

## 微生物触媒法により BDF 化された使用済植物油の組成に関する研究

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

## 1. 研究の背景および目的

近年、地球温暖化・エネルギー資源問題が顕著化するとともに、バイオマスの有効利用に社会的関心が高まっている。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。本研究ではバイオディーゼル燃料(BDF)に着目し、微生物触媒法による使用済植物油の BDF 化技術に関する研究を行っている。これまでの成果として微生物触媒法による植物油の BDF 生成に関する基本的有効性が明らかになっている<sup>1)</sup>。そこで培地組成を変更することで最適条件を検討し、BDF 変換効率の向上を目指す。本文では、実用化されているアルカリ触媒法と微生物触媒法の BDF の組成の違いについて調べるとともに、農機具での稼動試験について報告する。

## 2. 試験の概要

既往の知見より、*Rhizopus oryzae* 9364(以下、*R. oryzae* と称す。)の BDF 生成への利用が可能であることが確認されている。また、リパーゼ活性が高いほど BDF 変換効率が向上することも明らかとなっている。そこで、*R. oryzae* の培養時における培地組成の油分量を変更した場合のリパーゼ活性に与える影響を明らかにし、最適条件を検討する。*R. oryzae* の培養に関する培地組成を表-1 に示す。

上記で検討した条件により大量培養を行い、その効果を確認した後、本校学生食堂で使用した植物油を用いて BDF 変換試験を行う。生成した BDF は薄層クロマトグラフィーにより定性分析を行い、微生物触媒法とアルカリ触媒法で生成した BDF の組成の違いについての比較する。また生成した BDF を洗浄処理を施し、農機具の稼動試験に使用する。稼動試験では、農機具の動作確認および GASTEC の検知管を用いて排気ガス中に含まれる窒素酸化物(以下、NO<sub>x</sub> と称す。)の濃度を測定する。本研究における試験フローを図-1 に示す。

## 試験結果および考察

## 3.1 油分量がリパーゼ活性に与える影響

リパーゼ活性の測定においては、35℃の反応槽で 1 時間反応させ測定した。図-2 に油分量の影響に関する試験結果を示す。培地組成中の油分量が多いほど *R. oryzae* 菌体についてのリパーゼ活性は高くなる傾向にあることが明らかとなった。反対に培養液上清については油分量の増加に伴いリパーゼ活性は減少する傾向がみられた。これらの結果は、*R. oryzae* は油分量によりリパーゼを保持する位置やリパーゼの分泌の仕方が異なるという報告と一致する<sup>2)</sup>。

表-1 *R. oryzae* の培養に関する培地組成(%)

|                   |         |
|-------------------|---------|
| ポリペプトン            | 1.0     |
| 酵母エキス             | 0.20    |
| MgSO <sub>4</sub> | 0.10    |
| グルコース※1           | 1.0     |
| オリーブ油             | 0, 3, 5 |

※1 リパーゼ活性測定における培養についてのみ添加

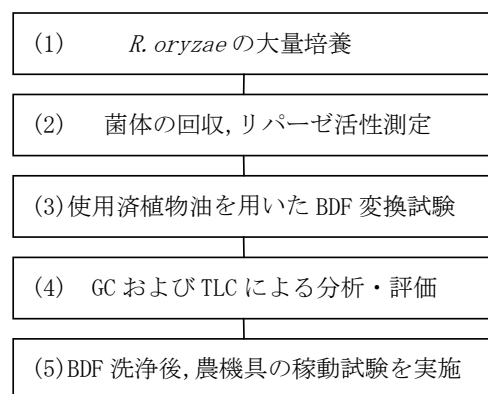


図-1 本研究における試験フロー

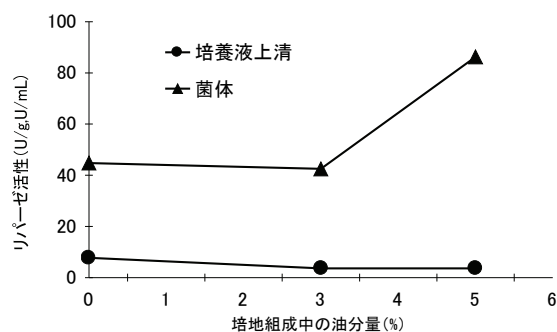


図-2 油分量の影響に関するリパーゼ活性の比較

キーワード バイオディーゼル(BDF), 微生物触媒, 薄層クロマトグラフィー(TLC)

連絡先 〒381-8550 長野県長野市大字徳間 716 長野高専 環境都市工学科 畠研究室 TEL 026-295-7096

### 3.2 大量培養・大量変換による評価試験

3.1の結果等を考慮し、BDF生成に用いる *R. oryzae* の大量培養における培地組成中の油分量を3%に設定した。培養には容量10Lのラボラトリーファーマンター(LS-10, (株)千代田製作所)を使用し、33℃で3日程度培養した。培養後、菌体を回収し使用済植物油3Lに添加した。メタノール添加タイミングについては、段階添加が効果的であることが明らかとなっているため、本試験では3段階でメタノールを合計3モル添加した。大量培養および大量変換による試験結果を表-2に示す。1度目の菌体添加の結果、85.5%の変換効率を得た。さらに高品質なBDFとするため、再度 *R. oryzae* の培養を行い、菌体と50gのメタノールをBDFへ追加した。その結果、84.0%の変換効率であり向上は認められなかった。

### 3.3 薄層クロマトグラフィー(TLC)による組成の評価

TLCを使用し、微生物触媒法とアルカリ触媒法で生成したBDF組成の違いについて比較・検討を行った。TLCによる結果を図-3に示す。*R. oryzae*により生成したBDFは菌体を2度添加することにより、トリグリセリドやジグリセリド、モノグリセリドの分解は促進されることが確認できた。しかしながら、エステル化までには至らないため、アルカリ触媒法に比べ変換効率が低いと考えられる。

### 3.4 厳冬期における農機具を対象とした稼働試験

生成したBDFを使用し、農機具稼働試験を行った。100%BDFで稼働を試みたが、エンジンは起動しなかった。試験時の気温は4.5℃であったことから、低気温による影響を受けたと考える。そこで軽油に25%混合させたところ、エンジンを起動させることができた。エンジン稼働時のNO<sub>x</sub>濃度測定結果を図-4に示す。若干ではあるが、軽油のみに比べて低い値であることが確認できた。

## 4. 実用化に向けた今後の課題

厳冬期においても軽油との混合油であれば農機具の動作を確認することができた。今後は、盛夏期においても稼働試験を実施し、動作の確認および軽油の混合割合等を明らかにしていく必要があると考えている。あわせて、微生物触媒法によるBDF精製に関するCO<sub>2</sub>収支の計算などを行い、トータルの環境負荷を明らかにしていく予定である。

### 参考文献

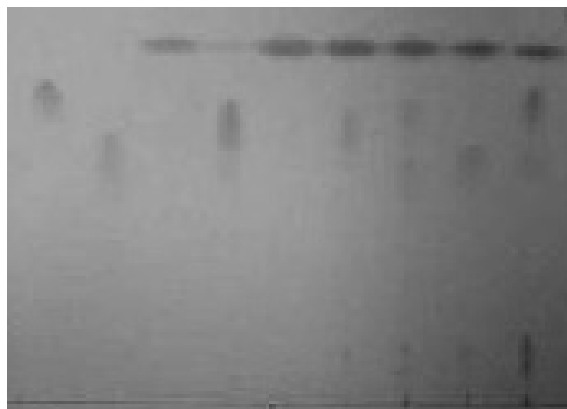
- 1) 島田未来, 梶俊郎, 戸井田仁一:微生物機能を用いた植物油のバイオディーゼル燃料(BDF)化に関する研究, 平成20年度土木学会中部支部研究発表会 VII-003, 2009.
- 2) Shinji Hama et.al:Lipase localization in *Rhizopus oryzae* Cells Immobilized within Biomass Support Particles for Use as Whole-Cell Biocatalysts in Biodiesel-Fuel Production, J. Biosci. Bioeng., Vol. 101, No. 4, 328-333. 2006

表-2 大量培養・大量変換による試験結果

|        | 1 度目       | 2 度目               |
|--------|------------|--------------------|
| 培養液量   | 7L         | 3L                 |
| 菌体回収量  | 約 440g     | 約 290g             |
| リパーゼ活性 | 62.9 (U/g) | 105.0 (U/g)        |
| 菌体添加量  | 300g       | 400g <sup>※2</sup> |
| 変換効率   | 85.5%      | 84.0%              |

※2: 1 度目に添加した菌体(300g)は未回収。

① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨



- ①トリオレイン  
②オレイン酸  
③オレイン酸メチル  
④大豆油  
⑤アルカリ触媒法(精製済みのBDF)  
⑥アルカリ触媒法(大豆油により生成したBDF)  
⑦*R. oryzae*により生成したBDF(1度目の添加後)  
⑧*R. oryzae*により生成したBDF(2度目の添加後)  
⑨*R. oryzae*を再利用し生成したBDF  
〔展開溶媒〕ヘキサン-エーテル-酢酸(90:10:1)  
〔検出試薬〕ヨウ素

図-3 TLCによるBDF定性結果

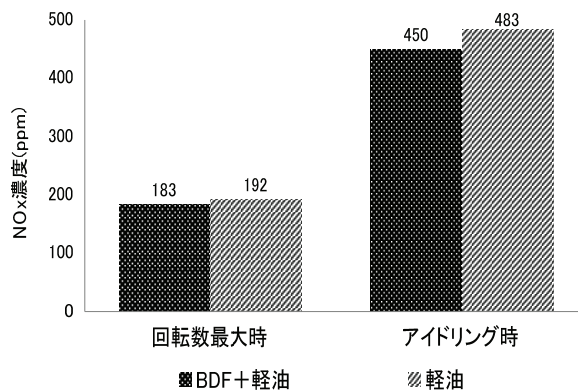


図-4 BDFと軽油のNO<sub>x</sub>濃度の比較