

内21-12

早稲田大学大学院理工学研究科

# 博 士 論 文 概 要

## 論 文 題 目

The Electrokinetic Characterization of Bacterial Cells  
and its Application to the Biological Wastewater  
Treatment Process

〔細菌細胞の界面動電的キャラクタリゼーションと〕  
生物学的排水処理プロセスへの応用

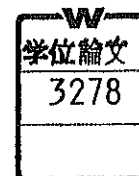
申 請 者

林 浩 志

Hiroshi Hayashi

応用化学 化学工学

2001 年 10 月



理 2648 ( 3278 )

微生物の代謝機能を利用した生物学的水処理技術は今日行われている中心的な排水処理プロセスである。しかしながら、細菌等の微生物細胞は文字通り小さいために操作上において種々の問題が生じる。例えば、生物処理後には菌体の固液分離が必要であるが、安定に分散した懸濁液からの細菌の回収は非常に困難である。また、高効率な生物処理には特定の細菌群を高密度に保持するために高次集合体形成が必要不可欠であるが、生物膜法に代表される従来の微生物固定化技術は経験的な手法に大きく依存しているため、細菌細胞の固体表面への付着を物理的に制御する手法、生物膜形成の促進化および担体素材の開発が重要となる。

本論文では細菌細胞サイズが小さいことに起因する上述の生物学的水処理プロセスの問題点を物理化学的に解決することを目的とする。水中の細菌を“バイオコロイド”と捉えると、細菌が担体表面へ付着する過程における相互作用を個々の細胞レベルで制御するためには、微粒子の凝集・分散技術を導入することが有効である。まず、基礎的検討として、液中の細菌の界面電気特性および細菌の固体表面への付着現象の関連性について実験的に明らかにし、細菌が固体表面に接近する過程における相互作用エネルギーの定量的解析を行った。次に、繊維化スラグを担体とした細菌懸濁液からの細菌付着回収実験を行い、化学組成や表面電位が繊維の細菌回収量に及ぼす影響について検討するとともに、担体表面処理による細菌の回収量向上について調べた。さらに、これらの検討結果をもとに生物学的水処理プロセスへの応用に2例取り組み、繊維担体を利用した迅速かつ簡便な特定細菌の付着固定化手法および高効率バイオリアクターの新規開発を行い、リアクターの基本的な処理特性と有効性を明らかにした。

本論文は7章より構成されている。以下に各章の概要について述べる。

第1章では、細菌の界面特性および付着現象の物理化学に関する現在までの研究、そしてこれらと生物処理プロセスに関連する既往研究を整理し、本研究の目的と意義を明らかにした。

第2章では、5種の細菌株の界面電気的特性を電気泳動移動度測定により明らかにし、その結果を新しい電気泳動の理論である“柔らかい粒子”理論により解析した。代表的な硝化細菌*Nitrosomonas europaea*, *Nitrobacter winogradskyi*, そして従属栄養細菌*Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa* についてpHを変化させた条件における電気泳動移動度測定を行った結果、中性から弱アルカリでは負の移動度を持ちこれらの菌株が負荷電を有すること、またpH 5以下になると移動度の絶対値は低下し、表面解離基の荷電状態が顕著に反映されることが示された。しかし、*P. aeruginosa*はpHの変化にかかわらずほぼゼロの移動度を示すことから、電気的中性を呈する非常に特異な菌株であることが明らかとなった。また、イオン濃度を変化させた実験から、高イオン濃度域においてゼロでない有限の電気泳動移動度の値に収束することが示され、“柔らかい粒子”の特徴を反映しているこ

とがわかった。さらに、同理論により得られる新しい表面電位と従来の解析により得られるゼータ電位を比較した結果、新しい表面電位の方が低く見積もられることが導かれた。これより細菌細胞の電気泳動解析に柔らかい粒子の電気泳動理論を適用することの妥当性を示し、細菌細胞の表面電位の算出法を提示した。

第3章では、細菌細胞が固体表面へ接近する過程における相互作用エネルギーを明らかにするため、先の5種の細菌についてガラスビーズをモデル担体とする細菌付着試験を行った。従来の微粒子凝集・分散に関するDLVO理論を細菌付着現象に適用した場合には相互作用エネルギーが過大評価されるケースが多く、細菌特有の複雑な因子の存在が指摘されていたが、第2章で検討した新しい表面電位に基づいて相互作用エネルギーを算出した結果、理論的予測と実測値に良好な関係が見出された。これにより第2章で議論した界面電気特性解析が細菌付着現象における詳細なメカニズム解明に必要なことが初めて明らかにされるとともに、細菌付着理論に関する新しい解釈を提起した。

第4章では、細菌が微粒子として本質的に持つ付着能力を積極的に活かし、細菌の自発的な付着を促して担体表面へ付着回収を試みた。本研究では付着担体としてFe-Ni電気精錬から産出する副産物であるスラグ繊維(FS)に注目し、この産業廃棄物が優れた微生物担体として機能することを明らかにした。FSを充填したカラム方式にて、5種のグラム陰性細菌、*Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Alcaligenes faecalis*および*Alcaligenes sp.*の懸濁液からの細菌付着回収試験を行い、溶液の化学組成がFSの細菌回収特性に及ぼす影響と界面電気特性との関連を調べた。pH 4におけるFSによる*E. coli*回収量はpH 7のときと比較して80倍ほど増大すること、また溶液のイオン濃度が増加したときも*E. coli*回収量は増大することが明らかとなり、溶液組成が*E. coli*とFSの付着性に大きく影響することが示された。*E. coli*とFSの界面電気的特性に基づくと、両者に作用する静電気的反発力が低下する条件において*E. coli*のFSに対する付着性が良好になり*E. coli*の回収率が向上したと考えられる。さらに、*E. coli*表面が負荷電を有することを考慮して、FS表面を水酸化アルミニウム沈殿で処理し正荷電を持たせた結果、*E. coli*の回収量を大幅に向上させることに成功した。他の細菌についてもFSによる細菌回収量と界面電気特性に対応関係が見られ、細菌とFSの界面間における相互作用が付着量に直接影響を及ぼすことが示された。

第5章では、これまでの検討を踏まえ、FSを付着担体として用いた微生物固定化法を提案するとともに、新規バイオリアクター開発を行った。付着固定化の困難な硝化細菌に注目し、FSの繊維構造を積極的に活かした新規微生物固定化手法を考案した。すなわち、繊維はそれ自身3次元的な広がりを持っているため、繊維に付着した硝化細菌は全体として空間的に存在し得ることから、生物膜と同様に大量の菌体を保持できる。さらに、繊維構造体内の空隙率は90%以上と非常に高いため、充填層内に液の流動を起こして基質、特に溶存酸素(DO)の輸送を対流で行って全菌体

を高活性に維持することが可能になる。硝化細菌固定化したFSを充填層とする固定床型リアクターを立ち上げ、無機性アンモニア含有廃水を用いた硝化処理試験を行った。回分式実験において、FS充填層内に液循環を行ったところ液循環量増加に伴って硝化速度も増大することが示された。このとき、FS層出口のDO濃度も増加することが確認されたことから、硝化細菌が付着固定化された空間内においてDO枯渇による不活性化が液循環量を制御することで解消されることを示した。また、FS充填層内における反応の数学的モデルを構築し生物処理特性のシミュレーションを行った結果、先の実験結果と対応する結果が得られた。さらに、連続流入試験を行ったところ、アンモニア除去速度として $6.5 \text{ kg-N/m}^3/\text{d}$ を示し、既存の固定床型硝化リアクターを3倍以上超える処理速度を得た。繊維構造体の特徴を活かした新規微生物固定化法をThree Dimensional Immobilization with Fibrous Network (3-D IFN)と名づけ、迅速・簡便・高活性を実現する理想的な固定化法として提案した。

第6章では、低濃度重金属含有廃水を効率的に処理する手法として硫酸還元細菌(SRB)を固定化し重金属イオンを硫化物沈澱として完全回収する処理プロセスを開発した。上向流式FS充填リアクターの下部にSRBを付着固定化しておくと、SRBの代謝作用により水中の $\text{SO}_4^{2-}$ は $\text{S}^{2-}$ に還元され、速やかに重金属イオン $\text{M}^+$ と難溶性硫化物MSを生成する。生成したMSはカラム上部のFSにより捕捉分離され、リアクター内部に金属硫化物が次第に濃縮される。換言すると、本装置はバイオミネラリゼーションを効率よく行わせる反応場であり、人工的に廃水から高品位な金属鉱床を生成させている新しい重金属処理システムである。低濃度カドミウム含有廃水( $8 \text{ mg/L}$ )の連続流入試験を行った結果、ほぼ100%のCdを除去できることが示された。また、良好な処理が進行するときは槽内の酸化還元電位(ORP)が $-340 \text{ mV}$ 以下であり、処理が悪化した場合にはそれと連動してORPも高くなることが明らかとなり、酸化還元状態が処理安定性の指標となることを示した。約30日後、FS充填層内のCd蓄積量は単位FS重量当たり $8.4 \text{ g/kg-FS}$ に達し、天然硫化鉱床のCd品位を上回る回収量を得るに至った。FSに付着回収されたCdSはFSごと金属精錬の炉に返送することで、Cdメタルは回収、スラグは再生利用できるという廃棄物を排出しない理想的なゼロエミッション型廃水処理が可能となり、真の環境調和型重金属廃水処理システムの実現が期待できる。

第7章では、本論文の結論と総括を行い、コロイド科学の工学的応用を志向した次世代の水処理技術についての展望についてまとめた。

以上、本論文では細菌表面特性および細菌付着現象の解析、未利用資源の担体利用、細菌付着固定化および生物学的排水処理プロセスへの応用という一連の検討から、コロイド界面科学的なアプローチによる新規排水処理プロセス開発の基礎検討を行った。界面科学を基盤とするこれら独創的な研究結果は次世代型環境技術に相応しい内容であり、今後の環境技術開発に大きく寄与する研究である。