

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4883511号
(P4883511)

(45) 発行日 平成24年2月22日(2012.2.22)

(24) 登録日 平成23年12月16日(2011.12.16)

(51) Int. Cl. F I
C 1 2 P 19/00 (2006.01) C 1 2 P 19/00
 C 1 2 P 7/06 (2006.01) C 1 2 P 7/06
 C 1 2 R 1/85 (2006.01) C 1 2 P 19/00
 C 1 2 R 1:85

請求項の数 5 (全 8 頁)

(21) 出願番号	特願2010-529761 (P2010-529761)	(73) 特許権者	000000055
(86) (22) 出願日	平成21年9月15日(2009.9.15)		アサヒグループホールディングス株式会社
(86) 国際出願番号	PCT/JP2009/066092		東京都墨田区吾妻橋一丁目2番1号
(87) 国際公開番号	W02010/032724	(73) 特許権者	501203344
(87) 国際公開日	平成22年3月25日(2010.3.25)		独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構
審査請求日	平成23年1月26日(2011.1.26)		茨城県つくば市観音台3-1-1
(31) 優先権主張番号	特願2008-236727 (P2008-236727)	(74) 代理人	100082005
(32) 優先日	平成20年9月16日(2008.9.16)		弁理士 熊倉 禎男
(33) 優先権主張国	日本国(JP)	(74) 代理人	100084663
早期審査対象出願			弁理士 箱田 篤
		(74) 代理人	100093300
			弁理士 浅井 賢治
		(74) 代理人	100119013
			弁理士 山崎 一夫

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 砂糖の製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

蔗糖分解酵素を有さない酵母で植物由来の糖液を発酵させる前処理工程と、
 発酵させた糖液から砂糖を製造する工程と、
 を有することを特徴とする砂糖の製造方法。

【請求項 2】

蔗糖分解酵素阻害剤の存在下で、植物由来の糖液を酵母で発酵させる前処理工程と、
 発酵させた糖液から砂糖を製造する工程と、
 を有することを特徴とする砂糖の製造方法。

【請求項 3】

さらに、発酵させた糖液から砂糖を製造する前に、発酵させた糖液からエタノールを回収する工程を有する請求項 1 又は 2 記載の製造方法。

【請求項 4】

発酵させた糖液からエタノールを回収する工程が蒸留によるエタノールの分離を行うことを含む、請求項 3 記載の製造方法。

【請求項 5】

前記植物がサトウキビである、請求項 1 ~ 4 のいずれか 1 項記載の製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、砂糖の製造方法に関し、さらに詳しくは、効率よく砂糖及びエタノールを製造する方法に関する。

【背景技術】

【0002】

植物由来の燃料用エタノールは炭酸ガス増加を防ぐガソリン代替液体燃料として期待されている。植物由来の糖液から砂糖とエタノールの両方を製造する場合、まず糖液から砂糖を製造し、砂糖製造後の糖液を微生物で発酵させてエタノールを製造する方法がとられてきた（例えば、特開2004-321174号公報参照）。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

上記の方法においては、糖液から砂糖を製造するために結晶化処理が必要となるが、結晶化処理には高い糖濃度が必要であり、そのため糖液を加熱し水分を蒸発させ、濃縮することが行われていた。一方、発酵においては高い糖濃度や加熱濃縮により高くなった糖液中の塩濃度が阻害要因となるため、砂糖製造後の糖蜜からエタノールを製造するためには希釈等の処理が必要であった。また発酵液を再び加熱しエタノールを蒸留により抽出するため、上記方法は、エネルギー的に無駄が多い方法であった。また砂糖の結晶化処理では、蔗糖以外の砂糖原料にならない糖分も含めた全糖分に対して、砂糖原料となる蔗糖分が高い、いわゆる純糖率の高い糖液でなければ砂糖結晶の収率低下などの問題が起こるため、純糖率の低い時期、品種等では砂糖が生産できない問題があった。

本発明は、効率よく砂糖を製造し、同時に効率よくエタノールを製造する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】

【0004】

本発明は、蔗糖分解酵素を有さない微生物で植物由来の糖液を発酵させる前処理工程と、発酵させた糖液から砂糖を製造する工程とを有することを特徴とする砂糖の製造方法を提供する。また、本発明は、蔗糖分解酵素阻害剤の存在下で、植物由来の糖液を微生物で発酵させる前処理工程と、発酵させた糖液から砂糖を製造する工程とを有することを特徴とする砂糖の製造方法を提供する。

【発明の効果】

【0005】

本発明の方法によれば、糖濃度及び塩濃度がともに低い糖液で発酵を行うため、効率よくエタノールを製造することができる。

【図面の簡単な説明】

【0006】

【図1】実施例1で用いたプロセスのフロー図である。

【図2】実施例1のプロセスの物質収支を示す図である。

【図3】実施例2のプロセスの物質収支を示す図である。

【図4】実施例3のプロセスの物質収支を示す図である。

【図5】蔗糖分解酵素を有さない酵母および蔗糖分解酵素遺伝子を破壊した酵母を用いたサトウキビ搾汁の発酵試験の結果を示す図である。

【図6】蔗糖分解酵素阻害剤を用いたサトウキビ搾汁の発酵試験の結果を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0007】

本発明の砂糖の製造方法は、蔗糖分解酵素を有さない微生物で植物由来の糖液を発酵させる前処理工程又は蔗糖分解酵素阻害剤の存在下で、植物由来の糖液を微生物で発酵させる前処理工程を有する。このような条件で糖液を発酵させることにより、蔗糖は分解されず、グルコースやフルクトースなどの転化糖のみからエタノールなどが生成される。その結果、糖液中の蔗糖の割合が高くなり、砂糖の結晶化効率を向上させることができる。また、従来の方法では、蔗糖以外の糖分が多い低純糖率原料（品種及び収穫時期に起因する

10

20

30

40

50

)では、結晶化が難しいという問題があったが、本発明の砂糖の製造方法では、蔗糖以外の糖分が発酵により消費され、純糖率が高まるため、低純糖率の原料でも結晶化ができる。したがって、利用できるサトウキビ品種の幅が増え、収穫時期の拡張も可能になる。また、従来の方法では、製糖時に窒素と糖分が結合して糖蜜の着色が起こり、これは排水着色問題に繋がっていたが、本発明の砂糖の製造方法では、発酵により窒素が消費され、糖蜜の着色が軽減される。また、従来の方法では、製糖後の高濃度の糖分をすべてエタノールに変換させるため製造時間が長く(約48~72時間)、塩濃縮による発酵阻害も起こるが、本発明の砂糖の製造方法では、低濃度の糖分を発酵させるため、塩濃縮もなく短時間で発酵が終了し、製造時間が大幅に短縮できる。

【0008】

植物としては、サトウキビ、テンサイなどの糖分を蓄積する植物が挙げられる。好ましくは、サトウキビである。

植物由来の糖液を準備する工程は、当業者に公知の方法、例えば圧搾工程により行うことができる。具体的には、刈り取ったサトウキビの蔗茎部をカッターで15~30cmに切断し、シュレッダーで細かく砕き、ロールミルで糖汁を搾り出す。糖分の搾出率をよくするために最終ロールに注水して95~97%の糖分を搾り出す。次いで、石灰混和槽において、石灰を添加して不純物を凝集沈殿させた後、オリバーフィルターで沈殿物と清澄液を分離し、清澄液を蒸発濃縮する。得られる糖液には、主にスクロース、グルコース、フルクトースなどが含まれる。

【0009】

蔗糖分解酵素を有さない微生物としては、サッカロマイセス ダイレネンシス (*Saccharomyces dairenensis*) NBRC 0211、サッカロマイセス トランスペーレンシス (*Saccharomyces transvaalensis*) NBRC 1625、サッカロマイセス ロシニー (*Saccharomyces rosinii*) NBRC 10008、チゴサッカロマイセス ビスポラス (*Zygosaccharomyces bisporus*) NBRC 1131などが挙げられる。また、蔗糖分解酵素を有す微生物においても、微生物の持つ6種類の蔗糖分解酵素遺伝子 (SUC1、SUC2、SUC3、SUC4、SUC6、SUC7) のすべて、もしくは一部を遺伝子操作によって破壊した菌株を用いることもできる。

蔗糖分解酵素阻害剤としては、銀イオン、銅イオン、水銀イオン、鉛イオン、メチル-D-グルコピラノシド、PCMB (p-chloromercuribenzoate)、グルコシル-D-ブシコースなどが挙げられる。

発酵は、当業者に公知の方法により行うことができ、例えば発酵微生物と糖液を所定の割合で添加し発酵させる回分式、発酵微生物を固定化後、糖液を連続供給して発酵させる連続式などが挙げられる。

【0010】

本発明の砂糖の製造方法は、次いで発酵させた糖液から砂糖を製造する工程を有する。発酵させた糖液からの砂糖の製造は、当業者に公知の方法により行うことができ、例えば砂糖を結晶化することなどが挙げられる。具体的には、発酵させた糖液を少量ずつ(0.5~1kl)吸引減圧下で加熱濃縮を繰り返し、一定の大きさ以上の砂糖結晶を取り出し、次いで遠心分離機で砂糖結晶と糖液とに分離する。

【0011】

本発明の砂糖の製造方法においては、発酵させた糖液から砂糖を製造する前に、発酵させた糖液からエタノールを回収する工程を有してもよい。発酵させた糖液からのエタノールの回収は、当業者に公知の方法により行うことができ、例えば蒸留によりエタノールを分離することが挙げられる。蒸留によるエタノール分離を行えば、同時に糖液が濃縮されるため、砂糖製造において、改めて加熱濃縮を行う必要が無く、時間及びエネルギーともに節約することができる。

【実施例】**【0012】**

(実施例1 サトウキビを原料とし、蔗糖分解酵素を有さない酵母を使った場合のプロセス実証)

10

20

30

40

50

(1) 圧搾工程

収穫後のサトウキビ (NiF8) の蔗茎部 3200 g をシュレッダーで裁断後、4重ロールミルで圧搾し、搾汁 3114 mL (搾汁重量 = 3348 g、蔗糖含有量 = 563 g、転化糖含有量 = 65 g、純糖率 = 79.4%) を得た。

(2) 清澄化・発酵工程

搾汁を 5 L ジャーファーマンターに移し、搾汁重量に対して 0.05 重量% の消石灰 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を添加し、pH 調整と不純物の凝集をさせた。そこに蔗糖分解酵素を有さない酵母 *Saccharomyces dairenensis* (NBRC 0211) を乾燥重量で 0.3 g 植菌し、嫌気条件下、30 で 3 時間、エタノール発酵させた。酵母は予め YM 培地で前培養しておいたものを用いた。発酵終了後、酵母及び凝集した不純物をフィルターろ過し、発酵液 3080 mL (搾汁重量 = 3288 g、エタノール濃度 1.17 vol%、蔗糖含有量 = 558 g、転化糖含有量 = 0 g) を分離した。

10

(3) エタノール蒸留・糖液濃縮工程

発酵液を減圧下で加熱し、蒸発したエタノール 28.6 g を冷却回収した後、引き続き水 2193 mL を蒸発させ、濃縮糖液 837 mL (糖液重量 = 1066 g、蔗糖含有量 = 558 g、転化糖含有量 = 0 g、純糖率 = 93.8%) を得た。

(4) 結晶化工程

糖液の 1/2 を引き抜き、更に減圧下で加熱し、蔗糖の過飽和度 1.2 まで濃縮した後、砂糖の種結晶 (粒径 250 μm) 50 g を添加し、残りの濃縮糖液を少量ずつ添加しながら、約 3 時間結晶化させた。

20

(5) 粗糖・糖蜜分離工程

結晶化させた砂糖及び糖蜜の混合物を、50 ~ 100 μm メッシュの濾布を用いた有孔壁型遠心分離機にて 3000 rpm 20 分間遠心分離し、砂糖 371 g (蔗糖回収率 = 65.9% : 種結晶添加分抜き) と糖蜜 234 g (蔗糖含有量 = 151 g、転化糖含有量 = 0 g、純糖率 = 87.4%) に分離した。

生産プロセスのフロー図を図 1 に、物質収支の結果を図 2 に示す。

【0013】

(実施例 2 サトウキビを原料とし、蔗糖分解酵素遺伝子破壊株を使った場合のプロセス実証)

(1) 圧搾工程

収穫後のサトウキビ (NiF8) の蔗茎部 3200 g をシュレッダーで裁断後、4重ロールミルで圧搾し、搾汁 3000 mL (搾汁重量 = 3264 g、蔗糖含有量 = 546 g、転化糖含有量 = 60 g、純糖率 = 78.9%) を得た。

30

(2) 清澄化・発酵工程

搾汁を 5 L ジャーファーマンターに移し、搾汁重量に対して 0.05 重量% の消石灰 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ を添加し、pH 調整と不純物の凝集をさせた。そこに蔗糖分解酵素遺伝子 SUC2 を破壊した酵母菌株 *Saccharomyces cerevisiae* BY4742 を乾燥重量で 0.3 g 植菌し、嫌気条件下、30 で 3 時間、エタノール発酵させた。破壊株は予め YM 培地で前培養しておいたものを用いた。発酵終了後、酵母及び凝集した不純物をフィルターろ過し、発酵液 2986 mL (搾汁重量 = 3180 g、エタノール濃度 1.38 vol%、蔗糖含有量 = 546 g、転化糖含有量 = 0 g) を分離した。

40

(3) エタノール蒸留・糖液濃縮工程

発酵液を減圧下で加熱し、蒸発したエタノール 32.8 g を冷却回収した後、引き続き水 2083 mL を蒸発させ、濃縮糖液 860 mL (糖液重量 = 1065 g、蔗糖含有量 = 546 g、転化糖含有量 = 0 g、純糖率 = 87.1%) を得た。

(4) 結晶化工程

糖液の 1/2 を引き抜き、更に減圧下で加熱し、蔗糖の過飽和度 1.2 まで濃縮した後、砂糖の種結晶 (粒径 250 μm) 50 g を添加し、残りの濃縮糖液を少量ずつ添加しながら、約 3 時間結晶化させた。

(5) 粗糖・糖蜜分離工程

50

結晶化させた砂糖及び糖蜜の混合物を、50～100 μ mメッシュの濾布を用いた有孔壁型遠心分離機にて3000rpm20分間遠心分離し、砂糖351g(蔗糖回収率=64.3%:種結晶添加分抜き)と糖蜜239g(蔗糖含有量=123g、転化糖含有量=23g、純糖率=65.8%)に分離した。

物質収支の結果を図3に示す。

【0014】

(実施例3 サトウキビを原料とし、蔗糖分解酵素阻害剤を使った場合のプロセス実証)

(1) 圧搾工程

収穫後のサトウキビ(NiF8)の蔗茎部3000gをシュレッダーで裁断後、4重ロールミルで圧搾し、搾汁2868mL(搾汁重量=3120g、蔗糖含有量=524g、転化糖含有量=61g、純糖率=78.3%)を得た。

10

(2) 清澄化・発酵工程

搾汁を5Lジャーファーマンターに移し、搾汁重量に対して0.05重量%の消石灰Ca(OH)₂を添加し、pH調整と不純物の凝集をさせた。そこに蔗糖分解酵素阻害剤であるメチル-D-グルコピラノシドを濃度60mMとなるように添加した後、蔗糖分解酵素を有する酵母*Saccharomyces cerevisiae*(Taiken396株)を乾燥重量で0.6g植菌し、嫌気条件下、30℃で6時間、エタノール発酵させた。酵母は予めYM培地で前培養しておいたものを用いた。発酵終了後、酵母及び凝集した不純物をフィルターを過し、発酵液2870mL(搾汁重量=3064g、エタノール濃度6.20vol%、蔗糖含有量=252g、転化糖含有量=0g)を分離した。

20

(3) エタノール蒸留・糖液濃縮工程

発酵液を減圧下で加熱し、蒸発したエタノール150gを冷却回収した後、引き続き水2494mLを蒸発させ、濃縮糖液330mL(糖液重量=420g、蔗糖含有量=252g、転化糖含有量=0g、純糖率=94.0%)を得た。

(4) 結晶化工程

糖液の1/2を引き抜き、更に減圧下で加熱し、蔗糖の過飽和度1.2まで濃縮した後、砂糖の種結晶(粒径250 μ m)50gを添加し、残りの濃縮糖液を少量ずつ添加しながら、約3時間結晶化させた。

(5) 粗糖・糖蜜分離工程

結晶化させた砂糖及び糖蜜の混合物を、50～100 μ mメッシュの濾布を用いた有孔壁型遠心分離機にて3000rpm20分間遠心分離し、砂糖203g(蔗糖回収率=29.2%:種結晶添加分抜き)と糖蜜151g(蔗糖含有量=88g、転化糖含有量=0g、純糖率=81.0%)に分離した。

30

物質収支の結果を図4に示す。

【0015】

(実施例4 蔗糖分解酵素を有さない酵母を使った場合のサトウキビ搾汁発酵試験)

蔗糖分解酵素を有さない酵母*S. dairenensis*(NBRC 0211)、*S. transvaalensis*(NBRC 1625)、*S. rosinii*(NBRC 10008)、*Z. bisporus*(NBRC 1131)と、蔗糖分解酵素を有す酵母*S. cerevisiae* BY4742の蔗糖分解酵素遺伝子を破壊した株(BY4742 SUC2-)をサトウキビ搾汁に植菌して、蔗糖を分解せずに転化糖のみをエタノールに変換するか確認するため、発酵試験を行なった。比較対照のため、蔗糖分解酵素を有す酵母*S. cerevisiae*(Taiken396株)も同様な発酵試験を行なった。

40

各菌株は、前々培養として5mLのYM培地で30℃、24時間振とう培養した後、前培養として300mLのYPD培地で30℃、12h振とう培養したものを発酵に用いた。前培養培地から遠心分離により酵母を回収し、発酵栓付き300mL三角フラスコに入れた搾汁100mL(搾汁中の蔗糖濃度は12.0%、転化糖濃度は3.0%)に酵母を懸濁させて発酵させた。発酵は30℃、120rpmで振とうしながら行なった。発酵に伴う糖濃度、エタノール濃度の経時変化を調査した結果を図5に示す。

一般的な酵母である*S. cerevisiae*(Taiken396株)では、蔗糖分解酵素の働きにより発酵開始から3時間目ではほぼすべての蔗糖が転化糖に分解され、24時間目ではすべての糖

50

分がエタノールに変換された。

一方、蔗糖分解酵素を有さない4種類の酵母および蔗糖分解酵素遺伝子破壊株では、エタノール生成速度に差はあるものの、すべてにおいて蔗糖分解が見られず、転化糖のみがエタノールに変換されることを確認した。

【0016】

(実施例5 蔗糖分解酵素阻害剤を用いたサトウキビ搾汁の発酵試験)

蔗糖分解酵素を有す一般的な酵母*S. cerevisiae* (Taiken396株)をサトウキビ搾汁に植菌して、蔗糖分解酵素阻害剤であるメチル-β-D-グルコピラノシドを濃度60mMとなるように添加し、発酵試験を行ない、蔗糖、転化糖、エタノール濃度の経時変化を調査した。菌株は、前々培養として10mLのYM培地で30、24時間振とう培養した後、前培養として500mLのYPD培地で30、12h振とう培養したものを発酵に用いた。発酵栓付き300mL三角フラスコに搾汁100mL(搾汁中の蔗糖濃度は10.0%、転化糖濃度は3.0%)とメチル-β-D-グルコピラノシド60mMを入れ、そこに前培養培地から遠心分離により回収した酵母を添加し、発酵させた。発酵は30、120rpmで振とうしながら行なった。発酵に伴う糖濃度、エタノール濃度の経時変化を調査した結果を図6に示す。

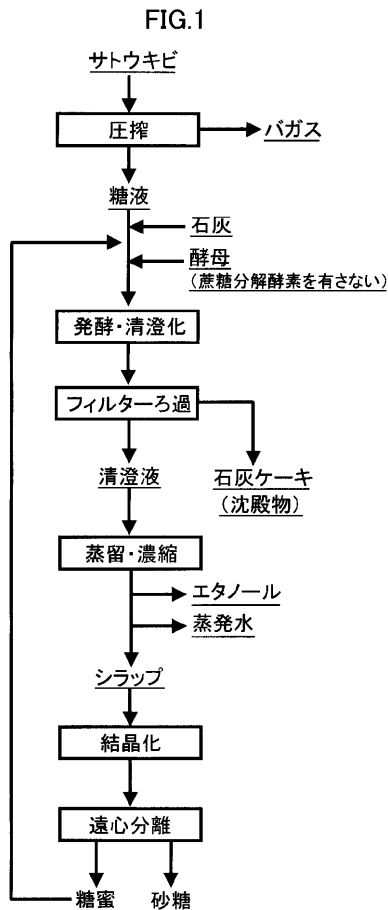
10

一般的な酵母である*S. cerevisiae* (Taiken396株)は、阻害剤が無い条件では蔗糖分解酵素の働きにより発酵開始6時間目でほぼすべての蔗糖が転化糖に分解され、エタノールに変換された。蔗糖分解速度が、酵母の転化糖消費速度より速いため、転化糖が消費されて純糖率が高くなった時には蔗糖が完全に消費されており、発酵液から砂糖生産を行なうことは不可能であることが確認された。

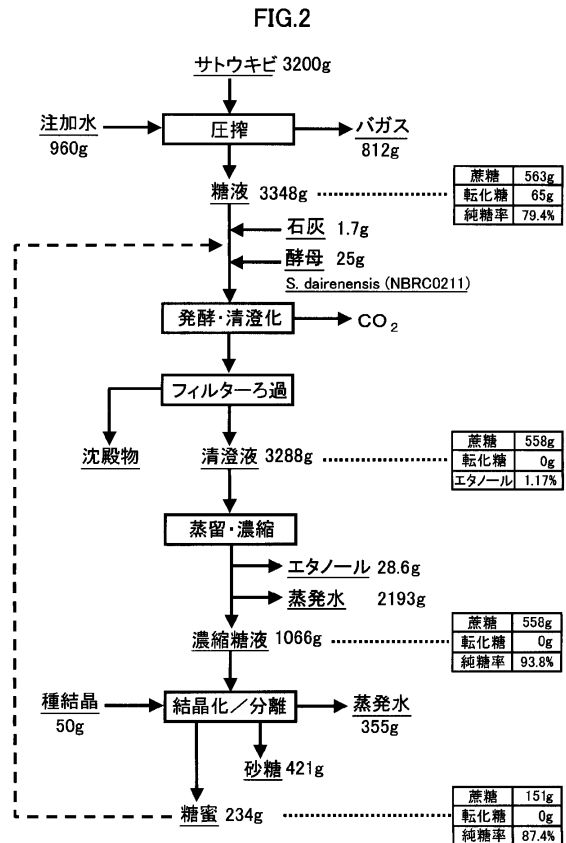
20

一方、阻害剤がある条件では蔗糖分解速度が遅れ、発酵開始6時間目で約半分の蔗糖を残し、すべての転化糖がエタノールに変換された。発酵開始8時間目での発酵液の純糖率は94.0%と高く、砂糖の結晶化が容易にできる純糖率であった。

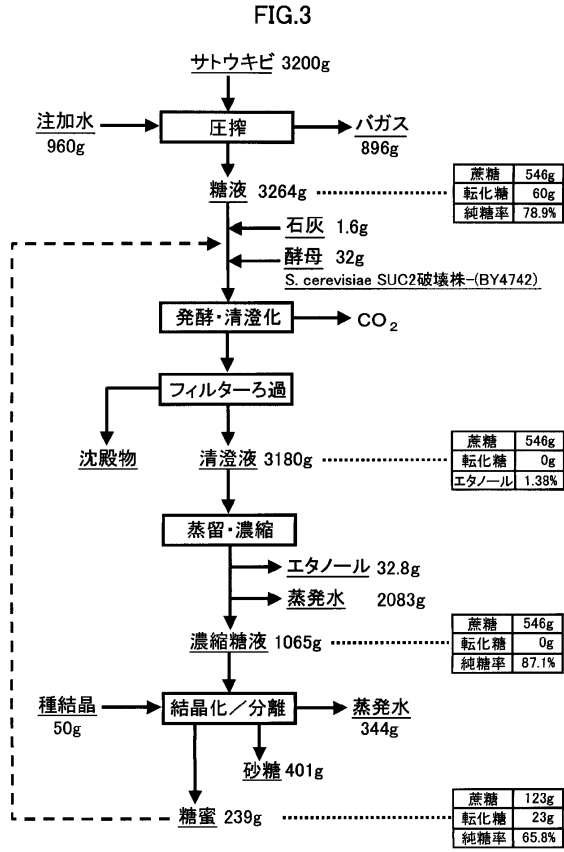
【図1】



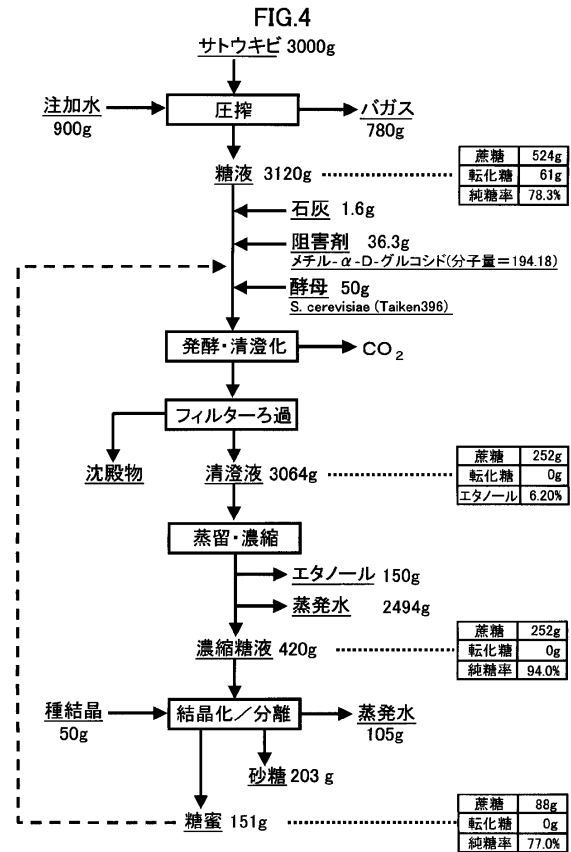
【図2】



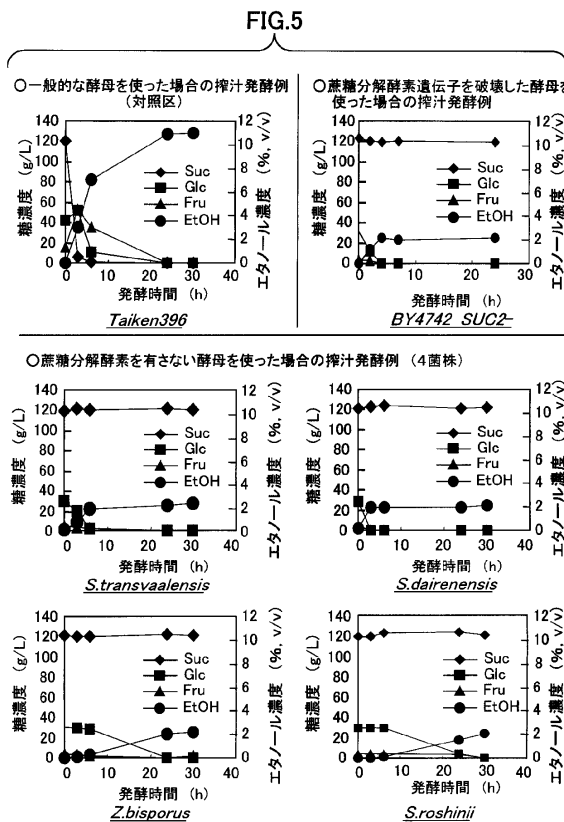
【図3】



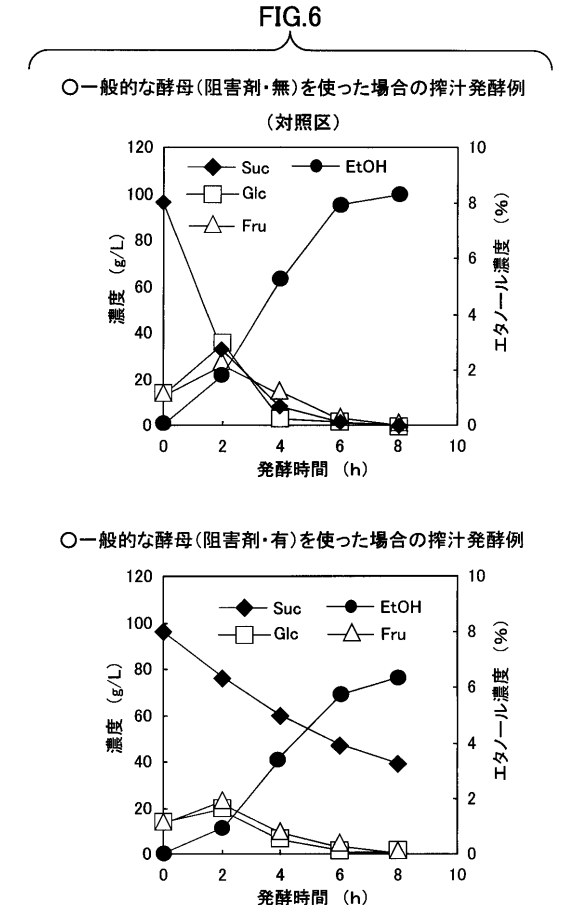
【図4】



【図5】



【図6】



フロントページの続き

- (72)発明者 小原 聡
茨城県守谷市緑1丁目1番地2-1 アサヒビール株式会社 豊かさ創造研究所内
- (72)発明者 杉本 明
沖縄県石垣市平得132 アントレ・アン2-C
- (72)発明者 寺島 義文
鹿児島県西之表市安納1742-1 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 九州沖縄農業研究センター内

審査官 松原 寛子

- (56)参考文献 特開2004-321174(JP,A)
小原聡他, 高バイオマス量サトウキビを原料とした砂糖・エタノール複合生産, Bio Industry, 2007年4月12日, Vol.24, p.7-14
小原聡他, エネルギー用サトウキビからの食糧共存型バイオマスエタノール生産, 日本エネルギー学会誌, 2005年11月20日, Vol.84, p.923-928

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12P 19/00

CA/BIOSIS/MEDLINE/WPIDS(STN)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)