

氏 名	にしむらよみ 西村嘉
学位(専攻分野)	博 士 (農 学)
学 位 記 番 号	論 農 博 第 2472 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 題 目	酵素法によるバイオディーゼル燃料の生産とその反応を利用した油脂加工に関する研究

論文調査委員	(主 査) 教 授 泉 井 桂 教 授 清 水 昌 教 授 西 岡 孝 明
--------	--

論 文 内 容 の 要 旨

バイオディーゼル燃料とは動植物油由来の脂肪酸メチルを指す。現行の化学的な製造方法にはアルカリ性廃水やグリセリンを排出する問題が指摘されている。本論文では廃棄物を出さず有機溶媒も不要な、廃食用油からの酵素によるバイオディーゼル燃料の製法を開発し、さらにその反応系を利用して油脂加工を行った。主な内容は以下のとおりである。

第一章では本論文で反応の触媒に用いたトリアシルグリセロールリパーゼについて解説した。

第二章ではバイオディーゼル燃料の意義について解説し、現在の製造方法の問題点を指摘して本研究の位置づけを明らかにした。

第三章ではリパーゼによる油のメタノリシス反応系の確立を試みた。まず固定化 *Candida antarctica* リパーゼが理論量の 1/2 モル当量以上のメタノール存在下で不可逆に失活することを見出した。本量のメタノールは油に対し過飽和で反応液は 2 層である。そこでメタノール量を油に対する飽和濃度以下に抑え、理論量を 3 分割または 1/3 量と 2/3 量に分割して油に添加する、3 段階または 2 段階メタノール逐次添加反応系を構築した。その結果、本酵素は失活することなく植物油の 95% 以上を脂肪酸メチルエステルに変換した。次に本反応系の工業的なバイオディーゼル燃料の製造方法への適用を目指し、バッチおよび固定層型リアクターを用いた連続メタノリシスを行った。反応率は 100 日間にわたり低下せず固定化酵素の連続使用に成功した。さらに本反応系は食用油、廃食用油および脱ガム油のバイオディーゼル燃料への変換に適用できることも明らかにした。廃食用油および脱ガム油に含まれる水や遊離脂肪酸、炭化水素などの夾雑物は酵素法によるバイオディーゼル燃料への変換に悪影響を与えないことが確認された。

第四章では産業廃棄物である廃マグロ油脂肪酸を *C. antarctica* リパーゼでメチルエステル化し、バイオディーゼル燃料としての再資源化を試みた。脂肪酸に対し 2 モル当量のメタノールを含む本反応系中でも固定化リパーゼは安定で長期間連続使用でき、95% のエステル化率を達成することができた。このことから、本反応系が実用化可能であることが示された。

第五章では高脂血症や動脈硬化の症状改善や記憶学習能を向上させる作用を持ち、医薬品としての利用が期待されるドコサヘキサエン酸 (DHA) のエチルエステルの生成と精製を、第三、四章で確立した酵素反応系を応用して行った。固定化 *C. antarctica* リパーゼはマグロ油のエタノリシス又は DHA のエチルエステル化反応を無溶媒で長期間連続して触媒した。その結果、一連の酵素反応によりマグロ油からエチル DHA を高収率で得ることに成功した。

第六章では *Candida rugosa* リパーゼがトコフェロールには作用せずステロールの水酸基のみをエステル化すること、本リパーゼによるステロールのエステル化反応はメタノールにより阻害されることを見出した。そこでメタノール非存在下でステロールの脂肪酸エステル化反応を行った後、メタノールを添加して遊離脂肪酸のメチルエステル化を行う 2 段階反応系を構築した。本リパーゼ反応と分子蒸留を組み合わせ、大豆脱臭留出物から 76% トコフェロール (回収率 90%) および 97% ステリルエステル (ステロールの回収率 86%) が得られた。

以上のように本論文は短鎖アルコールを含む均一な反応系を構築するとリパーゼで中性脂質を短鎖アルコールエステルに効率よく変換でき、本反応がバイオディーゼル燃料の製造および油脂加工に有用であることを示した。

論文審査の結果の要旨

バイオディーゼル燃料は廃棄物の減量と再利用および大気汚染への有効な対策として期待されている。現行の化学触媒による製造方法には新たな廃棄物を排出する問題があり、酵素触媒を利用したグリーンケミストリーが求められている。しかし化学法に代わってバイオディーゼル燃料を工業的に製造しうる酵素法は現在確立されていない。本論文は実用化可能な酵素法による油の脂肪酸メチルエステルへの変換反応系の構築を目指して研究を行い、廃食用油を原料としたバイオディーゼル燃料の製造プロセスの確立と酵素による油脂加工プロセスの開発に至ったもので、評価すべき成果は以下の点である。

1. 従来無溶媒系で酵素による低級アルコールのアルコリス反応率が低かった原因は、油に対して過飽和のアルコールが酵素を不可逆的に失活させる点にあることを解明した。またアルコールによる酵素の失活は反応温度の上昇により促進されることも明らかにした。そして低級アルコールの逐次添加が固定化 *Candida antarctica* リパーゼによる油のメタノリスおよびエタノリス反応に有効なことを示した。

2. 低級アルコール逐次添加反応系において固定化リパーゼは長期間連続して油のアルコリス反応を触媒することを確認し、固定化酵素の価格に起因するバイオディーゼル燃料の製造コストの問題点を解決するに至った。

3. メタノール逐次添加反応系は精製油の他に廃食用油、脱ガム油のバイオディーゼル燃料への変換に適用できた。これらの油に混在する夾雑物は酵素によるバイオディーゼル燃料の製造に悪影響を及ぼさないことを確認し、酵素法では化学法と異なり、油から夾雑物を除去する前処理工程、反応後に触媒を除去する水洗工程は不必要であることを本論文は初めて実証した。

4. 固定化 *Candida antarctica* リパーゼは高度不飽和脂肪酸に対する作用性も高く、高度不飽和脂肪酸を含む脂肪酸をエステル化出来ることを示した。

これにより産業廃棄物のバイオディーゼル燃料としての再資源化に本リパーゼが有効であることを明らかにした。

5. 固定化 *Candida antarctica* リパーゼによるマグロ油のエタノリスおよび DHA のエチルエステル化反応系を確立し、酵素法によるマグロ油からのエチル DHA の精製工程を完成した。

6. *Candida rugosa* リパーゼのトコフェロール、ステロール、メタノールに対する作用特異性を明らかにし、これを利用して酵素反応と分子蒸留からなる大豆脱臭留出物からのトコフェロールおよびステロールをステリルエステルとして精製する工程を確立した。

このように本論文は微生物由来リパーゼの酵素的性質を明らかにするとともにその性質を利用して実用化可能な酵素法によるバイオディーゼル燃料の製造プロセスおよび油脂加工プロセスを確立したものであり、酵素化学および油脂産業に寄与するところが多い。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、平成15年1月16日、論文並びにそれに関連した分野にわたり試問した結果、博士（農学）の学位を授与される学力が十分にあるものと認めた。