

(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
2014 年 7 月 3 日(03.07.2014)



(10) 国際公開番号
WO 2014/103183 A1

- (51) 国際特許分類:
C12M 1/36 (2006.01) *C12P 7/06* (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/007085
- (22) 国際出願日: 2013 年 12 月 3 日(03.12.2013)
- (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 2012-280900 2012 年 12 月 25 日(25.12.2012) JP
- (71) 出願人: 川崎重工業株式会社 (KAWASAKI JUKOGYO KABUSHIKI KAISHA) [JP/JP]; 〒6508670 兵庫県神戸市中央区東川崎町 3 丁目 1 番 1 号 Hyogo (JP).
- (72) 発明者: 和泉 憲明 (IZUMI, Noriaki). 政本 学 (MASAMOTO, Manabu). 小西 聡史 (KONISHI, Satoshi).
- (74) 代理人: 特許業務法人 有古特許事務所 (PATENT CORPORATE BODY ARCO PATENT OFFICE); 〒6500031 兵庫県神戸市中央区東町 1 2 3 番地の 1 貿易ビル 3 階 Hyogo (JP).

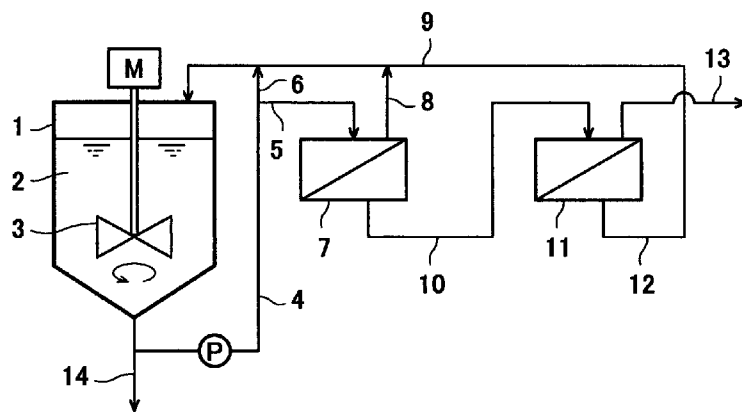
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, 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, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, 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, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

(54) Title: METHOD FOR REMOVING BACTERIAL CONTAMINANTS FROM SACCHARIFIED SOLUTION, AND FERMENTATION SYSTEM

(54) 発明の名称: 糖化液の雑菌除去方法及び発酵システム



(57) Abstract: The present invention addresses the problem of providing: a method for removing bacterial contaminants from a saccharified solution, whereby it becomes possible to prevent the proliferation of bacteria in a fermentation vessel without requiring the use of an antibiotic in the alcoholic fermentation of a biomass saccharified solution using the conventional yeast; and a fermentation system which is suitable for the implementation of the method for removing bacterial contaminants from a saccharified solution. In the bacterial contaminants removal method and the fermentation system according to the present invention, rough separation, which is a procedure for withdrawing a saccharified solution (a fermentation solution) out of a fermentation vessel and then collecting yeast from the saccharified solution, is carried out. Subsequently, fine separation, which is a procedure for removing the bacterial contaminants from the saccharified solution from which the yeast has been separated out, is carried out. In this manner, only the bacterial contaminants can be removed from the saccharified solution while collecting the yeast. The rough separation is performed by the membrane filtration using a filtration membrane having a pore size of 0.5 to 5 μm inclusive or the centrifugation at 50 to 500 G inclusive. The fine separation is performed by the membrane filtration using a filtration membrane having a pore size of 0.22 μm or less or the centrifugation at 1000 to 15000 G inclusive.

(57) 要約:

[続葉有]



WO 2014/103183 A1



本発明は、通常の酵母を使用するバイオマス糖化液のアルコール発酵において、抗生物質を使用せずに発酵槽内の雑菌増殖を抑制し得る糖化液の雑菌除去方法、及びそのような糖化液の雑菌除去方法の実施に適した発酵システムを提供することを目的とする。本発明の雑菌除去方法及び発酵システムは、発酵槽内の糖化液（発酵液）を抜き出し、糖化液から酵母を回収する粗分離の後、酵母を分離した糖化液から雑菌を除去する精密分離することにより、酵母を回収しつつ、雑菌のみ糖化液から除去する。粗分離は、孔径 $0.5\mu\text{m}$ 以上 $5\mu\text{m}$ 以下の濾過膜による膜濾過又は 50G 以上 500G 以下の遠心分離である。精密分離は、孔径 $0.22\mu\text{m}$ 以下の濾過膜による膜分離又は 1000G 以上 15000G 以下の遠心分離である。

明 細 書

発明の名称：糖化液の雑菌除去方法及び発酵システム

技術分野

[0001] 本発明は、木質系バイオマス又は草本系バイオマスのようなリグノセルロース系バイオマス中のヘミセルロース又はセルロースを、硫酸法、亜臨界水法又は酵素法のような公知の加水分解方法によって糖類に分解し、さらに酵母を用いてエタノール発酵させる発酵槽において、発酵槽内の糖化液中の雑菌繁殖を防止するための雑菌除去方法に関する。また、本発明は、そのような糖化液の雑菌除去方法の実施に適した発酵システムに関する。

背景技術

[0002] 木質系バイオマスをはじめとするリグノセルロース系バイオマスは、ヘミセルロース約20%、セルロース約50%、リグニン約30%から構成される。ヘミセルロース及びセルロースは、糖化处理によって糖類へと分解され、さらに酵母のような発酵微生物を用いて発酵させることにより、エタノールを製造することが可能である。ヘミセルロースの糖化によってC5糖類及びC6糖類が得られ、セルロースの糖化によってC6糖類が得られる。

[0003] ここで、C5糖類とは、キシロース又はアラビノースのような5炭糖とそのオリゴ糖をいう。C6糖類とは、グルコース又はガラクトースのような6炭糖とそのオリゴ糖をいう。

[0004] バイオマス糖化液のアルコール発酵には、主として酵母が用いられて、発酵槽内で8～72時間程度アルコール発酵が行われる。しかし、アルコール発酵は、雑菌（例えば、Leuconostoc属、citrobacter属又はLactococcus属細菌）が繁殖しやすい条件でもあるため、糖化液に雑菌が混入した場合には、雑菌によって糖類が消費されてしまう。

[0005] さらに、雑菌の中には、酵母の発育を阻害したり、酵母によるアルコール発酵を阻害したりする種類も存在する。このため、発酵槽内の糖化液中で雑菌が繁殖すると、エタノール収率が低下し、バイオエタノール製造の経済的

実用性が損なわれかねない。

[0006] 特許文献1は、基質の完全連続供給を行うことが可能であり、生産性の低下を招くことがなく、任意のエタノール生産微生物の連続培養発酵が可能なエタノール生産微生物の連続培養発酵装置を開示している。特許文献1では、発酵液（糖化液）を発酵槽から抜き出して固液分離し、エタノール生産微生物を発酵槽へと回収している。発酵液には、 β -ラクタム系抗生物質であるペニシリンを添加することが好ましいとされている。

[0007] 一方、抗生物質に依存しない糖化液のアルコール発酵方法として、酸の添加によって雑菌の増殖を抑制する方法も着目されている。特許文献2は、酸の添加による細菌の増殖を抑制した状態でのアルコール発酵に適した酸耐性を持つ新規酵母として、5%乳酸存在下で生育可能なCandida属glabrata種の酵母（NFRI3164株）を開示している。

先行技術文献

特許文献

[0008] 特許文献1：特開2011-92041号公報

特許文献2：特開2009-142219号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0009] 特許文献1に開示されているように、バイオマス糖化液の発酵槽に抗生物質を添加することにより、雑菌の繁殖を抑制することが可能となる。しかし、抗生物質は高価であるため、バイオエタノールの生産コストを上昇させてしまう。また、糖化液（発酵液）に添加された抗生物質が下水処理施設のような外部環境に流出すると、活性汚泥の活性が低下することがあるため、抗生物質処理用の専用設備が必要となる。

[0010] 特許文献2に開示されているような特殊な酵母は、通常の醸造用酵母のように安価かつ容易に入手できない。このため、経済的にバイオエタノールを継続して生産するためには不都合がある。

[0011] 本発明は、通常の酵母を使用するバイオマス糖化液のアルコール発酵において、抗生物質又は酸を使用せずに発酵槽内の雑菌増殖を抑制し得る糖化液の雑菌除去方法、及びそのような糖化液の雑菌除去方法の実施に適した発酵システムの提供を目的とする。

課題を解決するための手段

[0012] 本発明者等は、上記課題を解決すべく鋭意検討を重ねた結果、発酵槽内の糖化液（発酵液）を抜き出し、糖化液から酵母を回収する粗分離の後、酵母を分離した糖化液から雑菌を除去する精密分離を行うことにより、酵母を回収しつつ、雑菌のみ糖化液から除去することが可能となることを見出し、本発明を完成させるに至った。

[0013] 具体的に、本発明は、
酵母を用いて糖化液をアルコール発酵させる発酵槽において、
発酵槽内の糖化液の一部を抜き出して、濾過膜を備える第一膜分離装置によって濾過処理するか、又は第一遠心分離装置によって遠心分離することにより、雑菌は回収せずに酵母を回収する粗分離工程 A と、
前記粗分離工程 A 後、濾過膜を備える第二膜分離装置によって濾過処理するか、又は第二遠心分離装置によって遠心分離することにより、酵母を回収された糖化液から雑菌を分離する精密分離工程 B と、
を有し、
前記粗分離工程 A によって回収された酵母と、前記精密分離工程 B によって雑菌を分離した糖化液とを発酵槽へ返送することにより、糖化液中の酵母を回収しつつ、雑菌を選択的に除去することを特徴とする、糖化液の雑菌除去方法に関する。

[0014] 前記粗分離工程 A は、糖化液の一部を孔径 $0.5\mu\text{m}$ 以上 $5\mu\text{m}$ 以下の濾過膜を備える第一膜分離装置によって濾過処理する工程 A 1、又は糖化液の一部を第一遠心分離装置によって 50G 以上 500G 以下で遠心分離する工程 A 2であることが好ましい。前記精密分離工程 B は、酵母を回収された糖化液を孔径 $0.22\mu\text{m}$ 以下の濾過膜を備える第二膜分離装置によって濾過処理する工程 B 1、又

は酵母を回収された糖化液を第二遠心分離装置によって1000G以上15000G以下で遠心分離する工程B2であることが好ましい。

[0015] 糖化液を単に濾過するだけでは雑菌を十分に除去することはできない。その一方で、雑菌を十分に除去するために孔径の小さな濾過膜によって糖化液を膜分離処理すれば、酵母も失われるために、雑菌が除去されてもアルコール発酵効率は低くなる。そこで、糖化液から雑菌よりも大きな酵母を回収する粗分離処理Aをまず行い、次いで粗分離処理後の糖化液から雑菌を除去する精密分離処理Bを行えば、酵母を回収しつつ、雑菌だけを糖化液から除去することが可能となる。その結果、発酵槽内における雑菌の繁殖を抑制することが可能となる。

[0016] 粗分離処理Aとしては、孔径 $0.5\mu\text{m}$ 以上 $5\mu\text{m}$ 以下の濾過膜を備える膜分離装置による濾過処理（工程A1）、又は遠心分離装置による50G以上500G以下の遠心分離（工程A2）を選択し得る。精密分離処理Bとしては、孔径 $0.22\mu\text{m}$ 以下の濾過膜を備える膜分離装置による濾過処理（工程B1）、又は遠心分離装置による1000G以上15000G以下の遠心分離（工程A2）を選択し得る。

[0017] 工程A1又は工程A2によって酵母を回収し、工程B1又はB2によって糖化液から雑菌を除去し、酵母及び雑菌を除去した糖化液を発酵槽へと返送することにより、発酵槽内における雑菌の繁殖を抑制しつつ、酵母の損失を防止して発酵効率を高く維持することが可能となる。

[0018] 本発明はまた、

酵母を用いて糖化液をアルコール発酵させる発酵槽と、

発酵槽内の糖化液の一部を抜き出して、濾過膜を備える第一膜分離装置によって濾過処理するか、又は第一遠心分離装置によって遠心分離することにより、雑菌は回収せずに酵母を回収する粗分離装置と、

前記粗分離装置によって酵母を回収された糖化液から、濾過膜を備える第二膜分離装置によって濾過処理するか、又は第二遠心分離装置によって遠心分離することにより、雑菌を分離する精密分離装置と、

前記粗分離装置から得られた酵母を含有する糖化液と、前記精密分離装置

から得られた雑菌を除去された糖化液とを発酵槽へ返送する返送経路と、
を備え、

糖化液中の酵母を回収しつつ、雑菌を選択的に除去することを特徴とする
、発酵システムに関する。

[0019] 前記粗分離装置は、孔径 $0.5\mu\text{m}$ 以上 $5\mu\text{m}$ 以下の濾過膜によって濾過処理する第一膜分離装置、又は 50G 以上 500G 以下で遠心分離する第一遠心分離装置であることが好ましい。前記精密分離装置は、孔径 $0.22\mu\text{m}$ 以下の濾過膜によって濾過処理する第二膜分離装置、又は 1000G 以上 15000G 以下で遠心分離する第二遠心分離装置であることが好ましい。

発明の効果

[0020] 本発明によれば、抗生物質又は酸を糖化液に添加しなくとも、バイオマス糖化液の発酵槽における雑菌の増殖を継続的に抑制し得る。また、特殊な酵母は不要であり、一般的な醸造用酵母を使用する場合であっても、発酵槽内の雑菌の繁殖を抑制し得る。

図面の簡単な説明

[0021] [図1]本発明の実施形態1に係る発酵システムの概略フロー図を示す。

[図2]本発明の実施形態2に係る発酵システムの概略フロー図を示す。

[図3]本発明の実施形態3に係る発酵システムの概略フロー図を示す。

[図4]本発明の実施形態4に係る発酵システムの概略フロー図を示す。

発明を実施するための形態

[0022] 本発明の実施形態について、適宜図面を参照しながら説明する。本発明は、以下の記載に限定されない。

[0023] <実施形態1>

図1は、本発明の実施形態1に係る発酵システムの概略フロー図を示す。発酵槽1には、糖化液2が貯液されている。糖化液2は、酵母によるアルコール発酵に適した $10^{\circ}\text{C}\sim 45^{\circ}\text{C}$ 、好ましくは $25^{\circ}\text{C}\sim 35^{\circ}\text{C}$ に保持されている。糖化液2は、モータMによって回転させられるプロペラ3によって攪拌されることが好ましい。

[0024] 糖化液2としては、セルロース系バイオマス（例えば、バガス、甜菜かす、又はわらのような草本系バイオマス）を粉砕し、水と混合して調製されたバイオマス原料スラリーを、1）硫酸のような強酸の酸化力によりバイオマスを加水分解する方法、2）酵素によりバイオマスを加水分解する方法、又は3）超臨界水又は亜臨界水の酸化力を利用してバイオマスを加水分解する方法：のような公知の方法によって処理することによって得られた糖化液（バイオマス糖化液）であることが好ましい。ただし、これらに限定されず、例えば、バイオマスを圧搾して得られる糖類を含有する液、砂糖を製造する際に得られる廃糖蜜、又はデンプン質を酸若しくは酵素によって糖化して得られる糖化液であってもよい。強酸を用いてバイオマスを加水分解した場合、発酵槽1でアルコール発酵を行う前に、強酸を中和して酵母の発育を阻害しないようにする必要がある。

[0025] 糖化液2は、発酵槽1下部に接続されている配管4から取り出される。配管4には、ポンプPが設けられると共に配管5が接続されており、発酵液2は第一膜分離装置7へと供給される。第一膜分離装置7は、孔径 $0.5\mu\text{m}$ 以上 $5\mu\text{m}$ 以下、好ましくは孔径 $0.5\mu\text{m}$ 以上 $1\mu\text{m}$ 以下の濾過膜（精密濾過膜）を備える膜分離装置である。発酵槽1→配管4→配管5→第一膜分離装置7へと供給される発酵液2の流速は、雑菌の増殖速度から決定される。具体的には、発酵液2における雑菌の倍加時間 T_d よりも、発酵槽内の発酵液が一循環するのに要する時間 T_s が小さくなるように流速が設定される（ $T_d > T_s$ ）。ここで、発酵槽1の容積を V （L）、発酵液の流速を v （L/min）とすると、 $T_s = V/v$ である。

[0026] 配管6は、ポンプPの負荷が過大とならないようにするための圧力調整用バイパス配管であると共に、雑菌除去を行わない時は、酵母の沈降を防止するために、底部の発酵液を抜き出す発酵液循環用配管である。

[0027] 酵母の直径は約 $5\sim 10\mu\text{m}$ であるため、孔径 $0.5\mu\text{m}$ 以上 $5\mu\text{m}$ 以下の濾過膜を通過できない。一方、細菌類はより直径が小さいために、孔径 $0.5\mu\text{m}$ 以上 $5\mu\text{m}$ 以下の濾過膜を通過する。従って、糖化液2を第一膜分離装置7によって濾

過処理することにより、糖化液中の酵母を、濃縮された糖化液（濃縮液）に含有された状態で回収することが可能である。酵母を含有する濃縮液は、第一膜分離装置 7 の上流側（一次側）から経路 8 及び経路 9 を経て、発酵槽 1 へと返送される。雑菌を含有する濾液は、第一膜分離装置 7 の下流側（二次側）から経路 10 を経て、第二膜分離装置 11 へと供給される。

[0028] 第二膜分離装置 11 は、孔径 $0.22\mu\text{m}$ 以下の濾過膜（精密濾過膜又は限外濾過膜）を備える膜分離装置である。孔径 $0.22\mu\text{m}$ 以下の濾過膜によって糖化液 2 を濾過処理することにより、糖化液 2 から雑菌が除去され、濾液には雑菌が含有されなくなる。雑菌が除去された濾液（糖化液 2）は、第二膜分離装置 11 の下流側（二次側）から経路 12 及び経路 9 を経て、発酵槽 1 へと返送される。雑菌を含有する濃縮液は、第二膜分離装置 11 の上流側（一次側）から経路 13 を経て系外へと廃棄される。

[0029] その結果、図 1 に示される発酵システムでは、発酵槽 1 におけるアルコール発酵工程の実施中、発酵槽 1 内の糖化液 2 中の酵母を繰り返し回収しつつ、雑菌のみを糖化液 2 から連続して除去することが可能である。アルコール発酵の進捗に伴い、糖化液 2 に含有される糖類がエタノールに変換されるが、エタノールを含有する糖化液 2（発酵液）についても、エタノールを含有しないアルコール発酵前の糖化液と同様に、雑菌のみを除去することができる。

[0030] 発酵槽 1 におけるアルコール発酵が終了した後、糖化液 2（発酵液）は配管 14 から取り出され、蒸留装置を用い蒸留され、バイオエタノールとして製品化される。

[0031] <実施形態 2>

図 2 は、本発明の実施形態 2 に係る発酵システムの概略フロー図を示す。図 2 に示される発酵システムは、第二膜分離装置 11 の代わりに遠心分離装置 21 が設置される以外、基本的なフローは、実施形態 1 の発酵システムと同じである。ここでは、実施形態 1 の発酵システムとの相違点についてのみ説明する。

[0032] 実施形態2の発酵システムは、第一濾過装置7の濾液を、遠心分離装置21によって1000G以上15000G以下で遠心分離する。糖化液2に含有されている雑菌は、この遠心条件では、糖化液2内に沈殿するため、上清のみ遠心分離装置21から取り出すことにより、糖化液2から雑菌を除去することが可能である。雑菌を除去された上清は、配管22及び配管9を経て、発酵槽へと返送される。一方、雑菌を含有する沈渣は、配管23を経て系外へと廃棄される。

[0033] <実施形態3>

図3は、本発明の実施形態3に係る発酵システムの概略フロー図を示す。図3に示される発酵システムは、第一膜分離装置7の代わりに遠心分離装置31が設置される以外、基本的なフローは、実施形態1の発酵システムと同じである。ここでは、実施形態1の発酵システムとの相違点についてのみ説明する。

[0034] 実施形態3の発酵システムは、発酵液2の一部を配管5から遠心分離装置31へと供給し、50G以上500G以下で遠心分離する。この遠心条件では、糖化液2中の雑菌は沈殿せず、酵母のみが沈殿する。酵母を含有する沈渣は、配管32及び配管9を経て、発酵槽1へと返送される。一方、雑菌を含有する糖化液2の上清は、配管33から膜分離装置11へと供給される。

[0035] <実施形態4>

図4は、本発明の実施形態4に係る発酵システムの概略フロー図を示す。図4に示される発酵システムは、第二膜分離装置11の代わりに遠心分離装置21が設置される以外、基本的なフローは、実施形態3の発酵システムと同じである。ここでは、実施形態3の発酵システムとの相違点についてのみ説明する。

[0036] 実施形態4の発酵システムは、遠心分離装置31（第一遠心分離装置）から取り出された糖化液の上清を、配管33を経て遠心分離装置21（第二遠心分離装置）に供給し、1000G以上15000G以下で遠心分離する。遠心分離装置31によって酵母が回収され、遠心分離装置21によって糖化液から雑菌が

除去される。このように、遠心分離条件の異なる2台の遠心分離装置を組み合わせることによっても、糖化液から酵母のみ回収し、雑菌を除去することが可能である。

[0037] [実施例 1]

実施形態 3 の発酵システムを用いて、発酵槽内の糖化液の雑菌除去を試みた。糖化液は、稲藁を亜臨界水処理することによって得られた糖化液であり、糖濃度 3.6 質量%（グルコース 1.6 質量% + キシロース 2.0 質量%）である。この糖化液を有効容積 4.5 m³ の発酵槽に貯液し、26～30℃ に保持した。酵母として *Pichia stipitis*（直径約 4 μm）を 2 × 10⁸ 個/mL となるように糖化液に添加し、60 rpm という攪拌速度で攪拌した。このとき、糖化液中の雑菌濃度は、1 × 10⁶ 個/mL 以下であった。雑菌の平均粒径は、約 0.5 μm であった。

[0038] 時間の経過に伴い、糖化液中の雑菌濃度が上昇し、12 時間後には 5 × 10⁷ 個/mL となった。ここで、ポンプ P を起動し、遠心分離装置（斉藤遠心機工業株式会社、ADS3003CS）に糖化液を 1.0 m³/h という条件で供給し、800G で遠心分離した。糖化液に含有されていた酵母は、酵母濃縮液となった。遠心分離装置に供給された糖化液の容量の 80% にあたる上清を、孔径 0.2 μm の精密濾過膜（日本ポール株式会社、スーポア UEAV）を備える膜分離装置に供給した。一方、酵母を含む残り 20% は、濃縮酵母液として発酵槽へと返送された。そして、膜分離装置の濾液を発酵槽に返送し、雑菌を含有する濾別残渣を 24 時間毎に精密濾過膜を交換することによって除去及び廃棄した。

[0039] 発酵槽内でアルコール発酵を 96 時間継続したが、発酵槽内の糖化液（発酵液）中の雑菌濃度は、1 × 10⁷ 個/mL 以下に抑制することができた。

[0040] [実施例 2]

実施形態 4 の発酵システムを用いて、発酵槽内の糖化液の雑菌除去を試みた。糖化液は、実施例 1 と同じであり、発酵槽のアルコール発酵条件及び粗分離を行う上流側の遠心分離装置も実施例 1 と同じである。また、酵母の種類及び糖化液への添加量も、実施例 1 と同じである。

[0041] アルコール発酵開始から 12 時間後には、糖化液中の雑菌濃度が 5 × 10⁷ 個/mL

となった。ここで、ポンプPを起動し、粗分離を行う上流側の第一遠心分離装置に糖化液を1.1m³/hという条件で供給し、500G、滞留時間30秒間で遠心分離した。糖化液に含有されていた酵母は、実施例1と同様にして発酵槽へと返送された。

[0042] 第一遠心分離装置によって得られた上清は、精密遠心分離を行う下流側の第二遠心分離装置（斉藤遠心機工業株式会社、ADS3003CS）へと供給され、5000Gで遠心分離された。第二遠心分離装置に供給された糖化液上清の99%にあたる上清は、発酵槽へと返送された。残りの糖化液は、雑菌を含有するペースト状の溶液となっており、第二遠心分離装置から連続的に取り出され、廃棄された。

[0043] 発酵槽内の糖化液（発酵液）は、徐々に減少するため、適宜糖化液を添加し、液量を一定に保つようにした。発酵槽内でアルコール発酵を96時間継続したが、発酵槽内の糖化液（発酵液）中の雑菌濃度は、 1×10^7 個/mL以下に抑制することができた。

産業上の利用可能性

[0044] 本発明の糖化液の雑菌除去方法及び発酵システムは、バイオエタノール製造分野のようなエネルギー分野、及び醸造産業分野において有用である。

符号の説明

- [0045]
- 1 : 発酵槽
 - 2 : 糖化液（発酵液）
 - 3 : 攪拌装置
 - 4, 5, 6, 8, 9, 10, 12, 13, 22, 23, 32, 33 : 配管
 - 7 : 膜濾過装置（第一膜濾過装置）
 - 11 : 膜濾過装置（第二膜濾過装置）
 - 21 : 遠心分離装置（第二遠心分離装置）
 - 31 : 遠心分離装置（第一遠心分離装置）
 - M : モータ

P : ポンプ

請求の範囲

[請求項1]

酵母を用いて糖化液をアルコール発酵させる発酵槽において、

発酵槽内の糖化液の一部を抜き出して、濾過膜を備える第一膜分離装置によって濾過処理するか、又は第一遠心分離装置によって遠心分離することにより、雑菌は回収せずに酵母を回収する粗分離工程 A と、

前記粗分離工程 A 後、濾過膜を備える第二膜分離装置によって濾過処理するか、又は第二遠心分離装置によって遠心分離することにより、酵母を回収された糖化液から雑菌を分離する精密分離工程 B と、を有し、

前記粗分離工程 A によって回収された酵母と、前記精密分離工程 B によって雑菌を分離した糖化液とを発酵槽へ返送することにより、糖化液中の酵母を回収しつつ、雑菌を選択的に除去することを特徴とする、糖化液の雑菌除去方法。

[請求項2]

前記粗分離工程 A が、

糖化液の一部を孔径 $0.5\mu\text{m}$ 以上 $5\mu\text{m}$ 以下の濾過膜を備える第一膜分離装置によって濾過処理する工程 A 1、又は糖化液の一部を第一遠心分離装置によって 50G 以上 500G 以下で遠心分離する工程 A 2 であり、

前記精密分離工程 B が、

酵母を回収された糖化液を孔径 $0.22\mu\text{m}$ 以下の濾過膜を備える第二膜分離装置によって濾過処理する工程 B 1、又は酵母を回収された糖化液を第二遠心分離装置によって 1000G 以上 15000G 以下で遠心分離する工程 B 2 である、請求項 1 に記載の糖化液の雑菌除去方法。

[請求項3]

酵母を用いて糖化液をアルコール発酵させる発酵槽と、

発酵槽内の糖化液の一部を抜き出して、濾過膜を備える第一膜分離装置によって濾過処理するか、又は第一遠心分離装置によって遠心分離することにより、雑菌は回収せずに酵母を回収する粗分離装置と、

前記粗分離装置によって酵母を回収された糖化液から、濾過膜を備

える第二膜分離装置によって濾過処理するか、又は第二遠心分離装置によって遠心分離することにより、雑菌を分離する精密分離装置と、

前記粗分離装置から得られた酵母を含有する糖化液と、前記精密分離装置から得られた雑菌を除去された糖化液とを発酵槽へ返送する返送経路と、

を備え、

糖化液中の酵母を回収しつつ、雑菌を選択的に除去することを特徴とする、発酵システム。

[請求項4]

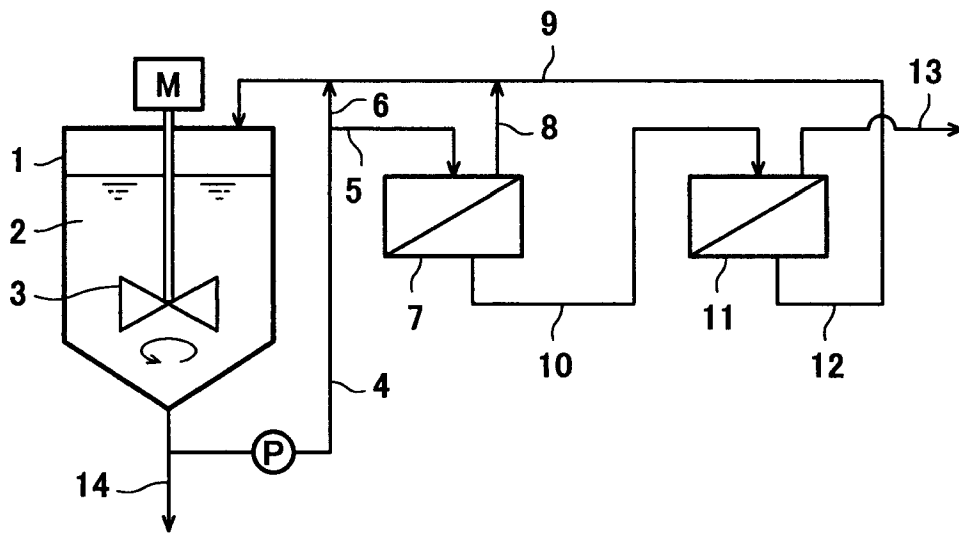
前記粗分離装置が、

孔径 $0.5\mu\text{m}$ 以上 $5\mu\text{m}$ 以下の濾過膜によって濾過処理する第一膜分離装置、又は 50G 以上 500G 以下で遠心分離する第一遠心分離装置であり、

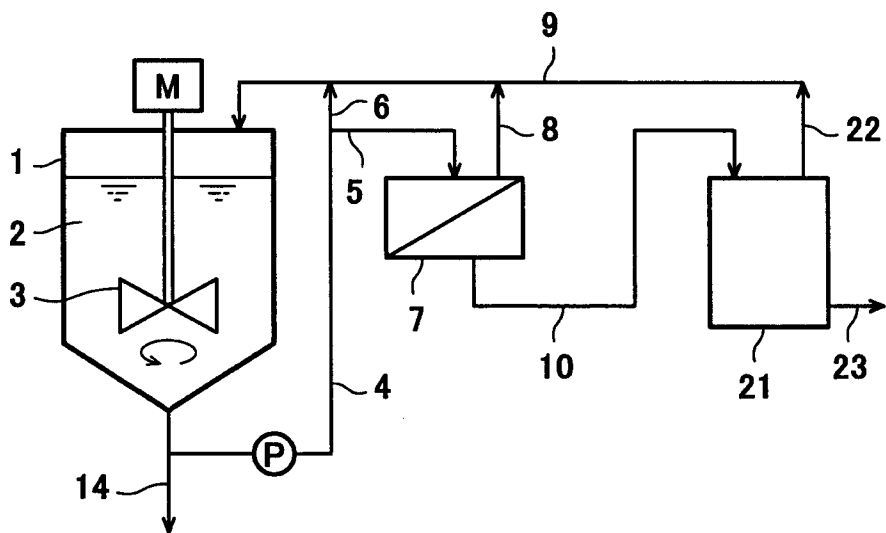
前記精密分離装置が、

孔径 $0.22\mu\text{m}$ 以下の濾過膜によって濾過処理する第二膜分離装置、又は 1000G 以上 15000G 以下で遠心分離する第二遠心分離装置である、請求項3に記載の発酵システム。

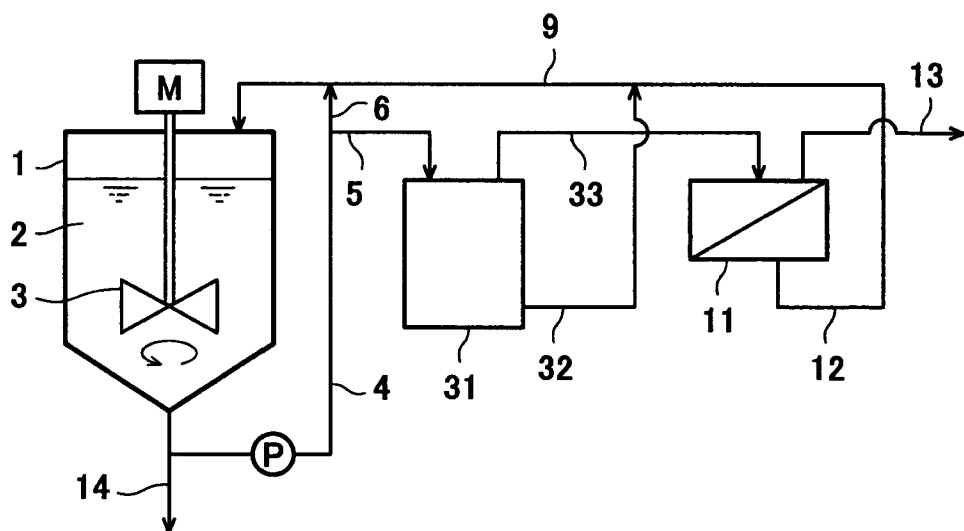
[図1]



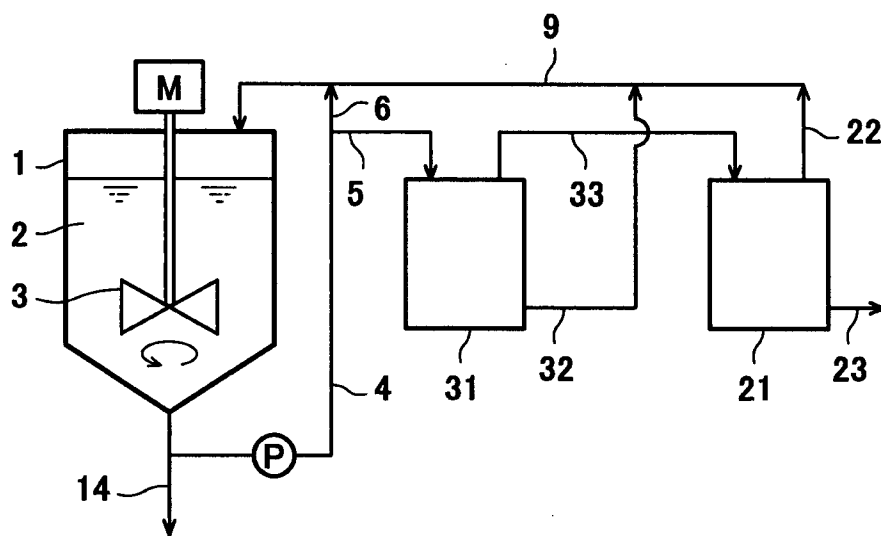
[図2]



[図3]



[図4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/007085

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

C12M1/36(2006.01)i, C12P7/06(2006.01)n

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)

C12M1/36, C12P7/06

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	1996-2014
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2014	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2014

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

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 2008-253154 A (Mitsui Engineering & Shipbuilding Co., Ltd.), 23 October 2008 (23.10.2008), entire text (Family: none)	1-4
A	WO 2010/110448 A1 (Mitsui Engineering & Shipbuilding Co., Ltd.), 30 September 2010 (30.09.2010), entire text & JP 4620805 B	1-4

☐ 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
27 February, 2014 (27.02.14)

Date of mailing of the international search report
11 March, 2014 (11.03.14)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（I P C））

Int.Cl. C12M1/36(2006.01)i, C12P7/06(2006.01)n

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. C12M1/36, C12P7/06

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 4 年
日本国実用新案登録公報	1 9 9 6 - 2 0 1 4 年
日本国登録実用新案公報	1 9 9 4 - 2 0 1 4 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(JDreamIII)

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
A	JP 2008-253154 A（三井造船株式会社）2008.10.23, 全文 （ファミリーなし）	1-4
A	WO 2010/110448 A1（三井造船株式会社）2010.09.30, 全文 & JP 4620805 B	1-4

☐ 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

2 7 . 0 2 . 2 0 1 4

国際調査報告の発送日

1 1 . 0 3 . 2 0 1 4

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100-8915

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）

柴原 直司

4 N

3 5 3 4

電話番号 03-3581-1101 内線 3488