

微生物機能を用いた植物油のバイオディーゼル燃料(BDF)化技術に関する研究

長野工業高等専門学校 学生会員 ○島田 未来
長野県工業技術総合センター 非会員 戸井田仁一
長野工業高等専門学校 正会員 畠 俊郎

1. はじめに

今日、地球温暖化対策としてバイオマスエネルギーに関する様々な研究および技術開発が進められ、中でもバイオ燃料への関心が高まりを見せている。バイオ燃料は、化石燃料の代替物およびクリーンエネルギーとして、その有効利用が期待されている。本研究では、使用済植物油に着目し、バイオディーゼル燃料 (BDF) 化技術に関する検討を行っている。BDF とは、生物由来油から作られるディーゼルエンジン用燃料の総称で、一般的に植物油等の油脂をメタノールと反応させメチルエステル化したものをいう¹⁾。本研究では酵素触媒法に着目し、メチルエステル化の際にリパーゼ活性を持つ微生物そのものを触媒として用いる技術について検討している。微生物そのものを用いることにより、既存技術に比べ比較的容易かつ安価に BDF 生成が行えるため、技術普及が期待できる。

2. 実験概要

触媒に *Rhizopus oryzae* 9364 株を用いた場合、①純粋培養が必要となり単一菌としての維持管理が困難である、②*Rhizopus oryzae* 9364 株を維持する装置が高額となる等の技術的課題が考えられる。そこで、容易かつ低環境負荷で BDF 生成を行うため、一般環境中から油脂分解力を持つリパーゼ生産菌を選択培地により優先化・活用する技術の有効性を検証した。この技術は、滅菌処理操作が不要であるため、前述した課題を満たすことができる。一般環境中からのリパーゼ生産菌分離用培地の組成を表-1 に、集積培養の手順を図-1 に示す。土壌サンプルを任意に選定し、30℃で攪拌しながら 72 時間培養後、生育した培養物を新たな同培地に移植、同操作を数回繰り返した。最終的には、上水試験法に準じて標準寒天培地を作成し、生育菌を単離しリパーゼ活性の比較をした。また、集積培養時の培養液を 1200rpm, 5 分間遠心分離し得られた上層部分の培養液上清, 下層部分に沈殿した菌体ペレットを使用し、ガスクロマトグラフを用いて脂肪酸メチル生成 (BDF 変換) 実験を行った。併せて、メタノール添加時間およびメタノール添加量の違いによる脂肪酸メチル生成量の比較検討を行った。脂肪酸メチル生成に関する試験ケースを表-2 に示す。

3. 実験結果

リパーゼ加水分解活性の測定には、スキー場土壌由

表-1 リパーゼ生産菌分離用培地の組成²⁾

リパーゼ生産菌分離用培地	
オリーブ油	2.0%
(NH ₄) ₂ SO ₄	0.50%
K ₂ HPO ₄	0.050%
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0.025%
CaCO ₃	0.50%

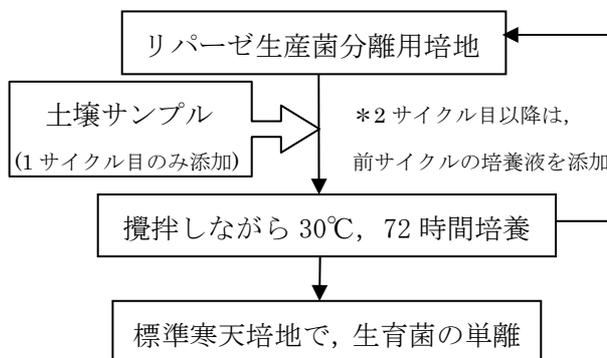


図-1 集積培養の手順

表-2 脂肪酸メチル生成に関する試験ケース

	メタノール添加時間(添加量)
case1 (上清)	0 h (1mol), 72 h (2mol)
case2 (上清)	0 h (2mol), 72h(1mol)
case3 (上清)	72h(3mol)
case4 (菌体ペレット)	0 h (2mol), 72h(1mol)

来の集積培養で得られた培養液上清を使用した。集積培養のリパーゼ加水分解活性の結果を図-2に示す。培養系から48株取得し、そのうち8株にリパーゼ加水分解活性があることが明らかとなった。また、活性値は平均0.27U/mLであった。したがって、一般環境中から選択培地によりリパーゼ生産菌の優先化が可能であることが確認された。そこで、より一般的に採取することができる本校グラウンドの土を使用し、集積培養で得られた培養物で脂肪酸メチル生成実験を行った。脂肪酸メチル生成実験に先立ち、培養液上清のリパーゼ加水分解活性を測定した結果、0.1U/mL未満であった。スキー場土壌に比べ活性値は低い活性が認められたため、培養液上清を利用した脂肪酸メチル生成実験を行った。また比較対象として菌体ペレットについても同様の試験を行った。菌体ペレットのメタノールの添加時間および添加量に関しては、*Rhizopus oryzae* 9364株を用いた予備実験で最も変換効率の高かった0h(2mol)、72h(1mol)でのメタノール添加を適用した。脂肪酸メチル生成実験の結果を図-3に示す。実験結果より、菌体ペレットを用いたcase4が最も良い変換効率を得た。また培養液上清に関しても、case2が最も高い変換効率であることから、培養液上清、菌体ペレット共に0h(2mol)、72h(1mol)でメタノールを添加することがBDF生成に最も効果的であると推察される。しかしながら、菌体ペレットについてのリパーゼ加水分解活性の測定を行っていないため、今後明らかにする計画である。

4. まとめ

本実験から得られた知見は以下の通りである。

- ◇ 選択培地により、取得した全菌体のうちリパーゼ生産菌を2割程度まで優先化させることが見込まれる。
- ◇ 土壌由来の微生物群集でも、BDF生成が可能であることが確認された。
- ◇ 変換効率は*Rhizopus oryzae* 9364株を用いた場合に比べ低いことが明らかとなった。
- ◇ 集積培養で得られた微生物群集においても、メタノールの段階添加が効果的だと推察される。
- ◇ 菌体ペレットを用いることで、変換効率の向上が期待できる。

5. 今後の予定

これまでの検討結果を踏まえ、今後は以下の項目について取り組む予定である。

- 一般環境中からより油脂分解力の高い微生物の抽出。
- 優先化した微生物についてBDF生成に適した培養条件の検討(糖類の有無等)。
- 変換効率の向上および反応時間の短縮の検討。

最終的には、滅菌処理操作などの微生物操作に関する設備を必要としない小規模飲食店で連続処理可能な装置の開発を目指して検討を進めていきたい。

参考文献

- 1) 福田秀樹：酵素法によるバイオディーゼル燃料の生産プロセス開発，*酵素 工学研究会講演会講演要旨集*，Vol. 50，pp. 37-42，2003。
- 2) 山本正和：“リパーゼ生産菌の分離”，*微生物の分離法*，東京 株式会社 R&D プランニング，pp. 694-695。

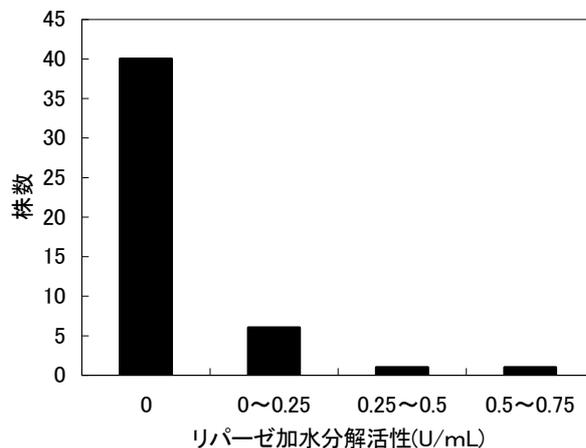


図-2 集積培養のリパーゼ加水分解活性の比較

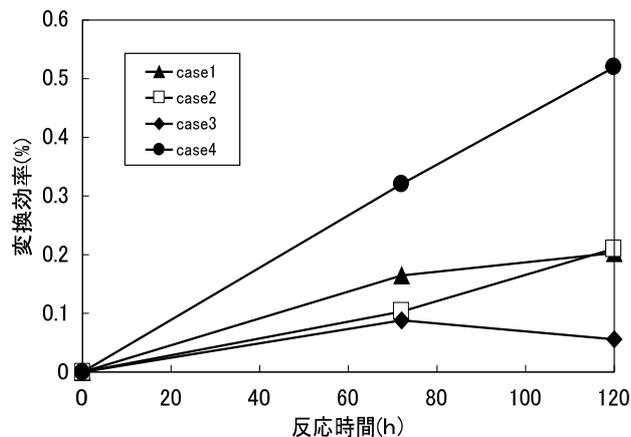


図-3 メタノールの添加時間および添加量の違いによる変換効率の比較