

微生物を用いたクーラント廃液処理装置 「BIO-FINE(バイオフィン)」の開発と適用

Development of the Bacteria Active Treatment 「BIO-FINE」
and its application to the Waste of Cutting and Grinding Coolants

キーワード

クーラント, エタノールアミン, 難分解性物質, エタノールアミン分解菌,
廃液処理, 充填層型バイオリアクター, 微生物固定化, (BIO-FINE)

技術開発部材料開発部

菅沢剛一

生産総括部環境保全室

中谷恒二

技術開発部材料開発部

川倉勝之

技術開発部材料開発部

佐伯隆司

■ 摘要

水溶性切削・研削油剤（クーラント）の廃液には、エタノールアミンのように凝集法や活性汚泥法や活性炭吸着法では処理できない物質が多量に含まれている。エタノールアミンが従来の水処理法で処理できない理由は、親水性が高くしかも生分解性が極めて低いことによるものである。一方、自然環境保護の立場からするとこれらの物質は生物学的方法で分解処理するのが望ましい。

本研究では新たに探索分離されたエタノールアミン分解菌が水溶性クーラント廃液の処理に適用できることを示すとともに充填層型バイオリアクターがこの種の廃液処理に有効であることも示す。

また、「BIO-FINE200」型のバイオリアクターシステムにより6.7kg-EA/d以上のエタノールアミン分解速度が得られ、しかも廃液中のCOD（化学的酸素要求量）とBOD（生物化学的酸素要求量）がそれぞれ1/10以下および1/20以下まで低減できたことも併せて紹介する。

■ Abstract

In general, it is difficult to treat a waste fluid of aqueous cutting and grinding oil (coolant) with an aggregation method, an activated sludge method and an active carbon adsorption method, because it contains refractory chemicals such as ethanolamines. The ethanolamines, which have strong hydrophilic and low natural decomposition property, couldn't effectively be treated by these methods. From a view point of environmental protection, it is preferable to decompose ethanolamines by means of biological treatment process.

In this study, applicability of the newly isolated bacteria for decomposition of ethanolamines will be shown. The bioreactor system which have breeder cells attached on the carrier surface is also effective for breeding bacteria in the treatment system.

By using newly developed bioreactor system 「BIO-FINE200」, ethanolamines degradation rate of more than 6.7kg-EA/d has been achieved and the value of COD (Chemical Oxygen Demand) and BOD (Biological Oxygen Demand) have been decreased below 1/10 and 1/20, respectively.

1. はじめに

化学工業の発展に伴い数多くの有機化合物が合成され多方面に利用されている。機械加工分野においても加工の高速化・自動化・無人化を目的として有機化合物を多量に含む水溶性切削・研削油剤（クーラント）が使用されている。水溶性クーラントは高精度な製品を効率良く生産する上で重要な役割を果たしており、その使用量は年々増加する傾向にある。その一方で使用劣化後に発生する廃液の処理が大きな問題となっている。この種の廃液には自然環境の中で分解されにくい物質が多く含まれており、無処理のまま、これらの難分解性物質が自然界に放出された場合、あるものは自然環境を破壊したり、またあるものは生物体内に蓄積するなど、人間を含めて多くの生物に悪影響を与えるおそれがある。水溶性クーラント廃液の処理には従来、焼却法が多用されてきたが、ダイオキシン発生の問題がクローズアップされるなか、生物処理を主体とした水処理での対応が望まれている。しかし、従来の凝集処理法や活性汚泥法や活性炭処理法では対処しきれないのが現状であり、未だ有効な処理法と装置の開発がなされていない。その最も大きな理由は、廃液中に含まれる高濃度のエタノールアミン（EA）にあり、多い場合には10,000mg/Lを越えることさえある。

本稿では、振とう培養法によりエタノールアミン分解菌の水溶性クーラント廃液処理への適用可能性を検討し、さらにこの細菌を利用した攪拌槽型バイオリアクターおよび充填層（固定床）型バイオリアクターの処理能力を比較検討した結果について報告する。また充填層型バイオリアクターを発展させ実用化した水溶性クーラント廃液処理装置「BIO-FINE（バイオファイン）」の実証プラントでの成果についても紹介する。

2. 実験方法

2.1 実験試料

水溶性クーラントには、エマルジョンタイプ、ソ

リュブルタイプ、ソリューションタイプ（表1）があり、鉱物油、脂肪酸、界面活性剤の他、生体系に毒性のあるエタノールアミン（EA）を多量に含んでいる。エタノールアミンにはモノエタノールアミン（MEA）、ジエタノールアミン（DEA）、トリエタノールアミン（TEA）があり（表2）、これらは無色、吸湿性の液体または固体で、その水溶液はアルカリ性を示す。これらは水溶性クーラントや洗浄剤の成分として用いられる他、二酸化炭素や硫化水素の吸収剤、フェノール抽出溶媒としても用いられる。

エタノールアミンは従来の水処理法で用いられている、凝集処理や活性汚泥処理や活性炭処理では処理困難な物質とされてきた。その理由はエタノールアミンの場合、親水性が非常に高く、ほとんど凝集しない¹⁾ことや難分解性物質で²⁾しかも生体系に対して毒性をもつため活性汚泥処理を行うには大量希釈³⁾が必要であったり、また活性炭に対する吸着能が非常に低く、その使用量が膨大⁴⁾（エタノールアミン濃度10,000mg/Lの廃液を1,000L（1m³）処理するときの活性炭使用量：モノエタノールアミンの場合で670kg、ジエタノールアミンの場合で180kg、トリエタノールアミンの場合で150kgにも及ぶ）になるた

表1 水溶性クーラントの成分組成

| Type of coolants | Emulsion | Soluble | Solution |
|--|------------|--------------------------------|-------------|
| <i>Components</i> | | | |
| Mineral oil (base oil) | 50-80 wt% | 0-30 wt% | - wt% |
| Fats and fatty oils or fatty acid | 0-30 | 5-30 | - |
| Extreme pressure agents | 0-30 | 0-20 | - |
| Surface-active agents | 15-35 | 5-20 | 0-5 |
| Ethanolamines or inorganic alkali | 0-5 | 10-40 | 10-40 |
| Organic inhibitor | 0-5 | 5-10 | 0-20 |
| Inorganic inhibitor | - | 0-10 | 0-20 |
| Antiseptic | ~2 | ~2 | ~2 |
| Corrosion preventives for non ferrous metals | ~1 | ~1 | ~1 |
| Foam preventives | ~1 | ~1 | ~1 |
| Water | 0-10 | 5-40 | 20-50 |
| Dilution rate | 10-30 | 30-50 | 30-150 |
| Appearance | milk white | semitransparent or transparent | transparent |

表2 エタノールアミンの物性

| Ethanolamines (EA) | Chemical formula (rational formula) | Molecular weight | Specific gravity (d ²⁰) | Melting point (°C) | Boiling point (°C) | Solubility (water) |
|------------------------|---|------------------|-------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Monoethanolamine (MEA) | H ₂ NCH ₂ CH ₂ OH | 61.09 | 1.022 | 10.5 | 171 | ∞ |
| Diethanolamine (DEA) | HN(CH ₂ CH ₂ OH) ₂ | 105.14 | 1.097 | 28 | 217 | ∞ |
| Triethanolamine (TEA) | N(CH ₂ CH ₂ OH) ₃ | 149.19 | 1.124 | 21 | 277 | ∞ |

めである。

本実験では、エタノールアミン水溶液と水溶性クーラントの希釈液およびその廃液を用い、エタノールアミン分解菌と処理装置の性能を評価した。水溶性クーラントには生分解性の点で最も安定な TEA が多く用いられている。そこで今回は TEA の生分解性を中心に評価し、併せて DEA, MEA についても随時評価を行うことにした。

2.2 エタノールアミン分解菌

エタノールアミン分解菌は株式会社ネオス殿により探索分離されたものであり、平板培養法および液体培養法により増殖させた後、供試した。本菌株(図1)はグラム陽性・好気性の細菌で、形態学的特徴、増殖の特徴、生理学的特徴からコリネバクテリウム属の細菌に分類され、工業技術院に寄託登録されている。一般に微生物が増殖し活動するためには、炭素源、窒素源、無機塩類およびビタミンなどのエネルギー源や菌体成分となる栄養分が必要であるが、

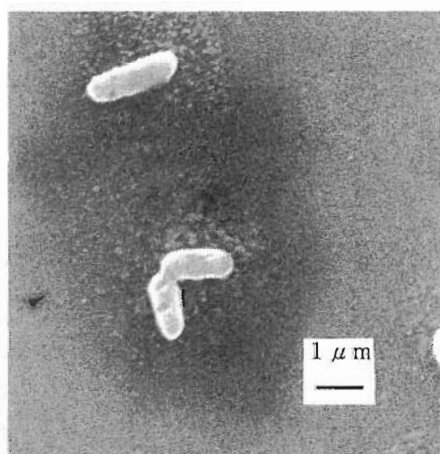


図1 エタノールアミン分解菌

今回用いたエタノールアミン分解菌は比較的単純な培地においてエタノールアミンを分解資化し増殖する性質がある。

2.3 試験装置

試験装置として図2-a, b, cに示される三種類のタイプを用いた。図2-aはロータリー型振とう培養装置であり、エタノールアミンの生分解性を確認するための基礎試験に用いた。他方、装置をスケールアップし実用化を計る目的で図2-bの攪拌槽型バイオリアクターと図2-cの充填層(固定床)型バイオリアクターを適用し評価を行った。

2.3.1 ロータリー型振とう培養装置

ロータリー型振とう培養装置は図2-aに示されるように、内壁にバッフル(邪魔板)の付いた容積500mLの三角フラスコと回転型振とう機および恒温槽から構成されている。空気は、三角フラスコの口に取り付けられた綿栓を通して、除菌され容器内へ移動する。容器内の気相から培養液への酸素移動速度は振とう速度と培養液の量によって決まるが、バッフルを取り付けることで酸素移動速度を増大させることができる。

2.3.2 攪拌槽型バイオリアクター

図2-bはバッチ処理タイプの攪拌槽型バイオリアクターの試験装置であり、反応槽、温度コントローラー、空気を吹き込むための散気管、攪拌機およびpHコントローラーから構成されている。本装置の特徴は構造が簡単で温度やpHコントロールが容易に行えることである。エタノールアミン分解菌の増殖曲線の評価および実用化テストを50Lと800Lの反応槽を用いてそれぞれ行った。

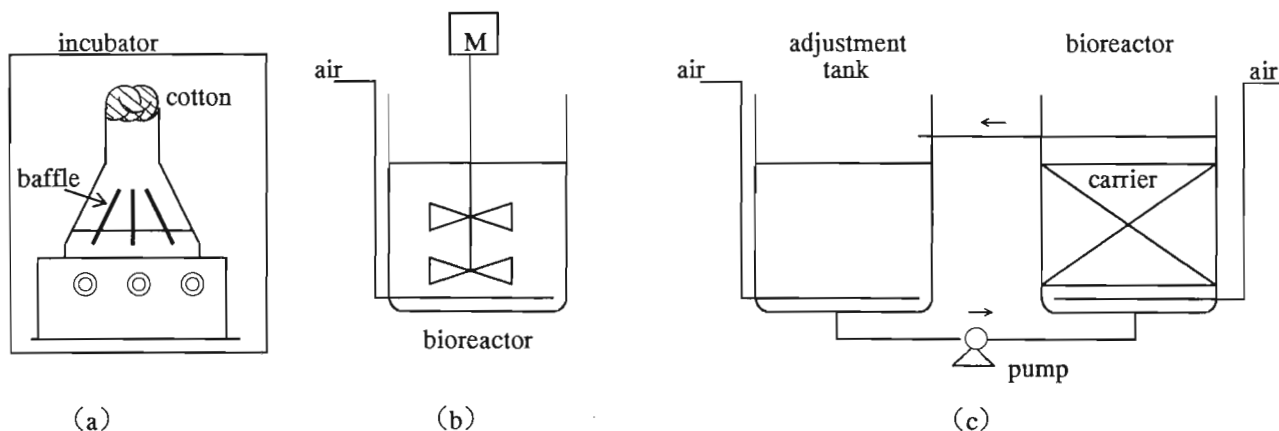


図2 試験装置の模式図

2.3.3 充填層（固定床）型バイオリアクター

充填層型バイオリアクターは図2-cに示されるように、エタノールアミン分解菌を固定化した特殊担体が充填されたバイオリアクターと供試液の温度とpHの調整を行う調整槽と循環ポンプおよび酸素供給のための空気を吹き込む散気管から構成されている。微生物を特殊担体に固定化する目的は高い培養細胞密度を得ることと長期にわたり高い分解能を維持することにある。通常の浮遊培養法では 2.6×10^6 cells/mL 程度であるが固定化することにより 20~50 倍も細胞密度を増加させることが可能であるといわれている⁵⁾。今回のエタノールアミン分解菌は、TEA水溶液に栄養素と微生物培養液を添加し、pHと通気量を一定、液温を25℃に維持しながら調整槽とバイオリアクターの間を一定流速で循環することによって、培養と固定化を同時に行った。その後、エタノールアミンを含む供試液に栄養素を添加し、pH7に中和した後、実験を開始した。評価テストでは、調整槽およびバイオリアクターの容積がそれぞれ50Lと10Lの装置で基礎テストを行い、充填層バイオリアクターの有効性を確認した。その後、装置をスケールアップし調整槽およびバイオリアクターの容積がともに800Lの装置で、実用化のための検討を行った。

2.4 分析方法

処理テストにおいて、pHはガラス電極法により測定し、中和操作は希硫酸と苛性ソーダ水溶液で行った。濁度測定には分光光度計を用い、波長650nmでの吸光度 (A_{650}) を微生物増殖の指標とした。また供試液中のエタノールアミン濃度は、サンプル液を細孔径が0.25 μ mのメンブランフィルターで除菌した後、高速液体クロマトグラフィー (HLPC) により測定した。

2.5 微生物増殖曲線の解析

微生物は一般に次のA~Dの段階を経て増殖する。

- (A) 誘導期 (lag phase) : 細胞物質は増大するが細胞数の増加は認められない。
- (B) 対数増殖期 (logarithmic growth phase) : 細胞数が一定の比増殖速度で増加し、生理活性が最も高い。
- (C) 静止期 (stationary phase) : 基質の欠乏や阻害物質の蓄積などのため、増殖が停止する。
- (D) 減衰期 (decline phase) : 細胞は生命を維持し

えなくなり細胞数が減衰する。

回分培養における細胞の増殖速度は一般に対数増殖期における平均世代時間 (1個の細胞が2個に分裂するのに要する平均時間: ダブリングタイム) t_d (h)と比増殖速度 μ_{max} (1/h)で表現される。これらの t_d および μ_{max} を求めて実用化のための指標とした。また、分光光度計で測定した吸光度 (A_{650}) の値は単位体積あたりの細胞数に比例し⁶⁾、これを濁度と呼んでいる。そこで、今回は t_d 、 μ_{max} を算出するに当たり、650nmでの吸光度 A_{650} を細胞数の相対的数値として用いた。

3. 結果および考察

3.1 ロータリー型振とう培養装置による検討結果

水溶性クラーント廃液には生体系に対して毒性をもつといわれるエタノールアミンが通常5,000~10,000mg/Lも含まれている。そこで、今回用いる菌が高濃度のエタノールアミンを分解可能かどうかについて振とう培養法により検討を行った。

3.1.1 エタノールアミン (EA) の分解

濃度が約10,000mg/LのMEA, DEA, TEAの水溶液をそれぞれについて500mLのバツフル付き三角フラスコに100mL入れ、濁度 $A_{650}=6$ のエタノールアミン分解菌の培養液を3%と栄養素を0.22%添加後、25℃の恒温槽内で回転数150rpmで振とう培養を行った。培養中、1日に1回、pH調整(中性領域)とサンプリングを行った。反応容器内のエタノールアミンの経時変化を図3に示した。図3に示されるように、供試菌株が10,000mg/Lのエタノールアミンを分解資化する能力を有することが確認できた。

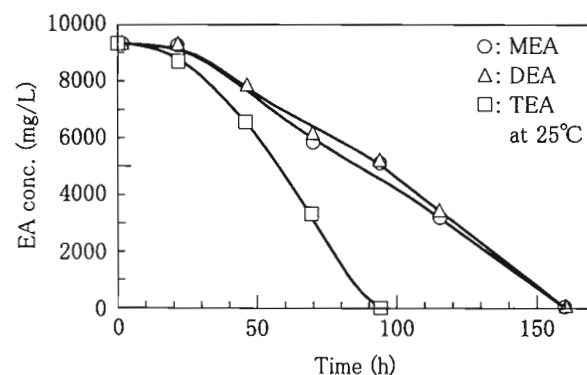


図3 振とう培養系でのEA濃度の経時変化

また三種類のエタノールアミンの分解曲線を比較した場合、見かけ上の分解速度はTEA>DEA, MEAであった。分解には各エタノールアミンの分子数や分子構造と微生物細胞のもつ活性サイトの数などが複雑に関係しており、そのメカニズム解明については今後の課題である。

3.1.2 水溶性クーラントに含まれるエタノールアミンの分解

次に、同様の方法でセミケミカルタイプ（ソリュブルとソリュションの中間的性質をもつ）の水溶性クーラントを用いて、含有するエタノールアミンの分解を試みた。その結果を図4に示した。

サンプルA（■印）の場合は、原液を水道水で60倍希釈した後、供試した。一方、サンプルB（□印）の場合は原液を水道水で60倍希釈した後、前処理として消石灰によるアルカリ処理と硫酸による酸処理を行い、生成するフロックを濾紙で濾過した後、供試した。

図4に示されるように、前処理を施さなかったサンプルAの場合、168時間経過後もTEAが殆ど残留しておりその分解率は12%程度であった。一方、前処理を施したサンプルBは144時間でTEAがほぼ完全に分解した。これは、前処理を施すことによって界面活性剤、脂肪酸、有機インヒビターなどの微生物の代謝活動を阻害する成分が除去されたことによると推察される。

3.2 エタノールアミン分解菌の t_d と μ_{max} の計算

図5は攪拌槽型バイオリアクターにおいて10,000mg/LのTEAを含む培養液中でのエタノール

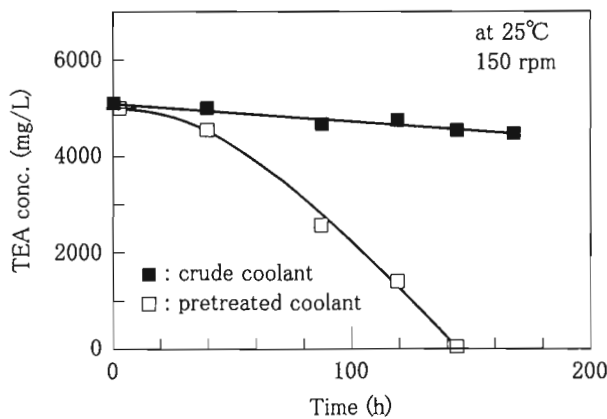


図4 振とう培養系におけるクーラントのTEA濃度の経時変化

アミン分解菌の増殖曲線を示したものである。図中の a_{vvm} (a は一定) は供試液に対して単位時間当たりに通気する空気の割合を示す（1分間に被処理液30Lに対し空気を15L吹き込む場合が0.5vvmという）。

菌体の増殖は

$$dX/dt = \mu_{max} X \quad (1)$$

で表される。ここで X は菌体数、 μ_{max} は対数増殖期における比増殖速度を表す。(1)式を積分することにより ($t=0$ で $X=X_0$ の初期条件を用いて)

$$\ln X = \mu_{max} \cdot t + \ln X_0 \quad (2)$$

$$\ln(X/X_0) = \mu_{max} \cdot t \quad (3)$$

ダブリングタイム、つまり $X/X_0=2$ になる時間 t_d は

$$\ln 2 = \mu_{max} \cdot t_d \quad (4)$$

よって t_d, μ_{max} は

$$t_d = t \cdot \ln 2 / \ln(X/X_0) \quad (5)$$

$$\mu_{max} = \ln 2 / t_d \quad (6)$$

で得られる。

図5のエタノールアミン培養開始後10~20時間が対数増殖期に相当する。この間の時間 $t=10h$ と濁度 A_{650} (菌数の相対値) の値 $X_0=0.8, X=5.0$ を代入して

$t_d=3.8(h), \mu_{max}=0.184(1/h)$ が得られた。

t_d や μ_{max} は微生物の種類や培養条件（温度、pH、酸素濃度、栄養源）によって異なるが、排水処理に利用される酵母⁷⁾の世代交代時間が1~4(h)⁸⁾、 $\mu_{max}=0.25\sim0.69(1/h)$ であることを考慮すると、このエタノールアミン分解菌は十分に実用化可能な増殖速度

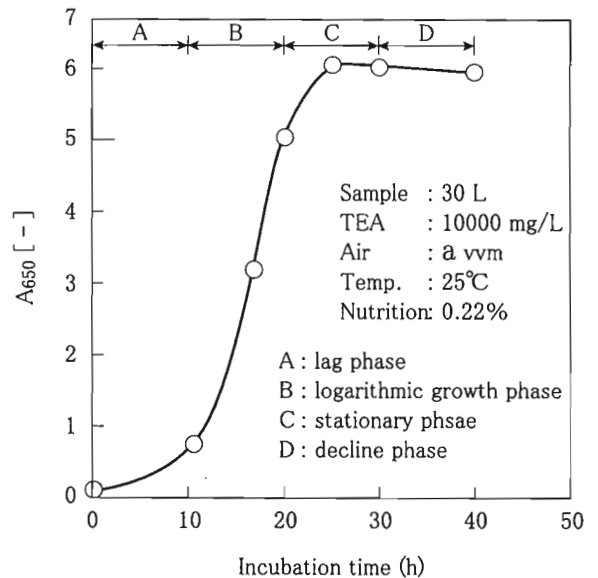


図5 攪拌槽型バイオリアクター系でのエタノールアミン分解菌の増殖曲線

であると考えられる。

3.3 攪拌槽型バイオリアクターの検討結果

振とう培養での基礎テストをもとに、攪拌槽型バイオリアクターの実用化の検討を行った。実験液は3.1.2と同様にセミケミカルタイプの水溶性クーラントを用いた。原液を水道水で100倍、50倍、35倍に希釈し、アルカリ処理と酸処理の二段階の前処理を施した後、Run1~3の実験に供試した。Run1~3の実験条件を表3に示した。被処理液量、pH、温度、微生物培養液の添加量、栄養素の種類と添加量は一定とした。一方、空気吹き込み量はRun1とRun2では a_{vvm} 、Run3ではその2.5倍量の $2.5a_{vvm}$ とした。

図6は培養時間(処理時間)に対して、培養液(被処理液)の濁度(A_{650})をプロットしたものである。各テストの増殖曲線ともに誘導期、対数増殖期、静止期を経て減衰期に至っているが、誘導期に対して希釈倍率と空気吹き込み量の影響が大きく現れていることが判る。Run1(○)とRun2(△)の原液希釈倍率はそれぞれ100倍と50倍である。したがって希釈液中の増殖阻害成分の濃度が2倍量異なると予測される。両者ともに同じ前処理操作により増殖阻害成分の除去は行っているが、これらの残留量の差が、Run1とRun2の誘導期の差として現れているものと考えられる。一方、Run3(□)では希釈倍率がさらに小さく(35倍)、生物阻害成分の濃度が最も高くな

ると予測されるにも関わらず、誘導期の長さはRun1とRun2の中間に位置していた。これは空気吹き込み量を $2.5a_{vvm}$ に上げることにより、酸素移動速度が増加し、誘導期の時間短縮につながったものと考えられる。各テストの対数増殖期における、ダブリングタイム t_d と比増殖速度 μ_{max} を計算し表4に示した。 t_d 、 μ_{max} についても希釈倍率の差による影響が認められるが、その影響は比較的小さいといえる。図7は培養時間に対して、被処理液中のTEA濃度をプロットしたものである。図に示されるように、TEAは微生物の増殖曲線(濁度)と逆の傾向を示した。誘導期は初期濃度のままほぼ一定濃度を推移し、対数増殖期に指数関数的に減少した後、静止期に至る頃、分解が完了した。したがって、攪拌槽型バイオリアクターでは微生物の増殖が最も盛んな対数増殖期においてTEAの分解が最も活発に行われることが判った。

一方、攪拌槽型バイオリアクターを廃水処理に適用する際の課題として、

- ①誘導期が長く全体の処理時間の延長化につながり、しかも増殖阻害成分の影響を受けやすい。
 - ②処理後の液に増殖した微生物を除去する後処理が必要となる。
 - ③微生物を毎回、添加するため経済性が悪く、生理活性維持のための工夫も必要である。
- などが挙げられる。したがって、これらを解決するためには誘導期の短縮化もしくはなくすることと

表3 攪拌槽バイオリアクターの実験条件

| Items | Run1 | Run2 | Run3 |
|-----------------------|---------|---------|---------|
| Sample amount (L) | 600 | 600 | 600 |
| pH range [-] | neutral | neutral | neutral |
| Temperature (°C) | 25 | 25 | 25 |
| Incubated culture (%) | 3 | 3 | 3 |
| Nutrition (%) | 0.22 | 0.22 | 0.22 |
| Air(vvm) | a | a | 2.5a |
| Dilution rate | x 100 | x 50 | x 35 |

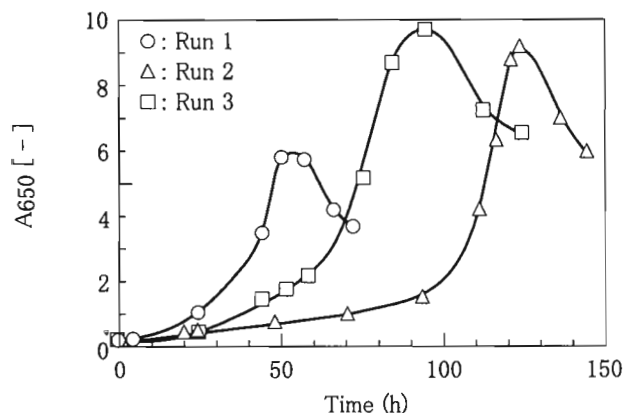


図6 攪拌槽型バイオリアクター系での A_{650} の経時変化

表4 ダブリングタイムと比増殖速度

| Run | t_d (h) | μ_{max} (1/h) |
|-----|-----------|-------------------|
| 1 | 11.2 | 0.062 |
| 2 | 12.4 | 0.056 |
| 3 | 16.6 | 0.042 |

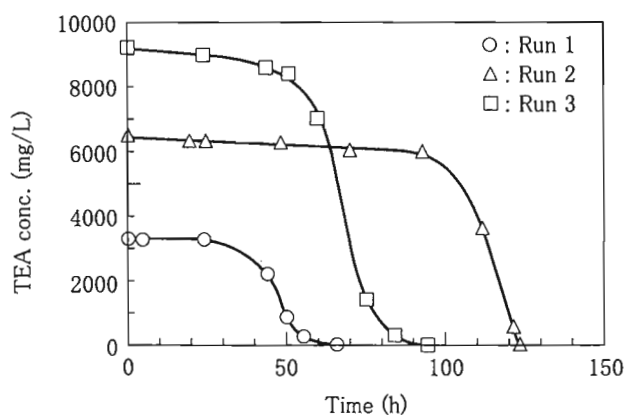


図7 攪拌層型バイオリアクター系でのTEA濃度の経時変化

処理水中の微生物の増殖による濁りの除去対策が必要である。

3.4 充填層（固定床）型バイオリアクターの検討結果

攪拌層型バイオリアクターの欠点を解決するためには、処理開始初期から高濃度の微生物を確保することが必要である。しかも、処理系内で安定に存在することが条件となる。そこで、エタノールアミン分解菌を特殊担体に高密度に固定化し、生体触媒として何度も利用する充填層型バイオリアクターの検討を行った。

実験液は 3.1.2 と同様にセミケミカルタイプのクーラントを用い同様の前処理を施した後、供試した。なお微生物固定化後に行う通常の繰り返し処理では、溶液中で微生物が過剰に増殖するのを抑えるため栄養素の添加量を 0.03% とした。

3.4.1 基礎テストの検討結果

調整槽およびバイオリアクターが各々 50L, 10L の充填層型バイオリアクターにより表 5 に示した条件で基礎テストを行った。図 8 は処理時間に対して TEA とアンモニウムイオン (NH_4^+) の濃度をプロットしたものである。TEA は液循環開始直後から減少

表 5 充填層型バイオリアクターの基礎テスト条件

| | |
|------------------|----------|
| Sample amount(L) | 30 |
| pH range [-] | neutral |
| Temperature(°C) | 25 |
| Nutrition(%) | 0.03 |
| Air (vvm) | 0.3a |
| Flow rate(L/min) | constant |

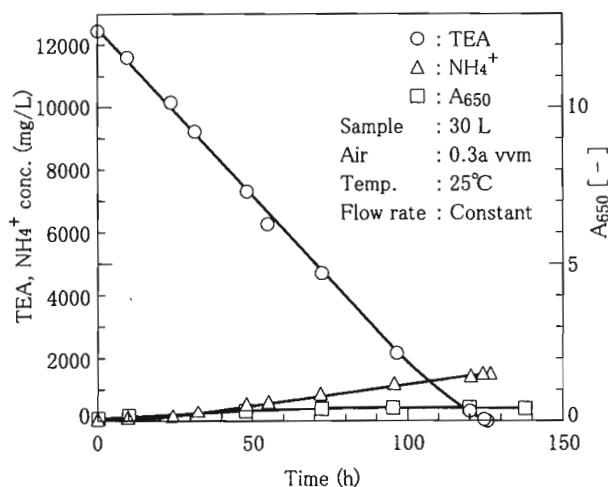


図 8 充填層型バイオリアクター系での TEA, NH_4^+ , A_{650} の経時変化

し、その後も時間に対してほぼ一定の速度で減少した。一方、TEA の分解生成物である NH_4^+ はほぼ一定の速度で増加した。このことから処理液中の TEA の減少が担体への吸着や蒸発によるものではなく、担体に固定化された微生物による分解作用の結果であることが判る。また実験中、液の濁度は 0.5 以下を推移した。このことはエタノールアミンの分解が、液相中の浮遊微生物ではなく担体に固定化された微生物によって優先的に行われていることを示唆している。

充填層型バイオリアクターを用いることにより初期より高い微生物濃度が確保でき、それによって誘導期がなくなり安定した TEA の分解能力を維持できることが判った。また担体を用いることにより、液相の浮遊微生物濃度が大幅に減少し、濁り除去のための後処理がほとんど必要でなくなった。これらのことはバイオリアクターを廃水処理に適用する上で極めて重要かつ有利な点といえる。

図 9 は、実際に工場から出た水溶性クーラントの混合廃液を処理した結果を示したものである。この廃液にはエマルジョン、ソリュブル、ソリュションの各タイプが含まれており、処理開始時のエタノールアミン 7,450mg/L には TEA, DEA, MEA がそれぞれ 6400mg/L, 930mg/L, 120mg/L 含まれていた。これらのエタノールアミンは処理開始とともにほぼ一定の速度で減少し、実廃液に対してもこのタイプのバイオリアクターが有効であることが判った。

ここで攪拌槽型バイオリアクターの対数増殖期における TEA の平均的な分解速度 $\bar{v} = \Delta M_{EA} / \Delta t$ (g/h) と充填層型バイオリアクターにおけるそれとを比較

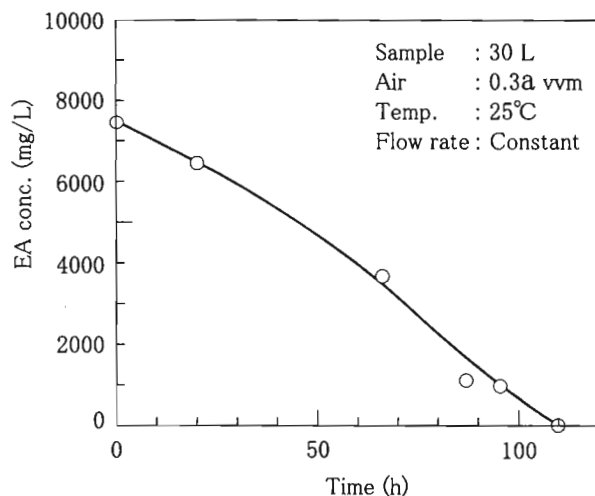


図 9 充填層型バイオリアクター系における実廃液中の EA 濃度の経時変化

すると、600L バッチ処理換算で攪拌槽型が 31~45 g-EA/h であるのに対し充填層型では 37~60 g-EA/h で優れていた。しかし攪拌槽型の対数増殖期のみをとらえると \bar{v} は 50~120 g-EA/h で充填層型より高い値を示した。これは空気吹き込み量の影響もしくは、担体に固定化した菌体の活性が液体中で対数増殖期にある菌体のそれに比べて低い⁹⁾ことによるものと推察される。この点は空気吹き込み量の増加や担体充填密度の増加により改善可能と考えられる。充填層型バイオリクターは水溶性クーラント廃液の処理に適用する場合、誘導期がないことや処理速度が安定している点で非常に優れた方法であると考えられる。

3.4.2 実用化テストの検討結果

次に、装置をスケールアップし、実用化のための検討を行った結果について述べる。容積 800L の調整槽に被処理液 600L を入れ、同じく容積 800L の生物リアクターに微生物固定化後の液 (TEA は完全分解) を 700L 残した状態から液循環を開始し処理を繰り返した。処理条件は循環速度一定、処理温度 25℃、pH は中性領域、生物リアクターでの空気吹き込み量 $2.5a_{vm}$ とし、栄養素は 0.03% 添加とした。処理条件および結果を表 6 および図 10~13 にそれぞれ示した。表 6 において \bar{v} は平均分解速度 ($\Delta M_{EA}/\Delta t$) を表す。また t_i (n to $n+1$) は該当する処理の開始日と前回の処理テストが完了した日との間隔 (h) を示すものであり、この間は負荷をかけずに液を循環した。

図 10 はセミケミカルタイプのクーラントの処理 (シリーズ A) 結果を示したものである。前処理はアルカリ処理と酸処理を組み合わせた二段階処理を行った。A-1~A-4 の各試験において、調整槽と生物リアクターをあわせた全系内の TEA (5,200g) は

処理開始と同時に減少し、48~67 時間でほぼ完全に分解除去された。各試験の \bar{v} は 77~108g-EA/h であった。したがって 600L バッチ処理の本システムによれば 5,500~7,700g (600L 廃液中での濃度: 9,000~13,000mg/L) が 3 日間で分解除去可能である。一方、図 10 において、各試験開始から 25 時間後までに注目するとその後に比べて TEA の減少が緩慢である。シリーズ A では t_i が 3~7 日であり、この時間が立ち上がりの処理能力低下に影響するものと考えられる。これは、系内で微生物の活動に必要なエネルギー源 (TEA など) が減少し貧栄養化状態が長時間続くことにより、微生物細胞が収縮し活性低下をまねいたり微生物の死滅によって活性細胞数が減少するために起こるものと推察される。

図 11 は各種のクーラント廃液に対し前処理として酸処理のみを施した液を生物処理した (シリーズ B) 結果を示したものである。ただし B-5 のみ前処理をせずに供試した。シリーズ B の一連の実験により、ソリュブル、セミケミカルおよびこれらにエマルジョンを混合した廃液について、酸処理のみを施した場合でも廃液中のエタノールアミンの処理が可能であった。 t_i の短い B-2 (Δ), B-4 (\bullet), B-5 (\blacktriangle) と t_i の長い B-1 (\circ) と B-3 (\square) を比較した場合、 t_i の短い方がエタノールアミンの分解が処理開始直後から始まり、分解に要したトータル時間も短いことが判る。一方、 t_i が長い方は開始直後の分解が緩慢であり貧栄養化状態が続いたことによる影響が認められた。

次にシリーズ B で得られた t_i と処理速度の関係を明らかにするために、セミケミカルタイプのクーラント (シリーズ C) および TEA 水溶液 (シリーズ D) での生物処理テストを行った。

図 12 にセミケミカルタイプのクーラントに前処理として酸処理を施した後、生物処理を行った結果を示した。 t_i が 5h (Δ) と 360h (\circ) では明らかにその差が認められ、 t_i が 5h の方が TEA 分解立ち上がりが速いことが判る。一方、 $t_i=360h$ (\circ) の場合、処理開始後 25 時間までは TEA の分解速度が遅いが 25~59 時間の間では急速に分解し、その間の \bar{v} が 112g-EA/h となり C-2 の \bar{v} (111g-EA/h) とほぼ等しくなった。処理直後のエタノールアミン分解が緩慢になる理由として t_i が大きく影響していることが判ったが、その他の要因として前処理後に残留する生物阻害成分の影響が考えられる。そこで前処理の差をなくすために TEA 水溶液で同様の試験を行

表 6 充填層型バイオリクターの実用化テスト条件

| Series | Sample | Pretreatment | Run | Keys | \bar{v} (g/h) | $t_{in(n-1)}$ (h) |
|--------|--------|--------------|-----|------------------|-----------------|-------------------|
| A | a | alkalin+acid | A-1 | \circ | 84 | 168 |
| | a | alkalin+acid | A-2 | Δ | 95 | 96 |
| | a | alkalin+acid | A-3 | \square | 109 | 120 |
| | a | alkalin+acid | A-4 | \bullet | 78 | 72 |
| B | a | acid | B-1 | \circ | 68 | 72 |
| | b+c | acid | B-2 | Δ | 141 | 2 |
| | a+b+c | acid | B-3 | \square | 59 | 120 |
| | b | acid | B-4 | \bullet | 85 | 24 |
| | d | acid | B-5 | \blacktriangle | 132 | 2 |
| C | a | acid | C-1 | \circ | 67 | 360 |
| | a | acid | C-2 | Δ | 111 | < 5 |
| D | TEA | acid | D-1 | \circ | 50 | 240 |
| | TEA | acid | D-2 | Δ | 108 | < 5 |

a: semichemical, b: soluble, c: emulsion, d: solution

った。図 13 に示されるようにシリーズ D の TEA 水溶液の場合もシリーズ C と同様の傾向が認められ、 t_i が TEA 分解の初期の立ち上がりに大きく影響を及ぼしていることが明らかになった。また D-1 (○) において活性が回復し TEA が減少する 50~96hr の \bar{v} は 105g-EA/h となり、D-2 (△) の 108g-EA/h にほぼ等しい値であった。図 14 はシリーズ B, C, D について t_i と \bar{v} の関係をプロットしたものである。図より t_i が長くなるに従い \bar{v} が遅くなる傾向が認められた。

3.5 まとめ

以上、各試験でのエタノールアミン分解のプロファイルを解析することにより以下のことが明らかになった。

- (1) 今回、用いたエタノールアミン分解菌が 10,000mg/L の高濃度エタノールアミンを分解資化する能力をもち、実際の水溶性クーラント廃液の処理に適用可能であった。
- (2) 攪拌槽型バイオリアクターでは誘導期間が長く、しかも阻害物質の影響を受けやすい傾向があるため、安定したエタノールアミン分解能力を確

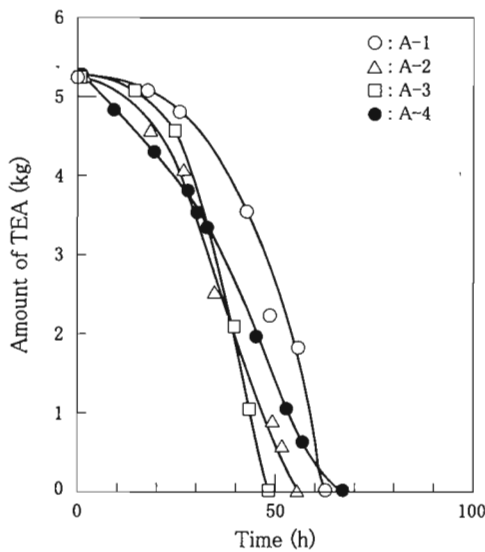


図 10 セミケミカルタイプのクーラントの TEA 総量の経時変化

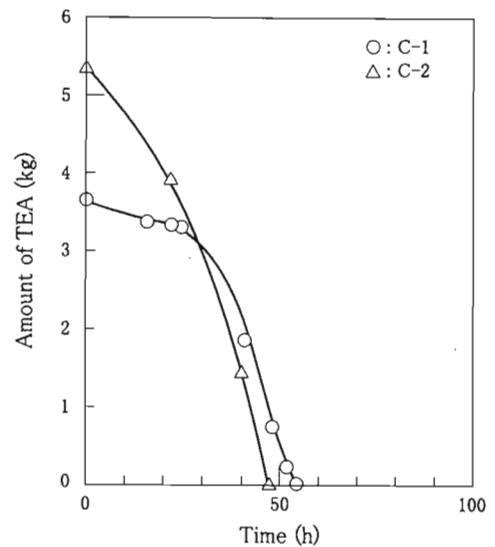


図 12 セミケミカルタイプのクーラントの TEA 総量の経時変化

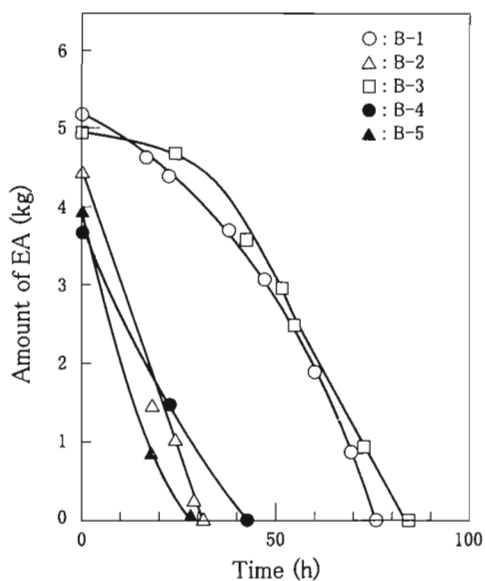


図 11 各種のクーラントおよび混合系における EA 総量の経時変化

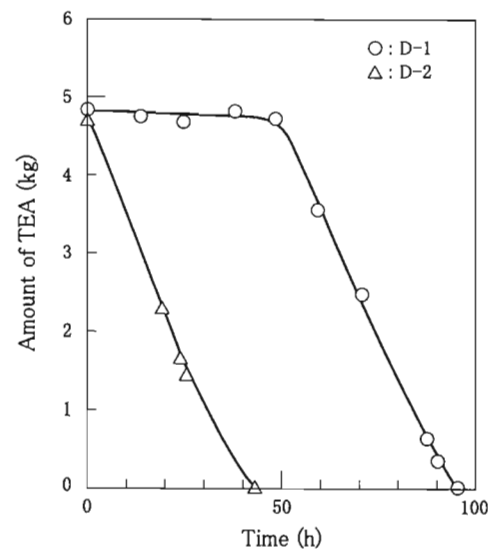


図 13 TEA 水溶液における TEA 総量の経時変化

保できなかった。

- (3) 水溶性クーラントに対する前処理は、生物阻害成分を除去し、エタノールアミンの生分解性を向上させるために高い効果があった。しかも充填層バイオリアクターを用いた場合、酸処理のみの前処理で実用化が可能であることが明らかになった。
- (4) 微生物を担体に固定化し、高い菌体濃度を維持することにより対数増殖期に近いエタノールアミン分解能力が確保できた。
- (5) 充填層バイオリアクターは t_i を 1 日以内にするにより最も高いレベルのエタノールアミン分解速度を維持できた。
- (6) 充填層バイオリアクターでは無負荷状態が 2 週

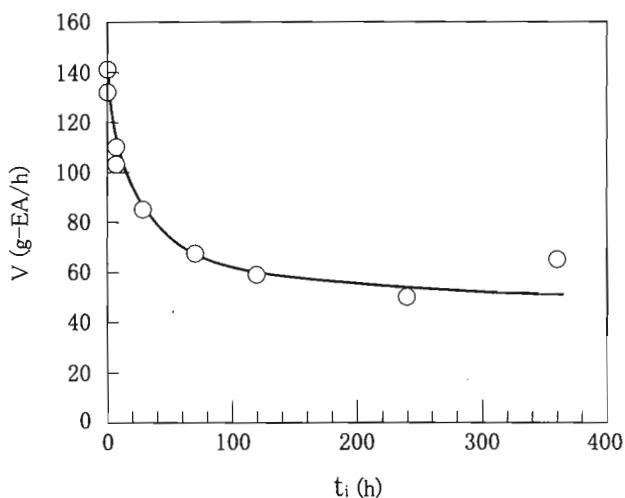


図 14 t_i と V の関係

間続いた場合でも通常の処理速度まで回復可能であった。

本研究の結果は、攪拌槽タイプよりも充填層（固定床）タイプが水溶性クーラント廃液処理に適していることを示したにとどまらず、実装置の設計や処理条件の変化に関する予測などに役立つものと考えられる。

4. 実用化展開

パイロットプラントで得られた結果をもとに'97年10月に社内用実証プラントを設置し、長期運転を実施した。実証プラントの概略フローと外観を図15および図16に示した。この処理システムは油分、スラッジ、界面活性剤などを除去する前処理工程とエタノールアミンを分解する生物処理工程で構成されており、生物処理された液は最終処理のため既存排水処理施設へ放流される。実証プラントは1バッチ2トンの水溶性クーラント廃液を3日で処理でき、年間100バッチ、トータルで200トンの処理能力を有する。長期の運転を実施した結果、エタノールアミンに対し6,700g (6.7kg) -EA/dという高い処理能力を有することが判り、現在水溶性クーラント廃液の自社内処理の推進に役立っている。表7は実証プラントによる処理の一例を示したものである。原水中のTEAが3日以内にはほぼ完全に分解除去され、水質汚濁の指標であるCOD（化学的酸素要求量）が1/10以下、BOD（生物化学的酸素要求量）が1/20

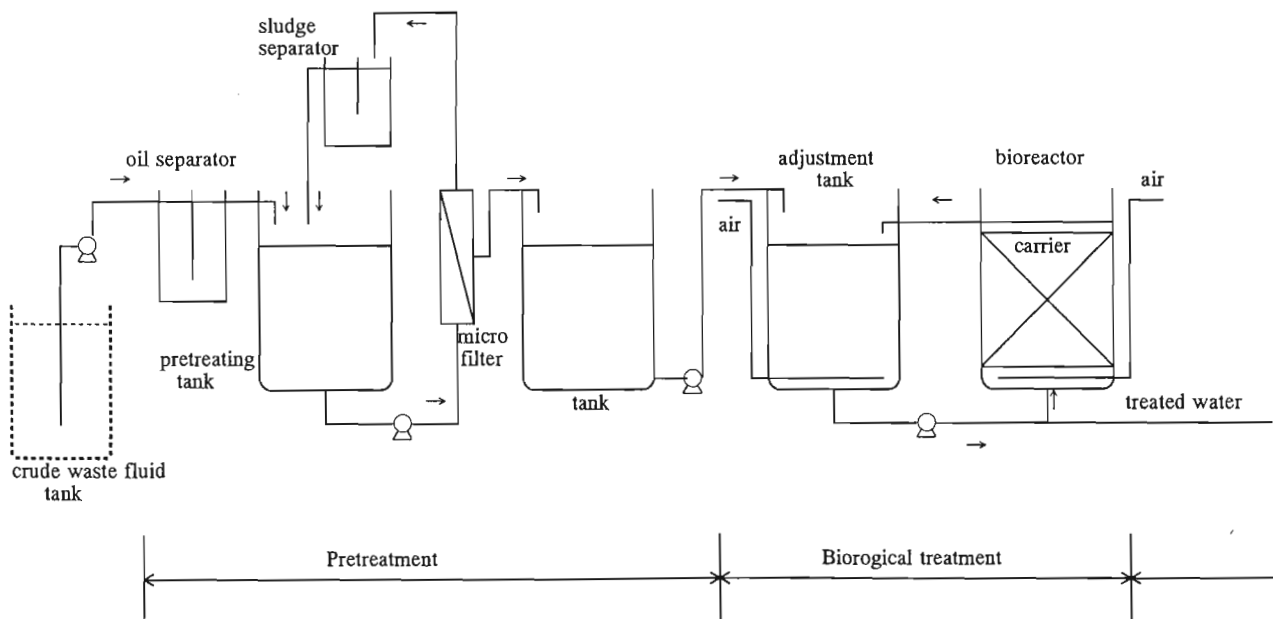


図 15 実証プラントの概略フロー

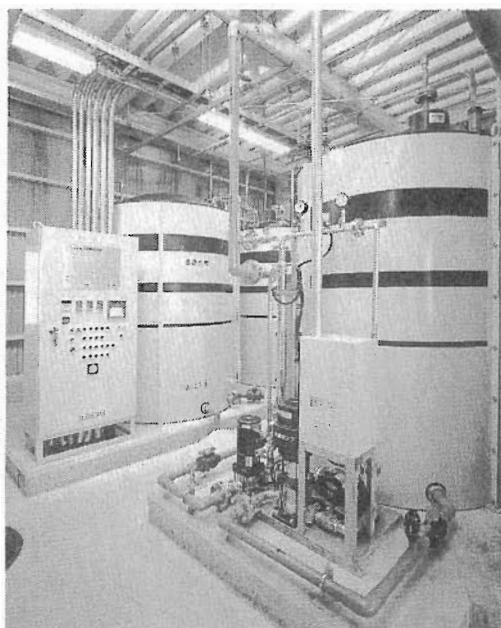


図 16 実証プラントの外観

表 7 実証プラントによる実施例の水質分析結果
(処理時間：72h)

| Analysis items | Crude wastewater | Treated wastewater |
|----------------------|------------------|--------------------|
| TEA (mg/L) | 10,040 | not detected |
| COD (mg/L) | 9,820 | 710 |
| BOD (mg/L) | 12,600 | 600 |
| pH [-] | 9.1 | 7.4 |
| A ₈₅₀ [-] | - | 0.05 |

文 献

- 1) 測上正晴；機械技術，40(14)，p.59-63(1992)
- 2) F.J.Ludzack, J.Water Poll. Control Federation, 32, 1173(1960)
- 3) 黒井信臣；機械技術，39(2)，p.95-100(1991)
- 4) 和田洋六；水のリサイクル(応用編)地人書館(1992)
- 5) Looby, D & B.Griffiths；Immobilization of animal cells in porous carrier culture. Tibtech. 8, p.204-209(1990)
- 6) 生物工学実験書，社団法人日本生物工学会，培風館，p.17(1996)
- 7) 大野茂，鈴木頭，志村一彦；用水と廃水，33(8)，p.44-48(1991)
- 8) 川瀬義矩；反応生物工学の基礎，化学工業社，p.49(1993)
- 9) 白鳥寿一，千田信；資源と素材，112(2)，p.39-44(1996)



宮沢剛一

1986年 入社，技術開発部にてCVDコーティング，セラミックス構造材料，粉末射出成形の技術開発に従事。
1994年 同EEプロジェクトにて，バイオ式廃液処理装置の開発に従事。現在に至る。



中谷恒二

1974年 入社。
1994年 技術開発部，EEプロジェクトにてバイオ式廃液処理装置の開発に従事。
1998年より環境改善を担当。



川倉勝之

1994年 入社。技術開発部にてバイオ式廃液処理装置の開発に従事する。現在に至る。



佐伯隆司

1991年 入社。技術開発部材料開発部にて化学分析業務に従事。
1997年 技術開発部商品企画部にてバイオ式廃液処理装置の開発に従事。現在に至る。

以下まで除去できることが実証された。実証プラントの長期運転とその実績から実用化可能なレベルに達したと判断し，水溶性クーラント廃液処理装置「BIO-FINE (バイオフィン)」として商品化した。

6. おわりに

充填層型バイオリアクターシステムが，微生物による浄化作用をリアクター内で人工的に制御可能にし，しかも水溶性クーラントに含まれる高濃度のエタノールアミンに対しても高い処理能力を維持できることと実用化レベルでの実証ができたことを述べた。

水溶性クーラントは，従来の金属加工用だけでなく，半導体，セラミックス，ガラスなどの非金属の加工用にまでも適用範囲を拡大している。さらに従来，洗浄剤として広く用いられてきたフロン113や1,1,1-トリクロロエタンの全廃により代替洗浄剤となる水系洗浄剤の成分としてもエタノールアミンの使用量が増大する傾向にある。このような状況のなかで，エタノールアミンを含む廃液の処理が今後ますます重要になるとともに「BIO-FINE」がその解決方法を提供するキーテクノロジーになると期待される。一方，工場廃液は一般に混合廃液として扱われることが多く，しかも排出が断続的である。今後「BIO-FINE」が広く一般に認知され，その能力を発揮するまでには廃液の分別回収やその保管方法の確立など廃液管理の面で乗り越えなければならないハードルがいくつかある。しかし，環境管理システムISO14000が急速に普及しており，それらの問題は近い将来，解決されるであろう。その際，「BIO-FINE」が社会的使命を十分に果たせるようにたゆまぬ努力が必要であろうと考える。