電気精密汙過反応器を用いた *Streptococcus lactis* 527 の高濃度培養†

箱田 優・榎本 淳・中村厚三*

群馬大学工学部 生物化学工学科††

電気精密汙過反応器 (EMFBR) は *Streptococcus lactis* 527 の高濃度培養に適用され、汙過流束と菌体濃度に及ぼす電場の影響が実験的に検討された。

EMFBR は培養器中に菌体を完全に保持し、阻害物質を連続的に除去した。電場を印加することにより、汙過流束を高く維持でき乳酸濃度を低く抑えることができたため、*S. lactis* 濃度は電場強度 20 V/cm において通常の回分培養の約 10 倍である 24.2 g-dry cells/l まで増殖した。また、グルコースに対する菌体収率 $Y_{x/s}$ 及び維持定数 m は電場印加することによって増大した。本実験結果より、電場強度が 20 V/cm 以下の条件では、阻害代謝産物の蓄積及び菌体に対する電場の悪影響が少ないことから、EMFBR は高密度培養に有効であることが明らかとなった。

緒 言

微生物またはその代謝産物を利用する食品・医薬品・発酵工業において、膜型培養器により微生物を高密度培養し有効利用することが試みられている。この膜型培養器の特徴は、微生物を固定化することができ、連続的に代謝産物を培養系から除去できるため、代謝産物阻害があるような微生物の高濃度培養及び連続培養には特に有効である。しかし、膜型培養器は菌体が膜表面に堆積することによる急激な汙過流束の減衰が問題となる。このファウリングの対策として、十字流式汙過法による高密度培養の研究が検討されている (Hayakawa *et al.*, 1990)。一方、水溶液中の荷電粒子あるいはコロイド溶液に電場を印加し、ファウリングを防止する電気限外汙過法の有効性が報告されている (Henry *et al.*, 1977; Yukawa *et al.*, 1980 a, b, 1983 a, b; Visvanathan and Ben Aim, 1989; Iritani *et al.*, 1992)。また、電気限外汙過法はアルブミンとビタミン B₁₂ の分離 (Kimura and Nomura, 1982)、数種類のタンパク質 (Tsuru *et al.*, 1988) 及びアミノ酸の分離、クロム廃水処理 (Visvanathan *et al.*, 1989) に応用され、その有効性が報告されている。酵素を用いた反応例としては、アスパルターゼを膜内に固定化し、フマル酸塩からアスパルギン酸塩を生

成する反応において、透過液中にアスパラギン酸塩が選択的に透過することが報告されている。(Lee and Hong, 1988)。また、澱粉の加水分解を反応例としグルコアミラーゼを反応系内に固定化した電気限外汙過型バイオリクター (EUFBR) の有効性についても検討されている (Hakoda *et al.*, 1991)。しかし、微生物の培養に電気限外汙過法・電気精密汙過法を応用した研究例は皆無である。

本研究は、代謝産物 (乳酸) 阻害のある乳酸菌 (*Streptococcus lactis* 527) を研究例として、電気精密汙過型バイオリクター (EMFBR) による菌体濃度・汙過流束に及ぼす電場強度の影響を実験的に検討し、高密度培養の最適条件を見出すとともに、連続培養への有効性の検討を行った。

1. 電気精密汙過の理論

コロイド溶液を電気限外汙過する場合、汙過過程は、時間の経過とともに三段階、(a) 濃度分極成長過程、(b) ゲル層成長過程、(c) 定常過程の過程に分けて解析できることが報告されている (Yukawa *et al.*, 1983 a, b)。本研究では、基質濃度・阻害物質濃度に影響される菌体の増殖があり非定常過程 (a)、(b) に関しては解析が困難なため、定常過程のみについて検討を行う。定常状態の汙過流束 J_o は次式のように表される。

$$J_o = K \ln \left(\frac{C_g}{C_b} \right) + kE_e \quad (1)$$

ここで、 K 、 k 、 E_e はそれぞれ物質移動係数、電気泳動度、有効電場強度、 C_g 、 C_b は粒子のゲル濃度、バルク

† 1995 年 7 月 5 日受理；化学工学会第 25 回秋季大会（東京，1992 年 9 月）

†† 〒 376 桐生市天神町 1-5-1

* 東京大学大学院農学生命科学研究科

Fig. 1 Schematic diagram of experimental apparatus

濃度であり、本研究の場合は乾燥菌体濃度を用いて解析した。

2. 実験装置及び方法

2.1 物 質

培養微生物は、ホモ乳酸発酵菌 (*Streptococcus lactis* 527) を用いた。この菌は、直径 $0.5 \sim 1.0 \mu\text{m}$ の連鎖状球菌であり、最適温度 30°C 、最適 pH $6.6 \sim 6.8$ である。複合培地は、1 l 当たりポリペプトン (和光純薬工業) を 10 g、酵母エキス (和光純薬工業) を 5 g、グルコースを 10 g とし、pH 6.6 を基本培地として調製した。

2.2 分析方法

グルコース及び乳酸の定量分析は、それぞれ Glucose C-Test Wako (和光純薬工業)、Lactate Test [BMV] (ペーリンガー・マンハイム) を用いた。乾燥菌体濃度は、培養液を 10 分間、10,000 rpm の遠心分離で、上澄み液と菌体濃縮液とに分離し、さらに濃縮液を蒸留水で不純物がなくなるまで、遠心分離と洗浄を繰り返し、菌体濃縮液を 24 時間、 105°C において乾燥させ測定した。生菌数は、平板培養法によるコロニー計数法により測定した。

2.3 電気泳動速度の測定

S. lactis の電気泳動速度の測定は、培養液を遠心分離し、菌体濃縮液を 1% 生理食塩水に懸濁させ、三田村理研工業製の電気泳動装置により行った。

2.4 回分培養

前培養は、200 ml の三角フラスコを用いて 100 ml の前述の複合培地により、 30°C の振とう恒温槽で 12 時間培養を行った。回分培養は容積 2 l の発酵槽に前培養液と複合培地を混合し 1 l として行った。培養条件は、温度 30°C の恒温槽で行い、マグネチックスターラーで攪拌した。pH を制御した場合は、pH コントローラー (岩城硝

Fig. 2 Schematic diagram of membrane module

子, EPH-100) により、自動的に水酸化ナトリウムを加えることにより pH 6.0 に保持した。

2.5 精密ろ過培養

ろ過培養の実験装置図を Fig. 1 に示す。ろ過培養における新鮮培地の供給は、ろ液量を測定し、供給ポンプにより流量を制御することにより、ろ液量と等量の培地を連続的に供給した。培養液はポンプにより循環速度 153 ml/min で培養器から分離器に送られる。ここで、乳酸は膜分離され、菌体は濃縮されて培養器へ戻される。膜間差圧、培養温度はそれぞれ 100 kPa、 30°C 一定で行われた。菌体、乳酸及びグルコース濃度測定に用いる試料は培養器から採取した。膜分離の概略図を Fig. 2 に示す。膜分離器 (日本ミリポアリミテッド製、ラボカセット, XX 42 OLC KO) は有効膜面積 $6.3 \times 10^{-3} \text{ m}^2$ であり、分離器内のレイノルズ数は約 80 である。精密ろ過膜は、日本ミリポアリミテッド製の公称孔径 $0.22 \mu\text{m}$ デュラポアフィルターを用いた。培地及び装置の殺菌は、オートクレーブ及び 170°C 、1.5 時間の乾熱滅菌を行った。

2.6 電気精密ろ過培養

電気精密ろ過培養における膜分離器はろ過培養に用いた分離器を用いたが、膜の両側にステンレス板を電極として取り付け電極間距離を 1 mm とした。また本実験の場合、乳酸菌の電位は負であるため、上部電極を陰極、下部電極を陽極とし、菌体を膜から引き離すよう電場を印加した。この分離器の電極に安定化直流電源 (高砂製作所, GP 0200-5) により電場を印加し、電圧及び電流はそれぞれ電圧計、電流計により測定された。

3. 結果および考察

3.1 回分培養

Fig. 3 は pH 制御の有無による回分培養実験における菌体濃度 C_x ・グルコース濃度 C_s ・乳酸濃度 C_p 及び pH の経時変化を示した。培地中の C_x 及び C_p は C_s の減少に伴って増加した。pH 制御した場合は、制御しない場合に比べて、 C_s の減少が速く C_x , C_p も大きくなっていることから、増殖速度及び乳酸生成速度は pH に影響されていると思われる。また、pH 制御しない場合は、培地中の乳酸の蓄積に伴って pH は 4.3 まで低下し、

Fig. 3 Batch cultivation of *S. lactis* in fermentor

Fig. 4 Relationship between specific growth rate and lactate concentration

菌体増殖は完全に停止した。pH 制御した場合の最終菌体濃度及び生菌数は pH 制御しない場合のそれぞれ 2.3 倍・4.0 倍であった。次に、菌体増殖速度に及ぼす阻害物質である C_p の影響を検討するために、相対増殖速度 (μ_r/μ_{rmax}) と C_p との関係を **Fig. 4** に示した。pH 制御しない場合は、pH の変化によって μ_r/μ_{rmax} が減少している。一方、pH 制御した場合は、 C_p が 6.5 g/l になると急激に相対増殖速度が低下するという結果になった。つまり、高濃度培養を行うには pH を低下させる乳酸を連続的に除去し、 C_p を 6.5 g/l 以下に制御することが必要である。

3.2 電気精密ろ過

ろ過流速 J_v に及ぼす C_x の影響 培養槽内の菌体増殖は C_p 及び pH に依存し、その C_p と pH は J_v に依存することから、 J_v を高く維持することは高濃度培養を

Fig. 5 Effect of *S. lactis* concentration on filtration flux

Fig. 6 Effect of pH on electrophoretic coefficient

行うために重要である。しかしながら、 J_v は培養液中の C_x に影響されることになる。そこで、 J_v に及ぼす C_x の影響を **Fig. 5** に示した。この図は、菌体を 1% 生理食塩水に懸濁させ $C_x = 0.8 \sim 8.7$ g/l の範囲での J_v の定常値を示した。その結果、 C_x が大きくなるに従って J_v は減少し、6.5 g-dry cells/l 以上の C_x では J_v が急激に低下する結果となった。また、**Fig. 5** の横軸を対数にとり、直線近似し (1) 式の関係より、直線の傾きから $K = 1.65 \times 10^{-6}$ m/s、横軸切片と傾きから $C_g = 266$ g/l を算出した。著者ら (Hakoda *et al.*, 1991) が求めたグルコアミラーゼによる限外ろ過の結果は、 $K = 1.26 \times 10^{-6}$ m/s、 $C_g = 52$ g/l であり、 K についてはほぼ同様であったが、 C_g はグルコアミラーゼに比べてかなり大きく、ゲル状になり難いものと考えられる。

電気泳動度 k に及ぼす pH の影響 *S. lactis* の電気泳動速度 V_e の測定は、電気泳動測定装置により行った。 V_e と E_e の関係を測定し、その比例定数 ($= V_e/E_e$) である電気泳動度 k を求め、 k に及ぼす pH の影響を **Fig. 6** に示した。図より、pH 3.5~6 の範囲では、pH の低下

Fig. 7 Effects of effective electric field strength on filtration flux and electrophoretic velocity

により k も減少することが明らかとなった。すなわち、培養槽内の pH が低下することにより、 k が減少し電場印加による J_v の減衰の抑制効果が低下することになる。

J_v に及ぼす電場強度の影響 J_v に及ぼす電場の影響を検討するため、Fig. 2 に示した膜分離装置を用いて C_x を一定 (3.4 g-dry cells/l) の条件で電気精密ろ過を行った。また、この実験は膜分離を行っているため、菌体に作用する電場は膜での電圧降下を補正した次式によって算出し、有効電場強度 E_e として示した。

$$E_e = I / \lambda \quad (2)$$

ここで、 I 、 λ はそれぞれ電流値、培養液の比電気伝導度である。Fig. 7 に J_v と E_e の関係を示し、上部の横軸に実行電場強度 E_{app} も示した。また、図中に電気泳動装置による V_e のデータを比較のために示した。1 V/cm までは E_e の増加に伴って J_v は増加し、その傾きは E_e に対する V_e の傾きに一致している。これは (1) 式の右辺第 2 項の妥当性を示している。また、1 V/cm 以上では J_v は急激に減少する傾向となった。これは、1~2 V/cm の領域では、菌体が膜面方向に泳動する J_v と、拡散及び V_e との合力による逆方向への泳動力とが釣り合っている状態であり、菌体が泳動しない領域と考えられる。 E_e が 2 V/cm 以上では V_e が J_v より大きくなり菌体が陽極へ付着するなどの膜分離に悪影響を与えているものと思われる。この現象を解明するため以下の実験を行った。

ガス生成速度 V_{gas} に及ぼす E_{app} の影響 電場を印加することにより水の電気分解が起り、陽極側に酸素ガスが生成する。そこで、膜モジュール内に生成される酸素ガス量を次式より算出した。

$$V_{gas} = (2.24 \times 10^{-2} I) / (F \cdot x) \quad (3)$$

ここで、 F 、 x は Faraday 定数、酸素のグラム当量である。*S. lactis* の電気精密ろ過における生成ガス量を算出

Fig. 8 Effects of appear electric field strength on volume of gas product and specific survival ratio

し、 V_{gas} と E_{app} の関係を Fig. 8 に示した。図より、 $E_{app} = 20$ V/cm まではガスの生成が殆どないが、20 V/cm 以上では生成ガス量が急激に増大する。この生成ガスが膜面を覆い培養液の膜透過を阻害することも考えられる。

相対生菌率 R_s に及ぼす電場強度 E_{app} の影響 菌体活性に及ぼす電場の影響を検討するため、菌体懸濁液を膜分離器に循環させ、実験前の生菌率に対する実験後の生菌率の比を相対生菌率 R_s とし、Fig. 8 に示した。 R_s は E_{app} が 40 V/cm 以上では急激に減少する結果が得られた。この結果は、Fig. 7 における J_v と E_{app} の関係より 40 V/cm 以上で J_v が減少する結果と一致している。以上の結果を総合すると、*S. lactis* の電気精密ろ過培養については電場強度の最適値が存在することが推測される。

3.3 電気精密ろ過法を用いたろ過培養

S. lactis の電気精密ろ過の結果より、20 V/cm 程度の E_{app} が分離に適していると考えられるため、0、10 及び 20 V/cm の電場強度により、電気精密ろ過培養を行った。また、比較のために 50 V/cm の電場強度についても培養を行った。これらの実験は、pH 制御に用いる水酸化ナトリウムが菌体の電気泳動速度に影響すると考えられるため、pH 制御は行わなかった。

電気精密ろ過培養の経時変化 Fig. 9 は $E_{app} = 0$ 及び 20 V/cm での EMFBR における各成分濃度及び J_v の経時変化を示した。この実験においても培養開始 6 時間後より膜分離を行った。膜分離することにより、 C_p は急激に減少し、菌体増殖が促進されている。また、ろ液量に相当した新鮮培地が連続的に供給されることから、培養槽中の C_s が増加し C_x もそれに伴って増加している。また、電場を印加した場合の J_v は、 C_x がより低い無電場の J_v の 3 倍であった。このことから、ろ過培養にお

Table 1 High density culture of *S. Lactis* in the fermentor.

	Cx [g-dry cells/l]	Cx(v) [cells/l]	Rx(v) [cells/g]	Jv [m ³ /(m ² s)]
Batch culture				
Without pH control	2.64	1.98×10 ⁹	7.51×10 ⁸	—
with pH control	5.98	7.94×10 ⁹	1.33×10 ⁹	—
Electro-filtration culture				
Eapp= 0 V/cm	10.13	1.27×10 ¹⁰	1.25×10 ⁹	3.81×10 ⁶
Eapp=10 V/cm	17.77	2.97×10 ¹⁰	1.67×10 ⁹	6.25×10 ⁶
Eapp=20 V/cm	24.15	3.09×10 ¹⁰	1.28×10 ⁹	8.89×10 ⁶
Eapp=50 V/cm	10.99	1.02×10 ¹⁰	9.28×10 ⁸	5.87×10 ⁷

Fig. 9 Cultivation results of *S. lactis* in fermentor with electro-microfiltration

ける電場の印加は、 J_v の減衰を抑制することになり、 C_p の減少、高 C_s の維持の点から有効であった。Table 1は各培養条件による C_x 、 $C_{x(v)}$ 、生菌率($R_{x(v)}=C_{x(v)}/C_x$)を示した。 $E_{app}=20$ V/cmの場合は、pH制御なしの回分培養に比べて C_x で9.2倍、 $C_{x(v)}$ で15.6倍の菌体が得られた。しかし、 $R_{x(v)}$ では20 V/cmの場合より10 V/cmの方が高い値を示した。この原因は、電場強度が大きいため菌体が電気的に活性を失ってしまうためと思われる。この結果は、Fig. 8の結果からも示唆されるが、*S. lactis*が電気的に活性を失うメカニズムは明言できない。回過培養における比速度 膜型培養器の各速度は次式の物質収支により求め、速度解析を行った。

$$V \frac{dC_x}{d\theta} = \mu_r C_x V \quad (4)$$

Fig. 10 Relationship between specific metabolite formation rate and specific substrate consumption rate

$$V \frac{dC_s}{d\theta} = J_{vA}(C_{si} - C_s) - \nu_r C_x V \quad (5)$$

$$V \frac{dC_p}{d\theta} = -J_{vA}C_p + \pi_r C_x V \quad (6)$$

$$\theta=0; C_x=C_{xi}, C_s=C_{si}, C_p=0 \quad (7)$$

ここで、 μ_r 、 ν_r 、 π_r は、単位菌体濃度当たりの菌体増殖速度、基質消費速度、乳酸生成速度である。基質消費速度は酵母エキスとポリペプトンの消費量が測定できないためグルコースのみの消費速度とした。 $E_{app}=0, 10, 20$ V/cmのEMFBR及び回分培養における ν_r と π_r の関係をFig. 10に示した。図より ν_r と π_r は比例関係を示し、電場の有無に依らず、グルコースに対する乳酸の収率 $Y_{p/s}$ は一定($Y_{p/s}=0.93$)であり、他の研究者の結果と同様であった。しかし、 μ_r と ν_r の関係は、Fig. 11に示すように電場の有無により傾きが大きく異なった。図より、電場印加時のグルコースに対する菌体収率 $Y_{x/s}=2.9$ 、維持定数 $m=0.038$ であり、無電場の場合は $Y_{x/s}=0.72$ 、 $m=0.010$ となり電場の印加によって相違が見られた。 $Y_{x/s}$ が異常に高い原因は、菌体増殖にグルコースのみではなく酵母エキスとポリペプトンが消費されたためであり、実際の基質に対する菌体の収率は上述の値よ

Fig. 11 Relationship between specific growth rate and specific substrate consumption rate

りかなり低いと推察される。Fig. 10 と Fig. 11 の結果から、グルコースは乳酸生成に利用され、酵母エキスをポリペプトンは主に菌体の増殖に利用されたと考えられる。また、電場印加の有無による相違に関しては、電場を印加した場合は無電場の場合に比べて透過流束が増大し希釈率が增大するため、同じ ν_r であっても培養槽内の C_p が低く保たれ μ_r が大きくなったと考えられる。 μ_r と C_p の関係は、回分培養における Fig. 4 に示したように C_p の増加に伴って μ_r が急激に減少する領域が存在することからも明らかである。EMFBR は、適当な電場強度 ($E_{app}=20$ V/cm) を選択することにより、 J_v が高く維持できることから *S. lactis* の高濃度培養に有効であった。また、 μ_r と C_p の関係及び C_p と希釈率の関係も電場の有無による相違は無かった。以上の結果より、菌体の高濃度培養に関しては高 μ_r を維持するため希釈率を大きくする必要があるが、EMFBR を用いた場合、無電場の汜過培養の 3 倍以上の J_v が得られることから、EMFBR を用いることにより無電場の汜過培養に比べて 1/3 以下の膜面積で良いことになる。また、 E_{app} が 20 V/cm 以下であれば電場による培養への悪影響もないことから、EMFBR は菌体の高濃度培養に関して省力化と言う観点から大変有効な手段であった。

結 論

電気精密汜過型バイオリアクターによる *S. lactis* の高濃度培養を行い、菌体増殖に及ぼす電場の影響について次の知見を得た。

- (1) 菌体増殖は、阻害物質である乳酸の影響を受け、乳酸濃度 6.5 g/l 以上で急激に増殖速度が減少した。
- (2) 電気精密汜過は 35 V/cm で最大の汜過流束となり、それ以上では急激に減少し、相対生菌率は電場強度の増大に伴って減少した。

(3) 電場強度 20 V/cm における電気精密汜過培養は有効であり、回分培養に比べ菌体濃度で 9.2 倍、生菌数で 15.6 倍の菌体を得られた。

(4) 電気精密汜過培養において、グルコース消費速度に対する乳酸生成速度は電場印加に無関係であったが、グルコース消費速度に対する菌体増殖速度は電場印加により増大する結果となった。

(5) 電場強度が 20 V/cm 以下の条件では、阻害代謝産物の蓄積及び菌体に対する電場の悪影響が少ないことから、電気精密汜過培養は菌体の高濃度培養に有効であった。

[謝 辞] *S. lactis* を提供戴きました農林水産省畜産試験場入江良三郎氏、また、実験に協力戴きました松田光正氏、角木将哉氏に感謝致します。

Nomenclature

A	= area of filtration membrane	[m ²]
C_b	= concentration of particles	[kg/m ³]
C_g	= gel concentration of particles	[kg/m ³]
C_p	= concentration of lactate	[kg/m ³]
C_s	= concentration of glucose	[kg/m ³]
C_{si}	= initial concentration of glucose	[kg/m ³]
C_x	= concentration of cells	[kg-dry cells/m ³]
C_{xi}	= initial concentration of cells	[kg-dry cells/m ³]
$C_{x(v)}$	= concentration of survival cells	[cells/l]
E_{app}	= appear electric field strength	[V/m]
E_e	= effective electric field strength	[V/m]
F	= Faraday constant	[-]
I	= electric current	[A]
J_v	= filtration flux	[m ³ /(m ² · s)]
K	= mass transfer coefficient of particles in concentration polarization layer	[m/s]
k	= electrophoretic coefficient	[m ² /(V · s)]
m	= maintenance coefficient	[1/h]
R_s	= relative survival ratio	[%]
$R_{x(v)}$	= survival ratio	[cells/g]
V	= volume of fermenter	[m ³]
V_e	= electrophoretic velocity	[m/s]
V_{gas}	= volume of gas product	[m ³ /s]
$Y_{p/s}$	= metabolite yield	[-]
$Y_{x/s}$	= growth yield	[-]
θ	= cultivation time	[h]
x	= gram equivalent of oxygen gas	[-]
π_r	= specific metabolite formation rate	[1/h]
λ	= specific conductivity	[S/m]
μ_r	= specific growth rate	[1/h]
μ_{rmax}	= maximum specific growth rate	[1/h]
ν_r	= specific substrate consumption rate	[1/h]

Literature cited

Hakoda, M., T. Chiba and K. Nakamura ; "Characteristics of

- Electro-Ultrafiltration Bioreactor", *Kagaku Kogaku Ronbunshu*, **17**, 470-476 (1991)
- Henry, J. D., L. F. Lawler and C. H. Alex Kuo; "A Solid/Liquid Separation Process Based on Cross Flow and Electrofiltration", *AIChE J.*, **23**, 851-859 (1977)
- Hayakawa, K., H. Sansawa, T. Nagamune and I. Endo; "High Density Culture of *Lactobacillus Casei* by a Cross-Flow Culture Method Based on Kinetic Properties of the Microorganism", *J. Ferment. Bioeng.*, **70**, 404-408 (1990)
- Iritani E., K. Ohashi and T. Murase; "Analysis of Filtration Mechanism of Dead-End Electro-Ultrafiltration for Proteinaceous Solutions", *J. Chem. Eng. Japan*, **25**, 383-388 (1992)
- Kimura, S. and T. Nomura; "Effect of Electric Field on Flux of Ultrafiltration", *MEMBRANE*, **7**, 245-250 (1982)
- Lee, C. K. and J. Hong; "Membrane Reactor Coupled with Electrophoresis for Enzymatic Production of Aspartic Acid", *Biotech. and Bioeng.*, **32**, 647-654 (1988)
- Tsuru, T., F. Yamaguchi, S. Nakao and S. Kimura; "Separation of Amino Acids and Proteins by Electrically Enhanced Membrane Filtration", *MEMBRANE*, **13**, 350-358 (1988)
- Visvanathan, C., R. Ben Aim and S. Vigneswaran; "Application of Cross-Flow Electro-Microfiltration in Chromium Wastewater Treatment", *Desalination*, **71**, 265-276 (1989)
- Visvanathan, C. and R. Ben Aim; "Application of an Electric Field for the Reduction of Particle and Colloidal Membrane Fouling in Crossflow Microfiltration", *Sep. Sci. Technol.*, **24**, 383-398 (1989)
- Yukawa, H., H. Obuchi and K. Kobayashi; "Study of Equation of Electro-Ultrafiltration for Colloidal Solution", *Kagaku Kogaku Ronbunshu*, **6**, 288-293 (1980 a)
- idem.; "Specific Filtration Resistance of Colloidal Protein Particles in Electro-Ultrafiltration", *ibid.*, **6**, 323-326 (1980 b)
- Yukawa, H., K. Shimura, A. Suda and A. Maniwa; "Characteristics of Cross Flow Electro-Ultrafiltration for Colloidal Solution of Protein", *J. Chem. Eng. Japan*, **16**, 246-248 (1983 a)
- idem.; "Cross Flow Electro-Ultrafiltration for Colloidal Solution of Protein", *ibid*, **16**, 305-311 (1983 b)

High Density Culture of *Streptococcus lactis* 527 Using Electro-microfiltration Bioreactor

Masaru Hakoda, Atsushi Enomoto and Kozo Nakamura*

Department of Biological and Chemical Engineering,
Gunma University, Kiryu, Gunma 376

Key Words: *Streptococcus lactis* 527, Inhibitory Metabolizes, Lactic Acid Fermentation, High Density Culture, Filtration Culture, Electro-Filtration Culture, Electro-Microfiltration Bioreactor

Electro-microfiltration bioreactor (EMFBR) was applied to the high density culture of *Streptococcus lactis* 527, and the effect of electric field on the filtrate flux and the cell concentration was examined experimentally.

The EMFBR allowed complete retention of cells in the fermentor and continuous removal of inhibitory metabolizes. *S. lactis* was grown in the EMFBR with the maximum concentration of 24.2 g-dry cells/l, about 10 times as much as that of the conventional batch culture, and this improvement was due to removal of lactic acid from the fermentor. The yield of cell against glucose $Y_{x/s}$ and the maintenance coefficient m both increased by application of an electric field. The experimental results showed that EMFBR could be effective if the experimental conditions were chosen properly.

* Division of Agricultural and Agricultural Life Sciences, The University of Tokyo