

バイオテクノロジー（バイオガス化・バイオエタノール化）を駆使した

資源循環型プロセスの構築と地域の活性化

Development of resource recycling-oriented process by methane- and ethanol-fermentation of biomass
and activation of rural area

木田建次（熊本大学大学院自然科学研究科）

KIDA Kenji

Abstract Waste biomass of about 300 million ton is being discharged every year in Japan, and in addition, the emission quantity of CO₂ has to be reduced for global warming prevention. In order to solve these problems, we studied about the recovery of biogas from waste biomass by methane fermentation, and by our technologies, a biomass-town had been constructed on Okimachi in Fukuoka Prefecture. We also focused our study on the production of bio-fuel ethanol from various biomass such as garbage, resource crops and cellulosic biomass (bamboo, corn stover), incorporating with Sojo University and Peking University. Based on these achievements of ethanol production, the construction of a resource recycling-oriented city in Minamata area is being considered. Moreover, we aim to develop a zero emission process for the production of ethanol from agricultural waste straw and make it industrialize in China as well as other Asia countries.

Keywords: Methane Fermentation, Ethanol Fermentation, biomass, resource recycling-oriented society.

1. はじめに

技術立国として高度成長した我が国は、大量生産、大量消費により生活の豊かさを得た半面、大量廃棄により廃棄物の処理問題が顕在化し、加えて環境問題、エネルギー問題、食糧問題により、地球規模で破滅曲線を描こうとしている。

廃棄物に関しては、年間 5 億トンも排出され、そのうち 2 億 8 千万トンが生物系廃棄物（廃棄物系バイオマス）である（Fig. 1 参照）[1]。従来は、主として中間処理を経て最終処分されてきたが、最終処分地の残余年数は全国平均で 3.1 年分、首都圏では 0.7 年分と特に深刻化している [2]。我が国が持続的に成長するためには、これらの廃棄物をできるだけ削減し、さらに有効利用することが緊急の課題であり、2000 年は循環型経済社会の元年とされている。地球温暖化対策に関しては、京都議定書に基づき 1990 年度の温室効果ガス発生量の 6% を削減する義務があり [3]、この対策として我が国は目標値を掲げ、例えば 2010 年度までに原油換算で 1,910 万 kl の新エネルギーの開発を行う。特に、バイオマスのエネルギー利用は、二酸化炭素の排出量に計上されないこと、さらにその貯存量は原油換算で 2,600 万 kl にも達することから、2010 年の目標値を 1,377 万 kl（廃棄物・バイオマス発電、バイオマス熱利用、黒液・廃材等）と設定している。また、輸送部門での二酸化炭素発生量が 25～30% も増加していることから、バイオマス由来輸送燃料を 2010 年までに 500,000 kl（内訳：エタノール 300,000 kl、BDF 200,000 kl）普及させようとしている。我が国のバイオマスは、海外に比べると資源量、資源規模、高

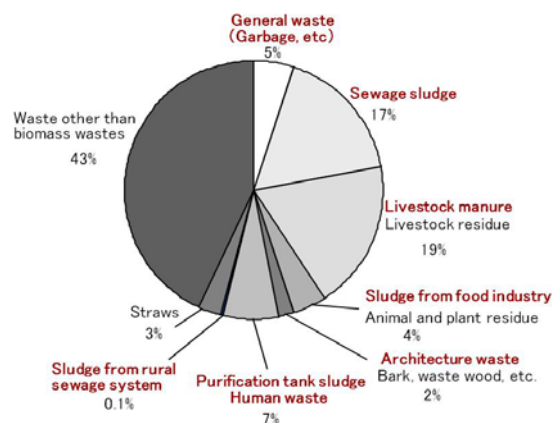


Fig. 1 Waste discharged in Japan and its content
(Total waste ≈ 500 million tons; Biomass waste ≈ 280 million tons.)

い人件費などの理由から経済性において必ずしも使い易くない。しかし、Fig. 2 に示したように地域特性、具体的には畜産・酪農業を含む農業地域、県庁所在地や大都市、また疲弊していく地方都市などの特性を考慮し、種々のバイオマスをメタン発酵によるバイオガス化、またエタノール・メタン二段発酵によるバイオエタノール化によりそれぞれに見合った資源循環型まちづくりが可能となる。

このような現状を踏まえ、われわれは長年廃棄物系バイオマスからのメタン発酵やアルコール発酵によるサーマルリサイクルの研究開発を行ってきた。そして、これらの研究成果に基づき、地球温暖化対策や環境保全に取り組みながら資源循環型まちづくりを目指してきたので、紹介する。

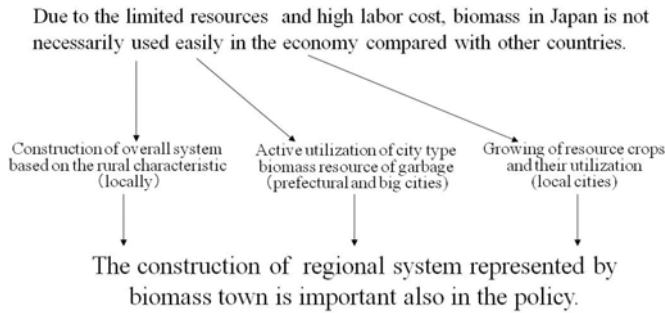


Fig. 2 Aiming at the achievement of biomass town plan by biomass energy.

2. メタン発酵によるバイオガス化およびエタノール発酵によるバイオエタノール化に関する取り組み

メタン発酵によるバイオガス化は、一世紀前に廃水・汚泥処理技術として開発されたが、槽内での反応機構の解明は全くなされずにブラックボックスとされてきた。そのために Fig. 3 に示したように、①限られた廃水に対する処理技術である、② NH_4^+ が増加する、③反応速度が遅い、④不安定な処理技術であるなどの問題点を抱えていた。一方、エタノール発酵によるバイオエタノール生産は、地球温暖化対策の切り札として最近注目されているが、わが国では 30 年も前からエネルギー多様化の一環として糖蜜からの固定化酵母法による生産研究がなされてきた。

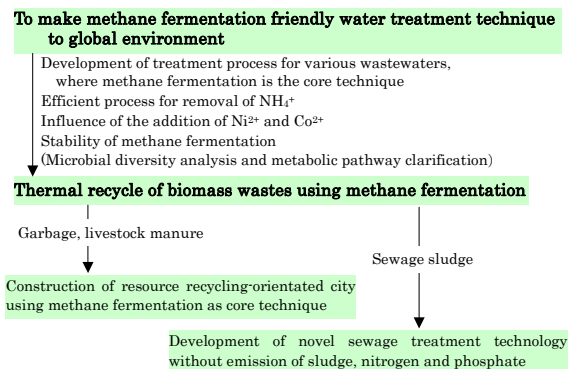


Fig. 3 Research details on methane fermentation in our lab.

このような状況を鑑み、われわれはメタン発酵法を種々の廃水の処理技術とするために研究を工学的にすすめ、その成果に基づき廃棄物系バイオマスのバイオガス化に取り組み、その中で福岡県大木町と共同研究することにより資源循環型まちづくりに貢献した。また Fig. 4 に示したように、安価なバイオエタノールを生産するためにプロセスがシンプルでなければならないと考え、凝集性酵母による糖蜜からのバイオエタノール生産の研究を行い、その成果に基づき種々のバイオマス（廃棄物系バイオマス、規格外農産物、資源作物、セルロース系バイオマス）からの燃料用エタノール生産へと研究を展開した。バイオエタノール生産のエネルギー収支を高めるために、バイオガス化およびバイオエタノール化の研究実績に基づき、現在エタノール・メタン二段発酵法によるバイオエタノールの生産研究を実施している。ここで得られた研究成果を事業化するために、水俣市で実証試験を行い、竹や資源作物からのバイオエタノール生産

を中核技術とする資源循環型まちづくりを目指している。さらにこの発展系として北京大学、崇城大学、熊本大学の 3 大学が共同し、コーンストーバからのゼロエミッションバイオエタノール生産プロセスの開発を行っている。

Industrial and fuel ethanol production using molasses

Research direction→Process simplifying
Breeding of flocculating yeast
Development of non-sterilizing continuous and repeated-batch fermentation process

Develop into fuel ethanol

	Type	Project
Waste biomass	Garbage	NEDO (Guide)
Non-standardized farm products	Waste potato	Investigating project of METI
	Wheat	Hokaido Bioethanol (Co. Ltd)
Resource crop	Beet juice	Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries
	Cane	
	Sorghum	
Cellulosic biomass	Architecture waste wood	NEDO
	Bamboo	NEDO New Energy Bench
	Corn stove	METI ODA

Fig. 4 Research details of ethanol fermentation in our

以下、これらの研究を概略する。

3. メタン発酵によるサーマルリサイクルと資源循環型まちづくり

メタン発酵は、①曝気動力を必要としないことから省エネ型廃水処理技術である、②余剰汚泥発生量が活性汚泥法の 1/10~1/5 と少ない、③エネルギー生産型プロセスであるなどの特徴を有しているが、逆に Fig. 3 に示した問題点を有していた。そこで、これらの問題点を解決するために、有機系廃水のメタン発酵処理試験を行い[4]、①各廃水に適した処理プロセスの開発、② NH_4^+ の効率的除去、③ Ni^{2+} および Co^{2+} の添加効果、および④微生物叢の解析によるメタン発酵の安定化を図ってきた (Table 1 参照)。そして、得られた成果を廃棄物系バイオマスのサーマルリサイクルに活かした研究開発を長年行ってきた。ここではその研究内容を概略する。

Table 1 Countermeasure for problems of methane fermentation.

Problem	Countermeasure
Suitable for limited kinds of wastewaters	Treatment research on wastewater/waste with various organic matter concentrations → Establishment of respective processes → Ordinary water treatment technology
Low reaction rate	Novel reactor Addition of Ni^{2+} and Co^{2+} } → Improvement of TOC loading rate (shochu distillery) 42 g//d (thermophilic methane fermentation) 24 g//d (mesophilic methane fermentation)
Increase of NH_4^+	Simultaneously removal with remaining organic acids in methane fermentation (shochu distillery→whisky distillery) wastewater→methane fermentation→biological denitrification→nitrification→
Unstable treatment technology	Clarification of metabolic pathway by molecular biology techniques

3.1 醸造系廃水のメタン発酵によるサーマルリサイクル

醸造系廃水として焼酎蒸留廃液を取り上げ、 Ni^{2+} および Co^{2+} の添加による高速度メタン発酵と高度処理も含めたメタン発酵によるサーマルリサイクルおよび微生物叢の解析による安定化に関して紹介する。

3.1.1 焼酎蒸留廃液の高速度メタン発酵によるサーマルリサイクル

メタン生成経路において methyltransferase や methylreductase といった Co^{2+} や Ni^{2+} を含む金属酵素が作用していることから[5], 金属イオンを添加すると反応速度のさらなる向上が期待できる。固形物を除去した焼酎蒸留廃液（焼酎粕と呼ばれている。）に両金属を微量添加した後、AFB（嫌気性流動床型）リアクターを用いて嫌気性処理試験を行った。 Ni^{2+} や Co^{2+} を添加することにより、高温メタン発酵および中温メタン発酵で達成したそれぞれの最大 TOC 容積負荷は 42 および 24 g/l/d となり、無添加に比較して 4~5 倍向上した[6]。また、最大 TOC 容積負荷 42 g/l/d の条件で、バイオガス発生速度は 57 l/l/d に達した (Table 1)。なお、最大 TOC 容積負荷を BOD 容積負荷に換算すると 68 および 39 g/l/d となり、世界的に見ても非常に早い反応速度を達成していることが分かる。

Ni^{2+} および Co^{2+} の添加効果を明らかにするために、添加および無添加の合成廃水（炭素源として酢酸を添加）を調製し、完全混合型リアクターによる連続発酵試験を行った。 Ni^{2+} および Co^{2+} 無添加では希釈率 $D=0.05 \text{ d}^{-1}$ でウオッシュアウトしたが、添加することにより $D=0.7 \text{ d}^{-1}$ の条件でも安定した連続発酵が可能となった。そこで、菌体中のメタン生成経路に関与する補酵素含量を測定したところ、コリノイドおよび F430 含量は $D=0.1 \text{ d}^{-1}$ まで希釈率とともに直線的に増加し、それ以上の希釈率で一定となり、それぞれの値は $0.64 \mu\text{mol Co}^{2+}/\text{g}$ 菌体および $0.57 \mu\text{mol Ni}^{2+}/\text{g}$ 菌体であった。補酵素濃度の増加とともに菌体活性も向上し、その結果ガス発生速度は大きく向上した。一方、 CO_2 が 8 電子還元を受けメタンになる C1 サイクルに存在する F420 含量は希釈率とともに減少した。以上のことからメタン生成経路は、 Ni^{2+} および Co^{2+} 存在下において $D=0.02 \text{ d}^{-1}$ のような低希釈率では主として C1 サイクルで、 $D=0.6 \text{ d}^{-1}$ のような高希釈率では主として酢酸からの代謝経路で生成される、すなわち代謝変換が起きることが示唆された (Fig. 5 参照) [7, 8]。なお一般的に、C1 サイクルでメタンを生成する細菌は水素資化性メタン生成細菌、酢酸をメタンにする細菌は酢酸資化性メタン生成細菌と呼ばれる。

3.1.2 高度処理も含めたメタン発酵によるサーマルリサイクルプロセスの開発

メタン発酵によりタンパク質はアミノ酸に加水分解され、脱アミノ化後 NH_4^+ に変換され、その結果、嫌気性処理水中の NH_4^+ は増加する。この NH_4^+ を効率的に除去するために、メタン発酵の負荷を上げた時、残存するプロピオン酸や酢酸を利用して生物学的脱窒槽で窒素と有機酸を同時除去するプロセス (Table 1) を開発した [9]。本プロセスは、すでにウィスキー蒸留廃液や焼酎粕のメタン発酵によるサーマルリサイクルに採用されている。

3.1.3 微生物叢から見たメタン発酵の安定性

Ni^{2+} および Co^{2+} 存在下、希釈率によりメタン代謝経路の変換が示唆された。そこで、低希釈率 $D=0.025 \text{ d}^{-1}$ と高希釈率 $D=0.6 \text{ d}^{-1}$ の 2 つの条件で 16S rRNA 遺伝子のクローン解析を行った。塩基配列に基づく系統分類を行った結果、低希釈率条件では全体の

43%が、高希釈率条件では 72%が古細菌（メタン生成菌）であった。両希釈率条件とも、古細菌では酢酸資化性の *Methanosaeta* 属および *Methanosarcina* 属に分類されるクローンが検出された。また、細菌では Low G+C Gram positive bacteria に分類されるクローンが多くを占めていた。次にメタン生成菌に対するリアルタイム定量 PCR 実験を行った結果、両希釈率条件で、*Methanosaeta* 属の 16S rRNA 遺伝子量には有意な差が認められなかったが、*Methanosarcina* 属は高希釈率条件の方が約 100 倍多く検出された。また、水素資化性の *Methanoculleus* 属が低希釈率条件でのみ検出された。以上のことから、Fig. 5 にしめたように高希釈率条件では *Methanosarcina* 属の酢酸資化性メタン生成菌が優占して酢酸の分解に関与することが示された。低希釈率条件でのみ検出された *Methanoculleus* 属の水素資化性メタン生成古細菌の酢酸分解に関する役割は、酢酸酸化細菌との共生分解と考えられる。既知の酢酸酸化細菌は全て Low G+C Gram positive bacteria に分類されているので、クローン解析によって検出されたこのグループに分類された細菌が、低希釈率条件で酢酸を H_2 と CO_2 に酸化分解し、これを水素資化性メタン生成細菌によりメタンに変換されたと考えられる[10]。

以上、 Ni^{2+} および Co^{2+} の添加により菌体あたりの補酵素コリノイドおよび F430 含量が増加し反応速度が向上することが、また酢酸からの代謝経路が希釈率により変換することが明らかとなった。すなわち、外からメタン生成反応を制御できることになり、それに伴いメタン発酵の安定化が可能となった。

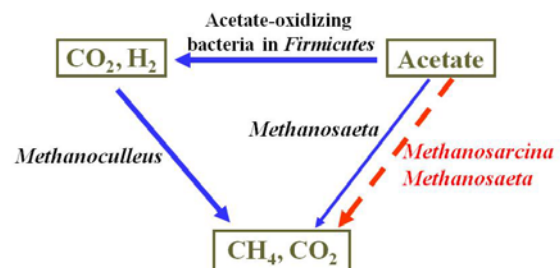


Fig. 5 Microorganisms related to methanogenesis from acetate. [—, Low dilution rate ; - - - High dilution rate.]

3.2 食品系バイオマスのメタン発酵によるサーマルリサイクルプロセスの開発

食品リサイクル法により 2006 年までに再生利用等の実施率を 20%に向上させなければならない。また、家畜排泄物法により 2004 年 11 月までに排泄物の処理・保管施設の遵守が義務付けられた。そこで、廃水処理で蓄積したメタン発酵技術を活かして、廃棄物系バイオマスのメタン発酵によるサーマルリサイクルに関する研究を行った。

3.2.1 コーヒー粕のスラリー状メタン発酵(乾式メタン発酵)によるサーマルリサイクル

缶コーヒーの需要の増加に伴い製造工程から排出されるコー

ヒー粕（水分含量、約 65%；有機物含量 98.5%/乾物）の処理が大きな問題となっている。研究開始当初、コーヒー粕そのものに対する研究例が皆無であったので、スラリー状態(20 w/v%)のコーヒー粕を回分・二相式高温メタン発酵法、すなわち完全混合型リアクターの液化槽と嫌気性流動床型リアクターであるガス生成反応槽からなる二相式メタン発酵法により回分式処理試験を行った。1 回の処理が終了した時点で、未分解のコーヒー粕を含む反応液を液化反応槽から引き抜き、固液分離した。上澄液は次の新しいコーヒー粕のメークアップ水として利用し、再度 20 w/v%のスラリー状態で乾式メタン発酵処理したところ、安定して繰り返し処理することができた。コーヒー粕の消化率は 70%、発生ガス中のメタン含量は 60~70%、全容積に対するガス発生量は液化槽 (pH 6 制御) 容積 2 l、ガス化反応槽 0.45 l のときに 1.43 l/d まで向上した。この値は pH を制御しなかったときの 7 倍に達していた。また、繰返し処理によりコーヒー粕中のホロセルロース、脂質およびリグニンそれぞれ 70%、91%、45%分解された[11, 12]。

3.2.2 生ごみの高速度メタン発酵によるサーマルリサイクル

生ごみのメタン発酵は、人工生ごみとガス攪拌型メタン発酵装置を用いて行った。Ni²⁺や Co²⁺を微量添加することにより、高速度でメタン発酵が可能となった。生ごみ中の有機物 1 g あたり 900~1,000 ml のバイオガス (メタン含量 50%) が発生し、しかも生ごみの約 85%が消化されることが分かった。また、バイオガス発生量に対して空気を 7.5%添加することにより、バイオガス中の硫化水素濃度 800~1,000 ppm を 5 ppm 以下に低減する方法を開発した[13]。

上述した実験結果に基づき 4,000 倍に相当するガス循環式メタン発酵槽 (実容積 20 m³) を建設し、実証試験を企業と共同で行った。メタン発酵槽には中温消化汚泥を入れた後、事業系生ごみを粉碎・選別後、2 倍希釈しものをポンプで間欠的に供給し、53℃の条件で高温嫌気性消化試験を行った。その結果、実験室規模と変わらない最大 TS 容積負荷 8 kg/m³/d を達成することができ、4,000 倍のスケールアップに成功した。また、自動化装置を用いてバイオガス発生量の 7.5%に相当する空気を供給することによりバイオガス中の硫化水素濃度を 100~200 ppm 以下に抑制することができた。

硫化水素抑制機構を明らかにするために、実験室規模のガス攪拌型メタン発酵槽内の硫酸塩還元細菌とメタン生成細菌の 16S rRNA 遺伝子および硫酸塩還元遺伝子 *dsrA* に基づく微生物叢を解析した [14]。通気の有無にかかわらずメタン生成細菌叢や *dsrA* の逆転写産物の増幅バンドに大きな変化が認められなかった。通気による発生硫化水素の抑制は、主として硫酸塩還元細菌により生産された硫化水素が化学的に、生物学的 (イオウ酸化細菌) に、あるいは化学・生物学的に酸化された結果であると考えている。

3.3 糞尿搾汁液のメタン発酵によるサーマルリサイクルプロセスの開発

家畜糞尿は、一般的には堆肥化により肥料として利用されて

いるが、九州では生産される堆肥量が需要量を大きく上まっている。そこで、家畜糞尿の搾汁液のメタン発酵によるサーマルリサイクルに関して検討した。

3.3.1 豚糞尿搾汁液のメタン発酵

研究室で豚糞および豚尿を体積比 1 : 1 で混合し、メッシュろ過(目 : 2.5 mm×2.5 mm)により豚糞尿搾汁液を調製し、その成分の一例を Table 2 (SW)に示した。この搾汁液に Ni²⁺、Co²⁺をそれぞれ 1.5 mg/l、0.6 mg/l となるように添加したものを、ピリジニウム基を導入した不織布を充填した固定床型リアクターに供給し、処理温度 37℃で供給量を段階的に上げる、すなわち VTS 容積負荷 2.0 g/l/d から 18.0 g/l/d の条件で処理試験を行った。容積負荷 8.0 g/l/d (HRT=5.8day)の条件で、アンモニア阻害を軽減するために槽内 pH を 7.5 以下に制御したところ、バイオガス発生量が 400 ml/g-VTS から 500 ml/g-VTS まで増加した。容積負荷を 18.0 g/l/d (HRT=3.2day)に上げた段階で槽内の S-TOC および VFA の蓄積が始まり、バイオガス発生量が 280 ml/g-VTS まで減少し、またバイオガス中に含まれる硫化水素濃度が検出されなくなった。以上の結果から最大有機物負荷として 15.0 g/l/d (処理日数 3.2 日)を達成することができた[15]。この値は、従来報告されている最大有機物負荷の 2~2.5 倍であり、固定床型リアクターを用いたことと Ni²⁺および Co²⁺を添加した効果と考えている。

Table 2 Typical compositions of waste biomass such as garbage, screened swine manure and screened dairy cattle manure et.al

Parameter	Garbage	SM	DCM	Garbage:SW	Garbage:SM:DCM	
				1:1	1:16:27 (Kikuch)	1:19:12 (Aso)
TS (g/l)	202.2	62.7	69.8	121.4	68.8	65.5
VTS (g/l)	195.2	49.4	52.7	110.1	54.4	50.0
SS (g/l)	158.4	38.6	47.4	74.2	46.5	37.1
VSS (g/l)	154.4	33.6	36.9	69.9	38.2	34.9
T-CODr (mg/l)	NM	89,000	71,000	162,000	NM	81,000
S-TOC (mg/l)	NM	19,451	9,726	7,825	4,505	16,910
S-IC (mg/l)	NM	849	1,926	158	1,700	977
T-VFA	1,267	37,145	11,822	9,560	8,053	31,064
Succinic acid	ND	348	ND	237	ND	256
Lactic acid	ND	19,770	ND	3,202	2,087	16,980
Acetic acid	452	7,050	9,261	3,000	3,827	7,830
Propionic acid	815	3,525	1,480	1,257	1,077	2,282
Butyric acid	ND	3,960	418	1,800	490	2,479
I-valeric acid	ND	1,046	ND	ND	275	571
N-valeric acid	ND	1,446	66	494	ND	666
PO ₄ ³⁻	120	625	50	NM	NM	463
NH ₄ ⁺	245	1,382	1,412	NM	806	1,432
pH (-)	5.3	5.5	7.1	6.1	7.1	6.1
Viscosity (cp)	ND	200	4,900	NM	NM	280

SM, screened swine manure; DCM, screened dairy cattle manure; VTS, volatile total solid; SS, suspended solid; VSS, volatile suspended solid; T-COD, total chemical oxygen demand; S-TOC, soluble total organic carbon; VFA, volatile fatty acid; NM, not measured; ND, not detected.

3.3.2 搾乳牛搾汁液のメタン発酵

畜舎の地下の受槽に集められた乳牛糞尿を研究室でメッシュろ過(目 : 2.5 mm×2.5 mm)することにより搾汁液を調製した。

Table 2 に搾汁液(DCM)の成分の一例を示しているが、粘度が高いことから機械攪拌型リアクターを用いて高温メタン発酵処理試験を行った。Draw and fill 法により供給液量を段階的に上げていき、最大有機物負荷の検討を行った。有機物負荷 8 g/l/d までには残存有機酸濃度は 1000 mg/l 以下で、ガス発生量は有機物負荷

に応じて増加した。しかし、有機物負荷を 10 g/l/d に上げると残存有機酸濃度は 2500 mg/l まで急激に増加し、ガス発生量も低下した。これらの結果から最大有機物負荷を 8 g/l/d とした。この時のガス発生量は 250 ml/g-VTS で、メタン含量は 60% であった。

3.3.4 地域特性を活かした生ごみおよび家畜糞尿搾汁液混合物のメタン発酵によるサーマルリサイクル

熊本県の調査資料から阿蘇および菊池管内を想定し、豚糞尿搾汁液、搾乳牛搾汁液および生ごみを前者で 19 : 12 : 1、後者で 16 : 27 : 1 の割合で混合した。阿蘇管内の混合液の粘度が 280 cp と低かったため、不織布担体固定床型リアクターを用いて高温メタン発酵処理試験を行った。有機物負荷を 2 g/l/d から 10 g/l/d まで段階的に上げたところ、バイオガス発生量は負荷 6 g/l/d までは約 600 ml/g-VTS であった。しかし、負荷を 8 g/l/d、10 g/l/d に上げるとその都度ガス発生量は低下し、再度回復する傾向を示し、有機物負荷 10 g/l/d の条件でのガス発生量は 420 ml/g-VTS であった。一方、搾乳牛搾汁液の比率の高い菊池管内の混合液では、最大有機物負荷は 8 g/l/d で、このときのガス発生量は 250 ml/g-VTS で大きく低下した[16]。

3.4 廃棄物系バイオマスのメタン発酵による資源循環型まちづくり

福岡県大木町と共同して、廃棄物系バイオマス（浄化槽汚泥・人糞尿・生ごみの混合物）のメタン発酵によるサーマルリサイクルプロセスの開発を行った（Fig. 6 参照）。下水の混合汚泥のメタン発酵処理試験で開発した二段消化変法（3.5.1 参照）を取り入れ、重力沈降した浄化槽汚泥と粗粉碎した生ごみを混合し実験室規模で高温液化（60℃）処理した。この液化処理液とし渣を除去した人糞尿を一緒にして実験室規模で中温メタン発酵（37℃）により処理した。高温液化処理の最大有機物負荷は 24 g/l/d で、この時の処理時間はわずか 2 日間であった。中温メタン発酵（滞留日数 20 日間）では、廃棄物系バイオマスを個々に処理したときよりもバイオガス発生量は 1.2 倍に向上し 840 ml/g-VSS であった。また中温メタン発酵槽上部に空気をバイオガス発生量の 7.5% になるように通気したところバイオガス中の H₂S 濃度は 200 ppm から 5 ppm に低下し、脱硫する工程が削除できることが分かった。さらに、季節による温度差を考慮して 37℃ → 42℃ → 37℃ のシフトを行い、処理性能に及ぼす温度の影響を調べた。約 5℃ の処理温度の変化は処理性能に全く影響しなかったため、この原因を明らかにするために中温メタン発酵槽内の微生物叢を解析したところ、メタン生成細菌は *Methanosarcina thermophila* が優占する高温菌であり、高温液化槽内の微生物叢と変わらなかった。そのために、処理温度のシフトに全く影響を受けずに安定して処理できた。この研究成果に基づき、2006 年 11 月におおき循環センター「くるるん」が竣工し、廃棄物系バイオマスを安定して処理している。また嫌気性消化液（メタン発酵処理液）は、水稻などの液肥として利活用され、栽培されたお米はブランド名「環のめぐみ」で市販されている。

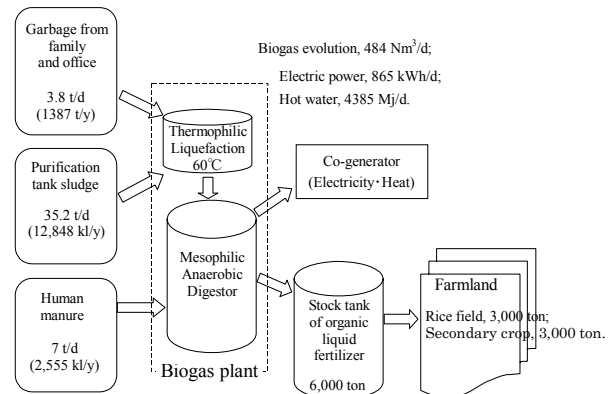


Fig. 6 Construction of Biomass-town on Okimachi in Fukuoka

3.5 下水汚泥のメタン発酵によるサーマルリサイクル

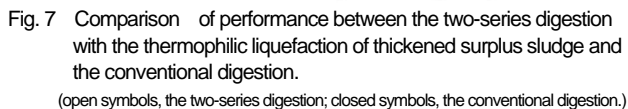
下水の余剰汚泥の COD_{Cr} 分解率は、30% と低いにもかかわらず、下水処理場では一世紀に亘ってほぼ同じ技術が使われてきた。そこで、汚泥の消化速度および消化率を向上させるためのプロセス開発を行った。

3.5.1 二段消化変法による混合汚泥のメタン発酵

初沈汚泥は中温嫌気性処理で、終沈汚泥（余剰汚泥）は高温嫌気性処理でメタン発酵されやすいことが分かったため、余剰濃縮汚泥だけを先に高温消化（53℃）した後、この汚泥と初沈汚泥を混合し中温消化を行う二段消化変法により下水汚泥を処理する検討を行った[17]。余剰濃縮汚泥の高温消化は、VSS 容積負荷を段階的に上げていくと VSS 消化率は徐々に低下したが容積負荷 8 g/l/d 以上で約 40% で一定し、槽内有機酸濃度も約 7,000 mg/l で一定した。しかし、メタン生成収率は 80 ml/g-消化 VSS と大幅に低下した。VSS 容積負荷 14 g/l/d で高温消化された汚泥と初沈汚泥を混合し中温消化処理した。一方、対象として単相式中温消化（従来法）を行い、性能比較を行った。二段消化変法による処理は、誘導した式から VSS 容積負荷および VSS 消化率を算出し評価したところ、二段消化変法により従来法の約 2 倍に当たる最大 VSS 容積負荷 7.7 g/l/d を達成することができ、同一負荷における VSS 消化率は従来法に比較して約 10% 高かった。

3.5.2 低圧湿式酸化で処理した余剰濃縮汚泥のメタン発酵

余剰汚泥は主としてバクテリアから構成されているので、上述したように高温消化においても消化率は低かった。そこで、余剰濃縮汚泥（VSS, 27.4 g/l）を低圧湿式酸化（操作圧 10 kgf/cm²G 以下、操作温度 150℃）で前処理することにより消化率の向上を目指した。本条件で酸素添加量を理論量（VSS を完全酸化するのに必要な酸素量）の 120% 添加して処理することにより VSS 分解率は 63% に達したので、ガス発生量に及ぼす酸素添加量の検討を行った。酸素添加量を変えて処理した余剰濃縮汚泥の回分式高温消化試験を行ったところ、理論量の 40% の酸素添加量でガス発生量が最も高かった。そこで、本条件で低圧湿式酸化した余剰濃縮汚泥を VSS 容積負荷 8 g/l/d で高温消化した結果、前処理も含めた余剰濃縮汚泥の VSS 消化率は 69% に向上した。



下水処理場の返流水の調査を行った結果、消化槽および脱水工程からの返流水に多くの窒素とリンが含まれており、またこれらの返流水量は下水量のわずか 1/100 であることが分かった。消化槽で消化されなかった汚泥(以後、未消化汚泥と呼ぶ。)は、脱水工程で脱水汚泥となり、その処分に多くの費用を費やしているのが現状である。そこで、この未消化汚泥を低圧湿式酸化処理した後、再度嫌気性処理したところ、前者で 64%、後者で 54%、全体として 83% 分解され、またリンも 67% 除去できた。そこで、未消化汚泥を Fig. 8 に示したように湿式酸化処理後、固液分離した残渣の脱灰、その残渣物の既設の嫌気性消化槽への返送、また、固液分離上澄液に残存するリンを MAP として回収した後、循環式生物学的硝化脱窒処理、その処理水を既設の活性汚泥槽に返送する方法により、汚泥と窒素を排出することなくリンを回収する新規な下水処理プロセスを開発することができた[18]。

地球温暖化防止や各国のエネルギー戦略から、バイオマスからの燃料用アルコールの生産が再度注目されるようになり、アメリカ、ブラジルはもちろんのこと中国やヨーロッパで燃料用



プロトプラスト融合により育種した凝集性酵母を用いて、連続発酵プロセスや繰返し回分発酵プロセスの研究開発を行った。なお育種においては、融合後胞子形成を行い、形質の安定化を図った。

フィリピン人のアルコール工場で使用されていた耐熱性・非凝集性酵母 *Saccharomyces cerevisiae* EP1 と凝集性酵母 *S. cerevisiae* IFO 1953 あるいは *S. cerevisiae* IR 2 とのプロトプラスト融合を行った。融合後孢子形成を行い、形質の安定化を図った。得られた育種株の発酵能を回分発酵試験により評価した後、凝集性酵母 HA-2 株および KF-7 株を優秀株として選抜した。HA-2 株は育種した HS-2 株を馴養したもので糖蜜からの連続発酵試験に用いた。また KF-7 は、当初、繰返し回分発酵試験に用いたが、その後は連続発酵試験に用いている。

さらに、KF-7 株から自己消化法 [23] により耐塩性を有する凝集性酵母 K211 株を取得し、高濃度仕込みでの繰返し回分発酵試験に使用した。

リアクターとして頭部に固気液三相分離部を有する塔型リアクターを用いた。このリアクターと育種した凝集性酵母を用いて、①単段連続発酵プロセスの開発、②通気下での連続発酵プロセスによる凝集性の安定化、③無蒸煮長期連続発酵プロセスの開発、④二段直列連続発酵プロセスによる高濃度・高生産性・無蒸煮連続発酵プロセスの開発の手順で連続発酵プロセスの開発を行った。

最終的に二段直列連続発酵法において、酵母の活性を維持するために各塔に微通気、またエタノールによる阻害を考慮した発酵速度式（直線阻害式）に基づき 1 塔目の活性の高い酵母を 2 塔目に強制供給することにより、 $D=0.2\text{ h}^{-1}$ の条件で生成エタノール濃度 $P\ 85\text{ g/l}$ を達成することができた。この値 ($P, 85\text{ g/l}$; $PD, 17\text{ g/l/h}$) は、長期無蒸着連続発酵条件下で達成したもので、世界的に高い評価を得ている (④, Fig. 9 □^A は本成果)。なお、参考として報告されている生成エタノール濃度とその時の生産性を Fig. 9 に併記した [24]。図から明らかなように、生成エタノール濃度が高くなると生産性が低くなる、すなわち発酵能が阻害されることが分かる。以上のような開発手順 (①～④) により高エタノール濃度下で長期無蒸着連続発酵技術を確立した。

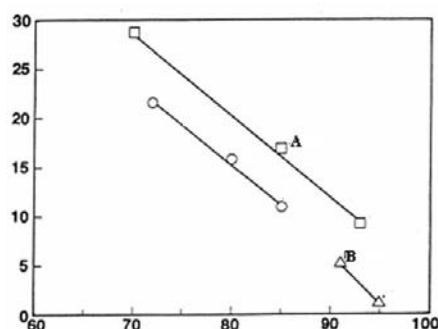


Fig. 9 Comparison of reported data obtained from fermentations using molasses medium at 30°C.
(Symbols: ○, continuous fermentation by immobilized yeast; □, continuous fermentation by flocculating yeast; △, batch or repeated-batch fermentation.)

この実績に基づき、環境省プロジェクトの一つに参加し、海外産糖蜜に比べて塩濃度が約 2.5 倍高い沖縄産糖蜜（灰分含量、 150 mg/g ・糖蜜）からのバイオエタノール連続生産プロセスの開発を、塔型リアクターと凝集性酵母 KF-7 株を用いて行った。本研究開発では、後述する 4.5.1 の理由から糖蜜培地にメタカリを添加することなく発酵温度の検討を行い、菌体活性が最も高かった発酵温度 33°C の条件で入口糖濃度を高めることにより、生成エタノール濃度 70 g/l 、生産性 14 g/l/h を達成することができた [25]。

4.1.3 繰返し回分発酵による燃料用アルコール製造技術の開発 [22, 26]

既存のプラント（発酵槽が主として機械攪拌型）を用いて高エタノール濃度下で工業用・燃料用アルコールが効率的に生産できないかとのニーズに応えるために、凝集性酵母を用いた繰返し回分発酵技術の開発を行った。アルコール発酵用酵母でも高エタノール濃度下で基質（エネルギー源）がなくなると急激に死滅していくので、自動化繰返し回分発酵装置の開発を行った。回分発酵試験結果に基づき、発酵が終了すると通気と攪拌を自動的に停止させ、酵母が沈降した後、発酵モロミを自動的に引き抜き、その後新しい糖蜜培地を供給し、通気と攪拌を始めることにより次の発酵を開始させるプログラムを作成した。その結果、2～3 回の繰返し回分発酵後に発酵時間は 22 時間から 13 時間に短縮され、約 50 回の安定した繰返し回分発酵が可能となり、本条件で生成エタノール濃度 91 g/l 、生産性 5.3 g/l/h を達

成した (Fig. 9 △^B 参照) [23]。繰返し回分発酵の特徴は、凝集性酵母を用いることにより発酵終了後、遠心分離機を用いることなく、静置するだけで酵母を簡単に回収できることであり、回分発酵技術としては世界に冠たるものである。なお自動化されていないが、機械攪拌型発酵槽を用いた繰返し回分発酵法による工業用アルコール製造技術は、わが国の NEDO アルコール事業部で実用化されている。

4.1.4 機械攪拌型リアクターを用いた無殺菌連続発酵プロセスの開発

中国では糖蜜を原料とするときに雑菌による汚染を防止するために一般的に硫酸処理されているが、蒸留廃液の処理や利活用で大きな問題となっている。そこで、硫酸処理しない糖蜜と既存の機械攪拌型発酵槽を用いて、高エタノール濃度下で長期連続発酵ができないかとのニーズに応えるために、凝集性酵母 KF-7 株と後段に沈降分離槽を有する機械攪拌型発酵槽を用いて連続発酵試験を実施した。各槽に空気を微量通気する二段直列連続発酵法により、 $D=0.075\text{ h}^{-1}$ の条件において二段目発酵槽の生菌数を $4\text{--}4.5\times 10^8\text{ cells/ml}$ に維持することができ、その結果、生成エタノール濃度 80 g/l 、生産性 6 g/l/h を達成することができた [27]。共同研究先である四川亜連科技有限责任公司は、2009 年 2 月に南寧にあるアルコール工場で実証試験を行い、スケールアップにすでに成功している。

4.2 デンプン質系バイオマスからのバイオエタノールの生産 [28]

農産廃棄物として廃ジャガイモと食品製造工程から排出されるシロップを用いて、連続発酵法による燃料用エタノール製造技術の開発を行った。廃ジャガとシロップを重量比で 2 : 1 に混合した後、酵素液化 → 糖化を行った。糖化液をさらにシロップと混合し（糖濃度、 146.5 g/l ）、殺菌することなく連続供給し、 $D=0.4\text{ h}^{-1}$ 、発酵温度 33°C の条件で生成エタノール濃度 65 g/l 、生産性 20 g/l/h を達成することができた。また、甘藷や規格外小麦からの回分発酵によるバイオエタノール生産の検討を行い、発酵 48 時間で生成エタノール濃度 96 g/l 、 91 g/l をすでに達成している。

4.3 生ごみからのバイオエタノールの生産

人口減少の社会においても、2030 年の人口予測では大都市や政令指定都市、県庁所在地の人口は増加する。そこで、われわれは生ごみを都市型バイオマス資源としてとらえ、熊大黒髪北キャンパスの生協食堂から排出される残飯からのバイオエタノール生産を試みた。残飯は腐敗しやすいので衛生面から鮮度保持技術を確立する必要がある。乳酸菌培養液を残飯の表面に散布し重石を置くことを繰り返したところ、生ごみを 1 週間から 10 日間腐敗させることなく保存することができた。また鮮度保持することにより、酵素糖化によるグルコース回収率は、腐敗した残飯と比較して 10% 強向上した [29]。そこで、約 1 週間保存した生ごみを用いて希釈することなく酵素液化後、同時糖化・発酵するプロセスの開発を行った。家庭系生ごみを原料として繰返し同時糖化・発酵（発酵温度 30°C 、時間 2 時間、引抜き量 70%）を行い、生成エタノール濃度 20 g/l 、生産性 7 g/l/h を達成

することができた。しかし、全糖濃度の低い家庭系生ごみを用いる限り生成エタノール濃度を高めることができないので、生協残飯や学校給食の残飯を用いて生産性や発酵温度の検討を行った。それぞれ 5 回の繰返し同時糖化・発酵であったが、発酵温度 37℃においても生成エタノール濃度 46 g/l、発酵収率 82%で生産性 18.4 g/l/h を達成することができた [30]。すでに、東京ガス(株)は 2008 年度に江東区で連続式同時糖化・発酵の実証試験を行い、スケールアップに成功している。

4.4 資源作物である甜菜ジュースなどからのバイオエタノールの生産

食糧との競合問題から、実用化し易い資源作物からのバイオエタノールの生産が注目されている。そこで、ライムで清澄化することなく短冊にした甜菜を熱水抽出したロージュースからの燃料用エタノール製造プロセスの開発を行った。回分発酵試験により発酵に必要な栄養塩類の検討を行った後、沈降速度を向上させるために Ca^{2+} 添加量の検討を行った。 Ca^{2+} や NH_4^+ などを添加した甜菜ロージュースを殺菌することなく塔型リアクターに供給し、単段式連続発酵試験を行ったところ、発酵温度 35℃、 $D=0.3 \text{ h}^{-1}$ の条件で安定した連続発酵が可能となり、発酵収率 87%、生成エタノール濃度 70 g/l、生産性 21 g/l/h を達成することができた [31]。また、ソルガムジュースやケーンジュースでも連続発酵試験を行い、発酵収率および生産性ともに同等の結果を得ている。

4.5 セルロース系バイオマスからのバイオエタノールの生産

セルロース系バイオマス資源として建築廃材および竹からのバイオエタノール生産の検討を濃硫酸糖化・連続発酵プロセスにより行った。

4.5.1 建築廃材からのバイオエタノールの生産

NEDO プロジェクト「バイオマスからの高効率エネルギー変換技術開発」の中でバイオエタノール製造技術に参加し、2002～2005 年度にわたって建築廃材からのバイオエタノール製造プロセスの開発を行った。バイオエタノール製造技術開発は、日揮㈱およびアルコール協会を中心に大学との産学官共同研究により実施した。原料は主として建築廃材で、Fig. 10 に示したように濃硫酸で加水分解した後、硫酸を分離して得られた糖化液を用いて凝集性酵母 KF-7 でエタノール連続発酵を行い、発酵醪を蒸留および膜脱水で燃料用エタノールを製造するものである。われわれが担当した凝集性酵母によるエタノール連続発酵およ

開発当初、糖化液にメタカリ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$)を添加することにより無殺菌連続発酵プロセスを確立できたが、膜脱水に使用しているゼオライト膜にイオウが悪影響することが分かった。そこで、メタカリ無添加で無殺菌長期連続発酵の検討を行った結果、発酵 pH 4、 $D=0.2 \text{ h}^{-1}$ の条件で可能となり、本条件で生成エタノール濃度 65 g/l、発酵収率 85%、生産性 13 g/l/h を達成することができた[32]。

一方、アルコール蒸留廃液(TOC 濃度 $\approx 20,000 \text{ mg/l}$ 、 $\text{NH}_4^+-\text{N} + \text{NO}_3^--\text{N} \approx 460 \text{ mg/l}$)には SO_4^{2-} が約 3,000 mg/l 含まれていたもので、固定床型リアクターを用いてメタン発酵と脱硫同時処理を行い、その後循環式生物学的脱窒・硝化処理で NH_4^+ とメタン発酵で残存する有機酸を同時に除去した。メタン発酵槽の上部に空気をバイオガス発生量に対して 7.5%供給することにより、バイオガス中の H_2S 濃度は約 10,000 ppm から 100 ppm 以下に低減でき、TOC 容積負荷を 3 g/l/d まで高めることができた。また、循環式生物学的脱窒・硝化処理により処理水の TOC 濃度と $\text{NH}_4^+-\text{N} + \text{NO}_3^--\text{N}$ をそれぞれ 270 mg/l および 30 mg/l にまで低減することができた[33]。

4.5.2 竹からのバイオエタノールの生産

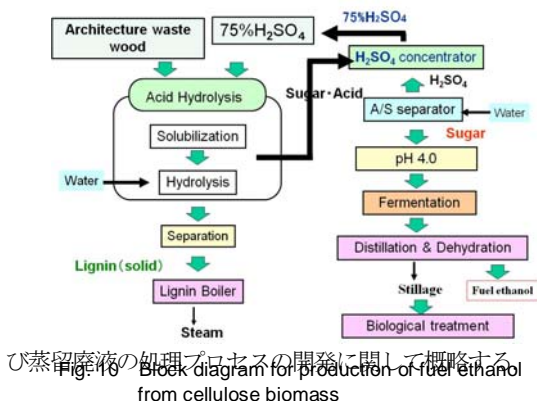
建築廃材などは、チップ状にされた後チップボイラーで、あるいは石炭との混焼によりリサイクルする需要が高まっているために決して安価な原料とは言えない。一方、竹は Table 3 に示したようにこの 10 年で竹林面積が約 2 倍に増加するぐらい成長速度が速く、そのために森を侵食する厄介ものとなり、九州各県でその対策が大きな課題となっている。そこで、森づくりも兼ねて竹からのバイオエタノール生産の研究開発を行っている。

Table 3 Estimation of bamboo resource

1997				Now (27Jan08 Asahi newspaper)			
Rank	Administrative divisions	Bamboo area (ha)	Average dry weight (ten thousand ton)	Rank	Administrative divisions	Bamboo area (ha)	Average dry weight (ten thousand ton)
1	Kagoshima	16,309	99.8	1	Kagoshima	31,500	192.6
2	Ooita	13,338	81.6	2	Ooita	23,000	140.6
3	Yamaguchi	11,073	67.7	3	Kumamoto	20,000	122.3
4	Fukuoka	11,020	67.4	4	Fukuoka	16,000	97.8
5	Kumamoto	10,578	64.7	5	Yamaguchi	15,000	91.7
6	Tottori	9,719	62.6	6	Miyazaki	14,000	85.6
7	Chiba	5,896	36.0	7	Hyogo	12,000	73.3
8	Kyoto	5,412	33.1	8	Ehime	11,000	67.2
9	Miyazaki	4,991	30.5	9	Kyoto	10,000	61.1
10	Okayama	4,938	30.2	10	Kochi	8,000	48.9
11	Kochi	4,388	26.8	11	Shizuoka	7,900	48.3
12	Shizuoka	4,195	20.6	12	Okayama	7,800	47.6
13	Ehime	3,967	24.2	13	Shimane	6,800	41.5
	Sum	105,824	645.2	14	Saga	6,200	37.9
				15	Nagasaki	6,000	36.6
					Sum	195,200	1,193

(Prefecture marked with pink color are located in Kyushu Island)

前処理・酵素糖化について検討したところ、現時点で酵素価格が 200 円/l-エタノールと余りにも高いことから、濃硫酸糖化について検討した。カッティングミルで粉碎した竹を濃硫酸糖化(可溶化、75%硫酸で 30 分間処理; 糖化、30%硫酸、90℃で 1 時間処理)することにより 80%強の糖を回収することができた。この濃硫酸糖化液から陰イオン交換樹脂で硫酸を分離した糖液を調製し、糖液に含まれるオリゴ糖を加水分解した。加水分解した糖液にはグルコースとキシロースが主として含まれており、それぞれの濃度は 99.5 g/l、31.3 g/l であった。pH 調整した後、凝集性酵母 KF-7 を用いて回分発酵試験を行ったところ、キシロー



スは発酵できなかったが生成エタノール濃度は 48 g/l で、グルコース濃度に対する発酵収率は約 95% と非常に高かった [34]。

KF-7 株はキシロース発酵能を有していないので、崇城大学赤松研究室で遺伝子操作によりキシロース発酵能を有する酵母の育種を実施している。凝集性酵母 KF7 の四孢子解析より取得したヘテロタリックな一倍体株を用いてキシロース発酵能の優れた二倍体株を創製した。本株を用いて回分発酵試験を行ったところ、グルコースが完全に消費される前からキシロースの消費が始まり約 24 時間でエタノールに変換できた。

4.6 エタノール発酵を中核技術とした資源循環型まちづくり構想 [35]

水俣地域では、地域活性化および遊休地対策としてエタノール発酵を中核技術として資源循環型まちづくりを目指している。八代海周辺は気候が温暖であることから、水俣市は遊休地を利用して資源作物（ケーンやソルガム）の栽培試験を九州沖縄農業研究センターと実施している。また、水俣から 100 km 圏内に竹が繁茂しており、その賦存量は竹林面積で 17,000 ha にも達する。そこで上述した研究成果 (4.4, 4.5) を活用し、Fig. 11 に示したように資源作物と竹から連続発酵によりバイオエタノールを年間製造し、熊本市周辺も含めた地域で地燃料として使用する。また、蒸留工程から排出される蒸留廃液については、廃液に含まれる酵母は配合飼料のタンパク源としてリサイクルし養豚業などを拡大する。家畜糞尿は蒸留廃液と一緒にメタン発酵法により処理され、発生したバイオガスは蒸留のエネルギー源として利用、さらにメタン発酵処理液は資源作物の栽培地に液肥として還元する資源循環型プロセスを構築する。そして、環境モデル都市として認定された水俣市および水俣周辺地域を持続可能な低炭素社会とすることにより地域の活性化を図っていく。

5. 政府開発援助プロジェクト(ODA)による農産廃棄物コーンストーバからのバイオエタノール生産 [36]

中国では、農業政策とエネルギー戦略からすでにデンプン質系バイオマスであるトウモロコシから燃料用エタノールが年間 120 万トンも製造されているが、食料品の高騰でトウモロコシからの燃料用エタノール生産規模の拡大が実質禁止され、非食糧系やセルロース系バイオマスから燃料用エタノールを生産することが決定された。しかし非食糧系、例えばキャッサバ（甘藷

の一種）から 1 万トンのアルコールを製造すると 2000 ha 以上の耕作地が必要となるので、実質食糧と拮抗することになる。一方、中国では農産物系わら類は乾物換算で年間約 7 億トンと大量に排出され、そのうちの 40% 以上が耕作地などで焼却され煤煙や二酸化炭素の大量排出と公害問題を引き起こしている。そこで、竹からの燃料用エタノール生産の研究開発の一環として、北京大学、崇城大学と共同して「ソフトバイオマスからの燃料用エタノール製造プロセスの開発研究」を平成 20 年から経済産業省の「提案公募型開発支援研究協力事業」で実施している。具体的には、Fig. 12 に示したようにコーンストーバ（トウモロコシわら）を濃硫酸糖化（混鍊・加水分解）した後、酸糖分離した糖液から高機能・凝集性酵母を用いた連続発酵により燃料用エタノールを製造するベンチプラントを建設し、硫酸の徹底した回収や蒸留廃液のメタン発酵処理水をプロセス水として再利用することにより、環境負荷の増大にならないゼロエミッション型エタノール製造プロセスを開発する。

6. おわりに

地球温暖化対策だけでなくエネルギー戦略や農業対策から、バイオマスからのメタン発酵やアルコール発酵による新エネルギーの開発が期待されている。メタン発酵はヨーロッパを中心に、アルコール発酵はアメリカやブラジルを中心に実用化されているが、わが国の開発・実用化スピードは大きく出遅れている感がある。この原因は、バイオマス種や賦存量だけでなく海外の技術に依存する体質と、さらにお金や CDM（Clean developed mechanism）により二酸化炭素排出権を買い取ろうとするわが国の姿勢によるものと考えられる。もちろん開発途上国の環境を守るために CDM は重要であるが、並行して国内でナショプロ等で開発した技術を普及させなければならない。私どもの研究で紹介したように、メタン発酵に関しては家畜糞尿や生ごみ等の廃棄物系バイオマスが利用でき、アルコール発酵に関しても生ごみのような廃棄物系バイオマスや竹などのセルロース系バイオマスなど原料として利用していける。多くの研究成果を活用し、地域特性を活かした資源循環型まちづくりを行い、地方の活性化および低炭素社会の構築につなげていかなければならない。そのためには、インフラ整備も含めた政策の立案と実行が肝要である。

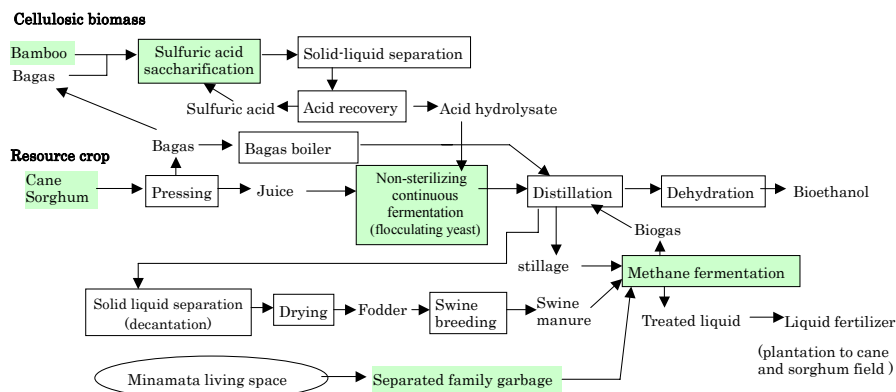


Fig. 11 Construction of resource recycling-oriented city in Minamata area putting bio-ethanol as core.

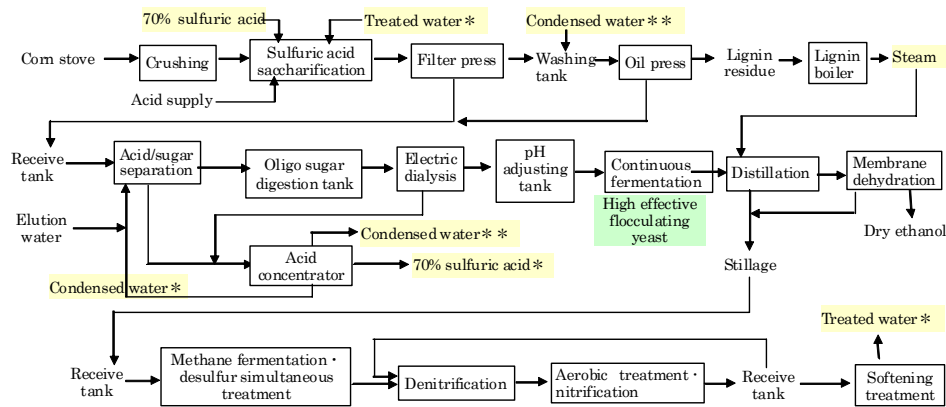


Fig. 12 Zero emission process of production of fuel ethanol from corn stover.

参考文献

- [1] “生物系廃棄物のリサイクルの現状と課題—循環型経済社会へのナビゲーターとして—”, 生物系廃棄物リサイクル研究会編, p.1-6, 有機質資源化促進会議, 東京 (1999)
- [2] “バイオマス・エネルギー・環境”, 編著者坂 志朗, p.149,150, アイビシー, 東京(2001)
- [3] “よくわかる地球温暖化”, 編著者気候ネットワーク, p.41-45, 東京(2000).
- [4] 木田建次, 森村 茂, 種村公平: 生物工学会誌, 74, 381-396 (1996)
- [5] R.S.Wolfe: Trends in Biochemical Science, 10, 396 (1985)
- [6] K. Kida, Y. Sonoda: J.Ferment.Bioeng., 75, 235-237 (1993).
- [7] 木田建次: メタン発酵の代謝経路とその変換, 環境管理, Vol.35, pp.539-546 (1999).
- [8] Kenji Kida, Toru Shigematsu, Junji Kijima, Masami Numaguchi, Yoshitaka Mochinga, Naoki Abe, and Shigeru Morimura: J.Bio.Bioeng., 91, 590-595 (2001).
- [9] K.Kida, Y.Nakano, Y.Sonoda, T.Nomura, Y.Tomita: J.Ferment.Bioeng., 75, 304-308 (1993).
- [10] T.Shigematsu, Y.Tang, T.Kobayashi, H.Kawaguchi, S.Morimura, K.Kida: Appl.Environ.Microbiol, 70, 4048-4052 (2004).
- [11] K. Kida, I.KBAL, Y. Sonoda: J. Ferment. Bioeng., 73, 390-395 (1992)
- [12] K. Kida, I.Kbal, M. Teshima, Y. Sonoda, K. Tanemura: J. Ferment. Bioeng., 77, 335-338 (1994)
- [13] I.kbal, Y.Tang, T.Shigematsu, S.Morimura, K.Kida: Japanese J.Wat.Treat.Biol., 39, 17-24 (2003).
- [14] Y.Tang, T.Shigematsu, I.kbal, S.Morimura, K.Kida: Water Research, 38, 2537-2550 (2004)
- [15] K.Liu, Y.Tang, Y.Fujimura, T.Shigematsu, S.Morimura, K.Kida: Japanese J.Wat.Treat.Biol., 42, 93-98 (2006)
- [16] K. Liu, Y. Tang, T. Matsui, S. Morimura, X. Wu, K. Kida: J.Bio. Bioeng., 107(1), 54-60(2009)
- [17] 木田建次, イクバル: 水環境学会誌, 18, 215-221 (1995)
- [18] 木田 建次, 森村 茂, 重松 亨: 下水の処理方法 (特許第 4024045 号)
- [19] K. Kida, M. Yamadaki, S. Asano, T. Nakata, Y. Sonoda: J.Ferment.Bioeng., 68, 107-111 (1989).
- [20] K. Kida, S. Asano, M. Yamadaki, K. Iwasaki, T. Yamaguchi, Y. Sonoda: J.Ferment.Bioeng., 69, 39-45 (1990).
- [21] 浅野慎一、久安智香、山抱基純、森村 茂、岸本真希男、木田建次: 醗酵工学会誌、65、169-177 (1987)
- [22] K.Kida, S.Morimura, K.Kume, Y.Sonoda: J.Ferment.Bioeng., 74, 169-173(1992)
- [23] S.Morimura, Y.Zhong, K.Kida: J.Ferment.Bioeng., 83, 271-274 (1997)
- [24] 木田建次, 森村 茂, 鍾 亜玲: 生物工学会誌, 75, 15-34 (1997)
- [25] 安 明哲, 湯 岳琴, 森村 茂, 木田建次: 第 60 回日本生物工学会大会講演要旨集, 1Hp13, p.194 (2008)
- [26] 鍾 亜玲, 森村 茂, 木田建次: 生物工学会誌, 73, 109-112(1995)
- [27] Y.Tang, M. An, S.Morimura, Y. Zhong, X.Wu, K. Kida: submitted to J.Biosci.Bioeng.(2009)
- [28] 高木政敏, 前濱洋紀, 岡本慎平, 木田建次: 第 23 回熊本県産学官交流会論文要旨, pp.70, 71 (2009)
- [29] Y.Tang., Y.Koike, K.Liu, M.An, S.Morimura, X.Wu, K.Kida.: Biomass and Bioenergy. 32, 1037-1045 (2008).
- [30] Y. Koike, M.An, Y. Tang, T. Syo, N. Osaka, S. Morimura, K. Kida: J.Biosci.Bioeng., in press (2009)
- [31] 村上亨, 岡本慎平, 畑田晋吾, 太田広人, 森村茂, 木田建次: 第 15 回日本生物工学会九州支部大会要旨集, p30 (2008)
- [32] Y.Tang., M.An, K.Liu, S.Nagai, T.Shigematsu, S.Morimura, K.Kida K: Process Biochemistry, 41, 909-914 (2006)
- [33] M.An, Y.Tang, S.Morimura, K.Kida: Japanese J.Wat.Treat.Biol., 43(4), 209-217 (2007).
- [34] 木田建次, 田畑沙知子, 安 明哲, 岩永朋弘, 廣田正一郎, 大田広人, 森村 茂: 第 23 回熊本県産学官交流会論文要旨, pp.62, 63 (2009)
- [35] 本山浩二, 村上亨, 庄智裕, 岩永朋弘, 畑田晋吾, 淵上順史, 木田建次: 第 23 回熊本県産学官交流会論文要旨, pp.68, 69 (2009)
- [36] 安 明哲, 郭 鵬, 武井奨太, 庄 智裕, 湯 岳琴, 吳 曉磊, 田口久貴, 赤松 隆, 木田建次: 第 23 回熊本県産学官交流会論文要旨, pp.66, 67 (2009)