文章编号:1673-1689(2007)05-0014-06

新型搅拌器对黄原胶发酵的影响

盛春琦, 林 剑, 徐世艾
(烟台大学 化工制造工程重点实验室,山东 烟台 264005)

摘 要:设计了一组由六叶布鲁马金与下压式双折叶圆盘涡轮搭配组合而成的新型搅拌器,该搅拌器在冷模实验状态下具有较高 K_{La} 值和气含率。将该新型搅拌器应用于机械搅拌式生物反应器黄原胶的发酵,针对发酵过程中黄原胶的浓度、粘度、淀粉含量等参数的变化与传统的六直叶圆盘涡轮进行了对比研究,并研究了不同的挡板条件对黄原胶发酵的影响。结果表明:新型搅拌器能够提高黄原胶发酵液中黄原胶的浓度和粘度、降低发酵液中残留淀粉的浓度,并明显地减少了高粘性发酵液静止区的体积;挡板的缩小或将折除,更适合于黄原胶高粘性物系的机械搅拌式生物反应器的发酵。

关键词:六叶布鲁马金;下压式双折叶圆盘涡轮;六直叶圆盘涡轮;挡板;黄原胶发酵
中图分类号:TS 202.2 **文献标识码**:A

The Influence of New Impeller on Xanthan Gum Fermentation

SHENG Chun-Qi, LIN Jian, XU Shi-ai
(Key Laboratory of Chemical Manufacture Engineering Lab, Yantai University, Yantai 264005, China)

Abstract: A new agitator was designed which consisted of six blade Brumajin and double-folded blade downflow disc turbine. This agitator had high K_{La} and gas hold-up in cold-flow model test. The new agitator was used for xanthan gum fermentation in a 30 L mechanical stirred fermentor, and the variation of parameters during fermentation such as concentration of Xanthan gum, viscosity and content of starch were compared with conventional six flat bladed disc turbine. The effects of different baffles on xanthan gum fermentation were also studied. The results showed the new agitator can enhance the concentration of xanthan gum and the viscosity of the broth. It can also reduce the concentration of starch and the volume of the still area of high viscose broth obviously. The new agitator was fit for fermentation of high viscous substance such as xanthan gum by the reducing or removing the blades.

Key words: six blade Brumajin; double-folded blade downflow disc turbine; six flat blade disc turbine; baffle; xanthan gum fermentation

---

黄原胶(Xanthan gum),又称黄胶、汉生胶、黄单细胞多糖,是野油菜黄单胞菌(*Xanthomonas campestris*)以碳水化合物为主要原料,经发酵工程产生的一种用途广泛的微生物胞外多糖,简称 XC。

收稿日期:2007-01-23.
基金项目:国家自然科学基金项目(20476086, 20476086,10272093),国家 863 计划重点资助项目(2006A030203)
作者简介:盛春琦(1981-),女,山东烟台人,工学硕士. Email:shengchunqi@hotmail.com
通讯作者:林 剑(1963-),男,山东烟台人,副教授,主要从事微生物发酵研究.

万方数据

它具有独特的流变性、良好的水溶性、对热及酸碱的稳定性、与多种盐类有很好的相容性，作为增稠剂、悬浮剂、乳化剂、稳定剂，广泛应用于食品、石油、医药等 20 多个行业，是目前世界上生产规模最大的微生物多糖。我国黄原胶的研究开始于 20 世纪 80 年代初期，分别由中科院北京微生物研究所、南开大学、山东大学等单位筛选得到了不同的黄原胶产生菌，1989 年南开大学利用 *Xanthomonas campestris* N. K-01 菌株首先实现了黄原胶的工业化生产，到 2005 年底，全国规模化生产企业已接近 20 家，总产量达到 10 万 t 以上。黄原胶在发酵过程中其生物合成非常复杂，且发酵液具有很高的粘度，是典型的假塑性流体[1]。特别是发酵中后期，随着发酵液粘度的增加，发酵过程中氧的传递、气液混合以及热量的传递等都受到了显著的影响，这一问题是目前提高黄原胶发酵生产水平的主要制约因素，而且对黄原胶的质量诸如：粘度、相对分子质量分布、流变特性等也存在不良的影响[2-4]。改变目前国内黄原胶生产普遍使用的六直叶涡轮搅拌系统，延长气体在罐内的停留时间，提高混合效率，开发适合黄原胶高粘性物系发酵的新型搅拌系统，对于解决黄原胶发酵过程中存在的上述问题，有着重要的现实意义。

作者在黄原胶水溶液的冷模实验状态下，分别对底层桨采用六直叶圆盘涡轮、六凹叶圆盘涡轮、六叶布鲁马金，上层桨采用六斜叶圆盘涡轮（上推式和下压式）、双折叶圆盘涡轮（上推式和下压式）等几种桨型组合进行了系统的研究，选出了一组消耗功率较小，而气含率和 KLa 值较高的桨型组合——上层桨为下压式双折叶圆盘涡轮，下层桨为六叶布鲁马金，将该桨型组合应用于机械搅拌式生物反应器黄原胶的发酵，针对发酵过程中黄原胶的浓度、粘度、淀粉含量等参数的变化与传统的六直叶圆盘涡轮进行了对比研究，并在此新型搅拌桨状态下初步探讨了挡板、挡板宽度对黄原胶发酵的影响，以期得到一组适合黄原胶等高粘性物系发酵的新型搅拌桨，进而开发适合于黄原胶等高粘性物系发酵的新型机械搅拌式生物反应器。

1　材料与方法

1.1　菌种

野油菜黄单胞菌（*Xanthomonas campestris*）XG-101，作者所在实验室选育的优良菌种。

1.2　培养基

斜面菌种培养基：牛肉膏蛋白胨培养基 。

种子培养基：$(NH_4)_2SO_4$ 1 g/L，$MgSO_4$ 0.12 g/L，$CaCO_3$ 2 g/L，酵母浸粉 2.4 g/L，淀粉 10.6 g/L，葡萄糖 2.1 g/L，初始 pH 7.6。

发酵培养基：淀粉 40 g/L，豆粉 8 g/L，$CaCO_3$ 2 g/L，初始 pH 7.6。

1.3　生物反应器及其运行条件

机械搅拌式生物反应器：MSJ- U_3 型，MARUBISHICO 公司产品。反应器的有效容积为 30 L，配备有两层搅拌桨，$T/D=0.5$，$D=0.3$ m；发酵液的溶氧浓度 DO 值采用原电池型溶氧电极插于两层搅拌桨之间自动检测；采用质量分数 1% 的 H_2SO_4 溶液和 1% 的 NaOH 溶液自动控制调节发酵液的 pH 值；121 ℃灭菌 30 min，冷却后按 10% 的接种量接入种子发酵液，发酵温度 26 ℃，转速 800 r/min，通气比为：1∶1，发酵周期 90 h。

1.4　检测方法

1.4.1　发酵液粘度的测定　用 NDJ—1 型旋转粘度计，室温，30 r/min 下测定。

1.4.2　黄原胶质量浓度的测定　工业乙醇（体积分数 95%）沉淀出胶体，洗涤后 70 ℃真空干燥后称重。

1.4.3　还原糖、淀粉浓度的测定　斐林试剂法[5]。

1.4.4　黄原胶中丙酮酸含量的测定　Duckworth 和 Yaphe 的酶法测定。

1.5　搅拌器的型式

新型组合搅拌器和传统搅拌器的结构及其流场描述如图 1 和图 2 所示。

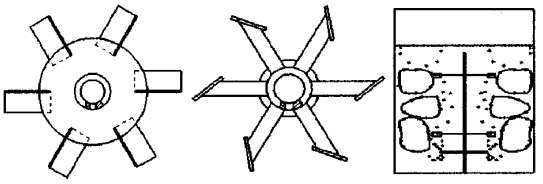


图 1　新型搅拌器的结构及其流场描述

Fig. 1　Structure of the new agitator and the description of its flow field

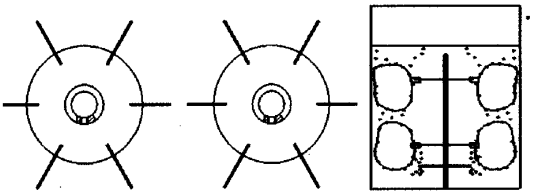


图 2　传统搅拌器的结构及其流场描述

Fig. 2　Structure of the conventional agitator and the description of its flow field

万方数据

2 结果与讨论

2.1 不同搅拌桨对发酵液黄原胶浓度的影响

图3可见，新桨(以下称改进桨)体系下黄原胶稳定产胶期提前，整个发酵过程中黄原胶浓度始终高于原桨(以下称传统桨)体系。改进桨的上层采用下压式双折叶圆盘涡轮、下层采用六叶布鲁马金，两种桨都能在产生径向流的同时又能产生轴向流，尤其是布鲁马金属于剪切循环兼顾型叶轮，适用于既需要一定剪切、又需要高循环的场合，而下压式双折叶圆盘涡轮在产生很强剪切流的同时又能产生一定的轴向流，强化了混合效果，较好地满足了黄原胶发酵液对较大流动循环量的需求，改善了反应器内部的传质混合效果。

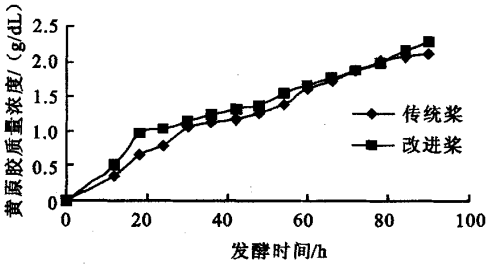


图3 发酵液中黄原胶质量浓度随时间的变化

Fig. 3 Relationships between the concentration of xanthan gum in the broth and fermentation time

黄原胶属次生代谢产物，发酵动力学为菌株生长与产物合成非偶联类型，与抗生素和微生物毒素等物质合成代谢类似，代谢产物的合成是在菌体浓度接近或达到最高后才开始的[6]。改进桨体系下良好的传质混合效果缩短了菌体的增殖期，发酵液中黄原胶浓度的稳定增长期提前，明显早于传统桨体系。黄原胶发酵过程初期表现为低粘度的牛顿体系，随着产物的形成和积累，发酵液粘度渐增，在后期呈现为高粘度的假塑性非牛顿体系，限制了氧的传递和其他营养物质的交换，影响黄原胶产量的进一步提高。78 h后发酵液中黄原胶浓度继续增加，改进桨体系下黄原胶浓度的增长幅度高于传统桨。改进桨组合较好的气液分散效果，较高的气含率，较大的传质系数，气体在罐内较长的停留时间，在一定程度上克服了发酵后期存在的上述问题。

2.2 不同搅拌桨对发酵液粘度的影响

图4可见，改进桨体系下发酵中后期黄原胶发酵液的粘度高于传统桨体系发酵液的粘度。通常黄原胶发酵液的粘度与黄原胶的浓度、平均相对分子质量之间有着正相关的关系。对照图3可以看出，改进桨体系下发酵液中黄原胶浓度的增加与其粘度的增加均高于传统桨体系，根据黄原胶发酵液粘度与黄原胶浓度、平均相对分子质量间的正相关关系，只有在平均相对分子质量没有降低的条件下，黄原胶发酵液的粘度才会随其浓度的增加而增加，而改进桨体系下发酵液中黄原胶浓度与其粘度的同时增加也正说明了在此桨体系下并没有使黄原胶的平均相对分子质量降低。

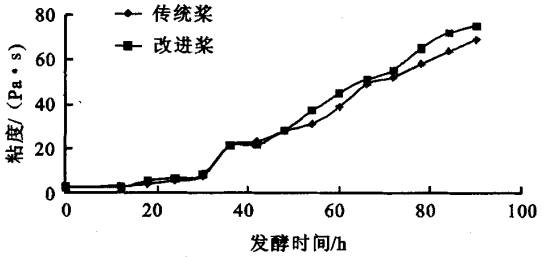


图4 发酵液黏度随时间的变化

Fig. 4 Relationships between the viscosity and fermentation time

2.3 搅拌对发酵液中碳源质量浓度的影响

图5可见，改进桨体系下最终发酵液中淀粉浓度低于传统桨体系，而葡萄糖质量浓度基本相同。碳源不仅是合成黄原胶的基质，也是菌体增殖的物质基础，黄原胶的产量与碳源种类和底物质量浓度有着直接的关系。通常发酵液中淀粉质量浓度、葡萄糖质量浓度、产物的质量浓度之间存在着一种动态平衡。以淀粉质为原料的黄原胶发酵初始，由于淀粉的液化，培养基中存在少量的葡萄糖，此后随着菌体的迅速繁殖，其分泌的胞外淀粉酶活力也随着增加，淀粉被逐渐水解为葡萄糖，发酵液中淀粉浓度随之降低，葡萄糖质量浓度增加。改进桨体系下前36 h淀粉质量浓度下降迅速，相对应的葡萄糖质量浓度在此段时间内出现了最大值，而传统桨体系下则无此明显下降趋势，淀粉浓度始终处于改进桨之上，葡萄糖质量浓度亦低于改进桨体系。36 h后菌体增殖缓慢，甚至停止增殖，菌体由生长型转为产物积累型，淀粉继续被胞外淀粉酶水解成葡萄糖，此时大量的葡萄糖被用于黄原胶的生物合成，至到发酵结束。

在任何微生物发酵过程中，根据生物反应动力学原理，当发酵液中的底物下降到一定浓度时，菌体代谢速率非常缓慢，在工业生产中可以结束发酵。本研究中黄原胶发酵结束时改进桨体系与传统桨体系发酵液中的残糖质量浓度基本相同，均下降到0.5 g/dL以下。但是，对照图3可以看出，改进桨体系下发酵液中的黄原胶质量浓度明显的高于传统桨体系。图5可见，改进桨体系下发酵液中残留淀粉质量浓度始终低于传统桨体系，直到发酵

万方数据

结束。这是由于改进桨良好的混合传质效果，强化了胞外淀粉酶与底物淀粉的充分接触，有利于淀粉的快速水解，也就是说，改进桨体系条件下多合成的这部分黄原胶所需要的葡萄糖正是来自于良好的淀粉水解。培养基中的淀粉最大程度的水解为合成黄原胶所需要的葡萄糖，既有利于黄原胶产率的提高，又有利于黄原胶的提取。

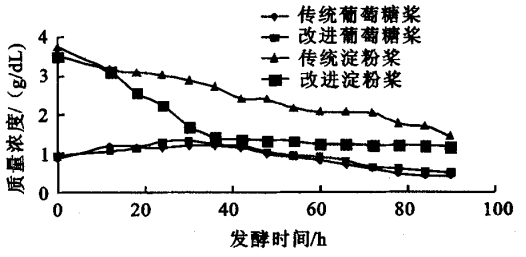


图 5　发酵过程中碳源质量浓度的变化

Fig. 5　Variation of carbon sources during fermentation

2.4　不同搅拌桨对于发酵液混合的影响

在黄原胶的生物发酵过程中，由于黄原胶具有高粘度的特性，不但导致了其发酵中后期粘度过大，给发酵过程中氧的传递、气液混合以及热量的传递等带来了很大的困难[8]，而且在靠近反应器内壁处还存在一个基本上静止不动的发酵液区域，在此区域内，氧和其他营养物质的传递、交换更为困难，导致了细胞活力的下降甚至细胞死亡。研究表明，发酵结束后，无论是在改进桨体系下还是在传统桨体系下，运动区与静止区的发酵液中黄原胶质量浓度、粘度、残糖质量浓度等各项参数都有着明显的差异，见表 1。

表 1 数据表明，无论是在改进桨体系下还是在传统桨体系下，发酵中后期均有发酵液静止区出现，而且其体积均随发酵的进行而增大；运动区发酵液中黄原胶质量浓度、粘度、丙酮酸的质量浓度始终高于静止区，而葡萄糖质量浓度和淀粉质量浓度则低于静止区，运动区黄原胶的综合指标明显高于静止区。

表 1　运动区和静止区发酵液中各项参数的差异

Tab. 1　Difference of parameters between motive area broth and still area broth

桨型		黄原胶质量浓度/(g/dL)	粘度/(Pa·s)	葡萄糖质量浓度/(g/dL)	淀粉质量浓度/(g/dL)	丙酮酸质量浓度/(g/dL)
传统桨	运动区	2.17	69	0.396	1.371	2.371
	静止区	2.11	68	0.410	1.543	1.981
改进桨	运动区	2.39	83	0.480	1.188	2.373
	静止区	2.27	78	0.520	1.268	2.010

搅拌操作时，用搅拌器对低粘度互溶液造成湍流并不困难，但粘度达到较高水平后，由于粘滞力的影响，就只能出现层流状态。尤其困难的是，这种层流也只能出现在搅拌器附近，离桨叶稍远些地方的高粘度液体仍是静止的。这样就很难造成液体在搅拌设备内的循环流动，即在设备内会有死区存在，对混合、分散、传热、反应等各种搅拌过程十分不利。所以高粘度液体搅拌的首要问题就是要解决流体流动与循环的问题，设法使搅拌器推动更大范围的液体[9]。如图 6 所示，改进桨体系由于较大的轴向循环量推动了更大范围的液体，促进了反应器内部的总体混合，其静止区明显减少。评价任何生物反应过程，其最终的产率或者底物—产物转化率都是一个重要指标，甚至是决定性指标。如上所述改进桨能提高黄原胶发酵液的质量浓度，必然增加了黄原胶的糖胶转化率，同时又由于其静止区的体积减少，也带来了黄原胶产率的增加，并且提高了高质量黄原胶的含量。因次可以说此种桨型组合应用于黄原胶等高粘性物系的发酵，在一定程度上能够克服发酵后期粘度过高而带来的氧和其他营养物质的传递、交换困难的难题，适合于高粘性物系的发酵。

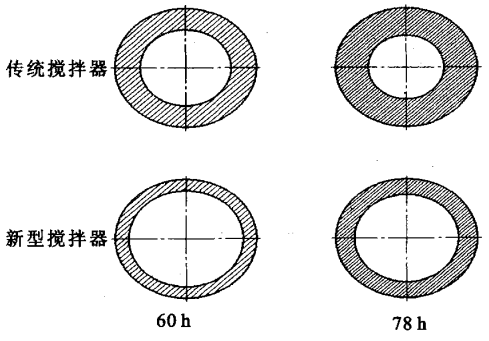


图 6　两种搅拌器在发酵后期产生相对静止区范围的比较

Fig. 6　Comparison of the comparative still area of the two agitators in later fermentation period

2.5　挡板对黄原胶发酵的影响

在相同的发酵条件下，研究了新桨体系不同的

万方数据

挡板宽度、有无挡板3种情况黄原胶发酵过程中各项参数的变化，其结果如图所示。

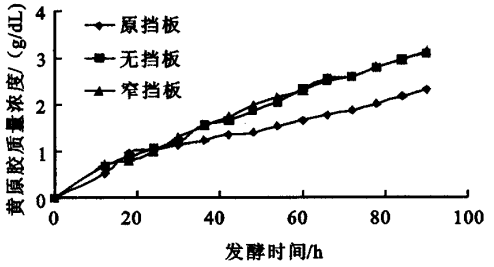


图7 发酵液中黄原胶质量浓度与发酵时间的关系

Fig. 7 Relationships between the concentration of xanthan gum in the broth and fermentation time

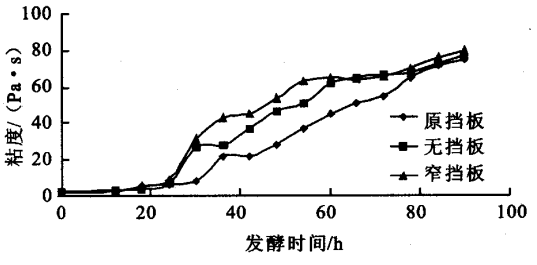


图8 发酵液黏度与发酵时间关系

Fig. 8 Relationships between the viscosity and fermentation time

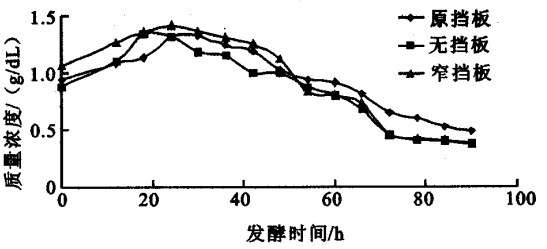


图9 发酵过程中葡萄糖质量浓度的变化

Fig. 9 Variation of glucose during fermentation

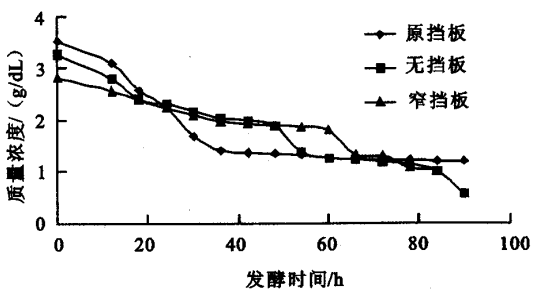


图10 发酵过程中淀粉质量浓度的变化

Fig. 10 Variation of starch during fermentation

上述各项数据表明：对于黄原胶发酵，在改进桨体系下，窄挡板和无挡板条件下发酵液中黄原胶质量浓度和粘度明显高于原挡板条件；发酵结束时窄挡板和无挡板条件下葡萄糖质量浓度和淀粉质量浓度亦明显低于原挡板条件。对于窄挡板和无挡板这两种状态，无挡板条件下发酵液静止区的体积小于窄挡板条件，并且发酵液静止区体积的大小与挡板宽度之间还存在着正相关的关系，挡板越宽，其静止区体积越大。

通常，对于低粘度物系，为了消除搅拌容器内液体的打旋现象，使被搅物料能够上下轴向流动，需要在搅拌容器内加入若干块挡板。安装在筒体内壁的挡板可把回转的切向流动改变为径向和轴向流，较大地增加了流体的剪切强度，增大湍动程度，改善主体循环，促进全釜的均匀混合；同时还能降低搅拌载荷的波动，使功率消耗保持稳定。但是，许多研究表明，当物料的粘度增加时，挡板的宽度可相应的减少，当粘度达到10 Pa·s时，可以不再按装挡板[8]。对于黄原胶这种高粘性物系，在发酵初期，由于没有黄原胶产生或产生的量很少，发酵液的粘度较低，搅拌器很容易在全罐内形成湍流，从而达到全罐的混合。但是随着发酵的进行，黄原胶浓度不断增大，发酵液变得越来越粘稠，搅拌器的工作状态逐渐由湍流域转变为过渡流域或层流域，这时仅叶轮周围的液体随叶轮旋转。由于粘滞力的影响，随着离搅拌器距离的增加，流体速度下降得越来越明显，此时罐壁处的发酵液流速更小。当在罐壁处加装挡板后，以较低速度运动的发酵液迅速在挡板前后形成停滞区域，此时挡板的存在严重影响了全罐的混合，这对黄原胶的发酵生产是十分不利的。因此，缩小挡板宽度或将挡板拆除后，相对于原有挡板条件下发酵液更容易形成规整的循环流，有利于整个发酵液的均匀混合，适合于黄原胶这种高粘性物系的发酵。这一研究结果，与李卫旗，姚恕研究的在传统平叶搅拌器发酵设备中适当减小挡板数目或不设挡板更有利于黄原胶高粘性物系发酵的研究结果一致。[9]

3 结 语

1）新型桨组合较大的轴向循环量、优良的传质混合效果缩短了黄原胶进入稳定产胶期所需的时间，提高了整个发酵过程黄原胶的浓度。

2）新型桨组合较高的传质系数、较好的宏观稳定流型，提高了底物淀粉的转化率，增加了发酵液中黄原胶的质量浓度，减少了最终发酵液中淀粉的残留量。

3）新型桨组合推动了更大范围的液体，降低了

万方数据

静止区的厚度，提高了最终黄原胶的产率，增加了高质量黄原胶的组分。

4）缩小挡板宽度或将挡板拆除，易于形成规整的循环流，有利于整体的均匀混合，更适合于黄原胶高粘性物系的机械搅拌式生物反应器的发酵。

参考文献(References)：

[1] 徐世艾. 黄原胶的制备[J]. 食品与发酵工业，2000. 3，35－39.
XU Shi-ai. Preparation of Xanthan Gum[J]. **Food and Fermentation Industries**, 2000, 3, 35－39. (in Chinese)

[2] Amanullah A. Tuttiett B, Nienow A W. Agitator Speed and Dissoved Oxygen Effect in Xanthan Fermentation[J]. **Biotechnology and Bioengineering**, 1978, 39, 263－269.

[3] De V L, Aan L J, Vandanmme, E J. Two Step Fermentation Process for Improved Xanthan Production by *Xanthomonas campestris* NRRL-B4159[J]. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, 1987, 39, 263－273.

[4] SHU Chin-hang, YANG Shang-tia. Kinetic and Modeling of Temperature Effects on Batch Xanthan Gum Fermentation [J]. **Biotechnology and Bioengineering**, 1991, 37, 567－574.

[5] 天津轻工业学院，大连轻工业学院，无锡轻工业学院，等. 工业发酵分析[M]. 北京：轻工业出版社，1991. 16－17.

[6] 王岁楼，李志. 微生物动力学模式及其在工业发酵中的应用[J]. 工业微生物，1995. 25，30－32.
WANG Shui-long, LI Zi. Microbial kinetic model and application in industrial fermentation[J]. **Industrial Microbiology**, 1995, 25, 30－32. (in Chinese)

[7] 林剑，郑舒文，徐世艾. 搅拌与溶氧对黄原胶发酵的影响[J]. 中国食品添加剂，2003，12，63－65.
LIN Jian, ZHENG Su-wen, XU Shi-ai. The effect of agitator speed and dissolved oxygen during Xanthan gum's fermentation[J]. **China Food Additives**, 2003, 12, 63～65. (in Chinese)

[8] 陈志平，张序文，林兴华. 搅拌与混合设备设计选用手册[M]. 北京：化学工业出版社，2004. 6－190.

[9] 李卫旗，姚恕. 反应器结构对黄原胶发酵的影响[J]. 食品与发酵工业. 1996. 1，28－31.
LI Wei-qi, YAO Shuo. Effect of reactor structure on Xanthan gum fermentation process[J]. **Food and Fermentation Industries**, 1996, 1, 28－31.

（责任编辑：朱明）

万方数据