

微生物触媒による使用済植物油のバイオディーゼル燃料(BDF)化に関する研究

長野高専 ○非会員 土屋貴之 学生会員 島田 未来 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. はじめに

地球温暖化の対策として再生可能なエネルギーであるバイオマスの有効活用が注目されている。バイオマスエネルギーの一つであるバイオ燃料は、非枯渇性資源としての化石燃料の代替物、またカーボンニュートラルであるクリーンエネルギーとして期待されている。しかしながら、食用植物を原料とするため食糧価格の高騰などの問題も指摘されている。そのため、本研究では廃棄物である使用済植物油を利用し、微生物によるバイオディーゼル燃料(BDF)化の検討を行いリサイクルエネルギーとしての適用性について検討している。

2. 研究フレームおよび手法

バイオディーゼル燃料とは、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ある。一般的には、植物油の油脂をメタノールと反応させてメチルエステル化したものを示す。BDF 製造方法は各種低産されているが、中でも「アルカリ触媒法」は変換効率が高いことに加えて広く社会で用いられることで知られる。しかしながら、生成プロセスが複雑であり多量の廃液が出るなどの問題も指摘されている。そのため、本研究では生成プロセスが容易かつ廃液が少量である「生物系触媒法」による BDF 製造法について検討を行っている。

生物系触媒法では、酵素剤(リパーゼ)が高コストであるという課題点がある。そのため、リパーゼ活性を持つ微生物そのものの利用に着目した。これまでの研究より *Rhizopus oryzae* 9364 が BDF 生成に有効であることが明らかとなっている¹⁾。本文では、同微生物を用いた効率的な変換方法および、ディーゼルエンジンへの使用を目的とした使用済み植物油の BDF 大量変換について検討した結果について報告する。表-1 に代表的な BDF 変換技術であるアルカリ触媒法と微生物触媒法の比較表を、本研究における分析方法を表-2 にそれぞれ示す。

3. 研究の成果

既往の研究より、リパーゼ加水分解活性測定値と BDF 変換効率には関連が認められることが明らかとなっている。リパーゼ加水分解活性の高い培養条件を明らかにすることを目的とし、*Rhizopus oryzae* 9364 を各種培養条件下で 33°C、3 日間培養したのちに酵素活性をそれぞれ求めることとした。なお、分析においては菌体培養液を濾過し菌体ペレットと培養液上清に分離している。酵素活性の測定においては、35°C の反応槽で 1 時間反応させ活性を測定した。以上の作業を通じて、培養液の培地組成が酵素活性に与える影響を明らかにした。

(1) 油分含有量による比較

培養液に含まれるオリーブ油量をそれぞれ 0%、3%、5% とした培養液で *Rhizopus oryzae* 9364 を培養し、オリーブ油量が酵素活性に与える影響の検証を目的とした事件を行った。培養液の培地組成を表-3 に、測定結果を図-1 にそれぞれ示す。培養液中の油量が 5% で菌体ペレットを用いたケースが最も高い活性を示すことが明らかとなった。あわせて、培養液上清は培養液中のオリーブ油量の増加に伴って活性が低下する傾向が認められた。

本実験で得られた結果は培養液中の油量が少ないと、*Rhizopus oryzae* は菌体外にリパーゼを多く生産し、培養液中の油量が多いほど *Rhizopus oryzae* は菌体内にリパーゼを保持するという報告と一致している²⁾。

表-1 BDF 変換技術とその特徴

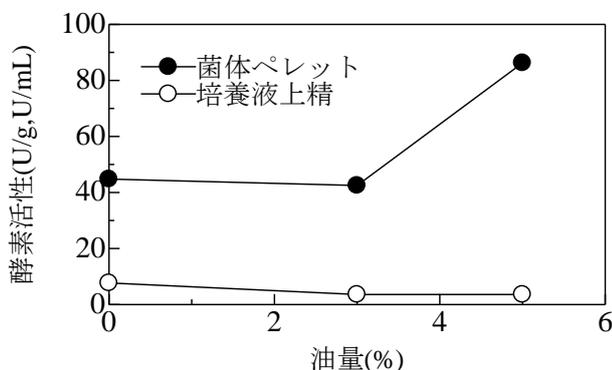
製造方法	長所	課題
アルカリ触媒法	実績豊富で処理も安定	生成プロセスが長くコスト高
	材料が安価	数回の洗浄処理が必要
	かつ入手が容易	副生成物(グリセリン)の発生
		廃液が多量 高温下で行う
生物系触媒法	廃液が少量	反応時間が遅い
	常温、常圧下で行える	酵素が高コスト

表—2 分析方法

測定項目	測定方法
酵素活性	リパーゼ加水分解活性測定においてNaOHを基準値であるpH=9.0に滴定し、コントロールとの差から酵素活性(U/g, U/mL)を算出
Nox (計画中)	検知管法により排気ガス中に含まれる窒素酸化物の濃度(ppm)を測定
CO濃度 (計画中)	自動車検時の検査機器であるBANZAIの「一酸化炭素・炭化水素複合測定器 MEXA-324G」を用いて排気ガス中に含まれるCO濃度を測定
ディーゼルスモッグ (計画中)	自動車検時の検査機器であるBANZAIの「黒煙測定器 DSM-10」を用いて排気ガス中に含まれるディーゼルスモッグ濃度を測定

表—3 培地組成一覧(50mLあたり)

ポリペプトン	0.50 g
酵母エキス	0.10 g
MgSO ₄	0.05 g
グルコース	0.50 g
オリーブ油	0%, 3%, 5%



図—1 油分含有量による比較結果

(2) 廃油を用いた BDF 大量変換実験

今回の検討で明らかとなった培養条件が廃植油の BDF 生成に有効であるかどうかの検証を目的とし、本校学生食堂で使用された食用油(3L程度)の BDF 変換を実施した。変換に用いる *Rhizopus oryzae 9364* の菌体ペレット作成には表—4 に示す培地組成の溶液を用い、容量 10L のラボラトリーフェーマンター (LS-10, (株)千代田製作所) で 33°C, 3 日間培養した菌体懸濁液を菌体ペレット源として用いた。

表—4 大量培養向培地組成

ポリペプトン	1.0%
酵母エキス	0.2%
MgSO ₄	0.1%
大豆油	3.0%

培養液の容量は 7L とし、培養後に菌体ペレットを 439.79g 回収した。回収した菌体ペレットのリパーゼ加水分解活性測定(35°Cの反応槽で 1 時間反応)を行ったところ 60.8U/g の活性を確認することができ、BDF 変換に用いることとした。この菌体ペレット 300g と使用済食用油 3L を用いて BDF 変換実験を行った。メタノール添加タイミングについては既往の研究により 3 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、本実験においても段階的にメタノールを添加して変換率の向上を図った。その結果、55.6%の変換率を得た。より高品質な BDF とするため、さらに菌体ペレットを加えた 2 回目の処理を行った。2 回目の処理では、*Rhizopus oryzae 9364* の菌体ペレット作成には前回の培養と同条件において 5L の培養液で培養を行い、294.67g の菌体ペレットを回収した。同様に菌体ペレットの活性を測定したところ 106.7U/g の活性を確認した。この菌体ペレットと前回の培養で回収した菌体を合わせて約 400g を BDF へ 添加した。その結果、2 回処理を行った後の変換効率は 75.4%となった。また生成された BDF から *Rhizopus oryzae 9364* の菌体ペレットを回収し、同様に酵素活性を測定した。酵素活性は 39.2U/g であり活性は低下しているものの、繰り返し BDF 変換への使用が期待できることが明らかとなった。

4. 今後の展開

現在、変換後の BDF を用いた農機具の稼働試験を準備している。稼働試験時には、排気ガス中の NO_x, CO, ディーゼルスモッグ濃度の測定を行い、排気ガスの成分に関して軽油と微生物触媒法による BDF の比較・評価を行う予定である。最終的には、建設現場でのディーゼル機器の BDF 使用による CO₂削減効果を求めることができると考えている。

参考文献:

- 1) 島田未来, 戸井田仁一, 島俊郎: 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, 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