凝集性酵母による芋焼酎蒸留排液の処理

鈴木 修*・佐藤 俊一・家藤 治幸

下飯 仁・蓼沼 誠・吉沢 淑**

(国税庁醸造試験所, *(株)TDE, **東京農業大学)

平成2年9月25日受理

Treatment of Waste Water from *Shochu* Distillery with a Flocculent Yeast *Hansenula anomala* J-224

Osamu SUZUKI*, Shun-ichi SATO, Haruyuki IEFUJI, Hitoshi SHIMOI,
Makoto TADENUMA and Kiyoshi YOSHIZAWA**

(National Research Institute of Brewing, 2-6-30, Takinogawa, Kita-ku,
Tokyo 114, Japan, *Toho Development Engineering Co, 3-5,
Hachobori 3 chome, Chuo-ku, Tokyo 104, Japan, **Tokyo
University of Agriculture, 1-1-1 Sakuragaoka,
Setagaya-ku, Tokyo 156, Japan)

Treatment of waste water from a *shochu* distillery with a flocculent yeast was studied. The filtration rate was improved when waste water added with a flocculent yeast *Hansenula anomala* J-224 at a yeast concentration 1×10^9 cells/ml as incubated under occasional agitation at pH 4.2 and 25°C for 1 hour (contact treatment).

Effects of flocculent character of *H. anomala* J-224 on filtration were investigated by using flocculent, non-flocculent mutants, and cells in which floc forming ability as eliminated by heating at 100°C for 5 min or treatment with proteinase K.

It was suggested that the flocculent character of strain J-224 was essential to improve the filtration property. A filtration rate of 2.8 kg/m²·hr was obtained after the contact treatment by a filter press with 0.5% cotton fiber filter aid, the rate being about 3 times that of non-treated waste water. In addition, water content of filter cake was decreased to 64.3% by this treatment from the value of 79% with non-treated waste water.

Key words: 排水処理・凝集性酵母・焼酎・蒸留排液

緒 言

芋焼酎蒸留排液(以下排液と記す)は、高濃度のBODと多量の固形分を含み、しかもその固形分の固液分離性が極めて悪いことから処理しにくい排液として、一部地域では海洋投棄などにより処分されている。

この蒸留排液の排出状況は、焼酎製造工場の総排水量の1割程度と少量にもかかわらず、そのBOD量は8~9割近くを占めている。少量で高濃度の排液は、他の排水と分けて別途に効率よく処理することにより全体の処理設備を小さくでき、また、ランニングコストの軽減や処理の安定性など多くのメリットが期待される。

蒸留排液の処理に先立って、排液より固形分を簡易な

方法で除去できれば、可溶性部分の排液は処理しやすい排水としてBOD成分を分解除去した後、河川等に放流することが十分可能となる。

我々は先に、食品工場排水の処理に酵母を用いる処理法を開発した^{1~4)}。また、凝集性酵母を用いて清酒製造排水を効率よく、より安定に処理する方法を確立した⁵⁾。この凝集性酵母に、芋焼酎蒸留排液中の固形分を凝集する現象が見られることから、この凝集性酵母を用いて焼酎蒸留排液の固液分離を試みたのでそれらについて報告する。

実験方法

1. 芋焼酎蒸留排水

芋焼酎製造工場の蒸留排水を 28 メッシュのフルイに通して、未消化の芋、皮、長い繊維を除いて使用した。

2. 供試酵母

国税庁醸造試験所、第二研究室保存株の排水処理用凝集性酵母 *Hansenula anomala* J-224 を使用した。

3. 汙過性改善の検討

新鮮な排水に YM 培地（ペプトン 0.5%，酵母エキス 0.3%，麦芽エキス 0.3%，グルコース 1%）で 30℃ 2 日間培養後、洗浄した酵母 *H. anomala* J-224 菌株を 1×10^8 cells/ml から 2×10^9 cells/ml の間で添加し、汙過性改善効果を調べた。新鮮な排水に酵母を添加し、汙過性改善のみを目的として単時間で行われる処理を「接触処理」と呼ぶこととする。この処理法では、BOD 成分はほとんど分解除去されない。接触処理における処理時間は、酵母を添加後、汙過速度の経時変化を測定し設定した。測定時の試料の pH は J-224 の凝集性が pH 4～5 の間が比較的強く、また、蒸留排水の pH が 4.2 であることから、特に、pH を調整せずに測定した。

4. 汙過性の測定法

スッチェ型ガラス製ロートと直径 6 cm の汙紙 No. 3（保留粒子 5 μ ）を用いて試料 20 ml を ΔP 500 mmHg で吸引汙過した時の 1 分あたりの平均汙液量 (ml/min) を汙過性良否の指標として各種試料の汙過性を比較した。

5. 凝集性酵母 *H. anomala* J-224 の汙過性改善作用について

H. anomala J-224 の凝集性と汙過性改善作用との関連を調べるために、①UV 照射あるいは継代培養により凝集性を失わせた非凝集株 J-224-N-9、J-224-U-150、逆に、②UV 照射で凝集性を強めた栄養要求変異株 J-224-AM-82 (arg⁻) を用いて凝集性の有無と汙過性改善効果を調べた。また、*H. anomala* J-224 の凝集菌体が Proteinase K で分散することから⁶⁾、③Proteinase K 処理で凝集性を失わせた J-224 菌体と、④酵素処理の際、J-224 の細胞表層より切り出されてくる抽出物の J-224 の凝集に関与していると思われる物質の汙過性改善効果について調べた。⑤J-224 を 100℃ 5 min 熱処理して分散させた菌体での改善効果、さらに、⑥J-224 と同種の排水処理用実用株 *H. anomala* J-45-O（非凝集性）、⑦J-224 以外の凝集株 *H. anomala* J-45-N-5（J-45-O の凝集変異株）等を用いて J-224 と同種同属で凝集性を有する株と比較することで J-224 の特異な凝集と汙過性改善効果の関連について調べた。

6. 汙過助剤の検討ならびにフィルタープレスによる脱水テスト

汙過性をさらに促進するために汙過助剤の使用を検討した。助剤としてケイソウ土のほかに、脱水ケーキの飼料等への有効利用を考慮し、木材パルプや綿花を原料として造られた汙過助剤についてその促進効果を調べた。助剤の添加量は排水中の固形分濃度に対しケイソウ土は 2%，木材パルプ系及び綿花は 0.5% 添加して行った。また、フィルタープレステスト機（日本汙過装置製）で脱水テストを行った^{7,8)}。脱水条件として汙布は敷島カンバス P-851、汙布面積 50 cm² を 2 面で 100 cm²、汙室容積 50 cc 1 室とし、この汙室内にポンプ圧力 3.5 kg/cm² で試料を送液し 1 時間加圧汙過を行った。脱水汙液は汙布を通り系外に流出し、固形分は汙室内に留まりケーキとなる。さらにケーキ中の水分を脱水するため圧搾汙過に切り換え 3.5 kg/cm² の圧力で 20 分間行った。フィルタープレス式脱水機の汙過速度は 1 時間に汙布 1 m² あたりに回収されるケーキの乾物重量 (kg/m²・hr) であらわした。

実験結果

1. 芋焼酎蒸留排水の分析値

Table 1 に示すように、蒸留排水の BOD は 35,000 ppm と高濃度で固形分も 41,000 ppm と多く、見かけ上トマトジュース程度の粘性を有している。しかし遠心上澄みの可溶性部分は BOD が 27,000 ppm、全窒素 1,340 ppm、全リン 750 ppm で BOD に対する N、P の比率が、100 : 5 : 2.8 と栄養バランスが整っており、生物的に処理しやすい排水であることが理解される。

2. *H. anomala* J-224 の汙過性改善効果

H. anomala J-224 の菌体添加量を 1×10^8 cells/ml から 2×10^9 cells/ml とし、蒸留排水に酵母懸濁液を添加し

Table 1 Characteristics of sweet potato *shochu* distillery waste water.

pH	4.2
COD	42,000 ppm (24,400)
BOD	35,000 ppm (27,000)
TOC	— (24,070)
Total sugar	— (9,770)
Total-N	2,800 ppm (1,340)
Total-P	1,050 ppm (750)
Total solid	41,000 ppm
Viscosity	170 MPa・s

() : supernatant of centrifugation

Analysis : COD, JIS K 0102 ; BOD, BOD tester Taiyo Scientific ; TOC, Shimadzu TOC-500 ; Total sugar, Phenol-H₂SO₄ ; Total-N, Kjeldahl method ; Total-P, Allen method

Fig. 1 Effect of inoculum size on filtration rate with *H. anomala* J-224.

て各濃度の試料を調整した時に最終液量が各濃度の試料とも 20 ml になるようにし、汙過性の測定を行った。結果は Fig. 1 に示すように、酵母無添加の Blank と比べ、蒸留排液に *H. anomala* J-224 を添加した試料では明らかに汙過性の改善が見られた。また、酵母を多く添加するほど汙過性は促進されたが、以下の実験は 1 × 10⁹ cells/ml の添加量で行った。接触処理における最適処理時間は、蒸留排液に J-224 を 1 × 10⁹ cells/ml 添加し、時々攪拌して、汙過速度の経時変化を測定したところ、Fig. 2 に示すように、添加後 60 分までは促進効果が見られ、それ以降はほぼ一定の値を示したことにより、接触時間を 60 分とした。

3. 凝集性酵母 *H. anomala* J-224 の汙過性改善作用

H. anomala J-224 の凝集性が蒸留排液の汙過性を改善していると推定されるため、各種の条件で汙過速度の比較を行い、その関連性について調べた。結果は Fig. 3・4 に示すように、J-224 の添加で排液の汙過性改善が見られ、J-224 より凝集性の強い変異株 J-224-AM 82 ではさらに汙過促進効果が見られた。一方、J-224 より非凝集変異株として取得された J-224-N-9, J-224-U-150 ではまったく改善効果が見られず、Blank の未処理排液より汙過性は劣っていた。J-224 を熱処理して凝集性を失わせた菌体の添加では、非凝集性株と同様に改善

Fig. 2 Changes in filtration rate after *H. anomala* J-224 addition.

Symbols ; ● : addition of 1 × 10⁹ cells/ml, ○ : no addition

Fig. 3 filtration with *H. anomala* J-224 and other strains.

+ : Flocculent yeast, - : non-flocculent yeast,
* : Heat treated at 100°C, 5min

Fig. 4 Effect of proteinase K treatment of *H. anomala* J-224 on filtration. P.K J-224 is proteinase K treated strain J-224.

効果は見られなかった。また、*H. anomala* J-224 と同種の酵母で非凝集性の *H. anomala* J-45-O では改善効果はまったく見られず、*H. anomala* J-45-O より取得された凝集性変異株の J-45-N-5 でも親株の J-45-O よりは若干汙過性は良いものの、Blank より劣っていた。先に述べたように、*H. anomala* J-224 の凝集性が Proteinase K により分散することより、Proteinase K 処理した菌体を蒸留排液に添加したところ、非凝集性株同様に汙過改善効果は見られなかった。しかし Proteinase K により酵母細胞表層から切り出されてくるもの、すなわち Proteinase K 抽出物を蒸留排液に添加すると汙過性改善が見られた、Blank として Proteinase K のみを添加しても、改善効果は見られなかった。

4. 汙過助剤の検討ならびにフィルタープレスによる脱水テスト

蒸留排液に *H. anomala* J-224 を添加することにより排液の汙過性が改善されることを明らかにしたが、さらに汙過性向上のため汙過助剤の添加効果について調べた。結果を Fig. 5 に示した。①新鮮な排液に各種助剤を添加した区と、②蒸留排液に *H. anomala* J-224 を接種し 30°C で 2 日間酵母処理した処理液に、各種助剤を添加した区、③前述の条件で接触処理した排液にそれぞれ助剤を添加した区で汙過速度の比較を行ったところ、ケ

Fig. 5 Examination of filter aid.

A: non-addition, B: wood pulp, C: cotton fiber, D: diatom earth

B or C was added at 0.5% to total solid

*: treated with yeast at 30°C for 2 days

**: treated contact with yeast at 25°C about 1 hr

イソウ土と木材パルプ系は顕著な効果は見られず、綿花系の助剤に効果が見られた。また、未処理の排水より酵母処理液の方が全般的に濾過性は良く、さらに接触処理した排水の方が良好な濾過性改善を示した。

次に、①未処理の蒸留排水、②*H. anomala* J-224 による酵母処理液、③J-224 接触処理水、そして④接触処理水に綿実系助剤を添加した試料についてフィルタープレスによる脱水テストを行った結果を Fig. 6 に示した。排水の固形分（乾物）基準の濾過速度を比較したところ、未処理排水の $1 \text{ kg/m}^2 \cdot \text{hr}$ に対し接触処理水は約2倍の $1.8 \text{ kg/m}^2 \cdot \text{hr}$ の濾過速度を示し、綿花系の助剤を添加した場合は、約3倍の $2.8 \text{ kg/m}^2 \cdot \text{hr}$ の濾過速度を示した。これらの数値でフィルタープレス脱水機の濾布面積を比較すると、例えば蒸留排水が1日に 10 m^3 、固形分濃度 4% とすると排水中の乾物固形分は 400 kg となり、未処理排水の場合フィルタープレスの濾布面積は 400 m^2 （1日に2回脱水を行えば 200 m^2 ）必要である。それに対し接触処理では 223 m^2 （1日2回では 112 m^2 ）となり、さらに濾過助剤を用いると 142 m^2 （1日2回では 72 m^2 ）となり、フィルタープレス脱水機の規模に大きな差があらわれ、設備費用にも大きく影響する。また、脱水ケーキの水分も、Table 2 に示すように、接触処理脱水ケーキで 70.8%，綿花系助剤添加では 64.3% と良好な脱水性を示し、濾過性の改善効果が見られた。

考 察

H. anomala J-224 の Intact Cell を芋焼酎蒸留排水に

Fig. 6 Dehydration test with filter press.

A: shochu distillery waste water, B: yeast treatment with J-224, C: contact treatment with J-224, D: addition of filter aid to sample C

Table 2 Moisture of filter cake after dehydration by filter press.

Sample	moisture %
distillery waste water	78.9
yeast treatment	77.1
contact treatment	70.8
contact treatment used filter aid	64.3

添加し、接触処理することにより、排水の濾過性を改善し、容易に固液分離ができることを明らかにした。また、J-45-N-5 の様に J-224 と同じ *H. anomala* でしか、凝集性を有する酵母でも、蒸留排水の濾過性改善効果は全く見られず、J-224 の濾過性改善作用は他の酵母の凝集性とは異なる特異的な凝集性によるものと考えられる。従来の酵母処理とは、目的を異にする新しい酵母利用法の1つとして、凝集性酵母を用いる接触処理法が考えられ固形分回収法の手段として、その可能性が示唆された。本実験での接触処理における J-224 の添加量を $1 \times 10^9 \text{ cells/ml}$ と多量に使用したが、濾過助剤の使用やさらに凝集力の強い酵母の育種などにより、添加量を減らすことは可能と思われる。本実験に供した、芋焼酎蒸留排水の処理システムの一例として Fig. 7 に示すような、接触処理と酵母処理を組み合わせた処理フローが考えられる。最初に排水中の固形物を接触処理により回収除去し液部は次の回分式酵母槽に送られ、*H. anomala* J-224 により酵母処理されると共に J-224 を培養し、酵母処理終了後、曝気を止め、J-224 菌体を沈め、上澄み液は後段の活性汚泥槽へ送液し最終処理され放流する。一方、沈降した菌体の一部を種酵母に残し、後の菌体は接触処理に供給する。

このように、凝集性酵母の良好な沈降性と濾過性改善効果の両性質を利用することにより、芋焼酎蒸留排水に代表されるような、難濾過性固形分を多量に含み、BOD 濃度の高い排水に対する処理システムの構築が可能と思われる。酵母の凝集性を利用した研究はビール製造やアルコール発酵などに多く見られるが、酵母の凝集性が濾

Fig. 7 Treatment system of sweet potato *shochu* distillery waste water.

過性を改善することについての報告は少なく、今後、酵母の新しい利用法として期待される。

の汙過速度が得られ、ケーキの脱水性も良好であった。

本研究の概要は昭和 63 年度日本醸酵工学会大会において発表した。

要 約

1. 芋焼酎蒸留排液は、BOD 35,000 ppm, 固形分 4.1%, 粘度 170 mpa・s と、高濃度の汚濁物質に加え高粘性で固液分離性が極めて悪い、しかし固形分を除去した可溶性部分は栄養バランスが整って生物的に処理しやすい排液である。

2. 蒸留排液に *H. anomala* J-224 を添加するだけで排液の汙過性は改善された。汙過性改善のための処理方式を接触処理と呼ぶこととした。

3. 接触処理の条件は、pH 4~5, 温度 25°C, J-224 添加量 1×10^9 cells/ml 60 分放置で時おり、ゆっくり攪拌する程度。

4. 汙過性改善作用は、*H. anomala* J-224 が有する特異的な凝集性と、この凝集に強く関与していると思われる蛋白によるものと考えられた^{9,10)}。

5. 汙過性をさらに向上させるために、汙過助剤の検討を行い、なかでも綿花系の助剤に添加効果が見られた。

6. フィルタープレス式脱水機により脱水テストを行った結果、未処理排液に対し、接触処理すると 2~3 倍

文 献

- 1) 吉沢 淑, 丹野一雄, 鈴木 修, 古藤 恵: 醸協, 73, (12) 959 (1978)
- 2) 吉沢 淑, 百瀬 洋夫, 丹野一雄, 鈴木 修: 醸協, 75, (1) 64 (1980)
- 3) 斉藤和夫, 蓮尾徹夫, 寺田 周, 藤川茂昭, 蓼沼 誠: 醸協, 78, (12) 954 (1983)
- 4) 吉沢 淑, 鈴木 修: 用水と廃水, 28, (10) 1016 (1986)
- 5) 佐藤俊一, 前谷龍夫, 山本奈美, 蓮尾徹夫, 斉藤和夫, 蓼沼 誠, 吉沢 淑: 醸協, 81, (9) 621 (1986)
- 6) 佐藤俊一, 山本奈美, 下飯 仁, 斉藤和夫, 蓼沼 誠: 醸協, 81, (10) 657 (1986)
- 7) 岩井重久, 加藤健司, 左合正雄, 野中 八郎: 廃水・廃棄処理 廃水編, p. 225, 講談社サイエンスフィク (1980)
- 8) 鈴木英友, 角田省吾: 水処理工学 (井出 哲夫 編著), p. 161, 技報堂 (1977)
- 9) 家藤治幸, 佐藤俊一, 下飯 仁, 斉藤和夫, 蓼沼 誠: 昭 63 年農化大会 要旨集, p. 272 (1988)
- 10) 家藤治幸, 佐藤俊一, 下飯 仁, 蓼沼 誠: 平成 1 年醸工大会 要旨集, p. 170 (1989)