

基于CFD模拟的恒温振荡器 内部流场分析

乔长晟¹, 李 雪¹, 楼 鹏², 钟海蛟², 李 政³, 陈 笑¹, 马正旺², 王 坤²

(1.天津市工业微生物重点实验室, 工业发酵微生物教育部重点实验室(天津科技大学),
天津科技大学生物工程学院, 天津 300457;

2.天津北洋百川生物科技有限公司, 天津 300457; 3.天津工业大学纺织学院, 天津 300160)

摘 要:利用计算流体力学(CFD)模拟软件对地衣芽孢杆菌摇床培养过程中的内部流场进行预测。为准确模拟摇床内部速度场和温度场在摇床振荡过程中的变化, 对整体摇床进行网格加密处理。采用CFD模拟结合接种实验, 重点考察了不同摇床位置对地衣芽孢杆菌生产聚谷氨酸的产量影响, 同时研究由位置不同引起产量不同的机理。通过模拟结果和实验结果的相关性比对, 得出下层摇床的内侧区域最适宜地衣芽孢杆菌生长。

关键词:摇床, 地衣芽孢杆菌, CFD模拟, 聚谷氨酸

Study on simulation internal flow field in constant temperature oscillator based on CFD

QIAO Chang-sheng¹, LI Xue¹, LOU Peng², ZHONG Hai-jiao², LI Zheng³, CHEN Xiao¹,
MA Zheng-wang², WANG Kun²

(1.Tianjin Key Laboratory of Industry Microbiology, Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology (Tianjin University of Science & Technology, Ministry of Education), Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China;

2.Tianjin Peiyang Biotrans Biotech Co., Ltd, Tianjin 300457, China;

3.Tianjin Polytechnic University, Tianjin 300160, China)

Abstract: The flowing field by *Bacillus licheniformis* in shaker had been simulated with the CFD software (fluent). The relationship between the γ -PGA production and the flask position at the shaker was studied. Finally, the optimum position was determined and located lower level, inner side.

Key words: shaker; *Bacillus licheniformis*; CFD; γ -PGA

中图分类号: TS201.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2012)09-0332-05

摇床恒温培养是生物实验过程中的一个重要操作单元, 是完成工业化发酵生产的重要环节。摇床培养菌种过程中, 首先需要控制摇床温度, 由于微生物对温度特别敏感, 因此模拟内部的温度场分布非常重要; 其次需要对内部的气流分布进行持续监控, 因为气流流场直接决定摇床内不同位置摇瓶的溶氧状况。由于内部空气流场的非稳态波动, 而温度波动和溶氧状况对于微生物生长起着至关重要的作用, 从而导致了摇床内不同位置的摇瓶菌体生长状况不一样, 所得到产品质量的稳定性也就得不到保证。本次模拟针对地衣芽孢杆菌培养, 利用CFD对某厂家的

立式双层大容量全温度恒温培养摇床进行了内部空气流场的模拟, 比较了在不同位置的温度场分布和空气速度场分布, 并与聚谷氨酸组的实验结果进行比对。

1 材料与方法

1.1 CFD软件介绍

本实验采用的CFD商用软件FLUENT 6.0, 由课题合作伙伴天津大学提供。计算流体力学模拟软件CFD, 包括Gambit和Fluent两部分。前者负责编辑网格, 后者负责模拟分析流场。求解方程基于有限体积法, 将计算域离散化为控制体积或单元格的有限集。网格是基本计算单元, 其中要强制物性守恒, 也就是在每个网格内求解各传递变量的守恒方程(质量守恒方程和动量守恒方程)。通过计算流动场, 可求得 v_i (流体速度)、 k (湍动能)及 ε (湍动耗散率)等值, 然后混合计算, 单独求解质量守恒方程, 得到不同时刻的浓

收稿日期: 2011-08-17

作者简介: 乔长晟(1969-), 男, 副教授, 博士, 硕士生导师, 研究方向: 生物高分子及食品生物技术。

基金项目: 天津市科技支撑项目(09ZCKFSH00800)。

度场及混合时间。

CFD可以将抽象的流体运动过程形象化,对确定结晶器内搅拌桨的类型和位置,起直观的指导作用。利用现代流体力学的原理,模拟分析结晶器内的流场形成过程,优化设计结晶器,从而实现低剪切应力、混合均匀,并尽量缩短混合时间。

1.2 模拟边界条件和假设

1.2.1 模拟假设 空气流体为不可压缩流体;不考虑物质传递;空气为均一稳定流体,同时空气中的极少量细小颗粒对模拟的影响可以忽略;不考虑摇床内部的摇瓶对整体气流的影响;温度场分布主要影响因素是内部空气流场的湍动作用大小和壁面传热效果。底部加热板与空气间的温差大小,只与传热稳定前传递速度有关,与最终稳定的温度场分布无关。

1.2.2 边界条件设置 进口边界:沿Z轴负方向的速度入口,表压为大气压;出口边界:沿X轴方向压力出口;模拟过程:摇床顶端两个圆孔为空气流体速度入口和压力入口,侧面孔位出口;壁面条件:湍流壁面函数采用scalable,固定壁面为无滑移光滑界面。

计算模型:参考压力设为大气压,无浮力,但设定重力加速度g;不涉及传质,湍流方程采用k-ε模型,空间离散采用高阶离散格式(high resolution),收敛标准为离散化守恒方程的平均残差小于0.001,采用非稳态定常模拟。网格划分采用主体正六面体的非结构化网格划分,外部模型不发生滑移,故采用固定坐标系。

1.3 模拟模型和控制方程

本次模拟结合实验过程,基于国内某厂家生产的摇床振荡器。该摇床技术指标为:旋转频率:40~300r/min;频率精度:±1r/min;摆振幅度:Φ26mm。

摇床结构及网格划分见图1、图2。

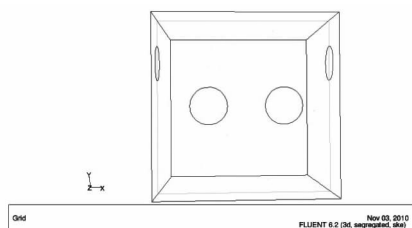


图1 模拟摇床模型俯视图

Fig.1 Top view on the shaker model

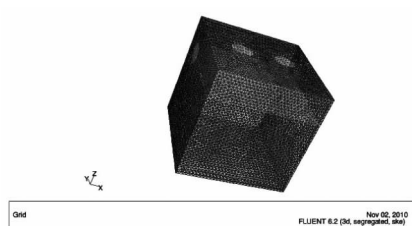


图2 模拟摇床模型网格划分

Fig.2 Mesh graph model on the shake

本实验以该摇床为模拟对象,摇床长宽高均近似为1m,顶部两个进气口孔径均为1/8,位于顶部正方形中轴线上;侧面两个出风口孔径也为1/8,轴心

位于正方体Z=1/4的位置上。以空气为均一稳定的工作介质。

摇床内部加入了两个入风口,侧面非几何中心位置有两个出风口,导致摇床内部的速度场是不对称的,流场内的温度场也是不对称的,所以选取整个摇床作为计算域。本次模拟的网格创建采用结构化与非结构化相结合的方法,由于入风口、出风口和底部加热板对整体流场影响最大,因此该三个区域采用四面体的非结构化网格,且对该处的网格进行了加密,以增加计算的精度,器内其他区域则采用合理的分区方法建立六面体的结构化网格,总的网格节点数为22931个,网格节点分布如图2所示。

为了更清晰地分析观测内部流场,建立轴向观测面:Grid X=0; Y=0; Z=0; X=0.25(通过其中一个入风口的中心点做截面); Y=0.25(截面通过出风口中心轴)。观测面的位置分布如图3所示。

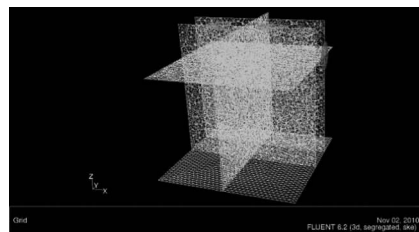


图3 观测面位置分布图

Fig.3 The location of the grid surface distribution of observations

控制方程:

$$\text{连续性方程: } \frac{\partial \rho}{\partial t} + \text{div}(\rho \vec{u}) = 0$$

动量方程:

$$\frac{\partial (\rho u)}{\partial t} + \text{div}(\rho u \vec{u}) = \text{div}(\mu \text{grad} u) - \frac{\partial p}{\partial x} + S_u$$

$$\frac{\partial (\rho w)}{\partial t} + \text{div}(\rho w \vec{u}) = \text{div}(\mu \text{grad} w) - \frac{\partial p}{\partial z} + S_w$$

能量方程:

$$\frac{\partial (\rho T)}{\partial t} + \text{div}(\rho \vec{u} T) = \text{div} \left(\frac{k}{C_p} \text{grad} T \right) + S_T$$

式中:ρ—密度;μ—粘度;t—时间;T—温度;p—压力;k—传热系数;C_p—比热容;u、v、w—速度矢量的三个分量;S_u、S_v、S_w—广义源项;S_T—粘性耗散项。

空气密度:1.29kg/m³;空气粘度忽略不计,地板加热温度400K,外界空气恒定温度300K(27℃),P恒定为一个大气压。

1.4 实验验证

1.4.1 斜面活化 从本实验室保藏的菌种中转接到斜面上,37℃培养20h以上。

1.4.2 种子培养 将活化好的菌种用接种环取一环,加入种子培养基中,放入摇床培养。种子培养基置于500mL的三角瓶中,装液量为50mL。摇床设置37℃,220r/min,培养16h。

1.4.3 发酵培养 将培养好的种子以10%的接种量加入发酵培养基中,发酵培养基置于500mL的挡板瓶中,装液量为50mL,37℃,220r/min发酵培养72h,摇床位置如表1所示,每个摇瓶上标上对应的编号。

表1 下层摇床位置及产量分布图

Table 1 Position distribution and the products of the low shaker

左一列	左二列	左三列	右三列	右二列	右一列
1号20g/L	2号20g/L	3号15g/L	4号15g/L	5号20g/L	6号20g/L
7号15g/L	8号17.5g/L	9号15g/L	10号15g/L	11号17.5g/L	12号15g/L
13号20g/L	14号12.5g/L	15号15g/L	16号15g/L	17号12.5g/L	18号17.5g/L
19号10g/L	20号10g/L	21号10g/L	22号10g/L	23号10g/L	24号10g/L

摇床分上下两层,上层发酵液由于靠近入风口和出风口,发酵液水分较少明显,下摇床时只剩下20mL左右发酵液,没有平行比较的价值。

下层摇床产量如表1所示。中间区域(摇床位置8、9、10、11、14、15、16、17号)发酵液也有部分浓缩,都为35mL;其他摇瓶内发酵液都有40mL。

下层摇床1、2位置和5、6位置为聚谷氨酸产量最高的位置,都达到了20g/L。

2 结果与讨论

2.1 速度矢量分布图分析

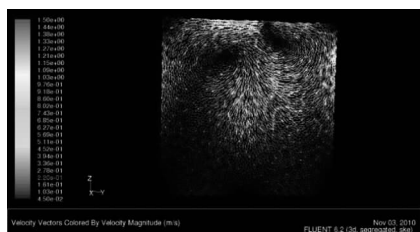


图4 X=0截面速度矢量分布图

Fig.4 X=0 cross-section of the velocity vector distribution

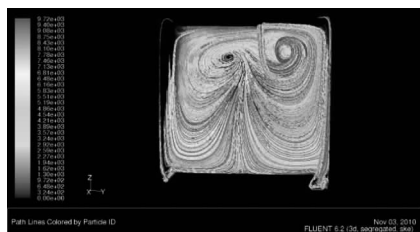


图5 X=0截面速度迹线图

Fig.5 The rate of cross-section X=0 trace chart

图4、图5均为X=0截面图。由速度矢量分布图可以发现,由于X=0截面两侧有两个入风口,导致该截面上形成了一个顺时针大涡流(左侧),一个逆时针大涡流(右侧),两者相互循环,使得摇床上部湍动明显,气流运动性强。故从稳定性上分析,下层摇床的稳定性优于上层摇床。

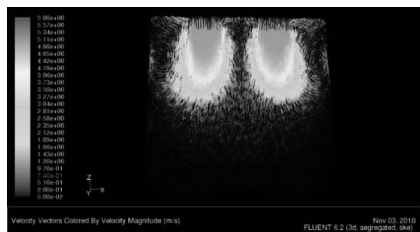


图6 Y=0截面速度矢量分布图

Fig.6 Y=0 cross-section of the velocity vector distribution

观察Y=0截面速度矢量分布图可以发现,由于两个入风口的圆心就位于Y=0截面上,相比于入风口

5m/s的速度,摇床其它区域的速度都不是很大。Y=0截面也受到出风口的影响,因此在入风口两侧,也形成了两个比较小的涡流。综合X截面、Y截面速度分布图可以得出结论,由于出风口、入风口两者的距离较近,导致摇床上部湍流明显,气体流动性大,从菌种培养角度来分析通风性,溶氧分布较好,但是水分蒸发也较快,培养基易被动浓缩。

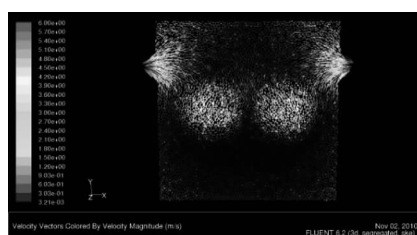


图7 Z=0.25截面速度矢量分布图

Fig.7 Z=0.25 section of the velocity vector distribution

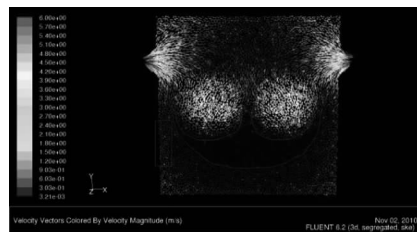


图8 Z=0.25截面速度锚形死区

Fig.8 Z=0.25 the speed of anchor-shaped section of dead zones

观察Z=0.25截面速度矢量分布图可以发现,由于出风口中轴线在该截面上,入风口离该截面距离为0.25,受到气流湍动综合影响最大,所以该截面能清晰地反映Z截面上流场分布。出风口的气体运动速度最大,其次是正对入风口的两个圆形区域。整体分析,该图上部的区域由于受到出风口的作用更大,因此整体速度明显要大于下部的区域。同时,由于入风口与出风口比较近,两者循环形成的湍流运动之间联动,导致在下部形成了一个非常大的锚形死区,如图8所示。该部分区域基本不参与气流运动,相对

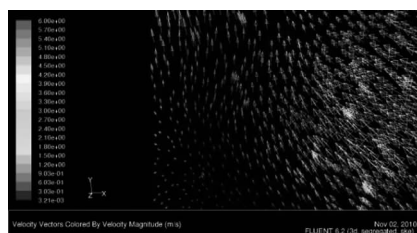


图9 Z=0.25截面速度矢量分布图红框区域放大
Fig.9 Z=0.25 section of the velocity vector map
(red box area is zoomed area)

稳定,同时溶氧条件也是最差的。

将红框区域进行放大,如图9所示,可以清晰地发现涡流空气由于受到壁面作用,有很少一部分流体向下运动,但是很稳定。上部流体已经显示出了整体循环的流动形态,由于摇床壁面的存在给予了一个明显的轴向分量,使下部区域也拥有比较稳定的流动状态。所以Z截面上,上部区域(离出风口比较近的区域)气体流动性比较好,下部区域(离出风口比较远的区域)气体稳定性比较好。

2.2 温度场分布图分析

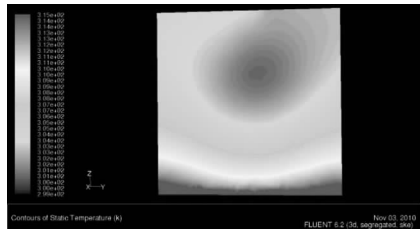


图10 X截面温度分布图

Fig.10 X cross-section of the temperature distribution

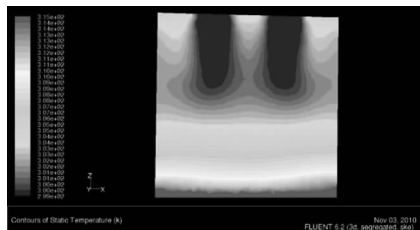


图11 Y截面温度分布图

Fig.11 Y cross-section of the temperature distribution

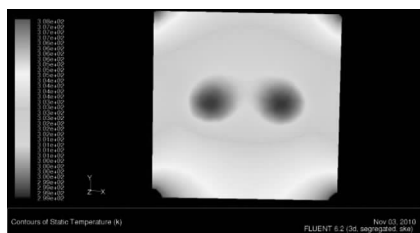


图12 Z截面温度分布图

Fig.12 Z cross-section of the temperature distribution

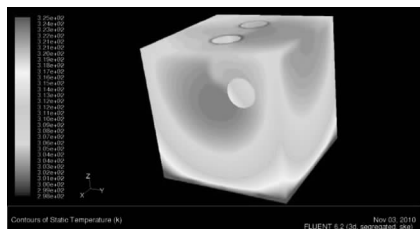


图13 摇床整体温度分布图

Fig.13 The temperature distribution of shaking culture

观察三个截面温度分布图可以发现,由于摇床采用单一平面加热,同时空气的比热容为1.4,导热性非常不好,所以摇床内部的温度分布不均一,温度由底部向上逐渐递减。Z平面上温度分布观察图12,可以发现摇床内部温度分布也不均一,摇床壁面热传递起主要作用,空气对流起辅助作用,由壁面到中心温度梯度变化明显。摇床内部低温区温度在299K

(26℃)上下,壁面高温区温度在308K(35℃)上下。

2.3 摇瓶反应器中流体模拟

结合实验,模拟过程选用500mL摇瓶进行模拟。



图14 摇瓶实际外形和模拟区域示意图

Fig.14 Wave bottle shape and simulation area actual diagram

实验过程中一般采用10%左右的装液量,即装液量50mL,转速200r/min,摇瓶回转一周,内部流体相对示意图见图15。

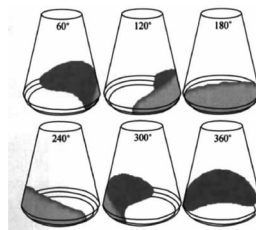


图15 摇瓶旋转一周,内部流体相对位置示意图

Fig.15 Wave bottles, internal fluid rotation position relative to a diagram

3 结论

利用CFD软件模拟地衣芽孢杆菌培养过程中的摇床内部流场和温度场的特性,重点比较摇床内不同位置聚谷氨酸的产量。CFD模拟结果和摇床接种实验均表明,在摇床Y截面(X截面),上层湍流明显,气体流动性大,从菌种培养角度来分析,通风性、溶氧分布较好,但是水分蒸发也较快,培养基易被动浓缩,因此下层摇床的稳定性要优于上层摇床。在摇床Z截面,由于截面中部形成了一个明显的锚形区域,区域下部位置气体流动性非常差,不能提供足够的溶氧,导致聚谷氨酸产量都在10g/L左右。因此,工业发酵过程中,接种一步应尽量选择下层摇床的内侧区域。

在地衣芽孢杆菌接种过程中,摇床内的不同位置确实对菌种有直接的影响。通过实验测定只能得到聚谷氨酸产量的宏观结果,而采用CFD模拟软件则可以得到动态、直观的效果。由此,运用CFD模拟软件可以优化设计摇床振荡器,研究最合适的发酵参数,从而提高聚谷氨酸的产量。

参考文献

- [1] Holland F A, Chapman F S. Liquid mixing and processing in stirred tank[M]. New York Reinhold Publishing Corporation, 1966.
- [2] Wang J K. Industrial Crystallization of present and future of chemical engineering[J]. Chemical Engineering Manual - Crystallization, 1992, 20(2): 57-63.
- [3] Li T M, Huang M. Research on the new para-xylene crystallization process[D]. Shanghai: Tongji University, 2007.

- [4] Bhatt Ret. Synthesis and in vivo antitumor activity of poly(γ -glutamic acid) conjugates of 20S-camptothecin[J]. Med Chem, 2003, 46(1):48-54.
- [6] Kim K S, Graham N. Controlled release behavior of prodrugs based on the biodegradable poly(γ -glutamic acid) microspheres[J]. Polymer Journal, 1999, 31(5):813-816.
- [7] Ashiuch M, Misono H. Biochemistry and molecular genetics of poly- γ -glutamate synthesis[J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2002, 59:9-14.
- [8] Sikdar S K, Randolph A D. Secondary nucleation of two fast

- growth systems in a mixed suspension crystallizer magnesium sulfate and citric acid water systems[J]. 1976, 22(1):110-117.
- [9] Kubota H. Production of poly(γ -glutamic acid) by *Bacillus subtilis* F-2-01[J]. Biosci Biotech Biochem, 1993:1212-1213.
- [10] Ogawa Y, Yamaguchi F, Yuasa K. Efficient production γ -polyglutamic acid by *Bacillus subtilis* (natto) in Jar fermenters[J]. Biosci Biotech Biochem, 1997, 61(10):1684-1687.
- [11] Gonzales D, Fan K, Sevoian M. Synthesis and swelling characterizations of a poly(γ -glutamic acid) hydrogel[J]. Polym Sci Part A: Polym Chem, 1996, 34:2019-2027.

(上接第214页)

在实验所涉及的的质量浓度范围内,研究的抗氧化剂所表现出来的抗氧化能力均与其质量浓度呈量效关系,随抗氧化剂质量浓度的增大,其抗氧化效果越明显,但其抗氧化活性低于焦性没食子酸。

2.4 头孢霉AL031次生代谢产物抑菌活性

从表4可看出,头孢霉AL031菌次生代谢产物对受试的几种细菌均有一定的抑制作用,且相差不大,但不是很强,表明头孢霉AL031菌次生代谢产物对革兰氏阴性菌和阳性菌均有抑制作用,具有广谱抑菌作用。

表4 头孢霉AL031真菌次生代谢产物对5种菌的抑制作用

Table 4 Inhibitory effects of *Cephalosporium* sp. AL031 Secondary metabolite against five common bacterial strains

	巨大芽孢杆菌	变形杆菌	佛氏痢疾杆菌	藤黄球菌	绿脓杆菌
抑菌圈直径(mm)	10.5	12	11.5	10	11

注:载药纸片直径为9mm;提取物浓度为100g/L。

3 结论

以清除DPPH自由基的能力为评价指标,确定了头孢霉AL031真菌固体发酵的最佳时间为9d,最佳提取溶剂为乙酸乙酯。DPPH法和光敏化合物微生物法测定结果表明,头孢霉AL031真菌次生代谢产物具有较强的清除DPPH自由基和单线态活性氧能力。最佳培养条件下的提取物在DPPH法中 EC_{50} 值为 $5.84\mu\text{g/mL}$,其抗DPPH自由基活性略微比 V_c 和焦性没食子酸低(EC_{50} 值分别为 $2.78\mu\text{g/mL}$ 和 $1.59\mu\text{g/mL}$)。同时在微生物纸片法中头孢霉AL031真菌次生代谢产物对巨大芽孢杆菌、变形杆菌、佛氏痢疾杆菌及绿脓杆菌显示了良好的抑制作用。头孢霉AL031真菌可大规模固体培养,且培养基价格低廉,培养条件容易控制,其次生代谢产物有望开发为天然抗氧化剂,并有可能开发为活性抗氧化单体的天然来源。

参考文献

- [1] 毕韵梅,陈远腾,谢金伦,等. 头孢霉AL031菌株液体培养工艺的研究[J]. 中国医药工业杂志, 2001, 32(11):488-489.
- [2] 毕韵梅,包蕾,鲍伟,等. 头孢霉AL031真菌次生代谢产物的抗菌活性研究[J]. 中药材, 2004, 27(4):270-272.
- [3] 毕韵梅,汪汉卿,陈远腾,等. 头孢霉AL031真菌丝体化学成分研究(I) [J]. 中药材, 2001, 24(8):568-569.
- [4] 毕韵梅,陈远腾,谢金伦,等. 头孢霉AL031真菌丝体化学成分研究(II) [J]. 中药材, 2003, 26(1):21-22.

- [5] Bi Yun-mei, Bi Xu-Bin, Zhao Qian-Rong, et al. Four novel dihydroisocoumarin(=3,4-Dihydro-1H-2-benzop- γ -ran-1-one) glucosides from the fungus *Cephalosporium* sp. AL031 [J]. Helvetica Chimica Acta, 2004, 87:2890-2895.
- [6] Bi Yun-mei, Bi Xu-Bin, Zhao Qian-Rong, et al. A new Pyrone derivative from fungus *Cephalosporium* sp. AL031 [J]. Chinese Chemical Letters, 2006, 17(3):344-346.
- [7] Bi Yun-mei, Bi Xu-Bin, Fang A, et al. Metabolites from the fungus *Cephalosporium* sp. AL031 [J]. Archive of Pharmacal Research, 2007, 30(3):267-269.
- [8] Bi Yun-mei, Bi Xu-Bin, Chen Yuan-Teng, et al. Two new dihydroisocoumarins from the fungus *Cephalosporium* sp. AL031 [J]. Natural Product Research, 2005, 19(4):425-428.
- [9] 陈红惠,彭光华. 雪莲果叶酸抗氧化能力的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(1):103-105.
- [10] 但飞君,鄢文芳,褚立军,等. 红毛七乙醇提取物和不同极性部位抗氧化活性的研究[J]. 食品工业科技, 2011, 32(1):68-70.
- [11] Saint-Cricq De Gaulejac N, Provost C, Vivas N. Comparative study of polyphenol scavenging activities assessed by different methods[J]. J Agric Food Chem, 1999, 47(2):425-431.
- [12] Yumiko Yoshiki, Takashi Kahara, Kazuyoshi Okubo. Super oxide- and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical scavenging activities of soyasaponin β related to gallic acid[J]. Bioscience, Biotechnolog and Biochemistry, 2001, 65(10):2162-2165.
- [13] Irene Parejo, Carles Codina, Christos Petrakis, et al. Evaluation of scavenging activity assessed by Co(II) EDTA-induced luminol chemiluminescence and DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) free radical assay[J]. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 2000, 44(3):507-512.
- [14] 黄相中,李聪,古昆,等. 元宝枫叶提取物的稳定性及抗氧化活性研究[J]. 云南大学学报, 2001, 24(8):568-569.
- [15] 郭亚力,李聪,欧灵澄,等. 元宝枫黄酮提取物的抗氧化性能[J]. 化学研究, 2004, 15(2):42-44.
- [16] 徐叔云,卞如濂,陈修,等. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 1982:59-78.
- [17] Cruickshank, Duguid R, Marion J P, et al. Medicinal microbiology[M]. London: Churchill Livingstone, 1965.
- [18] Biljana Bozin, Neda Mimica-Dukic, Mirjana Bogavac, et al. Chemical composition, antioxidant and antibacterial properties of achillea collina becker ex Heimerl s.l. and A. pannonica Scheele essential oils[J]. Molecules, 2008, 13(9):2058-2068.