

Contents lists available at ScienceDirect

# Engineering



journal homepage: www.elsevier.com/locate/eng

#### Research Bioreaction Engineering—Article

# 新型矩形动态膜气升式生物反应器的传质、气含率及分批和连续发酵动力学模型

李干禄\*\*,陈可泉\*,魏衍鹏\*,曾金磊\*,杨悦\*,何峰\*,李辉\*\*,欧阳平凯\*

<sup>a</sup> College of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Tech University, Nanjing 211816, China <sup>b</sup> Jiangsu Jicui Industrial Biotechnology Research Institute Co., Ltd., Nanjing 210000, China

#### ARTICLE INFO

Article history: Received 2 February 2021 Revised 28 May 2021 Accepted 25 July 2021 Available online 10 December 2021

关键词 气升式反应器 动力学模型 分批发酵 连续发酵

#### 摘要

相较于形成大气泡的传统圆柱形气升式生物反应器(CCAB),实验室开发了新型矩形动态膜气升式生物 反应器(RDMAB),通过产生微小气泡增强体积氧传质系数(k<sub>L</sub>a)和气含率,进而改善生物反应过程。本 研究比较了CCAB和RDMAB的传质、气含率,以及发酵合成RNA的分批和连续过程,并建立微生物生 长、底物利用和RNA合成的非结构化动力学模型。在分批发酵过程中,RDMAB的生物量、RNA产量和 底物利用率均高于CCAB,表明动态膜曝气微小气泡形成高的k<sub>L</sub>a,更利于好氧发酵。RDMAB的连续发 酵起始时间比CCAB提前20h,显著改善了生物过程。在连续发酵过程中,维持相同的溶解氧水平和恒 定的稀释率,RDMAB的生物量和RNA浓度分别比CCAB高9.71%和11.15%。在保持相同通气量的情 况下,连续发酵 RDMAB的稀释率比CCAB高16.7%。总之,RDMAB更适合于连续发酵过程,开发气升 式生物反应器的新型曝气和几何结构以提高k<sub>L</sub>a和气含率,对强化生物反应过程变得越来越重要。 © 2021 THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

# 1. 引言

气升式生物反应器因操作简单、能耗低、剪切力低和 机械形状简单等独特的特点,常用于生物过程中生产各种 化学品、酶和药物[1-3]。据报道,内循环气升式生物反 应器是一种比传统搅拌式生物反应器更适合于黏红酵母生 长的发酵设备[4]。传统气升式生物反应器采用多孔板、 多孔管、孔口或静态膜作为曝气元件,产生普通大气泡, 导致较低的体积氧传质系数(k<sub>L</sub>a)和气体利用效率,因 此,需要高的通气量来满足微生物的需氧量[5-7]。在搅 拌式和气升式生物反应器中,针对以甘油作为底物生产生 物柴油的产油酵母菌株的生物量和脂质产量的研究表明, 在不控制 pH值的情况下, 3.0 L 气升式生物反应器可实现 较高的生物量和脂质产量。然而,提高通气量仍然无法满 足氧气需求,因此将纯氧气通入气升式生物反应器以维持 发酵过程[8]。Li等[9]开发了一种新型的用于产生微小气 泡的动态膜,以提高生物反应器中的k<sub>L</sub>a和产品产量。因 此,针对气升式生物反应器开发新的曝气结构,以减小气 泡尺寸和提高k<sub>L</sub>a,这对于强化生物过程变得越来越重要。

核糖核酸(RNA)是生物体内基因表达过程中产生的一种非常重要的大分子,可水解产生单核苷酸[10-11]。 RNA及其水解核苷酸具有多种生理功能,如增强免疫功

<sup>\*</sup> Corresponding author.

E-mail address: lihui11@njtech.edu.cn (H. Li).

<sup>&</sup>lt;sup>#</sup> The authors contributed equally to this work.

<sup>2095-8099/© 2021</sup> THE AUTHORS. Published by Elsevier LTD on behalf of Chinese Academy of Engineering and Higher Education Press Limited Company. This is an open access article under the CC BY license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). 英文原文: Engineering 2022, 13(6): 153–163

引用本文: Ganlu Li, Kequan Chen, Yanpeng Wei, Jinlei Zeng, Yue Yang, Feng He, Hui Li, Pingkai Ouyang. Mass Transfer, Gas Holdup, and Kinetic Models of Batch and Continuous Fermentation in a Novel Rectangular Dynamic Membrane Airlift Bioreactor. *Engineering*, https://doi.org/10.1016/j.eng.2021.07.025

能、改善自我修复、抗衰老和抗病毒活性[12-14],常用 于食品、饲料、农业、医药和轻工业领域[15-17]。目前 RNA的主要生产菌是子囊菌芽胞酵母、酿酒酵母和热带 假丝酵母(*Candida tropicalis*)[18-20]。近年来,发酵动 力学模型是用于研究微生物生长、底物利用和产物合成的 一种重要手段,一直是生物过程的研究重点[21-23]。有 研究报道,非结构化动力学模型可用于描述渗透汽化膜生 物反应器连续闭环发酵过程中乙醇发酵的主要动力学,而 且模型与实验数据吻合良好[24]。采用微生物生长的 Logistic-Monod模型、产品合成的Luedeking-Piret模型和 底物消耗的Luedeking-Piret修正模型,成功构建了50L气 升式生物反应器分批合成RNA的非结构化动力学模型 [19]。然而,针对高气-液传质系数的气升式生物反应器中 的高耗氧发酵过程的发酵动力学模型的研究少有报道。

本研究以一株大量生产RNA的热带假丝酵母为出发 菌株,以糖蜜和葡萄糖为碳源,建立非结构化动力学模 型,对发酵过程进行分析。在分批和连续发酵生产RNA 的过程中,对传统圆柱形气升式生物反应器(CCAB)和 矩形动态膜气升式生物反应器(RDMAB)的*k*<sub>L</sub>a进行了 比较。此研究为动态膜气升式生物反应器在工业发酵过程 的应用提供了理论依据。 决定。a主要与生物反应器的气泡大小和气含率有关[9]。 由于气-液接触面积较大,因此相同气含率下,微小气泡 的k<sub>L</sub>a高于大气泡。动态膜产生的气泡大小受液体速度、 气-液跨膜压差、液体黏度和表面张力的影响[25–27]。液 体在膜孔表面的相对速度越高,气泡尺寸越小。高速旋转 增加了动态膜表面的液体相对速度,减小了气泡的尺寸 [28]。因为形成大量均匀的微小气泡,动态膜具有更高的 k<sub>L</sub>a和气含率[9]。本研究中,动态膜被用作气升式生物反 应器中的曝气元件(图1),动态膜具有中空结构[图1 (b)],叶片由孔径为500 nm的金属膜制成。空气通过进 气口进入,通过中空轴,然后进入动态膜中空区域。随 后,由于跨膜压差,空气通过纳米孔进入流体,形成微小 气泡。

因为几何结构和操作参数对流体力学和传质的影响, 矩形气升式生物反应器比圆柱形气升式生物反应器具有更 好的混合和传质性能[29–31]。据报道,矩形气升式环流 反应器的气含率和传质系数等流体力学特性优于圆柱形气 升式环流反应器[32]。矩形气升式环流反应器的平均*k*<sub>L</sub>a 比圆柱形气升式环流反应器约高40%[32]。前期研究表 明,矩形气升式反应器的气含率和传质特性优于圆柱形气 升式反应器,这与许多文献报道的结果[31–32]一致。因 此,开发了一种耦合动态膜新型矩形气升式生物反应器, RDMAB和CCAB的结构如图1所示。RDMAB中双层动 态膜的空气循环如图1(c)所示。采用双层动态膜,确 保具有几乎相同的空气通量并控制气泡直径。根据优化结

## 2. 矩形动态膜气升式生物反应器

 $k_{i}a$ 主要由气-液接触面积(a)和液体传质系数( $k_{i}$ )



**图1.** (a) 矩形动态膜气升式生物反应器示意图。(b) 动态膜; (c) 矩形盖; (d) 传统圆柱式气升式生物反应器。(1——罐体; 2——导流筒; 3—— 蒸汽入口或冷却水出口; 4——取样口; 5——空气进口; 6——连续发酵进口; 7——连续发酵出口; 8——下降区温度计、pH值测定计和溶氧(DO) 测定仪; 9——冷凝水或冷却水进口; 10——动态膜叶片; 11——接种口; 12——尾气出口; 13——进料口; 14——上升区DO测定仪)。

果,动态膜位于导流筒内的最低位置,空气压缩机被用来 供应空气。表1显示了 RDMAB 和 CCAB 的结构尺寸。 CCAB 和 RDMAB 的体积均为120 L,装入的溶液体积为 100 L,并在罐外安装一个透明方形玻璃池以方便观察 气泡。

#### 表1 CCAB和RDMAB的结构尺寸

Dimension	Value		
Dimension	RDMAB	CCAB	
Tank height (m)	1.200	1.200	
Tank inner diameter or width (m)	0.320	0.360	
Draft tube height (m)	0.660	0.660	
Draft tube inner diameter or width (m)	0.220	0.240	
Draft tube outer diameter or width (m)	0.230	0.250	
Cross-sectional area ratio of downcomer to riser	1.023	1.165	

# 3. 材料和方法

### 3.1. 体积氧传质系数测量方法

在CCAB和RDMAB的上升区和下降区,采用响应时 间为15 s的溶氧(DO)电极(Mettler-Toledo,美国)测 定 k<sub>L</sub>a [9]。在位于矩形导流筒下边缘上升区的0.300 m (位置14)和下降区的0.200 m(位置8)处安装两个DO 电极,同时测量上升区和下降区的k<sub>L</sub>a。简单地说,向蒸 馏水中通入氮气,直到DO浓度低于5%氧饱和度,然后 停止通入氮气,氮气释放,并向溶液中通入空气。持续监 测DO浓度,直到达到90%氧饱和度。所有实验均进行三 次。k<sub>L</sub>a采用公式(1)和公式(2)进行计算。

$$\frac{\mathrm{d}c_{\mathrm{p}}}{\mathrm{d}t} = \frac{c - \mathbf{c}_{\mathrm{p}}}{\tau_{\mathrm{r}}} \tag{1}$$

$$\frac{\mathrm{d}c}{\mathrm{d}t} = k_L a(c^* - c) \tag{2}$$

式中,  $c_p$ 是测得的液相中的DO浓度 (mol·L<sup>-1</sup>); c为实际 溶解氧浓度 (mol·L<sup>-1</sup>); t是发酵时间 (s);  $c^*$ 是饱和溶 解氧浓度 (mol·L<sup>-1</sup>);  $\tau_i$ 是探头响应时间 (s);  $k_L a$ 是体积 氧传质系数 (s<sup>-1</sup>)。

#### 3.2. 气含率测量方法

通过测量通气前后的液位值计算总气含率。实验进行 三次,总气含率 $\varepsilon_{\tau}$ 使用公式(3)计算:

$$\varepsilon_{\rm T} = \frac{h_{\rm G} - h_{\rm L}}{h_{\rm L}} \tag{3}$$

式中, $h_L$ 为通气前液面高度 (m); $h_G$ 为通气后液面高度 (m)。

#### 3

#### 3.3. 气泡尺寸测量方法

采用配备Nikon 105 mm F/2.8 微透镜(Nikon,日本)的高速显微摄影机(Phantom VEO 1310; Vision Research, Inc.,美国)在可控的微米视场区域进行拍照。测量大约500个随机选择的气泡的直径,对图像进行处理,计算气泡分布。

#### 3.4. 微生物与培养条件

用于RNA合成的热带假丝酵母菌菌株NY6-18保存于20%(体积分数)甘油中,储存在-80°C冰箱里。菌株培养于含有20g·L<sup>-1</sup>葡萄糖、20g·L<sup>-1</sup>蛋白胨、10g·L<sup>-1</sup>酵母提取物和20g·L<sup>-1</sup>琼脂的固体琼脂平板,在33°C下放置72h,然后在4°C条件下进行保存。

一级种子培养基为21g·L<sup>-1</sup>葡萄糖、9g·L<sup>-1</sup>糖蜜、 10g·L<sup>-1</sup>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、0.5g·L<sup>-1</sup>MgSO<sub>4</sub>、3g·L<sup>-1</sup>H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 0.05g·L<sup>-1</sup>ZnSO<sub>4</sub>和0.05g·L<sup>-1</sup>FeSO<sub>4</sub>。利用25%的氨水将 培养基的pH值调节至4.0,在高压灭菌锅(YXQ-LS-75S11;上海博讯医疗生物仪器有限公司)中121°C灭菌 15min。

二级种子培养基为28 g·L<sup>-1</sup>葡萄糖、12 g·L<sup>-1</sup>糖蜜、 10 g·L<sup>-1</sup> (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、0.5 g·L<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub>、30 g·L<sup>-1</sup> H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>、 0.05 g·L<sup>-1</sup> ZnSO<sub>4</sub>和0.05 g·L<sup>-1</sup> FeSO<sub>4</sub>。利用25%氨水将培 养基的pH值调节至4.0,121 °C灭菌15 min。

发酵培养基为210 g·L<sup>-1</sup>葡萄糖、90 g·L<sup>-1</sup>糖蜜、 100 g·L<sup>-1</sup> (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、5 g·L<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub>、30 g·L<sup>-1</sup> H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>、 0.5 g·L<sup>-1</sup> ZnSO<sub>4</sub>和0.5 g·L<sup>-1</sup> FeSO<sub>4</sub>。利用25%氨水将培养 基的pH值调整为2。

对于种子培养,将菌株从固体琼脂平板移种到含有 50 mL的一级种子培养基的锥形烧瓶(500 mL),在 33 °C、振动速度为150 r·min<sup>-1</sup>的恒温培养箱(HNY-211B;天津欧诺仪器有限公司)中培养18 h。然后将一级 种子(体积分数为10%)移种到含9L二级种子培养基的 15L气升式生物反应器(汇科生物工程公司)。温度控制 在33 °C,添加氨水将pH值保持在4.0,通气量为2.5 vvm (vvm表示每立方米发酵液每分钟通入的空气量),将花生 油用作消泡剂。最后,将二级种子(体积分数为10%)移 种到含有80L灭菌发酵培养基的120LCCAB或RDMAB, 温度33 °C,添加氨水将pH值保持在4.0,通气量为 3.0 vvm,RDMAB中的动态膜转速为400 r·min<sup>-1</sup>。在相同 条件下进行连续发酵与分批发酵,生物反应器最初在分批 发酵模式下运行,直到产生大量生物量,然后将发酵培养 基(未灭菌)连续流加进行连续发酵模式。

## 3.5. 生物量和葡萄糖测定方法

将发酵液样品(5 mL)转移至干燥、经过称重的离心管中,8000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min。去离子水洗涤菌丝体 三次,然后在80 °C 烘箱干燥菌丝体并称重,使用公式 (4)计算生物量(干细胞质量,DCM):

$$DCM = \frac{w}{v}$$
(4)

式中,DCM是干细胞质量或生物量(g·L<sup>-1</sup>); w是菌丝体的质量(g); v是发酵液的体积(L)。

使用自动酶分析系统(SBA-40C;山东省科学院生物研究所)测定葡萄糖浓度。

#### 3.6. RNA 测定

将两个重复的2 mL发酵液样品置于5 mL离心管, 8000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,去离子水洗涤菌丝体三次,然 后将一根离心管放入80 °C烘箱中干燥并称重。将预冷的 0.25 mol·L<sup>-1</sup>高氯酸溶液(2 mL)添加到另一个离心管, 充分混合,将该离心管在70 °C水浴中加热20 min,冰浴 中冷却至25 °C,然后8000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min。随后,将 1 mL上清液置于100 mL容量瓶,去离子水定容100 mL。 测量260 nm波长处的吸收值,去离子水作为空白。测定 RNA浓度的公式如下:

$$RNA浓度 = \frac{A \times N \times 2}{M \times 26} \times 100\%$$
(5)

式中,A是样品溶液的吸光值;N是样品稀释系数;2是 0.25 mol·L<sup>-1</sup>的高氯酸 (mL);M为2 mL发酵液中菌丝体 的干细胞质量 (mg);26为RNA的吸光值。

#### 3.7. 动力学模型

高底物浓度可产生底物抑制。为了准确描述具有底物 限制因子和自抑制因子的微生物生长动力学,使用混合 Logistic-Monod 模型分析分批发酵过程中的微生物生长 [33-34]。本研究中,利用Logistic-Monod 模型拟合热带假 丝酵母生长,如公式(6)所示:

$$\frac{\mathrm{d}X}{\mathrm{d}t} = \mu_{\max} \frac{s}{k_{\mathrm{s}} + s} \left[1 - \frac{X}{X_{\max}}\right] \tag{6}$$

式中,*X*是生物量 ( $\mathbf{g}$ · $\mathbf{L}^{-1}$ ); *t*为发酵时间 ( $\mathbf{s}$ );  $\mu_{max}$ 为最 大比生长速率 ( $\mathbf{h}^{-1}$ );  $X_{max}$ 是最大生物量 ( $\mathbf{g}$ · $\mathbf{L}^{-1}$ ); *S*为底 物浓度 ( $\mathbf{g}$ · $\mathbf{L}^{-1}$ );  $K_{\mathbf{s}}$ 为饱和系数 ( $\mathbf{g}$ · $\mathbf{L}^{-1}$ )。

Luedeking-Piret模型通过结合生长和非生长相关系数 来解释代谢产物的合成[35-36]。因此,RNA 合成通过 Luedeking-Piret模型来描述,如公式(7)所示:

$$\frac{\mathrm{d}p}{\mathrm{d}t} = \alpha \frac{\mathrm{d}X}{\mathrm{d}t} + \beta X \tag{7}$$

式中,  $P \in RNA 浓度 (g \cdot L^{-1}); \alpha 为 生 长 相 关 系 数$ 

(g·g<sup>-1</sup>); β为非生长相关系数 (g·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>)。

发酵液中底物利用率与生物量和产物产率有关。底物 消耗有三个方面:①为细胞生长提供能量和营养;②维持 细胞活性;③促进产品合成。Luedeking-Piret修正模型可 用于描述底物利用与产品合成之间的关系,包括维持细胞 生长和产物合成的底物消耗[37-38]。因此,采用 Luedeking-Piret修正模型来解释热带假丝酵母菌的底物利 用,如公式(8)所示:

$$-\frac{\mathrm{d}S}{\mathrm{d}t} = \frac{1}{Y_{_{NS}}}\frac{\mathrm{d}X}{\mathrm{d}t} + \frac{1}{Y_{_{PS}}}\frac{\mathrm{d}P}{\mathrm{d}t} + mX \tag{8}$$

式中, *m*为细胞维持相关系数  $(g \cdot g^{-1} \cdot h^{-1})$ ; *Y<sub>xxs</sub>*为底物消耗的生物量系数  $(g \cdot g^{-1})$ ; *Y<sub>P/s</sub>*为底物消耗的RNA 合成系数  $(g \cdot g^{-1})$ 。

## 4. 结果和讨论

### 4.1. 体积氧传质系数

*k*<sub>L</sub>*a* 是评价生物反应器性能的关键指标。图2比较了 CCAB 与 0、200 r·min<sup>-1</sup>和 400 r·min<sup>-1</sup>转速的 RDMAB 的 上升区和下降区的 *k*<sub>L</sub>*a*, RDMAB 在 0、200 r·min<sup>-1</sup>和 400 r·min<sup>-1</sup>转速的 *k*<sub>L</sub>*a* 都高于 CCAB。随着通气量不断增 加, *k*<sub>L</sub>*a* 不断增加。当通气量增加到 0.3 m<sup>3</sup>·min<sup>-1</sup>(3 vvm) 时, RDMAB 在 0、200 r·min<sup>-1</sup>和 400 r·min<sup>-1</sup>转速时上升 区的 *k*<sub>L</sub>*a* 分别为 0.091 s<sup>-1</sup>、0.097 s<sup>-1</sup>和 0.112 s<sup>-1</sup>, 而 CCAB 仅为 0.07 s<sup>-1</sup>。随着转速增加,微小气泡比例增加,气泡 直径不断减小, *k*<sub>L</sub>*a* 不断增加,与之前结果一致[9]。动态 膜在气升式生物反应器中产生大量微小气泡,增加了氧 传质。

## 4.2. 气含率。

空气-水系统中测定 CCAB 与 0、200 r·min<sup>-1</sup>和 400 r·min<sup>-1</sup>转速时 RDMAB 的总气含率。如图3 所示,通 气量从 0.5 vvm增加到 3.0 vvm, CCAB 与 0、200 r·min<sup>-1</sup> 和 400 r·min<sup>-1</sup>转速时 RDMAB 的总气含率不断升高。相同 条件下,0、200 r·min<sup>-1</sup>和 400 r·min<sup>-1</sup>转速的 RDMAB 总 气含率高于 CCAB。与大气泡相比,微小气泡具有更低的 上升速度和更长的停留时间,有利于提高整体气 含率[9]。

#### 4.3. 气泡尺寸

图 4 显示 200 r·min<sup>-1</sup>转速下, 通气量为 0.5 vvm、 1.0 vvm、1.5 vvm和2.0 vvm时, RDMAB的气泡尺寸分布 和形状。低通气量产生的气泡直径较小, RDMAB中气泡



**图2.** CCAB (a) 与转速为0、200 r·min<sup>-1</sup>和400 r·min<sup>-1</sup>[(b) ~ (d)]时RDMAB上升区和下降区的*k*<sub>1</sub>*a*的比较。



**图3.**不同通气量下CCAB与转速分别为0、200 r·min<sup>-1</sup>和400 r·min<sup>-1</sup>的 RDMAB的总气含率。

趋于球形。通气量小于2.0 vvm时,RDMAB中气泡尺寸 分布均匀并集中在狭窄范围。气泡尺寸分布如图5所示, 在 0.5 vvm、 1.0 vvm、 1.5 vvm、 2.0 vvm、 2.5 vvm 和 3.0 vvm 通气量下, RDMAB 中气泡的 Sauter 平均直径  $(d_{32})$  分别为  $(0.89 \pm 0.40)$  mm、  $(0.94 \pm 0.47)$  mm、  $(1.10 \pm 0.54)$  mm、  $(1.19 \pm 0.72)$  mm、  $(1.22 \pm 0.90)$  mm 和  $(1.25 \pm 0.94)$  mm, 明显小于气升式反应器所对应的 数值[39]:并且气泡直径随通气量的增加而增大。转速为 0、200 r·min<sup>-1</sup>和 400 r·min<sup>-1</sup>时 RDMAB 中气泡的 Sauter 平均直径分别为  $(0.97 \pm 0.36)$  mm、  $(0.95 \pm 0.43)$  mm 和  $(0.93 \pm 0.39)$  mm,表明转速对气泡直径影响不大。气-液 传质的主要参数是通气量,旋转通过提高气-液混合效率 来强化气-液传质。

## 4.4. 现有数据与已报道结果比较

将已发表文献中气升式反应器的流体力学和传质数据 与此次研究进行比较,见表2所示[39-44]。相较于传统内 循环气升式反应器,强化传质的气升式反应器具有更高的 *k*<sub>L</sub>*a*。矩形气升式反应器,如RDMAB和分流式矩形内循



图4. 通气量分别为0.5 vvm(a)、1.0 vvm(b)、1.5 vvm(c)和2.0 vvm(d)时,转速为200 r·min<sup>-1</sup>的 RDMAB 中气泡尺寸分布及形状。

环气升式生物反应器,即使在较低通气水平,k<sub>L</sub>a也高于 传统的圆柱形气升式反应器[43],原因在于矩形结构具有 更优的流场,促进了气-液传质[43]。此外,多种传质强化 方法可显著增强气-液传质,如网状圆管和螺旋筛板[39– 40]。螺旋筛板将大气泡切割成小气泡以提高气-液传质效 率。如上所述,矩形动态膜气升式生物反应器在生物发酵 过程中具有很大的优势和发展潜力。

#### 4.5. CCAB和RDMAB的分批发酵比较

CCAB和RDMAB中分批发酵的热带假丝酵母菌的生物量、RNA浓度、糖浓度和DO水平如图6所示。分批发酵过程中,RDMAB的生物量和RNA浓度高于CCAB,表

明充足的氧气促进了酵母在 RDMAB 中的生长和产物合成。发酵液中 RNA 产量似乎与 CCAB 和 RDMAB 中的微生物增殖平行。生物量和 RNA 浓度不断增加、糖浓度不断下降、RDMAB 的糖消耗率显著高于 CCAB,表明产品和生物量具有高的糖转化效率。高耗氧和高密度发酵过程中,较高的 DO 可促进产品积累,DO 变化影响生物量、脂质积累和成分组成[45]。热带假丝酵母菌合成 RNA 是一种高耗氧的生物过程,RDMAB 提供高 DO 或 k<sub>L</sub>a 以改善RNA 积累。最后,发酵 120 h 后,RDMAB 的最大 RNA 浓度和生物量分别为 14.10 g·L<sup>-1</sup>和 84.02 g·L<sup>-1</sup>,而 CCAB 的 仅为 13.0 g·L<sup>-1</sup>和 73.5 g·L<sup>-1</sup>,表明 RDMAB 明显优于 CCAB。

#### Airlift reactors Medium Aeration (vvm) $k_{\rm L} a \, ({\rm s}^{-1})$ Reference Sparger $\varepsilon_{\rm T}$ (%) Rectangular airlift bioreactor Dynamic membrane Water 0.5 - 3.03.2-17.2 0.010-0.112 This work Airlift reactor with helical sieve plates Steel pipe with holes Water 0.6-6.0 1.0 - 150.010-0.135 [39] Airlift reactor with a net draft tube Perforated Water 0.25-2.5 1.0 - 5.80.005-0.031 [40] Airlift bioreactor with helical sieve plates Conical Water 0.33-2.0 1.3-11 0.007-0.090 [41] Center-rising airlift reactor Perforated Water 0.167 - 1.00.8 - 4.20.0035-0.0190 [42] Annulus-rising airlift reactor O-ring Water 0.167 - 1.01.8 - 4.80.0035-0.0200 [42] Split-rectangle-Perforated Water 0.4-1.2 11.2-21.3 0.065-0.118 [43] internal loop airlift bioreactor Airlift Reactor Orifice Water 0.1-1.5 1.0-8.9 0.002-0.010 [44]

#### 表2 当前数据与已报道的结果比较



**图 5.** RDMAB 内气泡的尺寸分布。(a)转速为200 r·min<sup>-1</sup>时通气量为 0.5~3.0 vvm;(b)通气量为 1.0 vvm 时,转速分别为 0、200 r·min<sup>-1</sup>和 400 r·min<sup>-1</sup>。

连续发酵起始时间对于连续高效地生产发酵产品非常 重要,而连续发酵起始时间可以通过分批发酵模式的微生 物生长曲线确定。一般而言,不同的生物反应器具有不同 的连续发酵最佳起始时间。分批发酵下,耗氧速率迅速增 加,生物量达到最大值的40%~80%时间点可视为连续发 酵起始时间[46]。图6(a)显示,在CCAB中,发酵时间 为70h时的耗氧率最高,DO达到最低点,生物量达到最 大值的68.4%,因此,70h作为CCAB连续发酵起始时 间。图6(b)显示,在RDMAB中,发酵时间为50h时 的耗氧率最高,DO最低,生物量达到最大值的71.4%, 因此,50h作为RDMAB连续发酵起始时间。图6(a)、



图6. CCAB(a)和RDMAB(b)分批发酵合成RNA。

(b)表明,RDMAB连续发酵起始时间比CCAB早20h。 RDMAB的k<sub>L</sub>a高于CCAB,表明氧气充足下,微生物 (热带假丝酵母菌)具有更高生物活性、更快生长速度和 较慢衰老速度。

#### 4.6. CCAB和RDMAB中的分批发酵动力学模型

图 7 显示了在 CCAB 和 RDMAB 分批发酵期间生物 量、RNA 浓度和糖浓度的拟合曲线。表 3 总结了 Logistic Monod、Luedeking-Piret 和 Luedeking-Piret 修正模型的参 数。CCAB 和 RDMAB 中微生物生长的拟合系数( $R^2$ )分 别为0.9496 和 0.9527 [图 7 (a)],表明实验数据与模型吻 合较好。CCAB 和 RDMAB 中的微生物生长曲线均为典型 的 S 形曲线,分为滞后期、指数生长期、缓慢生长期和稳 定期[19,47]。此外,研究发现 RDMAB 中的 $X_{max}$ 、 $K_s$ 和 $\mu_{max}$ 分别为 81.04 g·L<sup>-1</sup>、5.097 g·L<sup>-1</sup>和 0.10680 h<sup>-1</sup>,显著高于 CCAB 的 $X_{max}$ 、 $K_s$ 和 $\mu_{max}$ (分别为 74.55 g·L<sup>-1</sup>、2.954 g·L<sup>-1</sup> 和 0.07061 h<sup>-1</sup>),表明高 $k_La$ 显著促进微生物生长并避免缺 氧限制。发酵初期,底物浓度远高于饱和系数,表明微生 物的生长不受底物浓度限制。当糖浓度低于 50 g·L<sup>-1</sup>时会 限制微生物生长,此时需要补充糖以促进微生物生长。如 图 6 所示,发酵时间为 50 h(RDMAB 连续发酵起始时



**图7.** (a) CCAB ( $R^2 = 0.9496$ ) 和 RDMAB ( $R^2 = 0.9527$ ) 的生物量拟 合曲线; (b) CCAB ( $R^2 = 0.9553$ ) 和 RDMA ( $R^2 = 0.9679$ ) 的 RNA 合 成拟合曲线; (c) CCAB ( $R^2 = 0.9834$ ) 和 RDMAB ( $R^2 = 0.9732$ ) 的糖 浓度拟合曲线。

间), RDMAB中的糖浓度低于50g·L<sup>-1</sup>, CCAB发酵时间则为70h (CCAB连续发酵起始时间)。

RNA 合成的 Luedeking-Piret 模型 拟合曲线,如图 7 (b)所示。CCAB 和 RDMAB 的拟合系数 ( $R^2$ )分别为 0.9553 和 0.9679,表明实验数据与模型吻合较好。Luedeking-Piret参数 α 和 β 有以下三种情况:① α ≠ 0 和 β = 0, 产物合成与生长相关;② α = 0 和 β ≠ 0,产物合成与生长 无关;③ α ≠ 0 和 β ≠ 0,产物合成与混合生长相关[34]。 本研究中,CCAB 和 RDMAB 的生长相关系数 (α)分别 为 0.1206 g·g<sup>-1</sup> 和 0.1035 g·g<sup>-1</sup>,非生长相关系数 (β)分 别 为 0.0004057 g·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup> 和 0.0005286 g·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>,表明 RNA 合成的 Luedeking-Piret 模型属于混合生长相关模式 (类别③)。在发酵过程中,RNA 浓度几乎与生物量成正 比。RDMAB 中的 α 值低于 CCAB 的 α 值,表明 RDMAB 中底物糖转化为产物的得率更高。

底物利用与微生物生长、RNA 合成和维持细胞生长所 必需的底物消耗有关。在发酵过程中,糖为碳源,采用 Luedeking-Piret 修正模型建立了糖消耗动力学模型,如图7 (c)所示。模型对 CCAB 和 RDMAB 的拟合系数(*R*<sup>2</sup>)分 别为0.9834 和0.9732,表明该模型与实验数据吻合良好。 CCAB 和 RDMAB 的底物消耗的生物量系数(*Y<sub>XS</sub>*)分别为 0.8178 g·g<sup>-1</sup>和0.4686 g·g<sup>-1</sup>,底物消耗的 RNA 合成产率系 数(*Y<sub>P/S</sub>*)分别为0.04127 g·g<sup>-1</sup>和0.09196 g·g<sup>-1</sup>,表明充足 的氧气更利于底物糖转化为产物 RNA。*k*<sub>L</sub>a是生产高耗氧 产品的关键参数,与CCAB 相比,RDMAB 中的动态膜可 以产生更高的*k*<sub>L</sub>a[9]。Chang 等[48]发现,较高的 *k*<sub>L</sub>a 能有 效提高二十二碳六烯酸浓度、产率和转化率,与本研究结 论一致。

通过改变培养基的初始糖浓度(200 g·L<sup>-1</sup>)对模型进行验证,发现Logistic-Monod模型适合微生物生长、Luedeking-Piret模型适合 RNA 合成和 Luedeking-Piret 修正模 型适合底物消耗,准确率均在 90% 以上,表明这些模型 是可靠和稳定的。

## 4.7. CCAB和RDMAB中的连续发酵

基于分批发酵的连续发酵需要满足以下假设:①生物 反应器在连续发酵过程中处于恒化培养状态;②生物反应 器内每一阶段的生理状态都被维持在恒化器的连续发酵过 程中;③连续发酵参数,如微生物生长、产物形成和底物 消耗与分批发酵的参数一致[33,49]。因此,分批发酵动力 学模型获得连续发酵的初始稀释率。

稀释率等于进料流量除以培养体积。连续发酵模式下,比生长速率(µ)与质量平衡模型[50]中的稀释率(D<sub>r</sub>)相关:

表3 动力学模型参数

Bioreactor	$\mu_{\max}(h^{-1})$	$X_{\max}(\mathbf{g} \cdot \mathbf{L}^{-1})$	$K_{\rm S}({\rm g}\cdot{\rm L}^{-1})$	$\alpha \left( g \cdot g^{-1} \right)$	$\beta (\mathbf{g} \cdot \mathbf{L}^{-1} \cdot \mathbf{h}^{-1})$	$Y_{X/S} \left( \mathbf{g} \cdot \mathbf{g}^{-1} \right)$	$Y_{P/S}(\mathbf{g} \cdot \mathbf{g}^{-1})$
CCAB	0.07061	74.55	2.954	0.1206	0.0004057	0.8178	0.04127
RDMAB	0.1068	81.04	5.097	0.1035	0.0005286	0.4686	0.09196

$$\left(\mu - D_{\rm r}\right) X = \frac{\mathrm{d}X}{\mathrm{d}t} \tag{9}$$

式中, $D_r$ 是稀释率 (h<sup>-1</sup>);  $\mu$ 是比生长速率 (h<sup>-1</sup>)。

稳态下, $\mu = D_r$ ;因此,初始稀释率可由比生长速率确定。此外, $D_r$ 不应超过 $\mu_{max}$ ,以防止冲出。

在CCAB和RDMAB中,分批发酵模式下微生物生物 量的µ如图8所示。在发酵初始阶段,由于充足的氧气和 底物,RDMAB中的µ显著高于CCAB中的µ。随着底物 的快速消耗,CCAB和RDMAB中的µ都显著降低。通过 比较已报道的最大比生长速率可知,由于本次研究采用的 底物浓度较高,因此RDMAB和CCAB的最大比生长速率 低于先前报道的数值;然而,平均生长速率与先前报道的 结果基本一致[19]。基于分批发酵,CCAB和RDMAB中连 续发酵的起始时间分别为70h和50h。CCAB和RDMAB 连续发酵的初始稀释率分别为0.01297 h<sup>-1</sup>和0.01684 h<sup>-1</sup>, RDMAB连续发酵的初始稀释率高于CCAB,表明快速底 物消耗促进RDMAB中的生物量增加和底物积累。



图8. 热带假丝酵母菌在CCAB和RDMAB中的比生长速率。

由于热带假丝酵母菌的生长、维持和代谢需要大量的 氧气,因此生物反应器需要充足的氧气供应。气升式生物 反应器中的动态膜通过结合微孔和旋转产生的耗散能产生 微小气泡。动态膜曝气的气泡尺寸可以达到微米级,以增 加气-液接触面积,进而使*k*<sub>L</sub>a显著增加,为微生物培养提 供足够的DO。图9显示了在20%的DO下,稀释率恒定 的CCAB和RDMAB的生物量、通气量、RNA浓度和糖 浓度。RDMAB的生物量积累比CCAB高9.71%, RNA浓 度比 CCAB 高 11.15%。RDMAB 的 RNA 得率(RNA 产量/ 糖消耗量)为每克糖合成 0.069 g RNA,比 CCAB (每克 糖合成 0.062 g RNA)的高 11.29%。RDMAB 中 RNA 的平 均生产率为 0.117 g·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>,比 CCAB (0.108 g·L<sup>-1</sup>·h<sup>-1</sup>) 的高 8.3%。然而,CCAB 的通气量比 RDMAB 的高 59.4%,如果 CCAB 和 RDMAB 维持同样的DO水平, CCAB 必须增加通气量。然而,随着通气量增加,气泡在 溶液中破碎和聚并,可能会增加剪应力并影响CCAB 中的 细胞生长。RDMAB 的转速与已报道的搅拌反应器的转速 相似[9]。RNA 产量和生物量表明,RDMAB 中搅拌引起 的剪应力对微生物几乎没有影响。对于好氧发酵,溶解氧 不仅是一种营养因素,也是一种环境因素。与CCAB 的多 孔管曝气相比,RDMAB 中动态膜旋转可以提高液速,促 进气-液混合,进一步增加*k*,*a*。



**图9.**在20%的DO下CCAB(a)和RDMAB(b)的生物量、曝气量、 RNA浓度和糖浓度。

4.8. 连续发酵过程中的稀释率

在好氧生物发酵过程中,不同微生物菌株和发酵阶段 的需氧量不同。发酵液的DO可直接影响微生物的酶活、 代谢途径和产物产量。在发酵过程中,k<sub>L</sub>a主要受发酵液 中DO浓度和传质阻力的影响[45,51]。动态膜通过产生微 小气泡和促进气-液混合来提高气-液传质系数[9]。因此, 研究DO对发酵的影响对于改善生物过程具有重要意义。 稀释率是连续发酵的关键指标,稀释率与最大比生长速率 成正比,表明µ越高,D<sub>r</sub>越高。如图10所示,在3.0 vvm 的通气量下,CCAB的DO比RDMAB的低76.9%,导致 两种气升式生物反应器在连续发酵下的D<sub>r</sub>不同。RDMAB 的平均D<sub>r</sub>比CCAB的高39.6%,因此,RDMAB在连续发 酵模式中的生产能力大大提高。



图10. CCAB和RDMAB中相同通气量(3.0 vvm)下的DO和稀释率。

## 5. 结论

本研究开发了一种新型 RDMAB,通过产生微小气 泡,提高k<sub>L</sub>a和气含率,并改善生物反应器中的生物反应 过程。此外,建立了热带假丝酵母菌生长、底物利用和 RNA 合成的非结构化动力学模型。在分批发酵过程中, RDMAB 的生物量、RNA 产量和底物利用率均高于 CCAB所对应的值。研究发现 RDMAB 的连续发酵起始时 间比 CCAB 的提前 20 h,显著改善了生物过程。RDMAB 的生物量积累比 CCAB 的高 9.71%, RNA 产量比 CCAB 的高 11.15%。最后,RDMAB 的稀释率比 CCAB 的高 39.6%。综上所述,RDMAB 在分批和连续发酵模式下均 优于 CCAB,表明改进 CCAB 的几何结构对生物过程具有 重要意义,同时也为其他类型生物反应器的改进提供了 参考。

## 致谢

本研究受国家重点研发计划(2020YFE0100100、 2021YFC2104100和2018YFA0901500)和江苏省高等学校 自然科学研究面上项目(21KJB530014)支持。

## Compliance with ethics guidelines

Ganlu Li, Kequan Chen, Yanpeng Wei, Jinlei Zeng, Yue Yang, Feng He, Hui Li, and Pingkai Ouyang declare that they have no conflict of interest or financial conflicts to disclose.

# References

- [1] Zhang T, We CH, Ren Y, Feng CH, Wu HZ. Advances in airlift reactors: modified design and optimization of operation conditions. Rev Chem Eng 2017; 33(2):163–82.
- [2] Särkelä R, Eerikainen T, Pitkanen JP, Bankar S. Mixing efficiency studies in an airlift bioreactor with helical flow promoters for improved reactor performance. Chem Eng Process 2019;137:80–8.
- [3] Yang T, Geng SJ, Yang C, Huang QS. Hydrodynamics and mass transfer in an internal airlift slurry reactor for process intensification. Chem Eng Sci 2018; 184:126–33.
- [4] Yen HW, Chang JT, Chang JS. The growth of oleaginous Rhodotorula glutinis in an internal-loop airlift bioreactor by using mixture substrates of rice straw hydrolysate and crude glycerol. Biomass Bioenergy 2015;80:38–43.
- [5] Lin J, Han MH, Wang TF, Zhang TW, Wang JF, Jin Y. Influence of the gas distributor on the local hydrodynamic behavior of an external loop airlift reactor. Chem Eng J 2004;102(1):51–9.
- [6] Chen Z, Min H, Hu D, Wang H, Zhao Y, Cui Y, et al. Performance of a novel multiple draft tubes airlift loop membrane bioreactor to treat ampicillin pharmaceutical wastewater under different temperatures. Chem Eng J 2020;380: 122521.
- [7] Medina-Moreno SA, Conde-Báez L, Jiménez-González A, Aguilar-López R, Rodríguez-Vázquez R, Tec-Caamal EN. Modelling hexadecane uptake strategies of a rhizospheric bacterial consortium under different hydrodynamic draft-tube airlift reactor conditions. Biochem Eng J 2020;160:107611.
- [8] Manowattana A, Techapun C, Watanabe M, Chaiyaso T. Bioconversion of biodiesel-derived crude glycerol into lipids and carotenoids by an oleaginous red yeast Sporidiobolus pararoseus KM281507 in an airlift bioreactor. J Biosci Bioeng 2018;125(1):59–66.
- [9] Li G, Li H, Wei G, He X, Xu S, Chen K, et al. Hydrodynamics, mass transfer and cell growth characteristics in a novel microbubble stirred bioreactor employing sintered porous metal plate impeller as gas sparger. Chem Eng Sci 2018;192:665–77.
- [10] Imrat, Labala RK, Velhal S, Bhagat S, Patel V, Jeyaram K. Small doublestranded RNA with anti-HIV activity abundantly produced by Bacillus subtilis MTCC5480 isolated from fermented soybean. Int J Biol Macromol 2020;161: 828–35.
- [11] Bosco F, Casale A, Gribaudo G, Mollea C, Malucelli G. Nucleic acids from agro-industrial wastes: a green recovery method for fire retardant applications. Ind Crops Prod 2017;108:208–18.
- [12] Tam TH, Chan KL, Boroumand P, Liu Z, Brozinick JT, Bui HH, et al. Nucleotides released from palmitate-activated murine macrophages attract neutrophils. J Biol Chem 2020;295(15):4902–11.
- [13] Xu M, Liang R, Guo Q, Wang S, Zhao M, Zhang Z, et al. Dietary nucleotides extend the life span in Sprague-Dawley rats. J Nutr Health Aging 2013; 17(3): 223–9.
- [14] Singhal A, Macfarlane G, Macfarlane S, Lanigan J, Kennedy K, Elias-Jones A, et al. Dietary nucleotides and fecal microbiota in formula-fed infants: a

randomized controlled trial. Am J Clin Nutr 2008;87(6):1785-92.

- [15] Del Arco J, Cejudo-Sanches J, Esteban I, Clemente-Suárez VJ, Hormigo D, Perona A, et al. Enzymatic production of dietary nucleotides from low-soluble purine bases by an efficient, thermostable and alkali-tolerant biocatalyst. Food Chem 2017;237:605–11.
- [16] Sauer N, Eklund M, Hoerner S, Bauer E, Jezierny D, Mosenthin R. Short-term effect of dietary yeast nucleotidesupplementation total and diurnal variation of small intestinal enzyme activities in piglets. J Anim Sci 2012;90(Suppl 4): 179–81.
- [17] Cai X, Bao L, Wang N, Ren J, Chen Q, Xu M, et al. Dietary nucleotides protect against alcoholic liver injury by attenuating inflammation and regulating gut microbiota in rats. Food Funct 2016;7(6):2898–908.
- [18] Khatun F, Kurata K, Chuwattanakul V, Sugiyama M, Kaneko Y, Harashima S. Increased transcription of RPL40A and RPL40B is important for the improvement of RNA production in Saccharomyces cerevisiae. J Biosci Bioeng 2013;116(4):423–32.
- [19] Li B, Chen X, Ren H, Li L, Xiong J, Bai J, et al. Kinetic models of ribonucleic acid fermentation and continuous culture by Candida tropicalis no. 121. 15 Bioprocess Biosyst Eng 2012;35(3):415–22.
- [20] Chuwattanakul V, Sugiyama M, Khatun F, Kurata K, Tomita I, Kaneko Y, et al. Increased transcription of NOP15, involved in ribosome biogenesis in Saccharomyces cerevisiae, enhances the production yield of RNA as a source of nucleotide seasoning. J Biosci Bioeng 2012;114(1):17–22.
- [21] Bedade DK, Dev MJ, Singhal RS. Bioreactor studies on acrylamidase produced from Cupriavidus oxalaticus ICTDB921: production, kinetic modeling, and purification. Biochem Eng J 2019;149:107245.
- [22] Bamaalabong PP, Asiedu NY, Neba FA, Addo A. Dynamic behavior, simulations, and kinetic analysis of two dimensional substrate–product inhibitions in batch fermentation processes. Ind Eng Chem Res 2020;59(21):9797–807.
- [23] Almquist J, Cvijovic M, Hatzimanikatis V, Nielsen J, Jirstrand M. Kinetic models in industrial biotechnology—improving cell factory performance. Metab Eng 2014;24:38–60.
- [24] Fan S, Chen S, Tang X, Xiao Z, Deng Q, Yao P, et al. Kinetic model of continuous ethanol fermentation in closed-circulating process with pervaporation membrane bioreactor by Saccharomyces cerevisiae. Bioresour Technol 2015;177: 169–75.
- [25] Tanaka S, Kastens S, Fujioka S, Schlüter M, Terasaka K. Mass transfer from freely rising microbubbles in aqueous solutions of surfactant or salt. Chem Eng J 2020;387:121246.
- [26] Nock WJ, Serna-Maza A, Heaven S, Banks CJ. Evaluation of microporous hollow fibre membranes for mass transfer of H2 into anaerobic digesters for biomethanization. J Chem Technol Biotechnol 2019;94(8):2693–701.
- [27] Tirunehe G, Norddahl B. The influence of polymeric membrane gas spargers on hydrodynamics and mass transfer in bubble column bioreactors. Bioprocess Biosyst Eng 2016;39(4):613–26.
- [28] Fujikawa S, Zhang R, Hayama S, Peng G. The control of micro-air-bubble generation by a rotational porous plate. Int J Multiph Flow 2003;29(8):1221–36.
- [29] Kilonzo PM, Margaritis A, Bergougnou MA, Yu J, Ye Q. Effects of geometrical design on hydrodynamic and mass transfer characteristics of a rectangularcolumn airlift bioreactor. Biochem Eng J 2007;34(3):279–88.
- [30] Atenas M, Clark M, Lazarova V. Holdup and Liquid Circulation Velocity in a Rectangular Air-Lift Bioreactor. Ind Eng Chem Res 1999;38(3):944–9.
- [31] Drandev S, Penev KI, Karamanev D. Study of the hydrodynamics and mass transfer in a rectangular air-lift bioreactor. Chem Eng Sci 2016;146:180–8.
- [32] Lu X, Ding J, Wang Y, Shi J. Comparison of the hydrodynamics and mass transfer characteristics of a modified square airlift reactor with common airlift reactors. Chem Eng Sci 2000;55(12):2257–63.
- [33] Xu P. Analytical solution for a hybrid Logistic-Monod cell growth model in batch and continuous stirred tank reactor culture. Biotechnol Bioeng 2020;

117(3):873-8.

- [34] Germec M, Gürler HN, Ozcan A, Erkan SB, Karahalil E, Turhan I. Medium optimization and kinetic modeling for the production of Aspergillus niger inulinase. Bioprocess Biosyst Eng 2020;43(2):217–32.
- [35] Sunarno JN, Prasertsan P, Duangsuwan W, Kongjan P, Cheirsilp B. Mathematical modeling of ethanol production from glycerol by Enterobacter aerogenes concerning the influence of impurities, substrate, and product concentration. Biochem Eng J 2020;155:107471.
- [36] Phukoetphim N, Salakkam A, Laopaiboon P, Laopaiboon L. Kinetic models for batch ethanol production from sweet sorghum juice under normal and high gravity fermentations: logistic and modified Gompertz models. J Biotechnol 2017;243:69–75.
- [37] Balakrishnan R, Tadi SRR, Rajaram SK, Mohan N, Sivaprakasam S. Batch and fed-batch fermentation of optically pure D(-) lactic acid from Kodo millet (Paspalum scrobiculatum) bran residue hydrolysate: growth and inhibition kinetic modeling. Prep Biochem Biotechnol 2020;50(4):365–78.
- [38] Lim J, Byun HE, Kim B, Park H, Lee JH. Mathematical modeling of acetone– butanol–ethanol fermentation with simultaneous utilization of glucose and xylose by recombinant Clostridium acetobutylicum. Energy Fuels 2019;33(9): 8620–31.
- [39] Zheng Z, Chen Y, Zhan X, Gao M, Wang Z. Mass transfer intensification in a novel airlift reactor assembly with helical sieve plates. Chem Eng J 2018;342: 61–70.
- [40] Salehpour R, Jalilnejad E, Nalband M, Ghasemzadeh K. Hydrodynamic behavior of an airlift reactor with net draft tube withdifferent configurations: numerical evaluation using CFD technique. Particuology 2020;51:91–108.
- [41] Li X, Chen Y, Zheng Z, Gao M, Wang Z, Zhang K, et al. Power-saving airlift bioreactor with helical sieveplates: developmental and performance studies. Chem Eng Res Des 2020;158:1–11.
- [42] Han M, Laari A, Koiranen T. Effect of aeration mode on the performance of center- and annulus-rising internal-loop airlift bioreactors. Can J Chem Eng 2018;96(1):367–76.
- [43] Rosa EAR, Bianchini LF, da Silva Ramos RCP, Arantes AB, da Silva RF, Glassey J. Hydrodynamics of split-rectangle-internal loop airlift bioreactor with variations in riser and downcomer cross-sectional areas based on the golden ratio. J Chem Technol Biotechnol 2019;94(4):1323–9.
- [44] Kumar N, Gupta R, Bansal A. Effect of surface tension on hydrodynamics and mass transfer coefficient in airlift reactors. Chem Eng Technol 2020;43(5):995– 1004.
- [45] Magdouli S, Brar SK, Blais JF. Morphology and rheological behaviour of Yarrowia lipolytica: Impact of dissolved oxygen level on cell growth and lipid composition. Process Biochem 2018;65:1–10.
- [46] Bull DN, Young MD. Enhanced product formation in continuous fermentations with microbial cell recycle. Biotechnol Bioeng 1981;23(2):373–89.
- [47] Pappu JSM, Gummadi SN. Modeling and simulation of xylitol production in bioreactor by Debaryomyces nepalensis NCYC 3413 using unstructured and artificial neural network models. Bioresour Technol 2016;220:490–9.
- [48] Chang G, Gao N, Tian G, Wu Q, Chang M, Wang X. Improvement of docosahexaenoic acid production on glycerol by Schizochytrium sp. S31 with constantly high oxygen transfer coefficient. Bioresour Technol 2013;142:400–6.
- [49] Yamada R, Nishikawa R, Wakita K, Ogino H. Rapid and stable production of 2, 3-butanediol by an engineered Saccharomyces cerevisiae strain in a continuous airlift bioreactor. J Ind Microbiol Biotechnol 2018;45(5):305–11.
- [50] Sung MG, Lee B, Kim CW, Nam K, Chang YK. Enhancement of lipid productivity by adopting multi-stage continuous cultivation strategy in Nannochloropsis gaditana. Bioresour Technol 2017;229:20–5.
- [51] Maitra S, Narang A. Existence of a scaling relation in continuous cultures of Scheffersomyces stipitis: the steady states are completely determined by the ratio of carbon and oxygen uptake rates. Biotechnol Biofuels 2019;12(1):19.