PVAゲルビーズに固定化した光依存性脱窒汚泥による 染色排水の連続処理

Continuous Treatment of Textile Waste Water by Attached Photo-Dependent
Denitrifying Sludge on PVA Gel Beads

黒木征一郎¹、中岡元信²、塩谷唯夫³、古川憲治¹

¹熊本大学工学部環境システム工学科／〒860-8555 熊本市黒髪2-39-1

²和歌山県工業技術センター／〒649-6261 和歌山市小倉60

³株式会社クラレ／〒530-8611 大阪市北区梅田1-12-3 新阪急ビル

SEIICHIROU KUROKI¹, MOTONOBU NAKAOKA², TADAO SHIOTANI³, and KENJI FURUKAWA¹

¹Department of Civil Engineering & Architecture, Kumamoto University

/2-39-1, Kurokami, Kumamoto city, 860-8555, Japan

²Wakayama Industrial Technology Center / 60, Ogura, Wakayama city, 649-6261, Japan

³Kuraray Co. Ltd. / Shin-Hankyu Bldg., 1-12-3, Umeda, Kita-ku, Osaka, 530-8611, Japan

Abstract

For efficient treatment of textile wastewater, continuous treatment using PVA gel beads was conducted. The photo-dependent denitrifying sludge (PDDS) consisting of a symbiotic consortium of denitrifying and dye-degrading photosynthetic bacteria attached on polyvinyl alcohol (PVA) gel beads. The results of batch experiments indicated that immobilized PDDS has denitrification and decolorization capability under illuminated and anoxic conditions. A continuous-flow system consisting of nitrification and denitrification processes was constructed, and treatment experiments using a synthetic textile wastewater were conducted. The specific nitrification rate was influenced by inorganic carbon concentration and the relation of specific nitrification rate to organic nitrogen concentration followed Michaelis-Menten kinetics. The PDDS attached immobilized on PVA gel beads successfully removed color intensity and NO_x-N in the denitrification reactor.

Key words : textile waste water, attached immobilization, denitrification, decolorization, PVA gel beads

1. はじめに

染色工場より排出される染色排水の着色度除去に関しては、これまで凝集沈殿法、活性炭による吸着除去、オゾンによる酸化分解などの物理化学的処理法を中心に検討されてきた。しかし、これら物理化学処理で着色度は

高い効率で除去できるものの、処理しなければならない排水量が膨大になった場合にはコストがかさむため、広く実用化されるに至っていない。一方、染色排水には染色助剤として用いられる尿素が高濃度で含まれているため、閉鎖性水域の富栄養化防止の観点から、窒素を除去できる染色排水処理プロセスの早急なる開発が求められ

ている。我々は、染色排水から着色度と窒素を効率的かつ経済的に同時除去することのできる排水処理プロセスの開発に取り組んでいる。これまでに、光合成細菌と脱窒汚泥の安定した共生系である光依存性脱窒汚泥 (Photo-Dependent Denitrifying Sludge : PDDS) によって、アゾ系染料除去と脱窒が同時に行われるという新しい知見を得ている¹⁻³⁾。

PDDSを用いた染色排水の処理では、光照射脱窒条件下で光合成細菌がアゾ系染料の分解除去を、脱窒菌が脱窒を同時に並行して行なう。PDDSを用いる染色排水処理のさらなる効率化を目的として、PDDSを固定化した。固定化の利点として、(1)汚泥濃度を高めることが可能であるとともに、沈殿池を省くことができシステムのコンパクト化が図れる、(2)生育速度の小さい有用微生物を、反応槽内を遊離している微生物と分離した状態で培養でき、有用微生物を常時反応槽内に安定して保持できる、(3)汚泥濃度の増加により負荷量の変動に対応できる、等が挙げられ、懸濁状態でPDDSを用いるよりも利点が大きく、より低コストでの処理も可能であると期待される。

活性汚泥等の固定化法には、ポリビニルアルコール (PVA) やポリエチレングリコール (PEG) などの合成高分子化合物により微生物を固定化する包括固定化法⁴⁻⁹⁾や、微生物自身で造粒する自己固定化法¹⁰⁾、微生物を担体表面に付着させる付着固定化法などがある。そのうち本研究では、微生物の付着保持能力に優れ、耐久性のあるPVAゲルビーズを担体とした付着固定化法を取り上げ、PVAゲルビーズへのPDDSの付着固定化と、PDDSを付着固定化したゲルビーズの脱窒能およびアゾ系酸性染料の除去能について検討した。

2. 実験材料ならびに方法

2. 1 供試ゲルビーズならびに汚泥

実験には、直径3.5mmの多孔質のPVA製ゲルビーズ (クラレ製、商品名：クラゲール) を用いた。ゲルビーズ100個あたりの湿重は3.45gで、100ml容の容器に1,900個充填できる。供試汚泥には研究室でメタノールを炭素源とする脱窒培地を用いて長期間間fill and draw法で馴養調製しているPDDSを用いた。

2. 2 供試染料ならびに合成染色排水

染色工場において用いられる染料はそのほとんどが合成染料であり、中でも酸性染料や反応性染料が広く用いられている。供試染料としては、図1に示すアゾ系

染料を用いた。

合成染色排水の組成を表1に示す。酸性染料ならびに反応性染料は水溶性であり、繊維に完全に吸尽されないため排水処理で最も問題となっていることから、酸性染料であるAcid Blue 92 (C. I. 13390、東京化成工業、吸光特性：OD₆₆₀、以下AB-92と略す) およびAcid Black 1 (C. I. 20470、東京化成工業、吸光特性：OD₆₃₀) を各40%、

Fig. 1 Structure of Acid azo dyes

Table 1 Composition of synthetic textile waste water

	Composition (mg/l)			
	Run 1	Run 2	Run 3	Run 4
Sodium Alginate	50	50	100	150
<i>m</i> -Nitrobenzenesulfonic acid sodium	25	25	50	75
Urea	250	250	500	750
NaHCO ₃	50	200	400	600
NaCl			2.0	
KCl			2.8	
CaCl ₂			2.8	
MgSO ₄ · 7H ₂ O			4.0	
Acid Blue 92		20		
Acid Black 1		20		
Reactive Black 5		10		

反応性染料であるReactive Black 5 (C. I. 20505、シグマアルドリッチジャパン、吸光特性：OD₅₉₇)を20%の割合で混合した。合成染色排水の主成分としては、捺染工程において染色助剤として用いられる尿素、*m*-ニトロベンゼンスルホン酸ソーダ、重炭酸ソーダおよび、捺染糊として用いられているアルギン酸ソーダを用いた。

2. 3 PDDS担持PVAゲルビーズの馴養

5 l容のアクリル製の脱窒リアクター（100×150×333 mm）にPDDS（2, 400mg/l）とPVAゲルビーズを500ml投入し、表2に示す硝酸カリウムとメタノールを主体とする脱窒培地を用い、23日間にわたり、24時間を1サイクルとするfill and draw法でNO₃-N容積負荷量を415.0mg/l/dに設定して馴養した。リアクターは直径60mmのタービン翼2枚を装着した攪拌器（東京理化 MAZELA Z-1300）により130rpmで緩速攪拌を行なった。その後PDDSを除去してPVAゲルビーズのみについて、表3に示す窒素容積負荷量で、24時間を1サイクルとするfill and draw法で馴養した。

馴養経過を評価するために、培養液およびPVAゲルビーズを随時採取した。培養液は3,000rpmで遠心分離し、上澄液についてNO₃-N濃度をブルシンスルファニル酸法で評価した。PVAゲルビーズに担持された菌体量はFluorescein Diacetate法（FD法）¹¹⁾により評価した。

Table 2 Composition of denitrification medium

Composition (mg/l)	
CH ₃ OH	2,000
KNO ₃	3,000
K ₂ HPO ₄	116.7
KH ₂ PO ₄	16.7
NaCl	6.0
KCl	2.8
CaCl ₂	3.7
MgSO ₄ · 7H ₂ O	4.1

Table 3 Operational conditions for cultivation of immobilized PDDS

Run	Time (d)	Nitrogen loading rate (mg-N/l/d)
1	23~31	20.8
2	31~38	41.5
3	38~45	83.0
4	45~52	166.0
5	52~59	207.5
6	59~	415.0

C : N = 2.0

2. 4 PDDS担持PVAゲルビーズを用いたアゾ系酸性染料の分解除去

PDDSを付着固定化したPVAゲルビーズについて、染色排水処理への適用の可能性を探るため、その脱窒能とアゾ系酸性染料の分解能について評価した。

供試培地は馴養に用いているものと同一の脱窒培地にアゾ系酸性染料AB-92を所定の濃度となるよう添加したものをを用いた。PVAゲルビーズは染料の吸着能が高いため、供試PVAゲルビーズとしては馴養してPDDSを担持させたビーズと、対照として馴養を経ずにPDDSが担持されていないビーズを用いた。

実験は、300ml容の三角フラスコにPDDS付着ゲルビーズを30mlと供試培地を投入し、合わせて250mlとした。明条件については12,000lxで白熱灯による光照射を行ない、暗条件についてはアルミホイルで遮光した。対照については、ゲルビーズ30mlと供試培地を投入し、合わせて250mlとしたうえで、白熱灯により12,000lxの光照射を行なった。実験は24時間を1サイクルとするfill and draw試験とした。処理水温は27℃に設定した。

サンプリングは随時行ない、NO₃-N濃度、AB-92濃度について評価した。AB-92濃度は吸光特性値（OD₅₆₀）で測定した。

2. 5 染色排水の連続処理へのPDDS担持PVAゲルビーズの適用

図2に示す連続処理リアクターを用い、表1に示す組

Fig. 2 Flow diagram of experimental continuous dye treatment system. 1, Nitrifying reactor (5l : 100×150×333mm); 2, Nonwoven fabrics; 3, PDDS reactor (5l : 100×150×333mm); 4, Separator; 5, Filter; 6, Stirring propeller; 7, Incandescent lamp (100W); 8, PVA gel beads

成の合成染色排水を処理対象排水として連続処理試験を行なった。水理学的滞留時間 (HRT) は1日、合成染色排水の染料濃度は50mg/lとし、窒素濃度は117~350mg/lの範囲で変化させた。また、Run 1においては、無機炭素源の欠乏が処理に及ぼす影響を明らかにするために、 NaHCO_3 の濃度を低く設定した。

連続処理リアクターはそれぞれ5 l容の硝化槽、脱窒槽の2槽からなっている。硝化槽はエアーポンプにより1.2l/minで曝気を行なった。本実験では連続試験に準じる組成の合成染色排水 (尿素500mg/l、総染料濃度100mg/lを含む) で馴養した硝化活性汚泥を幅5 cm、長さ25cm、厚さ0.5cmのポリエステル製不織布 (日本バイリーン製) 5枚に付着固定化した。脱窒槽においては、硝化槽流出水にメタノールをC/N比が1.5となるよう補填し脱窒処理を行なった。脱窒槽は上部から白熱灯により10,000 lxの照度となるように光照射を行なった。槽内は攪拌器 (東京理化 MAZELA Z-1300) を用いて直径60mmのタービン翼2枚により100rpmで緩速攪拌を行なった。固液分離は沈殿池を設けず、直径60mmの亚克力製の円筒の底部に工業用パッド (住友3M、スコッチブライト印、タイプA、very fine) を装着したフィルター・セパレーターで行ない、SSを含まない清澄な処理水のみが流出水として得られるようにした。脱窒槽はPDDSを付着固定化したPVAゲルビーズを7%充填し、合成染色排水の連続処理について検討した。

サンプリングは随時行ない、分析方法は回分試験に準じたが、本実験では吸光特性値の最大吸収波長の異なる3種類の染料を用いているため、着色については和歌山市条例に定める着色度¹²⁾により評価した。

3. 実験結果ならびに考察

3. 1 PVAゲルビーズへのPDDSの担持と馴養

$\text{NO}_3\text{-N}$ 容積負荷量を段階的に引き上げて行なった馴養の結果、PVAゲルビーズ表面が付着微生物により淡褐色を帯びた (図3)。付着微生物量は急速に増加し、FD法で推定したPVAゲルビーズへの付着微生物量を基に換算したリアクター内のMLSS濃度は馴養86日目までに1254.6mg/lまで増加し (図4)、その後1,100~1,300mg/lの範囲で安定した。また、図5に馴養72日目の培養槽内の $\text{NO}_3\text{-N}$ 濃度の経時変化を示す。この図からPVAゲルビーズに付着固定化したPDDSにより脱窒処理が順調になされていることが分かる。この時の比脱窒速度は27.1mg-N/g-MLSS/hとなった。PVAは包括固定化の担体として

Fig. 3 PVA gel beads. New gel beads (A) and PDDS attached gel beads (B)

Fig. 4 Change of mass volume of PDDS immobilized in PVA gel beads

Fig. 5 Time course of nitrate-N removal by immobilized PDDS : 30°C, MLSS : 1,250mg/l

も用いられるが、本実験の結果より、PVAゲルビーズはPDDSの付着固定化担体としても有用であることを認めた。

3. 2 PDDSを付着固定化したPVAゲルビーズを用いたアゾ酸性染料の分解除去

PVAゲルビーズに付着固定化されたPDDSが脱窒能のみならず染料分解能を有するか明らかにするために、表2に示す脱窒培地にAB-92を20mg/lの濃度で添加し、試験を行なった。

実験1日目のPDDS付着固定化PVAゲルビーズによる脱窒の経時変化を図6に、PVAゲルビーズにAB-92を飽和まで吸着させることにより吸着の影響を除外したAB-92濃度の経時変化を図7に示した。脱窒は明、暗いずれの条件についても順調に行なわれた。明、暗いずれの条件においてもAB-92濃度は減少したが、明条件は暗条件と比較してAB-92濃度の減少が顕著であり、PVAゲルビーズに担持されたPDDSは明条件下において脱窒とアゾ系酸性染料の同時除去に効果のあることが示された。

3. 3 染色排水の連続処理へのPDDS担持PVAゲルビーズの適用

硝化リアクターでの初発MLSS濃度は900mg/l、PDDS付着ゲルビーズの充填率は7%（初発MLSS濃度：900mg/l）、HRTを1日に設定し合成染色排水の連続硝化、脱窒試験を行なった。

硝化リアクターにおける窒素濃度と硝化率の経時変化を図8に示す。この試験期間中、MLSS濃度は900~1,200mg/lであった。無機炭素源としての NaHCO_3 濃度を50mg/lに設定したRun 1においては、硝化率は60~70%前後という低い水準で推移した。硝化リアクターにおいてケルダール窒素はほとんど $\text{NH}_4\text{-N}$ として存在していることから、硝化が律速を受けていることがわかった。そこで、硝化率を向上させるべく、Run 2では有機炭素源としての尿素の濃度はそのままにして NaHCO_3 濃度をそれまでの4倍の200mg/lに高めたところ、硝化率の向上が確認できた。捺染工程においては染色助剤として NaHCO_3 を用いているため、一定の濃度の無機炭素が排水中に存在するが、硝化処理を効率的に行なうためには無機炭素濃度の管理が重要であることが示された。Run 2~4にかけてはT-N濃度を上昇させて試験を行なったが、硝化率は低下する傾向にあった。図9にはRun 2~4および本実験を開始する前に比較的低いT-N濃度で運転した条件下における、合成染色排水のT-N濃度と比硝化速度との関係を示した。T-N濃度が上昇するにつれて比硝化速度の上昇は緩やかなものになり、両者の関係はMichaelis-Menten式に従うことが分かった。この結果をもとにT-Nに関する飽和恒数 (K_m) および最大硝化速度 (V_m) を求めると K_m は200mg/l、 V_m は230mg/g-MLSS/dとなった。得られた K_m の値は活性汚泥によるアンモニア酸化について報告されている $K_m=1.0\text{mg/l}^{(13)}$ と比較すると2オーダー高いものとなっている。このことは合成染色排

Fig. 6 Time course of nitrate-N removal under light and dark conditions : 27°C, MLSS ; 1,200mg/l.
Symbol : ◆, Light condition ; □, Dark condition

Fig. 7 Time course of AB-92 removal by immobilized PDDS under light and dark conditions.
Symbol : ◆, Light condition ; □, Dark condition ; ◇, control

水に含まれるT-N濃度と、合成染色排水で馴養した硝化活性汚泥との親和性が低いことを示しており、合成染色排水中に含まれる染料によって硝化活性が阻害を受けていることを示唆している。

脱窒リアクターにおける窒素濃度と脱窒率の経時変化を図10に示す。脱窒効率はNO_x-N負荷量の増加に伴い若干の低下が見られるものの75~95%前後で推移し、PVAゲルビーズに付着固定化されたPDDSは連続処理においても高い脱窒活性を有することが明らかとなった。これ

に先立って行なった懸濁状態でのPDDSを用いた脱窒処理試験では、同様のNO_x-N負荷領域で、流入するNO_x-Nの60~75%が安定して脱窒されたが、これと比較して固定化したPDDSは高い脱窒効率を達成できることが明らかとなった。

図11にはNO_x-N負荷量と比脱窒速度との関係を示した。この図から、試験した負荷領域では脱窒反応は0次反応に従うことがわかる。本実験とはほぼ同一の条件で行なった懸濁状態でのPDDSの比脱窒速度と比較して、付

Fig. 8 Changes in nitrogen concentration during nitrification treatment of synthetic textile wastewater : 30°C, MLSS : 900~1,200mg//. Symbol : ◆, Influent (Inf.) T-N ; □, Effluent (Eff.) NO_x-N ; Line, % of Nitrification

Fig. 10 Changes in NO_x-N concentration during denitrification treatment of synthetic textile waste water : 30°C, MLSS : 900~1,100mg//. Symbol : ◆, Inf. NO_x-N ; □, Eff. NO_x-N ; Line, % of denitrification

Fig. 9 Relationship between T-N concentration and specific nitrification rate. Symbol : ◆, Specific nitrification rate ; Line, Obtained value by michaelis-menten kinetics

Fig. 11 Relationship between NO_x-N loading and specific denitrification rates. Symbol : ◆, Immobilized PDDS in PVA gel beads ; ◇, Suspended PDDS

着固定化したPDDSの比脱窒速度は2倍程度高いことが明らかとなった。この実験結果は、PVAゲルビーズにPDDSを付着固定化させることにより脱窒菌が活動しやすい培養環境が形成されたことを示している。懸濁状態のPDDSを用いた試験では、脱窒槽内において糊状になって浮遊しているアルギン酸ソーダにPDDSが付着し、それが脱窒に伴い発生する窒素ガスにより水面近くまで浮上した。これが原因となりPDDSと槽内の排水との接触効率が悪化し、比脱窒速度が低下した。

図12には処理システム全体としての窒素濃度と窒素除去率の経時変化を示した。窒素除去率はRun 2において70~80%程度あったものが、窒素負荷量が上昇するにつれて徐々に低下した。これは硝化リアクターにおける硝化効率の低下が大きく影響している。Run 4において最終的に処理水中に含まれる $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度が 100mg/l 前後の高い濃度となっており、連続処理リアクターを設計する上では硝化リアクターにおける窒素負荷量を考慮しなければならない事が明らかとなった。しかし、通常の染色排水の代表的な水質に近いRun 3では60~80%の窒素除去率が達成されており、PDDSをPVAゲルビーズに付着固定化させたリアクターを組み込んだ処理システムで染色排水に含まれる窒素を効率的に除去できることが明らかとなった。

処理システム全体としての着色度の経時変化とその除去率の経時変化を図13に、Run 3における着色除去の状況を図14に示した。着色の除去はほとんど脱窒リアク

ーにおいて行なわれ、Run 2および3における着色除去率は概ね60%以上となっているが、Run 1および4においては50%以下の除去率となった。Run 2以降における着色除去率は処理水中に残存する $\text{NH}_4\text{-N}$ 濃度の上昇に伴い低下する傾向にあることから、アンモニウム塩が光合成細菌による着色除去を阻害している可能性が考えられる。

Fig. 13 Changes in color intensity during nitrification and denitrification treatment of synthetic textile waste water.

Symbol : $\blacklozenge$, Inf. color intensity ; $\square$, Eff. color intensity ; Line, % of color removal

Fig. 12 Changes in T-N concentration during nitrification and denitrification treatment of synthetic textile waste water.

Symbol : $\blacklozenge$, Inf. T-N ; $\square$, Eff. T-N ;
 $\times$, Ammonium-N ;
 Line, % of T-N removal

Fig. 14 Decolorization of synthetic textile waste water in continuous-flow system.

Symbol : A, Influent ; B, After nitrification ;
 C, Effluent

4. 要約

光照射脱窒条件下でアゾ系染料と窒素の除去に効果のあるPDDSをPVAゲルビーズへ付着固定化させ、固定化されたPDDSを用いてアゾ系酸性染料AB-92の除去試験を行ない、以下に示す結果を得た。

- (1) 脱窒培地を用いた馴養の結果、PVAゲルビーズへPDDSが安定して付着固定化された。
- (2) PDDS付着固定化PVAゲルビーズを用い、脱窒とアゾ系酸性染料AB-92の除去を同時に行なうことができた。
- (3) PDDS付着固定化PVAゲルビーズは連続処理リアクターにおいても高い脱窒活性と染料による着色の除去能を有し、連続処理リアクターへのPDDS付着固定化PVAゲルビーズの適用の可能性が明らかとなった。

引用文献

- 1) 古川憲治、黒木征一郎、中岡元信：光依存性脱窒条件下での染料の微生物分解、用水と廃水（産業用水調査会）40（9）pp. 775-781（1998）
- 2) K. Furukawa, S. Kuroki, and M. Nakaoka : Biodegradation of azo dyes under photo-dependent anoxic conditions, Proc. of Water Environment Federation 72th Annual Conference & Exposition (CD-ROM) (1999)
- 3) S. Kuroki, K. Furukawa, and M. Yoshiyama, Biodegradation of acid azo dyes by newly isolated purple nonsulfur bacteria, Japanese Journal of Water Treatment Biology, 37 (2) pp. 69-75 (2001)
- 4) S. Hashimoto and K. Furukawa : Immobilization of activated sludge by PVA-Boric acid method, Biotech. Bioeng., Vol. 30, pp. 52-59 (1986)
- 5) E. Kokufuta, M. Yukishige, and I. Nakamura : Coimmobilization of Nitrosomonas europaea and Paracoccus denitrificans cells using polyelectrolyte complex-stabilized calcium alginate gel, J. Ferment. Technol., Vol. 65, pp. 659-664 (1987)
- 6) 角野立夫、中村裕紀、森直道、江森弘祥：包括固定化微生物を用いた排水処理、用水と廃水（産業用水調査会）、34（11）pp. 27-32（1992）
- 7) T. Sumino, H. Nakamura, N. Mori, and Y. Kawaguchi : Immobilization of nitrifying bacteria by polyethylene glycol prepolymer, J. Fermentation Bioeng., Vol. 73, pp. 37-42 (1992)
- 8) K. Hanaki, S. Hirunmasuwan, and T. Matsuo : Protection of methanogenic bacteria from low pH and toxic materials by immobilization using polyvinyl alcohol, Wat. Res., 28 (4), pp. 877-885 (1994)
- 9) H. Nagadomi, T. Hiromitsu, K. Takeno, M. Watanabe, and K. Sasaki : Treatment of aquarium water by denitrifying photosynthetic bacteria using immobilized polyvinyl alcohol beads, J. Biosci. Bioeng., 87 (2) pp. 189-193 (1999)
- 10) J. J. Beun, A. Hendriks, M. C. M. Van Loosdrecht, E. Morgenroth, P. A. Wilderer, and J. J. Heijnen : Aerobic granulation in a sequencing batch reactor, Wat. Res. 33 (10), pp. 2283-2290 (1999)
- 11) S. De Rosa, F. Sconza, and L. Volterra : Biofilm amount estimation by Fluorescein Diacetate, Wat. Res., 32 (9), pp. 2621-2626 (1998)
- 12) 和歌山市排出水の色等規制条例施行規則、規則第54号（1991）
- 13) E. D. Schroeder : Water and wastewater treatment, McGraw-hill Book Company, pp. 262-272 (1977)

（受付 2002. 8. 9）

（受理 2002. 9. 6）