

## うどん湯煮廃液の酵素分解法の検討

## Enzymatic Degradation Method for Treating Boiled "Udon" Wastewater

三好益美 藤田久雄 岡市友利 藤田淳二  
 Masumi MIYOSHI Hisao FUJITA Tomotoshi OKAICHI Junji FUJITA

## 要 旨

小規模食品事業所でも安価で再資源化可能な排水の処理方法の確立を目指し、香川の代表的な食品産業の一つであるうどん屋の湯煮廃液から再資源化を前提に酵素分解して発酵原料の糖質を生成する検討を行った。その結果、澱粉 9.9g/L 含む湯煮廃液に耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼを 1L 当たり 0.025ml 加えて約 90°C で攪拌すると容易にグルコース・オリゴ糖に加水分解され、平衡になった 2 時間後の澱粉含有量に対する糖類の生成率は、グルコース 7~11%、マルトース 25~27%、トリオース 18~19%、テトラオース 7~9%、ペンタオース 20~23% で合計 81~89% であった。4 種類の市販耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ酵素の比較では、製品中の酵素活性が異なる等で反応速度に差があったが、糖類の生成割合はほぼ同じであった。また、湯煮廃液の約 100°C 余熱を利用して耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ酵素を添加して 1 分攪拌後自然放置すると容易に分解してグルコース・オリゴ糖を生成した。湯煮廃液は酵素処理で粘性が低下して沈殿物と上澄み液に容易に分離し、沈殿物の割合は澱粉含有量の 1~7% であった。さらに、湯煮廃液 $\alpha$ -アミラーゼ処理液にグルコアミラーゼを 0.01g/L 加えて約 55°C で 4 時間攪拌処理するとオリゴ糖が分解しグルコースが生成した。

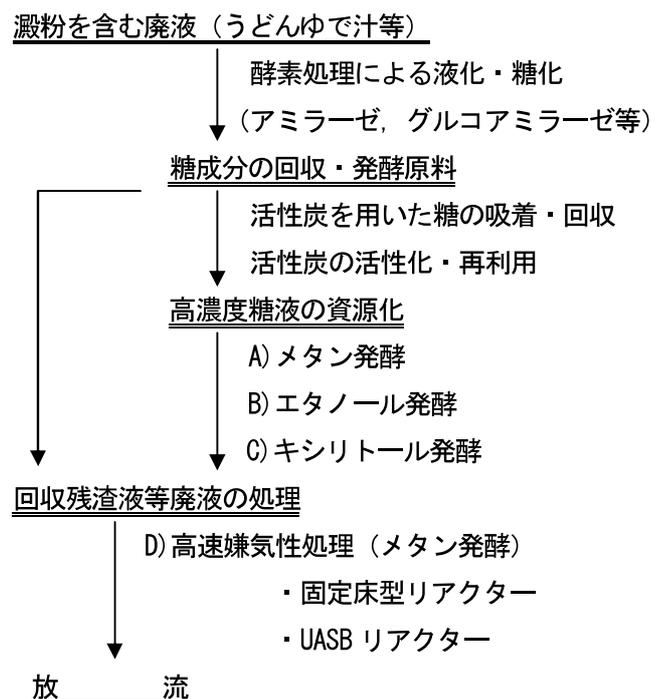
キーワード：うどん、湯煮廃液、耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ酵素、グルコアミラーゼ、酵素分解

## I はじめに

香川県では小規模・未規制事業場の COD 発生負荷量の割合が全体の約 2 割と相対的に高くなってきており、その負荷削減が課題となっているが、その排水対策には資金面や技術面での課題が多い。香川の代表的な食品産業の一つであるうどんに係る事業場数は、排水量 50 t / 日以上が 5 事業場、50 t / 日未満の小規模事業場が 333 事業場で、これらのめん類製造業と未規制事業場（うどん店）をあわせると約 900 店舗にもなっており、香川県のゆでうどん用小麦粉使用量は、約 4 万トン / 年（2004 年）と全国で最も多い。環境省の調査によると、めん類製造工程において、めんに用いられた小麦粉の 7~12% が溶出し、BOD 原単位は原料 1 t 当たり 43~61 Kg とされている<sup>1)</sup>。

そこで、小規模食品事業所でも安価で再資源化可能な排水の処理方法の確立を目指し、うどん屋の廃液から酵素処理を行い安価な活性炭で糖成分を再資源化を前提に回収し、さらに排水浄化を容易にする技術の開発と実用

化を図る研究を香川大学希少糖研究センターと連携を図りながら進めている。



うどん製造過程で生ずる湯煮槽のゆで汁（以下 湯煮廃液）の調査<sup>2) 3)</sup>では、平均値は有機物がBOD指標で9,200mg/L(4,700~12,100)含まれ、しかも糊状化しており、濾過等の処理が難しく、且つ腐敗しやすい廃液である。湯煮廃液は澱粉が8.9g/L(4.6~11.7)含まれており、100度で加熱され無菌、且つ、でんぷんは熱でアルファ化されているため、湯煮廃液の持つ余熱を利用して、容易に酵素処理分解が可能であると考えられる。

今回、資源化を前提として湯煮廃液中の澱粉を市販の耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ酵素等で分解し、発酵原料の糖質を生成する検討を行った結果について報告する。

## II 方法

### 1 供試材料

うどん店及び製造所の湯煮廃液（ゆで汁）を使用した。

### 2 供試酵素

5社から耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ4種類、グルコアミラーゼ1種類を収集して使用した。

表1 酵素の性状

酵素名		至適pH	至適温度	酵素活性
耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ	A	6.0-7.0	90°C(pH6.0)	6,100LJ/g
	B	6.0-8.0	90°C以上	14,000DUN/g以上
グルコアミラーゼ	C	7.5	80°C以上	3000KUN/g
	D	6.0-7.0	95-105°C	100,000U/g
グルコアミラーゼ	E	4.5-5.0	55-60°C	2,000U/g

注) 性状はカタログに記載しているものを記入。

### 3 分析方法

- (1) pH, BOD, CODはJIS K 0102により行なった。
- (2) 固形分、塩分、澱粉は衛生試験法・注解<sup>4)</sup>により行なった。なお、澱粉は塩酸処理を行った後、高速液体クロマトグラフィーによりグルコースを定量し、係数0.9を乗じて求めた。
- (3) グルコース・オリゴ糖の分析には、(株)島津製作所の高速度液体クロマトグラフ(HPLC)を使用し、分析カラムにはShodex Asahipak NH2P-50 4Eを使用した。検液はサンプリング後直ちにHPLC溶媒(CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=60/40)で10倍に希釈・氷冷してHPLCで分析測定した。図1に分析条件及びクロマトグラフ

の(例)を示す。

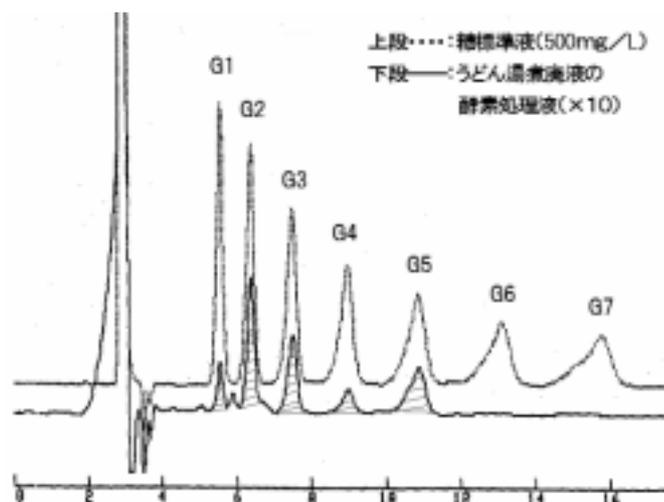


図1 うどん湯煮廃液 $\alpha$ -アミラーゼ酵素分解液のクロマトグラム

酵素分解： $\alpha$ -アミラーゼを25.2 $\mu$ L/L、90°Cで2時間処理  
標準：G1(グルコース)、G2(マルトース)、G3(トリオース)、  
G4(テトラオース)、G5(ペンタオース)、  
G6(ヘキサオース)、G7(ヘプタオース)

HPLC条件：

カラム；Shodex Asahipak NH2P-50 4E

溶媒；CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O=60/40

流速；1.0ml/min カラム温度；30°C

検出器；屈折計

(4) CN組成はYanaco CHNコーダーMT-3、サンプリャーMTA-3で測定した。

### 4 湯煮廃液の耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ酵素によるグルコース・オリゴ糖の生成速度

湯煮廃液(澱粉9.9g/L、食塩7.0g/L)1LをpH6.0に調整し15分間煮沸後、温度を90°Cに保って、耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼを添加しスターラーで攪拌して反応させた。

#### (1) 市販酵素の糖生成速度の比較

4種類の市販耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼA, B, C, Dを25 $\mu$ L/L添加して反応0.5, 1, 2, 4, 8時間後のグルコース・オリゴ糖生成量を測定した。

#### (2) 酵素添加量と糖生成速度

湯煮廃液に耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ(B)を10 $\mu$ L/L,

25  $\mu\text{L/L}$  及び 100  $\mu\text{L/L}$  添加して反応 0.5, 1, 2, 4, 8 時間後のグルコース・オリゴ糖生成量を測定した。

### 5 湯煮廃液の余熱を利用した酵素分解

湯煮廃液 Y, T, N を各 10L 沸騰させた後, 耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ (A) 100  $\mu\text{L/L}$  を添加して 1 分攪拌, その後 1 時間自然放置して, グルコース・オリゴ糖の生成量を測定した。

### 6 湯煮廃液の耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ分解液の固液分離と沈殿物の組成

湯煮廃液 T, M を各 2L 沸騰させた後, 耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ (A) 100  $\mu\text{L/L}$  を添加して 90 $^{\circ}\text{C}$  で 4 時間攪拌反応後静置し 150  $\mu\text{m}$  の篩を通して沈殿物を分離した。沈殿物を乾燥後 CHN 計で組成を測定した。

### 7 グルコアミラーゼによる湯煮廃液 $\alpha$ -アミラーゼ分解液の分解

前述の湯煮廃液の耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ分解液を pH4.4 に調製後, 温度を 55 $^{\circ}\text{C}$  に保って, グルコアミラーゼを 10mg/L, 25mg/L, 100mg/L 添加しスターラーで攪拌して反応させ 0.5, 1, 2, 4, 8 時間後のグルコース及びマルトース生成量を測定した。

## III 結果及び考察

### 1 湯煮廃液の耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ酵素によるグルコース・オリゴ糖の生成速度

(1) 市販酵素の糖生成速度の比較

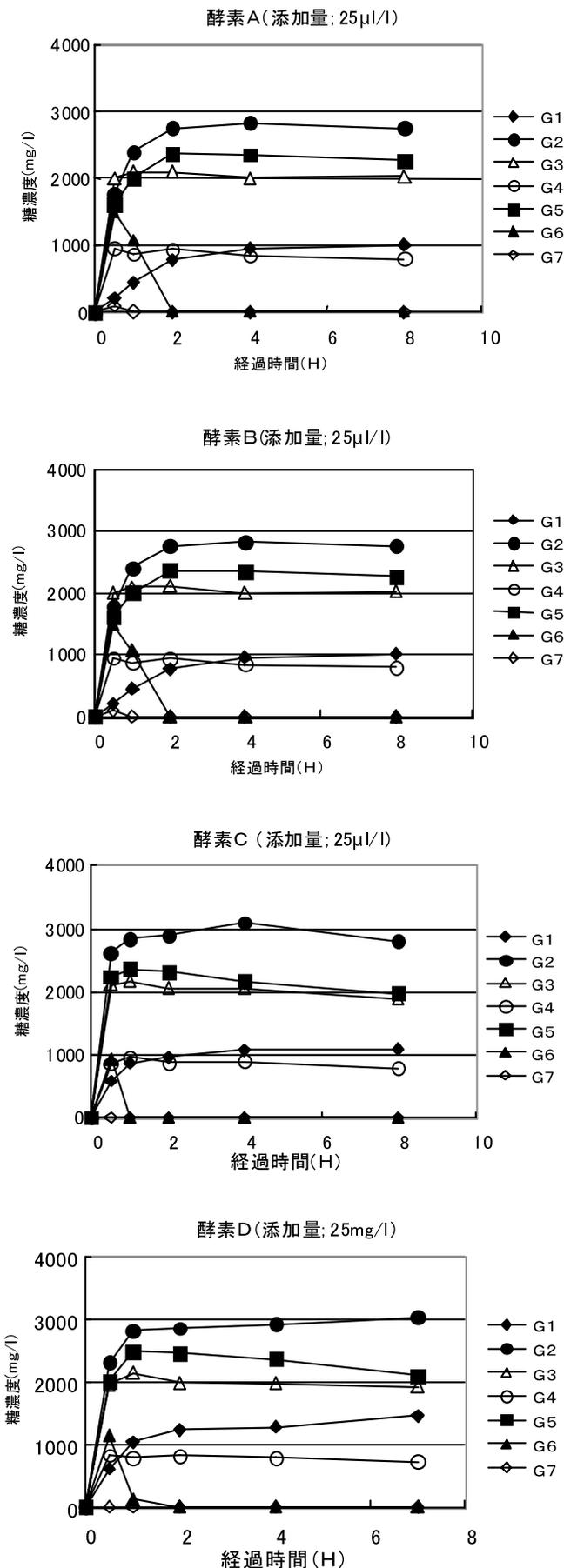


図2 湯煮廃液 (澱粉 9.9g/L) の市販耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ酵素による糖生成速度の比較

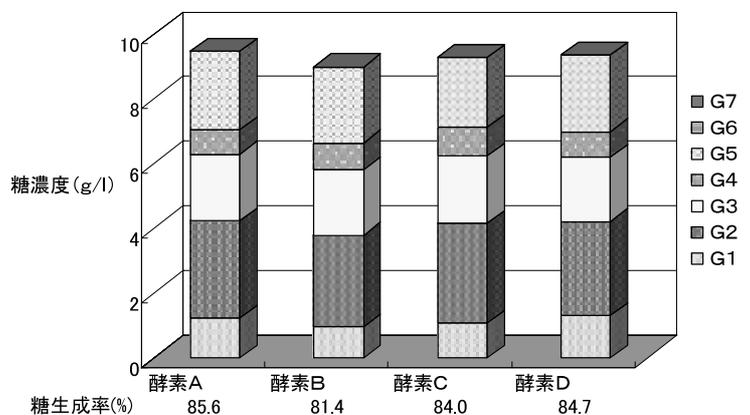


図3 湯煮廃液 (澱粉 9.9g/L) の市販耐熱性  $\alpha$ -アミラーゼ酵素による糖生成量の比較 (4 時間後)

湯煮廃液の糖化に適する酵素を選択するため、4種類の市販耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼについて、温度を90度に保って酵素を25 $\mu$ L/L添加して、反応時間と糖生成量の関係を調べた結果を図2に示す。

市販耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼは製品中の酵素濃度(酵素活性)が異なり反応速度に差があったが、反応平衡時の糖類の生成割合はほぼ同様であった。

図3に示すように、平衡時の糖濃度はマルトース(G2) > ペンタオース(G5) > トリオース(G3) > グルコース(G1) > テトラオース(G4)であり、酵素添加4時間後の組成比はマルトース(G2); 31.2%~33.4%, ペンタオース(G5); 23.3~26.1%, トリオース(G3); 20.5%~22.3%, グルコース(G1); 10.7%~13.8%, テトラオース(G4); 8.1%~9.6%であった。ヘキソース(G6), ヘプタオース(G7)は、酵素投入2時間後には、すべての酵素で消失した。4種の酵素の糖生成率は湯煮廃液の澱粉含有量の81.4%~85.6%であった。

以上、4種類の市販耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼについて、湯煮廃液分解液中の糖組成はほぼ同じで、酵素選択は酵素活性と値段の関係で選択できる。

## (2) 酵素添加量と糖の生成速度

湯煮廃液に耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ(B)を10 $\mu$ L/L, 25 $\mu$ L/L及び100 $\mu$ L/L添加して温度を90度に保って反応時間と糖生成量の関係を調べた結果を図4に示す。糖生成量が平衡になる時間は酵素添加量10 $\mu$ L/Lで約4時間, 25 $\mu$ L/Lで約2時間, 100 $\mu$ L/Lで約30分であった。また、平衡時の澱粉含有量に対するグルコース・オリゴ糖生割合は25 $\mu$ L/L添加2時間反応後で、グルコース7%, マルトース25%, トリオース19%, テトラオース9%, ペンタオース22%で合計81%であった。

## 2 湯煮廃液の余熱を利用した酵素分解

うどん湯煮釜の中で残存する湯煮廃液に酵素を直接添加するなど、廃液の余熱を利用して酵素分解する方法を検討した。うどん店3店の湯煮廃液10Lを沸騰させた後、耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ100 $\mu$ L/Lを添加して1分攪拌後、1時間自然放置してグルコース・オリゴ糖の生成量を測定した結果を表2に示す。澱粉含有量に対するグルコース・オリゴ糖の生成率は合計で70~81%であった。

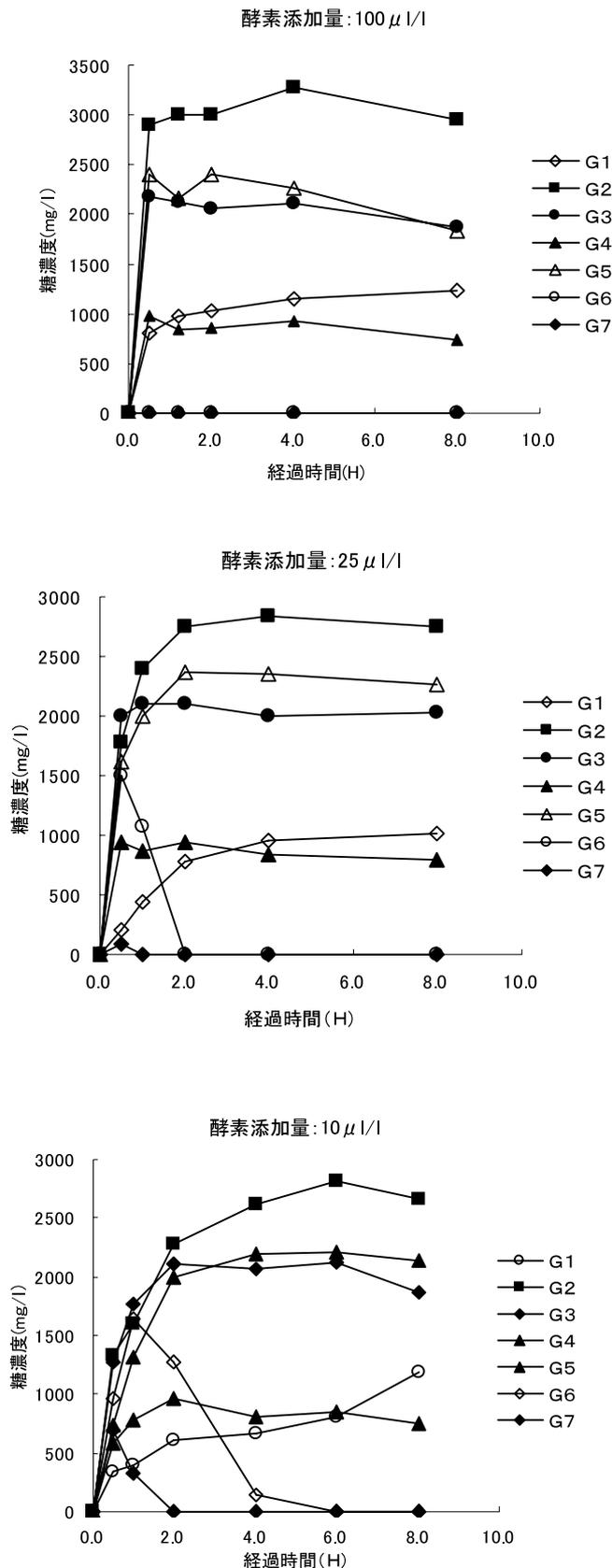


図4 湯煮廃液(澱粉9.9g/L)の $\alpha$ -アミラーゼ酵素添加量と糖の生成速度

表2 湯煮廃液の余熱を利用した酵素分解

湯煮廃液	店舗	Y	T	N
pH		6.6	6.9	6.8
食塩(g/L)		5.3	9.2	6.9
澱粉(g/L)		11.7	12.0	9.4
方法	酵素添加 反応時間 攪拌	耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ(A) 100 $\mu$ L/L 1時間 1分攪拌して自然放置		
温度	開始時 1時間後	96 77	97 81	98 66
糖生成率 (%)	G1	5.9	7.4	12.1
	G2	19.6	23.8	24.2
	G3	15.9	19.3	15.8
	G4	7.0	8.9	7.3
	G5	20.5	21.9	17.2
	G6	0.6	0.0	0.0
	G7	0.6	0.0	0.0
	計	70.1	81.3	76.7

注) 糖生成率は澱粉含有量に対する割合

以上、酵素が耐熱性、且つ、食品添加物であることから、作業終了後の湯釜中の廃液に直接酵素を添加するなど、湯煮廃液の余熱を利用して安全・容易に加水分解しグルコース・オリゴ糖が生成できると考えられる。処理に要する酵素コストは一日600玉を製造する中規模の店舗の場合、湯煮廃液200L/日で約15円程度(酵素価格1500円/Kg, 使用量10mL/100L)の計算になる。

### 3 湯煮廃液の耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ分解液の固液分離と沈殿物の組成

湯煮廃液2Lを沸騰させた後、耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ(A) 100 $\mu$ L/Lを添加して90℃で4時間攪拌反応した。そして静置後150 $\mu$ mの篩を通して沈殿物を分離し(写真1)、沈殿物の乾燥重量及び組成を測定した結果を表3に示す。

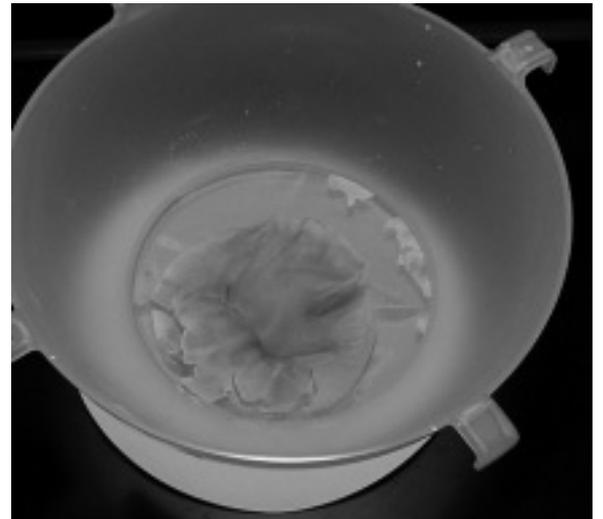
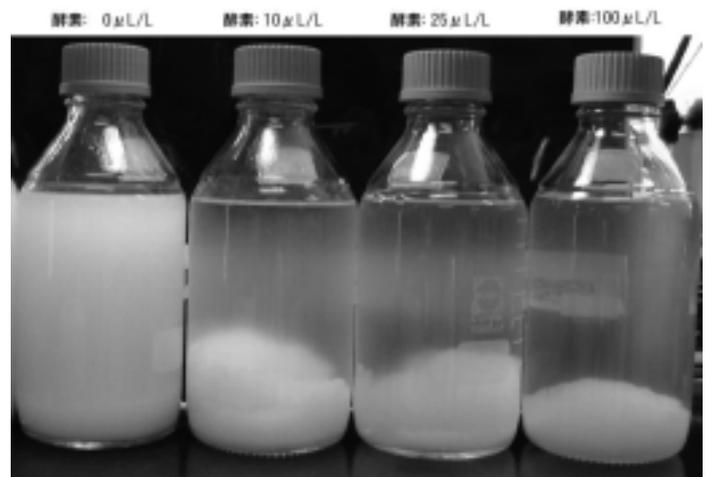
沈殿物は150 $\mu$ mの篩で容易に分離でき、保留される沈殿物は澱粉含有量の1.1~7.1%であった。沈殿物のCN組成は炭素43.6~49.3%、窒素7~10.8%であって小麦粉と比較して窒素の割合が大きい。

写真2に示すように糊状湯煮廃液(ゆで汁)は酵素処理で粘性が低下し、固形物との分離が可能となり、沈殿物と上澄み液に容易に分離する。

表3 湯煮廃液の耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ分解液の固液分離と沈殿物の組成

店舗名	湯煮廃液		$\alpha$ -アミラーゼ分解液		
	澱粉量 g/L	150 $\mu$ m保留沈殿物		CN組成	
		沈殿物 g/L	/澱粉 %	炭素 %	窒素 %
T	13.5	0.96	7.1	43.6	7
W	11.6	0.41	3.5	49.3	10.8
M	8.4	0.09	1.1	48.1	10.6
2%小麦粉糊化	17.2	1.37	8	33.3	5.3
小麦粉	-	-	-	40.1	1.6

酵素: 耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ 100 $\mu$ L/L添加  
条件: 90℃、4時間攪拌後1時間静置

写真1 湯煮廃液の耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ分解液の150 $\mu$ m篩の保留物写真2 うどん湯煮廃液の耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ酵素分解液の固液分離

条件: 90℃、4時間攪拌後静置1時間  
酵素添加量: 10 $\mu$ L/L, 25 $\mu$ L/L, 100 $\mu$ L/L  
湯煮廃液: 澱粉含有量 11.6g/L

#### 4 湯煮廃液α-アミラーゼ酵素分解によるCOD除去率

湯煮廃液を沸騰させた後、耐熱性α-アミラーゼ(A) 100 μL/L を添加して90°Cで4時間攪拌反応した。そして静置後上澄み液を1μm ガラス繊維ろ紙でろ過して、酵素分解液及びそのろ過液のCODを測定し除去率を求めた結果を表4に示す。

表4 湯煮廃液α-アミラーゼ分解によるCOD除去率

店舗名	湯煮廃液		耐熱性α-アミラーゼ分解液			
	澱粉量 g/L	COD mg/L	COD mg/L	除去率 %	COD mg/L	除去率 %
T	13.5	11,000	11,150	-1	10,100	8
W	11.6	8,360	8,015	4	8,660	-4
M	8.4	7,000	6,400	9	6,800	3
2%小麦粉糊化	17.2	12,450	11,750	6	11,350	9

酵素:耐熱性α-アミラーゼ 100μL/L添加  
条件:90°C、4時間攪拌後1時間静置

酵素処理液のCODは処理前とほとんど変わらない。酵素処理上澄み液ろ過液はCODが数%(-4~8.8%)減少した。

これは、アミラーゼ分解反応が酸素と結合する酸化反応を伴わないため、沈殿物として除去できた数%の有機物に相当するCODのみが減少する。すなわち、澱粉の有するエネルギーの大部分が生成物の糖に移り、利用できる。

#### 5 グルコアミラーゼによる湯煮廃液α-アミラーゼ処理液の分解とグルコース及びマルトースの生成

前述の湯煮廃液(澱粉9.9g/L)の耐熱性α-アミラーゼ分解液をpH4.4に調製後、温度を55度に保って、グルコアミラーゼを10mg/L、25mg/L、100mg/L添加しスターラーで攪拌して反応させ0.5、1、2、4、8時間後のグルコース及びマルトース生成量を測定した結果を図5に示す。

湯煮廃液α-アミラーゼ酵素分解液中のオリゴ糖を酵母等が利用可能なグルコース及びマルトースまで分解するに要する時間は、100mg/L添加で約30分、25mg/L添加で約2時間、10mg/L添加で約4時間であった。反応4時間後のグルコースとマルトース合わせた生成割合はいずれも約95%で、グルコースの生成割合は、100mg/L添加で95%、25mg/L添加で72%、10mg/Lで52%であった。

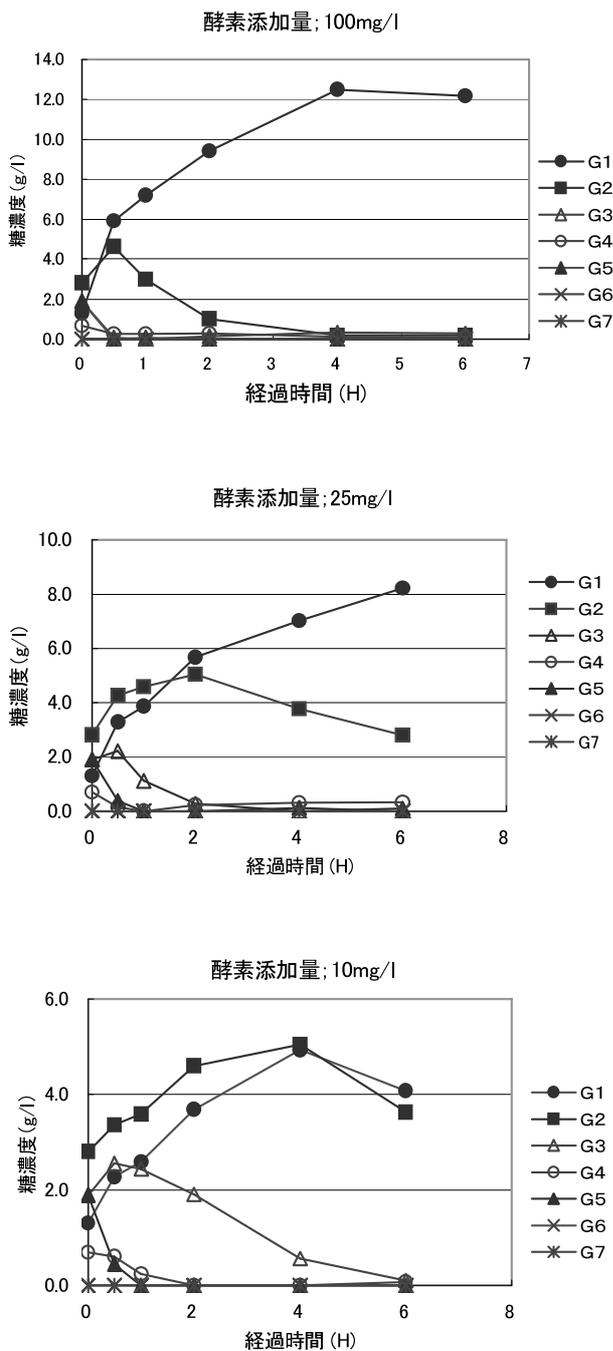


図5 湯煮廃液α-アミラーゼ酵素分解液のグルコアミラーゼ添加量とグルコース及びマルトースの生成速度

#### IV まとめ

小規模食品事業所でも安価で再資源化可能な排水の処理方法の確立を目指し、香川の代表的な食品産業の一つであるうどん屋の湯煮廃液から再資源化を前提に市販の耐熱性α-アミラーゼ酵素等で分解し、発酵原料の糖質を生成する検討を行った結果はつぎのとおりであった。

- ① 澱粉9.9g/L含む湯煮廃液に市販の耐熱性α-アミラーゼを1L当たり0.025ml加えて約90°Cで攪拌する

と容易にグルコース・オリゴ糖に加水分解され、平衡になった2時間後の澱粉含有量に対する糖類の生成率は、グルコース 7~11%、マルトース 25~27%、トリオース 18~19%、テトラオース 7~9%、ペンタオース 20~23% で合計 81~89% であった。

- ② 4種類の市販耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼの比較では、製品中の酵素濃度(酵素活性)が異なる等で反応速度に差があったが、糖類の生成割合はほぼ同様であった。
- ③ うどん湯煮釜の中で残存する湯煮廃液に酵素を直接添加するなど廃液の余熱を利用して酵素分解する方法を検討した結果、湯煮廃液を沸騰させた後、耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ 100  $\mu$ L/L を添加して1分攪拌して1時間自然放置すると容易に分解してグルコース・オリゴ糖を生成した。
- ④ 湯煮廃液は酵素処理で粘性が低下して沈殿物と上澄み液に分離し、沈殿物の割合は澱粉含有量の1~7%程度であった。沈殿物のCN組成は炭素 43.6~49.3%、窒素 7.0~10.8%であった。
- ⑤ 湯煮廃液 $\alpha$ -アミラーゼ処理液にグルコアミラーゼを0.01g/L加えて、約55度で4時間攪拌処理すると、グルコースが95%生成する。
- ⑥ 湯煮廃液 $\alpha$ -アミラーゼ酵素分解によるCOD除去率-4~8.8%であった。

以上、うどん湯煮廃液はその余熱を利用して少量の市販耐熱性 $\alpha$ -アミラーゼ酵素で糖質まで容易に分解できることがわかった。また、糊状化した高濃度の湯煮廃液を酵素分解することにより、生物分解性の向上・排水処理の容易化等周辺環境の改善を図ることが出来ると考えられる。

今後、メタン発酵等資源化を目指した廃水処理技術の検討を進める。

## 謝 辞

研究に際して耐熱性アミラーゼの使用について示唆を頂いた香川大学希少糖研究センター教授 何森健先生に御礼申し上げます。また、本研究については香川県産業支援財団のリサーチ・オン・リサーチ事業「小規模食品製造過程で生じる未利用資源の有効活用法の開発」研究(代表者:香川大学希少糖研究センター助教授 高田悟郎)で討論頂いた研究班の方々にお礼申し上げます。

## 文献

- 1) 環境省水環境部, 「小規模事業場採水処理対策全科」環境コミュニケーションズ, 2002
- 2) 笹田康子, 土取みゆき, 石原暁: 小規模事業場の汚濁負荷量削減調査—新たな排水規制で負荷量削減を目指す—, 香川県環境保健研究センター所報, 創刊号, 60-67, (2002)
- 3) 藤田久雄, 三好益美ほか, うどん湯煮廃液(ゆで汁)の処理技術に関する研究, 第16回廃棄物学会研究発表会講演論文集, 487-489, (2005)
- 4) 衛生試験法・注解 2005, 189-193, 金原出版株式会社(東京都), (2005)