

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2012 年 9 月 27 日(27.09.2012)



(10) 国際公開番号
WO 2012/128358 A1

- (51) 国際特許分類:
C12M 1/00 (2006.01) *C13B 20/16* (2011.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2012/057566
- (22) 国際出願日: 2012 年 3 月 23 日(23.03.2012)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2011-066768 2011 年 3 月 24 日(24.03.2011) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 白鶴酒造株式会社(HAKUTSURU SAKE BREWING CO., LTD.) [JP/JP]; 〒6580041 兵庫県神戸市東灘区住吉南町 4 丁目 5 番 5 号 Hyogo (JP). 東レ株式会社(TORAY INDUSTRIES, INC.). 三菱重工業メカトロシステムズ株式会社(MITSUBISHI HEAVY INDUSTRIES MECHATRONICS SYSTEMS, LTD.) [JP/JP]; 〒6520865 兵庫県神戸市兵庫区小松通 5 丁目 1 番 1 6 号 Hyogo (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 西村 顕(NISHIMURA, Akira). 山内 隆寛(YAMAUCHI, Takahiro). 小倉 健太郎(OGURA, Kentaro). 西本

遼(NISHIMOTO, Haruka). 栗原 宏征(KURIHARA, Hiroyuki). 南野 淳(MINAMINO, Atsushi). 鈴木 英夫(SUZUKI, Hideo). 近藤 岳(KONDO, Gaku).

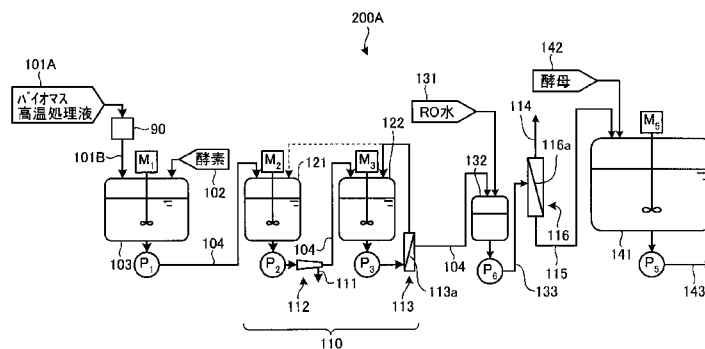
- (74) 代理人: 酒井 宏明, 外(SAKAI, Hiroaki et al.); 〒1006020 東京都千代田区霞が関三丁目 2 番 5 号 霞が関ビルディング 酒井国際特許事務所 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,

[続葉有]

(54) Title: FERMENTATION APPARATUS THAT USES BIOMASS AS FEEDSTOCK

(54) 発明の名称: バイオマスを原料とする発酵装置

[図1]



101A BIOMASS LIQUID THAT HAS UNDERGONE HIGH-TEMPERATURE PROCESSING
102 ENZYMES
131 RO WATER
142 YEAST

(57) Abstract: A fermentation apparatus that uses biomass as feedstock comprises: a device for carrying out high-temperature processing of biomass feedstock; a cooling means (90) for cooling a biomass liquid that has undergone high-temperature processing (101A); an enzyme saccharification tank (103) in which a cooled liquid (101B) is enzymatically saccharified; a foreign substance removal unit (113) provided with a solid-liquid separation device (112) and a microfiltration (MF) membrane (113a) for removing water-insoluble fermentation inhibitors contained in a sugar solution (104) extracted from the enzyme saccharification tank (103); a dilution tank (132) disposed downstream from the foreign substance removal unit (113), in which the sugar solution (104) from which water-insoluble fermentation inhibitors have been removed is diluted by adding water; a water separation unit (116) provided with a reverse osmosis (RO) membrane (116a) for removing water (114) from the diluted sugar solution (104) to obtain a concentrated sugar solution (115); and a fermentation tank (141) for carrying out fermentation using the concentrated sugar solution (115).

(57) 要約:

[続葉有]



ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, 添付公開書類:

MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,
GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

バイオマス原料を高温処理する装置と、バイオマス高温処理液 101A を冷却する冷却手段 90 と、冷却された処理液 101B を用いて酵素により糖化する酵素糖化槽 103 と、前記酵素糖化槽 103 から抜き出した糖液 104 に含まれる水難溶性発酵阻害物質を除去する固液分離装置 112 および精密濾過 (MF) 膜 113a を備えた異物除去部 113 と、前記異物除去部 113 の後流側に設けられ、水難溶性発酵阻害物質を除去した糖液 104 に水を添加して希釈する希釈槽 132 と、希釈した糖液 104 から水 114 を除去して、濃縮糖液 115 を得る逆浸透 (RO) 膜 116a を備えた水分分離部 116 と、前記濃縮糖液 115 を用いて発酵を行う発酵タンク 141 とを有する。

明 細 書

発明の名称： バイオマスを原料とする発酵装置

技術分野

[0001] 本発明は、バイオマスを原料とする発酵装置に関する。

背景技術

[0002] 従来、希硫酸、濃硫酸による木材等のバイオマスの糖化处理後、固液分離し、液相を中和処理し、エタノール発酵等の原料として利用するエタノール等の製造技術が実用化されている（特許文献１、特許文献２）。

また、糖を出発原料として、化学工業原料生産（例えば乳酸発酵等）も考えられる。

ここで、バイオマスとは、地球生物圏の物質循環系に組み込まれた生物体又は生物体から派生する有機物の集積をいう（J I S K 3 6 0 0 1 2 5 8 参照）。

[0003] ここで、現在アルコール原料として用いられているサトウキビ、トウモロコシ等は本来食用に供されるものであるが、これらの食用資源を長期的、安定的に工業用利用資源とすることは、有効食料品のライフサイクルの観点から、好ましくない。

[0004] このため、将来的に有用な資源と考えられる草本系バイオマスや木質系バイオマスのようなセルロース系資源を有効活用するのは、重要な課題である。

[0005] また、セルロース系資源では、セルロースは３８～５０％、ヘミセルロース成分が２３～３２％と様々で、発酵原料にならないリグニン成分も１５～２２％とそれぞれ異なっている。多くの課題を抱えたままの工業化研究のため、原料は固定的に想定されており、原料の汎用性を考慮した生産システムの技術の開示は未だないのが現状である。

[0006] さらに、元来、澱粉原料に較べて発酵原料に不利な方法で、ごみ問題、地球温暖化防止対応などを目標に考えるのであるから、原料を固定的に考えた

生産システムでは意味が薄れる。広く一般の廃棄物に適用できなければならぬ。酵素糖化法そのものも、効率が悪すぎて、将来課題とされているのが現状である。酸処理による糖化率も、過剰反応による糖の過分解などで、およそ75%（糖化可能成分基準）前後とかなり小さい値となっている。従って、セルロース系資源に対して、エタノール生産収率はおよそ25%に止まっている（非特許文献1、特許文献3）。

[0007] なお、特許文献1乃至3の従来技術では、副反応生成物が酵素糖化阻害を引起し糖収率が減少する現象が起きていたので、酵素糖化阻害物質を除去し、セルロース主体による酵素糖化性を高める水熱分解装置の提案を先にした（特許文献4及び5）。

先行技術文献

特許文献

- [0008] 特許文献1：特表平9-507386号公報
特許文献2：特表平11-506934号公報
特許文献3：特開2005-168335号公報
特許文献4：特開2009-183805号公報
特許文献5：特開2009-183154号公報

非特許文献

- [0009] 非特許文献1：日経バイオビジネス、p. 52、2002年9月

発明の概要

発明が解決しようとする課題

- [0010] 前述した特許文献4及び5における水熱分解装置の提案では、バイオマスと加圧熱水とを対向接触するように供給して、内部熱交換で水熱反応させているが、内部温度が180～240℃の高温状態であると共に、その各温度における水の飽和蒸気に対して、更に0.1から0.4MPa高い圧力を加えて分解処理しているので、その反応後のバイオマス高温処理液（熱水排出液）中には、リグニン等の分解物が含まれている。

[0011] このバイオマス高温処理液に溶解した熱水可溶分は、後工程の糖化工程においては、酵素糖化温度まで冷却（例えば60℃以下）されるので、一度熱水中に溶解した熱水可溶分の一部が析出し、固化あるいはコロイド状の水難溶性物質を生成することが判明した。さらに、本発明では、この水難溶性物質が、後工程における発酵工程における微生物の生育および発酵生産において阻害的な作用があり、水難溶性発酵阻害物質であることを見出した。

[0012] すなわち、本発明では、前記課題、バイオマス原料を高温・高圧条件で分解した際に発生する水難溶性発酵阻害物質を、酵素糖化後に、効率的に除去する装置を含むバイオマスを原料とする発酵装置を提供する。

課題を解決するための手段

[0013] 本発明の第1の発明は、少なくともセルロース、ヘミセルロース及びリグニンを含むバイオマス原料と加圧熱水とを対向接触させつつ180℃～240℃の温度範囲で高温高圧処理する水熱分解装置と、前記装置で排出したバイオマス高温処理液を冷却する冷却手段と、冷却された処理液を用いて酵素により糖化する酵素糖化槽と、前記酵素糖化槽から抜き出した糖液に含まれる水難溶性発酵阻害物質を除去する固液分離装置と、精密濾過（Microfiltration：MF）膜を備えた異物除去部と、前記異物除去部の後流側に設けられ、水難溶性発酵阻害物質を除去した糖液に水を添加して希釈する希釈槽と、希釈した糖液から水を除去して、濃縮糖液を得る逆浸透（Reverse Osmosis：RO）膜を備えた水分分離部と、前記濃縮糖液を用いて発酵を行う発酵槽とを有するバイオマスを原料とする発酵装置にある。

[0014] 第2の発明は、第1の発明において、前記酵素糖化槽から抜き出した糖液を貯留する糖液精製槽と、前記糖液精製槽からの第1の循環ラインに介装され、抜き出した糖液から水難溶性発酵阻害物質を除去する固液分離装置と、前記糖液精製槽からの第2の循環ラインに介装され、抜き出した糖液から水難溶性発酵阻害物質を除去する精密濾過（Microfiltration：MF）膜を備えた異物除去部とを有することを特徴とするバイオマスを原

料とする発酵装置にある。

[0015] 第3の発明は、第2の発明において、前記酵素糖化槽と前記糖液精製槽とを一体化してなることを特徴とするバイオマス高温処理液を用いたバイオマスを原料とする発酵装置にある。

[0016] 第4の発明は、第3の発明において、前記異物除去部で処理され、水難溶性物質を除去した糖液に水を添加して希釈する希釈槽と、水希釈糖液から水を分離する逆浸透（RO）膜を有する水分分離部とを有することを特徴とするバイオマスを原料とする発酵装置にある。

[0017] 第5の発明は、第1乃至4のいずれか一つの発明において、水難溶解性発酵阻害物質を除去した糖液の濁度又は吸光度のいずれか一方又は両方を測定する第1の測定部を有することを特徴とするバイオマスを原料とする発酵装置にある。

[0018] 第6の発明は、第5の発明において、さらに酵母を添加した後の糖液の濁度又は吸光度のいずれか一方又は両方を測定する第2の測定部を有することを特徴とするバイオマスを原料とする発酵装置にある。

発明の効果

[0019] 本発明装置によれば、少なくともセルロース、ヘミセルロース及びリグニンを含むバイオマス原料と加圧熱水とを対向接触させつつ180℃～240℃で高温高圧処理した際に生成する水難溶性発酵阻害物質を完全に除去し、不純物の少ない糖液を得ることができる。またその結果、後段の逆浸透膜による糖液の濃縮が可能になり、従来より高濃度の糖液を製造することができる。以上糖液の改善に伴い、発酵阻害を抑制することができる。

図面の簡単な説明

[0020] [図1]図1は、実施例1に係るバイオマスを原料とする発酵装置の概略図である。

[図2]図2は、実施例2に係るバイオマスを原料とする発酵装置の概略図である。

[図3]図3は、実施例3に係るバイオマスを原料とする発酵装置の概略図であ

る。

[図4]図4は、高速液体クロマトグラフィーの計測チャートである。

[図5]図5は、エタノール発酵試験における二酸化炭素の減少量の結果を示す図である。

[図6]図6は、エタノール発酵試験における二酸化炭素の減少量の結果を示す図である。

[図7]図7は、実施例1に係るバイオマスの水熱分解装置を示す概略図である。

発明を実施するための形態

[0021] 以下、この発明につき図面を参照しつつ詳細に説明する。なお、この実施例によりこの発明が限定されるものではない。また、下記実施例における構成要素には、当業者が容易に想定できるもの、あるいは実質的に同一のものが含まれる。

実施例 1

[0022] 本発明に係るバイオマス原料からの発酵装置について、図面を参照して説明する。

図7は、実施例1に係るバイオマスの水熱分解装置を示す概略図である。

まず、「少なくともセルロース、ヘミセルロース及びリグニンを含むバイオマス原料と加圧熱水とを対向接触させつつ180℃～240℃の温度範囲で高温高圧処理する水熱分解装置50」に関して図7を使用して説明する。

水熱分解装置50は、図7に示すように垂直型の装置としているが、本発明はこれに限定されるものではなく、傾斜型や水平型の水熱分解装置としてもよい。なお、水熱分解装置としては、傾斜型又は垂直型がより好ましい。これは、水熱分解反応において発生したガスや原料中に持ち込まれたガス等が上方から速やかに抜けることができ好ましいからである。また、加圧熱水55で分解生成物を抽出するので、抽出効率の点において上方から下方に向かって抽出物の濃度が高まることとなり、好ましいものとなるからである。

[0023] 本実施例に係る水熱分解装置50では、搬送スクリー手段54を設ける

ことにより、１）固液カウンタフローでの固形分の搬送が可能となる。２）装置本体５３内で固液の分離が可能となる。３）装置本体５３内で固体表面、固体中の加圧熱水５５の混合が進み反応が促進される。

[0024] 本実施例に係る水熱分解装置５０は、バイオマス供給装置５２によりバイオマス原料（本実施例では、例えば麦わら等）５１を常圧下から加圧下に供給し、前記バイオマス原料５１の供給とは異なる端部側から加圧熱水５５を装置本体５３内部に供給し、バイオマス原料１１と加圧熱水５５とを対向接触させつつ水熱分解し、加圧熱水５５中にリグニン成分及びヘミセルロース成分を移行し、バイオマス原料５１中からリグニン成分及びヘミセルロース成分を分離し、バイオマス抜出装置５７により、バイオマス固形分５６を加圧下から常圧下に拔出している。図中符号５８は加圧窒素を図示する。

[0025] ここで、前記水熱分解装置５０に供給するバイオマス原料としては、特に限定されるものではなく、地球生物圏の物質循環系に組み込まれた生物体又は生物体から派生する有機物の集積をいう（ＪＩＳ Ｋ ３６００ １２５８参照）が、本発明では特に木質系の例えば広葉樹、草本系等のセルロース系資源や農業系廃棄物、食品廃棄物等を用いるのが好ましい。

[0026] また、前記バイオマス原料としては、粒径は特に限定されるものではないが、例えば５ｍｍ以下に粉砕することが好ましい。

本実施例では、バイオマスの供給前において、前処理装置として、例えば粉砕装置を用いて前処理するようにしてもよい。また、洗浄装置により洗浄するようにしてもよい。

なお、バイオマス原料として、例えば籾殻等の場合には、粉砕処理することなく、そのまま水熱分解装置５０に供給することができるものとなる。

[0027] また、水熱分解装置５０における、反応温度は１８０℃～２４０℃の範囲とするのが好ましい。さらに好ましくは２００℃～２３０℃とするのがよい。

これは、１８０℃未満の低温では、水熱分解速度が小さく、長い分解時間が必要となり、装置の大型化につながり、好ましくないからである。一方２

40℃を超える温度では、分解速度が過大となり、セルロース成分が固体から液体側へ移行を増大すると共に、ヘミセルロース系糖類の過分解が促進され、好ましくないからである。

また、ヘミセルロース成分は約140℃付近から、セルロースは約230℃付近から、リグニン成分は140℃付近から溶解するが、セルロースを固形分側に残し、且つヘミセルロース成分及びリグニン成分が十分な分解速度を持つ180℃～240℃の範囲とするのがよい。

[0028] また、反応圧力は装置本体53の内部が加圧熱水55の状態となる、各温度の水の飽和蒸気圧に更に0.1～0.5MPaほどの高い圧力とするのが好ましい。

また、反応時間は20分以下、3分～10分とするのが好ましい。これはあまり長く反応を行うと過分解物の割合が増大し、好ましくないからである。

[0029] また、水熱分解装置50は、バイオマス原料51と加圧熱水55とを対向接触する際に、均一な加圧熱水流れとすることが好ましい。

[0030] このような水熱分解装置50を用いることで、本発明におけるバイオマス高温処理液101Aを得ることができる。

[0031] 本発明における、加圧熱水55は、アルカリ性、中性、酸性いずれのpHでもよく、例えばアルカリ性であれば、水酸化ナトリウム、消石灰、アンモニアなどを使用でき、また酸性であれば、希硫酸、塩酸、磷酸などを使用することができる。加圧熱水55は、アルカリ性、もしくは、酸性であれば、効率的にバイオマスの前処理を進められるといった利点を有する。但し、その一方で、酵素投入前までにpH調整を行う必要があり、pH調整の薬品あるいはpH調整装置を設置しなければならないという欠点を有する。

[0032] 図1は、実施例1に係るバイオマスを原料とする発酵装置の概略図である。

次に、前記図7の水熱処理装置50で排出されたバイオマス高温処理液101Aを冷却する冷却手段90と、冷却された処理液101Bを用いて酵素

により糖化する酵素糖化槽 103 と、前記酵素糖化槽 103 から抜き出した糖液 104 に含まれる水難溶性発酵阻害物質を除去する固液分離装置 112 および精密濾過（Microfiltration：MF）膜 113a を備えた異物除去部 113 と、前記異物除去部 113 の後流側に設けられ、水難溶性発酵阻害物質を除去した糖液 104 に水を添加して希釈する希釈槽 132 と、希釈した糖液 104 から水 114 を除去して、濃縮糖液 115 を得る逆浸透（Reverse Osmosis：RO）膜 116a を備えた水分分離部 116 と、前記濃縮糖液 115 を用いて発酵を行う発酵タンク 141 とを有するバイオマスを原料とする発酵装置 200A に関して図 1 の概略図を用いて説明する。

[0033] この発酵タンク 141 には酵母 142 が添加され、発酵液 143 が得られる。発酵液 143 は、別途蒸留処理がなされて目的の発酵産物が得られる。

[0034] 本実施例では、前記酵素糖化槽 103 から抜き出した糖液 104 に含まれる水難溶性発酵阻害物質を除去する装置として、固液分離装置 112 と、さらにその後流側に精密濾過（Microfiltration：MF）膜 113a を備えた異物除去部 113 とを配置している。

[0035] この水難溶性発酵阻害物質を除去する装置を設けることにより、バイオマス原料を高温・高圧条件で分解した際に発生するバイオマス高温処理液から水難溶性発酵阻害物質を除去し、不純物の少ない糖液を得ることができ、良好な発酵を行うことができる。

[0036] ここで、本発明で、水難溶性発酵阻害物質とは、後述する試験例に示すように、その物質の詳細は解明がなされていないが、一般に発酵阻害物質として公知のフルフラール、HMF（5-ヒドロキシメチルフルフラール）とは異なる物質であることが、本発明者等により確認された。

[0037] 例えば、公知の水熱分解処理においては、前述したようにバイオマスと加圧熱水とを対向接触するように供給して、内部熱交換で水熱反応させており、その際の反応条件が内部温度 180℃～240℃の高温状態であると共に、その各温度における水の飽和蒸気に対して、更に 0.1 から 0.4 MPa

高い圧力を加えているので、その反応後のバイオマス高温処理液（熱水排出液）中には、リグニン等の反応分解物が含まれている。

[0038] このバイオマス高温処理液に溶解した熱水可溶分は、後工程の糖化工程においては、酵素糖化温度（例えば60℃以下）まで冷却されるので、一度熱水中に溶解した熱水可溶分の一部が析出し、固化あるいはコロイド状となり、水難溶性物質となる。

すなわち、常温でバイオマス原料を分解処理するような場合には、この水難溶性物質は液体側には存在しないものであるので、バイオマス高温処理液における特異な物質であると推定される。

[0039] 本発明では、このような水難溶性発酵阻害物質を、糖液精製手段110により除去することで、糖化处理における精製がなされ、その後の発酵工程においては、良好な発酵処理を行うことが可能となり、後述する試験例に示すように例えばアルコール発酵の発酵効率の向上を図ることができる。

[0040] ここで、前記糖液精製手段110は、図1に示すように、酵素糖化槽103から抜き出した糖液104から、水難溶性発酵阻害物質を含むリグニン等固形残渣111を分離する固液分離装置112と、固液分離装置112で分離した糖液104から残存する水難溶性発酵阻害物質をさらに除去する、精密濾過（Microfiltration: MF）膜113aを備えた異物除去部113とを有するものである。

[0041] 前記固液分離装置112は、例えばスクルーデカンタ、砂濾過装置、MF膜等を用いることができ、これにより固形物を除去してRO膜116aの保護を図るようにしている。

[0042] 本実施例に係るバイオマスを原料とするアルコール発酵装置200Aでは、水難溶性発酵阻害物質を除去した糖液104に、水（RO水）131を添加して希釈する希釈槽132を有するものである。なお、図1中、符号P₆は、希釈水133を水分分離部116に送液する送液ポンプを図示する。

[0043] これは、固形物除去前に水を添加する場合には、水難溶性発酵阻害物質の溶解度分だけ溶解し、発酵阻害物質濃度は低下しないが、水難溶性発酵阻害

物質を除去した後に、水で希釈することで、リグニン等の分解物以外の有機酸（例えば酢酸）等の除去も可能となると共に、後工程において高効率な発酵が可能となる。

[0044] この希釈槽 132 で希釈された希釈水 133 は、水 114 が RO (Reverse Osmosis: RO) 膜 116a を有する水分分離部 116 で分離され、所定の濃度に濃縮され、濃縮糖液 115 を得ている。

[0045] 次に、前記濃縮糖液 115 は発酵タンク 141 に送られ、酵母 142 が添加され、発酵液 143 を得る。

[0046] また、水分分離部 116 には、ルーズ RO 膜、ナノ濾過膜 (Nanofiltration Membrane: NF 膜) 等を用いてもよい。

[0047] 本実施例では、この水難溶性発酵阻害物質を含むリグニン等固形残渣 111 を除去するために、固液分離装置 112 の固液分離処理と、異物除去部 113 の膜処理とを行うことで、効果的に発酵阻害物質の除去が可能となる。

[0048] 特に、熱水可溶分であるヘミセルロースを糖化した糖液 (C5 糖) を発酵する発酵菌は、エタノール耐性、発酵阻害物質耐性が弱いものが多く、発酵菌の耐性に合わせることが重要であるが、本発明によりそれが可能となる。遺伝子組み換え酵母を用いることができない発酵では、発酵菌の耐性の問題は特に顕著となるので、本発明によりこれが解決されることとなる。

[0049] また、糖液 104 処理中において、水難溶性発酵阻害物質を含むリグニン等の分解物を除去するので、後流側に設置する水分分離のための RO 膜 116a に対しての異物の析出が防止でき、RO 膜 116a の膜寿命の延命化を図ることが可能となる。

[0050] 次に、このバイオマスを用いたアルコール発酵装置 200A の処理手順について説明する。

本発明の熱水排出液は主にヘミセルロース成分を含むので、この熱水可溶分を五炭糖 (C5 糖) 等に酵素糖化する C5 糖化・膜処理を行う際に、糖液の精製を行うものである。

[0051] <酵素糖化工程>

先ず、前記酵素糖化槽 103 において、バイオマス高温処理液（熱水排出液）101A が導入され、酵素 102 が添加され、酵素糖化工程における酵素反応による糖化がなされる。

[0052] <固液分離工程>

次に、糖液 104 は第 1 の糖液タンク 121 に貯留される。その後、固液分離装置 112 により水難溶性発酵阻害物質を含むリグニン等固形残渣 111 が分離され、その後糖液 104 は第 2 の糖液タンク 122 に貯留される。

[0053] <異物除去工程>

次に、糖液 104 は、MF 膜 113a を備えた異物除去部 113 によりさらに残存する水難溶性発酵阻害物質を含むリグニン等固形残渣 111 等の異物が膜分離され、その後糖液 104 は希釈槽 132 に貯留される。

除去されない異物を含む糖液 104 は、第 1 の糖液タンク 121 又は第 2 の糖液タンク 122 に戻すようにしている。

[0054] <糖液希釈工程>

次に、水難溶性発酵阻害物質を除去した糖液 104 は、希釈槽 132 で水（RO 水）131 が添加されて希釈水 133 を得る。

[0055] <糖濃縮工程>

次に、希釈水 133 は、RO 膜 116a を備えた水分分離部 116 により水 114 が除去され、濃縮糖液 115 を得る。

[0056] また、糖液精製手段 110 で精製され、水難溶解性物質等を除去した濃縮糖液 115 の濁度又は吸光度のいずれか一方又は両方を測定する第 1 の測定部（例えば濁度計及び／又は吸光度計）を有するようにしてもよい。

[0057] ここで、第 1 の測定部で濁度及び／又は吸光度を測定する目的は、濃縮糖液 115 の不純物除去の度合い（糖液 104 の清澄度の目安）を監視するためである。

[0058] この結果、濃縮糖液 115 中に水難溶解性物質等が十分除去されていることの確認が可能となり、これにより、清澄の程度により、濁度計及び／又は吸光度計で糖液 104 の品質管理ができることとなる。

[0059] また、第１の測定部において、糖液１０４が十分清澄であることが把握されているため、後工程の酵母１４２等の増殖による清澄の程度の変化、すなわち、清澄の程度の増減により、第２の測定部において発酵工程のエタノール製造プロセス管理ができることとなる。

[0060] ＜発酵工程＞

次に、前記糖液精製手段１１０で精製され、濃縮糖液１１５が発酵タンク１４１に導入され、酵母１４２が添加され、発酵工程における例えばアルコール発酵がなされる。

なお、図１中、符号 $M_1 \sim M_3$ は、酵素糖化槽１０３及び第１～第２の糖液タンク１２１～１２２の攪拌手段を駆動するモータ、 M_5 は、発酵タンク１４１を攪拌する攪拌手段を駆動するモータ、 $P_1 \sim P_3$ は、糖液１０４を送液する送液ポンプ、 P_5 は、エタノール発酵液１４３を送液する送液ポンプを各々図示する。

[0061] 以上述べたように、本実施例によれば、バイオマス原料を高温・高圧条件で分解した際に発生するバイオマス高温処理液１０１Ａに含まれる水難溶性発酵阻害物質等を糖液精製手段１１０により除去することで、不純物の少ない糖液を得ることができ、その後のアルコール発酵工程での発酵処理における発酵阻害の抑制を図ることができ、良好な発酵を行うことができる。

実施例 ２

[0062] 次に、バイオマスを原料とする発酵装置について、図面を参照して説明する。

図２は、実施例２に係るバイオマスを原料とする発酵装置の概略図である。なお、実施例１の装置と同一部材については、同一符号を付してその説明は省略する。

図２に示すように、バイオマスを原料とする発酵装置２００Ｂは、図１に示す実施例１と異なる構成の糖液精製手段１１０を設けたものである。

図２に示す糖液精製手段１１０は、酵素糖化槽１０３から抜き出した糖液１０４を貯留する糖液精製槽１５１と、前記糖液精製槽１５１からの第１の

循環ライン L_1 に介装され、抜き出した糖液104から水難溶性発酵阻害物質（リグニン等固形残渣111）を除去する固液分離装置（例えば遠心分離）112と、前記糖液精製槽151からの第2の循環ライン L_2 に介装され、抜き出した糖液104から水難溶性発酵阻害物質を除去する精密濾過（Microfiltration: MF）膜113aを備えた異物除去部113とを有するものである。

なお、図2中、符号 M_6 は、糖液精製槽151の攪拌手段を駆動するモータを図示する。

[0063] 実施例1の糖液精製手段110においては、順次膜処理を行っていたが、実施例2の糖液精製手段110では、糖液精製槽151において、二つの循環ライン（第1の循環ライン L_1 及び第2の循環ライン L_2 ）を有しているので、水難溶性発酵阻害物質（リグニン等固形残渣111）の濃度の状況に応じた処理を行うことができる。

[0064] すなわち、水難溶性発酵阻害物質（リグニン等固形残渣）の割合が所定値よりも高い場合には、第1の循環ライン L_1 及び第2の循環ライン L_2 との併用処理を行い、水難溶性発酵阻害物質を除去するようにしている。

なお、水難溶性発酵阻害物質が少ない場合には、第2の循環ライン L_2 を用いての膜処理のみを行うことができる。なお、必要に応じて固液分離処理を行うようにしてもよい。

実施例 3

[0065] 次に、本発明に係るバイオマスを原料とした発酵装置について、図面を参照して説明する。

図3は、実施例3に係るバイオマスを原料とした発酵装置の概略図である。なお、実施例1及び2の装置と同一部材については、同一符号を付してその説明は省略する。

図3に示すように、バイオマスを原料としたアルコール発酵装置200Cは、実施例2の糖液精製手段110における前記酵素糖化槽103と前記糖液精製槽151とを一体化した糖液精製槽161としている。

図中、符号M₇は、糖液精製槽161の攪拌手段を駆動するモータを図示する。

[0066] これにより、実施例2においては、酵素糖化槽103と糖液精製槽151を別々に設置していたが、本実施例ではこれらを一体化することで、設置スペースの省略化を図ることができる。

[0067] [試験例1]

＜水難溶性発酵阻害物の確認試験＞

冷却したバイオマス高温処理液と各種溶媒とを1対9の割合で混合し、高速液体クロマトグラフィー装置を用いて、その確認を行った。

[0068] バイオマス高温処理液は、図7に示す水熱分解装置50を用い、稲藁を180℃の加圧条件下で水熱分解させたものであり、その熱水排出液101Aを用いた。

[0069] 用いた溶媒は、アセトニトリル、アセトン、メタノールであり、いずれも極性溶媒である。また比較例として、「Milli-Q」（商品名）で濾過した純水を用いた。

[0070] 操作は、これらの溶剤及び水に対して、冷却後のバイオマス高温処理液を混合し、冷蔵庫（4℃）内で一晩静置した。

その後、遠心分離操作（15,000rpm、10分、4℃）を行い、その上澄み液を回収して、フィルター（0.45μm）で処理した。

[0071] このフィルター処理した後の試験液（試験1-1：アセトニトリル、試験1-2：アセトン、試験1-3：メタノール、試験1-4：純水）を高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により分析した。

用いたカラムは、ODSカラム（synergi 4μ Hydro-RP80A 4.6×250mm：Phenomenex社製）を用いた。

溶離液は、水-アセトニトリル溶剤で、アセトニトリルの濃度を8%から100%にグラジエント処理した。

検出波長は220nmとした。

[0072] この結果を図4及び表1に示す。

[0073] [表1]

(表1)

	フルフラール	未知ピーク(RT22.6min,アセニトリル55%)
(1-1)アセトニトリル	2469009	160550
(1-2)アセトン	2513992	157743
(1-3)メタノール	2428062	145366
(1-4)純水	2433687	22275

[0074] 図4は、高速液体クロマトグラフィーの計測チャートである。

図4及び表1に示すように、既知の発酵阻害物質であるHMF（5-ヒドロキシメチルフルフラール：溶離時間が6.5分付近）、フルフラール（溶離時間が10.5分付近）については、試験1-1～1-4の全てにおいて検出された。

これに対し、溶離時間が22.6分付近において、試験1-1～1-3では未知の成分が確認された。なお、試験1-4ではこの未知のピーク成分は検出されなかった。

よって、バイオマス高温処理液中には、水難溶性の物質が混在していることが判明した。

[0075] [試験例2]

<水難溶性発酵阻害物の有無による発酵試験>

冷却後のバイオマス高温処理液を用いた糖化液用いて、発酵を行い、この発酵の際におけるCO₂の減少量を比較した。

[0076] 使用菌株は、ピキア・スティピティス NBRC1687（標準株）を用いた。

前培養条件は、培地として10mL YPD（1% イースト抽出液、2%ペプトン、2%グルコース）を用いて、30℃、120rpmで振とう培養した。

発酵は、前発酵した液をフィルター（0.45μm）で濾過したものと、該フィルター（0.45μm）で濾過しないものとを準備し、発酵を行った

。

エタノール発酵条件は、発酵液100 mLとし30℃で120 rpm振とう培養を行った。

[0077] 発酵条件及び試験結果を表2及び表3に示す。

[0078] [表2]

(表2)

試験No	溶媒	フィルター (0.45nm)	栄養源、最終糖濃度			
			Yeast ex.* (%)	CSL* (%)	Glucose (%)	Xylose (%)
(2-1)	バイオマス 高温処理 からの糖液 (C5糖)	なし	0	0	7.2	8.5
(2-2)		あり				
(2-3)		なし	1.0	1.0		
(2-4)		あり				

条件 発酵液100 mL, 30℃, 120 rpm 振盪培養

*Yeast ex.: Yeast extract

*CSL: Corn steep liquor

使用菌株 *Pichia stipitis* NBRC1687(標準株)

前培養条件 培地 10 mL YPD (1% Yeast ex.*, 2% Peptone, 2% Glucose)

条件 30℃, 120 rpm 振盪培養

[0079] [表3]

(表3) 最終Glucose, Xylose, EtOH濃度

試験No.	Glucose (%)	Xylose (%)	EtOH (%)	発酵効率 (%)
(2-1)	5.9	7.2	N.D.	0
(2-2)	3.7	7.1	0.9	11
(2-3)	5.4	7.4	N.D.	0
(2-4)	N.D.	5.0	3.0	38

N.D.:Not Detected

[0080] 図5及び図6は、エタノール発酵試験における二酸化炭素の減少量の結果を示す図である。横軸は時間であり、縦軸はCO₂減少量である。

- [0081] 図5及び図6に示すように、発酵試験の結果、試験2-1（栄養源なし、フィルターなし）の場合に対して、試験2-2（栄養源なし、フィルターあり）の場合には、約90時間経過前後から、二酸化炭素の減少量に差が現れた。
- [0082] 試験2-3（栄養源あり、フィルターなし）の場合に対して、試験2-4（栄養源あり、フィルターあり）の場合には、約20時間経過前後から、二酸化炭素の減少量に差が現れ、その後大幅に減少量が拡大された。
- [0083] また、試験2-2の発酵効率は11%、試験2-4の発酵効率は38%であった。
- [0084] よって、フィルター（0.45 μm ）を用いて処理することにより、水難溶性発酵阻害物質の除去がなされ、発酵が良好に行われることを確認した。
- [0085] このように、水難溶性発酵阻害物質を糖液精製手段により除去することで、不純物の少ない糖液を得ることができ、後工程でのアルコール発酵処理における発酵阻害の大幅な抑制ができることが判明した。

符号の説明

- [0086] 50 水熱分解装置
- 51 バイオマス原料
- 52 バイオマス供給部
- 53 装置本体
- 54 搬送スクリー手段
- 55 加圧熱水
- 56 バイオマス固形分
- 57 バイオマス拔出部
- 90 冷却手段
- 101A バイオマス高温処理液（熱水排出液）
- 101B 冷却された処理液
- 102 酵素
- 103 酵素糖化槽

1 0 4 糖液

1 1 0 糖液精製手段

1 4 1 発酵タンク

1 4 2 酵母

2 0 0 A ~ 2 0 0 C バイオマスを原料としたアルコール発酵装置

請求の範囲

- [請求項1] 少なくともセルロース、ヘミセルロース及びリグニンを含むバイオマス原料と加圧熱水とを対向接触させつつ180℃～240℃の温度範囲で高温高圧処理する水熱分解装置と、
- 前記装置で排出したバイオマス高温処理液を冷却する冷却手段と、
- 冷却された処理液を用いて酵素により糖化する酵素糖化槽と、
- 前記酵素糖化槽から抜き出した糖液に含まれる水難溶性発酵阻害物質を除去する固液分離装置と、
- 精密濾過（Microfiltration：MF）膜を備えた異物除去部と、
- 前記異物除去部の後流側に設けられ、水難溶性発酵阻害物質を除去した糖液に水を添加して希釈する希釈槽と、
- 希釈した糖液から水を除去して、濃縮糖液を得る逆浸透（Reverse Osmosis：RO）膜を備えた水分分離部と、
- 前記濃縮糖液を用いて発酵を行う発酵槽とを有するバイオマスを原料とする発酵装置。
- [請求項2] 請求項1において、
- 前記酵素糖化槽から抜き出した糖液を貯留する糖液精製槽と、
- 前記糖液精製槽からの第1の循環ラインに介装され、抜き出した糖液から水難溶性発酵阻害物質を除去する固液分離装置と、
- 前記糖液精製槽からの第2の循環ラインに介装され、抜き出した糖液から水難溶性発酵阻害物質を除去する精密濾過（Microfiltration：MF）膜を備えた異物除去部とを有することを特徴とするバイオマスを原料とする発酵装置。
- [請求項3] 請求項2において、
- 前記酵素糖化槽と前記糖液精製槽とを一体化してなることを特徴とするバイオマス高温処理液を用いたバイオマスを原料とする発酵装置。

[請求項4] 請求項3において、

前記異物除去部で処理され、水難溶性物質を除去した糖液に水を添加して希釈する希釈槽と、水希釈糖液から水を分離する逆浸透（RO）膜を有する水分分離部とを有することを特徴とするバイオマスを原料とする発酵装置。

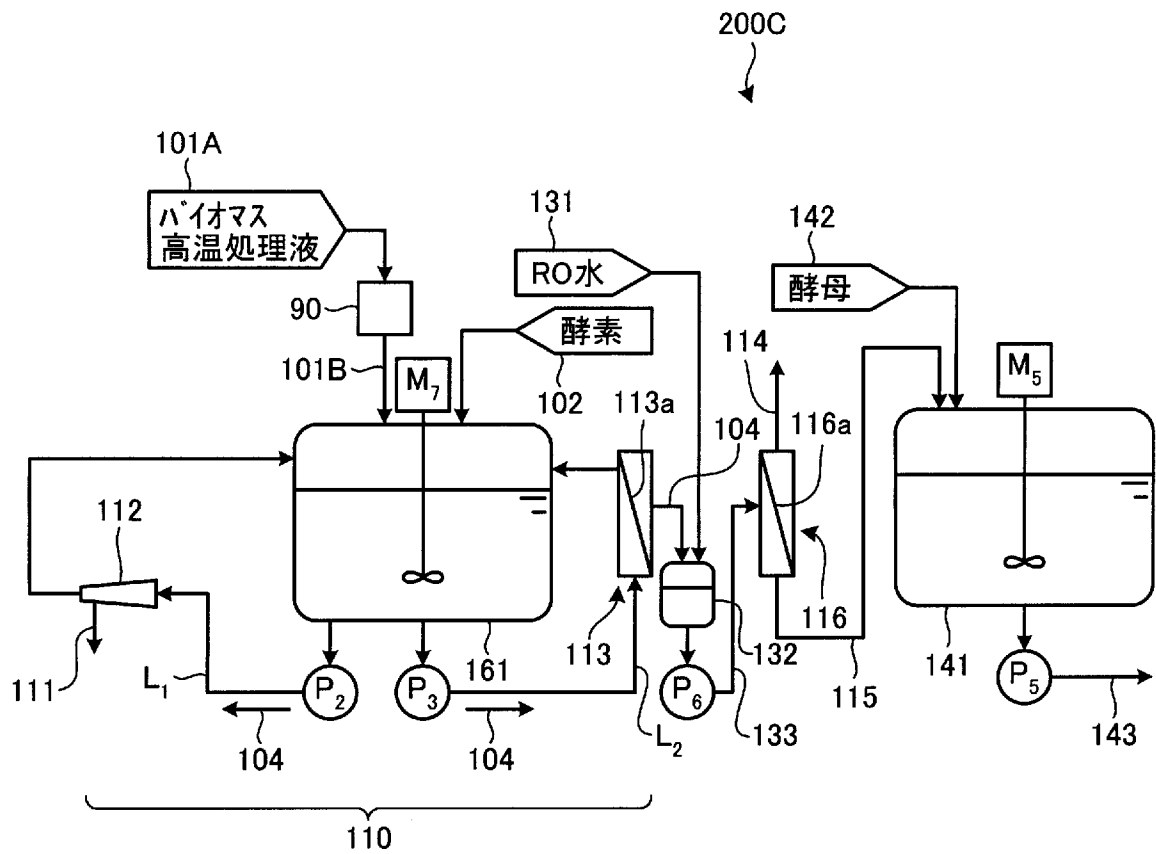
[請求項5] 請求項1乃至4のいずれか一つにおいて、

水難溶解性発酵阻害物質を除去した糖液の濁度又は吸光度のいずれか一方又は両方を測定する第1の測定部を有することを特徴とするバイオマスを原料とする発酵装置。

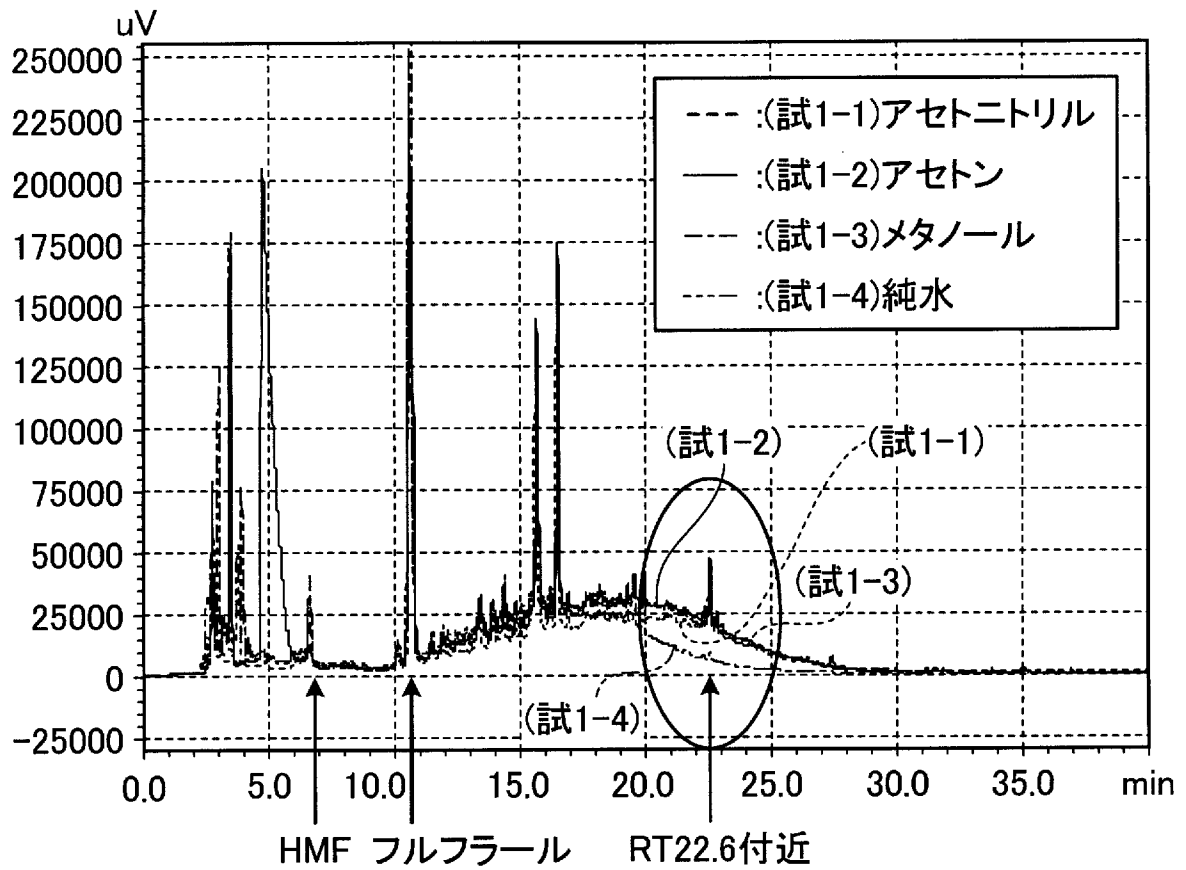
[請求項6] 請求項5において、

さらに酵母を添加した後の糖液の濁度又は吸光度のいずれか一方又は両方を測定する第2の測定部を有することを特徴とするバイオマスを原料とする発酵装置。

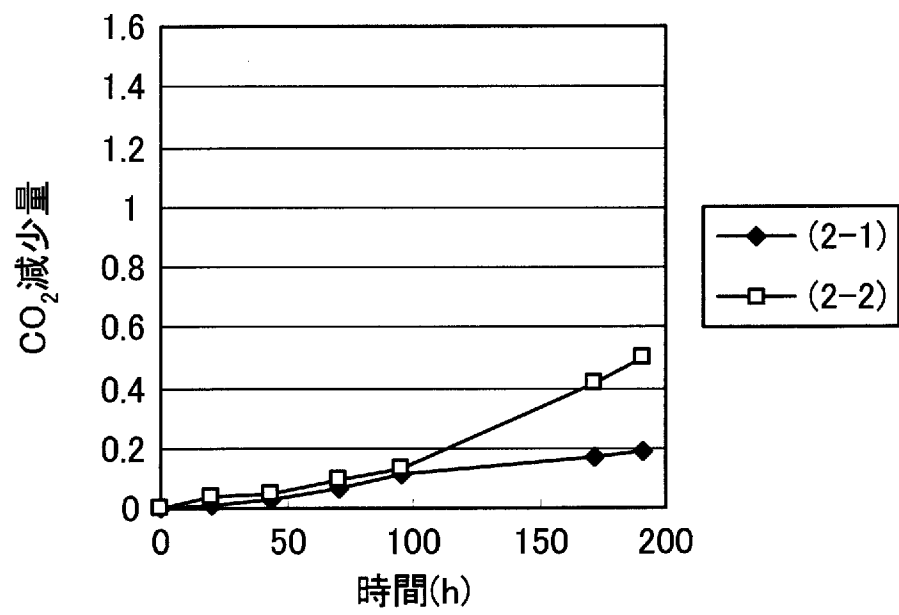
[図3]



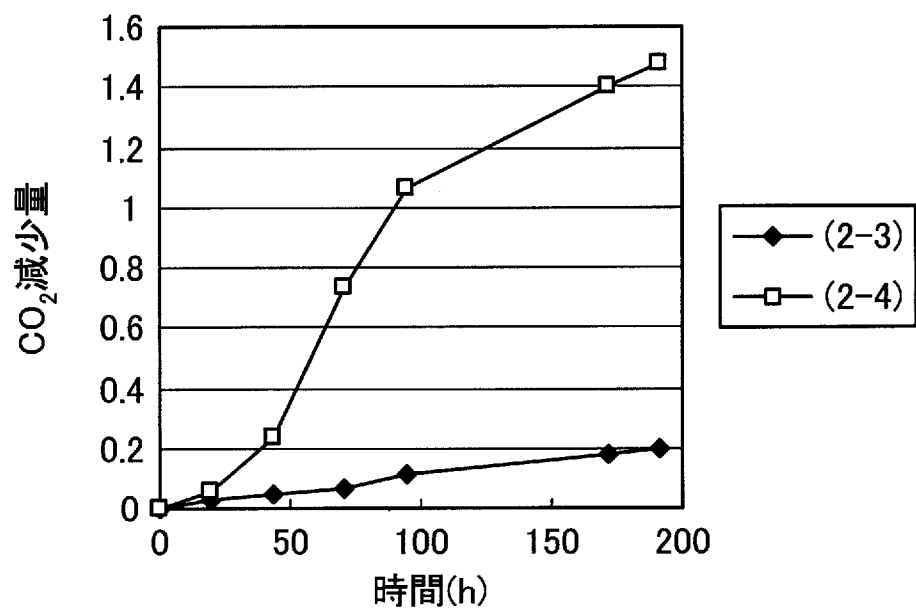
[図4]



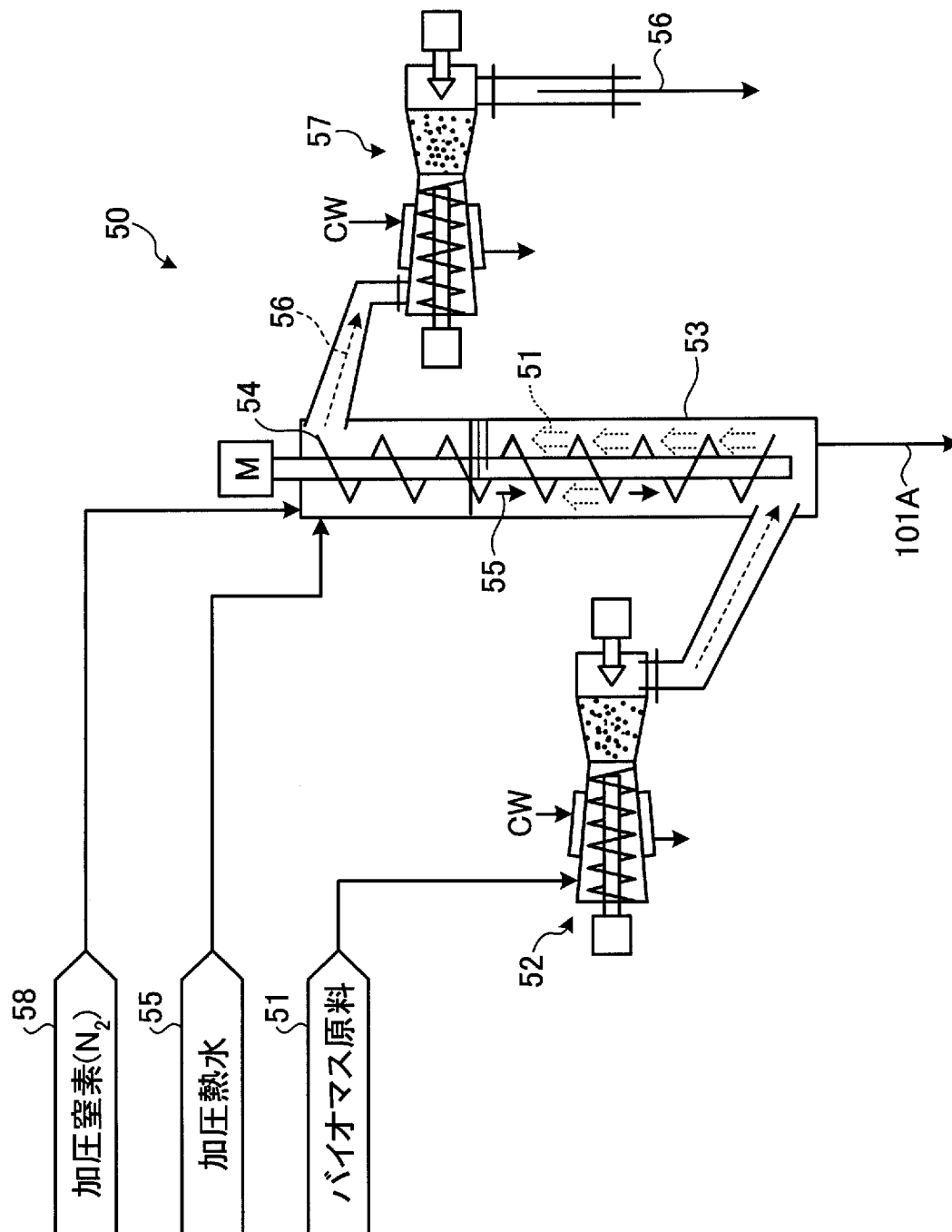
[図5]



[図6]



[図7]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/057566

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M1/00(2006.01) i, C13B20/16(2011.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12M1/00, C13B20/16

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2012
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2012	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2012

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 2009-183805 A (Mitsubishi Heavy Industries, Ltd.), 20 August 2009 (20.08.2009), claims; example 3 & US 2010/0285574 A1 & WO 2009/096062 A1	1-6
Y	JP 2009-183154 A (Mitsubishi Heavy Industries, Ltd.), 20 August 2009 (20.08.2009), claims; paragraphs [0057], [0058], [0087] & US 2010/0184176 A1 & WO 2009/096060 A1	1-6
Y	WO 2009/110374 A1 (Toray Industries, Inc.), 11 September 2009 (11.09.2009), claims; paragraphs [0020], [0043], [0045], [0047]; examples & EP 2251427 A1 & WO 2009/110374 A1	1-6

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date

“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
17 May, 2012 (17.05.12)

Date of mailing of the international search report
12 June, 2012 (12.06.12)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2012/057566

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2010/067785 A1 (Toray Industries, Inc.), 17 June 2010 (17.06.2010), claims 1, 5; paragraphs [0004], [0005], [0036], [0049], [0051], [0069], [0084] & EP 2371973 A1 & WO 2010/067785 A1	1-6
P,Y	JP 2011-223975 A (Toray Industries, Inc.), 10 November 2011 (10.11.2011), claims; fig. 1 to 4 (Family: none)	1-6
P,Y	JP 2011-205987 A (Toray Industries, Inc.), 20 October 2011 (20.10.2011), claims; fig. 1 (Family: none)	1-6
P,Y	WO 2011/111451 A1 (Toray Industries, Inc.), 15 September 2011 (15.09.2011), claims; paragraph [0087]; examples (Family: none)	1-6

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. C12M1/00(2006.01)i, C13B20/16(2011.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (I P C))

Int.Cl. C12M1/00, C13B20/16

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1 9 2 2 - 1 9 9 6 年
日本国公開実用新案公報	1 9 7 1 - 2 0 1 2 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 2 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 2 年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
Y	JP 2009-183805 A (三菱重工業株式会社) 2009.08.20, 【特許請求の範囲】、実施例 3 & US 2010/0285574 A1 & WO 2009/096062 A1	1-6
Y	JP 2009-183154 A (三菱重工業株式会社) 2009.08.20, 【特許請求の範囲】、【0 0 5 7】、【0 0 5 8】、【0 0 8 7】 & US 2010/0184176 A1 & WO 2009/096060 A1	1-6
Y	WO 2009/110374 A1 (東レ株式会社) 2009.09.11, 【特許請求の範囲】、【0 0 2 0】、【0 0 4 3】、【0 0 4 5】、【0 0 4 7】、実施例 & EP 2251427 A1 & WO 2009/110374 A1	1-6

☒ C 欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の 1 以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

1 7 . 0 5 . 2 0 1 2

国際調査報告の発送日

1 2 . 0 6 . 2 0 1 2

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (I S A / J P)

郵便番号 1 0 0 - 8 9 1 5

東京都千代田区霞が関三丁目 4 番 3 号

特許庁審査官 (権限のある職員)

神谷 昌男

4 B

4 5 0 3

電話番号 0 3 - 3 5 8 1 - 1 1 0 1 内線 3 4 4 8

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
A	W0 2010/067785 A1 (東レ株式会社) 2010.06.17, 【請求項1】、【請求項5】、【0004】、【0005】、【0036】、【0049】、【0051】、【0069】、【0084】 & EP 2371973 A1 & W0 2010/067785 A1	1-6
PY	JP 2011-223975 A (東レ株式会社) 2011.11.10, 【特許請求の範囲】、図1－図4 (ファミリーなし)	1-6
PY	JP 2011-205987 A (東レ株式会社) 2011.10.20, 【特許請求の範囲】、図1 (ファミリーなし)	1-6
PY	W0 2011/111451 A1 (東レ株式会社) 2011.09.15, 【特許請求の範囲】、【0087】、実施例 (ファミリーなし)	1-6