

熱帯性環境微生物による省エネ高温発酵技術

実施予定期間：平成 22 年度～平成 24 年度

代表機関：山口大学医学系研究科(農学系)

代表者：山田 守

国内参画機関：九州大学大学院農学研究院

代表者：酒井 謙二

国外参画機関：Agricultural Research Development Agency (ARDA)

Kasetsart University (KU)

Khon Kaen University (KKU)

Prince of Songkla University (PSU)

Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR)

代表者：(ARDA)：Dr. Napavarn Noparatnaraporn

(KU)：Dr. Savitree Limtong

(KKU)：Dr. Vichai Leelavatcharamas

(PSU)：Dr. Poonsuk Prasertsan

(TISTR)：Ms. Chantra Phoonsiri

I. 概要

高温発酵は、冷却エネルギーの削減、発酵時間の短縮、雑菌混入の抑制、施設や稼働の簡素化など生産コストを大幅に削減できる次世代の発酵技術となる。本課題では、タイ国の強い要請により長年の同国との拠点事業から分離した中高温微生物を用いて、タイに豊富にあるバイオマスからのバイオ燃料やバイオプラスチック素材の生産、さらに食品素材である酢酸の生産のための基礎研究と実証試験を実施する。

1. 共同研究の内容

a. 相手国・地域における課題のニーズと社会への適用

本課題では、タイ国との十数年に及ぶ国際拠点事業から獲得した耐熱性(中高温)微生物を活用し、次世代の高温発酵技術を実用化のための実証試験レベルまでに発展させることを目的とする。我国の発酵産業は長年世界をリードしてきたが、人件費や材料費の高騰から付加価値の低い発酵産物の生産拠点を海外に移しつつあり、全体的に衰退傾向にある。一方、人類全体の課題となっている地球温暖化は深刻さを増し、あらゆる企業に二酸化炭素排出抑制が求められている。本課題で開発しようとする技術は、設備費、人件費、生産費などの大幅な削減を可能にする次世代技術であり、日本だけでなく発酵産業の脆弱なタイなどの熱帯性気候にある国においても広く利用できるものである。また、本技術は、発酵生産における低消費エネルギー化を可能にし、ひいては二酸化炭素排出量の削減にも貢献できるものと期待される。発酵産業は日本だけでも 10 兆円以上の市場があり、この技術による二酸化炭素排出削減効果も高いと思われる。

本課題は、タイ国の強い要請により、タイに豊富に存在するバイオマスを原料とし、タイから分離された中高温微生物による高温発酵技術であることから、両国によって開発される技術であり、両国にとってメリットとなる国際共同研究である。

b. 研究内容・手法

山口大学を拠点大学とした日-タイ拠点大学交流事業

「耐熱性微生物資源の開発と利用」(JSPS から支援、

1998-2007) とアジア研究教育拠点事業「微生物の潜在能力開発と次世代発酵技術の構築」(JSPS とタイ国家研究評議会 (NRCT) から支援、2008-2012) を実施し、熱帯性環境に棲息する有用な中高温発酵微生物の開発を進めている。中高温微生物の開発は世界で初めての試みであり、発酵産業への応用だけでなくその生物学的位置づけや地理的分布を明らかにすることも重要な研究課題である。

本課題において目的とする発酵生産物は、代替燃料のバイオエタノールやバイオガス、食品素材である酢酸、およびバイオプラスチック素材である L-乳酸であり、3 年間で高温発酵に必要な基礎研究を行うと同時に、高温でのパイロット試験を実施し、この技術の有効性や有用性を検証する。パイロット試験およびそのための予備試験研究等は、タイにある様々なバイオマスを用いて主にタイの研究者によってタイで実施される。一方、使用する発酵微生物の高温発酵のための最適化(育種など)や基礎的な条件検討あるいは詳細な解析は日本で主に日本の研究者によって実施される。

※中高温微生物の位置づけ

「好熱菌」・「超好熱菌」とは進化系統的に異なり、その常温菌の中から適応進化的に派生した同属・同種の常温菌より、10-15℃より高温で生育する能力をもつ。

c. 我が国を中心とした科学技術コミュニティの構築と技術の普及・国際標準の創出の可能性

発酵産業は、酒、みそ、醤油など古来から広く営まれてきたが、現在では嗜好品や食品素材だけでなく、医薬品の生産や化学品の素材、さらにはバイオエタノールなどの代替燃料や排水処理に至るまで、幅広い産業となっている。本研究課題は、発酵生産における省エネ化や生産コスト削減を可能にする技術を確認することを目的とする。日-タイ拠点大学交流事業はタイ(参加研究者約 150 人)と、アジア研究教育拠点事業はタイ、ベトナム、ラオス(参加研究者約 80 人)との共同研究のための研究者交流事業である。本研究課題はそれら事業の重要な到達目標の 1 つであり、本事業の展開によってこの国際共同研究をさらに発展できると考えている。

発酵微生物が高温に弱いことから、一般に発酵行程は 30 度以下で行われている。本課題技術によって、高温条件下での発酵が可能となり、発酵産業を日本だけでなく東南アジア等の気温の高い地域にも広めることができる。また、この技術の普及は地球環境問題解決にも貢献できると期待される。

d. 本研究の波及効果

発酵は、冷却設備を含め膨大な冷却コストがかかる。また、巨大なタンクでの温度管理は高度な専門技術が必要であるが、それでも運転毎の成功率は 8 割程度であり生産性を下げているといわれている。本課題の高温発酵技術は、このようなコストの削減や生産性の向上を可能にするだけでなく、発酵前の糖化過程においても糖化反応の迅速化や糖化酵素の低量化、さらに、高温発酵によって雑菌の混入が抑制され、温度調整を含め生産管理が容易となる。特に、現在切望されている安価なバイオエタノール等の生産をこの技術は可能にすると期待される。このように、多くの点においてコスト削減や操作の簡易化が見込まれことから、従来の発酵技術に代わる革

新的な技術となると思われる。

2. ネットワーク構築の実現可能性

a. 本提案に関連する国外参画機関との交流実績

山口大学が拠点大学として、日-タイ拠点大学交流事業「耐熱性微生物資源の開発と利用」とそれに続くアジア研究教育拠点事業「微生物の潜在能力開発と次世代発酵技術の構築」をタイ、ベトナム、ラオスの研究者と展開し、熱帯・亜熱帯地域に棲息する有用な耐熱性（中高温）発酵微生物の開発を進めている。このなかで、本研究グループ内あるいはグループ間で交流を深め、共同研究を進めてきた。TISTR の研究者も同拠点事業に参加している。

b. (ネットワーク構築のための) 直近の準備状況

本事業に関して、農業研究開発局 (ARDA) や NRCT とは平成 22 年 1 月から相談を開始し、ARDA からタイ側の研究経費支援を NRCT からアカデミックな活動支援を受けることが決定している。また、既にタイの企業 2 社が参加することが決定している。平成 22 年 3 月 3 日にタイのグループ代表者を含めた打ち合わせ会議をカセサート大学で開催した。本事業の呼称を MEXT-ARDA プロジェクトとして、平成 22 年 7 月 26 日に第 1 回 MEXT-ARDA 日本側会議 (タイ側代表者と TISTR 代表者が参加)、平成 22 年 9 月 16 日に第 1 回 MEXT-ARDA タイ側会議 (日本側代表者が参加)、平成 22 年 11 月 19 日に研究関係者による第 1 回 MEXT-ARDA 合同会議を実施し、平成 22 年 12 月末までには本事業の協定締結が完了する予定である。

3. 本制度により取組を支援する必要性

高温発酵技術は、従来の技術からかけ離れており実用化レベルにするためには、多くの基礎研究が必要であり、さらにその基礎研究に基づいて実際に使用する原料を使った予備試験研究が必要となる。これらの研究は、実用化試験実施のために必要で、高額な費用がかかる実用化試験 (セミパイロットあるいはパイロット試験) の回数を減らし、成功に導くために不可欠なものであり現時点では、産業界主導で行うレベルに至っていないため、高温発酵技術を実用化するためには本制度の支援が必要である。

また、本事業代表者は、アジア研究教育拠点事業「微生物の潜在能力開発と次世代発酵技術の構築」と若手研究者交流支援事業「東南アジアの若手研究者との熱帯性環境微生物資源の共同開発」(2009-2010; JSPS) を実施している。しかし、両事業では、研究支援はない。また、本事業代表者は、「耐熱性発酵微生物の「耐熱性」分子機構の解明と発酵産業への利用」(2006-2010; 生研センター) と「耐熱性酵母における低コスト化エタノール発酵に関する研究開発」(2007-2010; NEDO) の分担者である。前者では耐熱性の分子機構の基礎的解析を中心にすすめている。一方、後者はバイオエタノール生産のための基礎研究であるが、その研究対象は耐熱性酵母だけではなく、一般的に使用されている酵母 (サッカロミセス) 等も含まれる。また、これらの事業はタイとの国際共同研究ではなく、タイの種々のバイオマスをを用いるものではないことから、その開発技術は限られたものである。

4. 継続性

拠点事業では多種類の有用物質生産菌の基礎研究をすすめて、より優良な菌株や新規な有用微生物の開発のためにタイだけでなくベトナムやラオスなどその周辺諸国

との国際共同研究として発展するように努めており、今後さらに拡大する計画である。本技術は、安価なバイオエタノールやバイオプラスチックを供給するものと期待されることから、実証試験後は直ちにその技術を民間企業に移譲し、日本並びにタイからの新たな技術として世界に広めて行きたい。

5. 相手国・地域との政府レベルでの協力関係の強化・構築への発展性

a. 当該研究計画に関する相手国政府の関心

タイ政府機関のいくつかが本研究課題の支援や研究開発に加わるようになる。その中心は ARDA であり、また、NRCT も本事業に強い関心を寄せている。一方、TISTR は本研究課題の実用化試験を担当する。

b. 政府レベルでの協力関係への展開構想

本事業がどれだけ政府レベルでの協力関係へ影響するか推し量ることは困難であるが、高温発酵技術によって有用物質を安価に生産でき、利用可能なバイオマスが広がれば、その利用は格段に拡大すると思われる。日本においてもこの技術は革新的なものとして広がっていくと思われる。この技術の評価によっては、微生物資源や技術の利用に関して国際的協力関係が必要となる可能性がある。

6. 生命倫理・安全面への配慮について

本研究課題は該当しない。

7. 研究実施体制

a. 役割分担

日本 山口大学 (代表者: 山田 守)

分 担: バイオエタノール、酢酸、バイオガスの高温発酵実用試験のための基礎研究

研 究 費: MEXT および山口大学からの支援

人 材: バイオエタノール発酵研究従事者: 山田守、星田尚司、高坂智之

酢酸発酵研究従事者: 松下一信、薬師寿治

バイオガス発酵研究従事者: 樋口隆哉

日本 九州大学 (代表者: 酒井謙二)

分 担: バイオプラスチック素材となる L-乳酸の高温発酵実用試験のための基礎研究

研 究 費: MEXT からの支援

人 材: L-乳酸発酵研究従事者: 酒井謙二

タイ国 カセサート大学 (代表者: Savitree Limtong)

分担研究: タイにある種々のバイオマスをを用いた予備試験研究

研 究 費: ARDA からの支援

人 材: タイ側の副コーディネータ:

Savitree Limtong

バイオエタノール発酵研究従事者:

Savitree Limtong,

Wichien Yongmanitchai

酢酸発酵研究従事者: Gunjana Theeragool,

Wilawan Sintuprapa

バイオガス発酵研究従事者:

Prapaipid Chairattanamokorn

L-乳酸発酵研究従事者:

Vichien Kitpreechavanich,

タイ国 コンケン大学

(代表者: Vichai Leelavatcharamas)

分担研究: タイにある種々のバイオマスをを用いた予備試験研究

研 究 費: ARDA からの支援

人 材：バイオエタノール発酵研究従事者：
Pornthap Thanonkeo,
Kaewta Sootsuwan
酢酸発酵研究従事者：Wichai Soemphol
バイオガス発酵研究従事者：
Alissara Reungsang
L-乳酸発酵研究従事者：
Vichai Leelavatcharamas,
Pattana Laopaiboon,
Mallika Boonmee,
Saowanit Tongpim

タイ国 ソンクラ王子大学
(代表者：Poonsuk Prasertsan)

分担研究：タイにある種々のバイオマスをを用いた予備試験研究

研 究 費：ARDA からの支援

人 材：バイオエタノール発酵研究従事者：
Aran Hunpongkittikun
バイオガス発酵研究従事者：
Poonsuk Prasertsan,
Sumate Chaiprapat,
Piyarat Boonsawang

タイ TISTR (代表者：Chantra Phoonsiri)

分担研究：タイにある種々のバイオマスをを用いた実証試験研究

研 究 費：ARDA からの支援

人 材：実証試験研究：Chantra Phoonsiri,
Somporn Moonmangmee

b. 責任体制等

コーディネータ：山田守（山口大学）と Napavarn Noparatnaraporn (ARDA)

副コーディネータ：松下一信（山口大学）と Savitree Limtong（カセサート大学）

基礎研究と予備試験研究

(1) バイオエタノール発酵酵母研究グループ

日本側代表者：山田守、タイ側代表者：

Savitree Limtong

(2) バイオエタノール発酵ザイモナス菌研究グループ

日本側代表者：山田守、タイ側代表者：

Pornthap Thanonkeo

(3) 酢酸発酵研究グループ

日本側代表者：松下一信、タイ側代表者：

Gunjana Theeragool

(4) バイオガス発酵研究グループ

日本側代表者：樋口隆哉、タイ側代表者：

Poonsuk Prasertsan

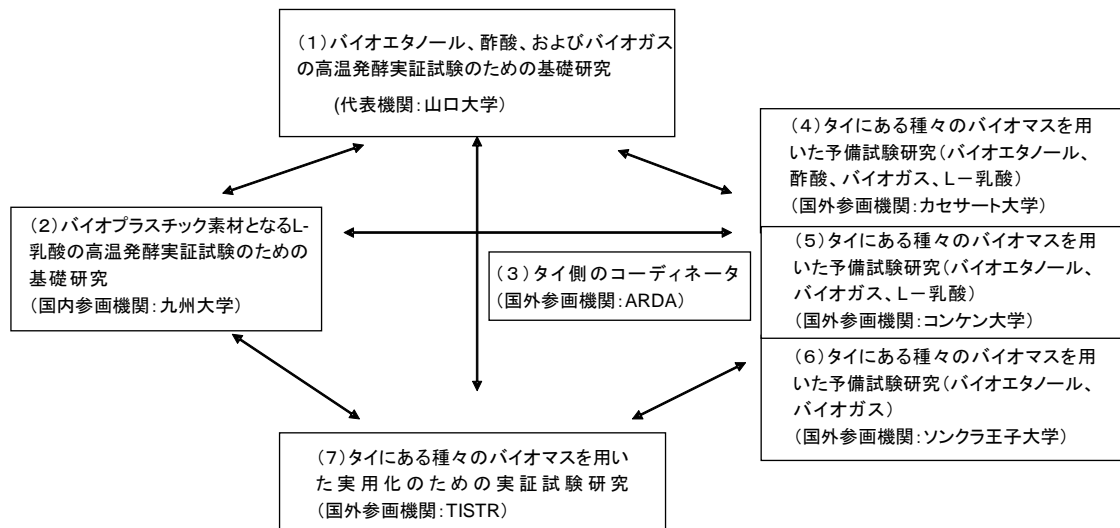
(5) L-乳酸発酵研究グループ

日本側代表者：酒井謙二、タイ側代表者：

Vichai Leelavatcharamas

実証試験研究

代表者：Chantra Phoonsiri



氏名	所属部局・職名	提案課題における役割
◎山田 守	山口大学大学院医学系（農）	研究代表者、日本側コーディネータ 高温エタノール発酵系の開発
○松下一信	山口大学農学部	日本側副コーディネータ 高温酢酸発酵系の開発
○樋口隆哉	山口大学大学院理工学（工）	高温バイオガス発酵系の開発
星田尚司	山口大学大学院医学系（工）	高温エタノール発酵酵母系の開発
薬師寿治	山口大学大学院医学系（農）	高温酢酸発酵系の開発
高坂智之	山口大学農学部	高温エタノール発酵ザイモ系の開発
○酒井謙二	九州大学大学院農学研究院	高温L-乳酸発酵系の開発
○Savitree Limtong	カセサート大学	タイ側副コーディネータ 高温エタノール発酵酵母系の開発

GunjanaTheeragool	カセサート大学	高温酢酸発酵系の開発
○Vichai eelavatcharamas	コンケン大学	高温L乳酸発酵系の開発
○Poonsuk Prasertsan	ソククラ王子大学	高温バイオガス発酵系の開発
◎Napavarn Noparatnaraporn	ARDA	タイ側コーディネータ
○Chantra Phoonsiri	TISTR	実証試験研究

8. 各年度の計画と実績

a. 平成 22 年度・実績

山口大学：バイオエタノール、酢酸およびバイオガスの高温発酵実証試験のための基礎研究

(1) [エタノール高温発酵研究]

(a) 分離済みの耐熱性酵母および耐熱性細菌の能力比較、ゲノム解析と耐熱性機構の解析：複数の分離株について、高温での生育およびエタノール生産能を比較した。耐熱性酵母および耐熱性細菌のゲノム解析を開始した。

(b) 発酵コスト削減のためのエタノール—有用タンパク質同時生産系の開発：耐熱性酵母 *K. marxianus* の誘導的高発現タンパク質の発現機構の解析をすすめるとともに、モデルタンパク質で同様の誘導的発現が可能なることを明らかにした。

(c) 低コストおよび運転成功率向上のための非温度制御発酵の検討：小スケールの非温度制御発酵条件検討を行った。

(d) 疑似バイオマス培地での遺伝子発現解析とラボスケール高温発酵試験：蔗糖蜜を材料とした発酵で問題となる塩類存在下での耐熱性酵母の増殖と発酵能力試験を実施した。また、発酵関連遺伝子発現解析系の構築を進めた。

(2) [酢酸高温発酵研究]

(a) これまで獲得した耐熱性酢酸菌の発酵能力等の比較：高温酢酸発酵が可能ないくつかの耐熱性酢酸菌が得られ、中でも *A. pasteurianus* SKU1108 株と *A. pasteurianus* MSU10 株が 37°C で、それぞれ 5% および 6% ethanol までの発酵が可能であることが示された。

(b) 耐熱性酢酸菌から得られた高温感受性変異株の「耐熱性遺伝子」および耐熱性酢酸菌から得られた高温適応変異株の「適応的変異遺伝子」の解析：高温感受性変異株から「耐熱性遺伝子」を特定し、それらの機能予測および「耐熱性」への関与を *in vitro* で確認した。高温適応変異株のドラフトゲノム解析を行い、それぞれの変異部位を明らかにした。

(c) 高温酢酸発酵適応変異株を用いた高温酢酸発酵系の解析と開発：高温適応株を用いて 40-40.5°C での酢酸発酵を可能にした。

(d) 耐熱性酢酸菌によるタイ米からの食酢生産：米酢生産の基礎研究として、*A. pasteurianus* SKU1108 株の 39°C で 4% エタノールへの適応株を別途育種し、TI や TH-3 株とは異なる高温での高酸度生成能を獲得した株を得た。

(3) [バイオガス高温発酵研究]

(a) 既存の分離菌を用いた発酵生産能力の比較検討：これまでにタイ南部の温泉地域で分離された高温発酵菌等の既存の分離菌を用いて温度や pH 等環境条件を変化させて実験を行い、それらのデータから発酵生産能力を比較・検討し、最適条件を把握した。

(b) 高温バイオガス発酵菌の生育条件およびバイオガス生産条件の検討：上記の分離菌を用いて、生育条件を把握するための実験、続いてバイオガス生産の最適条件の把握のための実験を行い、それらのデータからバイオガス生産条件を検討した。

(c) 混合培養系高温バイオガス発酵菌の生育生産条件の検討：「混合培養系」によるプロセス開発を並行して進めるために、既存の実スケール高温メタン発酵槽（本年は下水処理場の嫌気性消化槽）から高温発酵菌を採取し、それらについて上記 1)、2) と同様の実験的検討を行った。

(4) 九州大学：バイオプラスチック素材となる L-乳酸の高温発酵実証試験のための基礎研究

(a) 耐熱性乳酸菌の探索：50 あるいは 55°C で L-乳酸発酵を行う新奇耐熱性細菌を複数分離した。

(b) 木質糖発酵の最適化：分離した 1 菌株は比較的高い木質糖発酵性を有しており、ヘテロ乳酸発酵経路ではなくホモ乳酸発酵に近い代謝経路を用いていることを示した。

(c) 非殺菌複合菌系による乳酸発酵の検討：複数菌種の耐熱性乳酸生産菌の発酵挙動を検討し、酸素供給条件を変えた場合の酸生成に及ぼす影響が異なること、それらの複合化が新規なプロセスの構築に有利に働く可能性を示した。

(5) カセサート大学、ソククラ王子大学：種々のバイオマスをを用いた予備試験研究および実証試験研究

(a) ARDA からの支援計画に基づいてカセサート大学とソククラ王子大学でそれぞれバイオエタノール発酵生産とバイオガス発酵生産の予備試験研究を開始した。

(b) その他のタイの大学でも関連研究を開始した。

b. 平成 23 年度・計画

山口大学：バイオエタノール、酢酸およびバイオガスの高温発酵実証試験のための基礎研究、予備試験および実証試験の支援基礎研究

(1) [エタノール高温発酵研究]

(a) ゲノム解析と耐熱性機構の解析：ゲノム解析を継続し、耐熱性機構に関する情報を抽出する。耐熱性細菌については非耐熱性菌を含む複数のドラフトゲノム解析を進める。

(b) 発酵コスト削減のためのエタノール—有用タンパク質同時生産系の開発：耐熱性酵母の高発現機構を利用した組換えタンパク質の高発現系を構築し、発酵条件に適した発現系への改良のための解析を進める。

(c) 非温度制御発酵の検討と高温適応変異株の分離：ラボスケールでの非温度制御発酵条件の検討を継続する。高温で生育およびエタノール生産が高い適応変異株を分離する。

(d) 疑似バイオマス培地での遺伝子発現解析とラボスケール高温発酵試験：発酵阻害物質存在下での耐熱性酵母の発酵関連遺伝子等の発現解析を行う。

(2) [酢酸高温発酵研究]

(a) これまで獲得した耐熱性酢酸菌の発酵能力等の比較：耐熱性酢酸菌単独での発酵能力の解析を終了し、新たな耐熱性株の分離を進めるとともに、耐熱性アルコール生成細菌との共培養についての検討を開始する。

(b) 耐熱性酢酸菌から得られた高温感受性変異株の「耐熱性遺伝子」および耐熱性酢酸菌から得られた高温適応変異株の「適応的変異遺伝子」の解析：「耐熱性遺伝子」の機能と耐熱性との関係を生理学的に明らかにする。「適応的変異遺伝子」の役割を遺伝子破壊および過剰発現によって

確認する。

(c) 高温酢酸発酵適応変異株を用いた高温酢酸発酵系の解析と開発: 高温適応変異株による酢酸発酵培養条件の検討、ファーメンターによる高温発酵および非温度制御発酵の最適化試験を行う。

(3) [バイオガス高温発酵研究]

分離菌を用いた純菌系および混合培養系での大量培養条件の検討を実施する。

(a) 大量培養技術に関する基礎実験の実施(純菌系): 昨年度の結果を踏まえて、ラボスケールファーメンターを用いて純菌系大量培養技術(培養条件、発酵生産能力等の把握)に関する基礎実験を実施する。

(b) 大量培養技術に関する基礎実験の実施(混合培養系): 昨年度に実施した混合培養系の微生物に関する培養条件等の知見を基に、ラボスケールファーメンターを用いて混合培養系大量培養技術(培養条件、発酵生産能力等の把握)に関する基礎実験を実施する。

(4) 九州大学: バイオプラスチック素材となるL-乳酸の高温発酵実証試験のための基礎研究、予備試験および実証試験の支援基礎研究

(a) 耐熱性乳酸菌の探索: 分離された耐熱性乳酸生産菌の発酵特性について検討すると共に、さらに培地条件や培養温度を広げて有望菌株を探索する。

(b) 木質糖発酵の最適化: 分離菌の高温領域における木質糖発酵を最適化すると共に、基質濃度依存性、代謝経路依存性、発現抑制、等の特性を培養実験を通して明らかにする。

(c) 非殺菌複合菌系による乳酸発酵の検討: 複数菌種の挙動について、酸素供給条件を変えた場合の酸生成に及ぼす影響を解析することで明らかにする。非殺菌複合菌系による乳酸発酵可能性をさらに具体的に探る。

(5) カセサート大学、コンケン大学、ソククラ王子大学、TISTR: 種々のバイオマスを用いた予備試験研究および実証試験研究

(a) カセサート大学ではサトウキビ絞汁を原料としてエタノール生産およびジャスミンライスを原料として食酢生産の予備試験および実証試験を実施する。

(b) コンケン大学ではサトウキビ絞汁からのハイタン(水素+メタン)生産およびソルガム絞汁からのL-乳酸生産の予備試験を実施する。

(c) ソククラ王子大学ではパームオイル生産工場廃水からのハイタン生産の予備試験および実証試験を実施する。

(d) TISTRではカセサート大学と食酢生産の共同研究を開始する。

c. 平成24年度・計画

山口大学: バイオエタノール、酢酸およびバイオガスの高温発酵実証試験のための基礎研究、予備試験および実証試験の支援基礎研究

九州大学: バイオプラスチック素材となるL-乳酸の高温発酵実証試験のための基礎研究、予備試験および実証試験の支援基礎研究

カセサート大学、コンケン大学、ソククラ王子大学、TISTR: 種々のバイオマスを用いた予備試験研究および実証試験研究

9. 年次計画

研究項目	1年度目	2年度目	3年度目
(1) バイオエタノール、酢酸およびバイオガスの高温発酵実証試験のための基礎研究 (代表機関: 山口大学)	← 基礎研究	← 予備試験および実証試験の支援基礎研究	→ 実証試験の支援基礎研究 ← 取りまとめ
(2) バイオプラスチック素材となるL-乳酸の高温発酵実証試験のための基礎研究 (国内参画機関: 九州大学)	← 基礎研究	← 予備試験および実証試験の支援基礎研究	→ 実証試験の支援基礎研究
(3) タイにある種々のバイオマスを用いた予備および実証試験研究 (ARDAによる経費支援) (国外参画機関: カセサート大学)	← 予備試験研究および実証試験研究	← 予備試験研究および実証試験研究	→ 実証試験研究
(国外参画機関: コンケン大学)	← 予備試験研究および実証試験研究	← 予備試験研究および実証試験研究	→ 実証試験研究
(国外参画機関: ソククラ王子大学)	← 予備試験研究および実証試験研究	← 予備試験研究および実証試験研究	→ 実証試験研究
タイにある種々のバイオマスを用いた実証試験研究 (ARDAによる経費支援) (国外参画機関: TISTR)	← 予備試験研究および実証試験研究	← 予備試験研究および実証試験研究	→ 実証試験研究