

フェノール含有排水の微生物分解

Microbiological Treatment of Phenolic Waste-Water

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、工程別排水の再利用を前提とした処理を考える時に、往々にして問題となるのは、これらの対象水が、前に明らかにしたように¹⁾、都市下水等と異なり、(1)一般に特定成分に対して高濃度となっていること、(2)時間的な水量変動、濃度変動を伴うこと、(3)工程排水の場合は、含まれる成分数が限られていること、などの特徴を有している点である。したがって経済性等の理由からこの処理に微生物処理を適用するに当たっては、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生じる。

たとえば、フェノール含有排水を例としてとり上げると、生分解により処理するに当たっては、低濃度の場合には、活性汚泥処理などにより他種排水との混合処理が行われたりしている。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、活性汚泥の凝集性が悪化し、往々にして、処理水の濁度が極めて高い等の結果を生じることがある。この原因は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流入水中のフェノール濃度が高くなると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バクテリア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、バクテリアによるフェノール分解と、分解により増殖したバクテリアの処理水との分離を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拡げた処理プロセスの構成が可能となるであろう。

本報は以上の考察に基づいて、まず、著者らの分離したフェノール分解菌によるフェノール分解速度特性について検討した結果を報告する。

2. 実験方法

2.1 菌の単離

* 東京大学生産技術研究所 第4部

ポリペプトンおよびグルコース基質を用いて、著者らが3年間継続培養している活性汚泥をフェノール濃度500mg/lの液体培地(組成は表2)により曝気条件にて培養し、いくらか懸濁したところで増殖した菌を液体培地と同じ組成を基とする寒天培地に移し、菌体の集合体であるコロニーを形成させた。そしてその中で優占種と思われる。コロニーの一部を新しい液体培地に移すという操作を3回繰り返した²⁾、さらにブイヨン培地を用いて単離を試みた。Fig.1にブイヨン培地で形成されたコロニーを示す。この段階ではまだ分離は完全でなく3種の菌が存在しており、そのうちの目的の菌(白色、平滑コロニーを形成するもの)だけを分離したものをFig.2に示す。またその菌体の同定用の諸試験の結果を表1に示した。特に①グラム陰性であり②短桿菌③運動性がなく④catalase試験は陽性、oxidase試験は陰性⑤耐ペニシ

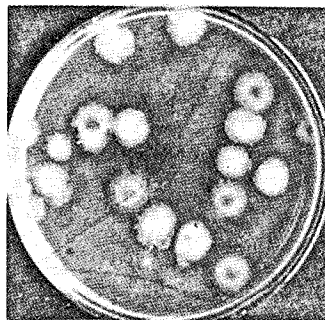


Fig. 1 Colonies on bouillon agar

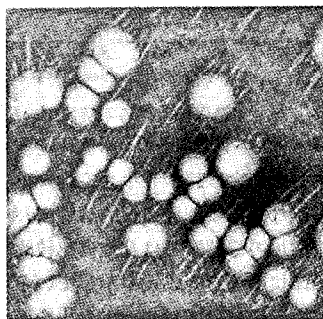


Fig. 2 Colonies of phenol decomposing bacterium

表1 フェノール分解菌 (*Acinetobacter* sp.) の特性

Small, short rods, $0.5 \times 1 \mu\text{m}$ in logarithmic phase, occurring singly and in pairs. Large, irregular cells and filaments in small numbers in all cultures. Non-spores. Non-motile. Gram-negative.

Colonies: White to grayish white, 2 to 5 mm in diameter in young cultures, circular, low convex, smooth.

Acid but no gas produced on inorganic nitrogen base agar containing L-arabinose, D-xylose, D-glucose, and lactose as the sole carbon source.

Hydrolysis of gelatin: Negative.

Hydrolysis of casein: Negative.

Litmus milk: Coagulation and acidic.

Production of indol: Negative.

MR test: Negative.

Voges-Proskauer reaction: Negative.

Hydrolysis of arginine: Negative.

Reduction of nitrate: Negative.

Production of hydrogen sulfide: Negative.

Catalase test: Positive.

Oxidase test: Negative.

Optimum temperature: 30°C

Optimum pH: 7.0

Resistant to 5 units of penicillin.

表2 培養液組成

Phenol	500 mg	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2250 mg
K_2HPO_4	2175 mg	CaCl_2	27 mg
KH_2PO_4	850 mg	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	25 mg
Na_2HPO_4	4460 mg	Distilled Water	1000 ml
NH_4Cl	170 mg		

リン性を有することから Burger VIII 巻をもとに, *Acinetobacter* sp. と判定される。

実験用の培養液組成の決定は, JIS K 0102 に定められている BOD 測定用の無機塩溶液 A, B, C, D 液のいろいろな濃度の組合せにおいて培養し, 塩濃度が律速とならない量を求めて決めたものであり, 表 2 に示されている。

2.2 フェノール分解速度の測定

分解速度の測定および分解に伴う物質収支の決定には, ターロメトリー方式の自動酸素消費量測定装置 (東亜, BODR-6), および回分式の攪拌型パイレックスフラスコ培養器を使用した。

ターロメトリー方式の測定装置では, フェノール分解に伴う酸素消費量の変化を追跡し, これより温度, pH などによる分解速度の変化を調べ, また内容積 3 l の回分式装置により初期フェノール濃度を 200mg/l から 1000mg/l の範囲で回分培養を行い, 液中のフェノール濃度, TOC (全有機体炭素量) 濃度, および菌体量の経時変化

を追跡した。

さらに別に用意した内容積 1 l の回分式装置で通気酸素を全量アスカライト (二酸化炭素吸収剤) に通じて求めた生成二酸化炭素量より培養に伴う炭素および酸素収支を求めた。なおフェノール濃度は, 紫外分光光度計を主とし, 濃度の低いところでは, スチームガスクロマトグラフィー (大倉理化) を用いる。液中の TOC は鳥津製作所 TOC 分析計 (TOC-10A) を使用した。また菌体量は $1 \mu\text{GFP}$ ろ過により集めた懸濁質をもとに 500°C における灼熱減量より求めた。これは懸濁質中に培養液に由来する無機塩の結晶が若干含まれるためである。さらに元素分析により菌体の組成 (C, H, N, O) も求めており, この際には菌体の乾燥方法 (室温または凍結下で減圧乾燥) の影響について検討も加えた。

3. 実験結果および考察

3.1 活性の濃度による変化

Fig. 3 は, 200mg/l から 1000mg/l までの範囲で各フェノール濃度における分解の経時変化を示したもので濃度が高くなっても誘導期間が若干長くなる程度で十分な活性を示している。フェノール濃度が 1000mg/l 以上では, 高濃度阻害を受けてほとんど活性を示さなくなる。分解反応がフェノール濃度の低いところでも一見等速度で進行して通常の Monod 型の式に従わぬ様相を示しており, 定式化には若干の検討を要する。

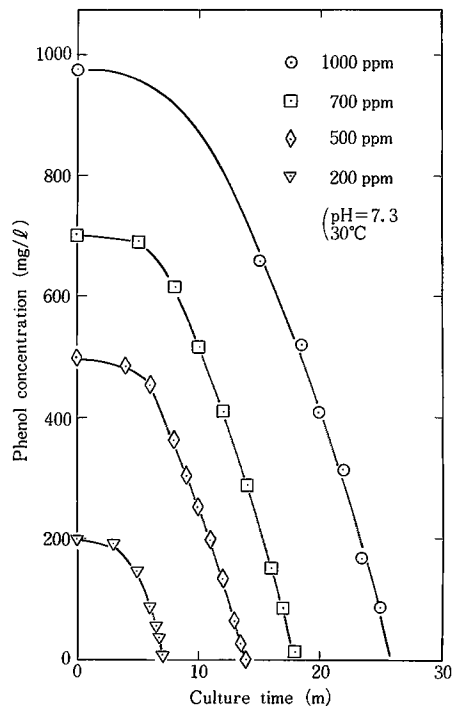


Fig. 3 Time course of phenol decomposition reaction

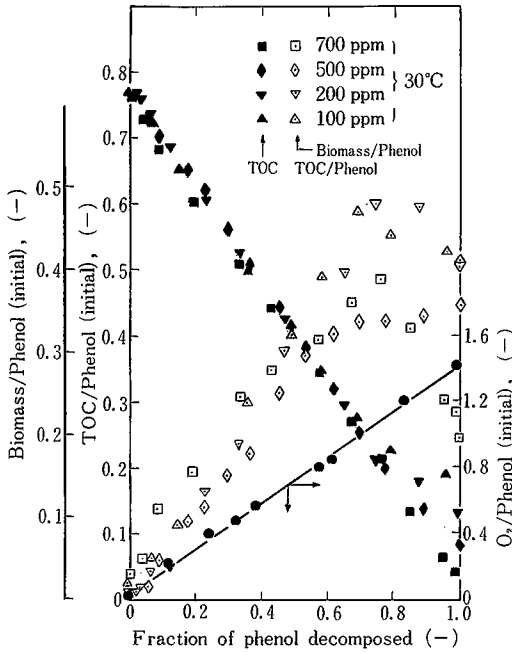


Fig. 4 Variation of TOC, biomass and oxygen consumption with phenol decomposition

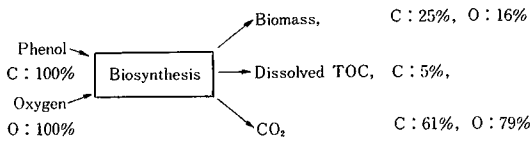


Fig. 5 Mass balance of carbon and oxygen

3.2 分解に伴う物質収支

Fig. 4 はフェノール分解に伴う TOC, 菌体量, 酸素消費量の変化を示したもので, 横軸にフェノール分解率, 縦軸に各々の変化を初期フェノール濃度で基準化したグラフで, この形で初濃度に依らずだいたい整理が可能である. 菌体量の変化を見るとフェノール分解率が 0.7 ぐらいのところまで最大を示しており菌体の収率として約 0.5 という値を示す. フェノール分解の後期には内生呼吸のためか, 菌体収率は低下していく. TOC はフェノール分解とともに単調に減少して, だいたい 5% 前後のフェノール以外の TOC 成分が残留することを示しており, これは菌体による代謝産物と思われるが, 目立った着色はない. また酸素消費とフェノール分解とが比例関係にあることから比増殖速度を酸素消費のグラフのみから求めることができる. さらにフェノール 1g を分解するに要する酸素量はグラフより約 1.4g である. つぎに菌体の元素分析の結果を表 3 に示す. 酸素の値は, 全灼熱減量から, 炭素・水素・窒素の値を引いて求めているため精度には問題がある. また乾燥条件による成分比率の差は

表 3 菌体中の元素分析結果 (数字はwt.%)

乾燥条件	元素名	C	N	H	O
室温減圧 *		34.5	11.5	9.1	44.9
-2°C減圧 *		35.6	9.7	7.0	47.7

*約 1 mm Hg O は全灼熱減量-(CHN)

表 4 炭素および酸素の物質収支 (500mg/l フェノール 1 l の分解完了に対する収支)

供給量(mg)	炭素量(mg)	生成量(mg)	炭素量(mg)
フェノール500	383	菌体 270	95
菌体添加量 3	1	溶存TOC 20	20
		発生CO ₂ 849	232
計	384	計	347

消費量(mg)	酸素量(mg)	生成量(mg)	酸素量(mg)
酸素 700	700	菌体 270	124
フェノール500	85	発生CO ₂ 849	617
計	785	計	741

ほとんどなかった. Fig. 5 は, 炭素および酸素について物質収支の概略を, また表 4 にフェノール 500mg が分解されたときのそれぞれの値を示した. これにより, フェノールと酸素がどのように変化していくかのだいたいの概略は理解される.

3.3 フェノール分解の速度

Fig. 6 では自動酸素消費量測定装置でフェノールの分解を測定したデータの一例を示した. 前述のように酸素消費はフェノール分解と比例関係にあるので比増殖速度

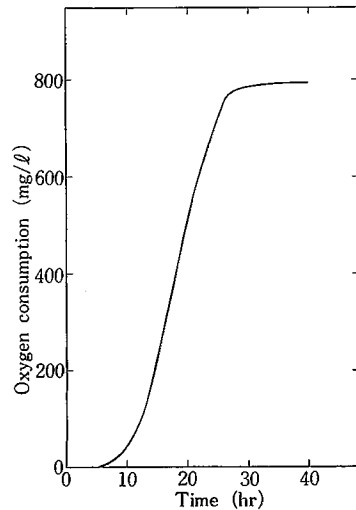


Fig. 6 Typical example of oxygen uptake curve recorded on BOD-R6 (TOA) for phenol 500 mg/l with nutrient shown in Table 2. (at 20°C)

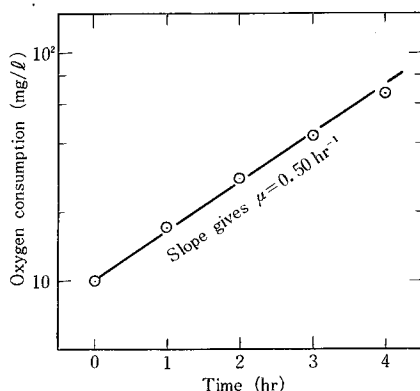


Fig. 7 Semi-log plot of Figure 6. Elapsed time after O.C. = 10 mg/l

についてはこのグラフを用いて検討を加える。Fig. 6 の初期の部分を実対数プロットしたものを Fig. 7 に示すこの直線の傾きから比増殖速度 ($\mu = 1/x \cdot dx/dt$) を求めることができる。図の例では、 $\mu = 0.50 \text{ hr}^{-1}$ となる。Fig. 8 は、温度を低い方から 8°C, 11°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 32.5°C と変えて酸素消費を測定し、得られた結果をアレニウスプロットしたものであり 25°C 以下では活性化エネルギーは約 11 kcal/mole であった。また温度 30°C ではほぼ最大の活性を示し、これ以上では活性は低下するという典型的な中温菌の様相を示している。Fig. 9 は同様に pH の比増殖速度に与える影響を調べたもので pH = 5 以上では pH の値とともに比増殖速度が単調に減少し pH = 11 あたりで活性を失い、また pH = 5 以下においても活性が見られないことがわかった。

4 おわりに

活性汚泥より単離した *Acinetobacter* sp. によるフェノール分解の物質収支および分解速度について検討を加えた結果、1000 mg/l という高濃度のフェノールに対しても極めて高い活性を有し、その分解に伴う菌体収率として 0.5 (g/g)、最大活性を示す温度として約 30°C、pH 6 ~ 8 で安定した分解が期待できることがわかった。本菌の有効な利用によってフェノール分解を安定に行う方策を検討中である。

なお、菌の同定は日本大学農獣学部室岡治義教授、長谷川伸作氏の協力に依ったことを記し謝意を表す。

(1980年1月8日受理)

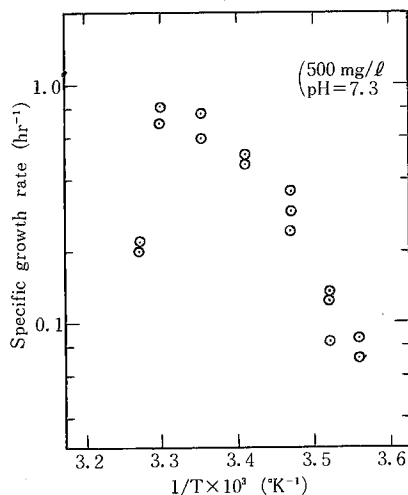


Fig. 8 Effect of temperature on specific rate of phenol decomposition

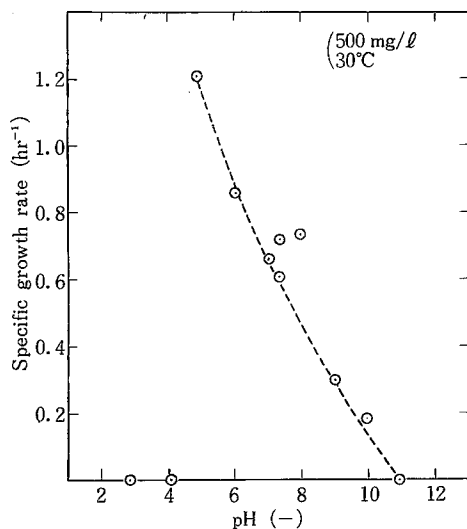


Fig. 9 Effect of pH on specific rate constant of phenol decomposition

参考文献

- 1) 鈴木基之: 生産研究, Vol 31, No 3 (1979)
- 2) 関文威: 水界微生物生態研究法, 共立出版 (1976)