(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2005-524759
(P2005-524759A)
(43)公表日　平成17年8月18日(2005.8.18)

(51)Int.Cl.[7]	F I		テーマコード（参考）
C11C 1/04	C11C	1/04	4B064
C12P 7/52	C12P	7/52	4H059
C12P 7/64	C12P	7/64	

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 17 頁）

(21)出願番号　特願2004-503590 (P2004-503590)
(86)(22)出願日　平成15年4月29日 (2003.4.29)
(85)翻訳文提出日　平成16年12月16日 (2004.12.16)
(86)国際出願番号　PCT/EP2003/004440
(87)国際公開番号　WO2003/095596
(87)国際公開日　平成15年11月20日 (2003.11.20)
(31)優先権主張番号　102 20 525.6
(32)優先日　平成14年5月8日 (2002.5.8)
(33)優先権主張国　ドイツ(DE)
(81)指定国　EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),AU,BR,CA,CN,JP,MX,NZ,US

(71)出願人　302039841
コグニス・ドイッチュランド・ゲゼルシヤフト・ミト・ベシュレンクテル・ハフツング・ウント・コンパニー・コマンデイトゲゼルシヤフト
ドイツ連邦共和国，４０５８９デュッセルドルフ，ヘンケルストラーセ，６７
(74)代理人　100062144
弁理士　青山　葆
(74)代理人　100083356
弁理士　柴田　康夫
(74)代理人　100104592
弁理士　森住　憲一

最終頁に続く

(54)【発明の名称】Ｃ４～Ｃ１２脂肪酸の製造方法

(57)【要約】
本発明は、（a）C_4～C_{12} 脂肪酸メチルエステルを、水により、酵素の存在下、メタノールの連続除去を伴って、一段階で完全にまたは部分的に加水分解し、（b）その水解物を、有機及び水／アルコール層に分離し、（c）脂肪酸及び（部分加水分解の場合は）脂肪酸メチルエステルを含む有機層から、未転化脂肪酸メチルエステルを除く、C_4～C_{12} 脂肪酸の製造方法に関する。反応供給原料からの直接的なメタノールの除去は、転化率を増大させる。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
（a）C_4～C_{12} 脂肪酸メチルエステルを、水により、酵素の存在下、メタノールを連続除去しながら、一段階で完全にまたは部分的に加水分解し、
（b）その水解物を、有機層及び水／アルコール層に分離し、
（c）脂肪酸及び（部分加水分解の場合は）脂肪酸メチルエステルを含む有機層を、未反応脂肪酸メチルエステルから分離する、
C_4～C_{12} 脂肪酸の製造方法。
【請求項２】
加水分解を 20～80 ℃の温度で行う請求項１に記載の方法。
【請求項３】
使用される酵素が遊離または固定形状のリパーゼ及び／またはエステラーゼである請求項１または２に記載の方法。
【請求項４】
使用されるリパーゼ及び／またはエステラーゼが、Alcaligenes、Aspergillus niger、Candida antarctica A、Candida antarctica B、Candida cylindracea、Chromobacterium viscosum、Rhizomucor miehei、Penicilium camenberti、Penicilium roqueforti、Porcine pancreas、Pseudomonas cepacia、Pseudomonas fluorescens、Rhizopus javanicus、Rhizopus oryzae、Thermomyces lanugenosus からなる微生物の群から選ばれる請求項１～３に記載の方法。
【請求項５】
加水分解を 60～99 重量％の分解率で行う請求項１～４のいずれかに記載の方法。
【請求項６】
加水分解の間、反応器内で水分量が 30～70 重量％の範囲で一定に保たれている請求項１～５のいずれかに記載の方法。
【請求項７】
反応器内で加水分解の間、0～20 重量％の範囲で水分量が設定されている請求項１～５のいずれかに記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【技術分野】
【０００１】
本発明は、油脂化学原料の分野に属し、対応するメチルエステルから短鎖脂肪酸を製造する生物工学的方法に関する。
【背景技術】
【０００２】
油脂化学では、異なった鎖長分布の脂肪酸メチルエステルが生産される。より長鎖の脂肪酸メチルエステルが蒸留により分離されるとき、初留脂肪酸メチルエステルと呼ばれるものは、非常に異なった C_4～C_{12} メチルエステルの混合物であり、しばしば更なるエステル交換反応に直接使用される。
【発明の開示】
【発明が解決しようとする課題】
【０００３】
しかしながら、得られた誘導体は、不純原料に帰因して、質が悪い。従って代替法として、脂肪酸メチルエステルをまず分解し、その後、放出された脂肪酸をエステル化する。化学加水分解は、酸触媒、例えば WO 94/14743 に開示されているようなアルキルベンゼンスルホン酸の存在下行われる。従ってこの方法では、プラント内で著しい腐食を生じるスルホン酸が形成され、生成物は高い金属含有物によって汚染される。加えてこれらの方法の収率は、いまだ最適ではない。更なる問題は、環境に影響を及ぼさないような、触媒の処理である。
従って本発明の目的は、メチルエステルから短鎖脂肪酸を製造する改善された方法を提

供することであり、この方法は、確実に前記した従来技術の不利益を回避する。特に、脂肪酸は高純度及び高収率で得られるべきであり、この方法は、穏やかな条件で行われるべきである。

【課題を解決するための手段】

【０００４】

本発明は、

（a）C_4～C_{12} 脂肪酸メチルエステルを、水により、酵素の存在下、メタノールを連続除去しながら、一段階で完全にまたは部分的に加水分解し、

（b）その水解物を、有機層及び水／アルコール層に分離し、

（c）脂肪酸及び（部分加水分解の場合は）脂肪酸メチルエステルを含む有機層を、未反応脂肪酸メチルエステルから分離する、

C_4～C_{12} 脂肪酸の製造方法に関する。

【０００５】

意外なことに、メタノールの連続除去を伴う酵素加水分解は、望ましくない副生物を含まない脂肪酸を導くことが見出された。高収率が達成され、この方法は、穏やかな条件下で行え、環境適合性の全ての要求を満たす触媒を使用する。

加水分解法の間、メタノールを加水分解反応器から連続的に直接除去するなら、より早い反応が一段法で達成される。

【発明を実施するための最良の形態】

【０００６】

加水分解

脂肪酸メチルエステルは、20～80 ℃の穏やかな温度範囲で、好ましくは 30～70 ℃で、特に好ましくは 35～60 ℃で、減圧下にメタノールを連続除去しながら好ましく加水分解される。好ましい温度は、使用される酵素の活性最適条件によって予め決められる。通常、リパーゼ及び／またはエステラーゼは、遊離または固定形状で使用される。適当な酵素の典型例は、Alcaligenes、Aspergillus niger、Candida antarctica A、Candida antarctica B、Candida cylindracea、Chromobacterium viscosum、Rhizomucor miehei、Penicilium camenberti、Penicilium roqueforti、Porcine pancreas、Pseudomonas cepacia、Pseudomonas fluorescens、Rhizopus javanicus、Rhizopus oryzae、Thermomyces lanugenosus からなる群から選ばれる微生物のリパーゼ及び／またはエステラーゼである（実施例１参照）が、これらに限定されない。

好ましくは、微生物 Alcaligenes、Candida、Chromobacterium、Rhizomucor、Pseudomonas、Rhizopus 及び Thermomyces からのリパーゼ及びエステラーゼである。

【０００７】

酵素は、希懸濁液または水性濃縮液として一般に使用される。リパーゼ／エステラーゼは、担体上に固定された形状でも使用され、繰り返しバッチで再利用され得る。

【０００８】

適当な加水分解法は、水の補給によって、通常は反応器内で 30～70 重量％の範囲の一定水分量に設定されているバッチ処理である。通常、反応は 30～50 ℃の温度で、100 mbar より低い圧力、好ましくは 50～70 mbar で行われる（実施例２、３、４及び６）。

【０００９】

また好ましくは、水を連続供給し、メタノール／水を連続除去するバッチ処理を実施する加水分解法である。通常、この処理における反応器内の水分量は低い（0～20 重量％）。反応は通常、50～70 ℃の温度で、100 mbar より低い圧力、好ましくは50～70 mbar で行われる（実施例７及び８）。

【００１０】

メタノール除去が加水分解反応から空間的に及び／または時間的に分離された方法は、うまく実施できない。このように不利な方法は、JP05317063 に開示されている。

あまり好ましくない方法の例は、別個の反応容器内でのメタノール除去（実施例９）及び分縮器または例えば流下薄膜型蒸発缶によるメタノール除去（実施例１０）であり、こ

れらの方法では、有機層及び水層が加水分解反応器に連続的に循環される。時間的なメタノール除去及び加水分解の分離の一例は、実施例１１及び１２に示す。このプランに従った多段法では、短鎖脂肪酸の収率は低い。

【００１１】

後処理

加水分解後、水／アルコール層を有機層から分離し、後者を後処理する、即ち、未反応メチルエステルを有用な生成物から除去する。

加水分解時間によって、異なった分解率が得られる。例えば 60 重量％までの転化率範囲では、反応は早く完了し得るので、脂肪酸及び脂肪酸メチルエステルは、蒸留によって続いて分離されなければならない。しかしながら、90 重量％以上まで、好ましくは 95 重量％以上で完了し得るが、99 重量％まで続けることもでき、後者の場合、連続分離は必要ではない。

未反応メチルエステルは、好ましくは充填物を含む蒸留塔内で除去され、この場合、塔の濃縮部と除去部の間での原料供給が有利であることが分かった。70～100 ℃の温度範囲で、10～50 mbar の減圧で、メチルエステルを塔頂から取り出し、反応に再循環し得る。より短鎖の脂肪酸及び低沸点不純物は、ポンプで吸引され、排出空気に送られるが、この理由から下流凝縮が望ましい。得られた脂肪酸は、少なくとも 95 重量％の純度である。

【実施例１】

【００１２】

短鎖脂肪酸メチルエステルの加水分解に適したリパーゼの選択

各バッチ毎に、密閉型反応器に C8 脂肪酸メチルエステル（カプリル酸メチル）４ｇ及び水 6 ｇを入れた 15 バッチに、撹拌棒を入れ、室温で、並列に多重撹拌プレート上で撹拌する。バッチに、それぞれ工業用リパーゼまたはエステラーゼを、以下の表に従って添加する。2 時間及び 24 時間の反応後、それぞれからサンプルを取り出す。脂肪酸メチルエステル及び酵素加水分解された脂肪酸を含む有機層を分離し、分析する。

【００１３】

【表１】

使用したリパーゼ及びエステラーゼ

酵素	微生物	製造業者	mg/バッチ
Chirazym L-10	Alcaligenes sp.	Roche	40
Lipase A	Aspergillus niger	Amano	40
Novozym 868	Candida antarctica A	Novozymes	40
Novozym 525	Candida antarctica B	Novozymes	40
Lipomod 34	Candida cylindracea	Biocatalysts	40
Lipase LP	Chromobacterium viscosum	Asahi Kasei	4
Novozym 388	Rhizomucor miehei	Novozymes	40
Lipase G	Penicilium camenberti	Amano	40
Lipase R	Penicilium roqueforti	Amano	40
Lipase L115P	Porcine pancreas	Biocatalysts	40
Lipase PS	Pseudomonas cepacia	Amano	40
Lipase AK	Pseudomonas fluorescens	Amano	40
Lipomod 36 P	Rhizopus javanicus	Biocatalysts	40
Lipase F-AP 15	Rhizopus oryzae	Amano	40
Lipolase TI 100	Thermomyces lanugenosus	Novozymes	40

【００１４】

反応の転化率は、酸価の決定により調べた。

【表２】
異なった酵素を用いた場合の 2 及び 24 時間の反応後の転化率

酵素	転化率［反応 2 時間後］	転化率［反応 24 時間後］
Chirazym L-10	18.4 %	33.7 %
Lipase A	0.9 %	8.8 %
Novozym 868	2.4 %	8.3 %
Novozym 525	27.3 %	34.7 %
Lipomod 34	22.9 %	31.4 %
Lipase LP	23.9 %	36.1 %
Novozym 388 I	18.5 %	26.1 %
Lipase G	1.6 %	19.7 %
Lipase R	0.9 %	2.0 %
Lipase L115P	4.0 %	12.9 %
Lipase PS	16.3 %	27.4 %
Lipase AK	11.6 %	28.3 %
Lipomod 36 P	8.5 %	24.5 %
Lipase F-AP 15	12.7 %	12.3 %
Lipolase TI 100	18.4 %	24.1 %

【００１５】
試験した全てのリパーゼ及びエステラーゼが、短鎖脂肪酸メチルエステルに対して加水分解活性を示した。スクリーニング後、好ましいのは、微生物 Alcaligenes、Candida、Chromobacterium、Rhizomucor、Pseudomonas、Rhizopus 及び Thermomyces からのリパーゼ及びエステラーゼである。
【実施例２】
【００１６】
メタノールの連続除去を伴った短鎖脂肪酸メチルエステルの分解
付属ズルツァー塔を備えた、サーモスタットジャケット付き反応器に、水 2800 g、脂肪酸メチルエステル 1200 g 及び Lipolase（Thermomyces lipase、Novozymes 社製）40 ml を入れる。反応は、35 ℃の反応器温度、60 mbar の減圧で行う。塔頂での還流／除去比は 12：2 に設定する。撹拌速度は 300 rpm に設定する。
5 時間後、Lipolase 40 ml 及び水 500 ml を添加する。
【００１７】
反応の転化率は、酸価の決定により調べた。

【表３】
メタノールの連続除去を伴った異なった反応時間後の転化率

反応時間［h］	酸価による転化率［％］
0	0
2.5	42
23	70.6
30	75.5
44	82.6
48	84
52	86.5
68	91.6
92	94

【００１８】
留出物中、存在する、従って反応平衡から除去される留出物の量を決定する。
【表４】
メタノールの連続除去を伴った場合の転化率
－異なった反応時間後に反応平衡から除去された留出物の量

反応時間［h］	留出物の量［g］	メタノール含有量［％］
0-4.5	10	
4.5-44	80	40
44	5	25
44-68	190	14
68	3	5
68-92	160	4
92	3	2

反応バッチの水層中に、反応終了後、0.2 ％未満のメタノールが確認された。
【実施例３】
【００１９】
メタノールの連続除去を伴った短鎖脂肪酸メチルエステルの分解
付属ズルツァー塔を備えた、サーモスタットジャケット付き反応器に、水 2800 g、脂肪酸メチルエステル 1200 g 及び Novozym（Candida antarctica B lipase、Novozymes 社製）40 ml を入れる。反応は、35 ℃の反応器温度、60 mbar の減圧で行う。塔頂での還流／除去比は 12：2 に設定する。撹拌速度は 300 rpm に設定する。
24 時間後、水 300 g を添加する。
【００２０】
反応の転化率は、酸価の決定により調べた。

【表５】
メタノールの連続除去を伴った異なった反応時間後の転化率

反応時間［h］	酸価による転化率［％］
0	0
2	47
3	50.1
4	52.7
6	58.1
21	82.5
27	87.8
45	95.6

【実施例４】
【００２１】
固定化リパーゼを用いるメタノールの連続除去を伴った短鎖脂肪酸メチルエステルの分解
付属分縮器を有する加熱されたフラスコに、水 350 g、脂肪酸メチルエステル 350 g 及び固定化 Novozym（Candida antarctica B lipase、Novozymes 社製、ポリプロピレン担体に吸着されており、工業グレードの液体製剤で、担体 1 g あたり 200 mg の酵素担持）35 g を入れる。反応は、35 ℃の反応器温度、60 mbar の減圧で行う。水を連続的に約 0.75 ml/min でバッチに添加するので、時間の経過を通して反応容積は一定のままである。
【００２２】
反応の転化率は、酸価の決定により調べた。
【表６】
メタノールの連続除去を伴い固定化リパーゼを用いた異なった反応時間後の転化率

反応時間［h］	酸価による転化率［％］
0	0
1	44.0
2	52.7
3	61.6
4	66.8
5	71.4
24	94.8

【実施例５】
【００２３】
短鎖脂肪酸メチルエステルの分解における固定化リパーゼの安定性試験
安定性試験のため、予めポリプロピレン担体に吸着されている Candida antarctica B lipase（Novozym 525、Novozymes 社製）を使用する。試験は、室温、50 ℃、60 ℃及び 70 ℃で行う。このため、固定化リパーゼを、反応平衡に達するまで、短鎖脂肪酸メチルエステル（C6～C10 脂肪酸の混合物、50 重量％）及び水（50 重量％）の混合物中で撹拌する。一定間隔で（表の結果参照）、固定化酵素を濾取し、新たな脂肪酸メチルエステル及び水と混合する。それぞれの加水分解率を決定する。
【００２４】
反応の転化率は、反応の 4 時間後、酸価の決定により調べた。

【表７】
異なった期間で保存した固定化リパーゼを用いた場合の異なった温度での転化率

保存期間	転化率（室温）	転化率（50 ℃）	転化率（60 ℃）	転化率（70 ℃）
１週間	28.6 %	32.7 %	33.0 %	34 %
２週間	28.8 %	33.4 %	33.5 %	7.4 %
３週間	29.7 %	33.2 %	34.1 %	4.5 %
６週間	25.0 %	29.1 %	30.9 %	4.9 %
１３週間	26.1 %	15.2 %	13.2 %	4.5 %
１６週間	26.5 %	7.2 %	6.5 %	2.5 %

酵素の半減期は、50 ℃で約 12 週間、60 ℃で約 10 週間、70 ℃で約 1 週間、室温で 16 週間超である。

【実施例６】

【００２５】

実験スケールで固定化リパーゼを用いた繰り返しバッチでの短鎖脂肪酸メチルエステルの加水分解

付属の全体冷却器を有する、完全な留出物除去ができる、サーモスタットジャケット付き反応器に、水 25 kg、脂肪酸メチルエステル Edenor Me C6-10 20 kg 及び固定化 Novozym（Candida antarctica B lipase、Novozymes 社製、ポリプロピレン担体に吸着されており、工業グレードの液体製剤で、担体 1 g あたり 200 mg の酵素担持）2.5 kg を入れる。反応は、45 ℃の反応器内部温度、60 mbar の減圧で行う。撹拌速度は 150 rpm に設定する。前記の条件でメタノール／水留出物を製造するので、反応器内の容積は時間の経過に伴い一定であるように、水を連続的にバッチに添加しなければならない。反応完了後、反応混合物を容器から取り出し、反応器内の固定化酵素を内蔵スクリーンで濾過する。

【００２６】

各バッチの転化率は、12 時間後に比較する。反応の転化率は、酸価の決定により調べた。

【表８】
メタノールの連続除去を伴った実験スケールでの転化率

バッチ	転化率［%］
1	75
2	73
3	76
10	75
20	75
30	75
40	75

選択したパラメーターでは、40 バッチ後でさえ、固定化酵素は、転化率に関係なく活性の損失を示さなかった。

【実施例７】

【００２７】

水及びメタノールを除去した場合の短鎖脂肪酸メチルエステルの連続加水分解

加熱可能なフラスコに、脂肪酸メチルエステル 200 g、水 20 g 及びポリプロピレンに固定化した Candida antarctica B lipase 10 g を入れる。付属蒸留ブリッジを使用し、60 mbar、60 ℃で反応を行う。水を連続的に 0.25 ml/min の流速でフラスコに注入する。二バッチ目では、水を 0.5 ml/min の流速で注入する。フラスコ内の水分率は、反応期

間全体を通して 20 %より少ない。

【００２８】

反応の転化率は、酸価の決定により調べた。

【表９】

水及びメタノールの除去を伴った異なった反応時間後の転化率

反応時間［h］	転化率［%］ 流速 0.25 ml/min	転化率［%］ 流速 0.5 ml/min
0	0	0
2	37.1	
4		61.5
16	83.9	
23		96.0
24	90.4	
29.5		96.9
52	95.5	

【実施例８】

【００２９】

水及びメタノールを除去した場合の短鎖脂肪酸メチルエステルの連続加水分解

加熱可能なフラスコに、脂肪酸メチルエステル 200 g、水 20 g 及びポリプロピレンに固定化した Candida antarctica B lipase 10 g を入れる。付属蒸留ブリッジを使用し、60 mbar、70 ℃で反応を行う。水を連続的にフラスコに 0.75 ml/min の流速で注入する。フラスコ内の水分率は、反応期間全体を通して 20 %より少ない。

【００３０】

反応の転化率は、酸価の決定により調べた。

【表１０】

水及びメタノールの除去を伴った異なった反応時間後の転化率

反応時間［h］	転化率［%］
0	0
2	51.0
4	81.7
13	96.4

【実施例９】

【００３１】

分解工程とメタノール除去とを分離した場合の短鎖脂肪酸メチルエステルの連続分解

加熱可能なフラスコに、脂肪酸メチルエステル 350 ml、水 350 ml 及び固定化 Candida antarctica B lipase 35 g を入れる。加水分解反応は 35 ℃で行う。反応混合物は、120 ℃に加熱された第二フラスコに連続的に注入する。740 mbar の減圧で、メタノールをこのフラスコから連続的に除去する。第二フラスコの反応混合物は、同じ流速で反応フラスコに還流する。水を反応フラスコに添加するので、一定の反応容積が保たれる。

【００３２】

反応の転化率は、酸価の決定により調べた。

【表１１】
分解工程とメタノール除去とを分離した場合の異なった反応時間後の転化率

反応時間［h］	転化率［％］
0	0
1	32.0
2	36.0
3	37.2
4	38.5
5	39.2
6	39.8
7	40.5
24	47.3

加水分解反応は、反応フラスコから直接連続メタノールを除去した場合より著しく遅い。

【実施例１０】
【００３３】
分解工程とメタノール除去とを分離した場合の短鎖脂肪酸メチルエステルの連続分解

加熱可能なフラスコに、脂肪酸メチルエステル 350 ml、水 350 ml 及び固定化 Candida antarctica B lipase 35 g を入れる。加水分解反応は 45 ℃で行う。反応混合物を、110 ℃に加熱された分縮器に連続的に通す。740 mbar の減圧で、メタノールを連続的に除去し、残留した反応混合物を反応フラスコに還流する。反応容積を一定に保つため、水を添加する。

【００３４】
反応の転化率は、酸価の決定により調べた。

【表１２】
分解工程とメタノール除去とを分離した場合の異なった反応時間後の転化率

反応時間［h］	転化率［％］
0	0
1	32.7
2	38.4
3	47.2
4	51.6
5	55.2
6	55.9
24	74.8

加水分解反応は、反応フラスコから直接連続メタノール除去した場合より著しく遅い。

【実施例１１】
【００３５】
水層交換を伴い連続メタノール除去を伴わない短鎖脂肪酸メチルエステルの多段分解

脂肪酸メチルエステル 7.5 g、水 12.5 g 及び Lipolase（Thermomyces lipase、Novozymes 社製） を容器内で、撹拌しながら室温で反応させる。18 時間、26 時間及び 41 時間後にそれぞれ、水層を有機層から分離によって除去する。各場合、層交換後、水 12.5 g 及び Lipolase 0.1 g を添加する。

【００３６】
反応の転化率は、酸価の決定により調べた。

【表１３】
多段分解での異なった反応時間後の転化率

反応時間［h］	転化率［％］
0	0
18	38.8
26	55.9
41	70.2
60	81.8

【実施例１２】
【００３７】
短鎖脂肪酸メチルエステルの二段分解

３ｌ容の装置に、初留 C_8 脂肪酸メチルエステル 540 g を撹拌しながら入れ、水 1260 g 及び Lipolase 濃縮液 16.2 ml を添加し、その混合物を 37 ℃、300 rpm で撹拌した。加水分解は、サンプリングにより追跡した。16 時間後に加水分解を中断し、得られた第一水解物を遠心分離機に移し、水／アルコール層（水、メタノール及び酵素を含む）及び有機層（形成された脂肪酸及び未反応メチルエステルを含む）に分離した。有機層は反応器に再び入れ、水 1260 g 及び新しい酵素 16.2 ml を添加した。その混合物は同じく 37 ℃で二回目の加水分解に付した。ここでもまた、反応の進行はサンプリングにより追跡した。結果を、表１４に示す。

【００３８】
【表１４】
初留脂肪酸メチルエステルの加水分解の転化率（重量％で表示）

加水分解時間［h］	第一加水分解		第二加水分解	
	メチルエステル	脂肪酸	メチルエステル	脂肪酸
0.25	80.2	18.0		
0.5			46.2	51.8
0.75	61.1	36.9		
1.0	57.6	40.4		
1.5	49.6	48.3	42.5	55.5
2.5			40.5	57.5
4.5			37.2	60.8
16	45.0	53.0		
20			30.8	67.1

【００３９】
脂肪酸 67.1 重量％及び未反応メチルエステル 30.8 重量％を含む第二水解物を、再び水／アルコール層及び有機層に遠心分離で分離した。後者を、濃縮部と除去部の間に充填物を備えた精留塔に通し、85 ℃、20 mbar で蒸留した。6 時間後、より短鎖及び低沸点の不純物をポンプにより取り除き、C_8 脂肪酸を 95 重量％以上の純度で得た。

【実施例１３】
【００４０】
短鎖脂肪酸メチルエステルを加水分解するための様々な酵素方法の比較

実施例４、７、９、１０及び１１の方法を比較する。

実施例４は、連続メタノール除去を伴い、反応器内の水分量を一定にした加水分解法を示す。

実施例７は、連続メタノール除去を伴い、水を連続的に反応容器から除去する加水分解法を示す。ここでの反応容器内の水分量は低い。

実施例９は、連続メタノール除去を伴うが、メタノール除去と加水分解反応とが空間的に分けられている加水分解法を示す。

実施例１０は、連続メタノール除去を伴うが、メタノール除去と加水分解反応とが空間的に分けられている別の加水分解法を示す。

実施例１１は、減圧下で連続的にメタノール除去を行わず、メタノールを水層分離による平衡から除去する加水分解法を示す。

【００４１】

【表１５】

異なった方法の比較

時間 [h]	転化率 [%]	転化率 [%]	転化率 [%]	転化率 [%]	転化率 [%]
	実施例４	実施例７	実施例９	実施例１０	実施例１１
0	0	0	0	0	0
1	44.0		32.0	32.7	
2	52.7	37.1	36.0	38.4	
5	71.4		39.2	55.2	
16		83.9			
18					38.8
24	94.8	90.4	47.3	74.8	
26					55.9
41					70.2
53		95.5			
60					81.8

【００４２】

方法の比較は、反応バッチからのメタノール直接除去が最高の転化率を与えることを、明確に示している。別個の容器内での連続メタノール除去による加水分解及びメタノール除去の空間的な分離、または例えば層分離のような加水分解及びメタノール除去の時間的な分離は、満足な結果をもたらさない。

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 03/04440

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 C11C1/04 C07C51/09 C12P7/40

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 C12P C07C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E	EP 1 319 714 A (COGNIS DEUTSCHLAND GMBH & CO K) 18 June 2003 (2003-06-18) page 2, line 24 -page 3, line 2	1-5
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 199412 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D16, AN 1994-094840 XP002251694 -& JP 06 038777 A (KAO CORP), 15 February 1994 (1994-02-15) abstract	1-7
A	FALBE, JÜRGEN; REGITZ MANFRED (HRSG.): "Römpp Chemie Lexikon" 1995 , THIEME , STUTTGART; NEW YORK XP002251693 page 2650 -page 2652	1-7

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
21 August 2003	08/09/2003

Name and mailing address of the ISA	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Rinaldi, F

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/EP 03/04440

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1319714 A	18-06-2003	DE 10161274 A1	26-06-2003
		EP 1319714 A1	18-06-2003
JP 6038777 A	15-02-1994	NONE	

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 03/04440

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 C11C1/04 C07C51/09 C12P7/40

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 C12P C07C

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der Internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)
EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
E	EP 1 319 714 A (COGNIS DEUTSCHLAND GMBH & CO K) 18. Juni 2003 (2003-06-18) Seite 2, Zeile 24 -Seite 3, Zeile 2	1-5
X	DATABASE WPI Section Ch, Week 199412 Derwent Publications Ltd., London, GB; Class D16, AN 1994-094840 XP002251694 -& JP 06 038777 A (KAO CORP), 15. Februar 1994 (1994-02-15) Zusammenfassung	1-7
A	FALBE, JÜRGEN; REGITZ MANFRED (HRSG.): "Römpp Chemie Lexikon" 1995 , THIEME , STUTTGART; NEW YORK XP002251693 Seite 2650 -Seite 2652	1-7

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist
"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
21. August 2003	08/09/2003

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL – 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter
Rinaldi, F

Formblatt PCT/ISA/210 (Blatt 2) (Juli 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internes Aktenzeichen
PCT/EP 03/04440

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
EP 1319714	A	18-06-2003	DE	10161274 A1	26-06-2003
			EP	1319714 A1	18-06-2003
JP 6038777	A	15-02-1994	KEINE		

フロントページの続き

(72)発明者　ゲオルク・フィーク
ドイツ連邦共和国デー－４０８２２メットマン、レーフェルベックヴェーク１９番
(72)発明者　ウルリッヒ・シェルケン
ドイツ連邦共和国デー－４０５９１デュッセルドルフ、パスカルシュトラーセ１６番
(72)発明者　ザビーネ・ボト
ドイツ連邦共和国デー－４０２２９デュッセルドルフ、ノイシュテーターヴェーク２３番
(72)発明者　インゴマール・ムロツェック
ドイツ連邦共和国デー－４０２３７デュッセルドルフ、ヒャミソシュトラーセ３番
(72)発明者　ノルベルト・クライン
ドイツ連邦共和国デー－４０８２２メットマン、レーマーシュトラーセ１ハー番
(72)発明者　アルブレヒト・ヴァイス
ドイツ連邦共和国デー－４０７６４ランゲンフェルト、フォレレンヴェーク３７番
(72)発明者　レフェント・ユックゼル
ドイツ連邦共和国デー－４０５９７デュッセルドルフ、マルバッハー・シュトラーセ１１番
(72)発明者　ラルフ・オットー
ドイツ連邦共和国デー－８８４２２オッゲルスハウゼン、レルヒェンヴェーク１１番
(72)発明者　カロリン・マイヤー
ドイツ連邦共和国デー－４０５８９デュッセルドルフ、アム・トリッペルスベルク２１０番

Ｆターム(参考) 4B064 AD02 AD06 AD87 CA21 CA31 CB03 CC06 CC09 CE20
4H059 BA26 BA30 BC48 CA38 CA64 CA72