

近畿大学 理事長 殿  
近畿大学 学 長 殿

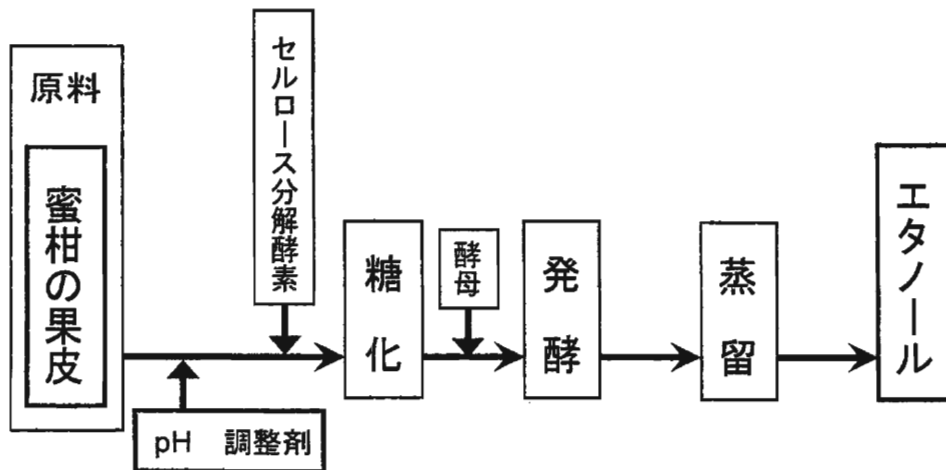
1. 研究者名 野村 正人
2. 課題番号 KD05
3. 研究課題名 柑橘果皮のバイオ由来燃料化に関する研究
4. 研究目的・内容

化石燃料の枯渇問題と地球温暖化の環境改善から、糖質、澱粉から成る農作物ならびにセルロース系の間伐材からの再生可能な代替エネルギーとしてバイオエタノール製造が注目されている。そこで、日本国内では約160万t(世界的には約850万t)が生産されている温州蜜柑の果皮(通常廃棄処理)を利用し、バイオエタノール生成に最適な糖化酵素ならびに発酵酵母を見出し、そのエタノールの利用についても検討した。

5. 研究の経過

はじめに

今年度(平成21年度)の研究内容については、下記に示した Scheme の糖化・発酵に使用する酵素および酵母を選定し、蜜柑果皮から生産されるバイオエタノールの諸条件について検討した。



Scheme 蜜柑果皮からのバイオエタノール製造工程

実験操作

1. 試料の調製

完熟期に収穫した温州蜜柑から果皮を剥ぎ、天日で乾燥(含水率9.7%)し精油を取り除き、粉碎機を用いて微粉末化し、バイオエタノール製造原料とした。

## 2. 反応操作

### 1) 糖化方法(最適条件)

100mL の蒸留水に 1%, 5% および 10% 重量(w/w) の酵素(仮称: Cellulase K) を投入した混合溶液に, 5%, 10% および 20% 重量(w/v) の乾燥した蜜柑果皮を投下し, 緩衝液として 10M-NaOH aq. を加えて, 混合溶液の pH を 4.0 付近に調整した。ついで, バイオシェーカーを用いて, 内温  $55 \pm 2^\circ\text{C}$ , 振とう数 120r/min に設定した恒温槽で 96 時間反応(糖化)を行った。(特許申請を考慮し, 酵素名を仮称とした)

### 2) 糖化(グルコース)濃度測定

糖化液を遠心分離(6000rpm/5 min)し, 上澄み液に  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}=1/1$  (v/v) の混合溶液を加えて, 2 倍量に希釈した。糖化濃度の測定には, 高速液体クロマトグラフィー[HPLC: 島津製; SPD-10A/LC-10AT 型 (Column: YMC-Pack  $\text{NH}_2$  (4.6x150 mm I.D.), 溶液:  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}=75/25$  (v/v), 流量: 1.00 ml/min)]を用いて, 検出器は示差屈折計を用いて分析した。

### 3) 発酵方法(最適条件)

2) の項で糖化された反応液を室温まで放冷し, ついで, 使用した果皮重量に対して, 1%, 1.5%, 2%, 2.5% および 3% (v/v) の発酵酵母(仮称: PK05) を添加した後, バイオシェーカーを用いて, 内温  $35 \pm 2^\circ\text{C}$ , 振とう数 120r/min に設定した恒温槽で 48~72 時間反応(発酵)を行った。(特許申請を考慮し, 酵母名を仮称とした)

### 4) エタノール濃度測定

3) の項で得た発酵液を遠心分離(6000rpm/5 min)し, 上澄み液に  $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}=1/1$  (v/v) の混合溶液を加えて, 2 倍量に希釈した。エタノール濃度の測定には, ガスクロマトグラフィー [GC: 島津製; GC-8AT 型, Column: Shimadzu C-R5A, Carrier gas: He (150kPa), Inj/Det Temp.:  $300^\circ\text{C}$ , Column Temp.:  $130^\circ\text{C}$ ]を用いて分析した。

### 5) バイオプラスチック製造

#### 5.1 マスターバッチ

発酵後の乾燥した固形残渣物(粒子  $100 \mu$ ) をポリプロピレンに 3.3% 重量練込んだ後,  $90^\circ\text{C}$  で 3 時間乾燥した。ついで,  $230^\circ\text{C}$  でペレット(茶褐色)に加工した。(写真添付)

#### 5.2 フィルムの成型

直鎖状低密度ポリエチレン(LLDPE)に 0.08% 重量の固形残渣物をドライブレンドして練込んだ後, インフレ製膜機を使用し膜厚  $35 \mu$  に設定して袋を試作した。(写真添付)

### 6) 燃焼実験(平成 22 年度予定)

製造した粗エタノールを常圧蒸留(bp.  $75 \sim 78^\circ\text{C}$ )し, 燃焼実験の試料とした。燃焼装置は, 家庭用暖房装置であるストーブを使用して, エタノール/灯油の混合比率を 0:100, 10:90 および 25:75 (vol%) に調製したものを燃料とした。

## 結果および考察

### バイオエタノール生成について

蜜柑果皮からバイオエタノールを製造する条件である糖化および発酵について, 種々検討したところ, 現時点では下記のような考察を得ることができた。

- 1) 今回の反応スケール 100 mL に対し, 使用する蜜柑果皮の重量を 5, 10, 20, 30 および 40% (v/v) に設定し, 糖化ならびに発酵過程での溶液の pH を 4.0 付近に調整 (10M NaOH aq.) することによりグルコース濃度およびエタノール生成濃度の向上が認められた。なお, 最適な本反応スケールでの使用可能な蜜柑果皮の重量は, 30% (w/v) であった。
- 2) 糖化に用いる酵素濃度は, 5% (w/w) が最も効率良く糖化(25~27%)が進行した。また, 反応時間は 72 時間が最適であることが分かった。
- 3) 発酵に用いる酵母濃度は, 3% (w/w) が最も効率良く発酵が進行した。その際のエタノール回収率は 21.7~22.1% (v/w) となった。反応時間としては, 48 時間が最適であることが分かった。

バイオエタノールの燃焼実験について

燃焼用の原料として常圧蒸留し得たバイオエタノールの純度をGC-MS分析装置で行ったところ、85.5%であることを確認した。その他の成分として、水分 7.2%、2-アミノ-1-プロパノール 5.2%、2-メチル-3-ブテン-2-オン 0.3%、フルフラール 0.8%およびリモネン 1.0%であったことから、これら不純物の除去については、簡便手法を導入して純度向上を検討する予定(平成 22 年度)である。そこで、比較データとして、市販品のエタノール(98%純度)に灯油を任意の割合(0:100, 10:90, 25:75(vol%))で混合し家庭用暖房装置(石油ストーブ)を用いて燃焼実験を行った。その結果を表 1 に示す。

表 1 バイオエタノールの燃焼試験結果(市販品エタノールを代替使用)

エタノール : 灯油 (vol%)	ガス温度 (°C)	燃焼ガス成分									
		有機系					無機系				
		CH <sub>4</sub> *	C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> *	C <sub>3</sub> H <sub>8</sub> *	iso-C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> *	n-C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> *	No <sub>x</sub> *	O <sub>2</sub> **	CO*	CO <sub>2</sub> **	N <sub>2</sub> **
0 : 100	420~440	4	<1	<1	<1	<1	30	13	40	5.4	81.4
10 : 90	360~380	4	<1	<1	<1	<1	20	15	30	4.5	80.9
25 : 75	260~270	4	<1	<1	<1	<1	10	16	10	3.3	80.4

\*vol ppm      \*\* vol%

その結果、エタノールの配合割合が増加するごとにガス温度は低下(420→ 260°C)する傾向が認められ、有害物質である無機系の排気成分 NO<sub>x</sub>, CO および CO<sub>2</sub> の量が 1/3~1/4 程度に抑えられることが分かった。なお、今回製造したバイオエタノールと市販品エタノールの発熱量(cal)を比較すると、バイオエタノールでは 6340cal, 市販品エタノールでは 6940cal であることを測定した。

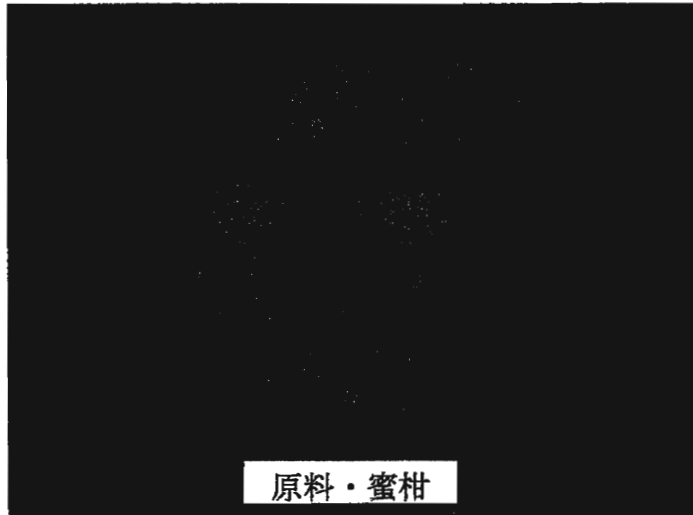
6. 本研究と関連した今後の研究計画

昨年度は、バイオエタノール生成の反応条件で大事な要素である酵素ならびに酵母の種類を特定することができ、バイオエタノールを製造することができた。本年度は、これらの酵素、酵母をもとに、経済的収率に立った高糖化率・高発酵率を目的に、再度反応条件を追求する予定である。また、昨年度確認した副反応より不純物として含有する 2-アミノ-1-プロパノール、2-メチル-3-ブテン-2-オン、フルフラールおよびリモネンの生成を抑えることができる反応条件についても検討する。さらに、製造したバイオエタノールに含まれているこれら不純物を簡便な方法で除去する方法を検討し、燃焼実験を行う。また、自動車ならびに農耕器具の燃料として、使用可能であるか否かについても燃焼実験(排ガス、熱量等の測定)を行い、同時に使用した部品に及ぼす劣化などについても検討する予定である。

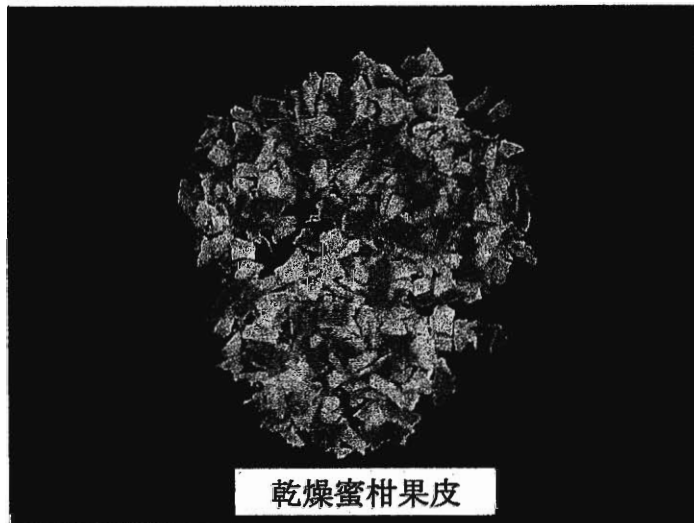
7. 成果の発表

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)	添付(済・未)
なし			添付(済・未)
			添付(済・未)
			添付(済・未)
			添付(済・未)
			添付(済・未)

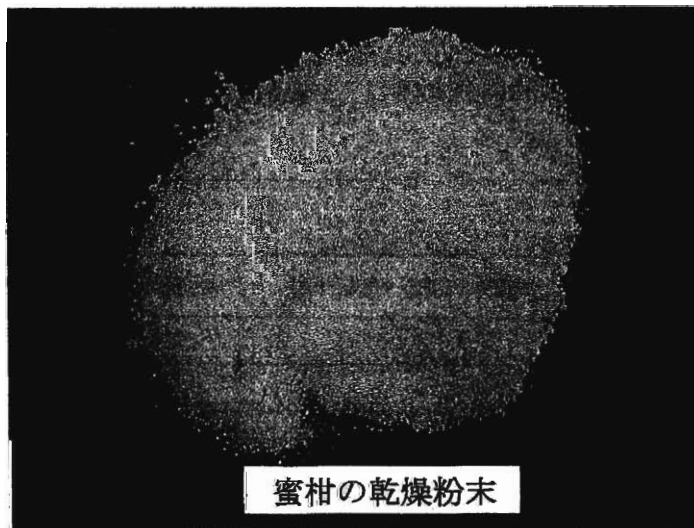
※現時点において別刷または著書等の現物が添付できない場合は、発表され次第すみやかに提出してください。



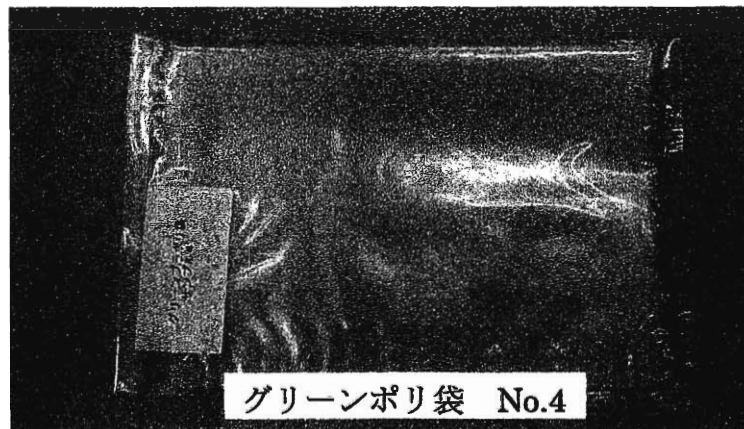
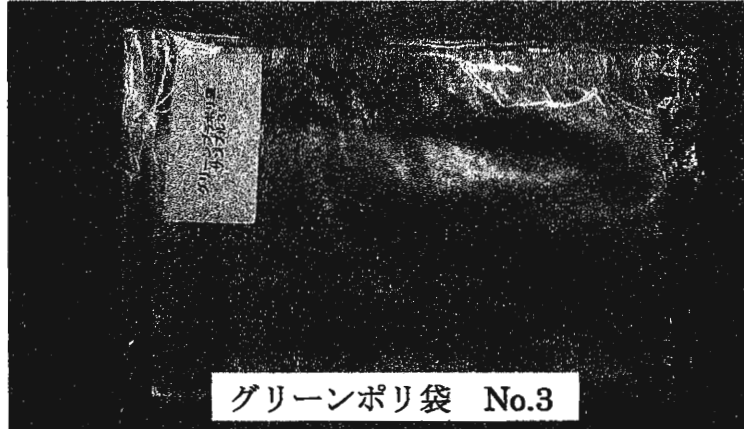
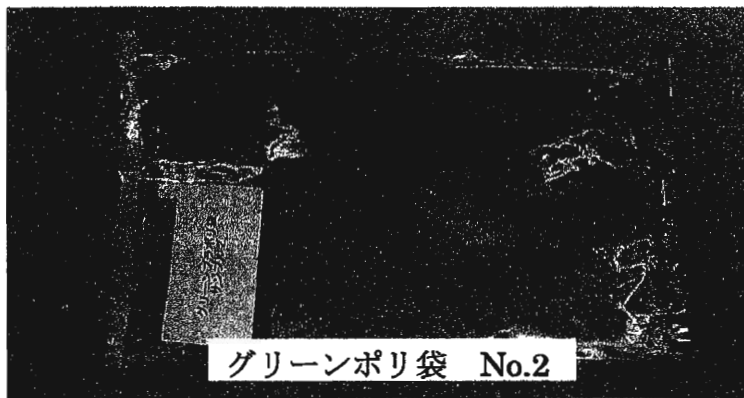
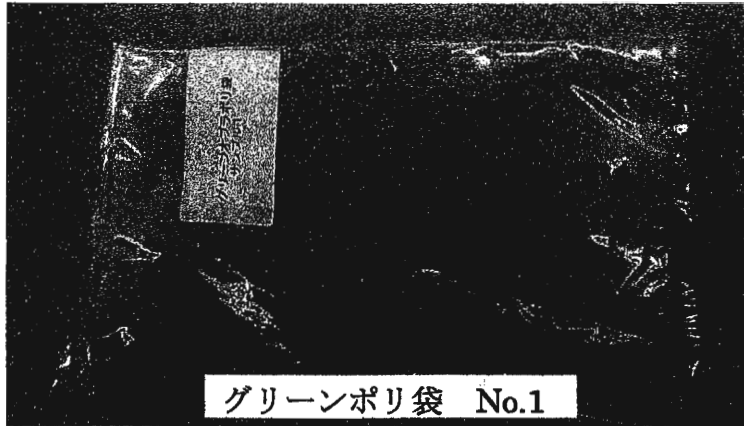
原料・蜜柑

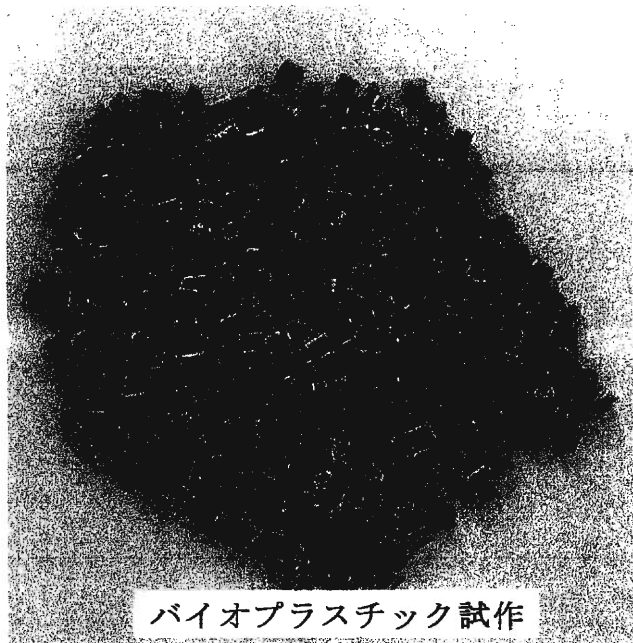


乾燥蜜柑果皮



蜜柑の乾燥粉末





バイオプラスチック試作