

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第4792509号
(P4792509)

(45) 発行日 平成23年10月12日(2011.10.12)

(24) 登録日 平成23年7月29日(2011.7.29)

(51) Int.Cl.	F I
C 1 3 K 13/00 (2006.01)	C 1 3 K 13/00 1 0 1
B 0 1 D 61/44 (2006.01)	C 1 3 K 13/00
C 1 2 P 19/02 (2006.01)	B 0 1 D 61/44 5 0 0
	B 0 1 D 61/44 5 1 0
	B 0 1 D 61/44 5 2 0
請求項の数 6 (全 16 頁) 最終頁に続く	

(21) 出願番号	特願2008-557221 (P2008-557221)	(73) 特許権者	508089369
(86) (22) 出願日	平成20年1月25日(2008.1.25)		シージェイ チェイルジェダン コープ.
(65) 公表番号	特表2009-520504 (P2009-520504A)		大韓民国, ソウル 100-802, ジュ
(43) 公表日	平成21年5月28日(2009.5.28)		ン-グ, ナムダエムンノ 5-ガ, 500
(86) 国際出願番号	PCT/KR2008/000457		, シージェイ ビーエルディージー.
(87) 国際公開番号	W02008/096971	(74) 代理人	100088904
(87) 国際公開日	平成20年8月14日(2008.8.14)		弁理士 庄司 隆
審査請求日	平成20年6月18日(2008.6.18)	(72) 発明者	パーク, セウン-ウォン
(31) 優先権主張番号	10-2007-0013795		大韓民国, 446-911 ジェオンギー
(32) 優先日	平成19年2月9日(2007.2.9)		ド ヨンギン-シ, グセオン-ユップ, ド
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		ンバエクーリ, ワールドメルディアン 1
(31) 優先権主張番号	10-2007-0072682		603-403
(32) 優先日	平成19年7月20日(2007.7.20)		
(33) 優先権主張国	韓国 (KR)		
前置審査			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 熱帯果物バイオマス副産物から製造されたキシロースとアラビノースとを含む加水分解糖化液を用いたキシリトールの製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

熱帯果物バイオマスを酸加水分解する段階と、
前記酸加水分解によりキシロース及びアラビノースを含む加水分解糖化液を得る段階と、
前記加水分解糖化液を、沈殿法と電気透析工法とイオン交換法を順に利用して分離精製する段階と、
を含むことを特徴とする、キシロースとアラビノースとを含む加水分解糖化液の製造方法。

【請求項 2】

前記熱帯果物バイオマスが、ココナッツ殻(Coconut shell)またはパーム殻(Palm shell)またはパームオイル副産物(Oil Palm Empty Fruit Bunch ; OPEFB)であることを特徴とする、請求項 1 に記載の加水分解糖化液の製造方法。

【請求項 3】

前記酸加水分解を、酸濃度 0.2 ~ 5%、温度 100 ~ 200、及び 30分 ~ 10時間の範囲で行うことを特徴とする、請求項 1 に記載の加水分解糖化液の製造方法。

【請求項 4】

前記電気透析工法が、イオン交換膜、電極板、流量調節ポンプ及び整流器を含んで構成される電気透析装置を用いることを特徴とする、請求項 1 に記載の加水分解糖化液の製造方法。

【請求項 5】

前記イオン交換膜が、陽イオン交換膜と陰イオン交換膜から構成されることを特徴とする、請求項 4 に記載の加水分解糖化液の製造方法。

【請求項 6】

請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 つの製造方法を含み、当該方法により製造された加水分解糖化液を醗酵する段階を含むことを特徴とする、キシリトールの製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、熱帯果物バイオマスの酸加水分解により製造されたキシロースとアラビノースを含む加水分解糖化液を利用して、キシリトールを製造する方法に関する。さらに詳細には、本発明は、ココナッツ殻、パーム殻、パームオイル副産物(Oil Palm Empty Fruit Bunch; 以下、OPEFBという)のような熱帯果物バイオマスの有効利用のための前処理方法として、酸(0.2~5%)加水分解及び電気透析(ED; Electrodialysis)、イオン精製によりキシロースとアラビノースを製造する方法と、これらが含まれている加水分解糖化液を炭素源として利用し、繰り返し回分式発酵工程により、高い収率のキシリトールを製造する方法に関する。付加的には、キシロースとアラビノースの製造時に生じる副産物である熱帯果物皮の加水分解残余物を、一定温度で炭化及び活性化して製造された活性炭(active carbon)及びその製造方法に関する。

10

【背景技術】

【0002】

キシリトールは、植物性原料である白樺、トウモロコシの穂軸などのヘミセルロース加水分解物を化学的に還元させるか、微生物を用いた生物学的転換により、産業的に生産している。しかしながら、化学的方法は、キシロースまたはキシリトールとヘミセルロース部分から生じる他の加水分解物との分離及び精製が難しく、その収率も50~60%程度と低くて、かつアルカリを利用した高温高圧の反応であるため、危険性と廃棄物の問題が存在する短所がある。

20

【0003】

現在の化学工程による生産方法に対し、価額競争力を持てると予測される代替生物学的方法の一つとして、一定量以上の糖分が含有された再生資源を利用して、生物学的な方法によりキシリトールを生産することができれば、生産コストの節減及び資源の再活用という側面で脚光を浴びられると思われるが、未だ、再生資源を用いた生物学的な方法によるキシリトールの生産方法に対する満足する研究はなされていないのが現状である。また、繊維性バイオマスから高効率の糖化工程を開発するために、数多い研究が進行されてきたが、そのほとんどが、組織の柔軟な稲わら、トウモロコシの茎などを使用している。

30

【0004】

バイオマス(biomass)は、エネルギー専用の作物と木、農産品と飼料作物、農作廃棄物と滓、林産廃棄物と屑、水草、動物の排泄物、都市ゴミ、その他の廃棄物から抽出された再生可能な有機物質であって、現在エネルギー源として使用されている木材、植物、農・林産副産物、都市ゴミと産業廃棄物内の有機成分などをいう。

【0005】

自然界の繊維性バイオマス(Fibrous biomass)の中、草木は、葉、茎、根などであって、セルロース、ヘミセルロース(hemicellulose)、リグニン(lignin)、の三つの主成分及びその他の樹脂などから構成されている。これらを分解あるいは転換して、経済的且つキシロース含量の高い再生資源である繊維素系糖化液を得ることができて、また、キシロース生産から生じるアラビノース(arabinose)の生産も可能である。したがって、これらの三つの成分を分離、分解して利用するためには、まず、これらの間の結合を破壊、分解して、転換反応を行わなければならない。

40

【0006】

今までキシロースは、木材、稲わら、トウモロコシの穂軸などに存在するヘミセルロースから酸加水分解されて、脱色及びイオン精製、結晶化工程により製造されてきた。このよ

50

うな酸加水分解を通じて得られる加水分解糖化液には、キシロースとアラビノースの他にも、多量の無機イオンが存在して、これらの無機イオンを精製するための工程が要求されている。

【0007】

従来の糖化液から、キシロースを含む有用糖成分を精製する方法は、酸加水分解糖化液中に中和剤を添加し、pHを3.0～7.0に調整して、沈殿物を形成させて、沈殿された塩をろ過器(filter)を通じて分離した後、活性炭処理などにより色度物質を除去し、陽イオン交換樹脂と陰イオン交換樹脂と混合樹脂が充填されたイオン交換樹脂塔を順に通過させることにより、糖化液からキシロースを含む有用糖成分を分離し出す方法が通常的に使用された。

10

【0008】

このような工程において、加水分解液内に存在していたイオン成分が全てイオン交換樹脂に結合されると、酸と塩基を通過させて、イオン交換樹脂に吸着されたイオン成分を脱離し、樹脂を再生するようになる。イオン交換樹脂塔で精製された有用糖類を含有する前記溶液は、ジビニルベンゼンが架橋された硫酸化ポリスチレン形態のNa⁺イオン型クロマトグラフィ分離用樹脂を充填した分離塔に通液させて、キシロース高含有液分画とアラビノース分画との二つの分画に分離することができる。分画されたキシロースとアラビノースをブリックス(Brix)60～80により濃縮した後、それぞれ結晶化して、キシロース結晶とアラビノース結晶を得ることができる。

【0009】

前記精製方法において、沈殿法は、溶液内に存在する無機イオンと不溶性塩を形成できる化学物質を添加した後、沈殿された塩をろ過器(filter)により分離し、塩濃度を低める方法であるが、沈殿にならずに残留する少量の塩が後続の濃縮工程で析出されスケールを形成することにより、生産性が落ちてしまう問題点がある。また、以上のようにイオン交換樹脂法による精製は、酸加水分解液など、総イオン含量の高いサンプルを処理するためには、多量のイオン交換樹脂が必要であり、イオン交換樹脂の再生過程において、多量の酸/アルカリ溶液が使用されることにより、高濃度塩を含有する廃水の発生が増加するにつれて、廃水処理に対する負担を加重させている。したがって、化学物質の使用量と廃水の発生量を低減できる代替技術の開発が求められている。

20

【0010】

また他の精製方法として、電気透析法(ED; Electrodialysis)がある。電気透析法は、直流電圧を利用してコロイドなどの溶液に含まれた不純物を除去、精製する方法であって、イオン交換膜(ion-exchange membrane)を主に利用する。

30

【0011】

従来の電気透析工程の商業的利用には、高いエネルギー(電力)費用と高価のイオン交換膜の使用という経済的な制限要素があった。しかし、1980年代以後、多様なイオン交換膜の開発がなされ、日本の旭ケミカル(Asahi Chemical)、旭硝子(Asahi Glass)、株式会社トクヤマ(Tokuyama Co.)、及び米国のアイオニクス(Ionics)、デュボン(Dupont)などから50余種のイオン交換膜が製造されつつ、工程が経済性を持つようになった。電気透析技術を利用して出願された特許技術は、「有機酸の回収方法」(大韓民国特許出願第1998-53421号)、「電気透析によるリジンの回収及びリジン-塩酸塩の製造方法」(大韓民国特許出願第1998-11107号)、「電気透析を利用したフェニルアラニン分離精製方法」(大韓民国特許出願第1999-1349号)、「電気透析工程による乳酸回収方法」(大韓民国特許出願第2000-28758号)、「電気透析によるアミノ酸含有溶液の精製方法」(大韓民国特許出願第2002-7005661号)などがあると知られている。

40

【0012】

一方、一般に有機物は、炭素(C)が含まれているため、燃焼され得て、燃焼され得る物質なら何でも活性炭の原料となりえる。主に使用される原料としては、木材、褐炭、無煙炭などがあって、これを炭化させて炭を製造することにより、活性炭を生産する。炭は、木材が炭化される過程で、不完全酸化により炭素が主成分となり、木材の種類と焼く温度に

50

よって、炭の形態が定められる。原料となる木材としては、オーク、竹、広葉樹、ヤシの木、ヤシの実などを含む木が利用されて、特にオークで作った炭が、広葉樹、竹、ヤシの木、ヤシの実で作った炭に比べ、浄水、浄化、燃料、園芸作物などに対し処理効果がよいと知られている。

【 0 0 1 3 】

活性炭の製造時、最も重要な工程は、炭化工程と活性化工程であって、炭化工程は、原料を約 5 0 0 ~ 7 0 0 程度に加熱すると、脱水、脱酸などの分解が起こって、表面酸素が水、一酸化炭素、二酸化炭素などの形態として放出され、揮発分が除去される工程であって、固定炭素が残るようになる。活性化工程は、8 0 0 ~ 1 , 0 0 0 の温度範囲で起こる炭素の酸化反応により炭化物の表面を浸食させて、炭化物の微孔構造を発達させる工程である。

10

【 0 0 1 4 】

熱帯果物のバイオマスを活用して炭を製造することに関する特許としては、大韓民国特許公開 2 0 0 2 - 9 5 8 0 9 号「ヤシ炭とその製造方法」、大韓民国特許公開 2 0 0 0 - 5 5 0 0 3 号「天然ヤシの実を利用した黄土炭及びその製造方法」、大韓民国特許公開 2 0 0 0 - 1 2 8 2 5 号「ヤシ炭粉を利用した成形炭の製造方法」、大韓民国特許公開 2 0 0 5 - 3 1 3 1 0 号「ヤシ炭粉を利用した着火炭及びその製造方法」など、ヤシ炭粉を原材料として多様な圧着成形炭に活用できることを示す特許などがあるが、熱帯果物のバイオマスからキシロースを抽出して残った残余物を活用して炭を製造し、ひいては高付加価値の活性炭を製造することに関する特許は、未だ出されていない。

20

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【 0 0 1 5 】

前記従来技術において、沈殿法工程は、スケールの発生による生産性低下を招来する可能性がある。また、酸処理して得られた酸加水分解液内の無機塩類及び有機酸などは、電氣的に電荷を帯びるようになるため、イオン交換樹脂法を利用して除去することができるが、このような酸加水分解液に存在する多量のイオン成分をイオン交換樹脂工法で除去するためには、頻繁な樹脂再生及びこれによる多量の酸/アルカリ再生廃液発生による廃水処理費用の増加などの問題点がある。

【 0 0 1 6 】

本発明の目的は、熱帯果物バイオマスであるココナッツ殻、ヤシ殻及び O P E F B などに存在するキシロースなどの成分を効率的に利用するための方法として、原料の酸加水分解、電気透析、イオン精製及び脱色などにより製造されたキシロースとアラビノースを含む効率的な加水分解糖化液の製造方法を提供して、この糖化液から微生物発酵によりキシリトールを製造する方法を提供することにある。

30

【 0 0 1 7 】

本発明の他の目的は、前記糖化液を製造する工程で生じる副産物である加水分解残余物を利用して、炭化工程及び活性化工程などを通じて製造された活性炭及び活性炭製造方法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

40

【 0 0 1 8 】

本発明は、熱帯果物バイオマスであるココナッツ殻、ヤシ殻及び O P E F B (Oil Palm Empty Fruit Bunch) を酸加水分解する段階と、前記酸加水分解によりキシロース及びアラビノースを含む加水分解糖化液を得る段階と、前記加水分解糖化液を、電気透析装置または電気透析工法を利用して分離精製する段階とを含む、キシロースとアラビノースとを含む加水分解糖化液の製造方法を提供する。

【 0 0 1 9 】

また、本発明は、キシリトール発酵微生物を前記キシロースとアラビノースを含む糖化液に適応させる段階と、前記糖化液を炭素源として含む培養培地にキシリトール発酵微生物を接種して発酵させる段階とを含むことを特徴とするキシリトールの製造方法を提供する

50

。

【0020】

また、本発明は、熱帯果物バイオマスであるココナッツ殻、ヤシ殻などから、酸加水分解方法によりキシロースとアラビノースを含有する糖化液を製造する工程で発生される副産物であるココナッツ殻あるいはヤシ殻などの加水分解残余物を利用して、炭化工程及び活性化工程などを通じての活性炭の製造方法を提供する。

【発明の効果】

【0021】

本発明では、熱帯果物皮バイオマスから、機能性糖であるキシロースとアラビノースを、電気透析法を導入して効率的に製造することができることを確認した。また、前記キシロースとアラビノースを含む加水分解糖化液を収得して、これを炭素源として利用して培養を済ませた後、減圧微細ろ過生物反応器で菌体を濃縮し、濃縮された菌体を再使用することにより、キシロース溶液から高い収率のキシリトールを反復的に得ることができることを確認した。また、付加的に、キシロースとアラビノースの製造時に発生する副産物である加水分解残余物を炭化させて活性化させることにより、良質の炭化物を製造して、廃棄物処理が容易になり、且つ廃棄物処理による費用を節減することができることを確認した。

【0022】

したがって、本発明により、安価のバイオマスを活用して、競争力のある高付加価値の機能性糖であるキシロースとアラビノース、キシリトールを効率的に生産することができる

。

【発明を実施するための最良の形態】

【0023】

本発明は、熱帯果物バイオマスであるココナッツ殻、ヤシ殻及びOPEFB (Oil Palm Empty Fruit Bunch) を酸加水分解する段階と、前記酸加水分解によりキシロース及びアラビノースを含む加水分解糖化液を得る段階と、前記加水分解糖化液を、電気透析装置または電気透析工法を利用して分離精製する段階とを含む、キシロースとアラビノースとを含む加水分解糖化液の製造方法を提供する。

【0024】

本発明に使用された熱帯果物バイオマスであるココナッツ殻、パーム殻及びEFB (Empty Fruit Bunch) は、平均面積 $0.5 \sim 5 \text{ cm}^2$ または平均長さ $0.1 \sim 5 \text{ cm}$ に粉碎した後、 $40 \sim 80^\circ\text{C}$ で $12 \sim 24$ 時間乾燥させる。

【0025】

酸加水分解は、乾燥されたココナッツ殻、パーム殻またはOPEFB (Oil Palm Empty Fruit Bunch) 100 g に $0.2 \sim 5.0\%$ 硫酸溶液 $100 \sim 1,000 \text{ g}$ を添加して、酸加水分解溶媒とバイオマスの混合比率が $1:1 \sim 1:20$ となるようにした後、反応温度 $100 \sim 200^\circ\text{C}$ 、反応圧力 $0 \sim 10 \text{ kgf/cm}^2$ で $10 \sim 50 \text{ rpm}$ で攪拌しながら、 $0.5 \sim 10$ 時間反応させることにより行われる。

【0026】

酸加水分解反応後に水層に溶解された可溶性物質を回収するために、沈殿物を除去した後、 $\text{pH } 1.0 \sim 2.0$ の酸加水分解液を炭酸カルシウムで $\text{pH } 3.0 \sim 7.0$ に調整した後、温度 $60 \sim 90^\circ\text{C}$ 、時間 $30 \sim 120$ 分の条件で攪拌を行い、酸加水分解液中の硫酸イオンをカルシウムイオンと反応して、硫酸カルシウム形態に沈澱させる。前記酸加水分解液を、熱交換機を通じて温度 30°C 以下に冷却させ、反応液内に水和された硫酸カルシウムを、温度による溶解度差により沈澱させる。前記沈澱された硫酸カルシウムを、ろ過布を使用して除去する。ろ過された反応液を、電気透析装置を利用して電気伝導度 (Conductivity) を $1,000 \mu\text{S/cm}$ 以下に脱塩させる。

【0027】

前記沈澱法を使用する時、沈澱にならずに残留する少量の塩が、後続の濃縮工程で析出されスケールを形成し、生産性を落とす可能性がある。したがって、本発明者らは、このような問題点を解決するために、電気透析 (ED; Electrodialysis) 工法を導入した。電気透析

10

20

30

40

50

工法を利用する場合、沈澱法で問題を起こすスケールが発生しないため、キシロースとアラビノースの生産性が向上し、また、糖化液に残留する総イオン量が減少し、イオン交換樹脂工法において樹脂再生回数が減って、再生過程で使用される酸/アルカリ溶液の使用を著しく減らすことができる。このような電気透析工法を利用してキシロースとアラビノースを生産する場合、廃水発生量及び生産性の向上により、生産費の節減効果も期待できる。

【0028】

好ましくは、前記電気透析装置は、イオン交換膜、電極板、流量調節ポンプ及び整流器を含む。

【0029】

前記脱塩された反応液を糖濃度25～45ブリックス(brix)に真空濃縮した後、粒状活性炭で脱色させる。この時の脱色条件は、線速度(Linear velocity; LV) = 1～3 m/h r、温度70～80 が好ましい。

【0030】

前記脱色された反応液を強酸性陽イオン交換樹脂、弱塩基性陰イオン交換樹脂、混合樹脂に順次通過させて、無機塩類及びイオン性物質を除去し、キシロース成分を主に含有して、少量のアラビノース及び5%以下の他の単糖類を含む糖化液を得ることができる。好ましくは、前記イオン交換膜は、陽イオン膜と陰イオン膜で構成される。

【0031】

また、本発明は、キシリトール発酵微生物を前記キシロースとアラビノースを含む糖化液に適應させる段階と、前記糖化液を炭素源として含む培養培地にキシリトール発酵微生物を接種して発酵させる段階とを含むことを特徴とするキシリトールの製造方法を提供する。

【0032】

本発明の加水分解糖化液は、上述した方法により得られ、別途の前処理過程(中和及びろ過、イオン交換樹脂による精製)を経て、キシリトール生産のための微生物培養培地に添加して使用する。発酵のための培養培地として、酵母抽出物、麦芽抽出物、大豆粕などの複合窒素源と KH_2PO_4 、 $\text{MgSO}_4/7\text{H}_2\text{O}$ などを含む培地を使用することが好ましい。

【0033】

本発明のキシリトール発酵微生物は、キシリトールを発酵できる微生物であれば、特に制限はないが、本発明では、カンジダトロピカリスCJ-FID(*Candida tropicalis* CJ-FID)及びその突然変異株を使用することが好ましく、これは、大韓民国特許公開2005-25059に公開されている。

【0034】

また、本発明のキシリトール発酵微生物は、前記加水分解糖化液を含む培地に微生物を10～30世代の成長期間の間、長時間培養させることにより、加水分解糖化液に適應させることを特徴とする。好ましくは、20回の継代培養を通じて、前記加水分解糖化液に適應されたキシリトール発酵微生物を使用し、キシリトールの転換収率を高めることができる。図1に示したように、加水分解糖化液にキシリトール発酵微生物を適應させるための継代培養の回数において、20回まではキシリトールの収率が増加するが、それ以上を培養しても、キシリトールの収率は大きく増加しない。したがって、継代培養は、20回ぐらいすることが経済的である。

【0035】

前記継代培養のための培地は、前記加水分解糖化液を含んだ通常的な培養培地を使用することができる。

【0036】

本発明で発酵は、単一発酵槽内で一定な濃度のキシロース糖化液を投入した後、投入されたキシロースが枯渇されると発酵を終了させる回分式発酵及び繰り返し回分式発酵工程により行うことができる。

10

20

30

40

50

【0037】

本発明の繰り返し回分式発酵工程では、前記キシリトールを発酵できる微生物を培養培地に接種して、減圧式微細ろ過生物反応器で培養する。その後、培養液は、排出して、培地は、生物反応器に連続的に注入する。前記排出された培養液は、減圧式微細ろ過管(Micro filtration system using vacuum pressure)または遠心分離機を使用して、菌体と培養濾液とに分離する。特に、自動化システムを活用するためには、減圧式微細ろ過管を使用することが好ましく、前記減圧式微細ろ過管は、生物反応器とは別に付着して使用することができ、生物反応器内に設けて使用することもできる。分離された菌体は、30～70g/lの濃度に濃縮して再接種し、加水分解糖化液を炭素源として使用し、生物反応器内で再循環させて培養をする。その後、前記培養濾液からキシリトールを回収する。

10

【0038】

一般に、微生物による方法は、その生産性が2.0～3.0g/l-hで、菌体を1回しか使用できない短所がある。そのため、菌体の損失無しに再使用できる減圧微細ろ過器を使用することにより、個別的に回分式発酵工程を数回行うことに比べ、再培養のための洗浄及び培養前段階の準備による費用の上昇がなく、高濃度培養による収率と生産性の向上により、キシリトールを経済的に生産することができる。

【0039】

また、本発明は、熱帯果物バイオマスであるココナッツ殻、ヤシ殻などから、酸加水分解方法によりキシロースとアラビノースを含有する糖化液を製造する工程で発生される副産物であるココナッツ殻あるいはヤシ殻などの加水分解残余物を利用して、炭化工程及び活性化工程などを通じての活性炭の製造方法を提供する。

20

【0040】

より具体的に、本発明の活性炭を製造する方法は、酸加水分解によりキシロース及びアラビノース成分が加水分解糖化液として抽出除去された、熱帯果物バイオマスであるココナッツ殻及びパーム殻の加水分解残余物を原料として、500～1,000で72～168時間炭化及び活性化を通じて、高純度ガス吸着用活性炭を始めとした活性炭を製造する方法を含む。

【0041】

前記加水分解残余物は、抽出過程に炭素の純度が増加し、灰分含有量が減少して、また微孔の発達により、高純度ガス吸着用のような高品質の活性炭への製造が可能である。

30

【0042】

本発明の高純度ガス級着用活性炭は、前記酸加水分解残余物を収去し、40～100で24～48時間乾燥する乾燥工程と、500～1,000で72～168時間炭化及び活性化する工程により製造される。

【0043】

本発明の活性炭は、酸加水分解を施さなかったココナッツ殻またはパーム殻を使用して製造した活性炭に比べ、著しく優れたガス吸着力を示すことが分かった(表6参照)。

【0044】

以下、実施例を通じて本発明をさらに詳細に説明するが、本発明の範囲がこれら実施例に限定されるものではない。

40

【0045】

実施例1：キシロース及びアラビノースの製造

熱帯果物バイオマスであるココナッツ殻、パーム殻及びOPEFBを、平均面積0.5～5cm²または平均長さ0.1～5cmに粉碎した後、40～80で12～24時間乾燥した。

【0046】

酸加水分解は、乾燥されたココナッツ殻、パーム殻またはOPEFB 100gに0.2～5.0%硫酸溶液100～1,000gを添加して、酸加水分解溶媒とバイオマスの混合比率が1:1～1:20となるようにした後、反応温度100～200、反応圧力0～10kgf/cm²で10～50rpmで攪拌しながら、0.5～10時間反応して行

50

った。抽出時間による糖組成比率を表 1 に示した。

【 0 0 4 7 】

【表 1】

抽出時間別糖組成比率(%)

項目	ココナッツ殻				パーム殻				OPEFB (パームオイル副産物)			
	Glu.	Xyl.	Ara.	Gal.	Glu.	Xyl.	Ara.	Gal.	Glu.	Xyl.	Ara.	Gal.
0.5時間	6.4	87.7	5.9	-	8.8	88.3	2.9	-	6.7	88.8	4.5	-
1時間	5.6	89.5	4.9	-	7.4	89.2	3.4	-	5.9	87.3	5.8	1.0
3時間	7.9	85.6	5.5	1.0	11.9	83.1	4.1	0.9	7.9	83.2	7.4	1.5
6時間	20.1	71.6	6.8	1.5	18.4	74.8	5.6	1.2	19.6	70.7	8.4	1.3
10時間	38.9	53.5	6.3	1.3	34.4	58.2	5.7	1.7	38.9	49.8	9.5	1.8

Glu(グルコース)、Xyl(キシロース)、Ara(アラビノース)、Gal(ガラクトース)

【 0 0 4 8 】

その後、水層に溶解された可溶性物質を回収するために、酸加水分解物を除去した後、pH 1.0 ~ 2.0 の反応液を、炭酸カルシウムを使用して pH 3.0 ~ 7.0 に調整した後、温度 60 ~ 90 で 30 ~ 120 分間攪拌を行い、反応液中の硫酸イオンをカルシウムイオンと反応させて、硫酸カルシウム形態に沈澱させた。前記反応液を、熱交換機を通じて温度 30 以下に冷却させ、反応液内に水和された硫酸カルシウムを温度による溶解度差により沈澱させた。前記反応液を、0.5 μm 孔隙を有するフィルタプレスでろ過し、沈澱された硫酸カルシウムを除去した後、ろ過された反応液を、電気透析(ED; Electro dialysis)装置を利用して、電気伝導度(Conductivity)を 1,000 μS/cm 以下に脱塩させた。電気透析前・後のキシロース、アラビノースの濃度及び電気伝導度の測定結果を表 2 に示した。

【 0 0 4 9 】

【表 2】

電気透析前後のキシロース、アラビノース濃度及び電気伝導度測定結果

項目	ココナッツ殻			パーム殻			OPEFB (パームオイル副産物)		
	Xyl.	Ara.	Cond.	Xyl.	Ara.	Cond.	Xyl.	Ara.	Cond.
	(%)	(%)	(μS/cm)	(%)	(%)	(μS/cm)	(%)	(%)	(μS/cm)
供給物	100	100	4170	100	100	4570	100	100	3930
透過物	100	99.9	917	99.7	99.6	918	99.5	99.7	910

Xyl(キシロース)、Ara(アラビノース)、Cond.(伝導性)

【 0 0 5 0 】

脱塩された反応液をブリックス(brix) 25 ~ 45 に真空濃縮した後、粒状活性炭で脱色させた。この時の脱色条件は、線速度(Linear velocity; LV) = 1 ~ 3 m/hr、温度 70 ~ 80 が好ましい。

【 0 0 5 1 】

前記脱色された反応液を強酸性陽イオン交換樹脂、弱塩基性陰イオン交換樹脂、混合樹脂に順次通過させて、無機塩類、イオン性物質の除去及び精製を行って、1 ~ 5 % 以下の単糖類成分と、有用なキシロース及びアラビノースの二つの成分を共に含む加水分解糖化液

10

20

30

40

50

を得ることができた。

【 0 0 5 2 】

このような方法により得られた有用糖類を大量に含む前記糖化液は、ジビニルベンゼンが架橋された硫酸化ポリスチレン形態の Na^+ イオン型クロマトグラフィ分離用樹脂を充填した分離塔に通液させて、キシロース高含有液分画とアラビノース分画との二つの分画に分離することができる。分画されたキシロースとアラビノースをブリックス(Brix) 60 ~ 80 に濃縮した後、結晶化して、キシロース結晶とアラビノース結晶を得た。得られたキシロースとアラビノースの回収率及び純度を表 3 に示した。

【 0 0 5 3 】

実施例 2：キシロース及びアラビノースの製造(加水分解剤の変更)

0.2 ~ 5.0 % 硫酸水溶液で酸処理する代わりに、0.2 ~ 5.0 % の塩酸水溶液を利用して酸処理したことを除いては、実施例 1 と同様に行った。得られたキシロースとアラビノースの回収率及び純度を表 3 に示した。

【 0 0 5 4 】

実施例 3：キシロース及びアラビノースの製造(加水分解剤の変更)

0.2 ~ 5.0 % 硫酸水溶液で酸処理する代わりに、0.2 ~ 5.0 % のシュウ酸水溶液を利用して酸処理したことを除いては、実施例 1 と同様に行った。得られたキシロースとアラビノースの回収率及び純度を表 3 に示した。

【 0 0 5 5 】

比較例 1：キシロース及びアラビノースの製造(加水分解剤の変更)

0.2 ~ 5.0 % 硫酸水溶液で酸処理する代わりに、0.2 ~ 5.0 % の苛性ソーダ水溶液を利用したアルカリ処理後、塩酸で pH 5.0 ~ 7.0 に中和させることを除いては、実施例 1 と同様に行った。得られたキシロースとアラビノースの回収率及び純度を表 3 に示した。

【 0 0 5 6 】

【表 3】

項目	ココナッツ殻				パーム殻				OPEFB (パームオイル副産物)			
	キシロース		アラビノース		キシロース		アラビノース		キシロース		アラビノース	
	回収率	純度	回収率	純度	回収率	純度	回収率	純度	回収率	純度	回収率	純度
実施例 1	70.4	99.5	71.6	98.3	68.4	98.9	66.6	98.9	71.7	99.2	68.4	98.7
実施例 2	68.8	98.4	71.7	97.2	69.8	98.8	68.7	98.4	70.5	99.5	69.5	98.7
実施例 3	70.2	98.9	69.3	98.3	70.6	98.3	66.9	98.2	68.4	99.3	67.8	99.0
比較例 1	69.6	98.9	69.8	98.8	70.6	98.1	65.2	98.6	67.2	98.4	70.1	97.6

【 0 0 5 7 】

実施例 4：得られた単糖類とキシロース及びアラビノース糖化液の糖組成

実施例 1 ~ 3 及び比較例 1 により得られた単糖類とキシロース及びアラビノースを含む、イオン精製された糖液の糖組成を調べた。その結果を表 4 に示した。

【 0 0 5 8 】

【 表 4 】

得られた単糖類とキシロース及びアラビノース糖化液の糖組成分布

項目		キシロース	アラビノース	グルコース	ガラクトース	その他
実施例 1	ココナツツ殻	90.2	8.4	1.2	0.2	-
	パーム殻	90.0	7.9	2.1	-	-
	OPEFB	84.3	9.6	4.1	1.5	0.5
実施例 2	ココナツツ殻	88.6	7.3	4.5	1.2	0.4
	パーム殻	85.9	8.1	5.3	0.7	-
	OPEFB	88.4	6.9	3.7	1.0	-
実施例 3	ココナツツ殻	90.8	4.4	2.4	1.5	0.9
	パーム殻	91.8	5.1	2.9	0.2	-
	OPEFB	91.4	4.9	3.1	0.6	-
比較例 1	ココナツツ殻	83.6	5.0	7.8	2.1	1.5
	パーム殻	85.7	4.8	7.5	2.0	-
	OPEFB	89.3	4.8	5.9	-	-

10

20

【 0 0 5 9 】

各実施例による結果をまとめてみた結果、実施例 1 の方法によるキシロース及びアラビノースの製造で、イオン交換樹脂脱塩処理と分離結晶化を通じて、回収率 85% 以上、純度 98% 以上のキシロース結晶と、回収率 80% 以上、純度 98% 以上のアラビノース結晶を生産することができた。

30

【 0 0 6 0 】

実施例 5 : 得られた加水分解残余物の炭化後、成分含量の比較

実施例 1 ~ 3 及び比較例 1 のキシロース及びアラビノースの製造過程で発生した副産物である加水分解残余物を収去し、40 ~ 100 で 24 ~ 48 時間乾燥した後、10 kg 重量部を基準とし、500 ~ 700 で 72 ~ 168 時間炭化させた後、成分含量を調べた。対照群として、酸加水分解を施さなかったココナツツ殻とパーム殻を、上記と同様な方法により製造した後、成分含量を比較し、その結果を表 5 に示した。表 5 から分かるように、対照群に比べ、炭化収率及び固定炭素が増加して、灰分量が減少したことが分かる。

【 0 0 6 1 】

【表 5】

得られた加水分解残余物の炭化後、成分含量の比較

項目		対照群	実施例 1	実施例 2	実施例 3	比較例 1
炭化取率 (%)	ココナツツ殻	27.7	29.5	29.0	28.1	28.9
	パーム殻	25.8	27.2	26.9	27.0	26.8
揮発性成分 (%)	ココナツツ殻	9.3	5.2	5.9	6.4	5.5
	パーム殻	8.7	4.5	5.3	4.9	6.0
灰分	ココナツツ殻	1.1	0.4	0.4	0.5	0.4
	パーム殻	1.3	0.6	0.5	0.5	0.6
固定炭素 (%)	ココナツツ殻	89.6	94.4	90.4	92.3	93.5
	パーム殻	86.5	94.2	93.7	94.0	93.8

10

【 0 0 6 2 】

20

実施例 6 : 加水分解残余物の炭化及び活性化後、成分含量の比較

実施例 5 のキシロース及びアラビノースの製造過程で発生した副産物である加水分解残余物の炭化後、800 ~ 1,000 の温度範囲で炭素を酸化反応させることにより、炭化物の表面浸食及び炭化物の微孔構造を生成させた。その後、ガス(水蒸気、二酸化炭素、空気などの酸化性ガス)活性化を通じて製造された活性炭を対照群として使用して、酸加水分解を施さなかったココナツツ殻とパーム殻を、上記と同様な方法を使用して活性炭を製造した後、成分含量を比較し、その結果を表 6 に示した。表 6 から分かるように、熱帯果物バイオマスであるココナツツ殻、パーム殻の加水分解残余物を使用した場合、対照群に比べ、ガス吸着力に優れていることが分かる。

【 0 0 6 3 】

30

【表 6】

得られた加水分解残余物の炭化及び活性化後、成分含量の比較

項目		対照群	実施例 1	実施例 2	実施例 3	比較例 1
活性化収率(%)	ココナッツ殻	55.9	54.7	54.8	53.8	53.9
	パーム殻	52.9	53.0	52.2	51.5	53.0
ガス吸着力	ココナッツ殻	100	127	123	125	125
	パーム殻	100	125	123	120	123
一般吸着力	ココナッツ殻	100	100	100	100	100
	パーム殻	100	100	100	100	100
コード吸着力 (mg/g)	ココナッツ殻	1400	1430	1429	1423	1427
	パーム殻	1390	1407	1398	1400	1403
メチレンブルー 脱色力(mg/g)	ココナッツ殻	230	230	227	229	225
	パーム殻	228	226	228	226	226
pH	ココナッツ殻	10.5	9.7	9.8	9.9	9.9
	パーム殻	10.3	9.9	10.1	9.9	9.8
硬度(%)	ココナッツ殻	98.8	96.0	95.6	95.7	95.9
	パーム殻	98.0	95.7	95.1	94.9	95.5

10

20

【0064】

実施例 7 : キシロース含量が 200 g/L である加水分解糖化液を利用した回分式発酵加水分解糖化液には、微生物生育を抑制するフルフラール(furfural)、5 - ヒドロキシメチル(5-hydroxymethyl ; HMF)、アセテート(acetate)、ヒドロキシベンズアルデヒド(hydroxybenzaldehyde ; HBA)、バニリン(vanillin)などが存在し、今までのキシロースの転換収率は、58%に過ぎなかった。したがって、微生物の生長とキシリトールの収率の改善のために、本発明では、キシロース含量が20%である加水分解糖化液が炭素源として構成された固体培地で、20回の継代を通じて、キシリトール発酵微生物を、菌を阻害する成分に適應させた。

30

【0065】

これにより、キシリトールの収率が80%まで増加することが分かった(図1)。図1に、微生物成長を阻害する成分を含んでいる糖化液を炭素源とする固体培地で、菌株を阻害物質に適應させることにより、キシリトールの収率を増加させた結果を示した。

【0066】

まず、20 g/L のブドウ糖、5 g/L 酵母抽出物から構成された前培養培地を製造し、50 ml 培地が入っている250 ml フラスコにカンジダトロピカリス(candida tropicalis) C J F I D を接種して、240 rpm、30 にして10時間前培養を行った。

【0067】

その後、キシロース含量が200 g/L の加水分解糖化液、5 g/L 酵母抽出物、5 g/L ウレア(Urea)、5 g/L KH₂PO₄、MgSO₄・7H₂O から構成された本培養培地を製造して、5 L の発酵槽に本培養培地 2 L を注入した後、前記微生物を接種した。攪拌速度を500 ~ 300 rpm にして、pH は、発酵の全過程の間5.0に調節し、培養温度は30 で、通気量は、1.0vvmに供給しながら、54時間培養した(図2)。図2に発酵時間による細胞濃度()、キシロース()、キシリトール()の濃度変化を示した。

40

【0068】

上記方法により生産されたキシリトールの収率と、精製されたキシリトール粉末を使用して生産したキシリトールの収率とを比較した結果を表7に示した。表7から分かるように、取得されたキシリトール濃度は、161 g/L であり、細胞濃度16.5 g/L、キシリ

50

トール収率は、80%であることが分かる。前記結果を、精製されたキシロース粉末を使用して生産したキシリトール収率と比較してみると、生産に所要される時間は増加し、キシリトールの製造収率は若干低下したことが分かる。しかし、同一な菌株を使用してキシリトールを生産する場合、精製されたキシロースの代わりに加水分解糖化液を使用することにより、キシロースを精製する過程が省かれるため、従来の方法に比べ、著しく経済的にキシリトールを製造できることが分かる。

【0069】

【表7】

区分	キシロース ($g\ l^{-1}$)	細胞量 ($g\ l^{-1}$)	キシリトール ($g\ l^{-1}$)	m_{max}^a (h^{-1})	Q_p^b ($g\ l^{-1}h^{-1}$)	$Y_{p/s}^c$ ($g\ g^{-1}$)	時間 (h)
キシロース 粉末	200	28.4	166	0.32	3.53	0.83	47
キシロース 糖化液	200	16.5	161	0.28	2.98	0.80	54

a : 最大特異的成長率(Maximum specific growth rate)

b : キシリトールの容量当たり生産性(Volumetric productivity of xylitol)

c : キシロースからのキシリトールの収率(Xylitol yield from xylose)

【0070】

実施例8 : 繰り返し回分式発酵工程によるキシリトールの生産

実施例7の培地と同様な培地を使用して、生物培養器で培養をした。その後、キシロースが枯渇される直前に、反応の完了された培養液を、生物反応器に取り付けられた減圧式微細ろ過管に移した。使用した菌体と培養濾液を分離した後、分離された菌体を濃縮した。新しい培地2Lを注入した生物反応器に、前記濃縮された菌体を搬送し、再培養した。培養条件は、前記実施例8と同様にした。

【0071】

微細ろ過をしなかった最初の培養は、培養液2Lにキシリトール322g、生産性2.98g/l-h、キシロースに対するキシリトール収率80%を示し、微細ろ過をした後の4回の培養では、蓄積した総培養液8Lにおいて、キシリトールは、1,415g、生産性7.86g/l-h、キシリトール収率88.4%であって、非常に高いことを確認した。図3に、発酵時間による細胞濃度()、キシロース()、キシリトール()の濃度変化を示した。

【図面の簡単な説明】

【0072】

【図1】培地継代回数による転換収率()の変化を示したグラフである。

【図2】回分式発酵において、発酵時間による細胞濃度()、キシロース()、キシリトール()の濃度変化を示したグラフである。

【図3】繰り返し回分式発酵において、発酵時間による細胞濃度()、キシロース()、キシリトール()の濃度変化を示したグラフである。

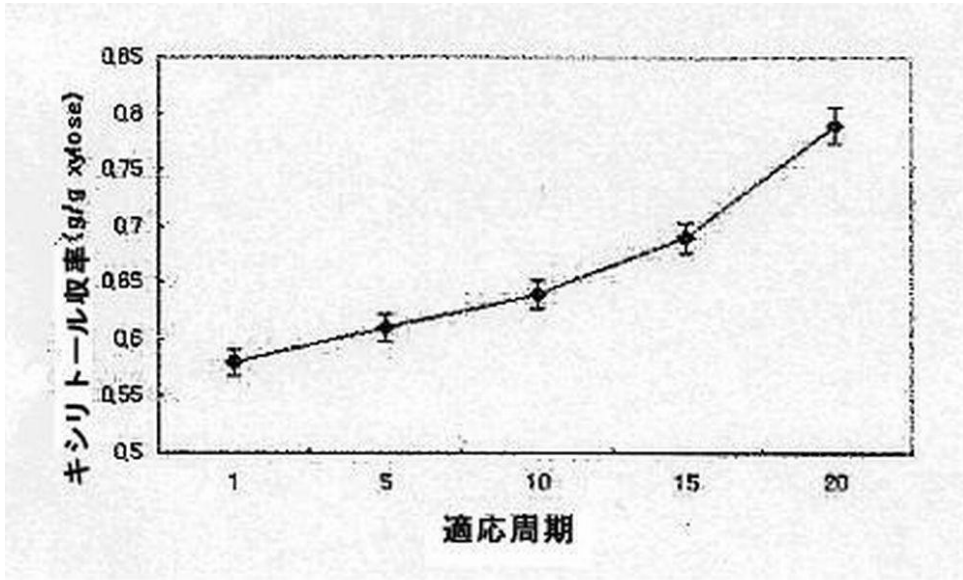
10

20

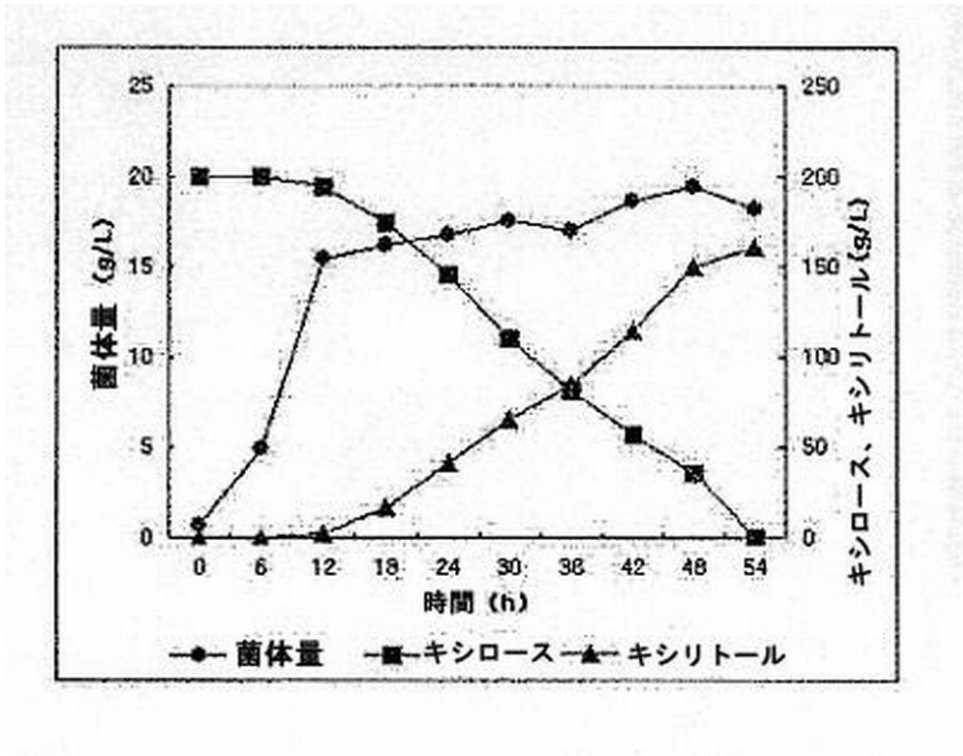
30

40

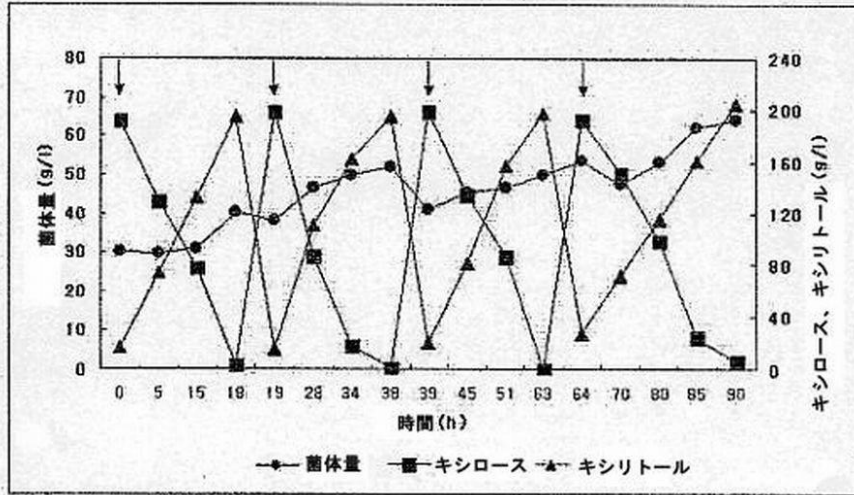
【図1】



【図2】



【図3】



フロントページの続き

- (51)Int.Cl. F I
C 1 2 P 19/02
- (72)発明者 リー, ジョー - ハン
大韓民国, 4 6 2 - 2 1 0 ジェオンギ - ド アンサン - シ, サンノク - グ, グンゲン - ドン, ダ
エリム エーピーティー., 1 0 2 - 2 1 0 5
- (72)発明者 キム, タエク - ベオン
大韓民国, 1 5 2 - 0 5 0 ソウル グロ - グ, グロ - ドン 1 2 5 6, グロ ヒュンダイ エー
ピーティー., 3 2 0 - 1 1 0 7
- (72)発明者 キム, ジュン - フーン
大韓民国, 1 5 2 - 0 5 1 ソウル グロ - グ, グロ 1 - ドン, グウイル ウーンスン エー
ピーティー., 2 0 5 - 2 0 0 1
- (72)発明者 キム, セオン - ボ
大韓民国, 1 2 0 - 1 1 3 ソウル セオダエムーン - グ, エオニー 3 - ドン, 3 4 4 - 1 4 6
(4 / 6), 2 エヌディー エフエル.
- (72)発明者 ソン, サン - フーン
大韓民国, 4 0 3 - 1 0 2 インチェオン ブピエオン - グ, プガエ 2 - ドン, ジュオン エー
ピーティー., 7 0 5 - 1 2 0 1
- (72)発明者 リー, カン - ピョー
大韓民国, 1 3 1 - 7 6 5 ソウル ジュンナン - グ, ムク 1 - ドン, シンナエ 5 - ダンジ
ダエリム ドーサン エーピーティー., 5 2 2 - 1 0 4
- (72)発明者 ジ, セウン - バエ
大韓民国, 4 0 3 - 0 8 2 インチェオン ブピエオン - グ, ガルサン 2 - ドン, ハナ エー
ピーティー., 1 0 2 - 1 2 0 8
- (72)発明者 リー, ドン - フーン
大韓民国, 4 2 7 - 0 4 0 ジェオンギ - ド グワチェオン - シ, ベイエオルヤン - ドン, ジュオ
ン 4 ダンジ エーピーティー., 4 0 6 - 1 1 0 7
- (72)発明者 リー, カン - デウ
大韓民国, 4 0 0 - 1 0 1 インチェオン ジュン - グ, 1 - ガ, シンヘウン - ドン, 3 5 - 5 1
1 / 4

審査官 松原 寛子

- (56)参考文献 特開平 1 0 - 1 9 2 0 0 0 (J P , A)
特開 2 0 0 6 - 0 8 7 3 9 0 (J P , A)
特開平 1 1 - 3 1 3 7 0 0 (J P , A)
特開平 1 0 - 2 7 6 7 9 1 (J P , A)
特公平 0 4 - 5 0 3 7 5 0 (J P , B 2)

(58)調査した分野(Int.Cl., D B 名)

C13K 13/00
B01D 61/00-63/16
B01D 69/00-71/82
C12P 19/00-19/24
CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)
JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)