

高効率バイオエタノール生産リアクタの開発

Development of the High-Performance Bioethanol Fermenting Reactor

田 中 浩	技術開発本部総合開発センター化学システム開発部	技術士（上下水道部門）
成 相 健太郎	技術開発本部総合開発センター化学システム開発部	
中 村 至高	技術開発本部総合開発センター化学システム開発部	
佐 藤 健 治	技術開発本部総合開発センター化学システム開発部	主幹
松 澤 克 明	技術開発本部総合開発センター化学システム開発部	課長 博士（工学）

化石燃料の代替として注目されているバイオエタノールは、植物由来の糖液を発酵することで生産される。この反応速度を高速化するためには、原料の糖液と高濃度の微生物を効率的に接触させることが重要である。本研究では、凝集性酵母を用いて装置内で酵母濃度を高めるとともに、発酵反応で発生するガス起因の上昇流で装置内を流動する方式によってエタノール発酵を行った。1 か月以上連続運転した結果、エタノールは高い反応速度で安定的に生産され、本方式がバイオエタノールの高速生産に有効であることが明らかになった。

Bioethanol, as an alternative for fossil fuels, is produced by fermenting sugar components of plant materials. It is important to bring the sugar-containing source material into efficient contact with condensed microorganisms to attain faster ethanol fermentation. In the study, high microbial concentration was achieved in a fermentation reactor using a flocculent strain of yeast. The yeast particles were continuously fluidized by upward current generated by the fermentation gas. During more than 30-day operation, high ethanol productivity was performed steadily. It was clearly demonstrated that the system is applicable to high-performance bioethanol production.

1. 緒 言

化石燃料への依存度低減の観点から、植物由来の糖液を発酵させてエタノールを大量生産し、輸送用燃料とする試みがなされている。より多くのエタノールを短時間で生産するためには、発酵を担う微生物を反応槽内で高濃度に保つ工夫が必要となる。一般に微生物は液体中で分散して装置外へ流出しやすいので、Baptista らはスパークリングワイン製造用の酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*) を粒子径 1 mm 程度の微生物担体表面に付着させ、サトウキビ由来の糖類からエタノールを生産している⁽¹⁾。Liu らはスポンジを使用して内部のすき間に酵母を固定し、生産速度を高めることに成功している⁽²⁾。このような方法は微生物を反応槽内に高濃度で保持してエタノール生産の高速化に寄与するが、微生物が担体からはく離するなどの問題がしばしば発生し、安定した連続運転が困難になる場合がある⁽³⁾。また担体の使用量が増えればエタノール製造のコストアップにつながる。

前述した担体に頼らず発酵槽内の酵母濃度を高めるために、自ら凝集して粒子を形成する酵母を使い、凝集体として発酵槽内に蓄積させる手法が注目されている⁽⁴⁾、⁽⁵⁾。

この凝集体は細胞同士が付着しながら増殖することで沈降性の良い凝集体を形成する。凝集体の沈降性を向上させることで装置内の微生物濃度を維持し、優れたエタノール生産性を保つことが可能になる。

沈降性の良い凝集体は発酵槽内に留まりやすくなる一方で、発酵槽の底部に沈積すると、原料と効果的に接触せず反応速度が遅くなる。このため、凝集体と原料の接触を促進する技術は極めて重要である。Loosdrecht らは細かい砂を核として微生物の凝集体を形成させ、曝気によって上昇流を発生させて流動状態を維持している⁽⁶⁾。また、Vellinga らは嫌気反応で発生するメタンガスの気泡を効果的に捕集して、ガスリフト効果によって装置内の凝集体を流動させている⁽⁷⁾。

凝集体を採用する場合の懸念としては、凝集体の粒子径が大きくなるにつれて凝集体の中心部へ原料が浸透しにくくなる可能性が挙げられる。Li らは微生物凝集体の表面から中心部へ供給される原料の量を実験的・数値解析的に検討し、液中の原料濃度が希薄で、かつ凝集体の粒子径が大きい場合ほど凝集体の中心部に原料が到達しない可能性を指摘している⁽⁸⁾。凝集体の一部が原料と反応しなくなれば発酵に寄与する微生物が減り、エタノール生産速度は

低下する。

そこで本研究ではまず、異なる平均粒子径をもつ凝集体を調製し、それぞれについてエタノールの生産速度を測定して凝集体の粒子径との関係を把握した。次に、発酵で発生する二酸化炭素の浮力によるガスリフト効果を利用して装置内を攪拌・流動する反応器と凝集体を使い、1 か月以上の連続発酵を行って、安定したエタノール生産が可能であることを明らかにした。

2. 試験方法

2.1 微生物の調製

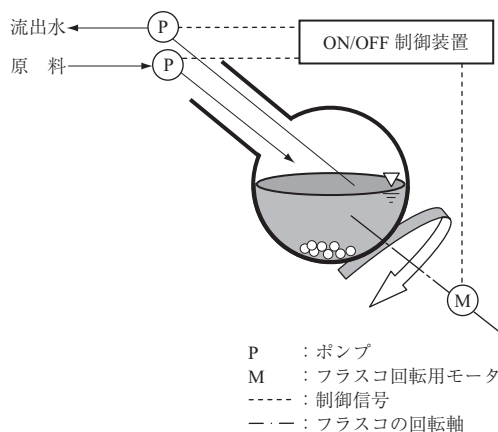
ビールの製造に使われ、醸造時に発酵槽底部に沈積しやすいことから凝集性に優れると考えられるエタノール発酵酵母 (*S. cerevisiae* NBRC 1953) を採用した。第 1 表に示す組成の培養液を用いて、この酵母の凍結乾燥体を往復振盪培養して増殖させた後、2%グリセロール溶液を用いて -80℃で冷凍保存していたものを使用した。

2.2 粒子径の異なる凝集体の形成

冷凍保存していた酵母の約 1 ml を自然解冻させ直ちに第 1 図に示す丸底フラスコに添加し、第 2 表に示す組成の滅菌済みの原料を通過しながら反応部の液量 300 ml、回転数 20 ~ 200 rpm、温度 30℃、水理学的滞留時間 2 時間で凝集体を形成させた。装置の運転は逐次回分式で

第 1 表 培養液の組成
Table 1 Medium composition for yeast growth

構成成分	単位	含有量
グルコース (ブドウ糖)	g	10
酵母エキス	g	5
ポリペプトン	g	3
麦芽エキス	g	3
蒸留水	l	1



第 1 図 丸底フラスコを使った逐次回分反応装置
Fig. 1 Schematic of a sequencing batch reactor with a round shape flask

第 2 表 丸底フラスコによる逐次回分反応での原料組成
Table 2 Feed medium composition for sequencing batch reactor

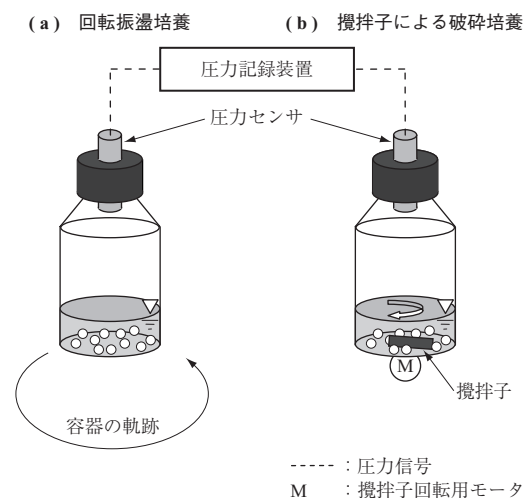
構成成分	単位	含有量
スクロース (ショ糖)	g	100
酵母エキス	g	5
塩化アンモニウム	g	2
リン酸二水素カリウム	g	2
硫酸マグネシウム	g	0.1
塩化カルシウム二水和物	g	0.1
水道水	l	1

行った。すなわち、フラスコ円筒部の中心軸を回転軸として回転させつつ原料の連続注入を 3 分間行った後、20 秒静置して凝集体を沈降させ、40 秒で上澄みを排出する動作を繰り返した。

丸底フラスコを回転させることによって凝集体をフラスコ底面で雪だるまのように転がして凝集を促進させるとともに、回転数を変更することで凝集体の粒子径を変化させた。48 時間以上一定の回転数で運転して凝集体の粒子径分布が一定となることを目視で確認した。凝集体が原料を発酵していることを確認するため、流出水のエタノール濃度をガスクロマトグラフ (FID-GC) で測定した。

2.3 エタノール生産速度測定試験

粒子径が安定した凝集体を第 1 図の丸底フラスコから適量取り出し、第 2 図に示した約 1 l の密栓容器を用いて第 3 表に示す組成となるように凝集体および滅菌済みの培地を添加して液量 40 ml とした。凝集体の濃度の定量は、孔径 1 μm のガラス繊維ろ紙で凝集体を捕集し 105℃で 2 時間乾燥させたときの乾燥質量を測定することによって行った。



第 2 図 回分反応装置
Fig. 2 Schematic of batch fermentation with pressure sensor

第3表 密閉容器による回分反応での原料組成
Table 3 Medium composition for batch reactions

構成成分	単位	含有量
スクロース	g	約 10 ~ 13
酵母エキス	g	5
塩化アンモニウム	g	2
リン酸二水素カリウム	g	2
硫酸マグネシウム	g	0.1
塩化カルシウム二水和物	g	0.1
水道水	l	1
凝集体	g	5 ~ 8

反応液を調製した後、直ちに容器の気相を窒素ガスで置換し、温度 30℃において回分反応装置にて回転振盪培養を行った(第2図-(a))。回分反応の前後において凝集体の粒子径がおおむね同様であることを目視で確認した。凝集体を積極的に破碎して微細な凝集体に調製するため、回転振盪培養の代わりに攪拌子(500 rpm)を使って高速攪拌した系も併せて実施した(第2図-(b))。

回分反応終了後、反応液の一部を採取し、凝集体を CCD カメラで直接撮影した。一つの検体について無作為に 30 個の凝集体を選んで最長径と最短径を実測し、その二軸平均を粒子径として凝集体の粒子径を評価した。

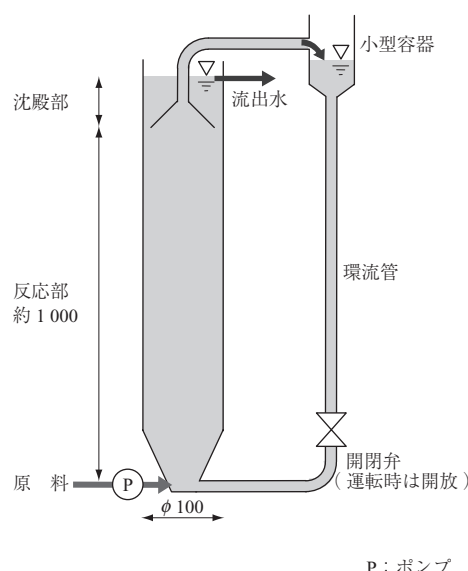
密閉容器内のエタノールおよびスクロース濃度の変化は、密閉容器内の圧力経時変化から換算することによって求めた。すなわち、凝集体によるエタノール発酵の反応は(1)式によって与えられる。



発酵に伴いエタノールと二酸化炭素が発生するので、密閉容器内の圧力変化は二酸化炭素発生のみによるものとして化学量論的にエタノール発生量を求めた。また、回分反応の前後における反応液中のエタノールとスクロースの濃度を測定し、二酸化炭素と等モルのエタノールが発生したことを確認した。エタノールは前述した方法で、スクロースはフェノール硫酸法⁽⁹⁾で定量した。

2.4 流動反応装置による連続発酵試験

第3図に示す反応部容積 8.6 l の透明プラスチック製流動反応装置を用いて連続発酵を行った。丸底フラスコで形成した凝集体を流動反応装置に供給するため、第1図の流出水出口と第3図の原料入口を直列に接続し、冷凍保存していた酵母の約 1 ml を丸底フラスコに直接添加して連続運転を開始した。丸底フラスコへ供給する原料の流量は約 5.4 l/h、温度 30℃、丸底フラスコ回転数は 100 rpm 一定で酵母を増殖させた。原料の組成を第4表に示す。流動反応装置内部の凝集体濃度が丸底フラスコ内の凝集体



第3図 流動反応装置概略図(単位: mm)
Fig. 3 Schematic of fluidized bed reactor (unit: mm)

第4表 流動反応装置による連続発酵での原料組成
Table 4 Feed medium composition for fluidized bed reactor

構成成分	単位	含有量
グルコース	g	100
酵母エキス	g	5
塩化アンモニウム	g	2
リン酸二水素カリウム	g	2
硫酸マグネシウム	g	0.1
塩化カルシウム二水和物	g	0.1
水道水	l	1

濃度を上回ったところで丸底フラスコを切り離し、同じ原料流量で流動反応装置の単独運転に切り替えて 1 か月の連続運転を実施した。実際の運転では木質由来のセルロースなどを糖化することで得られるグルコースを使用することを想定し、第4表に示すとおりスクロースの代わりにグルコース主体の原料を滅菌せずに試験に使用した。原料、反応部内ともに pH 調整は実施しなかった。凝集体が過度に増殖して反応部の上部にある沈殿部に滞留した場合は、沈殿部にある凝集体をその都度除去することで対応した。

反応部では凝集体の働きで(2)式の反応によってグルコースからエタノールと二酸化炭素が生成する。



この反応で発生した二酸化炭素は、気泡となって上昇するとともに沈殿部の下部に設けられた傘に捕集され、周囲の液体と凝集体を同伴しつつ沈殿部上部の小型容器へ移動する。小型容器へ移動した流体のうち、ガスはここで分離され、凝集体を含む液体は再度反応部の最下部へ環流される。この一連の動作によって、反応部ではつねに上昇流が

発生し、凝集体が反応部の底部に沈積するのを防ぐと同時に、原料と凝集体の接触を促進することができる。

運転結果の評価のため、沈殿部の最頂部から越流する流出水のエタノール濃度、グルコース濃度、pH を測定した。また凝集体量当たりの反応速度を把握するため、凝集体の濃度を測定した。凝集体濃度およびエタノール濃度は **2.2 節** および **2.3 節** で述べた方法で測定した。グルコース濃度はスクロースと同様にフェノール硫酸法で測定した。

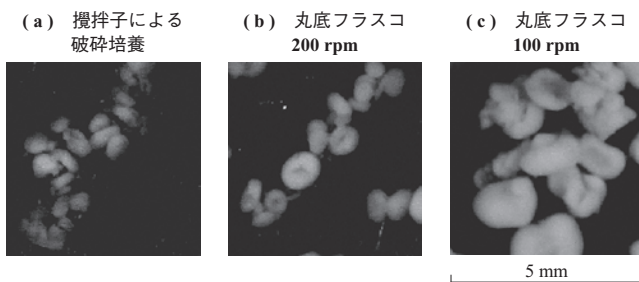
3. 結果と考察

3.1 凝集体の粒子径がエタノール生産速度に及ぼす影響

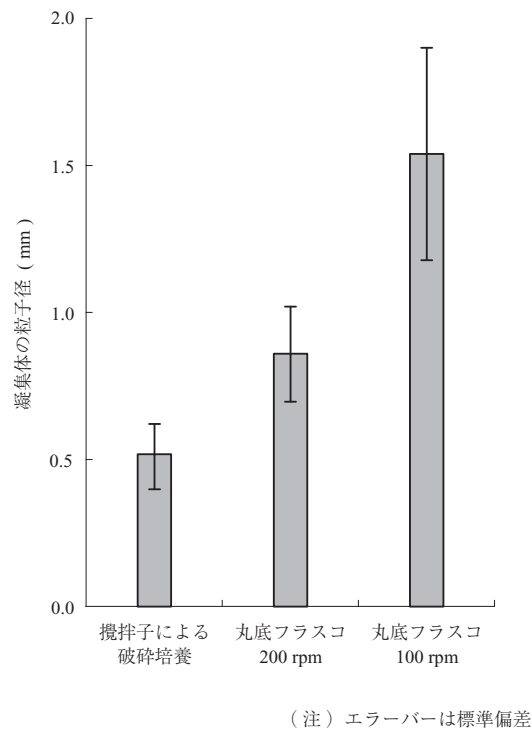
第 1 図 に示す丸底フラスコを用いて 100 rpm 以上の回転数で運転した結果、凝集体がフラスコ底面で転がりつつ成長し、一定の粒子径分布をもつ粒子が形成された。100, 200 rpm でそれぞれ凝集体を形成させた場合、および凝集体を攪拌子で破碎した場合の凝集体を **第 4 図** に示す。また、これらの粒子径の測定結果を **第 5 図** に示す。この図から、攪拌子で凝集体を破碎した粒子、200 rpm で形成させた粒子、100 rpm で形成させた粒子の順番にそれぞれ約 0.5, 0.8, 1.5 mm と粒子径が大きくなっていることが分かる。

これらの凝集体と **第 2 図** の回分反応装置を用い、エタノール生産量の経時変化を測定した結果を **第 6 図** に示す。この結果から、凝集体の平均粒子径が約 0.5 ~ 1.5 mm の範囲で変化しても単位凝集体量 (Biomass) 当たりのエタノール生産量の変化はおおむね同等であることが分かった。

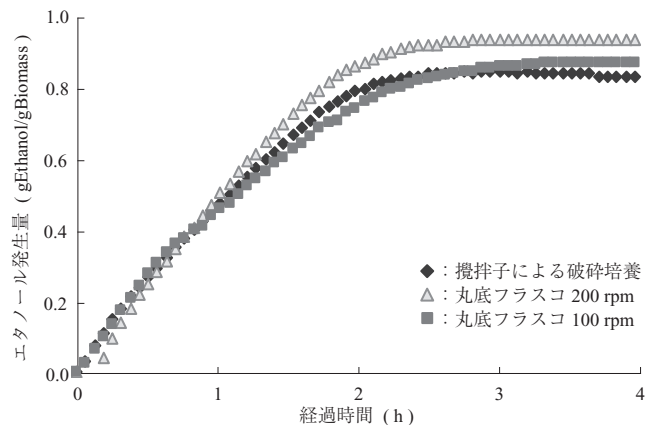
当初、凝集体が肥大化した場合、粒子径が大きいほど、また液中のスクロース濃度が低いほど、スクロースが凝集体全体に浸透せずにエタノール生産速度が低下することが懸念された。しかし、回分反応が進行して液中のスクロース濃度が低下し、凝集体中心部に到達するスクロース量が減少しやすい反応終了直前においても、凝集体の粒子径は



第 4 図 *S. cerevisiae* の凝集体
Fig. 4 Flocculent particles of *S. cerevisiae*



第 5 図 凝集体の粒子径測定結果
Fig. 5 Flocculent particle size



第 6 図 単位凝集体量当たりのエタノール発生量変化
Fig. 6 Effects of particle size on ethanol productivity by yeast flocculent

エタノール生産速度にほとんど影響しないことが分かった。

3.2 節 で述べる連続発酵では反応部が攪拌されており、凝集体が接触する液の糖濃度は回分反応終了直前と同様に流出水同等まで低下するが、本試験の結果から、凝集体の粒子径が約 1.5 mm 以下の条件で安定したエタノール発酵を達成できる可能性が示された。

丸底フラスコの回転数を 20 ~ 80 rpm として逐次回分反応装置を運転したところ、凝集体のほとんどがフラスコ底部に沈積して不定形の塊となり、ガラスの球面を滑りな

から増殖した結果、粒子同士の境界が不明りょうで粒子径の判定が困難な状態となった。また、本稿では運転結果を表示していないが、回転数 100 rpm 以上の条件では、流出水のエタノール濃度 40 g/l 以上で逐次回分反応装置を 1 週間以上安定運転ができたのに対し、80 rpm 以下では 20 ~ 35 g/l と不安定な状態となった。丸底フラスコが低回転の場合に反応装置としての性能が低くなった原因として、回転数が低いと凝集体が装置内で攪拌・混合されず、原料が凝集体全体に浸透しなかった可能性が挙げられる。

以上の結果から、凝集体を流動させながらエタノール発酵を行う流動反応装置（第 3 図）は、原料と凝集体の接触を促進することができるため、エタノールを高速生産するのに適していると考えられる。

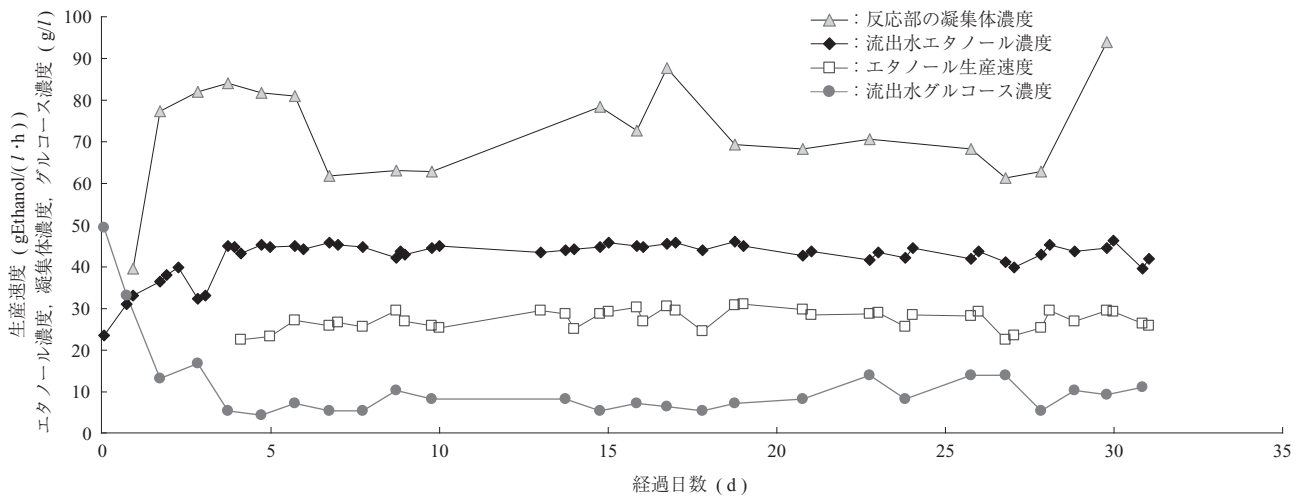
3.2 連続エタノール発酵

丸底フラスコ内の凝集体を流動反応装置に供給しつつ連続運転を開始した結果、7 日目に流動反応装置の反応部における凝集体濃度が約 10 g/l となり、丸底フラスコ内の凝集体濃度を上回ったので、丸底フラスコを切り離して流動反応装置の単独運転を開始した。流動反応装置による単独

運転中の連続発酵試験結果を第 7 図に示す。流出水の pH は 3.3 ~ 3.6 で安定していた。連続運転中は、反応部で発生する二酸化炭素気泡の働きで上昇流がツねに発生して流動状態となり、反応部の単位容積当たりのエタノール生産速度は 25 gEthanol/(l · h) 強をほぼ維持した。この数値は EU の Fermatec Project の目標値⁽¹⁰⁾と同等である。

本研究と同様に凝集性の酵母を用いてエタノールの高速生産を達成した例を第 5 表に示す。Kuriyama ら⁽¹¹⁾、Kida ら⁽¹²⁾はそれぞれ底部からのガス曝気機構を備えた 1 l 以下のタワー型反応器と、越流した酵母を反応部へ返送する沈殿部を組み合わせ、反応部のエタノール生産速度 35, 25 gEthanol/(l · h) をそれぞれ達成している。

しかし、この方式は装置の大型化によって反応器の塔頂が高くなった際に、曝気用ガスを底部の水圧同等以上に加圧しなければならず、設備や電力費用の増大につながる。反応部全体をインペラなどで強制攪拌する方法⁽¹³⁾も考えられるが、装置を大型化すれば攪拌動力が増大することに加え、第 4 図、第 5 図で示した攪拌子による破碎よりもさらに強いせん断力で凝集体が細分化される可能性がある



第 7 図 流動反応装置による連続発酵試験結果
Fig. 7 Continuous fermentation in fluidized bed reactor

表 5 表 凝集性酵母を使ったエタノール生産方式の比較

Table 5 Fermentation parameters for ethanol production by flocculent yeast

生産方式	反応部の容積 (l)	<i>S. cerevisiae</i> 株番号	原料中の糖の種類	反応温度 (°C)	エタノール生産速度 (gEthanol/(l · h))	エタノール収率 (gEthanol/gSugar)	文献番号
縦型 2 塔直列, 沈殿部による酵母返送, 上流 1 塔を底部から曝気	0.45	IR-2	黒砂糖	32.5	35	0.46	(11)
縦型, 沈殿部による酵母返送, 底部から曝気	0.23	HA-2	糖蜜	30	25	0.42	(12)
縦型, 沈殿部による酵母返送, 底部から曝気	1.8	NCYC 1119	グルコース スクロース	30	16	0.47	(4)
インペラによる攪拌	6.0	KF-2	糖蜜	30	6.6	0.44	(13)
本研究 (流動方式)	8.6	NBRC 1953	グルコース	30	25	0.44	-

る。凝集体が過度に細粒化すれば沈殿部で十分回収できずに反応部の凝集体保持量が減少し、反応部の単位容積当たりのエタノール生産速度が低下する。本研究で使用した流動反応装置は、流動状態を維持するための外部動力が不要であり、凝集体が過度に破碎される攪拌機もないことから、本技術が今後のバイオエタノール工業化において有効な手法となると考えられる。

流動状態の維持が重要であることを確かめるため、環流管に設置された開閉弁を連続安定運転中に閉じて経過を観察した結果、1分程度で反応部の上昇流が停止し、流動していた凝集体が反応部の底部へ沈積した。その後さらに2分ほど経過後、沈積した凝集体同士の間で発酵ガスが原因と考えられる気相部が形成されて、凝集体の多くが浮力によって沈殿部下部の傘に圧密して閉そくが発生した。再び環流管の開閉弁を開くと、傘部の凝集体は徐々に分散して安定運転を続行することができた。以上の観察結果から、流動状態を保つことで凝集体が反応部全体に分散して、原料との接触が促進され、狭管部での閉そくを回避することができると考えられた。

反応部における凝集体の粒子径は、反応部の外側から CCD カメラを用いて概略寸法を把握したところ、つねに約 1.5 mm 以下であった。この粒子径の範囲においてスクロースに対する反応速度低下が発生しないことは第 6 図で示したとおりである。また、連続エタノール発酵原料の主成分であるグルコースは第 2 図の回分反応におけるスクロースと比べて分子量が小さく拡散性に優れるといえる。これらのことから、流動反応装置の反応部においても、凝集体の肥大化に起因する反応速度の低下は発生しないものと推定された。

反応部の単位凝集体当たりのエタノール生産速度は、流出水のエタノール濃度が約 43 g/l、反応部の水理的滞留時間が約 1.6 時間、凝集体濃度が連続運転中で最も低い 60 g/l の場合、約 0.4 gEthanol / (gBiomass · h) と計算される。この値は、第 6 図の回分反応における 1 時間経過時の単位凝集体当たりのエタノール生産量である約 0.4 gEthanol / gBiomass と同等である。流動反応装置の凝集体濃度 (60 g/l 以上) は、第 6 図の回分反応における凝集体濃度 (5 ~ 8 g/l) と比べて約 8 倍以上高濃度であるにもかかわらず、単位凝集体量当たりの反応速度が同等であった。このことから、流動反応装置の反応部は混合不良などによる性能低下が発生せず、回転振盪培養や攪拌子による攪拌培養と同様に原料と効率良く接触していること

が推定された。

反応部における凝集体の濃度が 60 ~ 90 g/l の範囲を推移した際に、単位容積当たりのエタノール生産速度は 25 gEthanol / (l · h) と一定であった。この生産速度を達成するために、凝集体の濃度は 60 g/l あれば十分であったので、凝集体の濃度 90 g/l を安定して維持できれば、本装置によるエタノール生産速度をさらに高速化できる可能性がある。

4. 結 言

植物由来の糖液からバイオエタノールを高速生産することを目的として、酵母 (*S. cerevisiae*) の凝集体の反応特性を把握したうえで、この凝集体の発酵ガスで装置内を攪拌・流動する反応装置を用い、1 か月の連続発酵を行った。試験の結果、以下のことが明らかになった。

- (1) 凝集体の平均粒子径が 0.5 ~ 1.5 mm の範囲において、単位凝集体量当たりのエタノール生産速度は凝集体の大きさにかかわらず一定であった。
- (2) 流動反応装置による連続発酵の結果、反応部のエタノール生産速度は約 25 g / (l · h) 以上で安定運転を達成した。この安定運転には、反応部の上昇流によって凝集体の流動状態を維持することが重要と考えられた。また凝集体の粒子径は約 1.5 mm 以下となり、凝集体粒子が大きいことによる反応速度の低下は発生しないと考えられた。
- (3) 反応部のエタノール生産速度 25 gEthanol / (l · h) を達成するために必要な凝集体濃度は 60 g/l 程度であった。これよりも凝集体濃度が高い状態では、反応部においてさらに速いエタノール生産速度を達成できる可能性がある。

参 考 文 献

- (1) C. M. S. G. Baptista, J. M. A. C6ias, A. C. M. Oliveira, N. M. C. Oliveira, J. M. S. Rocha, M. J. Dempsey, K. C. Lannigan and P. S. Benson : Natural immobilisation of microorganisms for continuous ethanol production Enzyme and Microbial Technology Vol. 40 (2006) pp. 127 - 131
- (2) Y. Liu, A. Kondo, H. Ohkawa, N. Shiota and H. Fukuda : Bioconversion using immobilized recombinant flocculent yeast cells carrying a fused enzyme gene in an 'intelligent' bioreactor Biochemical Engineering

- Journal Vol. 2 (1998) pp. 229 – 235
- (3) Y. Kourkoutas, A. Bekatorou, I. M. Banat, R. Marchant and A. A. Koutinas : Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production, a review Food Microbiology Vol. 21 (2004) pp. 377 – 397
- (4) S. T. Jones, R. A. Korus, W. Admassu and R. C. Heimsch : Ethanol Fermentation in a Continuous Tower Fermentor Biotechnology and Bioengineering Vol. 26 (1984) pp. 742 – 747
- (5) H. F. Castro, S. C. Oliveira and S. A. Furlan : Alternative Approach for Utilization of Pentose Stream from Sugarcane Bagasse by an Induced Flocculent *Pichia stipitis* Applied Biochemistry and Biotechnology Vol. 105 – 108 (2003) pp. 547 – 555
- (6) M. C. M. Loosdrecht, D. Eikelboom, A. Gjaltema, A. Mulder, L. Tijhuis and J. J. Heijnen : Biofilm Structures Water science and technology Vol. 32 No. 8 (1995) pp. 35 – 43
- (7) S. H. J. Vellinga, P. J. M. Hack and A. J. van der Voigt : New type “ high rate ” anaerobic reactor first experience on semi-technical scale with a revolutionary and high loaded anaerobic system NVA water treatment conference AQUATECH ' 86 (1986) pp. 547 – 562
- (8) Y. Li and Y. Liu : Diffusion of substrate and oxygen in anaerobic granule Biochemical Engineering Journal Vol. 27 (2005) pp. 45 – 52
- (9) J. E. Hodge and B. T. Hofreiter : Method in Carbohydrate Chemistry Vol. 1 (1962) p. 338
- (10) European Commission : European Bio-Energy Projects 1999-2002 ISBN 92-894-4831-8 (2003) pp. 182 – 183
- (11) H. Kuriyama, Y. Seiko, T. Murakami, H. Kobayashi and Y. Sonoda : Continuous Ethanol Fermentation with Cell Recycling using Flocculating Yeast Journal of Fermentation Technology Vol. 63 No. 2 (1985) pp. 159 – 165
- (12) K. Kida, M. Yamadaki, S. Asano, T. Nakata and Y. Sonoda : The Effect of Aeration on Stability of Continuous Ethanol Fermentation by Flocculating Yeast Journal of Fermentation and Bioengineering Vol. 68 No. 2 (1989) pp. 107 – 111
- (13) Y. Tang, M. An, Y. Zhong, M. Shigeru, X. Wu and K. Kida : Continuous ethanol fermentation from non-sulfuric acid-washed molasses using traditional stirred tank reactors and the flocculating yeast strain KF-7 Journal of Bioscience and Bioengineering Vol. 109 No. 1 (2010) pp. 41 – 46