

有害化学物質の微生物による環境浄化技術の開発

—工業排水中の有害化学物質処理 (第3報) —

木村 英生・辻 政雄

Environment Cleaning Technique of Toxic Chemical Substance by Microorganism

— Industrial Waste Treatment by Activated Sludge (3rd report) —

Hideo KIMURA and Masao TSUJI

要 約

銅めっき工場の活性汚泥を用いて連続排水処理試験を行ない、排水中の非イオン界面活性剤の分解について検討した。その結果、活性汚泥に多量の銅が蓄積されていても、非イオン界面活性剤は十分に分解されることが明らかになった。また活性汚泥から分離した菌を用いてNPE及びNP分解試験を実施したところ、NPEは良好に分解されたが、NPは分解されにくかった。

Abstract

The biodegradation capability of non-ionic surfactant (Nonylphenoethoxylate (NPE)) by activated sludge of a copper plating factory was investigated in continuation waste water treatment. Consequently, in spite of having accumulated a lot of copper in activated sludge, it became clear that NPE is fully disassembled. Moreover, biodegrading examination of NPE and Nonylphenol (NP) were carried out using the bacterium separated from activated sludge. NP was hard to be decomposed, although NPE was decomposed good.

1. 緒 言

めっき工場の排水のように、クロム、ニッケル、亜鉛及び銅などの重金属や光沢剤、還元剤、錯化剤及び洗浄剤などに含まれる有機系化学物質が混在した状態の排水を環境中に排出するには、重金属類では凝集沈殿、有機系物質では活性汚泥という、物理・化学的処理と生物処理を併用した排水処理を行わなければならない。

しかし、このような重金属と有機化学物質を含む排水を処理の対象とする場合、凝集沈殿を行っているとはいえ、重金属が有機化学物質の処理を担う活性汚泥に徐々に蓄積し、その処理能力を低下させている可能性がある。

そこで本研究では、重金属を多量に含む活性汚泥の分解挙動について検討することを目的として、平成14年度には、有機化学物質として非イオン界面活性剤ノニルフェノールエトキシレート (NPE) を対象に、分解試験を実施した¹⁾。

すなわち、重金属 (銅) を高濃度で蓄積している銅めっき工場の活性汚泥を用い、バッチ式処理装置で分解実

験を行ったところ、NPEの経時的な減少が認められ、NPEが分解されたことが示唆された。またNPEの分解生成物であるノニルフェノール (NP) について測定したところ、NPEの減少と共に生成し、かつ増加していることから、NPEが分解されていることが確認できた。さらに銅の含有量が少ない下水処理場の汚泥を用いて同様にNPEを分解処理し、銅めっき工場の場合と比較したところ、ほぼ同じ分解挙動を示した。しかし、処理速度の面では銅めっき工場の方が下水処理場よりも劣っている可能性が示唆された²⁾。

本年度は、昨年度の研究結果をもとに新たに連続式の処理装置を製作し、この装置で重金属 (銅) を多量に含む活性汚泥の分解挙動について検討した。

2. 実験方法

2-1 試験排水

対象とする非イオン界面活性剤にはノニルフェノールエトキシレート (NPE) (東京化成工業(株)製: $C_{11}H_{19}-C_6H_4-(OC_2H_4)_n-OH$; $n=10$) を用いた。

ここではJIS K3363「合成洗剤の生分解度試験法」²⁾で用いられている活性汚泥の培養液を別途調製しておき、これにNPEを30mg/Lの濃度となるように溶解させ、試験排水とした。試験排水の組成を表1に示した。

表1 試験排水の組成

蒸留水	1.0l
リン酸水素二カリウム	1.0g
塩化アンモニウム	3.0g
塩化カリウム	0.25g
硫酸マグネシウム	0.25g
硫酸鉄(II)	0.002g
酵母エキス	0.3g
NPE	0.03g

2-2 活性汚泥

実験には、銅を多量に含む銅めっき工場の活性汚泥と、これと比較するため銅の含有量が少ない食品工場の活性汚泥を用いた。各工場から採取した活性汚泥（返送汚泥）を遠心分離（3000rpm, 10分間）し、その上澄液を除去した。このとき残存する沈殿に蒸留水を加えて混濁させ、再び遠心分離して上澄液を除去した。この蒸留水による洗浄を2回行った後、得られる湿潤状態の汚泥沈殿物を使用した。

2-3 連続式処理装置を用いたNPE分解実験

2-3-1 連続処理装置

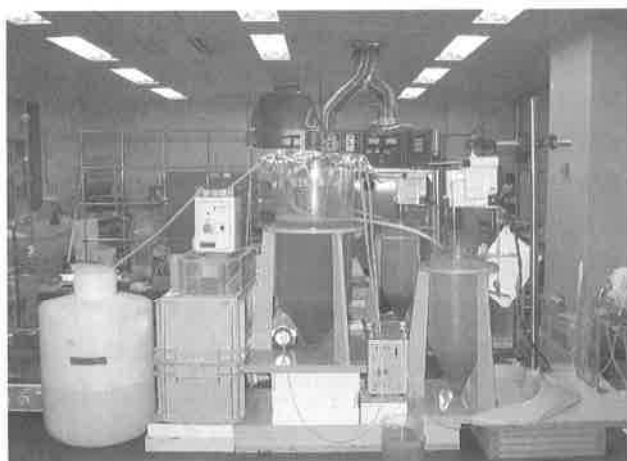


図1 実験室内に設置した連続式処理装置

NPEの分解実験は図1に示したような連続式処理装置で行った。装置はバッキ槽（容量7L）、沈殿槽、送液ポンプ、エアポンプ、攪拌器及び試験排水貯蔵タンクから成る。バッキ槽には2-2の活性汚泥190gを加えて、2-1の試験排水を通水するよう設定した。またバッキ槽にはエアポンプでエアを送り、槽内の攪拌を行った。沈殿槽ではバッキ槽から流出した汚泥が沈殿するように

し、ポンプで底部から吸引してバッキ槽へと返送させた。また沈殿槽には攪拌器を設置し、沈殿した汚泥を適度に攪拌して底部のポンプが吸引し易いように設定した。

2-3-2 実験方法

2-3-1の装置に2-1の試験排水を1日当たり7Lの流量で通水し、バッキ槽及び沈殿槽を経て排水された処理水についてNPE、NP、BOD及びCODを測定した。なお分析日は試験開始日より7、14及び21日目とした。

2-3-3 NPEの分析

処理水を、フィルター（ADVANTEC製DISMIC-25CS：0.45 μ m）でろ過して、東ソー（株）製高速液体クロマトグラフ8010を用いて測定した。カラムにはTSK gel G3000PWXL（250 x 4.6mm I.D.）を使用した。溶離液にはアセトニトリル：0.01mol/L酢酸アンモニウム=90:10の混合液を用い、流量は0.5ml/minとした。カラム温度は40 $^{\circ}$ Cとし、測定波長220nmで分析した。

2-3-4 NPの分析

処理水中のNPについて、既報⁴⁾により抽出、精製及び濃縮を行い、ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS）を用いて測定した。

2-3-5 BOD及びCODの測定

処理水のBOD及びCOD測定については、JIS K0102.21及びJIS K0102.17に基づいて行った。

2-4 NPE及びNP分解菌の分離と分解試験

2-4-1 液体培地の調製

NPE及びNP分解菌の分離を行うために使用した液体培地⁴⁾を表2に示した。この時NPE分解菌を検索する実験にはNPEを、またNP分解菌を検索する実験にはNPをそれぞれ添加した。

表2 培地組成

蒸留水	1.0L
リン酸水素二カリウム	1.0g
硫酸アンモニウム	1.0g
塩化ナトリウム	0.05g
硫酸マグネシウム	0.2g
塩化鉄	0.01g
塩化カルシウム	0.05g
NPE(あるいはNP)	0.1g

2-4-2 分解菌のスクリーニング

2-3に使用した活性汚泥を、2-2に示した方法で遠心分離した。この湿潤状態の汚泥沈殿物0.1gを2-4-1の液体培地100mlに加えて、振とう培養を行った。

次にこの培養液0.1mlを寒天平板培地（2-4-1の液体培地に寒天を1.5%加えたもの）に塗布し、25 $^{\circ}$ Cで14日

間保持した。この時培地上に生育したコロニーを分解菌とした。

2-4-3 微生物懸濁液の調製

寒天培地上に生育したコロニーを1白金耳鈎菌し、試験管に用意した2-4-1の液体培地5mlに懸濁させた。この試験管を14日間振とう培養し、微生物懸濁液とした。

2-4-4 分離菌を用いたNPE及びNP分解試験

微生物懸濁液0.1mlを試験管に用意した2-4-1の液体培地5mlに添加し、21日間振とうし、NPE及びNP濃度の濃度変化を測定した。

NPE及びNP濃度は、振とう開始前、振とう7日後、14日後及び21日後に2-3-3及び2-3-4の方法に従って測定した。

3. 結果及び考察

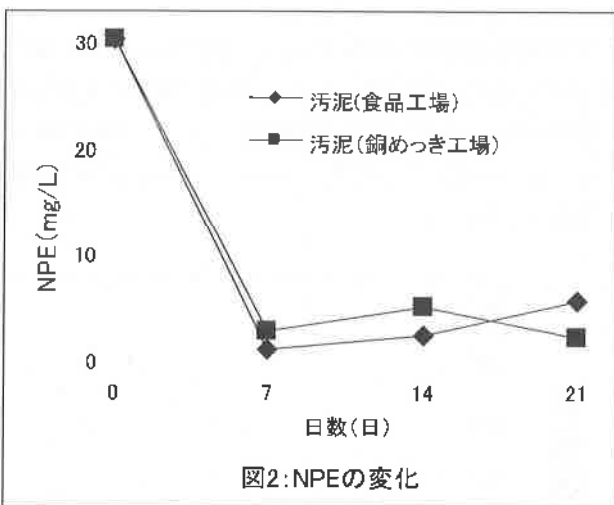
3-1 連続式処理装置を用いたNPE分解実験

3-1-1 処理水中のNPE濃度の変化

処理水中のNPE濃度について図2に示した。ここで0日の値は試験排水の(処理前の)NPE濃度を示している。

食品工場の活性汚泥(銅濃度:乾燥重量100g当たり約0.1g)を用いた実験系では、通水開始後7日目、14日目及び21日目でNPEを測定したが、NPEは良好に処理されていた。NPE濃度を見ると、7日目で0.8mg/Lと最も低い値を示し、NPEは初期値に対して約97%処理されていた。

一方、銅めっき工場の活性汚泥(銅濃度:乾燥重量100g当たり約3g)を用いた実験系でも、NPEは良好に処理されていた。NPE濃度を見ると21日目で2.0mg/Lと最も低い値を示し、NPEは初期値に対して約94%処理されていた。



平成14年度に実施したバッチ式によるNPE分解試験では、試験開始後1日目には汚泥と分離した上澄液(試験排水)中にNPEは検出されず、汚泥中のみで検出された。今回の連続式による分解試験では、処理水中に常にNPE

が検出されたが、連続式装置はバッチ式と異なり、常にNPE 30mg/Lの排水が供給されていることを考慮すると、NPEは良好に処理されているものと考えられた。

次に、両汚泥について比較すると、処理水のNPE濃度に明確な差はなく、このNPEの連続処理試験では銅含量の違いによる処理能力の差は認められなかった。

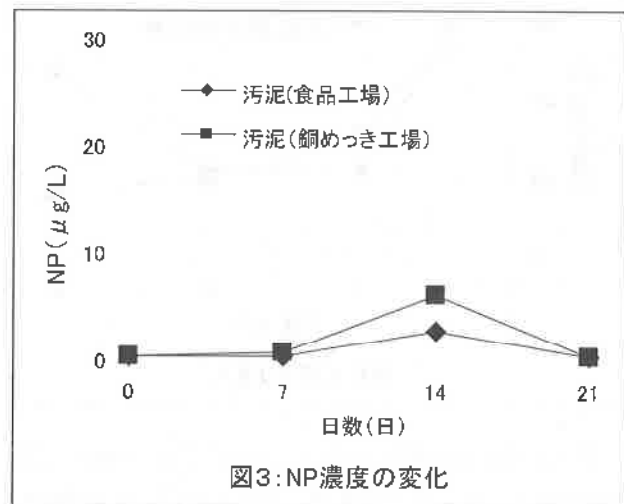
3-1-2 処理水中のNP濃度の変化

NPEが分解して生成するNPについてガスクロトグラフ/質量分析計(GC/MS)を用いて測定した。その結果を図3に示した。NPは食品工場の汚泥及び銅めっき工場の汚泥の両実験系の処理水中からわずかではあるが検出され、NPEが分解されていることが示唆された。

銅めっき工場の汚泥の場合では、NPは7及び14日目で検出され、21日目では検出されなかった。なお、最大値は14日目において5.9 μ g/Lであった。

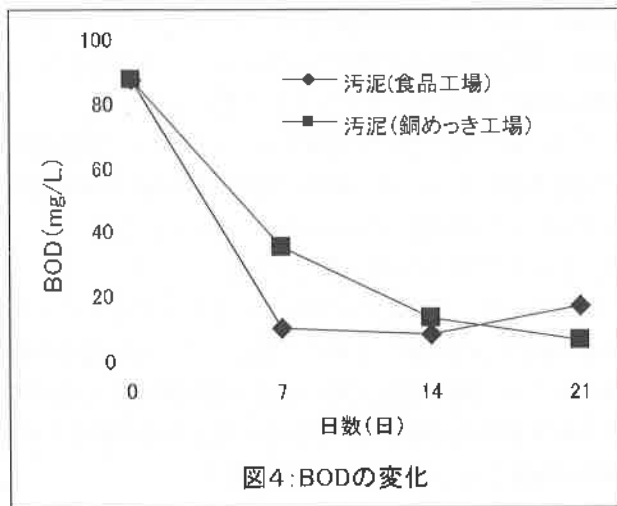
また、食品工場の汚泥の場合では、NPは14日目で検出され、7及び21日目では検出されなかった。最大値は14日目において2.5 μ g/Lであった。

平成14年度に実施したバッチ式装置によるNPEの分解実験¹⁾では、今回の連続式装置による分解実験と同じく、NPEの初期濃度を30mg/Lとしている。このとき上澄液から検出されたNPは、銅めっき工場の汚泥の場合、振とう開始後3日目に最大値8.0 μ g/Lを示した。連続式装置では、バッチ式と異なり、常にNPE 30mg/Lの排水が供給されている状況下にあるが、今回検出されたNPの濃度はバッチ式装置の数値と比較してほぼ同程度の値であった。



3-1-3 処理水のBODの変化

処理水のBOD値について測定した結果を図4に示した。ここで0日の数値は試験排水の(処理前の)BOD値を示している。

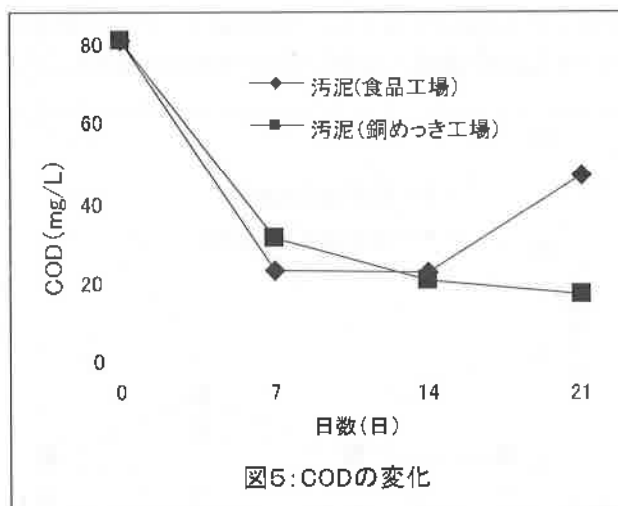


食品工場の活性汚泥を用いた実験系では、初期値の86mg/Lに対し、処理水では常に20mg/L以下となっていた。

一方、銅めっき工場の活性汚泥を用いた実験系では、7日目で34mg/Lと食品工場の汚泥の場合と比較して高い値を示したが、14日目以降20mg/L以下となり、食品工場の汚泥の場合と比較しても大きな差は認められなくなった。

3-1-4 処理水のCODの変化

処理水のCOD値について、測定した結果を図5に示した。ここで0日の数値は試験排水の(処理前の)COD値を示している。



食品工場の活性汚泥を用いた実験系では、CODの初期値80mg/Lに対し、7日目及び14日目ではそれぞれ22mg/L、21mg/Lであったが、21日目では46mg/Lまで上昇した。

一方、銅めっき工場の活性汚泥を用いた実験系では、7日目で30mg/Lであったが、21日目には16mg/Lまで減少した。

食品工場の汚泥において、14日目から21日目にかけてCOD値が上昇しているが、NPE(図2)およびBOD(図4)についても同様に14日目から21日目において上昇している。この原因については不明であるが、21日目付近で試

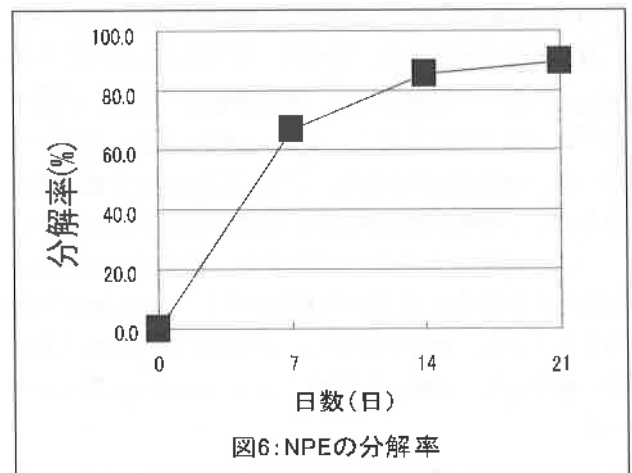
験排水の処理が良好に行われていなかったことが推察された。

3-2 分離菌を用いたNPE及びNP分解試験

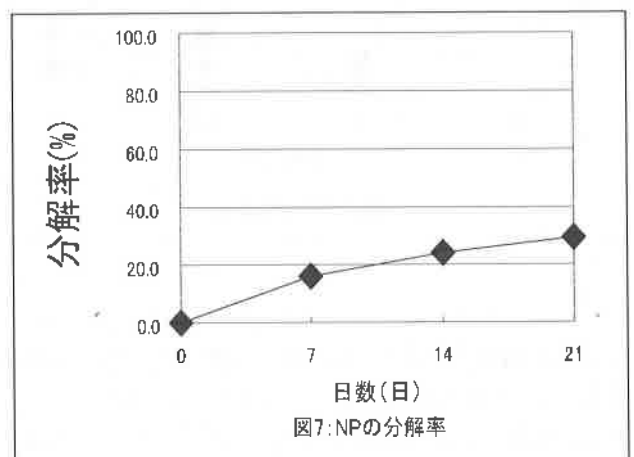
NPE連続処理試験において、NPEは良好に処理されていたが、その処理水中にはなおNPEが残存し、分解生成物であるNPも含まれている。NPEは主に工業用洗浄剤などに含まれ、排水処理施設で分解処理されるが、その分解生成物(NP)には魚類をメス化させる作用があるとの報告⁶⁾がある。このように当初の有機物質が処理されても、その分解生成物が有害性を示す場合もある。

ここではNPE及びNPの分解の促進を目的として、NPE及びNPの分解菌の検索を行い、分離した菌によるNPE及びNPの分解性の評価を行った。

まず、分離菌を用いたNPE分解試験の結果について、図6に示した。NPEの分解率は振とう7日目で69%であったが、21日目には90%に達しており、NPEは良好に処理されていた。



次にNP分解試験の結果について、図7に示した。NPの分解率は21日目でも29%であり、NPEの場合と比較して分解率が低く、NPの大部分が残存していた。NPはNPEよりも生物分解性の低い化合物であることが、分解率の低い原因と思われる。



以上の結果より、分離菌によりNPEは良好に分解されたが、NPについては分解されにくかった。今回はNP分離菌について同定するには至らなかったが、これまでいくつかの報告がみられる。例えば、Cortiら⁶⁾は活性汚泥から分離した*Candida maltosa*がNPを分解することを示した。また、*Sphingomonas*属⁶⁾、*Aeromonas*属⁴⁾及び*Pseudomonas*属⁴⁾なども見出されており、多くの菌種が関与している可能性が示唆される。

4. 結 言

連続式処理装置を作製し、これを用いて銅を高濃度で含有する銅めっき工場の活性汚泥の処理能力を評価した。対象物質の非イオン界面活性剤NPEについて分解実験を行ったところ、NPEは良好に分解処理された。この汚泥は、銅含有量の低い活性汚泥と比較しても明確な差は認められず、銅の蓄積によるNPEの分解への影響は少ないものと推察された。

またNPE及びNPの分解菌のスクリーニングを行い、分離した菌を用いてそれぞれ分解試験を実施した。NPEについては良好に分解されたが、NPについては分解性が低かった。

参考文献

- 1) 木村英生, 辻 政雄, 大柴勝彦: 山梨県工業技術センター研究報告, 17, 65 (2003)
- 2) (財)日本規格協会: JIS K3363 合成洗剤の生分解度試験方法
- 3) 環境庁: 外因性内分泌かく乱化学物質調査暫定マニュアル (1998)
- 4) 高木 茜, 澤井 淳, 菊地幹夫: ノニルフェノール分解菌のスクリーニング・同定と分解特性, 第37回日本水環境学会講演要旨集, p.562 (2003)
- 5) 環境省総合環境政策局環境保険部編: ノニルフェノールが魚類に与える内分泌攪乱作用の試験結果に関する報告
- 6) Corti, A., Frassinetti, S., Villnii, G., D'Antone, S., Fichi, C., Solaro, R.: Environ.Pollut., 90, 83 (1995)
- 7) K.Fujii, N.Urano, H.Ushio, M.Satomi, H.Iida, N.Ushio-sata, S.Kimura: Fisheries Sci., 66, 44 (2000)