

JAERI - M
89-053

セルロース廃資源糖化試験装置による研究(V)
——もみがらの連続糖化——

1989年5月

笠井 昇・玉田 正男・熊倉 稔

JAERI-M レポートは、日本原子力研究所が不定期に公刊している研究報告書です。
入手の間合わせは、日本原子力研究所技術情報部情報資料課（〒319-11 茨城県那珂郡東海村）あて、お申しこしください。なお、このほかに財団法人原子力弘済会資料センター（〒319-11 茨城県那珂郡東海村日本原子力研究所内）で複写による実費頒布をおこなっております。

JAERI-M reports are issued irregularly.

Inquiries about availability of the reports should be addressed to Information Division
Department of Technical Information, Japan Atomic Energy Research Institute, Tokai-
mura, Naka-gun, Ibaraki-ken 319-11, Japan.

©Japan Atomic Energy Research Institute, 1989

編集兼発行 日本原子力研究所
印刷 榎高野高速印刷

セルロース廃資源糖化試験装置による研究(V)

—もみがらの連続糖化—

日本原子力研究所高崎研究所開発部

笠井 昇・玉田 正男・熊倉 稔

(1989年4月13日受理)

本報告は、セルロース廃資源糖化試験装置の一つのユニットプロセスである糖化装置を用いて、前処理したもみがらの連続糖化方法について検討した結果をまとめたものである。本研究では、ベンチスケールでの連続糖化の問題点、対策および連続糖化により得られるグルコース濃度について調べた。フラスコスケール(100 ml)からベンチスケール(50 l)にスケールアップしても同じグルコース濃度が得られた。雑菌汚染は生成したグルコースを極端に減少させるため、糖化において大きな問題であることが明らかになった。フラスコによる糖化では、酢酸エチルを1%添加することにより汚染を防止できた。しかし、ベンチスケールによる連続糖化では、酢酸エチルの添加だけでは防止できず、窒素雰囲気中で糖化することにより防止できることがわかった。最長26日間の連続糖化を行った結果、グルコース濃度1.7%の糖化液が安定して、連続的に得られることがわかった。また、連続糖化においてグルコースの生産性向上のために、適正な滞留時間の設定が重要であることが示唆された。

Study on Saccharification of Cellulosic Wastes
with Bench Scale Test Plant (V)
- Continuous Saccharification of Chaff -

Noboru KASAI, Masao TAMADA and Minoru KUMAKURA

Department of Development
Takasaki Radiation Chemistry Research Establishment
Japan Atomic Energy Research Institute
Watanuki-cho, Takasaki-shi, Gunma-ken

(Received April 13, 1989)

This report completed the results that were obtained on the studies of continuous saccharification of radiation pretreated chaff with a saccharification equipment unit of bench scale test plant for cellulosic wastes. The problem on the continuous saccharification in bench scale and its countermeasure were clarified. The glucose concentration obtained in the continuous saccharification was examined from the point of a scale up effect. It was found that there are not a scale up effect between flask scale (100 ml) and bench scale (50 l) and then the same concentration of glucose was obtained in both scales. It was clarified that the contamination of the process let decrease markedly the concentration of produced glucose solution and brings on a large trouble for the saccharification. The addition of 1% ethyl acetate made it possible to prevent the contamination of the saccharification process in flask scale. However, in the case of continuous saccharification in bench scale, the addition of ethyl acetate in nitrogen gas atmosphere was necessary to prevent the contamination. It was found that the solution of 1.7% glucose concentration was continuously produced in the continuous saccharification with the most longest period for 26 days. It was, also, suggested that the selection of a suitable retention time is necessary to attain a high glucose productivity in the continuous saccharification.

Keywords: Cellulosic Wastes, Chaff, Continuous Saccharification, Glucose, Contamination

目 次

1. はじめに.....	1
2. 実験.....	1
2.1 試料.....	1
2.2 もみがらの前処理.....	1
2.2.1 アルカリ処理.....	2
2.2.2 放射線照射処理.....	2
2.2.3 粉碎処理.....	2
2.3 糖化.....	2
2.3.1 ベンチスケールでの糖化条件.....	2
2.3.2 フラスコスケールでの糖化条件.....	3
2.3.3 グルコースの定量.....	3
3. 結果および考察	3
3.1 回分糖化.....	3
3.1.1 糖化における反応容器の影響.....	3
3.1.2 糖化における雑菌汚染の影響.....	3
3.2 連続糖化.....	4
3.2.1 糖化用スラリーの低温貯蔵の影響.....	4
3.2.2 ベンチスケールでの連続糖化.....	4
4. まとめ.....	6
謝辞.....	6
参考文献.....	7

Contents

1. Introduction	1
2. Materials and Methods	1
2.1 Materials	1
2.2 Pretreatment	1
2.2.1 Alkali treatment	2
2.2.2 Irradiation treatment	2
2.2.3 Pulverizing treatment	2
2.3 Saccharification	2
2.3.1 Saccharification condition in bench scale	2
2.3.2 Saccharification condition in flask scale	3
2.3.3 Glucose analysis	3
3. Results and Discussion	3
3.1 Batch saccharification	3
3.1.1 Influence of reactor volume on saccharification	3
3.1.2 Influence of contamination on saccharification	3
3.2 Continuous saccharification	4
3.2.1 Influence of storage of the slurry at low temperature on saccharification	4
3.2.2 Continuous saccharification in bench scale	4
4. Summary	6
Acknowledgement	6
References	7

1. は じ め に

石油の代替エネルギーとしてバイオマスからのエネルギー生産が注目を浴びて久しい。バイオマス資源の中でも、セルロース廃資源（もみがら、バガス、廃木材など）は大量に産出するにもかかわらず、あまり利用されていない。これらの廃資源に含まれるセルロースを糖化（加水分解）してグルコースに変換した後、醗酵させてアルコールに変える技術の確立は、エネルギー確保の面で重要である。酵素によるセルロース廃資源の糖化では、前処理に要するコストと酵素を生産するコストが非常に高く、全糖化コストの約80%にも達するとの報告がある¹⁾。このため、セルロース廃資源の糖化においては、低コストで有効な前処理方法と酵素生産コストの低減化は重要な研究課題である。

我々は、ベンチスケールのセルロース廃資源糖化試験装置により、セルロース廃資源の糖化醗酵への放射線利用技術の開発を行っている。本装置により、年産約330万トン副生されるにもかかわらず過半数以上が廃棄・焼却されているもみがら²⁾の前処理方法^{3),4)}および酵素（セルラーゼ）の産生菌であるトリコデルマ菌（*Trichoderma reesei*）の培養方法^{5),6)}について検討してきた。その結果、アルカリ処理－放射線照射処理－粉碎処理を組み合わせた前処理でもみがらから高いグルコース濃度の糖化液が得られることや、トリコデルマ菌の固定化培養で酵素活性が1.5－2.0のGPA⁷⁾を示す酵素液が得られることが明らかになった。セルロース廃資源からのアルコール生産の実用化においては、酵素産生菌の固定化連続培養により得られた酵素水溶液（培養液）を用い、前処理した廃資源を連続的に糖化してグルコースを得る連続糖化プロセスの確立が糖化コストの低減化の面から重要な課題と考えられる。

本報告は、ベンチスケールのセルロース廃資源糖化試験装置の1つのユニットプロセスである糖化装置を用いて、前処理したもみを連続的に酵素により糖化してグルコースに変換する連続糖化方法について検討した結果を記述したものである。なお、ベンチスケールでの連続糖化の問題点、対策および連続糖化により得られるグルコース濃度について調べるため市販の酵素を用いて実験を行った。

2. 実 験

2.1 試料

群馬県玉村町のライスセンターから入手した半割れ状のもみがらを使用した。

2.2 もみがらの前処理

もみがらはセルロース、ヘミセルロース、リグニン、ケイ素化合物などが強固に結合した複合

1. は じ め に

石油の代替エネルギーとしてバイオマスからのエネルギー生産が注目を浴びて久しい。バイオマス資源の中でも、セルロース廃資源（もみがら、バガス、廃木材など）は大量に産出するにもかかわらず、あまり利用されていない。これらの廃資源に含まれるセルロースを糖化（加水分解）してグルコースに変換した後、醗酵させてアルコールに変える技術の確立は、エネルギー確保の面で重要である。酵素によるセルロース廃資源の糖化では、前処理に要するコストと酵素を生産するコストが非常に高く、全糖化コストの約80%にも達するとの報告がある¹⁾。このため、セルロース廃資源の糖化においては、低コストで有効な前処理方法と酵素生産コストの低減化は重要な研究課題である。

我々は、ベンチスケールのセルロース廃資源糖化試験装置により、セルロース廃資源の糖化醗酵への放射線利用技術の開発を行っている。本装置により、年産約330万トン副生されるにもかかわらず過半数以上が廃棄・焼却されているもみがら²⁾の前処理方法^{3),4)}および酵素（セルラーゼ）の産生菌であるトリコデルマ菌（*Trichoderma reesei*）の培養方法^{5),6)}について検討してきた。その結果、アルカリ処理－放射線照射処理－粉碎処理を組み合わせた前処理でもみがらから高いグルコース濃度の糖化液が得られることや、トリコデルマ菌の固定化培養で酵素活性が1.5－2.0のGPA⁷⁾を示す酵素液が得られることが明らかになった。セルロース廃資源からのアルコール生産の実用化においては、酵素産生菌の固定化連続培養により得られた酵素水溶液（培養液）を用い、前処理した廃資源を連続的に糖化してグルコースを得る連続糖化プロセスの確立が糖化コストの低減化の面から重要な課題と考えられる。

本報告は、ベンチスケールのセルロース廃資源糖化試験装置の1つのユニットプロセスである糖化装置を用いて、前処理したもみを連続的に酵素により糖化してグルコースに変換する連続糖化方法について検討した結果を記述したものである。なお、ベンチスケールでの連続糖化の問題点、対策および連続糖化により得られるグルコース濃度について調べるため市販の酵素を用いて実験を行った。

2. 実 験

2.1 試料

群馬県玉村町のライスセンターから入手した半割れ状のもみがらを使用した。

2.2 もみがらの前処理

もみがらはセルロース、ヘミセルロース、リグニン、ケイ素化合物などが強固に結合した複合

体であり、そのままでは酵素とセルロースの接触が悪く糖化性が低い。また、もみがらはみかけの密度が 0.11 g/cm^3 と小さく嵩高いため糖化反応の際、容器内に占める割合が大きくなり基質濃度を高められない。これらのことから、本実験の糖化用試料として、もみがらを Fig. 1 に示した手順により前処理して、糖化性を向上させるとともにみかけの密度を 0.43 g/cm^3 に高めたものを用いた。

2.2.1 アルカリ処理

もみがらを4%濃度の水酸化ナトリウム (NaOH) 水溶液に20分間浸したのち (アルカリ溶液がもみがらに浸透して全体的に茶色に変わる) 過剰なアルカリ溶液を回収した。

2.2.2 放射線照射処理

アルカリ処理したのち1時間後にもみがらをポリエチレンの袋に入れ、電子加速器 (Dynamitron IEA-300-25-2) により加速電圧2 MeV, ビーム電流5 mA, コンベアスピード 2.26 m/min (50 kGy/pass) の条件で 100 kGy 室温で照射した。

2.2.3 粉碎処理

照射したもみがらを酢酸により中和した後、水洗を行い 100°C のオーブンで乾燥した。乾燥したもみがらは衝撃式粉碎機であるニューミクロシクロマット KV-5-5 型 (躍進機械製作所製) により、 22 Kg/h の粉碎処理速度でダンパー開口度5mmの条件⁸⁾ で粉碎し、分級器により 250 mesh フルイ下 (目開き 0.063 mm の 250 mesh フルイを通過した粉碎物) を回収した。

2.3 糖化

酵素はセルラーゼ“オノズカ”3S (ヤクルト製) を使用した。本実験ではトリコデルマ菌の固定化培養により得られた酵素水溶液を用いることを想定し、酵素水溶液と同じ G P A⁷⁾ (Glucose Production Activity) を示す酵素濃度でもみがらを糖化した。Fig. 2 に酵素濃度と G P A の関係を示した。前報⁶⁾ で得られた G P A が $1.5 - 2$ のため Fig. 2 の結果から糖化時の酵素濃度は 1.3% とした。

2.3.1 ベンチスケールでの糖化条件

Fig. 3 に示した糖化槽 (内容積 50 l) に前処理したもみがら 3.5 kg , 0.1 N 酢酸緩衝溶液 ($\text{pH} 4.8$) 31.5 l , 酵素 455 g を入れ、温度 40°C , 攪拌翼の回転数 200 rpm の条件で回分糖化を行った。回分糖化を行った後、Fig. 4 のダイヤグラムに示したように貯蔵槽と糖化槽をつなぎ、連続糖化に切り換えた。連続糖化の方法は糖化槽への酵素、もみがらの自動供給が困難なため、糖化用スラリー (上記組成と同じ) を貯蔵槽で低温に保持し、所定の滞留時間になるような流量で糖化槽へ連続的に供給して糖化を行い、供給と同じ流量で糖化したスラリーを取り出した。

2.3.2 フラスコスケールでの糖化条件

連続糖化の条件などを決めるため、一部フラスコによりベンチスケールと同じ基質濃度、酵素濃度で実験を行った。100 ml の三角フラスコにもみがら 1 g、酢酸緩衝溶液 9 ml、酵素 130 mg を入れロータリーインキュベーターを使用して 40℃、80 rpm の条件で糖化を行った。

2.3.3 グルコースの定量

糖化後、スラリーの溶液中に生成したグルコースの濃度はグルコースアナライザー CGA-101 (島津製作所製) により測定した。

3. 結果および考察

3.1 回分糖化

3.1.1 糖化における反応容器の影響

フラスコスケールとベンチスケールでは酵素糖化を行う反応容器が大きく異なる。フラスコスケールとベンチスケールでの糖化性を比較するため、前処理したもみがらを 100 ml のフラスコと 50 l の糖化槽で 2.3 糖化の項で記した条件で糖化反応を行い、得られるグルコース濃度を測定した。Fig.5 に糖化時間とグルコース濃度の関係を示した。グルコース濃度は糖化開始から 1 日目まで急激に増加したのち緩やかに増加する傾向を示し、糖化槽とフラスコではほとんど同じグルコース濃度を示した。

酵素による糖化においては、攪拌が激しすぎるとせん断力により酵素が損傷を受け活性が低下する⁹⁾。しかし、糖化槽とフラスコで同じグルコース濃度を示したことから、ベンチスケールの糖化反応時の攪拌条件はフラスコスケールと同程度であると思われる。また、本実験において得られるグルコース濃度は、糖化槽とフラスコで反応容器の違い (スケールアップ) による影響がないことが明らかになった。

3.1.2 糖化における雑菌汚染の影響

酵素による糖化において、時々生成したグルコース (糖) が雑菌汚染により急激に低下する現象が見られる。Fig.6 に雑菌汚染のない糖化の結果と雑菌汚染した結果の一例を示した。このような雑菌汚染は、糖化時間が長い場合やグルコース濃度が高い場合に見られることが多い。この原因として、もみがらや糖化容器に付着した雑菌、または糖化操作時に混入した雑菌が生成したグルコースを栄養源として消費しながら増殖するため、グルコースがなくなるものと考えられる。雑菌汚染は、高いグルコース濃度の糖化液を長期間に渡り連続的に得る連続糖化において重要な問題である。このような雑菌汚染の対策として酢酸エチルの添加を検討した。

Fig.7 はフラスコで酢酸エチルを 3% まで添加して糖化を行った時の糖化時間とグルコース濃度の関係を示した。Fig.7 では雑菌汚染の影響が著しく、酢酸エチルの添加していないもの (0%) では糖化時間 1 日目で添加したものよりグルコース濃度が低く、2 日目以降さらに低下して

2.3.2 フラスコスケールでの糖化条件

連続糖化の条件などを決めるため、一部フラスコによりベンチスケールと同じ基質濃度、酵素濃度で実験を行った。100 ml の三角フラスコにもみがら 1 g、酢酸緩衝溶液 9 ml、酵素 130 mg を入れロータリーインキュベーターを使用して 40℃、80 rpm の条件で糖化を行った。

2.3.3 グルコースの定量

糖化後、スラリーの溶液中に生成したグルコースの濃度はグルコースアナライザー CGA-101 (島津製作所製) により測定した。

3. 結果および考察

3.1 回分糖化

3.1.1 糖化における反応容器の影響

フラスコスケールとベンチスケールでは酵素糖化を行う反応容器が大きく異なる。フラスコスケールとベンチスケールでの糖化性を比較するため、前処理したもみがらを 100 ml のフラスコと 50 l の糖化槽で 2.3 糖化の項で記した条件で糖化反応を行い、得られるグルコース濃度を測定した。Fig.5 に糖化時間とグルコース濃度の関係を示した。グルコース濃度は糖化開始から 1 日目まで急激に増加したのち緩やかに増加する傾向を示し、糖化槽とフラスコでほとんど同じグルコース濃度を示した。

酵素による糖化においては、攪拌が激しすぎるとせん断力により酵素が損傷を受け活性が低下する⁹⁾。しかし、糖化槽とフラスコで同じグルコース濃度を示したことから、ベンチスケールの糖化反応時の攪拌条件はフラスコスケールと同程度であると思われる。また、本実験において得られるグルコース濃度は、糖化槽とフラスコで反応容器の違い (スケールアップ) による影響がないことが明らかになった。

3.1.2 糖化における雑菌汚染の影響

酵素による糖化において、時々生成したグルコース (糖) が雑菌汚染により急激に低下する現象が見られる。Fig.6 に雑菌汚染のない糖化の結果と雑菌汚染した結果の一例を示した。このような雑菌汚染は、糖化時間が長い場合やグルコース濃度が高い場合に見られることが多い。この原因として、もみがらや糖化容器に付着した雑菌、または糖化操作時に混入した雑菌が生成したグルコースを栄養源として消費しながら増殖するため、グルコースがなくなるものと考えられる。雑菌汚染は、高いグルコース濃度の糖化液を長期間に渡り連続的に得る連続糖化において重要な問題である。このような雑菌汚染の対策として酢酸エチルの添加を検討した。

Fig.7 はフラスコで酢酸エチルを 3% まで添加して糖化を行った時の糖化時間とグルコース濃度の関係を示した。Fig.7 では雑菌汚染の影響が著しく、酢酸エチルの添加していないもの (0%) では糖化時間 1 日目で添加したものよりグルコース濃度が低く、2 日目以降さらに低下して

ほとんどグルコースがなくなった。0.5%では3日目以降グルコース濃度が極端に低下した。これに対し、1%以上添加したものでは7日間の糖化においてもグルコース濃度の低下がなく、雑菌汚染は認められなかった。なお、3%では雑菌汚染を受けないが、1%や2%に比べてグルコース濃度が低いことから糖化反応に影響をおよぼすものと思われる。

以上の結果から、酢酸エチルを1～2%添加することにより、糖化反応性を低下させずに雑菌汚染の防止が可能であることがわかった。

3.2 連続糖化

3.2.1 糖化用スラリーの低温貯蔵の影響

本実験の連続糖化は糖化用スラリー（もみがら、酵素、酢酸緩衝液）を貯蔵槽で低温に保持し、所定の滞留時間になるような流量で糖化槽へ連続的に供給して行った。糖化用スラリー中に酵素が入っているため低温貯蔵時にもみがらと反応してグルコースが生成することや低温貯蔵したスラリーが連続糖化に影響をおよぼす可能性がある。このため、貯蔵温度と生成グルコース濃度の関係および低温貯蔵したスラリーの糖化性についてフラスコスケールで調べた。

Fig.8は糖化用スラリーを5℃と10℃で保持した時の保持日数とグルコース濃度の関係を示した。この結果から、保持日数が長いほど、保持温度が高いほどグルコース濃度が高くなることがわかった。ベンチスケールでは冷却器を5℃に設定すると貯蔵槽内の糖化用スラリーの温度は2～3℃となるため、グルコース濃度は今回の5℃の結果より低いものと考えられる。

Fig.9は5℃の温度で2日間保持した糖化用スラリーを40℃の温度で糖化した時のグルコース濃度と糖化用スラリーを調製したのちすぐに糖化した時のグルコース濃度を比較して示した。5℃に保持したものを糖化するとグルコース濃度は急激に上昇する。しかし、グルコース濃度は低温に保持しないで糖化したものと同じ値を示し、糖化におよぼす低温保持の影響が認められなかった。Fig.10は糖化用スラリーの5℃での保持時間を3日間にした時の糖化時間とグルコース濃度の関係を示した。低温保持時間を長くしても低温に保持しないで糖化したものと同じグルコース濃度を示した。

以上の結果から、糖化用スラリーを低温に保持しておくでグルコースが少し生成するものの、その後の糖化には影響をおよぼさないことが明らかになった。

3.2.2 ベンチスケールでの連続糖化

連続糖化は糖化槽で回分糖化をおこなった後、貯蔵槽で5℃に保持した糖化用スラリーを所定の滞留時間になるような流量で糖化槽へ連続的に供給して糖化を行い、供給と同じ流量で糖化したスラリーを取り出す方法で行った。連続糖化のダイヤグラムをFig.4に示した。

Fig.11は2日間回分糖化を行った後、17.5ℓ/dayの流量（滞留時間2日）で5℃で保持した糖化用スラリーを供給し、連続糖化した結果を示した。なお、長期間の糖化における酢酸エチルの添加効果を調べるため、回分糖化用スラリーおよび低温保持した糖化用スラリーに1%および2%の酢酸エチルを添加した。ベンチスケールでの回分糖化において酢酸エチルの添加量によるグルコース濃度の違いは認められなかった。しかし、連続糖化後のグルコース濃度は添加量

により大きく異なる傾向を示した。すなわち、酢酸エチルの添加量が1%では糖化時間5日目（連続糖化後3日目）でグルコース濃度が急激に低下し、ほとんど0 mg/mlの値となった。2%の添加量では糖化時間7日目（連続糖化後5日目）まで回分糖化と同じグルコース濃度を保っているが、8日目以降急激にグルコース濃度が低下し、10日目ではほとんど0 mg/mlの値となった。これらの結果から、ベンチスケールの連続糖化において以下のことが明らかになった。

- ① フラスコでの長期間の糖化ではスラリーに1%の酢酸エチルを添加することにより雑菌汚染が防止できた（3.1.2項）が、ベンチスケールの連続糖化では酢酸エチルを2%添加しても雑菌汚染が防止できない。このことは、ベンチスケールの連続糖化において雑菌が混入する確率が高いことを示唆するものである。ベンチスケールの糖化槽は槽内にパイプ、邪魔板、温度センサーなどの突起物や温度センサー、温度計などの取り付け部に隙間があるため、糖化終了後に槽内を洗浄しても基質であるもみがらが一部に付着したままで槽内に残り雑菌が繁殖して、次の糖化の際に雑菌汚染の原因になりやすい。また、連続糖化および連続化操作時に雑菌が混入しやすいためと考えられる。
- ② 酢酸エチルの添加量が多いほど連続糖化において長時間雑菌汚染が起こらない。酢酸エチルの添加量を多くすることにより雑菌汚染が起こらなくなる可能性があるが、3%の添加量で糖化反応を阻害する（3.1.2項）ことから、酢酸エチル単独での雑菌汚染の防止は困難であると考えられる。
- ③ ベンチスケールの連続糖化において雑菌汚染防止の対策が重要な問題である。雑菌汚染の防止対策として糖化槽や糖化用スラリーの滅菌、クリーンブースなどでの糖化装置やその周辺の清浄化および糖化槽内を不活性ガス導入などにより無酸素雰囲気にし雑菌の繁殖しない状態にすることが考えられる。

セルロース廃資源の糖化において、糖化槽やスラリーの滅菌などは機器コストやユーティリティーのコストが高くなるため実用的でない。このため、本実験では連続糖化における雑菌汚染の対策として、窒素ガスを糖化槽に導入し、雑菌の繁殖を防止する方法について検討した。Fig. 12はスラリーに2%の酢酸エチルを添加し、窒素ガスを100 ml/minの流量でスラリー中に注入して連続糖化した結果を示した。なお、3日間の回分糖化後、滞留時間3日（流量11.7 l/day）の連続糖化条件である。19日間（回分糖化開始から22日間）の連続糖化においてもグルコース濃度が急激に低下する雑菌汚染が認められなかった。このことから、連続糖化においてスラリー中への窒素ガスの導入は雑菌汚染の防止に非常に有効であることがわかった。

Fig. 13は4日間の回分糖化後に滞留時間4日（流量8.8 l/day）で連続糖化した結果を示した。連続糖化の滞留時間が3日ではFig. 12に示したように、平均約15 mg/ml（1.5%）のグルコース濃度の糖化液が得られた。これに対し、滞留時間が4日では平均約17 mg/ml（1.7%）のグルコース濃度の糖化液が得られた。糖化により得られるグルコース濃度はFig. 5の回分糖化に示したように、糖化時間が長いほど高くなる。このため、連続糖化においても滞留時間が長いほどもみがらの糖化時間が長くなり、高いグルコース濃度の糖化液が得られるものと考えられる。

滞留時間3日と4日の連続糖化の結果からグルコースの生産性を検討してみた。1日に得られるグルコース量は（グルコース濃度）×（流量）で求められる。滞留時間3日では15（mg/

$ml) \times 11.7 (l/day) = 175.5 (g/day)$, 滞留時間4日では $17 (mg/ml) \times 8.8 (l/day) = 149.6 (g/day)$ のグルコースが得られることになり、滞留時間3日の方が4日よりグルコースの生産性が高くなった。このことは、Fig.5の回分糖化で示したように、糖化時間を3日から4日にしてもグルコース濃度の上昇が少ないため、滞留時間が4日ではグルコースの生産性が低いものと思われる。また、滞留時間が長いとユーティリティコストなどが増加する。連続糖化においては単に高いグルコース濃度の糖化液を得るよりもグルコースの生産性や種々のコストを考慮した上で、最適な滞留時間を決める必要がある。

今回のベンチスケールの連続糖化実験から雑菌汚染の対策が非常に重要であることがわかった。雑菌汚染対策として酢酸エチルの添加と窒素ガスの導入（窒素雰囲気での糖化）が効果的であり、26日間の連続糖化においても雑菌汚染がなく、安定したグルコース濃度の糖化液が得られることが明らかになった。また、連続糖化においてグルコースの生産性やコストを考慮した滞留時間の設定が重要であることがわかった。

4. ま と め

前処理したもみがらを用いてベンチスケールでの連続糖化の問題点、対策および得られるグルコース濃度について調べた結果、下記のことが明らかになった。

- (1) ベンチスケールの糖化槽においてもフラスコと同じグルコース濃度が得られ、スケールアップや糖化反応容器の違いによる影響がなかった。
- (2) フラスコでの糖化実験から雑菌汚染で糖化により生成したグルコースが極端に低下するが、酢酸エチルを1～2%添加することにより防止できる。
- (3) 連続糖化で供給する糖化用スラリー（もみがら、酵素、酢酸緩衝液）を5℃の低温で貯蔵しても、その後の糖化に影響をおよぼさない。
- (4) ベンチスケールの連続糖化において2%の酢酸エチルを添加しても雑菌汚染による極端なグルコースの減少を防止できない。
- (5) 糖化槽内を窒素雰囲気（スラリーに窒素ガスを注入）にすることにより雑菌汚染がなく、ベンチスケールで長期間連続糖化できる。
- (6) 連続糖化において滞留時間4日の方が3日より高いグルコース濃度の糖化液が得られる。しかし、グルコースの生産性は滞留時間3日の方が4日より高い。連続糖化においては、グルコースの生産性やコストなどを考慮した滞留時間の設定が重要である。

謝 辞

もみがらの照射に関して協力していただいた照射施設課の須永博美氏、上松敬氏に深く感謝いたします。

$ml) \times 11.7 (l/day) = 175.5 (g/day)$, 滞留時間4日では $17 (mg/ml) \times 8.8 (l/day) = 149.6 (g/day)$ のグルコースが得られることになり、滞留時間3日の方が4日よりグルコースの生産性が高くなった。このことは、Fig.5の回分糖化で示したように、糖化時間を3日から4日にしてもグルコース濃度の上昇が少ないため、滞留時間が4日ではグルコースの生産性が低いものと思われる。また、滞留時間が長いとユーティリティコストなどが増加する。連続糖化においては単に高いグルコース濃度の糖化液を得るよりもグルコースの生産性や種々のコストを考慮した上で、最適な滞留時間を決める必要がある。

今回のベンチスケールの連続糖化実験から雑菌汚染の対策が非常に重要であることがわかった。雑菌汚染対策として酢酸エチルの添加と窒素ガスの導入（窒素雰囲気での糖化）が効果的であり、26日間の連続糖化においても雑菌汚染がなく、安定したグルコース濃度の糖化液が得られることが明らかになった。また、連続糖化においてグルコースの生産性やコストを考慮した滞留時間の設定が重要であることがわかった。

4. ま と め

前処理したもみがらを用いてベンチスケールでの連続糖化の問題点、対策および得られるグルコース濃度について調べた結果、下記のことが明らかになった。

- (1) ベンチスケールの糖化槽においてもフラスコと同じグルコース濃度が得られ、スケールアップや糖化反応容器の違いによる影響がなかった。
- (2) フラスコでの糖化実験から雑菌汚染で糖化により生成したグルコースが極端に低下するが、酢酸エチルを1～2%添加することにより防止できる。
- (3) 連続糖化で供給する糖化用スラリー（もみがら、酵素、酢酸緩衝液）を5℃の低温で貯蔵しても、その後の糖化に影響をおよぼさない。
- (4) ベンチスケールの連続糖化において2%の酢酸エチルを添加しても雑菌汚染による極端なグルコースの減少を防止できない。
- (5) 糖化槽内を窒素雰囲気（スラリーに窒素ガスを注入）にすることにより雑菌汚染がなく、ベンチスケールで長期間連続糖化できる。
- (6) 連続糖化において滞留時間4日の方が3日より高いグルコース濃度の糖化液が得られる。しかし、グルコースの生産性は滞留時間3日の方が4日より高い。連続糖化においては、グルコースの生産性やコストなどを考慮した滞留時間の設定が重要である。

謝 辞

もみがらの照射に関して協力していただいた照射施設課の須永博美氏、上松敬氏に深く感謝いたします。

$ml) \times 11.7 (l/day) = 175.5 (g/day)$, 滞留時間4日では $17 (mg/ml) \times 8.8 (l/day) = 149.6 (g/day)$ のグルコースが得られることになり、滞留時間3日の方が4日よりグルコースの生産性が高くなった。このことは、Fig.5の回分糖化で示したように、糖化時間を3日から4日にしてもグルコース濃度の上昇が少ないため、滞留時間が4日ではグルコースの生産性が低いものと思われる。また、滞留時間が長いとユーティリティーコストなどが増加する。連続糖化においては単に高いグルコース濃度の糖化液を得るよりもグルコースの生産性や種々のコストを考慮した上で、最適な滞留時間を決める必要がある。

今回のベンチスケールの連続糖化実験から雑菌汚染の対策が非常に重要であることがわかった。雑菌汚染対策として酢酸エチルの添加と窒素ガスの導入（窒素雰囲気での糖化）が効果的であり、26日間の連続糖化においても雑菌汚染がなく、安定したグルコース濃度の糖化液が得られることが明らかになった。また、連続糖化においてグルコースの生産性やコストを考慮した滞留時間の設定が重要であることがわかった。

4. ま と め

前処理したもみがらを用いてベンチスケールでの連続糖化の問題点、対策および得られるグルコース濃度について調べた結果、下記のことになった。

- (1) ベンチスケールの糖化槽においてもフラスコと同じグルコース濃度が得られ、スケールアップや糖化反応容器の違いによる影響がなかった。
- (2) フラスコでの糖化実験から雑菌汚染で糖化により生成したグルコースが極端に低下するが、酢酸エチルを1～2%添加することにより防止できる。
- (3) 連続糖化で供給する糖化用スラリー（もみがら、酵素、酢酸緩衝液）を5℃の低温で貯蔵しても、その後の糖化に影響をおよぼさない。
- (4) ベンチスケールの連続糖化において2%の酢酸エチルを添加しても雑菌汚染による極端なグルコースの減少を防止できない。
- (5) 糖化槽内を窒素雰囲気（スラリーに窒素ガスを注入）にすることにより雑菌汚染がなく、ベンチスケールで長期間連続糖化できる。
- (6) 連続糖化において滞留時間4日の方が3日より高いグルコース濃度の糖化液が得られる。しかし、グルコースの生産性は滞留時間3日の方が4日より高い。連続糖化においては、グルコースの生産性やコストなどを考慮した滞留時間の設定が重要である。

謝 辞

もみがらの照射に関して協力していただいた照射施設課の須永博美氏、上松敬氏に深く感謝いたします。

参 考 文 献

- 1) Allen. A. L. : AIChE Symp. Ser., 72, 115 (1976)
- 2) 柴田 和雄, 木谷 収編: “バイオマス生産と変換” 学会出版センター
- 3) 笠井 昇, 玉田 正男, 熊倉 稔, 嘉悦 勲: JAERI-M, 87-047 (1987)
- 4) 笠井 昇, 玉田 正男, 熊倉 稔, 嘉悦 勲: JAERI-M, 88-015 (1988)
- 5) 笠井 昇, 玉田 正男, 熊倉 稔, 嘉悦 勲: JAERI-M, 88-237 (1988)
- 6) 笠井 昇, 玉田 正男, 熊倉 稔: JAERI-M, 89-052 (1989)
- 7) M. Tamada, N. Kasai, and I. Kaetsu: Biotechnol. Bioeng., 32, 920 (1988)
- 8) 笠井 昇, 玉田 正男, 熊倉 稔, 嘉悦 勲: JAERI-M, 86-040 (1986)
- 9) Reese. E. T. : J. Appl. Biochem., 2, 36 (1980)

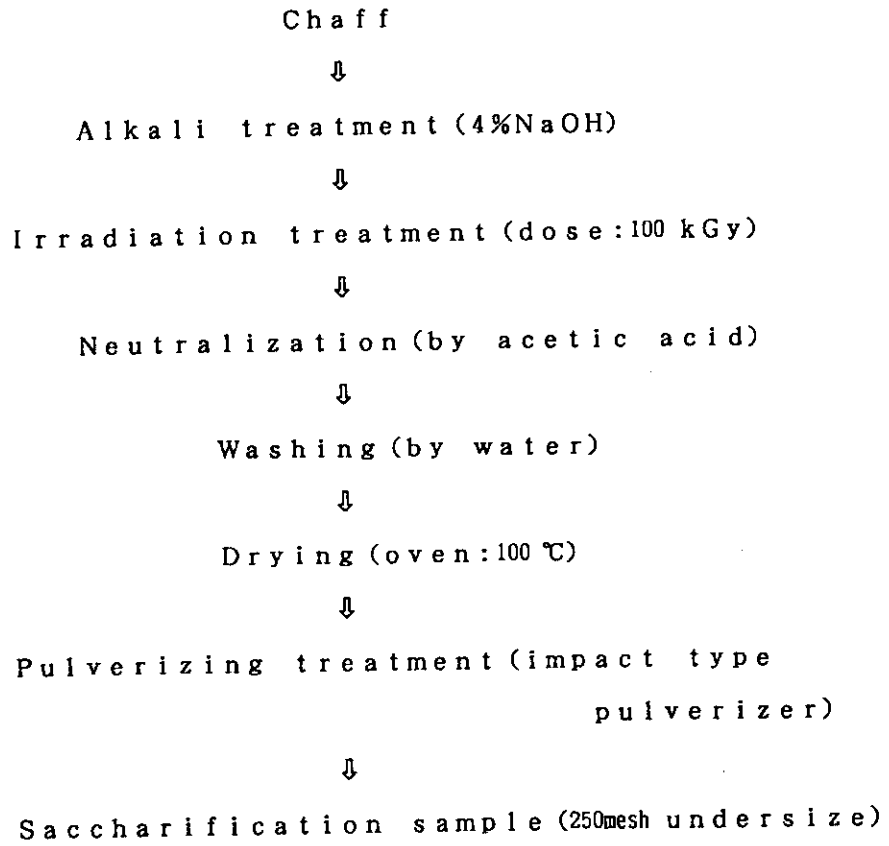


Fig.1 Pretreatment process of chaff.

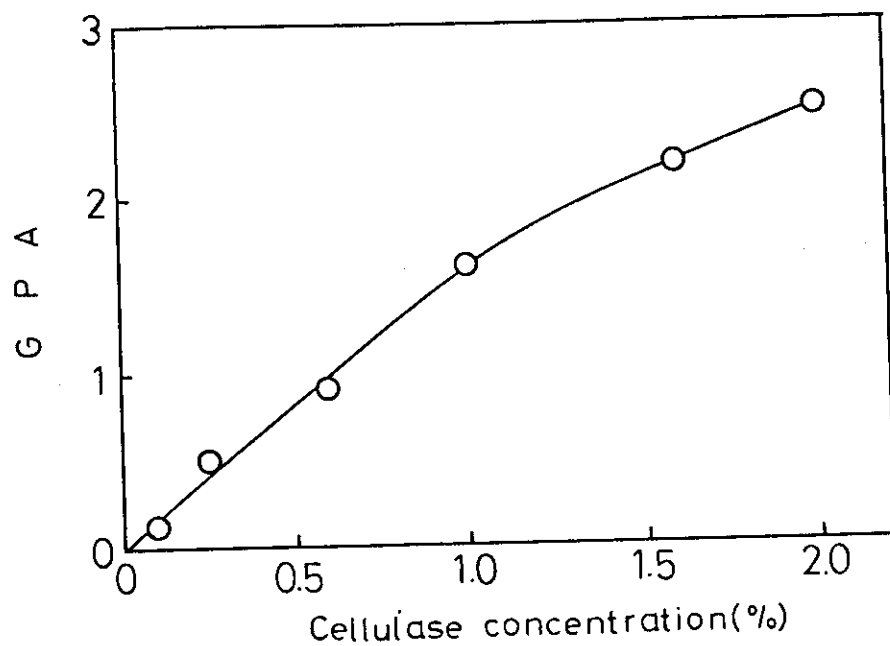


Fig.2 Relationship between cellulase concentration and GPA.

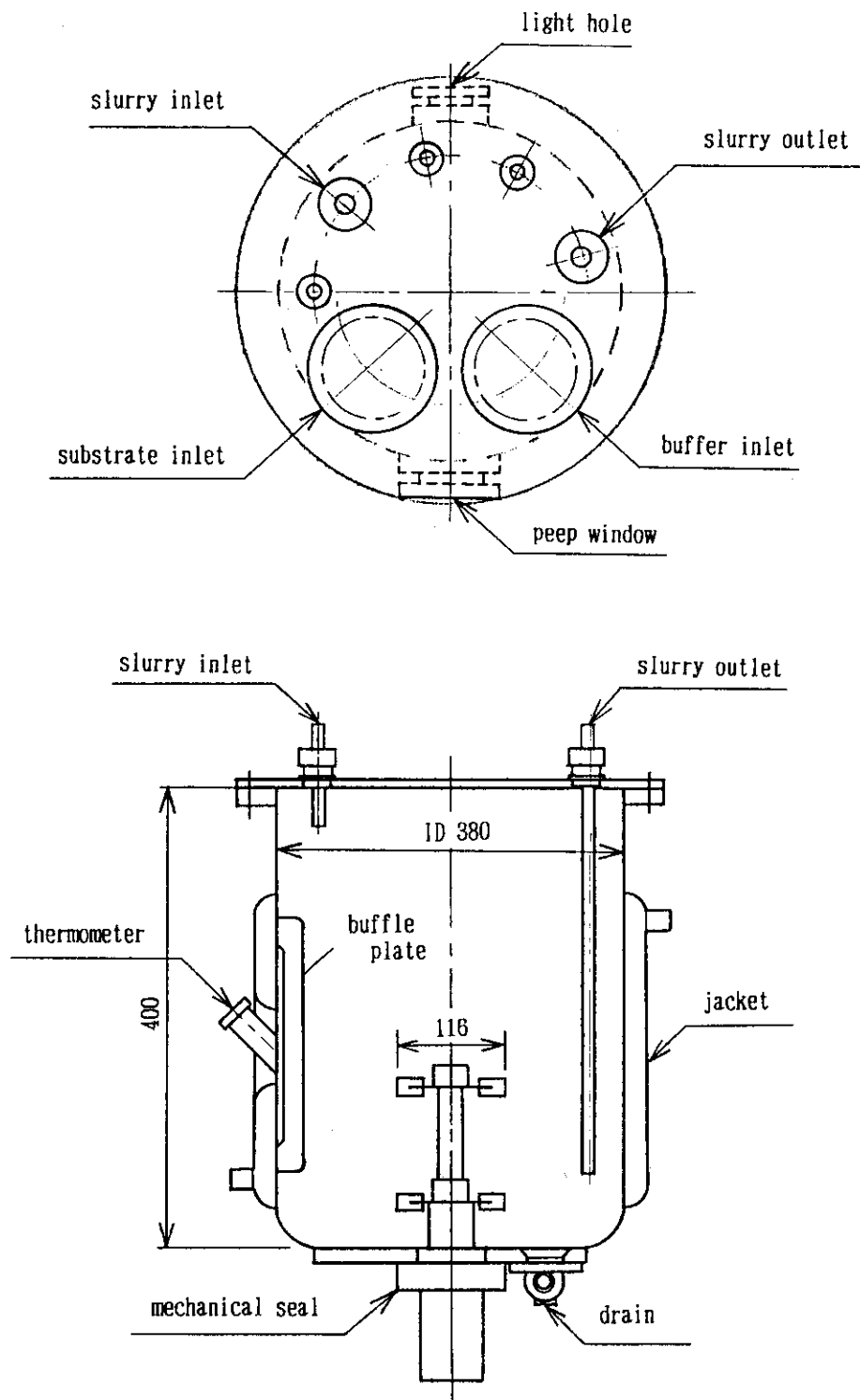


Fig.3 Sketch of saccharification vessel.

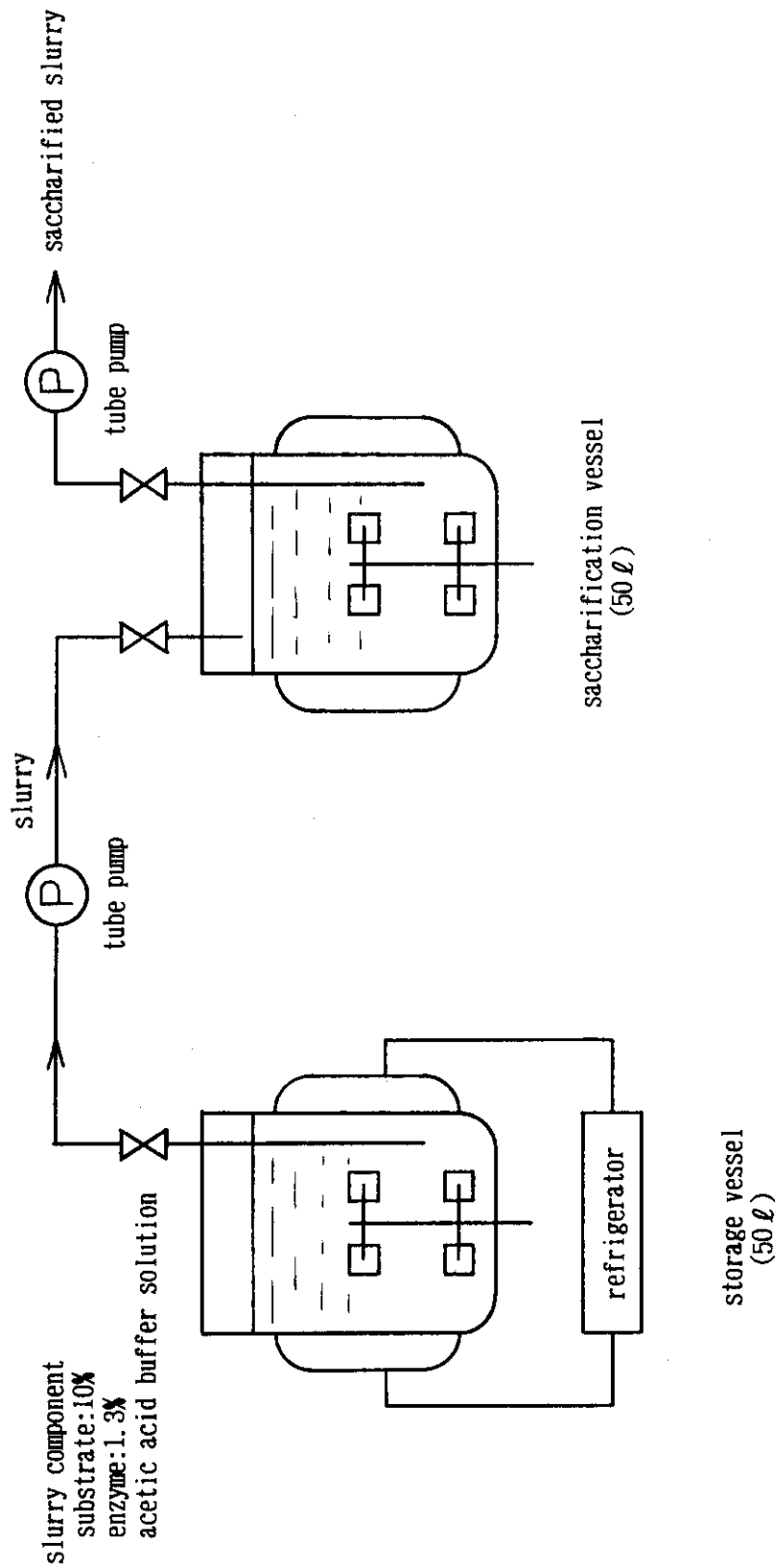


Fig.4 Diagram of continuous saccharification.

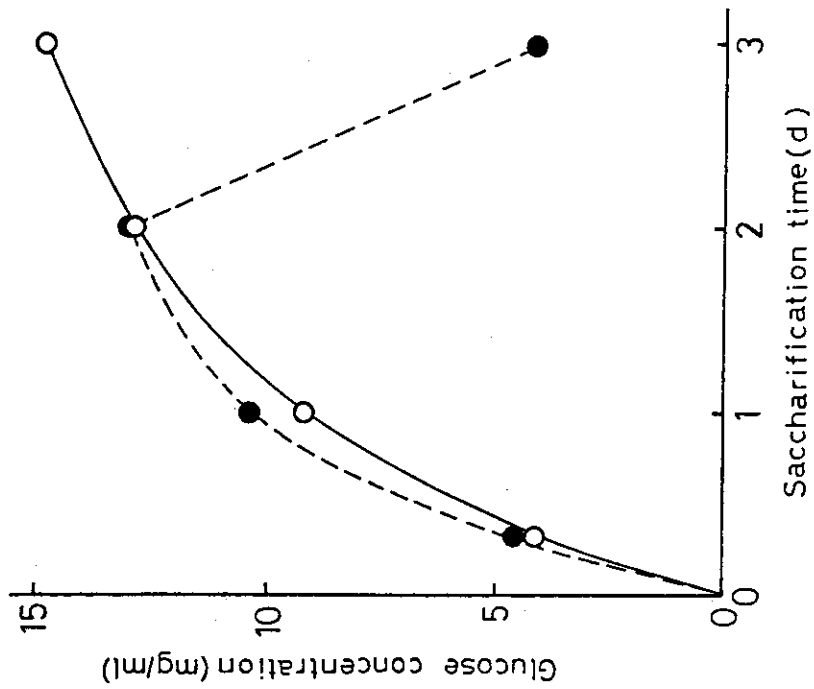


Fig. 6 Influence of contamination on saccharification.
(○) without contamination and (●) with contamination.

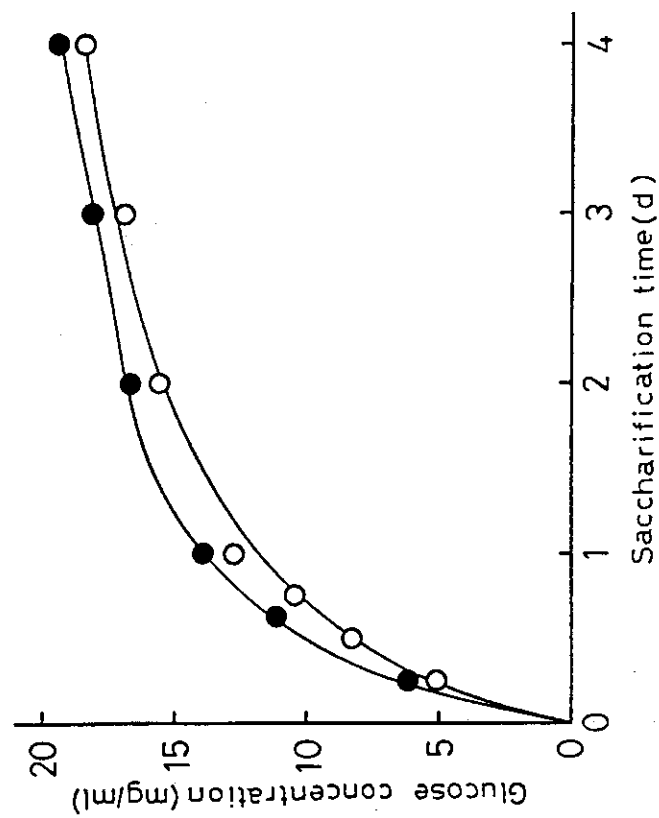


Fig. 5 Relationship between saccharification time and glucose concentration
Reactor: (○), saccharification (5.0 l); (●), flask (1.0 l).

saccharification

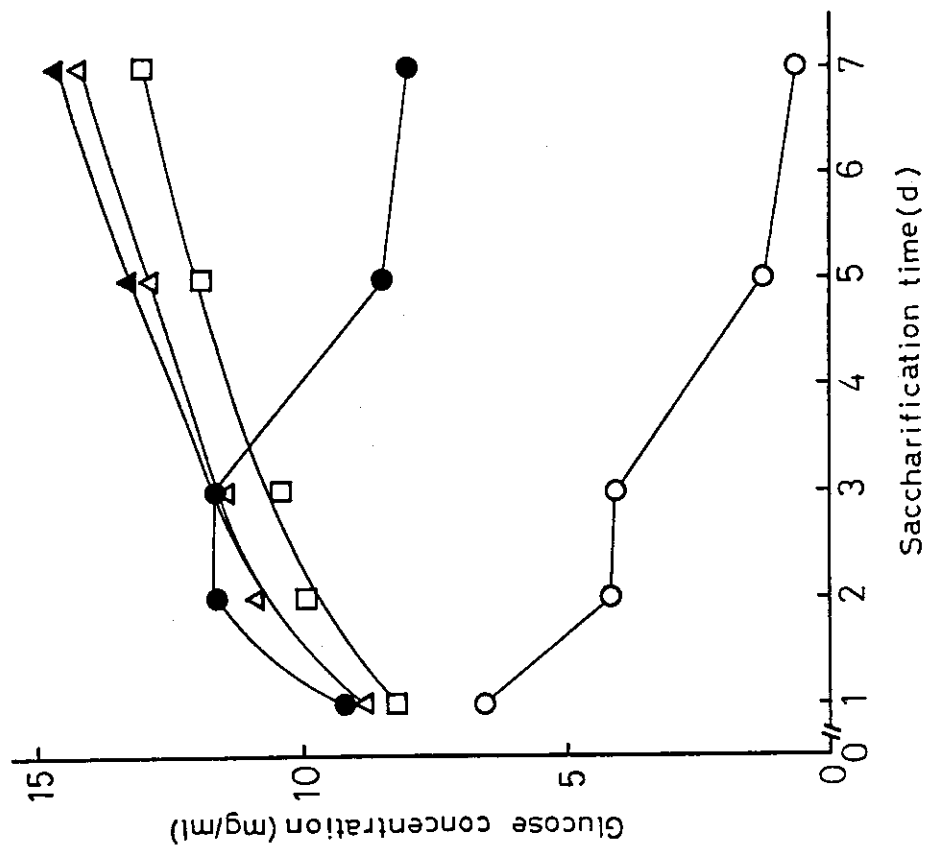


Fig. 7 Effect of addition in ethyl acetate on saccharification.
Amount of ethyl acetate: (○), 0%; (●), 0.5%; (△), 1%;
(▲), 2%; and (□), 3%.

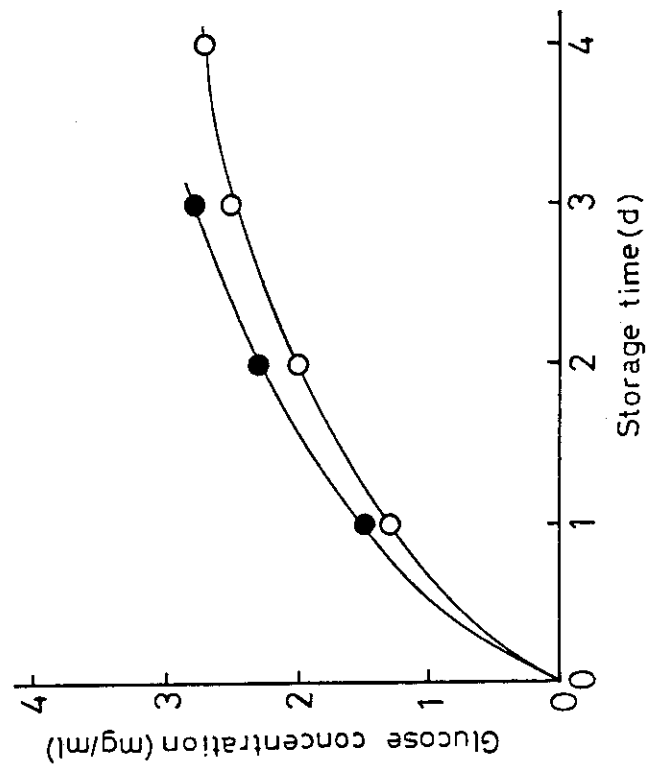


Fig. 8 Relationship between storage time and glucose
concentration at low temperature.
Storage temperature: (○), 5°C; (●), 10°C.
Slurry: substrate, 1.0%; enzyme, 1.3%.

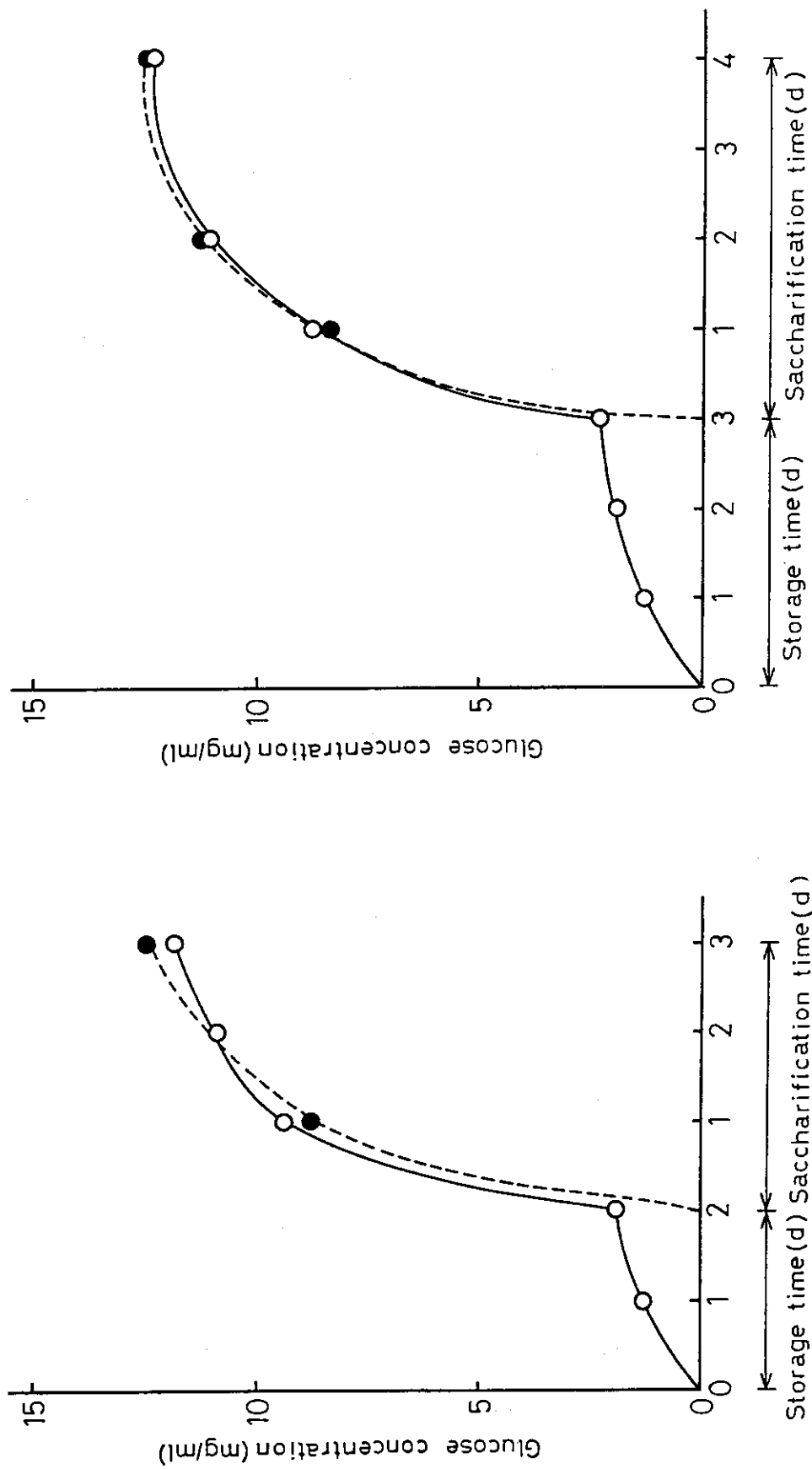


Fig. 9 Influence of storage at low temperature in slurry on saccharification.
 (○) with storage at 5°C for 2 days and (●) without storage.
 Slurry: substrate, 1.0%; enzyme, 1.3%.

Fig. 10 Influence of storage at low temperature in slurry on saccharification.
 (○) with storage at 5°C for 3 days and (●) without storage.
 Slurry: substrate, 1.0%; enzyme, 1.3%.

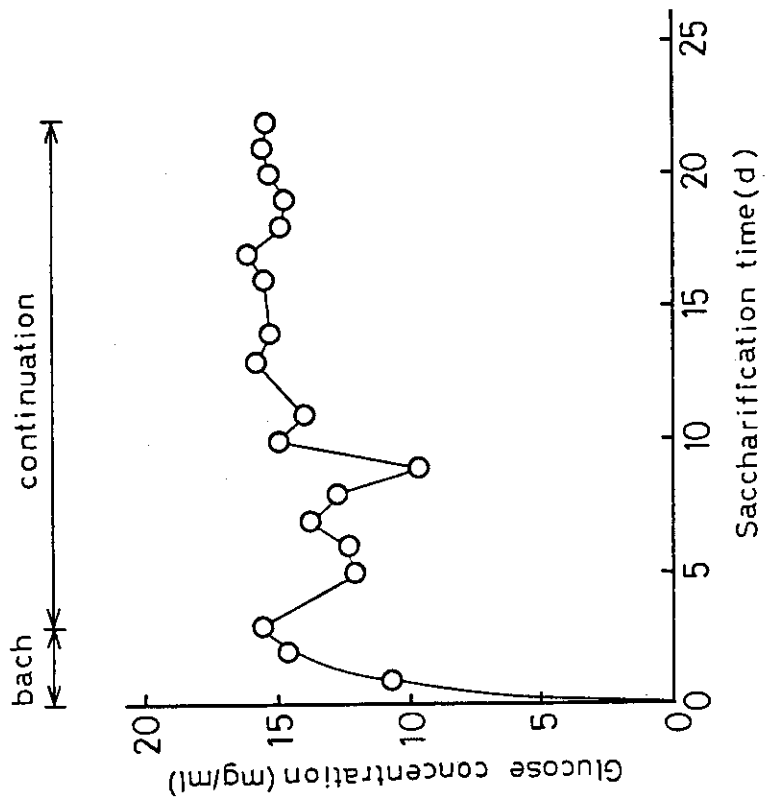


Fig. 1.2 Relationship between saccharification time and glucose concentration on continuous saccharification in nitrogen atmosphere.
Continuous saccharification condition: retention time, 3 days; nitrogen flow rate, 1.0 l/min; ethyl acetate, 2%.

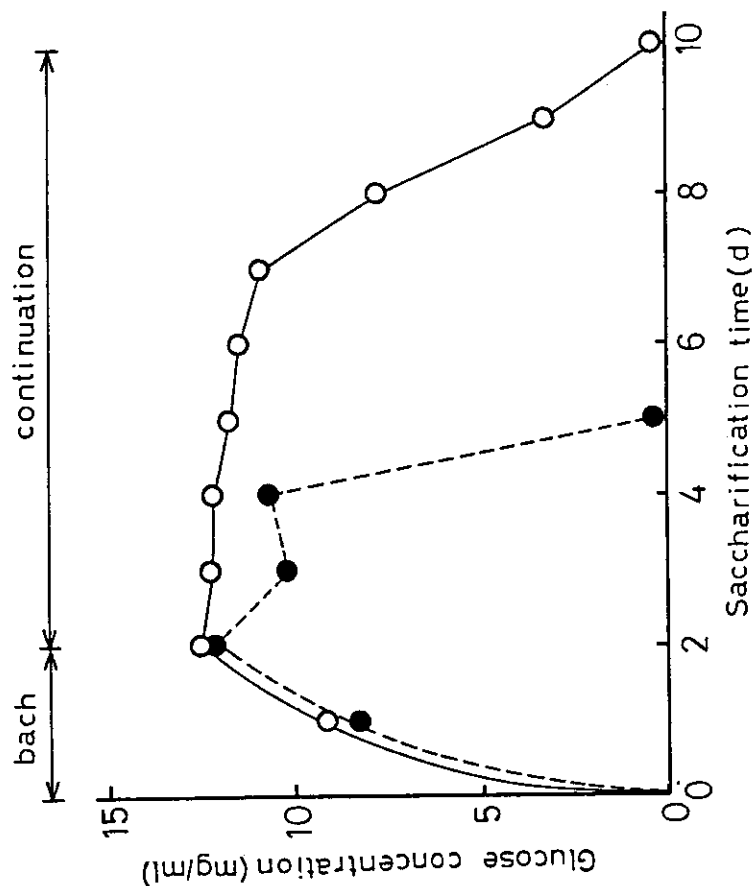


Fig. 1.1 Effect of added ethyl acetate concentration on continuous saccharification.
Concentration of ethyl acetate: (○), 2%; (●), 1%.

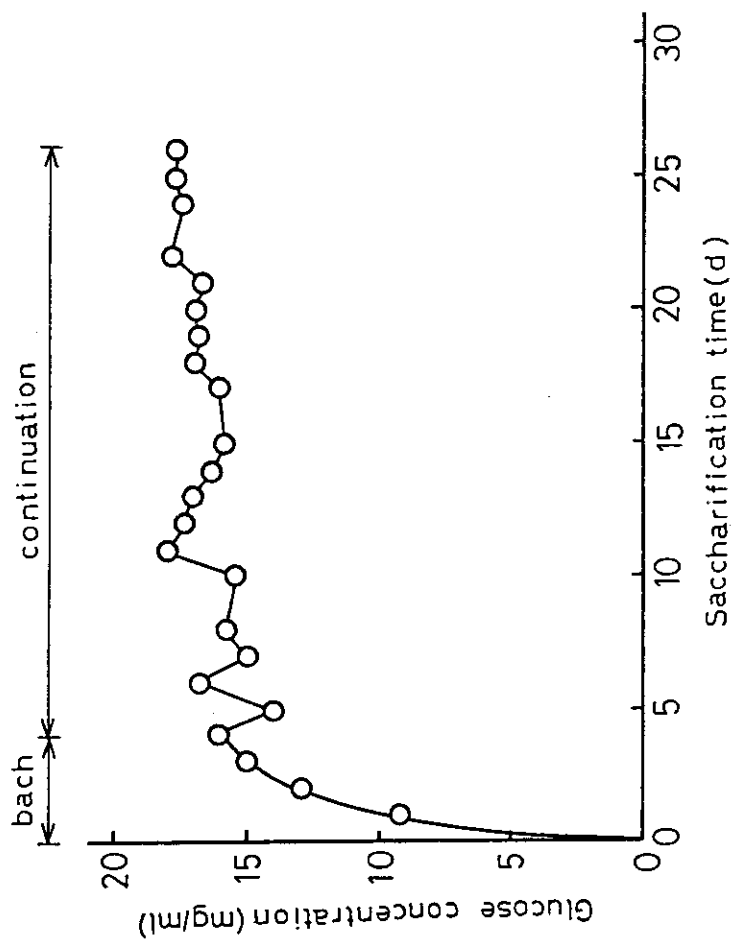


Fig. 13 Relationship between saccharification time and glucose concentration on continuous saccharification.
Continuous saccharification condition: retention time, 4 days; nitrogen flow rate, 1.00 mL/min; ethyl acetate, 2%.