酵母による高酸度、高塩度、高有機性廃水である 梅加工廃水処理の検討

Treatment of Highly Acidic and Salty Organic Wastewater from a Plum Production Facility using Yeast in an Attached-Growth Process

高辻 涉'、山際秀誠'、花本敏和'、古川憲治²

¹和歌山県工業技術センター/〒649-6261 和歌山市小倉60 ²熊本大学大学院自然科学研究科/〒860-8555 熊本市黒髪2丁目39番1号

WATARU TAKATSUJI¹, YOSHINOBU YAMAGIWA¹, TOSHIKAZU HANAMOTO¹, and KENJI FURUKAWA²

¹Industrial Technology Center Wakayama Prefecture/60, Ogura, Wakayama city, 649-6261, Japan ²Graduate School of Science and Technology, Kumamoto University /2-39-1, Kurokami, Kumamoto city, 860-8555, Japan

Abstract

Wastewater generated from the production of seasoned salty plumes contains very high levels of sugar alcohol, citric acid and sodium chloride with COD, NaCl and pH values of about 120 g/l, 70 g/l and 2-3, respectively.

For effective treatment of this concentrated wastewater, a 100-time dilution is typically applied thus requiring a large aeration tank. In this research, a yeast strain (UY7) isolated from a plum-production wastewater treatment plant was shown to effectively cut the TOC component of this high-strength waste. Favorable TOC reductions were achieved with dilutions of only 3 to 10 times prior to biological treatment. The UY7 strain attached readily to the biomass carrier (biofringe) composed of acrylic fiber. In continuous-treatment experiments using a biofringe reactor, with an influent TOC of 14 g/l and a 5-time dilution factor, TOC removals of about 40% were successfully obtained with HRTs of 1.0 to 2.5 days.

Key Words: Yeast, Plum, Highly acidic wastewater, Salty organic wastewater, Acryl-fiber

1. はじめに

梅加工場からは、工場廃水と調味廃液の2種類の廃水 が出てくる。工場廃水は、塩漬け梅の洗浄水、脱塩水お よび工場内洗浄水であり、COD1.5g/l、TOC750mg/l、 食塩10g/l、pH3~4の廃水である。この廃水は主に標 準活性汚泥法により処理されている。調味廃液は、梅の 主力製品である調味梅を製造する際に出てくる廃液であ る。廃水量としては、工場廃水の50分の1程度であるが COD120g/l、TOC50g/l程度と糖アルコールを主成分とし た超高濃度有機性廃水である。さらに食塩70g/l、pH2 ~3と酸および食塩濃度が非常に高い。このため調味廃 液を活性汚泥法で処理する場合100倍程度希釈する必要 がある。よって梅加工場では総廃水量に比べ大変大きな 廃水処理設備が必要となる。現在多くの工場ではこの調 味廃液を処理せずに、産業廃棄物として処分している。 しかしロンドン条約「96年議定書」批准により、産業廃 棄物の海上投棄が禁止となり、また陸上での投棄場所の 枯渇などから、この調味廃液を経済的かつ安定的に処理 することが必要となってきた。

アルなども質化できること、またCOD23gルの高度度の 廃水を酵母処理した後、活性汚泥処理することにより安 定に処理でき、かつ余剰汚泥の生成が少なくなったこと を報告している²¹。千種らは、食品工場の廃水 (BOD4.05 g/l) において、酵母処理ではBOD容積負荷を5.5~16kg BOD/m³dの幅広い範囲で水質を安定に維持することが でき、pHの影響も少ないこと報告している⁴¹。鈴木らは、 酵母をひも状固定床に付着固定化することで、安定的に 連続酵母処理ができることを報告している^{5.61}。

今回、我々は梅加工廃水処理プラントから分離した酵 母を用いて、調味廃液を処理するための最適条件を検討 した。まず調味廃液処理に最も有効な酵母菌を選択した。 次に酵母の有機物除去に対する調味廃液濃度の影響を調 べ、最も効率の良い調味廃液希釈率を決定した。さらに 酵母を付着固定化するために有効な固定化担体を検討し、 付着固定化酵母による調味廃液連続処理実験を行った。

2. 実験方法

2.1 供試酵母

梅工場廃水処理プラント設備から分離した9種類の酵 母(KY1, KY2, KY4, KY5, KY6, UY5, UY6, UY7, UY8) および糖耐性、酸耐性、食塩耐性の強いPichia anomala、Pichia membranifaciens等の酵母をNBRC: (独)製品評価技術基盤機構から10種類、IFO:(財発酵研 究所から2種類およびIAM:東京大学分子生物学研究所 から2種類を購入し使用した。

2.2 供試廃水

Table 1 に梅工場からでる調味廃液を示した。廃水1 は調味廃液自体の成分値であり、廃水2は、窒素分とリ ン分を補うために硫酸アンモニウム30.7g/lとリン酸水 素ニカリウム6.07g/lを添加した場合の成分値である。 供試廃水はTOC70g/l、pH2.5、食塩70g/lと高濃度有機物、 高酸度、高塩度の廃液である。

2.3 前培養

酵母1白金耳をオートクレーブ滅菌(121℃、30分) した麹汁(ショ糖計示度10)50mlに入れ、30℃、150min⁻¹、 1~2日間振とう培養を行って調整した。

2.4 菌数測定

Fig.1にOD₆₀₀値とポテトデキストロース寒天培地を用 いた平板培養法によって求めた生菌数の関係を示した。 実線は(1)式より求めた相関曲線である。

廃水中の酵母菌数は、OD₆₀₀値を測定し(1)式を使って 求めた。

2.5 バッチ試験

オートクレーブ滅菌(121℃、30分)した廃水と前培 養液を300ml容の三角フラスコに入れ綿栓し、30℃、 150min⁻¹で振とう培養した。前培養液が廃水量の1%を

Table 1 Water quality of seasoning solution used for experiment

Ite	em	wast	wastewater 1		wastewater 2	
COD	(g/l)	120	~	150	140	
TOC	(g/l)	50	~	70	70	
TN	(mg/l)	300	~	500	7000	
TP	(mg/l)	3	~	70	1200	
pН		2.4	~	2.5	2.5	
NaCl	(g/l)	68	\sim	73	70	

Wastewater 2 was prepared by adding 30.7 g/l of $(NH_4)_2SO_4$ and 6.07 g/l of K_HPO_ to wastewater 1.



Fig. 1 Relationship between yeast number and OD_{eee}.

超える場合は、前培養液成分の影響を除くため、遠心分離(80min⁻¹、5分)で前培養液を除き、酵母のみを廃水に投入した。

2.6 付着固定化実験

付着固定化担体としてBFT9 (Japan Vilene Co., Ltd.)、 キトサンボール (Fuji Spinning Co., Ltd.)、バイオフリ ンジ (NET Co., Ltd.) およびパイル織物 (Ohya Pile Co., Ltd.) を使用した。BFT9は厚みが1 cmのシート状 のポリエステル系不織布であり、キトサンボールはキト サン繊維を直径2 cmの球に成型したものである。バイ オフリンジは、アクリル繊維を直径0.2cm、長さ10cm の棒状に成型したものである。パイル織物は、ひも状の アクリル繊維を織物に取り付けたものであり、パイル長 1 cm (パイル1) と3 cm (パイル2) の2種類を使用 した。

付着固定化担体は形状を測定した後、50℃で減圧乾燥 しデシケーター中で放冷した。その後付着固定化する前 の担体重量を測定した。

付着固定化実験は、Table 1 に示した廃水 2 の 5 倍希 釈液100mlに前培養液 1 mlと担体 1 ~ 8 g程度を300ml 容の三角フラスコに入れ、30℃、150min⁻¹で旋回振とう した。廃水中のOD₆₆₀値が平衡に達した後(平衡時の菌 数は10⁸個/ml以上)、担体を廃水から取り出し、10秒間 零が落ちないようになった時点でビーカーに移し蒸留水 10mlで担体を 2 回洗浄した。

担体に付着した酵母量を求めるために洗浄後の担体を 50℃で減圧乾燥し、デシケーター中で放冷後重量を測定 した。酵母付着量は、この測定重量からブランク重量を 差し引き求めた。ブランク重量は、酵母の固定化実験で 使用したものとほぼ同じ大きさの担体を廃水に入れ、固 定化実験と同時間振とうしたものであり、担体への廃水 成分付着量である。

2.7 連続処理実験

Fig. 2 に連続実験処理装置の模式図を示した。リアク タ(液容積は21)、原料タンク、泡捕集器および配管チ ユーブはすべてオートクレーブで滅菌(121℃、15min) した。廃水はTable1の廃水2を5倍希釈した後、オー トクレーブで滅菌したものを使用した。廃水中のTOC、 TNおよびTPは滅菌前後でほとんど変化しなかった。担 体は、長さ10cmのバイオフリンジ(NET Co. Ltd.)を 90本連ねたもの(長さ435mm)を散器配管に巻きつけ 固定した。 担体をリアクタに取り付けた後、廃水11および酵母 の前培養液30mlを入れ、25℃で1日間空気曝気を行った。 供給空気は、0.5µmのフィルターを通してリアクタ内 に供給した。その後、オートクレーブ滅菌した廃水をリ アクタに供給した。リアクタ内の廃水は21/minで空気 曝気した。

2.8 26S rDNA D1/D2領域配列解析

分析用の菌体はYM寒天培地(Becton Dickinson, MD, USA)を用いて25℃で培養した。菌体のDNAはDNeasy Plant Mini Kit (QIAGEN, Hilden, Germany)を用いて 抽出し、26S rDNA D1/D2領域を増幅するために puReTaq ready-To-Go PCR beads (Amersham Biosciences, NJ, USA)を用い、プライマーとしてNL1: 5'-GCATATCAAGCGGAGGAAAAG、NL4:5'-GGTCC GTGTTTCAAGACGG (O'Donnell^{7'})を使用してPCR操 作を行なった。得られたPCR増幅産物は、QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN, Hiden, Germany)を用い 精製し、塩基配列は、プライマーとしてNL1、NL2:5'-C TCTCTTTTCAAAGTTCTTTTCATCT、NL3:5'-AGATG AAAAGAACTTTGAAAAGAGAGおよびNL4 (O'Donnell^{7'}) を使用し、BigDye Terminataor v3.1 Kit (Applied Biosystems, CA, USA)を用いてABIPRISM3100Genetic Ana-



Fig. 2 Schematic diagram of experimental system.

lyzer System (Applied Biosystems, CA, USA) によるサ イクルシークエンス法で決定した。得られた塩基配列は、 国際塩基配列データーベース (GenBank/DDBJ/EMBL) で検索を行い、系統樹を作成した。

2.9 分析方法

COD_{Mn}およびTPは、工場排水試験方法JISK0102⁸⁾に 従い測定した。TOCおよびTNは、全有機体炭素計TOC -V_{CPHCPN}(Shimadzu Co.)で測定した。食塩およびpHは、 塩素イオンメーターsensionTM2(HACH製)およびpH メーターHM-30V(DKK TOA製)で測定した。DOは、 溶存酸素メーターLDO HQ-10(HACH製)で測定した。

3. 結果と考察

3.1 調味廃液処理の最適酵母について

Table 1 の廃水 2 の 5 倍希釈液100ml に酵母の前培養 液 1 mlを入れバッチ試験を行った。Fig. 3 には梅工場か ら分離した 7 種類の酵母を使って行ったバッチ試験にお ける TOC 濃度の経日変化を示した。UY 酵母混合系と酵 母UY7が最も効率よくTOCを除去することができた。 Fig. 3 中の実線は、酵母UY7の実測値を近似する 1 次反 応曲線((2)式)である。実線は実測値を良く近似してお り、酵母による調味廃液の生物的酸化は、 1 次反応で表 すことができた。Table 2 の No. 1 に近似曲線(2) から求



Thie (days)

Fig. 3 Changes of TOC concentrations in 5 times diluted solution using different kinds of yeast. Symbols: ○: KY1, △: KY2, □: KY4, +: KY1+KY2+KY4, ◆: UY5, ●: UY6,
▲: UY7, ■: UY8, ×: UY5+UY6+UY7+UY8 —: Eq.(2) with b of UY7 in Table 2

めたb値および相関係数r²の値を示した。

$$C_t = C_0 \exp((-bt))$$
(2)

ここでC_iは廃水中TOC濃度(mg/l)、C_oは初期廃水中 TOC濃度(mg/l)、tは反応時間(day)、bはTOC除去 速度定数(1/day)である。

他の酵母についても同様なバッチ試験を行いTOC除 去速度定数(b値)を求めた(Table 2のNo. 2~4)。 この結果、酵母UY7およびKY6が調味廃液の有機物を 最も良く除去できることが判明した。Fig. 4に酵母UY7

Table 2	1 st order TOC removal constants for test yeast
	strain

No.	Yeast strain	b (1/d)	r²
	KY1	0.111	0.973
1	KY2	0.117	0.977
	KY4	0.117	0.980
	KY1+KY2+KY4	0.118	0.971
	UY5	0.128	0.992
	UY6	0.117	0.964
	UY7	0.160	0.987
	UY8	0.082	0.919
	UY5+UY6+UY7+UY8	0.157	0.992
	(UY7)	0.145	0.998
2	KY5	0.0978	0.984
	KY6	0.144	0.998
	(UY7)	0.150	0.945
	P. membranifaciens NBRC10892	0.104	0.791
	P. nakazawae var. akitaensis NBRC1669	0.0314	0.223
	P. acasiae NBRC1681	0.0888	0.804
	P. anomala NBRC10213	0.120	0.804
3	P. anomala NBRC0118	0.104	0.797
	S. cerevisiae NBRC1046	0.128	0.906
	C. vanderwaltii NBRC10319	0.0877	0.866
	C. versatilis NBRC10664	-	-
	C. versatilis NBRC10038	-	-
	C. versatilis NBRC0854	-	-
	(UY7)	0.158	0.989
4	Z. rouxii IAM12879	0.0927	0.980
	D. hansenii IAM4978	0.0796	0.914
	Z. baillii IFO1098	0.0611	0.965
	C. magnoliae IFO0705	0.15	0.996

P: Pichia, S: Saccharomyces, C: Candida, Z: Zygosaccharomyces, D: Debaryomyces



0.05



の26S rDNA配列に基づく系統図を示した。UY7 は、 Pichia jadiniiの塩基配列と99.2~99.7%の高い相同性 を示した。

3.2 調味廃液の最適希釈倍数について

Table 1 の廃水 1 を蒸留水で 1 ~100倍に希釈した液 100mlにUY7 株の前培養液 1 mlを投入し、バッチ試験を 行った。Fig. 5 には廃水 1 の10、25、50、100倍希釈液 中のTOC 濃度の変化を示した。Fig. 5 の実線は、(2)式に 基づく近似曲線である。各希釈倍数に対する近似曲線か ら求めた C_0 、bおよ Ur^2 値(Table 3)を基に(3)式から TOC 除去量を求めた。

$$\Delta \operatorname{TOC} = \operatorname{V} \cdot \operatorname{C}_{0} \left[1 - \exp \left(- \operatorname{bt} \right) \right]$$
(3)

ここで、 Δ TOC は廃水から除去された TOC 量 (mg)、V は廃水量 (l) である。



Fig. 5 Time course of TOC removal in wastewater 1 diluted from 10 to 100 times using UY7 strain. Symbols: ●: 10 times, ▲: 25 times,
■: 50 times, ◆: 100 times,
----: Eq.(2) with C_n and b of UY7 in Table 3

Table 3 1st order TOC removal constants for UY7 strain

Times of dilution	C, (mg/l)	b (1/d)	r²
1	67700	0	-
2	32600	0.0135	0.956
3	23100	0.0729	0.998
4	17400	0.0865	0.996
5	14900	0.0931	0.958
10	7070	0.187	0.971
25	3090	0.199	0.975
50	1820	0.198	0.967
100	1030	0.144	0.965

Fig.6に希釈倍数に対するTOC除去量の経日変化を示 した。廃水を希釈せずに行った試験では、廃水中のTOC を除去することができなかった。その時の生菌数を調べ た結果、コロニーが検出されなかった。これは廃液が pH2.5、食塩濃度70g/lと高酸度かつ高塩度であるため酵 母が死滅したと考えられる。廃水を2倍以上に希釈すれ ばTOCを除去することができた。3倍希釈の場合TOC 除去量が最も大きく、希釈倍数が上がるにつれて除去量 が低下し、25倍希釈以上に薄めすぎるとTOC除去量が 大きく低下した。しかし除去率と関係するTOC除去速 度定数(b値)(Table 3)は、10~50倍希釈で高くなった。 また調味廃液の10倍希釈液以下ではpH<3と低いので、 雑菌汚染防止のために硫酸や次亜塩素系の薬剤を投入す





る必要がなくなることから、調味廃液を3~10倍希釈し て酵母処理することが効率的であると考えられる。

またTable 3 に示したように希釈倍数が大きくなるに つれてTOC除去速度定数(b値)が大きくなるが10倍希 釈から50倍希釈でb値が0.2L/day付近に収束し、100倍希 釈の場合b値は逆に低くなった。これは調味廃液には、 酵母UY7では資化され難い物質が存在するため途中から TOC除去率が急激に下がったためであると考えられる。

3.3 付着固定化担体の検討

Table 4 に各付着固定化担体に対する UY7 株の固定化 量を示した。材質比較の場合、担体の表面積をそろえて 実験を行った。材質的には、アクリル系のバイオフリン ジが酵母を良く付着した。またバイオフリンジは、他の 担体に比べ比表面積(単位体積当りの表面積)が大きく、 リアクタ内に高濃度の酵母を保持できるものと考えられ る。キトサンボールは、酵母よりも廃水成分を良く付着 してしまった。

アクリル系の担体では、バイオフリンジとパイル2が 酵母を良く付着固定化した。パイル2はパイル1より酵 母を2倍程度多く付着固定化することができた。これは パイル長がパイル2の方がパイル1より3倍程度長く、 アクリル部分の表面積が大きいことによるものと考えら れる。

3.4 固定化酵母連続処理

UY7株をバイオフリンジに付着固定化し連続処理実験 を行なった。Table 5 に連続運転条件を示した。滞留時 間は2.5~1.0日まで段階的に下げることにより、TOC 容積負荷量を5.1~12.5kgTOC/d/m³まで高めた。梅廃水 のBODはTOCの1.5倍程度の値を示すことより、12.5kg TOC/d/m³は、19kgBOD/d/m³に対応する。空気量は、リ アクタ内酵母の流動性と泡の発生を考慮して供給(21/ min) したが、実験を通してDOは0.1~0.3mg/l程度に しか上げることができなかった。Fig.7に流入水と処理 水のpHおよびTOC濃度を示した。流入水TOC濃度10~ 14g/lの廃水を連続的にリアクタに供給したが、処理水 TOC濃度は、ほぼ一定値の8.1g/lを維持した。このこと より酵母UY7は流入水TOCの40%程度を比較的簡単に 除去できるが、それ以上のTOCを除去することは困難 であることが判明した。また流入水pHは3.0~3.1であ ったが、処理水pHは2.1~2.7と酸性にシフトした。こ れは、酵母の糖分解により有機酸が生成したものと考え られる。

Biomass carrier	weight (g)	surface area (cm²)	volume (cm³)	spacific atta	bulk solution	
				(g-yeast/cm ² -surface)	(g-yeast/g-carrier)	(number/ml)
BFT9	0.8656	129	30.8	8.00×10 ⁻⁵	0.0119	5.40×10 ⁸
Chitosan ball	8.2066	117	42	0	0	2.74×10 ⁸
Biofringe	1.8753	124	6.2	2.48×10-4	0.0163	4.56×10 ⁸
Biofringe	2.0014				0.02698	4.98×10 ⁸
Pile1	2.036				0.00893	5.57×10 ⁸
Pile2	1.6039	<u> </u>			0.01855	5.57×10 ⁸

Table 4 Comparison of biomass carrying capacity for various biomass carriers

BFT9 (Japan Vilene Co., Ltd.) is nonwoven made of polyester. Chitosan ball (Fuji Spinning Co., Ltd.) is made of chitosanfiber. Biofringe (NET Co., Ltd.) is made of acryl-fiber. Pile 1 and Pile 2 (Ohya pile Co., Ltd.) are textiles made of acryl-fiber.

Table 5 Operational conditions for continuous treatment

Run (d)	HRT (d)	VLD* (kg TOC/m³/d)	DO (mg/l)	Temperature (°C)	OD 660 **
A (0-10)	2.5	5.1	0.1	25	2.83
B (11–14)	2.1	6.3	0.1	25	3.10
C (15–25)	1.6	8.2	0.1	25	3.05
D (26-35)	1.0	12.5	0.1	25	2.68
C (15-25) D (26-35)	1.6 1.0	8.2 12.5	0.1 0.1	25 25	3.05 2.68

*: Volumetric loading rate **: ABS at $\lambda = 660$ nm



Fig. 7 Time courses of TOC concentrations and pH for each hydraulic retention time. Symbols: ○: influent, ●: effluent

このシステムでは、酵母の返送を行っていないにもか かわらずリアクタ出口直後の処理水のOD₆₆₀は実験期間 中2.6以上であり、リアクタ内の酵母濃度は10[®]個/mlを 維持できた。これは固定化材に付着した酵母が増殖し、 許容付着量を超えた分が液中でさらに増殖したものと考 えられる。この増殖量は、流入速度を上げた場合のリア クタ内から流出した酵母量を十分に補えるものであった。 また流出酵母は沈降性が良く、流出タンク中で容易に固 液分離ができるため、リアクタへの返送を行なうことに よりリアクタ内の酵母濃度をさらに高めることが可能と なり、さらなる滞留時間の短縮化(リアクタの縮小化) が期待できる。

4. まとめ

一般に小規模の梅加工場では、廃水の負荷変動が非常 に大きく、安定に活性汚泥処理を維持することが難しい。 また、調味廃液はCODが120g/と高く、活性汚泥法によ り処理するためには、廃液を100倍程度に希釈しなけれ ばならない。このため大きな廃水処理設備が必要となり、 小規模工場では経済的に大きな負担になる。今回これら の問題を解決するために、酵母の利用を検討し、以下の 結果を得た。

- 1)酵母は、調味廃液を2倍以上に希釈すれば処理する ことができ、3倍~10倍希釈で効率的に調味廃液を処 理することができた。
- 2) 梅工場に設置した廃水処理パイロットプラントの流 量調整槽から分離した酵母UY7株が調味廃液処理に最 も優れていた。
- 3)酵母UY7株を付着固定化するためには、ポリアクリル製の担体が最も優れていた。この担体を利用して36日間の連続処理実験を行った結果、反応槽内には10⁸個/mlの酵母濃度を維持でき、TOC容積負荷量を5.1~12.5kgTOC/d/m³と変動させても40%のTOC除去率を維持できた。

以上より、酵母は廃水の負荷変動に強く、高濃度の廃 水を処理できるため調味廃液処理に酵母を利用すること により、処理槽の縮小化が可能になると考えられる。

今後は、酵母槽での処理能力をさらに高める検討を行 い、工場での実廃水処理プラントにおいて、酵母処理の 有効性を確認する計画である。

引用文献

- 吉沢 淑:酵母を用いる食品工業廃水新処理法の開発,日本農芸化学会誌,55,8,705-711 (1981)
- 吉沢 淑,鈴木 修:酒造排水の酵母による処理, 用水と廃水,28,10,1016-1023 (1986)
- 3)千種 薫,矢口淳一,大下信子,長谷川太郎,山本 菜穂子:酵母による食品工場廃水の処理と有効利用, 用水と廃水,37,10,795-800(1995)
- 4) 千種 薫、矢口淳一、大下信子、石川久男、渡辺義 公:酵母による高濃度有機性排水の処理特性、環境 工学研究論文集、32,89-97 (1995)
- 5)鈴木 修,更田俊郎,小針 致,小幡孝之:固定床 一酵母を用いる排水浄化法,用水と廃水,37,2, 119-123 (1995)
- 6)鈴木 修,小針 致,家藤治幸,秋田 修:プロト プラスト融合法による排水処理用酵母の育種,醸造 協会誌,91,7,521-526 (1996)
- 7) Reynolds, D.R. and Taylor, J. W.: The Fungal

Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics, CAB International, Wallingford, UK, 225-233 (1993) 8) 工場排水試験方法 JIS K 0102, 日本規格協会(1998) (受付 2007.3.7) (受理 2007.7.20)