

1. はじめに

近年、化石燃料の使用によって起こるエネルギー源の枯渇と、化石燃料を燃焼させることで発生する温室効果ガスによる地球温暖化が問題となっている。改善策として、本研究では、カーボンニュートラルな特徴を持つバイオマス燃料に着目した。バイオマス燃料は、温暖化対策としての有効性を持つ反面、原料となる作物の食料と燃料の競合が大きな問題となっている。本研究では、産業廃棄物として処理されている使用済植物油を、農業廃棄物の米ぬか等の穀物を利用することで、効率的にバイオディーゼル燃料化する技術について報告をする。バイオディーゼル燃料化において最も普及しているアルカリ触媒法に対し、廃液処理等の問題点を解決できる微生物触媒法に着目した。既存の研究により BDF 生成に *Rhizopus oryzae* 9364 株が有効であることが明らかとなっているので、簡易的に変換が行えるよう麹化技術を用いている。穀物に微生物を植菌し、繁殖させるため、複雑な操作が不要であるという利点を持つ。本研究では長野の地域資源である蕎麦殻に着目し、その適用性について検討することとした。

2. 研究手法および得られた知見

2-1 無菌状態における麹化菌体培養条件の検討

既往の研究よりリパーゼ加水分解活性測定により求められる酵素活性と BDF 変換率に高い相関が認められている¹⁾。本研究では、乗用車の燃料として使用可能な変換率である 96.5%を目指すことを目的とし、酵素活性の高い培養条件を明らかにするため麹作成の段階で麹化原料の比率を検討する。麹化菌体の作成手順は、1) 各麹原料に同量の純水を加える。2) オートクレーブ滅菌後に *Rhizopus oryzae* 9364 株を殖菌する。3) 30℃の恒温槽で 7 日間培養を行い、菌の成長が認められる 3 日目以降に毎日均質化を行う。この手順で麹化菌体を作成するとした。作成済麹化菌体を写真-1 に、酵素活性測定手順を図-1 にそれ

ぞれ示す。

図-2 に麹化原料と酵素活性値の比較結果を示す。米ぬかのみで作成した麹と蕎麦殻のみで作成した麹よりも、米ぬかと蕎麦殻の混合麹(以下、混合麹)で最も高い酵素活性値が得られた。また、BDF 変換の際に混合麹は油槽内で沈殿せず、変換済の BDF と麹の分離が容易であるという利点があるため、以降の検討では混合麹を使用することとした。

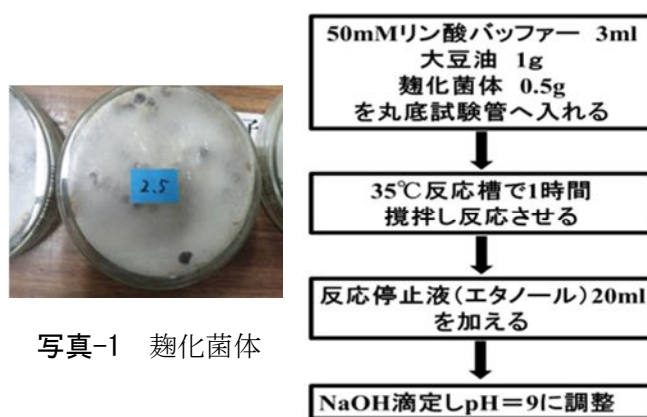


写真-1 麹化菌体

図-1 酵素活性測定手順

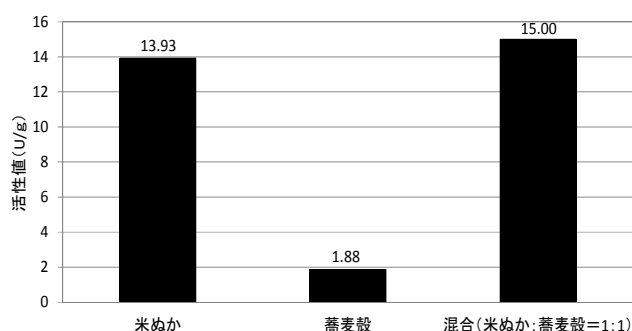


図-2 麹化原料と酵素活性値

2-2 混合麹による麹化菌体作成条件の検討

2-1 で得られた知見に基づき混合麹の麹化原料(蕎麦殻と米ぬか)の比率の検討を行う。BDF 変換率向上の為に酵素活性として 15U/g 以上の麹化菌体を作成することとした(図-1 参照)。ここで米ぬかと蕎麦殻の比率に着目し、水分量一定で米ぬか 1 に対して蕎麦殻を 1 倍、2 倍、4 倍、8 倍と変え最適な比率を検

討した。米ぬかと蕎麦殻の比率ごとに測定した麴の酵素活性の平均値を図-3に示す。培養日数は7日間とし、培養温度30℃、水分量は50%とした。このとき米ぬか：蕎麦殻＝1：4のとき酵素活性の平均値が15 U/g以上、最大値が30.5 U/g得られている。これら検討の結果から最も高い酵素活性が得られたため、現段階の麴作成において最適な比率と言える。

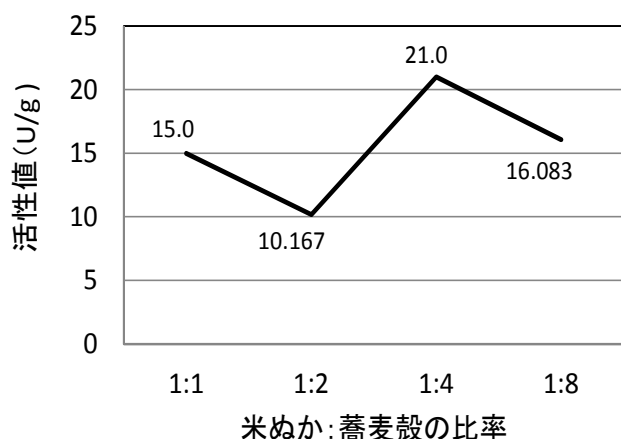


図-3 米ぬかと蕎麦殻の比率と酵素活性の関係

2-3 長期にわたる酵素活性の高い培養条件の検討

既往の知見より培養条件に関わらず、培養7日目（麴完成時）で高い酵素活性値が得られていても日数経過と共に酵素活性値が低下する問題が指摘されている²⁾。酵素活性の低下はBDF変換率の低下を意味することから、BDF変換効率を上げる為に初期の酵素活性値を長期持続させる方法について検討した。

図-4に2-2の検討で最も高い活性値を得られた米ぬか：蕎麦殻＝1：4の混合麴の培養日数7日目と14日目の酵素活性値の平均値と最大値を示す。日数の経過と共に酵素活性値が初期の値から2週間で78.6%低下している。BDF変換の為、培養7日間で油内に投入した麴化菌体を変換前、変換6週間の取出し直後、取出してから14日間経過後、の計3回について酵素活性値を測定したそれぞれの平均値をグラフに表したものを図-5に示す。油内に入っていた麴化菌体は酵素活性値が2ヶ月間で6.3%の低下に抑えられることが認められた。つまり酵素活性が高い状態で油内に投入された麴化菌体は長期間にわたり高い活性を維持する効果が期待できることが明らかとなった。

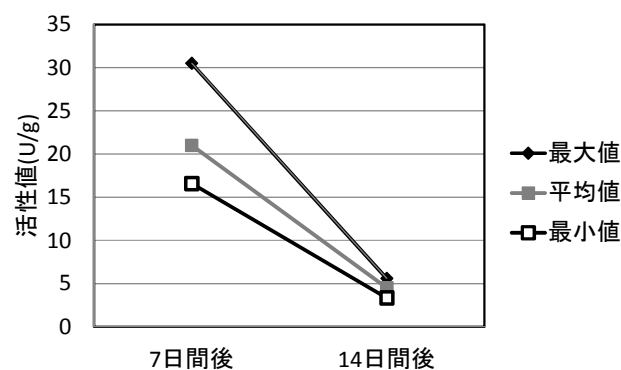


図-4 日数経過と酵素活性の関係

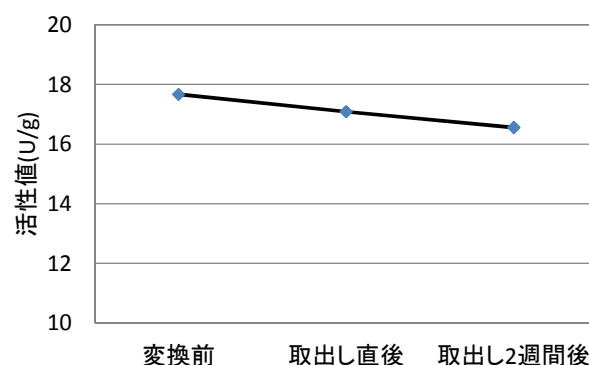


図-5 油内の酵素活性値

3. まとめおよび今後の展望

本研究で得られた知見より、米ぬかと蕎麦殻の混合麴(比率は1：4)は、既往の研究²⁾よりも高い酵素活性値が得られること、BDF生成段階で油内での麴化菌体の沈殿を改善できることが認められた。その為、現段階で最も良い麴化菌体と言える。また、酵素活性が高い状態で油内に投入された麴化菌体はその高い活性を保っていられることが認められる。

今後は明らかとなった知見より、麴作成段階で油を麴に加えての *Rhizopus oryzae* 培養の検討を行いたい。また、今回得られた最適と考えられる麴化菌体作成条件に関して、水分の適正量や培養における適正温度を明らかにするとともに、*Rhizopus* 属を利用した発酵食品からのBDF生成方法などについて検討を進めていきたい。

参考文献：

- 1) 竹内三就：微生物触媒法による使用済植物油のバイオディーゼル燃料化技術に関する検討，平成22年度長野工業高等専門学校卒業論文
- 2) 小川みちる：麴化菌体を用いた使用済植物油のBDF化に関する研究，平成23年度長野工業高等専門学校卒業論文