

2-2 難分解性物質の微生物処理

青山 渉（(財)科学技術交流財団）

片桐誠之（(財)科学技術交流財団、現名古屋大学）

桜井定人、高橋鈺次、奥田英史、伊藤清治、丹羽 淳（名古屋市工業研究所）

梶田 勉（元名古屋市工業研究所）

1. 研究の目的と概要

廃水の高度処理、循環再利用システムを構築するためには、廃水に含有されている有機物および栄養塩類を高度に除去する技術が求められるが、従来技術の活性汚泥法では要求される水質を満たすことは難しく、難分解性の有機物が処理水中に残留し、着色の原因となるなどといった問題がある。また、ディスポーザーが導入された場合、廃水の有機汚濁物の増加につながり、抗菌作用を有する物質が微生物の働きを阻害するなどのケースが予想され、特殊な廃水処理技術が必要となる。

本研究では、生活系廃水中の難分解性有機物を微生物によって分解除去する方法について検討するとともに、より負荷の大きいディスポーザー廃水を含む廃水についても対応可能な高度廃水処理技術の開発を行った。

生活系廃水に含まれる難分解性物質については、生物活性炭法を応用した処理法を検討し、短時間のうちに効率的に分解除去するシステムを開発した。ディスポーザー廃水に関しては、ディスポーザー廃水に多量に含まれるポリフェノール類に着目し、ポリフェノール類分解能に優れた微生物を探索・選定し、モデル廃液による処理能力評価、実廃液への適用を行った。これらの成果をもとにリアクター化などを行い、ポリフェノール分解菌を担持した廃水処理バイオリアクターを開発した。

なお、本研究開発技術は、「ハイブリッド型リアクター」による処理を施した後の第二処理工程で用い、廃水の脱色および残留する有機物の高度除去を行い、その処理水は第三処理工程の「精密濾過・分離膜技術」へ送られ、さらに高度な処理を行うシステムとなる。

2. フェーズ I の成果

2-1. 目的および目標

フェーズ I では、ハイブリッド型リアクター工程では除去されない難分解性有機物の高速除去と廃水の脱色を目的としており、微生物を用いた新規な廃水処理技術を開発する。さらに、ディスポーザー廃水も処理し得る難分解性有機物除去技術を確立する目的で、ポリフェノール類を分解する微生物を自然界から探索し、最適な処理方法を検討した。目標とする廃水レベルを以下に示す。

<目標水質>

TOC：5mg/L 以下、BOD：5mg/L 以下、色度 10 以下、毒性・変異原性を有しない。

処理時間：2 時間以内。

2-2. 方法および結果

2-2-1. 廃水処理に用いる微生物の探索および選定

ポリフェノール類のモデル物質としてタンニン酸を選択し、タンニン酸を唯一の炭素源として増殖できる微生物を自然界からスクリーニングした結果、新規微生物ペニシリウム ゲアストリボルス (*Penicillium gastrivorus*) NM10b 株（以下 NM10b 株と略す）を分離した。

2-2-2. モデル物質分解条件の確立

各種ポリフェノールを唯一の炭素源とする培地で培養を行い、菌の増殖を確かめた。培地には、タンニン酸、カテキン、没食子酸、プロトカテク酸、ピロガロール、レゾルシノール、カテコール、アルカリリグニン、フミン酸をそれぞれ 5g/L となるように調製し（表 1）、これに NM10b 株を接種して 30°C で 7 日間培養した。

結果を表 2 に示す。タンニン酸、カテキン、没食子酸、プロトカテク酸を添加した培地において菌体の明確な増殖が、また、アルカリリグニン、フミン酸を添加した培地においても増殖速度が遅いものの菌体の増殖が認められた。一方、ピロガロール、レゾルシノール、カテコールといったタンニン酸やカテキンの分解物と思われる低分子のポリフェノール類を添加した培地では菌体の増殖は認められなかった。

NM10b 株をセルロース製担体とともにタンニン酸含有培地に接種し、30°C、200rpm で 3 日間振とう培養し、菌体を担体に固定化した。これを表 3 に示すポリフェノール類を含む人工廃水とともに充填率が 5% となるように流動床型バイオリアクターに充填し、開放系にて 30°C で回分処理を行った。所定時間ごとに処理液を採取して遠心分離後の上澄み液の全有機炭素量 (TOC) を測定して、その減少量からポリフェノールの分解率を求めた。さらに、タンニン酸とカテキンについては水温 15°C、20°C、25°C、30°C の場合の回分処理を行いそれぞれの分解率を求めた。

図 1 に示すように、いずれのポリフェノールについても処理開始から分解率が徐々に上昇する傾向が認められ、タンニン酸、プロトカテク酸については 3 時間、カテキン、没食子酸については 5 時間の処理で分解率が 80% を越えた。これらの廃水は、8 時間処理した処理水の TOC が 1~3mg/L となっていた。また、アントシアニン色素を含むブドウ果皮抽出物含有廃水について処理を行ったところ、8 時間処理後の TOC 分解率は 65% 程度であったが、処理水の 450nm および 570nm における吸光度は著しく減少し、5 時間処理後には脱色率が 90% 以上となった。

表 1 ポリフェノール含有培地の組成

組成	濃度 (g/L)
ポリフェノール	5.0
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.2
K ₂ HPO ₄	1.0
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0
NaCl	0.1

表 3 ポリフェノール含有廃水の組成

組成	濃度 (mg/L)
ポリフェノール	25
MgSO ₄ · 7H ₂ O	200
K ₂ HPO ₄	1000
(NH ₄) ₂ SO ₄	1000
NaCl	100

表 2 ポリフェノール類含有培地における NM10b 株の生育

ポリフェノール	液体培養	平板培養
タンニン酸	++	++
カテキン	++	++
没食子酸	++	++
プロトカテク酸	++	++
ピロガロール	-	-
レゾルシノール	-	-
カテコール	-	-
アルカリリグニン	+	+
フミン酸	+	+

++ : 明確な増殖、+ : 増殖、- : 非増殖

次に、タンニン酸およびカテキン含有廃水について水温を変化させて連続処理を行った。NM10b 株を固定化したセルロース性担体は回分処理実験と同じ方法で調製した。それぞれの結果を図 2 および 3 に示す。水温が 25 および 30°C の場合、いずれの廃水も処理 1 日目から安定して 80~95% の高い分解率が維持された。一方、15 および 20°C の場合ではいずれの廃水も分解率が一定になるまでに約 2 日間を要したが、その後は安定して 80% 以上の分解率が維持された。さらに、水温 30°C でカテキン含有廃水を約 1 ヶ月連続処理した結果、図 4 に示したようにカテキンの分解率は処理期間を通して 85~90% に維持されることが確認された。以上より、NM10b 株は廃水に含まれるポリフェノールを 15~30°C の温度範囲内で連続的に処理できる可能性が示された。

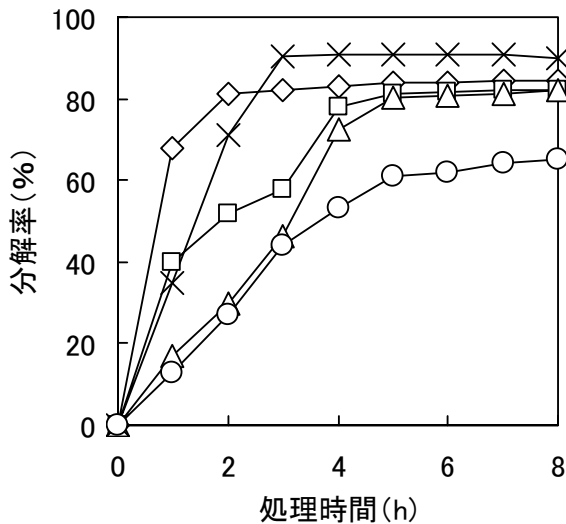


図 1 NM10b 株固定化担体による
ポリフェノール類の分解処理
◇ : タンニン酸、□ : カテキン
△ : 没食子酸、× : プロトカテキ酸
○ : ブドウ果皮抽出物

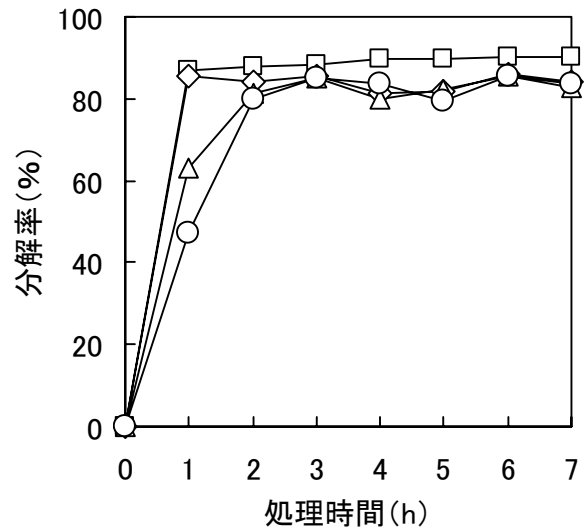


図 2 タンニン酸の連続処理
○ : 15°C、△ : 20°C
◇ : 25°C、□ : 30°C

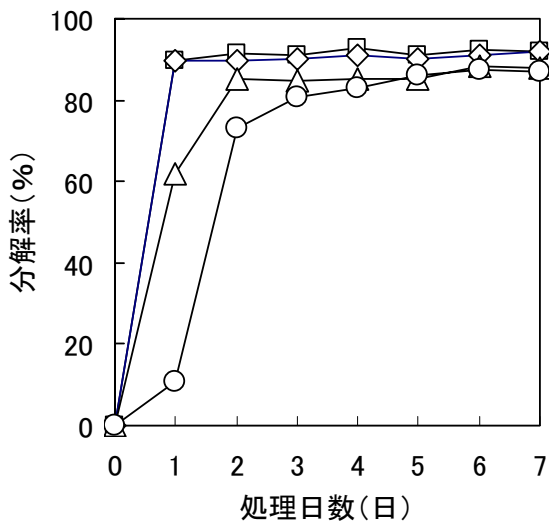


図 3 カテキンの連続処理 (7日)
○ : 15°C、△ : 20°C
◇ : 25°C、□ : 30°C

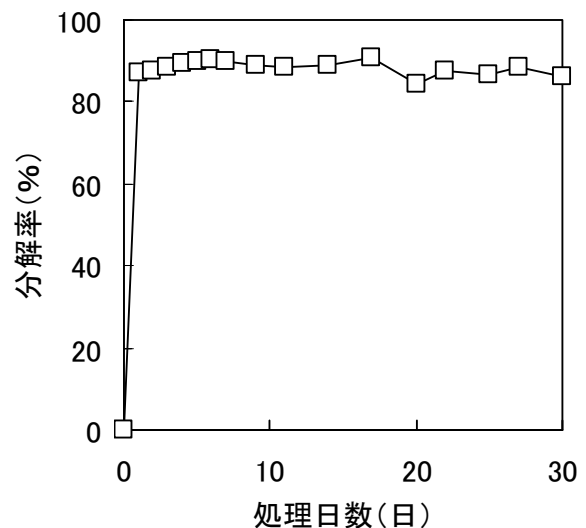


図 4 カテキンの連続処理 (30日)

2-2-3. ディスポーザー廃水の処理

ディスポーザー廃水に NM10b 株を固定化したセルロース担体を充填率 10%となるように投入し、30℃で 8 時間回分処理した。ディスポーザー廃水は、模擬厨芥（表 4）を水道水で流しながらディスポーザーで粉碎し、液体分を 100 メッシュの網で濾過して調整した。回分処理の結果を表 5 に示した。8 時間の回分処理で BOD や色度が原水よりも著しく減少し、NM10b 株がディスポーザー廃水の処理にも有効であることが分かった。

次に、生活廃水にディスポーザー廃水が混入した場合を想定し、文献調査の結果から算出した水質になるように調整した廃水について活性汚泥処理および活性汚泥+NM10b 株処理を行い、処理水の TOC と 280nm の吸光度を測定して処理効果の比較を行った。なお、廃水はディスポーザー廃水を水道水で希釈して BOD を 154mg/L、T-N を 59mg/L となるように調整したものをを用いた。また、活性汚泥+NM10b 株処理は、活性汚泥処理を 2 時間行い、引き続き NM10b 株による処理を 1 時間行った。図 5 に結果を示した。TOC 分解率はどちらの処理法でも処理時間 3 時間で大幅に上昇し、差は認められなかったが、280nm に吸収波長を持つ物質の除去率は、活性汚泥法では処理 3 時間で 41%、5 時間まで延ばしても約 60%程度であったのに対し、NM10b 株固定化担体処理を 1 時間追加した場合では 71%まで向上した。この結果から、NM10b 株により活性汚泥処理では短時間で処理できない 280nm に吸収を持つ有機物を効率よく処理できることが明らかとなった。

表 4 模擬厨芥の組成

組成	重量(g)
ニンジン	1.50
キャベツ	1.50
魚(アジ)	0.83
鶏肉	0.67
鶏卵の殻	0.17
米飯	0.83
茶殻	0.33
バナナ	0.83
リンゴ	0.83
グレープフルーツ	0.83
水道水	1L

表 5 ディスポーザー廃水の処理

	原水	処理水
BOD(mg/L)	800	260
色度	100	20

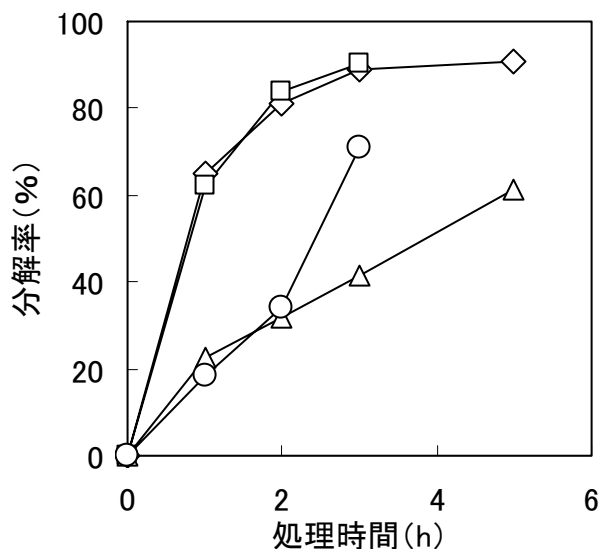


図 5 ディスポーザー廃水の微生物処理

- ◇ : 活性汚泥法 (TOC)
- : 活性汚泥法+NM10b 株 (TOC)
- △ : 活性汚泥法 (吸光度)
- : 活性汚泥法+NM10b 株 (吸光度)

2-2-4. 実廃水中の有機物処理方法の確立

NM10b 株を用いた下水二次処理水の高度処理法の確立に取り組んだ。予備実験の結果、NM10b 株は下水二次処理水に含有されている有機物を分解し、これを栄養源として増殖することが確認できたが、下水二次処理水中の高分子状の有機物については短い時間で分解して高度除去することは困難であった。したがって、NM10b 株を用いた処理方法を下水二次処理水に適用するためには微生物と処理対象物質との接触時間を長くすることが重要なポイントとなる。そこで NM10b 株を固定化する担体に有機物吸着能が大きなものを用い、担体への吸着除去効果とポリフェノール分解菌の除去能力を併用した下水二次処理水の高度処理法の確立を目指した。

4 種の担体（活性炭、セルロース、粘土、親水性ポリウレタン）について、下水二次処理水中の有機物の吸着能を評価した結果、吸着能は、活性炭>セルロース>粘土・親水性ポリウレタンの順となり、活性炭の吸着能が最も優れていたため、以後の検討には活性炭を担体として用いた。

NM10b 株をセルロース担体の場合と同様の操作で菌体を固定化させた NM10b 株固定化活性炭と NM10b 株を固定化していない活性炭を、充填率が 5% となるように流動槽型バイオリアクターに充填し、名古屋市植田下水処理場で採取した下水二次処理水を連続的に供給して処理を行った。反応槽滞留時間は 2 時間、処理水温は 25℃ とした。

NM10b 株固定化活性炭により処理した処理水の水質を分析した結果、BOD は 22mg/L から 4.2 mg/L へ、COD は 9.4 mg/L から 5.8 mg/L へ、TOC は 9.0 mg/L から 5.0 mg/L へ、色度は 20 から 10 へと減少し、目標水質をほぼ満たす処理水が得られた。この水質は、連続処理を始めて 150 日経過後も維持されており（図 6）、本処理方法は長期に亘って安定した処理性能を維持していることが確認された。なお、連続処理 150 日後の活性炭をタンニン酸培地に摂取すると NM10b 株の増殖が認められたことから、活性炭に固定化した NM10b 株が依然として活性炭表面で生息していることが確認された。

また、NM10b 株を固定化していない場合においても NM10b 株を固定化した場合と同様に良質な処理水が長期に亘って得られた。活性炭への吸着のみによる処理ではこのハイレベルな水質は 10 日程度しか維持できないことがわかっており、この場合には、下水中に生息する微生物が活性炭に付着して生物活性炭としての機能を有するようになり、処理効果が持続したと考える。したがって、デイスポージャー廃水が混入しておらず、ポリフェノールがほとんど含有されていない下水二次処理水については、下水中に生息する微生物が付着・固定化した生物活性炭でも十分に処理が行えることが確認された。

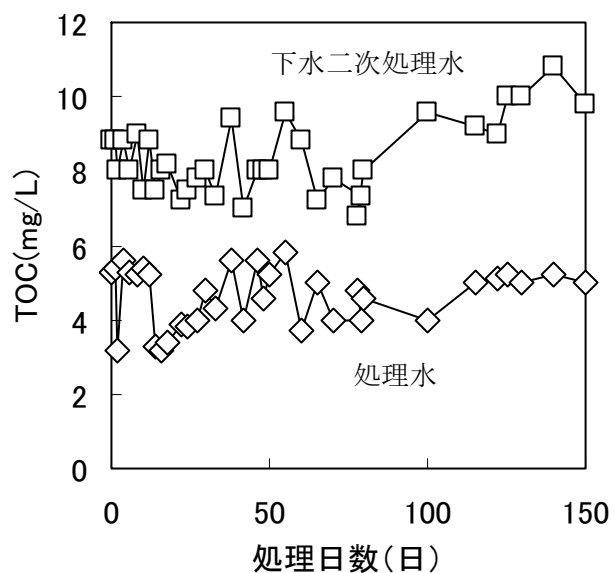


図 6 NM10b 株固定化担体による下水二次処理水の連続処理

2-3. 考察およびフェーズ I のまとめ

タンニン酸を基質として自然界から単離した NM10b 株は、タンニン酸、カテキン、没食子酸、プロトカテク酸など、植物界に広く存在するフラボノイド類、縮合型タンニン、加水分解型タンニン、低分子リグニンを分解する能力を有することが判明した。そこで、本研究では NM10b 株を用いた廃水処理方法の確立を試みた。

NM10b 株を固定化したセルロース担体を用いて人工廃水に含まれるポリフェノール類の処理を検討した結果、種々のポリフェノールに対して高い分解活性が示され、廃水の脱色が可能であることが確認できた。また、15~30℃の実用水温域において連続処理が可能であることも明らかとした。以上の結果から、NM10b 株固定化担体を用いた処理方法がモデル廃水に対して有効であることが判明した。

次に、実廃水に対する処理効果を確認するため、NM10b 株固定化担体によるディスポーザー廃水の処理を検討した。その結果、活性汚泥法では分解に時間を要する 280nm 付近に吸収を持つ物質を短時間で処理できることが明らかとなり、本処理方法がディスポーザー廃水の処理に適用できる可能性が示された。

また、下水二次処理水に対しても処理効果の確認を行ったが、この場合には担体に活性炭を用いると良質な処理水が得られること、また下水二次処理水にはポリフェノールがほとんど含まれていないことから、NM10b 株を固定化せず、下水中に生息する微生物を付着させた生物活性炭でも十分な処理効果が期待できることが明らかとなった。

3. フェーズ II の成果

3-1. 目的および目標

本研究は、廃水中の難分解性物質を分解活性の高い微生物により分解除去することを目的としており、ハイブリッド型リアクターによる処理で十分に分解除去できなかつた難分解性の有機物や色素成分を短時間で高度に処理できる技術を開発する。フェーズ I における種々の取り組みから、自然界より単離した NM10b 株を用いる廃水処理方法が有用であることが明らかとなった。しかしながら、処理対象が下水（ディスポーザー廃水が混入しない生活廃水のみ）の場合には、NM10b 株を固定化しない生物活性炭でも十分な処理が可能であった。フェーズ II では、下水処理場でのオンサイト実験へ展開し、技術の実用化を目指す。そのために、生物活性炭法を採用したオンサイト実験装置を設計・作製し、操作条件の確立・連続処理の安定性評価を行う。なお、目標とする水質を以下に示す。

<目標水質>

TOC : 5mg/L 以下、BOD : 5mg/L 以下、色度 10 以下、毒性・変異原性を有しない

3-2. 方法および結果

3-2-1. オンサイト実験装置の設計・作製

オンサイト実験装置（以下バイオフィジカルリアクターとする）の処理方式を決定するため、粒状活性炭による流動床方式と破碎活性炭による充填槽方式を比較した。これらの活性炭を 1、3、5% となるように充填した処理槽にハイブリッド型リアクター処理水を滞留時間 2 時間となるように連続して流入し、水温 25℃の条件で連続運転を行い、TOC の変化を測定した。結果を図 7、8 に示した。流動床方式の場合、いずれの活性炭充填率でも処理開始 1 日目から TOC 分解率が約 30 を示し、30 日経過後も処理効果が維持された。一方、充填槽方式の場合、処理開始 1 週間後にはほとんど分解が認められなくなった。以上の結果より、難分解性物質除去リアクターには、粒状活性炭による流動床方式が有効であると判断し、オンサイト実験に採用することとした。

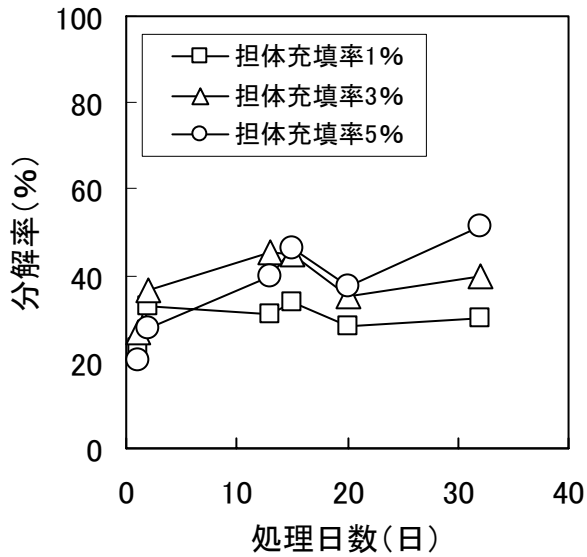


図7 流動床方式による処理

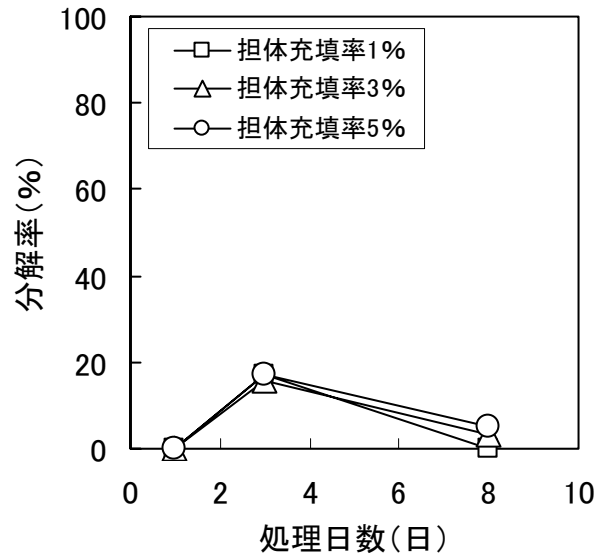


図8 充填槽方式による処理

生物活性炭の流動床方式に適したバイオフィジカルリアクターを考案し、図9(a)を作製した。本装置はフィルターで固形物を除いた原水を、生物活性炭を添加した処理槽に流入させて好気処理した後、廃水ポンプで処理水を吸い出す構造で、活性炭の流出を防ぐために装置下部に砂フィルターを設けた。しかしながら、i) 砂フィルターが閉塞する、ii) SSが処理槽に滞留する、iii) 生物活性炭の塊が生じて分散しない、といった問題が生じたため装置の改良を行った。処理槽とは別に設けた曝気槽で十分な酸素を溶解させた原水を処理槽の下部から流入させることで、処理槽内での曝気処理のない方式に変更し、処理槽上部からのオーバーフローによって処理水の排出をスムーズにした。また、処理槽の後段に沈殿槽を設けてSSを除く工程を追加した。以上の改良でバイオフィジカルリアクターは図9(b)のようになり、この装置では閉塞を起こすことがなくなり、連続処理が可能となった。装置の写真を図10に示す。

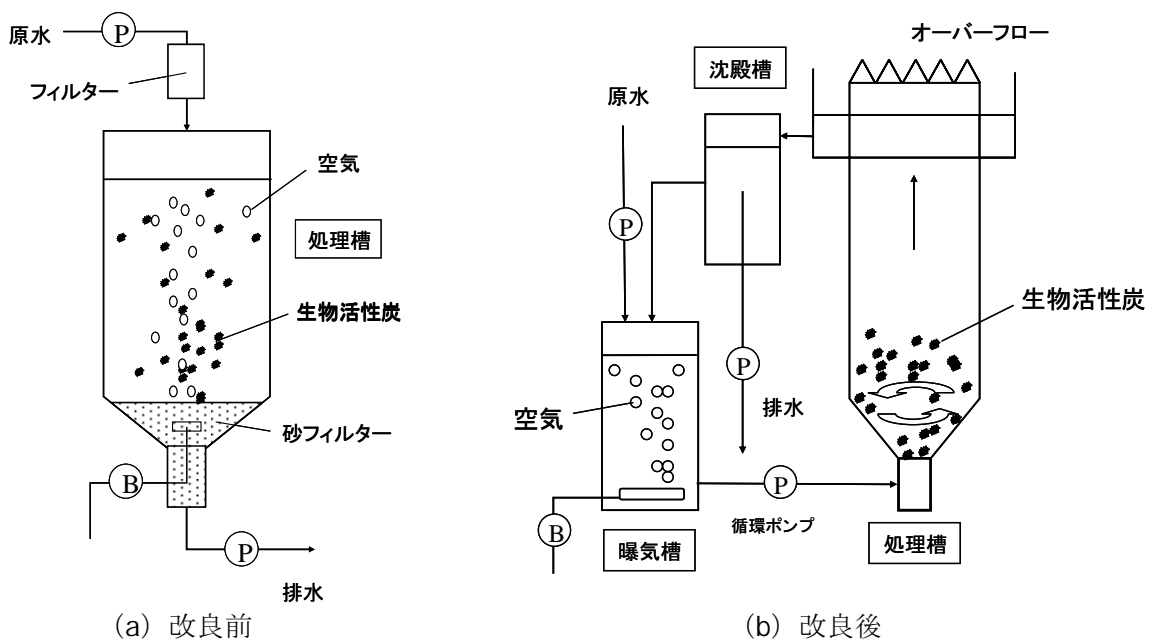


図9 バイオフィジカルリアクターの構造



図 10 バイオフィジカルリアクター

3-2-2. 操作条件の確立・連続処理の安定性評価

名古屋市植田下水処理場にバイオフィジカルリアクターを設置し、ハイブリッド型リアクター処理水を原水として連続処理を行った。水温が20℃を超える場合、活性炭量を5%(v/v)、HRTを2時間とし、運転を開始してから1ヶ月間を馴養期間として連続処理を行った。

図11に実験結果を示した。処理期間を通して処理水のBOD、TOCは5mg/L以下、色度は10以下の水質を保ち、目標値を達成した。特に色度の除去能力が高く、ハイブリッド型リアクターで十分処理できなかった着色原因物質をバイオフィジカルリアクターで除去できることが明らかとなった。

また、マイクロトックス試験による毒性試験の結果、原水に認められる毒性が、処理水では認められず、処理水が毒性を有しないという目標も達成された。

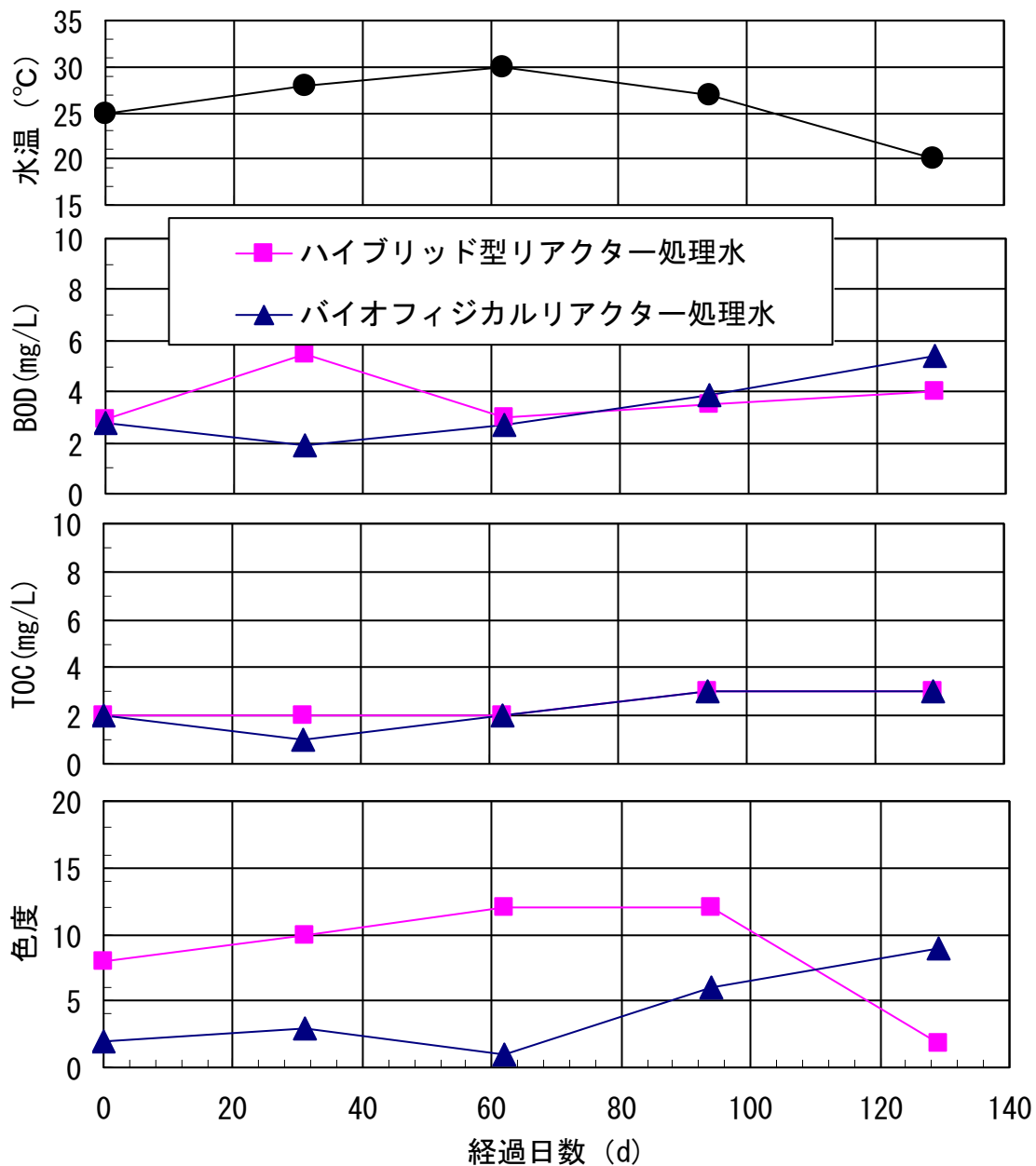


図11 バイオフィジカルリアクターによる処理 (20℃以上)

一方、水温が18℃を下回ると、処理水の水質が目標値を満たすことができなくなったため、処理水質を向上するために活性炭量を10%(v/v)に増加した。しかしながら、処理期間を通してBODおよびCODは5~9mg/L、色度は10前後の値を示し、目標値を安定して達成するには至らなかった(図12)。この原因として、冬期に原水のTOC、BODおよび色度の値が比較的高いことに加え、低温条件下では活性炭に付着した微生物の活動が弱まることが考えられた。このことは、活性炭による物理的な吸着除去だけでなく微生物の働きが浄化能力に大きく寄与していることを示唆している。

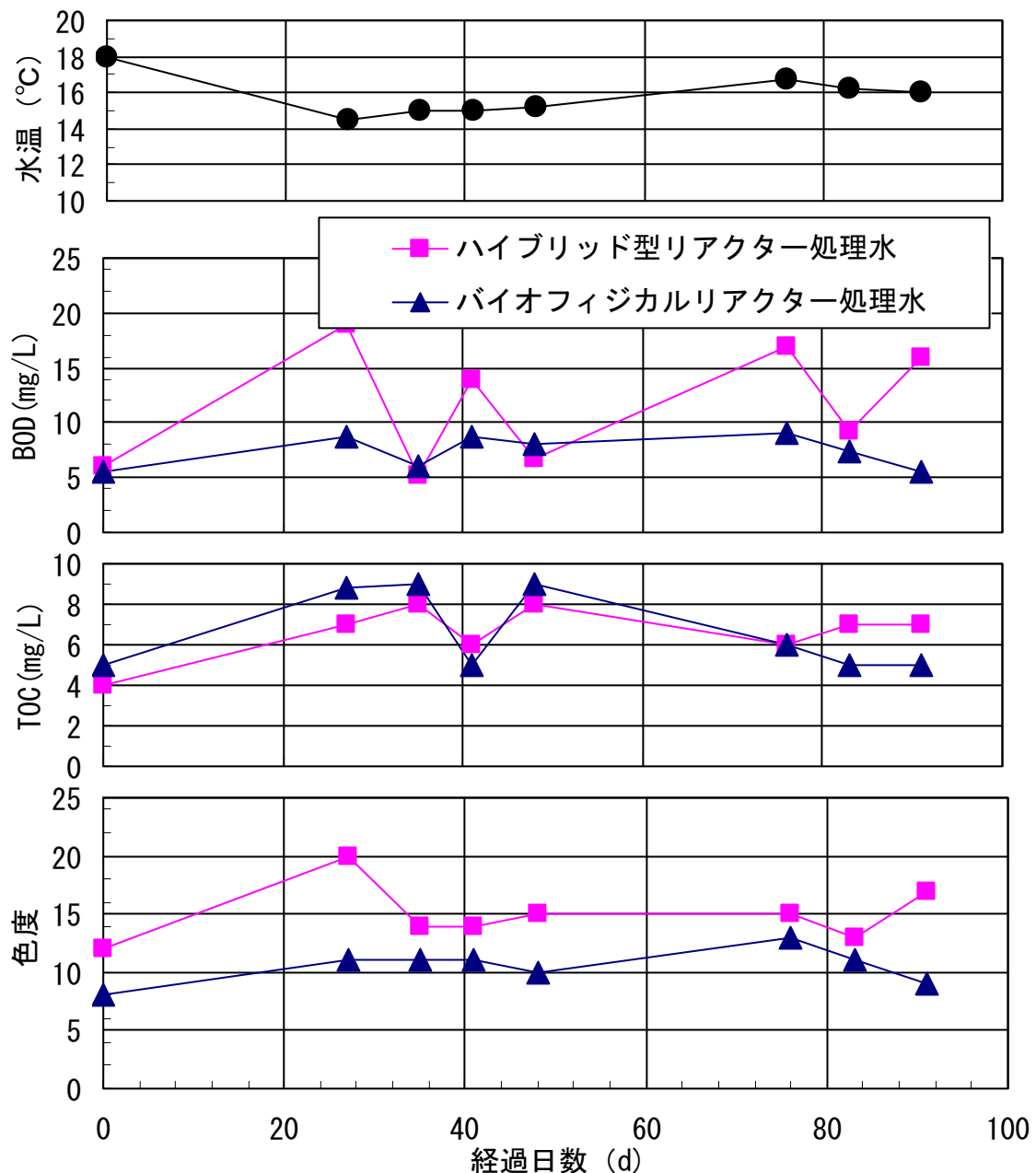


図12 バイオフィジカルリアクターによる処理 (18℃以下)

3-3. 考察およびフェーズⅡのまとめ

フェーズⅡでは、生活廃水に含まれる難分解性有機物の除去技術を確立するため、オンサイト実験により実下水の連続処理実験を行った。生物活性炭法の使用方式は、粒状活性炭による流動床方式の処理効果が高く、有機物の除去効果も持続したため、これを採用したオンサイト実験装置（バイオフィジカルリアクター）を設計・作製した。当初作製したバイオフィジカルリアクターは、砂フィルターの閉塞、SSの滞留、生物活性炭の集積といった問題が生じたため、これらを改善し、安定した連続処理が可能な装置にした。

ハイブリッド型リアクター処理水を原水としたオンサイト実験で処理条件を検討し、水温が20℃を超える場合には安定した処理能力を実証した。水温が18℃を下回った場合、目標値を安定して達成することはできなかったが、この原因として、微生物の活動が低温のために低下したと考えられ、活性炭による物理的な吸着による効果のみでなく微生物の働きが浄化能力に大きく寄与していることが示唆された。

フェーズⅠで、NM10b株は下水二次処理水に含まれる難分解性の有機物を十分に除去できることに加え、15℃の低温条件でもタンニン酸やカテキンなどのポリフェノール類の分解能力を維持できたことから、デスポーザー廃水のような特殊廃水の場合のみでなく、低水温下の生活廃水の高度処理にも、NM10b株を固定化した生物活性炭を用い、最適なリアクター構造の設計と処理条件の最適化により、処理性能を向上させることが可能と考えられる。

4. 成果の達成度

本研究で見出した新規微生物ペニシリウム ゲアストリボルス (*Penicillium gastrivorus*) NM10b株は、ポリフェノール類を分解する能力に優れ、デスポーザー廃水のような難分解性有機物を含む高負荷の廃水処理に適用できる可能性を示した。

また、実下水を用いたバイオフィジカルリアクターによるオンサイト実験で、目標水質を安定して達成する処理女権を確立した。しかしながら、低水温期における処理能力の向上が課題として残った。

5. 今後の課題

低水温期においても目標水質を安定して満たすことが可能な処理方法を確立するとともに、コストや維持管理などの点にも留意して、開発した新規廃水処理方法の実用化に向けた取り組みを行っていくことが今後の課題となる。