ノ ー ト

リパーゼによる米ぬかアルカリ油さいの分解

中山 峯 雄・花田 まゆみ・国 生 純 孝・

町 田 晴 夫・岩 崎 慎 二 郎

名糖産業株式会社東京研究所 (東京都八王子市石川町 2973-2)

Hydrolysis of Rice Bran Alkaline Fats by Lipase

Mineo NAKAYAMA, Mayumi HANADA, Yoshitaka KOKUSHO,
Haruo MACHIDA, and Shinjiro IWASAKI

Tokyo Research Laboratory, Meito Sangyo Co., Ltd (2973-2, Ishikawa-cho, Hachioji-shi, Tokyo)

Rice bran fats, a by-product in the purification process of rice bran oil was hydrolyzed without stirring at 30°C by lipase derived from *Candida cylindracea*. The optimum pH range was 5-7. The degree of the enzymatic hydrolysis reached to more than 88% at the amount of 20 U/g-fats at pH 6.8 for 6 h. The hydrolysis was also performed with stirring in the presence of some non-polar organic solvents such as hexane, heptane, and isooctane.

1 緒 言

油脂の精製の際発生する製油副産物であるアルカリ油さい (滓) (フーツ) は酸分解あるいはけん化分解などの化学的方法で処理され、脂肪酸が回収されている。その量は国内の脂肪酸生産のかなりのシェアを占めている¹⁾。

リパーゼは油脂を加水分解する酵素として知られ、油脂から脂肪酸を製造する目的で研究された多くの報告がある^{2)~4)}。特に最近では省エネルギー、温和条件下での反応と言う観点から、リパーゼによる油脂の加水分解は注目されている。

本研究では米ぬかフーツを基質として、酵母 *Candida cylindracea* 起源のリパーゼによる加水分解について、pH、水及び酵素の量の効果について検討した。また、脂肪酸の回収を目的として有機溶媒存在下での加水分解についても検討した。

2 実 験

2.1 試 薬

リパーゼ (*Candida cylindracea*) はリパーゼ OF, 360 U/mg (名糖産業社製) を使用した。米ぬかフーツはボーソー油脂 (株) の供試品を用いた。この米ぬかフーツは、油分 65.8%, 水分 31.1% からなり、油分の酸価は 118.1, けん化価は 177.6 で、組成としては脂肪酸 75.8%, トリグリセリド 12.2%, ジグリセリド 9.2%, モノグリセリド 1.6% を含有していた。

2.2 実験方法

2.2.1 米ぬかフーツの分析

フーツを 5 倍量のエーテルに溶かし、3 N H₂SO₄ を加え酸性にした。水でエーテル層を中性になるまで洗った後硫酸ナトリウム (無水物) で脱水し減圧下でエーテルを除去し油分とした。

水分は加熱乾燥法 (105°C) で求めた。

酸価、けん化価は基準油脂分析試験法⁵⁾ に従って求めた。

油分の組成はイアトロスキャンにより以下の条件で求めた。サンプル 10 mg をクロロホルム:メタノール (2:1) 溶液 1 ml に溶解し、ホウ酸処理クロマトロード-SII (ヤトロン社製) に 1 µl スポット CHCl₃ で 7 cm 展開した後、C₆H₆:CHCl₃:MeOH/NH₄OH (8/2)=35:15:0.05 で 10 cm 更に展開した。スキャンはイアトロスキャン (TH-10 型, ヤトロン社製) で行い、クロマトコーダ-11 (SIC 社製) で各成分の面積百分率を油分の成分%とした。

2.2.2 リパーゼ活性測定方法

リパーゼの活性は、山田ら⁶⁾の方法に準じて測定し、1 min に 37°C で 1 µmol の脂肪酸を遊離するのに必要な酵素量を 1 単位 (U) とした。

2.2.3 米ぬかフーツの分解

米ぬかフーツ 100 g に 50% H₂SO₄ を加えて pH を調整し、これに 95 ml の水及び 5 ml のリパーゼ水溶液 (合わせた量を水の量とした) を加え混合し 30°C で静置して分解した。

分解率の測定：酵素分解物を 2・2・1 と同様に処理し、リパーゼによる加水分解の対象となる油分の酸価，けん化価を用い，酸価/けん化価 $\times 100$ の値を加水分解率とした。すなわち $(AV - AV_0)/(SV_0 - AV_0) \times 100$ の値を加水分解率とした。ただし，AV は酵素処理後の油分の酸価，AV₀ はフーツ油分の酸価，SV₀ はフーツ油分のけん化価を示す。

2・2・4 有機溶媒存在下での米ぬかフーツの分解

200 ml 共栓三角フラスコに米ぬかフーツ 50 g，有機溶媒 50 ml を取り，更に 50% H₂SO₄ 3.4 ml (pH 6.8)，水 45 ml を加えスターラーでかくはん混合した。これにリパーゼ溶液 5 ml を加えかくはんした。反応液から減圧下で有機溶媒を除去し，2・2・1 と同様に処理し，加水分解率を求めた。

3 結果及び考察

3・1 pH の効果

Candida cylindracea のリパーゼは弱酸性から中性付近で油脂に対しよく作用することが知られている⁹⁾。フーツの加水分解に及ぼす pH の効果を Fig.-1 に示した。

Fig.-1 Effect of pH on hydrolysis of rice bran foots by lipase.

フーツは pH 5~7 で良く分解され約 88% (酸価 170) まで分解された。pH 3 以下及び 7.5 以上ではほとんど分解されなかった。また，HCl，HNO₃ で pH を調整しても同様の分解率が得られた。

3・2 酵素量と分解率

リパーゼによる分解を経時的に調べた。結果を Fig.-2 に示す。

6 h の反応で 20~50U/(g of foots) で分解は終了した。また 5 U/(g of foots) でも 24 h の反応で 88% (酸価 170) 以上分解された。50 U/(g of foots) 作用させた分解物の油分をイアトロスキャンで分析したところ，脂肪酸 97.5%，トリグリセリド 0.6%，ジグリセリド 1.0%，モノグリセリド <0.6% であった。

3・3 水の効果

Fig.-2 Time course of hydrolysis of rice bran foots by lipase at pH 6.8.

分解における水の添加量について調べた結果を Table-1 に示す。

Table-1 Effect of water on hydrolysis of rice bran foots by lipase.^{a)}

Water (wt) : Foots (wt)	Hydrolysis(%)
1 : 1	87
0.5 : 1	88
0.05 : 1	90

a) The enzymatic reaction was carried out at the amount of lipase of 5 U/g-foots at pH 6.8 for 24 h.

水を添加する必要はほとんどなく酵素溶液だけで良いと考えられる。オリーブ油などの分解では水/油の比が 0.6 以上でないと分解は進みにくい⁸⁾が，このように少ない水で良く加水分解されるのは米ぬかフーツが良好に乳化され酵素反応に必要な充分な界面が保たれていることによるものと推察される。

3・4 有機溶媒の効果

リパーゼを用いて有機溶媒中で油脂を加水分解した報告がある^{8),10)}。分解後の脂肪酸及びグリセリンの回収という点なども考慮して，ここで有機溶媒存在下でのリパーゼによる米ぬかフーツの分解を調べた。

Table-2 Hydrolysis of rice bran foots in the presence of various solvents.^{a)}

Solvent	Hydrolysis (%)
None	88
Methyl ethyl ketone	22
Hexane	45
Hexane*	49
Hexane**	91
Isooctane	57
Heptane	43
Ether	32

a) Solvent : foots : H₂O = 1 : 1 : 1 (vol/wt/vol)

Lipase; 20 U/g-foots, pH; 6.8, Time; 24h

* 100 U/g-foots, ** 500 U/g-foots

Table-3 Effect of hexane on hydrolysis of rice bran foots by lipase.^{a)}

Hexane (vol) : Foots (wt)	Hydrolysis (%)
0 : 1	96
0.2 : 1	91
0.5 : 1	80
1 : 1	69
2 : 1	41
5 : 1	36

a) Hexane : Foots : H₂O = 0~5 : 1 : 1 (vol/wt/vol)
Lipase; 50 U/g-foots, pH; 6.8, Time; 24 h

種々の有機溶媒存在下での分解結果を **Table-2** に示す。イソオクタン、ヘキサン、ヘプタン存在下では分解されたが有機溶媒を用いないものより分解率は低かった。メチルエチルケトン、エーテル中ではほとんど分解されなかった。

ヘキサンの量を変え分解した結果を **Table-3** に示す。ヘキサンの比が高くなると分解率は低下した。*Candida cylindracea* のリパーゼはヘキサン中では安

定であることから考え、リパーゼがヘキサン中で失活したのではなく、ヘキサン共存下では加水分解活性の発現が低下したためと考えられる。

終わりに、本研究の実施に当たり米ぬかフーツを御提供いただいたボーソー油脂(株)に深謝いたします。

(昭和 60 年 7 月 15 日受理)

文 献

- 1) 吉富和彦, 油化学, **19**, 291 (1970)
- 2) 町田晴夫, フレグランスジャーナル, **11**, 44 (1983)
- 3) 佐藤 征, 赤池祥光, 船田 正, 大垣忠義, 日化, **1983**, 1358
- 4) 辻坂好夫, 岩井美枝子, 油化学, **31**, 136 (1983)
- 5) 日本油化学協会編 “基準油脂分析試験法” 2・4・1-83, 2・4・3・1-71
- 6) 山田浩一, 町田晴夫, 太田安英, 日農化, **36**, 860 (1962)
- 7) 東 俊彦, 高分子, **16**, 1220 (1967)
- 8) “食品と工業” 朝倉書店, (1983) p. 189
- 9) J.A. Blain, M.W. Akhtar, J.D.E. Pattarson, *Pakistan J. Biochem.*, **10**, 41, (1976)
- 10) 小林哲夫, 向高祐邦, 片岡 廣, 高橋穰二, 発酵工学, **63**, 439 (1985)