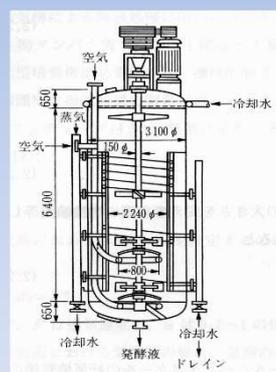


日本生物工学会
培養技術研究部会第4回技術セミナー

2023年3月28日(火)

微生物培養のスケールアップ



京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科
化学工学研究室・堀内淳一

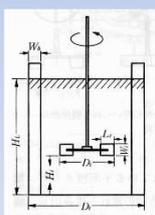
本日の流れ

1. スケールアップとは
スケールアップ指標
2. スケールアップ計算の基礎
攪拌、所要動力、容量係数の相関式
3. スケールアップ計算例
酸素移動容量係数に基づくスケールアップ
非ニュートン流体系培養槽のスケールアップ事例

1. スケールアップとは

スケールアップとは、**小規模の実験により得られた基礎データをもとに、大型装置の計画・設計・操作条件の設定を合理的に行うこと**である。バイオリアクターや発酵槽のスケールアップにおいては、フラスコやジャーフェーマンターなどの小スケールの検討で得られた培養条件をもとに、大型の装置で高い生産性や収率を安定して実現することが要求される。このため、**小型培養槽で最適化された培養条件と同じ培養状態をスケールアップ後も再現することが必要**となる。

培養条件の最適化

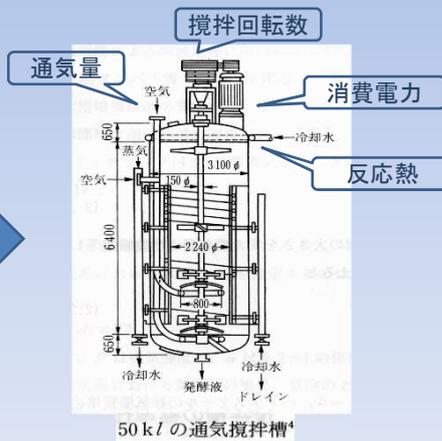


小型培養槽

基準は？

スケールアップ

計算方法は？



50 kL の通気攪拌槽⁴

吉田俊臣:培養工学(コロナ社)

一般に反応器のスケールアップでは、形状を変えなければ培養装置において攪拌動力 (P) など各種の物理的指標を全て一定に保ちながらスケールアップを行うことは困難である。バイオリアクターのスケールアップでは、**剪断力の影響**や**消費動力**を考慮することも多い。このため、実際にはこれらの指標のうち**生産性に影響を及ぼす重要な因子**に着目してスケールアップを行うことになる。

スケールアップに関する物理的因子の変動

(Oldshue, 1966)

| 因子 | 小型培養槽 80L | 大型培養槽 10,000L | | | | |
|----------------------|-------------------|---------------|------|------|-----|--------|
| 攪拌動力 | P | 1.0 | 125 | 3125 | 25 | 0.2 |
| 単位容積あたりの攪拌動力 | P/V | 1.0 | 1.0 | 25 | 0.2 | 0.0016 |
| 攪拌速度 | n | 1.0 | 0.34 | 1.0 | 0.2 | 0.04 |
| 攪拌子径 | D_i | 1.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 | 5.0 |
| 通気速度 | F | 1.0 | 42.5 | 125 | 25 | 5.0 |
| 単位容積あたりの通気速度 | F/V | 1.0 | 0.34 | 1.0 | 0.2 | 0.04 |
| 攪拌子の周速度 | nD_i | 1.0 | 1.7 | 5.0 | 1.0 | 0.2 |
| 攪拌レイノルズ数 | $nD_i \rho / \mu$ | 1.0 | 8.5 | 25 | 5.0 | 1.0 |
| 酸素移動容量係数 ($k_L a$) | | 1.0 | 2.9 | 8.1 | 0.5 | 0.034 |

$$k_L a = 0.025 \left(\frac{D_i}{V}\right)^{0.4} U_g^{0.5} \text{ [1/s] を用いて試算}$$

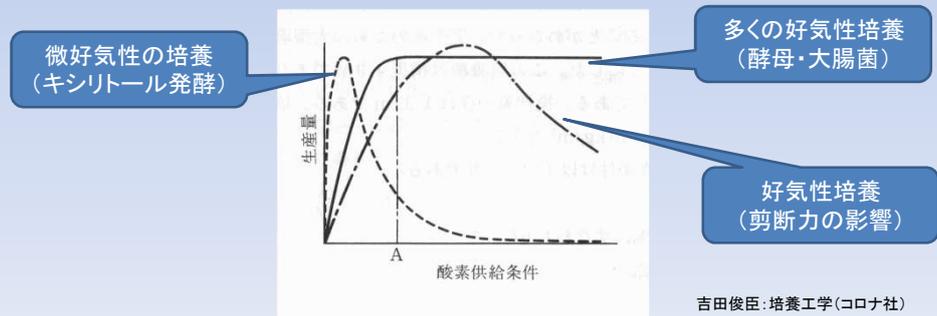
(2) スケールアップ指標

(a) 通気を行わない攪拌型培養槽

通気を行わない攪拌型培養槽のスケールアップは単に発酵槽の容量を比例的に大きくした時の混合状態が維持できれば十分であることが多く(実は難しい)、その場合には、単位容積あたりの攪拌所要動力 P/V [W/m^3]が同一となることがスケールアップの基準となる。

(b) 通気を行う攪拌型培養槽のスケールアップ指標

好気性微生物・細胞の培養では酸素供給が反応の律速となりやすく、酸素供給速度が生産性・収率に密接に影響することが多い。このため酸素移動(吸収)速度 (OTR) [$kmol O_2 m^{-3} h^{-1}$]が同等となるように、スケールアップを行うことが一般的である。



(c) 酸素移動速度と容量係数

酸素移動(吸収)速度 (OTR) [$kmol O_2 m^{-3} h^{-1}$]は溶存酸素濃度を C ($kmol O_2 m^{-3}$)、飽和溶存酸素濃度を C^* ($kmol O_2 m^{-3}$)として、

$$OTR = \frac{dC}{dt} = k_L a (C^* - C)$$

$k_L a$ は酸素移動容量係数で単位は、時間の逆数で $1/hr$ などである。

好気培養において菌体による酸素消費がある場合は、

$$OTR = \frac{dC}{dt} = k_L a (C^* - C) - Q_{O_2} X$$

ただし Q_{O_2} は、比酸素消費速度 ($kmol O_2 / kg-cell \cdot m^3 \cdot h$)、 X は菌体濃度 ($kg-cell / m^3$)

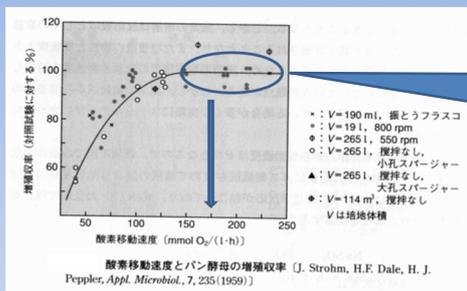
したがって、好気発酵のスケールアップでは、培養系の酸素要求量を満たし必要な酸素濃度を維持できる酸素供給能力、すなわちOTRを持つ発酵槽を設計する必要がある。

濃度に変わり圧力基準で表すと、圧力基準の容量係数 K_d [$kmol / (m^3 \cdot h \cdot atm)$]は、ヘンリーの法則より $k_L a / H = K_d$ (H ;ヘンリー一定数)として、

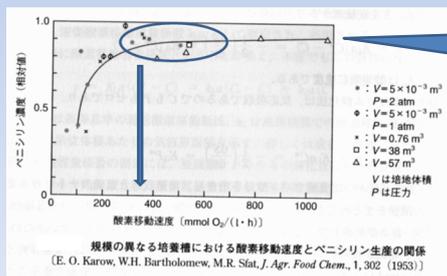
$$OTR = K_d (P^* - P) \cong K_d P^*$$

と表すことができる。

<酸素供給速度と生産性・収率の関係>



150mmol/(L·h)以上であればよい。大きくても差し支えない。



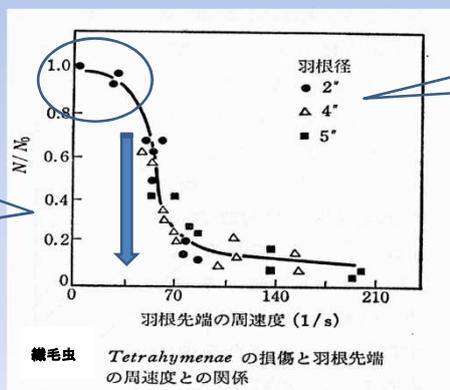
大きなOTRが必要
圧力を上げるなど装置上の工夫がある

小林猛・本多裕之: 生物化学工学 (東京化学同人)

(d)スケールアップ時に考慮すべき酸素供給速度以外の因子

<せん断速度の影響>

スケールアップを行うと回転翼の先端の周速度が大きくなることが多い。大腸菌や酵母の培養では、せん断力はあまり増殖に影響がないため、スケールアップにおいてせん断力の影響を考慮する必要はないが、糸状菌や動物細胞、植物細胞などせん断力の影響を受けやすい培養系では、**せん断力の影響を十分考慮**する必要がある。



40 (1/s) 以下ぐらい

羽根径によらず周速度に依存する

田口久治/永井史郎編: 微生物培養工学 (共立出版)

<熱移動>

熱の移動速度は、**断面積に比例**するが、発熱量は**体積に比例**する。面積は長さの2乗、体積は長さの3乗の次元を持つから、形状をそのままスケールアップを行うと、面積と体積の比率は当然変わり、その結果、熱の移動に問題が生じる。

下表に示す通り、スケールアップに伴い比表面積が劇的に減少するため、大型発酵槽では外部ジャケット型の冷却/加熱では不十分で、温度制御用に内部コイル(らせん式加熱・冷却用配管)等が必要になる。

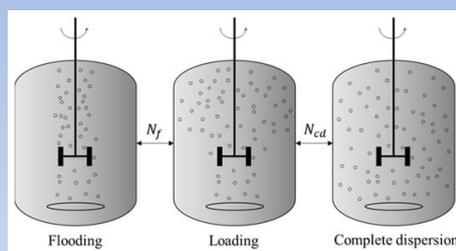
| fermentor volume, L | tank surface area/vol, cm ⁻¹ | |
|---------------------|---|------------------------------|
| 250 000 | 0.008 | |
| 100 000 | 0.011 | |
| 50 000 | 0.014 | ↑ coils needed |
| 3 000 | 0.036 | ↓ surface cooling sufficient |
| 200 | 0.089 | |
| 30 | 0.17 | |
| 3 | 0.36 | |

A. Humphrey, Shake Flask to Fermentor: What have we learned? *Biotechnol. Prog.* 1998, 14, 3-7

内部コイルを導入した場合、混合状態がコイルなしの場合に比べて大きく変わり、OTRにも大きな影響を与えることがある。

<Flooding>

バイオリクターにおけるFloodingとは、導入した空気が、攪拌機により十分バイオリクター内に分散されことなく排気される現象をいう。



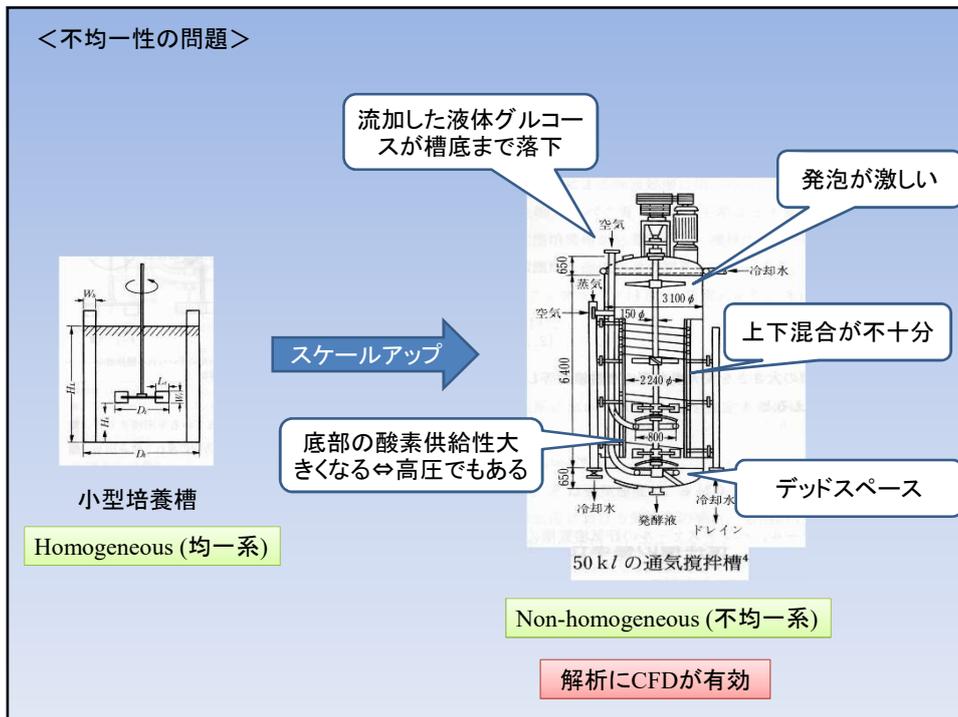
Gas Dispersion in Non-Newtonian Fluids with Mechanically Agitated Systems: A Review: P. L. Barros et al, *Processes* 2022, 10(2), 275 ; <https://doi.org/10.3390/pr10020275>

| fermentor size, L | tank diameter, m | aeration, VVM |
|-------------------|------------------|---------------|
| 10 | 0.185 | 16 |
| 100 | 0.40 | 7.5 |
| 1 000 | 0.85 | 3.5 |
| 10 000 | 1.9 | 1.58 |
| 100 000 | 4.0 | 0.75 |

^aBroth viscosity = 1 cP; $V_{\text{flooding}} = 10 \text{ cm/s}$.

スケールアップすると少ない通気量でFloodingが起きる

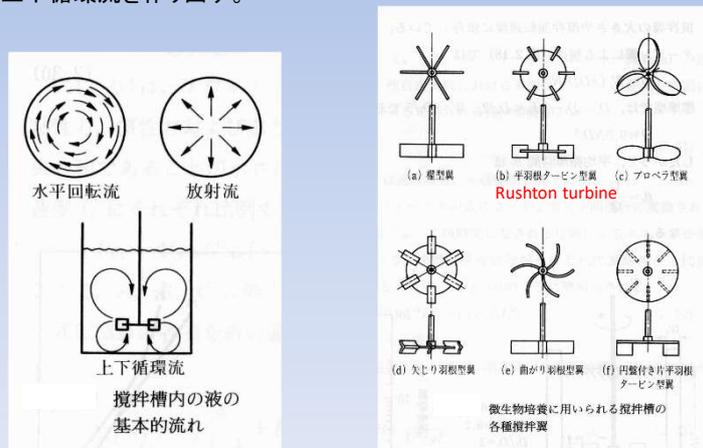
A. Humphrey, Shake Flask to Fermentor: What have we learned? *Biotechnol. Prog.* 1998, 14, 3-7



2. スケールアップ計算の基礎

(1) 攪拌

微生物の培養においては、槽内の均一化や効率的な酸素供給のため、攪拌が重要である。攪拌によって培養液は流動するが、培養槽内の流れは、攪拌翼の種類により大きく異なる。下図に代表的な攪拌翼を示している。培養槽に最も多く用いられる平羽根タービン翼 (Rushton turbine) は、回転流に加え半径方向への流れを生み出し、この吐出流が槽壁にあたり、上下循環流を作り出す。

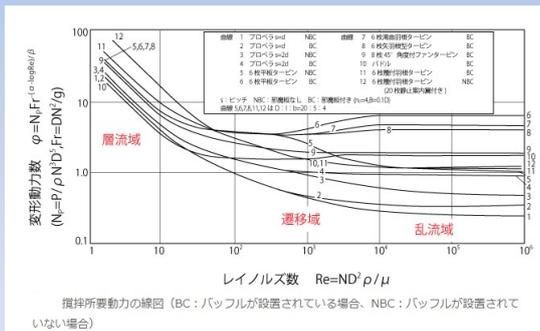


吉田俊臣: 培養工学(コロナ社)

攪拌槽内における攪拌所要動力 P [$W=kg \cdot m^2/s^3$]は、次式で表される。

$$P = N_p \cdot \rho D^5 n^3 \quad [W]$$

ここで n ; 攪拌速度[1/s]、 D ; 攪拌羽根径[m]である。 N_p は**動力数**と呼ばれる無次元数であり、実験により決定される。 N_p はレイノルズ数(Re)およびフルード数(Fr)の関数である。なお完全混合型の攪拌槽において、 N_p の値はレイノルズ数に依存し、フルード数には影響されないとされている。



化学工学便覧

各種の攪拌翼に対して、 N_p は実験的に決定されている。レイノルズ数と動力数の関係を図に示す。ただし、これらは一般的なもので、正確な値は各々の発酵槽メーカーが保有しているので、そちらを参照する必要がある。

通常 N_p の値は、平羽根タービン翼(1段)において、レイノルズ数が大きな乱流条件では、

$$N_p = \frac{P}{\rho D^5 n^3} \cong 6.0$$

となることが知られている。

更に n_i 段のタービン翼に対しては、

$$N_p \cong 6.0n_i$$

の関係が利用されることが多い。

一方、**単位容積あたりの攪拌所要動力 P/V [W/m^3]**は、

$$\frac{P}{V} = N_p \cdot \rho D^5 n^3 \times \frac{1}{V}$$

V は長さの3乗の次元を持つので、単位容積あたりの攪拌動力 P/V は、攪拌速度 n [rpm]と代表径 D [m]の関数となり一般に

$$\frac{P}{V} \propto D^2 n^3$$

の関係がある。

攪拌条件を一定に維持するスケールアップではこの関係が基本となる。

(2) 通気攪拌時の所要動力

通気を行う場合の所要攪拌動力 P_g は、無通気時に比べ減少する。通気攪拌培養の場合、通気による攪拌効果があることに加え、攪拌翼背面に微細気泡(キャビティ)が生じる場合には、攪拌翼への剪断力が低下する。また気体のホールドアップ分培養液の見かけ比重が小さくなる。このため通気時の攪拌所要動力 P_g は、無通気時における攪拌所要動力 P よりも小さくなる。実用上 P_g/P を 0.6 以上に設定されることが多いようである。最近、 P_g/P を大きくとれる高性能攪拌翼の開発が進められている。

平羽根タービン型翼を用いる場合の攪拌動力の推定には、以下のMichel-Millerの実験式がよく用いられる。

$$P_g = 0.5 \cdot \left(\frac{P^2 n D^3}{F^{0.56}} \right)^{0.45} \quad [HP]$$

ここで、 P ; 通気を行わない場合の所要動力[HP]、 n ; 攪拌速度[1/s]、 F ; 空気流量 [m^3/hr]、 D ; 攪拌羽根径[m]である。

攪拌操作は理論的かつ定量的に取扱うことが難しい単位操作の一つで、関係する因子が多いため、一般的な相関関係を得て、計算により精度の高い値を得ることは容易でない。

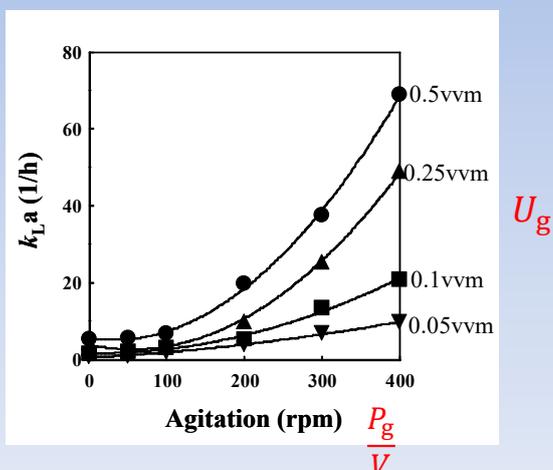
一方、実機を用いた攪拌所要動力の測定は比較的容易であり、再現性のある値が得られることが多い。このため、スケールアップに際しては、攪拌機メーカーあるいは発酵槽メーカーの保有する攪拌動力データを用いることが信頼性が高い。

(3) 容量係数の相関式

酸素移動容量係数 $k_L a$ の a は、培養液単位体積当たりの気泡の表面積の総和である。気泡の表面積は、気泡のサイズが小さく、気泡の数が多いと大きくなる。これらは攪拌強度と通気速度に依存する。すなわち、攪拌槽型バイオリクターの容量係数は、ガス空塔速度 U_g (m/s)、通気条件下における所要攪拌動力 P_g を用いた単位容積あたりの攪拌動力 P_g/V などに影響される。なおガス空塔速度とはリアクター単位断面あたりのガス流量のことである。

右図は、小型ジャーファーマンターにおける酸素移動容量係数 $k_L a$ に及ぼす攪拌速度の影響を、通気速度をパラメータとして、測定したものである。

水や粘度の低い培養液では、右図のように攪拌強度と通気条件を定めると、 $k_L a$ は一意に定まる。



これらの関係について各種の相関式が提案されている。一例としてCalderbank and Moo-Youngは、

$$k_L a = 0.025 \left(\frac{P_g}{V} \right)^{0.4} U_g^{0.5} \quad [1/s]$$

を提案している。 P_g , V , U_g の単位はそれぞれ、[W], [m³], [m/s] である。

また圧力基準の容量係数 K_d に対するCooperらの式を示す。

$$K_d = 0.0635 \left(\frac{P_g}{V} \right)^{0.95} U_g^{2/3} \quad [\text{kmol}/(\text{m}^3 \cdot \text{h} \cdot \text{atm})]$$

ただし、 P_g , V , U_g の単位はそれぞれ、[HP], [m³], [m/s] である。

このように $k_L a$ については、

$$k_L a = C \left(\frac{P_g}{V} \right)^a U_g^b$$

が成立することが多い。

Biotechnol. Prog., 1998, Vol. 14, No. 1

| Variation of Exponents a and b with Scale | | |
|---|---------|------|
| scale (L) | a | b |
| 5 | 0.95 | 0.67 |
| 500 | 0.6-0.7 | 0.67 |
| 50 000 | 0.4-0.5 | 0.50 |

A. Humphrey, Shake Flask to Fermentor: What have we learned? *Biotechnol. Prog.* 1998, 14, 3-7

また、機械的攪拌を行わず通気のみを行い、培養中液の物性が培養中変化しない場合に $k_L a$ は、単位容積当たりの通気量 $\left(\frac{F}{V}, \text{vvm}\right)$ に相当と液深 H_L に影響され、

$$k_L a \propto \frac{F}{V} H_L^{2/3}$$

の関係がある。ここで、 F は空気流量 [m³/hr]、 V , H_L はそれぞれ、培養容積 [m³]、液深 [m]を示す。この式は、スケールアップ時の通気量を推定するために用いられる。

容量係数の相関式の精度はどれくらいか？

リアクター直径

空塔速度

液深/直径比

Correlations for volumetric mass transfer prediction in the form of Equation (10)

| Refs. | Correlation | T (m) | V_s (mm/s) | Average error (%) | H/T | Stirrer |
|----------------------------|--|-----------|--------------|-------------------|---------|---------|
| This study | $k_L a = 0.020 (P_g/V)^{0.44} (V_s)^{0.448}$ | 0.3-0.6 | 3.9-7.8 | 11 | 1 and 2 | Various |
| Nocentini et al. (1993) | $k_L a = 0.015 (P_g/V)^{0.59} (V_s)^{0.55}$ | 0.232 | 1.5-10 | 24 | 4 | 4R |
| Moucha et al. (1995) | $k_L a = 0.018 (P_g/V)^{0.58} (V_s)^{0.588}$ | 0.19 | 2.12-8.4 | 20 | 4 | 4R |
| Linek et al. (1996) | $k_L a = 0.009 (P_g/V)^{0.637} (V_s)^{0.54}$ | 0.19 | 2.12-8.4 | 23 | 4 | 4R |
| Linek et al. (1987) | $k_L a = 0.005 (P_g/V)^{0.593} (V_s)^{0.4}$ | 0.29 | 2.21-4.2 | 22 | 1 | R |
| Vasconcelos et al. (2000) | $k_L a = 0.006 (P_g/V)^{0.66} (V_s)^{0.51}$ | 0.392 | 0.8-6.5 | 25 | 2 | Various |
| Bouaifi and Roustan (1998) | $k_L a = 0.022 (P_g/V)^{0.5} (V_s)^{0.6}$ | 0.43 | 5.4-18 | 31 | 2 | Various |
| van't Riet (1979) | $k_L a = 0.026 (P_g/V)^{0.4} (V_s)^{0.5}$ | 0.14-1.25 | 3-15 | 28 | — | — |

Effect of tank size on $k_L a$ and mixing time in aerated stirred reactors with non-newtonian fluids. J.-C. Gabelle *et al.* The Canadian Journal of Chemical Engineering, 89, 5, 1139-1153, 2011 <https://doi.org/10.1002/cjce.20571>

3. スケールアップの計算例

(1) 通気を行わない攪拌型培養槽

通気を行わない攪拌型培養槽のスケールアップは単位容積あたりの攪拌所要動力 P/V [W/m^3]が同一となることがスケールアップの基準となる。

<計算例>

有効容量80Lの小型培養槽における攪拌速度200rpmの運転条件を有効容量10,000Lの大型発酵槽に適用した場合、同じ攪拌条件を実現するための攪拌速度と所要攪拌動力を求める。小型培養槽のサイズは、直径 $D_a = 0.4$ m、有効容量における液高さ $H_{L,a} = 0.65$ m、培養液密度 $\rho = 1000$ kg/m³、とし、大型培養槽の形状は幾何学的に相似とする。攪拌方式は2段式の平羽タービン翼形式とし、発酵槽直径 (D_a)と攪拌翼径 ($D_{i,a}$)の比 $D_a/D_{i,a} = 3$ で一定とする。変数の添字a, bは小型・大型発酵槽を示す。

単位容積あたりの攪拌動力 P/V は、攪拌速度 n [rpm]と代表径 D [m]の関数となり一般に

$$\frac{P}{V} \propto D^2 n^3$$

の関係がある。すなわちスケールアップ前の攪拌速度を N_a 、スケールアップ後の攪拌速度を N_b とすると

$$D_a^2 N_a^3 = D_b^2 N_b^3$$

幾何学的に相似なので、

$$\sqrt[3]{\frac{10,000}{80}} = \sqrt[3]{125} = 5$$

となるので代表寸法は、5倍となる。したがって、

$$1^2 \times 200^3 = 5^2 \times N_b^3$$

$$\therefore N_b = 68.4 \text{ rpm}$$

となり、この数値を基準に計画すればよい。

一般に、代表径が X 倍となる発酵槽の攪拌速度 N_b は、小型発酵槽の攪拌速度を N_a として

$$N_b = N_a \times \left(\frac{1}{X}\right)^{2/3}$$

で求められる。

また、邪魔板付き平羽根型2段タービン翼を用いる場合の動力数 N_p は、

$$N_p \cong 6.0n_i$$

において $n_i = 2$ として、 $N_p = 12$

したがってスケールアップ後の所要攪拌動力 P は、

$$P = N_p \cdot \rho D^5 n^3 = 12 \times (1000) \times \left(\frac{0.4 \times 5}{3}\right)^5 \times \left(\frac{68.4}{60}\right)^3 = 2340 \text{ W} = 2.34 \text{ kW}$$

(2) 通気攪拌型培養槽のスケールアップ

ここでは、**低粘性の培養系を対象に**、小規模の実験において単位容積あたりの酸素移動速度OTRあるいは酸素移動容量係数 $k_L a$ と生産性、収率等の関係を調べておき、大型の発酵槽において、同様の生産性、収率が得られる**OTR値が再現できるようにスケールアップを行う例**を解説する。

OTRを一定にするためには、飽和溶存酸素濃度や運転圧力が一定の場合には容量係数 $k_L a$ または K_d が一定となるようにスケールアップすればよい。また、飽和溶存酸素濃度や圧力が高くなる場合には、容量係数 $k_L a$ または K_d はその分小さくてもOTRは維持できることとなる。

<スケールアップにおける一般的計算手順>

- (a) 運転圧によるスケールアップ後の容量係数の補正
- (b) 大型発酵槽の通気量推定
- (c) 攪拌動力の計算
- (d) 攪拌回転数の計算

有効容量80Lの小型培養槽における攪拌速度200rpmの運転条件を有効容量10,000Lの大型発酵槽に適用した場合、同じOTRを実現するための攪拌速度と所要攪拌動力を求める。小型培養槽のサイズは、直径 $D_a=0.4\text{m}$ 、高さ $H_{La}=0.65\text{m}$ 、培養液密度 $\rho=1000\text{kg/m}^3$ 、とし、大型培養槽は幾何学的に相似とする。また攪拌方式は2段式の平羽根タービン翼形式とし、発酵槽直径と攪拌翼径の比 $D_a/D_{ia}=3$ とする。小型培養槽における最適培養条件を通気量1.0 vvm, OTR = 0.3 kmol O₂/m³/hrとした時の、大型培養槽における設計条件(通気量、攪拌回転数と消費動力)を求める。尚変数の添字、a, bはそれぞれ小型・大型発酵槽を示す。

(a) 運転圧によるスケールアップ後の容量係数の補正

ここでは単位容積あたりの酸素移動速度(OTR)を指標に、工業的に利用しやすい圧力基準でスケールアップすることとする。まずスケールアップ前後においてOTRが等しくなることから

$$\text{OTR} = 0.3 = K_{da} P_a^* = K_{db} P_b^* \text{ [kmol O}_2\text{/m}^3\text{/hr]}$$

平均酸素分圧を採用することとすると、代表寸法は5倍なので

$$P_b^* = \frac{1 + \left(1 + \frac{H_{Lb}}{10.33}\right)}{2} \times 0.21 = \frac{1 + \left(1 + \frac{0.65 \times 5}{10.33}\right)}{2} \times 0.21 = 0.243 \text{ [atm]}$$

従ってスケールアップ後の K_{db} が、

$$K_{db} = \frac{\text{OTR}}{P_b^*} = \frac{0.3}{0.243} = 1.23 \text{ [kmol/(m}^3 \cdot \text{h} \cdot \text{atm)]}$$

となる必要がある。

<大型発酵槽の通気量推定>

次に

$$k_{La} \propto K_d \propto \frac{F}{V} H_L^{\frac{2}{3}}$$

の関係を用いて大型発酵槽の通気量 F_b 、空塔速度 U_{gb} を決定する。

すなわち通気による容量係数 K_d が同一となるように通気条件を設定すると、小型および大型発酵槽に対する以下の関係から

$$K_d = \frac{F_a}{V_a} H_{La}^{\frac{2}{3}} = \frac{F_b}{V_b} H_{Lb}^{\frac{2}{3}}$$

すなわち、

$$\frac{F_b}{V_b} = \frac{F_a}{V_a} \left(\frac{H_{La}}{H_{Lb}} \right)^{\frac{2}{3}} = 1 \times \left(\frac{1}{5} \right)^{\frac{2}{3}} = 0.34 \text{ [vvm]}$$

したがって通気量 F_b 、空塔速度 U_{gb} は、

$$F_b = 0.34 \times 10 = 3.4 \left[\frac{\text{m}^3}{\text{min}} \right] = 0.057 \left[\frac{\text{m}^3}{\text{sec}} \right]$$

$$U_{gb} = \frac{3.4}{\left(\frac{0.4 \times 5}{2} \right)^2 \times \pi} = 1.08 \left[\frac{\text{m}}{\text{min}} \right] = 64.8 \left[\frac{\text{m}}{\text{h}} \right]$$

<攪拌動力の計算>

次に、空塔速度 U_{gb} を用いて単位容積あたりの攪拌動力(P_{gb}/V_b)および攪拌動力(P_{gb})を決定する。

Cooperの式、

$$K_d = 0.0635 \left(\frac{P_{gb}}{V} \right)^{0.95} U_g^{\frac{2}{3}} \text{ [kmol}/(\text{m}^3 \cdot \text{h} \cdot \text{atm})]$$

に所定の値を代入し、

$$\left(\frac{P_{gb}}{V_b} \right)^{0.95} = \frac{1.23}{0.0635 \times 64.8^{\frac{2}{3}}} = 1.1$$

となるので、単位容積あたりの攪拌動力は

$$\frac{P_{gb}}{V_b} = 1.19 \left[\frac{\text{HP}}{\text{m}^3} \right] = 887 \left[\frac{\text{J}}{\text{m}^3} \right]$$

とすればよい。

従って、10,000Lの発酵槽において、 $K_{db} = 1.23$ とするために必要な攪拌動力 P_{gb} は、

$$P_{gb} = 1.19 \times 10 = 11.9 \text{ [HP]} = 8870 \text{ [W]}$$

となる。

<攪拌回転数の計算>

Michel-Millerの実験式より、

$$P_{gb} = 0.5 \cdot \left(\frac{P^2 n D^3}{F^{0.56}} \right)^{0.45} = 0.5 \cdot \left(\frac{P^2 n \left(\frac{2.0}{3} \right)^3}{0.057^{0.56}} \right)^{0.45} = 11.9 \text{ [HP]}$$

P について整理すると、

$$P = 27.9n^{-0.5} \text{ [HP]}$$

この攪拌動力を2段タービン型攪拌翼で実現するための攪拌回転数 n [s^{-1}]は、次式において $n_i = 2$ として、

$$N_p = \frac{P}{\rho D^5 n^3} \doteq 6.0n_i = 12$$

P について整理すると、

$$P = 12 \times \rho D^5 n^3 = 12 \times 1000 \times \left(\frac{2.0}{3} \right)^5 n^3 = 1580n^3 \text{ [W]} = 2.12n^3 \text{ [HP]}$$

すなわち、

$$P = 2.12n^3 = 27.9n^{-0.5} \text{ [HP]}$$

これを解いて

$$n = 2.09 \text{ [s}^{-1}\text{]} = 125 \text{ rpm}$$

を目安とすればよい。

<せん断速度の影響について>

スケールアップを行うと回転翼の先端の周速度が大きくなることが多い。例えば、先ほどの計算例では、代表径が5倍となるので、

$$\text{小型培養槽： } 1 \times 200 = 200$$

$$\text{大型培養槽： } 5 \times 125 = 625$$

となり、OTR条件は同じでも回転翼の先端周速度は約3.1倍に増加することがわかる。先端周速度の増加はせん断力の増加をもたらす、培養ではおもに**気泡の細分化と細胞への障害**に影響する。

大腸菌や酵母の培養では、せん断力はあまり増殖に影響がないため、スケールアップにおいて剪断力の影響を考慮する必要はないが、糸状菌や動物細胞、植物細胞など剪断力の影響を受けやすい生体触媒の培養では、**剪断力の影響を十分考慮**する必要がある。

例えば、上記の例で剪断力の影響が大きな場合には、周速度=200の条件を保ってスケールアップすることが考えられる。

その場合は、攪拌回転速度を40 rpm までしか上げられないことになるので、好氣的培養ではOTRが不足する。その不足を補うため、気泡の微細化、高濃度酸素の供給、運転圧を上げるなどでOTRを増加させることを考える。

または、回転翼径を小さくして回転数を上げてOTRを確保しつつ、先端周速度を条件内に収めることも検討されている。

(3) 非ニュートン流体系培養槽のスケールアップ

糸状菌を用いる抗生物質生産などに多く見られる非ニュートン性を示す好気性培養系のスケールアップは重要である。しかしながらこのような培養系のスケールアップ手法は十分確立されているとは言い難い。

ここでは、高粘性の培養系であるノボビオシン発酵を対象とした研究例を紹介する。

培養中粘度は4倍以上になりその後下がる

動力消費はこのあたりがピーク

粘性が大きくなるとOAR ($k_L a$)は小さくなる。

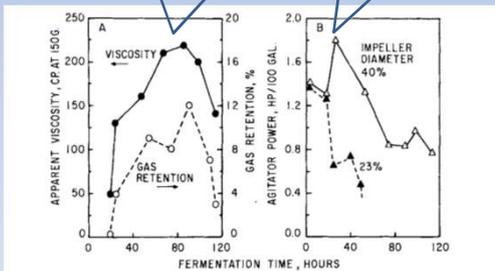


Fig. 1. Changes in (a) apparent viscosity and gas retention and (b) power consumption during novobiocin fermentation.

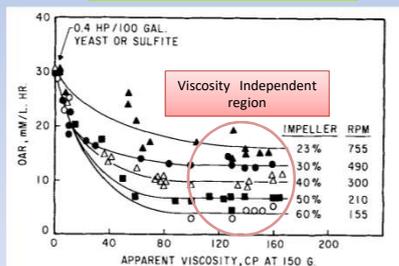


Fig. 2. Effect of apparent viscosity of novobiocin beer on OAR.

粘度とホールドアップ、動力消費量の経日変化

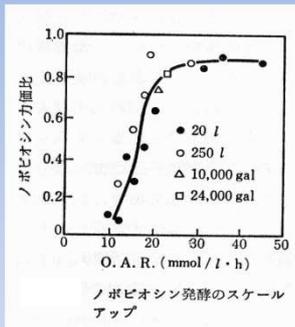
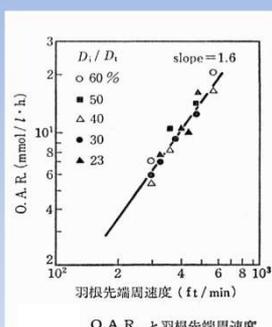
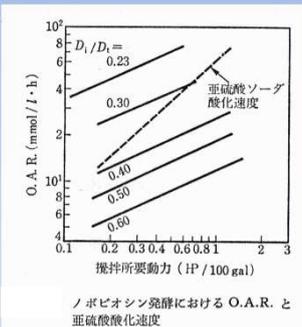
粘度と酸素吸収速度の関係

R. Steel and W. Maxon, Some effects of turbine size on Novobiocin fermentations, Biotechnol. Bioeng., 4, 231-241 (1962)

所要撹拌動力からOARを推定することができない

OARと先端周速度が良い相関

先端周速度に基づくスケールアップを行い成功



田口久治/永井史郎編:微生物培養工学(共立出版)、R. Steel and W. Maxon, Some effects of turbine size on Novobiocin fermentations, Biotechnol. Bioeng., 4, 231-241 (1962)

ノボビオシン発酵のような高粘性の培養系では、酸素利用速度(Oxygen Availability Rate)は、低粘性液と異なり、所要撹拌動力からOARを推定することができない。一方、中央の図に示すように、OARが撹拌翼の先端周速度と良い相関があったことから、先端周速度に基づくスケールアップを行い成功した例。剪断力の悪影響を避けるため、小型の撹拌翼を高速で回転させる条件がより良いとしている。

非ニュートン流体系培養槽における経験的相関式

Empirical correlations for volumetric mass transfer coefficient of gassed non-Newtonian fluids.

| Correlation | Aeration Range | Fluid Type | Impeller Type | Agitation (rpm) | Reference |
|--|--------------------------|--|--|---|-----------|
| $k_{La} = 0.023 \left(\frac{\rho_g}{\rho} \right)^{0.44} v_r^{0.47} \left(1 + \frac{\mu_{sp}}{0.035} \right)^{-1}$ | 0.0039–0.0078 m/s | Air-xanthan gum solutions Air-CMC solutions (Conc. = 0.25–0.5 wt%) | Double impeller (RT, PBD, Mixel TT) | 8.3 in small vessel and 5 in large vessel | [22] |
| $k_{La} = c_1 (N_c D_c)^{c_2} v_r^{c_3} N_p^{c_4} R_N^{c_5}$ $k_{La} = c_1 (N_c D_c)^{c_2} v_r^{c_3} \mu_{sp}^{c_4} R_N^{c_5}$ $k_{La} = c_1 (N_c D_c)^{c_2} v_r^{c_3} \mu_{sp}^{c_4}$ $\frac{k_{La} D_c^2}{D_L} =$ | 0.1–0.2 vvm | Air-CMC solutions (Conc. = 0.5–1.5 wt%) | Anchor-Double PBD Anchor-Double Scaba | $N_c = 0.17–0.5$ $N_p = 2.3–47$ | [37] |
| $485.984 \left(\frac{\rho_g D_c^2}{\mu} \right)^{0.242} \left(\frac{N_c D_c}{v_r} \right)^{-0.568} \left(\frac{\rho_g D_c^3}{\mu} \right)^{0.854}$ | 18–36 dm ³ /h | CO ₂ -CMC solution (Conc. = 0.5–10 g/dm ³) CO ₂ -Alginate solution (Conc. = 0.5–1.5 g/dm ³) | Rushton turbine | 3.3–10 | [40] |
| $\frac{k_{La} D_c^2}{D_L} = c_1 (Re)^{\frac{1}{2}} \left(\frac{N \Omega}{v} \right)^{-\frac{1}{2}} (We)$ $k_{La} = c_1 N^2 v_r^{1/2} \mu_{sp}^{-1/2}$ $k_{La} = c_1 \left(\frac{\rho_g}{\rho} \right)^{0.6} v_r^{1/2} \mu_{sp}^{-1/2}$ | 0.4–1 vvm | <i>Xanthomonas campestris</i> culture | Double disk turbine | 3.5–15.81 | [64] |

Gas Dispersion in Non-Newtonian Fluids with Mechanically Agitated Systems: A Review;
P. L. Barros et al, *Processes* 2022, 10(2), 275 ; <https://doi.org/10.3390/pr10020275>

汎用的な相関式を見出すことができれば、非ニュートン流体系培養にも前述のスケールアップ手法が適用できるが、現状ではなかなか難しそうである。

<まとめ>

- ・スケールアップでは、小型ジャーの実験で培養管理のポイントをしっかりと把握し、その指標が維持できるようにスケールアップを行う。
- ・計算によって得られる結果は、当たらずとも遠からず、程度のものも多いので、設計上のAllowanceを十分考慮し、安全率を大きめにとる。
- ・スケールアップは、予測というよりはむしろ過去の経験（類似例があったか否か）がものをいう。スケールアップ時に発生しうる事態に十分対処できるように設計する。
- ・過去に同様の実施例がなくても、類似例から外挿することがある程度可能。

<参考書等>

- ・微生物培養工学 田口久治/永井史郎編（共立出版）
- ・培養工学 吉田敏臣（コロナ社）
- ・生物化学工学 小林猛/本多裕之（東京化学同人）
- ・生物反応工学の基礎 川瀬義矩（化学工業社）
- ・新生物化学工学 第3版 岸本通雅/堀内淳一/藤原伸介/熊田陽一（三共出版）
- ・Biochemical Engineering S. Aiba, A. E. Humphrey, N. F. Millis (Academic Press)
- ・Biochemical Engineering 2nd edition S. Katoh, J. Horiuchi, F. Yoshida (Wiley-VCH)