

# 一次性生物反应器中搅拌桨的应用研究

艾小宁

上海乐匀信息技术有限公司 20007

**【摘要】** 生物科技作为最近今年的新型技术,产生了巨大社会价值。主要应用设备为生物反应器,普遍为传统机械搅拌式生物反应器,在动物细胞培养中收到较好的效果,但也暴露出一些缺陷。如设备生产周期长,无法达到新产品的快速使用。为了实现技术改革,在传统搅拌生物反应器的基础上研发出搅拌式一次性生物反应器。本文结合一次性生物反应器的特点,重点分析搅拌桨的应用。

**【关键词】** 生物搅拌器; 搅拌桨; 生物反应器; 斜插式

## Application of a mixing paddle in a disposable bioreactor

Ai Xiaoning Shanghai Leyun Engineering Technology Co., Ltd. 20007

**【Abstract】** Biotechnology, as a new technology recently this year, has produced great social value. The main application equipment is the bioreactor, which is generally the traditional mechanical stirring bioreactor, which has received good results in animal cell culture, but also exposed some defects. If the equipment production cycle is long, it cannot achieve the rapid use of new products. In order to realize the technical reform, the mixing disposable bioreactor was developed on the basis of the traditional stirring bioreactor. This paper combines the characteristics of disposable bioreactor, and focuses on the application of mixing paddle. Key words: biological agitator; mixing propeller; bioreactor; oblique plug

**【Key words】** biological agitator; mixing propeller; bioreactor; oblique plug

本文在研究过程中,结合3L一次性搅拌式生物反应器的试验数据,模拟反应器中关于内流情况的相关指标等。在研究过程中以3L作为主要参照,添加对照相关数据,并记录相关指标。得到模拟实验的可靠性。基于此,对10L的斜插式搅拌生物反应器展开CFD模拟,使搅拌装置对细胞培养效果更加理想。分析各自的缺点,最后得到斜插式搅拌桨参数,将其应用到一次生物反应器中使用,进而证明斜插式反应器的应用稳定性。

## 1. 一次性生物反应器的研究综述

目前国内生物审查企业都将一次性生物反应器应用到生产治疗抗原、疫苗筛选中。体积最小和最大型号分别有10ML和2000ML。当前在细胞配糖中得到广泛应用的一次性生物反应器中包含了搅拌式与轨道振摇式、波浪混合式一次性生物反应器包含3类。

### 1.1 波浪混合式一次性生物反应器

此生物反应器是通过摇摆来带动液体,使之生成波浪,从而确保液体中的颗粒物与细胞悬浮起来,并处于均匀分布状态。其优势现在剪切力小、溶氧佳且运行较为平和,能有效优化细胞状态,能提升细胞密度。正因为这些优点,使之得到广泛应用,特别是在对剪切力较为敏感的昆虫和哺乳动物细胞培养中得到普及应用。

### 1.2 搅拌式一次性生物反应器

搅拌式一次性生物反应器的设计原理是基于传统搅拌式生物反应器的,唯一的不同在于培养容器主要是塑料材质,是一次性生物反应带。该反应器内配置了搅拌桨叶,其周围的剪切力较强。通常来说,这种生物反应器适合用于对

剪切力不敏感的细胞进行培养,其工作原理与传统反应器相似,可以用于扩大化培养。

### 1.3 轨道振摇式一次性生物反应器

这种感应器的工作原理是围以中心轴为中心旋转,器皿中的溶液因受离心力作用而了出现旋涡,与容器表层接触之处会形成薄膜,因其与外部氧气接触,从而能立刻实现饱和状态。在离心力作用下,溶液薄膜处的氧会向薄膜内转移,这就使该生物反应器的氧气传输能力较强。因为此生物反应器的换气装置并非是使气体直接输入到溶液中,所以,为了尽可能的避开泡沫现象,容器内的溶液始终处于层流状流动态,其内部的剪切力较小。

## 2. 搅拌桨安装形式与桨叶结构的研究

### 2.1 搅拌桨安装形式

搅拌桨安装形式的区分是由安装位置进行分类的。分为中心搅拌安装、偏心式搅拌安装和斜插式搅拌安装。

中心式搅拌在安装过程中,都是结合设备中轴处配置并实施搅拌轴进行的,安装过程中以对称分布作为重点,在研究实施的过程中使搅拌的周向对称性达到标准要求,在搅拌时,流体过程以径向平面流动作为重点,且流动性以及中心对称性具有稳定性的效果。不同区域包含的设备流体循环是隔离的。

偏心式搅拌安装是选择器皿偏心处配置搅拌轴。搅拌效果类似于安装挡板,此安装形式是避免液体在搅拌装置周围出现涡流回转区域。安装搅拌轴偏离容器中心轴线,搅拌过程中中心流中的对称性存在问题,流体各区域的流动属性也会存在变化,导致流体运动变得毫无规律,形成溶液深层上

的流体相对运动,进而强化液层间的湍动,最终使液体的混合效果比较,其中搅拌轴主要是偏心安装的,设备在运转时易出现振动不稳定的现象。

斜插式搅拌安装是采取不对称的安装形式使器皿中的流场结构变得不对称。在此安装模式下,搅拌轴一般是从上部或底部侧方向上倾斜插至设备内,从而确保器皿内的液体循环流动。此安装模式的安装结构相对简单,操作比较容易,应用范围很广泛,能在很大程度上提升流体的混合效果

当前关于搅拌桨安装形式的研究主要聚焦于搅拌桨中心式与偏心式安装两个类型,对于斜插式搅拌桨的特性研究并不多。本研究试着探索斜插式搅拌桨在一次性生物反应器中的应用,分析其搅拌的优缺点。

## 2.2 搅拌桨叶的结构

搅拌桨叶能促进生物反应的同时也具有一定的抑制作用。一者,搅拌桨叶在旋转时能带动器皿内的液体运动,进而使溶液充分混合,对器皿中的细胞生长及产物生成有利;再者,搅拌桨叶旋转会使器皿内的液体形成速度梯度,生成剪切力,在其达到一程度,也就是超过细胞承受上限时就会导致细胞受损,这样必然会对细胞的培养生长不利。搅拌桨叶的结构和运转速度直接影响混合效果和剪切力大小,通常这二者呈负相关关系,换言之,即便混合效果很好的运转也会生成很大的剪切力,而在剪切力降低的情况,液体的混合效果也会存在变化。设计搅拌设备,要确保器皿中的溶液充分混合的同时,也要最大化的降低剪切力。

因此,设计搅拌式生物反应器。首先要选择最理想的搅拌桨叶,其结构如何直接影响生物反应和产物产率。从搅拌带动液体流动的状态上来说,可将桨叶分成轴向流、径向流和混合流桨叶三个类型。第一类桨叶在运转时会使液体形成一个围绕搅拌轴上下流动的流场;第二类桨叶则会使液体形成一个推向器皿内壁的流场,第三类桨叶则形成以上两种不同的流场。

轴向流桨叶以螺旋搅拌桨最具代表性。其桨叶背面为凸面设计,这是一个典型特征,可形成较理想的轴向流,并且产生的剪切力较小,但缺点在于靠近壁面的溶液受力很少,从而导致溶液混合效果不佳。

径向流桨叶以平叶涡轮桨最具代表性,叶片沿搅拌轴垂直分布,叶片呈平面状,可以形成较为理想的推向器皿内壁面的单向流。此类桨叶会形成比较大的剪切力,搅拌对围绕搅拌桨叶的径向区域的液体产生较大的作用力,而对远处液面的搅拌影响很小,因此,此类桨叶的混合效果不理想。使之主要用于对剪切力不敏感的简单细胞系的培养。混合流桨叶以象耳搅拌桨最具代表性,其搅拌桨叶通常与搅拌轴呈角度分布,叶片呈平面状,在运转时可以生成轴向流和径向流两种,混合效果较好,同时产生的剪切力也较小。通过对比各类桨叶后,本研究采用象耳搅拌桨作为斜插搅拌式生物反应器的搅拌桨叶结构,同时设定对照组来展开模拟,选出最理想的方案。

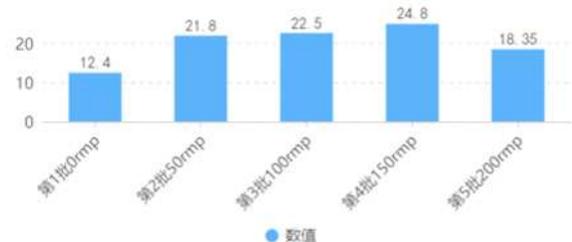
## 3.3L 一次性搅拌式生物反应器小实验

## 3.1 实验简述

本文利用自主搭建的苯乳酸发酵小试实验平台辅以课题组内的控制系统,实现副干酪乳杆菌在小型一次性搅拌式生物反应器中 5 类不同搅拌转速下的苯乳酸发酵实验,了解副干酪乳杆菌在生长中出现的形态变化。五种工况条件分别是:U>搅拌转速为 0 rpm (静置);(2>搅拌转速为 50 rpm。

选用默克 3 升一次性搅拌式生物反应器的原因有以下三方面:一是它能与本研究中的控制系统搭配,而无需再配制另外的设备就能实现控制方案;二是它能在短时间内完成运转,大幅缩减了 2 次实验间的停机时间,进而将实验室资源充分利用起来;三是,培养细胞的性能表现不会因此受到影响,依然类似于传统生物反应器培养效果。

本次选择的此生物反应器的材质是聚碳酸酯和高密度聚乙烯,并已经预组装好且经过 Y 辐照,打开就能使用,使实验准备过程的时间大幅缩短。通过上文分析已知副干酪乳杆菌的生长特性,菌体处于稳定生长期后,菌体浓度基本不会有太大变化。因此,取在可行的操作工况下十二小时的菌体浓度展开对比,研究确定菌体生长受搅拌的具体影响。从图 2-13 中可知,在 12h 时,在静置 50 rpm, 100 rpm, 150 rpm, 200 rpm 的情况下,副干酪乳杆菌菌体的湿重分别是 12.4、21.8、22.5、24.8 和 18.35 g/L。由此可见,使用 3L 一次性搅拌式生物反应器培养副干酪乳杆菌,搅拌条件下的菌体生长情况要比静置状态更理想;但随着转速持续增大,这种优势会慢慢消失,换言之,在搅拌转速超过某个上限值时,逐步增加的剪切力会导致菌体生长受限。在本次实验中,在搅拌转速达到 150 rpm 时,菌体生长的促进作用与剪切力的抑制作用对菌体的培养最理想。具体见图 1。



本节采用自主建立的苯乳酸发酵小试实验平台辅以控制系统,实现本次实验,得到结论如下:副干酪乳杆菌在 3L 一次性搅拌式生物反应器中的培养过程与细胞生长规律相符;随着 pH 值下降,苯乳酸的生成速率呈现下降趋势。

## 4.10L 斜插式一次性生物反应器的实验分析

### 4.1 设计方案

本次实验研究尝试设计一台 10 L 斜插搅拌式生物反应器。在完成此设计后,生产出实物开展具体的实验过程,验证斜插式搅拌装置可以较好的应用于生物反应器中,然后将此设计方案应用到一次性生物反应袋内搅拌装置设计中。从搅拌转速、搅拌轴伸入容器长度及桨叶安装方式 3 个维度来展开对照模拟分析,再选择最佳的搅拌设计方案。

在搅拌转速为 50 和 100 rpm 时,在搅拌桨远处的液面

流速较低；在搅拌转速达到 150 和 200 rpm 时，搅拌桨远处的液面流速有明显增加，整个液体的速度基本没有太大区别，但随着转速持续提升，整个液体运转速度大幅增加。在转速为 50 和 100 rpm 以及 150 和 200 rpm 时分别出现反应器内的低速度区域占比较大及低速度区域占比慢慢下降现象，反应器中的速度分布趋于理想化。在搅拌转速处于 50 rpm 时，容器内部切应力处于 0-10 Pa 间；在搅拌转速为 100 和 150 rpm 以及 200 rpm 时，分别出现局部切应力增大和高切应力区域占比增大的现象。

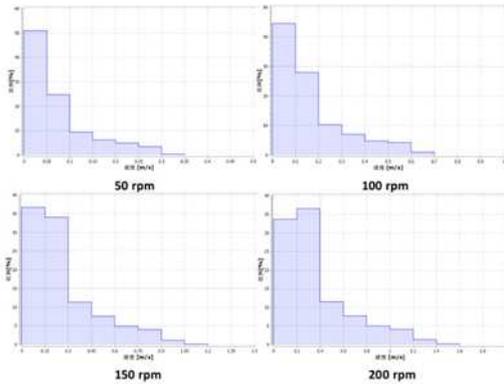


图 4-3 不同转速方案下的速度分析情况

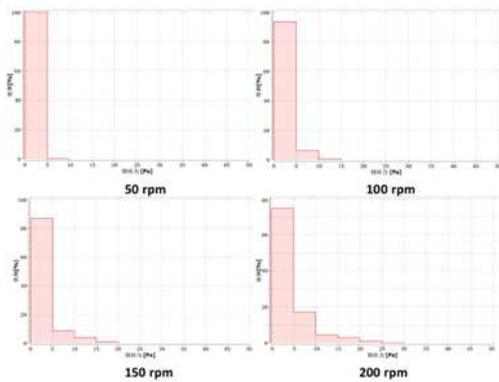


图 4-4 不同转速方案下切应力分析情况

在搅拌轴进入器皿的长度不同时，流场形态则出现一些变化，整体来说都处于上半部中间处低流速区与出料口附近少部分死区。三组方案的速度区间差异并不明显。三者的流场都处于相对理想的状态，由此可见，在搅拌轴进入器皿的长度增加时，器皿中流体低速区域占比不断增加，混合效果越来越差。对不同伸入长度下的速度云图、速度分布图以及切应力分布图进行综合考量，本文决定采用的伸入长度为 115 mm。

## 结束语

本研究发现斜插式搅拌装置应用于生物反应器效果较好。再基于单一变量的变化建立对照组，分析桨叶安装形式及搅拌转速带来的影响，深入分析确定对细胞培养更有利的环境。通过 CFD 模拟，对于多种转速的选择，最终确定 150 rpm 的转速，对 2 种安装方式确定上排式安装；对 3 组搅拌轴伸入长度，最终确定 115 mm 的搅拌轴伸入长度，进而实现搅拌装置设计方案。其与传统生物反应器相比，使用一次性生物反应器的生产效率较高，生产成本较低，且极大地缩短了生产周期，同时也能规避生产中出现交叉污染的情况。然而，由于此生物反应器处于初步发展阶段，当前的生产规格无法使之完全取代传统生物反应器，其市场地位还无法媲美传统生物反应器。但可以肯定的是，一次性生物反应器的发展潜力巨大，对此展开研究具有较大的现实意义。

## 参考文献

- [1]林亨特. 斜插式搅拌桨在一次性生物反应器中的应用研究[D].浙江工业大学, 2019.
- [2]张孝杨. 搅拌式一次性生物反应器系统的研发与应用研究[D].浙江工业大学, 2017.
- [3]田洪敏, 谢红德, 周慧, 闫利明. 一次性使用技术在生物制药领域的应用进展[J]. 中国生物制品学杂志, 2017, 30 (07): 777-780+784.
- [4]刘紫冰. 一次性生物反应器和过滤澄清系统在重组抗体生产中的应用[D].北京理工大学, 2015.
- [5]王远山, 朱旭, 牛坤, 徐建妙. 一次性生物反应器的研究进展[J]. 发酵科技通讯, 2015, 44 (03): 56-64.
- [6]王永红, 夏建业, 唐寅, 杭海峰, 易小萍, 潘江, 许建和, 张嗣良. 生物反应器及其研究技术进展[J]. 生物加工过程, 2013, 11 (02): 14-23.