

氏名(本籍)	こ ばやし てつ お (群馬県)
学位の種類	農 学 博 士
学位記番号	博 甲 第 366 号
学位授与年月日	昭和61年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 1 項該当
審査研究科	農学研究科
学位論文題目	水—有機溶媒二相反応系における脂肪の酵素分解に関する研究
主査	筑波大学教授 農学博士 高 橋 穰 二
副査	筑波大学教授 工学博士 片 岡 廣
副査	筑波大学教授 農学博士 安 井 恒 男
副査	筑波大学教授 農学博士 井 上 嘉 幸

## 論 文 の 要 旨

油脂の加水分解による脂肪酸とグリセリンの生産には、無触媒、高温高压下 (250°C, 50atm) で行う Colgate—Emery法が広く採用されているが、省エネルギーの立場からリパーゼによる加水分解法が最近注目されており、かなりの研究例が報告されている。一方、工業的な油脂原料としてし、牛脂が主として用いられているが、熱帯資源の活用という立場から最近パーム油が注目されはじめている。これらの油脂は、リパーゼの反応最適温度では固体あるいは半固体であるため、反応系中の分散が非常に悪いこともあって、リパーゼによる加水分解法は必ずしも十分な成果を上げていない。本研究は、それら固形の脂肪を適当な有機溶媒に溶解して水—有機溶媒二相系として反応させることにより、反応系中における基質の効果的な分散をはかり、反応速度および分解率を高めることを期して行ったものである。

第 1 部では、水—有機溶媒二相系リパーゼ反応における最も重要な因子である有機溶媒の種類、その添加率および攪拌速度等について検討した。

まず、有機溶媒として n—ヘキサン、n—ヘプタンおよびイソオクタン の 3 種を選び、有機溶媒無添加系での反応と比較した結果、いずれの有機溶媒を添加した系においても反応は著しく促進され油脂の分解率も向上した。特に、イソオクタン の添加効果は顕著であり、反応初速度は他の 2 つの有機溶媒の場合に比べて 3 倍以上であり、添加溶媒としてイソオクタンが非常に優れていることが明らかとなった。

反応系へのイソオクタン最適添加率は、邪魔板のない反応器においては約 20%であり、その添加率が増えるに従い反応速度は低下し、添加率 80%以上では有機溶媒無添加系よりも反応速度は低下した。しかし、邪魔板を取りつけることによりこの傾向は変化し、イソオクタンの添加率が 80%位になっても反応速度の低下はほとんど認められず、添加率 10~80%においてほぼ同様の高い反応速度が得られた。

また、攪拌速度の影響をイソオクタン添加率との関連において検討し、反応系中のイソオクタン量の増加に伴い攪拌速度を高める必要があることを明らかにした。以上の結果から、イソオクタン添加系における最適条件下の反応では、反応速度は無添加系の 4 倍以上に増大し、最終分解率もほぼ 100%に達し、無添加系に比し大幅に向上させることができた。

第 2 部では、水—有機溶媒二相系においてリパーゼによる油脂の加水分解反応が上述のように著しく促進される現象を解明するために動力学的解析を行った。

まず、反応速度式として次式を導出した。

$$v = V_m (S) / \{K'm + (S)\} \quad (1)$$

ただし、 $K'm = K_m \phi (1 - \phi) / c_1 c_2 a$ 、 $\phi$  は反応液中における有機溶媒相の割合、 $a$  は反応液単位体積当たりの水相と有機溶媒相との接触面である。

(1) 式の妥当性は、水—有機溶媒二相系の反応初速度の Lineweaver-Burk プロットが直線となること、また、攪拌速度を変えた場合の  $K'm$  と  $a$  の変化が逆比例関係にあること、さらには、 $\phi$  を変化させたときの  $\phi (1 - \phi) / a$  と  $K'm$  の値の変化がほぼ一致することなどを示す実験結果により確認された。(1) 式にもとずき有機溶媒の添加による反応促進の機構を検討した結果、有機溶媒の添加により見掛けの Michaelis 定数  $K'm$  は著しく減少するが、最大反応速度  $V_m$  は変化しないことが知られた。特にイソオクタンを添加した場合の  $K'm$  は  $0.045 \text{g/cm}^3$  であり、 $n$ -ヘキサン ( $0.46 \text{g/cm}^3$ ) および  $n$ -ペプタン ( $0.30 \text{g/cm}^3$ ) の場合に比して 1 桁小さく、イソオクタンの添加が特に反応の促進に有効であるという実験結果を裏付けるものであった。このように、イソオクタン添加により  $K'm$  の値が著しく小さくなる主因は水—イソオクタン二相の接触面積  $a$  の増大にあるが、 $K'm$  の減少は  $a$  の増大から計算される値よりかなり小さく、イソオクタン添加により、基質とリパーゼの親和性を高める方向で何等かの変化がおこっていることが示唆された。

第 3 部では、イソオクタン添加系でのリパーゼによる脂肪分解反応の実用化を目指して高基質濃度下での反応について検討し、生産性と経済性との両面からみた適切な酵素濃度、最適イソオクタン添加率等、高反応速度の下でほぼ 100%の分解率を達成するための諸条件を検討した。

基質濃度を 50%、60% および 70% と高め、イソオクタン添加率 20%、酵素濃度  $120 \text{IU/g-sub.}$  の条件下でパーム油の分解を行った結果、60% および 70% においては最終分解率はそれぞれ 95% および 90% に低下し、ほぼ 100% の分解率が得られる基質濃度は 50% までであった。

60% 以上の基質濃度について、さらに酵素濃度、イソオクタン添加率等を増加させて最終分解率を向上させるべく検討を行ったが、分解率の向上は認められず、高基質濃度下での最適反応条件は、

基質濃度 50%，酵素濃度 120IU/g-sub., イソオクタン添加率 20%であることが結論された。この条件下で、濃度 50%のパーム油は、僅か 6 時間でほぼ 100%分解されそれに見合う脂肪酸とグリセリンの回収が確認された。

第 4 部では、イソオクタン添加系においては無添加系に比べてリパーゼ活性が比較的安定に保たれることを示し、さらにこの現象を利用してリパーゼの回収、再利用について限外濾過膜付き反応器を用いて検討した。

イソオクタン 20%添加系でのリパーゼの残存比活性は 24 時間後で約 75%であり、無添加系のその 30%に比してはるかに大きく、イソオクタンの添加はリパーゼの活性保持の立場からも有効であった。そこで、濃度 50%のパーム油の分解を限外濾過膜付き反応器を用いて行い、反応後に水相部を限外濾過してリパーゼを回収することにより繰り返し反応を行ったが、各反応後約 60%の酵素活性が回収された。すなわち、このようなプロセスの採用により、通常の回分反応に比べてかなりの酵素を回収、再利用できることが明らかとなった。

## 審 査 の 要 旨

本研究は、牛脂あるいはパーム油などの脂肪のリパーゼによる酵素分解に際して、イソオクタンなどの適当な有機溶媒を反応系に添加することにより反応速度及び分解率を著しく高めることができることを見出し、その促進機構を反応速度論的に解明すると共に、限外濾過膜による酵素の回収方法をも含めて脂肪の酵素分解の実用化の基礎を築こうとするもので、その独創性は高く評価される。

よって、著者は農学博士の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。