

明 細 書

バイオマスを原料とする糖組成物の製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、バイオマスを原料として、酸処理を行うことによりオリゴ糖やグルコースなどの糖組成物を製造する方法に関する。

本願は、2005年8月31日に出願された特願2005-250860号に基づいて優先権を主張し、その内容をここに援用する。

背景技術

[0002] 地球温暖化対策で、二酸化炭素排出量の削減目標を定めた京都議定書が批准され、日本は二酸化炭素排出量を1990年比で6%削減しなければならない。二酸化炭素排出削減には、化石燃料エネルギーを使用するのではなく、バイオマスエネルギーに転換することが有効である。このような背景下に、日本でもアルコールビジネスは動き出しており、2006年から3%アルコールを添加したガソリンの販売が開始されるが、2000年実績のガソリン使用量で換算した場合、全てのガソリンに添加すれば約180万キロリットルのアルコール需要が見込まれる。

[0003] バイオマスで最も供給量が期待できる木質系バイオマスは、セルロース繊維の結晶構造がリグニンと複合体を形成して物理的及び化学的に強い構造を有する。セルロースは β -1-4結合をしたD-グルコースの重合体であり、結晶領域と非結晶領域で構成されている。その他の構成多糖がヘミセルロースで、キシロース、アラビノース、マンノース等の種々の単糖で構成されている。リグニンはフェニルプロパンを基本単位とする芳香族性高分子で、セルロースやヘミセルロースなどの糖組成物とは構造が異なる。化学的に見ると木材はセルロースが約50%、ヘミセルロースが約20%～30%、リグニンが約20～30%の主要成分と、数%の副成分で構成されている(非特許文献1)。

[0004] 間伐材、建築廃材、産業廃棄物、生活廃棄物、農産廃棄物などの木質系バイオマスもしくは木質系バイオマス含有率が多いこれらの廃棄物は、そのほとんどが埋め立て・焼却処分されているが、処分場の枯渇や焼却処分で生じるダイオキシン問題など

で、現在の処理方法は限界に近づいている。木質系バイオマスは有用な生化学原料やエネルギー資源となり得る可能性もあるため、廃棄物減量の削減を図りながら有用な成分を取り出す技術開発は、環境問題とエネルギー問題の対策として望まれている。

[0005] 従来より、様々な手法により、木質系バイオマスから高発熱量燃料への転換が図られてきており、特にメタン、ブタノール、エタノール、あるいはメタノールなどの液体燃料に転換することがこれまで数多く試みられてきた。その理由として、かさ高い固体の状態よりも、輸送・貯蔵面での優位性が挙げられるが、それ以上に、単位質量当たりの発熱量が木材に比べて著しく改善されることも大きな理由である。

[0006] バイオマス転換の方法としては、多数の著書(非特許文献2～5)に示されているように、熱分解、ガス化、嫌気性発酵など、広く行われてきているが、その中でも、酸又は酵素加水分解により単糖化した後、発酵によりエタノールを得る方法が広く研究されている。このうち、酵素加水分解反応は、酵素分子を対象となるバイオマス空隙に進入させる必要があることから、酵素を基質に接触させるために、化学的、物理的、微生物的方法による前処理を行う必要がある点がコスト的な面などから、実用性の障壁になっている。

[0007] 一方、酸加水分解による酸糖化法としては、主成分であるセルロース、ヘミセルロースなどの多糖を単糖に加水分解し、芳香族性高分子のリグニンと分離する方法が、前述の著書にも示されているように、古くから取り組まれてきた。これまでに提案されてきた糖化法は、触媒として用いる酸の濃度によって希酸法と濃酸法に大別される。希酸法は数%程度の硫酸を用いて120°Cから、時には240°C程度の反応条件で行うことにより糖化を目指す方法である。容易な酸の回収と再利用、装置の腐食性が低いことが特徴として挙げられる反面、高温高压下の反応条件が必要であることと、グルコース収率が低ければ欠点がある。濃酸法は70%程度の硫酸もしくは40%程度の塩酸を用いる方法であり、希酸法に比べて低い温度で反応が可能で収率が高ければ利点がある反面、装置の腐食と酸の回収が難しいと挙げられる。

[0008] 以上の方法はいずれも、後段のエタノール発酵過程に供する液を効率的に産出するためのものであり、さらに改良された方法として、以下のような技術も提案されてい

る。

- [0009] (1) セルロース系物質を70質量%以上の濃度のリン酸に溶解及び／又は膨潤させた状態で、30～60℃の温度で強力な攪拌を行って得られる非結晶セルロースあるいはセロオリゴ糖をセルラーゼで分解する(特許文献1)。
- (2) セルロース及びヘミセルロース系物質を約25～90質量%の酸溶液で35～80での条件で混合することによってゲル化し、その後、酸濃度を20～30質量%に希釈した後、80～100℃に加熱して加水分解を促進する(特許文献2)。
- [0010] (3) セルロース材料をカトキセンなど金属キレート苛性膨潤溶媒に溶解し、希硫酸を用いて加水分解する(特許文献3)。
- (4) セルロース系材料を濃塩酸と、濃硫酸との混液中で処理する(特許文献4)。
- (5) 微細構造破壊の為に、アセチル化を目的として鉍酸と酢酸で処理する(特許文献5)。
- [0011] しかしながら、これらのいずれの方法も、処理後の糖液はヘミセルロース、セルロースの構成糖の混合物となり、後段の発酵過程において、キシロース等の糖は発酵反応を著しく阻害することがわかっている。そのため、このような糖液から発酵に必要な炭素源だけを純化するためにさまざまな提案がなされてきた。
- さらに、酸による糖法は、いずれの反応も高温・高圧条件もしくは強攪拌条件が必要であることなど、製造コストが問題となっている。
- また、後段の発酵過程での効率化のため、前述の糖液中でほとんど単糖の状態にまで分解されており、近年、整腸作用などの生理作用が注目されているオリゴ糖そのものを取り出すことについて着目されておらず、得られたオリゴ糖を再度、酸又は酵素加水分解を行うことによりグルコース収率を向上することだけに着目されてきた。
- [0012] オリゴ糖は、ブドウ糖や果糖などの単糖が数個結合したもので、フラクトオリゴ糖、大豆オリゴ糖、ガラクトオリゴ糖、キシロオリゴ糖、アガロオリゴ糖などがある。これらのオリゴ糖は、虫歯予防甘味料、腸内細菌の選択的な増殖促進効果による整腸作用、食物繊維と同様に、余分な腸内コレステロール、胆汁酸の排出作用があるとされており、特定保健用食品として認定された乳酸飲料、食品などに添加される有用な糖類であり、医薬、サニタリーの分野でも乳剤、保湿剤など幅広い用途がある。

[0013] オリゴ糖の製造方法としては、これまでに以下のような技術が提案されている。

(1) 天然リグノセルロース材料を蒸解して得られるパルプを、セルラーゼによって部分的に加水分解してセロオリゴ糖を得る。この際、反応液を連続的に限外濾過膜で処理し、オリゴ糖の重合度を調節する(特許文献6)。

(2) キシラン原料をヘミセルラーゼ処理により、特定の反応条件で分解することでキシロースの生成を抑えながらキシロビオースを高濃度で得る(特許文献7)。

[0014] (3) レバン及びイヌロビオースを加水分解する活性を有する酵素源の存在下、水性媒体中でイヌロビオースを反応させ、水性媒体中に生成したオリゴ糖類を採取する(特許文献8)。

(4) キシラン含有天然物から細片化、蒸煮、水洗、水抽出、オゾン処理、イオン交換樹脂処理、濃縮乾固してオリゴ糖を得る(特許文献9)。

(5) 製紙用パルプのヘミセルラーゼ処理後の液を膜濾過法によって濃縮し、酸加水分解してオリゴ糖を得る(特許文献10)。

[0015] 以上の(1)～(5)の方法において、(4)以外はいずれもオリゴ糖を得る過程もしくは、前処理の段階に酵素を用いている。これは、基質特異性の高い酵素を利用し、純粋なオリゴ糖を得るためであるが、高価な酵素を利用することが実用化を妨げてきた。(4)については高温・高圧下条件が必要で、オゾン処理もコスト高の一因となっている。

特許文献1:特許第3 0164 19号公報

特許文献2:特表平11-506934号公報

特許文献3:特開昭54-16 0755号公報

特許文献4:特公昭57-538 01号公報

特許文献5:特公昭59-53 04 0号公報

特許文献6:特公平8-2312号公報

特許文献7:特開昭62-155 05号公報

特許文献8:特開平8-283284号公報

特許文献9:特公平7-05957号公報

特許文献10:特開平12-333692号公報

非特許文献1:原 口隆英ら「木材の化学」p4 ~5、文永堂出版、1985 年発行

非特許文献2:日本木材学会編「木質バイオマスの利用技術」p19 ~61、文永堂出版、1991年7月発行

非特許文献3:湯川秀明ら「バイオマスエネルギー利用の最新技術」各論編11-1章、CMC出版、2001年8月発行

非特許文献4:飯塚堯介ら「ウッドケミカルの最新技術」p6 ~34、CMC出版、2001年10月発行

非特許文献5:船岡ら「木質系有機資源の新展開」第5章-2、CMC出版、2005年1月発行

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0016] 本発明者らは、バイオマス、特に木質系バイオマスの酸処理において、ヘミセルロース系オリゴ糖、セルロース系オリゴ糖、グルコースにそれぞれ着目し、鋭意研究を重ねた結果、これら3種の糖組成物を、酵素反応などを用いることなく、簡易に分離することが可能であることを見出した。従って、本発明は、木質系等のバイオマスに含まれる糖組成物を安価にかつ簡易に分離、取得することを目的とする。また、ヘミセルロース系糖組成物をセルロース系糖組成物と分離することにより、後段のエタノール発酵効率向上も可能とすることを目的としている。

課題を解決するための手段

[0017] 前記の目的を達成するための本発明は、次の各実施態様を包含する。

(1) 固形バイオマスを酸濃度の異なる2種以上の酸処理液による処理工程で順次処理し、各処理工程で得られる反応液から上清と固形物を分離し、分離した固形物を引き続き酸処理工程で処理する操作を繰り返すことにより、各処理工程で種類の異なる糖組成物を分離、回収する工程を含むことを特徴とする複数種の糖組成物を製造する方法。

[0018] (2) 前記固形バイオマスが木質系バイオマスを含有することを特徴とする(1)項記載の複数種の糖組成物を製造する方法。

[0019] (3) 前記固形バイオマスが10mmの目開きのふるいを通過するサイズに微細化され

- ていることを特徴とする(1)項又は(2)項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [0020] (4)前記各酸処理工程における処理温度が35℃以下であることを特徴とする(1)項～(3)項のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [0021] (5)前記各酸処理工程で使用する酸処理液が、硫酸、硝酸、塩酸及びリン酸から選ばれる1種の酸もしくは複数種の酸の混合酸を含むことを特徴とする(1)項～(4)項のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [0022] (6)前記各酸処理工程における1つの酸処理工程が、上清としてヘミセルロース系オリゴ糖を分離、取得する工程であり、かつ、該酸処理工程における酸処理液の酸濃度が55～63質量%であることを特徴とする(1)項～(5)項のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [0023] (7)前記各酸処理工程における1つの酸処理工程が、上清としてセルロース系オリゴ糖を分離、取得する工程であり、かつ、該酸処理工程における酸処理液の酸濃度が64～70質量%であることを特徴とする(1)項～(6)項のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [0024] (8)前記1つの酸処理工程が上清としてセルロース系オリゴ糖を分離、取得する工程であり、かつ、該酸処理工程において、分離される上清の酸濃度を64～70質量%から30～63質量%まで低下させて上清中のセルロース系オリゴ糖を凝集させることを特徴とする(7)項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [0025] (9)前記各酸処理工程において分離された上清中から、糖組成物を、フィルターとしてセルロース基材を使用して分離することを特徴とする(1)項～(8)項のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [0026] (10)前記酸処理工程で得られるセルロース系オリゴ糖を酸又は酵素によって処理してグルコースを主成分とする単糖に転化する工程を有することを特徴とする(7)項～(9)項のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [0027] (11)前記固形バイオマスを酸濃度の異なる2種以上の酸処理液による処理工程で順次処理する一連の処理工程は、最初の酸処理液による処理工程が上清としてヘミセルロース系オリゴ糖を分離、取得する工程であり、次の酸処理液による処理工程が

、前段の酸処理工程で上清から分離された固形物を酸処理液で処理して上清としてセルロース系オリゴ糖を分離取得する工程であることを特徴とする(1)項～(10)項のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。

[0028] (12)前記セルロース系オリゴ糖を分離取得する酸処理工程は、セルロース系オリゴ糖を含有する上清をセルロース基材からなるフィルターで処理して低重合度のセルロース系オリゴ糖成分含有液と比較的に高重合度のセルロース系オリゴ糖成分に分割する工程を有することを特徴とする(1)項～(11)項のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。

[0029] (13)前記低重合度のセルロース系オリゴ糖成分含有液の酸濃度を30～63質量％に低下させて低重合度のセルロース系オリゴ糖成分を凝集させて高重合度のセルロース系オリゴ糖に転化することを特徴とする(12)項記載の複数種の糖組成物を製造する方法。

[0030] (14)前記固形バイオマスに酸濃度の異なる2種以上の酸処理液による処理工程で順次処理する一連の処理工程の少なくとも一つの処理工程において、分離された上清に対して、当該処理工程で分離されるべき糖組成物を含有する固形物を加え、当該酸処理工程を再度行うことを特徴とする、(1)項～(11)項のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。

発明の効果

[0031] 本発明によれば、従来、そのほとんどが埋め立て・焼却処分されている建築廃材、産業廃棄物、生活廃棄物、農産廃棄物などや間伐材などの木質系バイオマスもしくは木質系バイオマス含有率が多いこれらの廃棄物から、有用な生化学原料やエネルギー資源となり得る糖組成物を得ることが可能性となり、環境問題とエネルギー問題の対策として有望な技術が提供される。

図面の簡単な説明

[0032] [図1]参考例2の加水分解生成物のイオンクロマトグラフを示す。

[図2]実施例1-2の糖組成物溶液のイオンクロマトグラフを示す。

[図3]実施例1-2の糖組成物溶液の加水分解生成物のイオンクロマトグラフを示す。

[図4]スギの第一段反応糖組成物溶液の加水分解生成物のイオンクロマトグラフを示す。

す。

[図5]スギの第二段反応糖組成物溶液の加水分解生成物のイオンクロマトグラフを示す。

す。

[図6]ヒノキの第一段反応糖組成物溶液の加水分解生成物のイオンクロマトグラフを示す。

[図7]ヒノキの第二段反応糖組成物溶液の加水分解生成物のイオンクロマトグラフを示す。

[図8]コナラの第一段反応糖組成物溶液の加水分解生成物のイオンクロマトグラフを示す。

[図9]コナラの第二段反応糖組成物溶液の加水分解生成物のイオンクロマトグラフを示す。

[図10]ユーカリの第一段反応糖組成物溶液の加水分解生成物のイオンクロマトグラフを示す。

[図11]ユーカリの第二段反応糖組成物溶液の加水分解生成物のイオンクロマトグラフを示す。

発明を実施するための最良の形態

[0033] 以下、本発明をさらに詳しく説明する。

本発明が処理対象とするバイオマスには、間伐材、建築廃材、木材チップ、おがくず、勢定材や、木質材含有物を含む産業・生活廃棄物等の他に、粉殻、竹、バガス、ワラ類、トウモロコシ穂軸などの農産廃棄物などが含まれる。また、古新聞、雑誌、段ボール、古紙、パルプ、パルプスラッジ、リントー、綿、木綿などのセルロース系物質も処理可能である。前記バイオマス原料は、処理に供する前に微細化を行うことによって反応時間を短縮することが可能である。微細化の程度としては、1.0mmの目開きふるいを通過すれば、反応時間短縮に効果があり、5mm以下の粒子にすることがさらに望ましい。また、前記粒子は、10 μ m以上であることが好ましい。

[0034] 本発明の方法においては、まず、前記バイオマス原料を55～63質量%の酸を含む酸処理液で処理することにより、ヘミセルロース系オリゴ糖を溶出させる。酸としては、硫酸、硝酸、塩酸、リン酸、沸酸などの鉱酸やトリフルオロ酢酸のような有機酸も

しくは、これらの酸混合液が使用可能であるが、中でも硫酸、硝酸、塩酸、及びリン酸から選択される少なくとも1種が好ましく、硫酸が更に望ましく、特に60～62質量%の硫酸が本発明の方法には適している。

ヘミセルロース系オリゴ糖を溶出させる反応は、常圧、35℃以下で速やかに起こるが、オリゴ糖重合度低下を防ぐためには25℃以下が望ましく、20℃以下がより更に好ましい。また、ヘミセルロース系オリゴ糖を溶出させるための反応温度は、0℃以上であることが好ましい。また、反応時間は、好ましくは2～48時間、より好ましくは4～24時間程度である。この反応は特に加熱・加圧の必要がなく、従来技術とは異なり生成物はオリゴ糖が主体で単糖は存在しても微量である。このため、単糖の過分解により生ずるフルフラール化合物や、単糖とアミノ酸が関与するメイラート反応由来の着色は抑制される。

[0035] 溶出したヘミセルロース系オリゴ糖の回収方法としては、前記反応液から遠心分離などにより不溶画分を取り除いて得た上清に、イオン交換樹脂法、膜濃縮法などを施すことにより回収することが可能であるが、パルプ、セルロースパウダー、セルロースフィルターによる吸着でも容易に分離、回収することが可能である。また、前記反応液から不溶画分を取り除いた後、酸濃度を急激に希釈することによってオリゴ糖を凝集させる方法も有効である。

[0036] 以上の方法によって得られるヘミセルロース系オリゴ糖組成物は、処理したバイオマス原料によって、収率、構造・割合などが異なるものとなる。オリゴ糖の種類としては、グルクロノキシラン由来のキシロオリゴ糖や、ガラクトタン由来のガラクトオリゴ糖、グルコマンナン由来のマンノオリゴ糖などが挙げられ、例えば、キシロース、アラビノース、ガラクトース、ラムノース、ガラゲロン酸、グルクロン酸、グルコースなどで構成されるオリゴ糖組成物として得られる。

[0037] 次に、不溶画分について64～70質量%の酸を含む酸処理液で処理することにより、セルロース系オリゴ糖を溶解させることができる。酸としては、硫酸、硝酸、塩酸、リン酸、沸酸、トリクロロ酢酸もしくは、これらの酸を主成分とした混合液が使用可能であるが、中でも硫酸、硝酸、塩酸、及びリン酸から選択される少なくとも1種が好ましく、硫酸が更に望ましく、特に64～66質量%の硫酸が本発明の方法でセルロース系オリゴ糖を

溶出させるためには適している。

セルロース系オリゴ糖を溶解させる反応は、常圧、35°C以下で速やかに起こるが、オリゴ糖の重合度の低下を防ぐには25°C以下が望ましい場合が多い。また、セルロース系オリゴ糖を溶出させるための反応温度は、0°C以上であることが好ましい。また、反応時間は、好ましくは1～48時間、より好ましくは2～24時間程度である。

[0038] セルロース系オリゴ糖の回収方法もヘミセルロース系オリゴ糖の回収方法がそのまま踏襲できる。すなわち、反応液から遠心分離などにより不溶画分を取り除いて得た上清に、イオン交換樹脂法、膜濃縮法などを施すことによりセルロース系オリゴ糖を回収することが可能であるが、パルプ、セルロースパウダー、セルロースフィルターによる吸着でも容易に分離、回収することが可能である。また、前記セルロース系オリゴ糖を含有する反応液から不溶画分を取り除いた後、酸濃度を急激に希釈することによってセルロース系オリゴ糖を凝集させる方法も有効である。特に、凝集による回収を行う場合、セルロース系オリゴ糖が溶解した液をヘミセルロース系オリゴ糖溶出時に使用する酸濃度(55～63質量%)と同じ濃度にするにより、処理後の酸液濃度を調製することなく前段工程で再利用可能となる。

[0039] また、前記セルロース系オリゴ糖を含有する反応液から不溶画分を取り除いて得た上清を、セルロース基材からなるフィルターで処理して低重合度のセルロース系オリゴ糖成分含有液と比較的に高重合度のセルロース系オリゴ糖成分に分割し、低重合度のセルロース系オリゴ糖成分含有液の酸濃度を30～63質量%に低下させて低重合度のセルロース系オリゴ糖成分を凝集させて高重合度のセルロース系オリゴ糖に転化することもできる。前記「低重合度」とは、平均重合度2～4を意味し、「比較的に高重合度」とは、平均重合度5～15を意味する。なお、「平均重合度」は、フェノール硫酸法によって全糖量を算出した後に、ソモギーネルソン法によって還元糖の定量を行うことによって算出される。

[0040] 更に本発明においては、酸濃度の異なる少なくとも2種の酸処理液を用いて固形バイオマスを順次処理する一連の処理工程の少なくとも一つの処理工程において、分離された上清に対して、当該処理工程で分離されるべき糖組成物を含有する固形物を加えて反応させることにより、上清中に含まれる糖組成物の濃度を高めることができ

る。

以下に、第一の酸処理工程が、木質系バイオマス原料を55～63質量%の酸で処理してヘミセルロース系オリゴ糖組成物を含む上清と不溶画分に分離する工程であり、第二の酸処理工程が、前記第一の工程の不溶画分を64～70質量%の酸で処理することによりセルロース系オリゴ糖を得る工程であって、第一および第二の各酸処理工程において、糖成分の濃度を高める処理を施す実施態様について説明する。

この場合、第一の酸処理工程では、分離された上清に対して新たな木質系バイオマス原料を加えて反応させることにより上清中のヘミセルロース系オリゴ糖の濃度を高めることが可能である。次に、第二の酸処理工程で分離された上清に対して、別の第一の酸処理工程で分離された不溶画分を加えて反応させることにより上清中のセルロース系オリゴ糖濃度を高くすることが可能である。

[0041] これまでの技術では、酸糖化法により得られる糖液は、ヘミセルロース由来、セルロース由来のオリゴ糖もしくは単糖の混合物であり、それぞれを分離するには、別途、膜処理か、イオン交換・逆相などのクロマトグラフィーを行う必要があった。本発明の方法により、基質特異性が高いといわれている酵素を用いなくとも、ヘミセルロース系オリゴ糖、セルロース系オリゴ糖、グルコースを分離することが可能となる。ヘミセルロース系オリゴ糖を除去した後得られるセルロース系オリゴ糖は、さらに、酸もしくは酵素による加水分解によって、グルコースに変換することも可能であるが、機能性食品等としてセロオリゴ糖の状態を提供することも可能である。

実施例

[0042] 以下、本発明を実施例により詳細に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。以下に示す各実施例において、「%」は、特に断りがない限りは全ての質量によるものであり、対木質系バイオマス物質の添加率は、絶乾質量に対する比である。また、平均重合度の算出には、フェノール硫酸法によって全糖量を算出した後に、ソモギーネルソン法によって還元糖の定量を行うことによって算出している。各定量方法については、「還元糖の定量法」(福井作蔵著 学会出版センター)を参考にした。

[0043] <参考例1ノ

平均粒子径 0.5mm サイズに調製されたスギ木粉 100mg ずつをプラスチック試験管 3本に入れ、夫々に 49% 硫酸 10ml を加え、25°C に保ちながらスターラーにより 8 時間攪拌し、反応液を得た。同様な操作を、53%、57%、61%、65% の各濃度の硫酸についても行った。

前記反応液を遠心分離により上清と沈殿物を分離した。得られた上清から全糖 1.4mg ~ 53.1mg の糖組成物が得られた。これら糖組成物溶液の全糖回収率及び還元末端定量から得られた平均重合度を測定し表 1 に示す。なお、表の数値は、3本の試験管の算術平均値を採用して記載した。

[0044] [表 1]

番号	硫酸濃度 (%)	回収率 (%)	重合度
参考例 1-1	49	3.0	13.02
参考例 1-2	53	8.3	12.48
参考例 1-3	57	14.2	11.31
参考例 1-4	61	20.8	9.62
参考例 1-5	65	53.1	4.88

[0045] <参考例 2ノ

参考例 1-4 と同じ糖組成物を更に一つ作成し、蒸留水で 20 倍に希釈し、110°C、30 分のオートクレーブ処理を1竹、単糖まで加水分解し、ダイオネクス社製イオンクロマトにより分析したところ、キシロース 4.4mg、マンノース 7.1mg、ガラクトース 2.7mg、アラビノース 2.1mg、グルコース 4.5mg であった。イオンクロマトグラフを図 1 に示す。

[0046] <参考例 3ノ

参考例 1-5 と同じ糖組成物を更に一つ作成し、蒸留水で 20 倍に希釈し、110°C、30 分のオートクレーブ処理を1竹、単糖まで加水分解し、ダイオネクス社製イオンクロマトにより分析したところ、キシロース 4.8mg、マンノース 13.1mg、ガラクトース 4.6mg、アラビノース 2.8mg、グルコース 27.7mg であった。

[0047] <参考例 4、実施例 1ノ

平均粒子径 0.5mm サイズに調製されたスギ木粉 100mg ずつをプラスチック試験

管多数本に入れ、夫々に61%硫酸10mlを加え、25°Cに保ちながらスターラーにより8時間攪拌し、一段目の反応液を得た。前記反応液を遠心分離により上清と沈殿物を分離した。以上は参考例1-4と同じ条件である。この試料を多数本作成し、以下の実施例に供した。

上清は別の試験管に移し、沈殿物を試験管内に残し、これに63%硫酸を10ml加え、25°Cに保ちながら4時間攪拌した。得られた二段目の反応液を遠心分離した。得られた上清からは全糖17.4mgの糖組成物が得られた。これを実施例1-1とする。

前記一段目の沈殿物に対して、63%硫酸に変えて、65%、67%、69%の各硫酸により同様の操作を行い、二段目の反応液を得た。これらを実施例1-2、1-3、1-4とした。また、参考のため、61%の硫酸により同様の操作を行い二段目の反応液を得て、これを参考例4とした。

前記の各二段目の反応液として得られた糖組成物について、参考例1と同様に全糖回収率及び還元末端定量から得られた平均重合度を測定し、表2に示す。

[0048] 本実施例により、65%硫酸の一段で処理した反応液(参考例1-5:回収率53.1%)の糖の回収率値と比較して、61%硫酸で処理した反応液(参考例1-4:20.8%)と、残液を65%硫酸で処理した反応液(実施例1-2:29.8%)の両者の回収率を加算した値は同程度であることが判明した。また二段目の硫酸濃度を上昇してもトータル回収率に変動がないことも判明した。

[0049] [表2]

	硫酸濃度(%)	回収率(%)	重合度
参考例 4	61	3.82	9.48
実施例 1-1	63	17.4	7.26
実施例 1-2	65	29.8	4.42
実施例 1-3	67	29.7	4.37
実施例 1-4	69	28.6	4.23

[0050] <実施例2ノ

実施例1-2で得られた、二段目の反応液の糖組成物溶液を参考例3と同様にダイオネクス社製イオンクロマトにより分析したところ、重合度10までのセロオリゴ糖が存

在した(図2参照)。この糖組成物溶液を単糖まで加水分解し、ダイオネクス社製イオンクロマトにより分析したところ、95%以上がグルコースであった(図3参照)。本実施例により、一段目にはヘミセルロース由来の糖だけを主として抽出することが可能で、同様に二段目の反応液にはセルロース由来の糖だけを主として抽出可能であることが判明した。

[0051] <実施例3ノ

実施例1-2において、65%硫酸で二段目の反応液を得るための反応温度を25で変えて、0°C、20°C、30°C、35°C、40°C、50°C、60°Cの各温度でそれぞれ行った。反応温度と、糖組成物量(回収率)と平均重合度を表3に示す。なお、表3中の実施例1-2は、表2中の実施例1-2のデータを転記したものである。本実施例により、温度は糖の回収率にあまり影響しないが、糖の重合度が大きく変化することが判明した。

[0052] 表3]

	反応温度(°C)	回収率(%)	重合度
実施例 3-1	0	21.7	8.48
3-2	20	24.9	6.5
1-2	25	29.8	4.42
3-3	30	29.6	4.28
3-4	35	29.5	4.16
3-5	40	29.7	3.87
3-6	50	27.2	3.21
3-7	60	26.1	2.87

[0053] <実施例4ノ

フナコシ社製 微結晶セルロース粉末(商品名:フナセル)、雑誌古紙、段ボール原紙、トイレットペーパー(王子製紙社製 商品名ネピア)、醤油絞りかすを、FRITCH社製 遊星型ボールミルにて粉碎した。これら試料100mgを、それぞれプラスチック製試験管に取り、以下実施例1-2と同様の条件で、二段目の反応液を得た。この糖組成物量(回収率)と平均重合度を表4に示す。比較のため、実施例1-2のデータも転記した。

本実施例により、様々な形態の木質バイオマス原料を利用可能であることが判明した。

[0054] [表4]

	バイオマス原料	回収率(%)	重合度
実施例 1-2	スギ木粉	29.8	4.42
4-1	フナセル	25	5.92
4-2	雑誌古紙	18.4	5.21
4-3	段ボール原紙	16.3	5.34
4-4	トイレットペーパー	45.8	4.28
4-5	弩油絞りかす	18.4	5.13

[0055] <実施例5ノ

平均粒子径 0.5mm サイズに調製されたスギ、ヒノキ、コナラ、ユーカリ木粉それぞれ100mg に対し、実施例1-2と概略同様であるが、二段目の反応を27°C、2時間とし、二段目の反応液を得た。それぞれの一段目の反応液、二段目の反応液の糖組成物を単糖まで加水分解し、ダイオネクス社製 イオンクロマトにより分析した。イオンクロマトグラフを図4 ~ 図皿 に示す。図と試料の対応は、「図面の簡単な説明」の欄に記載した。本実施例により、様々な樹種の木質バイオマスが利用可能であることが判明した。

[0056] <実施例6ノ

平均粒子径 0.25mm、0.1mm、0.05mm の各サイズに調製されたスギ木粉を用いた他は実施例1-2と同様にして二段目の反応液を得た。これを実施例6-1 ~ 6-3とする。各二段目の反応液の糖組成物量(回収率)と平均重合度及び原料サイズを表5に示し、比較のため実施例1-2のデータも転記した。

更に、1、5、10、20mm のメッシュのふるいを通したスギのカンナ屑を用いた他は実施例1-2と同様にして二段目の反応液を得た。これを実施例6-4 ~ 6-7とする。各二段目の反応液の糖組成物量(回収率)と平均重合度及び原料サイズを表5に示した。本実施例により、使用する木質バイオマス原料は粒径が10mmまでは回収率に影響がないことが判明した。

[0057] [表5]

	原料サイズ	回収率(%)	重合度
実施例 6-1	0.05 mm	24.5	4.26
6-2	0.1 mm	23.2	4.21
6-3	0.25 mm	30.2	4.37
実施例 1-2	0.5 mm	29.8	4.42
実施例 6-4	1 mm	29.2	4.49
6-5	5 mm	28.7	4.53
6-6	10 mm	26.5	4.82
6-7	20 mm	13.2	5.18

[0058] <実施例7ノ

実施例1-2と同様な条件で、多数の試験管で二段目の反応液を得て以下の実施例7、8に供した。この段階において、61%硫酸による第一の反応液を別の試験管に取ったものをフラクション1としFr. 1と表示する。65%硫酸による第二の反応液の上清液を別の試験管に取ったものをフラクション2としFr. 2と表示する。

Fr. 2の試験管から液1mlを100ml用のビーカーに移し、これに20°Cの水1gmlを添加した。析出した多量の沈殿を遠心分離機(15000rpm、15min、20°C)で分離して回収し、得られた反応液の上清(Fr. 3)と沈殿(Fr. 4)の糖組成物量(回収率)と平均重合度を表6に示す。本実施例により、溶解度の違いを利用することで、重合度の高いオリゴ糖を分離可能であることが判明した。

[0059] [表6]

フラクション	回収率(%)	重合度
Fr. 1	20.8	9.62
汁. 2	29.8	4.42
斤. 3	23.2	4.02
Fr. 4	6.1	16.8

[0060] <実施例8ノ

Fr. 2を3NのNaOHで中和し、該中和液とフナコシ社製 微結晶セルロース粉末(商品名:フナセル)1gとを混合し、25°Cで一時間、50rpmで攪拌した。処理後、上清(Fr. 5)を取り除き、純水で沈殿を数回洗浄した後に、70%エタノールを2ml添加し、25°Cで一時間、50rpmで攪拌して上清(Fr. 6)を回収した。

さらに、Fr. 5の1mlに対し、活性炭(WAKO社製 品番 034-18051)100mgを添加し、25°Cで一時間、50rpmで攪拌し、上清を取り除き、純水で活性炭を数回洗

浄した後に、70%エタノールを2ml添加し、25°Cで一時間、50rpmで攪拌して上清 (Fr. 7) を得ることによって、硫酸やNaOHなどの塩を除去した。得られたオリゴ糖の回収率、平均重合度を表7に示す。本実施例により、結晶性セルロースや活性炭などを用いることにより、吸着作用度の違いを利用して重合度の異なるオリゴ糖を分離可能であることが判明した。

[0061] [表7]

フラクション	回収率 (%)	重合度
Fr. 2	29.8	4.42
Fr. 5	20.3	3.54
Fr. 6	5.8	17.12
Fr. 7	13.1	3.21

[0062] <実施例9ノ

Fr. 2と、参考例3の上清をそれぞれ10ml採取した。5NのNaOHでpH4.5に調製した後、0.2M酢酸緩衝液 (pH4.5) に溶解させた1%セルラーゼ Tアミノ4 (天野エンザイム社製) を1ml添加し、総量を20mlになるように純水を添加して45°Cで72時間の酵素処理を行った。コントロールとして煮沸して失活させた酵素液を用いて、同様に処理を行った。処理後、上清を回収し、イオンクロマトによってグルコース量を測定し、回収率を表8に示す。本実施例により、得られるオリゴ糖はセルラーゼにより単糖に分解可能であることが判明した。

[0063] [表8]

フラクション	回収率 (%)
Fr. 2	29.8
参考例3の上清	48.2

[0064] <実施例10ノ

Fr. 2に対し、新たに調製した実施例1-1の一段目沈殿物を添加し、25°Cに保ちながら8時間攪拌し2回目の反応液を得た。前記反応液を遠心分離により上清 (Fr. 8) と沈殿物に分離した。Fr. 8に対し、再度、新たに調製した実施例1-1の一段目

沈殿物を添加し、同様の処理を経て3回目の反応液上清 (Fr. 9) を得た。以上同様の手順を繰り返し、4回目 (Fr. 10)、5回目 (Fr. 11)、6回目 (Fr. 12) の反応液の上清について全糖量回収率及び平均重合度として表9に示す。本実施例により、反応液中の糖濃度を増加することが可能であることが判明した。

[0065] [表9]

フラクション	回収率 (%)	重合度	全糖量 (mg)
Fr. 2	29.8	4.42	29.8
Fr. 8	27.2	4.38	57
Fr. 9	26.8	4.27	83.8
Fr. 10	24.9	4.3	108.7
Fr. 11	24.2	4.28	132.9
Fr. 12	23.7	4.18	156.6

[0066] <実施例Ⅲ>

平均粒子径 0.5mm サイズに調製されたスギ木粉 100mg づつをプラスチック試験管多数本に入れ、夫々に 10~70% の酸 10ml を加え、25°C に保ちながらスターラーにより 8 時間攪拌し、一段目の反応液を得た。使用した酸は硫酸、リン酸、硝酸、沸酸、塩酸、酢酸、トリフルオロ酢酸、ギ酸をそれぞれ行い、高濃度の酸を入手しにくい、硝酸、沸酸、塩酸はそれぞれ上限濃度が 60%、40%、30% までを利用した。前記反応液を遠心分離により上清と沈殿物を分離した。反応液の上清について全糖量回収率として表 10 に示す。

本実施例により、硫酸を使用した場合に最も糖回収率が高いことが判明した。

[0067] [表10]

W/仰船	H2SO4	H3PO4	HNO3	HF	HCl	C2H3O2H	C2H5O2H	HCOOH
70	48.7 %	06 %				1.2 冊	2.5 %	0.8 %
冊	加山 弘	0.5 %	5.2 %			1.1 %	1.1 6	06 %
冊	4.2 明	0.3 %	2.3 %			0.9 %	1.6 %	0.5 郵
仙	1.0 %	0.2 %	0.9 %	5.3 冊		0.8 %	1.2 %	0.4 %
卸	0.9 %	0.2 %	0.5 %	3.2 廿	9.4 旺	0.7 呪	1.0 %	0.3 %
別	0.5 冊	0.1 %	0.3 明	1.1 %	2.0 %	0.6 %	0.8 %	0.3 %
0	帖 叫	0.1 呪	0.2 %	0.2 %	0.8 %	0.4 %	0.5 %	0.2 %

産業上の利用可能性

[0068] 以上、詳述したように、本発明によれば、従来、その殆どが埋め立て、焼却処分されている建築廃材、産業廃棄物、生活廃棄物、農産廃棄物などや間伐材などの木質系バイオマスもしくは木質系バイオマス含有率が多い廃棄物から、有用な生化学原料やエネルギー資源となり得る糖組成物を得ることが可能となり、環境問題の解決に寄与することが期待される。また、本発明の方法によって安価に提供される各種オリゴ糖類は、虫歯予防甘味料、腸内細菌の選択的な増殖促進効果による整腸作用が期待できることから、食物繊維と同様に、特定保健用食品として認定された乳酸飲料、食品などに添加される有用な糖類としての用途が広がり、医薬、サニタリーの分野における乳化剤、保湿剤などとしての用途への拡大も期待できる。

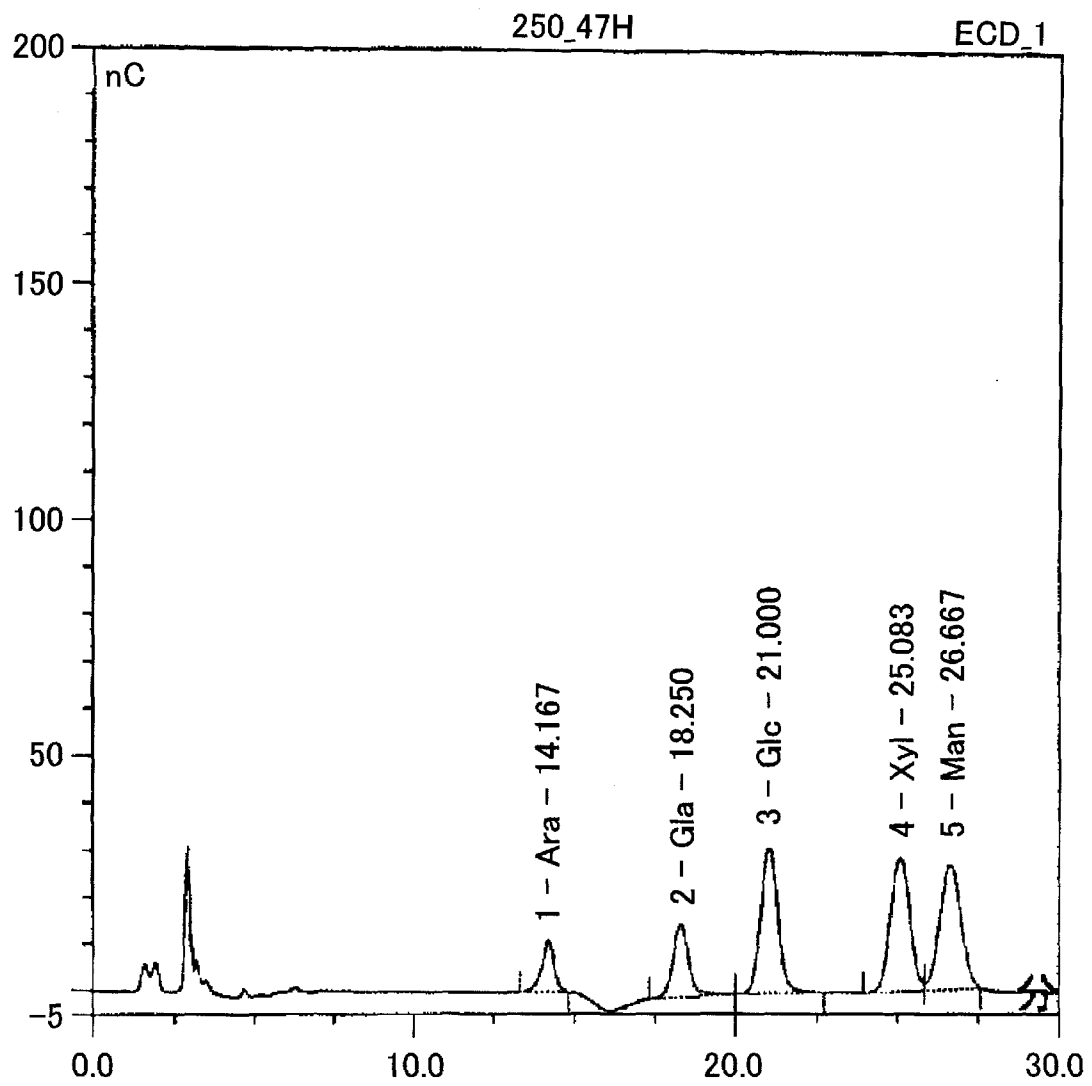
請求の範囲

- [1] 固形バイオマスが酸濃度の異なる2種以上の酸処理液による処理工程で順次処理し、各処理工程で得られる反応液から上清と固形物を分離し、分離した固形物を引き続き酸処理工程で処理する操作を繰り返すことによって各処理工程で種類の異なる糖組成物を分離、回収する工程を含むことを特徴とする複数種の糖組成物を製造する方法。
- [2] 前記固形バイオマスが木質系バイオマスを含むことを特徴とする請求項1記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [3] 前記固形バイオマスが10mmの目開きのふるいを通すサイズに微細化されていることを特徴とする請求項1又は請求項2に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [4] 前記各酸処理工程における処理温度が35℃以下であることを特徴とする請求項1～請求項3のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [5] 前記各酸処理工程で使用する酸処理液が、硫酸、硝酸、塩酸及びリン酸から選ばれる1種の酸もしくは複数種の酸の混合酸を含むことを特徴とする請求項1～請求項4のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [6] 前記各酸処理工程における1つの酸処理工程が、上清としてヘミセルロース系オリゴ糖を分離、取得する工程であり、かつ、該酸処理工程における酸処理液の酸濃度が55～63質量%であることを特徴とする請求項1～請求項5のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [7] 前記各酸処理工程における1つの酸処理工程が、上清としてセルロース系オリゴ糖を分離、取得する工程であり、かつ、該酸処理工程における酸処理液の酸濃度が64～70質量%であることを特徴とする請求項1～請求項6のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [8] 前記1つの酸処理工程が上清としてセルロース系オリゴ糖を分離、取得する工程であり、かつ、該酸処理工程において、分離される上清の酸濃度を64～70質量%から30～63質量%まで低下させて上清中のセルロース系オリゴ糖を凝集させることを特徴とする請求項7に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。

- [9] 前記各酸処理工程において分離された上清中から、糖組成物を、フィルターとしてセルロース基材を使用して分離することを特徴とする請求項1～請求項8のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [10] 前記酸処理工程で得られるセルロース系オリゴ糖を酸又は酵素によって処理してグルコースを主成分とする単糖に転化する工程を有することを特徴とする請求項7～請求項9のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [11] 前記固形バイオマスを酸濃度の異なる2種以上の酸処理液による処理工程で順次処理する一連の処理工程は、最初の酸処理液による処理工程が上清としてヘミセルロース系オリゴ糖を分離、取得する工程であり、次の酸処理液による処理工程が、前段の酸処理工程で上清から分離された固形物を酸処理液で処理して上清としてセルロース系オリゴ糖を分離取得する工程であることを特徴とする請求項1～請求項10のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [12] 前記セルロース系オリゴ糖を分離取得する酸処理工程は、セルロース系オリゴ糖を含有する上清をセルロース基材からなるフィルターで処理して低重合度のセルロース系オリゴ糖成分含有液と比較的に高重合度のセルロース系オリゴ糖成分に分割する工程を有することを特徴とする請求項1～請求項11のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [13] 前記低重合度のセルロース系オリゴ糖成分含有液の酸濃度を30～63質量%に低下させて低重合度のセルロース系オリゴ糖成分を凝集させて高重合度のセルロース系オリゴ糖に転化することを特徴とする請求項12に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。
- [14] 前記固形バイオマスを酸濃度の異なる2種以上の酸処理液による処理工程で順次処理する一連の処理工程の少なくとも一つの処理工程において、分離された上清に対して、当該処理工程で分離されるべき糖組成物を含有する固形物を加え、当該酸処理工程を再度行うことを特徴とする、請求項1～請求項11のいずれか1項に記載の複数種の糖組成物を製造する方法。

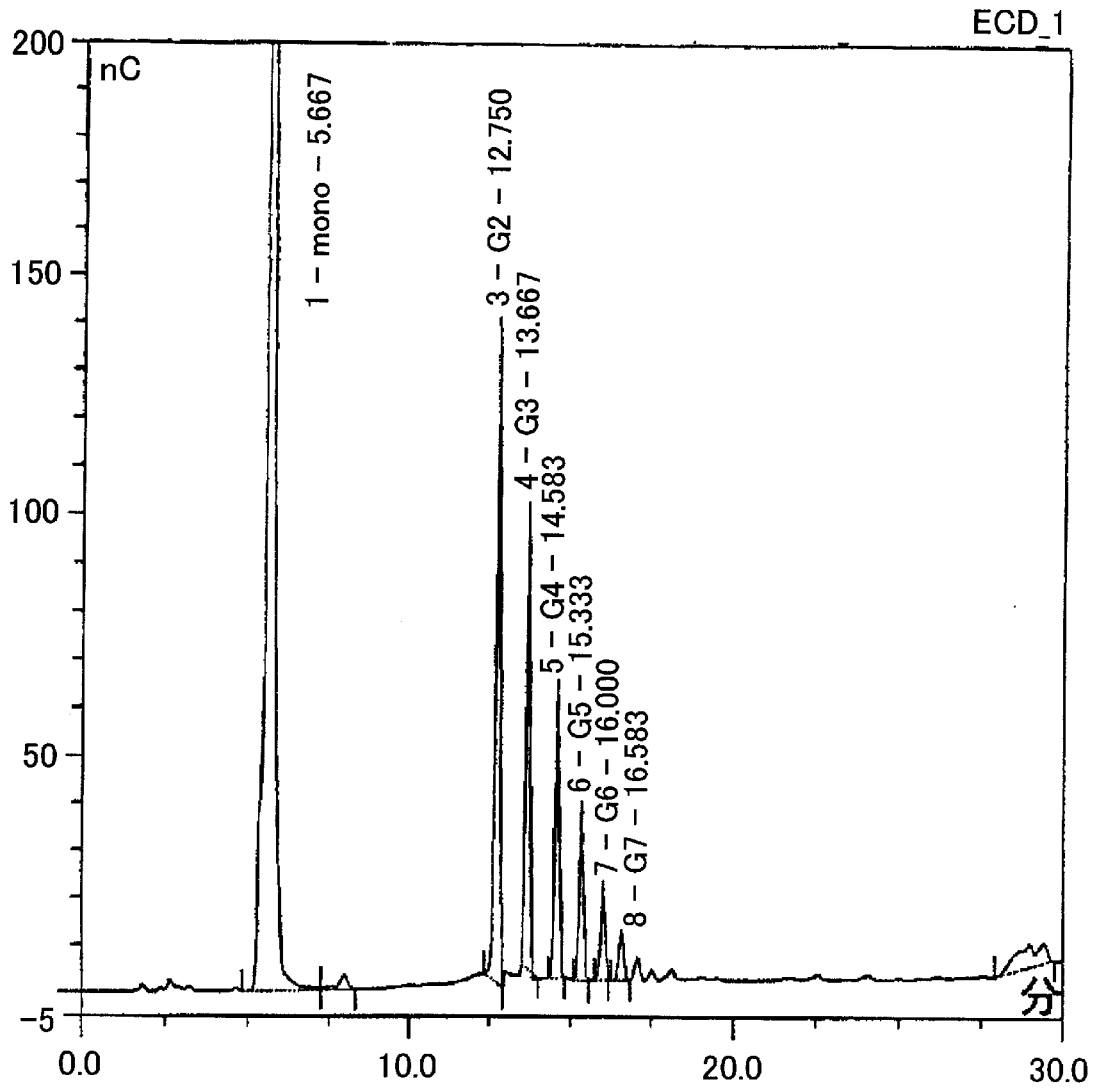
[図1]

図 1



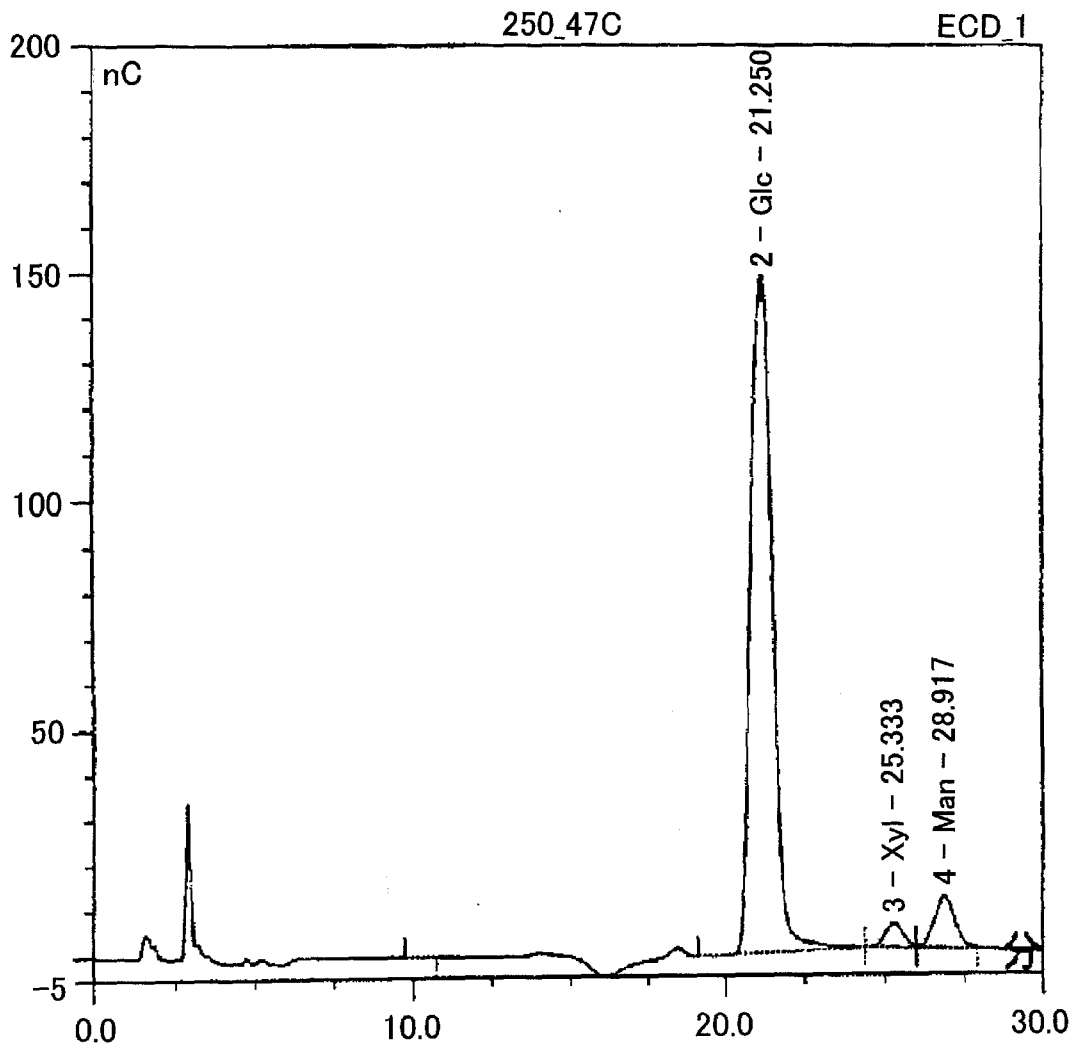
[図2]

図 2



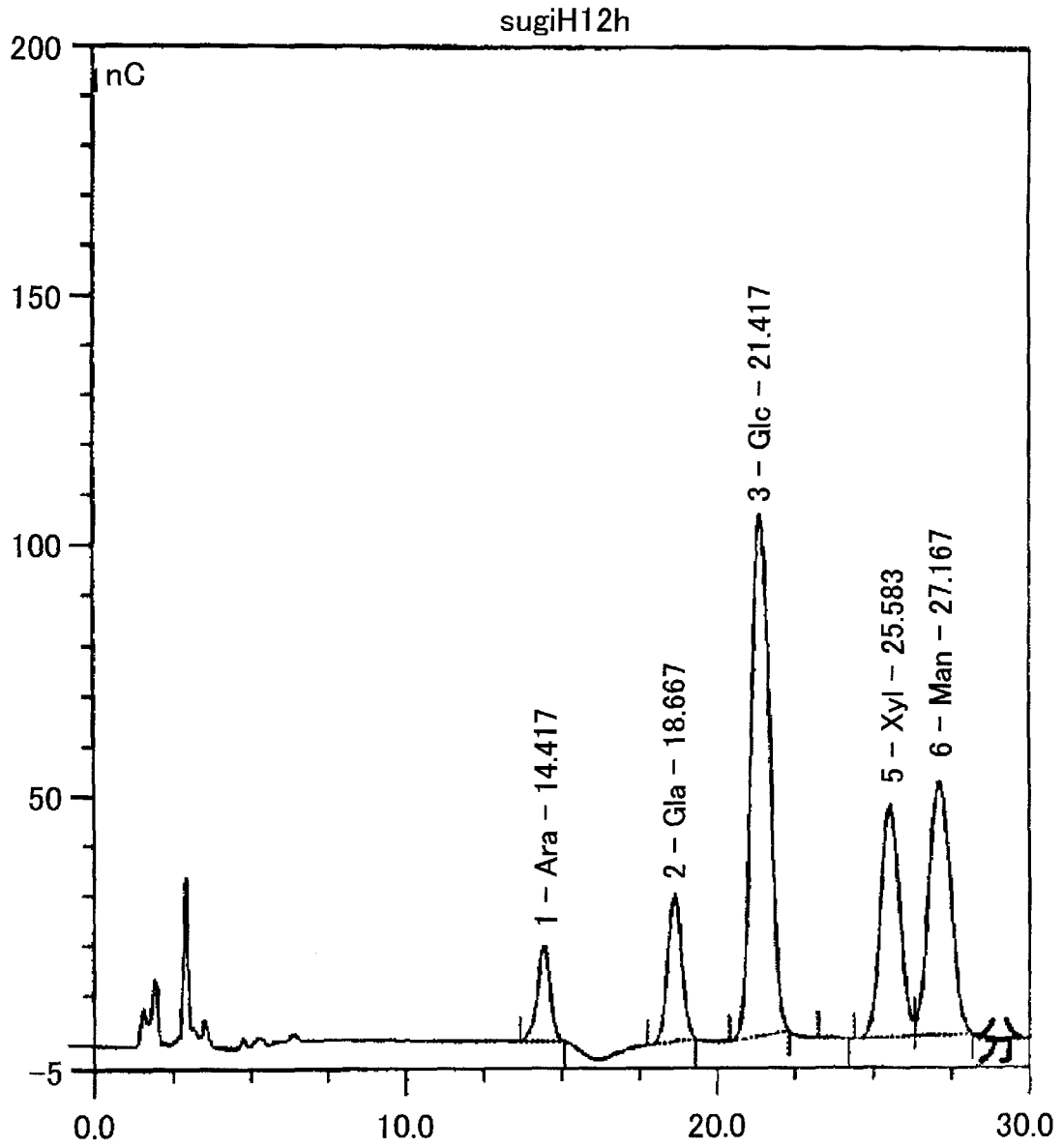
[図3]

図 3



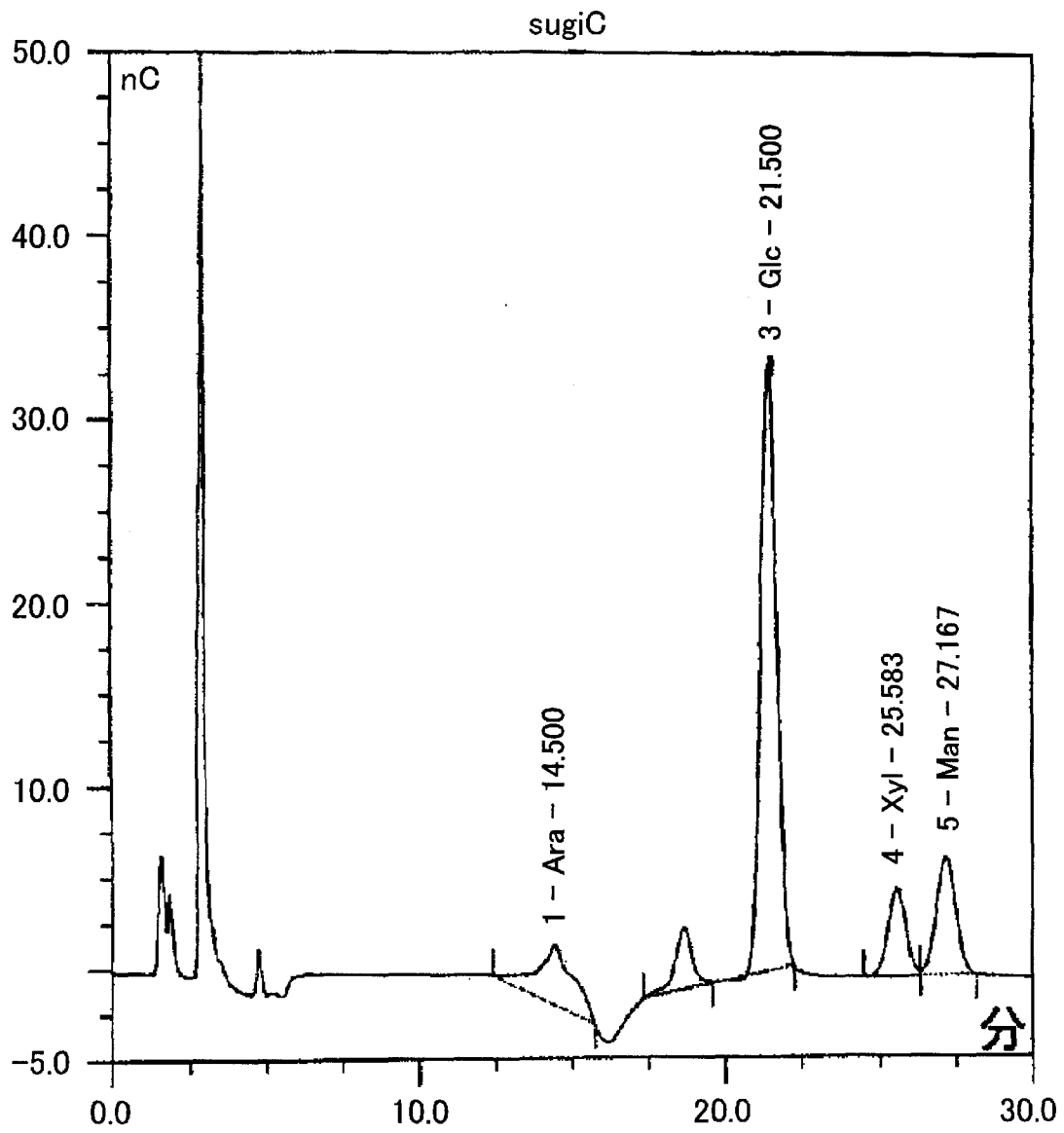
[図4]

図 4



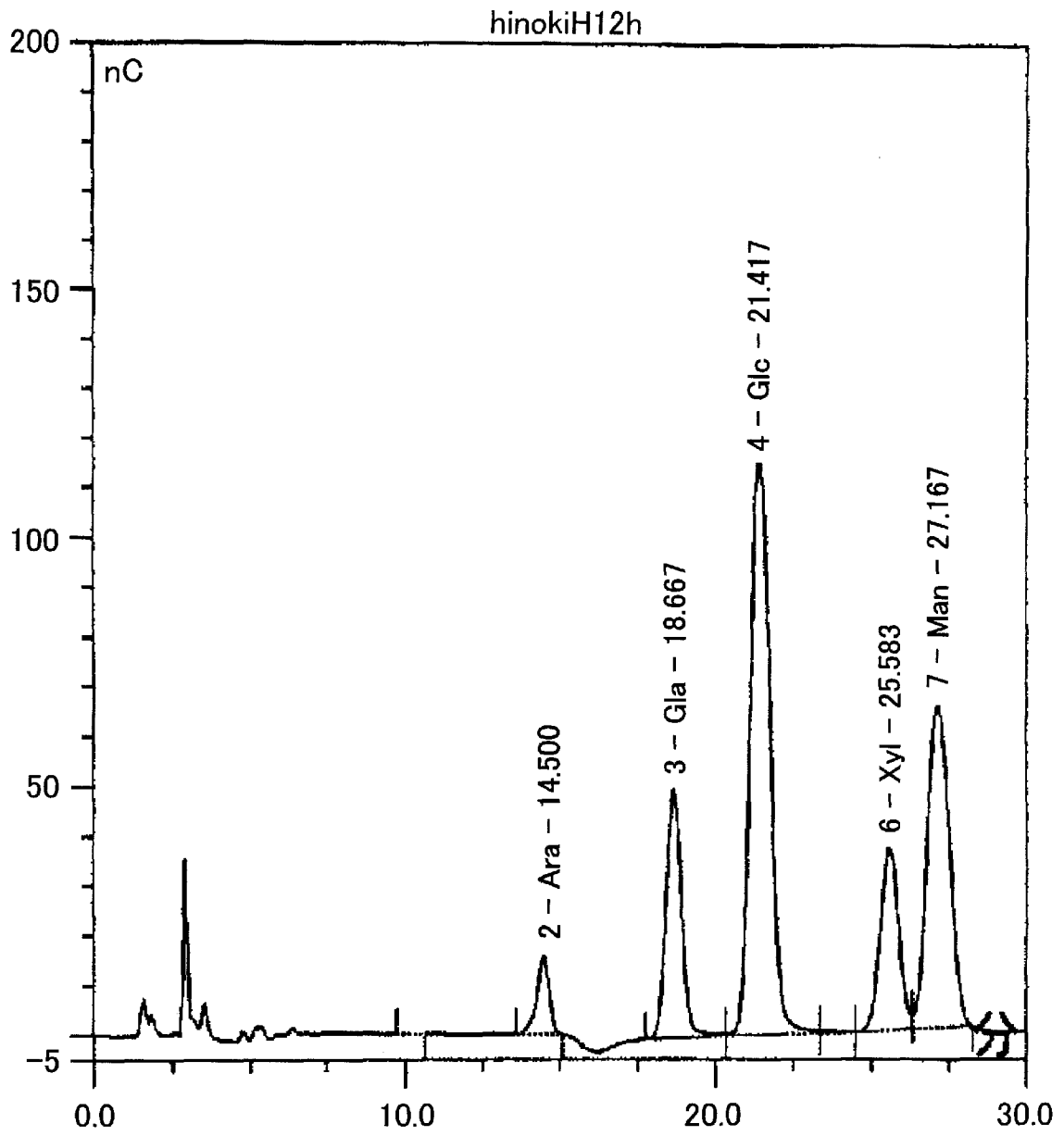
[図5]

[図5]



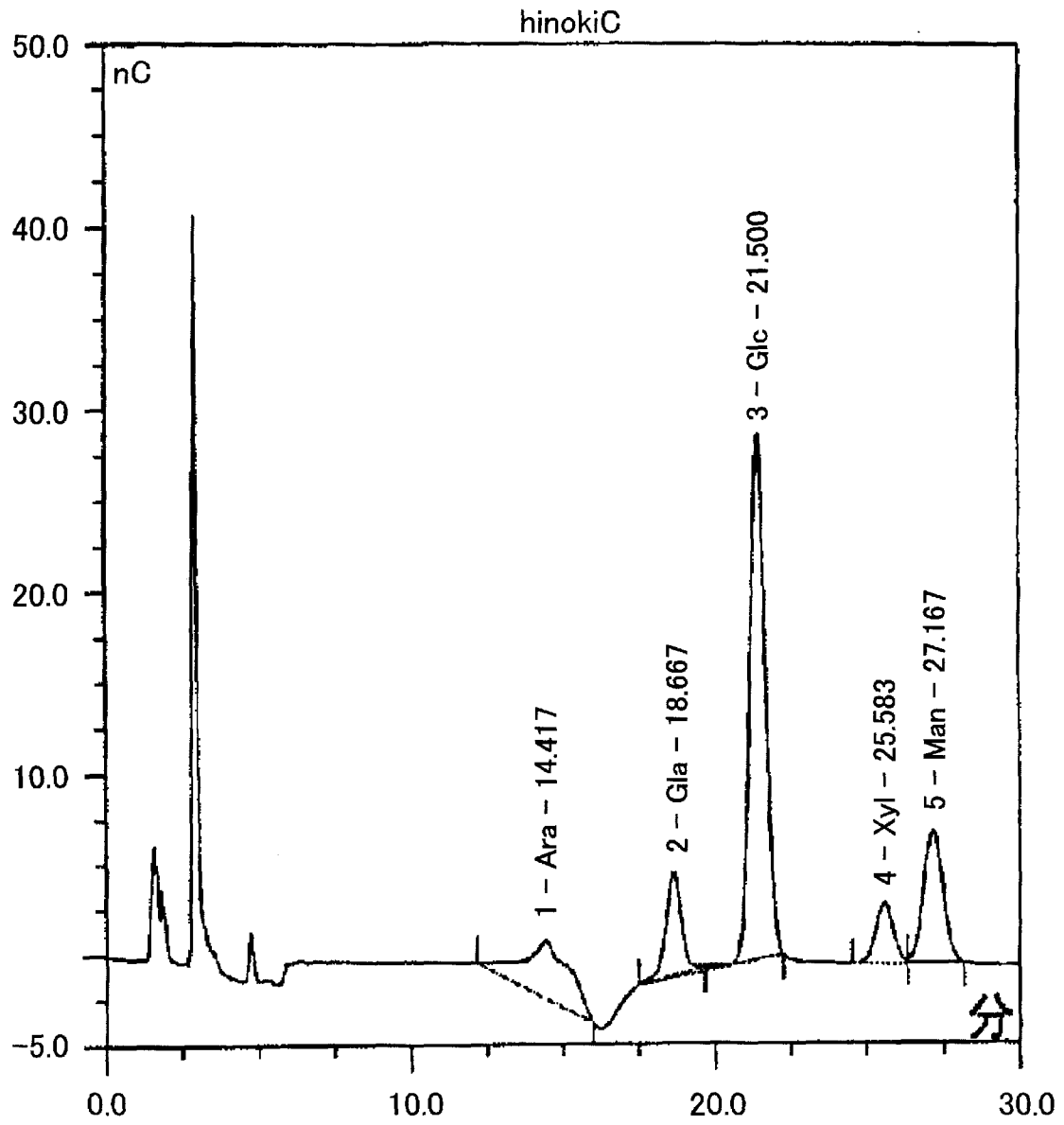
[図6]

[図] 6



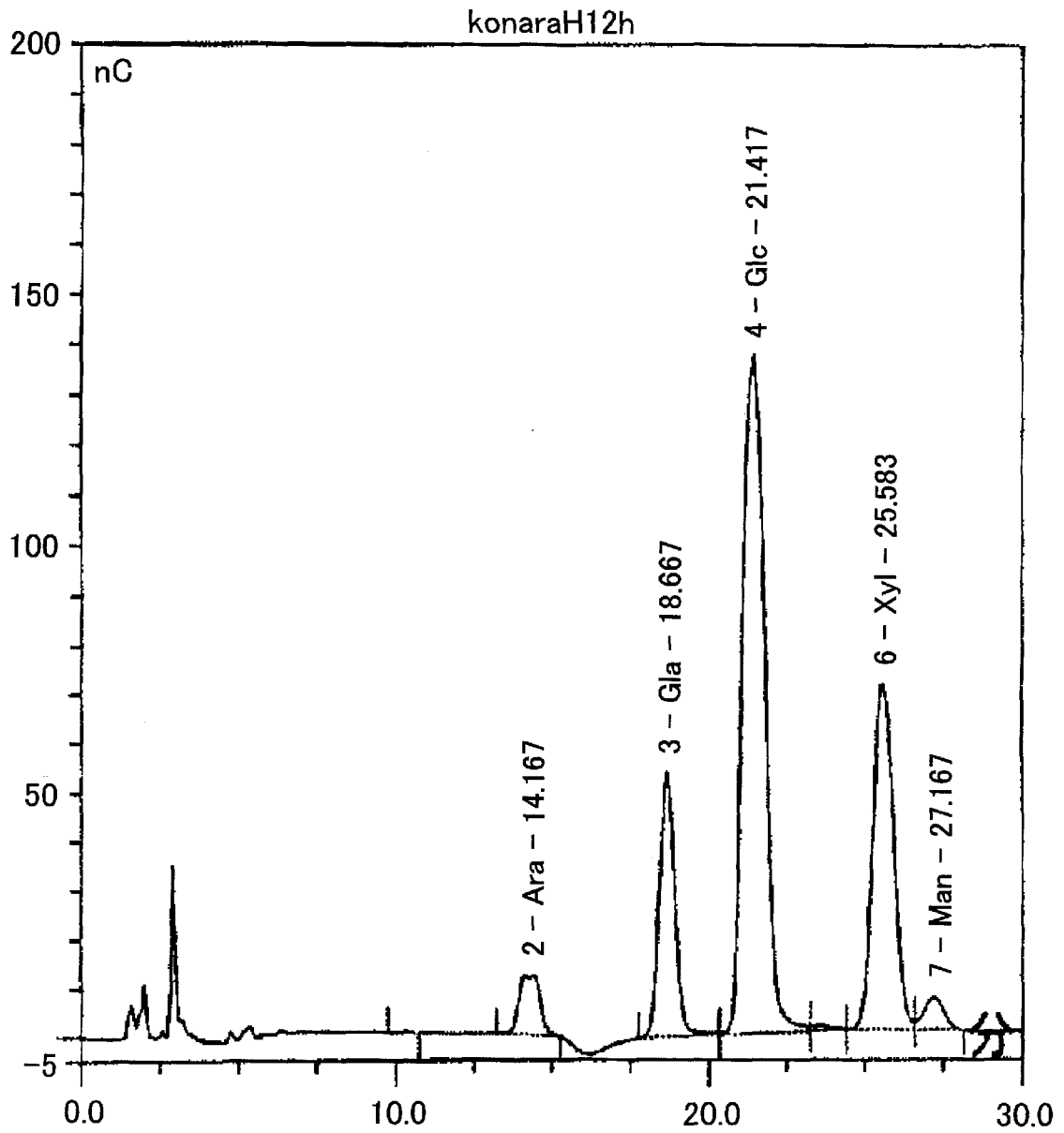
[図7]

図 7



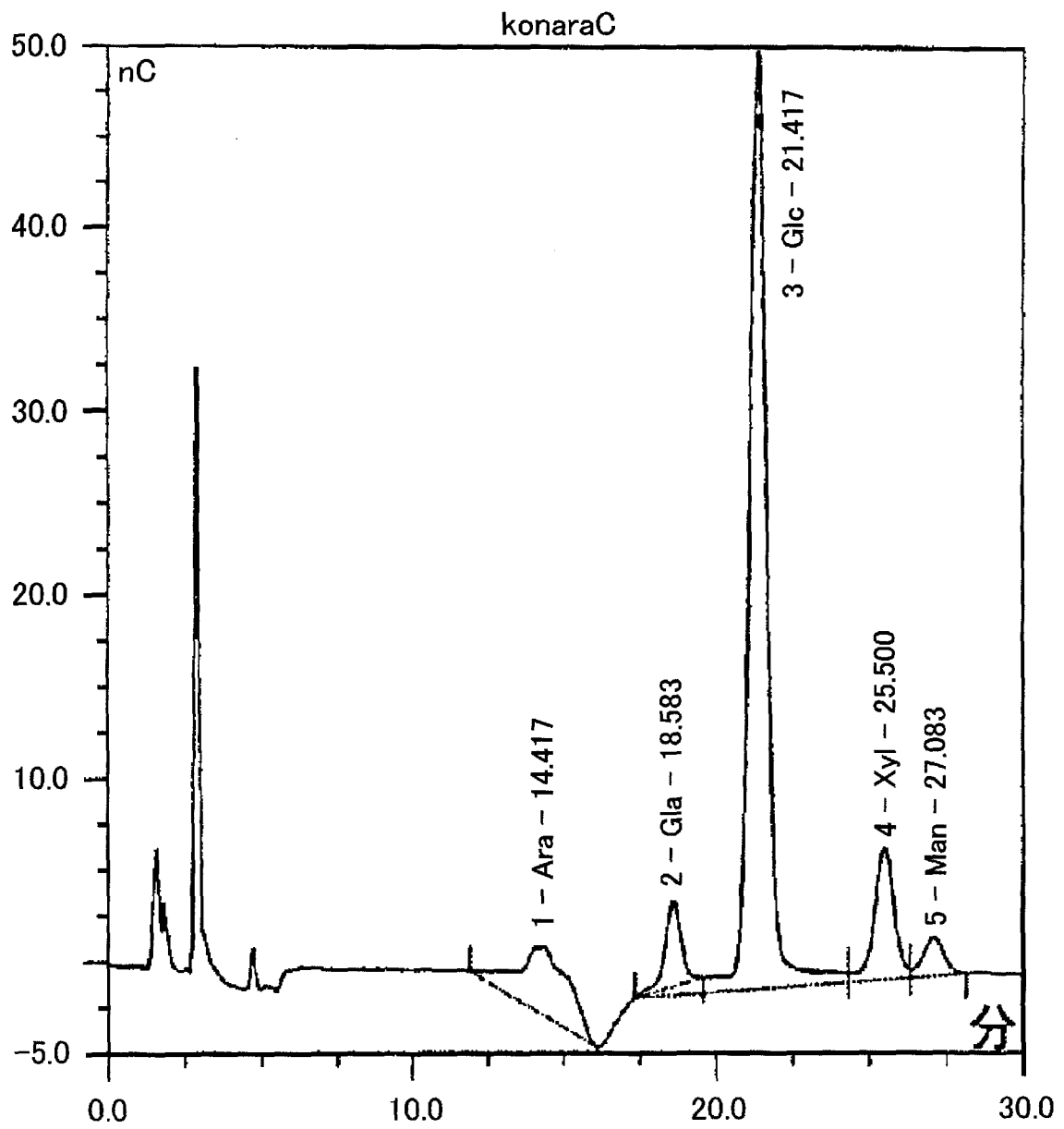
[図8]

[図8]



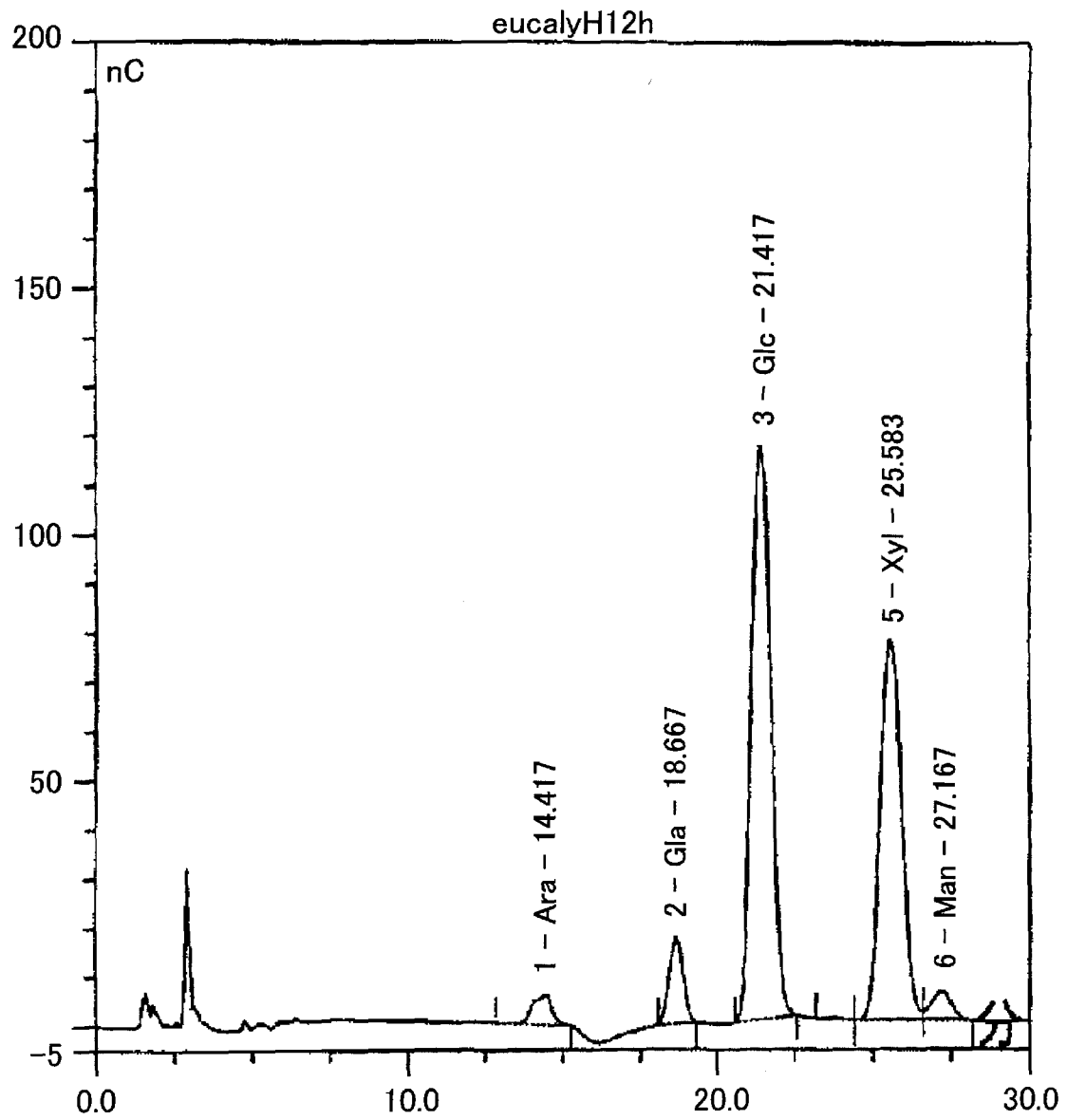
[図9]

図 9



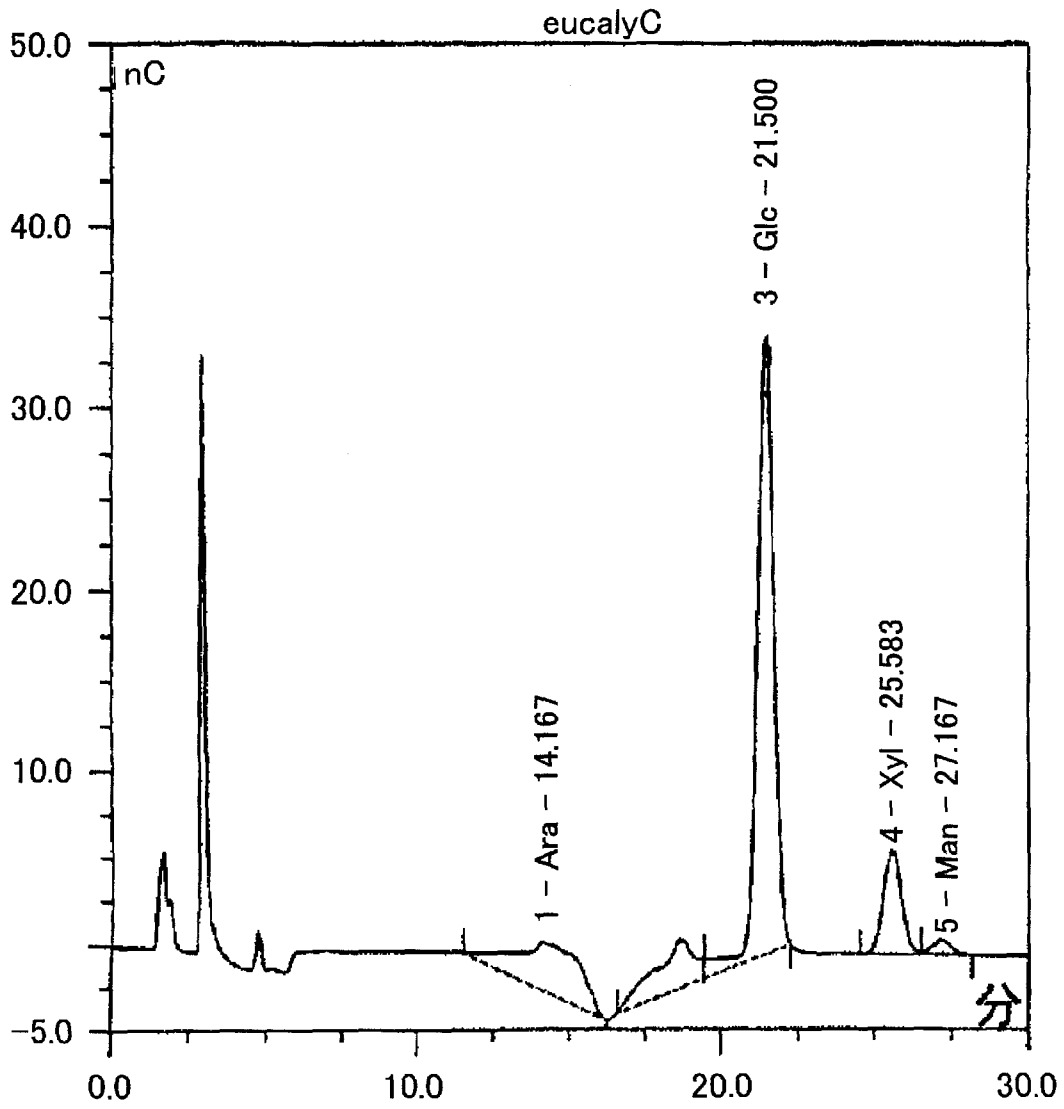
[図10]

図 10



[図11]

図 1 1



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2006/317212

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 C13K1/02 (2006.01) i, B09B3/00 (2006.01) 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)
 C13K1/00-13/00, B09B3/00
 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

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

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Edited by Kagaku Daijiten Henshu Iinkai, Kagaku Daijiten Shukusatsuban, Kyoritsu Shuppan Co., Ltd., 10 September, 1976 (10.09.76), page 268	1-14
Y	US 5411594 A1 (Donald L. Brelsford), 02 May, 1995 (02.05.95), (Family: none)	1-14
Y	JP 57-053801 B2 (Director General of National Food Research Institute), 15 November, 1982 (15.11.82), (Family: none)	1-14

Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"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
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"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
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"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
"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)	"&" document member of the same patent family
"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	

Date of the actual completion of the international search 20 September, 2006 (20.09.06)	Date of mailing of the international search report 03 October, 2006 (03.10.06)
--	---

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

<p>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int.Cl. C13K1/02 (2006.01)i, B09B3/00 (2006.01)i</p>		
<p>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 (IPC)) Int.Cl. C13K1/00-13/00, B09B3/00</p>		
<p>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</p>		
<p>国際調査で用い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)</p>		
<p>C. 関連すると認められる文献</p>		
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 請求の範囲の番号
Y	化学大辞典編集委員会編、化学大辞典縮刷版、共立出版株式会社、 1976.09.10, p.268	1 - 14
Y	US 5411594 A1 (Donald L. Brelsford) 1995.05.02 (ファミリーなし)	1 - 14
Y	JP 57-053801 B2 (農林省食品総合研究所長) 1982.11.15 (ファミリーなし)	1 - 14
<p>I C欄の続きにも文献が列挙されている。 I パテントファミリーに関する別紙を参照。</p>		
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 「IT」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 「I&J」同一パテントファミリー文献	
国際調査を完了した日 20.09.2006	国際調査報告の発送日 03.10.2006	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JJP) 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) 長谷川 茜 電話番号 03-3581-1101 内線 3488	4 N 3 2 2 8