



Title	糖蜜廃液の微生物脱色
Author(s)	長野, 晃弘; 鈴木, 昌治
Description	第2回衛生工学シンポジウム (平成6年11月10日 (木) -11日 (金) 北海道大学学術交流会館) . 3 有効利用、高度処理、廃棄物処理 . 3-5
Citation	衛生工学シンポジウム論文集, 2, 101-104
Issue Date	1994-11-01
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/7592
Type	departmental bulletin paper
File Information	2-3-5_p101-104.pdf



糖蜜廃液の微生物脱色

長野晃弘 三機工業(株)、鈴木昌治 東京農業大学

1. はじめに

糖蜜は製糖工場の二次生産物として得られる粘潤性の高いスラリーで、糖分を高濃度に含んでいることから、工業用アルコールや核酸系調味料などの発酵生産の原料として利用される。製造工程では、糖蜜の中の糖が利用され、製品が分離された後に黒褐色の廃液が排出される。ここでは、アルコール工場から排出される廃液を主として取り扱い糖蜜廃液と呼ぶ。日本国内でもかつては、この発酵生産が主流で廃液は嫌気性消化でメタン発酵処理したのち、活性汚泥処理されていた。しかしながら、活性汚泥処理の処理水においても黒褐色を呈しており、色を安価に除去する方法がなかったため、近年では、国内における発酵生産は規模が縮小され、タイやインドネシアで発酵生産された粗留アルコールを輸入し精製する方法に転換されてきた。

脱色方法として、凝集処理、酸化処理、限外濾過膜や逆浸透膜の分離膜による濃縮等が有効な処理として検討されたが、薬品費や汚泥処理などのランニングコストが高いことから実現には至っていない。リサイクルの観点から肥料化する等の方法は、有効な方法であり現在国内でも実施されている。肥料の需給バランス等から処分できる量に限界があり全てを肥料にすることは困難である。東南アジア諸国においてすら全てを肥料にリサイクルすることは難しく、河川に放流されている様である。

これらのことから、糖蜜廃液を脱色する新たな方法として微生物を用いた脱色について検討を実施している。ここでは、糖蜜廃液を脱色する糸状菌として不完全菌類（ミセリア・ステリリア）の有力な株を分離し、分離株の脱色発現条件について若干の知見を得たので報告する。

2. 実験方法

2. 1 糖蜜廃液を脱色する菌（ミセリア・ステリリア M-1株）

糖蜜を脱色する微生物については、つくば大学の
の大桃らが多くの菌を分離しており、その代表として、担糸菌 *Coliulus versicolor* Ps4a, 不完全菌 *Mycelia sterilia* D90, 麹菌 *Aspergillus fumigatus* G-2-6, 乳酸菌 *Lactobacillus hilgardii* など広範囲にわたって検索分離している。その一方、東京農業大学の鈴木らのグループが新たに、不完全菌 *Mycelia sterilia* M-1株（以後M-1と呼称）を分離し、本実験では、M-1を用いた。M-1株の顕微鏡写真を図-1に示す。

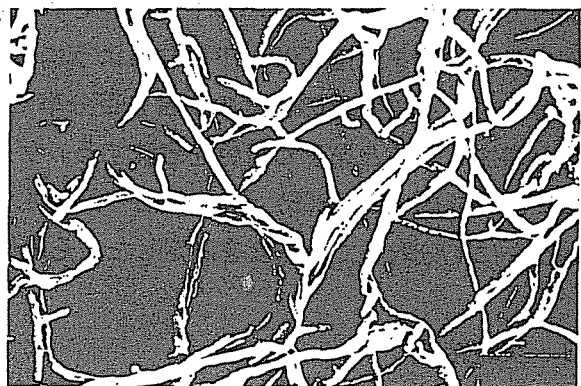


図1 *Mycelia sterilia* M-1株

この菌は、胞子を作らないこと、菌糸が分枝性でクランプ形成がみられないことから不完全菌類 (*Mycelia sterilia*) に分類され、脱色能力に極めて優れていることや栄養要求性において大桃らの分離したものと異なることを確認した。特に窒素の要求性において、大桃らの分離した

Mycelia sterilia D90はペプトンを要求するのに比べて、M-1は窒素を要求しない。

2. 2 糖蜜廃液

本実験で用いた糖蜜廃液は、国内で生産された糖蜜アルコール工場から供与されたもので水質分析値を表1に示す。廃液のBODは、58,000mg/l、COD_{Cr}は、170,000mg/lに代表されるように非常に高濃度の有機物を含むことと、無機物の中でもカリウムを11,000mg/lと非常に高濃度に含むことが特徴である。この廃液をメタン発酵処理を行うためには、3倍程度の希釈が必要であり、適切な処理を行うとBODの除去はほぼ完全に行うことが可能であるが、CODの除去率は50%強にとどまることが分かっている。さらに色の除去はメタン発酵や活性汚泥といった生物処理ではほとんど行われぬ。

表1 糖蜜廃液の分析値

BOD	58,000mg/l	K	11,000mg/l
COD _{Cr}	170,000mg/l	Na	460mg/l
TOC	64,300mg/l	Ca	2,010mg/l
T-N	2,780mg/l	Mg	1,120mg/l
T-P	147mg/l	Fe	457mg/l
T-S	4,230mg/l	Cu	2mg/l
Total Solids	151,000mg/l	pH	4.5
Volatile Solids	109,000mg/l		

2. 3 培養方法

500ml容の坂口フラスコに糖蜜廃液や各種栄養源で調整した培地を150ml投入し、120°C 5分間オートクレーブで滅菌する。これにGYP（グルコース、酵母エキス、ペプトンを寒天に加えた固形培地）斜面培地で5日間前培養したM-1を直接接種する。このフラスコを30°Cで振とう培養する。

2. 4 分析方法

脱色した色度の測定方法は、吸光高度計を用いて波長475nmにおける吸光度を測定することによって求めた。白金酸コバルトで調整された市販の色度標準液（和光純薬）をもとに検量線を作成し、検体を色度1000以下になるように緩衝液で適宜希釈して測定した。脱色率は培養前の色度に対する培養後の色度の割合を百分率で表した。負の脱色率は培養前に比べて培養後の色度が増加したことを示し着色を意味する。ゲルクロマトグラフィは、直径25mm長さ800mmのカラムにSEPHDEXG-25COARSEゲルを充填して蒸留水を溶離液とした。1mlの検体を加えフラクションコレクタにて分取して吸光度を測定した。その他の水質分析はJIS K-0102に従った。

3 実験結果

3. 1 糖の種類の色脱色活性に及ぼす影響

色度が、35,000になるように希釈した廃液に単一炭素源として糖を2%の濃度で加え、それを培地とし、菌体を植種して7日間培養し反応前後の色度を測定した。糖を加えない培地についても併せて試験を行った。15種類の糖を選定して試験を行い、糖の違いによる脱色活性への影響について試験を行った。その結果を脱色活性の高かった糖から順に示したのが図-2であ

る。グルコースを添加した場合の脱色活性がもっとも高く、脱色率で62.3%であった。最も低いアラビノースでは29.3%になった。糖を加えなかった培地では、着色がおこった。これにより色度除去の活性を発現するには、有機炭素源が必要でグルコースが有効であることがわかる。

3. 2 窒素源の脱色活性に及ぼす影響

通常、微生物が増殖するとき窒素源としてアンモニアや有機性の窒素源を要求する。そこで、窒素源として硝酸、酵母エキス、ペプトンを選定し炭素源としてグルコースを加えて培地を調整して培養試験を行った。廃液は色度13,000に調整した。培養時間は7日間とした。コントロールとしてグルコース、窒素源を加えない場合についても試験した。試験結果を脱色率の高かった順にまとめたのが図-3である。硝酸+グルコースの系とグルコースだけで窒素源を加えなかった系では、脱色率が約75%と高く、酵母エキス+グルコース、ペプトン+グルコースの有機窒素源を加えた系では脱色率が37%にとどまった。大桃らの分離したMycelia sterilia D90はペプトンを添加することによって脱色率が高くなると報告していることから、窒素源の脱色に対する影響から二つの菌株は明らかに違った性質をもっていると判断できる。この試験においてもグルコースを添加しない系では着色が観察された。

3. 3 グルコース濃度の脱色活性に及ぼす影響

色度を10,000に希釈した培地にグルコース濃度を0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5%で加えて7日間培養試験を実施した。培養後の色度を測定した結果を図4に示す。0%では着色しグルコースの添加によって脱色はすすむが、グルコース濃度は1%及び2%で最も高くなり、それよりも高い濃度では脱色率は低下した。この実験では、最も高い脱色率を得るためのグルコースの添加量は1%であるという結果が得られたが、実験によって脱色率のばらつきがみられ最適な条件と判断するにはさらに詳細な実験を行う必要があると思われる。また、単位添加グルコース量あたりの色度除去効率を考えると今回の実験範囲では0.5%の場合がよいので脱色プロセスの中での位置づけについても今後検討する必要がある。

3. 4 脱色反応の前後の水質分析結果

培養前の培地とグルコースを加えて培養後脱色した培地について水質分析ならびにゲルクロマトグラフィによる分画分析を行った。水質分析の結果を表2に示す。分析結果から色度は除

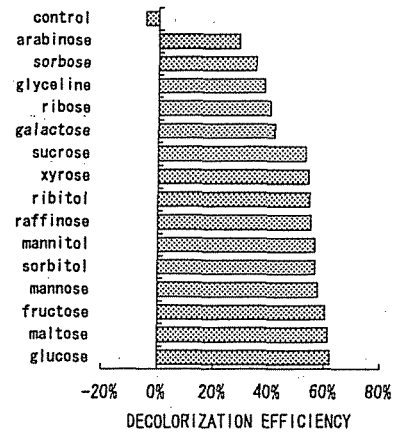


図2 糖の脱色活性への影響

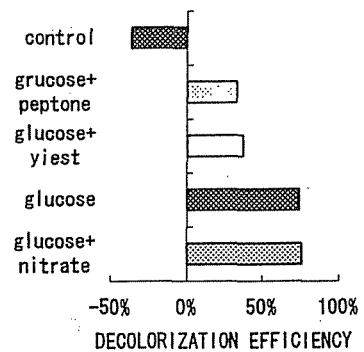


図3 窒素源の脱色活性への影響

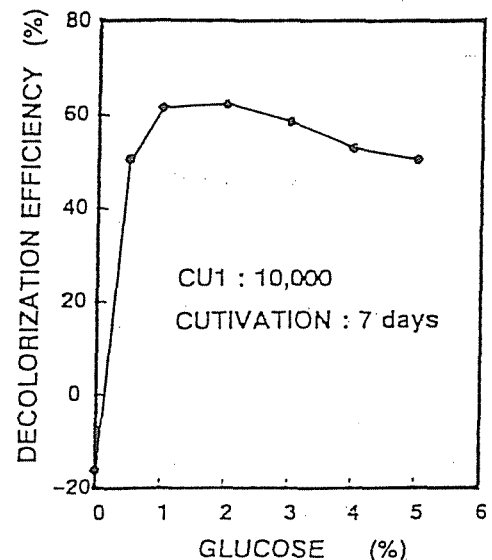


図4 グルコース濃度の脱色活性への影響

去しているが、CODはそれほど除去されていないことがわかる。CODに代表される除去分は加えた糖のそれにほぼ対応することから、色度の除去はメラノイジン等に代表される色度物質を完全に分解しているのではなく構造変化によるものと推測される。次にゲルクロマトグラフィによる分画試験の結果を図5に示す。本実験で用いたゲルクロマトグラフィでは、分子量の大きな画分は短い時間で流出する。実験では着色の原因となる可視光の波長の代表として410NM、470NMを選定し、有機物濃度の目安として紫外部の波長の代表として260NMを選定して測定を行った。この結果から、可視光の波長においては410NM、470NMの両波長とも分子量の大きい画分で吸光度が大きく減少しており、高分子の着色物質を脱色していることがわかる。また、紫外部の260NMではそれほど大きい吸光度の変化がみられないことから、有機物の分解にはそれほど寄与していないことがこの結果からも裏付けられたものと考えられる。

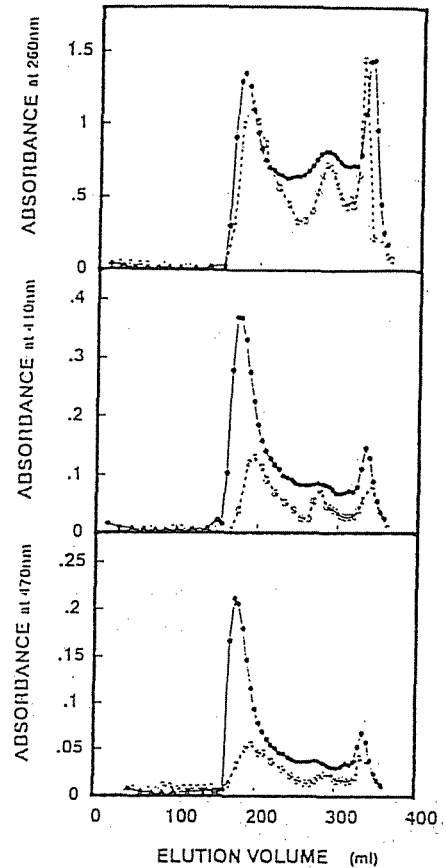


図5 ゲルクロマトグラフィによる分析結果

表2 培養前後の水質分析値

グルコース濃度	培養前			培養後		
	色度	CODmn	CODcr	色度	CODmn	CODcr
0%	12000	3,180mg/l	7,980mg/l	34500	2,890mg/l	5,330mg/l
1%	10600	8,930mg/l	18,200mg/l	2230	2,920mg/l	6,170mg/l

4. 結論および今後の課題

糖蜜廃液中に含まれるメラノイジンに代表される着色物質を脱色できる菌体として *Mycelia sterilia* M-1株を分離し、その栄養的条件について明らかにした。M-1株は、非常に高い脱色活性を有するが、脱色に際して糖を要求する。また、脱色過程では着色物質を完全分解するのではなく、色素の構造変化によるものであることが示唆された。

このようにM-1株は現在すぐに応用に結びつけていくことは難しいが、その働きは非常に際だっており遺伝子的にも貴重な菌株であると考えられる。今後、この菌体の特性を応用するにあたり反応のメカニズムや酵素反応等を明らかにしていく必要があるものと考えられる。

参考文献

- 1) Namiki M. Advanced in food research Vol.32 115-184 (1988)
- 2) Ohmomo S. et al.: Agric. Biol. Chem. 49(9) 2551-2555(1985)
- 3) Sirianuntapiboon S. et al.: Agric. Biol. Chem. 52(2) 387-392(1988)
- 4) 鈴木昌治, 他: 平成元年日本発酵工学会大会講演要旨集(1989)