

## クラフトパルプ排水のオゾン分解機構と 生成有機酸の微生物分解

中村 嘉利, 小森 正樹\*, 沢田 達郎

金沢大学工学部 (〒920-8667 石川県金沢市小立野2-40)

\*石川県保健環境センター (〒920-1154 石川県金沢市太陽が丘1-11)

[平成12年12月13日受理]

### Degradation Mechanism of Kraft Pulp Wastewater with Ozone and Microbial Degradation of Organic Acids Produced

Yoshitoshi NAKAMURA, Masaki KOMORI\* and Tatsuro SAWADA

Faculty of, Ishikawa Engineering, Kanazawa University  
(2-40 Kodatsuno, Kanazawa, Ishikawa 920-8667)

\*Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science  
(1-11 Taiyogaoka, Kanazawa, Ishikawa 920-1154)

[Received December 13, 2000]

#### Summary

The efficient degradation of lignin in kraft pulp wastewater by ozonolysis and microbial degradation was presented. The effects of operational conditions such as pH and temperature on the degradation of lignin aromatic ring by ozone were experimentally clarified. The lignin aromatic ring was degraded by the ozonolysis into various low-molecular weight organic acids such as muconic acid, maleic acid, and oxalic acid. In the microbial degradation of ozonolyzed wastewater using an oxalic acid degrading microorganism, strain A28, cells grew in a typical diauxic growth, i.e. the oxalic acid was degraded only after the exhaustion of acetic acid. As a result, it was found that after ozonolysis of kraft pulp wastewater microbial degradation by strain A28 was effective method for the complete degradation of lignin in it.

**Key words:** ozonolysis, lignin, kraft pulp wastewater, microbial treatment, diauxic growth

#### 1. はじめに

クラフトパルプは水酸化ナトリウムと硫化ナトリウムを用いて蒸解されたパルプであり、紙の強度が強いため広範囲に使用されている<sup>1,2)</sup>。クラフトパルプの排水中にはリグニンなどの有機物質が多量に含まれているため、有機物質は完全に分解処理された後に河川に放出されなければならない<sup>3)</sup>。リグニンは芳香環を持つ難分解

性の高分子物質であるため、微生物分解するには長時間を要する<sup>4,5)</sup>。したがって、パルプ排水中のリグニンを迅速かつ高効率で分解処理するためには、微生物処理の前にリグニンを低分子化する操作が必要と考えられる。一方、オゾンはフッ素に次ぐ強力な酸化作用を持ち、脱臭、脱色、殺菌、有機物や無機物の分解などに用いられてきた<sup>6)</sup>。また、オゾン処理は自動化や省力化が容易であるばかりでなく、溶存オゾンが自己分解して酸素になるこ

とから上水、下水、工場排水やし尿処理などの種々の分野に適用可能とされている<sup>7-11)</sup>。著者ら<sup>12-15)</sup>はオゾンによる亜硫酸パルプ排水中のリグニンの分解および有機酸の生成特性、リグニンの分解機構などについてこれまで報告してきている。一方、近年のわが国のパルプ製造の約90%はクラフトパルプであり、クラフトパルプ排水処理の研究の重要性が高まっている<sup>2)</sup>。

そこで、本研究ではクラフトパルプ排水中のリグニンをオゾンで分解した後、生成した有機酸を更に微生物で分解する2段階処理の実験を行い、それらの一連の操作の有効性について研究した。すなわち、亜硫酸パルプ排水のオゾン分解に関する実験的研究<sup>12-15)</sup>を参考に、クラフトパルプ排水のオゾン分解に及ぼすpHや温度の影響と有機酸の生成過程をリグニンモデル物質のオゾン分解機構にもとづいて検討した。次に、クラフトパルプ排水リグニンのオゾン分解で生成した酢酸とシュウ酸の微生物分解における動的挙動を市販の酢酸とシュウ酸から成る合成培地の微生物分解の場合と比較して、ジオキシ現象をもつ微生物増殖について考察した。

## 2. 実験方法

### 2.1 オゾン分解

オゾン分解実験は、Fig. 1に示したようなガラス製円筒反応器（内容積1.5ℓ）に試料排水1ℓを入れ、オゾン発生機（日本オゾン製MO-5A型）によって生成されたオゾン（オゾン濃度20g/m<sup>3</sup>、供給オゾン流量0.25m<sup>3</sup>/h）を3本の空気拡散器で吹き込むことによって行った。オゾン濃度は中性ヨウ化カリウム法によって測定した<sup>16,17)</sup>。クラフトパルプ排水をリグニン芳香核による280nm吸光度から換算し、40g/ℓのリグニン濃度に調整した。pH調整は水酸化ナトリウム溶液を用いた。オゾン分解液の280nm吸光度はリン酸緩衝液でpH7に調整し

た後、分光光度計（島津製UV-240型）で測定した。メトキシル基量は、朝比奈式簡易メトキシル基測定法<sup>18)</sup>、フェノール性水酸基量は $\Delta \epsilon_i$ 法<sup>19)</sup>、有機酸濃度は液体クロマトグラフィー（島津製LC-9A）とガスクロマトグラフィー（島津製GC-6A）によって測定した<sup>19)</sup>。

### 2.2 微生物分解

酢酸とシュウ酸の微生物分解では、著者ら<sup>15)</sup>が集積培養法で土壌から分離したシュウ酸分解菌A28菌を用いた。任意の時間間隔で培養液を3mℓ抜き取り、菌濃度の指標として菌液の吸光度、酢酸濃度とシュウ酸濃度を定量した。吸光度は分光光度型（島津製UV120型）を用いて、波長525nmで測定した。培養はpH7、温度30℃、回転数100rpmで行った。

### 2.3 オゾン分解液の微生物処理

酢酸とシュウ酸の微生物処理では市販の酢酸（2.0g/ℓ）とシュウ酸（5.5g/ℓ）を含む混合液に基本培地（3.0g/ℓ KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、7.0g/ℓ K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、0.5g/ℓ (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、5.0g/ℓ NaCl、0.5g/ℓ MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、0.01g/ℓ CaCl<sub>2</sub>）を加えた培養液を用いた。また、オゾン分解液の微生物処理では、オゾンによってpH12で15h分解したクラフトパルプ廃液に基本培地を加えた培養液を用いた。

## 3. 結果と考察

著者ら<sup>12-14)</sup>は芳香環状リグニンモデルとしてのグアヤコールとベラトロールのオゾン分解の結果を亜硫酸パルプ排水のオゾン分解と比較し、リグニンモデル物質のオゾン分解における動的挙動はパルプ排水のリグニンのオゾン分解に十分適用されることをこれまでに報告した。クラフトパルプ排水中のリグニン芳香環部分の構造は主としてC<sub>4</sub>位に遊離性のフェノール性水酸基をもつ4-ヒ

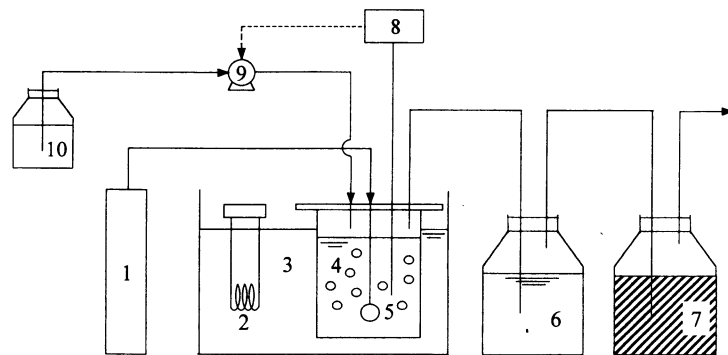


Fig. 1 Experimental apparatus for ozonation process

1: ozone generator, 2: heater, 3: water bath, 4: reactor, 5: air diffuser, 6: KI solution, 7: activated carbon, 8: pH controller, 9: peristaltic pump, 10: NaOH solution

ドロキシ-3-メトキシフェニル残基（グアヤコール型残基）とC位にエーテル結合をもつオキシ（2-メトキシ-1,4-フェニレン）残基（ベラトロール型残基）の2種類から構成されている<sup>20</sup>。今回、クラフトパルプ排水中の芳香族化合物のオゾン分解機構をリグニンモデル物質のオゾン分解から提出した Fig. 2の分解機構<sup>13,14</sup>に基づいて種々検討した。リグニンモデル物質の分解機構は、①グアヤコールやベラトロールなどの芳香族化合物が開裂する前にメトキシル基の脱離が起って分解する経路（ベラトロール→グアヤコール→カテコール→キノン→ムコン酸→マレイン酸→シュウ酸）、②芳香族化合物の3, 4位の開裂が起ってから分解する経路（ベラトロール→ムコン酸ジメチルエステル→ムコン酸モノメチルエステル→ムコン酸→マレイン酸→シュウ酸、グアヤコール→ムコン酸モノメチルエステル→ムコン酸→マレイン酸→シュウ酸）、③芳香族化合物の2, 3位と4, 5位の開裂によってシュウ酸類が直接生成する経路（ベラトロール→シュウ酸ジメチルエステル→シュウ酸モノメチルエステル→シュウ酸、グアヤコール→シュウ酸モノメチルエステル→シュウ酸）に分けられる。

芳香族化合物の微生物分解は非常に困難だが、芳香族化合物のオゾン分解によって生成したマレイン酸やシュウ酸等の有機酸の微生物分解は比較的容易に進行するものと考えられる。

### 3. 1 パルプ排水のオゾン分解

Fig. 3は温度30℃で種々のpHにおけるオゾン分解液の紫外外部吸光度の経時変化を示す。縦軸は280nmにお

ける初期吸光度に対する時間経過における吸光度の比で表されている。芳香族化合物やムコン酸類は280nm付近に強い吸収帯をもっているの、280nm吸光度はクラフトパルプ排水のオゾン分解液中に含まれる芳香族化合物やムコン酸類の量を表す指標となる。オゾン分解によって生成するアルデヒド類やシュウ酸類などの飽和脂肪族カルボン酸も280nmに吸収を持つが、吸光度係数は芳香族化合物やムコン酸類に比べて非常に小さいので、それらの吸光度は無視できる。紫外外部吸光度はオゾン分解時間とともに徐々に減少し、15hを超えるとほぼ一定値に達

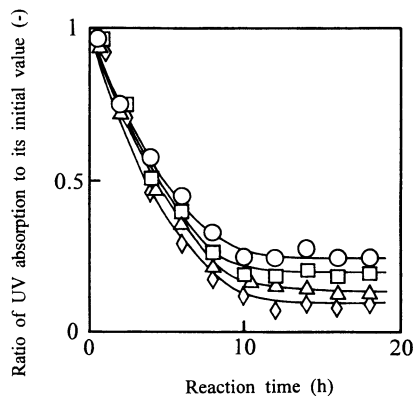


Fig. 3 Time courses of ratio of UV absorption at 280 nm to its initial value in the ozonation of kraft pulp wastewater under various pH values

○: pH4, □: pH7, △: pH10, ◇: pH12

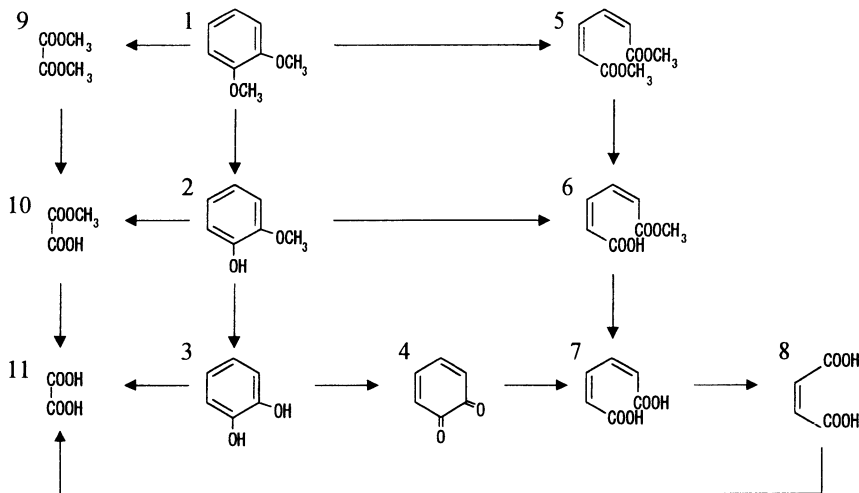


Fig. 2 Degradation mechanism of lignin model compound by ozonolysis

1: veratrole, 2: guaiacol, 3: catechol, 4: quinone, 5: muconic acid dimethylester, 6: muconic acid monomethylester, 7: muconic acid, 8: maleic acid, 9: oxalic acid dimethylester, 10: oxalic acid monomethylester, 11: oxalic acid

した。紫外外部吸光度の減少の経時変化はpHが高くなるにつれて大きくなり、pH4, 7, 10, 12の時の吸光度は分解時間18hでそれぞれ0.25, 0.2, 0.15, 0.1まで低下した。これはpHが高くなると水酸イオン濃度が増加し、オゾンによる分解速度が大きくなるためと思われる<sup>2)</sup>。

Fig. 4はpH12で種々の温度におけるオゾン分解液の紫外外部吸光度の経時変化を示す。吸光度の減少は温度が高いほど速いが、30℃と40℃との分解限度の差は少なかった。一般的に化学反応においては温度が高くなると反応速度は大きくなるが、オゾン分解反応では温度が高くなるとオゾンの排水中への溶解度が減少するために分解速度の温度による差があまり見られなかった。30℃以上の温度では分解限度に大きな差が認められなかったことから、以下の実験では30℃でオゾン分解を行った。

Fig. 5はオゾン分解液の白色度の経時変化を示す。白色度は457nmに関して初期白色度の比で表されている。芳香族化合物、ムコン酸類、マレイン酸類は457nm付近に吸収帯を持つが、その中でもキノンは強い吸収帯をもっている。したがって、白色度の増加はキノンの増加に起因すると思われる。白色度はオゾン分解開始とともに増加し、分解時間2hで最大値に達した後、急激に減少した。2hの分解で白色度が増加したことから、Fig. 2のリグニンモデル物質のオゾン分解機構で示されたキノンの生成が推察された。

Figs. 6, 7はそれぞれオゾン分解液のメトキシ基量とフェノール性水酸基量の経時変化を示す。メトキシ基量は排水中に含まれている4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル残基(グアヤコール型残基)と〔オキシ(2-

メトキシ-1, 4-フェニレン)残基〕(ペラトロール型残基)の総量を表し、フェノール性水酸基量は排水中に含まれている4-ヒドロキシ-3-メトキシフェニル残基(グアヤコール型残基)の量に相当する。Fig. 6に示したようにメトキシ基量が分解時間とともに減少したことから、グアヤコール型残基やペラトロール型残基を持つ芳香族化合物の分解が認められた。また、pHが高いほど分解速度が大きいことがわかった。Fig. 7に示したようにpH12の時のフェノール性水酸基量は分解時間とともに

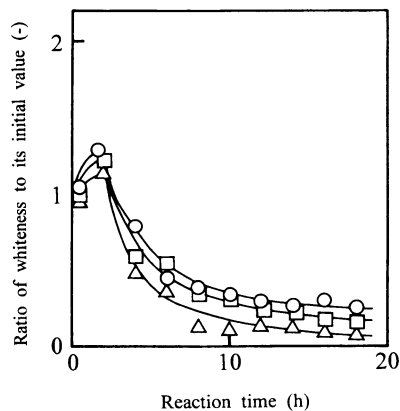


Fig. 5 Time courses of ratio of whiteness at 457 nm to its initial value in the ozonation of kraft pulp wastewater under various pH values

○: pH7, □: pH10, △: pH12

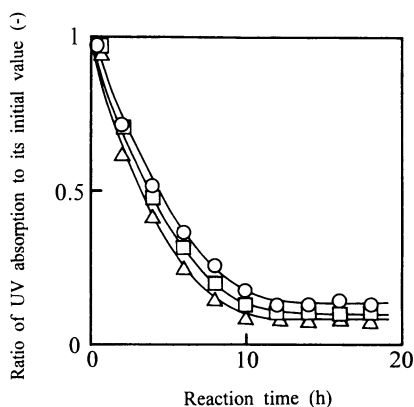


Fig. 4 Time courses of ratio of UV absorption at 280 nm to its initial value in the ozonation of kraft pulp wastewater under various temperatures

○: 20 °C, □: 30 °C, △: 40 °C

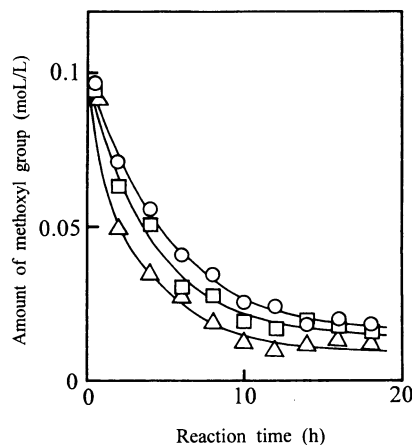


Fig. 6 Time courses of amount of methoxyl group in the ozonation of kraft pulp wastewater under various pH values

○: pH7, □: pH10, △: pH12

に減少して20hではほぼ0になったが、pH7と10の時には初期値の1/3程度までしか低下しなかった。結果として、グアヤコール型残基を持つ芳香族化合物の分解のためにはpH12での分解が効果的であるといえるので、以下の実験ではpH12で分解を行った。

### 3. 2 オゾン分解による生成有機酸

Fig. 8はオゾン分解によって芳香族化合物の開裂によって生成するムコン酸、マレイン酸、シュウ酸の有機酸濃度の経時変化を示す。ムコン酸濃度は分解時間とも

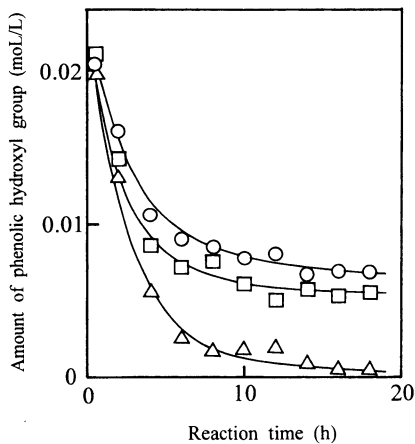


Fig. 7 Time courses of amount of phenolic hydroxyl group in the ozonation of kraft pulp wastewater under various pH values  
○: pH7, □: pH10, △: pH12

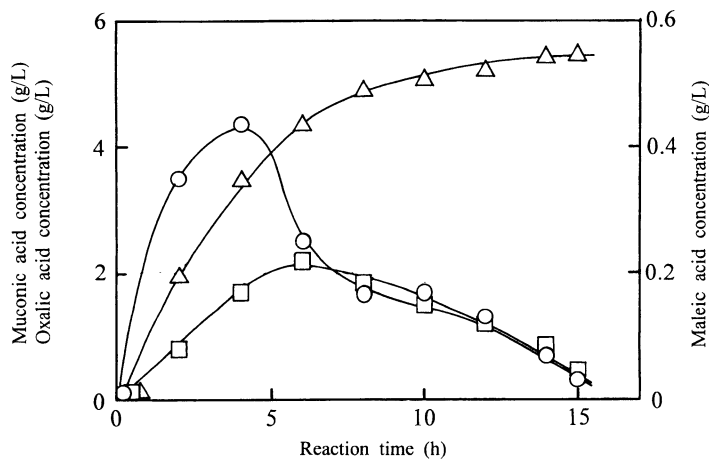


Fig. 8 Time courses of organic acid concentrations in the ozonation of kraft pulp wastewater at pH 12 and 30 °C  
○: muconic acid concentration, □: maleic acid concentration, △: oxalic acid concentration

に急激に増加し、4 hで4.4g/lの最大値に達した後、減少した。マレイン酸濃度は分解時間ともに増加し、4 hで0.22g/lの最大値に達した後、減少した。Fig. 2のリグニンモデル物質のオゾン分解機構からわかるように芳香族化合物からムコン酸とマレイン酸が生成し、その後ムコン酸類はほとんどシュウ酸へと分解された。また、リグニン濃度40g/lのクラフトパルプ排水にはフェニルプロパン構造をもつリグニンの側鎖から生成した2.0 g/lの酢酸が含まれている。

### 3. 3 オゾン分解液の微生物処理

Fig. 9は市販の酢酸とシュウ酸の合成培地のA28菌による分解の経時変化を示す。オゾンによってpH12で15h分解したクラフトパルプ排水中には酢酸(2.0g/l)とシュウ酸(5.5g/l)が含まれるので、酢酸とシュウ酸の濃度をそれらの値に調整した。菌の増殖は酢酸のみを分解して対数増殖した後、シュウ酸を分解して対数増殖する典型的なジオキシ増殖<sup>20)</sup>を示した。第1対数増殖期と第2対数増殖期の間の約1 hの遅れ時間は菌がシュウ酸を分解するために必要な誘導酵素を合成するための時間と思われる。結果として、シュウ酸分解菌A28菌は酢酸とシュウ酸を完全に分解できることがわかった。

Fig. 10はシュウ酸分解菌A28菌によってオゾン分解液を微生物処理した時の菌の増殖と基質の分解の動的挙動を示す。ここでは、オゾンによってpH12で15h分解したクラフトパルプ排水をオゾン分解液として用いた。Fig. 9に示した合成培地の場合と同様に菌は酢酸を消費した後シュウ酸を分解するジオキシ増殖を示したが、菌の増殖と基質の分解は合成培地の場合よりも少し遅くなった。この理由は、パルプ蒸解時に添加された種々の

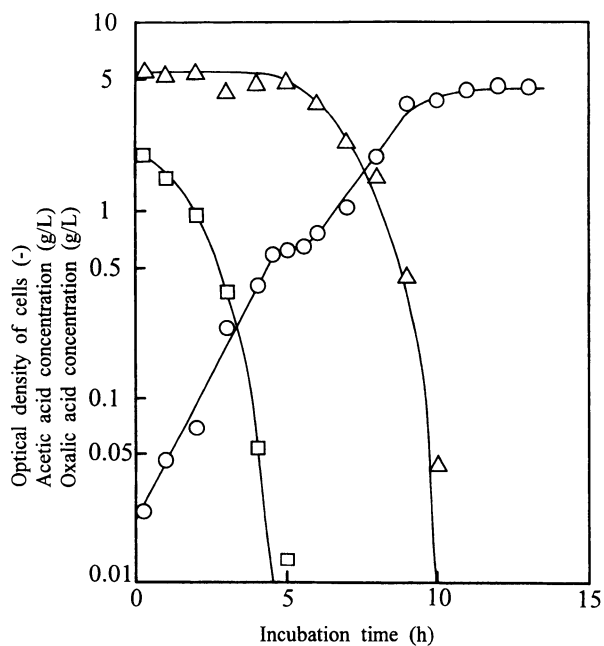


Fig. 9 Growth profile of cells in the synthetic medium containing acetic acid and oxalic acid  
 ○ : optical density of cells, □ : acetic acid concentration, △ : oxalic acid concentration

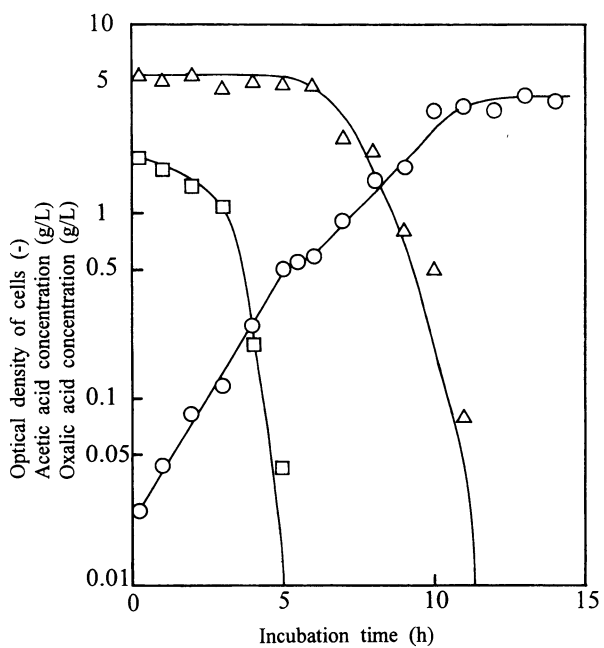


Fig. 10 Microbial treatment of kraft pulp wastewater ozonized at a reaction time of 15 h  
 ○ : optical density of cells, □ : acetic acid concentration, △ : oxalic acid concentration

化学薬品の阻害の影響と考えられる。しかしながら、酢酸とシュウ酸は培養時間約12hで完全に消費されたことから、オゾン分解とA28菌による微生物処理はクラフトパルプ排水中の芳香族化合物の分解処理に有効であることが認められた。シュウ酸分解菌A28菌は酢酸とシュウ酸を分解できるが、ムコン酸やマレイン酸などの二重結合を持つ有機酸を分解できない（データは示されていない）。A28菌によるオゾン分解液の完全処理のためには15h程度のオゾン分解時間が必要であるが、オゾンのコスト等を考えるとオゾン分解の初期に生成するムコン酸やマレイン酸などの有機酸を分解できる菌や菌群による微生物処理が望まれる。この点に関しては今後の検討課題である。

## 謝 辞

本研究は文部省科学研究費特定領域研究「ゼロエミッションをめざした物質循環プロセスの構築」No.12015217の援助により行われたことを付記して謝意を表します。

## 要 約

クラフトパルプ排水に含まれるリグニンの効率的分解のためにオゾン分解後に微生物分解する処理方法を提案した。リグニン芳香核の分解に及ぼすpH、温度などのオゾン分解条件の影響を実験的に明らかにした。オゾン分解によってリグニン芳香核はムコン酸、マレイン酸、シュウ酸などの種々の低分子有機酸に分解された。シュウ酸分解菌A28菌を用いたオゾン分解液の微生物分解では、菌の増殖は酢酸を消費した後にシュウ酸を分解する典型的なジオキシ増殖を示した。結果として、オゾン分解と微生物分解から成る処理方法はクラフトパルプ排水中のリグニンの完全分解のための効果的方法であることがわかった。

## 文 献

- 1) 林産試験場：木材工業ハンドブック，pp846-855，丸善，東京（1982）
- 2) 浅野猪久夫：木材の辞典，pp377-388，朝倉書店，東京，（1982）
- 3) 鮫島一彦，高村憲男：パルプ廃液処理に関する研究（I）活性汚泥処理におけるクラフトリグニンの挙動，紙パ技協誌，**35**，427-433（1981）
- 4) 大原誠資，細谷修二，中野準三：アルカリ蒸解中におけるリグニンと炭水化物の結合について，木材学会誌，**25**，408-413（1980）
- 5) 中野準三：リグニンの化学，pp303-346，ユニ出版，東京（1982）
- 6) 合田 健，山田春美，河原長美，枝 雅克，徳田正：オゾン処理（I），水処理技術，**16**，3-17

- （1975）
- 7) 田畑則一，森 貢：オゾンによる工場排水処理，水処理技術，**11**，27-31（1970）
- 8) 諸岡成治，池水喜義，加藤康夫：水溶液中のオゾンの自己分解，化学工学論文集，**4**，377-380（1978）
- 9) 楊 敏，上杉和也，明賀春樹：臭化物イオン存在下でのオゾンによるアンモニア性窒素除去に及ぼす環境因子の検討，水環境学会誌，**20**，468-472（1997）
- 10) 小沼和博，埴 隆之，松村正利，稲森悠平，東 照雄，戎野棟一，須藤隆一：オゾン酸化—生物活性炭処理過程における生物学的酸素消費に基づく埋立池浸出水の高度処理性能評価，水環境学会誌，**20**，776-782（1997）
- 11) 高橋信行，中井敏博，佐藤芳夫：オゾン酸化による染料中間体の有機塩素化合物生成能の変化，水環境学会誌，**22**，415-419（1999）
- 12) 沢田達郎，中村嘉利：亜硫酸パルプ廃液中のリグニンのオゾン分解，化学工学論文集，**11**，247-252（1978）
- 13) 元井正敏，沢田達郎，中村嘉利，隅田 弘：ペラトロールおよびグアイアコールのオゾン分解機構，日本化学会誌，**4**，545-551（1986）
- 14) 中村嘉利，沢田達郎，元井正敏：モデル物質を用いたリグニン廃液のオゾン分解機構の考察，日本化学会誌，**4**，722-727（1989）
- 15) 中村嘉利，沢田達郎，堅田 勉，中西英二，鈴木基之：連続培養における酢酸，シュウ酸をともに含むモデル廃水の微生物分解，環境科学会誌，**6**，131-141（1993）
- 16) 荒木 峻：ガス分析，pp95-97，共立出版，東京（1966）
- 17) 日本化学会編：新実験化学講座9分析化学I，pp27-34，丸善，東京（1976）
- 18) 朝比奈泰彦，前田賛太：簡易メトキシル定量器に就て，薬学雑誌，**50**，660-665（1930）
- 19) Goldschmid, O.: Determination of phenolic hydroxyl content of lignin preparations by ultraviolet spectrophotometry. *Analytical Chemistry*, **26**, 1421-1423（1954）
- 20) 中野準三，樋口隆昌，住本昌之，石津 敦：木材化学，pp185-192，ユニ出版，東京（1983）
- 21) 加藤康夫，岸川 久，石田政喜，池水喜義，諸岡成治：水中のポリ（アクリルアミド）のオゾンによる分解速度，化学工学論文集，**8**，213-216（1978）
- 22) Monod, J.: The growth of bacterial cultures. *Ann Review of Microbiol*, **3**, 371-394（1949）