

杉樹皮製油吸着材の微生物分解処理技術に関する研究

正員 齊 藤 雅 樹* 小 倉 秀**
 木 本 弘 之** 山 田 吉 彦***
 永 水 堅**** 福 士 久 人*****

Research and Development of Biodegradation Disposal for SBS (Sugi Bark Sorbent)

by Masaki Saito, Member Suguru Ogura
 Hiroyuki Kimoto Yoshihiko Yamada
 Katashi Nagamizu Hisato Fukushi

Summary

Sugi bark sorbent (SBS), which is recycled waste, is comparable to commonly used petroleum products in performance and cost and has lower environmental loads. It has been commercially produced since 2001. For the purpose of reducing total environmental loads in the oil recovery, we investigated biodegradation disposal of SBS after use (after adsorbing oil), instead of incineration disposal. It was confirmed that the oil content was reduced from $14,300 \pm 1,600$ ppm to $1,500 \pm 500$ ppm after 164 days-period (36m^3 site), and reduced from $8,600 \pm 900$ ppm to $1,400 \pm 400$ ppm after 170 days-period (100m^3 site) in a biodegradation experiment using Bunker C in the bark compost (background: 430 ± 140 ppm).

1. 結 言

海洋をはじめとする水域での油流出は環境に影響を及ぼすため、迅速な対応が求められる。油吸着材は機械的回収、海上燃焼、油分散剤、バイオレメディエーションなどとともに選択肢の一つであり、取り扱いや使用が簡便なことから広汎に用いられる。従来品の大半を占めるポリプロピレン製などの石油原料製品の油吸着材に対し、筆者らは同等のコストと性能および低い環境負荷を実現する目的で、杉樹皮製油吸着材 (SBS) の開発を

1997年より開始し¹⁾、2001年に企業化し、製造販売を行うに至った²⁾。

製造段階、使用段階の環境負荷低減には成功していると考えられるが、油を吸着させた後の処分段階においては焼却という石油原料製品と同じ手段を採らざるを得ないのが現状である。せっかくの生分解性を有していながらその特徴を十分に活かしていないとの声もあり、微生物を利用した使用後すなわち吸油後のSBSの分解処理技術を着想するに至った。

海洋油濁事故での使用後の油吸着材 (マット型) における油の占める割合は、ある事故で我々が実測したところ14~21%程度であった³⁾。ナホトカ号事故における回収物に含まれる油分は数%だったという報告もある⁴⁾。事故回収物における可燃物の割合はさほど高くないと推測される。こうした回収物に燃料を添加して焼却処分を行っている現状を知れば、環境負荷低減を目指して微生物分解処理を模索するのはある意味で自然なことである。

筆者らは、杉樹皮を畜糞などと混合してパーク堆肥を

* 大分県産業科学技術センター

** (独)海上災害防止センター

*** 日本財団

**** ぶんご有機肥料㈱

***** 海上保安庁海洋情報部

製造する過程で活発な微生物活動が行われることに着目し、油・SBSの分解を試みた。バーク堆肥を油分解に用いた例は、ヨーロッパで報告がある⁵⁾⁶⁾ほか、国内では油分汚染土壌の浄化対策としての例がある⁷⁾。

予備試験として、C重油を吸着させたSBSを数m³のバーク堆肥パイルに埋め、8週間経過後に観察したところ、臭気や触感で油分を感知できない程度になっていた。より安定な条件にある好気発酵処理装置を用いた予備試験においても油分が減少するデータが得られたため⁸⁾、実用化へのステップとして、バーク堆肥パイルでの一定規模の油およびSBSの分解実験を行った。

2. 周辺技術と目標

2.1 周辺技術

微生物を用いて鉱物油を分解処理する技術は、油汚染海岸を原位置において修復する技術（バイオレメディエーション）が米国などでは法的にも認められており⁹⁾、研究及び実際の処理が行われている。

我が国においては、環境省により汚染場所におけるバイオレメディエーション技術の適用のガイドラインとして、適用場所の想定、汚染状況調査、散布剤の安全性評価、バイオレメディエーション使用適否の検討と適用技術の選択、現場の汚染油を用いた室内実験、現場における小規模野外実験の6つの留意点が挙げられ、実施の可能性を検討する試案が示されている¹⁰⁾ものの、社会的コンセンサスが確立されていないために、いまだ本格的な導入が困難な状況にある⁹⁾。

これに対して本研究における提案は、SBSにより回収した油を閉鎖的なサイトにおいて微生物分解処理する方式であり、周辺環境への影響も小さいことから社会的コンセンサスは得やすいと考えられる。同様の考え方であるソイルパイルやバイオベンディングなどと呼ばれる微生物分解処理技術はすでに、土壌の油汚染の浄化手法として注目を集めており、例えば2003年9月に開催された「土壌・地下水汚染対策展（東京）」においては出展76社中48社が研究開発または事業を行っている¹¹⁾。

2.2 目標

実験に先立ち、油分汚染土壌の微生物による分解浄化スピードについて文献およびヒアリングによる調査を行った。Fig. 1は先述の2003土壌・地下水汚染対策展に出展した企業の配布資料に基づき、油分濃度と分解期間が記されているものの最良データについて、開始点と終了点を直線で結んだものである。

土壌汚染の油は長年の浸漬で変質している場合も多く、フレッシュな油を人工的に添加する今回の手法が微生物分解に有利であることが予想される。一方、既に油が分散している点などは土壌汚染の場合が有利であると考えられる。条件が異なる点もあるため直接の比較対

象とするには必ずしも適切でないが、土壌微生物を用いることや定期的に攪拌を行うなど類似点も多いため目標値を設定する参考とした。

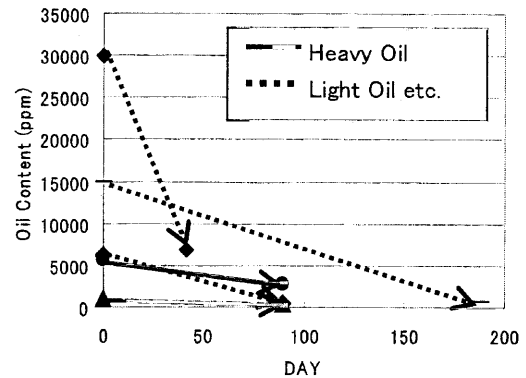


Fig. 1 Previously Published Biodegradation Rate of Oil in Soil

土壌汚染対策法で油分の基準値が定められていないが、各企業へのヒアリングでは1,000ppmを目標値と考えているところが多かった。また、1,000ppm以下まで浄化すれば油臭、油膜が発生しないと言われており¹²⁾、分解後の生成物を再び土壌として利用することも考えられることから、1,000ppmを今回の目標値として設定した。

また、試みに開始点と終了点から油の分解速度を単純に算出すると、Fig. 1に示すとおり軽質油の場合で60~550ppm/日、重質油の場合で5~30ppm/日程度であった。油の分解は濃度依存もあると考えられ、非線形な油分減少を開始点と終了点のみで論ずることはできないが、今回の実験結果を評価する上での参考とするものとする。

なお、油分濃度の記述は土壌汚染などでは水分を含まないdryでの値で議論されており、一般性を持たせるため本稿でもdryでの油分濃度(ppm)を記述した。

3. 誤差評価

本実験における各測定値およびそれらから算出される油分濃度などの誤差について検討を行った。

3.1 溶媒による油分抽出の実験

本実験で分解対象とするC重油を、サンプルであるバーク堆肥からどれだけの量を抽出できるかにつき、実験を行った。溶媒には各種公定法に用いられる一般的な溶媒であるn-ヘキサンを用いた。

サンプルをn-ヘキサンにてソックスレー抽出(4時間)を行い、脱水・ろ過後、80℃のホットプレートにて重量が平衡状態になるまで溶剤揮散させ、乾燥・保冷後

に重量変化を測定した。

C重油そのものをn-ヘキサンで抽出したところ、回収率は投入量の81% ($\sigma=0.6\%$)であった。また、バーク堆肥にC重油を添加し(油分濃度 7.1%·dry),十分に攪拌した状態からn-ヘキサンにて上記方法で抽出したところ、C重油回収率は投入量の76% ($\sigma=3\%$, 相対誤差=4%)であった。また、バーク堆肥そのものからも、430ppm ($\sigma=140\text{ppm}$)ほどのn-ヘキサン可溶物が検出されることが判明した。なお、これらはいずれも全量分析であり、サンプリング動作による誤差は生じない。

また、標準偏差 σ については標本標準偏差すなわち二乗偏差の合計を(サンプル数-1)で除し平方根を取り求める方式で計算した。

3.2 各測定値の誤差評価

4. に示す実験における各測定値における誤差評価を行った。実験室における実験と異なり、フィールドでの比較的大きな規模のものであること、また油分測定対象がバーク堆肥という繊維長が数mmから数cmの範囲にある一様でない材料であることなど、誤差の要因が多くあると考えられるため、それぞれの要因につき検討を行った。

- ・バーク堆肥の水分率は実験により $30 \pm 10\%$ (相対誤差 32%) とした。
- ・バーク堆肥の高比重は実験により 0.46 ± 0.12 (相対誤差 26%) とした。
- ・ホイールローダのバケット容積は、バケット形状から、 $2 \pm 0.2 \text{ m}^3$ (相対誤差=10%) とした。

C重油および吸着マット浸漬用の大型容器の計量は十分精度の高い機材を用いたため、誤差は無視できるものとした。なお、以下文中の測定値は簡単のため最良推定値のみを記載するが、上記誤差を含むものとする。

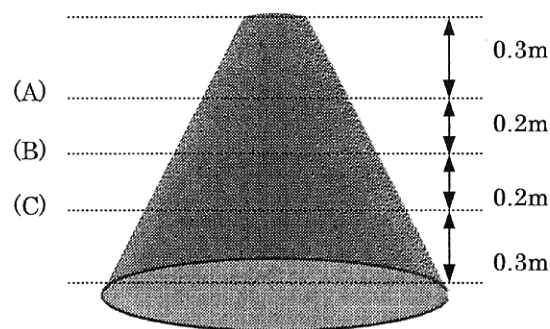
3.3 サンプリング精度の検証

3.3.1 実験の方法

今回の実験における油分濃度の経時変化の測定は、27地点サンプリングにより測定する。この際のサンプルにおける油分濃度のバラつきを検証するため、実験を行った。

本実験の 1/18~1/50 のスケールに相当する、 2m^3 (1t-wet, 0.7t-dry, ホイールローダで計量) のバーク堆肥のパイルから、27箇所のサンプリングを行った。バーク堆肥を計量しながら小さな山を作った後、C重油を投入し、ショベルにて攪拌を行った。計算上の油分濃度は $10,000\text{ppm-wet}$ (相対誤差=10%), $14,300\text{ppm-dry}$, (相対誤差=27%) である。10分間程度攪拌した段階で、パイルの上, 中, 下層 (Section(A),(B),(C)) においてそれぞれの断面円の直径を四等分する点を基とする格子点9箇所, すなわち合計27箇所からサンプリングを行った (Fig. 2)。サンプリングは一箇所50g程度と

した。また、油分濃度はいずれも wet での測定値を、バーク堆肥の水分率の値を基に dry 換算したものである。



Samples were picked up from ① ~⑨ points on sections (A)~(C), removing bark compost from upper to lower layer with power shovel.

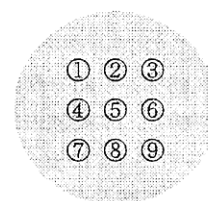


Fig. 2 Sampling Points in Bark Compost Pile

3.3.2 結果

結果を Fig. 3 に示す。

油分濃度の測定値におけるバラつきは大きく、平均値 $6,900\text{ppm-dry}$ ($\sigma=4,700\text{ppm-dry}$, 相対誤差=68%) となった。

目視においてほぼ攪拌されたと思われたが、粘調なC重油の油滴の周囲に雪だるま状にバーク堆肥がまぶされて生成したと思われる直径1~5cm程度の塊状の物体が多く観察された。これらは油分抽出器具の構造上、取り扱い困難なためピックアップしなかったこと、また、サンプリング可能な直径2cm以下の塊についても小さなサジですくい上げる際にピックアップされにくいこと等が原因で、測定値の油分濃度が低めに出ていると思われる。事実、計算上は $14,300\text{ppm-dry}$ であるはずの油分濃度は平均値で $6,900\text{ppm-dry}$ すなわち投入した油分の48%にあたり、バーク堆肥からのC重油回収率76%よりもかなり低い測定値となっていた。なお、この塊状の物体は時間が経過するほど観察されることが少なくなり、開始後120日ではほぼ観察されなくなった。

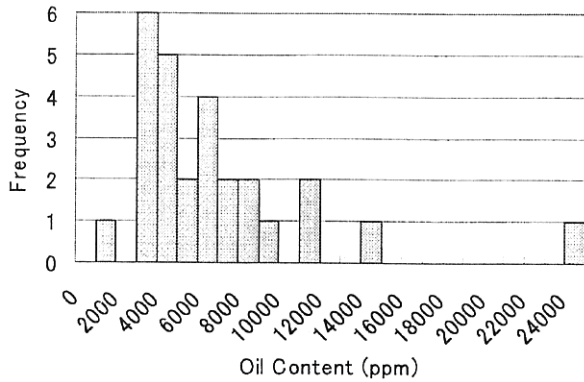


Fig. 3 Histogram of Oil Content in Sampled Bark Compost

このことから、この実験で得られたC重油回収率(48%)を油分濃度の補正に用いることは適当でないと判断し、本実験の結果は、あくまでサンプリングにおけるバラつきの度合いを利用するものとする。すなわち、標本標準偏差から求めた相対誤差を各測定値に採用する。ただし、C重油投入後、スコップによる手作業での10分間の攪拌という段階でのサンプリングであり、水飴状の高粘度の液体がパイル全体に一樣に混合されているとは考えにくく、塊状に点在していると考えられる。2週間ごとの切り替えしや、微生物分解が進むにつれ、この油塊は小さくなり分散・均一化が進行すると考えられるため、3.3の実験のバラつきの度合いは実験開始直後には適用可能であっても、それ以後は時間経過とともに小さくなると推測され、あくまで参考と考えることが妥当である。

3.4 油分濃度の誤差評価

これまで述べた各誤差要因を総合する。独立な複数要因が重なるときは誤差を二乗和で算出している。

初期油分濃度は、ホイールローダのポケット(相対誤差=10%)での作業回数(100 m³の場合 50回)により求めたバーク堆肥パイル容積、バーク堆肥の嵩比重(相対誤差=26%)、投入C重油の重量(相対誤差=0)から求めているため、相対誤差=27%と考えられる。

各測定時点における推定油分濃度は、n-ヘキサン抽出重量法により得られた実測値から、バーク堆肥からのC重油回収率76%(相対誤差=4%)で除し、水分率(相対誤差32%)からdry換算することによって求めるため、相対誤差=32%と考えられる。

参考までに3.3において求めたサンプリングにおける誤差を算入すると、各測定時点における推定油分濃度は相対誤差=75%となる。恐らく、この数値は考えられうる最大に近いものである。

また、バーク堆肥自身の持つ溶媒溶出分(430±140ppm)も誤差を考慮し、グラフ上で帯表示とした。

油分濃度の低い測定値では影響が大きいため、結果の評価において注意が必要である。

4. 実験

4.1 実験の方法

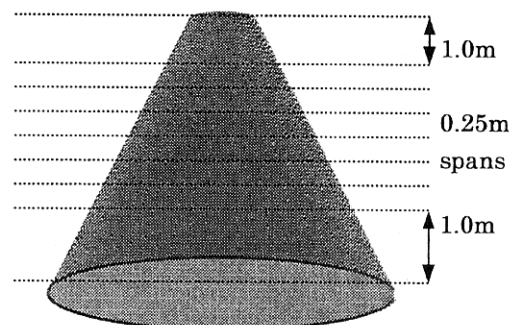
4.1.1 概要

バーク堆肥原料の中に吸油後の油吸着材を埋め込み、円錐形パイル状に被覆した後、定期的に攪拌(切り返し)を行い、油分濃度の変化を調査した。実験のフィールドは、ぶんご有機肥料㈱(大分県竹田市)内に設けた。攪拌はパワーショベルなどの重機を用い、バーク堆肥パイルの上側からすくい取ったものを隣接するサイトに順次移動させる方法で行った。頻度は約2週間に1回であり、この際に油分測定のためのサンプリングも同時に行った。

4.1.2 吸着マット投入の方法

以下の手順に従って、吸着マットをバーク堆肥パイル(Fig. 4)に埋め込んだ。

- 大型容器(ドラム缶)を計量する
- 大型容器に吸着マットを入れる
- 大型容器に計量したC重油を注ぎ、吸着マットに吸着させる
- 吸油後の吸着マットを大型容器から取り出し各パイル断面に規定枚数並べる(Fig. 4~5)
- 大型容器の減量分を計量する
- パイル断面に吸着マットを並べ終わるとバーク堆肥で規定の間隔(高さ)だけ被覆し、順次上のパイル断面に移り、同様の作業を行う



Exp.1 top ϕ 2m, base ϕ 5m, height 3.5m, vol. 36 m³

Exp.2 top ϕ 4m, base ϕ 8m, height 3.5m, vol. 100 m³

Fig. 4 Experiment Pile of Biodegradation



Fig. 5 Setting SBSs on Bark Compost Section

4.1.3 油分濃度と規模

(1) 実験 1 (36 m³)

用いた油はC重油 180kgで、製品版の「杉の油取り」マット (45cm x 45cm) 合計 180 枚に吸着させて実験に供した。バーク堆肥はホイールローダのバケットで容積を計量した約 36 m³ (相対誤差=10%) ほどを用いた。嵩比重が約 0.46 (相対誤差=26%) であることから約 18±2t (12.6±1.4t-dry に相当) であると推定される。パイルの形状はやや膨らんだ円錐台状で、上面φ2m、底面φ5m、高さ3.5m程度となった。バーク堆肥原料は発酵開始から数ヶ月経過した微生物活動の活発なものを使用した (油分濃度 430ppm, σ=140ppm, 相対誤差 33%)。パイル全体の実験開始時の油分濃度は約 14,300 ± 1,600ppm と推定される。

(2) 実験 2 (100 m³)

用いた油はC重油 300kgで、製品版の「杉の油取り」マット型 (45cm x 45cm) 合計 300 枚に吸着させて実験に供した。バーク堆肥はホイールローダのバケットで容積を計量した約 100 m³ (相対誤差=10%) ほどを用いた。嵩比重が約 0.5 (相対誤差=5%) であることから約 50±6t (35±4t-dry に相当) であると推定される。パイルの形状はやや膨らんだ円錐台状で、上面φ4m、底面φ8m、高さ3.5m程度となった。バーク堆肥原料は発酵開始から数ヶ月経過した微生物活動の活発なもの (油分濃度 430ppm, σ=140ppm, 相対誤差 33%) と、実験 1 の油分解実験に供した分解残留物 (分解開始後約 1 年が経過; 油分濃度 1,300ppm, σ=400ppm, 相対誤差 33%) を、9:1 で混合したものを実験に使用した (油分濃度 520ppm, 相対誤差 33%)。パイル全体の実験開始時の油分濃度の平均値は約 8,600 ± 900ppm と推定される。

なお、前回使用した分解残留物を少量混入するのは、油分解に馴化した微生物相により、通常のバーク堆肥原料より高い油分解機能が発揮されるのを期待して

のことである。

4.1.4 攪拌およびサンプリング

バーク堆肥は製造工程において、好気発酵に要する酸素供給のために定期的に攪拌 (切り返し) を行っている。活発な微生物活動に資するため、本実験においても約 2 週間に 1 回の頻度で攪拌を行った。パワーショベルなどの重機を用い、バーク堆肥パイルの上側からすくい取ったものを隣接するサイトに順次移動させる方法で行った。なお、バーク堆肥と埋め込まれた吸着マットは同様に扱って攪拌した。また、攪拌の際に油分測定のためのサンプリングも同時に行った。

4.1.5 測定項目

測定項目は以下のとおりとした。

①油分濃度 (n-ヘキサン抽出重量法) :

2 週間に 1 回程度 (攪拌時毎), 油分濃度がほぼ一定になる時期まで計測

②油種の調査 (ガスクロマトグラフィー(GC)定性分析; 実験 2 のみ) : 8 週間に 1 回程度

③微生物相の調査 (変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法 (DGGE); 実験 2 のみ) : 6 週間に 1 回程度

④目視観察など (油の臭気, 手指への油分付着など)

⑤パイル内の温度 (週 1 回程度)

油分の測定は n-ヘキサン抽出重量法によった。①および②の分析作業は残留物分析センターに、③については広島大学生物圏科学研究科に依頼した。⑤はぶんご有機肥料㈱が行った。①の油分濃度については測定値オリジナルの他、溶媒抽出力を考慮しバーク堆肥からのC重油回収率 (0.75) で除したものを、また、C重油回収率 (0.75) の代わりに 3.1.2 で述べたサンプリング補正係数 (0.48) で除したものを併せて検討した。

温度の測定は、4 箇所 (測定点におけるパイル表面から 70cm の深さ) 地点にて行った。

4.2 実験の結果

4.2.1 油分濃度

実験開始時 (0 日, 油投入直後) における計算上の油分濃度は、実験 1 で約 14,300 ± 1,600ppm, 実験 2 で約 8,600 ± 900ppm である。この時点では、油は原形を保つ吸着マットの中に含まれており、パイル内の油分濃度が均一にならないため測定をしていない。

1 回目のサンプリングは最初の攪拌が行われた開始後 2 週間時点に行った。既に吸着マットの原形は留めておらず、マット内に含まれるパーライトの存在により、原位置が判明する状況であった。

この後、約 2 週間ごとに行う攪拌時にサンプルを採取し、それぞれの油分濃度を測定した。実験 1 の油分濃度の変化を Fig. 6 (相対誤差=32%で表記), Fig. 7 (同 75%) に、実験 2 の油分濃度の変化を Fig. 8 (同 32%),

Fig. 9 (同 75%) に示す。

相対誤差 32% で表記した Fig. 6 および Fig. 8 では 30 日以前の値ではバラつきが大きく各地点の値のエラーバーが重ならない部分があり、サンプリング要因を加味して相対誤差 75% で表記した Fig. 7 および Fig. 9 を採用した方が妥当と思われる。特に、実験 2 では初期の計算値より高い油分濃度値が測定されているが、Fig. 7 および Fig. 9 では油分の減少傾向をエラーバーの範囲内で読み取ることができ、サンプリング要因によるバラつきと解釈することが可能である。一方、120 日以降については概ね値のバラつきが小さくなっている。原因として、微生物分解が進んで油塊が小さくなることや攪拌回数が増えてパイル内の油分濃度がより均一になることなどが考えられる。従って、120 日以降は Fig. 6 および Fig. 8 を中心に検討するものとする。

両実験とも開始直後の各地点における油分濃度の最良推定値はバラつきが大きいものの、50 日程度まで急速に減少し、60 日付近で 2,000~4,000ppm を中心とする範囲に移行する。その後は主に同範囲を推移しながら漸減し、180 日付近で 1,500~2,000ppm 程度となることがわかる。120 日以降に大きな変化は見られない。

次に、実験 1 の 36 m³パイルと、実験 2 の 100 m³パイルにおいて、平均油分濃度の推移を比較した。Fig. 10 (相対誤差 32% で表記)、Fig. 11 (同 75%) に記す。0 日時点の計算上の油分濃度は実験 1 (36 m³パイル) で約 14,300±1,600ppm、実験 2 (100 m³パイル) で約 8,600±900ppm であり、いずれも時間経過とともに油分が減少する様子が明らかである。より大規模に行った 100 m³パイル (実験 2) による分解の方が、36 m³パイル (実験 1) に比して、より安定に減少する傾向が見られる。また、Fig. 6 と Fig. 8 を比較してみると、各時点における油分濃度測定値のバラつきは 100 m³パイル (実験 2) の方が小さく、より安定していることがわかる。初期油分濃度が異なるため単純比較は出来ないが、実験規模が大きいことが一つの要因と思われる。

Fig. 10 および Fig. 11 に示すとおり初期値との比較においては、実験 1 では 0 日での計算上の値 14,300±1,600ppm (15 日平均測定値 9,900±7,500ppm、相対誤差 75% の場合) が 164 日時点で 1,500±500ppm (相対誤差 32% の場合) に、実験 2 では 0 日での計算上の値 8,600±900ppm (15 日平均測定値 17,800±13,400ppm、相対誤差 75% の場合) は 170 日時点で 1,400±400ppm (相対誤差 32% の場合) に、それぞれ減少している。バックグラウンド (パーク堆肥そのものからの溶出分) が 430±140ppm であることを考慮すると、初期に投入された C 重油の油分は実験 1, 2 とも最良推定値で数百~千数百 ppm 程度すなわち 2.2 で述べた当初目標値 1,000ppm の前後の値に至ったと推定される。

なお、参考までに分解速度を試算すると、実験 1 では 0 日での計算上の値を開始点とすると 78±63ppm/日、実験 2 では 44±36ppm/日となった。2.2 で述べた重質油の場合の参考値 5~30ppm/日に比し、遜色のない範囲にあると考えられる。

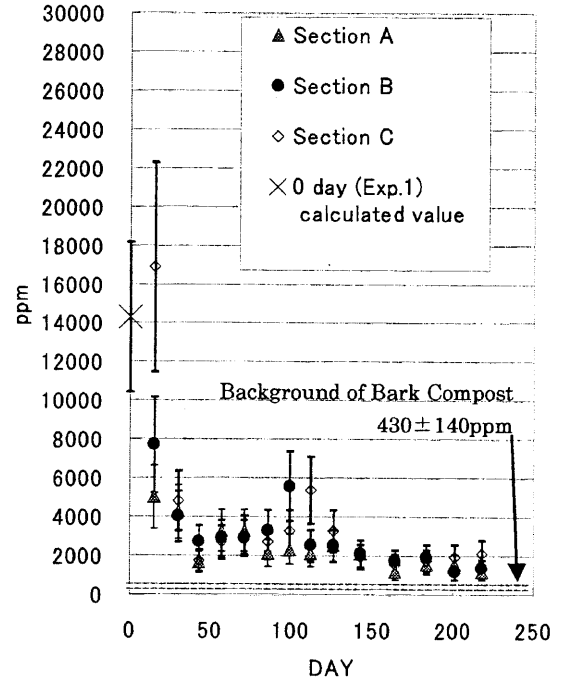


Fig. 6 Time Change of Oil Content in Experiment Pile in Exp. 1 (with Error 32%)

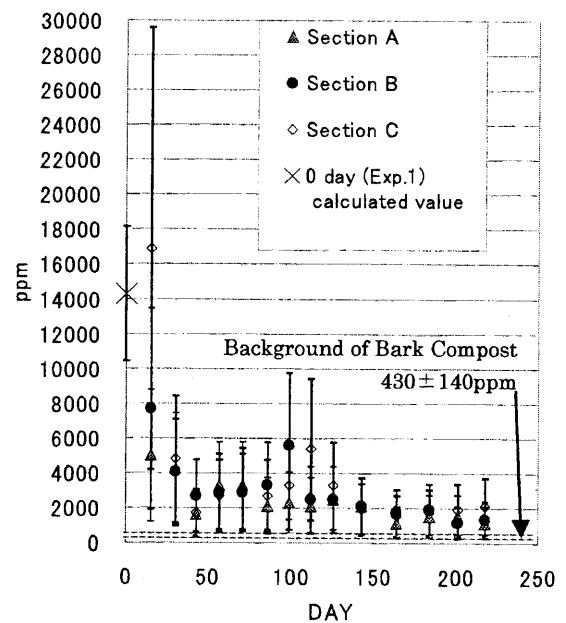


Fig. 7 Time Change of Oil Content in Experiment Pile in Exp. 1 (with Error 75%)

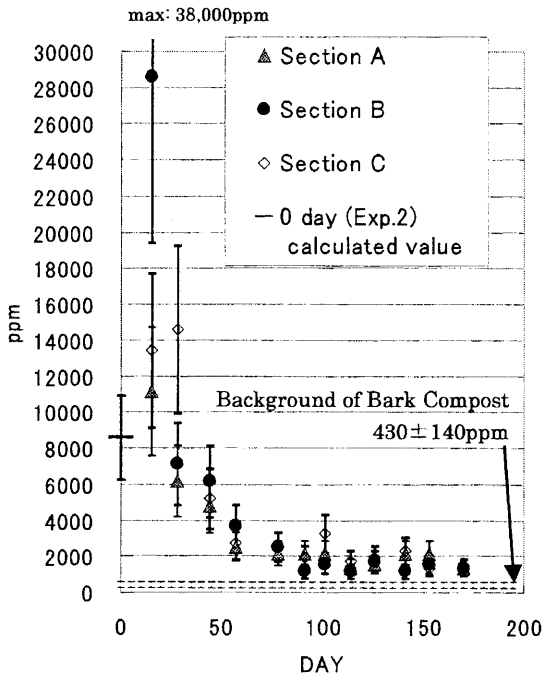


Fig. 8 Time Change of Oil Content in Experiment Pile in Exp. 2 (with Error 32%)

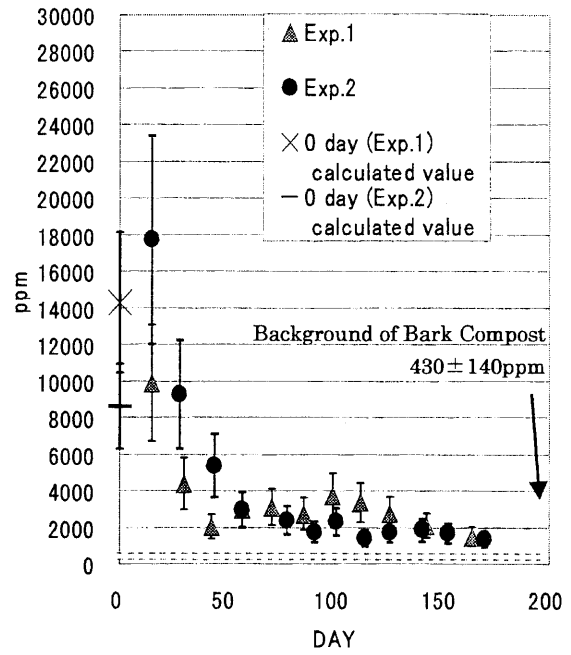


Fig. 10 Comparison of Oil Contents (Exp.1: 36m³, Exp.2: 100m³, with Error 32%)

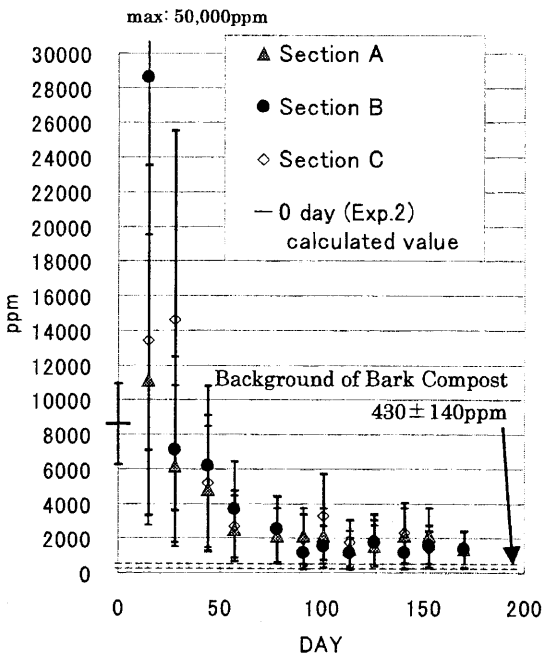


Fig. 9 Time Change of Oil Content in Experiment Pile in Exp. 2 (with Error 75%)

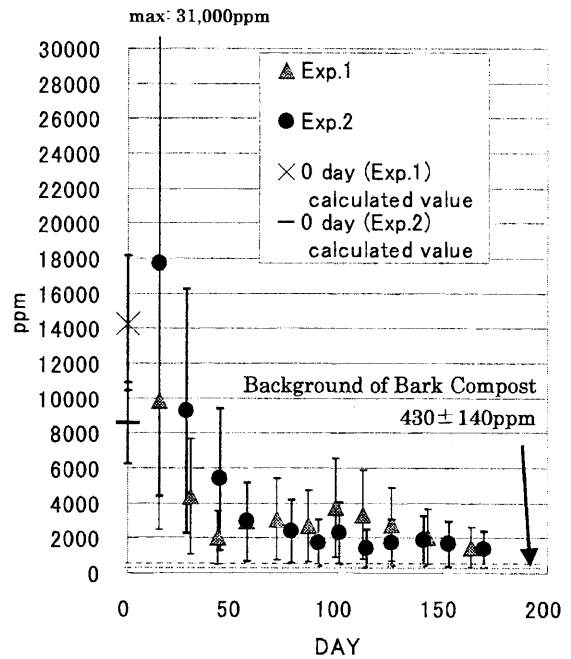


Fig. 11 Comparison of Oil Contents (Exp.1: 36m³, Exp.2: 100m³, with Error 75%)

4.2.2 油種の調査

投入したC重油が微生物分解によりどのように変化するかを、GCによる定性分析により調査した。

Fig. 12 に今回実験に使用したC重油のクロマトグラムを示す。C重油のピーク分布は、C17付近を中心とした分布となっている。規則性のあるシャープなピークは直鎖の炭化水素とみられる。ピーク分布の中央付近でベースラインが山のように盛り上がっているが、これは枝分かれした炭化水素などの成分ピークが重なりあって形成したものと考えられる。

次に、実験2(100m³)において油分解が進行している過程のバーク堆肥パイルの残留油分(58日時点)の定性分析結果を示す(Fig. 13)。クロマトグラムを見ると、投入したC重油そのもののピーク分布とほぼ一致するものの、C重油の組成成分炭化水素のピーク強度は減少していることが確認される。これはC重油に含まれる各種成分がほぼ一様に減少していることを示すが、一方で、C20(エイコサン)部位付近のピークが大きいままであり、一部特異的に残留している成分があることを示している。

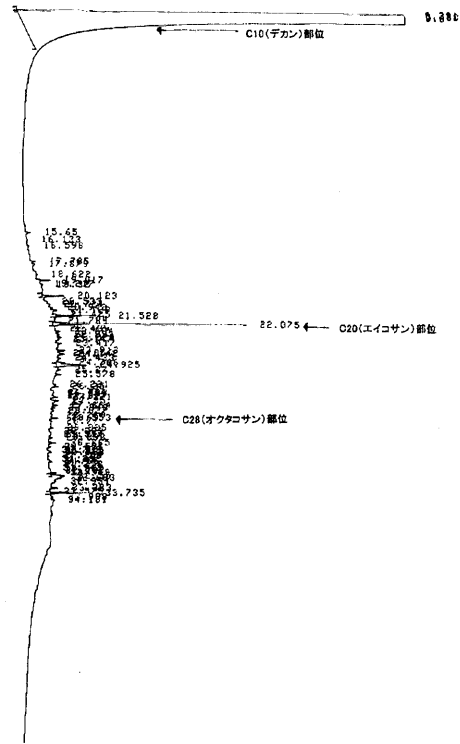


Fig. 13 Chromatogram (58日時点, 1000ppm)

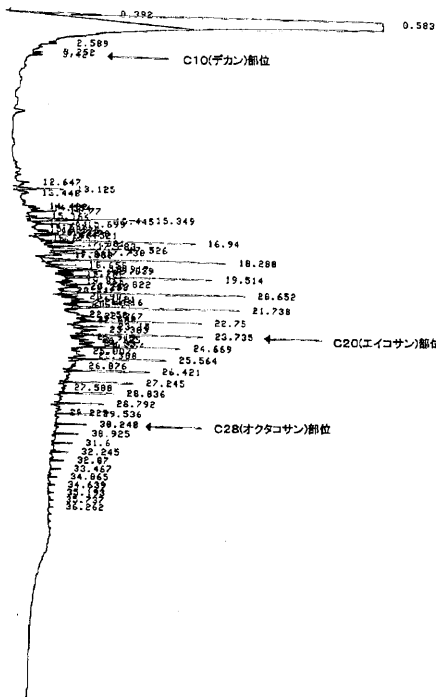


Fig. 12 Chromatogram (Bunker C, 100ppm)

4.2.3 微生物相の変化

これまでに記述したように、杉樹皮製油吸着材は使用後に焼却処分ではなく、吸着材本体が生分解性である特徴を活かし、微生物分解の手法によって油分および吸着材本体を分解し、低い環境負荷かつ安全な形で土壤などに還元しようとする試みをこれまで行ってきた。

一方、これまでバーク堆肥パイルという活性な微生物活動が行われているフィールドにおいて、油分濃度が減少していくということは確認されていたが、その中にもどのような微生物が生息し、油分解に貢献しているかについては確認されていなかった。

そこで、今回は油分分解処理・堆肥化工程の微生物相を、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法(DGGE)の手法を用いて特定を試みた。このことは、今後の本技術の実用化に向け、技術自体の信頼性を向上すると共に、分解工程の安定化および再現性確保に資するものと考えられる。

実験ではサンプルから抽出したDNAにつきDGGEを行い、油分解前後の2サンプルについて比較を行った(Fig. 14)。分解前に特異的なもの、分解後に特異的なもの、分解前後で共通のものにつき、16SrDNAのシーケンス解析を行って微生物種を推定した(Table 1)。

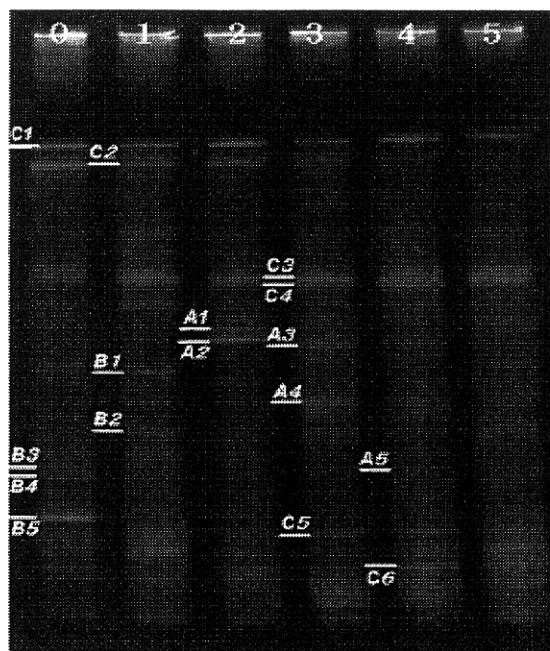


Fig. 14 DGGE Patterns of Before/After Experiment

Fig. 14において、サンプル0~1は分解前の、サンプル2~5は分解過程および分解後のDGGEパターンである。Table 1において、「Before」は分解前に特異的なもの、「After」は分解後に特異的なもの、「Common」は両者に共通するものを示す。「Before」は5種中3種がBacillus、「After」は5種中4種がCFB（サイトファーガ・フラボバクテリウム・バクテロイデスグループ）である。CFBは油流出事故のバイオレメディエーションにおいて増え、石油分解菌として働く微生物であるという報告がなされており¹³⁾、この微生物が今回の実験において油分解に関与している可能性が示された。

Table 1 Identification with 16SrDNA Sequence

| | Band | Sequence with Highest Homology | Homology |
|--------|------|--------------------------------|----------|
| Before | B1 | Uncultured firmicute | 96.01% |
| | B2 | Uncultured firmicute | 95.30% |
| | B3 | Rhizosphere soil bacterium | 86.87% |
| | B4 | Rhizosphere soil bacterium | 84.56% |
| | B5 | Paenibacillus sp. | 96.58% |
| After | A1 | Chryseobacterium indoltheticum | 97.43% |
| | A2 | Uncultured bacterium | 91.64% |
| | A3 | Rhizosphere soil bacterium | 92.72% |
| | A4 | Uncultured bacterium | 92.56% |
| | A5 | Uncultured bacterium | 95.51% |
| Common | C1 | Uncultured soil bacterium | 98.27% |
| | C2 | Pedobacter sp. | 85.50% |
| | C3 | Uncultured Bacteroidetes | 91.71% |
| | C4 | Flavobacteria symbiont | 90.86% |
| | C5 | Uncultured Bacilli bacterium | 94.89% |
| | C6 | Uncultured Chloroflexi | 96.98% |

4.2.4 目視観察

油の臭気については、40~60日程度までは、本来のC重油の臭気から若干変質した感じを受けるものの、いまだ明確に油の臭気であると判別可能な程度に感じられた。その後は徐々に臭気に変質し、もとの投入物が重油であることを知らない人間には油の臭気かどうか判別がつかない状態に変化した。

また、60日時点で手指への油の付着は感じられず、周囲の水溜りにおける油膜も観察されなかった。

4.2.5 パイル内の温度

実験2 (100 m³) のバーク堆肥パイル内の温度変化をFig. 15に示す。実験当初はバーク堆肥の活性な状態とされる60℃前後を保っていたが、徐々に温度が低下する傾向が見られた。開始後90日時点からはほぼ50℃以下を推移し、180日時点ではほぼ40℃程度となった。

温度が低下する原因は、微生物活動の低下、外気温の低下などが考えられる。また、切り直し直後は温度が一旦低下し、その後上昇する傾向があるが、この現象は通常のバーク堆肥製造過程でも同様であり、好気発酵が酸素供給により活発化することを示していると考えられる。

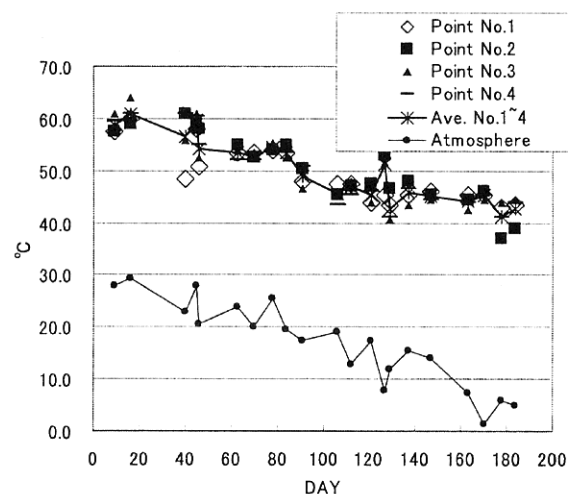


Fig. 15 Temperature of Experiment Pile

5. 結 言

本研究により得られた知見は以下のとおりである。

- 杉樹皮製油吸着材に吸着させたC重油は、バーク堆肥微生物パイルにおける分解処理により、36m³規模の実験で開始直後の油分濃度 14,300 ± 1,600ppm は164日後に1,500 ± 500ppmに、100m³規模の実験で開始直後の油分濃度 8,600 ± 900ppm は170日後に1,400 ± 400ppmとなった。バックグラウンドが430 ± 140ppmであることを考慮すれば、

目標値の 1,000ppm 前後の値に至ったと推定される。

- ・ 油分の定性分析により、油分解過程における残留油分のクロマトグラムにおいて、投入したC重油のピーク分布とほぼ一致しつつ強度が減少しており、C重油に含まれる各種成分がほぼ一様に減少している一方、一部特異的に残留している成分があることが示された。
- ・ 微生物相の変化については、石油分解菌として働くとの報告がある CFB が油分解過程または分解後に特異的に確認され、油分解に関与している可能性が示された。
- ・ パイル内の温度については実験当初は 60℃前後、90 日以降は 50℃以下、180 日時点で 40℃程度となった。

これらを踏まえ、生分解性の油吸着材の特徴を活かした更なる環境負荷低減技術の実現に向け、本技術の実用化を目指したい。

謝 辞

本研究に貴重な助言を頂いた東京大学・山口一教授、九州大学・近藤隆一郎教授、広島大学・長沼毅助教授、資材をご提供頂いた九州石油㈱に御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 齊藤雅樹, 小倉秀 他: 杉樹皮製油吸着材の開発と海洋流出油回収への適用(第1報), 日本造船学会論文集, 第190号, pp.287-294 (2001)
- 2) M. Saito, S. Ogura et.al.: Development and Water Tank Tests of SBS, Papers of IMO 3rd R&D Forum on High-density Oil Spill Response, Session III ID39, pp.1-9 (2002)
- 3) (独)海上災害防止センター: 杉樹皮製油吸着材の有効利用及び微生物分解処理技術に関する調査研究報告書II, 第4章, pp.30-43 (2005)
- 4) 内藤林 他(ナホトカ号の事故に関する調査研究会): ナホトカ号の事故に関する調査研究報告書, pp.54-55 (1998)
- 5) Joergensen, R.G. et al.: Microbial Decomposition of Fuel Oil after Compost Addition to Soil, Z. Pflanzenernahr. Bodenk., No.160, pp.21-24 (1997)
- 6) Joegensen, K.S. et al.: Bioremediation of Petroleum Hydrocarbon-contaminated Soil by Composting in Biopiles, Elsevier Environmental Pollution, No.107, pp.245-254 (2000)
- 7) 例えば, 大作 和子: バイオレメディエーションによる汚染土壌浄化システム, 特願 2001-113525
- 8) 齊藤雅樹, 小倉秀 他: 杉樹皮製油吸着材の微生物分解処理技術に関する研究, 日本造船学会講演会論文集, 第2号, pp.131-132 (2002)
- 9) 未来工学研究所: 生物学的環境修復手法の社会的コンセンサス形成の調査研究 (1997)
- 10) 環境庁水質保全局: 油処理剤及びバイオレメディエーション技術の検討調査報告書 (1997)
- 11) (社)土壤環境センター 他: 2003 地球環境保護 土壤・地下水浄化技術展パンフレット, pp.18-19 (2003)
- 12) 栗原正人 他: 化学・微生物複合型重質油汚染土壌の浄化技術開発, (財)石油産業活性化センター技術開発成果発表会要旨集 R6.1.1 (2004)
- 13) S. J. Macnaughton, etc.: Microbial Population Changes during Bioremediation of an Experimental Oil Spill, Applied and Environmental Microbiology, Vol.65, No.8, pp.3566-3574 (1999)