

凝集性酵母を利用した焼酎蒸留排液の処理

浜崎幸男, 山口 巖, 緒方新一郎*, 瀬戸口真治

Treatment of Waste Stillage from Shochu Production using Flocculent Yeast

Yukio HAMASAKI, Iwao YAMAGUCHI, Shinichiro OGATA*
and Shinji SETOGUCHI,

甘藷焼酎蒸留排液は、BOD値が高く、その上ろ過しにくいいためその処理が非常に困難である。今回、ろ過性の改善を目的として、国税庁醸造試験所より譲与された凝集性酵母、*Hansenula anomala* J-224を使って、接触処理と酵母培養処理の2方法によるイモ焼酎蒸留排液の処理について検討した。

イモ焼酎蒸留排液を遠心分離して得た上澄液は、この酵母の培地として秀れ、また培養後の残液のBOD除去率は約65%であった。

接触処理の場合の最良の条件は、温度40℃、pH4.0付近、菌体濃度 1×10^9 cells/ml以上、接触時間10分以上であった。更なるろ過機によるろ過試験を行い、接触処理の効果を認めた。

酵母培養処理の場合、培養時間96時間以上、培養温度30℃、初発の菌体濃度 1×10^9 cells/ml以上の時、最もろ過性が良かったが、BOD除去率は接触処理法に比べ悪かった。

1. はじめに

甘藷焼酎及び黒糖焼酎は、現在でもなお、ほとんどが直接吹き込み式により常圧で蒸留されており、排出される際には、張り込んだモロミの約10~15%増となっている。現在この蒸留排液は、土地還元や海洋投棄などにより処理されているが、その規制はますます厳しくなっている。排液の有効利用、例えば飼肥料化、酵母の利用などについて研究がなされているが、利用には多大の費用を要する。甘藷焼酎蒸留排液は、固形分約5%で大部分が水分であり、その処理法を考える場合には、この固形分と水分を分けて考えることが望ましい。しかしながら、甘藷焼酎の場合は、この分離が特に困難である。

我々は今回、国税庁醸造試験所から譲与を受けた、凝集性酵母*Hansenula anomala* J-224を甘藷焼酎蒸留排液に利用し、そのろ過性の改善を目

的として試験を行ったので、その結果を報告する。

2. 実験方法

2.1 前培養

Hansenula anomala J-224(以下J-224株)を斜面培地から1白金耳とり、YM培地(酵母エキス0.3%、麦芽エキス0.3%、ポリペプトン0.5%、グルコース1%)で30℃2日間、100rpmで振盪培養する。

2.2 本培養

排液を3,000rpm、10分間遠心分離して、その上澄液をさらにセライトろ過した液を本培地とした。この培地100mlに前培養液1mlを加えて、前培養と同様に培養した。

2.3 接触処理及び酵母処理

図1に示す方法で接触処理は本培養液を遠心分離して菌体を集め、適当量の水に懸濁させ排液に加え、かき混ぜてろ過した。また、酵母処理は本培養液の適当量を取り、排液に加えて100rpmで振盪培養した後ろ過した。

* 大門酒造協業組合

* Okuchi Shuzo Cooperative

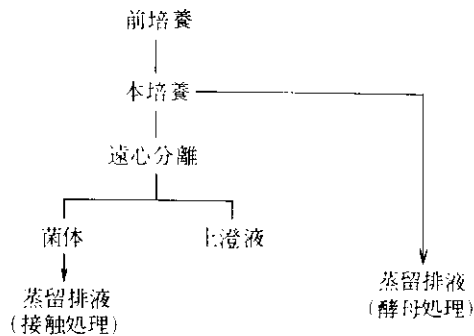


図1 接触処理法及び酵母処理法

2. 4 ろ過試験

桐山製ロータを使用し、接触処理ではろ過径4 cm、酵母処理では6 cmのろ紙No. 3を使い、 Δ P 500 mmHgで吸引ろ過した。接触処理の場合には30 ml、酵母培養では40 mlに要する時間(秒)より換算して、1分当りのろ液量ml/minをろ過速度として表わした。

2. 5 酵母濃度の測定

2. 2に従って、得られた培養液中の酵母濃度を予め測定した。測定法は佐藤ら²⁾の方法に従った。すなわち、本培地で30°C、2日間、100rpmで振盪培養した後、集菌洗浄し、プロナーゼE (0.02Mトリス、塩酸緩衝液pH 7.6)を加え、35°C 1時間処理後、660nm、10mmセルで吸光度を測定すると同時に平板培養を行い、1 ml当りの菌体数を計測した。

2. 6 成分分析

TOCは住友化学工業製GCT-12N型で、有機酸は昭和電工製Shodex LC DG-1で測定した。

2. 7 ろ過機によるろ過試験

2. 7. 1 酵母培養

排液を遠心分離して得た上澄液15 lにJ-224株を接種し、ジャーファーマンターにより48時間培養した後、静置し、酵母菌体を集めた。

2. 7. 2 処理法

排液15kgを40°Cに加温、かき混ぜながら酵母菌体を約 1×10^9 cells/mlになる様に加えて、40°Cで30分間保った後ろ過した。対照として、酵母菌体の代わりに同量の水を加えて、同様に処理した。

2. 7. 3 ろ過

ダイナミックフィルターMMDF200型(NSKエンジニアリング)を使い、ろ過段数2段、ろ過面積 0.16m^2 でろ過試験を行った。ろ過圧力は $1.6\text{kg}/\text{cm}^2$ であった。

3. 結果及び考察

3. 1 甘藷焼酎蒸留排液の培地としての適性

2. 2に従って調整した排液の上澄液培地に、J-224株を30°C、48時間100rpmで振盪培養した後、菌体数を測定した結果を表1に示した。比較として、酵母の標準的な培地としてよく使われるYM培地での結果も併せて示した。

表1よりこの菌は、上澄液によく生育し、培地1 ml当り 1.5×10^9 cellsとYM培地と比較しても遜色がなく、また、培養後のBOD除去率も65%と比較的高いことがわかる。

斎藤ら³⁾は、*H. anomala* J-45-0及び*H. fabianii* J-640を使って、各種焼酎蒸留排液の培地としての評価を行った。その結果、無蒸煮白糖麹—無蒸煮白糖焼酎の場合を除き、蒸留排液は対照としたYM培地よりも酵母培地として優れていることを明らかにした。筆者らの使用したJ-224株の場合においても、排液は培地として優れたものであることがわかった。

次に、この培養の前後における有機酸及び糖分の消長について調べた結果を、それぞれ表2と図2に示した。

表1よりpHは、培養の前後において酸性側から中性へ移行する傾向がみられた。そこで培養前後の有機酸の消長を調べた。表2に示した様に、有機酸の減少が大きく、特に有機酸の大部分を占めるクエン酸、リンゴ酸の減少が著しい。これは酵母の資化によるものと思われ、この結果pHが中性側へ傾いたと考えられる。

次に、糖類の消長を図2に示した。培養後では糖類の減少が大きく、中でもグリセリンと同定されたR.T 17,397のピークは、培養後はほとんど消失していることが観察された。

表1 甘藷焼酎蒸留排液の培地としての評価

区分	培養前		培養後			
	pH	600 (mg/l)	菌体数 (cells/ml)	pH	BOD (mg/l)	BOD除去率 (%)
Y M 培地	5.95	17,700	1.0×10^9	5.39	4,400	75.1
上澄液培地	4.07	39,500	1.5×10^9	7.57	13,700	65.3

表2 上澄液における有機酸の消長 (mg/l)

項目	区分	培養前	培養後
クエン酸	酸	3,416	87
リンゴ酸	酸	1,221	153
コハク酸	酸	681	111
乳酸	酸	67	—
ギ酸	酸	45	36
酢酸	酸	400	13
ピログルタミン酸	酸	402	269

3.2 接触処理について

3.2.1 接触温度の影響

予め所定の温度に達した排液50gに、2.2の方法で得られた菌体を 1×10^9 cells/mlの濃度になる様に加え、かき混ぜながら所定の温度に30分間保った。その後、①そのまま室温に放置して室温(20℃)になってからろ過する。②放置せずに終了後直ちにろ過する。この様にして、20~80℃の温度の影響について調べた。なお、同量の水を加えて同様に処理したものを対照とした。

図3にこの結果を示した。この結果から、次のことが明らかである。

イ) 酵母菌体を加えない場合(対照)にはろ過

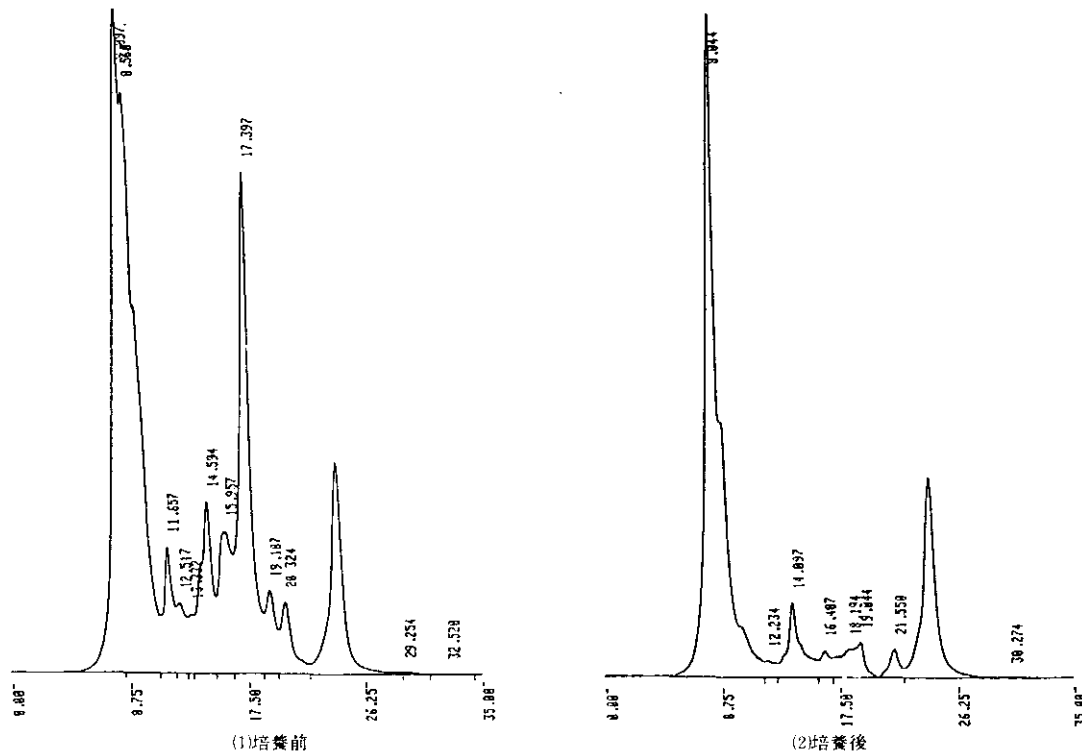


図2 上澄液における糖類の消長

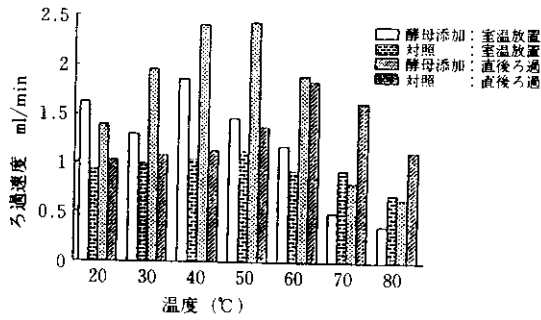


図3 接触処理における温度の影響

時の温度は高い程ろ過性が良くなるが、60℃を最高にその後は悪くなる傾向がみられる。

ロ)酵母添加した場合には、室温放置あるいは、直後ろ過のいずれの場合においても、40℃付近が最も良く、60℃以上になると逆にろ過性が悪くなる。

佐藤ら²⁾によると、J-224について温度と凝集率の関係を調べた結果、50℃まではほとんど凝集率は変わらなかったが、80℃以上の温度では、フロックの分散が認められた。そしてこの菌株の凝集は、酵母細胞表面のタンパク質が、酵母どうしの凝集に関与していると推定している。

筆者らの実験においても、同様の特徴がみられた。また、ろ液のTOC、pHを測定したが、変化は認められなかったので、以後の実験では特に測定しなかった。

3.2.2 pHの影響

排液50gにHClまたはNaOH溶液を加えて、pH3~9とし、これに1×10⁹cells/mlになる様に菌懸濁液を加え、35℃に達温後、5分間かき混

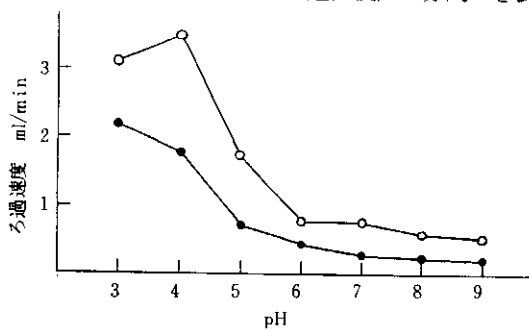


図4 pHとろ過性
温度35℃ 接触時間5分 ● 対照

ぜながら保った後、直ちにろ過した結果を図4に示した。

この結果から明らかな様に、pH4.0付近が最もろ過性が秀れていた。本格焼酎の蒸留排液のpHは4.0付近にあるので、pHを調整することなくそのまま処理できることは、好都合であると考えられる。なお、Ca(OH)₂などのCa塩の添加により、ろ過性は幾分よくなるが⁽⁴⁾、NaOH液ではその効果はみられず、むしろろ過性は悪くなった。

3.2.3 菌体濃度の影響

排液に添加する酵母菌体濃度、2×10⁸~2×10⁹cells/ml、接触温度35℃で5分間反応させてろ過性を調べた結果を図5に示した。

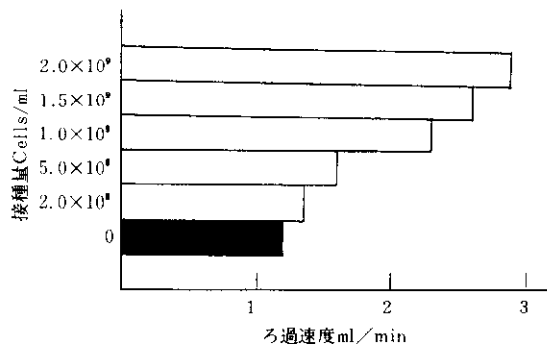


図5 菌体濃度とろ過性
温度35℃ 接触時間5分
■ 対照

酵母濃度は、高いほどろ過性が良くなった。

3.2.4 接触時間の影響

接触時間を5、10、30、60分とし、温度40℃、菌体濃度1×10⁹cells/mlで行った。菌体懸濁液

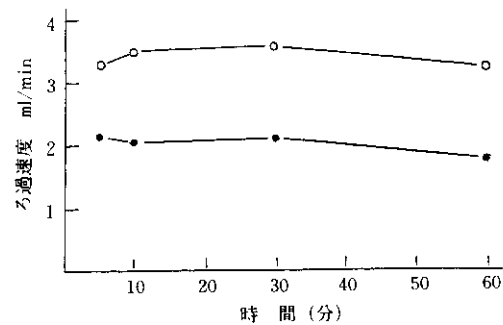


図6 接触時間とろ過性
温度40℃, 1×10⁹ Cells/ml
● 対照

の代わりに、水を加えたものを対照として用いた。その結果を図6に示した。

接触時間としては、10分以上ではほとんど変化がなかった。

3. 3 酵母処理について

3. 3. 1 培養温度の影響

排液100gに、2. 2の方法で得られた培養液1mlを接種し、20, 25, 30, 35, 40℃にそれぞれ48時間100rpmで振盪培養した後、直ちにろ過した。種菌1mlの代わりに水1mlを加えたものを対照とした。その結果を図7に、また、その時のTOCの変化を表3に示した。

培養温度としては、20~30℃が適当であった。35℃以上になると、ろ過性が悪くなった。

佐藤ら²⁾は36℃を超えると、増殖が著しく低下することを報告しているが、我々の実験結果もこ

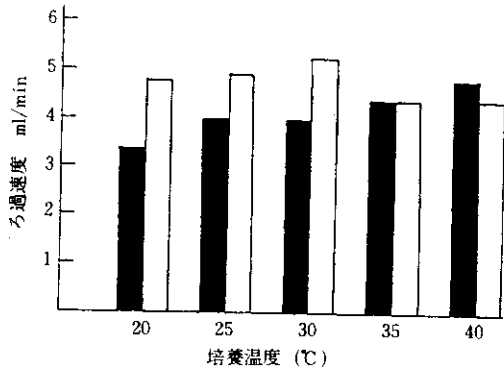


図7 培養温度とろ過性
接種量 1×10^9 Cells, 48hr, 100. r. p. m.
■ 対照

れとよく一致している。培養前後の菌濃度は測定しなかったが、恐らく35℃以上は菌の増殖に不適であり、そのためにろ過性の改善がみられなかつ

表3 TOCの変化

	20		25		30		35		40	
	対照区	試験区	対照区	試験区	対照区	試験区	対照区	試験区	対照区	試験区
pH	3.92	4.00	4.03	3.95	4.06	4.05	4.02	4.08	4.08	4.08
TOC (mg/l)	16,440	12,400	17,410	12,170	17,360	11,950	16,600	13,340	16,300	15,900
TOC 除去率%		24.6		30.1		31.2		19.6		2.5

たものと思われる。

公害成分については、30℃48時間培養で、TOC除去率として31%と低い値であった。また、pHはほとんど変化がなかった。

3. 3. 2 pHの影響

排液100gをHCl及びNaOH溶液でpH3~12に調整し、2. 2の方法により得られた培養液1mlを加えて、30℃, 100rpmで48時間振盪培養した。対照としては、培養液の代わりに水を加えた。

ろ過試験の結果を図8、TOCの変化を表4に示した。

J-224株の増殖に対するPHの影響については、佐藤ら²⁾により報告されている。それによればpH2.8~10.5の際で増殖がみられ、凝集率もこの範囲でほぼ一定の値を示した。本実験によると、ろ過性はpH9~11の範囲で良好であった。酵母を接種しない対照区では、pHが高くなる程そのろ過性は著しく悪くなった。

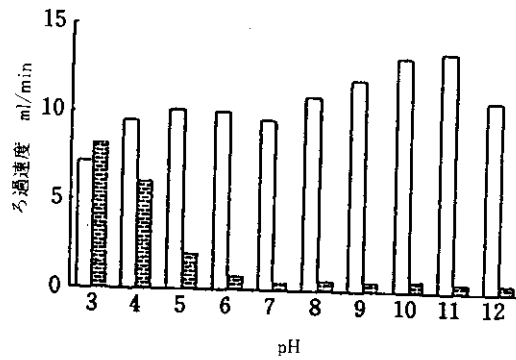


図8 酵母処理におけるpHの影響

□ 酵母添加区 ▨ 対照区

表4 TOCの消長

		3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
pH	対照区	2.9	3.8	4.8	5.6	6.1	6.5	7.0	7.8	8.7	9.0
	試験区	2.9	3.9	5.5	6.2	6.2	6.2	6.5	6.5	7.2	7.1
TOC (mg/l)	対照区	15,000	14,800	15,300	15,300	15,600	15,400	15,400	15,400	15,300	15,700
	試験区	10,600	11,000	10,150	10,500	10,000	10,400	10,300	10,400	10,200	11,100
TOC除去率		29.3	25.7	33.7	31.4	35.9	32.5	33.1	32.5	33.3	29.3

3.3.3 接種濃度の影響

接種濃度をいろいろ変えて、48時間培養した後、ろ過を行った結果を図9に示した。

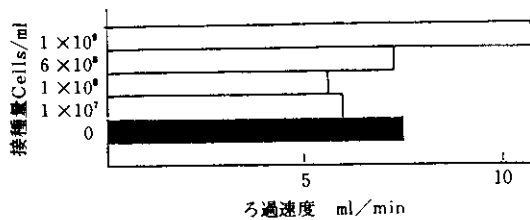


図9 J-224の接種量とろ過性
30℃ 48hr. 100r. p. m,
■ 対照

接種濃度が 1×10^9 cells/ml でろ過性の改善がみられる。接種濃度は高い程ろ過性は良くなると思われる。

3.3.4 培養時間の影響

1×10^9 cells/ml の濃度に菌体を接種し、30℃、100rpm、0、24、48、72、120時間培養し、その影響を調べた。(図10) さらにTOC、及び有機酸の消長について表5、6に示した。

これらの結果から、120時間の培養によって、ろ過性、TOC除去率の向上がみられた。また、pHの上昇や有機酸の減少など、本培養時と同様な結果が得られた。96時間については調べていないが、接触処理の場合と比べると、処理に長時間を要する。接触処理の場合は排液を遠心分離した上澄液

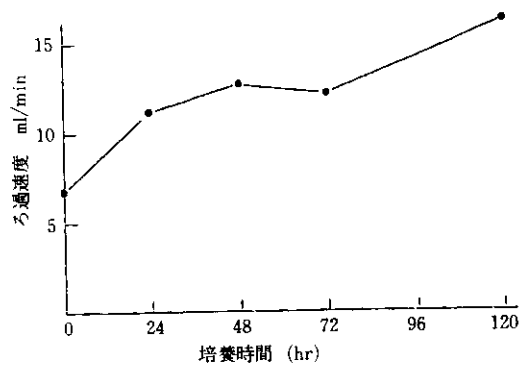


図10 培養時間とろ過性
接種量 1×10^9 Cells, 48hr, 100. r. p. m

表5 培養時間の差によるTOCの消長

項目 \ 時間	0	24	48	72	120
pH	4.00	4.00	4.06	4.23	7.42
TOC(mg/l)	16,580	15,020	11,250	9,510	6,280
TOC除去率	—	9.4	32.1	42.6	62.1

表6 培養時間の差による有機酸の消長 (mg/l)

成分 \ 時間	0	48	72	120
クエン酸	3,203	3,064	2,985	43
リンゴ酸	1,072	895	750	61
コハク酸	514	398	362	69
乳酸	67	—	—	—
ギ酸	32	—	—	—
酢酸	272	197	15	7
ピログルタミン酸	344	309	346	308

であり、排液そのものに接種する酵母処理と比べて、その液の性質上、菌体が分散しやすく、従って成分との接触も良好に行われることも相違の原因の一つと考えられる。

以上の実験結果を総合すると、接触法が酵母処理法より有利であるといえる。

3.4 ろ過機によるろ過試験

ろ過試験の結果及び試験成績をそれぞれ図11、表7に示した。

ろ過性だけをみると、接触処理によるろ過性の向上の効果は著しいものとはいえない。しかしながら、ろ液のSS濃度は著しく減少しており、これらのことを総合して効果を論ずる必要があろう。

今回試験に使用したろ過機は、製成酒などのろ

過用として使用されるもので、圧搾ろ過機といえないが、ろ過の傾向は把握できるものと思われる。これを基礎に計算すると、表7に示している様に、原液ろ過速度は、対照区で $45\text{kg}/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$ 、処理区 $57\text{kg}/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$ となり、対照区に比べて約27%増となる。

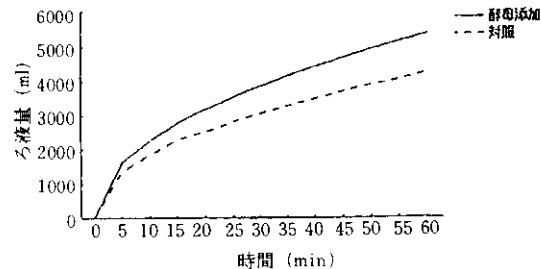


図11 ろ過機によるろ過試験

表7 ろ過試験成績

原液		酵母添加 有無	ろ液		ケーキ		ろ過速度 乾ケーキ $\text{kg}/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$	原液ろ過速度 $\text{kg}/\text{m}^2 \cdot \text{hr}$
固形分 % (w/w)	温度 $^{\circ}\text{C}$		容量 l	SSmg/l	重さ kg	水分 W.B %		
5.034	40	無	4,254	1,343	4,196	91.4	2.256	45
〃	40	有	5,357	174	3,943	88.3	2.805	57

4. おわりに

甘藷焼酎蒸留排液のろ過性の向上をはかる目的で、凝集性酵母 *H. anomala* J-224 による試験を行った。接触処理法と酵母処理法について検討した結果

(1) 甘藷焼酎蒸留排液は、*H. anomala* J-224 の培地として、YM培地に優るとも劣らない培地である。そして、培養後のBOD除去率は約65%であった。

(2) 接触処理の場合の最良の条件は、温度 40°C pH4.0付近、菌体濃度 $1 \times 10^9 \text{cells}/\text{ml}$ 以上、接触時間10分以上であった。

(3) 酵母培養法の場合は、培養温度 $20 \sim 30^{\circ}\text{C}$ 、菌体接種濃度 $1 \times 10^9 \text{cells}/\text{ml}$ 、培養時間120時間においてろ過性の改善がみられたが、接触法と比較した場合、接触法が有利であることを認めた。

(4) ろ過機によるろ過試験結果では、ろ過性の向上は約27%に止まった。しかし、排出液のBOD

及びSS濃度の減少などを考慮して、総合的に判断する必要があると思われた。

終りに臨み、*H. anomala* J-224を譲与していただき、更に、終始懇切丁寧な御指導を賜りました国税庁醸造試験所第2研究室長蓼沼誠先生、及び佐藤俊一先生、また、糖の分析に御助力いただきました鹿児島大学農学部永浜伴紀教授に深謝いたします。

参考文献

- 1) 松久保好太郎, 長谷場彰, 伊藤博雅, 田畑一郎, 前田フキ, 西和枝: 鹿工試年報, **33**, 41, (1987)
- 2) 佐藤俊一, 前谷龍夫, 山本奈美, 蓮尾徹夫, 斎藤和夫, 蓼沼誠, 吉沢淑: 醸協, **81**, 621(1986)
- 3) 斎藤和夫, 中尾強志, 島靖英, 下飯仁, 佐藤俊一, 蓼沼誠: 醸協, **82**, 444 (1987)
- 4) 浜崎幸男: 未発表データ