

# コークス炉廃水処理への分子生物学的手法の適用

## Application of Molecular Biological Techniques for the Operation of Coke-Oven Wastewater Treatment Plant.



赤司 昭\*  
Akira Akashi  
医学博士



山下哲夫\*\*  
Tetsuo Yamashita

コークス炉廃水は、アンモニアの他に、フェノールやシアン化合物等の活性汚泥に毒性の高い成分を含む。したがって、その処理のための活性汚泥プロセスの運転管理がもっとも困難な廃水の一つである。活性汚泥プロセスの運転管理は、一般にCOD-MLSS負荷を指標に行われている。われわれは、生物診断手法を活用して、コークス炉廃水処理設備に生息する細菌数を求め、「1細菌あたりのCOD負荷」という新しい管理手法を確立した。本管理手法を活用することにより、従来より精度よく運転管理を行うことが可能になった。

Coke-oven wastewater contains ingredients with high toxicity for activated sludge other than ammonia, such as phenol and cyanide. Therefore, the operation management of an activated sludge process is difficult. Generally, COD-MLSS load is used as an operation management index for the activated sludge process. We quantified the number of bacteria in a coke-oven wastewater treatment plant using the molecular biological technique. And the new management technique of the "COD load per bacteria" was established. By utilizing this management technique, it became possible to perform operation management with accuracy more sufficient than before.

### Key Words :

コークス炉廃水  
活性汚泥プロセス  
分子生物学的手法  
PCR

Coke-Oven wastewater  
Activated sludge process  
Molecular biological techniques  
Polymerase Chain Reaction

### 【セールスポイント】

コークス炉廃水処理の運転管理に分子生物学的手法を適用した事例は、この開発が初めてである。日本鉄鋼協会コークス部会でもその試みが評価され、第64回コークス部会において優秀発表賞が授与された。

### まえがき

製鉄において鉄鉱石に含まれる酸化鉄を還元するために使用されるコークスは、石炭をコークス炉で乾留（蒸し焼き）して製造される。石炭乾留時に発生するガス（コークス炉ガス：COG）は、精製設備で不純物の除去を行い、有効成分の回収が行われ

る。COGの冷却工程で発生する凝縮水（安水やコークス炉廃水ともいわれる。以下、コークス炉廃水と称する。）には、アンモニアの他にフェノール、シアン化合物、硫化水素、油分などが含まれている。

コークス炉廃水は、物理化学処理と活性汚泥プロセスの組み合わせで処理されることが多いが、フェ

ノールやシアン化合物等の活性汚泥にとって有害な成分を含むため、水質浄化細菌の阻害が起りやすく、運転管理が難しい廃水といわれている。したがって、コークスメーカー各社はその運転管理に苦慮しているのが現状である。コークス廃水処理も他の廃水と同様に、COD (BOD)-MLSS 負荷を指標にした運転が行われているが、オペレータの五感に頼ることが多く、活性汚泥が好調なときと不調なときの差異が何に起因しているか不明のまま運転されることもあった。このような特殊な成分を含む廃水処理装置の運転は、機能の異なった多種の細菌から構成される活性汚泥をひと塊としてとらえ、それを指標にした管理 (COD-MLSS 負荷) では限界がある。アンモニア、フェノールやチオシアンなどの個々の物質の処理に関わる個々の細菌に着目し、これらの細菌を指標にした管理を行うことにより精度の高い管理が可能になり、安定した処理につながるものと期待される。

そこでわれわれは、関西熱化学株式会社殿と共同検討を実施することとした。関西熱化学株式会社殿のコークス炉廃水処理プロセス (活性汚泥法) の運転には以下の2つの課題があり、それらの解決策が求められている。

- (1) 従来から用いられてきた COD-MLSS 負荷による管理には限界があり、今以上の安定運転を行うことは困難である。したがって、新しい管理指標の設定が課題である。
- (2) 本処理プロセスには脱窒槽はなく窒素除去は行われていない。硝化反応が起こると高濃度の亜硝酸が生成し、処理水質の悪化や活性汚泥の不調を引き起こす。したがって、硝化抑制運転が容易に行える管理指標の設定が課題である。

そこでわれわれは、コークス炉廃水処理に係る管理者と協力しながら、分子生物学的手法という最新の技術を用いて、活性汚泥に生息する各種細菌の状況を明らかにし、それらのデータを用いた新しい運

転管理手法を構築した。本稿では、上記課題(1)を解決するために実施した関西熱化学株式会社殿との共同開発事例について紹介する。なお、(2)の課題についてもすでに解決策を見出しており、別の機会で紹介する予定である。

## 1. 方法

### 1.1 解析の対象とした活性汚泥プロセス

某コークス工場で稼働中の活性汚泥プロセスを対象に本研究開発を実施した。コークス炉廃水は、工水と海水で適宜希釈して曝気槽に投入されている。また、活性汚泥プロセス処理水は、ポリ塩化アルミニウム (PAC) 投入による凝集沈殿後、砂ろ過処理を行い放流されている (図1)。

### 1.2 水質等の測定

本活性汚泥プロセスの流入水質および処理水質 (COD, アンモニア態窒素, フェノールおよびチオシアン), ならびに曝気槽の MLSS 濃度は、下記1.3の活性汚泥中の各種細菌数の定量実験と同じ日に測定した。

### 1.3 活性汚泥中の各種細菌数の定量

活性汚泥は、おおむね毎週1回の頻度で6か月間にわたり採取し、表1に示す各種細菌の定量解析の材料とした。各種細菌数の定量は定量 PCR 法により実施した。

採取した活性汚泥0.7~0.8 mg (乾燥重量) から

表1 定量 PCR 法により細菌数を測定した細菌種とその機能

ターゲット	機能
全細菌 (真正細菌)	BOD/COD 分解, 硝化・脱窒等
アンモニア酸化細菌	アンモニアを亜硝酸に酸化
亜硝酸酸化細菌	亜硝酸を硝酸に酸化
フェノール分解細菌	フェノール分解
チオシアン分解細菌 ( <i>Thiobacillus thioporus</i> )	チオシアン分解

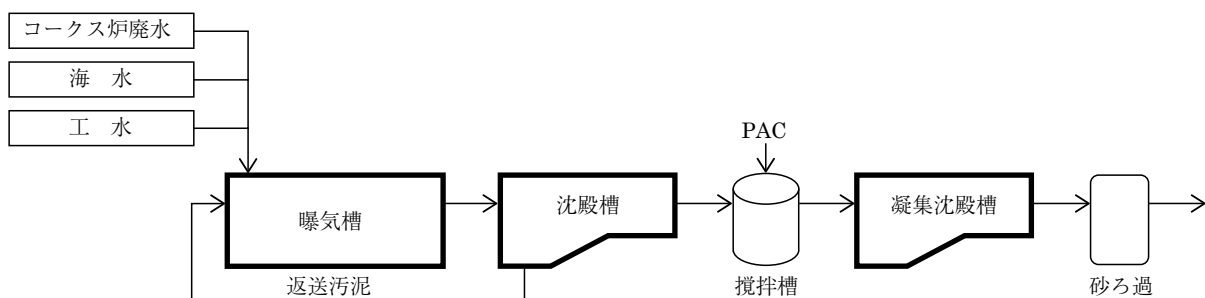


図1 コークス炉廃水処理プロセスの概略フロー

表2 定量 PCR に使用したプライマー／プローブ

標的細菌	ターゲット遺伝子	プライマー／プローブ	プライマー／プローブ配列 (5' → 3')	文献
アンモニア酸化細菌 (AOB)	AOB 16S rDNA	CTO 189fA/B	GGAGRAAAGCAGGGGATCG	1
		CTO 189fC	GGAGGAAAGTAGGGGATCG	
		RT1 r	CGTCCTCTCAGACCARCTACTG	
		TMP1	FAM-CAACTAGCTAATCAGRCATCRGCCGCTC-TAMRA	
亜硝酸酸化細菌 (NOB)	Nitrospira spp. 16S rDNA	NSR1113f	CCTGCTTTCAGTTGCTACCG	2
		NSR1264r	GTTTGCAGCGCTTTGTACCG	
		NSR1143Taq	FAM-AGCACTCTGAAAGGACTGCCAGG-TAMRA	
Nitrobacter spp. 16S rDNA	NIT3f	CGGAGCATGGAGCACAGG	3	
	NIT2r	CGGGTTAGCGCACCGCCT		
フェノール分解細菌	phenol monoxygenase	PHE-F	GTGCTGACSAAYCTGYTGTTCT	4
		PHE-R	CGCCAGAACCAYTTRTC	
チオシアン分解細菌	thiosyanate hydrolase	scnCTt1F	GGAAGTCAGCGATTTCGAGATT	自社設計
		scnCTt1R	TCCACACGCGGTGGTCTT	
		scnCTt1Taq	FAM-CGAACTGGCCATCGAAAAAGGCC-TAMRA	
全細菌 (真正細菌)	eubacterial 16S rDNA	BACT1369F	CGGTGAATACGTTTCYCGG	5
		PROK1492R	GGWTACCTTGTTACGACTT	
		BACT1389	FAM-CTTGTACACACCGCCCGTC-TAMRA	

Fast DNA SPIN Kit for SOIL (Qbiogene 社製) を用いて DNA を精製し、定量 PCR の鋳型とした。また、各種細菌の存在数量を測定するための定量 PCR は、表 2 に示す PCR プライマー／プローブセットを用いて実施した。

## 2. 結果と考察

### 2.1 活性汚泥プロセスの運転状況

#### 2.1.1 流入水質と負荷

表 3 に COD<sub>Mn</sub>、アンモニア、フェノール、チオシアンの曝気槽流入水質および流入負荷のそれぞれの平均値、最大値および最小値を示す。

##### (1) COD<sub>Mn</sub> 負荷

2 519～3 408 kg/d (平均値：2 944 kg/d) で推移し、最大値と最小値の差は1.4倍であった。COD-容積負荷は、1.69～2.29 kg/m<sup>3</sup>/d (平均値：1.98 kg/m<sup>3</sup>/d) であった。

##### (2) アンモニア負荷

1 699～2 170 kg/d (平均値：1 985 kg/d) で推移し、最大値と最小値の差は約1.3倍であった。NH<sub>4</sub>-N-容積負荷は、1.14～1.46 kg/m<sup>3</sup>/d (平均値：1.34 kg/m<sup>3</sup>/d) であった。

##### (3) フェノール負荷

795～1 146 kg/d (平均値：938 kg/d) で推移し、

表3 流入水と処理水の水量、水質および負荷

項目	単位	曝気槽流入水			
		平均	最大	最少	
水量	—	m <sup>3</sup> /d	2 224	2 374	2 186
溶解性 COD <sub>Mn</sub>	濃度	mg/L	1 324	1 559	1 061
	負荷	kg/d	2 944	3 408	2 519
	容積負荷	kg/m <sup>3</sup> /d	1.98	2.29	1.69
アンモニウム態窒素	濃度	mg/L	893	1 002	769
	負荷	kg/d	1 985	2 170	1 699
	容積負荷	kg/m <sup>3</sup> /d	1.34	1.46	1.14
フェノール	濃度	mg/L	422	550	335
	負荷	kg/d	938	1 146	795
	容積負荷	kg/m <sup>3</sup> /d	0.63	0.77	0.53
チオシアン	濃度	mg/L	95	112	74
	負荷	kg/d	211	235	175
	容積負荷	kg/m <sup>3</sup> /d	0.14	0.16	0.12

最大値と最小値の差は約1.4倍であった。フェノール-容積負荷は、0.53～0.77 kg/m<sup>3</sup>/d (平均値：0.63 kg/m<sup>3</sup>/d) であった。

##### (4) チオシアン負荷

175～235 kg/d (平均値：211 kg/d) で推移し、最大値と最小値の差は約1.3倍であった。チオシアン-容積負荷は、0.12～0.16 kg/m<sup>3</sup>/d (平均値：0.14 kg/m<sup>3</sup>/d)

表4 処理水質と除去率 (No8)

	溶解性 COD <sub>Mn</sub>		アンモニウム態窒素		フェノール		チオシアン	
	水質 (mg/L)	除去率 (%)	水質 (mg/L)	除去率 (%)	水質 (mg/L)	除去率 (%)	水質 (mg/L)	除去率 (%)
平均	83	94.0	926	0.0	0.047	100.0	2.2	97.8
最大	96	94.7	1 000	10.8	0.090	100.0	3.0	98.1
最少	71	93.1	850	0.0	0.030	100.0	2.0	96.9

表5 各種細菌の存在数量

	全細菌 (真正細菌)	アンモニア酸化細菌	亜硝酸化細菌 ( <i>Nitrobacter</i> )	フェノール分解細菌	チオシアン分解細菌 ( <i>Thiobacillus thioeparus</i> )
	(copies/mg MLSS)	(copies/mg MLSS)	(copies/mg MLSS)	(copies/mg MLSS)	(copies/mg MLSS)
平均	$5.33 \times 10^9$	$2.43 \times 10^6$	$4.97 \times 10^6$	$8.67 \times 10^7$	$2.56 \times 10^4$
最大	$9.13 \times 10^9$	$9.05 \times 10^6$	$1.03 \times 10^7$	$2.16 \times 10^8$	$6.49 \times 10^4$
最少	$3.96 \times 10^9$	$5.56 \times 10^4$	$2.47 \times 10^6$	$2.99 \times 10^7$	$5.77 \times 10^3$

であった。

### 2.1.2 処理水質と除去率

表4に沈殿槽出口の処理水質および除去率の平均値、最大値および最少値を示す。

#### (1) COD<sub>Mn</sub>

処理水のCOD<sub>Mn</sub>濃度は71~96 mg/L (平均値: 83 mg/L) で推移し、除去率は平均94%であった。

#### (2) アンモニウム態窒素

日本の多くのコークス炉廃水処理設備と同様に、本廃水処理設備では硝化抑制運転を行っているため、アンモニアは除去されていない。本廃水には、硝化反応の最終段階である亜硝酸から硝酸への変換を阻害する物質が含まれており(東京大学大学院新領域創成科学研究科環境学専攻 修士論文)、脱窒を適切に行わない場合、亜硝酸が蓄積し処理水質が悪化することが知られているためである。

#### (3) フェノール

処理水のフェノール濃度は常に0.1 mg/L 未満であり(除去率100%)、きわめて良好に処理されていた。

#### (4) チオシアン

処理水のチオシアン濃度は2.0~3.0 mg/L (平均値: 2.2 mg/L) で推移し、除去率は平均98%であり良好に処理されていた。

### 2.1.3 曝気槽のMLSS濃度

曝気槽のMLSS濃度は、5 720~7 260 mg/L で推移し、平均値は6 617 mg/Lであった。(データ未掲載)。

## 2.2 各種細菌の存在数量数量の定量

表5に活性汚泥1 mgあたりに生息する全細菌、アンモニア酸化細菌(AOB)、亜硝酸酸化細菌(NO<sub>2</sub>-N)、フェノール分解細菌、およびチオシアン酸化細菌の平均値、最大値および最少値を示す。ま

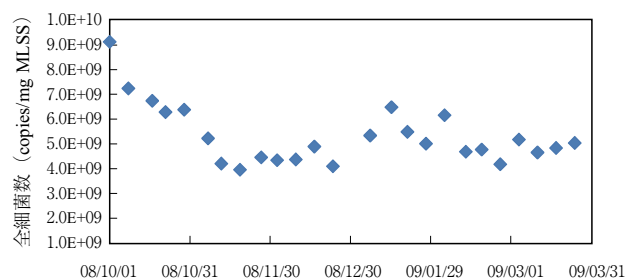


図2 全細菌数の推移

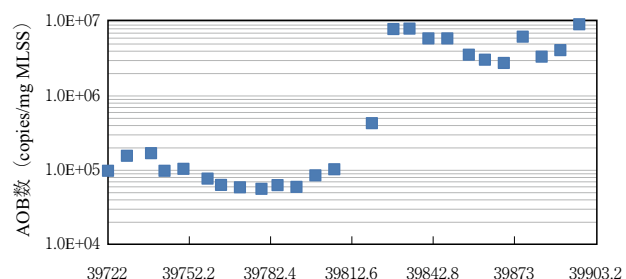


図3 アンモニア酸化細菌数の推移

た、図2~6にそれぞれの細菌の存在数量の推移を示す。

### 2.2.1 全細菌(真正細菌)(表5, 図2)

活性汚泥1 mgあたりに存在する全細菌(真正細菌)数は、 $3.96 \times 10^9 \sim 9.13 \times 10^9$  copiesで推移し(平均値:  $5.33 \times 10^9$  copies/mg MLSS)、最少値と最大値には2.3倍の差が見られた。活性汚泥単位重量あたりの全細菌数を測定したにもかかわらず、全細菌(真正細菌)数に差が見られた理由として、活性汚泥に無機物質や細菌以外の有機物(たとえば、油分)の蓄積量の差が影響したものと考えられる。

### 2.2.2 アンモニア酸化細菌(表5, 図3)

活性汚泥1 mgあたりに存在するアンモニア酸化

細菌数は、 $5.56 \times 10^4 \sim 9.05 \times 10^6$  copies で推移した (平均値:  $2.43 \times 10^6$  copies/mg MLSS)。本活性汚泥プロセスでは、硝化抑制運転を実施しているにもかかわらず、アンモニア酸化細菌数は大きく変動し、最少値と最大値で約160倍もの差があった。

### 2.2.3 亜硝酸酸化細菌 (表5, 図4)

亜硝酸酸化細菌として、*Nitrobacter* と *Nitrospira* の2属の細菌を対象にそれらの存在数を定量した。*Nitrospira* は存在数が少なく、検出限界未満であった。一方、*Nitrobacter* は、活性汚泥1mgあたり  $2.47 \times 10^6 \sim 1.03 \times 10^7$  copies 存在した (平均値:  $4.97 \times 10^6$  copies/mg MLSS)。

### 2.2.4 フェノール分解細菌 (表5, 図5)

活性汚泥1mgあたりに存在するフェノール分解細菌数は、 $2.99 \times 10^7 \sim 2.16 \times 10^8$  copies で推移し (平均値:  $8.67 \times 10^7$  copies/mg MLSS)、最少値と最大値

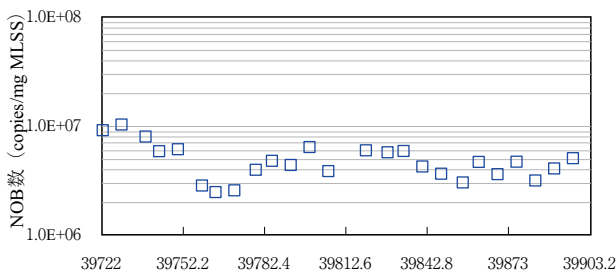


図4 亜硝酸酸化細菌 (*Nitrobacter* sp.) 数の推移

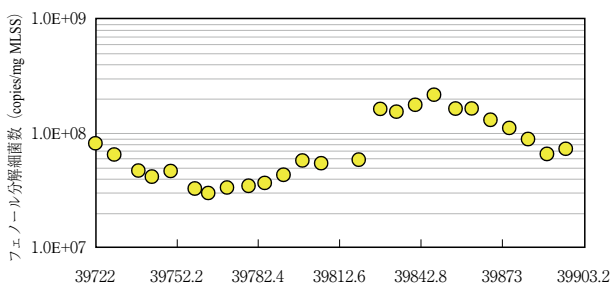


図5 フェノール分解細菌数の推移

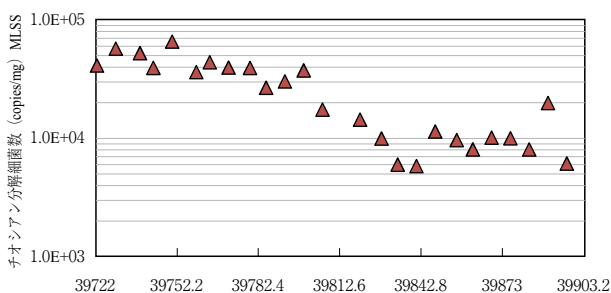


図6 チオシアン分解細菌 (*Thiobacillus thioparus*) 数の推移

で約7倍の差があった。

### 2.2.5 チオシアン分解細菌 (表5, 図6)

当社独自にチオシアンを分解する細菌の内 *Thiobacillus thioparus*, *Methylobacterium thiocyanatum*, *Rhodococcus* sp. RHA1, *Mycobacterium smegmatis* および *Legionella pneumophila* のチオシアン分解酵素 (thiocyanate hydrolase: scnC) をターゲットとする定量PCR法を確立した。これらの細菌のうち、もっとも存在数が多かった *Thiobacillus thioparus* を対象にチオシアン分解細菌の定量解析を行った。

活性汚泥1mgあたりに存在するフェノール分解細菌数は、 $5.77 \times 10^3 \sim 6.49 \times 10^4$  copies で推移した (平均値:  $2.56 \times 10^4$  copies/mg MLSS)。最少値と最大値で約10倍の差があり、細菌数の変動は比較的大きかった。また、本細菌の全細菌に占める割合は、わずか10万分の一に過ぎなかった。

## 2.3 細菌数あたりの負荷と処理水質との関係

通常、生物学的排水処理の運転管理はMLSS負荷やMLVSS負荷を指標に行われる。しかし、活性汚泥は水質浄化に関与する細菌以外に無機物質や細菌以外の有機物などの“不活性”な物質から構成されるため、MLSS濃度やMLVSS濃度が的確に水質浄化に係る細菌量を表現しているとは言い難い。また、活性汚泥は機能の異なった (すなわち、処理対象の異なった) 種々の細菌から構成され、これらの細菌の構成比率は原水組成の変化や(A)SRTなどによって変動する。したがって、ある特定の物質 (たとえば、アンモニアやフェノールなど) の負荷管理をMLSSあるいはMLVSSで行うことは精度の面で非常に劣るといわざるを得ない。

そこで、生物診断技術 (定量PCR法) を用いて求めた全細菌 (真正細菌) 数、アンモニア酸化細菌数、亜硝酸酸化細菌数、フェノール分解菌数、およびチオシアン分解菌数とCOD<sub>Mn</sub>負荷、アンモニア負荷、亜硝酸負荷、フェノール負荷、およびチオシアン負荷と処理水質との相関関係を解析した (表6)。

全細菌 (真正細菌) 数と処理水COD<sub>Mn</sub>濃度、および亜硝酸酸化細菌数と処理水COD<sub>Mn</sub>濃度にそれぞれ1%水準で負の相関が見られた。すなわち、全細菌 (真正細菌) 数が増加すると処理水COD<sub>Mn</sub>濃度は減少し、また、処理水COD<sub>Mn</sub>濃度が上昇するにつれて亜硝酸酸化細菌数は減少した。後者の現象は、処理水中に残存する成分により亜硝酸酸化細菌の増殖が抑制されたことにより起こったものと推測される。

表6 各細菌数と負荷および処理水質の相関

細菌	COD <sub>Mn</sub> 負荷 (kg/d)	処理水 COD <sub>Mn</sub> 濃度 (mg/L)	フェノール負荷 (kg/d)	チオシアン負荷 (kg/d)	処理水チオシアン濃度 (mg/L)
全細菌 (真正細菌)	-0.110	** -0.649	-0.341	0.324	-0.987
アンモニア酸化細菌	-0.310	-0.213	-0.291	-0.081	-0.260
亜硝酸酸化細菌	0.407	** -0.642	-0.304	0.407	0.111
フェノール分解細菌	-0.351	-0.312	-0.411	0.017	0.163
チオシアン分解細菌	0.279	0.06	0.117	0.185	0.163

\*\*p<0.01

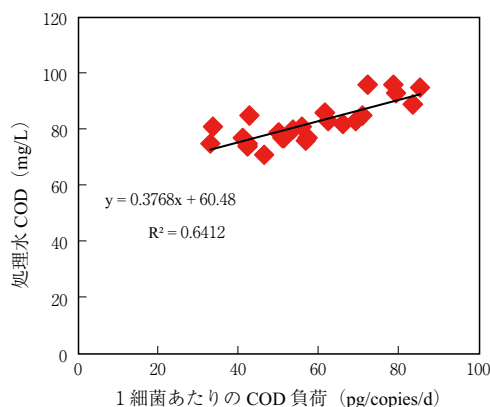


図7-1 全細菌 (真正細菌) 1個あたりのCOD負荷と処理水質の関係

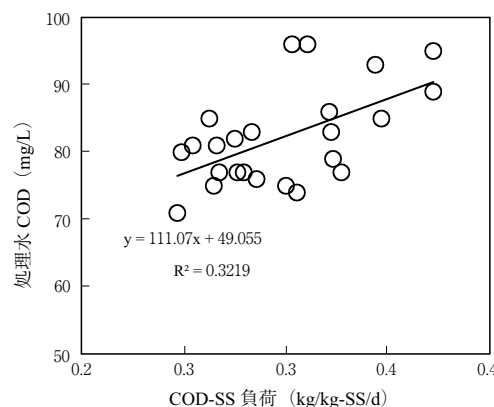


図7-2 COD-MLSS負荷と処理水質の関係

### 2.3.1 1細菌あたりのCOD負荷と処理水質の関係

本排水処理設備の新しい運転管理指標を設定するために、「1細菌あたりのCOD<sub>Mn</sub>負荷」と処理水質の関係を求めた。「1細菌あたりのCOD<sub>Mn</sub>負荷」は、下記の式(1)の計算方法で算出した。

$$1 \text{ 細菌あたりのCOD負荷} = \frac{\text{COD負荷}}{\text{曝気槽に生息する細菌数}} \quad (1)$$

図7-1に示すように、「1細菌あたりのCOD<sub>Mn</sub>負荷」と処理水質の間には高い相関がみられ、1細菌あたりのCOD負荷が上昇するにつれて、処理水のCOD<sub>Mn</sub>濃度も上昇した。一方、従来から生物学的廃水処理の管理指標として用いられてきたCOD<sub>Mn</sub>-MLSS負荷と処理水COD<sub>Mn</sub>濃度の関係をみると(図7-2)、相関係数(R<sup>2</sup>)が1細菌あたりの負荷と処理水COD<sub>Mn</sub>の相関に比べて低かった。

以上のように、活性汚泥を構成する細菌の存在数量とコークス炉の操業状況などから推定されるCOD<sub>Mn</sub>負荷から「1細菌あたりのCOD<sub>Mn</sub>負荷」を求め、この値を最適に調整することにより、処理水COD<sub>Mn</sub>濃度の安定化が可能になるものと思われる。

### むすび

「はじめに」で述べた関西熱化学株式会社殿のコークス炉廃水処理の2つの課題のうち、(1)の課題に対する解決策として「1細菌あたりのCOD<sub>Mn</sub>負荷」という新しい管理指標を構築した。この指標は現在現場で採用されており、コークス廃水処理の安定運転に貢献している。もう一つの課題である(2)についてもすでに解決策を見出しており、別の機会を得て紹介したい。

今後もコークス廃水処理に係る現場の方々との連携をより一層強めながら、「現場で役立つ技術開発」を推進していく所存である。

### [参考文献]

- 1) Hermansson, A, and Lindgren, P-E. Appl. Environ. Microbiol. 2001, 67, 972-976.
- 2) Harms, C., Layton, A. C., Dionisi, H. M., Garret, V. M., Hawkins, S. A., Robinson, K. G., and Sayler, G. S. Environ. Sci. Technol. 2003, 37, 343-351.
- 3) Wagner, M., Rath, G., Koops, H.-P., Flood, J., and Amman, R. I. 1996, 34, 237-244.
- 4) Brett R. Baldwin, Cindy H. Nakatsu, and Loring Nies Appl. Environ. Microbiol. 2003, 69, 3350-3358.
- 5) Suzuki, M. T., Taylor, L. T., and Delong, E. F. Appl. Environ. Microbiol. 2000, 66, 4605-4614.

\*商品市場・技術開発センター 水・汚泥技術開発部 \*\*水処理事業部 技術部 技術室