

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第5243809号
(P5243809)

(45) 発行日 平成25年7月24日(2013.7.24)

(24) 登録日 平成25年4月12日(2013.4.12)

(51) Int.Cl. F 1
C 1 2 P 7/64 (2006.01) C 1 2 P 7/64
A 2 3 D 7/00 (2006.01) A 2 3 D 7/00 5 0 4

請求項の数 4 (全 8 頁)

(21) 出願番号	特願2008-26005 (P2008-26005)	(73) 特許権者	592178772
(22) 出願日	平成20年2月6日(2008.2.6)		保科 定頼
(65) 公開番号	特開2009-183198 (P2009-183198A)		東京都世田谷区北沢 1-30-16
(43) 公開日	平成21年8月20日(2009.8.20)	(74) 代理人	100116285
審査請求日	平成23年1月18日(2011.1.18)		弁理士 高橋 邦明
		(72) 発明者	保科 定頼
			東京都世田谷区北沢 1-30-16
		審査官	鶴 剛史

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 発酵油と製造方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

バチルス・ミドウスジ (Bacillus midousuji) の酵素を用いて、油脂を脂肪酸とグリセリンに還元的開裂しモノアルキル化し流動点を低下させる発酵油製造方法。

【請求項 2】

バチルス・ミドウスジ (Bacillus midousuji) の酵素を用いて、油脂を脂肪酸とグリセリンに還元的開裂しモノアルキル化し流動点を低下させる健康油製造方法。

【請求項 3】

油脂にバチルス・ミドウスジ (Bacillus midousuji) の酵素を混合し、当該油脂にマイクロ波を照射して油脂の脂肪酸側鎖を切断し流動点を低下させる油製造方法。

【請求項 4】

油脂にバチルス・ミドウスジ (Bacillus midousuji) の酵素とバイオエタノールを混合し流動点を低下させる油製造方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は油脂の低流動点化と低酸化に関するものである。

【背景技術】

【0002】

油脂は、菜種油、ヒマワリ油、大豆油、パーム油などの植物由来油脂と動物由来油脂がある。バイオマス由来の燃料は、大気中の二酸化炭素を光合成によって吸収・固定化したもので、燃焼によって排出する二酸化炭素は本来大気中に存在したものである。固定と排出の循環が速やかで、総じて大気中の炭素（二酸化炭素）量を増やさない点でカーボン・ニュートラルであると評価され、カーボン・ニュートラルという概念は、バイオディーゼルの環境改善効果を評価するにあたって非常に大切なものである。

【0003】

油脂の由来が異なることで、油脂の耐酸化、低温流動特性などの特性は変化し、特性の多くは油脂の脂肪酸構成に依存している。油脂の脂肪酸がメチルエステル化されたものの耐酸化、低温流動特性などの特性も脂肪酸のそれとほぼ同様の傾向を示す。油脂の化学的
10
基本構造は、グリセロールと3つの脂肪酸がエーテル結合した分子量の大きなトリグリセリドである。油脂の燃料としての高粘度、高引火点の問題点は、この分子量が大きいことに起因しており、これを改善するためにはトリグリセリドの低分子化が必要である。多くの国々において、バイオディーゼルはモノアルキルエステルと定義されているため、バイオディーゼルの製造するにはモノアルキルエステルが最終的に生成されるような低分子化方法を採用しなければならない。

【0004】

油脂は軽油などの化石燃料と異なり芳香族化合物などを含まないため、短期的、慢性的な毒性報告例はないが、食した場合にグリセリンを構成する脂肪酸分子の長鎖構造が巨大
20
であると、ヒト細胞が、ある発癌物質でイニシエーション作用を受けた後に発癌プロモーターとして、細胞の癌化を促進する作用があることが報告されている。グリセリンの脂肪酸分子構造をできるだけ小さくすると低流動点化できる。また、脂肪酸の酸化度を下げて発癌プロモーター活性を下げることができる。

【0005】

油脂の低温流動特性について述べる。内燃油脂は動粘度、流動点、CFPP (Cold Filter Plugging Point)、引火点によって特1号から特3号まで5クラスに分類されている。軽油の燃料性状としての低温流動特性は、曇り点、流動点、CFPPによって規定される。軽油を冷却すると長鎖脂肪酸と長鎖一価アルコールのエステルである融点の高いロウ分が析出し始め、この温度を曇り点（CP）という。さらに冷却していくと析出したロウが成長し、軽油全体の流動性を失う流動点（PP）に達する。ロウ結晶は、核形成後成長
30
し、結晶面を形成して停止することを繰り返して不連続に成長し、通常200 μmの粗大な菱形板状結晶を示す。これがさらに相互に付着して三次元網目構造を形成する。そこに多量の油を吸着・吸収することにより油全体の流動性が失われ、約2%のロウ析出で油脂は凝固するといわれている。パーム油など飽和脂肪酸含有率の高い植物油で精製した燃料の曇り点（CP）と流動点（PP）は高い値を示している。特にステアリン酸メチルエステルの影響が顕著である。かかる燃料の低温流動特性が燃料の普及を妨げており、この改善方法の開発が急務となっている。

【0006】

酸化安定性（OSI：Oxidative Stability Index）について述べる。燃料中の不飽和脂肪酸メチルエステル、特にリノール酸およびリノレン酸のメチルエステルは酸化を受け
40
やすく、酸化安定性はこれらの含有量に大きく依存する。酸化は燃料装置の劣化を招くため、不飽和度が低く、酸化安定性がきわめて高いものを製造する必要がある。低温流動特性の向上には長鎖脂肪酸をグリセライドからできるだけ切り離し、同時に酸化安定性（OSI：Oxidative Stability Index）を向上させる飽和脂肪酸の含有率が高いものが期待されている。

【0007】

現在までのバイオディーゼル製造方法には以下の方法がある。一つめは、アルカリ触媒方法である。トリグリセリドの低分子化方法としてメタノール、エタノール、イソプロパノールなどの単価アルコールで多価アルコールのグリセロールと置換させるalcoholysis反応が標準的な方法として採用されている。メタノールとアルカリ触媒NaOHを用いた反
50

応で、この反応が可逆・逐次的に進行する。反応系における油脂とメタノールとは混ざり合わず、不均一相を形成する。この不均一反応に及ぼす操作因子には、温度、触媒濃度、油脂とメタノールのモル比、攪拌強度が挙げられる。モノグリセリドの触媒反応は可逆的であり、反応を正方向に促進させるためには速やかなグリセロールの分離が必須である。ついでアルカリ触媒の除去を目的とした水洗洗浄が一般的に行われる。しかし、このようにアルカリ触媒法での油脂の流動点降下を目的とする方法は反応が複数必要であり、反応過程で酸化反応をとまなうことから、さらに還元反応を追加する必要があるのが問題である。

【0008】

二つめは、酸触媒及び固体触媒を用いた方法である。酸触媒を用いた場合には遊離脂肪酸のエステル化とトリグリセリドのalcoholysisが同時に起こり、アルカリ触媒を用いる場合のように遊離脂肪酸の前処理が不要となる。しかし、これまで酸触媒を用いた燃料化の工業的生産は行われていない。これは、酸触媒による反応が、アルカリ触媒の反応に比べて著しく遅いためである。

10

【0009】

三つめは、二段階超臨界メタノール法（Saka-Dadan法）である。超臨界メタノールは触媒を使用することなく遊離脂肪酸のエステル化およびトリグリセリドのalcoholysisを起こす機能を有している。また、原料中の30%に及ぶ水分の影響も受けず、廃食油をはじめ多様な原料を燃料に変換できる方法である。超臨界（350、20-40MPa）では疎水性の油脂とメタノールが溶媒和し、均一な反応系を形成する。これによって反応速度は著しく向上する。しかし、この反応条件下で生成された不飽和脂肪酸の二重結合がシス型からトランス型に変化することが見出された。この結合状態は脂肪酸メチルエステルの融点を高めることになり、低温流動性に対して悪影響を与えることとなる。

20

【0010】

四つめは、THF（テトラヒドロフラン）を用いた均一系反応による燃料化である。テトラヒドロフラン（THF）は、無毒・不活性で水、アルコール類、エステル類、炭化水素類に可溶であり、かつ密度が0.8892g/mLで、沸点67とメタノールの物性と比べて類似している。この反応系においてメチルエステル相とグリセロール相の分離はTHF非含有系に比して速やかに起こり、またTHFとメタノールの沸点がほぼ同じであることから、エステル相およびグリセロール相からのこれらの分離は不均一系と同様に行える。しかし、この反応系ではフラン化合物のコストが高く問題が多い。

30

【0011】

軽油は石油から精製過程で分画される燃料である。エタノールとの親和性が弱くお互いに混ざり合いにくく希釈することが難しい。

【0012】

パーム油に関しては絞りたて後にボイリングして油を精製しているため脂肪酸が酸化して毒性を持ち、発癌プロモーター活性がある。パーム油は、オレンジ色をした常温で固体の油脂で、独特の芳香と甘味を持つ。主な成分はパルミチン酸、オレイン酸、リノール酸で、その他ステアリン酸、ミリスチン酸が含まれている。植物油では珍しく常温で固体で、飽和脂肪酸であるパルミチン酸を多く含むため組成全体としては牛脂に近い。パーム油のオレンジ色は、ベータカロチンに由来し、元々のパーム油にはベータカロチンが豊富に含まれる。レチノイン酸、ビタミンA、コエンザイムQ10、などは精製段階で煮沸するため色が失われ白色になる。パーム油はこのような健康維持サプリメントとしての利点と脂肪酸直鎖構造が長いこと酸化されやすいという欠点を併せ持つ。

40

【特許文献1】特願2007-117746号

【特許文献2】特願2007-149802号

【特許文献3】ミドウスジ特許 US 6,420,165 B1

【非特許文献1】Sadayori Hoshina, Masami Morotomi, and I. Bernard Weinstein. 1991. Effect of a Fecapentaene on protein kinase C. Biochemical and Biophysical Research Communications. 176: 505-510.

50

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0013】

本発明の課題は脂肪酸の酸化を防ぎながら酵素が油脂の脂肪酸とグリセリンのエーテル結合を開裂し、さらにマイクロ波を照射してその反応を促進させ、バイオエタノールを混合して流動点降下と不飽和度を下げて油脂を低酸化分子に変換することである。

【課題を解決するための手段】

【0014】

本発明者は前記課題を解決すべく鋭意研究し、油脂に酵素を作用させマイクロ波を照射しバイオエタノールを混合し流動点を測定したところ、凝固点の降下を見出し非酸化的にその反応がなされたことで本発明を完成させた。

10

【発明の効果】

【0015】

本発明によれば酵素とマイクロ波照射、バイオエタノール混合で油脂の流動点の降下及び不飽和度を下げさせられるので装置が安価となり、いわゆる化学触媒を用いないので残留化学物質の問題が無く、CO₂排出量がカーボンニュートラルであることから環境負荷の低い油脂を提供できる。また、油脂中の脂肪酸の酸化を低減化するので、燃焼装置の劣化を防ぐことができる。さらに、食用とした場合には健康油となりうる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0016】

酵素をつくる微生物はグラム陽性桿菌で、通称バチルスミドウスジ菌 (*Bacillus midousuji*) と言い、至適発育温度が65℃の好熱菌である。1995年に米国コロンビア大学と慈恵医大で冷凍保存を始めて16SリボソームRNAの塩基配列で近縁関係を作ると基準株は*Geobacillus thermodenitrificans*に97%相同で、増殖曲線モデルの計算式と実測値から計算すると、二分裂時間が6.9~7.6分となった。通称バチルスミドウスジ菌 (*Bacillus midousuji*) から得られた粗酵素は、トリプチケースソイ寒天培地 (BBL) に65℃、3時間新鮮培養後に菌苔をとって同培地に再塗布し、再培養をしたものを集菌し超音波破碎後に凍結乾燥し、乳ばちで細かく粉体化したものをを用いた。多量の通称バチルスミドウスジ菌 (*Bacillus midousuji*) から得られた粗酵素を準備する場合は安価なcorn steep liquorを用いてもよい。

20

【0017】

通称バチルスミドウスジ菌 (*Bacillus midousuji*) から得られた粗酵素の作用について述べる。基質をベンゼン環2環構造とすると、代謝経路はグルタチオン-S-トランスフェラーゼ様酵素がグルタチオンを利用して硫黄を付加親水化し、還元的にベンゼン環を開裂したと思われる中間代謝産物が認められる。2環を結びエーテル結合を切断した状態である。グリセロールの脂肪酸とのエーテル結合を切断し、トリグリセリドのalcoholysisと脂肪酸をモノアルキルエステル化していくものと予想している。

30

【0018】

マイクロ波による生体分子の切断作用について述べる。乾燥条件下においてウイルス粒子、細菌、芽胞細菌、菌類、孢子、種子の生命体がマイクロ波照射を受けることによりそのゲノムDNA、核外DNA、RNA、タンパク質その他の生体高分子がそれぞれ切断される現象を見出した。マイクロ波とは波長30cm-0.3mm、周波数1GHz-1THzの電磁波である。国際単位系における電波の周波数による分類では、マイクロ波はデシメートル波の一部、センチ波、ミリ波、サブミリ波の一部が含まれる。いわゆる純粋な誘電体である絶縁体では、電子は原子あるいは分子内に束縛されているため電流は流れないが、交番電界をかけることにより振動する。これは次のように説明される。誘電体物質を構成する各々の原子あるいは分子において、負の電荷(電子)の分布とそれと対をなす正の電荷(正イオン)の分布の中心が偏位した状態の「電気双極子」は、各々外部から加える電界の向きに応じ向きを揃えようとするが、周波数が高くなるにつれ追従できなくなり、振動や回転による分子相互の摩擦により分子内の原子間の結合を解きほぐす。このエネルギー

40

50

ー損失が「誘電損失」である。装置は、マイクロ波発振器と、加熱物質を設置し照射するための金属壁で囲まれた容器や導波管、アンテナなどの「アプリケーション」から成る。マイクロ波の照射により、鏡の部分がランダムに切断される。

【実施例 1】

【0019】

本発明の対象である脂肪酸の分子量を小さくし、流動点を降下させ酸化度を低減させた油脂としてはパーム油がある。パーム油は世界的に生産量が大きく安定していて安価である。パーム油は食品の添加物として利用されているが、トロピカルオイル一般に知られているように流動点が12と高いこと、ヒト細胞への発癌プロモーター活性が懸念されている。トリグリセリドなどの油脂のエーテル結合を開裂し、モノグリセリドと脂肪酸分子にし流動点を降下させること、還元的に行われ酸化度を低減するので飽和脂肪酸の含有率が高く、発癌プロモーター活性を抑え、油脂を健康食品に転換することができ、優良な燃料を安価に製造することができる。

10

【0020】

本発明では、通称バチルスミドウスジ菌 (*Bacillus midousuji*) から得られた粗酵素を使用できるが、より効率的にグリセリンと脂肪酸のエーテル結合を開裂するのにアルデヒド基、ヒドロキシル基を添加してもよい。常温でも活性がみられるが、好熱菌酵素なので60以上の温度帯で反応を行うと反応速度が早い。

【0021】

基質に対する通称バチルスミドウスジ菌 (*Bacillus midousuji*) から得られた粗酵素の量比は1000分の1程度でよい。反応温度と時間によって量を節約する。ガラス製容器に入れたパーム油1 mLを2区画準備し、通称バチルスミドウスジ菌 (*Bacillus midousuji*) から得られた粗酵素を量比で1000分の1 (0.1%) 使用し、処理時間を(1) 24時間、(2) 72時間とし、反応温度を65とした。対照は非酵素添加とした。反応後のパーム油を4冷蔵庫に静置し流動状態を観察した。観察結果(1) 24時間の粗酵素反応区画では非反応区画に対して10での固化時間が著しく遅くなることが確認され、粗酵素反応区画では20分間であったのに比較対比し、非反応区画では10分間であった。観察結果(2) 72時間の粗酵素反応区画では非反応区画に対比して10での固化時間がさらに延長することが観察された。マイクロ波照射区画では18時間で固化が認められなかったのに比較対比して、非マイクロ波照射区画では10分間で固化が確認された。本発明で使用するのことができるマイクロ波の周波数は100 MHz ~ 100 GHzであり、より好適に使用できるのは100 MHz ~ 10 GHzである。より効率的に油脂中の脂肪酸分子に見られる炭化水素の側鎖を切断するのに炭化水素分子に直接配位する不整分子物質 (電気双極子) を添加する方法も考えられる。

20

30

【実施例 2】

【0022】

マイクロ波を照射する時間は15分から20分以上であることが好ましい。15分以内であるとグリセリン分子に結合している脂肪酸に電磁波を十分に吸収させることができないことによって、不整分子の振動が得られないことから脂肪酸の炭化水素側鎖の切断がなされない。

40

【0023】

マイクロ波照射を間歇的に行う場合は、装置内の水蒸気による温度上昇や電磁波照射装置のアンテナ部の加熱による装置内の温度上昇がみられるので、装置全体を冷却しながら行う。例えば15分 ~ 20分照射を行い、油脂の温度上昇を観察しながらさらに15分 ~ 20分照射するようにして繰り返して行う。

【0024】

ガラス製容器に入れたパーム油1 mLを2区画準備し、1000 Wのマイクロ波発生装置 (シャープ社製RE-SD50-S) を使用し、処理時間を(1) 20分、(2) 40分とした。2.45 GHzのマイクロ波を照射した。マイクロ波照射後のパーム油を10の冷蔵庫に静置し流動状態を観察した。装置内の温度上昇に伴うパーム油の温度上昇に対してはガ

50

ラス製容器を適宜、冷凍庫に静置して冷却した。観察結果は(1)20分間のマイクロ波照射区画では非マイクロ波照射区画に対して10倍の固化時間が著しく遅くなることが確認され、マイクロ波照射区画では20分間であったのに比較対比し、非マイクロ波照射区画では10分間であった。観察結果(2)40分間のマイクロ波照射区画では非マイクロ波照射区画に対比して10倍の固化時間がさらに延長することが観察された。マイクロ波照射区画では18時間で固化が認められなかったのに比較対比して、非マイクロ波照射区画では10分間で固化が確認された。

【実施例3】

【0025】

同様の条件で、通称バチルスミドウスジ菌(Bacillus midousuji)から得られた粗酵素、マイクロ波、エタノール添加(10%)を処理する組み合わせでは、表1に示すように流動点が低下することが観察された。

【0026】

【表1】

通称ミドウスジ菌(Bacillus midousuji)から得られた粗酵素の有無(量比1000分の1(0.1%))	マイクロ波照射の有無(1000W、40分)	エタノールの有無(10%)	流動点温度
なし	なし	なし	12℃
なし	なし	あり	9℃
あり	なし	あり	6℃
あり	あり	あり	4℃
あり	あり	なし	10℃
あり	なし	なし	10℃

【実施例4】

【0027】

油脂を構成する脂肪酸分子の鎖構造が中鎖以上であると食した場合に、発癌物質でイニシエーション作用を受けたヒト細胞に、油脂には発癌プロモーターとしての癌化を促進する作用があることが報告されている。そのため油脂の脂肪酸分子構造をできるだけ小さくして低流動点化し、飽和脂肪酸含量を多くして発癌プロモーター活性を下げる必要がある。

【0028】

パーム油は植物油で常温で固体で、飽和脂肪酸であるパルミチン酸を多く含むため組成全体としては牛脂に近い。従来からパーム油に関しては、絞りたてた後にボイリングして油を精製しているため脂肪酸が酸化して毒性を持ち、発癌プロモーター活性がそのまま残るといった問題があった。また、パーム油は、オレンジ色をした常温で固体の油脂で、独特の芳香と甘味を持ち、主な成分は前述したパルミチン酸、その他オレイン酸、リノール酸、ステアリン酸、ミリスチン酸である。パーム油のオレンジ色は、ベータカロチンに由来し、元々のパーム油にはベータカロチンが豊富に含まれる。従来レチノイン酸、ビタミンA、コエンザイムQ10などは精製段階で元々のパーム油が煮沸されるため失われてしまい、色は白色になる。本発明である通称バチルスミドウスジ菌(Bacillus midousuji)から得られた粗酵素を使用する方法では低温で反応させるため健康油としての主な成分がそのまま残り、さらに脂肪酸が非酸化的に直鎖構造切断されるため、油脂は毒性と発癌プロモーター活性を減弱させ健康油となる。

【産業上の利用可能性】

【 0 0 2 9 】

パーム油など地球にやさしい植物由来の油脂の流動点を降下させ、酵素的に酸化度を低減するので飽和脂肪酸の含有率が高く、環境に対する負荷を軽減した優良な燃料を安価に製造できる。また、通称バチルスミドウスジ菌 (*Bacillus midousuji*) から得られた粗酵素を使用して低温で反応させるため、健康油としての主な成分がそのまま残り、さらに脂肪酸が非酸化的に直鎖構造切断されるため、毒性と発癌プロモーター活性を減弱させた健康油の製造が容易となる。

フロントページの続き

(56)参考文献 特表2002-505073(JP,A)
特開2005-319395(JP,A)
特開2005-278750(JP,A)
特開2004-340445(JP,A)
特開2002-336815(JP,A)
特開2002-301466(JP,A)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

C12P 7/64

A23D 7/00

CA/BIOSIS/MEDLINE(STN)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamII)

WPI