

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 20 日現在

機関番号：10103

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26420096

研究課題名(和文) 固液テラ渦カオス乱流の超音波速度計測法の確立と細胞保護バイオリアクターへの応用

研究課題名(英文) Measurement of the flow field in Taylor vortex with using the ultrasound velocimetry and application to the bioreactor system protecting the bio cells from the powered sharing flow

研究代表者

河合 秀樹 (KAWAI, Hideki)

室蘭工業大学・工学研究科・教授

研究者番号：20292071

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：Taylor Vortex Flow(TVF) は、乱れ中にも一定の秩序が発現され急激な乱流遷移が抑えられる可能性がある。また固液二相では粒子が主渦の中心に内包されるなど、TVFはせん断流れに弱い動物細胞や未分化細胞などの培養にも適する。しかし、その流体力学的なメカニズムは未解明な部分が多い。ここでは超音波流速計と数値解析により、特に低周波領域に発現するBroad Componentの存在を明らかにした。これがTVFの急激な乱流への遷移を抑えているとも考えられる。またバイオリアクターの試験では紫外領域を利用する新しい吸光法の開発に着手し、藻体破壊から漏洩する微量なバクテリア物質を検知した。

研究成果の概要(英文)：Taylor vortex flow (TVF) is known to have a spectral transition to the turbulence originally. This means that the flow to the turbulence can be controlled with using the TVF. In the solid-liquid phase flow, TVF has possibility to make the particles move to the central region of the main vortex. This peculiarity may be useful when we design the bioreactor device. TVF has such valuable characteristics, however the engineering approach with the fluid dynamics is not enough and especially few studied in multiphase flow regions. In this study, we investigate the flow mechanism of TVF to turbulence via wavy, modulated wavy and chaotic vortex modes including the solid-liquid multi flow phase, and apply to the bioreactor system trying the milder mixing in plant microorganism. We measured the flow field by using the ultrasound velocimetry and found the broad band component in the lower frequency region and it has possibility to control the turbulence suppressing the abrupt transition.

研究分野：機械工学

キーワード：Taylor vortex flow Chaotic wavy vortex ultrasound velocimetry mixing process bioreactor visualization

### 1. 研究開始当初の背景

血球細胞や幹細胞などの動物細胞は細胞壁がないため流れのせん断に弱い。特に幹細胞などの未分化細胞は培養時の攪拌において僅かな外力でも容易に細胞が損傷を受ける恐れがある。今後再生医学や医薬品生産、血液浄化リアクターなどの医工学分野において幹細胞は中枢的な役割を担うと予測されるが、最適な培養状態を確保するためには流体力学によるアプローチが不可欠であり、それなくして将来の大量培養に備えることはできない。一方、せん断に弱い細胞を守るために多孔性樹脂などを細かく刻んだ固定化担体に細胞を担持させる固定化培養法が従来から生物工学分野で進められてきた。これは細胞を高密度に集積すると同時に、外部流の強いせん断から細胞を保護できるため注目される技術で、肝細胞など特定の細胞は固定化法以外で培養することは困難とも言われ、その応用価値は高い。しかし、攪拌によっては固定化担体間の増殖率に大きな斑(バラツキ)が生じることが指摘され、増殖を制御する因子も含め未解明な部分が多い。

### 2. 研究の目的

申請者は、これまで浮遊細胞の増殖時における局所せん断を極力回避する攪拌法として、単純な装置で乱れの中にも一定の秩序が発現し、急激な乱流が抑えられて段階的に遷移するテーラー渦 (Taylor Vortex Flow, TVF; Fig.1) に着目し、超音波流速計測(UVP)などの開発を通してバイオリアクターへの応用を模索してきた。TVFの主渦に細胞が入ると渦中心付近に細胞群が内包保護される効果があると推測され、内円筒回転方向には高せん断流(クウェット流)が生じるにも関わらず比較的穏やかに均一混合場が形成される。これは、細胞壁を有しない動物細胞などの攪拌に有利に働くことが期待される。Fig.2 は、その実験を行った結果で、 $3\mu\text{m}$  のマイクロ粒子が上部セルの中心部に捕捉(内包)されている様子が可視化されている。この実験では内外円筒の半径比  $\alpha=0.375$ 、アスペクト比  $T(=H/d)=3$  を使用した。図中下部セルには内包粒子は存在しないが、母液が水溶液と粒子の密度差による浮力と攪拌力の拮抗によるものと考えられる。また、 $\alpha=1$  の TVF 装置に固定化担体を数百個投入し培養したところ、通常用いられるアレーション法(バブルによる攪拌)に比べてより均一な担体間の固定率が得られた。

そこで本研究では、バイオリアクターへの応用を視野に、(1) TVF 特有の乱流振動や均一混合を把握するための計測技術法と数値解析法の確立、(2) せん断に弱い光合成植物細胞による藻体損傷率の測定法の確立と損傷率の低減、均一混合化を目指す。

### 3. 研究の方法

乱流振動や乱流への遷移過程に関しては、

時空間分解能のより高精度な超音波計測法 (Ultrasound Velocity Profiler; UVP 法) の確立を目指すと同時に、数値解析による直接シミュレーション手法の開発に焦点を当てる。固液スリートの濃度分布を超音波ドップル信号から捉える可能性についても模索する。

バイオリアクター用実験としては、せん断力に弱い光合成植物微生物を選択し、浮遊細胞の損傷率実験と固定化担体の付着率実験をそれぞれ独立して行う。

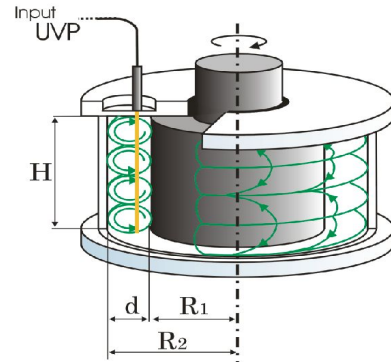


Fig.1 TVF 発生装置

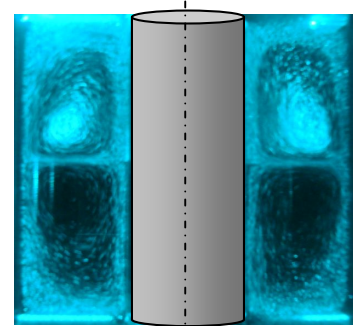


Fig.2 TVF 主渦(2cell)内での  $80\mu\text{m}$  と  $3\mu\text{m}$  ナノ粒子の挙動 ( $\alpha=0.375$ ,  $T=3$ ,  $Re=600$ )

### 4. 研究成果

Fig.3 には、TVF 2 cell における軸方向速度成分の基本周波数とそのエネルギー密度(PSD)の変化を Reynolds 数に対してプロットした結果を示した。上図(a)は超音波速度計による計測値、下図(b)は数値シミュレーションによる結果であり、両者とも周波数は内円筒回転周期で正規化されている(図中  $f^*$ )。これより定常 Taylor 渦のモードから波動 Taylor 渦(WVF)、MWV(準周期モード)、CWV(カオスモード)へと段階的に遷移する挙動は、全体を通して両者よく一致しており、特に振動の低周波成分(Broadband, B 成分)が Reynolds 数の増加に従って消散せずに徐々に発達する様子が明確に捉えられた。この B 成分が TVF 特有の乱入、すなわち急激な乱流への遷移が抑えられ、相当高い Reynolds 領域でも渦骨格(本実験では 2 セル)が保たれる原因とも考えられ、引き続き調査して行く予定である。

一方バイオリアクターについては、微生物の藻体破壊をより高感度で検出するため、新しい吸光度アスペクト法の開発に着手した。Fig.4 にその

結果の一例を示す．ここでは，せん断に弱い光合成微生物(スピリリヤ)を浮遊培養するTVF実験系を想定し，細胞を強制的に超音波破碎して漏出するクロロフィル A，並びにある特定のタンパク質に吸光する波長を調べた．図は破碎後の培養液を採取し，その溶液と2倍および4倍希釈した溶液についてそれぞれ吸光度を測定した結果である．ただし，微生物を投入する前の純粋な培養液(SOT)をベースラインとして正規化している．横軸は紫外領域から可視光領域までの波長域，縦軸はその吸光度を示す．これより可視光波長440nmと670nm付近にクロロフィル A のピークが見られ，また紫外領域270nm付近にはタンパク質の漏出による優位な吸光度値が見られた．可視光領域は既に報告済であるので，新たに得られた紫外吸光について考察する．Fig.5にはFig.4における270nm波長の吸光度と希釈濃度の関係を示した．これより藻体破壊によるタンパク質の漏出濃度は紫外吸光と直線関係にあることが示され，従来法では得られない微量な藻体破壊も，この吸光度を調べることによって高感度で検出できる可能性がある．これは攪拌装置のスケールアップにおいて，金属材料で構成されるローター部とステーター部の微小間隙に発生するせん断場の影響を，より高い精度で評価できる方法の確立に寄与すると考えられる．

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計12件)

- (1) 仲條靖男, 清水一道, 楠本賢太, 河合秀樹, 原 宏哉, Fe-C-Cr-Mo-W-V-10%Co 多合金白鑄鉄のシャー切断試験による摩耗評価, 鑄造工学, 88巻, 5号, (頁241 ~ 245), 2016年.
- (2) Himsar Ambarita and Hideki Kawai, Experimental study on solar-powered adsorption refrigeration cycle with activated alumina and activated carbon as adsorbent, Case Studies in Thermal Engineering, 7巻, 36号, (頁36 ~ 46), 2016年.
- (3) 楠本賢太, 清水一道, 河合秀樹, 松本秀人, Fe-C-Cr-Mo-W系多合金鑄鉄のエネルギー摩耗特性に及ぼすV, Nb, Co添加の影響, 鑄造工学, (査読有), 87巻, No.1号, (頁16 ~ 21), 2015年.
- (4) 船曳崇史, 清水一道, 河合秀樹, 戸館海灯, 白井雅人, 薄肉球状黒鉛鑄鉄の疲労強度におよぼすレアアース含有量の影響, 鑄造工学, (査読有), 87巻, No.3号, (頁175 ~ 180), 2015年.
- (5) M. Kamata, K. Kumagai, H. Kawai, J. Suzuki, J. Yagi, S. Matsuzaki and H. Nogami, Formation of Vertically Inverse Pressure Distribution Due to Packing Structure of Near Wall Region of Blast Furnace, ISIJ International, (査読有), 55巻, 6号, (頁1327 ~ 1335), 2015年.

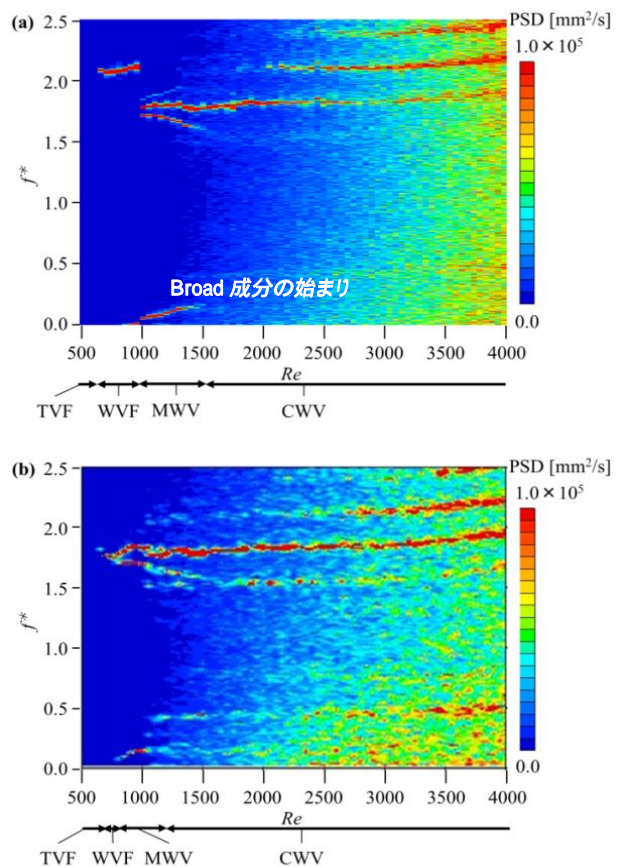


Fig.3 Reynolds 数に対する TVF2 セルモード基本周波数とそのエネルギー密度の遷移 (a) 超音波計測実験, (b) 数値解析

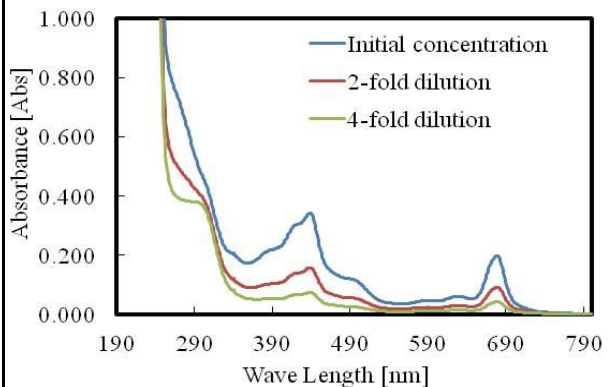


Fig.4 藻体破壊時の吸光度スペクトル

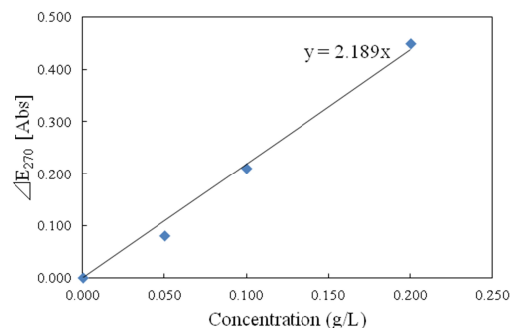


Fig.5 吸光度スペクトルと漏洩タンパク質の相関度

- (6) Muneyuki KAMATA, Ryuichi SASAKI, Jun SUZUKI, Hideki KAWAI and Hiroshi NOGAMI, Dispersion Characteristics of Laterally Injected Fluid into Main Stream in Packed Bed, *ISIJ International*, (査読有), 55巻, 6号, (頁 1267 ~ 1276), 2015年.
- (7) K. Kusumoto, K. Shimizu, Y. Xinba, H. Hara, K. Tamura and H. Kawai, High erosion-oxidation performance of Fe-based Nb or V containing multi-component alloys with Co addition at 1173K, *Material and Design*, (査読有), 88巻, (頁 366 ~ 374), 2015年.
- (8) Thanh Tung Duong, Hiromasa Tanaka, Nobuyoshi Tsuzuki, Hideki Kawai and Hiroshige Kikura, Effect of cooling temperature of electrodes on Joule-heating flow in cubic cavity, *Progress in Nuclear Energy*, (査読有), 88巻, (頁 165 ~ 175), 2015年.
- (9) Particles, M. Fukuda, J. Suzuki, H. Kawai and H. Nogami, Numerical Analysis on Passage and Blockage Behaviors of Fine Particles through an Orifice Consists of Coarse *ISIJ International*, (査読有), 55巻, No.6号, (頁 1291 ~ 1298), 2015年.
- (10) Sari FarahDina, Himsar Ambarita, Farel H. Napatipulu, Hideki Kawai, Study on effectiveness of continuous solar dryer integrated with desiccant thermal storage for drying cocoa beans, *Case Studies in Thermal Engineering*, (査読有), 5巻, (頁 32 ~ 40), 2015年.
- (11) Thanh Tung Duong, Hiromasa Tanaka, Nobuyoshi Tsuzuki, Hideki Kawai and Hiroshige Kikura, Measurement of Joule-heating Flow Convection Induced by Internal Heat Generation Using Ultrasound Velocity Profiler in Glycerin Fluid, *Journal of Flow measurement and Instrumentation*, (査読有), 2014年.
- (12) 埜上洋, 河合秀樹, 八木順一郎, 小型冷間模型内に形成したレースウェイの X 線 CT による三次元構造測定, 鉄と鋼, (査読有), 100巻, No.2号, (頁 148 ~ 153), 2014年.
- Transition to Turbulence in Taylor-Couette System with Small Aspect Ratio, *Journal of Physics*, 2017, DOI:10.1088/1742-6596/801/1/012063.
- (2) A. S. Siahaan, H. Ambarita, H. Kawai, and M. Daimaruya, Transient natural convection and conduction heat transfers on hot box of a coke drum in Pre-heating stage, *Journal of Physics*, 2017, DOI:10.1088/1742-6596/801/1/012096.
- (3) Riky Stepanus Situmorang, Yoshihiko Oishi and Hideki Kawai, Hydrothermal Treatment of Polyvinyl Chloride Decomposition, *Proceedings of JSED2016*, 2016年03月, Muroran.
- (4) Riky Stepanus Situmorang, Yoshihiko Oishi and Hideki Kawai, Hydrothermal Treatment on Decomposition of Polyvinyl Chloride and Fixation Mercury, *Proceedings of MIER2015*, 2015年05月, Muroran.
- (5) A Solid-Liquid Filtration Method with a Taylor Vortex Flow system, Hiroyuki Sato, Yoshihiko Oishi and Hideki Kawai, *Proceedings of MIER2015*, 2015年05月, Muroran.
- (6) Syogo Nikadori, Yoshihiko Oishi and Hideki Kawai, Immobilization of the Photosynthesis Microorganism in a Bioreactor of Taylor-Couette Vortex Flow, *Proceedings of MIER2015*, 2015年05月, Muroran.
- (7) Thanh Tung Duong, Gaku Hashimoto, Nobuyuki Tsuzuki, Hideki Kawai and Hiroshige Kikura, Numerical Investigation of Glass Flow in a cubic cavity using GSMAC-FEM, *Proceedings of ICNAAM*, 2014年, Rhodes.
- (8) Thanh Tung Duong, Hiromasa Tanaka, Nobuyuki Tsuzuki, Hideki Kawai and Hiroshige Kikura, Experimental and Numerical Investigation of Joule-heating Flow in Square Cavity-Effect of Cold Cap Condition, *Proceedings of International Topical Meeting on Advances in Thermal Hydraulics*, Paper 10300, 2014年, Los Angeles.

[学会発表](計16件)

国際会議

- (1) Tatsuya Fujii, Yoshihiko Oishi, Hideki Kawai, Hiroshige Kikura, Riky Stepanus Situmorang and Himsar Ambarita, Frequency Analysis of Chaotic Flow in

国内発表

- (1) Riky Stepanus Situmorang, Yoshihiko Oishi, Hideki Kawai, Osami Seri. Proportional/Disproportional Reaction in Ant-nest Like Corrosion of Copper. The 63rd Japan Conference on Material and Environments. Osaka, October, 2016.

- (2)青塚公希, 大石義彦, 河合秀樹, 低アスペクト比 Taylor-Couette 流れの固定端近傍におけるカオス流動の周波数解析, 可視化情報シンポジウム, 2016 年 7 月 19-20 日, 新宿.
- (3)大沼翔, 大石義彦, 河合秀樹, 水平チャンネル気液二相乱流におけるレーザー応力計を用いた壁面せん断応力の直接計測, 日本混相流学会混相流シンポジウム, 2016 年 8 月 8-11 日, 京都.
- (4)加藤雄太郎, 大石義彦, 河合秀樹, Measurement of particle concentration and location in Taylor-Couette flows by ultrasound echo intensity, EPAM The 7th Forum on Studies of Environmental and Public Health Issues in Asian Mega-cities (EPAM 2016), 2016 年 9 月 1-2 日, Muroran.
- (5)荷川取将吾, 大石義彦, 河合秀樹, Taylor 渦流れにおける BSPs の挙動と光合成微生物固定化の関係, 化学工学会第 48 回秋季大会, 2016 年 9 月 6-8 日, 徳島.
- (6)竹内桃, 大石義彦, 河合秀樹, 渦輪の固体平壁面衝突時における圧力場変動, 可視化情報全国講演会, 2016 年 10 月 8-9 日, 茨城.
- (7)木村貴大, 大石義彦, 河合秀樹, 焼成貝・未焼成貝を固体触媒として用いたバイオディーゼル燃料の生成, 自動車技術会秋季大会, 2016 年 10 月 19-21 日, 札幌.

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

河合 秀樹 (KAWAI Hideki)  
室蘭工業大学・工学研究科・教授  
研究者番号: 20292071