Original Paper

Special articles: Biomass

特集：バイオマス

Characteristics of Hydrothermal Decomposition and Saccharification of Various Lignocellulosic Biomass and Enzymatic Saccharification of the Obtained Hydrothermal-Residue

Satoshi KUMAGAI^{*1*3}, Noriyuki YAMADA^{*1}, Tsuyoshi SAKAKI^{*1}, and Nobuyuki HAYASHI^{*2}

(Received February 1, 2007)

種々のリグノセルロース系バイオマスの水熱分解・糖化特性，および得られた水熱処理残渣の酵素糖化
熊谷 聡^{*1*3}，山田則行^{*1}，坂本 剛^{*1}，林 信行^{*2}

Characteristics of decomposition and saccharification of various lignocellulosic biomass were investigated with a percolator type reactor under hydrothermal conditions with three-step heating (30°C, 130°C and 200°C) for fractionation of components in the biomass. Herbaceous biomass (rice straw, barley straw) showed high solubilized products yield in the each fraction in comparison with woody biomass (eucalyptus, douglas fir and Japanese cedar). The solubilized products obtained at 280°C were mainly the hemicellulose-derived monomers and oligomers.

The main component of hydrothermal treatment residue was cellulose. Particularly, in case of herbaceous biomass, the ratio of cellulose in the residue reached about 80%. This is because of lignin in the herbaceous biomass was easy to solubilize in comparison with that in woody biomass.

The recovered hydrothermal-residues were treated with cellulase. In case of cellulose in the herbaceous biomass-residue was converted into glucose at 60% yield. On the other hand, in case of woody biomass, the residue was hardly converted into glucose. Japanese cedar-residue was treated at 280°C. The solubilized products were treated with cellulase. As a result, cellulose in the Japanese cedar was converted into hexose (glucose + fructose) at 60% yield.

Key Words

Hydrothermal decomposition, Cellulose, Lignin

1. 緒言

著者らは、リグノセルロース系バイオマスを効率的に利用するために、加圧熱水をキーテクノロジーとするバイオマスリファイナリー技術について研究を進めてきた^{1)~6)}。

その中で、バイオマス中の糖質系主成分であるヘミセルロースとセルロースの分解開始温度を調べたところ、ヘミセルロースは140°C付近であり、同様にセルロースは230°C付近であることがわかり、加圧熱水の温度制御のみにより、各々を低分子水可溶化した形で成分分離可能であることを示した^{2)~4)}。

更に、ヘミセルロースの分解について詳細な検討を加えたところ、草本系や広葉樹等のようにキシランを主鎖とするヘミセルロースを有するバイオマスの場合、200°C近傍の加圧熱水で処理することで、ビフィズス菌増殖活性やそれに伴う整腸作用等の生理活性を有するキシロオリゴ糖が生産可能であることが分かった^{5)~6)}。

またこの時、Mok⁷⁾ら、Bobleter⁸⁾も述べているが、ヘミセルロースと同時に更に、リグニンも一部可溶化され、得られた画分には、可溶化されたリグニンに由来した抗酸化性成分

- * 1 National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, Biomass Technology Research Center
807-1 Shuku-machi, Tosu-shi, Saga 841-0052, Japan
- * 2 Saga University, Faculty of Agriculture
1 Honjo-machi, Saga-shi, Saga 840-8502, Japan
- * 3 Junshin Junior Collage, Department of Food and Nutrition
1-1-1 Chikushigaoka, Minami-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka
815-8510, Japan

- * 1 (独)産業技術総合研究所 バイオマス研究センター
〒841-0052 佐賀県鳥栖市宿町 807-1
- * 2 佐賀大学農学部
〒840-8502 佐賀県佐賀市本庄町 1
- * 3 現所属：純真短期大学食物栄養学科
〒815-8510 福岡県福岡市南区筑紫丘 1-1-1

を有することも明らかにした⁹⁾。

このようなヘミセルロースおよび一部のリグニンの可溶性により、回収された処理残渣は、セルロースが濃縮され且つ脱リグニンが進んでいるため酵素糖化性が増大する¹⁰⁾。酵素糖化により得られるグルコースは、石油代替エネルギーとして注目されているエタノールや、生分解性プラスチックの原料となる乳酸をはじめとする種々の発酵原料と成り得る。

そこで、Antalら^{10) 11)}の研究グループは、本法をエタノール発酵の前処理と位置付け検討を行っており、サトウキビバガスを原料として、200℃近傍の加圧熱水により処理した時に得られたセルロースを中心とする残渣を、SSF法にてエタノールへ変換するプロセスを提案している。更に、Wymanら^{12) 13)}の研究グループは、コーンストーバーを原料として、同様にセルロースを中心とする残渣の酵素糖化性について検討し、高収率でグルコースへ変換可能であることを述べている。

このように、サトウキビバガスやコーンストーバー等の草本系バイオマスでは、既にその利用が検討されているが、賦存量が最も多い木質系バイオマスではあまり検討されていない。特にわが国における木質系バイオマスの有効利用は、単に間伐材や建築廃材の利用という観点からだけでなく、衰退する林業の活性化という観点からも非常に重要であると考えられる。

そこで、本報告では、この前処理法が草本系バイオマスだけでなく木質系バイオマスにも適応可能かどうかを調べるために、木質系としてスギ、ベイマツおよびユーカリを、また比較として草本系より稲わらおよび大麦わらを原料として選定し、各々パーコレーター型反応器を用い、30℃、130℃、200℃の加圧熱水にて段階的に処理し、各成分の分解、糖化特性について調べた。続いて、セルロースが残存していると考えられる各水熱処理残渣について、市販のセルラーゼを用いた酵素糖化試験を行い、その特性について比較検討を行った。

2. 実験

2.1 実験試料

木質系バイオマスとしてスギ、ベイマツ(以上針葉樹)、ユーカリ(広葉樹)、草本系バイオマスとして稲わら、麦わらを選定し、あらかじめ40～100メッシュに粉碎したものを実験試料とした。

2.2 成分分析

エタノール/トルエン(1:2, v/v)抽出分、クラークソンリグニン、灰分については既報³⁾に示した方法により定量した。また、試料中の糖質については、エタノール/トルエン(1:2, v/v)抽出残渣0.3 gを50 mL容ビーカーにはかりとり、72 wt% 硫酸3.0 mLを加え、30℃にて1時間保持後、84 mLの蒸留水を用い、200 mL容三角フラスコへ移した(硫酸濃度:4 wt%)。還流冷却管を取り付け、ホットプレート上で100℃、6時間にて加水分解した¹⁴⁾。冷却後、G4ガラスフィルターを用いて固液分離し、濾液を硫酸除去カラム(OnGuard II A, Dionex)にて処理した後、更に孔径0.2 μmのメンブラン

フィルターにて濾過し、既報³⁾に示したHPAE-PAD(Dionex, DX-500)分析に供し糖分析を行った。

2.3 加圧熱水処理

試料約7.0 gを内容積28 mLのSUS316製パーコレーター型反応器に仕込み、反応器両端を孔径5 μmのステンレス製焼結フィルターにてキャップ後、既報³⁾に示した加圧熱水流通式反応装置に接続し、背圧弁を用いて反応系内圧力を3.0 MPaに調整後、反応器に10 mL/minで熱水を通水させ水熱処理を行った。なお、通水温度についてはFig. 1中に示すように30℃、130℃、200℃の三段階昇温を行った。反応装置より流出した処理液は5分間隔で計16フラクション回収し、各々一部を秤量ビンへ移し、105℃にて乾燥させ、仕込み乾燥重量基準の可溶化物収率を測定した。また、残渣についても、105℃にて乾燥させ、収率を測定した後、更に2.2に示した方法にて成分分析を行い。以下に示す式に従って各々の成分の残渣回収率を算出した。

Recovery ratio as the residue (wt%)

$$= \frac{\text{amount in the residue (g)}}{\text{amount in the raw material (g)}} \times 100$$

また、分画した各フラクションについては、フラクション1～3を30℃フラクションと、フラクション4～7を～130℃フラクション、更にフラクション8～を～200℃フラクションとして各々ひとまとめにし、孔径0.2 μmのメンブランフィルターにて濾過した後、HPAE-PAD分析に供し糖分析を行った。なお、仕込み乾燥重量より可溶化物合計重量と残渣重量を差し引いたものをガスと操作上のロス(以下ガス+ロスと略す)として以下扱うこととした。

2.4 酵素処理実験

50 mL容ビーカーに基質として前項にて得られた乾燥後の残渣0.2 gを精秤し、1.0 mg/mLの濃度で酵素を懸濁させたpH 4.0、50 mMの酢酸緩衝液20 mLを加え、50℃に保持した恒温槽中へ移し、120rpmにて振盪させながら酵素処理を行っ

Fig. 1 Generation behavior of solubilized products from various lignocellulosic biomass by hydrothermal treatment with hot-compressed water three-step heating

た。48時間処理した後、処理液をエッペンドルフチューブに回収し、密閉後、沸騰水中で10 min保持し、酵素を失活させた。続いて遠心分離を行い(8060×g, 10 min)、上澄を更に孔径0.2 μmのメンブランフィルターにて濾過した後、HPAE-PAD分析に供した。なおここでは、酵素として *Trichoderma viride* 由来セルラーゼオノズカ 12S (ヤクルト薬品工業製)を用いた。

3. 結 果

Table 1に本実験において使用した試料の成分分析結果を示す。なおその結果については、Antalらの報告¹⁵⁾に倣って整理した。前述したように本実験においてはセルロースの酵素糖化特性を検討することが目的であるが、その含有割合は、針葉樹で高く、ベイマツでは50.7%であったが、一方で、草本系では少なく、稲わらでは、38.9%であり、種によって含有濃度に差が見られた。また、草本系は灰分濃度が高く、特に稲わらでは16.1%であった。

Fig. 1に各試料を水熱処理した時の可溶化物の生成挙動を示す。また、Table 2に各処理温度領域(30℃, ~130℃, ~200℃)における可溶化物、残渣、ガス+ロス物質収支を示す。まず、草本系である稲わら、大麦わらについては、30℃および~130℃画分で多くの可溶化物が得られており、合計すると約10%に達した。一方、木質系(ユーカリ、ベイマツ、スギ)のものについては、可溶化物が少なく、その収率は約2%であった。なお、これらの画分においては、30℃画分で若干の遊離糖由来のグルコース、フルクトースが回収されていたに過ぎず、従って、高濃度でヘミセルロースやセルロースを回収する意味でも、特に、草本系の試料については、130℃以下で処理が必要であると考えられた。

続いて、200℃に昇温したところ、いずれの試料においても

可溶化物収率は急激に上昇し、25分間(昇温過程も含む)で可溶化物の生成はほぼ終了した。反応終了時の可溶化物累積収率については、Table 2に示したように草本系で高く、木質系では低い傾向を示した。更に、木質系でもスギやベイマツといった針葉樹より、広葉樹であるユーカリの方が高かった。

また、流出液のpH変化をFig. 2に示す。30℃で処理したフラクション1では、pH 5~6程度であったが、130℃処理を行うとpHは1ポイントほどアルカリ側へ上昇した。この後、200℃処理を行った、第8フラクションより漸減し、pH 3~4に達した後は再び上昇した。この時最小値を示したフラクションは、Fig. 1で可溶化物収率が最も高かったフラクションとほぼ一致した。

このような、pHの変化は、既報にも示したが、まず130℃処理におけるpHの上昇は、バイオマス中のアルカリ金属の溶出に伴うものである。続いて200℃処理における低下は、主に生成された単糖の二次分解物として生成された有機酸によるものである。

なお、この時の可溶化物を糖分析に供したときのクロマトグラムをFig. 3に示すが、各々を構成するヘミセルロースの単糖およびオリゴ糖が得られていた。特に、キシラン系ヘミセルロースを含むユーカリ、稲わら、大麦わらからはキシロースおよびキシロオリゴ糖が得られており、既報^{5) 6)}に詳細を述べたが、機能性食品等の機能性素材、または発酵原料として利用することも可能である。

Table 3に各試料を水熱処理した時に得られた残渣の成分分析結果を示す。まず、セルロースについては、試料により濃度は異なるが、最も高い大麦わらで78.9wt%、最も低いスギで59.5wt%であった。また、ヘミセルロース含量は、いずれの試料についても4 wt%以下であった。

Table 1 Chemical components of the feed materials (dry base)

feed	glucose (wt%)	xylose (wt%)	galactose (wt%)	arabinose (wt%)	mannose (wt%)	cellulose ^a (wt%)	hemicellulose ^b (wt%)	ETE ^c (wt%)	lignin (wt%)
Eucalyptus	47.4	12.8	1.4	0.5	0.0	42.7	13.0	0.7	26.8
Japanese cedar	52.5	6.9	2.0	1.5	11.1	47.3	19.1	0.8	33.0
Douglas fir	56.3	3.6	2.7	1.4	12.6	50.7	18.2	0.7	29.3
Rice straw	43.2	21.2	1.0	3.4	0.0	38.9	22.6	3.9	13.6
Barley straw	45.0	20.8	0.7	3.2	0.0	40.5	21.7	1.7	22.5

a), b) calculated using the following expression: a) cellulose (wt%) = glucose (wt%) × 0.9,

b) hemicellulose (wt%) = (galactose (wt%) + mannose (wt%)) × 0.9 + (xylose (wt%) + arabinose (wt%)) × 0.88

c) ETE: Ethanol-Toluene extracts

Table 2 Mass balance of hydrothermal treatment of various lignocellulosic biomass with three -step heating (dry base)

feed	30℃ (wt%)	~ 130℃ (wt%)	~ 200℃ (wt%)	Residue (wt%)	Gas+Loss (wt%)
Eucalyptus	0.7	1.1	36.1	59.9	2.2
Japanese cedar	1.1	1.4	29.8	67.1	0.6
Douglas fir	0.6	1.0	31.5	62.8	4.1
Rice straw	8.4	2.6	38.1	47.7	3.2
Barley straw	6.8	2.6	43.0	45.9	1.7

Fig. 2 Change in the pH of the effluent with fraction number

Fig. 3 Typical HPAE-PAD chromatograms of 200°C fraction obtained by hydrothermal treatment of various lignocellulosic biomass

Ara: Arabinose, Gal: Galactose, Glc: Glucose, Man: Mannose, Xyl: Xylose, X2: Xylobiose, X3: Xylotriose, X4: Xylotetraose, X5: Xylopentose

Table 3 Chemical components of the obtained hydrothermal-residue (dry base)

feed	glucose (wt%)	xylose (wt%)	galactose (wt%)	arabinose (wt%)	mannose (wt%)	cellulose (wt%)	hemicellulose (wt%)	lignin (wt%)	ash (wt%)
Eucalyptus	73.7	3.0	0.0	0.0	0.0	66.3	2.7	27.1	0.0
Japanese cedar	66.2	0.0	0.0	0.0	3.1	59.5	2.8	40.0	0.0
Douglas fir	75.4	0.0	0.0	0.0	2.0	67.8	1.8	30.7	0.3
Rice straw	83.2	3.6	0.0	0.0	0.0	74.8	3.2	12.0	12.4
Barley straw	87.7	4.4	0.0	0.0	0.0	78.9	3.9	15.3	1.5

続いて、灰分については、Table 1に示した原料中の濃度と比較すると減少しており、稲わらで12.4%、大麦わらで1.5%であった。

更に、リグニンについては、稲わら、大麦わらで低く各々12.0%、15.3%であったが、一方で、スギでは40%もあり、木質系では高い濃度を示した。

Table 4に各成分の残渣としての回収率を示す。まずセルロースについては、試料に関わらず85wt%以上が残渣中に回収されていたが、一方で、ヘミセルロースについては、試料に関わらず残渣中の回収率は10wt%以下であった。即ち200℃までの加圧熱水処理により、その90wt%以上は可溶化物として成分分離されていることとなり、試料に関わらず定量的にセルロースとヘミセルロースの成分分離が行なわれていることが改めて確認された。

Table 4 Recovery ratio of cellulose and hemicellulose as the hydrothermal-residue (dry base)

feed	cellulose (wt%)	hemicellulose (wt%)	lignin (wt%)	ash (wt%)
Eucalyptus	93.2	12.3	60.6	0.0
Japanese cedar	84.5	9.7	81.3	0.0
Douglas fir	84.1	6.1	65.8	37.7
Rice straw	91.8	6.7	42.1	36.7
Barley straw	89.4	8.2	31.2	11.9

また、灰分は、原料中元来によく含まれていた稲わら、大麦わらについて見てみると、残渣として回収された割合は、稲わらで36.7%、大麦わらで11.9%であった。つまり、その多くが200℃までの水熱処理過程で可溶化されていることとなる。このようにして反応器より流出した灰分は、冷却工程において析出し、配管内のスケールとなることが予測され、何らかの対策を講じる必要があると考えられる。

更に、リグニンについては、残渣としての回収率を調べると、スギ(81.3 wt%)>ペイマツ(65.8 wt%)>ユーカリ(60.6 wt%)>稲わら(42.1 wt%)>大麦わら(31.2 wt%)の順であり、木質系では残渣として回収された割合が多いが、草本系については、可溶化された割合の方が多かった。

このように、試料によってリグニンの可溶化特性が異なるのは、その構造上の特徴が針葉樹では主としてグアイアシルプロパン構造、広葉樹ではグアイアシルプロパン構造およびシリングルプロパン構造からなり、更に草本系ではそれら二つの構造に加え、4-ヒドロキシフェニルプロパン構造、グアイアシルプロパン構造からなる¹⁶⁾。

すなわち、4-ヒドロキシフェニルプロパン構造、シリングルプロパン構造の順に、熱水により可溶化されやすいのではないかと推察されるが、更なる検討が必要である。

このようにバイオマスの種によってリグニンの可溶化特性が異なれば、リグニンは酵素反応を阻害するため、水熱処理残渣の酵素糖化特性も種によって異なることが予測される。

そこで、続いてセルロースが濃縮された水熱処理残渣の酵素糖化性について調べた。

Fig. 4に各水熱処理残渣を酵素処理した時のグルコース変換率の経時変化を示す。図から明らかであるように、酵素糖化特性は3パターンに分類された。まず、草本系（稲わら、大麦わら）については、処理開始24時間後に糖化率約60%に達し、その後の増加は殆ど見られなかった。次に広葉樹（ユーカリ）については、処理開始24時間後に糖化率約20%に達したが、更に処理時間を長くしてもそれ以上は増加せず、針葉樹（スギ、ベイマツ）については、殆どグルコースに変換されなかった。このような酵素糖化性の違いについて、各基質の脱リグニン率（リグニン可溶化率）という観点から考えることにする。Fig. 5に各試料の脱リグニン率と48時間後の最終酵素糖化率の関係について示す。なお脱リグニン率と酵素糖化率の関係については、亜塩素酸法により脱リグニンを行った試料を用いた報告があるが¹⁷⁾、脱リグニン率が50~60

%を超えた付近より、急激に酵素糖化性が向上すると述べられている。本実験においては、前述したように、針葉樹（スギ、ベイマツ）では殆ど酵素糖化されず、また広葉樹（ユーカリ）では若干酵素糖化されたが、その時の酵素糖化率は24.9%であった。脱リグニン率が高かったユーカリでさえ、脱リグニン率は39.4%であり、一方で、60%程度の脱リグニン率を示した稲わら、大麦わらで、60%以上の酵素糖化率を示し、亜塩素酸を用いた脱リグニンした試料について酵素糖化を行なった実験とほぼ同様の傾向を示し、木質系残渣の酵素糖化性が低い要因として、200℃以下の水熱処理過程での脱リグニン率の低さと因果関係があると考えられる。

なお、稲わら、および大麦わら残渣が酵素糖化されやすいということに関しては、同様に草本系で検討を行なっているLaserら（バガス）⁹⁾、Liuら（コーンストーパー）¹⁰⁾の報告を支持するものであった。

従って、スギやベイマツのような針葉樹に関しては、200℃近傍の水熱処理による前処理法のみでは、セルロースを酵素糖化することが難しく、他の方法を組み合わせる必要がある。

そこで、著者が提案している¹⁸⁾、セルロースを280℃付近の加圧熱水で処理し、オリゴ糖を中心とする画分として可溶化後、酵素処理を行い単糖化する方法について検討を行った。すなわち、既報のように内容積3.8 mLのパールレーター型反応器に200℃処理で回収されたスギ残渣0.6 gを仕込み、280℃にて10分間10 mL/minにて加圧熱水を通水し、可溶化液を回収後、ごく少量の0.1 N NaOH水溶液を用いて、可溶化液のpHを4.0に調整した。続いて、pH調整液より25 mLを100 mL容三角フラスコへ分注し、2.4に示した酵素と同様の酵素（濃度；5 mg/mL）を1 mL添加し、24時間反応させた。なお、その他の処理条件については、2.2に示したものと同様である。

Fig. 6に200℃残渣を更に280℃にて処理したときに得られた可溶化物のHPAE-PADクロマトグラムを示す。図に示したようにセルロース由来の単糖（グルコース、フルクトース）およびオリゴ糖が得られており、ヘミセルロース由来の糖類は殆ど検出されなかった。なお、フルクトースが生成しているが、これはセルロースの水熱糖化における生成物の特徴である¹⁹⁾。

Fig. 7に各処理によって得られたセルロース由来の単糖およびオリゴ糖収率の変化を示す。前述したように、200℃処理残渣を酵素処理した場合は、セルロースのわずかに2.3%がグルコースに変換されたに過ぎなかったが、200℃残渣を更に280℃にて処理したところ生成した本実験において定量した範囲内の糖類（グルコース、フルクトース、セロビオース、セロトリオース、セロテトラオース、セロペンタオース）の合計は約50%であった。更に、280℃処理により得られた可溶化液を酵素処理したところ、この時の糖化収率は、グルコース：47.9%、フルクトース：10.4%であり、スギ中のセルロースのうち約60%をエタノール発酵可能なヘキソース（グルコース+フルクトース）に変換することができた。

Fig. 4 Enzymatic saccharification of hydrothermal treated-residue

Fig. 5 Relationship between delignified ratio and saccharification ratio

Fig. 6 HPAE-PAD chromatograms of 280°C fraction obtained by hydrothermal treatment of Japanese cedar-residue (200°C)
Glc: Glucose, Fru: Fructose, C2: Cellobiose, C3: Cellotriose, C4: Cellotetraose, C5: Cellopentaose

Fig. 7 Change in the saccharification ratio of various treated Japanese cedar

4. 結 言

種々のリグノセルロース系バイオマスをパーコレーター型反応器を用いて30℃、130℃および200℃の三段階昇温加圧熱水処理し、更にスギおよび稲わらについて処理残渣中セルロースの酵素糖化性について検討したところ、以下のことがわかった。

1. 草本系（稲わら、大麦わら）は130℃以下の可溶化成分が多く得られており、200℃処理工程で高濃度にヘミセルロースを回収する意味でも、まず130℃以下の処理をおこなうことが好ましいことがわかった。
2. 原料にかかわらず、ヘミセルロースは約90%以上が可溶化し、一方でセルロースは約85%以上が残渣として回収されたが、リグニンについては、木質系では残渣として回収された割合が多いが、農業残渣については、可溶化された割合の方が多ことが分かった。
3. 水熱処理残渣として回収されたセルロースの酵素糖化法によるグルコース変換について比較検討したところ、針葉樹系残渣からは、殆どグルコースが生成しなかったが、ユーカリでは約25%、大麦わらおよび稲わらからは約60%の収率でグルコースが生成し、原料によって酵素糖化性が大きく異なることが分かった。またこのような酵素糖化性の違

いは、試料の脱リグニン率と因果関係があることが示された。

4. 最も酵素糖化性が低かったスギの水熱処理残渣について、更に280℃の加圧熱水により処理後、可溶化物を酵素糖化したところ、原料中のセルロースのうち、約60%がヘキソース（グルコース＋フルクトース）に変換された。

文 献: References

- 1) Sakaki, T., Shibata, M., Miki, T., Hirose, H., and Hayashi, N., *Energy & Fuels*, **10**, 684(1996)
- 2) Ando, H., Sakaki, T., Kokusho, T., Shibata, M., Uemura, Y., and Hatate, Y., *Ind. Eng. Chem. Res.*, **39**, 3699(2000)
- 3) 熊谷聡, 林信行, 坂木剛, 中田正夫, 柴田昌男, 日エネ誌, **83**, 776(2004); Kumagai, S., Hayashi, N., Sakaki, T., Nakada, M., Shibata, M., *J. Jpn. Inst. Energy*, **83**, 776(2004)
- 4) 林信行, 藤田修二, 入江剛郎, 坂木剛, 柴田昌男, 日エネ誌, **83**, 805(2004); Hayashi, N., Fujita, S., Irie, G., Sakaki, T., Shibata, M., *J. Jpn. Inst. Energy*, **83**, 805(2004)
- 5) 熊谷聡, 林信行, 藤田修二, 坂木剛, 日本食品工学会誌, **5**, 205(2004); Kumagai, S., Hayashi, N., Fujita, S., Sakaki, T., *J. Jpn. Food. Eng.*, **5**, 205(2004)
- 6) 熊谷聡, 林信行, 藤田修二, 坂木剛, 安達芳雄, 日本食品工学会誌, **5**, 243(2004); Kumagai, S., Hayashi, N., Fujita, S., Sakaki, T., Adachi, Y., *J. Jpn. Food. Eng.*, **5**, 243(2004)
- 7) Mok, W. S., Antal, M. J., *Ind. Eng. Chem. Res.*, **31**, 1157(1992)
- 8) Bobleter, O., *Prog. Polym. Sci.*, **19**, 797(1994)
- 9) 林信行, 藤田修二, 熊谷聡, 坂木剛, 土井研一, 日本食品科学工学会第50回大会講演集, 41(2003); Hayashi, N., Fujita, S., Kumagai, S., Sakaki, T., Doi, K., The Japanese Society for Food Science and Technology 50th Kouen-Shuu, 41(2003)
- 10) Allen, S. G., Kam L. C., Zemmann, A. J., Antal, M. J., *Ind. Eng. Chem. Res.*, **35**, 2709(1996)
- 11) Laser, M., Schulman, D., Allen, S. G., Lichwa, J., Antal, M. J., Lynd, L.R., *Bioresour. Technol.*, **81**, 33(2002)
- 12) Liu, C., Wyman, C. E., *Bioresour. Technol.*, **42**, 5409(2003)
- 13) Liu, C., Wyman, C. E., *Bioresour. Technol.*, **96**, 1978(2005)
- 14) 右田伸彦, 木材化学, (共立出版), p. 24(1968); Migita, N., Mokuzai-Kagaku, (Kyouritu Shuppan), p. 24(1968)
- 15) Antal, M. J., Allen, S. G., Dai, X., Shimizu, B., Tam, M., Gronli, M., *Ind. Eng. Chem. Res.*, **39**, 4024(2000)
- 16) 中野順三, リグニンの化学, (ユニ出版), p. 20(1990); Nakano, J., Lignin no Kagaku, (Yuni Shuppan), p. 20(1990)
- 17) 志水一允, 機能性セルロース, (シーエムシー出版), p. 210(2003); Shimizu, K., Kinousei-cellulose, (CMC Shuppan), p. 210(2003)
- 18) 坂木剛, 柴田昌男, 三木敏晴, 廣末英晴, 日エネ誌, **77**, 1111(1998); Sakaki, T., Shibata, M., Miki, T., Hirose, H., *J. Jpn. Inst. Energy*, **77**, 1111(1998)
- 19) Kabyemela, B. M., Adschiri, T., Malaluan, R. M., Arai, K., *Ind. Eng. Chem. Res.*, **36**, 1552(1997)