

〔醸工 第42巻, 第5号, p.334~345, 1964〕

生物化学工学に関する Dr. A. E. Humphrey の講義

(2) 醸酵タンクのスケールアップ

田口 久治 訳

Lecture on the Biochemical Engineering by Dr. A. E. Humphrey

(2) Scale-up of Fermentor

H. Taguchi (Translator)

1. 標準操作条件

醸酵タンクの標準寸法および標準操作条件の主なもの Table 1 に示すごとくである。

Table 1. Typical Operation Conditions

Item	Range	Typical value	5 l Tank	40000 l Tank
Impeller dia. D_i (cm)	$\frac{D_i}{T} = \frac{1}{4} \sim \frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$	5.7 cm	1.12 m
Tank dia. T	$\frac{T}{L} = 1 \sim \frac{1}{1.25}$	$\frac{1}{1.25}$	17.2 cm	3.40 m
Liquid depth L			21.5 cm	4.25 m
Agitater speed N (rpm)	30~1,000	300	500~750	70~150
Aeration rate (vvm)	0.1~4	0.5	2.5 l/min	20,000 l/min
Power in unit volume P_v (HP/400l)	0.1~2	1	Total 0.0125 HP	Total 100 HP
Sup. linear velocity V_s (cm/hr)	300~6,000	600	320	5,200

なお翼の型式は平羽根タービンで6枚羽根、翼径、羽根長さ、羽根幅の比は20:5:4である。単位容積当りの攪拌所要動力は米国では通常 100 gal 当りを採用するが、これはちょうど標準値が 1 HP/100 gal になるからである。Table 1 の値は従来から Bartholomew らによって多くの文献に示されているが我々の記憶しておかねばならぬことである。一般に醸酵タンクの翼径とタンク内径の比率が $\frac{1}{4} \sim \frac{1}{3}$ になっているのは化学工学における化学反応の結果からきている。すなわち、Fig. 1 にみるごとく一定攪拌所要動力下における反応速度と D/T の相関を求めると、ガス吹込みの場合には反応速度の極大値は D/T の値が $\frac{1}{4} \sim \frac{1}{3}$ の場合に現われ、一方液一液系の攪拌においてはその値が $\frac{1}{2} \sim \frac{3}{4}$ の位置に現われる。以上のことから物質移動を良好にするには小さな翼で充分で、液混合を良好にするには比較的大きな翼が必要である。したがって翼径と醸酵タンクの内径の比率の標準値は $\frac{1}{3}$ と考えられる。5 l は研究用タンクの標準仕込容積で、40 ton は生産用タンクの標準である。攪拌数は炭化水素を資源とする醸酵では高い値が採用される。通気量は 1 vvm が採用されるときは余程高度の通気を要求されるもので標準は 0.5 vvm である。しかし通気量は約 8000 cm/hr の線速度が限度で大容量のタンクではこの値を越えると発泡の原因となり flooding が起る。したがってスケールアップの際には通気線速度の許容限界で通気量が設定される場合が多い。

2. 通気下の攪拌所要動力

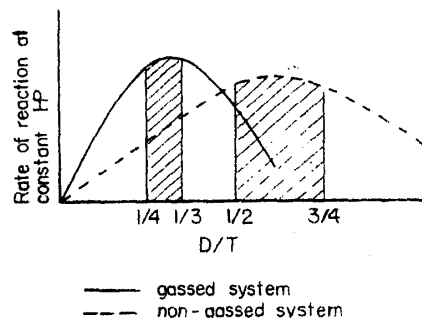
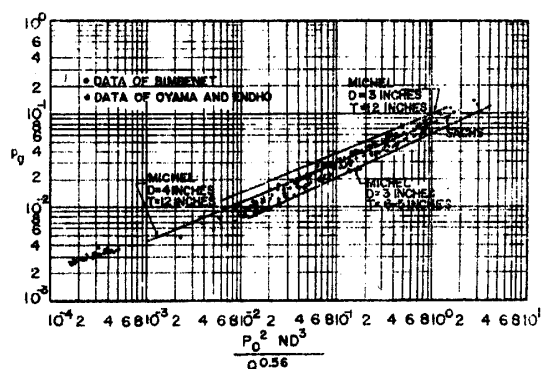


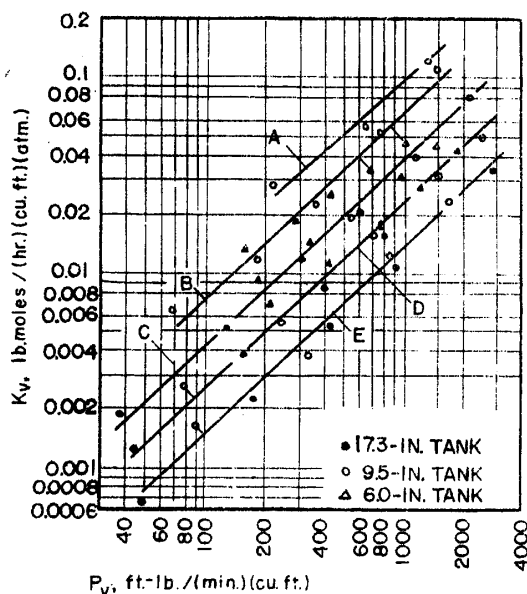
Fig. 1. Typical consideration of agitation.

Fig. 2. P_g v.s. $P_g^2 ND^3 / Q^{0.56}$.

通気容積速度である。この相関はニュートン流体に対してのみ適切と考える。私の研究室でも非ニュートン流体として *A. niger* の洗滌菌体の懸垂液について P_g と P_0 との相関について検討しているがいまだ結論をえていない。Michel らは密度を 0.9~1.6 g/ml, 粘度を 1~100 C.P. に変え, さらに三相系として Alundum-水系を採用して実験を行っているが, いずれの試料の場合にもこの相関に一致することを報告している。しかし細菌, 微の懸垂液については詳細な追試が必要と考えられる。Michel らは表面張力の影響も試験し, ウェバー数 ($N_{We} = D^3 N^2 \rho / \sigma$) の値が $1.2 \times 10^4 \sim 3.6 \times 10^5$ の範囲で影響しないことを報告している。現在ではこの相関がスケールアップに使用できる唯一のものであろう。

3. $k_L \cdot a$ と操作条件の相関

$k_L \cdot a$ 一定をスケールアップの一方法として使用するためには $k_L \cdot a$ と操作条件の相関が必要である。この種の研究では Cooper, Fernstrom Miller²⁾ の亜硫酸ソーダ法を使用したものが最初である。触媒としては銅イオン, コバルトイオンの両者が使用できるが, コバルトの方が有利である。銅触媒は攪拌速度の広い範囲に対して律速因子となるからである。彼らは12枚羽根の vaned disk 型の翼を使用して相関を求めているので厳密には型の異なる攪拌タンクのスケールアップにこの相関を用いることは出来ない。彼らの用いたタンクは内径の $\frac{1}{10}$ の巾



A. $V_s = 642$ B. $V_s = 194$ C. $V_s = 89$
D. $V_s = 45$ E. $V_s = 186$.

Fig. 3. Effect of agitator power with a Vaned disk and $L/T = 1$

前回の攪拌の章で通気せぬ場合について Rushton による動力数とレイノルズ数の相関から攪拌所要動力 (P_0) が求められることを述べたが, 醗酵タンクのスケールアップにおいては通気下の攪拌所要動力 (P_g) と P_0 の相関が必要である。ここでは Michel, Miller¹⁾ の報告を紹介する。その結果は Fig. 2 に示すごとくであり, パラメーターとして D/T を用い, 縦軸に P_g , 横軸に $P_g^2 ND^3 / Q^{0.56}$ を採用している。この結果次式が成立する。

$$P_g = K \left(\frac{P_g^2 ND^3}{Q^{0.56}} \right)^{0.45} \quad (1)$$

ただし K は比例常数, N は攪拌数, D は翼径, Q は

たゞし K は比例常数, N は攪拌数, D は翼径, Q は通気容積速度である。この相関はニュートン流体に対してのみ適切と考える。私の研究室でも非ニュートン流体として *A. niger* の洗滌菌体の懸垂液について P_g と P_0 との相関について検討しているがいまだ結論をえていない。Michel らは密度を 0.9~1.6 g/ml, 粘度を 1~100 C.P. に変え, さらに三相系として Alundum-水系を採用して実験を行っているが, いずれの試料の場合にもこの相関に一致することを報告している。しかし細菌, 微の懸垂液については詳細な追試が必要と考えられる。Michel らは表面張力の影響も試験し, ウェバー数 ($N_{We} = D^3 N^2 \rho / \sigma$) の値が $1.2 \times 10^4 \sim 3.6 \times 10^5$ の範囲で影響しないことを報告している。現在ではこの相関がスケールアップに使用できる唯一のものであろう。

をもった邪摩板を有し, 翼の位置は底からタンク内径の 0.3 のところにある。標準タンクでは 0.5~0.7 を採用している。羽根の巾は翼径の $\frac{1}{10}$ を採用しているがこれも標準では 0.2 である。此の種の翼はポンプ作用が激しい。スケールアップに対しては勿論幾何学的に相似のタンクで容量係数と攪拌動力, 通気量の相関を求めておく必要がある。Cooper らの求めた主な結果は次のごとくである。まず V_s をパラメーターとして $k_L \cdot a$ と P_g/V の対数相関を求めると Fig. 3 に示したように同一傾斜の直線群をうる。ただし Cooper らのデータは $k_L \cdot a = k_V$ で示されている。したがって $k_L \cdot a \propto (P_g/V)^{0.95}$ となる。彼らの使用したタンクの容量比は小さ過ぎると思われれば最小10倍比のタンクについて相関を求めるべきである。つぎに $k_L \cdot a$ と V_s の対数相関を求めると Fig. 4 のごとくなり V_s が flooding の限界値となる 200 ft/hr 以下のところで傾斜一定の直線群がえられる。その傾斜は 0.67 である。これらの結果を総括すると次式が求められる。

$$k_L \cdot a = K (P_g/V)^{0.95} (V_s)^{0.67} \quad (2)$$

また彼らは $lagk_L \cdot a / V_s^{0.67}$ を absorption number と呼称しその対数値と単位容積当りの攪拌動力の対数値との相関を求め Fig. 5 の結果をえている。この際 depth factor を考え液深 (L) とタンク内径 (T) の比をパラメーターとすると $L/T=0.5 \sim 4$ の間で平行な曲線群となり、 $L/T=1$ の場合の $k_L \cdot a$ を基準にすれば $L/T=4$ の時には Fig. 6 に見るごとく約 1.6 倍になり、 $L/T=0.5$ の場合 0.6 倍となる。これらの相関も多くの人によって使用されているが、比較的小容量で攪拌翼の型式が等しい時のみ正しいことを再言しておく。

4. Richard の $k_L \cdot a$ に対する解析

$k_L \cdot a$ と操作条件の相関については数多くの報告がみられるが、通気攪拌について多くの優れた仕事をしている Richard³⁾ の Cooper らとは違った考察をこゝで紹介する。

彼はガス吸収塔についての次の相関を基礎にして $k_L \cdot a$ と操作条件の相関を展開している。すなわちヌッセルト数 (Nu)、シュミット数 (N_{Sc})、レイノルズ数 (N_{Re}) とすると

$$(N_{Sc})^{2/3} = K(N_{Re})^{0.5} \quad (3)$$

$$\left(\frac{k_L D}{D_L}\right) \left(\frac{\mu}{\rho D_L}\right)^{2/3} = K \left(\frac{D^2 N \rho}{\mu}\right)^{0.5} \quad (4)$$

ただし D_L は拡散係数である。密度 ρ 、粘度 μ 、 D_L を一定とすると

$$k_L = K' N^{0.5} \quad (5)$$

一方気・液接触面積は前章の攪拌の項で述べたごとく Calderbank によって $a = K''[(P/V)^{0.4} \rho^{0.2} / \sigma^{0.16}] [V_s/V_t]^{0.5}$ の相関が求められているので此の相関において ρ 、 σ 、 V_t をそれぞれ一定とみなすと(5)式との組合せによって次式をうる。

$$k_L \cdot a = K''' [(P/V)^{0.4} V_s^{0.5} N^{0.5}] \quad (6)$$

Richard は(6)式の妥当性を確認するため、Cooper らのデータからえた計算値と自身のデータとを纏めて Fig. 7 をえている。すなわち容量、攪拌翼の型式が相違しても比較的良好な相関がえられている。その偏差は $\pm 50\%$ である。もし pilot plant における $k_L \cdot a$ に関するデータが不足の時にはこの相関図からほぼ $k_L \cdot a$ 値を評価することができるであろう。

私は同様な観点に立って $k_L \cdot a$ に関する相関式を求めた。この場合 Higbie と Danckwert の表面更新説にもとづき拡散係数 (D_L) の平方根に k_L が比例すると考え、粘度に見掛けの粘度 ($\mu_a = \tau/\dot{\gamma}$) を採用し、 D_B を気泡径とするとその後の研究でレイノルズ数の指数を 0.8 とした方がより良い相関を有していることが判明している、次の相関式をうる。

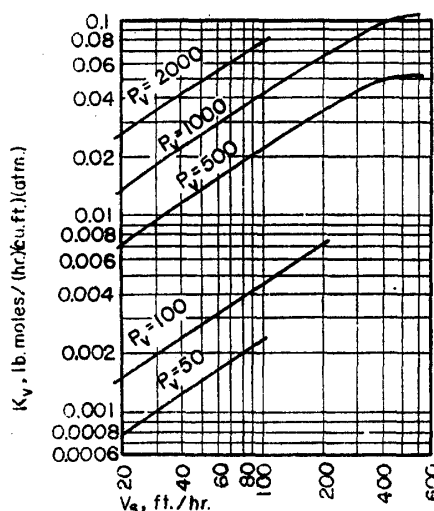


Fig. 4. Effect of air rate with a vaned disk and $L/T=1$.

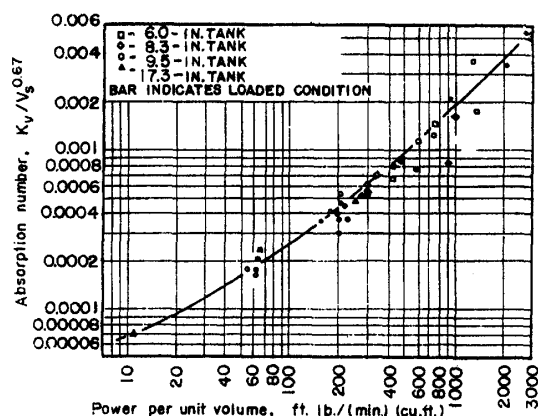


Fig. 5. General correlation of data for a vaned disk when $Z/D=1$.

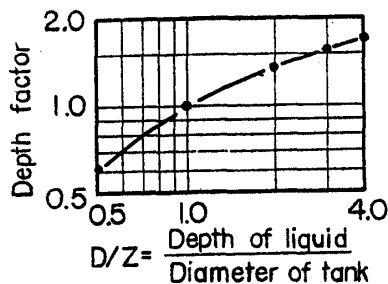


Fig. 6. Plot of depth factors.

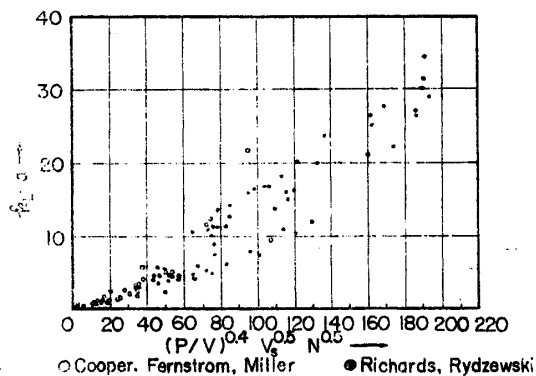


Fig. 7. Correlation of $k_L \cdot a$ with process variables. An attempt to correlate variables over a wide range of conditions by means of a semi-empirical equation.

な物理的性状を挿入した一例にすぎないし、泡の終末速度、密度の変化を無視しているが Richard の式と同様 V_s に関する指数が $1/2$ であることから極端に矛盾した相関式とは考えられない。

単位容積当りの攪拌動力を等しくしても同一の物質移動係数はえられないので(9)式は P_0/V の項をもたず、粘度、表面張力の項目の項目を重要視して導入した。もちろん(9)式は k_L に関する基礎的な研究を要するし、さらに良き相関にすべき特別な変数関係を導入するまでは使用することができない。すなわち攪拌系における気泡の挙動と適確な測定法による容量係数に対する表面活性剤の影響、非ニュートン流体中における容量係数の変化などをより一層研究する必要がある。

5. Gaden のスケールアップ法

この観点から Gaden⁴⁾ は次のような見解を述べている。すなわち非常に多くの経験的な相関を使用するよりも、簡単で、自在性のある方法がよく、また近似的な方法の方が正確度の高いものよりかえって良好な結果をうる。と述べ、スケールアップの場合単位容積当りの攪拌動力を基礎とする方法をすすめている。その例としてペニシリン生産について 40 l と 400 l のタンクを使用し、通気線速度 V_s を 2 種類変更して単位容積当りの攪拌動力と生産力価の関係を求めた。Fig. 8 はその結果である。プロセス収率と P_0/V の相関図から P_0/V の至適値を求め、その値をスケールアップの基礎として Gaden は使用した。すなわち P_0 から Michel, Miller の式によって P_0 を計算し、vvm を一定にする方法である。

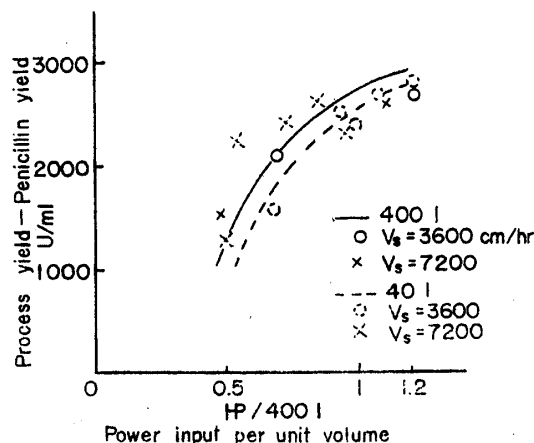


Fig. 8. Correlation of penicillin production and power per unit volume.

$$\frac{k_L \cdot D_B}{D_L} = K \left(\frac{\mu_a}{D_L \cdot \rho} \right)^{1/2} \left(\frac{D^2 N \rho}{\mu_a} \right)^{0.3} \quad (7)$$

ここに D_L, ρ を一定とすると、攪拌翼の周辺で翼によって作られる乱れの尺度に関するレイノルズ数に匹敵する項と、物質移動が気泡の周囲で行われると言う意味を有している項目をふくむ(8)式で物質移動係数は示される。

$$k_L = \frac{K'}{D_B} \cdot \frac{(D^2 N)^{4/5}}{\mu_a^{3/10}} \quad (8)$$

さらに $D_B \propto a^{1/2}$ の関係と前述の Calderbank によって求められた a についての相関を(8)式に代入し、高い攪拌速度の乱流域においては単位容積当りの攪拌所要動力 P_0/V は $KN^3 D^2$ に近似することを考慮して(8)式を整理すると次式の相関をうる。

$$k_L \cdot a \propto \frac{(N^2 D^3)^{2/3} V_s^{1/2}}{(\sigma \cdot \mu_a)^{0.3}} \quad (9)$$

この相関は粘度とか表面張力のごとき醗酵液の重要

な物理的性状を挿入した一例にすぎないし、泡の終末速度、密度の変化を無視しているが Richard の式と同様 V_s に関する指数が $1/2$ であることから極端に矛盾した相関式とは考えられない。

単位容積当りの攪拌動力を等しくしても同一の物質移動係数はえられないので(9)式は P_0/V の項をもたず、粘度、表面張力の項目の項目を重要視して導入した。もちろん(9)式は k_L に関する基礎的な研究を要するし、さらに良き相関にすべき特別な変数関係を導入するまでは使用することができない。すなわち攪拌系における気泡の挙動と適確な測定法による容量係数に対する表面活性剤の影響、非ニュートン流体中における容量係数の変化などをより一層研究する必要がある。

この観点から Gaden⁴⁾ は次のような見解を述べている。すなわち非常に多くの経験的な相関を使用するよりも、簡単で、自在性のある方法がよく、また近似的な方法の方が正確度の高いものよりかえって良好な結果をうる。と述べ、スケールアップの場合単位容積当りの攪拌動力を基礎とする方法をすすめている。その例としてペニシリン生産について 40 l と 400 l のタンクを使用し、通気線速度 V_s を 2 種類変更して単位容積当りの攪拌動力と生産力価の関係を求めた。Fig. 8 はその結果である。プロセス収率と P_0/V の相関図から P_0/V の至適値を求め、その値をスケールアップの基礎として Gaden は使用した。すなわち P_0 から Michel, Miller の式によって P_0 を計算し、vvm を一定にする方法である。

しかし本法によると所要攪拌動力の評価が適大になり、vvm 一定の条件から発泡および flooding をしばしば大容量のタンクできたることとなる。私は本法が決して良いスケールアップの方法とは考えない。現在では物質移動係数を基礎とするスケールアップの方をむしろ採用する。いずれにしろ完全に正確なスケールアップは現段階では困難であるがむしろ後者を採用する。

Gaden による醗酵タンクのスケールアップは一つの特別な方法と考えられるが、このスケールアップにおいて剪断の状態がいかに変化するかを考察しよう。Fig. 9 は細菌による B_{12} 生産時における過剰攪拌の一例であるが、同じような現象がしばしば他の醗酵にもみられる。すなわち攪拌によって細胞が

傷害を受け、その結果目的生産物の収率が急激に低下することがある。しかもその傾向は大容量のタンクで強く現われる。攪拌によって生ずる剪断は翼先端の周速度 (πND) に比例すると考えられる。仮に攪拌動力 P_0/V を一定に考えると前述したごとく $N^3 D^2 = \text{一定}$ となる。したがって小容量、大容量タンクの添字をそれぞれ2, 1, とすれば

$$\frac{(N_1 D_1)^3}{(N_2 D_2)^3} = \frac{D_1}{D_2}$$

または

$$\frac{(\text{剪断})_1}{(\text{剪断})_2} = \sqrt[3]{\frac{D_1}{D_2}} \quad (10)$$

すなわち単位容積当りに投入される攪拌所要動力を一定にして5から40,000 l にスケールアップすると、その剪断は2.7倍に増加することとなる。この剪断増加はスケールアップに際して特に注意を払うべきである。

6. Rushton⁵⁾ のスケールアップ法

この方法は従来醸酵タンクのスケールアップに使用

されていたが現在では余り使用されない。一応紹介すると次のごとくである。一般に

$$\left(\frac{k_L \cdot D}{D_L} \right) = \text{const.} \left(\frac{D^2 N \sigma}{\mu} \right)^x \left(\frac{\mu}{\rho D_L} \right)^y \quad (11)$$

ここに μ , ρ , D_L を一定とすると次式をうる。

$$k_L = K D^{2x-1} N^x \quad (12)$$

x は小スケールの槽により実験的に求められるもので、この場合、無次元項で process result ψ をあらわすとレイノルズ数との間に Fig. 10 にみるごとく $\psi = K' N_{Re}^x$ の関係が成立しなければならない。(12) 式は容量係数における接触面積 a を無視したことになる。スケールアップが此の方法で完全に行われるとすれば例えば抗生物質の生産力価とレイノルズ数の間にも指数 x の指数関係がなければならない。仮に此の方法で同様な結果がえ

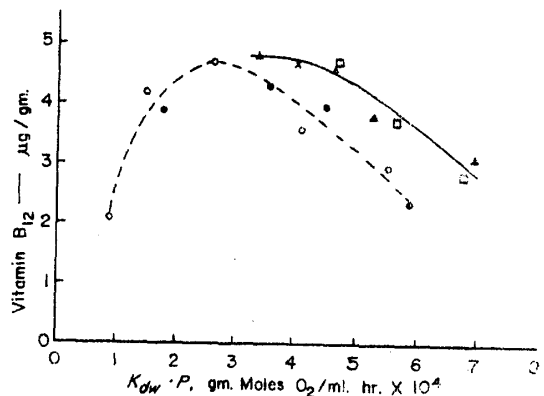


Fig. 9. Correlation of vitamin B₁₂ production with oxygen transfer rate.

Key: ●, 2 gallons (Wisconsin type agitator); ○, 2 gallons (Mixco flat blade agitator); ▲, 110 gallons (Mixco flat blade agitator); □, 6000 gallons (Mixco flat blade agitator); +, 12,000 gallons (Mixco flat blade agitator). Volumes are batch volumes.

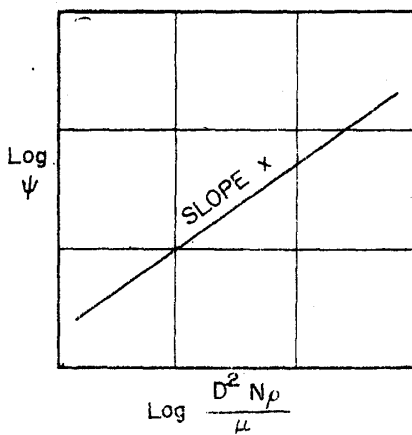


Fig. 10. Correlation of rate coefficient, fluid properties, and fluid motion. Fully developed turbulence. For heat transfer, $\psi = (hD/k) (C\mu/k)^{-1/2}$. For desorption or other mass transfer operations $\psi = (k_L D/B) (\mu/\rho B)^{-1/2}$.

られたとすると幾何学的に相似のタンクのスケールアップにおいては

$$D_1^{2x-1} N_1^x = D_2^{2x-1} N_2^x$$

$$\text{ゆえに } N_2 = N_1 (D_1/D_2)^{(2x-1)/x} \quad (13)$$

の関係が成立することとなる。すなわちこの Rushton の方法によるとスケールアップの手順はまず小容量のタンクで process result とレイノルズ数の相関を求め、 x をえて (13) 式から大容量の攪拌数を計算し、 P_0 を $P_{0g0}/N^3 D^5 \rho = 6$ から求め、さらに Michel, Miller の式で vvm 単位の通気量一定として P_0 を計算することとなる。この場合も vvm 一定による大容量タンクでの発泡には留意しなければならぬ。

7. $k_L \cdot a$ を基礎とするスケールアップ

$k_L \cdot a$ を基礎とするスケールアップについて述べる前に Bartholomew⁶⁾ の総説中の例を紹介する。Fig. 11 は process result としてストレプトマイシンの生産比をとり、酸素移動との相関を求めたものである。横軸の k_{aw} は亜硫酸ソーダ法で測定さ

れた酸素吸収速度係数であり P はタンク内の平均圧であり、タンクに送入される通気圧と出口圧の平均として求められる。すなわち亜硫酸ソーダ法の場合

$$k_{dw}(C^* - C) = k_{dw} P(y^* - y) \quad (14)$$

ただし y^* , y はそれぞれ C^* , C に平衡なガス圧中の酸素モル分率である。しかも $P y^* = 0$ と考えられるので、 $k_{dw} \cdot P$ は酸素吸収速度のかたちで酸素吸収状態の比較に使用することができる。抗生物質生産用タンクのスケールアップ

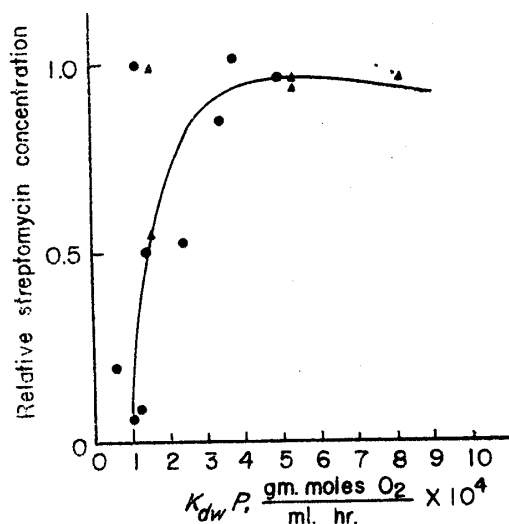


Fig. 11. Scale-up of streptomycin production based on oxygen transfer rate.

Key; ●, 5-liter fermentors; ▲, 15,000-gallon fermentors.

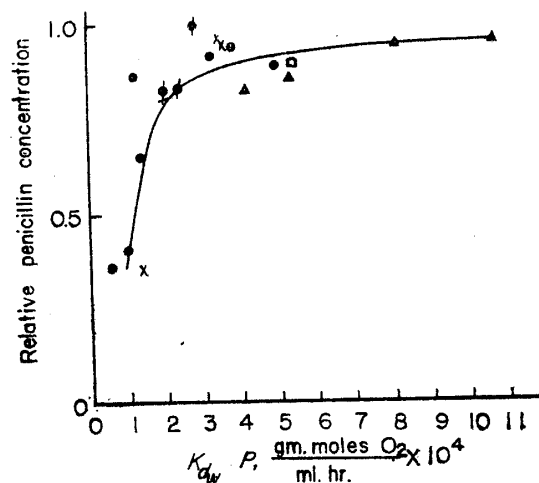


Fig. 12. Scale-up of penicillin production based on oxygen transfer rate.

Key: ● with line, 5-liter fermentors (2 atm); ●, 5-liter fermentors (1 atm); ×, 200-gallon fermentors; □, 10,000-gallon fermentors; ▲, 15,000-gallon fermentors.

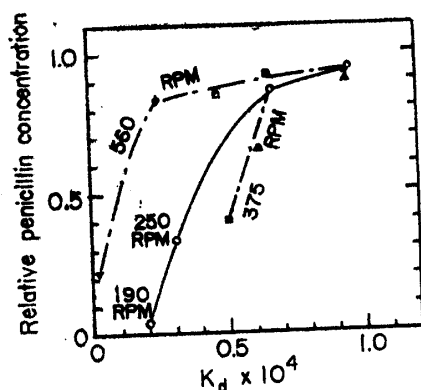


Fig. 13. Correlation of oxygen transfer and power in penicillin fermentations. k_d determined by amperometric method on uninoculated corn-steep medium. Data for constricted pipe sparger. Linear air flow key: ○, 72 ft./hr; ▲, 36 ft./hr; ■, 12 ft./hr; □, 6 ft./hr; ○ with line, 24 ft./hr; ▼, air introduced above the liquid.

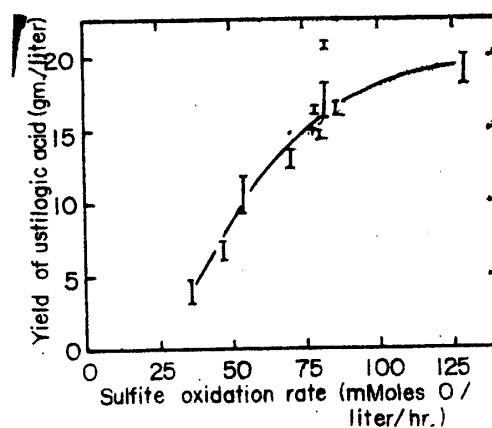


Fig. 14. Correlation of yield of ustilogic acid with oxygen transfer rate in 5-liter fermentors. Measured with 5% sodium sulfite solution under the same conditions of air flow and agitator speed. Fermentations at 30°C. with 7.5% glucose monohydrate. + = 200-gallon fermentors.

ルアップにおいてはこの $k_{dw} \cdot P$ の値は通常 5×10^{-4} g mol O_2 /ml/hr より大なる値が適当とされている。ストレプトマイシンの収率も $k_{dw} \cdot P$ の値が 5×10^{-4} 以上のところで安定し、スケールアップの対象となる領域を見出すことができる。Fig. 12 は Karrow⁷⁾ がペニシリン生産についてストレプトマイシンの場合と同様に力価と $k_{dw} \cdot P$ の間にスケールアップの基礎となりうる相関があることを示した結果である。ペニシリン生産においては Fig. 13 のごとく同一の k_{dw} においても攪拌数の最適値が存在することを Bartholomew は認めている。ウスチラギン酸生産については亜硫酸ソーダー溶液の酸化速度とその生産との相関が Fig. 14 のごとくえられており、この場合も 5 l 容量での実験値を示す直線上に 200 gal の結果が一致することが認められる。Fig. 15 は Strohm⁸⁾ らによって示された酵母生産と亜硫酸ソーダー酸化速度との関係を求めたもので、同様に安定な結果がえられるがこの実験の場合には振盪フラスコをはじめとして攪拌機の型式の異なるものも採用されている。前述したビタミン B_{12} (Fig.

9 参照) の場合は少しく様相が異なる。この B_{12} 生産細菌は攪拌動力によって非常に影響を受けやすい傾向のあることを示し、2 gallon の容量における結果と大容量(110~6000 gal)における結果が相違している。すなわち酸素移動が良好になっても剪断が著しく増加した大容量のタンクでは収率に悪影響を与えると云う一例を示している。Bartholomew はまた Merck Co. のデーターからタービン翼を使用した場合のスケールアップにおいて $k_L \cdot a$ と単位容積当りに投入される動力との相関が変化してくることを報じている。前述のごとく亜硫酸ソーダー法で測定された $k_L \cdot a$ は Cooper によると $(P/V)^{0.95}$ に比例すると報告されているがタービン翼を使用した 2 gallon 以下のタンクでも同様な関係がえられる。しかし 110 gallon の容量の場合には $(P/V)^{0.67}$ に比例することとなり、さらに容量が 6000~12000 gallon の工場スケールのタンクでは攪拌数の変化する時には $(P/V)^{0.5}$ に、翼数の変化する場合には $(P/V)^{0.33}$ に比例することが判明した。かような変化が起こる理由としては種々考えられるであろうが、単位容積当りに投入される動力が等しくてもスケールアップにおいて必ずしも等しい剪断を生じないことも一つの理由と考える。これらの結果はスケールアップに際して比較的低い攪拌動力で良い酸素移動が行なえることもできるし一方最高の動力を与えても Cooper らの 0.95 指数を使用して予測した $k_L \cdot a$ より低い値となる場合もあることを示している。特に (P/V) 一定のスケールアップは B_{12} の生産のごとく剪断によって収率の低下をきたし易い醗酵においては留意しなければならない。

つぎに $k_L \cdot a$ を一定にするスケールアップの手順について述べる。

a) Bartholomew の示した数例のごとくまず process result と $k_L \cdot a$ の相関を求め設計に用いうる $k_L \cdot a$ の至適値を決定すべきである。この際小容量における実験データーを基礎にしなければならないが、振盪フラスコ実験を行うか、5 l または 20, 40 l の醗酵タンクを用いて実験するかが問題となる。

綿栓をつけた振盪フラスコにおけるデーターの再現性は極めて乏しい。その理由として綿栓が通気の律速因子となるがその均一性を保持することが困難であり、通気条件の再現性がえ難いことが挙げられる。またタンク培養の攪拌による培地の流動に対しフラスコ内の流動は著しくその性質を異にしている。振盪フラスコの液混合および通気の改良に対しては種々の提案がある。すなわち回転型振盪機における三角フラスコにひだをつけたものとか Gaden⁹⁾ が示しているように金属製またはプラスチック製の邪魔板を壁に付設するものがある。しかし前者は構造的に弱く、培養後の洗滌が困難となる欠点があり、さらに均一なものを製作し難く、邪魔板効果の相違によって通気効果の再現性に乏しい結果を招く、また後者の場合は徹、放線菌の培養において、邪魔板の上部に

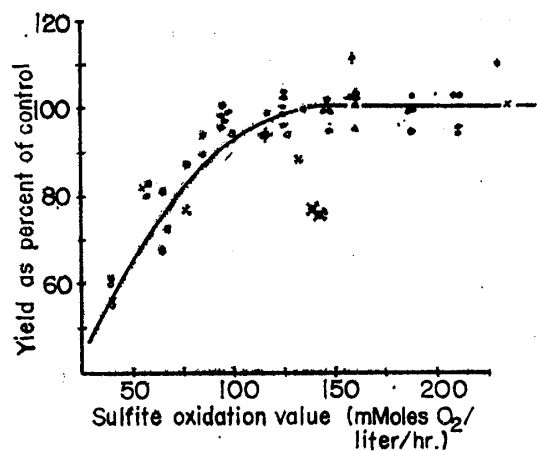


Fig. 15. Correlation of yield of yeast fermentation with sulfite oxidation value

Key: ×, 0.05-gallon shake flask; ●, 5-gallon agitated, 600 r. p. m., impeller flooded; ○, 5-gallon agitated, 800 r.p.m.; ○, 70-gallon non-agitated, small hole sparger. ▲, 70-gallon nonagitated, large hole sparger. ○ with cross lines, 30,000-gallon nonagitated.

発育菌体が附着し菌体分布の不均一性をきたす缺点がある。綿栓の代用として紙パルプとか薄い綿の層をガーゼではさんだものなどを用いて通気を良くすることが可能である。

Dr. Milles は邪摩板を付設せず三角フラスコを回転型振盪機の木平面と約 20° の角度をつけて設置するだけで非常に良い攪拌状態をうることを示したが、私は優れた提案と考える。しかし現在の段階では振盪培養の結果はスケールアップの基礎にはなり難いと考える。これらの考察から今後タンク培養の条態に近い再現性のある振盪培養法についての研究を行なうべきである。

さてジャーファーマンターの 5 l 容量のものがしばしば用いられるが、私はこの小さなタンク中に pH メーター、溶存酸素計、温度計、邪摩板、などを設けた場合、微、放線菌の発育菌糸がそれらの上部に附着し、均一な分布を示さなくなることを実験で観察した。またこれらのせんい状菌体の場合は剪断の問題も考慮せねばならず、できれば最小限 20 l かまたは 40 l 容量のタンクを使用すべきである。酵母、細菌の培養については 5 l 容量で充分と考えられる。

これら小容量のタンクで process result と $k_L \cdot a$ の相関を求めればつぎには 400 l, 4000 l の容量について同様な試験を実施すべきである。

b) つぎに大容量のタンクの $k_L \cdot a$ をいかなる方法で求めるかと言う問題が生ずる。これには Cooper, Fernstrom, Miller が求めたデーターとか Richard の方法またはそれに類似の相関を使用することができし、さらに直接亜硫酸ソーダ法または *A. niger*, *P. ovalis* などによるブドウ糖からグルコン酸を生成せしめる方法で測定することが出来る。

特に実際の生産タンクの場合には通常 2 段の スパー ジャー と攪拌翼を設けているので $k_L \cdot a$ と生産の関係を求めることは困難である。生産タンクでは前回述べたごとく、タンクに挿入した溶存酸素計による溶存酸素の値とタンクの通気管、排気管における酸素分析計によって求められる酸素摂取速度とから実測される $k_L \cdot a$ をもとにして考察しなければならない。

4000 l の容量においてもグルコン酸生産による方法で $k_L \cdot a$ を求めるとともに上述の方法で process result との関係を求めておけば生産タンクの管理にも都合が良い。

普通には 5 l タンクのデーターを基礎としこのデーターを 400 l のタンクで検討し、大容量タンクについては Cooper, Fernstrom の相関を応用して同一 $k_L \cdot a$ を評価し、攪拌速度、通気量を決定している。

すなわち手順としてはパイロットプラントで至適の $k_L \cdot a$ を撰定し、つぎに大容量タンクの操作条件を Cooper, Fernstrom または Richard の $k_L \cdot a$ に関する相関式から求めることとなる。

c) 相関式中の通気線速度 V_s を決定するには、2つの方法が考えられる。まづ通常通気量を示すのに用いられる培養液仕込量に対する単位時間の通気容積比 (vvm) を同一にして V_s を計算する方法を用い、この V_s の値が 8000 cm/hr を越える場合には上限値として 8000 cm/hr を採用する。

d) 大容量タンクの V_{s2} が決定するとパイロットでえられた単位容積当りの投入動力 (P_{g1}/vol_1) から大容量タンクの通気時における攪拌動力 P_{g2} を求めうる。例えば Cooper らの相関式を用いると P_{g2} は次式で求めうる。

$$P_{g2} = \sqrt[0.95]{\frac{(P_{g1}/vol_1)^{0.95} (V_{s1})^{0.67}}{(1/vol_2)^{0.95} (V_{s2})^{0.67}}} \quad (14)$$

e) P_{g1} が決定されると攪拌数を求めることとなるが、このためには Michel, Miller の求めた通気せぬ場合の動力 P_0 と P_g との関係式および乱流状態における動力数がほぼ 6 に等しい事実を用いて trial and error 法によって決定する。

以上の手順において Richard の相関を採用すると P/V と N の項目が同時に含まれていることと $k_L \cdot a$ との相関が直線関係でないことから Cooper らの相関を用いる以上に攪拌数の決定が煩雑になる。つぎに非ニュートンとしての解析に関係のあるノボビオシン酸酵における Maxon¹⁰⁾ らの研究を紹介する。

彼はノボビオシン酸酵において剪断の影響の大きいことに注目し標準径の攪拌翼以外に大小 3 種の翼を使用してノボビオシン生産との関係を検討した。3 種の翼についての亜硫酸ソーダ酸化速度と単位容積当りに投入される攪拌所要動力との関係は Fig. 16 にみるごとく余り激しい相違がみられない。しかし培養 115 hr におけるノボビオシン力価と攪拌動力との関係をみると Fig. 17 のごとく標準寸法または小径の攪拌翼を使用した時の

結果ほとんど差がないが、大径の翼の場合は著しく生産力価が低下する。これらの結果から Maxon は大径の翼を用いた時、より良き混合とほとんど等しい物質移動が行われているにもかかわらず、生産が低下するのは大径翼を使用した時増加する剪断が生産菌の発育形態に与える影響が大であると考えた。ノボビオシン生産は発育菌体がペレットを形成する場合に良好であり、大径の場合はペレット形成が見られなかった。多くの抗生物質生産、酵素生産においてペレット形成が重要な要因となる場合があり、ペレット形成のために C.M.C. のような性粘液の添加が有効であると云う山田らの報告もある。

このノボビオシンの例のごとくせんい状菌糸またはペレットを形成する菌、放線菌の培養におけるスケールアップは容量増加比を20倍以下に保ちつゝ剪断を考慮に入れて設計すべきである。一方細菌、酵母の培養においてはビタミン B₁₂ 生産のごとき例外もあるが通常20倍以上のスケールアップを行っても差支えない。

8. 非ニュートン流体についての取扱い

醗酵液が非ニュートン流体を示す場合の醗酵タンクのスケールアップの手順は基本的にはニュートン体の場合と差がないが次の項目について留意しなければならぬ。

a) Process result は 5 l 容量よりも大きなタンクで実験したものを用いるべきである。

b) 大容量のタンクに対する $k_L \cdot a$ は非ニュートン体を示す培養液と同様な系を使用して測定されねばならぬ。例えば Richard¹¹⁾ らは亜硫酸ソーダ酸化法において sago 澱粉、紙パルプ、*A. niger* などの懸垂液について試験し Fig. 18 のごとき結果をえている。すなわち紙パルプと *A. niger* の菌体懸垂液ではほぼ近似はしているが正確には同一の酸化速度はえられていない。したがって私は非ニュートン体の場合にはブドウ糖からグルコン酸を生産する *A. niger* を使用して $k_L \cdot a$ を測定するとか溶存酸素計の挿入と酸素摂取速度を各操作条件について測定して求めた実際の $k_L \cdot a$ を用いるのが最良と考える。

c) P_0 と P_0 の関係についても未だ非ニュートン体の場合には完全な解が与えられていないが、幸いに Michel, Miller の相関式の中には多少非ニュートンについての実験例も含まれているので現在ではこの相関を用いるしかない。

d) P_0 については Calderbank, 田口が行ったように変形レイノルズ数 (consistency index, flow behavior index を含む形のもの) と動力数との相関を採用するか、あるいは醗酵液について実測した見掛けの粘度 ($\mu_a = \tau/\dot{\gamma}$) を用いたレイノルズ数と動力数との相関を用いるべきである。しかし簡単に乱流域においては動力数の値が6に近いとして差支えない。以上のごとく非ニュートン流体については今後研究しなければならぬ課題が残ってはいるが、最も重要なことは培養中遭遇する条態と同様な系における $k_L \cdot a$ を求めておくことである。

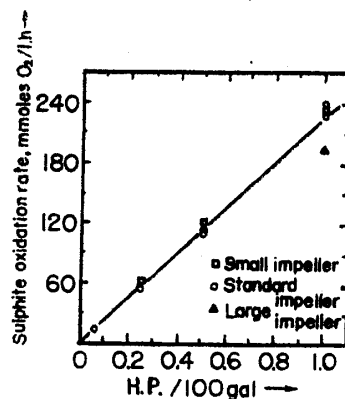


Fig. 16. Effect of power input and impeller size on sulphite oxidation rate.

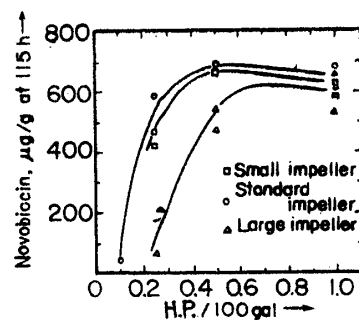


Fig. 17. Effect of power input and impeller size on harvest yield of the novobiocin fermentation.

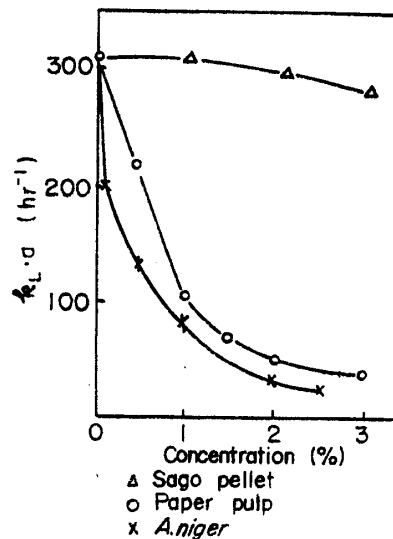


Fig. 18. Effect of solid disperse phase on oxygen absorption.

9. 実例

こゝでは米国のある小さな会社におけるストレプトマイシン生産に関するスケールアップの実例について紹介する。振盪フラスコによる実験は菌株、培地組成の撰定のみを使用し、スケールアップのためのデータは 4l 仕込のジャーを主体とし 400l のタンクでこの結果を検討したものを用いた。生産用タンクの仕込量は 40,000 l で接種用の前培養は 2000 l のタンクを使用した。4l, 400l, 40000 l の主要寸法は Table 2 のごとである。

Table 2. Development of equipment

Total volume (l)	5	50	500	50,000
Operating volume (l)	4	40	400	40,000
D (cm)	5.31	10.23	24.33	102.3
T (cm)	16.52	33.70	72.00	307.0
L (cm)	20.80	45.00	97.00	410.0
V_s at 1 vvm (cm/hr)	1,250	2,700	5,820	32,440
Function	Geneal investigation	Scale-up difficulties	Scale-up check and test	Production

4l のジャーにおける各操作条件と亜硫酸ソーダ法または溶存酸素計による溶存酸素値と酸素摂取速度測定から求めた $k_L \cdot a$ 値との関係、およびストレプトマイシンの生産力価の値は Table 3 に示すごとくである。操作条件としては高攪拌、低攪拌の条件下においてそれぞれ高通気、低通気の条件を相合せて実施している。40l のデータはこの際スケールアップには用いなかった。なお生産力価は同条件下における数回の実験の平均値である。また操作圧力はすべて 1 atm. である。

Table 3. Actual data of streptomycin yield

Exp. No.	V_s (cm/hr)	H. P./400 l	$k_L \cdot a \times 10^4 \left(\frac{\text{g. mol}}{\text{ml. hr. atm.}} \right)$	Streptomycin yield (g/l)
1	2200	0,095	0.6	2.0
2	2200	0,201	1.2	10.0
3	2200	0,656	3.8	10.0
4	2200	1,590	9.0	8.2
5	1100	0,975	4.9	9.6
6	1100	0,296	1.4	5.0
7	730	0,318	1.2	0.9
8	366	0,381	1.0	0.6
9	366	1,208	3.4	8.5
10	182	1,270	2.4	5.3

これらの結果を単位容積当りに投入される攪拌所要動力を基礎とするものと $k_L \cdot a$ を基礎にするものに分け、それぞれ process result との相関を求めるため点綴すると Fig. 19 のごとくなる。たゞし $k_L \cdot a$ 基礎の場合内圧のかゝる大容量のタンクでは $k_L \cdot a \cdot P$ の値が横軸の値となる。この結果動力を基礎とするスケールアップでは単位容積当りの攪拌所要動力を 0.8 H. P./400 l と決定し、 $k_L \cdot a$ 基礎の場合には 5×10^{-4} g·mol/ml. hr. atm. を最適と定めた。

次に大容量タンクの $k_L \cdot a$ 値に対する検討が必要である。これについては前述したごとく種々の方法が考えられるが、こゝでは 400l のタンクで亜硫酸ソーダ法を用いて $k_L \cdot a$ を測定し 4l タンクの結果と照合した。すな

わち 400 l タンクにおける $k_L \cdot a$ 測定値は Table 4 のごとくでありこの結果を Cooper, Fernstrom の相関を用いて点綴すると Fig. 20 のごとき相関をうる。

以上の諸実験結果から単位容積当りに投入される攪拌所要動力を等しくすることを基礎とする方法と $k_L \cdot a$ 一定を基礎とする方法についてそれぞれ計算すればつぎのごとくなる。

a) 攪拌動力基礎

通気下の所要動力は $P_g = (0.8) (40000) / (400) = 80 \text{ H.P.}$

4 l のタンクにおいて最適通気量は 1.75 vvm であったが, Table 2 から判明するごとく 1.75 vvm

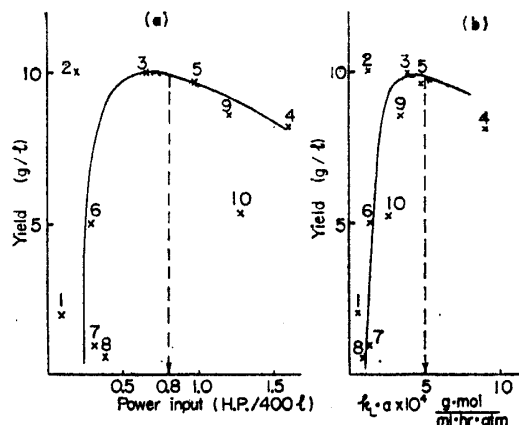


Fig. 19. Actual data for streptomycin yields.

Table 4. Sulfite oxidation test in 400 l tank

V_s (cm/hr)	H. P./400 l	$k_L \cdot a \times 10^4$	$\frac{\text{g mol O}_2}{\text{me} \cdot \text{hr} \cdot \text{atm}}$
4400	0.065	0.72	
4400	0.600	4.80	
8800	0.098	1.75	
8800	0.660	8.80	

の通気では明かに flooding の限界 $V_s = 8000 \text{ cm/hr}$ を越えるので, 通気線速度の上限をとって通気容積速度を計算すれば

$$Q = \frac{(8000) (73985)}{(60)} = 9860 \text{ l/min}$$

すなわち 0.25 vvm の通気量となる。

この値を Michel, Miller の(1)式に代入するのであるが, この際 Fig. 2 から

$$P_g = 0.08 \left(\frac{P_0^2 N D^3}{Q^{0.56}} \right)^{0.45} \quad (a)$$

であり, しかも D, Q の単位はそれぞれ ft^3/min になっていることに留意して計算を行う。

$Q = 348.2 \text{ ft}^3/\text{min}$, $D = 3.356 \text{ ft}$, $P_g = 80 \text{ H.P.}$ であるのでこれらの値を(a)式に代入すると

$$(P_0^2 N)^{0.45} = 8.55 \times 10^3 \quad (b)$$

また $P_{go} = 6 N^3 D^5 \rho$ と考えると

$$P_0 = 4.32 \times 10^{-5} N^3 \quad (c)$$

(b)式と(c)式とより P_0 を消去すれば

$$N = 160 \text{ rpm}$$

したがって本法による解は

$$P_g = 80 \text{ H.P.}, P_0 = 135 \text{ H.P.}, N = 160 \text{ rpm}$$

通気量 = 0.25 vvm となる。

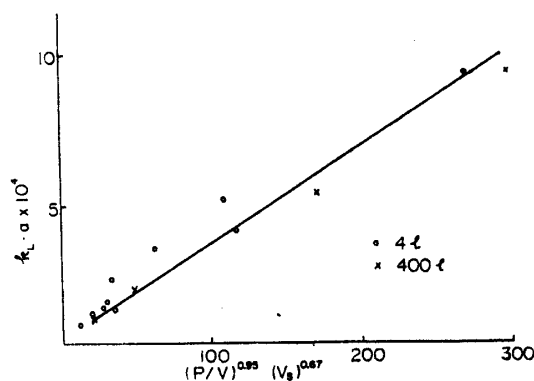


Fig. 20. $k_L \cdot a$ v.s. $(P/V)^{0.95} (V_s)^{0.67}$.

b) $k_L \cdot a$ を一定とする場合

生産用タンク内圧は 1.435 atm であるので

$k_L \cdot a = 5 \times 10^{-4} / 1.435 = 3.5 \times 10^{-4}$ gmol O_2 /ml. hr. atm したがって V_s を a) の場合と同様通気速度 $V_s = 8000$ cm/hr に撰定すると Fig. 20 の $k_L \cdot a = 3.5 \times 10^{-4}$ の点における $(P_0/V)^{0.95} (V_s)^{0.67}$ の値から $P_0/V = 0.225$ H.P./400 l が求まる。したがって所要動力は $P_0 = 22.5$ H.P. この P_0 の値を(a)式に代入して計算すれば

$$(P_0^2 N)^{0.45} = 2.4 \times 10^2 \quad (d)$$

(c)式と(d)式とより P_0 を消去すれば

$$N = 100 \text{ rpm}$$

したがって本法による解は

$$P_0 = 22.5 \text{ H.P.}, P_0 = 43 \text{ H.P.}, N = 100 \text{ rpm}$$

$$\text{通気量} = 0.25 \text{ vvm}$$

単位容積当りの攪拌動力基礎の方法で計算された N , または P_0 は通常容量係数 $k_r \cdot a$ 基礎で計算した場合よりも高い値がでる。

$k_L \cdot a$ 一定を基礎として計算する時も flooding の限界と通気速度の関係を仮定しなければならないし大容量タンクの $k_L \cdot a$ を推定するために基礎データーを単位容積当りの攪拌動力または容量係数について求めておく必要がある。しかも $k_r \cdot a$ に対するこれらの相関についてのデーターのバラツキは通常著しい。したがって特に必要とする $k_L \cdot a$ 値の附近に関するデーターを詳細に検討しておく必要がある。

以上醗酵タンクのスケールアップについての一例を示したが勿論これだけの計算で完全な設計ができるとは思はれないしこれを出発点として前述したスケールアップに対する基礎的諸問題について更に解析することが重要である。Rushton の方法はレイノルズ数を基礎とするものでむしろ攪拌所要動力基礎の場合の結果に一致する時が多い、その点現在では $k_L \cdot a$ 基礎にする方法はその途中で Cooper, Ferstrom, Miller, Michel Richard らのスケールアップに対する考え方を含みうるし唯一の方法と考えられる。

文 献

- 1) Michel, B. T., Miller, S. A. : *A. I. Ch. E. Journal*, **8**, 262 (1962).
- 2) Cooper, C. M, Fernstrom, G. A., Miller, S. A. *Ind. Eng. Chem.*, **36**, 504 (1944).
- 3) Richard, J. W.: *Prog. Ind. Microbiol.*, **3**, 141 (1961)
- 4) Gaden, E. L. : *Sci. Repts. Inst. Super. Sanit.*, **1**, 161 (1961).
- 5) Rushton, J. H. : *Chem. Eng. Prog.*, **47**, 485 (1951).
- 6) Bartholomew, W. H : *Appl. Microbio.*, **2**, 289 (1960).
- 7) Karrow, E. O Bartholomew, W. H., Stat, M. R. : *J. Agr. Food. Chem.*, **1** 302 (1953).
- 8) Strohm, J, Dale, H. F., Peppler, H. J: *Appl. Microbiol.*, **7**, 235 (1950).
- 9) Gaden, E. L: *Biotechn. Bioeng.*, **3**, 109(1962)'
- 10) Maxon, W D: *Biochem. Microbiol. Tech. Eng.*, **2**, 165 (1960).
- 11) Richand, J W: *J. Appl. Microbiol.*, **6**, 67 (1959).

(昭和 39.3.20 受付)