

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2報)—

木村 英生・辻 政雄・大柴 勝彦

Environment Cleaning Technique of Toxic Chemical Substance by Microorganism

—Industrial Wastes Treatment by Activated Sludge (2nd report)—

Hideo KIMURA, Masao TSUJI and Katsuhiko OSHIBA

要 約

銅めっき工場の活性汚泥による非イオン界面活性剤の分解挙動について検討した。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ノニルフェノールエトキシレート (NPE) は十分に分解されることが明らかになった。また下水処理場の活性汚泥による分解挙動と比較しても、ほぼ同程度の分解能力を有していた。しかし、処理後1日のNPE残量で比較すると、処理速度の面で劣っている可能性が示唆された。

Abstract

The biodegradation behavior of non-ionic surfactant by activated sludge of a copper plating factory was investigated. Consequently in spite of having accumulated a lot of copper in activated sludge, it became clear that nonylphenol ethoxylate (NPE) of a non-ionic surfactant is fully disassembled. Even if compared with the activated sludge of a waste water treatment plant, it had almost comparable biodegradation capability. However, when the NPE residual quantity on the 1st after processing compared, it was thought that the activated sludge of a copper plating factory was inferior to the activated sludge of a waste water treatment plant in respect of processing speed.

1. 緒 言

機械、電子及び表面処理関連産業の工場から排出される排水には、鉛、クロム、ニッケル、亜鉛及び銅などの重金属と光沢剤、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で存在している。したがってこ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。

一方、近年では野生生物や水生生物の内分泌系に影響を与える有機化学物質が話題に上ることが多くなった。例えば工業用洗浄剤に含まれる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) の分解生成物ノニルフェノール (NP) にも魚類をメス化させる作用があるとの報告があり、工業排水中の有機化学物質の処理が重要性を増している。しかしながら、重金属と有機化学物質を含む排水を処理の対象としている場合、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、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、重金属を多量に含む活性汚泥による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: $C_9H_{19}-C_6H_4(OCH_2CH_2)_n-OH$; $n=10$) を用いた。

表1 試験排水に用いる培養液の組成

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

* JIS K3363 「合成洗剤の生分解度試験法」より

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、このNPEを30mg/lの濃度となるように溶解させ、試験排水とした。培養液の組成は表1に示した。

2-2 活性汚泥

県内の銅めっき工場及び下水処理場から採取した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 NPE分解実験

NPEの分解実験は図1に示したようなバッチ式実験装置で行った。すなわち、2-1の試験排水250mlと2-2の活性汚泥10gを500ml振とうフラスコに添加し、振とうして分解実験を行った。

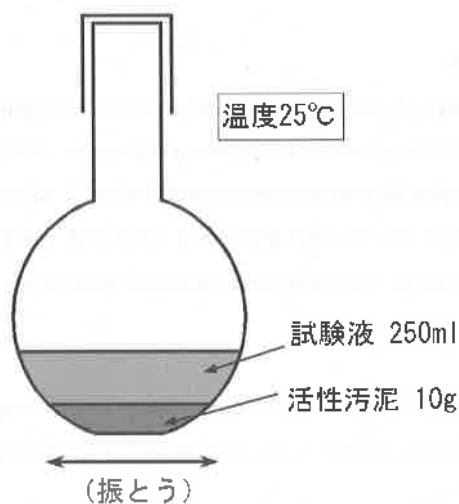


図1 バッチ式処理装置

フラスコは1試験区に対して2つ用意し、一つをNPE及びNP分析用に、他方をMLSS, COD, BOD, pH及び汚泥中の銅濃度の分析用とした。また試験区分は試験排水と汚泥との混合後、振とう1日後及び3日後とした。所定期間振とう後、遠心分離(3000rpm, 10分間)して汚泥と上澄液に分け、MLSS, COD, BOD, pH, 汚泥中の銅濃度, NPE及びNPEの分解生成物であるNPについて測定した。

2-4 MLSS及び活性汚泥中の銅濃度の測定

2-4-1 MLSSの測定

MLSSは下水試験法を参考にして測定した。振とうを終えたフラスコの内容物10mlを遠沈管に取り、遠心分離(3000rpm, 10分間)した後に沈殿を得た。この沈殿を蒸留水で洗浄した後、上澄液を除去し、汚泥沈殿物を得た。この汚泥沈殿物をあらかじめ重さを計っておいた100mlビー

カーに水で洗い入れ、乾燥器中105~110°Cで恒量を得るまで乾燥した。デシケーター中で放冷した後、ビーカーの重量を計り、ビーカーの前後の重量の差(amg)を求め、次式で算定した。

$$\text{MLSS (mg/l)} = a \times (1000 \div \text{汚泥10ml})$$

2-4-2 汚泥中の銅濃度の測定

既報³⁾に準拠して銅濃度を測定した。すなわち、2-4-1で重量を計り終えたビーカーに硝酸10mlを加え、ニクロム線ヒーター上で加熱分解した。分解液が約5ml程度となったところで加熱を止めて冷却し、硝酸5mlさらに過塩素酸10mlを少量ずつ加えて再度加熱し、白煙が生じたところでビーカー上部に時計皿を置いてさらに加熱分解を行った。この分解液が2~3mlになったところで加熱を止め、冷却後に蒸留水で一定容にし、No. 5Cのろ紙でろ過したろ液を原子吸光光度計で測定した。

2-5 BOD及びCODの測定

振とうを終えたフラスコの内容物を遠心分離(3000rpm, 10分間)して汚泥と上澄液に分け、上澄液についてBOD及びCODの測定を行った。操作については、JIS K0102.21及びJIS K0102.17に基づいて行った。

2-6 NPEおよびNPの分析

2-6-1 NPEの分析

振とうを終えたフラスコの内容物を遠心分離(3000rpm, 10分間)して汚泥と上澄液に分離した。上澄液については、ろ過して高速液体クロマトグラフを用いて測定した。液中のNPE量は、上澄液250ml中に含まれるmg量として算出した。

一方、汚泥沈殿物については全量を遠沈管に集め、アセトン25mlを加えて混濁させ、振とうを10分間、次いで超音波処理を10分間行い、遠心分離してアセトンを回収した。この操作を3回行い、回収したアセトンを合わせ、さらにアセトンを加えて全量を100mlとした。このアセトン溶液5mlを100mlナスフラスコに入れ、エバポレーターでアセトンを除去した後、アセトニトリル5mlに溶解させた。この溶液をろ過して高速液体クロマトグラフで測定した。汚泥中のNPE量は、汚泥10g中に含まれるmg量として算出した。

2-6-2 NPの分析

2-6-1で分離した上澄液と汚泥の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。液中のNP量は上澄液250ml中に含まれるμg量として算出した。また汚泥中のNP量は汚泥10g中に含まれるμg量として算出した。

3. 結果及び考察

3-1 銅めっき工場の活性汚泥を用いた実験系

3-1-1 MLSS, BOD, COD及び銅濃度

銅めっき工場の汚泥を用いた実験装置内のMLSS, BOD, COD及び汚泥中の銅濃度を表2に示した。銅濃度の初期値は約30000 (mg/乾燥汚泥重量 1 kg) と非常に高濃度であった。またMLSSは初期値が約2300 (mg/l) で、振とうに従いやや増加した。一方、有機物濃度の指標であるCOD値及びBOD値は、初期値の97及び160 (mg/l) から振とう3日後には48及び20 (mg/l) へと減少していた。

表2 銅めっき工場の汚泥を用いた実験系：銅濃度, MLSS, COD, BOD及びpHの変化

振とう 期間	汚泥中のCu (mg/kg)	MLSS (mg/l)	COD (mg/l)	BOD (mg/l)	pH
0日	30763	2305	97	160	7.26
1日	29341	2635	57	19	7.24
3日	30342	2620	48	20	7.22

3-1-2 非イオン界面活性剤NPE量の変化

NPEの分解実験の結果を図2に示した。試験排水中に溶解していたNPEは、汚泥との混合後では上澄液および汚泥中から検出された。このとき、全検出量の約60%に当たる4.0mgが汚泥から検出された。次に振とう1日後では上澄液からは検出されず、汚泥から2.4mgが検出された。さらに3日後ではどちらからも検出されなかった。以上の結果から銅を高濃度で含有する汚泥においてもNPEは分解されることが明らかになった。またNPEは液中から汚泥中に移行し、そこで分解されていることが示唆された。

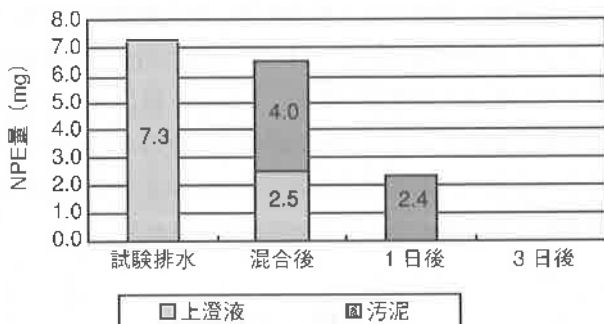


図2 銅めっき工場の汚泥を用いたNPEの分解挙動 (1) : 汚泥添加量10gの実験系

3-1-3 活性汚泥添加量のNPE処理に及ぼす影響

汚泥添加量を変えて検討した結果を図3に示した。3-1-2 (図2) でNPEが検出されなくなったのは振とう3日後であったが、NPEが汚泥中で分解されるとするとNPE

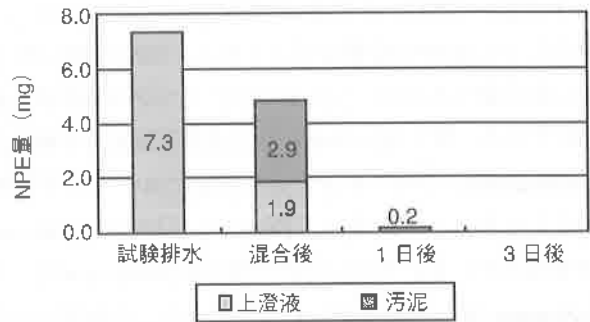


図3 銅めっき工場の汚泥を用いたNPEの分解挙動 (2) : 汚泥添加量20gの実験系

に対し汚泥量を多くするほど分解速度が速まると考えられる。そこで汚泥の添加量を10gから20gに増加させ、同様の実験を試みた。MLSS濃度で比較すると、2300 (mg/l) に対し4200 (mg/l) という値であった。この実験系においても、汚泥との混合後では全検出量の約60%に当たる2.9mgのNPEが汚泥から検出された。一方、混合後の全検出量は、試験排水のNPE量に対して図2では約10%、図3では約35%減少している。この点を考慮しなければならないが、振とう1日後のNPE残量は図2と比較して図3では大きく減少していた。この結果からもやはりNPEは汚泥中で分解されていることが示唆された。

3-1-4 分解生成物NP量の経時変化

NPEが分解して生成するNPについてガスクロマトグラフ/質量分析計 (GC/MS) を用いて測定した。その結果を図4に示した。NPは液中及び汚泥中で検出され、振とう3日後まで増加の傾向を示した。そこで振とうを更に9日後まで延長し測定を試みた。NPは液中では3日後に、汚泥中では6日後に最大値を示し、その後減少に転じた。NPEの分解に伴い、NPが生成し、増加していることからNPEが分解していることが確認された。また生成したNPは液中よりも汚泥中に多く存在していることが明らかになった。例えば、振とう3日後ではNPの全検出量に対し、液中に8%, 汚泥中に92%のNPが存在していた。

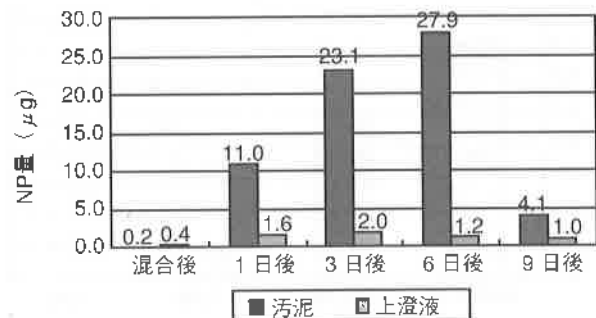


図4 銅めっき工場の汚泥を用いた実験系：NP生成量の変化

図4においてNPは9日後で急激に減少しているが、この原因としてはNPの分解が考えられる。NPは生物分解性の低い化合物であるが、これまでにいくつかの分解菌が報告されている。例えば、Cortlら⁵⁾は活性汚泥から分離した *Candida maltosa* が肉エキスを含む培地においてNPが分解できることを示した。また、Thangcら⁶⁾は *Sphingomonas sp.* を報告している。さらにこれ以外にも *Aeromonas* 属⁷⁾ や *Pseudomonas* 属⁷⁾ などが見いだされている。今回用いた汚泥中の微生物については調査していないが、上記の微生物やこれ以外の微生物が存在している可能性もある。分解菌の分離・同定については今後の課題としたい。

3-2 下水処理場の活性汚泥を用いた実験系

3-2-1 MLSS, BOD, COD及び銅濃度

銅めっき工場の汚泥のNPE分解能について評価するために、県内の下水処理場の汚泥を用いて同様の実験を行い、銅めっき工場の汚泥の場合と比較した。この実験装置内のMLSS, BOD, COD及び汚泥中の銅濃度を表3に示した。汚泥の銅濃度は初期値で約570 (mg/乾燥汚泥重量1kg) で、銅めっき工場の汚泥の約50分の1であった。またMLSSは初期値が約2000 (mg/l) であった。有機物濃度の指標であるCOD値及びBOD値は、初期値の95及び171 (mg/l) から振とう3日後には46及び27 (mg/l) へと減少していた。

表3 下水処理場の汚泥を用いた実験系：銅濃度、MLSS, COD, BOD及びpHの変化

振とう 期間	汚泥中のCu (mg/kg)	MLSS (mg/l)	COD (mg/l)	BOD (mg/l)	pH
0日	571	2035	95	171	7.12
1日	665	2135	61	122	5.98
3日	867	1890	46	27	5.40

3-2-2 非イオン界面活性剤NPE量の変化

下水処理場の汚泥を用いた実験系におけるNPE量の変化

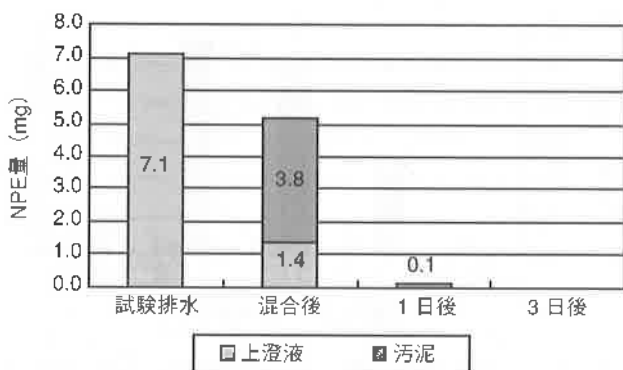


図5 下水処理場の汚泥を用いた実験系：NPEの分解挙動

を図5に示した。

汚泥との混合後では全量の約70%のNPEが汚泥中から検出された。振とう1日後ではNPEは汚泥中のみで検出され、液中からは検出されなかった。さらに3日後ではどちらも検出されなかった。NPEの経時的な減少が認められたことから、図2に示した銅めっき工場の汚泥によるものと同様にNPEが分解されたと考えられた。

3-2-3 分解生成物NP量の経時変化

NPについても、銅めっき工場の汚泥の場合と同様に測定した。振とう3日後までの結果を図6に示した。NPは液中及び汚泥中から検出され、振とう3日後でそれぞれ1.0及び16.2 μ gまで増加した。NPEの分解に伴い、NPが生成し、増加していることからNPEが分解していることが確認された。

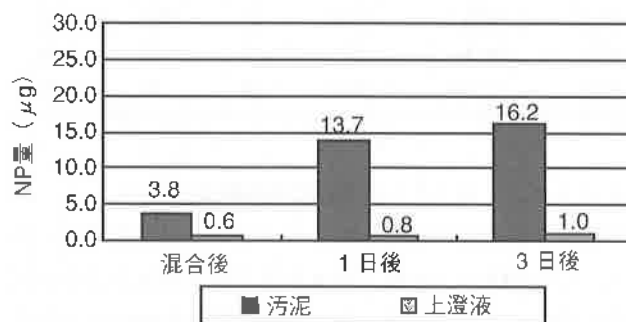


図6 下水処理場の汚泥を用いた実験系：NP生成量の変化

3-3 NPE分解能の比較

銅めっき工場及び下水処理場の両汚泥の実験結果を比較すると、NPEが検出されなくなるまでに共に1日以上要していること、及びNP生成量が振とう3日後で20 μ g前後とほぼ同程度であることが明らかになった。図2及び図5に示した結果から銅めっき工場の汚泥は銅を高濃度で含むとはいえ、下水処理場の汚泥とはほぼ同程度のNPEの分解能力を有していることが推察された。しかし、振とう1日後のNPE残量で比較すると、下水処理場の場合の方が非常に少なくなっており、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。

4. 結 言

銅めっき工場の活性汚泥を用いて非イオン界面活性剤NPEの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。そこでNPEの分解生成物である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。

次に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。

参考文献

- 1) 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 (2001)
- 2) (財)日本規格協会：JIS K3363 合成洗剤の生分解度試験方法
- 3) 環境保全対策研究会編：二訂・水質汚濁対策の基礎知識, (社)産業環境管理協会, p159 (1998)
- 4) 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)
- 5) Corti, A., Frassinetti, S., Villnii, G., D'Antone, S., Fichi, C., Solaro, R. : Environ.Pollut., 90, 83 (1995)
- 6) Tanghe, T., Dhooge, W., Verstraete, W. : Appl. Environ. Microbiol., 65, 746 (1999)
- 7) 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)