

# バクテリアリーチングによる愛媛県の廃棄物からの 金属の溶出に関する検討(第3報)

津野田隆敏 大塚将成 中村洋祐

A Study on Elution of Metals from Various Wastes in Ehime Prefecture by Bacterial Leaching

Takatoshi TSUNODA, Masanari OTSUKA, Yousuke NAKAMURA

We have examined a method by which various metals such as zinc, aluminium and copper are efficiently eluted by bacterial leaching using *Acidithiobacillus thiooxidans* from industrial wastes exhausted in Ehime prefecture, as previously reported.

In the present study, we examined the practical advantages of various culture methods, and found that the aeration-agitation culture was better than the conventional shaking culture to conduct bacterial leaching. When the bacterial leaching of paper sludge incineration ash (PSIA) was continuously conducted using this culture method, the aluminum concentration in the eluate reached as high as 1600 mg/L. This method could also shorten the residence time necessary for the elution. Moreover, when the eluate obtained from PSIA was used as a flocculant for waste water treatments, it was found that the resultant levels of toxic substances such as total mercury, cadmium and arsenic conformed the effluent standards prescribed in the Water Pollution Control Act in Japan.

Keywords : Sulfur-Oxidizing Bacterium, *Acidithiobacillus thiooxidans*, Aeration-agitation Culture

## はじめに

当研究所では、経済性や技術的な問題から有効利用されることなく埋め立てられている産業廃棄物からバクテリアリーチング(以下「BL」と略.)の手法<sup>1~8)</sup>により有用金属を回収し、再資源化を図る研究<sup>9~12)</sup>を行っている。

これまで、廃棄物の有効利用状況を調査し、含有成分の分析調査を行い、それらの結果を踏まえて、BLに利用されている細菌として文献等<sup>1,13,14)</sup>に報告されている硫黄酸化細菌を用いた金属の溶出について、検討を行ってきた。特に、製紙スラッジ焼却灰については、振とう培養により高濃度のアルミニウム(以下「Al」と略.)が溶出し、凝集材としての有効利用が確認され、その経済性が見込ま

れた。

今回は、実用性の観点から振とう培養に替わる培養法を検討し、BL溶出液の排水処理材としての有効利用が確認できた製紙スラッジ焼却灰を用いて、連続培養によるBL溶出液の回収について検討した。更に、BL溶出液及びその溶出残渣については、環境関係法令に基づく基準と照らし合わせ、安全性を検討した。また、今後、凝集材としての実用性を考える上で採算性、経済性の検討を行った。

## 実験方法

### 1 振とう培養に替わる培養法の検索方法

実用性の観点から、振とう培養に替えて、通気や攪拌による培養法について、その増殖状況から最適増殖条件

を検討した。また、比較対照として、振とう培養を実施した。

(1) 使用菌株

*Acidithiobacillus thiooxidans* NBRC13701

(2) 使用培地

培地は、経済性の点からSt\*10培地(Starkey培地のKH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>成分を1/10とした培地)<sup>9)</sup>を採用した。

(3) 通気攪拌培養の方法

1Lトールピーカーに所定量のイオウを添加。  
5mL 植菌、培地を加えて 1L とし、所定の温度、攪拌速度、通気量で培養開始。  
なお、滅菌操作は省略した。

(4) 振とう培養の方法

500mL 三角フラスコに 2g イオウを添加、滅菌。  
1mL 植菌後、培地を加えて 200mL とし 30 ,  
120rpm で振とう培養した。

(5) 増殖状況の確認方法

1~2日ごとに試料を約2mL採取し、菌体数の計数、pH、硫酸イオン濃度の分析を行った。硫酸イオン測定用試料は、10000rpmで10分間遠心分離し、上澄み液をイオンクロマトにより分析した。

- ・菌体数:サンリードガラス社製バクテリアカウンター
- ・pH:(株)東興化学研究所製pHメータ TPX-999i
- ・硫酸イオン:日本ダイオネクス社製イオンクロマト

## 2 回分培養による最適溶出条件の検索方法

上記1の振とう培養に変わる培養方法の検討の結果から得られた最適増殖条件を踏まえて、回分培養による製紙スラッジ焼却灰のBLを行い、高いAl溶出濃度を得るための最適条件を検索した。

従来の振とう培養の結果から、使用する製紙スラッジ焼却灰試料、試料添加量は次のとおりとした。

- ・試料ES: 4.0% , 6.0%
- ・試料MR: 1.5% , 2.0%

なお、本実験以降における使用菌株と培地は、実験方法1と同一とし、比較対照として振とう培養も実施した。

(1) 通気攪拌での回分培養による溶出試験の方法

1L 反応槽にイオウ 10g を添加。  
5mL 植菌、培地を加えて 1L とし、30 , 攪拌速度 240rpm、通気量 0.5L/分 で前培養開始。  
増殖確認後、焼却灰試料を一定量投入して BL を開始  
BL 開始 1,5,10,15 日後に反応槽から溶出液を 20mL 採取。  
採取試料は、10000rpm で 5 分間遠心分離し、上澄み液を 0.8μm シリンジフィルターでろ過後、pH、

Al 濃度を分析した。

(2) 振とう培養による溶出試験の方法

1(4)と同様の方法により前培養開始  
増殖確認後、通気攪拌培養と同等量の焼却灰試料を投入して BL を開始  
BL開始 1, 5, 10, 15 日後に溶出液を 16mL 採取。  
採取試料は、前処理後(2(1) の操作)pH, Al 濃度の分析を行った。

## 3 連続培養による最適溶出条件の検索方法

回分実験の結果と文献の報告内容<sup>15)</sup>を踏まえて図1に示す培養装置を試作し、最適な連続溶出条件を検討した。

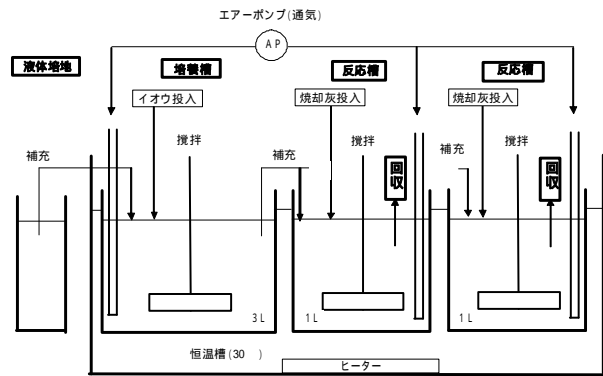


図1 通気攪拌培養装置

試料は、製紙スラッジ焼却灰ESを使用した。

連続培養による溶出操作等の試験方法は、次のとおり。

3L培養槽、1L反応槽にイオウを1%となるように添加。  
3L培養槽、1L反応槽にそれぞれ15mL、5mL植菌し、培地を添加して3L、1Lとし、30 , 攪拌速度 240rpm、通気量各1.5、0.5L/分 で前培養を開始。  
増殖確認後、反応槽に焼却灰試料を滞留時間相当量投入して、BLを開始。

BL開始翌日以降、1日1回、滞留時間相当量の溶出液を反応槽から採取、培養槽から同量の培養液を反応槽に補充するとともに滞留時間相当量の焼却灰試料を投入した。

培養槽には、反応槽への補充量相当分の液体培地とイオウを補充した。

採取試料は、2(1) の前処理後、pH、Al濃度等の分析を行った。

## 4 BLによる溶出液及び残渣の安全性の確認方法

試料ESの連続実験(実験方法3)で得たBL溶出液と、BL後の残渣について、次の方法で安全性を確認した。

検査項目は、全水銀、カドミウム、鉛、六価クロム、砒素、セレンの6項目、使用機器は以下のとおりである。

- 全水銀:日本インスツルメンツ(株)製RA-3A  
還元気化水銀測定装置

カドミウム、鉛、六価クロム:

アジレント・テクノロジー(株)製720ES ICP-OES

砒素、セレン:(株)日立ハイテクノロジーズ製Z-2000

原子吸光光度計(水素化物発生装置付属)

測定方法:昭和48年2月17日環境庁告示第13号「産業廃棄物に含まれる金属等の検定方法」に準拠して実施した。

## 結果及び考察

### 1 通気攪拌培養による最適増殖条件の検索結果

#### (1) 培養方法の検討

従来の振とう培養に替わる培養方法として、通気のみ、培養槽内部を二重構造にして通気による上昇流を発生させ攪拌する方法、攪拌のみの方法、通気と攪拌を同時に行う方法、比較対照として従来の振とう培養の5種類の方

法について検討した。その際、通気による上昇流と振とう培養は30℃もしくはそれに近い温度に保って実施したが、他は室温で行った。培養の結果得られた菌体数、硫酸イオン濃度、pHの経時変化を図2~4に示す。

最適培養条件を検討するに当たり、対数増殖期における増殖速度と定常期におけるバクテリアの増殖量から判断した。

培養方法については、通気のみ、通気による上昇流、攪拌のみでは、菌体数及び硫酸イオン濃度に大きな増加はみられなかったが、通気と攪拌を同時に行えば、最終的に室温でも従来の振とう培養と同程度の増殖をすることが分かった。そこで、培養方法は通気攪拌培養とし、最適培養温度について検討した。その結果を図5~7に示す。

室温でも約20℃以上あれば恒温槽での培養と同様の菌体数の増加がみられたが、硫酸イオン濃度は温度によ

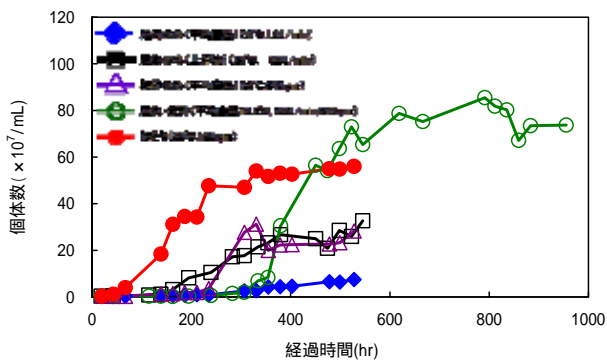


図2 培養方法による個体数の経時変化の比較

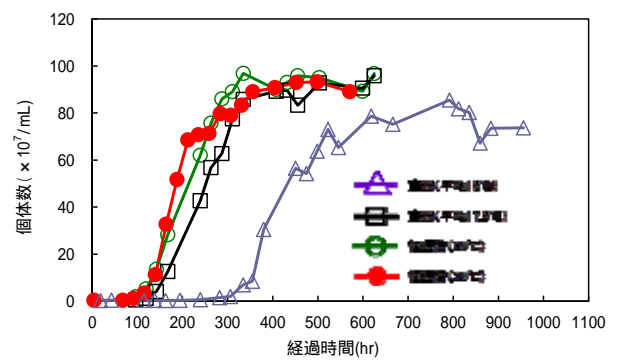


図5 温度条件による個体数の経時変化の比較

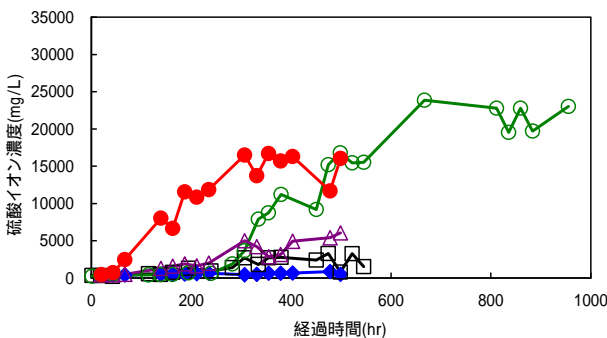


図3 培養方法による硫酸イオン濃度の経時変化の比較

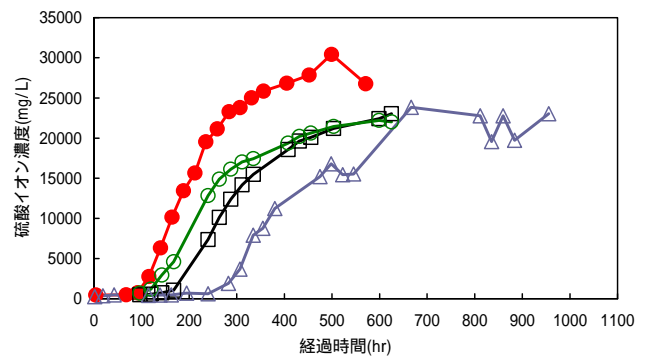


図6 温度条件による硫酸イオン濃度の経時変化の比較

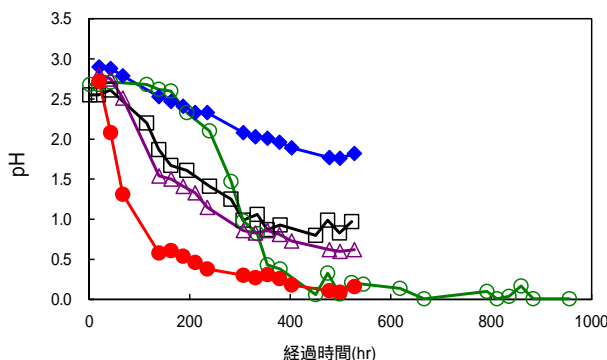


図4 培養方法によるpHの経時変化の比較

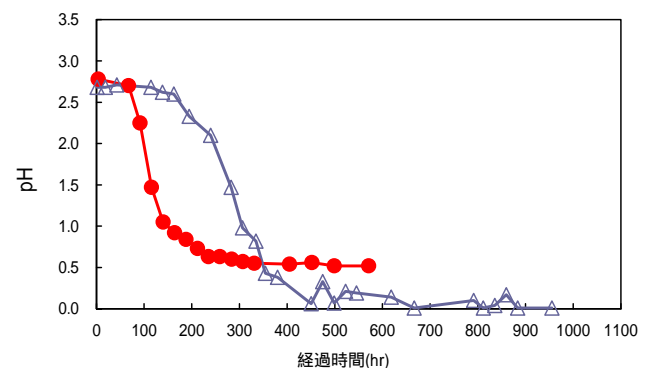


図7 温度条件によるpHの経時変化の比較

って異なり、30 に設定したものが最も高濃度であったことから、30 の恒温条件下で培養することが最も効果的と考えられた。

通気攪拌培養で培養温度を30 として、以下イオウ添加量、通気量、攪拌速度について検討<sup>12)</sup>した。条件設定に当たっては、現在まで当研究所で行ってきた検討結果や文献等を参考に、経済性や環境負荷の少ない方向に検討を行った。

イオウ添加量を0.5%、0.7%、1.0%として検討した結果、1.0%のイオウ添加量が最適と考えられた。次にイオウ添加量を1.0%として、通気量を0.1L/分と0.5L/分で検

討した結果、0.5L/分が最適と考えられた。さらに攪拌速度を150、200、240rpmとして比較検討したところ、240rpmが最も良好であった。

以上のとおり、最適培養条件としては、培養方法は通気攪拌培養、培養温度30、イオウ添加量1.0%、通気量0.5L/分、攪拌速度240rpmとなった。

## (2) 最適増殖条件における通気攪拌培養と振とう培養の比較

最適条件での通気攪拌培養と従来の振とう培養を同時に実施した。実験の結果、図8～10に示すとおり、菌体数及び硫酸イオン濃度とも通気攪拌培養の方が良好な結果が得られた。

## 2 回分培養による最適溶出条件の検索結果

通気攪拌培養による最適増殖条件を踏まえて、試料ES、試料MRについて、それぞれのpH、Al 溶出濃度の経時変化、溶出率の経時変化を図11～16に示す。

MR の場合、最大溶出濃度は添加量 1.5% で約1500mg/L、溶出率 100%近くであった。添加量 2.0%で

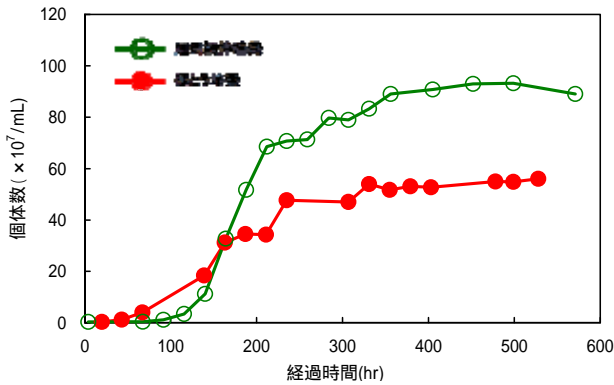


図8 通気攪拌培養と振とう培養による個体数の経時変化の比較

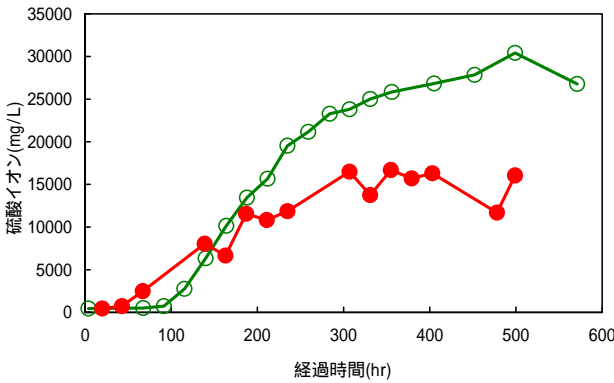


図9 通気攪拌培養と振とう培養による硫酸イオン濃度の経時変化の比較

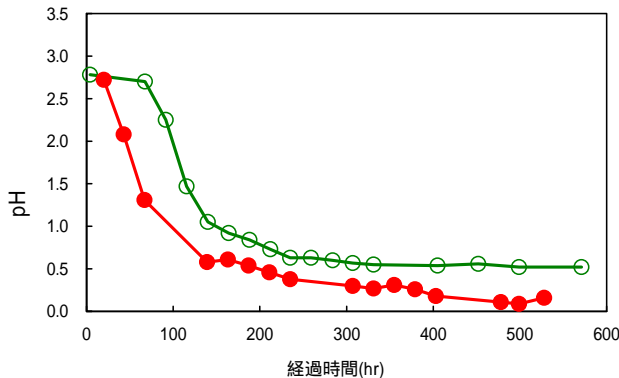


図10 通気攪拌培養と振とう培養によるpHの経時変化の比較

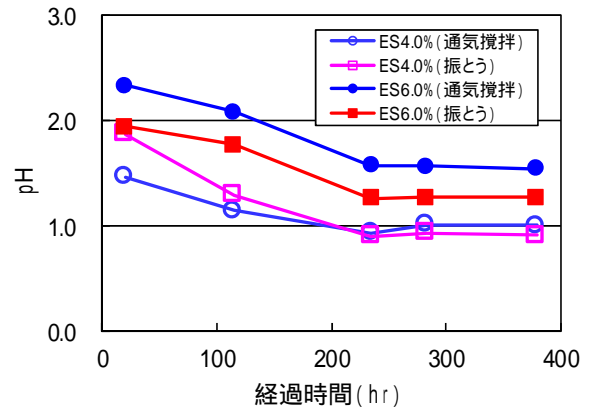


図11 試料ESにおける溶出液のpH経時変化

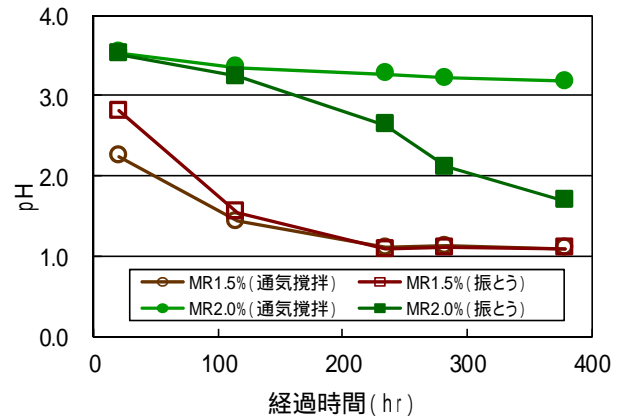


図12 試料MRにおける溶出液のpH経時変化

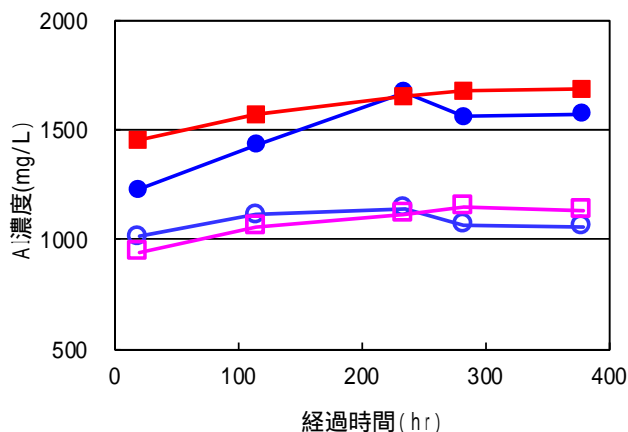


図13 試料ESにおける溶出液のAl濃度経時変化

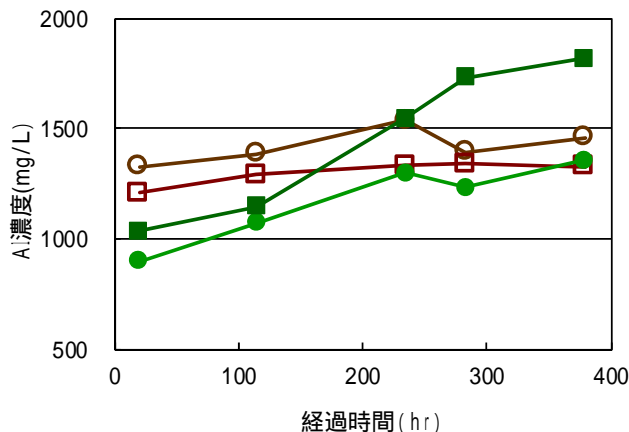


図14 試料MRにおける溶出液のAl濃度経時変化

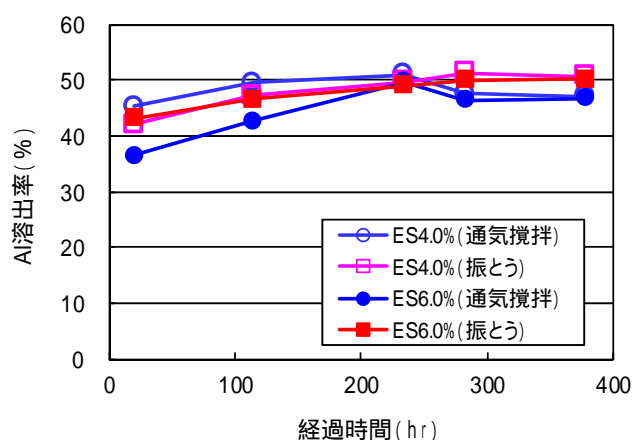


図15 試料ESにおける溶出液のAl溶出率経時変化

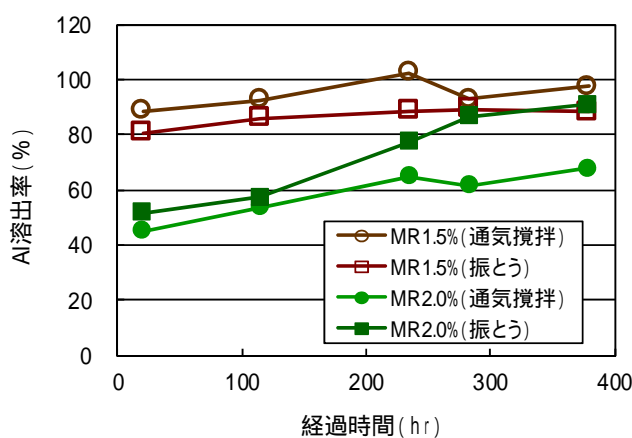


図16 試料MRにおける溶出液のAl溶出率経時変化

は、振とう培養の溶出濃度及び溶出率には至らなかった。一方、ESの場合、最大溶出濃度は添加量6.0%で約1600mg/L、溶出率50%近くであった。いずれも、振とう培養の最大溶出濃度、溶出率には及ばなかったが、排水処理材として十分利用可能な濃度と考えられる。

今後の培養方法の改良等による溶出率の改善、及び前報<sup>10)</sup>で述べた溶出液製造に係る経費の点から、ESの方がMRよりも有用性が高いと考えられることから、連続培養試験で検討する試料はESを対象とすることとした。

### 3 連続培養による最適な連続溶出条件の検索結果

従来から培養日数を15日としてきたことから、培養槽も

表1 連続培養による実験条件

項目	連続実験1	連続実験2	連続実験3
試料の種類	焼却灰試料ES	同左	同左
試料添加量	4.0%, 6.0%	6.0%	6.0%
培養槽の滞留時間	15日	15日	10日
反応槽の滞留時間	15日	7日, 10日	10日
溶出液採取・培地補充量	65mL/日	136mL/日, 95mL/日	95mL/日
1日あたり試料補充量	2.52g, 3.78g	8.16g, 5.70g	5.70g

反応槽も当初は滞留時間を15日とし、徐々に短縮する方向で条件設定を変更しながら、計3条件で連続実験を行った。その実験条件を表1に示す。

なお、連続実験3は、連続実験1終了後に試料添加量6%の反応槽の溶出液採取量及び試料添加量を増加させ、滞留時間を15日から10日へ短縮して実験を行ったものである。培養槽も同様に、滞留時間の短縮に合わせて液体培地、イオウの添加量を増加させ、実施した。

#### (1) pH, Alの溶出濃度、溶出率等の変化

前培養以降、試料添加からのpHの変化を図17に示す。反応槽における溶出液のpH値は、連続実験1と2のいずれも試料添加開始から約一週間で安定し、連続実験1と3では、ES4.0%はpH1.0程度、ES6.0%はpH1.2~1.3程度で一定となった。連続実験2における溶出液のpH値は、反応槽滞留時間7日、10日のいずれも約1.4で一定となり、滞留時間を15日とした連続実験1よりも少し高い値を示したが、pH値は大きく変動することなく、安定して連続培養を行うことが可能であった。

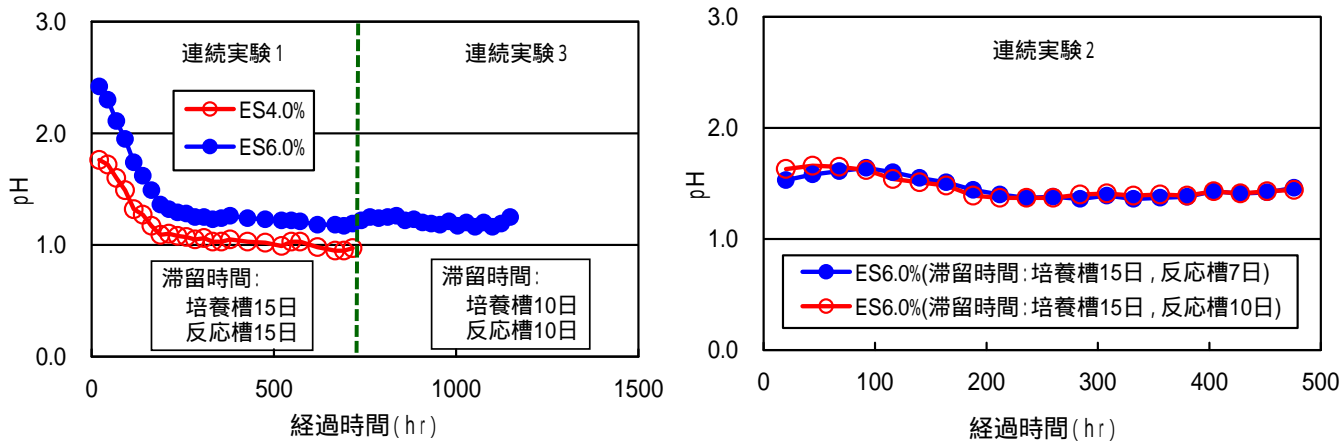


図17 連続実験1, 2, 3における溶出液のpH経時変化

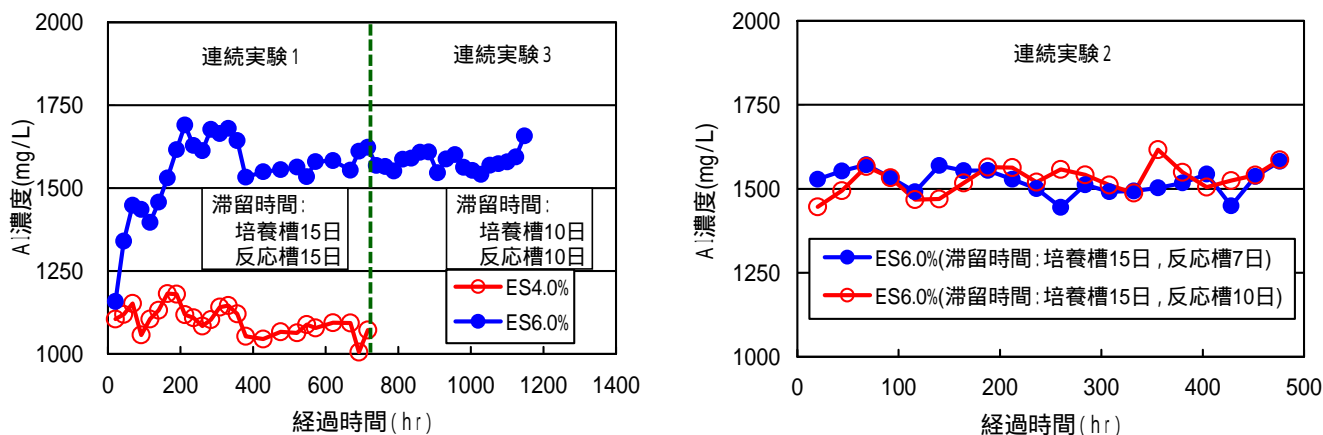


図18 連続実験1, 2, 3における溶出液のAl濃度経時変化

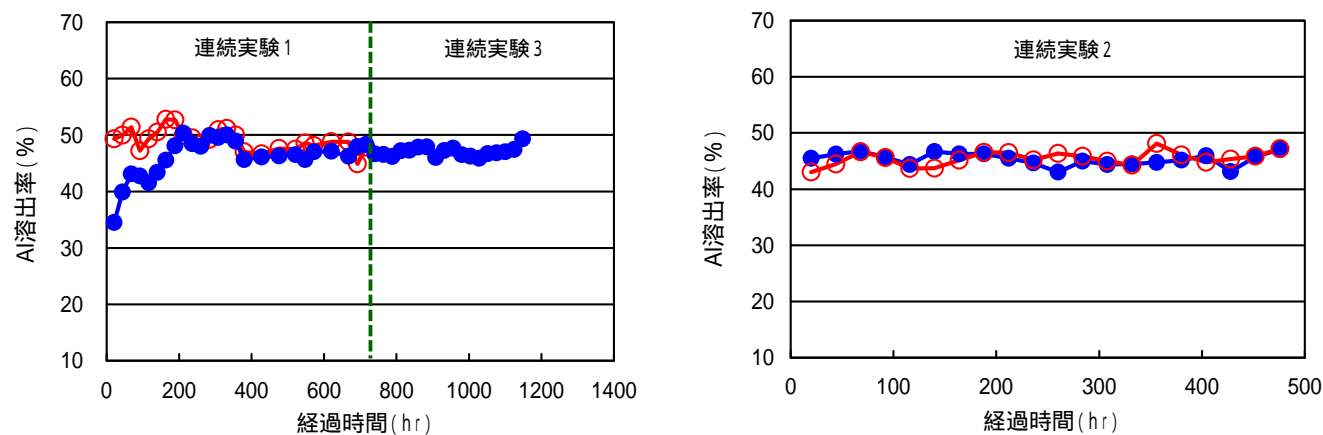


図19 連続実験1, 2, 3におけるAl溶出率経時変化

次に、連続実験1～3における溶出液のAl濃度の経時変化を図18に、Al溶出率の経時変化を図19に示す。

連続実験1のES4.0%のAl濃度は、試料投入翌日から1100mg/L程度で横ばいとなった。連続実験1のES6.0%は、試料投入翌日の約1200mg/Lから徐々に増加し、8日目からは約1600mg/Lで一定となった。

連続実験2は、反応槽滞留時間7日、10日のいずれも

試料投入翌日から1500mg/L程度のAl濃度が得られ、以降は横ばいとなった。

Al溶出率については、連続実験1～3のいずれも5割程度で一定となり、回分実験の結果と同程度であることから、ESは7日までの反応槽滞留時間であれば、連続培養によるBLでも排水処理材として利用可能な濃度のAlの溶出が確認できた。

連続実験における反応槽1LあたりのAl溶出量を図20に示す。Al溶出量と反応槽の滞留時間の関係から、今後さらに滞留時間を短縮できる可能性が認められた。短縮することで、より規模の小さい連続培養装置で必要なAl溶出量が得られる可能性があり、今後検討が必要と考えられる。

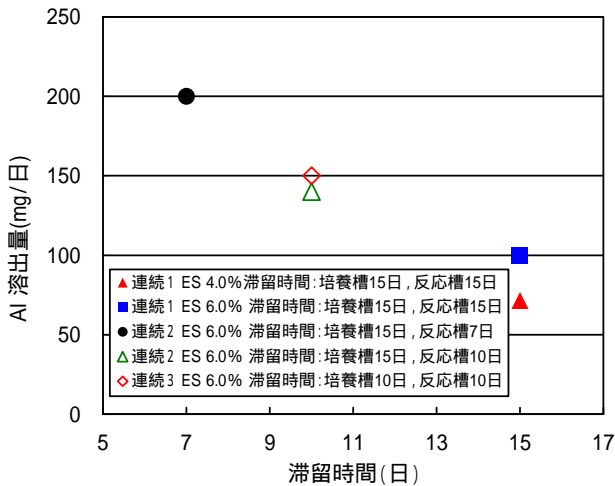


図20 連続培養での反応槽1LにおけるAl溶出量の比

#### (2) 連続培養による排水処理材としての製造単価

Al溶出量から試算した製紙工場等で使用している市販の8%硫酸バンド1t換算の製造単価を表2に示す。

表2 連続実験におけるアルミニウム溶出量

連続実験	1	2	3
試料添加量 (%)	4.0	6.0	6.0
反応槽の滞留時間 (日)	15	15	7
培養槽の滞留時間 (日)	15	15	15
平均Al濃度 (mg/L)	1100	1600	1500
溶出液採取量 (mL/日)	65	65	136
Al溶出量 (mg/日)	72	100	200
8%硫酸バンド1t換算の製造単価 (円)			
最大	35,000	24,000	26,000
最小	21,000	14,000	15,000
参考: 市販品(8%硫酸バンド)の単価 (円)	15,000 ~ 20,000		

備考 1. 実験に用いた製紙スラッジ焼却灰は、全て試料ESである。  
2. 平均Al濃度は、安定後の平均濃度である。

各連続実験の平均Al溶出濃度と溶出液採取量からAlの溶出量は約72から200mg/日となる。溶出率が各実験とも同程度であったため、滞留時間が最も短い、連続実験2における反応槽滞留時間7日のAl溶出量が最も高い約200mg/日と試算された。

この結果から、8%硫酸バンド1t換算の製造単価を試算した結果、約14000円から35000円まで幅がみられたが、最も高い約1600mg/Lの平均Al溶出濃度が得られたES6.0%の連続実験1(反応槽と培養槽の滞留時間15日)及び連続実験3(反応槽と培養槽の滞留時間が10日)が約14000円と最も安価な結果となった。最も安価な実験

条件は、平均Al溶出濃度が最も高い実験条件であり、Al溶出量が最も高い実験条件ではなかった。実用化にあたっては、経済性も考慮に入れた条件設定の必要があると考えられる。

なお、市販品の単価は8%硫酸バンド1tあたり15000~20000円であり、今回の結果は市販品と概ね同程度と試算された。今後は、更にAl溶出率を振とう培養程度に高くすること、イオウ等経費の高む使用薬剤をより単価の低いものに切り替えること等により、さらに経済性を見込めるものと考えられる。

#### 4 BLによる溶出液及び溶出残渣の安全性について

##### (1) 溶出液の安全性について

試料ESについて、連続実験2で得られた滞留時間7日及び10日のBL溶出液の安全性について検討した。BL溶出液の分析結果を表3に示す。

表3 BL溶出液の安全性試験結果

項目	(単位)	基準値 <sup>1</sup>	連続培養	
			試料ES (6%) 滞留7日	試料ES (6%) 滞留10日
全水銀 <sup>2</sup>	(mg/L)	0.005	<0.0005	<0.0005
カドミウム	(mg/L)	0.1	0.20	0.20
鉛	(mg/L)	0.1	0.68	0.66
六価クロム	(mg/L)	0.5	<0.05	<0.05
砒素	(mg/L)	0.1	0.52	0.59
セレン	(mg/L)	0.1	<0.01	<0.01
希釈倍率 <sup>3</sup>	-	-	350	350

1: 基準値としては、水質汚濁防止法による一律基準を用いた。

2: 水銀及びアルキル水銀その他の水銀化合物の基準値。

3: 希釈倍率は、各事業場で溶出液を凝集材として使用する場合の希釈倍率である。

分析の結果、BL溶出液は、水質汚濁防止法の一律排水基準値に対して、カドミウム、鉛、砒素が基準値を超過しているが、BL溶出液は排水処理材として利用することを前提としているため、BL溶出液使用の際は、表3下欄のとおり数百倍希釈することから、実用上は問題ないものと考えられる。なお、表3に示した以外の有害物質については、焼却灰試料中に含まれる含有量が低いこと等から対象外とした。

##### (2) 溶出残渣の安全性について

試料ESの連続実験で反応槽の滞留時間7日と10日を得たBL残渣について溶出試験を行い、その安全性について検討した。分析結果を表4に示す。

BL溶出液と同様に、カドミウム、鉛、及び砒素が全検体で検出されたが、いずれも「金属等を含む産業廃棄物に係る判定基準に定める省令」に定められている基準値を下回っており、問題はなかった。

表4 BL残渣の安全性試験結果

項目	(単位)	基準値	連続培養	
			試料ES(6%) 滞留7日	試料ES(6%) 滞留10日
全水銀	(mg/L)	0.005	<0.0005	<0.0005
カドミウム	(mg/L)	0.3	0.019	0.020
鉛	(mg/L)	0.3	0.13	0.14
六価クロム	(mg/L)	1.5	<0.05	<0.05
砒素	(mg/L)	0.3	0.021	0.027
セレン	(mg/L)	0.3	<0.01	<0.01

「金属等を含む産業廃棄物に係る判定基準を定める省令」に定める基準。

## まとめ

### 1 振とう培養に替わる培養方法, 培養条件の検索結果

振とう培養より実用的な通気攪拌培養による培養が可能であり, その培養条件を温度30℃, イオウ添加量1.0%, 通気量0.5L/分, 攪拌速度240rpmとした通気攪拌培養で, 振とう培養と同等以上の増殖効果が得られた。

### 2 回分培養による製紙スラッジ焼却灰のBL最適溶出条件の検討結果

上記通気攪拌培養の最適増殖条件で, 2種類の焼却灰試料について, 試料添加量を変えて回分実験を行った結果, 試料ES添加量6.0%でのBLが約1600mg/Lと最も高いAl溶出濃度が得られた。

### 3 連続培養による最適な連続溶出条件の検討結果

回分実験の試料ESにおいて最適と考えられた条件で連続培養によるBLを行った結果, 培養槽の滞留時間は10日まで, 反応槽の滞留時間は7日まで短縮しても, 約1500~1600mg/LのAl溶出濃度が安定的に得られた。

今後更なる検討によって, 連続実験は一定量のAlをより短期間に得られる可能性があり, 連続培養装置も滞留時間の短い小規模な装置の実用化が期待できる。

BL溶出液について, 排水処理用凝集材として製造単価を試算した結果, 市販の硫酸バンドと同程度であることが判明した。

### 4 製紙スラッジ焼却灰のBLによる溶出液, 溶出残渣の安全性について

いずれも, 次のとおり安全性が確認できた。

(1) 試料ESの連続実験で得たBL溶出液について, 水質汚濁防止法に定める全水銀等の有害物質を分析した結果, 排水処理材として利用するものであることを考

慮すると, 実用上は排水基準を満足するものと考えられた。

(2) 試料ESの連続実験で得たBL残渣について, 溶出試験を行った結果, 廃棄物処理法に定める「金属等を含む産業廃棄物に係る判定基準に定める省令」の基準値を下回っていた。

## 謝辞

本研究を行うに当たり, 大阪府立大学大学院小西教授, 芝浦工業大学工学部山下教授, 大阪大学大学院惣田准教授からの適切な指導・助言をいただいたことに対し深く感謝申し上げます。

連続培養装置の検討にあたっては, 株式会社ダイキアクシスの門屋開発部長, 大森係長から多くの御協力をいただき, 深くお礼申し上げます。

## 文献

- 1) 千田 侑: 微生物資源工学, コロナ社(1996)
- 2) 池道彦: 日本生物工学会メタルバイオテクノロジー研究部会シンポジウム資料, 2008年1月18日
- 3) 小西康裕: 金属資源レポート, 1, 91-96(2007)
- 4) 橋本奨ほか: 水処理技術, 28(5), 13-28(1987)
- 5) 鎌田樹志ほか: 北海道立工業試験場報告, 293, 123-127(1994)
- 6) C.Solisio et.al: Waste Management., 22, 667-675 (2002)
- 7) 小西康裕: 金属, 78(7), 75-82(2008)
- 8) 小西康裕: 金属, 78(8), 42-50(2008)
- 9) 中村洋祐ほか: 愛媛衛環研年報, 11, 29-34(2008)
- 10) 中村洋祐ほか: 愛媛衛環研年報, 12, 22-28(2009)
- 11) 中村洋祐ほか: 平成23年度全国環境研協議会廃棄物資源循環学会年会併設研究発表会抄録, (2011)
- 12) 大塚将成ほか: 第26回公衆衛生技術研究会講演要旨集, 23-25(2012)
- 13) 立田真文: 水処理技術, 44(3), 111-116(2003)
- 14) 趙成珍ほか: 金属資源レポート, 3(2007)
- 15) C.Brombacher et.al: Appl. Environ. Microbiol., 64, 1237-1241 (2002)