酵母回分培養特性に及ぼす基質流加の影響

長 棟 輝 行・遠 藤 勲
井 上 一 郎*

理化学研究所 化学工学研究室†

基質のインパルスの一回の流加に対して酵母 (*S. cerevisiae*) のグルコース比消費速度 ν , 比増殖速度 μ , アルコール比生産速度 π などが示す過渡応答を実験的に検討した。すなわち, 回分培養過程の異なった時期にグルコース濃度を種々に変えた基質液を流加し, その後に酵母が示す各比速度の変化を測定した。

その結果, 基質流加後の各比速度が示す過渡応答は, 基質流加によるグルコース濃度の増加量 ΔG の大きさに応じて二つのタイプに分類できることがわかった。増加量 ΔG が臨界値 ΔG_c よりも小さい場合には, 基質のインパルスの流加によって各比速度のグルコース濃度に対する過渡応答特性は影響を受けなかった。一方, 増加量 ΔG が臨界値 ΔG_c よりも大きい場合には, 各比速度は流加後急激に減少し, ある時間の後に最大速度に達した。また, この臨界値 ΔG_c と回分培養の流加時点におけるグルコース濃度 $G(\tau_-)$, 菌体濃度 $X(\tau_-)$ との間に相関関係を得た。

緒 言

微生物の基質消費, 増殖, 代謝物質生産などの機能を利用して有用物質を生産する発酵プロセスは, 工業的には主として回分培養操作, 流加培養操作で実施されている。このような培養系において微生物が示す基質消費, 増殖, 代謝物質生産などに関する諸比速度の過渡応答特性を定量的に明らかにすることができれば, 培養系をシステム構成することができ, ひいては培養系を最適に操作することも可能となる。しかし微生物が示す諸比速度の過渡応答特性を先験的あるいは解析的に予測することは現状では困難であり, これらを実験的に把握する必要がある。

著者らは, 回分培養系において酵母が示すこれら諸比速度の過渡応答特性, および回分培養システムの構成の方法について既に報告した²⁾。さらに, この回分培養システムの構成に基づいてシミュレーションを行い, アルコールの収率, 収量, 発酵時間などの評価基準のもとで基質初期濃度, 菌体初期濃度などの最適操作条件を求めた³⁾。

流加培養系は, このような回分培養系にさらに基質の流加という入力を加えた系である。この基質流加が酵母の諸比速度に及ぼす影響を明らかにすることによって流加培養系をシステム構成することが可能となる。基質の流加法には大別して連続的流加法と不連続的流加法があり, 前者については既に多くの報告がある⁴⁾ が後者についての研究はほとんど見当たらない。また, 不連続的

な基質の流加操作が培養系に及ぼす影響については, 基質の不連続な周期的流加操作が連続培養系における目的生産物の収率に及ぼす影響^{1,4,6,7)}, また回分培養系, 連続培養系で基質をインパルスの流加した際に系が示す動的挙動⁵⁾ などについて検討されているが, 定量的な流加操作基準を得るまでには至っていない。

本論文では, アルコールを主代謝産物とする酵母培養系において, 不連続的に基質流加を行う流加培養系をシステム構成するための前段階として, 回分操作の途中で行うインパルスの一回の基質流加操作が酵母諸比速度に及ぼす影響を実験的に検討した。

1. 流加培養系のシステム方程式

いま回分培養系において任意の時刻 τ にインパルスのに 1 回基質を流加する場合について考えてみる。このような培養系のシステム方程式は, グルコース濃度 G , 菌体濃度 X , アルコール濃度 P に着目して Eqs. (1)~(3) あるいは Eqs. (1')~(3') のように表現できる。

$$\frac{dG}{dt} = -\nu X + \frac{v}{V+v} \{-G(\tau_-) + G_f\} \cdot \delta(t-\tau) \quad (1)$$

$$= -\nu X + \Delta G \cdot \delta(t-\tau) \quad (1')$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - \frac{v \cdot X(\tau_-)}{V+v} \cdot \delta(t-\tau) \quad (2)$$

$$= \mu X - \Delta X \cdot \delta(t-\tau) \quad (2')$$

$$\frac{dP}{dt} = \pi X - \frac{v \cdot P(\tau_-)}{V+v} \cdot \delta(t-\tau) \quad (3)$$

$$= \pi X - \Delta P \cdot \delta(t-\tau) \quad (3')$$

ただし, 流加直前の時刻を τ_- , 流加直後の時刻を τ_+ で表すものとする。また流加時刻 τ 以前の各比速度と流加

† 〒351 和光市広沢 2-1

* 東京工業大学工学部 化学工学科; 理化学研究所 化学工学研究室

Table 1 Composition of medium

Glucose	20.0	g
L-asparagine	1.5	g
KH ₂ PO ₄	1.5	g
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.5	g
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5	g
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0.2	g
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.25	mg
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.5	mg
Thiamine HCl	0.5	mg
Inositol	10.0	mg
Ca-pantenate	0.5	mg
Pyridoxine HCl	0.5	mg
PABA	0.05	mg
Nicotinic acid	0.5	mg
Biotin	0.002	mg
Distilled water	1.0	l

時刻 τ 以後の各比速度を次のように添字一，+を用いて以下区別する。

$$\nu = \begin{cases} \nu_- \\ \nu_+ \end{cases}, \quad \mu = \begin{cases} \mu_- \\ \mu_+ \end{cases}, \quad \pi = \begin{cases} \pi_-; t < \tau \\ \pi_+; t > \tau \end{cases}$$

ここで， ν ， μ ， π はそれぞれグルコース比消費速度，比増殖速度，アルコール比生産速度， v は基質液の流加体積， V は基質流加直前の培養体積， G_f は流加基質液中のグルコース濃度を示している。また $G(\tau_-)$ ， $X(\tau_-)$ ， $P(\tau_-)$ は時刻 τ_- ，すなわち基質流加直前のグルコース濃度，菌体濃度，アルコール濃度を， ΔG ， ΔX ， ΔP は流加操作による各濃度の変化量を， $\delta(t)$ はデルタ関数をそれぞれ表している。なお Eq. (1) の右辺第1項目は酵母によるグルコース消費速度に関する項である。また Eq. (1) の右辺第2項目の括弧の中の第1項目，第2項目はそれぞれ流加操作によるグルコース濃度の希釈，基質液の流加によるグルコース濃度の増加を表している。同様に Eqs. (2)～(3) の右辺第1項目は増殖，アルコール生産など微生物機能に基づく速度項であり，右辺第2項目は流加操作による菌体濃度，アルコール濃度の希釈項である。

基質をインパルス的に1回流加する培養系のグルコース濃度，菌体濃度，アルコール濃度の動的挙動は，微生物機能を表す ν ， μ ， π などの比速度パラメータの流加操作に対する過渡応答特性を知ることができれば，Eqs. (1)～(3) に基づいてシミュレーションを行うことが可能となる。

さて，Eqs. (1)～(3) を書き換えて得られる Eqs. (1')～(3') の右辺第2項目は流加時刻 τ を除いては 0 であるから，Eqs. (1')～(3') はそれぞれ回分培養系のシステム方程式と同一形式となる。したがって，基質流加以後も一種の回分培養系として扱うことができる。そこで流加操作を行う前の回分培養系における ν_- ， μ_- ， π_- などの過渡応答特性と，流加操作を行ったあとの一種の回分培養系における ν_+ ， μ_+ ， π_+ などの過渡応答特性とを比較すれば，流加操作が酵母の諸比速度に及ぼす影響を評

Table 2 Initial conditions of batch culture

G_0 [kg-glucose/m ³]	X_0 [kg-cell/m ³]
5.0	0.1
10.0	0.1
20.0	0.1
40.0	0.1
10.0	0.5
20.0	0.5
40.0	0.5
80.0	0.5
20.0	1.0
40.0	1.0
80.0	1.0
160.0	1.0
20.0	2.0
40.0	2.0
80.0	2.0
160.0	2.0

価することが可能となる。なお，本実験では V ， v はそれぞれ一定とし，流加基質液中のグルコース濃度 G_f や流加時刻 τ を種々に変えて実験を行った。

2. 実験方法

2.1 菌株と培地組成

実験には酵母（発研1号；*Saccharomyces cerevisiae*）を使用した。酵母の前培養には Table 1 に示すようなグルコースを主炭素源かつ増殖制限基質とする基本培地を用いた。また回分培養の培地および流加用基質液には，グルコースに対する他の各成分の比率がこの基本培地の比率と等しくなるように調製した培地を用いた。

2.2 前培養と回分培養の方法

前培養は，保存スラント中の酵母を 300 cc の三角フラスコ（培養液量 150 cc）に1白金耳植菌し，回転数 200 rpm のロータリーシェーカーを用いて 30°C で 24 時間振盪培養した。このようにして得られた前培養液を遠心分離して集菌し，1% 滅菌生理食塩水で洗浄のあと再び遠心分離し，これを滅菌水に懸濁させて適当な濃度に調整し回分培養に用いた。回分培養は，Table 2 に示すグルコース初期濃度 G_0 ，菌体初期濃度 X_0 の組み合わせでそれぞれ行った。培養槽には 3 l の通気攪拌型培養槽を用い，培養液量は 2 l，通気は攪拌翼下のスパージャーにより 2 l/min で行った。その他の培養条件として攪拌回転数は 450～900 rpm，pH は 4.5，培養温度は 30°C にそれぞれ設定した。

2.3 基質流加実験の方法

基質の流加操作に対する酵母諸比速度の過渡応答特性を明らかにするために，回分培養操作の途中で1度だけ基質をパルス的に流加する実験を行った。この際，過渡応答特性に及ぼす流加時期の影響を検討するために，流加直前のグルコース濃度 $G(\tau_-)$ ，菌体濃度 $X(\tau_-)$ の組み合わせを Table 3 に示すように種々に変え基質の流加を

Table 3 Concentration of glucose and that of cell mass at the time of substrate addition

$G(r-)$ [kg-glucose/m ³]	$X(r-)$ [kg-cell/m ³]
2.8	0.51
7.8	0.50
17.6	0.52
37.2	0.49
5.0	1.02
6.6	1.10
14.4	1.03
16.6	0.98
34.2	1.01
37.0	1.05
8.8	2.03
10.4	1.95
12.5	2.01
28.4	2.02
30.3	2.11
32.8	2.06
70.5	1.97
18.2	4.11
23.3	4.02
57.5	3.89
65.5	3.93
139.3	4.07
39.5	7.06
115.3	7.13
127.2	7.02

行った。また、流加用基質液は種々のグルコース濃度のものを調製し、100 ml の三角フラスコに 50 ml 分注して恒温槽で 30°C にした後 ジャー の接続口から流加した。この実験に先立って行ったトレーサー法による混合実験の知見に基づき、流加直後のサンプリングは流加操作の約 30 秒後に行った。サンプリングは基質の流加前は 30 分～1 時間ごとに、流加後は 5 分～30 分ごとに行った。このサンプル液は、あらかじめ氷冷したガラス試験管に移して急冷し定量分析に用いた。

2・4 測定方法

菌体濃度は光电比色計（波長 650 nm）で測定し、この値をあらかじめ用意した相関線より乾燥菌体重量濃度に換算して求めた。グルコース濃度は、培養液中の菌体をメンブレンフィルター（0.65 μm）で濾過し、グルコース濃度分析計で定量分析した。また、濾液中のアルコール濃度はガスクロ（検出器 FID）で定量分析した。

3. 実験結果および考察

3・1 基質流加の影響

基質の流加量が酵母の諸比速度の過渡応答特性に及ぼす影響を検討した。結果の一例としてグルコース初期濃度 G_0 を 10 kg-glucose/m³、菌体初期濃度 X_0 を 0.1 kg-cell/m³ に設定した回分培養で、グルコース濃度 G 、菌体濃度 X がそれぞれ 5 kg-glucose/m³、1 kg-cell/m³ となった対数増殖期の一時点に、基質濃度を種々に変えて流加した後のグルコース比消費速度 ν_+ 、比増殖速度

Fig. 1 Impulse responses of specific rates ν_+ , μ and π to a pulse-feed of substrate

μ_+ 、アルコール比生産速度 π_+ の過渡応答を Fig. 1 の上、中、下段に示した。ここで図中の太い実線は、流加操作を行わない通常の回分培養系 ($G_0=10$, $X_0=0.1$) で酵母がグルコース濃度 G に対して示す各比速度 ν , μ , π の過渡応答特性である。この曲線上の太い矢印は基質を流加した時点を示す。流加前後における培養液中でのグルコース濃度の増加量を ΔG とすれば、 ΔG のある臨界値 ΔG_c を境に諸比速度の過渡応答特性が大きく変化する傾向が見られた。Fig. 2 にアルコール比生産速度 π を例にとり、この過渡応答特性の典型的な二つのパターンを示した。すなわち、 ΔG が 0.3 kg-glucose/m³ の場合には、流加後のアルコール比生産速度 π とグルコース濃度 G との対応関係は太い実線で示した流加しない場合の回分培養特性とほとんど同じであり、流加操作の影響は現れなかった。一方、増加量 ΔG が 4.7 kg-glucose/m³ の場合には、比速度 π は流加後急激に減少して流加前の回分培養特性から大きく外れ、その後最大速度に到達する傾向が見られた。流加操作に対するこのような比速度の過渡応答特性のパターンを変える臨界値 ΔG_c を求めるために、流加直前の各比速度の値 $\nu(\tau_-)$, $\mu(\tau_-)$, $\pi(\tau_-)$ と流加直後の値 $\nu(\tau_+)$, $\mu(\tau_+)$, $\pi(\tau_+)$ との比を Fig. 3 の上、中、下段にそれぞれ ΔG に対して相関させた。Fig. 3 より、この場合には ΔG_c が約 0.3 kg-glucose/

Fig. 2 Typical impulse responses of specific rate of alcohol production to a pulse-feed of substrate

Fig. 3 Effects of the increment of glucose concentration ΔG on the specific rates, ν , μ and π

m³ となることがわかった。

3・2 流加時期の影響

次に、流加時期がこの臨界値 ΔG_c に及ぼす影響を検討した。流加直前のグルコース濃度 $G(\tau_-)$ 、菌体濃度 $X(\tau_-)$ を Table 3 に示すように種々に変えて基質の流加実験を行い、Fig. 1 と同様な各比速度の過渡応答特性に基づいて臨界値を求めた。この臨界値 ΔG_c と $G(\tau_-)$ 、 $X(\tau_-)$ との関係を Fig. 4 に示す。この図より、臨界値 ΔG_c は $G(\tau_-)$ 、 $X(\tau_-)$ にそれぞれ比例する傾向が見られ、Eq. (4) のような線形関係となることが推測された。

$$\Delta G_c = C_1 \cdot G(\tau_-) + C_2 \cdot X(\tau_-) \quad (4)$$

それぞれの比例係数 C_1 、 C_2 を求めるために、Eq. (4) を

Fig. 4 Relationship between the concentration of glucose at the time prior to substrate addition, $G(\tau_-)$ and the critical increment of glucose concentration ΔG_c

Fig. 5 Correlation of $X(\tau_-)/\Delta G_c$ with $G(\tau_-)/\Delta G_c$

Eq. (5) のように変形し、Fig. 4 に示した結果を Eq. (5) に基づいて再整理すると Fig. 5 に示すような直線関係が得られた。

$$1 = C_1 \cdot \{G(\tau_-)/\Delta G_c\} + C_2 \cdot \{X(\tau_-)/\Delta G_c\} \quad (5)$$

この直線の傾きと切片との値から C_1 、 C_2 の値はそれぞれ 0.04、0.3 と求まり、Eq. (4) は Eq. (6) のように表すことができた。

$$\Delta G_c = 0.04 \cdot G(\tau_-) + 0.3 \cdot X(\tau_-) \quad (6)$$

Eq. (6) より流加直前のグルコース濃度 $G(\tau_-)$ 、菌体濃度 $X(\tau_-)$ とを決定すれば、各比速度の過渡応答特性のパターンを変える流加操作の臨界値 ΔG_c を推定することが可能である。

Fig. 6 Characteristic curves of the specific rate of glucose consumption, ν^* against G^* after the substrate addition; $\Delta G > \Delta G_c$

Fig. 7 Characteristic curves of the specific rate of cellular growth, μ^* against G^* after the substrate addition; $\Delta G > \Delta G_c$

3・3 臨界値を越えた場合における基質流加後の比速度過渡応答特性

比速度の無次元過渡応答特性 基質の流加量が ΔG_c より大きい場合には、Fig. 1 にも示したように各比速度の過渡応答特性は、太い実線で示される流加しない場合の回分培養特性から大きく外れることがわかった。そこでこのような場合について、基質流加後のデータを流加直後のグルコース濃度 $G(\tau_+)$ 、菌体濃度 $X(\tau_+)$ を初期濃度とする回分培養系のデータと考えると、既に報告した方法²⁾に基づいて各比速度の無次元過渡応答特性を求めた。Fig. 6, はこのようにして得られたグルコース比消費速度 ν_+ 、比増殖速度 μ_+ 、アルコール比生産速度 π_+ の無次元比速度 ν^* 、 μ^* 、 π^* を無次元グルコース濃度 G^* に対して示した無次元過渡応答特性である。図の縦軸は流加後のそれぞれの比速度を流加後に観測される各比速度の最大値 ν_{+m} 、 μ_{+m} 、 π_{+m} で、横軸はグルコース濃度 G を流加直後のグルコース濃度 $G(\tau_+)$ でそれぞれ無次元化した。なお図中の (A), (B) は、先に報告した³⁾ 無次元菌体初期濃度 $X_0^* (= X_0/G_0)$ がそれぞれ (A): $X_0^* = 0.6 \sim 0.05$, (B): $X_0^* = 0.05 \sim 0.0033$ における酵母の無次元回分培養特性である。これらの図から、流加後に酵母が示す各比速度の無次元特性は、流加操作を全く加えない回分培養系における各比速度の無次元特性とよく一致することがわかった。すなわち、臨界値 ΔG_c より大きな変動を与えた流加培養系では、流加直後の状態を初期条件とする新たな回分培養系として扱うことが明らかとなった。

比速度の最大値 次に流加後の各比速度を無次元化する際に用いた各比速度の最大値について検討した。回分培養系では、各比速度の最大値はグルコース初期濃度

Fig. 8 Characteristic curves of the specific rate of alcohol production, π^* against G^* after the substrate addition; $\Delta G > \Delta G_c$

G_0 、菌体初期濃度 X_0 に対して関係づけられることは既に報告した³⁾。ここでは、臨界値を越えるような流加操作を行った後の各比速度の最大値と、通常回分培養系の最大値とを同一の初期条件 ($X_0 = X(\tau_+)$, $G_0 = G(\tau_+)$) のもとで比較するために Eq. (7) で定義される比を導入する。

$$R_\nu = \frac{\nu_{+m}}{\nu_m} \quad (7-1)$$

$$R_\mu = \frac{\mu_{+m}}{\mu_m} \quad (7-2)$$

$$R_\pi = \frac{\pi_{+m}}{\pi_m} \quad (7-3)$$

ここで、 ν_{+m} 、 μ_{+m} 、 π_{+m} は基質流加後に観測された各比速度の最大値を、 ν_m 、 μ_m 、 π_m はそれと同一の初期条件の回分培養系で観測された各比速度の最大値である。

Fig. 9 Contour map of R_μ , R_π and R_π against the initial conditions G_0 and X_0

Fig. 9 に R_μ , R_π , R_π を初期条件 G_0 , X_0 に対して等高線で表した。Fig. 9 から、流加後の各比速度の最大値は、初期条件を同じくする回分培養系で観測される各比速度の最大値より大きいことがわかった。このように各比速度の最大値がこの二つの培養系で異なる原因については、今後さらに検討する必要があると思われる。

結 言

基質のインパルス的な 1 回の流加操作に対する、酵母の基質消費、増殖、アルコール生産などに関する諸比速度の過渡応答特性を実験的に検討した結果、以下の知見を得た。

1) 基質の流加による培養液中のグルコース濃度の増加量 ΔG が、流加操作に対する酵母諸比速度の過渡応答特性を整理する際に重要なパラメータとなることを明らかにした。すなわち、増加量 ΔG がある臨界値 ΔG_c より小さい場合には、酵母が基質流加後に示す各比速度のグルコース濃度に対する過渡応答特性は流加しない場合の回分培養特性に一致すると見なしてよい。一方、増加量 ΔG が臨界値 ΔG_c よりも大きい場合には、流加後の各比速度の過渡応答特性は元の回分培養特性とは大きく異なる。

2) この臨界値 ΔG_c は流加時期によって値が異なり、流加直前のグルコース濃度 $G(\tau_-)$ 、菌体濃度 $X(\tau_-)$ を用いて次のように表すことができた。

$$\Delta G_c = 0.04 \cdot G(\tau_-) + 0.3 \cdot X(\tau_-)$$

3) 基質の流加操作によるグルコース濃度変化 ΔG が臨界値 ΔG_c よりも大きい場合について、流加直後のグルコース濃度 $G(\tau_+)$ 、菌体濃度 $X(\tau_+)$ をそれぞれ初期濃度とする回分培養系と考え、先の報告に示した方法に従って流加後に酵母が示す各比速度の無次元過渡応答特性を求めた。その結果、これらの特性は通常回分培養系で酵母が示す無次元比速度特性とよく一致することが明らかとなり、このような場合には基質の流加後の培養系は流加直後の状態を初期条件とする新たな回分培養系と

見なせることがわかった。

4) 流加後の培養系で観測される各比速度の最大値は、初期条件を同じくする通常回分培養系のそれらと比較して一般に大きいことが明らかになった。

Nomenclature

G	= glucose concentration in the culture broth	[kg-glucose/m ³]
$G(\tau_+)$	= glucose concentration in the culture broth at the time of just after the substrate addition	[kg-glucose/m ³]
$G(\tau_-)$	= glucose concentration in the culture broth at the time prior to the substrate addition	[kg-glucose/m ³]
ΔG	= increment of glucose concentration in the culture broth by the substrate addition	[kg-glucose/m ³]
G_f	= glucose concentration in the feed medium	[kg-glucose/m ³]
P	= alcohol concentration in the culture broth	[kg-alcohol/m ³]
ΔP	= change of alcohol concentration in the culture broth by the substrate addition	[kg-alcohol/m ³]
R	= ratio of maximum specific rate between fed-batch culture system and batch culture system under the same initial condition	[—]
t	= time	[h]
V	= volume of the culture broth	[m ³]
v	= volume of substrate addition	[m ³]
X	= cell mass concentration in the culture broth	[kg-cell/m ³]
$X(\tau_+)$	= cell mass concentration in the culture broth at the time of just after the substrate addition	[kg-cell/m ³]
$X(\tau_-)$	= cell mass concentration in the culture broth at the time prior to the substrate addition	[kg-cell/m ³]
ΔX	= change of cell mass concentration in the culture broth by the substrate addition	[kg-cell/m ³]

δ	= delta function	[—]
μ	= specific rate of cellular growth	[1/h]
$\mu(\tau_+)$	= specific rate of cellular growth at the time of just after the substrate addition	[1/h]
$\mu(\tau_-)$	= specific rate of cellular growth at the time prior to the substrate addition	[1/h]
ν	= specific rate of glucose consumption	[1/h]
$\nu(\tau_+)$	= specific rate of glucose consumption at the time of just after the substrate addition	[1/h]
$\nu(\tau_-)$	= specific rate of glucose consumption at the time prior to the substrate addition	[1/h]
π	= specific rate of alcohol production	[1/h]
$\pi(\tau_+)$	= specific rate of alcohol production at the time of just after the substrate addition	[1/h]
$\pi(\tau_-)$	= specific rate of alcohol production at the time prior to the substrate addition	[1/h]
τ	= the time at the substrate addition	[h]
τ_+	= the time just after the substrate addition	[h]
τ_-	= the time prior to the substrate addition	[h]

<Subscripts>

c	= critical value
m	= maximum value
0	= initial value
$+$	= quantities after the substrate addition
$-$	= quantities prior to the substrate addition

<Superscript>

$*$	= dimensionless quantities
-----	----------------------------

Literature cited

- 1) Brooks, J. D. and J. L. Meers: *J. Gen. Microbiol.*, **77**, 513 (1973)
 - 2) Endo, I., K. Ohtaguchi, T. Nagamune and I. Inoue: *Kagaku Kogaku Ronbunshu*, **3**, 543 (1977)
 - 3) Endo, I., T. Nagamune and I. Inoue: *J. Chem. Eng. Japan*, **13**, 231 (1980)
 - 4) Heinzel, E., Y. Nishizawa, I. J. Dunn and J. R. Bourne: *Annals of The New York Academy of Sciences*, **369**, 159 (1981)
 - 5) Ko, R. Y. C. and V. H. Edwards: *Biotechnol. Bioeng.*, **17**, 965 (1975)
 - 6) Luscombe, B. M.: *J. Gen. Microbiol.*, **83**, 197 (1974)
 - 7) Welles, J. B. and H. W. Blanch: *Biotechnol. Bioeng.*, **18**, 129 (1976)
 - 8) Yamane, T.: *J. Ferment. Technol.*, **56**, 310 (1978)
- (1982 年 9 月 4 日受理, 化学工学協会第 43 年会 (名古屋, 1978 年 4 月) にて一部発表)

Effects of a Substrate Addition on Yeast Physiological Activities in a Batch Culture System

Teruyuki Nagamune, Isao Endo and Ichiro Inoue*

Chem. Eng. Lab., Inst. of Phys. and Chem. Research, Wako 351

Impulse responses of specific rate of glucose consumption of a brewer's yeast (*S. cerevisiae*) ν , that of cellular growth μ and that of alcohol production π to a pulse-feed of substrate were elucidated. By varying the concentration of glucose in the pulse-feed of substrate, the authors added the substrate to the system at different stages of batch cultivation and measured the changes in specific rates of the yeast cells.

The experiments showed that the responses of the specific rates were classified into two types according to the magnitude of increment in glucose concentration, ΔG . When ΔG was less than critical value ΔG_c , the specific rates were not influenced by the pulse-feed of substrate. On the other hand, when ΔG was greater than ΔG_c , the specific rates of the yeast cells were decreased immediately and it took some hours before the specific rates reached their maximum speed. The authors have obtained a relationship between ΔG_c and a set of ($G(\tau_-)$, $X(\tau_-)$), which indicate the concentration of glucose and that of cell mass at the time of substrate addition.

*Dept. of Chem. Eng., Tokyo Inst. of Tech.; Chem. Eng. Lab., Inst. of Phys. and Chem. Research