

(75) 難分解性着色物質の生物学的脱色 促進条件に関する検討

伊藤 司^{1*}、武関公世¹、湯本将大¹

¹群馬大学大学院工学研究科社会環境デザイン工学専攻

(〒376-8515 群馬県桐生市天神町一丁目 5 番 1 号)

* E-mail : t.ito@gunma-u.ac.jp

何万種類もの着色剤が多様な用途（繊維、食品、化粧品、印刷など）に利用されているが、一般に安定で難生物分解性であるため水環境汚染を引き起こす。本研究の目的は、水環境への難生物分解性の着色物質による汚染を軽減する浄化技術を開発するため、脱色微生物を獲得することと、生物脱色促進条件を明らかにすることである。本研究では、着色した染色工場廃水およびアゾ染料とアントラキノン染料を生物学的に脱色させることに成功した。脱色促進条件は2種類の染料で特に溶存酸素濃度と酢酸添加の影響において大きく異なった。染色工場廃水の脱色条件はアゾ染料の脱色条件に類似し、廃水の着色原因物質がアゾ染料である可能性を示唆した。染色工場廃水の脱色速度と有機物分解速度の相関関係より、染色工場廃水の脱色は有機物分解と同時に進行し、有機物分解に対する脱色反応の寄与が大きいことが推察された。

Key Words : 生物学的脱色、難生物分解性、染色廃水、アゾ染料、アントラキノン染料

1. 研究背景

着色剤（染料など）は、繊維染色、食品、化粧品、印刷など実に多様な用途に使用されている¹⁾。そのためこれらを含んだ排水には、染色工場などの産業から明らかな着色水として排出されるものもあれば、日常生活において家庭排水から微量に常に排出されているものまであり、水環境汚染の観点からは着色剤は点源汚染の要素と面源汚染の性質を合わせもつ。食品等の口腔摂取されうる着色剤に関する安全基準は厳しいが、その他の用途の着色剤には、それ自身あるいは代謝により変異原性などの有害性を示すものも多数存在する^{2), 3)}。

染料には、化学構造にアゾ基をもつアゾ染料が有名である。アゾ染料は染料の中では最も多く用いられており、その種類は何万種ともいわれる。この他、アントラキノン構造を有するアントラキノン染料も発色に優れていることから化学繊維の染色にはよく用いられている。染料などの着色剤は用途として要求される性質上、耐光性や耐候性などの耐性を有し、水環境中に排出された場合に自然には分解され難い難生物分解性の環境汚染物質となる。実際に筆者ら

は都市下水処理場の活性汚泥（エアレーションタンクから採取）を用いて繊維染色工場廃水の脱色を試みたが全く脱色できなかった⁴⁾。微生物作用により脱色させるためには活性汚泥を構成する微生物群集とは異なる微生物群が必要であると考えられた^{4), 5), 6)}。

染料を含んだ着色水の生物脱色に関する研究報告例は国内外で多く、実廃水を対象にしたリアクターレベルの研究から、特定のアゾ染料と分離株を用いた酵素や遺伝子に関する研究まで、対象生物も菌類、酵母、細菌など、多方面からアプローチされている^{1), 6), 7), 8)}。しかしながら、染色廃水による河川等の着色汚染の問題は国内外に依然として存在している状況にあり^{6), 9), 10)}、導入しやすい脱色技術の開発が必要であると思われる。

筆者らは国内外で着色水汚染のある河川の現位置浄化や、染色工場廃水などの染料を含んだ着色廃水の脱色リアクターの開発を目指している。上述したように着色物質は難生物分解性であることから、脱色能力があり水環境中に存在しやすい微生物（特に細菌、水中では細菌類は菌類より優占しやすいため）を探索することと、その微生物の脱色能力を効果的に発揮させるための条件を明らかにすることがまず

重要であると考えた。そこで本研究では、難生物分解性の着色水として現実に河川の着色水汚染を引き起こしている実際の染色工場廃水を用い、また、現象解明のためのモデル物質としての市販染料を用いて、第一にこれらを脱色できる微生物群を獲得し、脱色が微生物作用であることを確認すること、続いて脱色促進条件を明らかにすることを目的とした。

2. 実験方法

2.1 染色工場汚泥および染色工場廃水、その他の微生物試料および染料

染色工場（栃木県足利市 染色整理業）において、廃水処理前の染色廃水を輸送する排水管内壁に付着した汚泥状のものを採取した⁴⁾。これを実験室に持ち帰り、染色工場廃水を入れた1 L 容器に汚泥状のものを容器底部が覆われる程度適量入れ、静置状態で、定期的に廃水の約半分量を交換することにより馴致し続けたものを染色工場汚泥とした。排水管は工場が稼働する午前8時頃から夕方17時頃までは常時廃水により満たされて勢いよく廃水が流れている。夕方から朝にかけてと休業日は採取した排水管には廃水はなく壁面に付着した汚泥は空気にさらされる状況にある。

実際の染色工場廃水は汚泥採取と同じ場所から採水した。染色工場で使用される染料は多種多様で、製品により時間、時期によっても異なるため、廃水は採水日を変えて何度か採水した。廃水処理前の廃水温度は年間を通じて40℃程度である。たとえば廃水の15回の採水の結果、COD_{Cr}は最大385 mg/L～最小113 mg/L（平均223 mg/L）であった。pHは約7～8の範囲にあり、pHが6.0以下や8.5以上になったときはなかった。着色の程度は様々で、色はおおよそ赤黒色、紫色、黒紫色などであるが一様ではない（例として図-1）。

染色工場汚泥のほかに本研究で用いた微生物試料は、都市下水処理施設からの活性汚泥（エアレーションタンクから採取）、食品系廃水処理施設の嫌気性グラニュール（粒状）、大腸菌 *E. coli* K12 株、上記染色工場からの着色排水の河川放流地点から約2 km 下流（矢場川）の底泥である。矢場川では上記染色工場が唯一の着色水の汚染排出源である。

モデル染料にはアゾ染料でジアゾ化合物のコンゴレッド（ベンジジンジアゾビス-1-ナフチルアミン-4-スルホン酸ナトリウム、分子量697）、アントラキノン染料のアリザリンレッド S（1,2-ジヒドロキシ-9,10-ジオキソ-9,10-ジヒドロアントラセン-3-スルホン酸ナトリウム、分子量342）を用いた。

2.2 生物学的脱色と吸着の検討実験

染色工場汚泥による着色物質の生物学的脱色能は染色工場汚泥を滅菌したものと非滅菌のものを染色廃水に植菌して脱色の進行を観察することにより行った。なお、本研究において脱色とは無色透明を意味する。滅菌方法は、121℃ 15 分間のオートクレーブ（高圧蒸気滅菌器）処理と、ヒートブロックによる80℃ 30 分間の熱処理の2通りである。また、生細胞による吸着を検討するため、前述の活性汚泥（都市下水処理施設）、嫌気性グラニュール（食品系廃水処理施設）、大腸菌 *E. coli* K12 株を用いた。

実験には約30 mL のガラス製の密閉可能なゴム栓つき試験管を用いた。試験管にオートクレーブ滅菌後の染色工場廃水を20 mL 入れ、約1 mg-SS の染色工場汚泥を植菌した。染色工場汚泥以外は約30 mg-SS 植菌した。試験管内の気相部は空気である。試験管は基本的には38℃のインキュベーターで静置培養し、脱色の進行を観察した。静置培養以外は、スターラーによる攪拌、エアレーション、振とう（約100 rpm）を行った。培養4日後に気相部のガス組成（O₂, N₂, CH₄）をガスクロマトグラフで測定した。脱色の判定は約1週間の経過から判断した。

2.3 染料を用いた脱色条件の検討実験

染料を用いた脱色条件の検討はグルコース無添加のM9 培地（最小培地）に染料（コンゴレッドあるいはアリザリンレッド）を添加し、条件を以下のように調整して行った。培地中の染料濃度は20 mg/L であり、培地中には添加した染料以外に有機炭素は存在しない。

pH の検討は、培地のpH 緩衝剤濃度を調整してpH を5, 6, 7, 8 にして、38℃、コンゴレッドについては初期DO 1 mg/L 以下、アリザリンレッドについては初期DO 5 mg/L 以上で行った。

溶存酸素濃度（DO）の検討は、培地中の初期DO をエアレーションによりDO 5 mg/L 以上に調整した条件と窒素ガスによりDO 1 mg/L 以下に調整した条件で、pH 6～7, 38℃で行った。

温度の検討は、15℃, 30℃, 38℃, 50℃のインキュベーター内で、pH 7、コンゴレッドについては初期DO 1 mg/L 以下、アリザリンレッドについては初期DO 5 mg/L 以上で行った。

補助基質としての酢酸添加の検討は、酢酸ナトリウムを培地中に100 mg-C/L になるように添加して、pH 6、コンゴレッドについては初期DO 1 mg/L 以下、アリザリンレッドについては初期DO 5 mg/L 以上で行った。

実験は、実験方法2.2の生物学的脱色と吸着の検討実験と同様に条件ごとに4～5本の試験管を用いて静

置条件、液量 20 mL で行った。但し、植菌汚泥量は約 10-20 mg-SS である。

2.4 染色廃水を用いた脱色条件の検討実験

実験方法 2.3 の染料を用いた脱色条件の検討実験（試験管培養、液量 20 mL、静置条件）と同様の実験を染色廃水を用いて行った。検討したのは温度と補助基質としての酢酸とグルコース、河川底泥の脱色能力である。

温度は、染色廃水の pH が約 7 であることを確認し、4℃、15℃、26℃、38℃、48℃、60℃で行った。植菌汚泥量は染色工場汚泥は約 3 mg-SS、河川底泥は約 30 mg-SS である。当初、河川底泥は染色工場汚泥のような脱色能力を想定していなかったため、それまで脱色を確認していた染色工場汚泥の植菌量より約 10 倍量で行った。

酢酸とグルコースの添加の検討は、培地中にそれぞれの濃度が 0, 10, 100, 500 mg-C/L になるようにし、pH 7、38℃の条件で行った。DO の調整は行っていないが初期 DO は 1-2 mg/L 程度であった。

2.5 染色工場廃水の脱色の経過と COD の経日変化

染色廃水 300 mL を三角フラスコに入れ、約 300 mg-SS の染色工場汚泥を投入し、38℃のインキュベーターで静置培養した。経日的に溶解性 COD_{Cr} を測定するとともに、目視で廃水の着色度を観察した。

同様の実験をビーカーや三角フラスコ、密閉可能なバイアルなどで、様々な MLSS 濃度 (10, 50, 200, 400, 500, 1000, 1500, 2000 mg/L) を静置培養で試験し、溶解性 COD_{Cr} の測定と着色度の観察を行った。振とうやスターラーによる攪拌も試みた。スターラーによる攪拌は容器底部に汚泥が沈殿しないようにし、汚泥が沈殿することで沈殿汚泥内部に無酸素領域が形成されやすくなり、静置条件との条件の区別が不明確になってしまうことを避けるために行った。エアレーションは小型エアポンプ（吐出流量 1.5 L/min）に接続した散気球を容器内に投入し、DO が枯渇しないようにするために行った。振とうは約 100 rpm の水平振とうである。

2.6 脱色の評価

脱色の評価は目視観察により行った。無色の状態を脱色とした。脱色の判定は撮影装置内（幅・高さ・奥行き＝30 cm×40 cm×30 cm）で行い、分析者 3 名で差異が生じないことを確認した上で行った。撮影装置は外側からの蛍光灯照明が装置内では一様に分散するようになっている。天井の照明や日光の影響はほとんどない。観察時は着色水（染色廃水、染料着色水）を濃度 100%（原液）から 10%まで段階的に希

釈したものを脱色実験と同じ容器に入れたものを用意した比較もあわせて行った。コンゴーレッドとアリザリンレッドの脱色に関しては、脱色時のピーク波長の吸光度の値は実験開始時の 10%以下であることを確認している。

実験方法 2.2、2.3、2.4 の脱色速度の評価は脱色までに要した時間の違いで次のように区別した。++；培養 1 日で脱色、+；培養 3～7 日で脱色、(+)；培養 8～14 日で脱色。

実験方法 2.5 の染色廃水の脱色速度の評価は、数値化することを目的として、培養開始から脱色（無色透明）までに要した日数と汚泥濃度の積の逆数（単位 1/(g-MLSS・day)）として表現した。

染色廃水の脱色速度の評価に色度や吸光度を用いない理由は、染色廃水は黒紫色で色度が適用できないこと、染色廃水には様々な染料が含まれておりピーク波長が明確でないため、特定波長の吸光度を追跡することによる評価は、目視で観察される着色の程度と一致しないことが多いためである^{4), 8), 11)}。

3. 結果と考察

3.1 染色工場汚泥による脱色

赤紫色に着色した実際の染色工場廃水（廃水処理前）に採取した染色工場汚泥を試験的に 10v/v%入れて室温で静置したところ、1 日経過後には着色水は無色透明に変化し、脱色していた（図-1）。染色工場汚泥を DAPI 染色（核酸染色）して蛍光顕微鏡観察すると汚泥は生物膜のような微生物集塊であることが判明した。しかしながら微生物の存在のみでは脱色が微生物作用によるものか着色物質の吸着によるものかあるいはその両方によるものかは不明確である。そこで染色工場汚泥による吸着作用を検討するために、微生物作用が機能しない試料として、染色工場汚泥をオートクレーブ処理したもの、熱処理したもの

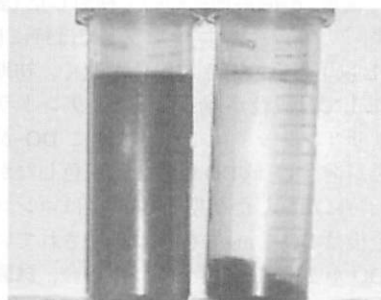


図-1. 染色工場汚泥による染色工場廃水の脱色。
左が未処理の染色工場廃水、右は廃水に染色工場汚泥を添加して 1 日経過後、着色が大きく低減。

のを用意し、染色工場廃水に添加した。オートクレープ処理では細胞形態も崩壊するが、80℃の熱処理では細胞形態は比較的維持されるため、細胞自体による吸着を観察することが可能である。その結果、これらの処理を施した試料では脱色が認められなかった(表-1)。しかし、これらの処理を施さない染色工場汚泥は、搅拌培養を行った場合を除き、脱色した。搅拌では廃水の色は薄くなるが脱色には至らなかった。脱色が認められた試験管の気相部のガス分析を行ったところメタンが検出され、嫌気的な生物活性が確認された。一方、脱色が認められなかった系ではメタンは検出されなかった。よって染色工場汚泥中の微生物活動により脱色が進行したと考えられた。なお、脱色した条件のORPは-50 mV程度であり、また、脱色した廃水が時間の経過や空気を送り込むことにより色戻りするようなことはなかった。

続いて、染色工場汚泥の微生物による脱色作用は、染色工場汚泥特有のものなのか検討するために対照として活性汚泥(搅拌と静置)、嫌気性グラニュール(静置と振とう)、大腸菌 K12 株(静置と振とう)を用いて同様の脱色実験を行った。その結果、染色工場汚泥以外はいずれも脱色作用が認められなかった(表-1)。嫌気性グラニュールでは着色水は元の紫色から薄黄色に変化した、無色ではないため脱色とはみなさなかった(COD 除去率は約 20%)。活性汚泥と大腸菌ではこのような色の変化はなかった。このことから、生きた細菌自体による着色物質の吸着作用もほとんどないことが明らかとなり、脱色現象は染色工場汚泥に存在する特殊な微生物群による生物学的作用によるものであると考えられた。

3.2 染色工場汚泥微生物による染料の脱色

アゾ染料のコンゴレッドとアントラキノン染料のアリザリンレッドを、染色工場汚泥の微生物により脱色可能か事前に調査したところ、培養条件を調整することにより脱色できることが示唆されたため、脱色する条件、脱色を促進する条件を、pH、溶存酸素(DO)、温度、酢酸添加について検討した(表-2)。その結果、アゾ系のコンゴレッドでは特に初期 DO が 1 mg/L 以下と低いときに脱色が速く、初期 DO が 5mg/L 以上では脱色が遅くなった。アントラキノン系のアリザリンレッドはこれとは逆に DO が高い条件で脱色が進行し、低 DO 条件では脱色しなかった。実験開始時に調整した初期 DO 濃度はコンゴレッドの脱色後は DO 1 mg/L 程度に維持されていた。実験後の DO が 2 mg/L を超えていた場合、試験管は脱色していないことが多かった。アリザリンレッドの脱色後では DO 5 mg/L は 4~3.5 mg/L 程度へ変化していることが多かった。pH はアゾ系のコンゴレッド

表-1. 染色工場汚泥の生細胞および死滅菌体による脱色の検討と各種微生物(群)による脱色。

汚泥あるいは微生物の種類	脱色
染色工場汚泥	+ (95/103)
染色工場汚泥 オートクレープ	- (0/11)
染色工場汚泥 80℃30分	- (0/6)
活性汚泥(下水処理場)	- (0/5)
嫌気性グラニュール(食品系廃水処理)	- (0/3)
大腸菌 K12株	- (0/5)

+: 脱色、-: 脱色せず、a: 色は薄くなったが脱色せず。括弧内の数字は試験本数あたりの脱色本数の分数。染色工場汚泥のうち搅拌培養では脱色せず。

表-2. アゾ染料コンゴレッドとアントラキノン染料アリザリンレッドに対して適用した脱色条件の試験結果

	アゾ染料 コンゴレッド	アントラキノン染料 アリザリンレッド
pH (38℃)		
pH 5	+ ^a	+
pH 6	+ ^a	+
pH 7	+	- ^b
pH 8	(+)	- ^b
DO (pH 6-7, 38℃)		
DO > 5 mg/L	(+)	+
DO < 1 mg/L	+	-
Temp. (pH 7)		
50℃	+	+
38℃	+	+
30℃	+	+ ^a
15℃	(+)	(+)
+ Acetate (pH 6, 38℃)		
100 mg-C/L	++	-

++: 培養 1 日で脱色、+: 培養 3-7 日で脱色、(+): 培養 8-14 日で脱色、a: +より速い脱色、b: 色は薄くなったが完全に脱色せず。pH と温度試験時の初期 DO 条件は、コンゴレッドは DO 1 mg/L 以下、アリザリンレッドは DO 5 mg/L 以上。

もアントラキノン系のアリザリンレッドもおよそ中性域であるが、pH 8 では脱色が遅くなった。また、興味深いことに、酢酸を添加するとアゾ系のコンゴレッドでは脱色速度が速くなり、一方のアントラキノン系では脱色が全く起こらなかった。これらの結果から、染色工場汚泥の微生物を用いた場合、染料の化学構造の違いにより①脱色が進行する条件が異なること、②脱色に関わる微生物種が異なること、③脱色機構が異なること(微生物代謝における染料の役割が電子供与体に限らず、電子受容体である可

能性など¹²⁾が推測された。①に関してはアゾ染料の脱色はアゾ結合の開裂が嫌気的条件下で進行しやすく、アゾ化合物の脱色活性が DO 濃度と逆比例の関係にあることなど報告が数多くあり^{6), 7), 13)}、今回のコンゴレッドの脱色条件結果は従来の報告と一致していると考えられる。但し、開裂後の染料の分解・無機化の条件はアゾ結合の開裂とは別であり、脱色現象が無機化を伴うかどうかは染色廃水処理の点において重要であり、考察すべき点である(3.4 参照)。

その後、アントラキノン系染料アリザリンレッドを脱色する脱色条件を基に染色工場汚泥から7株の微生物を分離し、そのうち5株に脱色能力を確認した(データは示していない)。また、5株は脱色速度に違いがあった。

3.3 染色工場汚泥微生物による染色工場廃水の脱色

染料を用いた脱色実験の結果、酢酸と溶存酸素濃度が脱色に与える影響は、アゾ系染料のコンゴレッドとアントラキノン系染料のアリザリンレッドでは全く異なっていた(酢酸はコンゴレッドの脱色には良いがアリザリンレッドの脱色には不適、溶存酸素はアリザリンレッドの脱色には良いがコンゴレッドの脱色には逆効果)。そこで実験方法 2.4 に示す方法により実際の染色工場廃水に対して有機物添加の効果、加えて温度条件を調査した。有機物には酢酸またはグルコースを用いた。その結果、酢酸の添加は染色工場廃水の脱色を促進することがわかった(表-3)。酢酸の濃度が高いほど脱色促進効果は高かった(pH は 7~8 の範囲内であった)。酢酸の添加が脱色を促進するという現象は、アゾ系のコンゴレッドの脱色実験で見られた現象と同じであり、アントラキノン系のアリザリンレッドでは見られなかった現象である(表-2)。このことから、用いた実染色工場廃水に認められる着色は主にアゾ系染料に起因しているのではないかと考えられた。酢酸添加により脱色が促進する理由は明らかではないが、共代謝か、あるいは染料が電子受容体となり¹²⁾酢酸が電子供与体として機能したことが考えられる。

グルコースの添加は酢酸の添加効果とは逆に脱色を抑制する方向に働いた。グルコースの濃度が 0、10、100 mg/L と高いほど脱色の進行速度は遅くなったのである(表-3)。いずれの条件も pH は 7~8 の範囲内であった。添加したグルコースは消費されていることが別の実験で確認されたため、グルコース添加が脱色を抑制する理由は、脱色に関与する微生物が着色物質よりグルコースを優先的に利用したためではないか、グルコースという利用しやすい基質が存在したことでグルコースが消費されるまで着色物質の利用が進まなかったのであろうと考えられた。

表-3. 実際の染色工場廃水に対して適用した脱色条件の試験結果

	染色工場汚泥	放流河川底泥
Temp. (pH 7)		
60℃	—	—
46℃	+	+ ^e
38℃	+	+
25℃	(+)	(+)
15℃	—	— ^c
4℃	—	—
+ Acetate (pH 7, 38℃)		
0 mg-C/L	+	
10 mg-C/L	++	
100 mg-C/L	++	
500 mg-C/L	++ ^d	
+ Glucose (pH 7, 38℃)		
0 mg-C/L	+	
10 mg-C/L	+ ^e	
100 mg-C/L	+ ^e	

++: 培養 1 日で脱色、+: 培養 3~7 日で脱色、(+): 培養 8~14 日で脱色、c: 培養 30 日で脱色、d: ++より速い脱色、e: +より遅い脱色。

温度については、染色工場廃水の脱色に適した温度を探すことと、処理後の排水が河川放流後に河川底泥で脱色作用を受ける可能性があるかどうか、染色工場汚泥と河川底泥とでは脱色能力に違いがあるのかに着目して行った。染色工場汚泥も河川底泥も 38℃と 46℃で実廃水をよく脱色した。河川底泥は 46℃よりは 38℃の方が脱色速度が速かった。25℃では脱色速度が遅くなった。15℃では染色工場汚泥では脱色が進行しなくなったが、河川底泥では遅いながらも脱色が進行した。いずれの汚泥も 4℃と 60℃では脱色は全く認められなかった。4℃と 60℃では脱色せず、その間の 40℃前後でよく脱色が進行したということはいずれの汚泥の脱色も中温性の微生物作用によることを支持する結果である。このように染色工場汚泥のみならず放流先の河川底泥にも染色廃水中の着色を脱色できる効果があることがわかった。また、このことは、染色工場排水に含まれる着色物質は放流後の河川底泥中で分解されている可能性を伺わせる結果であり、一方で着色物質が河川放流口から約 2 km 下流まで到達していることを示唆するものである。また、脱色微生物の由来を考察すると、①河川底泥に土着のものに脱色作用がある可能性と、②染色工場からの脱色微生物が河川流出して下流の底泥に定着していたこと、③は①と②の両方、が考えられる。このことは染色工場汚泥と河川底泥を群集解析して比較することで明らかにできると考えられる。上記①と②では微生物の至適温度は同じ中温

性でも多少違う可能性があるため、河川底泥が上記③の状態であれば、表-3で河川底泥が脱色活性を示す温度範囲が広いのはこのことが理由かもしれない。

3.4 染色工場汚泥微生物による染色工場廃水の脱色とCOD分解

染色工場廃水の脱色が有機物分解を伴うのかどうか検討するため、静置条件で脱色過程において経日的に廃水中のCODを測定した。培養期間中の液中のDOは1-2 mg/L、pHは7-7.5の範囲であった。静置条件であるため、容器底部の汚泥集塊内部にはDOが一層低い環境が形成されていたと考えられる。このような状況下で、培養開始と同時に着色度の低下が認められ、7日目で完全な脱色が認められた(図-2)。その間CODも減少した。完全に脱色した7日目以降はCODの減少は緩やかであった。廃水中に着色物質がどの程度存在するのか明らかではないため、減少したCOD量は必ずしも着色原因物質由来のCOD量とは一致しないと考えられる。仮に減少したCOD量に占める着色原因物質の割合が高い場合は、着色原因物質がアゾ系染料のとき、アゾ結合の開裂のみならず、開裂後の分解にまで至っている可能性が高いことになる。一方、減少したCOD量に占める着色原因物質の割合が低い場合は、着色原因物質はアゾ結合の開裂のみでCODの減少とは無関係である可能性もある。そこで、実験回数を増やすことで脱色とCOD減少との関連性を明らかにしようとした。実験方法2.5に示す方法により染色工場汚泥のMLSS濃度を10 mg/Lから2000 mg/Lの範囲内で様々に変化させて脱色実験を行い、各実験で脱色速度とCOD分解速度を求めた。得られた脱色速度とCOD分解速度の関係をグラフ化すると、大変興味深いことにCOD分解速度は脱色速度のべき乗関数で近似したときに最も近似式の重相関係数が高いことがわかった(近似式 $y = 34x^{0.72}$, $R^2 = 0.92$; y: COD分解速度, x: 脱色速度、たとえば線形近似の場合は $R^2 = 0.79$) (図-3)。一般的には反応速度は濃度のべき乗関数で表されるものであるが、COD分解反応速度が脱色反応速度のべき乗関数で表された。このことの意味について考えると、脱色反応速度がCOD濃度と比例関係にあるのではないかと、脱色反応自体は開裂反応であり無機化を伴わず、脱色反応速度が速いということは開裂反応に関与するCOD濃度が高いことを意味しているのではないかと考えられた。従って、COD分解反応速度とべき乗関数で表されるのは、脱色速度というより、より直接的には脱色反応に関与したCOD濃度であろう。そうであるならば、脱色に関与したCOD濃度とCOD分解反応速度が高い相関係数をもつべき乗関数で表されることになり、COD分解反応は脱

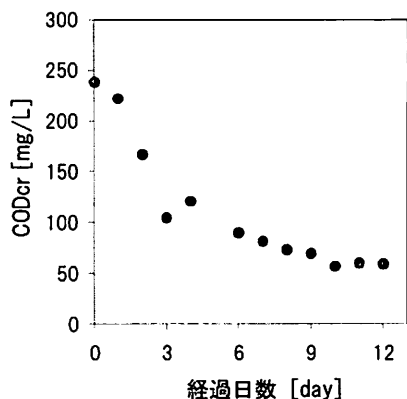


図-2. 染色工場汚泥による染色廃水のCOD分解

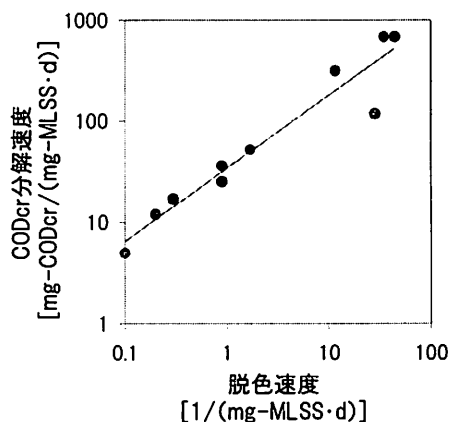


図-3. 染色工場汚泥による染色工場廃水の脱色速度とCOD分解速度の関係。図中の線は近似線 ($y = 34x^{0.72}$, $R^2 = 0.92$)

色反応(直接的には脱色反応を受けたCOD濃度)と関連性が高いことになる。脱色反応そのものが同一の微生物により無機化まで進行しているか否かは明らかではないが、そのこと如何に関わらず、COD分解反応は脱色反応が引き金になっている可能性は高いといえる。言い換えれば脱色反応はCOD分解に貢献しているといえる。

そこで染色工場汚泥中に存在する脱色に関わる微生物の菌体密度を推定した。染色工場廃水中の染色工場汚泥の濃度は 10^6 mg-MLSS/Lまで希釈しても脱色が認められたが、 10^7 mg-MLSS/Lでは脱色しなかった(図表は示していない)。元の汚泥(約10 g-MLSS/L)には植菌量0.1 mLあたりおよそ 10^{10} 個(10^{11} 個/mL)もの脱色関連微生物が存在していたと推定される。筆者らの過去の研究で下水生物膜の全菌体の密度が 10^{11} 個/mLであったこと¹⁴⁾を考慮する

と、COD 分解に対する脱色反応の寄与は相当高いことを支持する結果である。

MLSS 濃度と脱色速度、MLSS 濃度と COD 分解速度の関係をグラフ化すると、どちらの速度も MLSS 濃度が低いほど高くなる傾向が認められた (図-4)。脱色実験は静置条件で行っており、染色工場汚泥は試験ガラス容器内に沈殿している状態であることから、脱色および COD 分解には廃水と接触する汚泥の面積 (廃水と汚泥微生物との接触面積。厳密には接触面から約 1 mm 程度の深さまでの薄い層。) が重要であろうと考えられた。たとえば液中 DO 1 mg/L 程度下の微好気性の生物膜内での DO の侵入深さは表面から 0.2 mm 程度という結果が得られており¹⁵⁾、今回アゾ系染料の脱色に効果的であった DO 1 mg/L の環境は、沈殿した汚泥の非常に浅い領域に容易に形成される得ることが伺える。また、廃水と接触するおそらく深さ 1 mm 程度以内の汚泥中の微生物が極めて活発で重要であり、廃水と接触していないそれより深いところの汚泥部分はあまり反応に関与しない反応律速状態にあると考えられた。たとえば、廃水量が同じ場合に汚泥量だけを増やしても廃水と接触する面積が同じで接触しない汚泥量が増えただけであれば、単位 MLSS あたりの脱色速度と COD 分解速度は汚泥量が増えた分、逆に減少することになる。従って、脱色速度および COD 分解速度を向上させるためには、廃水と汚泥との接触面積をできるだけ広く確保することが重要といえる。攪拌や振とうにより汚泥を浮遊させた状態では脱色も COD 分解も極めて遅かった。廃水の脱色促進に酢酸が効果的であった結果 (表-3) をふまえると、静置培養条件では汚泥内部から産生したと思われる酢酸等の有機酸が脱色を促進するが、攪拌や振とう時には酢酸等の有機酸が生成されないため、脱色が遅かったのではないかと考えられる。処理装置への応用としては生物膜処理の有効性を示唆するものである。

4. 結論

本研究では、着色した染色工場廃水およびアゾ染料のコンゴーレッドとアントラキノン染料のアリザリンレッドを生物学的に脱色させることに成功した。また、この脱色現象は吸着ではなく生物学的作用によるものであることを明らかにした。脱色を促進する条件は 2 種類の染料で特に溶存酸素濃度と酢酸添加の影響において大きく異なった。染色工場廃水の脱色条件はアゾ染料の脱色条件に類似したことから、廃水中の着色原因物質はアゾ染料が主である可能性が示唆された。染色工場廃水の有機物分解速度と脱

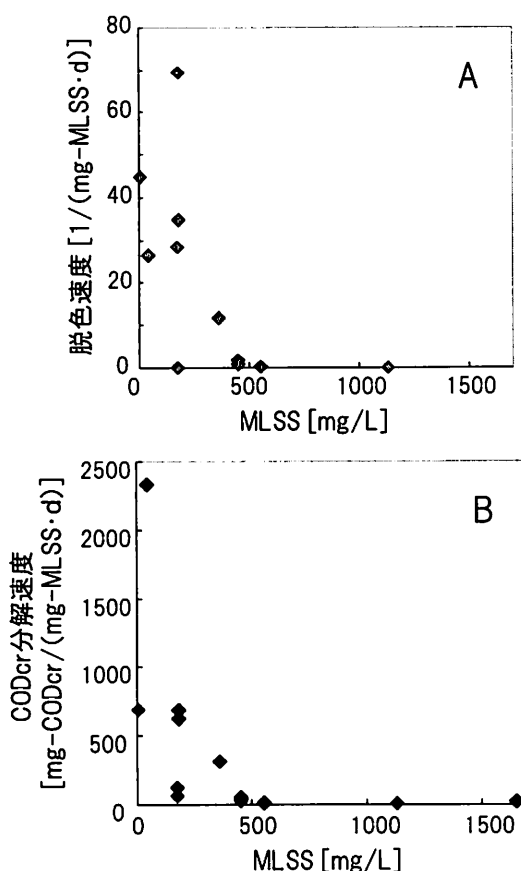


図-4. 培養時の MLSS 濃度が異なるときの染色工場汚泥による染色工場廃水の脱色速度 (A) と COD 分解速度 (B)

色速度の相関関係より、染色工場廃水の脱色は有機物分解と同時に進行し、有機物分解に対する脱色反応の寄与が大きいことが推察された。脱色の促進には、静置により廃水と汚泥の接触面積を大きくすることが重要であった。本研究の結果は難生物分解性の着色物質を含む廃水の処理条件およびシステム設計において有用な情報になると思われる。

謝辞: 本研究の遂行にあたり群馬工業高等専門学校の青井透教授、日本繊維染色連合会足利整染組合の若生寛志氏よりご助言を頂きました。植原啓介君には実験に協力頂きました。ここに謝意を表します。

参考文献

- 1) Stolz, A.: Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. *Appl Microbiol Biotechnol*, Vol.56, pp.69-80, 2001.
- 2) Chung, K. T.: The significance of azo-reduction in the mutagenesis and carcinogenesis of azo dyes. *Mutat Res*,

Vol.114, pp.269-281, 1983.

- 3) Moller, P. and Wallin, H.: Genotoxic hazards of azo pigments and other colorants related to 1-phenylazo-2-hydroxynaphthalene. *Mutat Res*, Vol.462, pp.13-30, 2000.
- 4) 植原啓介, 渡邊智秀, 伊藤司 : 染色廃水の色の評価方法の検討と簡易脱色技術の開発. 第 45 回環境工学研究フォーラム講演集 Vol.45, pp.44-46, 2008.
- 5) 武関公世, 伊藤司 : 難分解性着色廃水の生物脱色技術の開発. 第 46 回環境工学研究フォーラム講演集 Vol.46, pp.31-33, 2009.
- 6) Srinivasan A. and Viraraghavan T.: Decolorization of dye wastewaters by biosorbents: A review. *J Environ Manage*, Vol.91, pp.1915-1929, 2010.
- 7) Plumb J. J., BELL J. and STUCKEY D. C.: Microbial populations associated with treatment of an industrial dye effluent in an anaerobic baffled reactor. *Appl Environ Microbiol*, Vol.67, pp.3226-3235, 2001.
- 8) 中村一彦, 大橋晶良, 井町寛之, 原田秀樹 : UASB と DHS リアクターによる嫌気・好気処理システムの染色実廃水への適用. 水環境学会誌 Vol.29, pp.613-620, 2006.
- 9) 東国茂 : 染料含有排水の水環境への影響. 水環境学会誌 Vol.20, pp.210-214, 1997.
- 10) 国土交通省関東地方整備局渡良瀬川河川事務所 清流ルネッサンスⅡ 渡良瀬川中流部支川地域協議会 : 利根川水系渡良瀬川中流部支川水環境改善緊急行動計画. <http://www.ktr.mlit.go.jp/watarase/index.htm>, 2009.
- 11) 弘瀬智隆, 伊藤司 : 着色廃水の色の評価方法の検討. 第 46 回環境工学研究フォーラム講演集 Vol.46, pp.138-140, 2009.
- 12) Hong Y., Xu M., Guo J., Xu Z., Chen X. and Sun G.: Respiration and growth of *Shewanella decolorationis* S12 with an azo compound as the sole electron acceptor. *Appl Environ Microbiol*, Vol.73, pp.64-72, 2007.
- 13) van der Zee, F. P. and Villaverde S.: Combined anaerobic-aerobic treatment of azo dyes—A short review of bioreactor. *Water Research*, Vol.39, pp.1425-1440, 2005.
- 14) Ito T., Nielsen J. L., Okabe S., Watanabe Y. and Nielsen P. H.: Phylogenetic identification and substrate uptake patterns of sulfate-reducing bacteria inhabiting an oxic-anoxic sewer biofilm by combining microautoradiography and fluorescent in situ hybridization. *Appl Environ Microbiol*, Vol.68, pp.356-364, 2002.
- 15) Ito T., Okabe S., Satoh H. and Watanabe Y.: Successional development of sulfate-reducing bacterial populations and their activities in a wastewater biofilm growing under microaerophilic conditions. *Appl Environ Microbiol*, Vol.68, pp.1392-1402, 2002.

(2011.5.30受付)

Environmental Factors for Enhancing Biological Decolorization of Recalcitrant Textile Wastewater and Dyes

Tsukasa ITO¹, Kosei BUSEKI¹ and Masahiro YUMOTO¹

¹Dept. of Civil & Environmental Engineering, Gunma University

A numerous kinds of synthetic organic colorants are currently used for the dyeing of various materials such as textiles, food, cosmetics, and printing. Such colorants are also released into the water environment from industries and daily use. Most colorants are hardly biodegradable in the environment, and therefore cause environmental pollutions. The goal of this study is to develop more cost effective technologies to decolorize and degrade the colorants in the environments and industrial wastewater with microorganisms. In this study, we successfully decolorized colored textile wastewater, azo dye and anthraquinone dye. The environmental factors affecting the decolorization were dissolved oxygen concentration and acetate supplementation. However, these effects were completely different in the two dyes. The environmental conditions effective for decolorizing textile wastewater were similar to those for the azo dye, suggesting that causative agent of color of the textile wastewater was azo dye. Since the degradation rate of organic matter in the wastewater was correlated with the decolorization rate, it was expected that the decolorization of wastewater and the degradation of organic matters proceeded simultaneously. The results suggested a large contribution of decolorization reaction to the organic matter degradation.