(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 110042046 B
(45)授权公告日 2022.10.04

(21)申请号 201910374493.8

(22)申请日 2019.05.07

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 110042046 A

(43)申请公布日 2019.07.23

(73)专利权人 南京工业大学
地址 211816 江苏省南京市江北新区浦珠南路30号

(72)发明人 李干禄 魏国光 李辉 陈可泉 许晟 张阿磊 郝宁 李艳 韦策 欧阳平凯

(74)专利代理机构 江苏致邦律师事务所 32230
专利代理师 徐蓓 尹妍

(51)Int.Cl.
C12M 1/04(2006.01)
C12M 1/12(2006.01)
C12M 1/02(2006.01)
C12M 1/00(2006.01)
C12N 9/56(2006.01)
C12R 1/125(2006.01)

审查员 王延羽

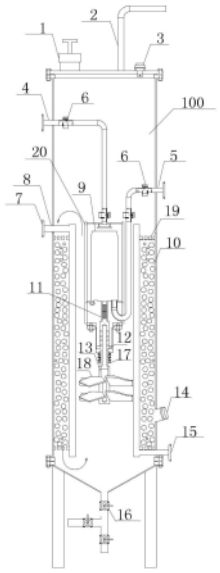
权利要求书2页 说明书5页 附图9页

(54)发明名称

连续固定化的内置搅拌微膜曝气内循环气升式生物反应器

(57)摘要

本发明涉及连续固定化的内置搅拌微膜曝气内循环气升式生物反应器。包括气升式细胞固定化反应器主体、设置于反应器主体内部的搅拌微膜曝气装置、环绕搅拌微膜曝气装置设置的内导流桶换热器、内导流桶换热器和反应器主体间填充的细胞固定化材料。该生物反应器采用内置潜水电机并用密封罩密封，电机的冷却介质为无菌空气，这样可以隔开物料与电机接触，防止卫生死角，更好地杜绝污染，同时采用内置形式可以大大地缩短搅拌轴的长度，减少由于因搅拌轴过长而引起的振动，并且可以有限度的提高搅拌转速和降低搅拌功率，达到节能减排效果。



CN 110042046 B

1.一种连续固定化的内置搅拌微膜曝气内循环气升式生物反应器，其特征在于，包括气升式细胞固定化反应器主体(100)、设置于反应器主体(100)内部的搅拌微膜曝气装置、环绕搅拌微膜曝气装置设置的内导流桶换热器(8)、内导流桶换热器(8)和反应器主体(100)间填充的细胞固定化材料(10)；

所述反应器主体(100)顶部设有进料口(1)、气相出口(2)和补料口(3)，底部设置出料口(16)；反应器主体(100)横截面为方形；

所述搅拌微膜曝气装置从上到下依次包括相连接的气管(4)、潜水电机(9)、联轴器(11)、搅拌轴(12)、叶轮轴(13)和微膜曝气叶轮(18)；气管(4)另一端连接反应器主体(100)侧壁的进气口，用于进气；潜水电机(9)外部通过密封桶(20)密封，潜水电机(9)电缆通过潜水电机电缆导出管(5)引出反应器主体(100)；

所述内导流桶换热器(8)顶端连接蒸汽进口/冷却水出口(7)，底端连接蒸汽出口/冷却水进口(15)；

所述细胞固定化材料(10)上下端设有多孔板(19)，下端多孔板(19)上部设有连续出料口/取样口(14)；

所述微膜曝气叶轮(18)的搅拌速度为1000~2000r/min。

2.根据权利要求1所述的生物反应器，其特征在于，所述内导流桶换热器(8)为表面安装翅片的内导流桶。

3.根据权利要求1所述的生物反应器，其特征在于，所述气管(4)和潜水电机电缆导出管(5)上设有活动接头(6)。

4.根据权利要求1所述的生物反应器，其特征在于，所述搅拌轴(12)外部设有机械密封(17)。

5.根据权利要求1所述的生物反应器，其特征在于，所述微膜曝气叶轮(18)和叶轮轴(13)间呈30~45度角连接。

6.根据权利要求5所述的生物反应器，其特征在于，所述微膜曝气叶轮(18)为等边梯形结构。

7.根据权利要求1所述的生物反应器，其特征在于，所述细胞固定化材料为耐150~180℃温度的有机、无机或金属材质。

8.权利要求1~7任一项所述生物反应器用于细胞连续固定化培养的方法，其特征在于，包括如下步骤：

从进料口(1)将物料投入反应器主体(100)中，通过气管(4)通入空气，打开潜水电机(9)搅拌，同时向蒸汽进口/冷却水出口(7)通入蒸汽进行升温；

当温度达到100℃时，关闭潜水电机(9)，向气管(4)通入蒸汽进行灭菌，同时关闭蒸汽进口/冷却水出口(7)和蒸汽出口/冷却水进口(15)，当温度升至灭菌温度时，调整气管(4)、出料口(16)、连续出料口/取样口(14)处的阀门，保温灭菌；

冷却时，向气管(4)通入无菌空气，并关闭出料口(16)和连续出料口/取样口(14)处的阀门，打开潜水电机(9)搅拌，调整气相出口(2)处阀门，维持反应器为正压，打开向蒸汽出口/冷却水进口(15)通入冷却水，进行冷却；

冷却达到培养温度后，进行发酵培养，待发酵液菌体和产品浓度达到要求，此时大部分菌体都自絮凝在细胞固定化材料(10)上，从补料口(3)开始补料，从连续出料口/取样口

(14)排出合格发酵液及淘汰菌体,维持稀释率,进行连续化培养。

连续固定化的内置搅拌微膜曝气内循环气升式生物反应器

技术领域

[0001] 本发明属于生物反应器领域，涉及一种连续固定化的内置搅拌微膜曝气内循环气升式生物反应器。

背景技术

[0002] 工业生物技术具有可再生和环境友好等特征，能替代石油化工相关产品，具有广阔的发展前景。工业生物技术的核心技术之一是生物发酵过程，其关键是生物反应器。但是传统式搅拌式生物反应器或气升式生物反应器面临着搅拌或气动能耗高、气液传质(k_La)效率低和氧气利用率低等缺点。特别是高耗氧或高密度发酵过程，氧气供应不足形成缺氧限制，导致发酵效率降低，副产物增加，产品品质下降等。传统式生物反应器缺氧的关键在于气泡粒径较大，气液传质速率较慢，致使氧气利用率较低，因此，一般采用高速搅拌、高通气量或补充纯氧弥补氧气供应不足，又致使能耗和成本进一步增加。降低气泡粒径，增加气液界面接触面积(a)是增加气液传质(k_La)效率的关键。高气液传质效率有助于降低搅拌或气动功率，降低单位能耗。综上所述，降低气泡粒径能增加气液界面接触面积，强化气液传质效率，解除缺氧对发酵过程的限制，最终降低发酵过程能耗，起到节能减排降耗的效果。

[0003] 微气泡是指直径在1-500 μm之间的小气泡，具有高的气体溶解速率、低的上升速率、长的停留时间、高的泡内压力、大的气液接触面积和低的摩擦阻力等优点，能显著提高k_La值和减低发酵过程单位能耗，非常适合于生物反应器。Hanotu等报道在气升式生物反应器中，微气泡强化气液传质效率，增加酵母产量。微气泡强化气液传质，增强溶氧效率、改善产品质量，降低发酵能耗成本，起到节能降耗作用。微气泡产生方式有多种，如文丘里、喷射器、高速旋转盘、水力旋流器、超声波、微通道和微流体等，但是这些方法面临高剪切应力、高能耗或高昂设备和维修费用等，难以匹配生物反应器发酵过程的基本要求。Ughetti等对比研究了形成微气泡的喷射器生物反应器和传统式搅拌式生物反应器，发现喷射器生物反应器具有更高的k_La值和大肠杆菌的生物量，但是喷射器生物反应器产生高的剪切应力，致使菌体破裂。微孔膜通过膜上的微小孔径，气液膜两侧的跨膜压差形成微气泡，具有剪切力小，气动能耗低等优点，能耦合生物反应器在发酵过程的要求，已成为微气泡生物反应器的首选途径。形成微气泡的微孔膜主要包括陶瓷膜、烧结金属膜和烧结玻璃膜等。Li X等研究了静态陶瓷膜形成微气泡的过程，发现膜孔径、流体流速和气体流速是影响微气泡粒径的主要因素。Wesley等研究了静态金属膜(不锈钢烧结板)形成微气泡的过程，发现微气泡粒径大小与膜表面自由能(疏水/亲水)有很大的关联，疏水表面形成的微气泡粒径更小，分布更均一。现阶段，微孔膜形成微气泡的生物反应器多见于气升式生物反应器，受限于搅拌式生物反应器的分布结构，微孔膜曝气在搅拌式生物反应器鲜有报道。

[0004] 特别是连续固定化好氧生物反应器更鲜有报道，因此本发明能更好的弥补这方面的空白。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种连续固定化的内置搅拌微膜曝气内循环气升式生物反应器，解决目前连续固定化生物发酵只能应用在厌氧发酵体系，特别是好氧发酵不能使用搅拌器的体系，以及高耗氧、低剪切力的发酵体系。

[0006] 本发明通过以下技术方案来实现：

[0007] 一种连续固定化的内置搅拌微膜曝气内循环气升式生物反应器，包括气升式细胞固定化反应器主体、设置于反应器主体内部的搅拌微膜曝气装置、环绕搅拌微膜曝气装置设置的内导流桶换热器、内导流桶换热器和反应器主体间填充的细胞固定化材料；

[0008] 所述反应器主体顶部设有进料口、气相出口和补料口，底部设置出料口；

[0009] 所述搅拌微膜曝气装置从上到下依次包括相连接的气管、潜水电机、联轴器、搅拌轴、叶轮轴和微膜曝气叶轮；气管另一端连接反应器主体侧壁的进气口，用于进气；潜水电机外部通过密封桶密封，潜水电机电缆通过潜水电机电缆导出管引出反应器主体；

[0010] 所述内导流桶换热器顶端连接蒸汽进口/冷却水出口，底端连接蒸汽出口/冷却水进口；

[0011] 所述细胞固定化材料上下端设有多孔板，下端多孔板上部设有连续出料口/取样口。

[0012] 本发明在气升式反应器中设计固定搅拌装置，采用内置潜水电机并用密封罩密封，电机的冷却介质为无菌空气，这样可以隔开物料与电机接触，防止卫生死角，更好地杜绝污染，同时采用内置形式可以大大地缩短搅拌轴的长度，减少由于因搅拌轴过长而引起的振动，并且可以有限度的提高搅拌转速和降低搅拌功率，达到节能减排效果。此外，电机电缆通过潜水电机电缆导出管引出反应器，使电缆与料液隔离；同时将细胞固定化材料固定在外导流桶处，上下用多孔板封住，能避免因搅拌的高速旋转而打碎成型的细胞固定化材料，并防止细胞固定化材料流进内导流桶换热器里被搅拌器破坏；且能很好的利用外导流桶循环携带大量微泡液态物料达到气液传质，解决好氧微生物对氧的需求。

[0013] 作为本发明的进一步改进，所述内导流桶换热器为表面安装翅片的内导流桶。在内导流桶上安装翅片制作成换热器，不仅极大限度增大换热面积，而且水相端装有翅片能极大地提高换热系数，从而有效控制微生物反应温度，节省能量，达到节能减排目的。

[0014] 作为本发明的进一步改进，所述气管和潜水电机电缆导出管上设有活动接头。采用可拆卸的活动接头将气管和潜水电机电缆导出管引出反应器主体，便于拆卸、发酵罐检修。

[0015] 作为本发明的进一步改进，所述搅拌轴外部设有机械密封。

[0016] 作为本发明的进一步改进，所述微膜曝气叶轮和叶轮轴间呈30~45度角连接。30~45度角连接可减小搅拌的剪切力，并加大液体上提液速，从而提高反应器的传热传质效果。所述叶轮材质为上设有微孔的不锈钢膜。本发明的反应器结构搅拌轴较短，动静平衡好，微膜曝气叶轮整体直径可为反应器直径的0.15~0.5倍，转速也可以大幅度提高，这样可以提高膜差压力从而提高通气量，同时搅拌转速较高，可以提高气泡的耗散能，从而防止气泡的拖尾现象，气泡不会变大，同样可以产生微气泡。

[0017] 作为本发明的进一步改进，所述微膜曝气叶轮为等边梯形结构；优选的，梯形底角约75~85°。本发明的叶轮为平整的梯形结构，无折角，可减少搅拌高速旋转阻力，并起到节

能降耗作用。

[0018] 作为本发明的进一步改进，所述潜水电机为耐高温潜水电机，电机能使用温度为：130~180℃；电机外罩桶材质为304、316、316L不锈钢。

[0019] 作为本发明的进一步改进，所述反应器主体横截面为方形或多边形；优选方形。方形或多边形结构的反应器在内有搅拌时，可以改变流体流向，从而引起反应器内部的局部返混，也能大大提高反应器的传热传质效果，同时方形在安装时可以节省占地面积。

[0020] 作为本发明的进一步改进，所述的细胞固定化材料采用耐150~180℃的有机、无机、金属材质，比如有机：聚砜(PSF)、聚四氟乙烯(PTFE)、聚酰亚胺(PI)、聚醚砜(PES)等，无机：陶瓷、玻璃等，金属：304、316、316L、合金等。

[0021] 本发明的另一目的在于提供上述反应器用于细胞连续固定化培养的方法，包括如下步骤：

[0022] 从进料口将物料投入反应器主体中，通过气管通入空气，打开潜水电机搅拌，同时向蒸汽进口/冷却水出口通入蒸汽进行升温；

[0023] 当温度达到100℃时，关闭潜水电机，向气管通入蒸汽进行灭菌，同时关闭蒸汽进口/冷却水出口和蒸汽出口/冷却水进口，当温度升至灭菌温度时，调整气管、出料口、连续出料口/取样口处的阀门，保温灭菌；

[0024] 冷却时，向气管通入无菌空气，并关闭出料口和连续出料口/取样口处的阀门，打开潜水电机搅拌，调整气相出口处阀门，维持反应器为正压，打开向蒸汽出口/冷却水进口通入冷却水，进行冷却；

[0025] 冷却达到培养温度后，进行发酵培养，待发酵液菌体和产品浓度达到要求，此时大部分菌体都自絮凝在细胞固定化材料上，从补料口开始补料，从连续出料口/取样口排出合格发酵液及淘汰菌体，维持稀释率，进行连续化培养。

[0026] 作为本发明的进一步改进，微膜曝气叶轮的搅拌速度为1000~2000r/min。本发明的反应器结构搅拌轴较短，动静平衡好，可以大幅度提高转速；此外，本发明的结构为轴向流搅拌形式，本身剪切力就较小，同时叶轮与轴套连接角度较小，在此剪切力情况下即使提高搅拌速度也不会损伤菌体。

[0027] 本发明将机械搅拌式生物反应器与气升式生物反应器有机结合，将内导流桶制作成翅片换热器，不仅增大了换热面积而且还提高了水相端的传热系数；将细胞固定化材料固定在内外桶之间，这既不影响因搅拌高速旋转而打碎固定化材料，又能大大提高氧的传质，使好氧微生物发酵成为可能连续反应；另外用高温潜水电机内置，巧妙地解决了因搅拌轴过长而引起的罐体振动和不因罐体的增大而有限度地提高搅拌转速，以及降低搅拌功率达到节能减排效果。本发明的反应器充分地发挥机械搅拌式生物反应器和气升式生物反应器两种生物反应器的优点，克服了两种生物反应器的不足，实现了连续固定化生物发酵在好氧体系中的应用，大幅度提高了发酵水平。

附图说明

[0028] 图1是本发明的结构组装图；

[0029] 图2是图1中联轴器的剖面图；

[0030] 图3是图1中搅拌轴的剖面图；

[0031] 图4是图1中联轴器上电机内桶定位端盖的剖面图；

[0032] 图5是图1中搅拌轴上的机械密封端盖剖面图；

[0033] 图6是图1中叶轮轴的剖面图；

[0034] 图7是图1中微膜曝气叶轮制作图；

[0035] 图8是图1中联轴器和搅拌轴间电机密封上端盖剖面图；

[0036] 图9是图1中联轴器和搅拌轴间电机密封下端盖剖面图；

[0037] 图中，100、反应器主体；1、进料口；2、气相出口，3、补料口，4、气管，5、潜水电机电缆导出管；6、活动接头；7、蒸汽进口/冷却水出口；8、内导流桶换热器；9、潜水电机；10、细胞固定化材料；11、联轴器；12、搅拌轴；13、叶轮轴；14、连续出料口/取样口；15、蒸汽出口/冷却水进口；16、出料口；17机械密封；18、微膜曝气叶轮；19、多孔板；20、密封桶；箭头为料液流向。

具体实施方式

[0038] 下面结合附图对本发明的技术方案做进一步的说明，但不应理解为对本发明的限制。

[0039] 实施例1

[0040] 如图1~9所示的连续固定化的内置搅拌微膜曝气内循环气升式生物反应器，包括气升式细胞固定化反应器主体100、设置于反应器主体100内部的搅拌微膜曝气装置、环绕搅拌微膜曝气装置设置的内导流桶换热器8、内导流桶换热器8和反应器主体100间填充的细胞固定化材料10。

[0041] 反应器主体1横截面为方形，顶部设有进料口1、气相出口2和补料口3，底部设置出料口16。

[0042] 搅拌微膜曝气装置从上到下依次包括相连接的气管4、潜水电机9、联轴器11、搅拌轴12、叶轮轴13和微膜曝气叶轮18；气管4另一端连接反应器主体100侧壁的进气口，用于进气，气管4上设有活动接头6；潜水电机为耐高温潜水电机，电机能使用温度为：130~180℃，电机外罩桶材质为304、316或316L不锈钢；潜水电机9外部通过密封桶20密封，材质为304、316、316L不锈钢；潜水电机9电缆通过潜水电机电缆导出管5引出反应器主体100，潜水电机电缆导出管5上设有活动接头6；搅拌轴12外部设有机械密封17；微膜曝气叶轮18和叶轮轴13间呈30~45度角连接，如图7所示，微膜曝气叶轮18为表面平整的等边梯形结构，梯形底角约为85°；微膜曝气叶轮18的数目可根据具体的通气比和耗氧量确定。

[0043] 内导流桶换热器8为表面安装翅片的内导流桶；内导流桶换热器8顶端连接蒸汽进口/冷却水出口7，底端连接蒸汽出口/冷却水进口15。

[0044] 细胞固定化材料10上下端设有多孔板19，多孔板19为不锈钢孔板；下端多孔板19上部设有连续出料口/取样口14。细胞固定化材料为耐150~180℃温度的有机、无机或金属材质。

[0045] 实施例2

[0046] 本实施例具体说明本发明反应器的操作方法。

[0047] 在发酵实罐灭菌时，从进料口1将物料投入反应器主体100中，通过气管4通入空气，打开潜水电机9搅拌，同时向蒸汽进口/冷却水出口7通入蒸汽进行升温；此时，通入空气

的目的是冷却潜水电机和提高料液液相端的给热系数；

[0048] 当温度达到100℃时，关闭潜水电机9，向气管4通入蒸汽进行灭菌，同时关闭蒸汽进口/冷却水出口7和蒸汽出口/冷却水进口15，当温度升至灭菌温度(一般为121℃)时，调整气管4、出料口16、连续出料口/取样口14处的阀门，保温15~30min灭菌；

[0049] 冷却时，向气管4通入无菌空气，并关闭出料口16和连续出料口/取样口14处的阀门，打开潜水电机9搅拌，调整气相出口2处阀门，维持反应器为正压，打开向蒸汽出口/冷却水进口15通入冷却水，进行冷却，利用系统自动调节正常发酵培养温度；

[0050] 冷却达到培养温度后，进行发酵培养，先初始培养一段时间，待发酵液菌体和产品浓度达到要求，此时大部分菌体都自絮凝在细胞固定化材料10上，从补料口3开始补料，从连续出料口/取样口14排出合格发酵液及淘汰菌体，维持一定的稀释率，进行连续化培养。

[0051] 本发明的反应器在使用时，微膜曝气叶轮18的搅拌速度为1000~2000r/min。

[0052] 实施例3

[0053] 本实施例以纳豆激酶发酵体系为例，具体说明本发明反应器的应用效果。

[0054] 纳豆激酶发酵生产是用枯草芽孢杆菌，这种枯草芽孢杆菌会合成γ-聚谷氨酸和抗菌肽，这两种产物黏度大，不利于细胞的氧传递，特别是在固定化材料上氧传递就更加困难，纳豆激酶发酵培养温度为37℃，PH为7.0，DO不小于20%。配方为：葡萄糖15%(w/v)，氯化钙0.1%(w/v)，磷酸二氢钾0.05%(w/v)，硫酸镁0.01%(w/v)，谷氨酸钠2.5%(w/v)，氯化铵0.3%(w/v)，其余为豆腐黄浆水。

[0055] 用传统方法间歇5m^3发酵罐培养30h，结果为菌体浓度24%，纳豆激酶活力为1000CFU/mL，发酵液为3m^3，然而采用1m^3连续固定化的内置搅拌微膜曝气内循环气升式发酵罐，结果为菌体浓度5%，纳豆激酶活力为1500CFU/mL，连续出料速度为100L/h，发酵水平大幅度提高，生物反应器大大缩小。

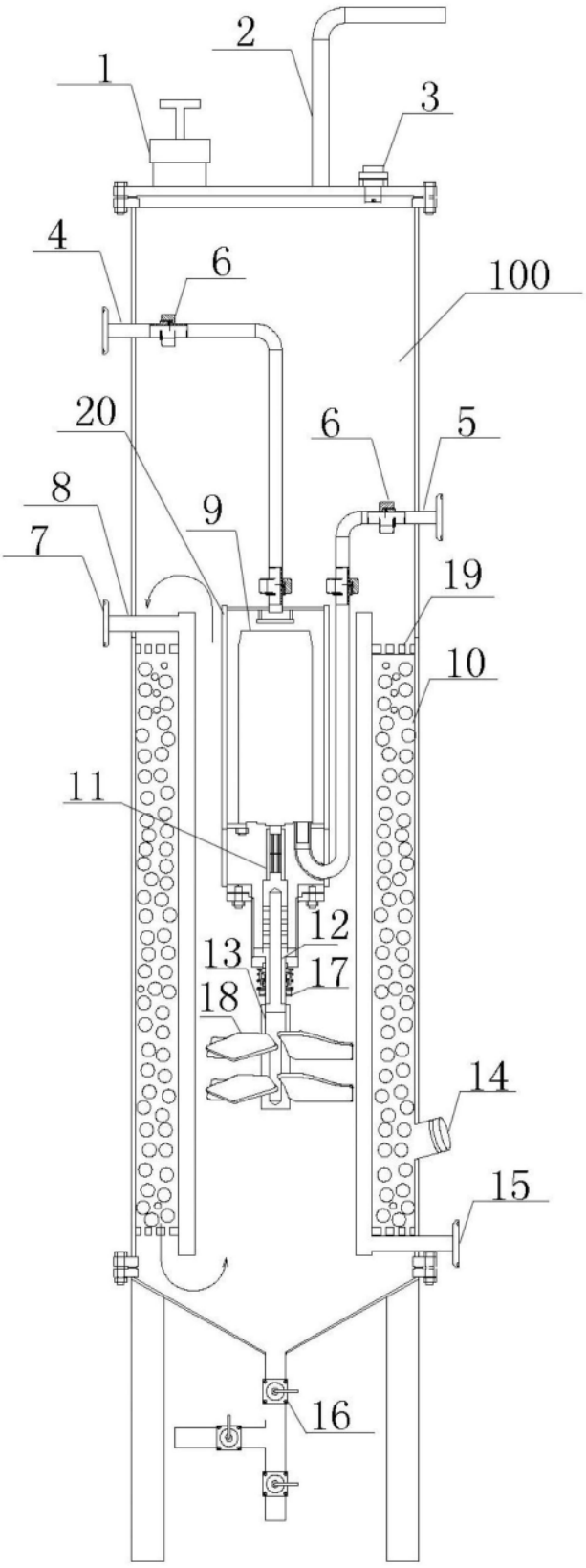


图1

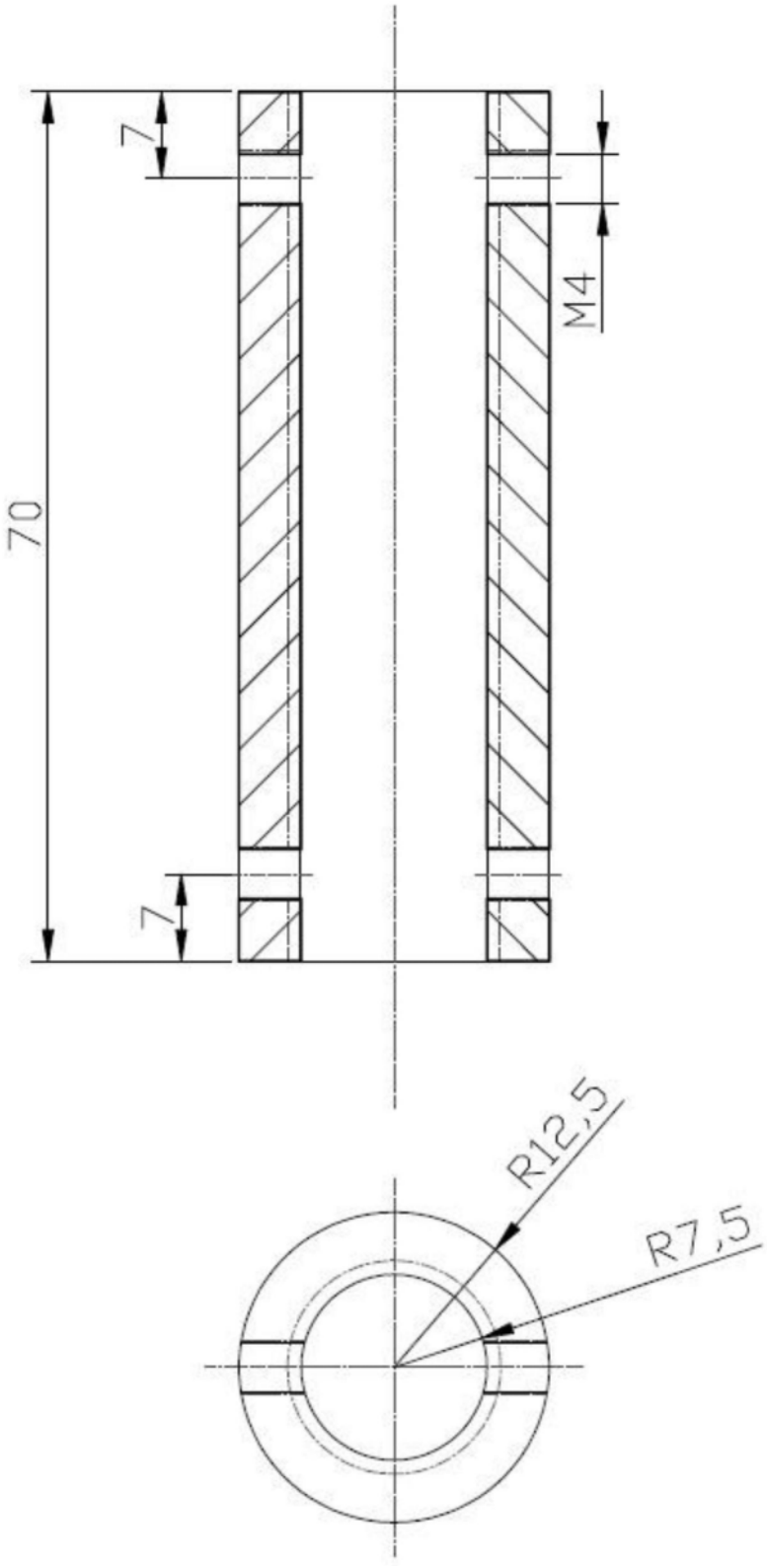


图2

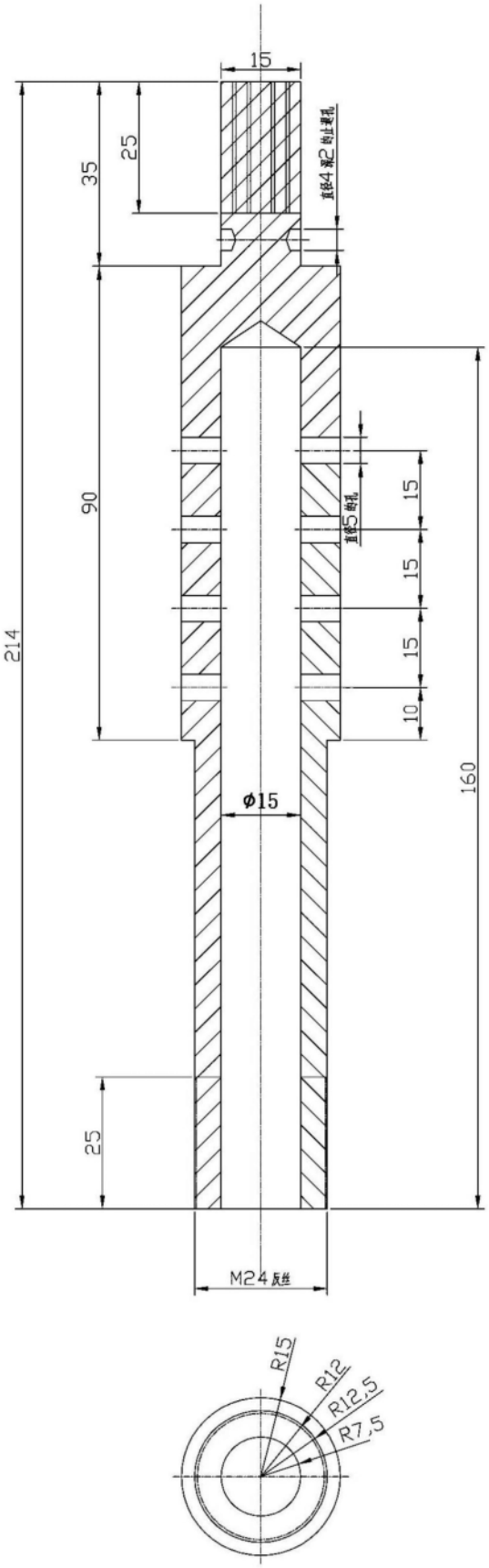

15
35
25
直径4 和2 的止转孔
90
214
直径5 的孔
15
15
15
10
160
φ15
25
M24 反丝
R15
R12
R12,5
R7,5

图3

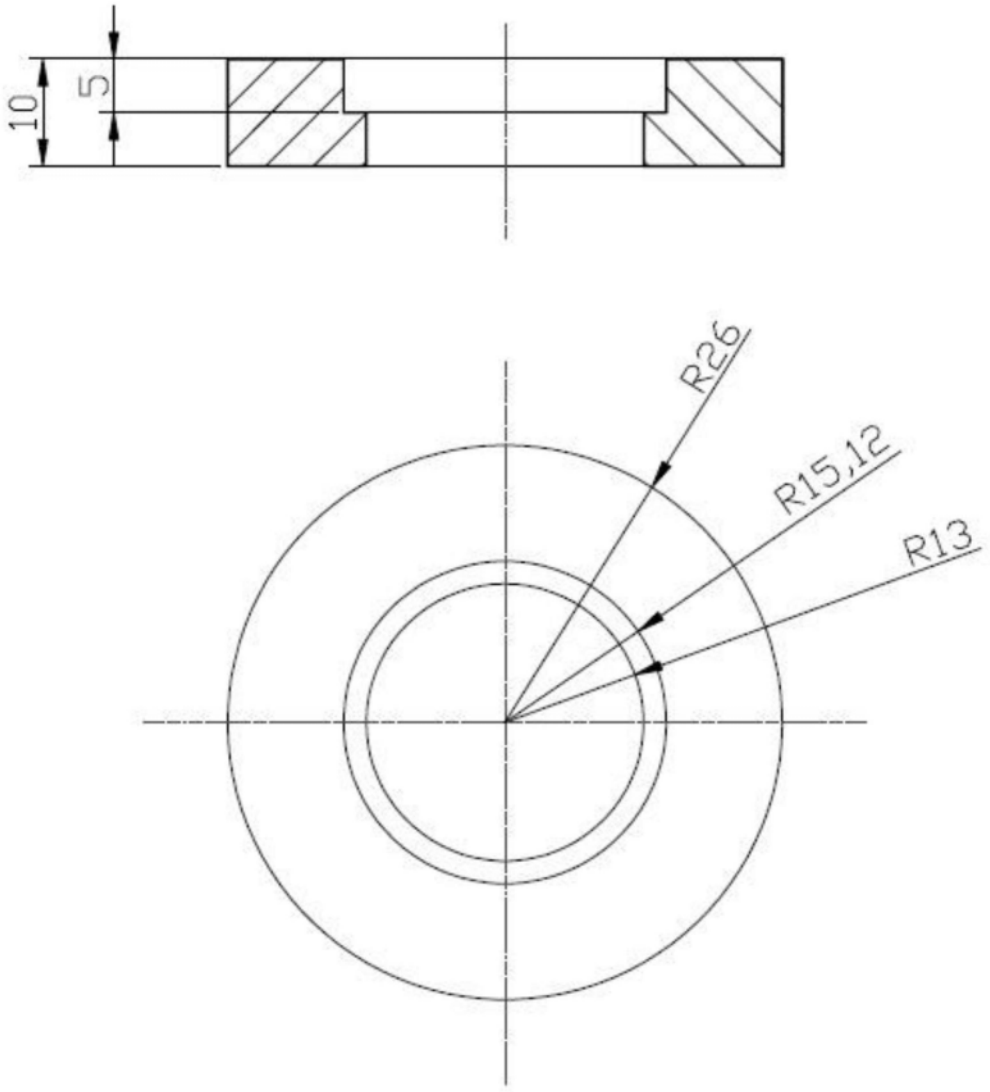


图4

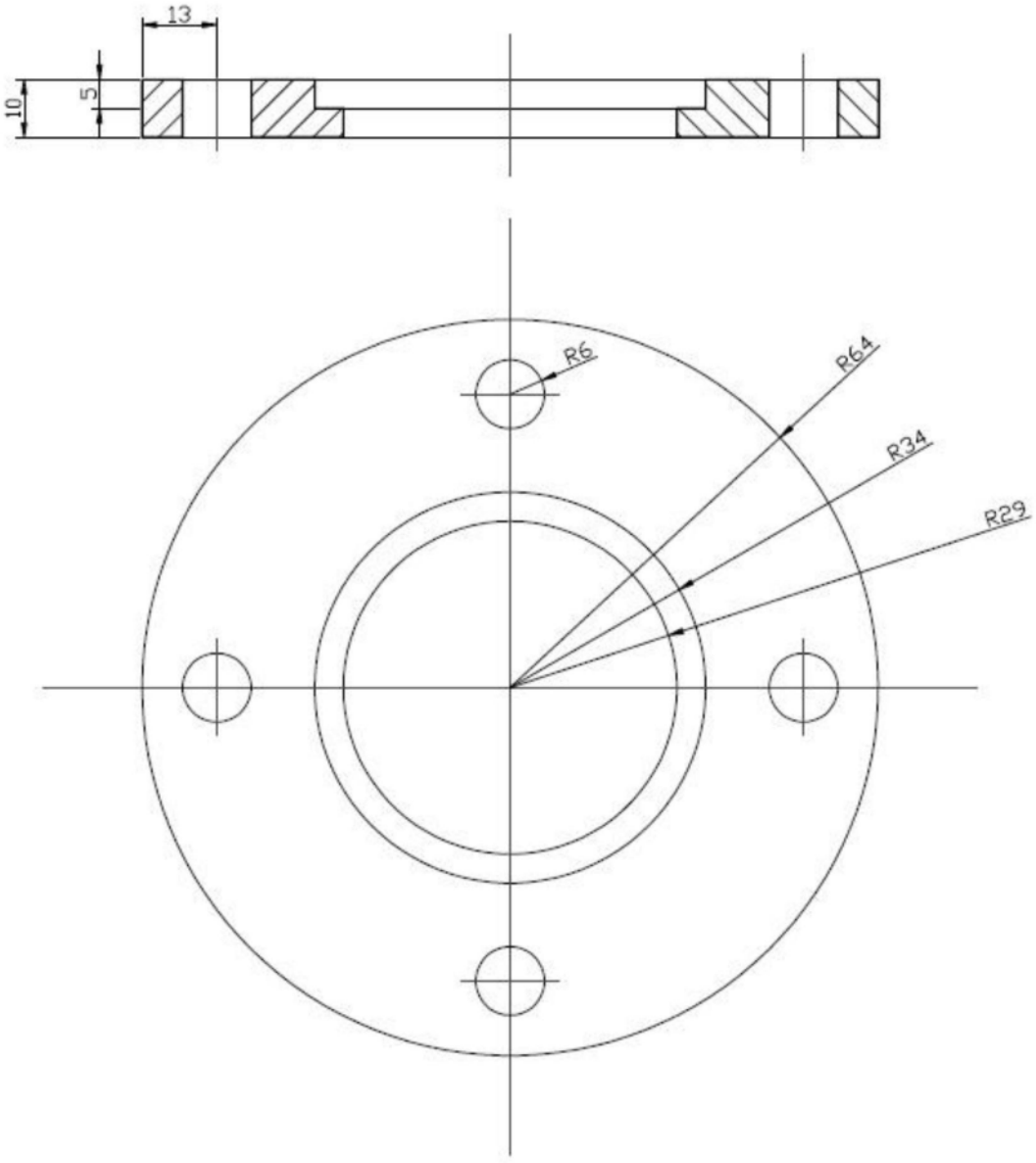


图5

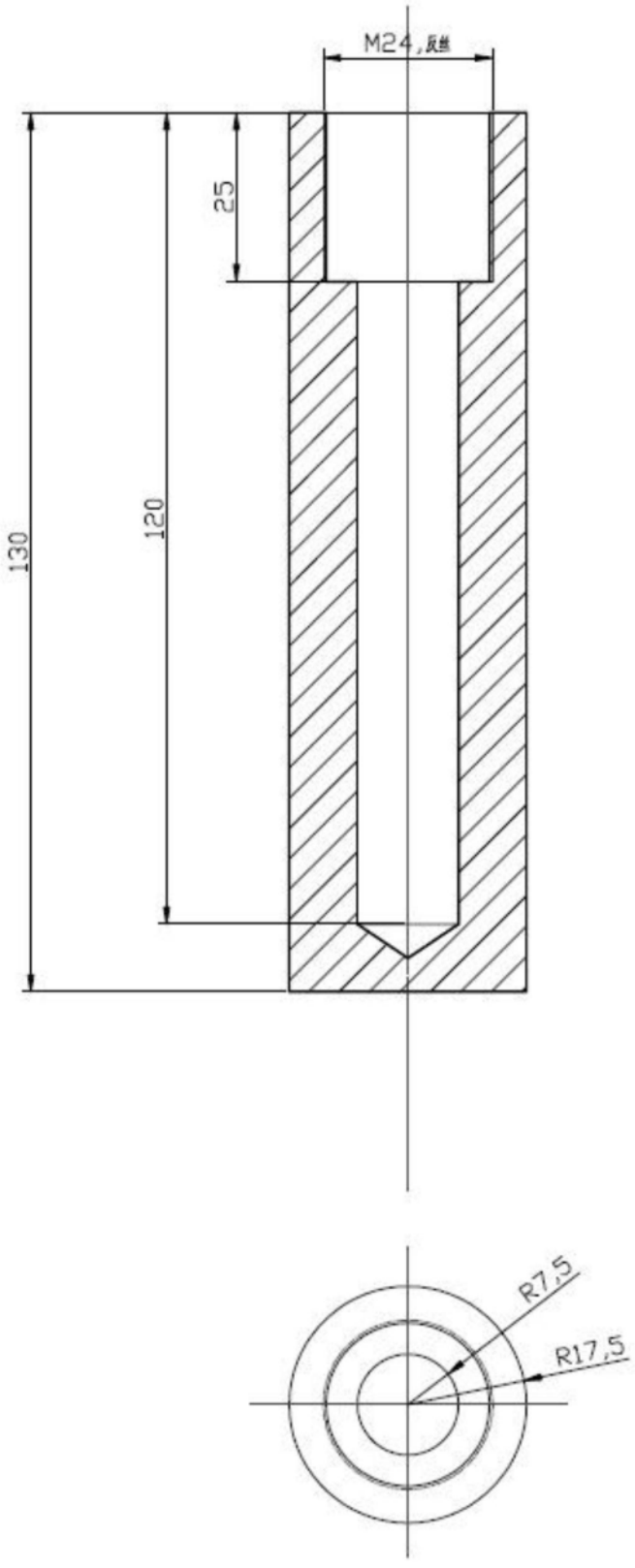


图6

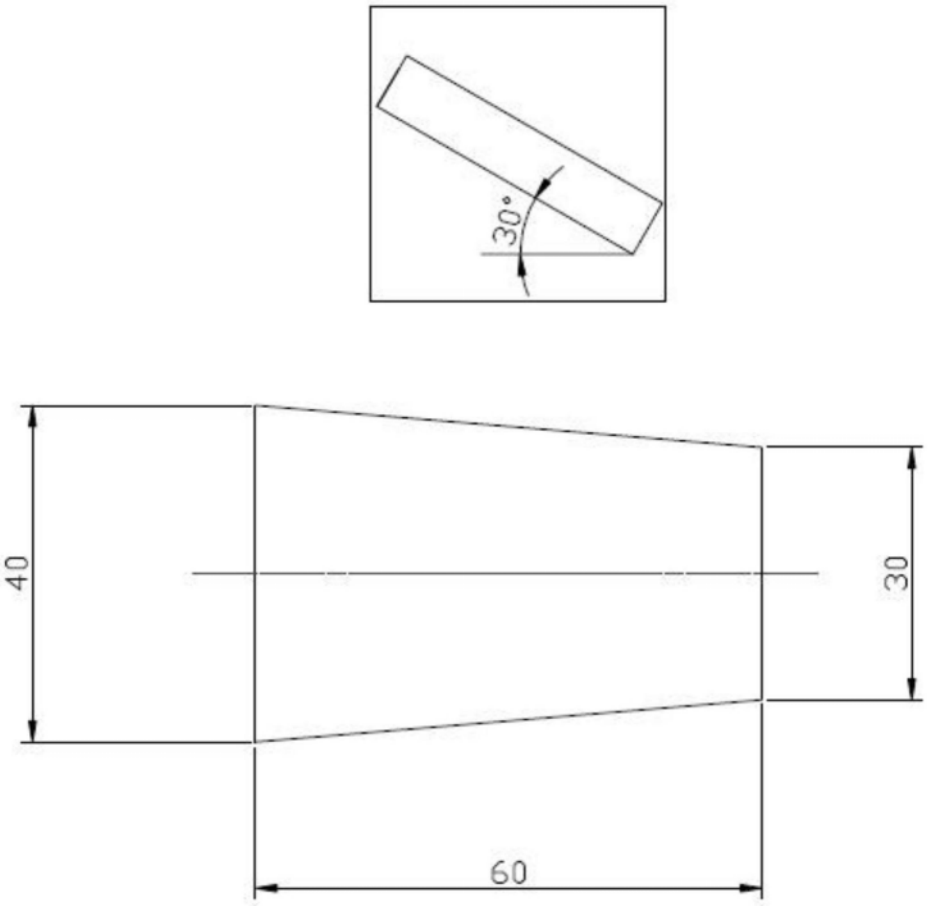


图7

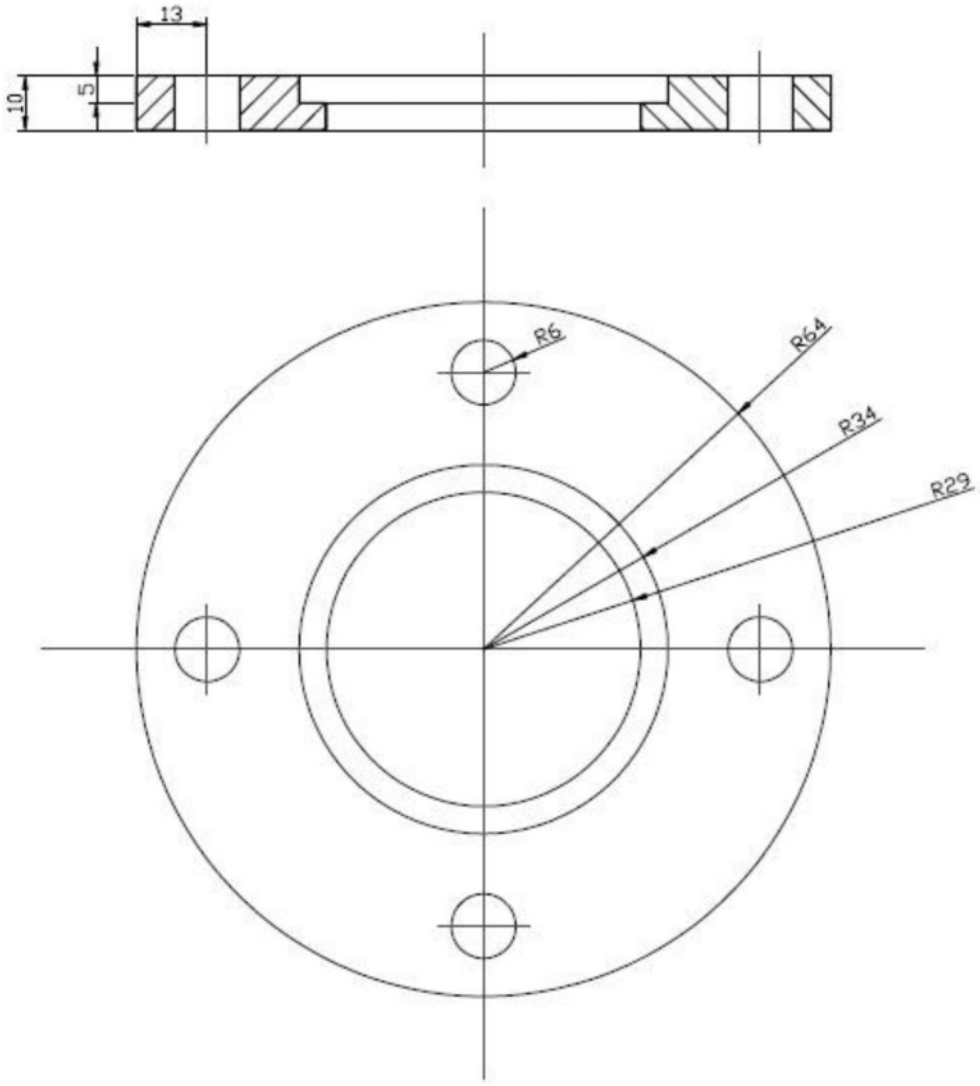


图8

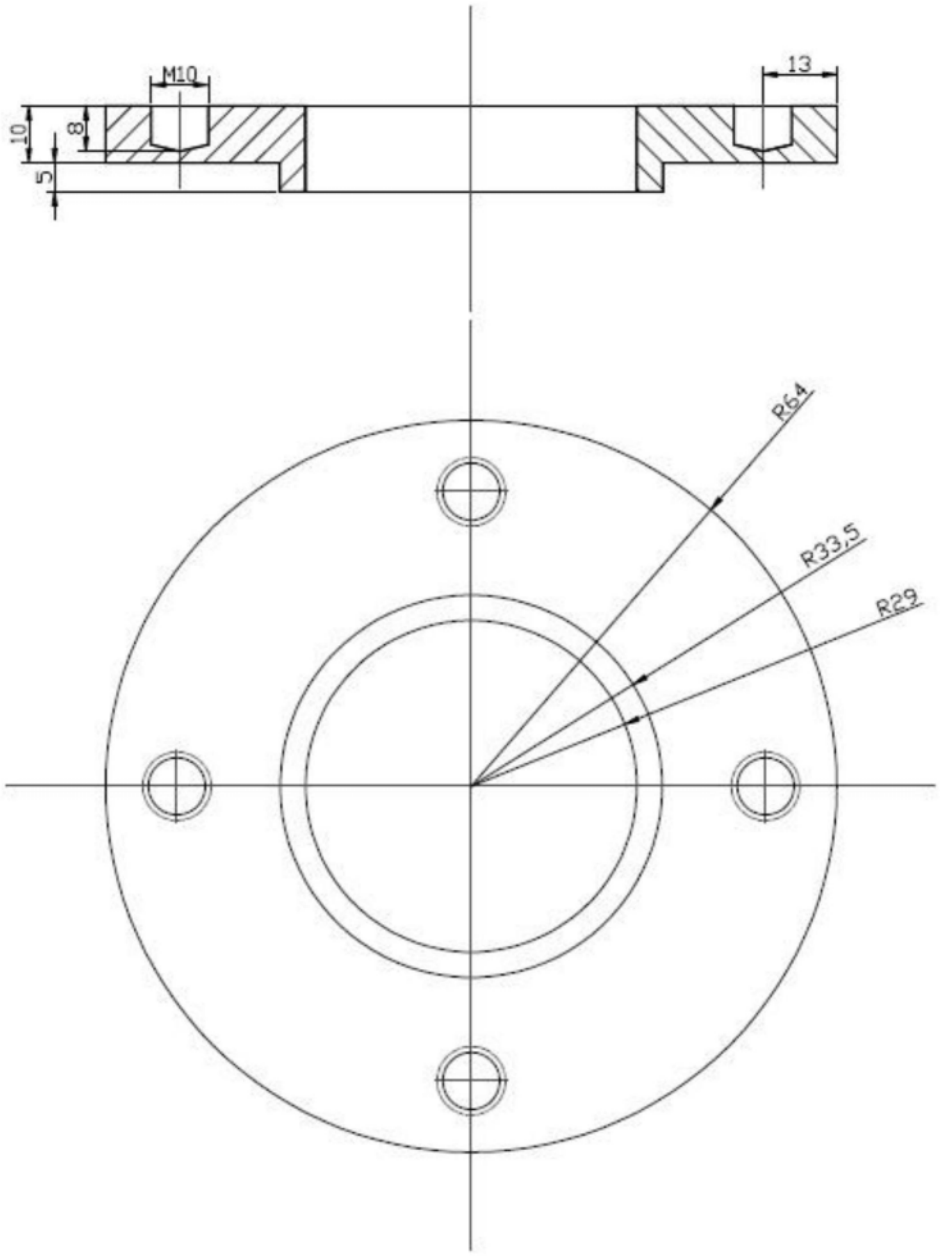


图9