(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
2015 年 6 月 18 日(18.06.2015)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2015/087422 A1

(51) 国際特許分類:
C12P 7/06 (2006.01)

(21) 国際出願番号: PCT/JP2013/083316

(22) 国際出願日: 2013 年 12 月 12 日(12.12.2013)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(71) 出願人: 日揮株式会社(JGC CORPORATION) [JP/JP]; 〒1000004 東京都千代田区大手町２丁目２番１号 Tokyo (JP).

(72) 発明者: 池應 真実(IKEO Makoto); 〒3111313 茨城県東茨城郡大洗町成田町２２０５ 日揮株式会社 技術研究所内 Ibaraki (JP). 沖野 祥平(OKINO Shohei); 〒3111313 茨城県東茨城郡大洗町成田町２２０５ 日揮株式会社 技術研究所内 Ibaraki (JP).

(74) 代理人: 志賀 正武, 外(SHIGA Masatake et al.); 〒1006620 東京都千代田区丸の内一丁目９番２号 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, 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, JP, 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.

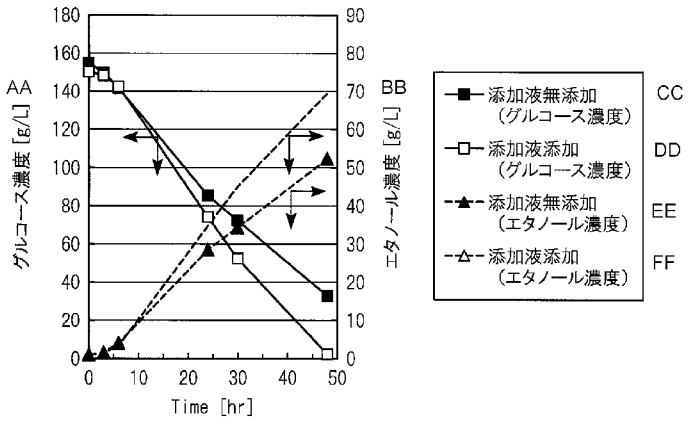
(84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,

[続葉有]

(54) **Title**: METHOD FOR PRODUCING ETHANOL

(54) 発明の名称 : エタノールの製造方法

[図1]



AA Concentration of glucose [g/L]
BB Concentration of ethanol [g/L]
CC Additive solution is not added (concentration of glucose)
DD Additive solution is added (concentration of glucose)
EE Additive solution is not added (concentration of ethanol)
FF Additive solution is added (concentration of ethanol)

(57) **Abstract**: A method for producing ethanol from a sugar produced from a biomass, said method comprising the steps of: adding an additive solution containing at least acetic acid, formic acid, furfural and hydroxymethylfurfural to the sugar to prepare a mixed solution containing the sugar and the additive solution; and adding a fungi to the mixed solution to cause the fermentation of the sugar with the fungi, thereby producing ethanol.

(57) 要約: バイオマスから得られた糖類からエタノールを製造する方法であって、前記糖類に、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液を添加し、前記糖類および前記添加液を含む混合液を調製する工程と、前記混合液に菌を添加して、該菌により前記糖類を発酵させて、エタノールを得る工程と、を備えるエタノールの製造方法。

WO 2015/087422 A1

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)）

明　細　書

発明の名称 ： エタノールの製造方法

技術分野

[0001] 本発明は、バイオマスから得られた糖類からエタノールを製造する方法に関する。

背景技術

[0002] セルロース系バイオマスを原料とするバイオエタノールの製造方法としては、例えば、セルロース系バイオマスに含まれるセルロースおよびヘミセルロースの少なくともいずれか一方を酵素で加水分解して、グルコースを主成分とする糖類を含む液（以下、「糖化液」と言う。）を製造する、酵素法エタノール製造技術が挙げられる。

この酵素法エタノール製造技術を実用化するための課題の１つとして、酵素の使用量の削減が挙げられる。酵素の使用量を削減するには、バイオマスの構造を破壊する前処理を行い、セルロースおよびヘミセルロースの少なくともいずれか一方と、酵素との接触効率を増大させる必要がある。

[0003] バイオマスの前処理では、バイオマスに水蒸気、酸、アルカリなどを添加して、熱および圧力を加える。この前処理により、バイオマス中のリグニン、セルロースおよびヘミセルロースが分解して、有機酸やタール類が生成する。これらの生成物（以下、「阻害物質」とも言うことがある。）は、一般的に酵素糖化反応、および、バイオマスから得られた糖類をエタノールに変換する発酵反応を阻害することが知られている（例えば、非特許文献１参照）。

そこで、酵素糖化反応を効率よく行うためには、前処理後のバイオマスを洗浄して、有機酸などを取り除くことが望ましい。

先行技術文献

非特許文献

[0004] 非特許文献1：Lu, Y., et al., Influence of High Solid Concentration on

Enzymatic Hydrolysis and Fermentation of Steam-Exploded Corn Stover Biomass. Applied Biochemistry and Biotechnology. 2010. 160(2): p.360-369

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] 酵素糖化反応を効率よく行うためには、前処理後のバイオマスを洗浄して、有機酸などを取り除くことが望ましいが、洗浄プロセスを導入することによって廃液量が増加すると、廃液設備の初期投資および廃液処理費用が高くなり、コストの増加の原因となるという課題があった。

ところで、廃液設備の初期投資および廃液処理費用を低減するために、セルロース系バイオマスからエタノールを製造するプラント（以下、「セルロース系エタノールプラント」と言う。）を、食糧系バイオマスからエタノールを製造するプラントに併設し、これらの設備を共有することにより、廃液設備の初期投資を低減するということは検討されている。しかしながら、単に設備を共有しただけでは、セルロース系エタノールプラントの廃液量を低減することはできなかった。

[0006] 本発明は、上記事情に鑑みてなされ、バイオマスから得られた糖類からエタノールを製造するプロセスにおいて、エタノールの製造効率を向上することができるエタノールの製造方法を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明のエタノールの製造方法は、バイオマスから得られた糖類からエタノールを製造する方法であって、前記糖類に、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液を添加し、前記糖類および前記添加液を含む混合液を調製する工程と、前記混合液に菌を添加して、該菌により前記糖類を発酵させて、エタノールを得る工程と、を備える。

[0008] 本発明のエタノールの製造方法では、前記添加液は、前記バイオマスを水蒸気爆砕処理または希硫酸処理することにより生成した廃液であってもよい。

[0009] 本発明のエタノールの製造方法では、前記混合液に含まれる、前記酢酸、前記ギ酸、前記フルフラールおよび前記ヒドロキシメチルフルフラールの合計の濃度は、４００ｐｐｍ～４５００ｐｐｍであってもよい。

[0010] 本発明のエタノールの製造方法では、前記糖類は、バイオマスに含まれるセルロースおよびヘミセルロースの少なくともいずれか一方を、セルロース分解酵素およびヘミセルロース分解酵素の少なくともいずれか一方で分解して得られた糖類であってもよい。

[0011] 本発明のエタノールの製造方法では、前記菌は、酵母菌であってもよい。

発明の効果

[0012] 本発明によれば、バイオマスから得られた糖類からエタノールを製造するプロセスにおいて、エタノールの製造効率を向上することができる。

図面の簡単な説明

[0013] [図1]グルコースを主成分とする糖類の発酵工程において、発酵開始からの時間の経過に伴う、混合液（水溶液）中に含まれるグルコースの濃度およびエタノールの濃度を示すグラフである。

[図2]ショ糖を主成分とする糖類の発酵工程において、発酵開始からの時間の経過に伴う、混合液（水溶液）中に含まれるショ糖の濃度およびエタノールの濃度を示すグラフである。

[図3]ショ糖を主成分とする糖類を含む水溶液に添加液を添加しなかった場合に対する、ショ糖を主成分とする糖類を含む水溶液に添加液を添加した場合における、エタノールの生産速度の向上率を示すグラフである。

発明を実施するための形態

[0014] 本発明のエタノールの製造方法の実施の形態について説明する。

なお、本実施の形態は、発明の趣旨をより良く理解させるために具体的に説明し、特に指定のない限り、本発明を限定しない。

[0015] 本実施形態のエタノールの製造方法は、バイオマスから得られた糖類からエタノールを製造する方法であって、前記の糖類に、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液を添加し、

前記の糖類および前記の添加液を含む混合液を調製する工程と、混合液に菌を添加して、その菌により前記の糖類を発酵させて、エタノールを得る工程と、を備える。

[0016] ［第一の実施形態］

本実施形態では、糖類が、バイオマスに含まれるセルロースおよびヘミセルロースの少なくともいずれか一方を、セルロース分解酵素およびヘミセルロース分解酵素の少なくともいずれか一方で分解して得られた場合について説明する。

[0017] 本実施形態のエタノールの製造方法では、まず、バイオマス（木や草、あるいは、農作物の残渣）に対して、バイオマスに含まれるセルロースおよびヘミセルロースの少なくともいずれか一方と、セルロース分解酵素およびヘミセルロース分解酵素の少なくともいずれか一方との接触効率を向上させる前処理を施す。

[0018] 前処理としては、バイオマスに対するアルカリ処理、有機溶剤処理、水蒸気爆砕処理、希硫酸処理などが挙げられるが、酵素糖化収率および設備コストの観点から、水蒸気爆砕処理または希硫酸処理が好適に用いられる。

バイオマスに対するアルカリ処理、有機溶剤処理、水蒸気爆砕処理、希硫酸処理としては、公知の処理が用いられる。

[0019] 次いで、前処理が施されたバイオマスから、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質を除去する。

前処理が施されたバイオマスから、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質を除去する方法としては、例えば、次のような方法が挙げられる。

前処理が施されたバイオマスを、水により、前処理が施されたバイオマスを水の沸騰温度または水の沸騰温度以下で加熱することにより、前処理が施されたバイオマスから、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質を除去する。

[0020] 前処理が施されたバイオマスを、水により、前処理が施されたバイオマスを

水の沸騰温度または水の沸騰温度以下で加熱する処理では、バイオマスに残存している、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質のような酵素による糖化を阻害する成分をより充分に除去するだけではなく、次のような効果が得られると考えられる。その効果としては、リグニンと、セルロースおよびヘミセルロースの少なくともいずれか一方との間の空間を広げることにより、酵素がセルロースに接触する面積を広げる効果や、バイオマスに単に付着しているのではなく、前処理で中途半端に分解されて、まだリグニンと化学的に結合して残っている、酵素による糖化を阻害する成分を分解して、引き剥がす効果などが挙げられる。

[0021] 酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質を除去する処理によって、処理液（水およびバイオマスを含む液）中の酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質の濃度が高くなるため、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質を除去する処理が終了した後、固形成分の洗浄あるいは中和処理を行って、バイオマスを回収する。

[0022] 次に、前処理が施され、かつ、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質が除去されたバイオマスを、溶液（溶媒）に分散させて、バイオマスを含むスラリー（以下、「バイオマススラリー」と言うこともある。）を調製する。

バイオマススラリーの濃度、すなわち、バイオマススラリーにおけるバイオマスの含有量は、バイオマスの種類やその前処理方法などに応じて適宜調整されるが、溶液１００ｍＬに対して、１０ｇ～３０ｇ、すなわち、１０ｗ／ｖ％～３０ｗ／ｖ％であることが好ましい。

[0023] バイオマススラリーに用いられる溶液（溶媒）としては、水が挙げられる。

[0024] また、バイオマススラリーには、バイオマスに含まれるリグニンへ、酵素（セルロース分解酵素およびヘミセルロース分解酵素の少なくともいずれか一方）が吸着する（酵素吸着）ことを防止するための吸着抑制剤を添加するこ

とが好ましい。

吸着抑制剤としては、例えば、牛血清アルブミン（ＢＳＡ）、チーズホエーや穀物由来のタンパク質などが挙げられる。

[0025] 次に、上記のバイオマススラリーと、このバイオマススラリーに含まれるセルロースおよびヘミセルロースの少なくともいずれか一方の分解に適した、適量のセルロース分解酵素およびヘミセルロース分解酵素の少なくともいずれか一方を含む水溶液（酵素水溶液）とを、反応槽に入れて、バイオマススラリーと酵素水溶液を混合する（混合工程）。

[0026] この混合工程において、バイオマススラリーと酵素水溶液を含む反応槽溶液のｐＨが使用するセルロース分解酵素およびヘミセルロース分解酵素の少なくともいずれか一方に最も適したｐＨ条件になるように、反応槽溶液のｐＨを調節する。さらには、使用するセルロース分解酵素およびヘミセルロース分解酵素の少なくともいずれか一方に最も適した温度条件になるように、反応槽の温度を調節する。

この混合工程では、バイオマススラリーと酵素水溶液と添加剤の混合物のｐＨを、上記のセルロース分解酵素およびヘミセルロース分解酵素の少なくともいずれか一方が活発に機能するように調節することが好ましく、具体的には、反応系水溶液のｐＨを４～６に調節することが好ましい。

また、この混合工程では、上記の混合物の温度を、上記のセルロース分解酵素およびヘミセルロース分解酵素の少なくともいずれか一方が活発に機能するように調節することが好ましく、具体的には、反応系の温度を４０～６０℃に昇温することが好ましい。

[0027] バイオマスを分解するための酵素（セルロース分解酵素およびヘミセルロース分解酵素の少なくともいずれか一方）としては、セルラーゼが用いられる。

バイオマス中にヘミセルロースが多く含まれる場合、セルラーゼ以外にヘミセルロースを分解するための酵素（セルロース分解酵素およびヘミセルロース分解酵素の少なくともいずれか一方）として、キシラナーゼやマンナナー

ゼを添加することが好ましい。

[0028] また、バイオマススラリーと酵素水溶液の混合物の攪拌には、攪拌翼などが用いられる。

本実施形態では、反応槽内にて、酵素水溶液に含まれる酵素が過度に失活しない程度に緩やかに、混合物を攪拌混合することにより、バイオマス（セルロースおよびヘミセルロースの少なくともいずれか一方）を効率的に酵素糖化し、グルコースを主成分とする糖類を得る（酵素糖化反応工程）。

[0029] また、この酵素糖化反応工程では、混合物の温度を、上記の酵素が活発に機能するように調節することが好ましく、具体的には、４０～６０℃に保持することが好ましい。

[0030] 酵素糖化反応工程は、酵素によるバイオマスの糖化が十分に進行して、それ以上反応が進行しなくなるまで行われるが、例えば、バイオマスの酵素分解を、４０～６０℃にて２日～２０日程度行う。

[0031] 次に、グルコースを主成分とする糖類に、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液を添加し、グルコースを主成分とする糖類および前記の添加液を含む混合液を調製する（混合液調製工程）。

[0032] この混合液調製工程では、上記のグルコースを主成分とする糖類と、グルコースを主成分とする糖類の発酵に適した、適量の酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液とを、反応槽に入れて、グルコースを主成分とする糖類と、前記の添加液とを混合する。

[0033] 酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液としては、上述のバイオマスの前処理によって生成し、前処理が施されたバイオマスから分離、除去された液が好ましく、バイオマスを、水蒸気爆砕処理または希硫酸処理して生成し、これらの処理が施されたバイオマスから分離、除去された液がより好ましい。

[0034] グルコースを主成分とする糖類および前記の添加液を含む混合液に含まれる、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールの合計の

濃度は、４００ｐｐｍ～４５００ｐｐｍであることが好ましく、１０００ｐｐｍ～４５００ｐｐｍであることがより好ましい。

[0035] また、グルコースを主成分とする糖類と前記の添加液との攪拌には、攪拌翼などが用いられる。

[0036] 次に、前記の混合液に菌を添加して、その菌により混合液に含まれるグルコースを主成分とする糖類を発酵させて、エタノールを得る（発酵工程）。

[0037] この発酵工程では、上記の混合液と、グルコースを主成分とする糖類の発酵に適した、適量の菌とを、反応槽に入れて、混合液と菌を混合する。

[0038] 菌としては、酵母菌、大腸菌、Ｚｙｍｏｍｏｎｕｓ菌、Ｃｏｒｙｎｅｂａｃｔｅｒｉｕｍ菌などが用いられる。

[0039] 混合液に対する菌の添加量は、混合液に含まれるグルコースを主成分とする糖類を１００質量部とした場合、０．１～３質量部であることが好ましく、０．２～２．２質量部であることがより好ましい。

[0040] また、混合液と菌の攪拌には、攪拌翼などが用いられる。

[0041] また、この発酵工程では、菌を含む混合物の温度を、上記の菌が活発に機能するように調節することが好ましく、具体的には、３０～３８℃に保持することが好ましい。

[0042] 発酵工程は、菌によるグルコースを主成分とする糖類の発酵が十分に進行して、それ以上反応が進行しなくなるまで行われるが、例えば、菌によるグルコースを主成分とする糖類の発酵を、３０～３８℃にて１日～５日程度行う。

[0043] 本実施形態のエタノールの製造方法によれば、グルコースを主成分とする糖類に、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液を添加し、グルコースを主成分とする糖類および前記の添加液を含む混合液を調製し、その混合液に菌を添加して、その菌によりグルコースを主成分とする糖類を発酵させることにより、前記の添加液を添加しない場合よりも、エタノールの製造効率を向上することができる。また、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくと

も含む添加液として、バイオマスの前処理によって生成し、前処理が施されたバイオマスから分離、除去された液を用いることにより、従来、廃液として処理されていた、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質の廃棄量を低減することができる。

[0044] ［第二の実施形態］

本実施形態では、糖類が、サトウキビの搾り汁に含まれるショ糖である場合について説明する。

[0045] 本実施形態では、サトウキビを搾って得られた、ショ糖を主成分とする糖類に、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液を添加し、ショ糖を主成分とする糖類および前記の添加液を含む混合液を調製する（混合液調製工程）。

[0046] この混合液調製工程では、上記のショ糖を主成分とする糖類と、ショ糖を主成分とする糖類の発酵に適した、適量の酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液とを、反応槽に入れて、ショ糖を主成分とする糖類と、前記の添加液とを混合する。

[0047] 前記の添加液に含まれる、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールの配合比は、上述の第一の実施形態と同様であることが好ましい。

[0048] ショ糖を主成分とする糖類および前記の添加液を含む混合液に含まれる、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールの合計の濃度は、４００ｐｐｍ～４５００ｐｐｍであることが好ましく、１０００ｐｐｍ～４５００ｐｐｍであることがより好ましい。

[0049] また、ショ糖を主成分とする糖類と前記の添加液との攪拌には、攪拌翼などが用いられる。

[0050] 次に、前記の混合液に菌を添加して、その菌により混合液に含まれるショ糖を主成分とする糖類を発酵させて、エタノールを得る（発酵工程）。

[0051] この発酵工程では、上記の混合液と、ショ糖を主成分とする糖類の発酵に適した、適量の菌とを、反応槽に入れて、混合液と菌を混合する。

[0052] 菌としては、上述の第一の実施形態と同様の菌が用いられる。

[0053] 混合液に対する菌の添加量は、混合液に含まれるショ糖を主成分とする糖類を１００質量部とした場合、０．１～３質量部であることが好ましく、０．２～２．２質量部であることがより好ましい。

[0054] また、混合液と菌の攪拌には、攪拌翼などが用いられる。

[0055] また、この発酵工程では、菌を含む混合物の温度を、上記の菌が活発に機能するように調節することが好ましく、具体的には、３０～３８℃に保持することが好ましい。

[0056] 発酵工程は、菌によるショ糖を主成分とする糖類の発酵が十分に進行して、それ以上反応が進行しなくなるまで行われるが、例えば、菌によるショ糖を主成分とする糖類の発酵を、３０～３８℃にて１日～２日程度行う。

[0057] 本実施形態のエタノールの製造方法によれば、ショ糖を主成分とする糖類に、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液を添加し、ショ糖を主成分とする糖類および前記の添加液を含む混合液を調製し、その混合液に菌を添加して、その菌によりショ糖を主成分とする糖類を発酵させることにより、前記の添加液を添加しない場合よりも、エタノールの製造効率を向上することができる。

実施例

[0058] 以下、実施例および比較例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されない。

[0059] 「実施例１」

バガスを水蒸気爆砕処理した。

次に、水蒸気爆砕処理したバガスから、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質を分離、除去し、その物質を回収した。

水蒸気爆砕処理したバガス３０ｇを、１００ｍＬの水に分散させて、バガスを含むスラリーを調製した。得られたスラリーにおけるバガスの含有量は３０ｗ／ｖ％であった。

次に、下記の条件により、当該バイオマススラリーに含まれるバガスをセルラーゼで分解し、グルコースを主成分とする糖類を含む液を得た。

バガス重量：３０ｇ－ｄｒｙ

セルラーゼ添加量：４ｍｇ／ｇ－基質

溶液量：１００ｍＬ

温度：５０℃

ｐＨ：５

[0060] 次に、この糖類を含む液に、バガスから分離、除去した、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質（添加液）を添加して、水溶液と、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質とを混合し、グルコースを主成分とする糖類と、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質とを含む水溶液（混合液）を調製した。このとき、この混合液に含まれる、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールの合計の濃度は２５１０ｐｐｍであった。

次に、上記の混合液に酵母菌を添加して、その酵母菌により混合液に含まれるグルコースを主成分とする糖類を発酵させて、エタノールを得た。このグルコースを主成分とする糖類の発酵工程において、混合液の温度を３４℃に保持し、発酵開始からの時間の経過に伴う、混合液中に含まれるグルコースの濃度およびエタノールの濃度を測定した。結果を図１に示す。

[0061] 「比較例１」

グルコースを主成分とする糖類を含む水溶液に、バガスから分離、除去した、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質（添加液）を添加しなかったこと以外は実施例１と同様にして、グルコースを主成分とする糖類を発酵させて、エタノールを得た。

グルコースを主成分とする糖類の発酵開始からの時間の経過に伴う、水溶液中に含まれるグルコースの濃度およびエタノールの濃度を測定した。結果を図１に示す。

[0062] 図１に示す結果から、グルコースを主成分とする糖類を含む水溶液に、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質を添加して、グルコースを主成分とする糖類を酵母菌により発酵させた実施例１は、グルコースを主成分とする糖類を含む水溶液に、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質を添加せずに、グルコースを主成分とする糖類を酵母菌により発酵させた比較例１と比較すると、エタノールの生成速度が３０％以上向上していることが分った。

[0063] 「実施例２」

サトウキビを搾って、ショ糖を主成分とする糖類を１８０ｇ／Ｌ含む水溶液を調製した。

次に、この水溶液に、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液を添加して、水溶液と、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質とを混合し、ショ糖を主成分とする糖類と、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液とを含む水溶液（混合液）を調製した。このとき、この混合液に含まれる、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールの合計の濃度は２３０３ｐｐｍであった。

次に、上記の混合液に酵母菌を添加して、その酵母菌により混合液に含まれるショ糖を主成分とする糖類を発酵させて、エタノールを得た。このショ糖を主成分とする糖類の発酵工程において、混合液の温度を３４℃に保持し、発酵開始からの時間の経過に伴う、混合液中に含まれるショ糖の濃度およびエタノールの濃度を測定した。結果を図２に示す。

[0064] 「比較例２」

ショ糖を主成分とする糖類を含む水溶液に、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液を添加しなかったこと以外は実施例２と同様にして、ショ糖を主成分とする糖類を発酵させて

、エタノールを得た。

ショ糖を主成分とする糖類の発酵開始からの時間の経過に伴う、水溶液中に含まれるショ糖の濃度およびエタノールの濃度を測定した。結果を図２に示す。

[0065] 図２に示す結果から、ショ糖を主成分とする糖類を含む水溶液に、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液を添加して、ショ糖を主成分とする糖類を酵母菌により発酵させた実施例２は、ショ糖を主成分とする糖類を含む水溶液に、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液を添加せずに、ショ糖を主成分とする糖類を酵母菌により発酵させた比較例２と比較すると、エタノールの生成速度が２０％以上向上していることが分った。

[0066] 「実験例」

サトウキビを搾って、ショ糖を主成分とする糖類を１００ｇ／Ｌ～２００ｇ／Ｌ含む水溶液を調製した。

次に、この水溶液に、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液を添加して、水溶液と、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む物質とを混合し、ショ糖を主成分とする糖類と、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液とを含む水溶液（混合液）を調製した。このとき、この混合液に含まれる、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールの合計の濃度を、２１７ｐｐｍ～６６８０ｐｐｍとした。

次に、上記の混合液に酵母菌を添加して、その酵母菌により混合液に含まれるショ糖を主成分とする糖類を発酵させて、エタノールを得た。このショ糖を主成分とする糖類の発酵工程において、混合液の温度を３４℃に保持し、エタノールの濃度が所定の濃度になるまでの時間を測定した。

また、上記の添加液を添加せずに、上記のショ糖を主成分とする糖類を１００ｇ／Ｌ～２００ｇ／Ｌ含む水溶液に酵母菌を添加して、その酵母菌により

ショ糖を主成分とする糖類を含む水溶液中のショ糖を主成分とする糖類を発酵させて、エタノールを得た。このショ糖を主成分とする糖類の発酵工程において、ショ糖を主成分とする糖類を含む液の温度を３４℃に保持し、エタノールの濃度が所定の濃度になるまでの時間を測定した。

ショ糖を主成分とする糖類を含む水溶液に添加液を添加しなかった場合において、エタノールの濃度が所定の濃度になるまでの時間に対する、ショ糖を主成分とする糖類を含む水溶液に添加液を添加した場合において、エタノールの濃度が所定の濃度になるまでの時間の比を算出した。得られた結果を、ショ糖を主成分とする糖類を含む水溶液に添加液を添加しなかった場合に対する、ショ糖を主成分とする糖類を含む水溶液に添加液を添加した場合における、エタノールの生産速度の向上率（％）とした。結果を、表１および図３に示す。

[0067] [表1]

実験例	添加した酢酸、ギ酸、フルフラール、ヒドロキシメチルフルフラールの合計の濃度（ｐｐｍ）	エタノールの生産速度の向上率（％）
A	2740	43
B	4500	57
C	1110	33
D	1028	33
E	787	25
F	581	22
G	400	20
H	217	5
I	5100	-22
J	4700	5
K	6630	-35

[0068] 表１および図３に示す結果から、ショ糖を主成分とする糖類を含む水溶液に添加した酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールの

合計の濃度が４００ｐｐｍ～４５００ｐｐｍの範囲内であれば、エタノールの生産速度の向上率が２０％以上となることが分った。

請求の範囲

[請求項1] バイオマスから得られた糖類からエタノールを製造する方法であって、

前記糖類に、酢酸、ギ酸、フルフラールおよびヒドロキシメチルフルフラールを少なくとも含む添加液を添加し、前記糖類および前記添加液を含む混合液を調製する工程と、

前記混合液に菌を添加して、該菌により前記糖類を発酵させて、エタノールを得る工程と、

を備えるエタノールの製造方法。

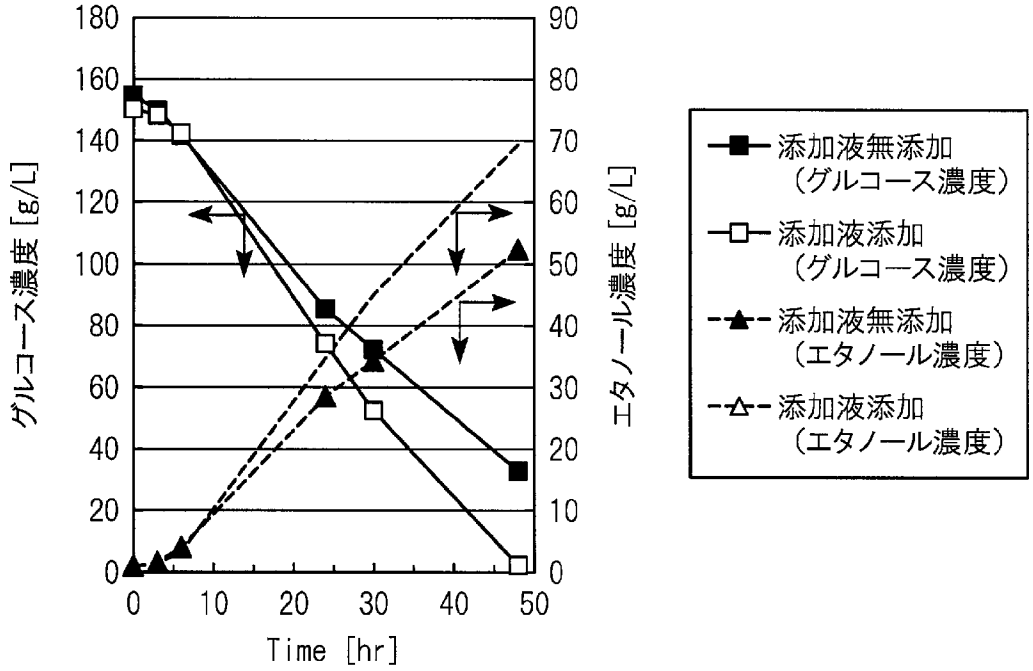
[請求項2] 前記添加液は、前記バイオマスを水蒸気爆砕処理または希硫酸処理することにより生成した廃液である請求項１に記載のエタノールの製造方法。

[請求項3] 前記混合液に含まれる、前記酢酸、前記ギ酸、前記フルフラールおよび前記ヒドロキシメチルフルフラールの合計の濃度は、４００ｐｐｍ～４５００ｐｐｍである請求項１に記載のエタノールの製造方法。

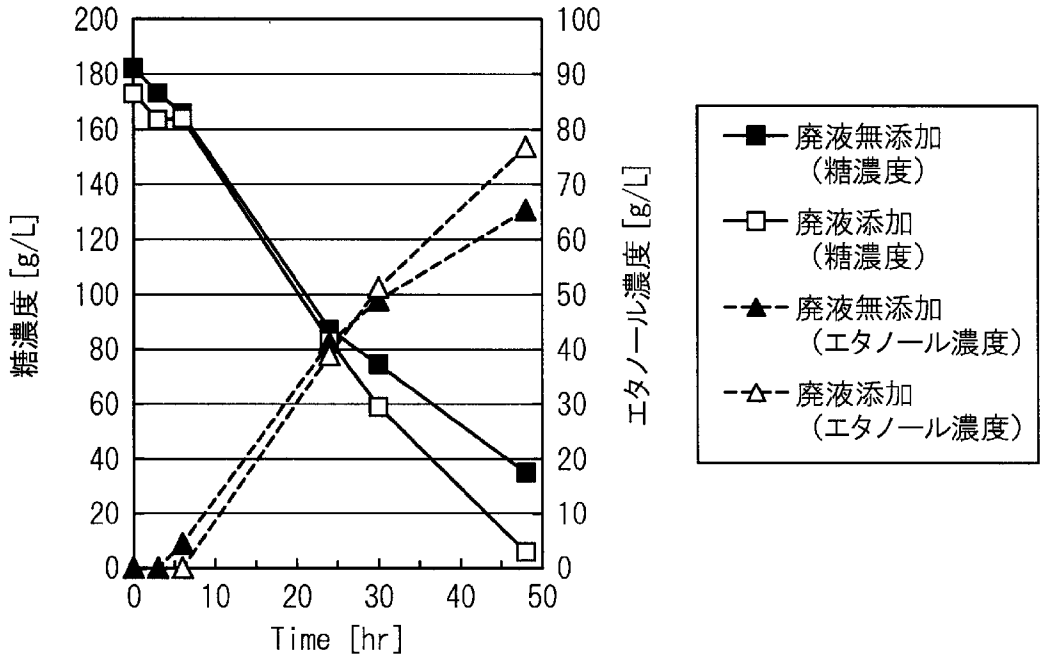
[請求項4] 前記糖類は、バイオマスに含まれるセルロースおよびヘミセルロースの少なくともいずれか一方を、セルロース分解酵素およびヘミセルロース分解酵素の少なくともいずれか一方で分解して得られた、請求項１に記載のエタノールの製造方法。

[請求項5] 前記菌は、酵母菌である請求項１に記載のエタノールの製造方法。

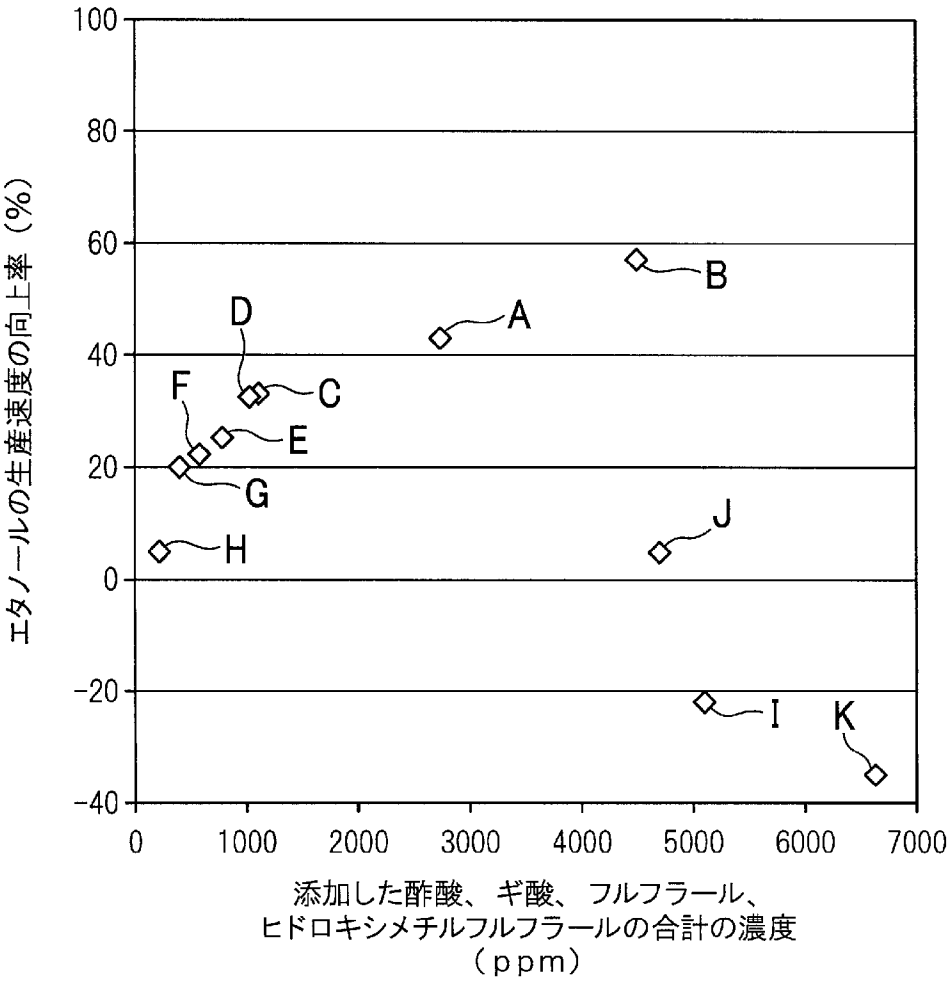
[図1]


グルコース濃度 [g/L]
エタノール濃度 [g/L]
Time [hr]
添加液無添加（グルコース濃度）
添加液添加（グルコース濃度）
添加液無添加（エタノール濃度）
添加液添加（エタノール濃度）

[図2]


糖濃度 [g/L]
エタノール濃度 [g/L]
Time [hr]
廃液無添加（糖濃度）
廃液添加（糖濃度）
廃液無添加（エタノール濃度）
廃液添加（エタノール濃度）

[図3]


100
80
60
40
20
0
-20
-40
0
1000
2000
3000
4000
5000
6000
7000
エタノールの生産速度の向上率（%）
添加した酢酸、ギ酸、フルフラール、
ヒドロキシメチルフルフラールの合計の濃度
（ppm）
A
B
C
D
E
F
G
H
I
J
K

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2013/083316

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
C12P7/06(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)
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), CAplus(STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2012/005246 A1 (Mitsubishi Heavy Industries, Ltd.), 12 January 2012 (12.01.2012), claims; paragraphs [0027], [0034]; examples & US 2013/0078697 A1	1-5
Y	JP 2012-205988 A (JX Nippon Oil & Energy Corp.), 25 October 2012 (25.10.2012), paragraph [0006] & WO 2012/132545 A1	2,3
Y	M. J. Taherzadeh, et al., Acetic acid - friend or foe in anaerobic batch conversion of glucose to ethanol by Saccharomyces cerevisiae?, Chemical Engineering Science, 1997, vol.52, no.15, p.2653-2659	3

☒ 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	Date of mailing of the international search report
03 March, 2014 (03.03.14)	11 March, 2014 (11.03.14)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office Facsimile No.	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2013/083316

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	LU Peng, et al., Influence of furfural concentration on growth and ethanol yield of Saccharomyces kluyveri, Journal of Environmental Sciences, 2007, vol.19, no.12, p.1528-1532	3
Y	WO 2013/005595 A1 (Kobe University), 10 January 2013 (10.01.2013), paragraph [0004] (Family: none)	3

国際調査報告

国際出願番号　ＰＣＴ／ＪＰ２０１３／０８３３１６

Ａ．　発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

Int.Cl.　C12P7/06(2006.01)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（ＩＰＣ））

Int.Cl.　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	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０１４年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０１４年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０１４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), CAplus(STN)

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	WO 2012/005246 A1（三菱重工業株式会社）2012.01.12, 請求の範囲、［００２７］、［００３４］、実施例 & US 2013/0078697 A1	1-5
Y	JP 2012-205988 A（ＪＸ日鉱日石エネルギー株式会社）2012.10.25, 【０００６】 & WO 2012/132545 A1	2, 3

☑　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	国際調査報告の発送日
０３．０３．２０１４	１１．０３．２０１４

国際調査機関の名称及びあて先
日本国特許庁（ＩＳＡ／ＪＰ）
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）　４Ｂ　４０４３
馬場　亮人
電話番号　０３－３５８１－１１０１　内線　３４４８

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
Y	M. J. Taherzadeh, et al., Acetic acid - friend or foe in anaerobic batch conversion of glucose to ethanol by Saccharomyces cerevisiae?, Chemical Engineering Science, 1997, vol.52, no.15, p.2653-2659	3
Y	LU Peng, et al., Influence of furfural concentration on growth and ethanol yield of Saccharomyces kluyveri, Journal of Environmental Sciences, 2007, vol.19, no.12, p.1528-1532	3
Y	WO 2013/005595 A1 (国立大学法人　神戸大学) 2013.01.10, ［０００４］ (ファミリーなし)	3