

フェノール含有排水の微生物処理 ——フェノール分解速度に及ぼすシアン、チオシアンの影響——

Microbiological Treatment of Phenolic Waste-Water

——Effect of Coexisting Cyanide and Thiocyanide Ion on Decomposition Rate——

鈴木基之*・藤井隆夫*

Motoyuki SUZUKI and Takao FUJII

1. はじめに

水資源節約のために産業排水の使用合理化が進んでおり、現在冷却用水等はかなりの割合が回収再利用されるに致っている。これからの問題としてプロセス用水、特に各工場において、工程別に排出されるプロセス排水の処理・再利用を考えることが必要となるが、この際には次の諸点が問題となる。すなわち、これらの対象となる排水が都市下水等と異なり、(1)一般に特定成分に対して高濃度であること、(2)時間的に大きな水量変動、濃度変動を伴うこと、などであり処理プロセスの選択に際してこの点を考慮せねばならない。これらの問題には一般に物理化学的処理プロセスのほうが対応しやすいと考えられるが、経済性等の理由から処理プロセスとして微生物処理を適用することも考えられ、この場合は本来活性汚泥処理等が、都市下水の処理を対象としていたことから生じるいくつかの不斉合性の問題が発生する。たとえば、フェノール含有排水を例として取り上げると、生分解により処理するに当たっては、濃度を低下させ、活性汚泥処理などによる処理がある程度可能である。しかし、フェノール濃度が高く(数百ppm以上)なったり、濃度の時間的変動が大きい場合等には、活性汚泥の沈降性が悪化したりすることによって処理水の濁度が極めて高いなどの結果を生じることがある。この原因は流入水中のフェノール濃度が高くなると活性汚泥の沈降性にとって重要な役割を果たす原生動物の安定な維持が難しくなることにあると考えられる。一方フェノール分解に有効な細菌は比較的高濃度のフェノールに対しても活性を有することが期待されるため、フェノール処理を目的とするに当たっては

(a)細菌によるフェノール分解と、(b)分解により増殖した細菌と処理水の分離、の二つの単位プロセスに分けて考えることにより、従来の活性汚泥法の有していた限界を越えた処理プロセスの構成が可能となるであろう。以上の考察に基づいて、著者らは活性汚泥より単離したフェノール分解菌について種々検討を

行ってきた。^{1),2),3)}本報告はフェノール分解菌によるフェノール分解速度に及ぼすpH、温度およびフェノール濃度による影響を調べ、定量的な速度式を確立することを目的とし、本菌をコークス炉から出る廃安水へ適応する際に問題となるチオシアン、シアン等の共存イオンの影響についても検討を加えたものである。

2. 実験方法

フェノール分解菌は前報¹⁾に示す方法で活性汚泥より単離した *Acinetobacter calcoaceticus* を用いた。

2.1 回分培養実験によるフェノール分解速度の決定

2.1.1 pH および温度の影響

内容積 1 l の培養装置を用いて、フェノール濃度 200 mg/l の培地により、pH (4~9) と温度 (15°C~35°C) をパラメーターとして培養条件を設定した。そして対数増殖期にある菌を植種後、菌体量の時間変化を追跡して比増殖速度を算出した。

2.1.2 フェノール濃度による分解速度の影響

2.1.1 と同じ培養装置を用いて pH=6、温度 30°C 一定とし、初期フェノール濃度を 50~700 mg/l の範囲で変えた培養を行い、菌体量およびフェノール濃度の経時変化を追跡した。

2.2 連続培養実験

回分実験と同じ装置を用いて、液体培地の注入用と排出用の 2 台のローラーポンプを付属させ連続型としたものを実験に用いた。内容積は 0.85 l とし、入口の流量を変えることにより希釈率を変化させ、0.15hr⁻¹ から 0.5hr⁻¹ までの範囲で行った。入口フェノール濃度は 100 mg/l と 200 mg/l の 2 通りとした。数時間連続培養を行い定常状態に達した後、完全混合槽内のフェノール濃度と菌体量を測定した。

2.3 フェノール分解に対する共存アンモニア、チオシアン、シアンの影響

フェノールを高濃度に含む排水の代表例と考えられるコークス炉廃安水中には、フェノール以外に高濃度のアンモニア、チオシアン、シアンなどを含有しているが、ここで用いたフェノール分解菌の活性に対して、これら

* 東京大学生産技術研究所 第 4 部

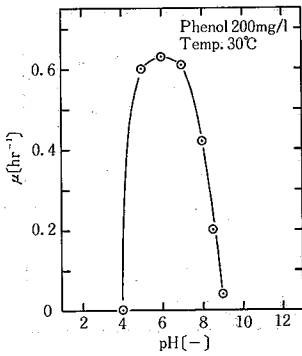


Fig. 1 Effect of pH on specific growth rate of *Acinetobacter calcoaceticus*.

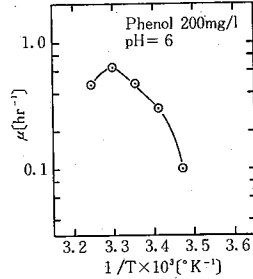


Fig. 2 Effect of temperature on specific growth rate of *Acinetobacter calcoaceticus*

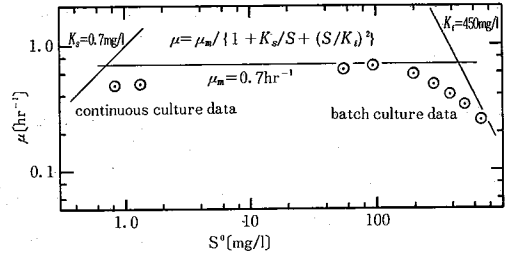


Fig. 3 Relationship between phenol concentration and specific growth rate

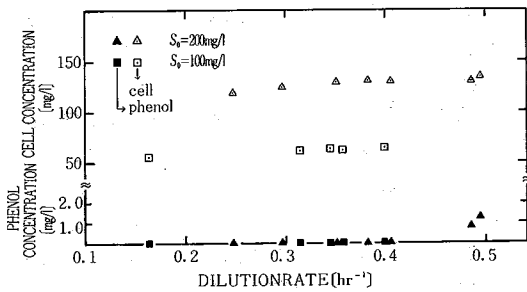


Fig. 4 Steady state continuous culture results

の共存イオンの影響を検討することとした。アンモニアチオシアンについては、チオシアン酸アンモニウムを用いて、濃度 100 mg/l~5000 mg/l の範囲で、フェノール濃度 100 mg/l の培地を作り実験に供した。シアンについてはシアン化カリウムとフェノールをそれぞれ 2~20 mg KCN/l と 50~500 mg/l の範囲での培地を用いて、自動酸素消費量測定装置により分解に伴う酸素消費量を測定し、比酸素消費速度を算出した。

3. 結果および考察

3.1 フェノール分解における pH および温度の影響

フェノール分解に及ぼす pH および温度の影響について検討した結果をそれぞれ Fig. 1, Fig. 2 に示す。pH の影響については、pH=6 付近で最大の比増殖速度を示し、pH5~8 の範囲で安定な活性を示すことが分かる。pH 調整をしない場合、分解反応が進行すると培地が酸性側に傾くことが確認され、カルボン酸などの有機酸が、わずかではあるが代謝産物として生じていると考えられる。温度の影響については、典型的な中温菌の様相を示し pH と同様ピークを持ち、30°C 付近で最大の活性を示す。また 20~30°C の範囲での比増殖速度の変化により活

性化エネルギーを算出した結果約 13 kcal/mole であった。これは、通常の微生物の場合 20 kcal/mole 前後であることより、本菌の比増殖速度が比較的速いものと考えられることができる。

3.2 分解速度のフェノール濃度依存性

回分培養における菌体の対数増殖より比増殖速度を求めたが、ここで比増殖速度を求める場合フェノール濃度の減少による分解速度の影響をなくするため、初期フェノール濃度がさほど減少していない初期の段階で算出した。そして初期フェノール濃度に対する影響を調べた結果が Fig. 3 である。図中のプロットはそれぞれ実験値を示すが、初期フェノール濃度の低い所での回分実験による比増殖速度の測定は困難であるため、ここでは連続培養により得られた結果を記述してある。そして図に示すようにフェノールが高濃度になるほど比増殖速度が減少しており、明らかに高濃度基質阻害を示している。A. E. Humphrey⁴⁾により基質阻害を考慮した速度式としていくつかの定式化がされているが、ここでは簡単な型の (1) 式を考えることにした。そして Fig. 3 にある実験値と (1) 式とが最も良く一致するような漸近線を引き、

$$\mu = \mu_m / \{1 + K_s/S + (S/K_i)^2\} \dots \dots \dots (1)$$

(1) 式の各パラメーターである $\mu_m = 0.7 \text{ hr}^{-1}$, $K_s = 0.7 \text{ hr}^{-1}$, および $K_i = 450 \text{ mg/l}$ を求めた。図中の曲線は各パラメーター値を用いた (1) 式の計算値を示す。

4. 連続培養実験および回分培養過程の記述

4.1 連続培養実験

Fig. 4 に連続定常実験の結果を示す。この図は各希釈率に対して滞留時間の約 3 倍程度の時間連続培養し、定常状態と見られる菌体量とフェノール濃度を示したものである。菌体量については、希釈率の減少に伴いわずかではあるが菌体量も減少する傾向にある。このことより、菌体の維持代謝の項を考慮する必要があると考えられる。フェノール濃度に関しては希釈率が 0.4 hr^{-1} 付近で 1 mg/l 程度の濃度を示している。なお前項の Fig. 3 で

研 究 速 報

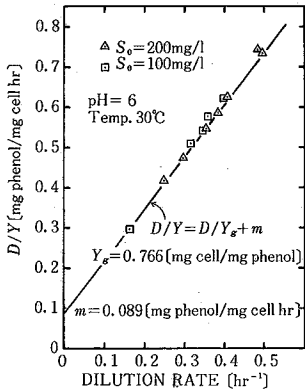


Fig. 5 Relationship between dilution rate and specific phenol degradation rate at steady state continuous culture

Table 1. Kinetic constants for phenol biodegradation

| Microbial system | K_s (mg/l) | K_i (mg/l) | μ_m (hr ⁻¹) | $\frac{m}{Y}$ $\left(\frac{\text{mg-phenol}}{\text{mg-cell}\cdot\text{hr}}\right)$ | $\frac{Y}{Y_g}$ $\left(\frac{\text{mg-cell}}{\text{mg-phenol}}\right)$ |
|--------------------------------------|-----------------|-----------------|--------------------------------|---|---|
| <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> | 0.7 | 450 | 0.70 | 0.089 | 0.766 |
| <i>Pseudomonas putida</i> ATCC 17514 | 1.2 | 224 | 0.413 | 0.025 | 1.6 |
| <i>Trichosporon cutaneum</i> | 1.1 | 490 | 0.4 | 0.055 | 0.85 |

示した低濃度側の2点はこの値を用いた。ここで連続系における槽内の物質収支は、(2)式および(3)式で与えられる。

$$dX/dt = (\mu - D)X \dots\dots\dots (2)$$

$$dS/dt = D(S_0 - S) - \mu/Y_g X - mX \dots\dots\dots (3)$$

そして(3)式中のパラメーター、 Y_g と m を決定するため Fig. 4 の実験値より各希釈率における比フェノール消費速度を求め、まとめたものが Fig. 5 である。比フェノール消費速度と希釈率との間に直線関係があることより、(3)式で $D=0$ とおいて得られる比フェノール消費速度を求める関係式、すなわち(4)式が成り立つ。そして直線の切片より維持定数 $m=0.089$ mg phenol/mg cell hr,

$$D/Y = D/Y_g + m \dots\dots\dots (4)$$

同じく傾きより増殖だけの菌体収率 $Y_g=0.766$ mg cell/mg phenol が求まる。以上回分および連続実験により得られた各パラメーターの値を Humprey⁴⁾ らが同じモデル式で異種の菌株を用いて求めた各パラメーターとをまとめたものを Table 1. に示す。この Table 1. より K_s と K_i に関してはほぼ同じような値を取り、これらの菌株がフェノールに対して強い親和力を持っていることが分かる。また μ_m においては本菌が最も大きな値を示

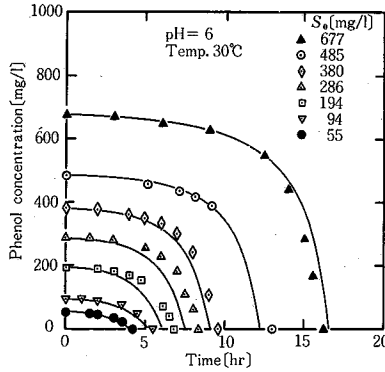


Fig. 6 Predicted variation of phenol concentration by the substrate inhibition model

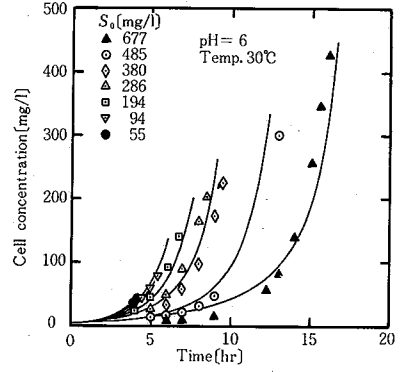


Fig. 7 Predicted variation of cell concentration by the substrate inhibition model

しておりフェノール含有排水の処理に有効であることが示唆される。

4.2 回分培養過程の記述

回分培養の一般的な増殖は、菌を植種後まず誘導期があり続いて対数増殖期に入り栄養分が不足することにより転移期、静止期を経て減衰期を迎えるといったパターンである。これらをすべて数式モデルで表現しようとする、菌体の細胞を増殖に直接関係する成分とそれ以外の細胞構成成分との和と考え、これらに対して独立な微分方程式を立てる、いわゆる構造モデルが必要となってくる。そこで簡単にするため、本実験では対数増殖期にある菌体を植種した。これより、植種菌の前歴に依存する誘導期はほとんど見られず対数増殖期がそのまま継続すると考えられる。また回分培養のパターンを静止期までの表現とすることにより前述した速度式、(1)式と物質収支の式、(2)式および(3)式(ただし回分培養では $D=0$ とおく)を用いて回分培養過程の記述は可能であると考えられる。実際の計算の場合は、(1)式を(2)、(3)式へ代入し、オイラー法を用いて数値計算して求めた。各パラメーターの値は Table 1. の値を用い、また初期フェノール濃度と菌体量の初期値はすべて実測値を代入した。計算結果をフェノール濃度と菌体量に分けてそれぞれ Fig. 6, 7 に示す。各濃度におけるシンボルの点を実測値で実線が計算値である。初期フェノール濃度が 200~400 mg/l の範囲で多少のズレが見られるものの比較的良い一致を示していると思われる。

4.3 チオシアン、アンモニアおよびシアンが共存する場合のフェノール分解速度

チオシアンおよびアンモニアが共存する場合の比較素消費速度の影響を調べた結果を Fig. 8 に示す。図より明らかにチオシアンおよびアンモニアが 1,000 mg/l

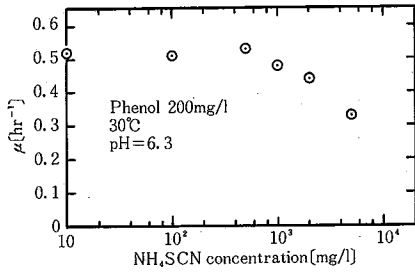


Fig. 8 Effect of NH_4SCN concentration on specific growth rate on *Acinetobacter calcoaceticus*

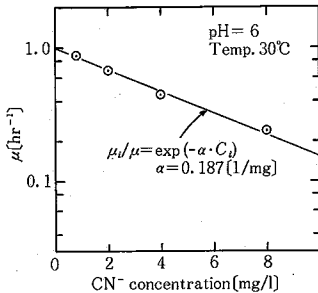


Fig. 9 Relationship between CN^- concentration and inhibition factor

程度共存しているも、フェノール分解に対してほとんど影響を及ぼさないことが分かる。続いてシアンによる影響についてであるが、本実験で求めた比酸素消費速度と菌体より算出される比増殖速度は意味が違うが、近似的に同じと考えることができることが予備実験で明らかにされているのでここでは同等の取り扱いをした。そしてシアンを含むフェノールの培養実験の結果からシアン濃度をパラメーターに取り、シアンがまったく含まれない場合の比酸素消費速度を μ としシアンの共存により阻害を受けた速度を μ_i とすると、阻害率 μ_i/μ を片対数のグラフで示したものが Fig. 9 である。図中の各点は各フェノール濃度における阻害率の平均値であるが、直線関係にあることから阻害率とシアン濃度とは (5) 式で整理できる。そして Fig. 9 の直線の傾きより α が求まり

$$\mu_i/\mu = \exp(-\alpha \cdot C_i) \dots \dots \dots (5)$$

$\alpha = 0.187 \text{ l/mg}$ を得る。よってシアンを含むフェノールの比増殖速度は (1) 式と (4) 式より、最終的に (6) 式で表現できる。

$$\mu_i = \mu_m / [1 + K_s/S + (S/K_I)^2] \cdot \exp(-\alpha \cdot C_i) \quad (6)$$

この (6) 式を用いてシアン濃度をパラメーターとして各フェノール濃度に対する比酸素消費速度を示したものが Fig. 10 である。図中の実線が計算値で、各点が実測値である。本実験条件の範囲において良く整理ができていると思われる。本章ではフェノール分解菌を用いた廃安水

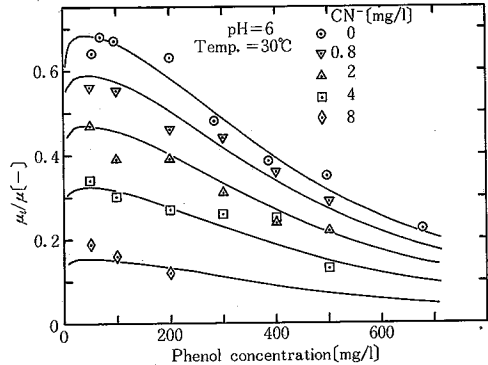


Fig. 10 Dependency of specific growth rate of *Acinetobacter calcoaceticus* on CN^- concentration

処理への適応性についてシアンによる阻害の定量化を計ったわけであるが、実際に廃安水を処理するに当たっては本菌のチオシアンやシアンに対する資化能力などについてさらに詳細な検討が必要であろう。

5. ま と め

活性汚泥より単離したフェノール分解菌 *Acinetobacter Calcoaceticus* を用いて回分および連続系でフェノールの生分解実験を行った結果、pH 5~8、温度 20°C~35°C の範囲で安定な分解を示し、最大の活性を示す条件として、pH=6、温度は 30°C であった。フェノールの分解速度に関しては高濃度基質阻害モデルで整理できた。またシアンによる分解速度の影響を定量化することができた。
(1985年5月17日受理)

記 号

- μ : 比増殖速度 (hr⁻¹)
- μ_m : 最大比増殖速度 (hr⁻¹)
- μ_i : シアンを含む場合の比増殖速度 (hr⁻¹)
- K_s : 飽和定数 (mg/l)
- K_I : 阻害定数 (mg/l)
- S_0 : 入口フェノール濃度 (mg/l)
- S : 培養槽内フェノール濃度 (mg/l)
- X : 培養槽内菌体量 (mg/l)
- D : 希釈率 (hr⁻¹)
- Y : 総括の菌体収率 (mg call/mg phenol)
- Y_g : 増殖だけの菌体収率 (mg call/mg phenol)
- m : 維持定数 (mg phenol/mg cell hr)
- α : 阻害定数 (l/mg)
- C_i : シアン濃度 (mg/l)

参 考 文 献

- 1) 鈴木, 藤井: 生産研究, Vol 32, No. 3 (1980)
- 2) 鈴木, 藤井: 生産研究, Vol 34, No. 3 (1982)
- 3) 鈴木, 藤井: 生産研究, Vol 34, No. 5 (1982)
- 4) A. E. Humphrey, et. al.: Biotechnol. Bioeng. 17, 1211 (1975)