

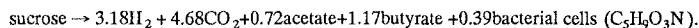
(22) 嫌気性水素発酵法による有機排水の処理特性

TREATMENT PERFORMANCE OF WASTERWATER WITH CONCENTRATED SUCROSE BY ANAEROBIC HYDROGEN FERMENTATION PROCESS

沈 建権*、李 玉友*、野池達也*

Jian-Chuan Shen*, Yu-You Li* and Tatsuya Noike*

ABSTRACT ; Hydrogen fermentation and COD removal from a wastewater with concentrated sucrose were investigated using a special consortium of anaerobic bacteria in chemostat-type reactors at 35°C. The experiment was conducted by varying the hydraulic retention time (HRT) of the reactor from 3.0 to 24.0 hours in 7 steps. When the HRT was longer than 6.0 hours, over 99% of the influent substrate was degraded and the COD removal reached to 32-35%. As a result, the influent COD (100%) were converted into various forms, including hydrogen (10.7-13.2%), acetate (11.7-12.9%), butyrate (40.3-48.5%) and biomass (14.5-21.8%). The biogas produced was mainly composed of hydrogen (40%) and carbon dioxide (60%), and the concentrations of acetate and butyrate in effluent reached to 1500 mg/l and 3300 mg/l, respectively. The Monod equation was suitable to describe the relationship between the substrate concentration and the substrate utilization rate for the hydrogen-producing consortium, and all the kinetic parameters were determined. The following stoichiometric equation was obtained for the hydrogen fermentation reaction at the HRT of 8.0 hours:



KEYWORDS ; anaerobic treatment, acetate, butyrate, hydrogen fermentation, hydraulic retention time (HRT), kinetics, sucrose.

1.はじめに

近年、地球温暖化をはじめとする地球規模環境問題がクローズ・アップされ、二酸化炭素の削減・除去及び二酸化炭素を生成しないクリーンエネルギーの開発の必要性が強く認識されるようになった。現在、あらゆる分野での温室効果ガス排出量低減策の検討が進められていると同時に、化石燃料に代わるクリーンエネルギーの開発も世界各国で精力的に展開されている¹⁾。水素はクリーンなエネルギー源であるばかりでなく、化学工業、航空産業をはじめ多くの分野においてきわめて広い用途を有し²⁾、単位重量当たりの発熱エネルギー (28700kcal/kg) は石油 (10000kcal/kg) の3倍²⁾もあり、次世代の有力なエネルギー源の一つとして注目されている。また、水素自動車や水素電池などの新製品の開発も注目を浴びている³⁾。しかし、水素は地球上に多く存在しないので、人工的に製造しなければならない。水素の生産に関しては、水の電気分解や熱分解などの実用化されている技術が幾つかあるが、生物化学反応を利用して水やバイオマスから生産することもできる。特に水素生成能の高い微生物を用いた有機排水や廃棄物からの水素発酵は環境浄化だけでなく、有価資源の回収にも貢献できることから、今後注目すべき魅力のある技術と考えられる^{4, 5, 6)}。

水素発酵生能を有する微生物は、生育に必要なエネルギーを光に依存する光合成微生物と、有機物に依存する非光合成微生物に大別される。両種類の細菌はともに嫌気性であるが、その中で非光合成嫌気性細菌 (以下は嫌気性細菌と呼ぶ) による水素発酵では、光源を要求しないばかりでなく、有機排水などを原料として用いることも可能なので、水素発酵とともに排水の処理も同時に行える利点がある。それゆえ、嫌気性細菌による有機物の水素発酵の研究は国内外において様々な視点から研究さ

*東北大学工学部土木工学科、〒980-77仙台市青葉区荒巻字青葉

Department of Civil Engineering, Faculty of Engineering, Tohoku University, Aoba, Sendai, 980-77

れ始めている^{4, 7, 8)}。しかし、これまでの研究は純粋培養した水素生成細菌を用いた回分実験が多く、混合培養系を用いた連続実験は余り行われていない。また、普通の嫌気性消化汚泥を用いると、酸生成細菌による水素生産反応とメタン生成細菌（または硫酸塩還元細菌）による水素消費反応が同時に進行するため、水素回収は困難であることも指摘されている^{7, 8)}。

水素発酵法による有機排水の処理プロセスを構築するには、如何にしてCOD除去率と水素生成収率を向上させ、しかも流出水中の残留副産物を単純化・安定化させることは重要な工学的研究課題である。筆者らは水素生成能の高い混合微生物系の発見と水理学的滞留時間（HRT）などの操作条件の制御による水素利用細菌の排除が水素発酵のための重要なポイントであると考え、研究を進めてきた⁹⁾。本研究では、嫌気性水素発酵法による有機排水の処理特性を把握することを目的として、独自に集積培養した特殊混合細菌系を用いて、ショ糖の水素発酵特性について、HRTを変化させた連続実験を行い、検討を加えた。

2. 実験方法

2.1 種汚泥

水素発酵プロセスを構築するために、水素生成能の高い混合微生物系を発見することが重要である。普通の嫌気性消化汚泥を用いると、水素生成細菌と水素利用細菌間の水素伝達が起こりやすいので、水素の回収が難しい。本研究では、まず嫌気性消化汚泥以外の微生物種を求めた。そして、大豆粕の水素発生によって水素爆発事故を引き起こした¹⁰⁾ サンプルに水素生成能の高い細菌群が存在することが認められたので、それを種微生物として集積培養を行った。本研究に用いた種汚泥は、集積培養で得られた混合微生物系を嫌気性ケモスタット型反応槽に移して、Table Iに示した混合基質を連続的に投入して、HRT1日、温度35℃の条件で、3ヶ月間馴養したものである。

2.2 実験装置及び基質組成

Fig. 1 に実験装置の概略図を示す。反応槽は硬質塩化ビニル製円筒型反応器を用いて連続的に基質を流入させ、発酵反応で発生したバイオガスをポンプで循環させることによって反応槽内を攪拌し、消化混合液の連続的引き抜きが行なえる嫌気性ケモスタット方式である。反応槽の総容積は1.4Lで、有効容積が1.0Lである。発酵反応で生成したバイオガスは酸性飽和食塩水による水上置換で収集した。合成基質はマイクロチューブポンプを用いて、連続的に投入した。合成基質貯留槽は3℃に保った。反応槽内の温度を一定に保たために、各反応槽を35℃の恒温箱に設置した。

Table 1 に本研究に用いた基質の組成を示す。反応槽のHRTをそれぞれ3.0、4.0、4.8、6.0、8.0、12.0、24.0hrに設定し、各条件でそれぞれ約4ヶ月間連続運転を行なった。各実験条件の反応槽に対して定常状態に達したことを確認するために、ガス生成量、ガス組成、揮発性脂肪酸(volatile fatty acid、以

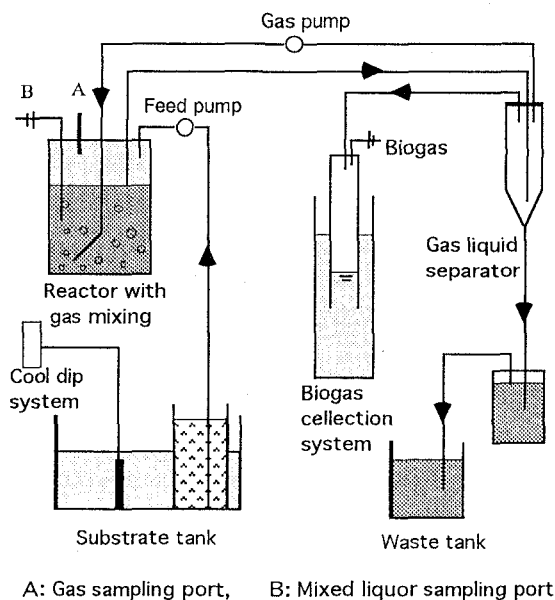


Fig. 1 The continuous flow experimental apparatus with chemostat-type reactor

下VFAとする)濃度及びCOD濃度などに関して、1週間に1回の定期的測定を行なった。測定値の変動範囲が平均値の5%以下になった時、定常状態が達成されたと見なした。定常状態における5回測定の実験データを平均して各HRT条件での代表値とした。

2.3 測定項目及び分析方法

基質であるシヨ糖濃度はフェノール硫酸法¹¹⁾により測定した。生成物である揮発性脂肪酸(VFA)は、FID-ガスクロマトグラフィー(Shimazu GC-8A, ガラスカラム、充填剤 Greensorb T KOCL-FM、ヘリウムキャリアガス1.6kg/cm²)により測定した。ガス生成量は酸性飽和食塩水による水上置換法で測定した。ガス組成は、TCD-ガスクロマトグラフィー(Shimazu GC-8A、ステンレスパッキンカラム、活性炭充填、ヘリウムキャリアガス0.75kg/cm²)により測定した。VSSは下水試験法に準じて測定した。pH測定にはガラス電極pHメーターを用いた。

2.4 水素生成細菌の計数

各反応槽の水素生成細菌数は、MPN (most probable number) 法(5本法)により計数した。培地の組成として1リットルの蒸留水にC₆H₁₂O₆: 5000mg, NH₄HCO₃: 1600mg, K₂HPO₄: 125mg, NaHCO₃: 6000mg, CuSO₄・5H₂O: 5mg, MgCl₂・6H₂O: 100mg, MnSO₄・4H₂O: 15mg, CoCl₂・6H₂O: 0.125mg, FeSO₄・7H₂O: 25mg, Na₂S・9H₂O: 0.25mg, Cysteine・HCl・H₂O: 0.5mg, Rosazurin (ORP 指示薬2ml): 1.0mgを含んでいる。サンプルの希釈および接種操作はすべてガス噴射嫌気性操作法で行った¹²⁾。培養温度は35℃、培養期間は14日とした。水素生成細菌増殖の判定は、気相部における水素ガスの検出で行なった。

3. 実験結果及び考察

3.1 シヨ糖の分解及びバイオガスの生成

Fig. 2に各HRT条件におけるシヨ糖の分解率、水素ガス生成速度およびガス組成を示す。シヨ糖の分解率は、HRTが長くなるにつれて、高くなり、HRT6.0hr以上の条件では99%以上の分解率が得られた。水素ガス生成速度はFig.2(b)に示したように、HRTが4.8hrの条件で最も高かった。また、生成したバイオガスの組成は、Fig. 2(c)に示したように、二酸化炭素と水素ガスの含有率はそれぞれ60%および40%であって、メタンガスはほとんど検出されなかった。しかし、HRTが12.0hr以上の条件では5%程度のメタンガスが検出されたために、水素ガスの含有率が若干低下した。

3.2 COD除去と代謝産物の生成

Table 1 Composition of substrate

Components	Concentration(mg/l)
C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	11115
NH ₄ HCO ₃	3770
K ₂ HPO ₄	125
Na ₂ CO ₃	2000
CuSO ₄ ・5H ₂ O	5
MgCl ₂ ・6H ₂ O	100
MnSO ₄ ・4H ₂ O	15
CoCl ₂ ・6H ₂ O	0.125
FeSO ₄ ・7H ₂ O	25

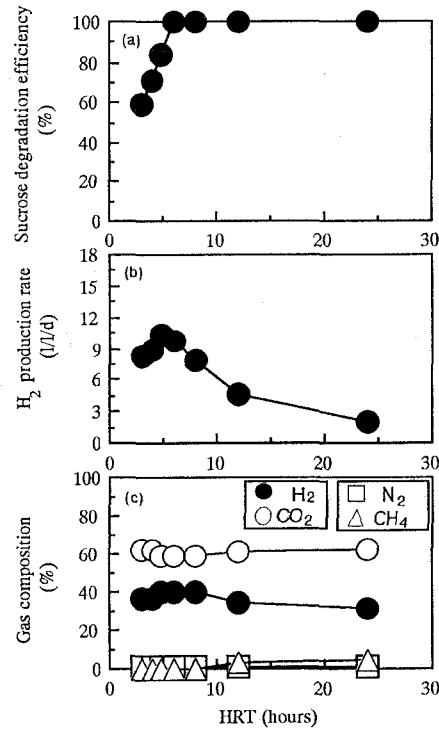


Fig. 2 Effect of HRT on Sucrose degradation efficiency, H₂ production rate and gas composition

Fig. 3に各HRT条件におけるpH(a)、各種類の揮発性脂肪酸の濃度(b)、VSS濃度(c)、COD除去率(d)及びガス生成収率(e)を示す。pHは6.01から6.36まで若干変化した、水素生成細菌のための最適pH範囲(6.0-6.5)¹³⁾にあったので、pHの変動による影響が小さいと考えられる。水素発酵とともに生成された揮発性脂肪酸は酢酸(最大1500mg/l)と酪酸(最大3300mg/l)が主成分で、プロピオン酸及びカブロン酸がわずかししか生成されなかった。VSS濃度(Fig.3c)はHRT6.0hr以下の条件でショ糖の分解率(Fig.2a)の向上とともに増加し、HRT6.0hr条件で最大濃度2220mg/lに達した。HRTがそれ以上長くなると、基質がなくなったために、内生呼吸の影響が大きくなり、VSS濃度はHRTが長くなるにつれて減少した。水素ガスと二酸化炭素ガスの収率もHRTが長くなるにつれて、高くなり、HRT8.0hrでは、水素ガスの収率は最大値の3.18 mol-H₂/mol- sucrose となった。しかし、HRTが12.0hr以上長くなると、メタンガスが少し生成したので、水素ガスの収率が若干低くなる傾向が見られた。

一般的に嫌気性消化の混合培養系を用いる場合、長いHRT条件ではメタン生成細菌、硫酸塩還元細菌及びホモ酢酸生成細菌の水素酸化性細菌が増殖し、生成した水素は菌種間水素伝達により利用される(松井ら、1992)ので、水素の回収は難しい。それゆえに、これまでの水素発酵の研究は純粋培養系を用いたものが多かった。谷生ら^{14, 15)}は*Enterobacter aerogenes* strain E. 82005細菌を用いて無機塩類にショ糖とペプトンを加えた複合培地での水素発酵実験を行い、2.5 mol-H₂/mol-sucroseの水素収率を得たと報告している。またTaguchiら^{5, 6)}は*Clostridium beijerinckii* strain AM21Bを用いて無機塩類にショ糖とペプトンを加えた培地での水素発生について研究を行った結果、6.49 mol-H₂/mol-sucroseの水素収率を得たとしている。しかし、これらのデータはいずれも回分実験の結果であり、しかも大量なペプトンも加えている。連続実験の混合培養でショ糖の最小培地から高い水素収率を得たのは、本研究が初めてである。HRT8.0hrにおける代謝産物の生成量に基づき、本研究に用いた混合培養系によるショ糖の水素発酵反応を化学量論式で表すと、次のようになる。



Fig.3dによれば、COD除去率はHRTの増加とともに高くなり、HRT6.0hr以上の条件では32.2-35.2%の範囲で安定している。水素発酵プロセスでは、揮発性脂肪酸の生成はCODの除去に寄与しないので、CODの除去は主に水素の生成と細菌の増殖に左右される。従って、COD除去率の向上のためにも、水素生成能の高い微生物を求めなければならない。小木曾ら⁸⁾(1994)は普通の嫌気性消化の酸生成汚泥を用いてグルコースを基質とした水素発酵の実験を行い、水素生成量が少なかったため、CODの除去はほとんど期待できないと報告している。また、Vincenzini et al. (1982)及びBolligar et al. (1985)はそれぞれ精糖廃液および製紙廃液を水素発酵法で処理し、30%程度のCOD除去率が得られたと報告している¹⁶⁾。本研究の結果はこれらの報告値よりも若干

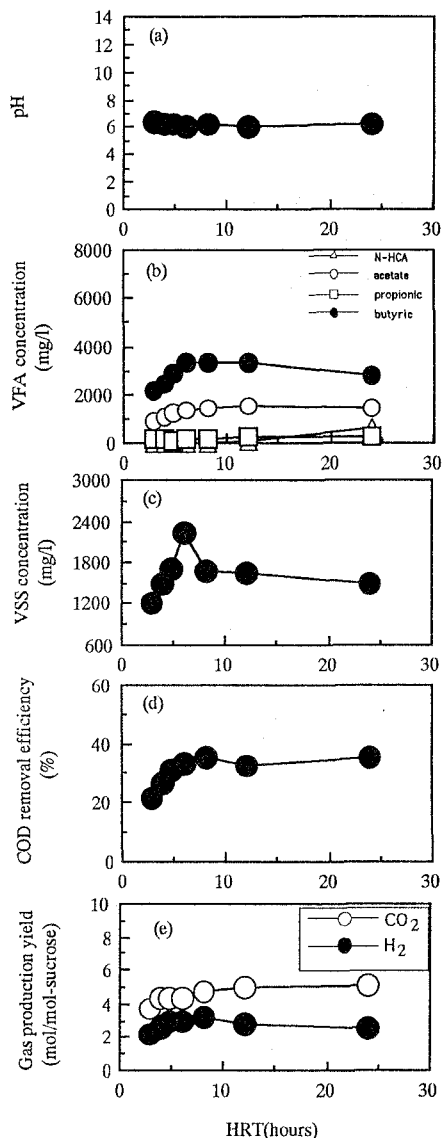


Fig. 3 Effect of HRT on pH, VFA concentration, VSS concentration, COD removal efficiency and gas production yield

高かったが、排水処理の観点から言うと、この程度のCOD除去率は不十分である。従って、生成したVFAの後処理が必要である。

3.3 COD物質収支、水素転換率及び水素発酵の最適滞留時間

シヨ糖からの水素発酵における物質の流れを検討するために、流入CODを100%として流出を、残存基質と代謝産物で回収して、COD物質収支を計算した。VSSのCODへの換算は分子式 $C_5H_9O_3N$ で計算した。各HRT条件におけるCOD物質収支の結果をTable 2にまとめた。これ

より明らかのように、代謝産物の生成はHRTによって影響されている。HRT6.0-8.0hrの条件において流入基質がほぼ完全に分解され、水素の生成量が多く、流入CODの約13%に達した。また、細菌増殖、酢酸および酪酸へのCODの転換率はそれぞれ20%、12%および48%で、酪酸は最も重要な代謝産物であった。HRT8.0hr以下の条件ではメタンはまったく生成されなかった。しかし、HRT12.0hr以上になると、生成した代謝産物が複雑になっただけでなく、流入CODの5%程度がメタンに転換した。その結果、水素の収率が低下した。

また、水素発酵における水素の流れを検討するために、分解したシヨ糖中の水素は100%として、各代謝産物への水素の流れを計算した。Table 3に示したように、水素ガスへの転換率はHRT8hrで最大値の29%に達した。微生物による有機物の加水分解反応では、 H_2O 中の水素を取り込む場合もあるので、水素の全体の回収率が100%

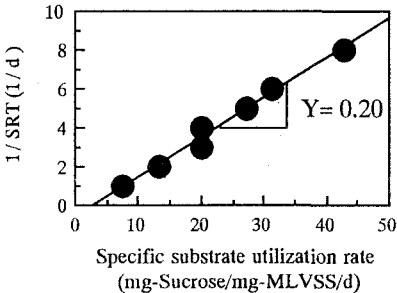


Fig. 4 Determination of the kinetic coefficients Y and Kd for bacterial growth

Table 2 COD mass balance at various HRTs (%)

HRT (hours)	Influent COD(%)	Effluent COD (%)								Recovery (%)
		Sucrose	Propionate	Acetate	Butyrate	N-HCA *	VSS	CH ₄	H ₂	
3.0	100	41.2	1.8	7.6	31.2	-	11.9	-	5.3	99.0
4.0	100	29.6	2.3	9.3	35.3	-	14.7	-	7.5	98.7
4.8	100	16.5	0.9	10.8	42.3	-	16.6	-	10.4	97.4
6.0	100	0.5	1.8	11.7	47.9	-	21.8	-	12.4	96.0
8.0	100	0.2	2.0	12.0	48.5	-	16.3	-	13.2	92.2
12.0	100	0.1	3.3	12.9	48.4	1.3	16.2	5.2	11.6	99.1
24.0	100	0.1	3.0	12.1	40.3	12.3	14.5	6.3	10.7	99.2

* : N-HCA = n-Caproic acid

Table 3 Conversion factor of hydrogen in utilized sucrose into various metabolites(%)

HRT(hours)	3.0	4.0	4.8	6.0	8.0	12.0	24.0
Acetate	14.2	14.4	14.1	12.8	13.2	14.1	13.2
Propionate	2.8	3.0	1.0	1.7	1.9	3.1	2.8
Butyrate	46.3	43.8	44.3	42.1	42.4	42.4	35.2
VSS	19.9	20.5	19.5	21.5	16.0	16.0	14.3
CH ₄	-	-	-	-	-	5.6	6.9
N-HCA *	-	-	-	-	-	1.4	8.9
H ₂	19.5	23.3	27.1	27.1	28.9	25.4	23.3
Recovery	102.8	105.1	105.9	105.1	102.4	107.9	104.6

* : N-HCA = n-Caproic acid

Table 4 Bacterial populations at various HRT conditions

HRT (hours)	Hydrogen-producing bacteria (MPN / ml)
3.0	2.3×10^7
4.0	8.5×10^5
4.8	8.5×10^6
6.0	5.1×10^6
8.0	5.1×10^6
12.0	3.4×10^6
24.0	2.3×10^5

を超えている。

以上の実験結果を総合すると、HRT8.0hrでは、流入基質がほぼ完全に分解され、COD除去率は最大値の35.6%となった。また、ガス中の水素の割合が最大値（40.09%）に達したばかりでなく、水素ガスの収率も最大値の3.18 mol-H₂/mol- sucrose となり、流入CODの約13.2%が水素ガスに変換されている。なお基質に含まれる水素の水素ガスへの転換率はHRT8.0hrで最大値の28.9%に達した。これらの結果から判断すると、ショ糖の水素発酵のための最適HRTは8.0hrであると言える。

3.4 細菌の計数

Table 4に水素生成細菌の生細菌数に及ぼすHRTの影響を示す。水素生成細菌はHRTの増大につれ、少なくなる傾向が見られたが、本実験のHRT範囲において106-10⁷ MPN/mlのオーダーで計数されている。

3.5 動力学的解析

本研究では制限基質濃度と比基質消費速度との関係はMonod¹⁷⁾ 型式で表現できた。実験データを解析したLineweaver-burkプロットより、最大比基質消費速度 $\nu_{max}=2.3$ (1/h)、飽和定数 $Ks \nu = 2.0$ (g/l) が得られた。

Table 5 Summary of kinetic parameters
obtained from this study

Parameter	Value
ν_{max} (1/h)	2.3
$Ks \nu$ (g/L)	2.0
Kd (1/h)	0.017
μ_{max} (1/h)	0.44
Y (g-VSS/ g-sucrose)	0.20
Y_{H_2} (L/g-sucrose)	0.20
Y_{CO_2} (L/g-sucrose)	0.30
Y_{HAC} (g/g-sucrose)	0.16
Y_{HBU} (g/g-sucrose)	0.35

一般的に、微生物の比増殖速度と比基質利用速度との間に次式関係が成立する。

$$\mu = (Y \cdot \nu) \cdot kd \tag{1}$$

$$\mu_{max} = (Y \cdot \nu_{max}) \cdot kd \tag{2}$$

ここで、

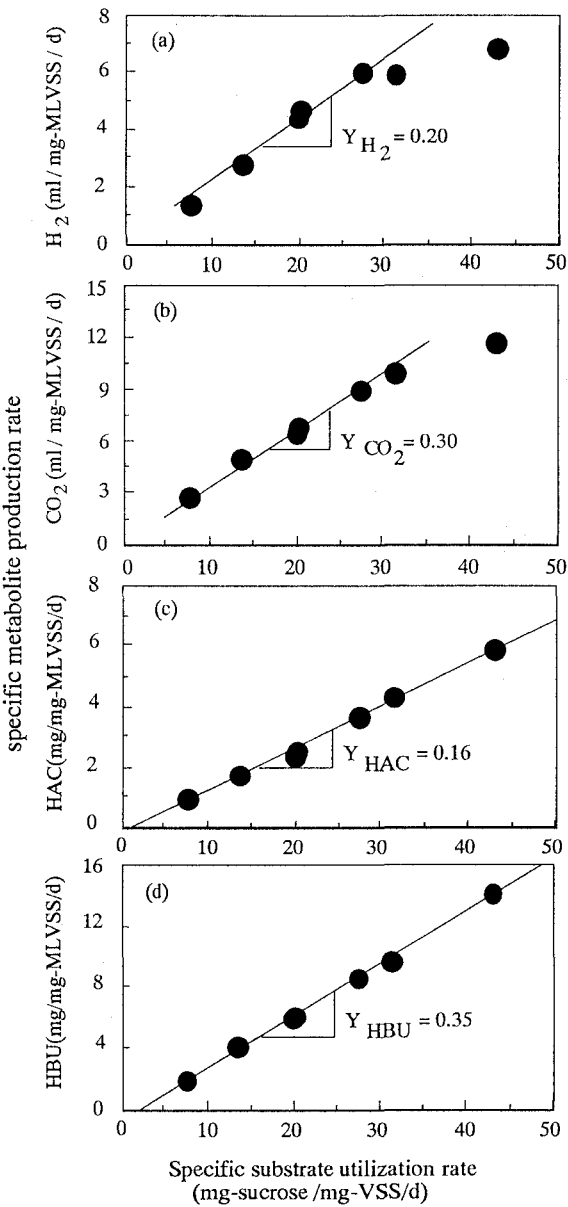


Fig. 5 The relationship between specific substrate utilization rate and specific metabolite production rate

μ : 比増殖速度 (1/h)

$\mu_{\max}$: 最大比増殖速度 (1/h)

Y : 収率係数 (mg-VSS/mg-sucrose) , k_d : 自己分解係数 (1/h) ,

ν : 比基質利用速度 (mg-sucrose/mg-VSS/h)

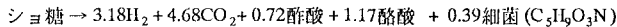
Fig. 4に比基質利用速度と比増殖速度との関係を示す。式(1)に基づいて、Fig. 4の直線プロットより、増殖収率 $Y=0.20$ (g-VSS/g-sucrose)、自己分解係数 $K_d=0.017$ (1/h) が得られた。

Fig. 5にシヨ糖の水素発酵における比基質利用速度と各代謝産物の比生成速度との関係を示す。水素生成と炭酸ガスの生成のプロットにおいてHRTが非常に短い条件での2点(比基質利用速度が高い)が直線から若干外れたものの、全体として、ガス生成、酢酸(HAC)及び酪酸(HBU)の比生成速度はいずれも比基質利用速度と直線的相関関係が見られた。これらの直線の傾きより各代謝産物の収率係数が得られた。以上の方法で求めた動力学的定数の値をTable 5にまとめた。本研究の水素発酵細菌の最大基質利用速度および増殖収率はいずれも従来報告された酸生成細菌のそれと匹敵している¹⁸⁻²⁰⁾。一方、メタン生成細菌の増殖収率は0.022-0.056 (g-VSS/g-substrate)²¹⁾で、活性汚泥法における好気性細菌の増殖収率は0.428-0.474 (g-VSS/g-substrate)²²⁾であることから、35℃での水素発酵細菌の増殖収率はメタン生成細菌の増殖収率より1オーダーほど大きい、好気性細菌の増殖収率の約二分の一程度であったと言える。

4. 結論

35℃での連続実験を通して、特別な嫌気性混合培養系によるシヨ糖含有排水の水素発酵処理に及ぼすHRTの影響について検討した結果、次の結論が得られた。

- 1) COD除去率はHRTの増加とともに高くなり、HRT6.0hr以上の条件では32.2-35.2%の範囲で安定している。水素発酵プロセスでは、揮発性脂肪酸の生成はCODの除去に寄与しないので、CODの除去は主に水素の生成と細菌の増殖に左右されている。
- 2) HRT6.0hr以上になるとシヨ糖の分解率が99%以上に達した。水素発酵の主な代謝産物は水素、二酸化炭素、酢酸、酪酸及び細菌増殖であったが、水素生成がHRT8.0hrで最も多かった。その条件での水素発酵反応は次の化学量論式で表現できる。



流入CODの約13%が水素に、また基質中の水素原子の29%が水素ガスに転換された。水素ガスの最大収率は3.18 mol-H₂/mol-sucroseであった。

- 3) HRT3.0-8.0hrの条件において生成したバイオガスの組成として二酸化炭素が約60%で、水素が約40%であったが、HRT12hr以上になると、メタンガス(3~5%)も若干生成したため、水素ガス含有率は3%程度低下した。
- 4) 混合培養系の水素発酵細菌の基質利用と増殖特性はMonod型動力学式で解析でき、最大比増殖速度 $\mu_{\max}$: 0.44 (1/h)、最大比基質消費速度 $\nu_{\max}$: 2.3 (1/h)、飽和定数 K_s : 2.0 (g/l)、増殖収率 Y : 0.20 (g-VSS/g-sucrose)、自己分解係数 K_d : 0.017 (1/h) などの結果が得られた。

また、従来の嫌気性消化の種汚泥を用いた研究結果に比べ、本研究で得られた水素生成収率及びガス中の水素含有率は特に高い。その原因としては高い水素生成能を有する特別な混合培養系を用いたことが重要と考えられる。なお、本混合培養系についてシヨ糖以外の有機物(グルコース、デンプンなど)を基質とした連続実験も実施しており、これまでいずれの基質からも高い水素生成収率を得ている。その結果の詳細については今後別の論文で発表する予定である。

参考文献

- 1) 養田泰治 (1985) 嫌気消化と水素発酵, バイオマス, 生物資源の高度利用 (日本農芸化学会編), pp.147-164, 朝倉書店, 東京.
- 2) 太田時男 (1987) 水素エネルギー, pp.2-36, 森北出版, 東京.
- 3) 濱 純 (1994) 水素自動車の現状と将来, エネルギー・資源, **15(5)**, 77-84.
- 4) 田口文章 (1994) シロアリから分離した水素生成菌による廃棄物処理と水素産生, 用水と廃水, **136**, 37-44.
- 5) Taguchi F., Hang J.D., Mizukami N., Saito-Taki T., Hasegawa K., Morimoto M. (1993) Isolation of a hydrogen-producing bacterium, *Clostridium beijerinckii* strain AM21B, from termites. *Can. J. Microbiol.*, **39**, 726-730.
- 6) Taguchi F., Chang J.D., Takiguchi S. and Morimoto M. (1992) Efficient hydrogen production from starch by a bacterium isolated from termites. *J. Ferment. Bioeng.* **73**, 244-245.
- 7) 松井三郎、石黒敬史、Bulent Inanc、井手慎司 (1992) 嫌気性処理プロセスからの水素エネルギー回収を目的とした基礎的研究、環境工学研究論文集、**29**、247-253.
- 8) 小木曾直行、中村玄正、松本順一郎 (1994) 嫌気性酸生成相における水素生成に及ぼす基質の影響、環境工学研究論文集、**31**、47-55.
- 9) 沈建雄、李玉友、野池達也 (1995) 嫌気性発酵細菌によるグルコースからの水素生産、日本水環境学会年会講演集、**29**、418.
- 10) エスプリ株式会社 (1989) 大豆粕のサイロ爆発について (事故調査報告書) .
- 11) 福井作蔵 (1990) 還元糖の定量法 (第2版), pp.50-52、学術出版センター.
- 12) 微生物研究法懇談会 (1975) 生理的性状観察法, 微生物学実験法, pp.213-217, 講談社.
- 13) Tanisho S., Suzuki Y. and Wakao N. (1987) Fermentative hydrogen evolution by *enterobacter aerogenes* strain E. 82005. *Int. J. Hydrogen Energy*, **12**, 623-627.
- 14) 谷生重晴ら (1989) *Enterobacter aerogenes* の発酵水素発生と利用基質について, 発酵工学会誌, **67(1)**, 29-34.
- 15) 谷生重晴 (1991) 微生物の水素発生メカニズムとバイオ技術を利用した水素生産, 化学装置, **33(6)**, 104-109.
- 16) Vincenzini, M., Materassi, R., Tredici, M.R. and Florenzan G. (1982) Hydrogen Production by Immobilized Cells- II. H_2 Photoevolution and Waste-Water Treatment by Agar-Entrapped Cells of *Rhodospseudomonas palustris* and *Rhodospirillum rubrum*, *Int. J. Hydrogen Energy*, **9**, 725-728.
- 17) Monod, J. (1949) The Growth of Bacterial Cultures. *Ann. Rev. Microbiol.* **3**, 371-394.
- 18) Noike T., Endo G., Chang J.E., Yaguchi J. and Matsumoto J. (1985) Characteristics of carbohydrate degradation and the rate-limiting step in anaerobic digestion. *Biotech. Bioengr.* **27**, 1482-1489.
- 19) Pavlostathis S. G. and Giraldo-Gomez (1991) Kinetics of anaerobic treatment. *Wat. Sci. Tech.* **24(8)**, 35-59.
- 20) 車基、李玉友、野池達也 (1993) 低温域における嫌気性酸発酵の動力学的特性に及ぼす温度の影響、土木学会論文集、**No.461/II-22**, 67-73.
- 21) Lin C.Y., Noike T., Sato K. and Matsumoto J. (1987) Temperature characteristics of the methanogenesis process in anaerobic digestion. *Wat. Sci. Tech.* **19**, 299-310.
- 22) 橋本奨、島山明夫 (1977) 活性汚泥法の浄化機構に及ぼす水温の影響に関する動力学的研究 (第2報) -Monod型動力学式による回分実験の水温影響解析, 下水道協会誌, **14**, 32-36.