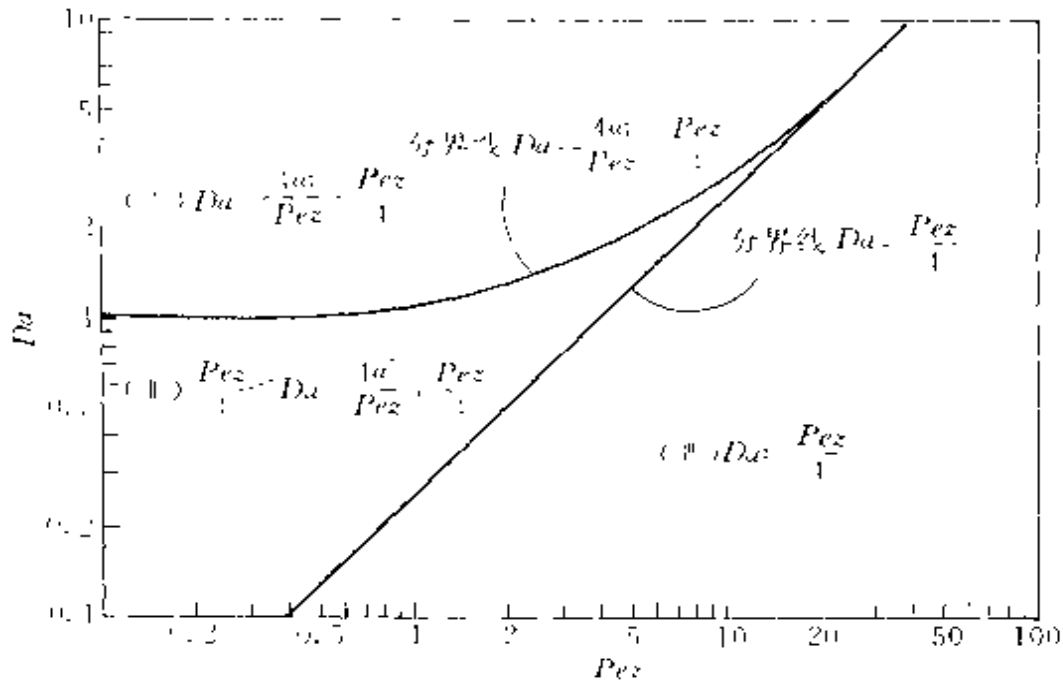


图 7-26 塔式反应器中非限制性生长的 Da - Pe_z 关系曲线

(7-115) 的解在区域 (II) 内; 式 (7-116) 的解为(I)、(III)区的分界线; 式 (7-117) 的解处于 (I) 区内, 但只有在下式成立时才适用。

$$\frac{Pez}{4} < Da < \frac{Pez}{4} + \frac{4\alpha_1^2}{Pez}$$

其中, α_1 系下式的最小正根。

$$\alpha \tan \alpha = Pez/4$$

图 7-26 中(I)区内不存在稳态下的解, 因在此区域内菌体生长速率快于流出, 形成菌体积累, 直至生长受到基质或氧的限制为止。

图 7-27 表示了在不同 Pez 值下, 反应器出口菌体浓度与 Da 值的关系。从图中可以看出, 当 Da 为常数, $Pez=0$ 时可得到最大菌体出口浓度。

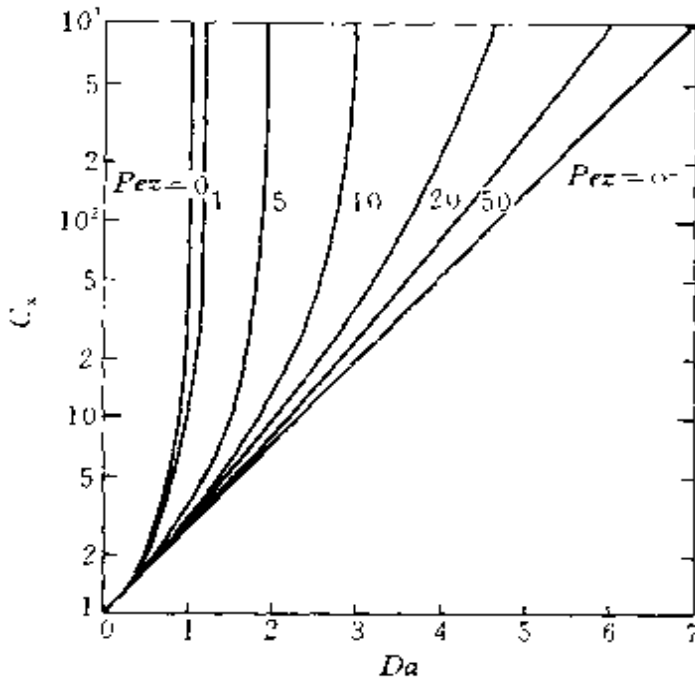


图 7-27 不同 Pez 值下, 出口菌体浓度 C_x 与 Da 值关系曲线

② 若菌体的生长为基质限制型, 此时菌体的比生长

速率与基质浓度有关, 即 $\mu = \mu_{max} \frac{C_s}{K_s + C_s}$ 。当处于稳态, 用一维扩散模型描述菌体和基质的质量平衡关系, 分别有

$$\frac{1}{Pez} \frac{d^2 \bar{C}_x}{dZ^2} - \frac{d\bar{C}_x}{dZ} + Da \frac{\bar{C}_s}{K + \bar{C}_s} \bar{C}_x = 0 \tag{7-118}$$

$$\frac{1}{Pez} \frac{d^2 \bar{C}_s}{dZ^2} - \frac{d\bar{C}_s}{dZ} - Da \frac{\bar{C}_s}{K + \bar{C}_s} \frac{\bar{C}_x}{Y_{x/s}} = 0 \tag{7-119}$$

边界条件分别为

$$Z=0 \text{ 时} \quad \frac{1}{Pez} \frac{d\bar{C}_x}{dZ} = \bar{C}_{x_0} - \bar{C}_x$$

$$\frac{1}{Pez} \frac{d\bar{C}_s}{dZ} = \bar{C}_{s_0} - \bar{C}_s$$

$$Z=1 \text{ 时} \quad \frac{d\bar{C}_x}{dZ}=0 \quad \frac{dC_s}{dZ}=0$$

式中 $C_s = C_s/C_{s_0}$, $\bar{C}_{s_0} = C_{s_0}/C_{s_0} = 1$, $K = K_s/C_{s_0}$, $\bar{C}_x = C_x/C_{s_0} Y_{x/s}$, $C_{x_0} = C_{x_0}/C_{s_0} Y_{x/s}$

式 (7-118)、式 (7-119) 只能数值求解。

当 $C_{x_0} = 0$ 、 $K = 0.5$ 时，借助计算机求得稳态下出口基质浓度 \bar{C}_{s_f} 与 Pe_z 的关系，如图 7-28 所示。从图中可以看出，当 $Da > 3$ 时，在对应的 Pe_z 准数下可得最小的 \bar{C}_{s_f} 值，即基质的转化率可达到最大。当 Pe_z 准数进一步增大时，菌体浓度下降，基质浓度升高，基质转化率下降。例如，当 $Da = 3$ ， $Pe_z \geq 6$ 时，会发生菌体的洗出， $\bar{C}_{s_f} = 1$ 。因此应有一最佳的 Pe_z 准数，即 $Pe_{z,opt}$ ，此时基质转化率最高。

从上述讨论可以看出：

当细胞的生长不受基质限制时，鼓泡反应器内流体的轴向返混有利于细胞的生长，因为返混程度愈大，即 Pe_z 值愈小，反应器内细胞浓度愈高、细胞生长速率愈大；当细胞的生长受到基质浓度的限制时，为了使基质转化程度达到最大，存在一最适宜 Pe_z 值，即应存在一最佳返混状态，因为 Pe_z 过大，返混程度过小，使反应器内细胞浓度过低，影响了基质消耗速率，使基质转化率下降，若 Pe_z 过小，返混程度过大，虽然可使细胞浓度提高，但由于基质浓度过低，基质消耗速率与细胞生长速率均下降。

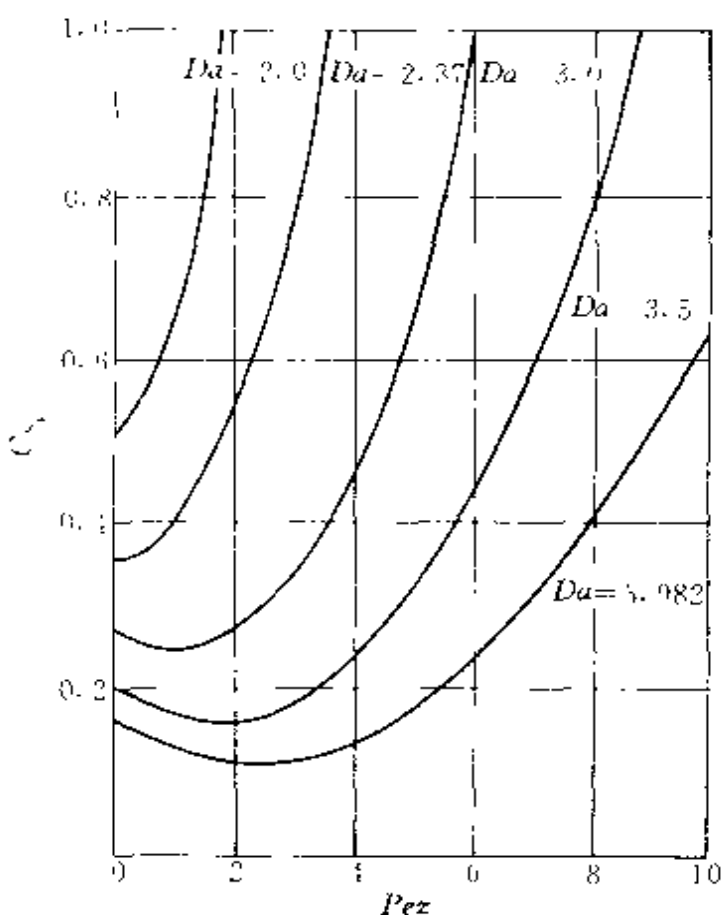


图 7-28 稳态下无因次出口基质浓度 \bar{C}_{s_f} 与 Pe_z 关系曲线

7.4.3 对气升式反应器内细胞生长的影响

气升式反应器中一般存在两种返混，一种是以以前讨论过的轴向返混，这是因为流体流过反应器时，由于在反应器径向上具有不同的速度分布、旋涡、死区以及扩散等所造成的返混；另一种是由于不断的循环流动所造成的后一次循环对前一次循环的返混效应。通过对环流反应器进行脉冲加入示踪物的实验，结果发现，随着循环次数的增加，反应器内返混程度增加，直至达到全混流。当流体循环次数 ≥ 20 时，环流反应器内流体流动模型可用全混流模型处理。

(1) 菌体的生长为非限制型。假设满足下列假设条件：反应器内用一维扩散模型描述；发酵液在环流管内的停留时间可以忽略不计；气相均匀分布于反应器内；在环流管内无气相存在。

在稳态条件下，对环流反应器取一微元体，做细胞物料平衡，可得到下式：

$$\frac{1}{Pez_R} \frac{d^2 \bar{C}_x}{dZ^2} - \frac{d\bar{C}_x}{dZ} + Da_R \bar{C}_x = 0 \quad (7-120)$$

定义 $R = \frac{V_R}{V} = \frac{\text{发酵液循环速率}}{\text{加料速率}} = \text{循环比}$
则

$$Pez_R = Pez(1+R), \text{修正 Peclet 准数} \quad (7-121)$$

$$Da_R = Da/(1+R), \text{修正 Damköhler 准数} \quad (7-122)$$

当 $C_{x_0} > 0$ 时，式 (7-120) 可得解析解，不同条件下所得解表示在图 7-29 中。

当 $Da_R < Pez_R/4$ 时，其解为图中 AA 直线右下方；当 $Da_R = Pez_R/4$ 时，其解为 AA 直线本身；当 $Da_R > Pez_R/4$ 时，表示在 AA 线的左上方。从图中可以看出，当循环比 R 恒定时，在其 Da_R 所达到的上限值以下是能得到方程 (7-120) 的有意义的解（即 $\bar{C}_x > 0$ ），并且随着 R 值的增加，有意义的解（ $\bar{C}_x > 0$ ）和无意义的解（ $\bar{C}_x < 0$ ）的界限在下移。

(2) 菌体生长为基质限制型。此时动力学用 Monod 方程描述，气升塔内仍用一维扩散模型：

$$\frac{1}{Pez_R} \frac{d^2 \bar{C}_x}{dZ^2} - \frac{d\bar{C}_x}{dZ} + Da_R \frac{\bar{C}_x(1-\bar{C}_x)}{K+1-\bar{C}_x} = 0 \quad (7-123)$$

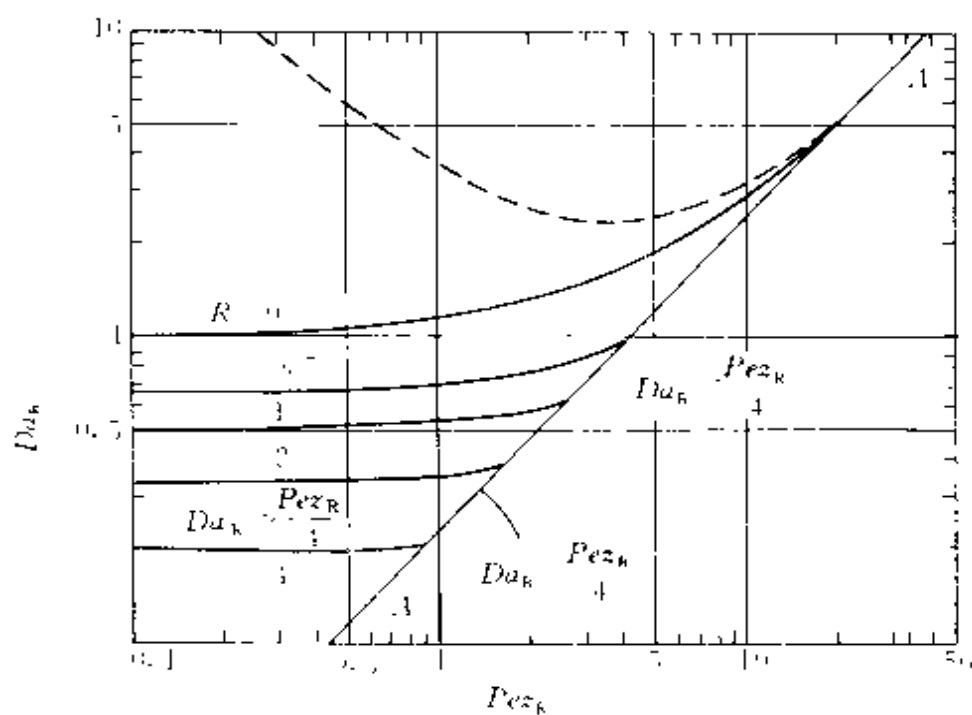


图 7-29 方程 (7-119) 的解

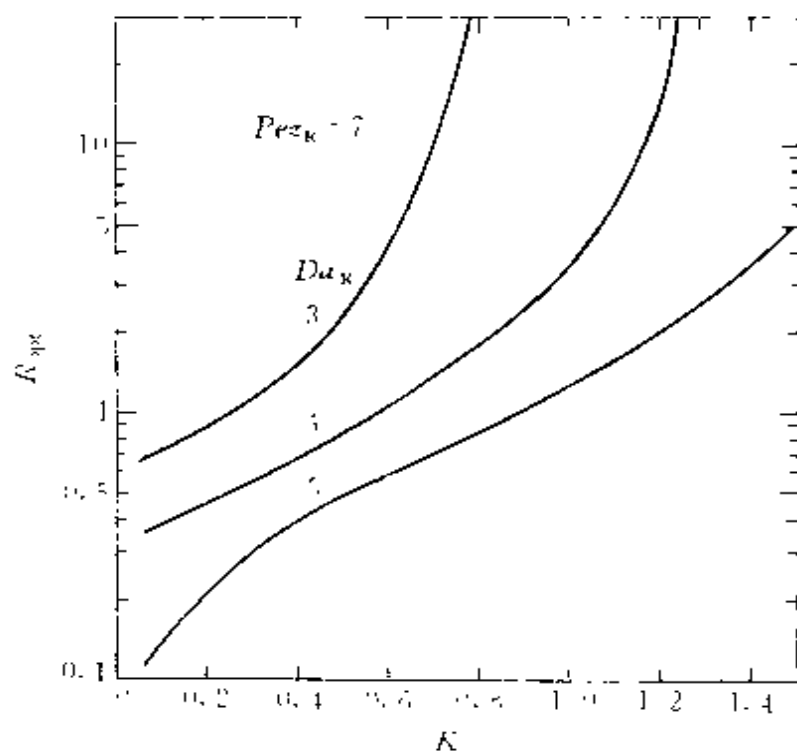


图 7-30 在 Pe_{zR} 一定时, Da_R 、 K 、 R_{opt} 之间的关系曲线

式中 K —— 无因次 Monod 常数 (K_s/C_s)。

式 (7-123) 只能用数值法求解。

为了使基质转化率能达到最大, 反应过程存在一最佳循环比 R_{opt} , 它与无因次 Monod 常数 K (K_s/C_s)、 Pe_{zR} 、 Da_R 等参数有关。图 7-30 为在 Pe_{zR} 一定情况下, R_{opt} 与 K 和 Da_R 的关系图。从图中可以看出, 在 Pe_{zR} 和 Da_R 一定情况下, 随着 K 值增大, 最佳循环比 R_{opt} 亦增大; 在 Pe_{zR} 和 K 一定情况下, 随着 Da_R 增大, R_{opt} 减小。模拟结果还表明, 当 K 和 Da_R 一定时, 随着 Pe_{zR} 增大, R_{opt} 亦增加。

7.5 流体的混合特性

在前一节中, 所讨论的流体的流动模型是仅仅建立在流体在反应器内的停留时间分布的基础之上的, 并把具有不同停留时间的物料粒子之间的混合称为返混, 也有人将这种混合称之为宏观混合, 它由停留时间分布来表征。同时, 还存在着另外一种混合, 是用于描述物料在反应器内流动时的聚集状态。这种混合又称之为微观混合。

宏观混合是以体积单元水平来分布的, 该体积单元虽然与反应器体积相比很小, 但却含有足够多的细胞和基质的分子。微观混合则是以分子水平 (或细胞水平) 来进行物料之间交换的。前者主要是由于对流和湍流所引起的; 后者则为分子扩散。

流动的物质根据其性质而形成某种特殊的聚集状态, 此状态有两个极端, 分别称之为宏观流体和微观流体。

所谓宏观流体, 系指流体中分子聚集成团块流体, 这些流体粒子之间不发生任何物质交换, 各个粒子都是孤立的、各不相干的, 它们之间是不产生混合的。这种状态又称为完全离析的状态。在实际中, 不聚结的液滴、固体粒子以及非常稠的液体等均可认为是宏观流体。

所谓微观流体系指流体中的分子不与邻近的分子附着而独立流动, 此时物料粒子之间所发生的混合是在分子尺度上进行的, 如果反应器中完全不存在宏观流体时, 称此种状态为微观混合达到最大, 或称最大微观混合。这说明这种微观混合有两种极端状态, 一种是不存在微观混合, 完全离析, 相应流体称为宏观流体; 另一种是完全不存

在离析，达到最大微观混合，相应的流体称为微观流体。介于上述两者之间的称为部分离析或不完全微观混合，即两者并存于体系之中。

对于多相体系，固相物料均表现为宏观流体，而气体与液体则根据其接触方式可以是宏观流体，也可以是微观流体，例如在鼓泡式反应器中，气泡在液体中，则气体可视为宏观流体，液体为微观流体。而在喷雾式反应器中液滴在气体中，则气体为微观流体而液体为宏观流体。

对于单相体系，一般介于宏观流体与微观流体之间，这取决于反应时间 t_r 与流体中邻近微元体相互混合的特性时间 t_m 之比值。当反应速率较慢时，即 $t_r \gg t_m$ ，则按微观流体处理可以达到较好的近似，前面讨论的许多情况都属于此类。当反应速率非常快时，即 $t_r \ll t_m$ ，则为中间状况，处理比较困难。

7.5.1 微观混合特性

对微观混合，进行定量描述有一定的困难。采用的方法是定义一混合时间 t_m 和混合程度 m 。

对液相体系，其混合程度定义为：

$$m = \frac{C_s - C_{s_0}}{C_{s_\infty} - C_{s_0}} \quad (7-124)$$

式中 C_s - 时间为 t_m 时的浓度；

C_{s_0} - 初始浓度；

C_{s_∞} - 时间趋于 ∞ 时的浓度。

而混合时间 t_m 则为达到一定混合程度 m 时所需要的时间。

从理论上分析，要达到完全的混合，时间需要无限长。从实际应用考虑，采用下述方法来解决。如图 7-31 所示。

在一循环流中，当 $t=0$ 时，脉中加入酸性示踪物，同时用 pH 电极测定 pH 值变化，经过每一循环而进行的混合，使 pH 变化曲线逐渐变得平缓，则混合程度可由下式求出：

$$m = \frac{C_{(\infty)} - 0.5\Delta C}{C_{(\infty)}} \times 100\% \quad (7-125)$$

上式各符号参看图 7-31。图中 t_c 为物料每一循环所需时间， t_m 为达到一定混合程度所需要的时间。并且成为混合过程的特征参数之一。

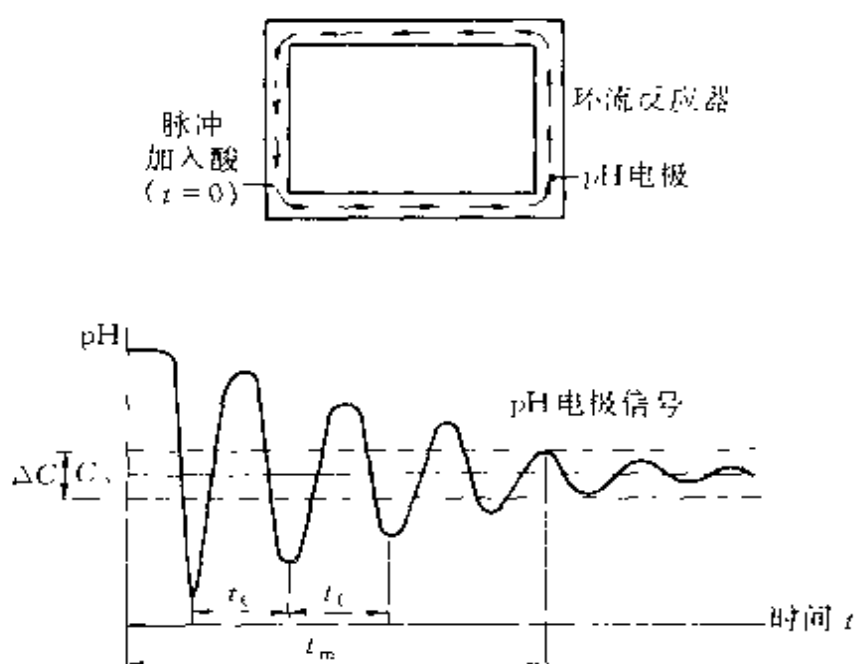


图 7-31 混合程度与混合时间关系曲线

对搅拌槽式反应器，均相体系的混合时间可用下式计算：

$$t_m = \frac{c}{n} \frac{\left(\frac{D}{d_i}\right)^4 \left(\frac{H_L}{D}\right)}{\left[N_p \left(\frac{H_S}{d_i}\right)^2\right]^{0.33}} \quad (7-126)$$

式中 N_p ——功率准数；
 H_S ——桨叶高度；
 c ——参数。

当 $Re > 10000$ 时，对均相体系，实验测定关系式表示为：

$$t_m = \frac{3}{n} \frac{\left(\frac{D}{d_i}\right)^3}{N_p^{0.33}} \quad (7-127)$$

对气液两相体系，液体混合时间可用下式求出：

$$t_m = \frac{6}{n} \frac{\left(\frac{D}{d_i}\right)^4}{N_p^{0.33}} \quad (Re > 10000) \quad (7-128)$$

对鼓泡塔式反应器，若处于非均匀鼓泡流，且假设 $t_m = 4t_c$ 时：

$$t_m = 11 \left[\frac{H_L}{D} \right] (g \mu_s D^{-2})^{-0.33} \quad (7-129)$$

对气升式反应器，计算比较复杂。先求出液体的循环速度后，确定 t_c 值，当混合程度达到 95% 时的混合时间为：

$$t_m = (4 \sim 7)t_c \quad (7-130)$$

7.5.2 宏观混合特性

对于宏观混合，由于流体粒子之间不存在任何形式的物质交换，流体粒子就像一个有边界的个体，从反应器的进口向出口运动，也就像一个小间歇反应器一样进行反应，其反应程度取决于该粒子在反应器内的停留时间。

假定进口流体中基质浓度为 C_{S_0} ，当反应时间为 t 时，其浓度为 $C_S(t)$ 。根据停留时间分布可知，停留时间在 t 到 $t+dt$ 间的流体粒子所占的分率为 $E(t)dt$ ，则该部分流体对反应器出口流体中基质的浓度 C_S 的贡献应为 $C_S(t)E(t)dt$ ，将所有这些粒子的贡献相加，即得到反应器出口处基质的平均浓度 \bar{C}_S ，即

$$\bar{C}_S = \int_0^{\infty} C_S(t)E(t)dt \quad (7-131)$$

这里用 \bar{C}_S 表示基质出口浓度的平均值，是由于不同停留时间的流体粒子其出口 $C_S(t)$ 值是不同的，而反应器出口值实质上是一平均值。式中 $C_S(t)$ 是基质浓度随时间 t 变化的关系式，即为动力学方程式，也就是基质在间歇操作的反应器内所表现的动力学行为。因此，只要知道反应的动力学方程和其停留时间分布，便可预测反应的结果。这也是一种描述非理想流动模型，可称之为凝析流模型，又称为停留时间分布模型。若以转化率表示可写为：

$$\bar{X}_S = \int_0^{\infty} X_S(t)E(t)dt \quad (7-132)$$

混合状态的不同，将对反应产生不同的影响。设浓度分别为 C_{S_1} 和 C_{S_2} 而体积相等的两个流体粒子，在其中进行 n 级不可逆反应。如果这两个粒子是完全离析的，则其各自的反应速率应为 $r_{S_1} = k_r C_{S_1}^n$ 及 $r_{S_2} = k_r C_{S_2}^n$ ，其平均反应速率则为 $r_S = \frac{1}{2}(r_{S_1} + r_{S_2}) = \frac{k_r}{2}(C_{S_1}^n + C_{S_2}^n)$ 。

假如这两个粒子之间存在微观混合，且混合程度达到最大，则混合后 S 的浓度为 $\frac{1}{2}(C_{S_1} + C_{S_2})$ ，此时平均反应速率应为：

$$r'_s = k_r \left[(C_{S_1} + C_{S_2}) / 2 \right]^n$$

这说明了微观混合程度不同将会对化学反应的速率产生影响，完全离析时的平均反应速率为 r_s ，而微观混合为最大时则为 r'_s ，两者孰大，与 n 值有关，对一级反应，显然 $r_s = r'_s$ 。若 $n > 1$ ， r_s 与 C_s 的关系曲线为凹线， $n < 1$ 时则为凸曲线，如图 7-32 所示。由该图可见，当 $n > 1$ 时，完全微观混合下平均反应速率 r'_s 相应于 B 点的纵坐标，而完全离析时的平均反应速率等于 D 点的纵坐标。因此，当 $n > 1$ 时， $r_s > r'_s$ ，此时由于微观混合的存在而使平均反应速率下降。而当 $n < 1$ 时，同样进行分析可知 $r_s < r'_s$ ，即微观混合的存在使平均反应速率加快。对我们所讨论的生化反应，基本上都属于 $n < 1$ 的反应，微观混合的存在显然是有利的。

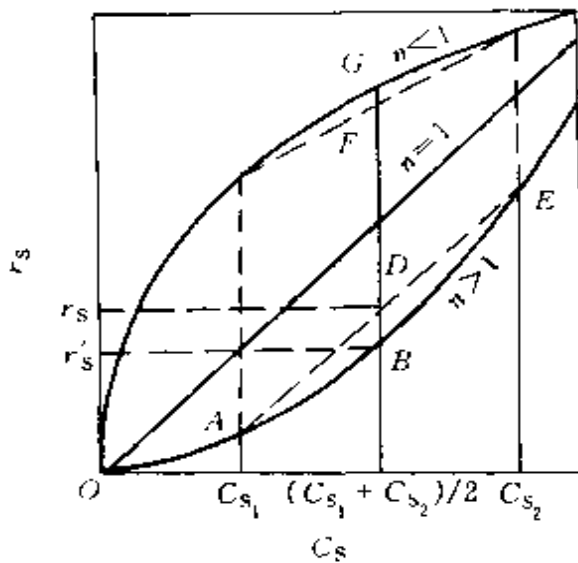


图 7-32 流体混合对反应速率的影响

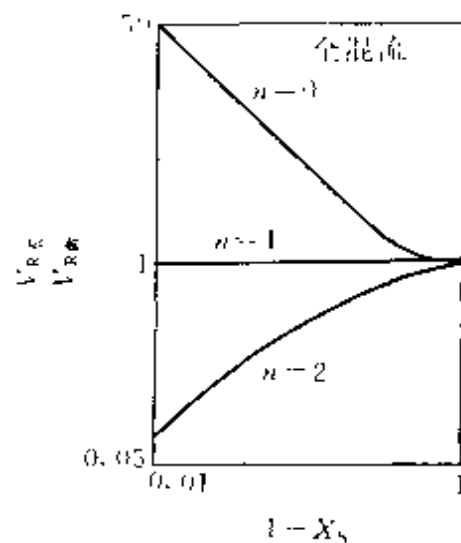


图 7-33 混合程度对不同动力学的影响

上面讨论的是流体混合状况对反应速率的影响。现在再考察流体混合对反应器工况的影响。对间歇式操作反应器，由于任何时刻下，间歇反应器中所有流体粒子均具有相同的停留时间，组成亦相同，因此微观混合的程度不应影响反应器的工况。对活塞流反应器，因为同一

截面上所有流体粒子的停留时间相同，组成自然也相同，所以微观混合程度对活塞流反应器工况不产生影响。全混流反应器则与上述两种反应器有很大的不同，由于流体粒子的停留时间不同，其组成也就不同，除一级反应以外，微观混合的程度将影响反应器的工况，这种影响随着停留时间分布的不同而不同，返混程度越严重，微观混合程度的影响越大。图 7-33 表示不同反应级数 n 时，全混流反应器中混合程度对其影响。

流体混合过程中，还有一个问题是早混合或晚混合的问题。有两个反应系统，一是 CPFRR 在前，CSTR 在后；另一个是 CSTR 在前，CPFRR 在后，如图 7-34 所示，两者的停留时间分布也是一样的，图 7-35 为其示意图。如果这两个系统的微观混合程度也相同，那么在相同的平均停留时间和反应温度下进行相同的反应，两者的反应结果是否也相同呢？结果表明，除一级反应外，两者的转化率是不一样的，其原因是混合早晚问题。系统 (a) 是晚混合，系统 (b) 是早混合。前者是在浓度水平低的情况下进行混合，而后者则是在高浓度水平下的混合，因此虽然混合程度相同，但由于混合的浓度水平不同，反应速率的变化自然不一样，结果两者的最终转化率也就不同。混合的早晚，实质上是混合时浓度水平的高低。

通过上述讨论，可以明确下述几点。

① 对线性反应过程，即一级反应，其反应结果仅为反应动力学与

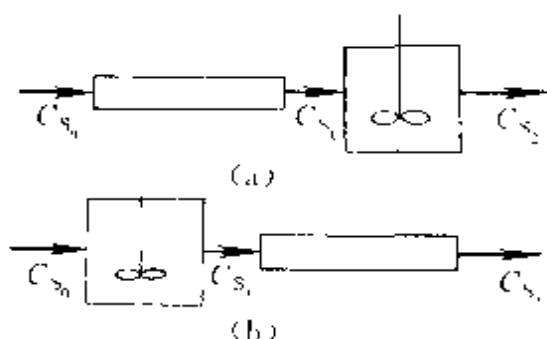


图 7-34 活塞流反应器和全混流反应器的串联

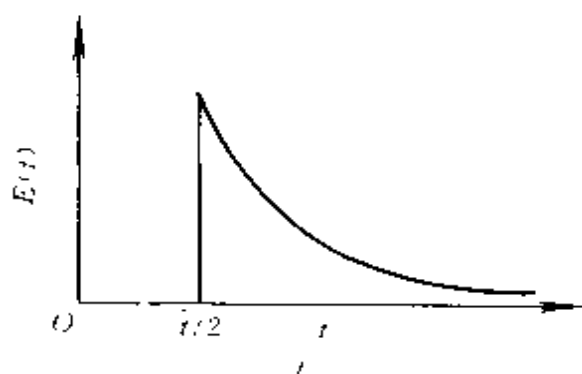


图 7-35 活塞流系统与全混流系统串联时的停留时间分布

停留时间分布的函数，它与流体的混合程度及混合迟早无关。

② 对非线性反应过程，即反应级数 $n \neq 1$ 的反应，其反应结果不仅和动力学及停留时间分布有关，而且也 and 流体的混合程度有关。并且对微观混合只能作定性分析而无法定量表达。但对完全离析的宏观流体，可利用式 (7-132) 计算其反应结果。

③ 在 CPFBR 中，微观混合对反应也无影响，因为在 CPFBR 中，该种混合只能是停留时间相同的物料之间的混合，而不影响反应的总结果。

④ 返混程度愈大，流体的微观混合对反应的影响就愈大。因此，对 CSTR，微观流体和宏观流体的反应结果就不相同（除一级反应外）。

⑤ 反应过程转化率低时，流体的微观混合影响就小。相反转化率高时，微观混合的影响程度也随之增大。

⑥ 当微观混合有利于反应过程时，如 $n < 1$ 的反应，一般可使反应物在进入反应器之前先进行预混合，以求尽快达到分子尺度上的均匀。

总之，流动反应器的工况不仅与所进行的反应的动力学及停留时间分布有关，而且还与流体的混合有关，这包括流体的微观混合的程度和混合的早晚两个方面。因此，停留时间分布、物料的微观混合程度和混合早晚是影响流动反应器的三个重要工程因素。

【例 7.6】 假设某一反应 $S \rightarrow P$ ，该反应动力学为

$$r_s = k_r C_s \quad [\text{mol}/(\text{L} \cdot \text{s})]$$

已知该反应在 CPFBR 中进行， $V_R = 2\text{L}$ ， $V_0 = 0.05\text{L/s}$ ， $k_r = 0.003\text{s}^{-1}$ ，试用凝析流模型求其出口转化率 X_s 。

解 根据式 (7-132)

$$\bar{X}_s = \int_0^{\infty} X_s(t) E(t) dt$$

因为 $X_s(t)$ 系指在 BSTR 中 S 的反应动力学，故有

$$X_s(t) = 1 - e^{-k_r t}$$

又对 CPFBR， $E(t) = \delta(t - t_0) = \delta(t - \bar{t})$

$$\bar{t} = \frac{V_R}{V_0} = \frac{2}{0.05} = 40\text{s}$$

$$X_s(t) = 1 - e^{-0.0031t}$$

$$\begin{aligned} \text{故} \quad \bar{X}_s &= \int_0^{\infty} (1 - e^{-0.0031t}) \delta(t - 40) dt \\ &= 1 - e^{-0.0031 \times 40} \\ &= 1 - 0.89 = 0.11 \end{aligned}$$

7.6 生化反应器的放大

生化反应器的放大是指如何将实验室开发的小型反应器放大到工业规模的大型反应器。

反应器的放大是生物技术开发过程中的重要组成部分，也是生物技术成果实现产业化的关键之一。

根据目前的发展状况，生化反应器的放大方法主要有：①经验放大法；②因次分析法；③时间常数法；④数学模拟法。

7.6.1 经验放大法

它是依靠对已有装置的操作经验所建立起来的以认识为主而进行的放大方法，这些认识多半是定性的，仅有一些简单的、粗糙的定量概念。由于该法对事物的机理缺少透彻的了解，因而放大比例一般较小。并且此法不够精确。但是对于目前还难于进行理论解析的领域，还要依靠经验放大法。对生化反应器，到目前为止应用较多的方法也是根据经验和实用的原则进行反应器的放大与设计。例如，根据 P/V 、 $k_L a$ 、 n 、 P_{O_2} 和 u_g 相等的原则进行放大。表 7-1 列出了在欧洲的发酵工业进行搅拌罐和鼓泡塔放大时常用的放大判据及其所占的比例。

表 7-1 搅拌罐与鼓泡塔的放大判据及其所占比例

放大判据	比例/%	放大判据	比例/%
P/V —常数	30	u_g —常数	30
$k_L a$ —常数	30	P_{O_2} —常数	30

下面重点讨论机械搅拌罐反应器的经验放大方法。

(1) 几何相似放大。在反应器的放大中，放大倍数实际上就是指反应器的体积所增加的倍数，即放大倍数 $m = V_2/V_1$ (下标 1 为模型罐，2 为生产罐)。若要两者几何相似，则应有

$$\frac{H_1}{D_1} = \frac{H_2}{D_2} = A = \text{常数} \quad (7-133)$$

因此
$$\frac{V_2}{V_1} = \left(\frac{D_2}{D_1} \right)^3 = m \quad (7-134)$$

所以
$$\frac{H_2}{H_1} = m^{1/3} \quad \frac{D_2}{D_1} = m^{1/3} \quad (7-135)$$

式中 H — 高度；

D — 直径；

V — 体积。

若按几何相似放大法，当体积增加 10 倍时，则其直径和高度均放大 $10^{1/3}$ 倍。

(2) 恒定等体积功率放大。以单位培养液体积所消耗的功率相等为基准进行放大，即

$$\frac{p}{V_1} = \text{常数} \quad (7-136)$$

对不通气搅拌，由于

$$p \propto n^3 d^5, \quad V_1 \propto D^3 \propto d^3$$

因此
$$\frac{p}{V_1} \propto n^3 d^2$$

所以
$$n_2 = n_1 \left(\frac{d_1}{d_2} \right)^{2/3} \quad (7-137)$$

$$p_2 = p_1 \left(\frac{d_2}{d_1} \right)^3 \quad (7-138)$$

式中 p — 功率；

n — 转数；

d — 搅拌桨直径；

V_L — 发酵液体积。

从上式来看，放大后转数下降，消耗功率增加。

若以单位培养液体积所消耗的通气功率相等的原则进行放大，则应有

$$\left(\frac{p_g}{V_L} \right)_2 = \left(\frac{p_g}{V_L} \right)_1 \quad (7-139)$$

因为

$$\frac{P_g}{V_L} \propto \frac{n^{1.75} d^{2.46}}{u_g^{0.752}}$$

故

$$n_2 = n_1 \left(\frac{d_1}{d_2} \right)^{0.75} \left(\frac{u_{g2}}{u_{g1}} \right)^{0.08} \quad (7-140)$$

$$P_{g2} = P_{g1} \left(\frac{d_2}{d_1} \right)^{2.77} \left(\frac{u_{g2}}{u_{g1}} \right)^{0.24} \quad (7-141)$$

表 7-2 表示了上述放大过程中各参数的相互关系, 反应器从 80L 放大到 10000L, 涉及到的参数有输入功率 P , 单位体积输入功率 F/V_L , 搅拌转数 n , 搅拌桨直径 d_i , 搅拌桨泵入速率 F 单位体积泵入速率 F/V_L (液体循环时间)、最大剪切速率 nd_i 和雷诺数 Re ($Re = nd_i^2 \rho / \mu$)。

表 7-2 放大参数之间的关系

放大判据	符号	小发酵罐 80L	工业发酵罐 10000L			
			恒定 $\frac{P}{V_L}$	恒定 n	恒定 nd_i	恒定 Re
输入功率	P	1.0	125	3125	25	0.2
单位体积功率	$\frac{P}{V_L}$	1.0	1.0	25	0.2	0.0016
搅拌转数	n	1.0	0.34	1.0	0.2	0.04
搅拌桨直径	d_i	1.0	5.0	5.0	5.0	5.0
搅拌桨泵入速率	F	1.0	42.5	125	25	5.0
单位体积泵入速率	$\frac{F}{V_L}$	1.0	0.34	1.0	0.2	0.04
最大剪切速率	nd_i	1.0	1.7	5.0	1.0	0.2
雷诺数	$nd_i^2 \rho / \mu$	1.0	8.5	25.0	5.0	1.0

从表 7-2 可以看出, 采用不同的放大标准, 得到的结果有很大的差异。而且放大后, 工业发酵罐与实验反应器内的环境差别也是很大的。

(3) 以单位培养液体积的空气流量相同的原理进行放大。发酵过程中的空气流量有两种表示方法, 一是以单位培养液体积在单位时间内通入的空气量 VVM (以标准状态计) 来表示, 即

$$VVM = \frac{Q_0}{V_L} [\text{m}^3 / (\text{m}^3 \cdot \text{min})] \quad (7-142)$$

另一种是以操作状态下空气的线速度 u_g 来表示, 其单位是 m/h, 两者的换算关系为

$$u_g = \frac{Q_0(60)(273+t)(9.81 \times 10^4)}{273 \frac{\pi}{4} D^2 p_L} \\ = \frac{27465.6(VVM)(V_L)(273+t)}{p_L D^2} \text{ (m/h)} \quad (7-143)$$

$$Q_0 = \frac{u_g p_L D^2}{27465.6(273+t)} \text{ (m}^3\text{/min)} \quad (7-144)$$

$$VVM = \frac{u_g p_L D^2}{27465.6(V_L)(273+t)} [\text{m}^3/(\text{m}^3 \cdot \text{min})] \quad (7-145)$$

式中 D — 罐径, m;

t — 罐温, $^{\circ}\text{C}$;

V_L — 发酵液体积, m^3 ;

p_L — 液柱平均绝对压力, Pa。

当采用 $(VVM)_2 = (VVM)_1$ 进行放大时, 根据式 (7-143) 和式 (7-145):

$$u_{g2} \propto \frac{(VVM)V_L}{p_L D^2} \propto \frac{(VVM)D}{p_L} \quad (7-146)$$

因此
$$\frac{u_{g2}}{u_{g1}} = \frac{D_2}{D_1} = \frac{p_{L1}}{p_{L2}} \quad (7-147)$$

(4) 以空气线速度相同的原则进行放大。此时应有 $u_{g2} = u_{g1}$, 根据式 (7-145)

则有
$$\frac{(VVM)_2}{(VVM)_1} = \frac{p_{L1} D_1}{p_{L2} D_2} \quad (7-148)$$

(5) 以 $k_L a$ 值相同的原则进行放大。根据文献报道, $k_L a \propto \left(\frac{Q_g}{V_L}\right) H_L^{2/3}$, 其中 Q_g 为操作状态下的通气流量 (m^3/min); H_L 为液柱高度 (m); V_L 为发酵液体积 (m^3), 则

$$\frac{[k_L a]_2}{[k_L a]_1} = \frac{(Q_g/V_L)_2}{(Q_g/V_L)_1} \frac{(H_L)_2^{2/3}}{(H_L)_1^{2/3}} = 1 \quad (7-149)$$

故
$$\frac{(Q_g/V_L)_2}{(Q_g/V_L)_1} = \frac{(H_L)_1^{0.7}}{(H_L)_2^{0.7}}$$

又因
$$Q_g \propto u_g D^2, V_L \propto D^3$$

所以
$$\frac{u_{g_2}}{u_{g_1}} = \left(\frac{D_1}{D_2}\right)^{1.5} \quad (7-150)$$

又因
$$u_g \propto (VVM)D/p_1$$

故
$$\frac{(VVM)_2}{(VVM)_1} = \left(\frac{D_1}{D_2}\right)^{2.5} \left(\frac{p_{1_1}}{p_{1_2}}\right) \quad (7-151)$$

还有的采用下式作为放大基础:

$$k_L a = 1.86(2 + 2.8m)(p_g/V_L)^{0.56} u_g^{0.7} n^{0.7} \quad (7-152)$$

因此
$$k_L a \propto (p_g/V_L)^{0.56} u_g^{0.7} n^{0.7}$$

若以
$$(p_g/V_L) \propto \frac{n^{3.15} d^{2.546}}{u_g^{0.725}}$$

$$k_L a \propto n^{2.45} d^{1.32} u_g^{0.76}$$

按 $[k_L a]_1 = [k_L a]_2$ 的原则放大, 则

$$n_2 = n_1 \left(\frac{u_{g_1}}{u_{g_2}}\right)^{1.24} \left(\frac{d_1}{d_2}\right)^{0.763} \quad (7-153)$$

$$p_2 = p_1 \left(\frac{u_{g_1}}{u_{g_2}}\right)^{0.621} \left(\frac{d_2}{d_1}\right)^{3.40} \quad (7-154)$$

$$p_{g_2} = p_{g_1} \left(\frac{u_{g_2}}{u_{g_1}}\right)^{0.367} \left(\frac{d_2}{d_1}\right)^{3.667} \quad (7-155)$$

假定 $V_2/V_1=125$, $D_2/D_1=5$, $p_2/p_1=1.5$, 则用上述 (3)、(4)、(5) 三种不同放大方法计算出来的 VVM 值和 u_g 值见表 7-3。

从表 7-3 分析, 若以 VVM 相同进行放大, 在放大 125 倍后, u_g 增加了 3.33 倍, 此值过大。因气速太大, 易使搅拌器处于被空气所包围的状态, 无法发挥其加强气液接触和搅拌液体的作用。若以 u_g 相同方法进行放大, 则 VVM 值在放大后仅为放大前的 30%, 此值又过低。因此人们认为以 $k_L a$ 相同方法进行放大, 其值比较适宜。

表 7-3 放大 125 倍时, 不同放大判据的 VVM 和 u_g 值

放大判据	VVM 值		u_g 值	
	放大前	放大后	放大前	放大后
VVM 相同	1	1	1	3.33
u_g 相同	1	0.3	1	1
k_{La} 相同	1	0.513	1	1.71

除上述放大判据以外, 还有以恒定剪切应力 (或恒定搅拌桨叶端速度) 做为放大原则, 其目的是保护菌体的生长。一般认为搅拌桨叶端速度的合适范围为 $250 \sim 500 \text{cm/s}$ 。

还有以恒定混合时间、恒定雷诺数等做为放大的判据。

需要指出的是上述放大方法是各强调一个侧重点, 得出的结论往往有较大的差异。表 7-4 所列出的是由 10L 小罐 ($n=500 \text{r/min}$, 通气 $1VVM$) 放大到 10000L (即放大 1000 倍) 时, 按照不同的放大准则所得出的结论, 并以搅拌转速来进行比较。

表 7-4 放大方法的比较

方 法	放大后转数/(r/min)	方 法	放大后转数/(r/min)
等体积功率		等传质系数	79
非通气	107	等叶端速度	50
通气	85	等混合时间	1260

从表 7-4 中的数据可以看到, 按照不同准则放大, 结果是放大后的反应器其操作条件是不一样的。这说明在放大中选用什么准则是很重要的, 这要根据放大体系的特点而确定。

7.6.2 因次分析法

因次分析法系依据相似原理, 以保持无因次准数相等的原则进行放大, 该法又称为相似模拟法。

此法是根据对过程的了解, 确定影响该过程的控制因素; 用因次分析方法求得相似准数, 例如流体力学中 Re 数、传热过程中的 Nu 数、化学反应中的 Da 和 Pe_z 数等, 根据相似理论的第一定律, 即各系统互相相似, 则同一个相似准数的数值相等的原理, 若能保证放大前与放大后的无因次数群相同, 则有可能保证放大前与放大后的某些特性

相同。

迄今为止，因次分析法已成功地应用于各种物理过程，例如流体的流动、传热过程的放大等。但对有生化反应参与的反应器，采用因次分析法进行放大则困难得多。这是因为要同时保证放大前后几何相似、流体力学相似、传热相似和反应相似这几乎是不可能的，保证所有无因次数群完全相等也是不现实的，并且会得出极不合理的结果。例如，对于同一物系，现要从一小的实验装置（以下标 1 表示）放大到一工业装置（以下标 2 表示），其处理能力为小装置的几倍，并且保持相同的浓度。

如果该设备为一圆管，进行的是均相一级反应，则从处理能力上，两者应有

$$\frac{u_2 d_2^2}{u_1 d_1^2} = n \quad (7-156)$$

式中 u ——流体线速度；
 d ——反应器直径；
 n ——处理能力放大倍数。

若保证流体力学状况相似，则应有 $Re_1 = Re_2$ 。

而 $Re \propto ud$
 故 $u_2 d_2 = u_1 d_1 \quad (7-157)$

代入式 (7-156)，得 $\frac{d_2}{d_1} = n \quad (7-158)$

若保证几何相似，则有

$$\frac{l_2}{l_1} = \frac{d_2}{d_1} = n \quad (7-159)$$

式中 l ——反应器高度。

若保证反应相似，则有：

$$(Da)_1 = (Da)_2 \quad (7-160)$$

因为 $Da \propto r \frac{l}{u}$

放 $r_1 \frac{l_1}{u_1} = r_2 \frac{l_2}{u_2}$

$$\frac{r_2}{r_1} = \frac{l_1}{l_2} \times \frac{u_2}{u_1} \quad (7-161)$$

根据式 (7-157) 和式 (7-161), 可得

$$\frac{r_2}{r_1} = \frac{1}{n^2} \quad (7-162)$$

式中 r ——反应速率。

和
$$\frac{u_2}{u_1} = \frac{1}{n} \quad (7-163)$$

从上述讨论可以看出, 如果要大、小两套装置完全相似, 则反应器的长度和直径都要增加 n 倍; 流体流速要减为 $\frac{1}{n}$ 倍; 而反应速度则需减少为 $\frac{1}{n^2}$, 反应器体积则需增大达 n^3 倍之多。显然, 这是一个不合理的方案。如果要保持相同的反应速率和合理的反应器容积, 则只能放弃几何相似和流体力学相似的条件, 而流体流动状态的改变又影响到传热和混合的情况, 从而进一步影响到反应速率, 因此用因次分析法一般是难以解决生化反应器的放大问题的, 只有在某些特殊的情况下才有可能应用。譬如纯粹是扩散控制的过程, 那就不必考虑反应的相似问题, 只需保持流体力学和传热的相似就可以了。

在生化反应器的放大中, 由于同时涉及微生物的生长、传质、传热和剪切等, 故需维持的相似条件较多, 要使其同时得到满足是不可能的。为此常需要根据已有的知识及经验进行判断, 以确定何者更为重要并同时也能兼顾其他的条件。

7.6.3 时间常数法

所谓时间常数是指某一变量与其变化速率之比。

常用的时间常数有:

混合时间
$$t_m = \frac{V}{1.5nd_i^3} \quad (\text{搅拌反应器}) \quad (7-164)$$

反应时间
$$t_r = \frac{C}{r} \quad (7-165)$$

扩散时间
$$t_D = \frac{L^2}{D_z} \quad (7-166)$$

$$\text{液体停留时间} \quad \tau_l = \frac{V}{F} = \frac{L}{u} \quad (7-167)$$

$$\text{气体停留时间} \quad \tau_g = \frac{V \epsilon_G}{F} \quad (7-168)$$

$$\text{传质时间} \quad t_{mt} = \frac{1}{k_L a} \quad (7-169)$$

$$\text{氧的消耗时间 } (C_{OL} > K_{O_2}) \\ t_{OC} = \frac{C_{OL}}{r_{O_2}} \quad (7-170)$$

$$\text{基质消耗时间 } (C_S > K_S) \\ t_{SC} = \frac{C_S}{r_S} \quad (7-171)$$

$$\text{细胞生长} \quad t_g = \frac{1}{\mu_{max}} \quad (7-172)$$

$$\text{传热时间} \quad t_h = \frac{V \rho C_P}{hA} \quad (7-173)$$

某些无因次数群也可转化为时间常数之比。

例如：

$$Pez = \frac{uL}{D_z} = \frac{u}{L} \times \frac{L^2}{D_z} = \frac{1}{\tau} t_D \quad (7-174)$$

$$Da = \frac{rL^2}{D_z C} = \frac{r}{C} \times \frac{L^2}{D_z} = \frac{1}{t_r} t_D \quad (7-175)$$

- 式中 C ——浓度；
 r ——反应速率；
 L ——长度；
 D_z ——轴向扩散系数；
 t_m ——混合时间；
 n ——转数；
 u ——流体线速度；
 $k_L a$ ——体积传质系数；
 h ——传热系数；
 C_{OL} ——溶氧浓度；

r_{O_2} ——氧耗速率。

有了这些时间常数, 可进行比较判断, 例如, 当 $t_m > t_r$ 时, 表示流体混合时间要比反应所需时间长, 此时流体混合成为控制因素。在放大时就首先要保证流体混合达到要求。又例如, 如果溶氧临界时间常数小于流体的混合时间, 即 $t_{oc} < t_m$, 则反应器中会出现局部缺氧的情况, 并且随着反应器增大, 混合时间亦增大, 缺氧问题更加突出, 因而在反应器放大时更要重视保证氧的传质速率。因此时间常数法可用于找出某过程放大的主要矛盾, 并据此来进行该反应过程的放大。

表 7-5 列出的是黑曲霉发酵时的时间常数。

表 7-5 黑曲霉发酵的时间常数

时间常数	小型反应器	大型反应器	时间常数	小型反应器	大型反应器
细胞生长	5h	5h	氧的传质	10s	18s
糖的消耗	5h	5h	混合时间	10s	100s

表 7-6 列出的是 $20m^3$ 机械搅拌反应器中进行葡萄糖酸发酵时的有关时间常数值。

表 7-6 $20m^3$ 机械搅拌反应器的有关时间常数

传递现象	时间常数/s
氧的传质系数	5.5 (非聚并气泡) ~ 11.2 (聚并气泡)
液体循环时间	12.3
气体停留时间	20.6
氧在气泡的传质	290 (非聚并气泡) ~ 593 (聚并气泡)
传热系数	330~650
转化	时间常数/s
氧的消耗 零级	16
氧的消耗 一级	0.7
基质消耗	5.5×10^4
细胞生长	1.2×10^4
热量产生	350

7.6.4 数学模拟法

所谓数学模拟法, 简言之, 就是根据有关的原理和必要的实验结

果，对一实际对象用数学方程的形式加以描述，然后再用计算机进行模拟研究、设计和放大。所建立的数学方程称为数学模型，它通常是一组微分方程式或代数方程式。

根据数学模型的建立方法，模型可分为由过程机理推导而得的“机理模型”、由经验数据归纳而得的“经验模型”和介于二者之间的“混合模型”。

机理模型是从分析过程的机理出发而建立的严谨的、系统的数学方程式。建立此模型的基础是必须对对象有深刻而透彻的了解，这在目前，对许多过程，包括生化反应过程都是十分困难的。

经验模型是一种以小型实验、中间试验或生产装置上实测的数据为基础而建立的模型。根据所测定的数据，撇开过程的本质不管，直接对这些数据进行数理统计分析，从而求得各参数之间的函数关系。此法的优点是不必做大量的理论研究，得出的模型简单，缺点是不能外推。

混合模型是通过理论分析，确定各参数之间的函数关系的形式，再通过实验数据来确定此函数式中各参数的数值，也就是把机理模型和经验模型相结合而得到的一种模型。

图 7-36 是将数学模拟法用于一般过程开发的示意图。从图中可以看出，整个开发过程都与数学模型有关。

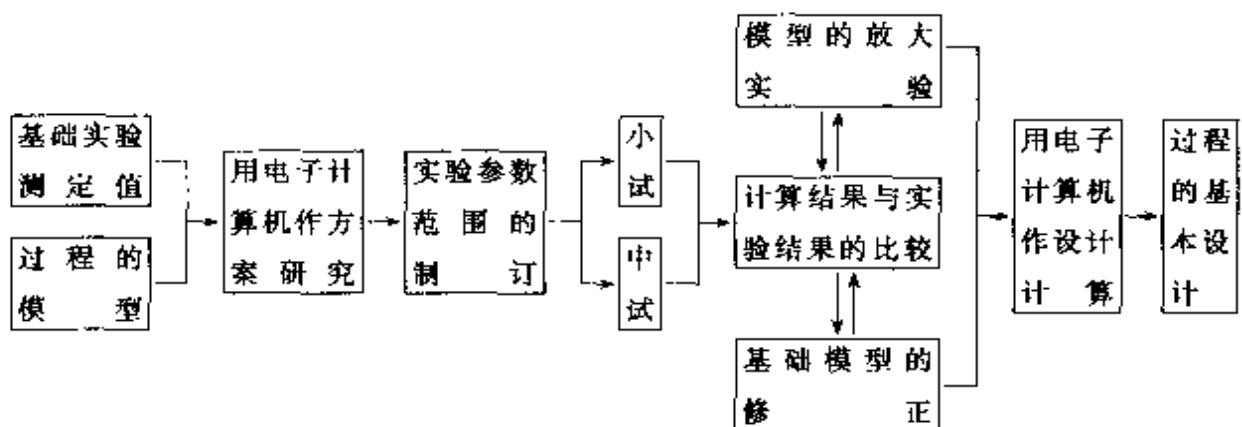


图 7-36 数学模拟放大方法示意图

在建立生化反应器的放大模型时，最根本的一点是要解决生化反应动力学与生化反应器中各种传递特性之间的相互作用。

为了解决生化反应器中反应动力学与传递特性之间的关系，采用

的方法是用一宏观有效速率来表示其相互作用的程度。借助于已知其动力学关系的某一生化反应，而使反应器中传递特性实现定量化；同样借助于已知其传递特性的反应器来定量研究动力学。在上述基础上建立同时包括动力学与传递特性的过程动力学模型，使其成为反应器放大的基础。

由于数学模拟放大法是以过程参数间的定量关系式为基础的，因而消除了因次分析法中的盲目性和矛盾性，而能比较有把握地进行高倍数的放大。模型愈精确，可放大的倍数也愈大，而模型的精确程度则又是建筑在基础研究之上的，也正是因为这方面的限制，所以尽管数学模拟的优越性是如此明显，但实际取得成效的例子还不够多，特别是对生化反应过程，由于过程的复杂性，这方面的问题还远没有解决，但无疑它是一个很有前途的方法。

近年来，国内在生化反应器的放大技术方面进展很快。例如用于柠檬酸发酵的搅拌槽式反应器，放大100倍（由 0.5m^3 放大到 50m^3 ），一次成功；用于生产谷氨酸的气升式发酵反应器放大30倍（由 3m^3 放大到 100m^3 ），也一次成功。此外正在进行放大试验的还有固定化细胞发酵法生产乙醇的反应器和高粘度发酵反应器。

习 题

7.1 设 $F(\theta)$ 和 $E(\theta)$ 分别为闭式流动反应器的停留时间分布函数及停留时间分布密度函数， θ 为无因次时间。

(1) 若该反应器为活塞流反应器，试求：

(a) $F(1)$; (b) $E(1)$; (c) $F(0.8)$; (d) $E(0.8)$; (e) $E(1.2)$ 。

(2) 若该反应器为全混流反应器，试求：

(a) $F(1)$; (b) $E(1)$; (c) $F(0.8)$; (d) $E(0.8)$; (e) $E(1.2)$ 。

(3) 若该反应器为一非理想流动反应器，试求：

(a) $F(\infty)$; (b) $F(0)$; (c) $E(\infty)$;

(d) $E(0)$; (e) $\int_0^{\infty} E(\theta) d\theta$; (f) $\int_0^{\infty} \theta E(\theta) d\theta$ 。

7.2 为了测定一闭式流动反应器的停留时间分布，现用脉冲示踪法，测得反应器出口物流中示踪剂浓度如下。

t/min	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$C(t)/(\text{g/L})$	0	0	3	5	6	6	4.5	3	2	1	0

试计算：

(1) 反应物料在该反应器中的平均停留时间 t 和方差 σ_t^2 是多少？

(2) 停留时间小于 4min 的物料所占的分率是多少？

7.3 有一反应器用于进行某一级反应，在该反应器入口处脉冲输入示踪剂，同时在出口测得示踪剂浓度随时间变化的数据如下。

t/s	10	20	30	40	50	60	70	80
$C(t)/(\text{g/L})$	0	3	5	5	4	2	1	0

若已知该反应在 CSTR 中进行时，在同样条件下得到 $X_s=0.82$ 。试用槽列模型求此反应器中所能得到的最终转化率。

7.4 脉冲法测得某闭式反应器内的停留时间分布数据如下。

t/s	1	2	3	4	5	6	8	10	15	20	30	41	52	67	70
$C(t)/(\text{g/L})$	9	57	81	90	90	86	77	67	47	32	15	7	3	1	0

若在一 CSTR 中进行某一级反应 $S \rightarrow P$ ，可得 $X_s=0.99$ ，现若在上述非理想反应器中进行该反应，试求：

(1) 用槽列模型， $X_s=?$

(2) 用一维扩散模型， $X_s=?$

7.5 在实验室中用一 CSTR 在等温下进行一级液相反应，已知其 $\bar{t}=43.02\text{min}$ 时，反应物的转化率为 82%。现将反应器放大进行中试，并已测得该反应器 $\sigma_t^2=0.1261$ ，在与小试相同的温度及空时下操作，试用 (1) 槽列模型；(2) 一维扩散模型预测该闭式反应器出口反应物 S 的转化率 X_s 是多少？

7.6 已知一等温闭式液相反应器的停留时间分布密度函数为 $E(t)=16t \exp(-4t)$ ，试求：

(1) 平均停留时间；

(2) 空时与空速；

(3) 停留时间小于 1min 的物料所占的分率；

(4) 若用槽列模型拟合，该反应器相当几个等体积的 CSTR 相串联？

(5) 若用轴向扩散模型拟合，模型参数 Pe_x 为多少？

(6) 若为微观流体，进行一级不可逆反应，反应速率常数为 6min^{-1} ， $C_{s_0}=1\text{mol/L}$ ，试用槽列模型和一维扩散模型计算反应器出口转化率；

(7) 若为宏观流体, 其他条件均与(6)中相同, 试计算其出口平均转化率。

7.7 培养基在一连续灭菌装置中进行灭菌, 培养基加料速率为 $2\text{m}^3/\text{h}$, 培养基带有细菌孢子, 其浓度为 $5 \times 10^{12}/\text{m}^3$, 该孢子受热死亡的活化能为 $283\text{kJ}/\text{mol}$, 阿仑尼乌斯常数为 $5.7 \times 10^{16}/\text{h}$ 。灭菌装置的管内径为 0.1m , 保温段的长度为 24m , 培养基密度为 $1000\text{kg}/\text{m}^3$, 粘度为 $3.6\text{kg}/(\text{m} \cdot \text{h})$, 灭菌要求在 60 天所灭菌物料中只能有一个孢子存在。试确定灭菌保温段温度应为多少?

7.8 培养基灭菌在一并联的两个连续灭菌器中进行。灭菌器管内径为 $d=0.155\text{m}$, 其长度 $L=50\text{m}$ 。处理的培养基为 40min 内加入 60000kg , 其染菌的水平 $N_0=10^5/\text{ml}$, 灭菌水平为 $N=10^{-3}/\text{ml}$, 培养基在灭菌温度时的物性为 $C_p=1\text{kcal}/(\text{kg} \cdot \text{C})$, $\rho=10^3\text{kg}/\text{m}^3$, $\mu=3.6\text{kg}/(\text{m} \cdot \text{h})$, 含有孢子杂菌的比死亡速率常数为下式:

$$k=7.94 \times 10^{38} \exp\left\{-\frac{68.7 \times 10^3}{RT}\right\} \text{min}^{-1}$$

试确定满足上述灭菌要求时的温度是多少?

7.9 若将一机械搅拌发酵罐放大 10 倍, 以下列参数之一相等作为放大判据时, 其余参数将如何变化? (1) 单位体积发酵液的搅拌功率 (p/V_L); (2) 搅拌器转数 n 。

7.10 某试验车间用枯草杆菌在 100L 的发酵罐中进行 α -淀粉酶的试验, 获得了成功。现要放大 200 倍。假定发酵液为牛顿型流体, 粘度 μ_L 为 $2.25 \times 10^{-3}\text{N} \cdot \text{s}/\text{m}^2$ (在 35°C), 密度为 $1010\text{kg}/\text{m}^3$, 试验反应器直径 $D_1=375\text{mm}$, 搅拌桨直径 $d_1=125\text{mm}$, 并有 $D_1/d_1=3$, $H_1/D_1=2.4$, $H_{L_1}/D_1=1.5$ (H_{L_1} 为液体高度)。

试验条件为: 装料 60L , 通气量 $VVM=1.0\text{m}^3/(\text{m}^3 \cdot \text{min})$ 。搅拌桨为两只圆盘六弯叶涡轮, 转数 $350\text{r}/\text{min}$, 由于它为高耗氧的菌种, 需要保证传质系数相等进行放大, 按 $k_L a$ 相等的原则进行放大, 试求:

- (1) 放大后 VVM 为多少?
- (2) 放大前后 u_x 为多少?
- (3) 放大前后 p_x/V_L 分别为多少?
- (4) 放大后转数 n 为多少?

(5) 若采用 p_x/V_L 相同的准则进行放大, 试求大发酵罐的通气量以及转速是多少?

主要符号一览表

A 反应器横截面积, 阿仑尼乌斯方程指前因子	E' 表观活化能
A_d 酶失活速率的指前因子	E_D 扩散活化能
A_p 颗粒外表面积	E_s 失活活化能
a 单位体积气液混合物中相界面积	E_r 反应活化能
Bi Biot 准数	$E(t)$ 停留时间分布密度
C 浓度, 可调参数	F 摩尔流量, 法拉第常数
C_E 酶浓度	Fr Froude 准数
C_{E_0} 初始酶浓度	F_S 底物或基质的摩尔流量
C_{ES_1} 中间复合物的浓度	$F(t)$ 停留时间分布函数
C_i 抑制剂浓度	G 室
C_v 活细胞浓度	g 重力加速度
C_{O_2} 氧浓度	H 位阻因子, 床层高度
C_p 产物浓度, 比热容	Ha Hatta 数
C_s 基质浓度, 底物浓度	He 亨利系数
C_T 产品总成本	ΔH_r 反应热
C_x 细胞浓度	H_V 发酵反应产热速率
C_{x_0} 接种时细胞浓度	h 传热系数
$C_{x,max}$ 最大细胞浓度	I 抑制剂
$C_{x,opt}$ 最佳细胞浓度	i 抑制程度
D 分子扩散系数, 稀释率, 塔径	K 分配系数, 电离平衡常数, 室, 稠度系数
Da Damköhler 准数	K_C 凯松粘度
D_c 临界稀释率	K_{eq} 反应平衡常数
D_e 有效分子扩散系数	K_I 抑制剂解离常数
D_L 液膜传质系数	K_m 米氏常数
D_z 轴向扩散系数	K_{O_2} 氧的饱和常数
d_B 气泡直径	K_P 产物的饱和常数
d_i 搅拌桨直径	K_S 基质的饱和常数
d_p 固定化酶颗粒直径	k 反应速率常数
E 酶, 增强因子, 活化能	k_d 失活速率常数

- k_G 气膜传质系数
 k_L 液膜传质系数
 k_{L_1} 气液界面的液膜传质系数
 k_{L_2} 固液界面的液膜传质系数
 $k_{L,a}$ 体积传质系数
 k_r 反应速率常数
 l 生物膜厚度, 管长
 l 扩散距离, 长度
 M 分子量, 修正系数, 示踪物量
 m 维持系数, 放大倍数
 N 透析速率, 槽列模型参数
 N_s 通气准数
 N_p 功率准数
 N_s 扩散通量
 n Hill 方程指数, 本征反应级数, 流动特性指数, 经验参数, 搅拌桨转数
 n' 表观反应级数
 P 压力, 搅拌功率, 产物
 Pe_z 轴向 Peclet 准数
 P_g 通气搅拌功率
 P_L 液柱平均压力
 P_{m_0} 膜透析系数
 P_{O_2} 氧的分压
 P_x 细胞产率
 P_0 未通气搅拌功率
 Q 热量
 Q_b 发酵放热速率
 Q_E 反应器传热速率
 Q_G 通气量
 q_{HV} 比产热速率
 q_i i 组分的比消耗或比生成速率
 R 气体常数, 循环比, 颗粒半径
 R_c 临界半径
 Re 雷诺数
 Re_M 修正雷诺数
 R_{max} 最大半径
 R_s 底物宏观反应速率
 R_{SD} 底物扩散速率
 R_{S_1} 有抑制的宏观反应速率
 r 半径
 r_{11} 最大扩散速率
 r_{HV} 产热速率
 r_{O_2} 氧的消耗速率
 r_p 产物生成速率
 r_s 底物或基质消耗速率
 r_{S_1} 有抑制的底物消耗速率
 S 底物, 基质
 Sc Schmidt 准数
 S_g 固定化酶比表面积
 Sh Sherwood 准数
 T 温度
 t 时间
 t 平均停留时间
 t^* 时间参数
 t_b 间歇操作中的辅助时间
 t_D 扩散时间
 t_f 反应终止时间
 t_h 传热时间
 t_m 混合时间
 t_r 反应时间
 U 静电电势
 u_s 气体表观线速度
 u_l 液体流动速度
 V 反应体系体积

V_G	气体体积	θ	无因次时间
V_L	液相体积	θ	无因次平均停留时间; 表观半衰期
V_P	颗粒体积	λ	与静电有关参数, 分子运动自由程, 特征方程特征值
V_R	反应器有效体积	μ	底物模数, 比生长速率, 粘度
W	催化剂质量	μ_a	表观粘度
W_G	G室质量分率	μ_i	带有抑制的比生长速率
W_K	K室质量分率	μ_l	液体粘度
X	细胞或生物量	ρ	密度
X_G	G区生物量	ρ_b	床层密度
X_K	K区生物量	ρ_L	液相密度
X_S	底物或基质转化率	ρ_p	表观密度
Y	得率系数	ρ_r	真密度
Y_{ATP}	对能量的细胞得率	σ	离子强度, 表面张力
Y_C	对碳的细胞得率	σ_l	液体表面张力
$Y_{S,C}$	对基质的细胞得率	σ_i^2	方差
Z	扩散距离	σ_{ii}^2	无因次方差
α	修正系数, 失活系数, 给热系数	τ	空时, 剪切应力
β	底物无因次浓度, 细胞提浓系数	τ_c	临界时间
γ	系数, 还原度	τ_m	全混流反应器平均停留时间
$\dot{\gamma}$	剪切速率梯度	τ_p	活塞流反应器平均停留时间, 曲节因子
δ	液膜厚度	τ_r	循环时间
ϵ	孔隙率, 空隙率	ϕ	颗粒体积分率, Thiele 模数
ϵ_G	气含率	Φ	表观 Thiele 模数
ϵ_L	液相体积分率	ϕ_0	零级动力学 Thiele 模数
ϵ_P	颗粒孔隙率	ϕ_1	一级动力学 Thiele 模数
η	内扩散有效因子, 刚度系数	ϕ_m	M-M 反应的 Thiele 模数
η_E	外扩散有效因子		下标
η_0	零级反应有效因子	0	初态, 进料
η_1	一级反应有效因子	c	临界
η_M	M-M 反应有效因子	E	酶
η_T	总有效因子		

f 终态
G 气相
L 液相
I 抑制
m 全混流
max 最大值

opt 最佳值
P 颗粒, 产物, 活塞流
R 反应器
r 反应, 循环
S 底物, 基质
x 细胞

主要参考文献

- 1 Bailey J E, Ollis D F. *Biochemical Engineering Fundamentals*. 2nd ed. New York: McGraw-Hill, 1986
- 2 Atkinson B, Mavituna, F. *Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook*. 2nd ed. London: Macmillan Publishers Ltd, 1991
- 3 Moser, A. *Bioprocess Technology*. New York: Spring Verlag, 1988
- 4 Schugerl K. *Bioreaction Engineering*. New York: John Wiley & Sons Ltd., 1987
- 5 Rehm H. J. Reed G. *Biotechnology*. 8 vols. Weinheim: Verlag Chemie, 1981~1988
- 6 Moo-Young, M. *Comprehensive Biotechnology*. 1 vols. Oxford: Pergamon Press, 1985
- 7 Wang D I C. et al. *Fermentation and Technology*. New York: John Wiley & Sons Ltd., 1979
- 8 Atkinson B. *Biochemical Reactor*. London: Pion, 1974
- 9 Wingard L B. et al. *Applied Biochemistry and Bioengineering*. vol 1. New York: Academic Press, 1976
- 10 Aiba S. et al. *Biochemical Engineering*. 2nd ed. New York: Academic Press, 1973
- 11 Levenspiel O. *Chemical Reaction Engineering*. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, Ltd., 1972
- 12 Carberry J J. *Chemical and Catalytic Reaction Engineering*. New York: McGraw-Hill, 1976
- 13 Jackson A T. *Process Engineering in Biotechnology*. London: Open University Press, 1990
- 14 Butt J B. *Reaction Kinetics and Reactor Design*. New Jersey: Prentice-Hall, Inc, 1980
- 15 俞俊棠等主编. *生物工艺学*. 上海: 华东化工学院出版社, 1992
- 16 山根恒夫著. *生化反应工程*. 周斌编译. 西安: 西北大学出版社, 1992
- 17 合叶修一等著. *生物化学工程——反应动力学*. 胡章助等译. 北京: 化学工业出版社, 1984
- 18 合叶修一等著. *生物化学工程*. 徐长晟译. 北京: 轻工业出版社, 1981
- 19 俞俊棠等编著. *生物化学工程*. 北京: 化学工业出版社, 1991
- 20 刘国途主编. *生物工程下游技术*. 北京: 化学工业出版社, 1991
- 21 焦瑞身等编著. *生物工程概论*. 北京: 化学工业出版社, 1991
- 22 何鸣鸿等编. *第五届全国生物化工学术会议论文集*. 北京: 化学工业出版社, 1993
- 23 大连轻工业学院等编. *发酵工程与设备*. 北京: 轻工业出版社, 1987
- 24 陈石根等著. *酶学*. 长沙: 湖南科学出版社, 1986
- 25 J.M. 柯尔森等著. *化学工程·第三卷*. 北京: 化学工业出版社, 1988
- 26 高孔荣主编. *发酵设备*. 北京: 轻工业出版社, 1991

- 27 华东化工学院编. 抗生素生产工艺学. 北京: 化学工业出版社, 1982
- 28 熊振平等编著. 酶工程. 北京: 化学工业出版社, 1989
- 29 O. 列文斯比尔著. 化学反应器. 郑远扬等译. 北京: 轻工业出版社, 1979
- 30 李绍芬主编. 反应工程. 北京: 化学工业出版社, 1990
- 31 陈甘棠主编. 化学反应工程. 北京: 化学工业出版社, 1984
- 32 袁乃驹等编著. 化学反应工程基础. 北京: 清华大学出版社, 1988
- 33 姜信真主编. 化学反应工程简明教程. 西安: 西北大学出版社, 1987
- 34 B. B 卡法罗夫著. 控制论方法在化学和化工中的应用, 陈丙珍译. 北京: 化学工业出版社, 1983
- 35 J. M. 史密斯著. 化工动力学. 王建华等译. 北京: 化学工业出版社, 成都: 成都科技大学出版社, 1988
- 36 李启兴等编著. 数学模拟法. 北京: 人民教育出版社, 1981
- 37 陈甘棠等编著. 化学反应技术基础. 北京: 科学出版社, 1981
- 38 T. S. 耶蒂什著. 气液固反应器设计. 萧明威等译. 北京: 轻工业出版社, 1989
- 39 李绍芬编著. 化学与催化反应工程. 北京: 化学工业出版社, 1986
- 40 G. F. 弗罗门特等著. 反应器分析与设计. 邹仁黎等译. 北京: 化学工业出版社, 1985
- 41 卢田清著. 生物技术概说. 莫锡荣译. 北京: 化学工业出版社, 1988
- 42 K. G. 登拜等著. 化学反应器理论导论. 顾其威等译. 北京: 化学工业出版社, 1980
- 43 N. 哈恩贝等著. 工业中的混合过程. 俞芷青等译. 北京: 中国石化出版社, 1991
- 44 王建华主编. 化学反应工程. 成都: 成都科技大学出版社, 1988
- 45 L. 拉皮得斯等主编. 化学反应器理论. 周佩正等译. 北京: 石油工业出版社, 1984
- 46 L. K. 都拉斯瓦梅等编. 世界化学反应工程新进展. 邹仁黎等译. 北京: 轻工业出版社, 1988
- 47 杨守志. 化工进展. 1991. (1): 41, (2): 44, (3): 33
- 48 顾其威. 化学工程. 1985. (1): 27, (2): 57, (3): 61, (4): 59, (5): 61
- 49 H. 霍夫曼等著. 化学反应工程. 张继炎等译. 2nd ed. 北京: 中国石化出版社, 1991
- 50 陈因良等编著. 细胞培养工程. 上海: 华东化工学院出版社, 1992
- 51 Shuler M L. et al. Bioprocess Engineering Basic Concepts. New Jersey: Prentice Hall Inc., 1989
- 52 Ghose T K. Bioprocess Computations in Biotechnology. London: Ellis Horwood, 1990
- 53 Bes J. et al. Operational Models of Bioreactors. Boston: Butter Worth-Heinemann, 1991
- 54 Doran P M. Bioprocess Engineering Principles. New York: Academic Press, 1995
- 55 Mc Duffie N C. Bioreactor Design Fundamentals. Boston: Butter Worth-Heinemann, 1991
- 56 Avenjo J A. Bioreactor System Design. New York: Marcel Dekker, 1995
- 57 Blanch H W. Biochemical Engineering. New York: Marcel Dekker, 1996
- 58 Nielsen J. et al. Bioreaction Engineering Principles. New York and London: Plenum

Press, 1994

- 59 Riet K V. *Basic Bioreactor Design*. New York; Marcel Dekker, 1991
- 60 Schmauder H P. *Methods in Biotechnology*. Bristol; Taylor & Francis Inc. , 1997
- 61 Mijnbeek G. *Bioreactor Design and Product Yield*. Boston; Butter Worth-Heinemann, 1992
- 62 Heijnen J J. *Modelling and transport Phenomena*. Boston; Butter Worth-Heinemann, 1992
- 63 Sinclair C G. *Fermentation Kinetics and Modelling*. London; Open University Press, 1987
- 64 Lim H C. *Biotechnol. Bioeng.* 1986. (28); 1396
- 65 Peilin C. *Sep. Technol.* 1993. (3); 58