



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102791872 A

(43) 申请公布日 2012. 11. 21

(21) 申请号 201180012821. 1

(22) 申请日 2011. 02. 07

(30) 优先权数据

2010-052587 2010. 03. 10 JP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 09. 07

(86) PCT申请的申请数据

PCT/JP2011/052476 2011. 02. 07

(87) PCT申请的公布数据

W02011/111451 JA 2011. 09. 15

(71) 申请人 东丽株式会社

地址 日本东京

(72) 发明人 花川正行 广泽洋帆 栗原宏征

南野淳

(74) 专利代理机构 北京天昊联合知识产权代理有限公司 11112

代理人 丁业平 张天舒

(51) Int. Cl.

C12P 19/02 (2006. 01)

C13K 1/02 (2006. 01)

C12P 19/14 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 33 页 附图 1 页

(54) 发明名称

精制糖水溶液的制造方法及化学品的制造方法

(57) 摘要

本发明提供一种在糖水溶液制造工序中除去在由含纤维素生物质制造糖的工序中所生成的发酵阻碍物质的方法、以及长期稳定地制造发酵阻碍物质的量极少的精制糖水溶液的方法。所述精制糖水溶液制造方法为以含纤维素生物质为原料来制造精制糖水溶液的方法,该方法由如下工序构成:(1)对含纤维素生物质进行分解处理以制造糖水溶液的工序,(2)对(1)中所得到的糖水溶液进行凝聚处理的工序,(3)使(2)中所得到的糖水溶液通过微滤膜和/或超滤膜以进行过滤,并从透过侧回收糖水溶液的工序,(4)使(3)中所得到的糖水溶液通过纳滤膜和/或反渗透膜以进行过滤,并且从非透过侧回收精制糖水溶液、从透过侧除去发酵阻碍物质的工序。

1. 一种精制糖水溶液的制造方法,其为以含纤维素生物质为原料来制造精制糖水溶液的方法,该方法由如下工序构成:

(1) 对含纤维素生物质进行分解处理以制造糖水溶液的工序,

(2) 对(1)中所得到的糖水溶液进行凝聚处理的工序,

(3) 使(2)中所得到的糖水溶液通过微滤膜和/或超滤膜以进行过滤,并从透过侧回收糖水溶液的工序,

(4) 使(3)中所得到的糖水溶液通过纳滤膜和/或反渗透膜以进行过滤,并且从非透过侧回收精制糖水溶液、从透过侧除去发酵阻碍物质的工序。

2. 权利要求1所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,在所述工序(2)的凝聚处理中使用阳离子性高分子凝聚剂。

3. 权利要求1所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,在所述工序(2)的凝聚处理中合并使用无机凝聚剂和有机高分子凝聚剂。

4. 权利要求1至3中任一项所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,多次实施所述工序(2)的凝聚处理。

5. 权利要求1至4中任一项所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,所述发酵阻碍物质包括选自由有机酸、呋喃类化合物及酚类化合物构成的组中的一种以上。

6. 权利要求5所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,所述有机酸为甲酸或乙酸。

7. 权利要求5所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,所述呋喃类化合物为羟甲基糠醛或糠醛。

8. 权利要求5所述的精制糖水溶液的制造方法,其中所述酚类化合物为香兰素、乙酰香兰素或丁香酸。

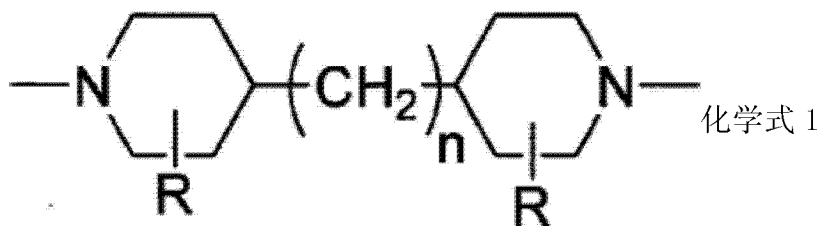
9. 权利要求1至8中任一项所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,所述工序(2)的糖水溶液为以单糖为主要成分的糖水溶液。

10. 权利要求1至9中任一项所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,所述工序(4)为使糖水溶液通过纳滤膜以进行过滤,并使所得到的过滤液通过反渗透膜以进行过滤的工序。

11. 权利要求1至10中任一项所述的精制糖水溶液的制造方法,其特征在于,所述工序(4)的纳滤膜和/或反渗透膜的功能层由聚酰胺构成。

12. 权利要求1至11中任一项所述的精制糖水溶液的制造方法,其特征在于,所述工序(4)的纳滤膜的功能层以交联哌嗪聚酰胺为主要成分且含有化学式1所示的构成成分:

[化学式1]



式中,R表示-H或-CH₃,n表示0至3的整数。

13. 一种化学品制造方法,其使用了通过权利要求1至12中任一项所述的精制糖水溶液的制造方法而得到的精制糖水溶液作为发酵原料。

精制糖水溶液的制造方法及化学品的制造方法

技术领域

[0001] 本发明涉及由含纤维素生物质制造精制糖水溶液的方法。

背景技术

[0002] 大量消费、大量废弃的 20 世纪已结束了,在寻求构建环境协调型社会的 21 世纪,随着化石资源枯竭和全球变暖的问题不断深刻化,期待着能够促进作为循环型资源的生物质资源的有效使用。

[0003] 现在,美国及巴西等国正在积极地以生物质资源中的甘蔗和玉米为原料来制造生物乙醇。这是因为在甘蔗及玉米中富含蔗糖和淀粉,容易由其来制备糖水溶液并进行发酵。然而,甘蔗及玉米本身就是食品,在将其作为原料时,存在着会引起与食品或饲料的竞争从而导致原料价格高涨的重大问题,今后的课题在于构筑从含纤维素生物质之类的非食用生物质中有效地制造糖水溶液的工艺、或者将得到的糖水溶液作为发酵原料而有效地转换为工业原料的工艺。

[0004] 作为从含纤维素生物质来制造糖水溶液的方法,存在使用硫酸的糖水溶液制造方法,公开有:使用浓硫酸对纤维素及半纤维素进行酸水解从而制造糖水溶液的方法(专利文献 1 或者 2);在用稀硫酸对含纤维素生物质进行水解处理之后,进一步通过纤维素酶等进行酶处理来制造糖水溶液的方法(非专利文献 1)。

[0005] 另外,作为不使用酸的方法,公开有:使用 250℃~500℃左右的亚临界水,对含纤维素生物质进行水解,从而制造糖水溶液的方法(专利文献 3);在对含纤维素生物质进行亚临界水处理之后,进一步通过酶处理来制造糖水溶液的方法(专利文献 4);以及在用 240℃~280℃的加压热水对含纤维素生物质进行水解处理之后,进一步利用酶处理来制造糖水溶液的方法(专利文献 5)。

[0006] 但是,存在如下问题:在含纤维素生物质水解时,在纤维素或者半纤维素成分等分解的同时,所生成的葡萄糖、木糖等糖的分解物反应也在进行,从而生成糠醛、羟甲基糠醛(HMF)等呋喃化合物或者甲酸、乙酸、乙酰丙酸等有机酸之类的副产物。另外,含纤维素生物质由于含有作为芳香族聚合物的木质素成分,因此,木质素成分在酸处理工序中被分解,同时生成作为副产物的低分子量苯酚类等芳香族化合物。这些化合物在利用微生物来进行的发酵工序中会起到阻碍作用,阻碍微生物生长,使发酵产物的收率降低,因此,被称为发酵阻碍物质,这是在利用含纤维素生物质糖水溶液作为发酵原料时较为棘手的问题。

[0007] 作为在糖水溶液制造过程中除去此类发酵阻碍物质的方法,公开了被称为过量石灰处理(overliming)的方法(非专利文献 2)。该方法为这样的方法:针对酸处理后的纤维素或者糖化液,在添加石灰进行中和的工序中,通过一边加温至 60℃左右一边保持一定时间,由此将糠醛、HMF 等发酵阻碍物质与石膏成分一同除去。但是,过量石灰处理存在着对于甲酸、乙酸、乙酰丙酸等有机酸的除去效果小的问题。

[0008] 另外,作为除去发酵阻碍物质的其它方法,公开有:通过向由含纤维素生物质制得的糖水溶液中吹入水蒸气来蒸发除去发酵阻碍物质的方法(专利文献 6)。但在这种蒸发除

去方法中,依赖于发酵阻碍物质的沸点,特别是沸点低的有机酸等发酵阻碍物质的除去效率低,为了获得充分的除去效率,存在着必须投入大量能量的问题。

[0009] 另外,还存在通过离子交换来除去发酵阻碍物质的方法(专利文献7),但存在着成本方面的问题。还有使用木质系炭化物(即活性炭)等来进行吸附除去的方法(专利文献8),但存在着除去对象局限于疏水性化合物的问题。

[0010] 现有技术文献

[0011] 专利文献

[0012] 专利文献1:日本特表平11-506934号公报

[0013] 专利文献2:日本特开2005-229821号公报

[0014] 专利文献3:日本特开2003-212888号公报

[0015] 专利文献4:日本特开2001-95597号公报

[0016] 专利文献5:日本专利第3041380号公报

[0017] 专利文献6:日本特开2004-187650号公报

[0018] 专利文献7:日本特表2001-511418号公报

[0019] 专利文献8:日本特开2005-270056号公报

[0020] 非专利文献

[0021] 非专利文献1:A.Aden等,“Lignocellulosic Biomass to Ethanol Process Design and Economics Utilizing Co-Current Dilute Acid Prehydrolysis and Enzymatic Hydrolysis for Corn Stover”NREL Technical Report (2002)

[0022] 非专利文献2:M.Alfred等,“Effect of pH,time and temperature of overliming on detoxification of dilute-acid hydrolyzates for fermentation by *Saccaromyces cerevisiase*”Process Biochemistry, 38, 515-522(2002)

发明内容

[0023] 发明要解决的问题

[0024] 因此,在本发明中,提供了一种解决上述问题的方法,即,在糖水溶液制造工序中除去在由含纤维素生物质制造糖的工序中所生成的发酵阻碍物质的方法,另外本发明还提供一种长期稳定地制造发酵阻碍物质质量极少的精制糖水溶液的方法。

[0025] 解决问题的手段

[0026] 本发明人对上述问题进行了深入研究,结果发现:在由含纤维素生物质制造糖的工序中,首先对糖水溶液进行凝聚处理,接着使其通过微滤膜和/或超滤膜,最后通过纳滤膜和/或反渗透膜,可以长期稳定地分离除去作为发酵原料的糖以及发酵阻碍物质,从而制造出糖水溶液。即,本发明具有以下[1]~[13]中任一项的构成。

[0027] [1]一种精制糖水溶液的制造方法,其为以含纤维素生物质为原料来制造精制糖水溶液的方法,该方法由如下工序构成:(1)对含纤维素生物质进行分解处理以制造糖水溶液的工序,(2)对(1)中所得到的糖水溶液进行凝聚处理的工序,(3)使(2)中所得到的糖水溶液通过微滤膜和/或超滤膜以进行过滤,并从透过侧回收糖水溶液的工序,(4)使(3)中所得到的糖水溶液通过纳滤膜和/或反渗透膜以进行过滤,并且从非透过侧回收精制糖水溶液、并从透过侧除去发酵阻碍物质的工序。

[0028] [2] 根据 [1] 所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,在所述工序 (2) 的凝聚处理中使用阳离子性高分子凝聚剂。

[0029] [3] 根据 [1] 所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,在所述工序 (2) 的凝聚处理中合并使用无机凝聚剂和有机高分子凝聚剂。

[0030] [4] 根据 [1] 至 [3] 中任一项所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,多次实施所述工序 (2) 的凝聚处理。

[0031] [5] 根据 [1] 至 [4] 中任一项所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,所述发酵阻碍物质包括选自自由有机酸、呋喃类化合物及酚类化合物构成的组中的一种以上。

[0032] [6] 根据 [5] 所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,所述有机酸为甲酸或乙酸。

[0033] [7] 根据 [5] 所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,所述呋喃类化合物为羟甲基糠醛或糠醛。

[0034] [8] 根据 [5] 所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,所述酚类化合物为香兰素、乙酰香兰素或丁香酸。

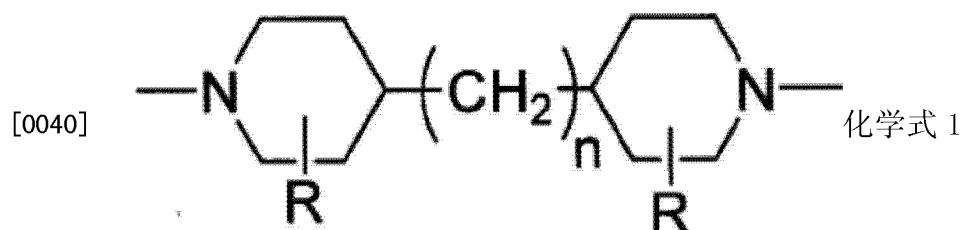
[0035] [9] 根据 [1] 至 [8] 中任一项所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,所述工序 (2) 的糖水溶液为以单糖为主要成分的糖水溶液。

[0036] [10] 根据 [1] 至 [9] 中任一项所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,所述工序 (4) 为使糖水溶液通过纳滤膜以进行过滤,并使所得到的过滤液通过反渗透膜以进行过滤的工序。

[0037] [11] 根据 [1] 至 [10] 中任一项所述的精制糖水溶液的制造方法,其特征在于,所述工序 (4) 的纳滤膜和 / 或反渗透膜的功能层由聚酰胺构成。

[0038] [12] 根据 [1] 至 [11] 中任一项所述的精制糖水溶液的制造方法,其中,所述工序 (4) 的纳滤膜的功能层以交联哌嗪聚酰胺为主要成分且含有化学式 1 所示的构成成分:

[0039] [化学式 1]



[0041] 式中, R 表示 -H 或 -CH₃, n 表示 0 至 3 的整数。

[0042] [13] 一种化学品的制造方法,其使用了通过 [1] 至 [12] 中任一项所述的精制糖水溶液的制造方法而得到的精制糖水溶液作为发酵原料。

[0043] 发明效果

[0044] 通过本发明,可以从源自含纤维素生物质的糖水溶液中除去作为发酵阻碍物质的糠醛、HMF 等呋喃化合物,乙酸、甲酸、乙酰丙酸等有机酸,香兰素等酚类化合物,因此,能够长期稳定地以高纯度高收率来制造葡萄糖、木糖等糖。结果,通过使用本发明中所得到的精制糖水溶液作为发酵原料,可以提高各种化学品的发酵生产效率。

[0045] 附图简要说明

[0046] [图 1] 为示意性示出纳滤膜 / 反渗透膜的过滤装置的示意图。

具体实施方式

[0047] 以下对本发明进行更详细地说明。

[0048] 就本发明的精制糖水溶液制造方法中所使用的含纤维素生物质而言,作为例子,可以举出:甘蔗渣、柳枝稷、玉米秸秆、稻秸、麦秸等草本系生物质、以及树木、废建材等木质系生物质等。这些含纤维素生物质含有作为糖脱水缩合而成的多糖的纤维素或者半纤维素,通过对这些多糖进行分解处理,可以制造能够用作发酵原料的糖水溶液。需要说明的是,用于本发明的含纤维素生物质在不脱离本发明目的范围内可以含有其它成分,例如,可以含有蔗糖或淀粉等可食生物质。例如,在将作为甘蔗的压榨残渣的甘蔗渣用作含纤维素生物质的情况下,可以同时使用含有蔗糖的甘蔗压榨汁液。

[0049] 本发明中的精制糖水溶液是指通过对含纤维素生物质进行分解处理而得到的糖水溶液。关于含纤维素生物质的分解处理,由于水解简便且廉价,因此优选采用。一般而言,糖根据单糖的聚合度而进行分类,其被分为:葡萄糖、木糖等单糖类,2~9个单糖脱水缩合而形成的寡糖类,以及10个以上单糖脱水缩合而形成的多糖类。本发明中的精制糖水溶液是指包含单糖作为主要成分的糖水溶液,具体而言,包含葡萄糖或者木糖作为主要成分。另外也含有少量的纤维二糖等寡糖、以及阿拉伯糖、甘露糖等单糖。在此,主要成分为单糖是指单糖占溶解于水中的单糖、寡糖及多糖的糖类总重量的80重量%以上。作为溶解于水中的单糖、寡糖、多糖的具体分析方法,可以利用HPLC(高效液相色谱法),并通过与标准品比较来进行定量。具体的HPLC条件如下:反应液:无;柱子使用Luna NH₂(Phenomenex公司制);流动相为超纯水:乙腈=25:75,流速为0.6mL/min;测定时间为45min;检测方法为RI(差示折射率);温度为30℃。

[0050] 接着,对本发明的精制糖水溶液制造方法中的工序(1):对含纤维素生物质进行分解处理的工序进行说明。

[0051] 在对含纤维素生物质进行分解处理时,可以直接使用含纤维素生物质,也可以实施蒸煮、微粉碎、炸碎等公知的处理,通过这样的处理可以提高分解处理的效率。

[0052] 对含纤维素生物质的分解处理工序没有特别限制,具体而言可以主要举出如下6种方法:处理法A:仅使用酸的方法;处理法B:酸处理后利用酶的方法;处理法C:仅使用水热处理的方法;处理法D:水热处理后利用酶的方法;处理法E:碱处理后利用酶的方法;处理法F:氨处理后利用酶的方法。

[0053] 在处理法A中,使用酸对含纤维素生物质进行分解处理使其水解。关于所使用的酸,可以举出硫酸、硝酸、盐酸等,优选使用硫酸。

[0054] 对酸的浓度没有特别限定,可以使用0.1重量%~99重量%的酸。在酸的浓度为0.1重量%~15重量%、优选为0.5重量%~5重量%的情况下,反应温度被设定在100℃~300℃的范围,优选设定在120℃~250℃的范围,反应时间被设定在1秒~60分钟的范围。对处理次数没有特别限定,上述处理进行一次以上即可。特别是在上述处理进行两次以上的情况下,可以在不同条件下实施第1次及第2次以后的处理。

[0055] 另外,在酸的浓度为15重量%~95重量%、优选为60重量%~90重量%的情况下,反应温度被设定在10℃~100℃的范围,反应时间被设定在1秒~60分钟的范围。

[0056] 对上述酸处理的次数没有特别限定,上述处理只要进行1次以上即可。特别是在上述处理进行两次以上的情况下,可以在不同条件下实施第1次及第2次以后的处理。

[0057] 通过酸处理而得到的水解物包含硫酸等酸,因此,为了将其用作发酵原料,需要进行中和。可以对通过固液分离将固体成分从水解物中除去后的酸水溶液进行中和,也可以在含有固体成分的状态下直接进行中和。对用于中和的碱试剂没有特别限定,优选为一价的碱试剂。在工序(4)过程中,当酸和碱成分均为二价以上的盐时,有时不能透过纳滤膜,而且在液体浓缩过程中在液体中会析出盐,从而成为导致膜污垢的主要原因。

[0058] 在使用一价碱的情况下,可以举出:氨、氢氧化钠、氢氧化钾等,但没有特别限定。

[0059] 在使用二价以上的碱试剂的情况下,为了不会在工序(4)中发生盐的析出,需要减少酸、碱量,或者需要设置除去工序(4)中的析出物的机构。在使用二价以上碱的情况下,从成本方面考虑,优选氢氧化钙。在使用氢氧化钙的情况下,由于通过中和会生成石膏成分,因此,优选通过固液分离来除去石膏。

[0060] 在使用酸进行水解时,具有如下特征:一般由结晶性低的半纤维素成分开始发生水解,接着结晶性高的纤维素成分发生分解。因此,使用酸可以得到含有较多源自半纤维素的木糖的液体。另外,在酸处理中,通过进一步使上述处理后的生物质固体成分在较之上述处理更为高压、高温下进行反应,可以进一步使结晶性高的纤维素成分分解,从而得到含有较多源自纤维素的葡萄糖的液体。通过设定进行水解的两段工序,可以设定适于半纤维素及纤维素的水解条件,从而能够提高分解效率及糖收率。另外,通过分离在第一分解条件下得到的糖水溶液和在第二分解条件下得到的糖水溶液,可以制造出水解物中所包含的单糖成分比率不同的两种糖水溶液。即,可以分离为:在第一分解条件下得到的糖水溶液以木糖为主要成分,而在第二分解条件下得到的糖水溶液以葡萄糖为主要成分。这样,通过分离糖水溶液中所包含的单糖成分,可分别进行使用糖水溶液中的木糖作为发酵原料的发酵、和使用葡萄糖作为发酵原料的发酵,由此可以选用最适用于各自发酵的微生物种。但是,通过长时间进行使用酸的高压高温处理,也可以不分离半纤维素成分和纤维素成分而是一次得到源自两种成分的糖。

[0061] 在处理法B中,对于处理法A中得到的处理液,通过酶进一步使含纤维素生物质水解。在处理法B中所使用的酸的浓度优选为0.1重量%~15重量%,更优选为0.5重量%~5重量%。反应温度可以设定在100℃~300℃的范围,优选设定在120~250℃的范围。反应时间可以设定在1秒~60分钟的范围。对处理次数没有特别限定,进行一次以上上述处理即可。特别是在上述处理进行两次以上的情况下,可以在不同条件下实施第1次和第2次以后的处理。

[0062] 通过酸处理所得到的水解物含有硫酸等酸,为了进一步利用酶进行水解反应或者用作发酵原料,需要进行中和。可以按照与处理法A中的中和相同的方法来实施中和。

[0063] 作为上述酶,只要为具有纤维素分解活性的酶即可,可以使用一般的纤维素酶,优选这样的纤维素酶:其含有对结晶性纤维素具有分解活性的外切型纤维素酶或者内切型纤维素酶而构成。作为这样的纤维素酶,优选木霉菌所产生的纤维素酶。木霉菌是被分类为丝状菌的微生物,其为向细胞外大量分泌多种纤维素酶的微生物。本发明中所使用的纤维素酶优选源自里氏木霉(*Trichoderma reesei*)的纤维素酶。另外,作为用于水解的酶,为了提高葡萄糖的生成效率,可以添加作为纤维二糖分解酶的 β 葡糖苷酶,也可以将其与上述纤维素酶合并用于水解。作为 β 葡糖苷酶,没有特别限定,优选源自曲霉的葡糖苷酶。使用了这些酶的水解反应优选在pH 3~7左右进行,更优选pH为5左右。反应温度优选为

40℃~70℃。另外,优选的是,在利用酶进行的水解结束时进行固液分离,以除去未分解的固体成分。

[0064] 在酸处理后,在用酶对含纤维素生物质进行水解时,优选的是,在第一水解中,通过酸处理对结晶性低的半纤维素进行水解,接着在第二水解中,通过使用酶对结晶性高的纤维素进行水解。通过在第二水解中使用酶,可以更为有效地促进含纤维素生物质的水解。具体而言,在利用酸进行的第一水解中,主要包含于含纤维素生物质中的半纤维素成分发生水解并且木质素发生部分分解,将其水解物分离为酸溶液和包含纤维素的固体成分,然后通过向包含纤维素的固体成分中添加酶以进行水解。由于在分离并回收的稀硫酸溶液中包含作为戊糖的木糖作为主要成分,因此,可以中和酸溶液并分离糖水溶液。另外,可以从包含纤维素的固体成分的水解反应物中得到以葡萄糖为主要成分的单糖成分。需要说明的是,可以将通过中和所得到的糖水溶液混合到固体成分中,然后在其中添加酶来进行水解。

[0065] 在处理法C中,无需添加特别的酸,在添加水使得含纤维素生物质为0.1重量%~50重量%之后,在100℃~400℃的温度下处理1秒~60分钟。通过在这样的温度条件下进行处理,使得纤维素及半纤维素水解。对处理次数没有特别限定,进行一次以上该处理即可。特别是在进行两次以上该处理的情况下,可以在不同条件下实施第1次和第2次以后的处理。

[0066] 使用水热处理的分解处理具有如下特征:一般由结晶性低的半纤维素成分开始发生水解,接着结晶性高的纤维素成分发生分解。因此,使用水热处理可以得到含有较多源自半纤维素的木糖的液体。另外在水热处理中,通过进一步使上述处理后的生物质固体成分在较之上述处理更为高压、高温下进行反应,可以进一步使结晶性高的纤维素成分分解,从而得到含有较多源自纤维素的葡萄糖的液体。通过设定进行分解处理的两段工序,可以设定适于半纤维素及纤维素的分解处理条件,从而能够提高分解效率及糖收率。另外,通过分离在第一分解条件下得到的糖水溶液和在第二分解条件下得到的糖水溶液,可以制造出分解处理物中所包含的单糖成分比例不同的两种糖水溶液。即,可以分离为:在第一分解条件下得到的糖水溶液以木糖为主要成分,而在第二分解条件下得到的糖水溶液以葡萄糖为主要成分。这样,通过对糖水溶液中所包含的单糖成分进行分离,可以分别进行使用糖水溶液中的木糖作为发酵原料的发酵、和使用葡萄糖作为发酵原料的发酵,由此可以选用最适用于各自发酵的微生物种。

[0067] 在处理法D中,对处理法C中所得到的处理液,通过酶使含纤维素生物质进一步水解。

[0068] 关于上述酶,使用与处理法B相同的酶。另外,关于酶处理条件,也可以采用与处理法B相同的条件。

[0069] 在水热处理后使用酶对含纤维素生物质进行水解的情况下,在第一分解处理中,通过水热处理使结晶性低的半纤维素水解,接着在第二分解处理中,通过使用酶使结晶性高的纤维素水解。通过在第二分解处理中使用酶,可以更为有效地促进含纤维素生物质的分解处理工序。具体而言,在利用水热处理进行的第一分解处理中,主要包含在含纤维素生物质中的半纤维素成分发生水解并且木质素发生部分分解,将其水解物分离为水溶液和包含纤维素的固体成分,通过在包含纤维素的固体成分中添加酶来进行水解。在分离并回收的水溶液中含有作为戊糖的木糖作为主要成分。另外,可以从包含纤维素的固体成分的水解

反应物中得到以葡萄糖为主要成分的单糖成分。另外,也可以将通过水热处理而得到的水溶液混合到固体成分中,并向其中添加酶来进行水解。

[0070] 在处理方法 E 中,更优选的是所使用的碱为氢氧化钠或氢氧化钙。在这些碱的浓度为 0.1 重量%~60 重量% 的范围的条件下添加到含纤维素生物质中,并在 100℃~200℃、优选 110℃~180℃ 的温度范围内进行处理即可。对处理次数没有特别限定,进行一次以上上述处理即可。特别是在进行两次以上上述处理的情况下,可以在不同条件下实施第 1 次和第 2 次之后的处理。

[0071] 通过碱处理而得到的处理物包含氢氧化钠等碱,因此为了进一步利用酶来进行水解反应,需要进行中和。中和可以针对通过固液分离将固体成分从水解物中除去后的碱水溶液来进行,也可以直接在包含固体成分的状态下进行。对用于中和的酸试剂没有特别限定,更优选一价酸试剂。这是因为:在工序(4)过程中当酸和碱成分均为二价以上的盐时,不能透过纳滤膜,并且在液体浓缩过程中液体中会析出盐,从而成为导致膜污垢的主要原因。

[0072] 在使用一价酸的情况下,可以举出硝酸、盐酸等,但没有特别限定。

[0073] 在使用二价以上的酸试剂的情况下,为了不在工序(4)中引起盐的析出,需要减少酸、碱量,或者需要设置排出工序(4)中的析出物的机构。在使用二价以上的酸的情况下,优选硫酸、磷酸。在使用氢氧化钙的情况下,通过中和会生成石膏成分,因此,优选利用固液分离除去石膏。

[0074] 关于上述酶,可以使用与处理方法 B 相同的酶。另外,关于酶处理条件,可以采用与处理方法 B 相同的条件。

[0075] 在碱处理后利用酶对含纤维素生物质进行水解时,通过混合到含碱的水溶液中并加热,可以除去半纤维素及纤维素成分周围的木质素成分,从而使半纤维素成分及纤维素成分成为易于反应的状态,之后利用酶使碱处理中未被分解的结晶性低的半纤维素及结晶性高的纤维素进行水解。具体而言,在用碱进行的处理中,主要包含在含纤维素生物质中的一部分半纤维素成分发生水解并且木质素发生部分分解,将其水解物分离为碱溶液和含纤维素的固体成分,对于含纤维素的固体成分,调节 pH 并向其中添加酶,由此进行水解。另外,在碱溶液浓度稀薄的情况下,可以不分分离固体成分而是直接中和后添加酶以进行水解。可以从含纤维素的固体成分的水解反应物中得到以葡萄糖及木糖为主要成分的单糖成分。另外,在分离回收后的碱溶液中,除了木质素之外还包含作为戊糖的木糖作为主要成分,因此,也可以中和碱溶液并分离糖水溶液。另外,可以将通过中和而得到的糖水溶液混合到固体成分中并向其中添加酶来进行水解。

[0076] 关于处理方法 F 的氨处理条件,以日本特开 2008-161125 及日本特开 2008-535664 为依据。例如,将所使用的氨添加到含纤维素生物质中,使得氨浓度相对于含纤维素生物质为 0.1 重量%~15 重量% 的范围,并在 4℃~200℃、优选 90℃~150℃ 下进行处理。所添加的氨可以为液态或者气态中的任意一种。而且,添加形态既可以为纯氨也可以为氨水溶液的形态。对处理次数没有特别限定,上述处理进行一次以上即可。特别是在进行两次以上上述处理的情况下,可以在不同条件下实施第 1 次和第 2 次以后的处理。

[0077] 通过氨处理得到的处理物为了进一步通过酶来进行水解反应,需要中和氨或除去氨。可以对通过固液分离将固体成分从水解物中除去后的氨进行中和,也可以在包含固体

成分的状态下直接进行中和。对用于中和的酸试剂没有特别限定。例如可以举出盐酸、硝酸、硫酸等,考虑到硫酸不会造成工艺管道腐蚀及不会形成发酵阻碍因子,故是更优选的。就氨的除去而言,通过将氨处理物保持在减压状态下,可以使氨挥发为气态,从而除去。另外,所除去的氨可以回收再利用。

[0078] 在氨处理后使用酶的水解中,一般已知的是:纤维素的结晶结构由于氨处理而发生变化,变成容易接受酶反应的结晶结构。因此,通过使酶作用于这样的经过氨处理后的固体成分,可以有效地进行水解。上述酶可以使用与处理法 B 相同的酶。另外,关于酶处理条件,也可以采用与处理法 B 相同的条件。

[0079] 另外,在使用氨水溶液的情况下,进行氨处理时,除了氨以外,水成分也可以获得与处理法 C (水热处理) 相同的效果,有时也会引起半纤维素水解或木质素分解。在用氨水溶液进行处理后,在利用酶使含纤维素生物质水解的情况下,通过将其混合到含氨的水溶液中并加热,可以除去半纤维素及纤维素成分周围的木质素成分,以使半纤维素成分及纤维素成分成为易于反应的状态,之后利用酶使未通过氨处理中的水热被分解的结晶性低的半纤维素及结晶性高的纤维素进行水解。具体而言,在利用氨水溶液进行的处理中,主要包含在含纤维素生物质中的一部分半纤维素成分发生水解并且木质素发生部分分解,将其水解物分离为氨水溶液和包含纤维素的固体成分,对于包含纤维素的固体成分,通过调节 pH 并向其中添加酶来进行水解。另外,在氨浓度接近 100% 的高浓度情况下,在通过脱气除去大部分氨之后,可以不分离固体成分而是直接在中和后添加酶来进行水解。可以从包含纤维素的固体成分的水解反应物中得到以葡萄糖、木糖为主要成分的单糖成分。另外,在分离回收的氨水溶液中除了木质素之外还含有作为戊糖的木糖作为主要成分,因此,也可以中和碱溶液并分离糖水溶液。另外,可以将通过中和所得到的糖水溶液混合到固体成分中并向其中添加酶来进行水解。

[0080] 在工序 (1) 中得到的糖水溶液中,不仅含糖,还包含胶体成分、混浊成分及微粒等。作为上述的胶体成分、混浊成分及微粒的构成成分,可以举出:木质素、丹宁、二氧化硅、钙及未分解的纤维素等,但并不特别限定于这些。另外,对微粒的粒径也没有特别限定。另外,除了胶体成分、混浊成分及微粒之外,还包含水溶性高分子成分。作为糖水溶液中所包含的水溶性高分子,包括寡糖、多糖、丹宁,或者在利用了酶的糖水溶液的情况下,包含较多的酶。

[0081] 本申请的发明人发现:如后述那样,通过使用纳滤膜和 / 或反渗透膜,使上述工序 (1) 中得到的糖水溶液中的发酵阻碍物质透过,同时将所溶解的糖阻止或滤出在非透过侧,由此可以除去或降低糖水溶液中的发酵阻碍物质。

[0082] 但是已知的是,在纳滤膜和 / 或反渗透膜连续运转时,糖水溶液中所包含的水溶性高分子或胶体成分成为引起膜污垢的主要原因,妨碍了长期稳定的过滤运转。而且发现,为了防止由这样的水溶性高分子或胶体成分引起的膜污垢,在使糖水溶液通过可以除去水溶性高分子及胶体成分的微滤膜和 / 或超滤膜之后,将其供给至纳滤膜和 / 或反渗透膜即可。

[0083] 另外已知的是,在微滤膜和 / 或超滤膜连续运转时,糖水溶液中所包含的混浊成分和微粒(有时为胶体成分)成为引起膜污垢的主要原因,妨碍了长期稳定的过滤运转。而且发现,为了防止由这样的混浊成分和微粒(有时为胶体成分)引起的膜污垢,利用凝聚剂

等对混浊成分、微粒或胶体成分进行凝聚处理之后将其供给至微滤膜和 / 或超滤膜即可。

[0084] 即,发现了由如下工序构成的本发明的精制糖水溶液制造方法:(1)对含纤维素生物质进行分解处理以制造糖水溶液的工序,(2)对(1)中得到的糖水溶液进行凝聚处理的工序,(3)使(2)中所得到的糖水溶液通过微滤膜和 / 或超滤膜以进行过滤,并从透过侧回收糖水溶液的工序,(4)使(3)中所得到的糖水溶液通过纳滤膜和 / 或反渗透膜以进行过滤,并且从非透过侧回收精制糖水溶液、从透过侧除去发酵阻碍物质的工序。

[0085] 对本发明的精制糖水溶液制造方法中的工序(2),即对工序(1)中得到的糖水溶液进行凝聚处理的工序进行说明。

[0086] 如上所述,由于糖水溶液中所包含的混浊成分和微粒(有时为胶体成分)会成为引起膜污垢的主要原因,因此,需要在通过微滤膜和 / 或超滤膜之前除去或减少这些物质。在对数升以下左右的少量糖水溶液进行处理的情况下,采用能够在数万 G 的重力加速度下运转的超离心分离机,可以除去或减少上述物质,因此在实验室水平下,问题并不明显。但是,超离心分离机的容量小,一次不能处理数十升以上的大量糖水溶液。因此,为了达到本发明的目的,即长期稳定地制造精制糖水溶液,需要其它的除去或减少混浊成分和微粒(有时为胶体成分)的方法。

[0087] 本申请的发明人发现:通过使用凝聚剂来进行使混浊成分、微粒和胶体成分凝聚沉淀的凝聚处理,即使是大量的糖水溶液,也可以除去或减少其中的混浊成分、微粒和胶体成分。需要说明的是,本发明中的凝聚处理是指除去或减少糖水溶液中所包含的混浊成分、微粒和胶体成分。

[0088] 关于利用凝聚剂使糖水溶液中所包含的混浊成分、微粒和胶体成分凝聚沉淀的现象,不明之处还很多,但据推测如下。糖水溶液中所包含的混浊成分、微粒和胶体成分通常在其表面带有负电荷,各粒子由于该负电荷而相互排斥从而彼此不接触,在糖水溶液中显示出稳定分散的倾向。据认为,当在糖水溶液中添加与这些粒子具有相反电荷的凝聚剂时,粒子表面的电荷被中和,粒子间失去排斥力,粒子通过布朗运动或水流而被输送,相互接近,产生大团块并凝聚,最终沉降。

[0089] 本发明中的凝聚剂只要可以使糖水溶液中所包含的混浊成分、微粒和胶体成分凝聚沉淀即可,没有特别限定,例如,作为无机凝聚剂,可以举出:硫酸铝、聚氯化铝、铵矾、明矾等铝盐;氯化铁、硫酸亚铁、硫酸铁等铁盐;聚硅酸铁等。另外,作为有机高分子凝聚剂,有阳离子性高分子凝聚剂、阴离子性高分子凝聚剂、非离子性高分子凝聚剂、两性电荷高分子凝聚剂,具体可以举出:丙烯酰胺系阴离子性聚合物、丙烯酰胺系非离子性聚合物、丙烯酰胺系阳离子性聚合物、丙烯酰胺系两性聚合物、丙烯酸系阳离子性聚合物、丙烯酰胺-丙烯酸共聚物、丙烯酰胺-丙烯酰胺-2-甲基丙磺酸共聚物、聚烷基氨基甲基丙烯酸酯盐、聚脒盐酸盐、季铵盐聚合物、壳聚糖等。糖水溶液中所包含的混浊成分、微粒和胶体成分的粒子很细,容易带有负电荷,因此,特别优选使用阳离子性高分子凝聚剂,尤其优选使用季铵盐聚合物。并且,也可以合并使用上述无机凝聚剂和上述有机高分子凝聚剂,通过合并使用有时能够良好地进行凝聚处理。

[0090] 凝聚处理时所添加的凝聚剂的浓度,只要能够除去糖水溶液中所包含的混浊成分、微粒和胶体成分即可,没有特别限定,当过多时,处理成本变高,当过少时,后述的急速搅拌、慢速搅拌后的静置时间变长,处理成本可能变高。因此,凝聚剂的浓度优选为

100~5000ppm,进一步优选为 500~3000ppm。

[0091] 在凝聚处理中,除了凝聚剂之外,还可以添加 pH 调节剂或絮凝物形成助剂之类的凝聚助剂。作为 pH 调节剂,可以举出:硫酸、盐酸、硝酸之类的无机酸,或氢氧化钠、碳酸钠、碳酸氢钠、消石灰、生石灰、氨之类的无机碱。另外,作为絮凝物形成助剂,可以举出:活性硅酸或其它负电荷微胶体。

[0092] 通过在添加上述凝聚剂和 / 或上述凝聚助剂之后实施急速搅拌,混浊成分、微粒和胶体成分的粒子表面的电荷被中和,形成小的团块。通过在急速搅拌之后实施慢速搅拌,可以使这些小的团块相互冲击合并,成长为可以沉降程度的大小,故是优选的。而且,还优选的是,在慢速搅拌之后,通过静置,将混浊成分、微粒或胶体成分作为沉淀除去,并把上清液作为糖水溶液分离并使用。此时,关于急速搅拌或慢速搅拌的搅拌强度、搅拌时间及静置时间,最佳条件因上述工序 (1) 所得到的糖水溶液的水质而不同,因此,考虑成本与处理水质之间的平衡,通过实验求得即可。

[0093] 另外,为了有效地除去混浊成分、微粒和胶体成分,也可以进行多次实施凝聚处理的多步处理,各凝聚处理条件没有特别限定,可以为相同条件或不同条件。

[0094] 另外,关于凝聚剂的选择、是否添加凝聚助剂以及搅拌条件等凝聚处理条件,考虑成本和处理水质之间的平衡,另外在考虑利用糖水溶液的整个工序的成本的同时,通过实验来确定即可。

[0095] 对本发明的精制糖水溶液制造方法中的工序 (3),即,使工序 (2) 中所得到的糖水溶液通过微滤膜和 / 或超滤膜以进行过滤,并从透过侧回收糖水溶液的工序进行说明。

[0096] 如上所述,为了防止由糖水溶液中的水溶性高分子和胶体成分所引起的纳滤膜和 / 或反渗透膜的膜污垢,使糖水溶液通过微滤膜和 / 或超滤膜,以除去水溶性高分子和胶体成分。

[0097] 用于本发明的微滤膜为平均孔径是 $0.01 \mu\text{m} \sim 5\text{mm}$ 的膜,简称为微滤膜、MF 膜等。另外,用于本发明的超滤膜为截留分子量是 $1000 \sim 200000$ 的膜,简称为超滤膜、UF 膜等。在此,由于超滤膜的孔径过小而难以用电子显微镜等来测定膜表面的孔径,所以用称为截留分子量的值代替平均孔径来作为孔径大小的指标。关于截留分子量,如在日本膜学会编的《膜学实验系列》第 III 卷人工膜编编集委员 / 木村尚史·中尾真一·大矢晴彦·仲川勤(1993 共立出版)第 92 页中所记载的那样:“将以溶质分子量为横轴、阻止率为纵轴,对数据进行绘制而成的曲线称为截留分子量曲线。而且将阻止率为 90% 的分子量称为膜的截留分子量”,截留分子量作为表示超滤膜的膜性能的指标,为本领域技术人员所熟知。

[0098] 作为这些微滤膜或超滤膜的材质,只要能够实现除去上述水溶性高分子和胶体成分这样的本发明目的即可,没有特别限定,可以举出:纤维素、纤维素酯、聚砜、聚醚砜、聚氯乙烯、氯丙烯、聚烯烃、聚乙烯醇、聚甲基丙烯酸甲酯、聚偏二氟乙烯、聚四氟乙烯等有机材料,或者不锈钢等金属、或者陶瓷等无机材料。微滤膜或超滤膜的材质可以考虑水解物的性状或者运行成本来适当选择,从操作容易性考虑,优选有机材料,优选聚氯乙烯、聚丙烯、聚偏二氟乙烯、聚砜、聚醚砜。

[0099] 另外,特别是通过利用超滤膜对工序 (2) 中得到的糖水溶液进行过滤,可从非透过侧回收用于糖化的酶。对该酶的回收工序进行说明。关于用于分解处理的酶,其分子量在 $10000 \sim 100000$ 的范围,通过使用具有可以阻止这些酶的截留分子量的超滤膜,可以从非

透过侧部分回收酶。优选的是,通过使用截留分子量在 10000~30000 范围的超滤膜,可以有效地回收用于分解处理的酶。对所使用的超滤膜的形态没有特别限定,可以为平膜及中空纤维膜中的任意一种。通过将所回收的酶再利用于工序(1)的分解处理,可以削减酶使用量。在这样通过超滤膜对糖水溶液进行过滤时,优选的是,在其之前预先使糖水溶液通过微滤膜进行处理,从而除去水溶性高分子和胶体成分。

[0100] 为了有效地除去水溶性高分子和胶体成分,作为过滤操作,可以进行使用两次以上微滤膜或者超滤膜的多步过滤,另外,对此时所使用的膜的原材料及性状也没有特别限定。

[0101] 例如,在利用微滤膜进行过滤、并且进一步利用超滤膜对其滤液进行过滤的方法中,可以除去通过微滤膜不能除去的数十纳米以下的胶体成分、源自木质素的水溶性高分子成分(丹宁)、虽然在分解处理中发生分解但未成为单糖且在从寡糖至多糖水平时分解处于中途的糖类、以及对糖进行分解处理时所使用的酶等。通常,进行凝聚并以数十纳米尺寸存在的数纳米尺寸以下的超微粒子和团块可能会阻塞纳滤膜或反渗透膜。同样,丹宁、寡糖、多糖、酶也会在纳滤膜或反渗透膜上发生凝胶化而堆积,成为阻塞膜的因素。由以上可知:通过使用微滤膜外还使用超滤膜,具有抑制工序(4)中的膜污垢,从而可以大幅降低膜的维护成本的效果。另外,在分解处理时利用酶的工序的情况下,可以通过超滤膜来回回收酶,从而具有可以使被超滤膜所阻止的酶返回至工序(1)的分解处理工序以再利用的优点。

[0102] 对本发明的精制糖水溶液制造方法中的工序(4),即,使工序(3)中所得到的糖水溶液通过纳滤膜和/或反渗透膜进行过滤,并且从非透过侧回收精制糖水溶液、从透过侧除去发酵阻碍物质的工序进行说明。

[0103] 本发明中所说的发酵阻碍是指这样的现象:在将糖水溶液(其以含有发酵阻碍物质的含纤维素生物质作为原料)用作发酵原料来制造化学品时,与将试剂单糖用作发酵原料的情况相比,化学品的生产量、蓄积量或者生产速度降低。由于微生物所受到的阻碍程度根据糖化液中存在的发酵阻碍物质的种类及其量而不同,另外,其阻碍程度也根据所使用的微生物种或者作为其产物的化学品的种类而不同,因此,在本发明中对这样的发酵阻碍的程度没有特别限定。

[0104] 在通过上述含纤维素生物质的分解处理方法而得到的糖水溶液中,虽然量或者成分根据处理方法或者含纤维素生物质原料种类的不同而存在差别,但均含有发酵阻碍物质,通过工序(4)的处理方法,可以除去该糖水溶液中的发酵阻碍物质。发酵阻碍物质为通过含纤维素生物质的分解处理而生成的化合物,并且如上所述,是指在以通过本发明制造方法而得到的精制糖水溶液为原料的发酵工序中,起到阻碍作用的物质,特别被大致分类为:在含纤维素生物质的酸处理工序中所生成的有机酸、呋喃类化合物、酚类化合物。

[0105] 作为有机酸的具体例子,可以举出:乙酸、甲酸、乙酰丙酸等。作为呋喃类化合物,可以举出糠醛、羟甲基糠醛(HMF)等。这样的有机酸或者呋喃类化合物为作为单糖的葡萄糖或者木糖的分解产物。

[0106] 另外,作为酚类化合物的具体例子,可以举出:香兰素、乙酰香兰素、香兰素酸、丁香酸、没食子酸、松柏醛、二氢松柏醇、氢醌、儿茶酚、乙酰愈创木酚(アセトグアイコン)、高香草酸、4-羟基苯甲酸、4-羟基-3-甲氧基苯衍生物(Hibbert 酮)等,这些化合物源自木质

素或木质素前体。

[0107] 另外,在使用废建材或者合板等作为含纤维素生物质时,有时在制材工序中所使用的粘接剂、涂料等成分会作为发酵阻碍物质而被包含。作为粘接剂,可以举出:脲醛树脂、蜜胺树脂、酚醛树脂、尿素三聚氰胺共聚树脂等。作为源自这些粘接剂的发酵阻碍物质,可以举出:乙酸、甲酸、甲醛等。

[0108] 通过上述工序(1)所得到的糖水溶液含有上述物质中的至少一种作为发酵阻碍物质,实际上含有多种。需要说明的是,可以通过薄层色谱法、气相色谱法、高效液相色谱法等一般的分析手段来检测和定量这些发酵阻碍物质。

[0109] 本发明中所使用的纳滤膜也被称为纳米过滤器(纳米过滤膜、NF膜),其为一般被定义为“使一价离子透过而阻止二价离子的膜”的膜。据认为该膜具有数纳米左右的微小孔隙,主要用于阻止水中的微小粒子或分子、离子、盐类等。

[0110] 本发明中所使用的反渗透膜也被称为RO膜,其为一般被定义为“含有一价离子且具有脱盐功能的膜”的膜,据认为该膜具有数埃至数纳米左右的超微孔隙,主要用于在海水淡化及超纯水制造等时除去离子成分。

[0111] 另外,本发明中的“通过纳滤膜和/或反渗透膜进行过滤”是指:使通过含纤维素生物质的分解处理而得到的糖水溶液和/或其衍生物通过纳滤膜和/或反渗透膜进行过滤,所溶解的糖(特别是葡萄糖或木糖等单糖)的糖水溶液被阻止或滤出在非透过侧,而发酵阻碍物质作为透过液或者滤液而透过。

[0112] 作为评价本发明中所使用的纳滤膜和/或反渗透膜的性能的方法,可以通过算出糖水溶液中所包含的对象化合物(发酵阻碍物质或者单糖等)的透过率(%)来进行评价。透过率(%)的计算方法示于式1。

[0113] $\text{透过率}(\%) = (\text{透过侧的对象化合物浓度} / \text{非透过液的对象化合物浓度}) \times 100 \cdots (\text{式} 1)$

[0114] 关于式1中的对象化合物浓度,只要是具有高精度及再现性且可以进行测定的分析手段即可,没有限定,但可以优选使用高效液相色谱法、气相色谱法等。关于本发明中所使用的纳滤膜和/或反渗透膜,在对象化合物为单糖的情况下,优选透过率较低者,而在对象化合物为发酵阻碍物质的情况下,则优选透过率较高者。

[0115] 另外,作为纳滤膜及反渗透膜的透过性能,当在0.3MPa的压力下供给500mg/L氯化钠水溶液进行过滤时,优选使用膜的每单位面积透过流量为 $0.5\text{m}^3/\text{m}^2/\text{day}$ 以上的膜。作为膜的每单位面积透过流量(膜透过流束或流量)的评价方法,通过测定透过液量、透过液量所需的取样时间以及膜面积,由式2算出。

[0116] $\text{膜透过流束}(\text{m}^3/\text{m}^2/\text{day}) = \text{透过液量} / \text{膜面积} / \text{取样时间} \cdots (\text{式} 2)$

[0117] 一般而言,与反渗透膜相比,纳滤膜被严格地区分为大孔径类,因此,据认为,与反渗透膜相比,在工序(4)中使用纳滤膜的情况下,使发酵阻碍物质透过从而除去的物质重量更大,但是作为目的产物的单糖在透过侧所损失的重量与反渗透膜相比也会变大。特别是在糖浓度高的情况下,这种倾向表现得更为强烈。另一方面,当在工序(4)中使用反渗透膜的情况下,据认为,由于其孔径小,与纳滤膜相比,分子量大的阻碍物可以除去的重量减少。因此,优选的是,取决于通过上述所示处理而得到的糖水溶液的发酵阻碍物的重量大小、及主要的发酵阻碍物的分子量,从纳滤膜及反渗透膜中选择适当的膜来使用。所选择的

膜的种类不限定为一种,也可以根据糖水溶液的组成,将纳滤膜及反渗透膜加以组合,利用多种膜来进行过滤。

[0118] 另外发现:在使用纳滤膜来获得精制糖水溶液的情况下,随着在纳滤膜的浓缩侧所捕捉的单糖精制的进行其浓度逐渐变高,单糖在滤液侧的损失倾向急剧增加。另一方面,在利用反渗透膜进行精制的情况下,即使浓缩侧的单糖浓度变高,单糖的损失倾向也保持一定,基本上接近于零,但从除去发酵阻碍物质的观点考虑,与反渗透膜相比纳滤膜的性能更为优异。在这里发现:通过采用与反渗透膜相比能够除去更多的发酵阻碍物质的纳滤膜来进行精制工序,直至达到足以判断糖在滤液中的损失较大的浓度,并进一步采用与纳滤膜相比,虽然发酵阻碍物质的除去效率稍差、但在没有单糖损失的情况下进行浓缩的反渗透膜进行精制工序,由此可以在抑制单糖向滤液侧损失的同时,较多地除去发酵阻碍物质。因此,在本发明中组合使用纳滤膜和反渗透膜来获得精制糖水溶液的情况下,对其组合没有特别限定,但优选首先通过纳滤膜对工序(3)中所得到的糖水溶液进行过滤,再通过反渗透膜对所得到的过滤液进行过滤。

[0119] 关于在本发明中使用的纳滤膜的材料,可以使用醋酸纤维素系聚合物、聚酰胺、聚酯、聚酰亚胺、乙烯基聚合物等高分子材料,但不限于由上述1种材料构成的膜,可以是包含多种材料的膜。另外,就该膜结构而言,其可以为下列膜中的任意一种:非对称膜,其在膜的至少一面上具有致密层,由致密层向膜内部或者另一面具有孔径逐渐变大的微孔;或者复合膜,其在非对称膜的致密层上具有由其它材料所形成的非常薄的功能层。作为复合膜,例如,可以采用:日本特开昭62-201606号公报中记载的、在以聚砜为膜材料的支持膜上具有由聚酰胺功能层构成的纳米过滤膜的复合膜。

[0120] 其中,同时具有高耐压性、高透水性及高溶质除去性能、且具有优异势能的以聚酰胺为功能层的复合膜是优选的。为了保持对操作压力的耐久性、以及高的透水性及阻止性能,优选以聚酰胺为功能层并且用由多孔膜或无纺布构成的支撑体保持该功能层的结构。另外,作为聚酰胺半透膜,优选在支撑体上具有下述功能层而构成的复合半透膜,所述功能层是通过多官能胺和多官能酰卤的缩聚反应而得到的交联聚酰胺的功能层。

[0121] 在以聚酰胺为功能层的纳滤膜中,作为构成聚酰胺的单体的优选羧酸成分,例如可以举出:苯均三酸、二苯甲酮四羧酸、偏苯三酸、均苯四酸、邻苯二甲酸、对苯二甲酸、萘二羧酸、二苯基羧酸、吡啶羧酸等芳香族羧酸,考虑到对于制膜溶剂的溶解性,更优选苯均三酸、邻苯二甲酸、对苯二甲酸以及它们的混合物。

[0122] 作为构成上述聚酰胺的单体的优选胺成分,可以举出:间苯二胺、对苯二胺、联苯胺、亚甲基双二苯胺、4,4'-二氨基联苯醚、邻联茴香胺、3,3',4-三氨基联苯醚、3,3',4,4'-四氨基联苯醚、3,3'-二氧基联苯胺、1,8-萘二胺、间(对)单甲基苯二胺、3,3'-单甲氨基-4,4'-二氨基联苯醚、4,N,N'-(4-氨基苯甲酰基)-对(间)苯二胺-2,2'-双(4-氨基苯基苯并咪唑)、2,2'-双(4-氨基苯基苯并噁唑)、2,2'-双(4-氨基苯基苯并噻唑)等具有芳香环的伯二胺,哌嗪、哌啶或它们的衍生物等仲二胺,其中,以含有哌嗪或哌啶作为单体的交联聚酰胺为功能层的纳滤膜除了耐压性、耐久性之外还具有耐热性、耐化学品性,故优选使用。更优选的是以上述交联哌嗪聚酰胺或交联哌啶聚酰胺为主要成分且含有上述化学式(1)所示构成成分的聚酰胺,进一步优选以交联哌嗪聚酰胺为主要成分且含有上述化学式(1)所示构成成分的聚酰胺。另外,优选使用在上述化学式(1)

中 n 为 3 的聚酰胺。作为以交联哌嗪聚酰胺为主要成分且含有上述化学式 (1) 所示构成成分的聚酰胺作为功能层的纳滤膜,例如,可以举出:日本特开昭 62-201606 号公报所述的过滤膜,作为具体例子,可以举出:以下述聚酰胺作为功能层的、东丽株式会社制造的交联哌嗪聚酰胺系纳滤膜 UTC60,其中所述聚酰胺以交联哌嗪聚酰胺为主要成分且含有上述化学式 (1) 中的 n 为 3 的化合物作为构成成分。

[0123] 纳滤膜一般作为螺旋型膜元件来使用,在本发明中所使用的纳滤膜也优选作为螺旋型膜元件来使用。作为优选的纳滤膜元件的具体例子,例如可以举出:作为醋酸纤维素系纳滤膜的 GE Osmonics 公司制的纳滤膜 GEsepa,以聚酰胺为功能层的アルファラバル公司制的纳滤膜 NF99 或 NF99HF,以交联哌嗪聚酰胺为功能层的フィルムテック公司制的纳滤膜 NF-45、NF-90、NF-200、NF-270 或 NF-400,或者以含有交联哌嗪聚酰胺作为主要成分的聚酰胺为功能层的、东丽株式会社制的纳滤膜组件 SU-210、SU-220、SU-600 或 SU-610,更优选以聚酰胺为功能层的アルファラバル公司制的纳滤膜 NF99 或 NF99HF、以交联哌嗪聚酰胺为功能层的フィルムテック公司制的纳滤膜 NF-45、NF-90、NF-200 或 NF-400,或者以含有交联哌嗪聚酰胺作为主要成分的聚酰胺为功能层的、东丽株式会社制的纳滤膜组件 SU-210、SU-220、SU-600 或 SU-610,进一步优选以含有交联哌嗪聚酰胺作为主要成分的聚酰胺为功能层的、东丽株式会社制的纳滤膜组件 SU-210、SU-220、SU-600 或 SU-610。

[0124] 就工序 (4) 中的利用纳滤膜进行的过滤而言,优选在 0.1MPa 以上 8MPa 以下的压力范围内将在工序 (3) 中得到的糖水溶液供给至纳滤膜。压力低于 0.1MPa 时,膜透过速度降低,高于 8MPa 时,可能会对膜造成损伤。另外,当在 0.5MPa 以上 6MPa 以下的压力下使用时,膜透过流束高,因此能够有效地使糖溶液透过,且造成膜损伤的可能性小,故更优选,特别优选在 1MPa 以上 4MPa 以下的压力下使用。

[0125] 作为用于本发明的反渗透膜的材料,可以举出:以醋酸纤维素系聚合物为功能层的复合膜(以下也称为醋酸纤维素系反渗透膜),或以聚酰胺为功能层的复合膜(以下也称为聚酰胺系反渗透膜)。在此,作为醋酸纤维素系聚合物,可以单独使用醋酸纤维素、二醋酸纤维素、三醋酸纤维素、丙酸纤维素、丁酸纤维素等纤维素的有机酸酯,也可以使用它们的混合物以及混合酯。作为聚酰胺,可以举出:以脂肪族和/或芳香族二胺为单体的线性聚合物或交联聚合物。

[0126] 作为用于本发明的反渗透膜的具体例子,例如,可以举出:东丽株式会社制的作为聚酰胺系反渗透膜组件的低压型 SU-710、SU-720、SU-720F、SU-710L、SU-720L、SU-720LF、SU-720R、SU-710P、SU-720P、TMG10、TMG20-370、TMG20-400、及高压型 SU-810、SU-820、SU-820L、SU-820FA;该公司的醋酸纤维素系反渗透膜 SC-L100R、SC-L200R、SC-1100、SC-1200、SC-2100、SC-2200、SC-3100、SC-3200、SC-8100、SC-8200;日东电工(株)制的 NTR-759HR、NTR-729HF、NTR-70SWC、ES 10-D、ES20-D、ES20-U、ES15-D、ES15-U、LF10-D;アルファラバル制的 R098pHt、R099、HR98PP、CE4040C-30D;GE 制的 GE Sepa;Filmtec 制的 BW30-4040、TW30-4040、XLE-4040、LP-4040、LE-4040、SW30-4040、SW30HRLE-4040 等。

[0127] 在本发明中,优选使用具有聚酰胺系材质的反渗透膜。这是因为在长时间使用时,在前面的工序中所使用的酶、特别是纤维素酶成分的一部分可能会透过醋酸纤维素系膜,从而分解作为膜材料的纤维素。

[0128] 作为膜形态,可以使用平膜型、螺旋型及中空纤维型等适宜的形态。

[0129] 在以聚酰胺为功能层的反渗透膜中,构成聚酰胺的单体的优选羧酸成分或胺成分与上述以聚酰胺为功能层的纳滤膜相同。

[0130] 关于在工序(4)中采用反渗透膜进行的过滤,优选在1MPa以上8MPa以下的压力范围内将工序(3)中得到的糖水溶液供给至反渗透膜。如压力低于1MPa时,膜透过速度降低,高于8MPa时,可能对膜造成损伤。另外,当在2MPa以上7MPa以下的过滤压力下使用时,膜透过流速高,因此,能够有效地使糖溶液透过,且对膜造成损伤的可能性小,故更优选,特别优选在3MPa以上6MPa以下的压力下使用。

[0131] 在工序(4)中,通过使发酵阻碍物质通过纳滤膜和/或反渗透膜而将其从糖水溶液中除去。在上述发酵阻碍物质中,优选能够透过并除去HMF、糠醛、乙酸、甲酸、乙酰丙酸、香兰素、乙酰香兰素或丁香酸。另一方面,糖水溶液中所含的糖分被阻止或滤出在纳滤膜和/或反渗透膜的非透过侧。作为糖分,葡萄糖、木糖等单糖为主要成分,也包含二糖、寡糖等在工序(1)的分解处理工序中未完全分解成为单糖的糖成分。

[0132] 在工序(4)中,从纳滤膜和/或反渗透膜的非透过侧所得到的精制糖水溶液,相对于通过纳滤膜和/或反渗透膜之前的糖水溶液,特别是发酵阻碍物含量较之初始含量而降低。该精制糖水溶液中所包含的糖成分为源自含纤维素生物质的糖,本质上与经过工序(1)的分解处理所得到的糖成分没有大的变化。即,作为本发明中的精制糖水溶液中所包含的单糖,以葡萄糖和/或木糖为主要成分而构成。葡萄糖和木糖的比例根据工序(1)的分解处理工序而变化,在本发明中并不限定。即,在主要将半纤维素分解处理的情况下,木糖为主要的单糖成分,在半纤维素分解后,仅分离纤维素成分并进行分解处理时,葡萄糖为主要的单糖成分。另外,在未对半纤维素的分解和纤维素的分解进行特殊分离的情况下,作为主要单糖成分,包含葡萄糖及木糖。

[0133] 另外,可以使用以蒸发器为代表的浓缩装置,对上述工序(4)中得到的精制糖水溶液进行浓缩,也可以进一步利用纳滤膜和/或反渗透膜对精制糖水溶液进行过滤以提高浓度,但从削减用于浓缩的能量的观点考虑,可优选采用通过纳滤膜和/或反渗透膜进行过滤、以进一步提高精制糖水溶液浓度的工序。在该浓缩工序中所使用的膜为以被处理水的浸透压以上的压力差为驱动力来除去离子或低分子量分子的过滤膜,可以采用,例如:醋酸纤维素等纤维素系膜,或通过使多官能胺化合物和多官能酰卤进行缩聚而在微多孔性支持膜上设有聚酰胺分离功能层的膜等。为了抑制纳滤膜和/或反渗透膜表面的污物即污垢,还可以优选使用主要用于污水处理的低污垢膜等,该低污垢膜是通过将具有至少一个与酰卤基团反应的反应性基团的化合物水溶液被覆在聚酰胺分离功能层的表面上,从而使残存在分离功能层表面上的酰卤基团与该反应性基团之间形成共价键而得到的。作为在本发明中所使用的纳滤膜和/或反渗透膜,可以更优选采用对于工序(4)中所使用的纳滤膜和/或反渗透膜而言,至少是葡萄糖或者木糖等单糖阻止率较高的膜。

[0134] 用于浓缩的纳滤膜及反渗透膜的具体例子与上述纳滤膜及反渗透膜相同。

[0135] 接下来,示出将由本发明的精制糖水溶液制造方法所得到的精制糖水溶液用作发酵原料来制造化学品的的方法。

[0136] 通过将本发明中得到的精制糖水溶液用作发酵原料,可以制造化学品。本发明中所得到的精制糖水溶液包含用于使微生物或者培养细胞生长发育的碳源即葡萄糖和/或木糖作为主要成分,另一方面,呋喃化合物、有机酸、芳香族化合物等发酵阻碍物质的含量

极少,因此,可以有效地用作发酵原料,特别是碳源。

[0137] 关于本发明的化学品制造方法中使用的微生物或者培养细胞,例如,可以举出:发酵工业中经常使用的面包酵母等酵母,大肠杆菌、棒状细菌等细菌,丝状菌、放线菌、动物细胞、昆虫细胞等。所使用的微生物或细胞可以从自然环境中分离而来,也可以通过突变或基因重组使得一部分性质改变。特别是,由于源自含纤维素生物质的糖水溶液中包含木糖之类的戊糖,因此,可以优选使用戊糖代谢路径得到强化的微生物。

[0138] 作为培养基,优选使用除了精制糖水溶液之外,还含有氮源、无机盐类及根据需要适宜含有氨基酸、维生素等有机微量营养素的液体培养基。在本发明的精制糖水溶液中,作为碳源,含有葡萄糖、木糖等微生物可以利用的单糖,根据情况,作为碳源可以进一步追加葡萄糖、蔗糖、果糖、半乳糖、乳糖等糖类、以及含有这些糖类的淀粉糖化液、甘蔗糖蜜、甜菜糖蜜、高糖量转化糖蜜、乙酸等有机酸、乙醇等醇类、甘油等,可用作发酵原料。作为氮源,可以使用:氨气、氨水、铵盐类、尿素、硝酸盐类、以及其它辅助性使用的有机氮源例如油饼类、大豆水解液、酪素分解物、其它的氨基酸、维生素类、玉米浆、酵母或酵母提取物、肉提取物、胨等肽类、各种发酵菌体及其水解物等。作为无机盐类,可以适宜添加磷酸盐、镁盐、钙盐、铁盐、锰盐等。

[0139] 在微生物需要特定的营养素以进行生长发育的情况下,可以添加该营养素的标准物质或者含有该营养素的天然物。另外,也可以根据需要使用消泡剂。

[0140] 微生物的培养通常在 pH 为 4-8、温度为 20-40℃ 的范围内进行。培养液的 pH 根据无机或有机酸、碱性物质、以及尿素、碳酸钙、氨气等的不同,通常调节至预先设定在 pH 为 4-8 范围内的值。如需要提高氧的供给速度,可以采用如下手段:向空气中加入氧并将氧浓度保持在 21% 以上,或者对培养加压、提高搅拌速度、提高通气量等。

[0141] 作为将采用本发明的精制糖水溶液制造方法而得到的精制糖水溶液用作发酵原料来制造化学品的的方法,可以采用本领域技术人员公知的发酵培养方法,从生产性的观点考虑,优选采用国际公开第 2007/097260 号小册子中所公开的连续培养方法。

[0142] 作为所制造的化学品,只要是上述微生物或细胞在培养液中所生产的物质即可,没有限制。作为所制造的化学品的具体例子,可以举出:醇、有机酸、氨基酸、核酸等发酵工业中大量生产的物质。例如,作为醇,可以举出:乙醇、1,3-丙二醇、1,4-丁二醇、甘油等,作为有机酸,可以举出:乙酸、L-乳酸、D-乳酸、丙酮酸、琥珀酸、苹果酸、衣康酸、柠檬酸,作为核酸,可以举出:肌苷、鸟苷等核苷,肌苷酸、鸟苷酸等核苷酸,以及尸胺等二胺化合物。另外,利用本发明的精制糖水溶液制造方法所得到的精制糖水溶液还可适用于生产酶、抗生素、重组蛋白之类的物质。

[0143] 实施例

[0144] 以下,为了对本发明的精制糖水溶液制造方法进行更详细的说明,列举实施例来进行说明。但本发明不局限于这些实施例。

[0145] (参考例 1) 单糖浓度的分析方法

[0146] 通过在下述所示的 HPLC 条件下,并与标准样品进行比较,对得到的糖水溶液中所包含的单糖(葡萄糖及木糖)浓度进行定量。

[0147] 柱子:Luna NH₂ (Phenomenex 公司制)

[0148] 流动相:超纯水:乙腈=25:75(流速 0.6mL/min)

- [0149] 反应液:无
- [0150] 检测方法:RI (差示折射率)
- [0151] 温度:30℃。
- [0152] (参考例 2) 发酵阻碍物质浓度的分析方法
- [0153] 通过在下述所示 HPLC 条件,并与标准样品进行比较,对糖水溶液中所包含的呋喃类发酵阻碍物质(HMF、糠醛)及酚类发酵阻碍物质(香兰素、乙酰香兰素)进行定量。
- [0154] 柱子:Synergi HydroRP 4.6mm×250mm (Phenomenex 制)
- [0155] 流动相:乙腈-0.1%H₃PO₄ (流速 1.0mL/min)
- [0156] 检测方法:UV (283nm)
- [0157] 温度:40℃。
- [0158] 通过在下述所示的 HPLC 条件下,并与标准样品进行比较,对糖水溶液中所包含的有机酸类发酵阻碍物质(乙酸、甲酸)进行定量。
- [0159] 柱子:Shim-Pack SPR-H 和 Shim-Pack SCR101H (岛津株式会社制作所制) 串联
- [0160] 流动相:5mM 对甲苯磺酸(流速 0.8mL/min)
- [0161] 反应液:5mM 对甲苯磺酸、20mM Bistris、0.1mM EDTA • 2Na (流速 0.8mL/min)
- [0162] 检测方法:电导率
- [0163] 温度:45℃。
- [0164] (参考例 3) 浊度的测定方法
- [0165] 使用 HACH 公司制造的室内用高度浊度计(2100N)来定量糖水溶液的浊度。需要说明的是,由于该浊度计仅能测定 1000NTU 以下的浊度,因此,根据需要用蒸馏水对糖水溶液进行稀释后进行测定。
- [0166] (参考例 4) 通过稀硫酸处理和酶处理对含纤维素生物质进行分解处理的工序
- [0167] 关于工序(1)的含纤维素生物质的分解处理工序,举出使用 0.1~15 重量%的稀硫酸及酶对含纤维素生物质水解的方法进行说明。
- [0168] 使用稻秸作为含纤维素生物质。将上述含纤维素生物质浸入 1%的硫酸水溶液中,在 150℃下通过高压灭菌器(日东高压制)处理 30 分钟。处理后,进行固液分离,分离为硫酸水溶液(以下称为稀硫酸处理液)和硫酸处理纤维素。接着,搅拌混合硫酸处理纤维素和稀硫酸处理液,使得固体成分浓度达到 10 重量%,然后,采用氢氧化钠将 pH 调至 5 左右。往该混合液中添加作为纤维素酶的木霉菌纤维素酶(Sigma Aldrich Japan)及 Novozyme188 (源自黑曲霉的 β 葡糖苷酶制剂, Sigma Aldrich Japan),在 50℃下搅拌混合 3 天,同时进行水解反应,得到糖水溶液。糖水溶液的浊度为 9,000NTU。
- [0169] 另外,为了对得到的糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质浓度进行分析,在 3000G 下离心分离从而进行固液分离。结果,糖水溶液中所包含的单糖及发酵阻碍物质的组成成分分别如表 1 所示。
- [0170] [表 1]

	参考例 4	参考例 5
浊度(NTU)	9000	10000
葡萄糖(g/L)	25	50
木糖(g/L)	12	8
甲酸(g/L)	0.1	0.1
乙酸(g/L)	2.4	0.5
HMF(mg/L)	125	10
糠醛(mg/L)	875	15
香兰素(mg/L)	90	3
乙酰香兰素(mg/L)	146	13

[0172] (参考例 5) 利用水热处理和酶处理对含纤维素生物质进行分解处理的工序

[0173] 关于工序 (1) 的含纤维素生物质的分解处理工序, 举出使用水热处理及酶对含纤维素生物质水解的方法进行说明。

[0174] 使用稻秸作为含纤维素生物质。将上述含纤维素生物质浸入水中, 一边搅拌一边在 180℃ 下通过高压灭菌器(日东高压制) 处理 20 分钟。此时的压力为 10MPa。处理后, 固液分离为处理生物质成分和溶液成分, 得到固体的处理生物质成分。

[0175] 接着, 测定处理生物质成分的含水率, 然后添加 R0 水, 使得以绝对干燥处理生物质换算计, 固体成分浓度达到 15 重量%, 进一步添加木霉菌纤维素酶(Sigma Aldrich Japan)及Novozyme188(源自黑曲霉的 β 葡糖苷酶制剂, Sigma Aldrich Japan)作为纤维素酶, 在 50℃ 下搅拌混合 3 天, 进行水解反应, 得到糖水溶液。糖水溶液的浊度为 10, 000NTU。

[0176] 另外, 为了对所得到的糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质浓度进行分析, 通过在 3000G 下离心分离从而进行固液分离。结果, 糖水溶液中所包含的单糖及发酵阻碍物质的组成如表 1 所示。

[0177] (参考例 6) 标准通量的测定及标准通量降低率的测定

[0178] 微滤膜、超滤膜、纳滤膜及反渗透膜由于膜的孔径不同, 标准的膜过滤条件也各不相同, 因此, 在以下的条件下测定各个膜的每单位时间、单位膜面积的透过液量, 求得标准通量。

[0179] 在 10kPa 的压力下, 将温度 25℃ 的蒸馏水供给至微滤膜及超滤膜并使其完全滤过, 测定每单位时间、单位膜面积的透过液量, 用式 3 算出标准通量。

[0180] 在 0.35MPa 的压力下, 将温度为 25℃、pH 调至 6.5 的 500ppm 氯化钠水溶液供给至纳滤膜并对其进行错流过滤, 测定每单位时间、单位膜面积的透过液量, 用式 3 算出标准通量。另外, 错流过滤时的膜面线速度设为 30cm/ 秒。

[0181] 在 0.76MPa 的压力下, 将温度为 25℃、pH 调至 6.5 的 500ppm 氯化钠水溶液供给至反渗透膜并对其进行错流过滤, 测定每单位时间、单位膜面积的透过液量, 用式 3 算出标准通量。另外, 错流过滤时的膜面线速度为 30cm/ 秒。

[0182] 标准通量 = 透过液量 / 膜面积 / 采水时间 ····· (式 3)

[0183] 微滤膜、超滤膜、纳滤膜及反渗透膜在过滤糖水溶液时,由于糖水溶液中的水溶性高分子成分、胶体成分、混浊成分和 / 或微粒引起膜污垢,使标准通量降低。过滤量越多,该标准通量降低越明显。

[0184] 因此,可以通过对过滤 1L 糖水溶液后的标准通量与过滤 2L 糖水溶液后的标准通量进行比较,来预测膜污垢的发展程度。具体而言,用式 4 可以算出标准通量降低率。另外,由式 4 所得到的标准通量降低率小的膜,意味着该膜能够长期稳定地连续过滤。

[0185] 标准通量降低率(%) = (1 - 过滤 2L 后的标准通量 / 过滤 1L 后的标准通量) × 100 (式 4)

[0186] (参考例 7) 凝聚剂的选定

[0187] 在本实施例、比较例中,使用以下 3 种凝聚剂(凝聚剂 A 及凝聚剂 B)。

[0188] 凝聚剂 A:作为阳离子性高分子凝聚剂的季铵盐聚合物“センカフロック DE-30 (センカ株式会社制)”

[0189] 凝聚剂 B:聚氯化铝(多木化学株式会社制)

[0190] (实施例 1)

[0191] 经由以下 4 道工序来制造精制糖水溶液。

[0192] 作为工序(1),除了不实施 3000G 的离心分离之外,采用参考例 5 中所记载的方法,得到含有表 1 中所示的单糖及发酵阻碍物质的浊度为 10000NTU 的糖水溶液 20L。

[0193] 作为工序(2),将凝聚剂 A 添加到工序(1)中所得到的糖水溶液中使其浓度为 3000ppm,同时采用氢氧化钠将 pH 调至 7.0。调节 pH 之后,在 150rpm 下急速搅拌 30 分钟,接着在 40rpm 下慢速搅拌 30 分钟,静置 6 小时后,回收上清液 16L,作为凝聚处理过的糖水溶液。所得到的糖水溶液的浊度为 2000NTU。

[0194] 作为工序(3),在 200kPa 的压力、25°C 的温度下,将工序(2)中得到的糖水溶液供给至微滤膜并对其进行错流过滤,从透过侧回收 10L 的糖水溶液。在此,错流过滤时的膜面线速度设为 30cm/秒,为了求得标准通量降低率,过滤 1L 糖水溶液后取出微滤膜,测定标准通量(过滤 1L 糖水溶液后的标准通量),再次设置微滤膜并再过滤 1L 糖水溶液之后,取出微滤膜,测定标准通量(过滤 2L 糖水溶液后的标准通量)。另外,作为微滤膜,对用于东丽株式会社制微滤膜“メンブレイ(注册商标) TMR140”的公称孔径为 0.08 μm 的聚偏二氟乙烯制平膜进行切割后使用。由于该微滤膜的标准通量降低率小至 35(%),所得到的糖水溶液的浊度为 1NTU 以下,因此,表明可以将糖水溶液长期稳定地供给至下一工序(4)。

[0195] 作为工序(4),在 3MPa 的压力、25°C 的温度下,将工序(3)中所得到的糖水溶液 10L 供给至纳滤膜并对其进行错流过滤。从非透过侧回收精制糖水溶液,同时从透过侧除去包含发酵阻碍物质的透过水,从而得到 2.5L 的精制糖水溶液。该操作将工序(3)中所得到的糖水溶液 10L 通过纳滤膜而浓缩 4 倍。在此,错流过滤时的膜面线速度设为 30cm/秒,为了求得标准通量降低率,在过滤 1L 糖水溶液之后取出纳滤膜并测定标准通量(过滤 1L 糖水溶液后的标准通量),再次设置纳滤膜,再过滤 1L 糖水溶液后取出纳滤膜并测定标准通量(过滤 2L 糖水溶液后的标准通量)。另外,作为纳滤膜,使用东丽株式会社制的纳滤膜“UTC60”。该纳滤膜的标准通量降低率小至 5(%),表明可以长期稳定地制造精制糖水溶液。

[0196] 用蒸馏水将所得到的精制糖水溶液稀释至 4 倍,与在工序(1)中得到的糖水溶液

进行成分比较。精制糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质的浓度相对于工序(1)中得到的糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质浓度的浓度之比如表2所示,可以在保持单糖浓度的同时降低发酵阻碍物质浓度。

[0197] [表2]

[0198]

	实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4	实施例 5	实施例 6
工序(1)	水热处理 ·酶处理	稀硫酸处 理·酶处理	水热处理 ·酶处理	水热处理 ·酶处理	水热处理 ·酶处理	水热处理 ·酶处理
工序(2)	凝聚处理 凝聚剂 A	凝聚处理 凝聚剂 A	凝聚处理 凝聚剂 A	凝聚处理 凝聚剂 A	凝聚处理 凝聚剂 B×2	凝聚处理 凝聚剂 A+B
工序(3)	微滤膜	微滤膜	超滤膜	超滤膜	微滤膜	微滤膜
工序(4)	纳滤膜	纳滤膜	纳滤膜	反渗透膜	纳滤膜	纳滤膜
油	10000	9000	10000	10000	10000	10000
度	2000	1800	2000	2000	1800	1800
(NTU)	1 以下	1 以下	1 以下	1 以下	1 以下	1 以下
标准通量	35	31	36	36	30	31
降低率	5	5	4	7	3	2
(%)						
(精制糖	1.0	1.0	1.0	1.1	1.0	1.0
水	0.9	0.9	0.9	1.0	0.9	0.9
溶	0.4	0.4	0.4	0.6	0.4	0.4
液)(工序	0.3	0.3	0.3	0.5	0.3	0.3
(1) 中得	0.4	0.4	0.4	0.8	0.4	0.4
到的糖水	0.2	0.2	0.2	0.7	0.2	0.2
溶液)	0.4	0.5	0.5	0.8	0.5	0.5
	0.1	0.2	0.1	0.7	0.1	0.1

[0199] (实施例 2)

[0200] 经由以下 4 道工序来制造精制糖水溶液。

[0201] 作为工序(1),除了不实施3000G的离心分离之外,采用参考例4中所记载的方法,得到包含如表1所示的单糖及发酵阻碍物质的、浊度为9000NTU的糖水溶液20L。

[0202] 作为工序(2),将凝聚剂A添加至工序(1)得到的糖水溶液中使其浓度为3000ppm,同时,用氢氧化钠将pH调至7.0。调节pH后,在150rpm下急速搅拌30分钟,接着在40rpm下慢速搅拌30分钟,静置6小时之后,回收上清液16L,作为凝聚处理后的糖水溶液。得到的糖水溶液的浊度为1800NTU。

[0203] 作为工序(3),采用与实施例1相同的方法,将在工序(2)中得到的糖水溶液供给至微滤膜并对其进行错流过滤。由于该微滤膜的标准通量降低率小至31(%),得到的糖水溶液的浊度为1NTU以下,因此,表明可以长期稳定地将糖水溶液供给下一工序(4)。

[0204] 作为工序(4),采用与实施例1相同的方法,将工序(3)中得到的糖水溶液10L供给至纳滤膜并对其进行错流过滤。从非透过侧回收精制糖水溶液,同时从透过侧除去包含发酵阻碍物质的透过水,得到2.5L精制糖水溶液。该纳滤膜的标准通量降低率小至5(%),表明能够长期稳定地制造精制糖水溶液。

[0205] 采用蒸馏水将得到的精制糖水溶液稀释至4倍,与工序(1)中得到的糖水溶液进行成分比较。精制糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质的浓度相对于工序(1)中得到的糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质浓度的浓度之比如表2所示,可以在保持单糖浓度的同时降低发酵阻碍物质的浓度。

[0206] (实施例3)

[0207] 经由以下4道工序来制造精制糖水溶液。

[0208] 作为工序(1),除了不实施3000G的离心分离之外,采用参考例5中所记载的方法,得到包含如表1所示的单糖及发酵阻碍物质的浊度为10000NTU的糖水溶液20L。

[0209] 作为工序(2),将凝聚剂A添加至工序(1)得到的糖水溶液中使其浓度为3000ppm,同时采用氢氧化钠将pH调至7.0。调节pH之后,在150rpm下急速搅拌30分钟,接着在40rpm下慢速搅拌30分钟,静置6小时后,回收上清液16L,作为凝聚处理后的糖水溶液。得到的糖水溶液的浊度为2000NTU。

[0210] 作为工序(3),在200kPa的压力、25℃的温度下,将工序(2)中得到的糖水溶液供给至超滤膜并对其进行错流过滤,从透过侧回收10L的糖水溶液。在此,错流过滤时的膜面线速度设为30cm/s,为了求得标准通量降低率,在过滤1L糖水溶液之后取出超滤膜并测定标准通量(过滤1L糖水溶液后的标准通量),再次设置超滤膜,再过滤1L糖水溶液后取出超滤膜并测定标准通量(过滤2L糖水溶液后的标准通量)。另外,作为超滤膜,对用于Hydranautics公司制的超滤膜“DairyUF10k”的截留分子量为10000Da的聚醚砜制平膜进行切割后使用。该超滤膜的标准通量降低率小至36(%),得到的糖水溶液的浊度为1NTU以下,因此,表明可以长期稳定地将糖水溶液供给至下一工序(4)。

[0211] 作为工序(4),采用与实施例1相同的方法,将工序(3)中得到的糖水溶液10L供给至纳滤膜并对其进行错流过滤。从非透过侧回收精制糖水溶液,同时从透过侧除去包含发酵阻碍物质的透过水,得到2.5L精制糖水溶液。该纳滤膜的标准通量降低率小至4(%),表明可以长期稳定地制造精制糖水溶液。

[0212] 采用蒸馏水将得到的精制糖水溶液稀释至4倍,与工序(1)中得到的糖水溶液进行成分比较。精制糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质的浓度相对于工序(1)中得到的糖水

溶液中的单糖及发酵阻碍物质浓度的浓度之比如表 2 所示,可以在保持单糖浓度的同时降低发酵阻碍物质浓度。

[0213] (实施例 4)

[0214] 经由以下 4 道工序来制造精制糖水溶液。

[0215] 作为工序 (1),除了不实施 3000G 的离心分离之外,采用参考例 5 中所记载的方法,得到包含如表 1 所示的单糖及发酵阻碍物质的浊度为 10000NTU 的糖水溶液 20L。

[0216] 作为工序 (2),将凝聚剂 A 添加至工序 (1) 得到的糖水溶液中使其浓度为 3000ppm,同时采用氢氧化钠将 pH 调至 7.0。调节 pH 之后,在 150rpm 下急速搅拌 30 分钟,接着在 40rpm 下慢速搅拌 30 分钟,静置 6 小时之后,回收上清液 16L,作为凝聚处理后的糖水溶液。得到的糖水溶液的浊度为 2000NTU。

[0217] 作为工序 (3),采用与实施例 4 相同的方法,将工序 (2) 中得到的糖水溶液供给至超滤膜并对其进行错流过滤。由于该超滤膜的标准通量降低率小至 36(%),得到的糖水溶液的浊度为 1NTU 以下,因此,表明能够长期稳定地将糖水溶液供给至下一工序 (4)。

[0218] 作为工序 (4),在 3MPa 的压力、25℃ 的温度下,将工序 (3) 中得到的糖水溶液 10L 供给至反渗透膜并对其进行错流过滤。从非透过侧回收精制糖水溶液,同时从透过侧除去包含发酵阻碍物质的透过水,得到 2.5L 精制糖水溶液。该操作采用反渗透膜将工序 (3) 中得到的糖水溶液 10L 浓缩 4 倍。在此,错流过滤时的膜面线速度设为 30cm/s,为了求得标准通量降低率,在过滤 1L 糖水溶液之后取出反渗透膜,并测定标准通量(过滤 1L 糖水溶液后的标准通量),再次设置反渗透膜,再过滤 1L 糖水溶液之后取出反渗透膜,并测定标准通量(过滤 2L 糖水溶液后的标准通量)。另外,作为反渗透膜,对用于东丽株式会社制的聚酰胺系反渗透膜组件“TMG10”的聚酰胺系反渗透膜进行切割后使用。该反渗透膜的标准通量降低率小至 7(%),表明能够长期稳定地制造精制糖水溶液。

[0219] 采用蒸馏水将得到的精制糖水溶液稀释至 4 倍,与工序 (1) 中得到的糖水溶液进行成分比较。精制糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质的浓度相对于在工序 (1) 中得到的糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质浓度的浓度比如表 2 所示,可以在维持单糖浓度的同时降低发酵阻碍物质浓度。

[0220] (实施例 5)

[0221] 经由以下 4 道工序来制造精制糖水溶液。

[0222] 作为工序 (1),除了不实施 3000G 的离心分离之外,采用参考例 5 中记载的方法,得到包含如表 1 所示的单糖及发酵阻碍物质的浊度为 10000NTU 的糖水溶液 20L。

[0223] 作为工序 (2),将凝聚剂 B 添加至工序 (1) 得到的糖水溶液中使其浓度为 3000ppm,同时采用氢氧化钠将 pH 调至 7.0。调节 pH 之后,在 150rpm 下急速搅拌 30 分钟,接着在 40rpm 下慢速搅拌 30 分钟,静置 3 小时之后,回收上清液 16L。往得到的上清液 16L 中再次添加凝聚剂 B 使其浓度为 3000ppm,同时采用氢氧化钠将 pH 调至 7.0。调节 pH 之后,在 150rpm 下急速搅拌 30 分钟,接着在 40rpm 下慢速搅拌 30 分钟,静置 6 小时之后,回收上清液 14L,作为凝聚处理后的糖水溶液。得到的糖水溶液的浊度为 1800NTU。

[0224] 作为工序 (3),采用与实施例 1 相同的方法,将工序 (2) 中得到的糖水溶液供给至微滤膜并对其进行错流过滤。由于该微滤膜的标准通量降低率小至 30(%),得到的糖水溶液的浊度为 1NTU 以下,因此表明能够长期稳定地将糖水溶液供给至下一工序 (4)。

[0225] 作为工序(4),采用与实施例1相同的方法,将工序(3)中得到的糖水溶液9L供给至纳滤膜并对其进行错流过滤。从非透过侧回收精制糖水溶液,同时从透过侧除去包含发酵阻碍物质的透过水,得到2.25L精制糖水溶液。该纳滤膜的标准通量降低率小至3(%),表明能够长期稳定地制造精制糖水溶液。

[0226] 采用蒸馏水将得到的精制糖水溶液稀释至4倍,与工序(1)中得到的糖水溶液进行成分比较。精制糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质的浓度相对于工序(1)中得到的糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质浓度的浓度之比如表2所示,可以在保持单糖浓度的同时降低发酵阻碍物质浓度。

[0227] (实施例6)

[0228] 经由以下4道工序来制造精制糖水溶液。

[0229] 作为工序(1),除了不实施3000G的离心分离之外,采用参考例5中所记载的方法,得到包含如表1所示的单糖及发酵阻碍物质的浊度为10000NTU的糖水溶液20L。

[0230] 作为工序(2),将凝聚剂A和凝聚剂B添加至工序(1)得到的糖水溶液中,使其浓度分别为3000ppm和3000ppm,同时采用氢氧化钠将pH调至7.0。调节pH之后,在150rpm下急速搅拌30分钟,接着在40rpm下慢速搅拌30分钟,静置6小时之后,回收上清液16L,作为凝聚处理后的糖水溶液。得到的糖水溶液的浊度为1800NTU。

[0231] 作为工序(3),采用与实施例1相同的方法,将工序(2)中得到的糖水溶液供给至微滤膜并对其进行错流过滤。由于该微滤膜的标准通量降低率小至31(%),得到的糖水溶液的浊度为1NTU以下,因此,表明能够长期稳定地将糖水溶液供给至下一工序(4)。

[0232] 作为工序(4),采用与实施例1相同的方法,将工序(3)中得到的糖水溶液10L供给至纳滤膜并对其进行错流过滤。从非透过侧回收精制糖水溶液,同时从透过侧除去包含发酵阻碍物质的透过水,得到2.5L精制糖水溶液。该纳滤膜的标准通量降低率小至2(%),表明能够长期稳定地制造精制糖水溶液。

[0233] 采用蒸馏水将得到的精制糖水溶液稀释至4倍,与工序(1)中得到的糖水溶液进行成分比较。精制糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质的浓度相对于工序(1)中得到的糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质浓度的浓度之比如表2所示,可以在保持单糖浓度的同时,降低发酵阻碍物质浓度。

[0234] (比较例1)

[0235] 除了不实施工序(2)之外,与实施例1一样制造精制糖水溶液。

[0236] 作为工序(1),除了不实施3000G的离心分离之外,采用参考例5中所记载的方法,得到包含如表1所示的单糖及发酵阻碍物质的浊度为10000NTU的糖水溶液20L。

[0237] 不实施工序(2)。

[0238] 作为工序(3),在200kPa的压力、25°C的温度下,将工序(1)中得到的糖水溶液供给至微滤膜并对其进行错流过滤,从透过侧回收5L糖水溶液。在此,错流过滤时的膜面线速度设为30cm/s,为了求得标准通量降低率,在过滤1L糖水溶液之后取出微滤膜并测定标准通量(过滤1L糖水溶液后的标准通量),再次设置微滤膜,再过滤1L糖水溶液之后取出微滤膜并测定标准通量(过滤2L糖水溶液后的标准通量)。另外,作为微滤膜,对用于东丽株式会社制微滤膜“メンブレイ(注册商标)TMR140”的公称孔径为0.08 μ m的聚偏二氟乙烯制平膜进行切割后使用。虽然得到的糖水溶液的浊度为1NTU以下,但该微滤膜的标准通量

降低率大至 65(%),表明不能长期稳定地将糖水溶液供给至下一工序(4)。

[0239] 作为工序(4),在 3MPa 的压力、25℃ 的温度下,将工序(3)中得到的糖水溶液 5L 供给至纳滤膜并对其进行错流过滤。从非透过侧回收精制糖水溶液,同时从透过侧除去包含发酵阻碍物质的透过水,得到 2.5L 精制糖水溶液。该操作采用纳滤膜将工序(3)中得到的糖水溶液 10L 浓缩 4 倍。在此,错流过滤时的膜面线速度设为 30cm/s,为了求得标准通量降低率,在过滤 1L 糖水溶液之后取出纳滤膜并测定标准通量(过滤 1L 糖水溶液后的标准通量),再次设置纳滤膜,再过滤 1L 糖水溶液之后取出纳滤膜并测定标准通量(过滤 2L 糖水溶液后的标准通量)。另外,作为纳滤膜,采用东丽株式会社制的纳滤膜“UTC60”。该纳滤膜的标准通量降低率小至 7(%).另外,采用蒸馏水将得到的精制糖水溶液稀释至 4 倍,与工序(1)中得到的糖水溶液进行成分比较。精制糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质的浓度相对于工序(1)中得到的糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质浓度的浓度之比如表 3 所示,采用该纳滤膜可以在保持单糖浓度的同时,降低发酵阻碍物质浓度。

[0240] 即,虽然在理论上可以采用纳滤膜来制造精制糖水溶液,但是由于在工序(3)中不能长期稳定地过滤糖水溶液,因此不能供给至纳滤膜,表明不能实现精制糖水溶液的制作。

[0241] [表 3]

[0242]

	比较例 1	比较例 2	比较例 3	比较例 4	比较例 5
工序(1)	水热处理 ·酶处理	水热处理 ·酶处理	水热处理 ·酶处理	稀硫酸处 理·酶处理	水热处理 ·酶处理
工序(2)	-	凝聚处理 凝聚剂 A	凝聚处理 凝聚剂 A	-	-
工序(3)	微滤膜	-	微滤膜	微滤膜	超滤膜
工序(4)	纳滤膜	纳滤膜	-	纳滤膜	纳滤膜
浊度(NTU)	-	10000	10000	-	-
	10000	-	2000	9000	10000
	1 以下	2000	-	1 以下	1 以下
标准通量降 低率(%)	65	-	35	59	73
	7	不能过滤	-	6	5
(精制糖水 溶液)/(在工 序(1)中得 到的糖水溶 液)	1.0	不能得到 精制糖水	1.0	0.9	0.9
	0.9		1.0	0.9	0.9
	0.4		1.0	0.5	0.5
	0.3		1.0	0.4	0.3
	0.4		1.0	0.4	0.4
	0.2		1.0	0.2	0.2
	0.3		0.9	0.5	0.5
	0.1		1.0	0.2	0.2

[0243] (比较例 2)

[0244] 除了不实施工序 (3) 之外,与实施例 1 一样制造精制糖水溶液。

[0245] 作为工序 (1),除了不实施 3000G 的离心分离之外,采用参考例 5 中所记载的方法,

得到包含如表 1 所示的单糖及发酵阻碍物质的浊度为 10000NTU 的糖水溶液 20L。

[0246] 作为工序 (2), 将凝聚剂 A 添加到在工序 (1) 中得到的糖水溶液中使其浓度为 3000ppm, 同时采用氢氧化钠将 pH 调至 7.0。调节 pH 之后, 在 150rpm 下急速搅拌 30 分钟, 接着在 40rpm 下慢速搅拌 30 分钟, 静置 6 小时之后, 回收上清液 16L, 作为凝聚处理后的糖水溶液。得到的糖水溶液的浊度为 2000NTU。

[0247] 不实施工序 (3)。

[0248] 作为工序 (4), 在 3MPa 的压力、25℃ 的温度下, 将工序 (2) 中得到的糖水溶液 10L 供给至纳滤膜并对其进行错流过滤。但是, 由于供给至纳滤膜的糖水溶液的浊度高达 420NTU, 不能采用纳滤膜继续进行过滤, 从而不能制造出精制糖水溶液。在此, 采用东丽株式会社制纳滤膜“UTC60”作为纳滤膜。

[0249] (比较例 3)

[0250] 除了不实施工序 (4) 之外, 与实施例 1 一样制造精制糖水溶液。

[0251] 作为工序 (1), 除了不实施 3000G 的离心分离之外, 采用参考例 5 中所记载的方法, 得到包含如表 1 所示的单糖及发酵阻碍物质的浊度为 10000NTU 的糖水溶液 20L。

[0252] 作为工序 (2), 将凝聚剂 A 添加至工序 (1) 中得到的糖水溶液中使其浓度为 3000ppm, 同时采用氢氧化钠将 pH 至 7.0。调节 pH 之后, 在 150rpm 下急速搅拌 30 分钟, 接着在 40rpm 下慢速搅拌 30 分钟, 静置 6 小时之后, 回收上清液 16L, 作为凝聚处理后的糖水溶液。得到的糖水溶液的浊度为 2000NTU。

[0253] 作为工序 (3), 在 200kPa 的压力、25℃ 的温度下将在工序 (2) 中得到的糖水溶液供给至微滤膜并对其进行错流过滤, 从透过侧回收 10L 糖水溶液。在此, 错流过滤时的膜面线速度设为 30cm/s, 为了求得标准通量降低率, 在过滤 1L 糖水溶液之后取出微滤膜并测定标准通量(过滤 1L 糖水溶液后的标准通量), 再次设置微滤膜, 再过滤 1L 糖水溶液之后取出微滤膜并测定标准通量(过滤 2L 糖水溶液后的标准通量)。另外, 作为微滤膜, 对用于东丽株式会社制微滤膜“メンブレイ(注册商标) TMR140”的公称孔径为 0.08 μm 的聚偏二氟乙烯制平膜进行切割后使用。该微滤膜的标准通量降低率小至 35(%), 得到的糖水溶液的浊度为 1NTU 以下。

[0254] 不实施工序 (4)。

[0255] 将得到的糖水溶液与工序 (1) 中得到的糖水溶液进行成分比较。精制糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质的浓度相对于工序 (1) 中得到的糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质的浓度的浓度之比如表 3 所示, 表明单糖及发酵阻碍物质浓度没有变化, 没有除去发酵阻碍物质。

[0256] (比较例 4)

[0257] 除了不实施工序 (2) 之外, 与实施例 2 一样制造精制糖水溶液。

[0258] 作为工序 (1), 除了不实施 3000G 的离心分离之外, 采用参考例 4 中所记载的方法, 得到包含如表 1 所示的单糖及发酵阻碍物质的浊度为 9000NTU 的糖水溶液 20L。

[0259] 不实施工序 (2)。

[0260] 作为工序 (3), 在 200kPa 的压力、25℃ 的温度下, 将工序 (1) 中得到的糖水溶液供给至微滤膜并对其进行错流过滤, 从透过侧回收 5L 糖水溶液。在此, 错流过滤时的膜面线速度设为 30cm/s, 为了求得标准通量降低率, 在过滤 1L 糖水溶液之后取出微滤膜并测定标

准通量(过滤 1L 糖水溶液后的标准通量),再次设置微滤膜,再过滤 1L 糖水溶液之后取出微滤膜并测定标准通量(过滤 2L 糖水溶液后的标准通量)。另外,作为微滤膜,对用于东丽株式会社制微滤膜“メンブレイ(注册商标)TMR140”的公称孔径为 $0.08\mu\text{m}$ 的聚偏二氟乙烯制平膜进行切割后使用。虽然所得到的糖水溶液的浊度为 1NTU 以下,但该微滤膜的标准通量降低率高达 59(%),表明不能长期稳定地将糖水溶液供给至下一工序(4)。

[0261] 作为工序(4),在 3MPa 的压力、25℃ 的温度下,将工序(3)中得到的糖水溶液 5L 供给至纳滤膜并对其进行错流过滤。从非透过侧回收精制糖水溶液,同时从透过侧除去包含发酵阻碍物质的透过水,得到 1.3L 精制糖水溶液。该操作采用纳滤膜将工序(3)中得到的糖水溶液 10L 浓缩 4 倍。在此,错流过滤时的膜面线速度设为 30cm/s,为了求得标准通量降低率,在过滤 1L 糖水溶液之后取出纳滤膜并测定标准通量(过滤 1L 糖水溶液后的标准通量),再次设置纳滤膜,再过滤 1L 糖水溶液之后取出纳滤膜并测定标准通量(过滤 2L 糖水溶液后的标准通量)。另外,采用东丽株式会社制的纳滤膜“UTC60”作为纳滤膜。该纳滤膜的标准通量降低率小至 6(%).另外,用蒸馏水将得到的精制糖水溶液稀释至 4 倍,与工序(1)中得到的糖水溶液进行成分比较。精制糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质的浓度相对于工序(1)中得到的糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质浓度的浓度之比如表 3 所示,采用该纳滤膜可以在保持单糖浓度的同时降低发酵阻碍物质浓度。

[0262] 即,虽然在理论上可以采用纳滤膜来制造精制糖水溶液,但是由于不能在工序(3)中长期稳定地过滤糖水溶液,因此不能供给至纳滤膜,表明不能实现精制糖水溶液的制造。

[0263] (比较例 5)

[0264] 除了不实施工序(2)之外,与实施例 3 一样制造精制糖水溶液。

[0265] 作为工序(1),除了不实施 3000G 的离心分离之外,采用参考例 5 中所记载的方法,得到包含如表 1 所示的单糖及发酵阻碍物质的浊度为 10000NTU 的糖水溶液 20L。

[0266] 不实施工序(2)。

[0267] 作为工序(3),在 200kPa 的压力、25℃ 的温度下,将工序(1)中得到的糖水溶液供给至超滤膜并对其进行错流过滤,从透过侧回收 4L 糖水溶液。在此,错流过滤时的膜面线速度设为 30cm/s,为了求得标准通量降低率,在过滤 1L 糖水溶液之后取出超滤膜并测定标准通量(过滤 1L 糖水溶液后的标准通量),再次设置超滤膜,再过滤 1L 糖水溶液之后取出超滤膜并测定标准通量(过滤 2L 糖水溶液后的标准通量)。另外,作为超滤膜,对用于 Hydranautics 公司制的超滤膜“DairyUF10k”的截留分子量为 10000Da 的聚醚砜制平膜进行切割后使用。得到的糖水溶液的浊度为 1NTU 以下,但是该微滤膜的标准通量降低率高达 73(%),表明不能长期稳定地将糖水溶液供给至下一工序(4)。

[0268] 作为工序(4),在 3MPa 的压力、25℃ 的温度下,将工序(3)中得到的糖水溶液 4L 供给至纳滤膜并对其进行错流过滤。从非透过侧回收精制糖水溶液,同时从透过侧除去包含发酵阻碍物质的透过水,得到 1L 精制糖水溶液。该操作采用纳滤膜将工序(3)中得到的糖水溶液 10L 浓缩 4 倍。在此,错流过滤时的膜面线速度设为 30cm/s,为了求得标准通量降低率,在过滤 1L 糖水溶液之后取出纳滤膜并测定标准通量(过滤 1L 糖水溶液后的标准通量),再次设置纳滤膜,再过滤 1L 糖水溶液之后取出纳滤膜并测定标准通量(过滤 2L 糖水溶液后的标准通量)。另外,采用东丽株式会社制的纳滤膜“UTC60”作为纳滤膜。该纳滤膜的标准通量降低率小至 5(%).另外,采用蒸馏水将得到的精制糖水溶液稀释至 4 倍,与工序(1)中

得到的糖水溶液进行成分比较。精制糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质的浓度相对于工序(1)中得到的糖水溶液中的单糖及发酵阻碍物质浓度的浓度之比如表3所示,利用该纳滤膜可以在保持单糖浓度的同时降低发酵阻碍物质浓度。

[0269] 即,虽然在理论上可以使用纳滤膜来制造精制糖水溶液,但是由于在工序(3)中不能长期稳定地过滤糖水溶液,因此不能供给至纳滤膜,表明不能实现精制糖水溶液的制造。

[0270] 接下来,为了对使用了本发明所得的精制糖液作为发酵原料的化学品制造方法进行更详细的说明,列举实施例,对作为化学品的L-乳酸、乙醇、尸胺、D-乳酸及琥珀酸进行说明。但是,可以通过本发明来制造的化学品不限于以下实施例。

[0271] (参考例8)化学品的浓度测定方法

[0272] [L-乳酸、D-乳酸]

[0273] 在L-乳酸或D-乳酸蓄积浓度测定中,通过采用HPLC法测定乳酸量来进行确认。

[0274] 柱子:Shim-Pack SPR-H(岛津公司制)

[0275] 流动相:5mM对甲苯磺酸(流速0.8mL/min)

[0276] 反应液:5mM对甲苯磺酸、20mM Bistris、0.1mM EDTA·2Na(流速0.8mL/min)

[0277] 检测方法:电导率

[0278] 温度:45℃。

[0279] [乙醇]

[0280] 在乙醇蓄积浓度测定中,通过气相色谱法进行定量。采用Shimadzu GC-2010 CapillaryGC TC-1(GL science)15米长*0.53mmI.D.,df1.5μm,通过氢火焰离子化检测器进行检测计算并进行评价。

[0281] [尸胺]

[0282] 通过如下所示的HPLC法对尸胺进行评价。

[0283] 使用柱:CAPCELL PAK C 18(资生堂)

[0284] 流动相:0.1%(w/w)磷酸水溶液:乙腈=4.5:5.5

[0285] 检测:UV360nm

[0286] 样品前处理:在分析样品25μl中,作为内标物添加并混合1,4-二氨基丁烷(0.03M)25μl、碳酸氢钠(0.075M)150μl以及2,4-二硝基氟苯(0.2M)的乙醇溶液,在37℃的温度下保温1小时。

[0287] 将上述反应溶液50μl溶解于1ml乙腈中之后,在10,000rpm下离心5分钟,然后对上清液10μl进行HPLC分析。

[0288] [琥珀酸]

[0289] 关于琥珀酸蓄积浓度的测定,采用HPLC(岛津制作所LC10A、RI检测器:RID-10A,柱子:Aminex HPX-87H)进行分析。柱温度为50℃,采用0.01N的H₂SO₄对柱子进行平衡之后,注入样品,用0.01N的H₂SO₄洗脱并进行分析。

[0290] (参考例9)L-乳酸发酵

[0291] 作为培养基,采用表4所示的L-乳酸菌发酵培养基,并进行高压蒸气灭菌处理(121℃、15分钟)。作为乳酸菌,采用作为原核微生物的乳酸乳球菌(Lactococcus lactis)JCM 7638株,作为培养基,使用组成如表4所示的乳酸菌乳酸发酵培养基。采用与参考

例 1 相同的方法对发酵液中所含的 L- 乳酸进行评价。另外,在葡萄糖浓度的测定中,采用 Glucose Test Wako C (和光纯药)。

[0292] 在试管中,将乳酸乳球菌 JCM7638 株在表 4 所示的采用 5ml 氮气吹扫后的乳酸发酵培养基中、在 37℃ 温度下静置培养 24 小时(前培养)。将得到的培养液接种到用氮气吹扫过的新鲜乳酸发酵培养基 50ml 中,并在 37℃ 的温度下静置培养 48 小时(主要培养)。

[0293] [表 4]

[0294]

组成	葡萄糖	酵母提取物	聚脲	氯化钠
组成物浓度	50g/L	5g/L	5g/L	5g/L

[0295] (参考例 10) 乙醇发酵

[0296] 探讨了采用酵母株(OC2、酿酒酵母、葡萄酒酵母)进行的乙醇发酵。培养基是将作为碳源的葡萄糖、作为其它成分的 Yeast Synthetic Drop-out Medium Supplement Without Tryptophan (Sigma-Aldrich Japan, 表 5 中的 Drop-out MX)、Yeast Nitrogen Base w/o Amino acid and Ammonium Sulfate (Difco, Yeast NTbase) 以及硫酸铵(硫铵),按照表 5 所示比例混合而成的。培养基经过过滤器灭菌(Millipore, Stericup 0.22 μm)后用于发酵。采用 Glucose Test Wako (和光纯药工业)对葡萄糖浓度进行定量。另外,各培养液中所产生的乙醇量通过气相色谱法进行测定。

[0297] 将 OC2 株在试管中于 5ml 的发酵用培养基(前培养培养基)中振荡培养一晚(前培养)。通过离心分离,从前培养液中回收酵母,采用灭菌水 15ml 充分地清洗。将清洗后的酵母接种到组成为表 5 所示的各培养基 100ml 中,在 500ml 容积的坂口烧瓶中振荡培养 24 小时(主要培养)。

[0298] [表 5]

[0299]

组成	葡萄糖	Drop-out MX	Yeast NTbase	硫铵
组成物浓度	50g/L	3.8g/L	1.7g/L	5g/L

[0300] (参考例 11) 尸胺发酵

[0301] 采用日本特开 2004-222569 号公报中所述的谷氨酸棒杆菌 TR-CAD 1 株作为产生尸胺的微生物,探讨了消耗葡萄糖的尸胺的发酵。关于培养基,作为碳源具有表 6 所示的葡萄糖组成,且用 3M 的氨水将 pH 调至 7.0 从而制成糖液,由此制备尸胺发酵培养基。作为产物的尸胺的浓度评价通过 HPLC 法来进行测定。另外,在葡萄糖浓度的测定中采用 Glucose Test Wako C (和光纯药株式会社)。

[0302] 在试管中,将谷氨酸棒杆菌 TR-CAD 1 株加入到添加有 5ml 卡那霉素(25 μg/ml)的尸胺发酵培养基中并振荡培养一晚(前培养)。通过离心分离,从前培养液中回收谷氨酸棒杆菌 TR-CAD1 株,采用灭菌水 15ml 充分地清洗。将清洗后的菌体接种到上述培养基 100ml 中,并在 500ml 容积的坂口烧瓶中振荡培养 24 小时(主要培养)。

[0303] [表 6]

[0304]

组成	组成成分浓度
葡萄糖	50g/L
柠檬酸	1g/L
尿素	15g/L
磷酸二氢钾	0.5g/L
磷酸氢二钾	0.5g/L
硫酸镁七水合物	0.5g/L
L- 苏氨酸	0.8g/L
L- 蛋氨酸	0.6g/L
L- 亮氨酸	1.5g/L
硫酸铁七水合物	6.0mg/L
硫酸锰一水合物	4.2mg/L
生物素	1.0mg/L
硫胺素	2.0mg/L

[0305] (参考例 12) D- 乳酸发酵

[0306] 采用日本特开 2007-074939 中所记载的酵母 NBRC10505/pTM63 株作为微生物, 采用表 7 所示组成的 D- 乳酸生产培养基作为培养基, 通过 HPLC 法测定作为产物的 D- 乳酸的浓度。另外, 在葡萄糖浓度的测定中采用 Glucose Test Wako C (和光纯药株式会社制)。

[0307] 在试管中, 将 NBRC10505/pTM63 株于 5ml 的 D- 乳酸生产培养基中振荡培养一晚(前培养)。将得到的培养液接种至新鲜的 D- 乳酸生产培养基 50ml 中, 并在 500ml 容积的坂口烧瓶中于 30℃ 的温度下振荡培养 24 小时(主要培养)。

[0308] [表 7]

[0309]

组成	组成成分浓度
葡萄糖	50g/L
Yeast Nitrogen base w/o amino acid	6.7g/L
不包括亮氨酸的标准 19 种氨基酸	152mg/L

亮氨酸	760mg/L
肌醇	152mg/L
对氨基苯甲酸	16mg/L
腺嘌呤	40mg/L

[0310] (参考例 13) 琥珀酸发酵

[0311] 作为具有琥珀酸生产能力的微生物, 采用产琥珀酸厌氧螺菌 (*Anaerobiospirillum succiniciproducens*) ATCC53488 株进行琥珀酸的发酵。将由表 8 中的组成构成的种子培养用培养基 100mL 放入 125mL 容量三角烧瓶中, 进行加热灭菌。

[0312] 在厌氧手套箱内, 加入 30mM Na_2CO_3 1mL 和 180mM H_2SO_4 0.15mL, 进一步加入由 0.25g/L 半胱氨酸·HCl 和 0.25g/L Na_2S 构成的还原溶液 0.5mL, 之后接种 ATCC53488 株, 在 39°C 下静置培养 24 小时(主要培养)。

[0313] [表 8]

[0314]

组成	组成成分浓度
葡萄糖	50g/L
聚脲	10g/L
酵母提取物	5g/L
磷酸氢二钾	1g/L
氯化钠	1g/L
氯化镁	0.2g/L

[0315] (实施例 7)

[0316] 采用旋转蒸发器(东京理化株式会社制), 在减压下(200hPa) 对实施例 1 的工序 (1) 中得到的糖水溶液和工序 (4) 中得到的精制糖水溶液各 1L 进行水蒸发, 使浓缩约 3 倍左右, 采用所得到的液体以及用于比较的试剂葡萄糖, 在参考例 9~13 的发酵条件下, 在各培养基成分的浓度条件下, 制备适合于各发酵的培养基成分, 并用于主要培养。需要说明的是, 在前培养中使用试剂单糖, 仅在主要培养时使用各糖液。

[0317] 结果, 如表 9 所示, 与工序 (1) 中得到的未处理物相比, 通过工序 (2)~(4) 的处理, 发酵阻碍得到抑制, 并且改善了蓄积浓度。

[0318] [表 9]

[0319]

	糖水溶液	精制糖水溶液	试剂单糖
L-乳酸 (参考例 9)	4g/L	7g/L	9g/L
乙醇 (参考例 10)	20g/L	28g/L	28g/L
尸胺 (参考例 11)	0.3g/L	1.0g/L	1.3g/L
D-乳酸 (参考例 12)	1g/L	6g/L	9g/L
琥珀酸 (参考例 13)	28g/L	35g/L	35g/L

[0320] (实施例 8)

[0321] 采用旋转蒸发器(东京理化株式会社制),在减压下(200hPa)对实施例 2 的工序 (1) 中得到的糖水溶液和工序 (4) 中得到的精制糖水溶液各约 1L 进行水蒸发,使浓缩约 1.2 倍左右,采用所得到的液体以及用于比较的试剂葡萄糖,在参考例 9~13 中所示的发酵条件下,在各培养基成分的浓度条件下,制备适合于各发酵的培养基成分并用于主要培养。需要说明的是,在前培养中使用试剂单糖,仅在主要培养时使用各糖液。

[0322] 结果如表 10 所示,与工序 (1) 中得到的未处理物相比,通过工序 (2)~(4) 的处理,发酵阻碍得到抑制,并且改善了蓄积浓度。

[0323] [表 10]

[0324]

	糖水溶液	精制糖水溶液	试剂单糖
L-乳酸 (参考例 9)	6g/L	8g/L	9g/L
乙醇 (参考例 10)	23g/L	28g/L	29g/L
尸胺 (参考例 11)	0.6g/L	1.2g/L	1.3g/L
D-乳酸 (参考例 12)	2g/L	7g/L	8g/L
琥珀酸 (参考例 13)	29g/L	34g/L	35g/L

[0325] 产业上的可利用性

[0326] 根据本发明,可以从源自含纤维素生物质的糖水溶液中除去发酵阻碍物质,另一方面,能够高纯度且高收率地制造包含葡萄糖、木糖等单糖的精制糖水溶液,因此,在以该精制糖水溶液作为发酵原料的情况下,可以提高各种化学品的发酵生产效率。

[0327] 符号说明

[0328] 1 原水槽

[0329] 2 安装有纳滤膜或反渗透膜的元件

[0330] 3 高压泵

[0331] 4 膜透过液流

[0332] 5 膜浓缩液流

[0333] 6 利用高压泵送液的培养液或纳滤膜透过液流

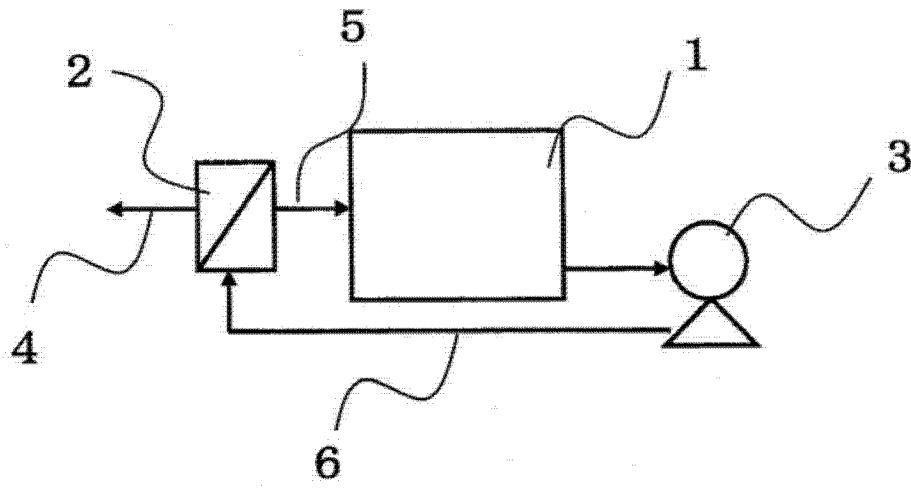


图 1