

研究課題名＝ 木質系バイオエタノール製造のためのコンバージミル連続粉砕技術開発
研究番号＝ K2025, K2181, K22061

国庫補助金精算所要額（円）＝ 48,696,000 円

研究期間＝ 2008～2010

代表研究者名＝ 二階堂満（一関工業高等専門学校）

共同研究者名＝ 戸谷一英（一関工業高等専門学校）、福村卓也（一関工業高等専門学校）、
長田光正（一関工業高等専門学校）、猪股尚治（㈱アーステクニカ）

研究目的＝

木質原料の糖化・発酵によるバイオエタノール製造において、環境負荷の少ないセルラーゼ酵素を用いた酵素糖化法に大きな期待が寄せられている。しかし、この酵素糖化法では、木質バイオマス原料そのままでは反応性が極めて悪い。効率よく酵素糖化を行うためには前処理技術開発が極めて重要である。我々は、コンバージミルという高効率粉砕機を開発、木質原料を短時間メカノケミカル粉砕（機械的粉砕）し、木質原料を微粒子化・非晶質化することで酵素糖化特性が大幅に向上することを見出した。

また、従来、メカノケミカル粉砕の大型化・連続化には多くの困難が指摘されていたが、コンバージミルは連続化を可能とする。本研究は、コンバージミルによる原料のメカノケミカル粉砕と酵素糖化特性との関連性を詳細に検討、最適粉砕条件を見出し、量産性（経済性）を評価しながらバイオエタノール製造のためのコンバージミル連続粉砕システムの開発を行う。

研究方法＝

各種木質バイオマス試料（杉大鋸屑、なら、竹、稲わら等）を原料とし、コンバージミルを用いてメカノケミカル粉砕し、その後、セルラーゼ酵素を用いて糖化处理を行う。本研究では、①コンバージミルを用いたメカノケミカル粉砕条件の検討、②酵素糖化技術の最適化、③量産化に対応するためのコンバージミル連続粉砕装置の開発を実施する。

①（メカノケミカル粉砕条件の検討と粉砕物の評価）

原料として、様々な木質バイオマス試料（杉大鋸屑、なら、竹、稲わら等）について、まずは1L 小型コンバージミルで粉砕条件の検討を行う。粉砕条件としては、原料充填率、媒体ボール充填率、粉砕時間、回転数、添加剤（硫酸、酢酸、アルコールなど）添加などを検討する。また、高効率粉砕化のために、コンバージミル粉砕と他の粉砕機の併用による乾式複合前処理粉砕を検討する。さらに、様々な木質原料についてメカノケミカル粉砕による原料のナノレベルでの構造変化をXRD測定、IR測定、固体NMR測定により評価する。これらの粉体物性評価と②での酵素糖化性データとの相関性を定量的に把握し、酵素糖化特性におよぼす粉砕効果（メカノケミカル効果）を明らかにする。

② (酵素糖化技術)

各種セルラーゼを用いて酵素反応を行い、生成した糖濃度の分析を HPLC 法 (グルコースやその他の生成糖の分析)、DNS 法 (還元糖量) で行う。酵素条件として、酵素の種類、酵素量、反応時間、pH、温度などを検討する。また、通常のセルラーゼ酵素への β -グルコシダーゼの添加についても検討する。

③ (連続粉碎処理システムの開発)

粉碎機メーカーとの共同作業でコンバージミル連続碎装置を設計・開発する。内容積は 9L (6L+3L) とする。糖化率 80% 以上、粉末処理量 10kg/day、エタノール製造単価 60~100 円/L (研究 3 年目に 60 円/L に変更) (粉碎工程) を目標とする。

結果と考察＝

各種木質原料において、まずは 1L コンバージミル (図 1) で粉碎条件を検討する。粉碎時間は従来の粉碎機 (転動ミル) の約 1/10 となり、小径ボール (4~6mm) 使用、媒体ボール充填率大では粉碎時間 20~30 分で糖化率が 80% 以上となる (図 2~図 5)。特に、ハードバイオマス試料で粉碎効果が大となる (図 6)。メカノケミカル粉碎により、セルロース構造の分子内・分子間の水素結合が切断され、酵素が侵入しやすくなるものと推定する (図 9、図 10)。通常のセルラーゼ酵素に β -グルコシダーゼを添加するとグルコース生成量は大きく増加する (図 13、図 14)。ハンマーミル前処理 (1 分間) を併用するとコンバージミル粉碎時間を大きく短縮できる (図 15、図 16)。最終的に 6 L 連続式コンバージミルを開発し、粉碎時間 10 分、糖化率 80% 以上、処理量 10kg/day、エタノール製造単価 98 円/L を達成する (図 17~図 19)。

結論＝

木質系バイオエタノール製造のためのコンバージミル連続粉碎技術開発について実施し、以下の結論を得た。

- ① コンバージミルは特にハードバイオマス (杉、ナラ、竹) のメカノケミカル粉碎に効力を発揮し、酵素糖化特性が飛躍的に向上した。
- ② ハンマーミル前処理 (1 分間) を併用すると、コンバージミル粉碎時間を大きく短縮できた。
- ③ コンバージミル粉碎物の酵素糖化により、C6 糖類だけでなく C5 糖類も生成し、また、セロビオース (2 糖) の生成量も多いことがわかった。セルラーゼ酵素に β -グルコシダーゼを添加するとグルコース生成量が大きく増加した。
- ④ メカノケミカル粉碎により、セルロース構造の分子内・分子間の水素結合が切断され、酵素が侵入しやすくなったものと推定できた。
- ⑤ 6L コンバージミル連続粉碎装置を開発し、粉碎時間 10 分、糖化率 80% 以上、粉末処理量 10kg/day、エタノール製造単価 98 円/L を達成できた。

英語概要

Subject of research = Development of Converge Mill Continuous Grinding Technology for Bioethanol Production from Woody Biomass

Chief researcher = Mitsuru Nikaido (Ichinoseki National College of Technology)

Joint researchers = Kazuhide Totani (Ichinoseki National College of Technology), Takuya Fukumura (Ichinoseki National College of Technology), Mitsumasa Osada (Ichinoseki National College of Technology), Syoji Inomata (Earthtechnica Co., Ltd.)

Abstract=

The enzymatic saccharification is inefficient as a method of cellulosic bioethanol production. A wood biomass material, if raw and unprocessed, shows very low enzyme reactivity. For efficient enzymatic saccharification, it is of critical importance to establish a reliable preprocessing technique. The present study took particular note of the efficient mechanochemical milling of wood raw materials, and a variety of different woody samples (hard biomass) were used as raw materials, which finally led to the development of the converge mill capable of continuous operation. The findings were as follows: (1) One-minute preliminary hammer milling, followed by as short as only 10-minute continuous operation of the 6-liter converge mill, could achieve 80% or higher saccharification and 10 kg per day raw material processing capacity. (2) A small amount of beta-glucosidase added to cellulase enzymes significantly increased the glucose production rate. (3) The instrumental analysis (solid NMR and IR) of the milled products suggested that converge milling caused weakened hydrogen bonds in cellulose microfibrils and thus crystalline structure destruction.

Key Words = Woody biomass, Bioethanol, Grinding, Mechano-chemical effect, Enzymatic saccharification

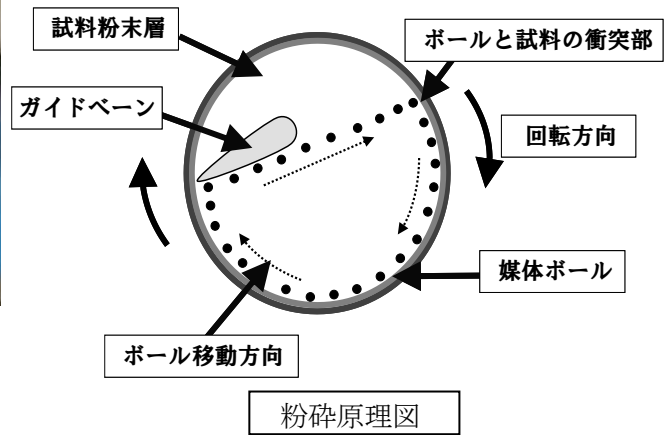
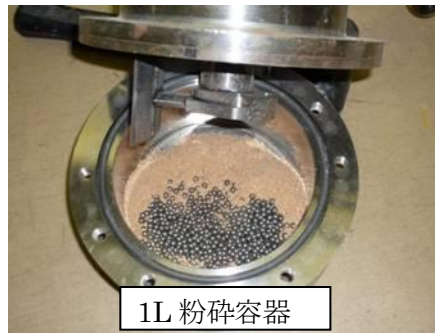


図1 1L バッチ式コンバージミルの外観および粉碎原理図

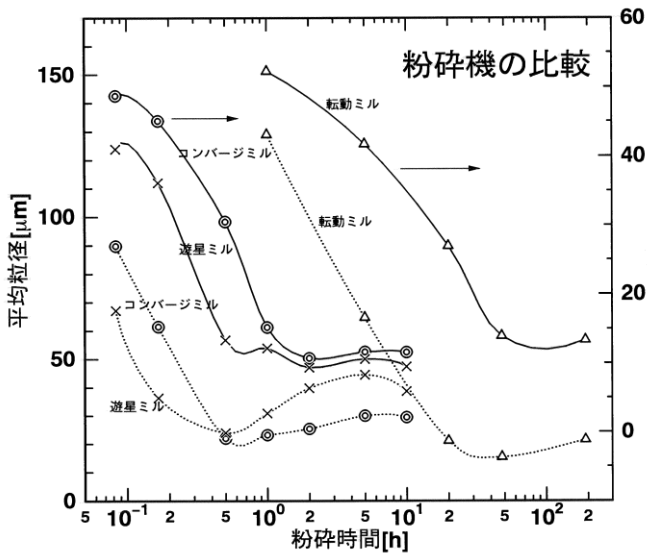


図2 粉碎時間と平均粒径および結晶化度との関係

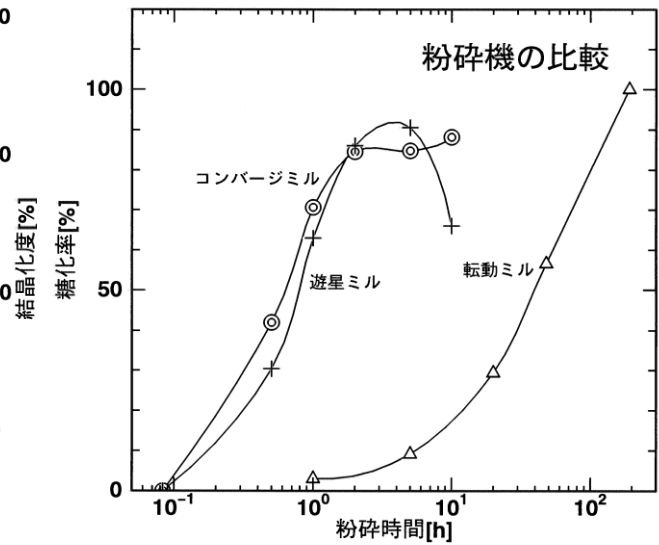


図3 粉碎時間と糖化率との関係

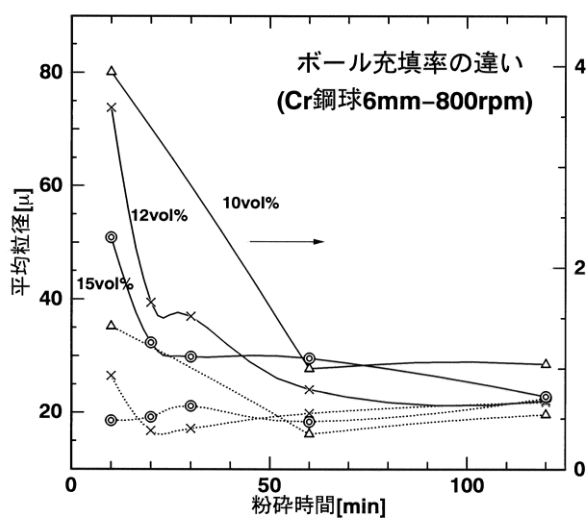


図4 粉砕時間と平均粒子径および結晶化度との関係

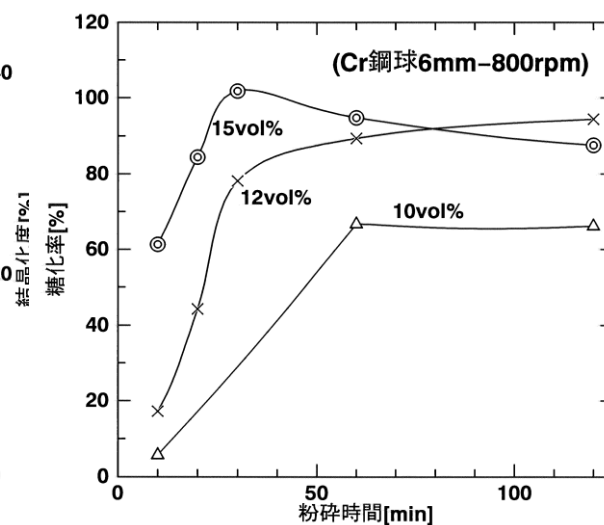


図5 粉砕時間と糖化率との関係

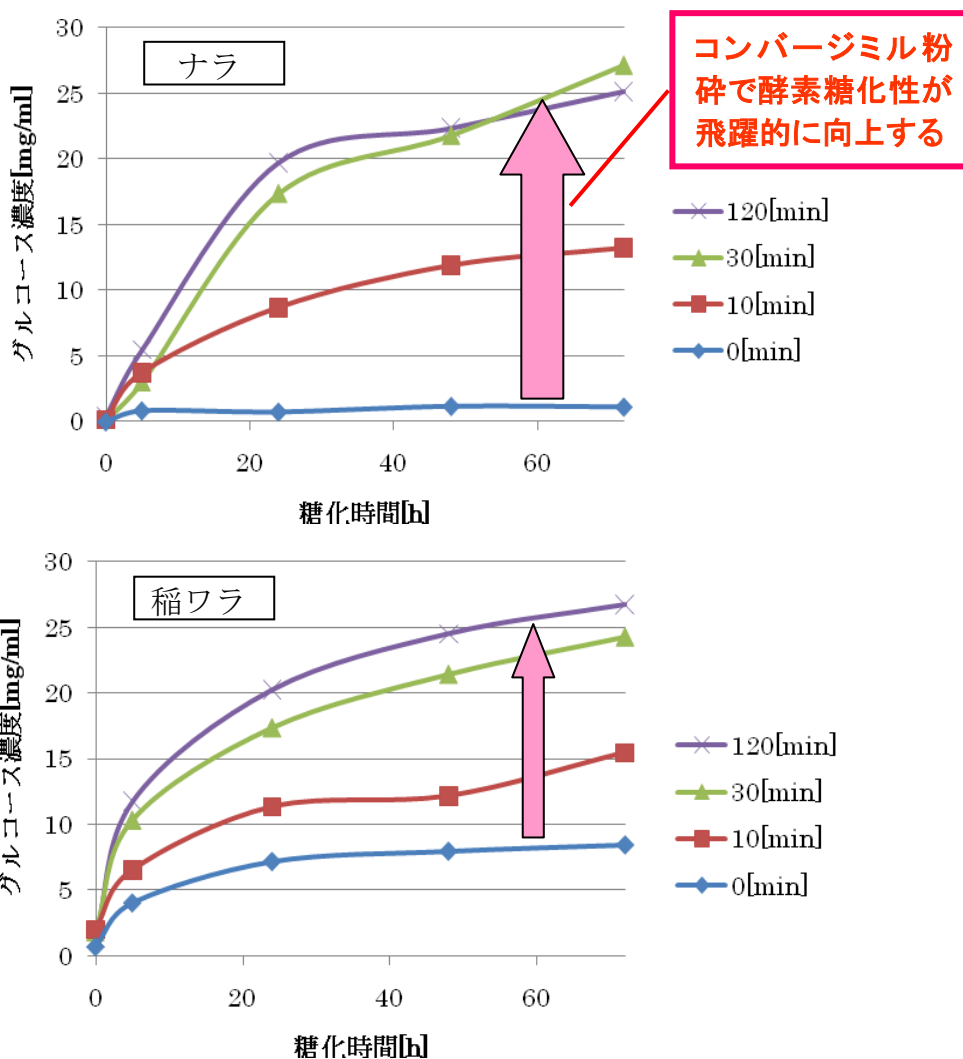


図6 各種木質原料をコンバージミル粉砕したときの、糖化時間とグルコース濃度との関係

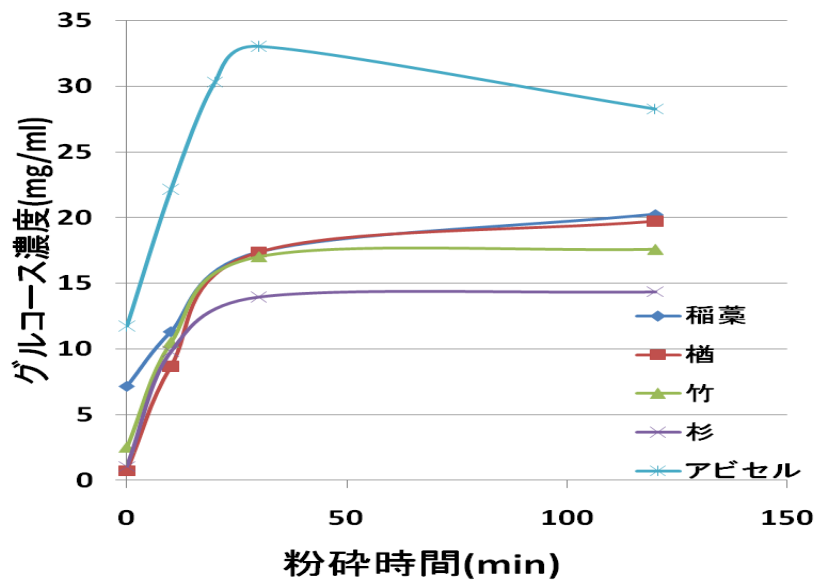


図7 コンバージミル粉砕時間と生成グルコース濃度との関係（糖化時間:24h）

- ソフトバイオマス（稲ワラ）およびアビセル →粉砕 0min でもある程度糖化する。コンバージミル粉砕で糖化特性が向上する。
- ハードバイオマス（杉、ナラ、竹）→粉砕 0min では糖化しない。コンバージミル粉砕で糖化特性が飛躍的に向上する。

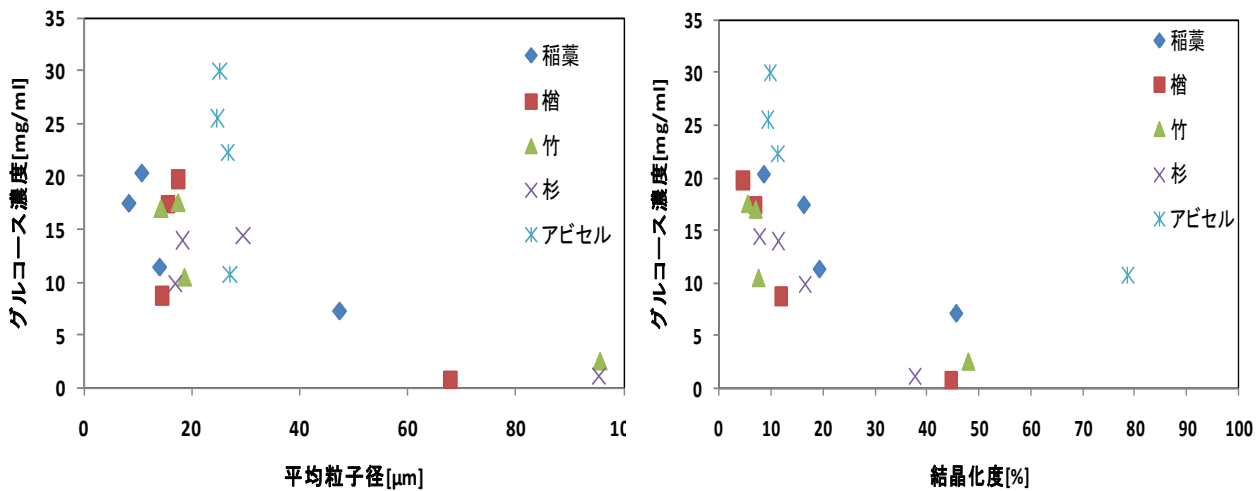


図8 コンバージミル粉砕の粉体物性（粒子径、結晶化度）と生成グルコース濃度との関係

酵素糖化特性と相関があるのは、粉砕物の平均粒子径より結晶化度である。

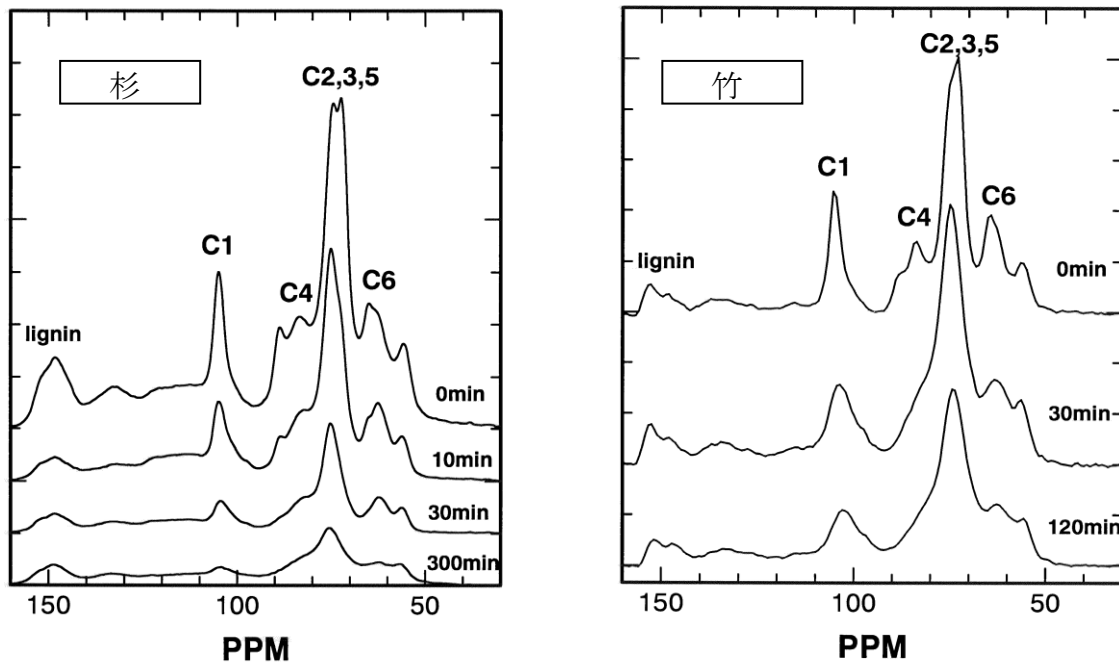
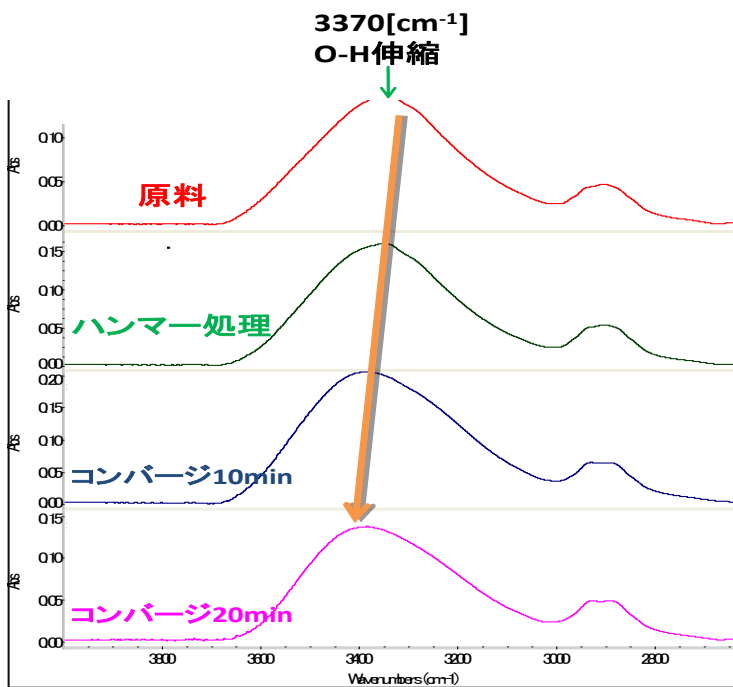


図9 コンバージミル粉砕産物の固体 NMR スペクトル

C4, C6 位に注目。結晶質由来のシグナル強度は減少し、非晶質由来のシグナル強度は増加する。



O-H 伸縮振動 (3370cm⁻¹ 付近) の吸収ピークが、コンバージミル粉砕で高波数側にシフトする。

図10 杉コンバージミル粉砕産物の IR スペクトル

木質原料のコンバージミル粉砕でセルロース構造の分子内・分子間の水素結合が切断され、結晶構造破壊が進行している。酵素が侵入しやすくなることが示唆される。

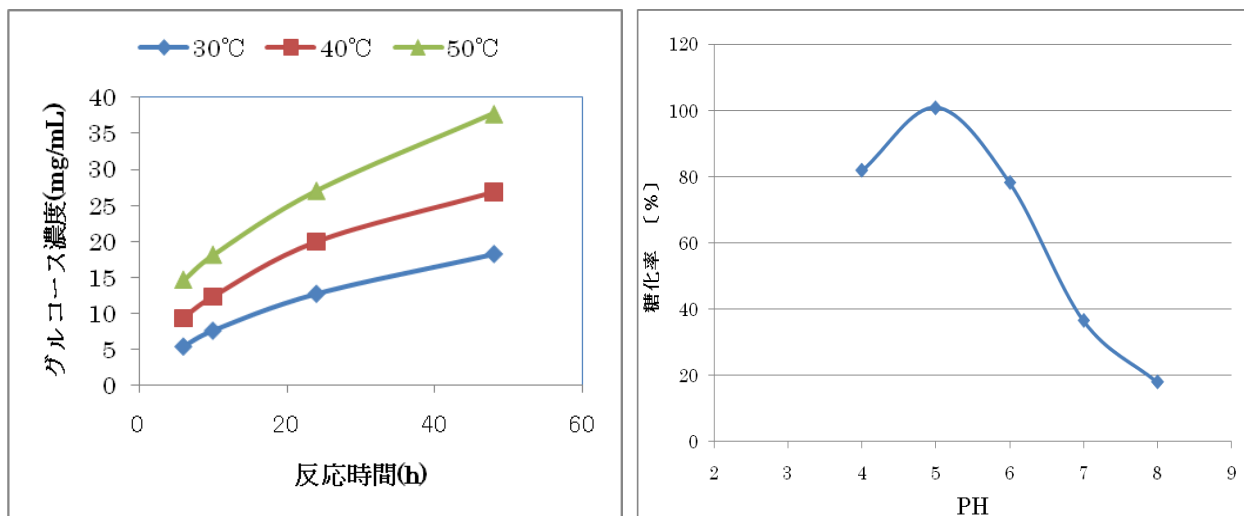


図11 酵素糖化条件の検討

最適酵素糖化条件： pH=5、 温度 50℃ となる。(杉大鋸屑の場合)

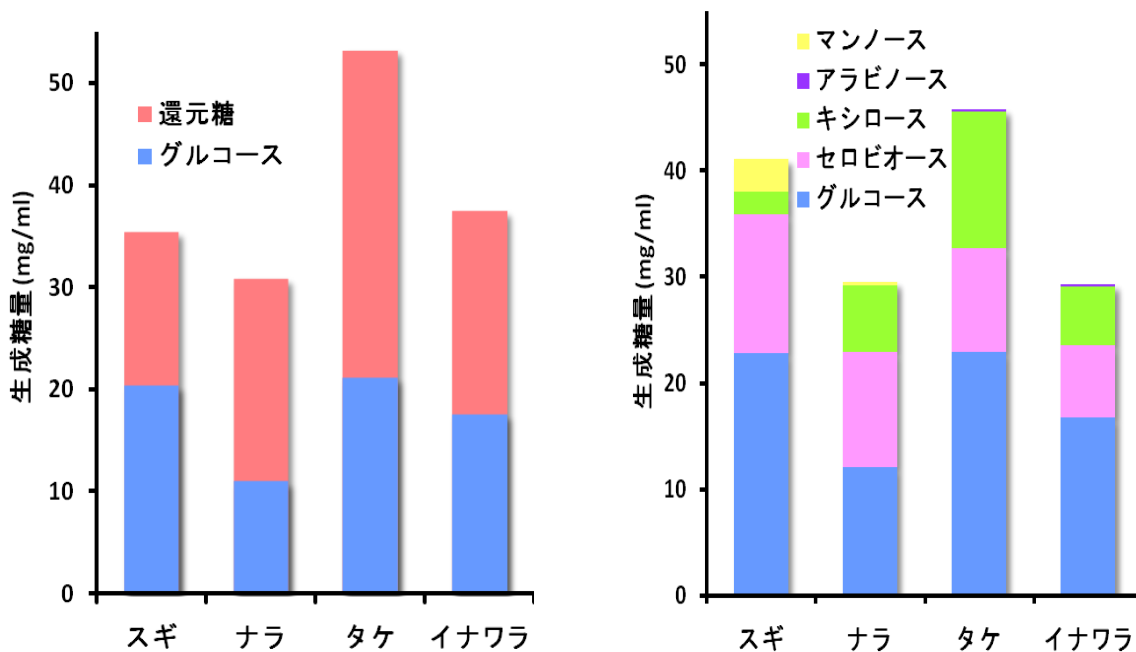


図12 様々な木質原料における生成糖の分析

コンバージミル粉砕し酵素糖化を行うと、C6 糖類だけではなく、C5 糖類も生成していることがわかる。また、2糖 (セロビオース) の生成量も多いことがわかる。

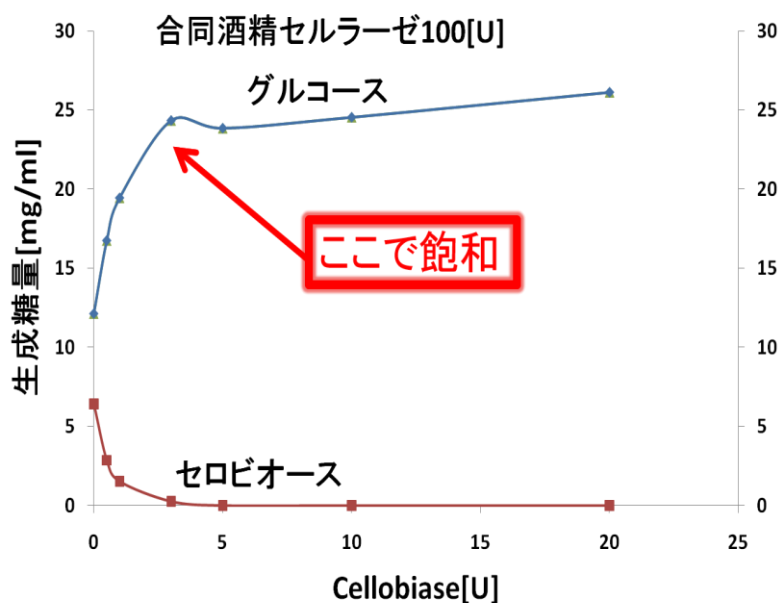


図13 β -グルコシダーゼ添加量と生成糖濃度の関係

通常のセルラーゼ酵素に β -グルコシダーゼを添加していくと、セロビオース（2糖）は減少し、グルコース（単糖）は大きく増加する。

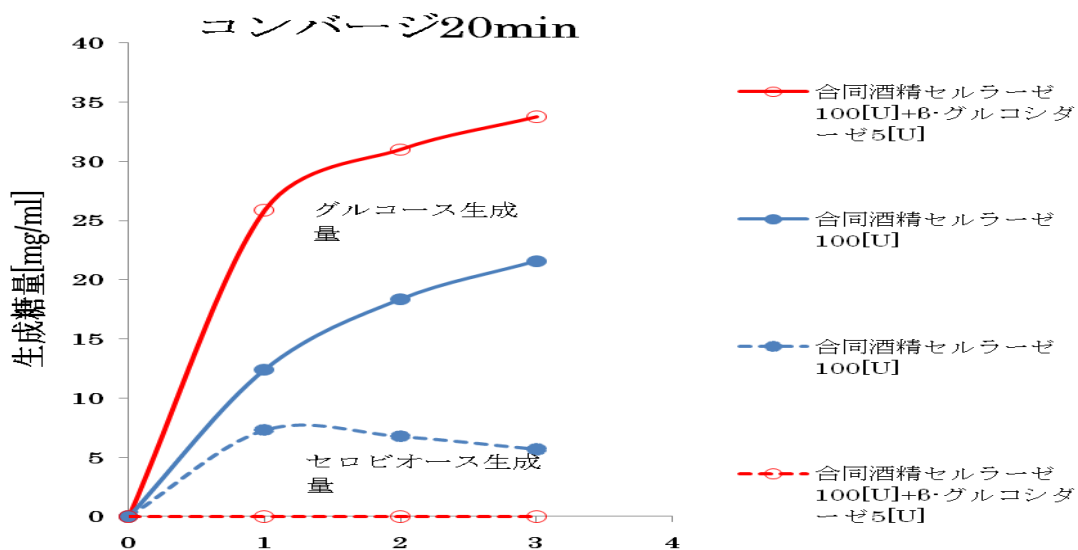


図14 糖化時間と生成糖量の関係（コンバージミル 20min 粉碎物）

セルラーゼ酵素(100U)に β -グルコシダーゼ(5U)を少量添加すると、セロビオース（2糖）は生成せず、グルコース（単糖）は大きく増加する。

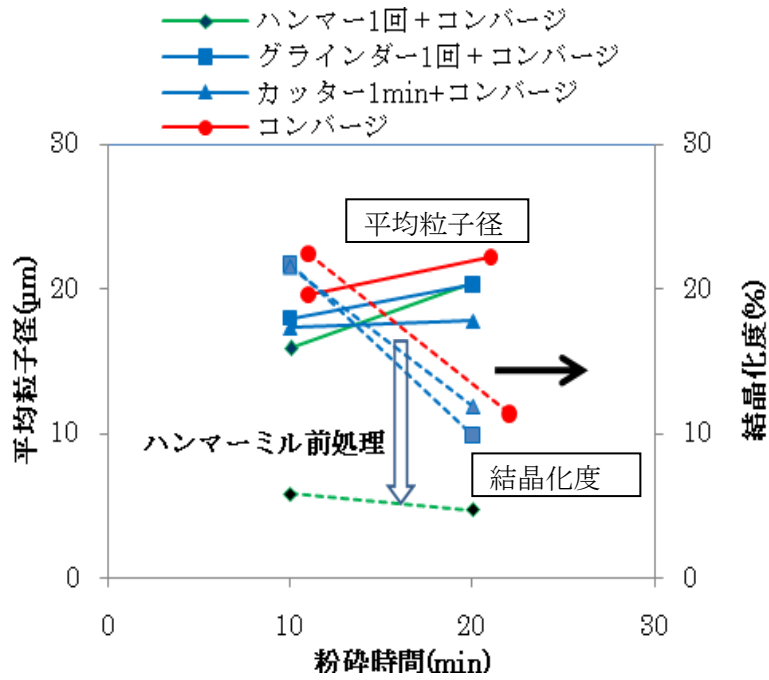


図15 (前処理粉碎+コンバージミル粉碎)での平均粒子径と結晶化度の変化

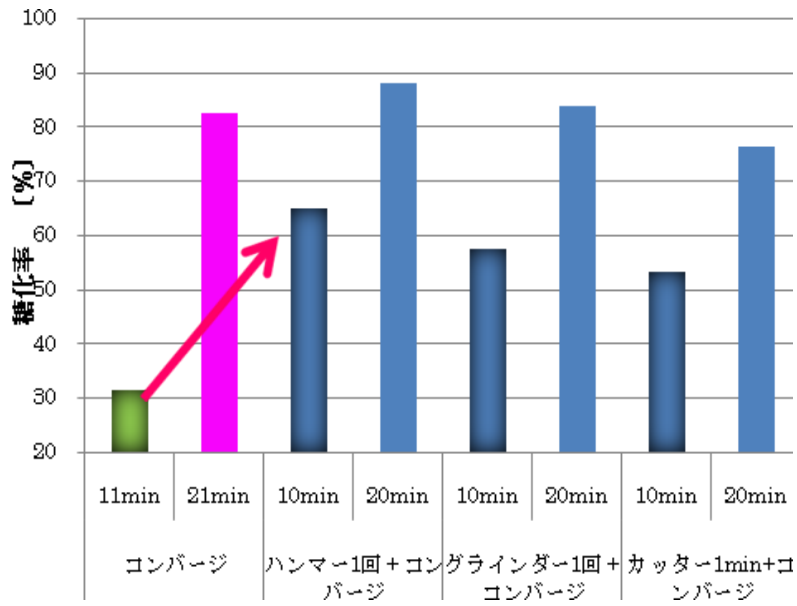


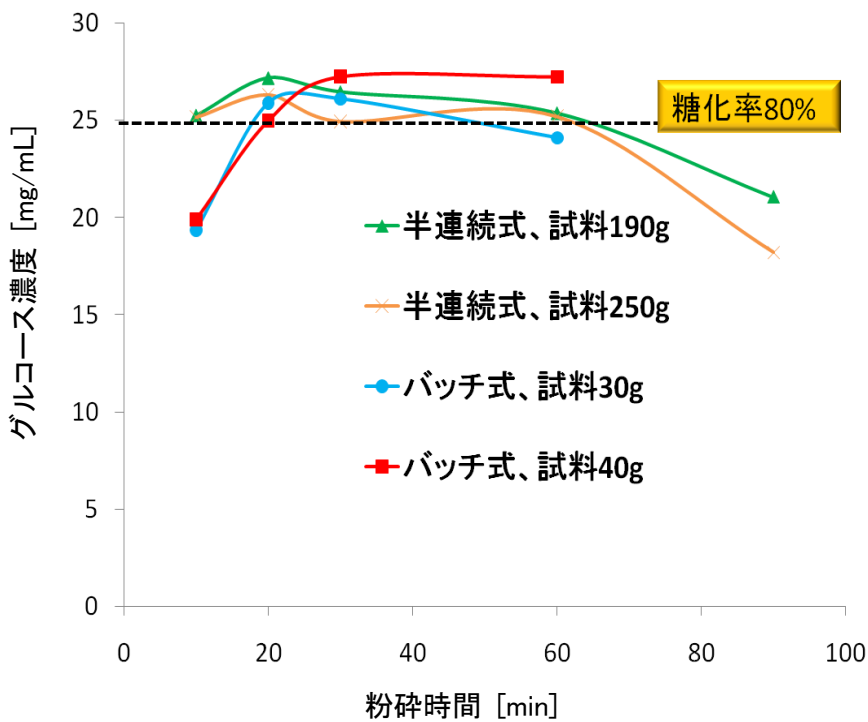
図16 (前処理粉碎+コンバージミル粉碎)での糖化率の変化

予め、ハンマーミルで微粒子化(約 $60\mu\text{m}$ 程度)すると、その後のコンバージミルの粉碎エネルギーは主に非晶質化に寄与する。前処理粉碎(ハンマーミル処理1分)とコンバージミル粉碎の組み合わせを行うことにより、コンバージミル粉碎10~20分間で糖化率がほぼ80%を達成できる。



- コンバージミル連続粉碎装置
(内容積6L+3L)
- 処理量の目標値：糖化率80%以上、
処理量10kg/day、
エタノール製造単価
60円~100円/L

図17 コンバージミル連続粉碎装置(内容積6L+3L)



木質原料：
杉大鋸屑をハンマーミルで
処理(1分間)したもの

図18 粉碎時間とグルコース濃度との関係(6L連続装置と1Lバッチ式との比較)

○6L連続式コンバージミルでは、10分間粉碎で糖化率80%以上を達成する。

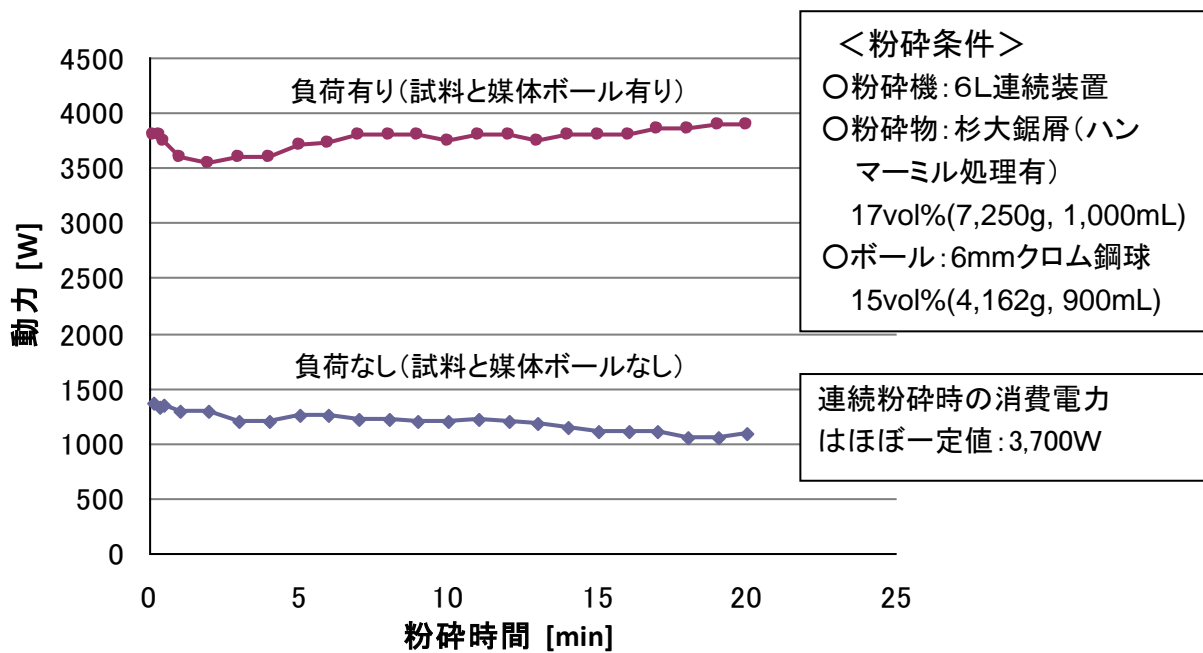


図19 粉砕時間と動力の関係 (6L連続装置)

- 前提: 1 ton の木質原料 → 300L の EtOH を製造可能
- 電気料金: 12 円/kWh

- 1 L バッチ式コンバージミル
 試料: 大鋸屑 30 g
 消費電力: 450W × 30 min
 動力原単位: 7,500 kWh/ton
 製造コスト (粉砕工程): 360 円/L

- 6L 連続式コンバージミル
 試料: 大鋸屑 250 g (ハンマーミル処理)
 消費電力: 3,700W × 10 min
 動力原単位: 2,467 kWh/ton
 製造コスト (粉砕工程): 98 円/L

- 1L バッチ式コンバージミルの製造コスト (粉砕工程) は、360 円/L となる。
- 6 L 連続式コンバージミルの製造コスト (粉砕工程) は、98 円/L となる。