

## 固定化リパーゼによる油脂連続分解法

(株)資生堂 基礎科学研究所, 製品研究所\*)

上沼敏彦, 植原計一, 河野善行\*, 富田健一\*

1. 目的 リパーゼによる工業化レベルでの油脂加水分解について、多くの報告がなされているが、実用化の例はほとんどない。これは、リパーゼが二相系で反応を触媒するばかりか生成物である脂肪酸により活性が失われることによる。そこで、演者らは、親水性であるアルギン酸カルシウムにリパーゼを固定化し、攪拌型のリアクターを用い油脂分解について考察するとともに、ゲル自身に疎水化処理を行ない、活性収率、安定性等種々検討をおこなったので報告する。

2. 方法 リパーゼは、市販（商品名：リパーゼMY *Candida cylindracea*由来）のものを水抽出、硫酸塩析、イオン交換クロマトグラフィーによる精製操作の後、約2000単位/mgに活性を上昇させたものを用いた。この酵素50万単位を2%アルギン酸カルシウムに固定化し攪拌羽根を有するリアクター（φ50×350mm）に500rpm、37℃で2.5ml/minの速度で油脂を供給した。疎水化処理については、ポリアリルアミン（MW 10000）アルキル化合物とグルタルアルデヒドで固定化酵素を架橋処理した。疎水性の強さは、アルキル基の鎖長、アミノ基の修飾率により変えた。

3. 結果 オリーブ油を基質とした場合、リアクターを1回通過させるだけで98.3%の分解率が得られ、2.5Lまでこの分解率は変化しなかった。しかしながら、100時間の連続反応で活性半減期となり、酵素の安定化に問題が残った。固定化酵素の疎水化処理は、ポリアリルアミンのアミノ基の10mole%をC<sub>18</sub>で修飾したものをを用いたところ、活性収率が40%となったが安定性が向上した。その他、種々知見が得られた。

Hydrolysis of immobilized lipase with a stirring reactor system.

Toshihiko Kaminuma, Keiichi Uehara, Yoshiyuki Kono\*, Kenichi Tomita\*

Shiseido Basic research, Product research Lab. Kohoku-ku, Yokohama

## 有機溶媒添加系での固定化リパーゼによる固形油脂の連続加水分解

(筑波大、応生化) ○根岸 聡 向高祐邦 佐藤誠吾 高橋穰二

1) 目的 油脂主原料のパーム油や牛脂は常温で固形であるため、そのままりパーゼで連続的に加水分解するのは困難である。そこで、このような固形油脂の連続加水分解を前報<sup>1)</sup>で示した豚骨担体に固定化したリパーゼを用いて行うため、有機溶媒の添加を試みた。

2) 方法 リパーゼは *C. cylindracea* 起源(名糖産業)のものを用い、有機溶媒にはイソオクタン<sup>2)</sup>を、固形油脂にはパーム油(mp30~50℃)を使用した。豚骨担体へのリパーゼの固定化は前報と同様に行った。反応は、邪魔板付500mlセパラブルフラスコで6枚羽根タービンでの攪拌下、37℃で行った。基質パーム油は予めイソオクタンに溶解してBufferとは別に供給した。連続反応は回分反応により分解率がほぼ100%に達したところで開始した。

3) 結果 基質及び生産物を完全に溶解し、連続分解を支障なく操作するためにはパーム油1g当り1ml以上のイソオクタンの添加が必要であった。そこで、槽内液量350ml、パーム油供給濃度25%(w/v)、反応液総流量10.2ml/hrのもとでイソオクタンの添加割合を種々変えてパーム油の連続加水分解を行った。いずれの添加割合においても基質の供給を開始して十数時間で分解率は徐々に低下し始めたが、その低下はイソオクタンとBufferを2:3の割合で供給した時最も緩やかであった。このイソオクタン添加割合においては回分反応でも最も速い分解速度が得られた。さらに、同条件下で固定化リパーゼを槽内液1ml当り40単位投入して連続反応を行った結果、約10日間70%以上の分解率が維持できた。

文献 1) 根岸聡ら：日本醗酵工学会，昭和62年度大会要旨集 p. 25.

2) 小林哲夫ら：醗酵工学，第63巻，439 (1985).

Continuous Hydrolysis of Fat by Immobilized Lipase in Organic-Aqueous Systems.

\*Satoshi Negishi, Sukekuni Mukataka, Seigo Sato and Joji Takahashi (Institute of Applied Biochemistry, University of Tsukuba, Ibaraki 305)