

# 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研究

斉藤雅樹\*・玉造公男\*・小倉秀\*\*・木本弘之\*\*・永水堅\*\*\*

\*材料科学部・\*\*（独）海上災害防止センター調査研究室・\*\*\*ぶんご有機肥料㈱

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

Masaki SAITO\*, Kimio TAMATSUKURI\*

Suguru OGURA\*\*, Hiroyuki KIMOTO\*\*, Katashi NAGAMIZU\*\*\*

\*Material Science and Technology Division

\*\*Maritime Disaster Prevention Center, \*\*\*Bungo Yuki Hiryo, Inc.

### 要 旨

杉樹皮を原料とする油吸着材は、当センターでの研究を基礎に平成10年度以降、日本財団の支援により（独）海上災害防止センターと共同で実用化研究が行われ、その成果をもとに、ぶんご有機肥料株式会社（大分県竹田市）によって製造・販売されている。使用後処分時における環境負荷の低減を目指し、微生物分解処理技術の研究開発に平成13年度に着手しており、本年度は実用規模に近い100m<sup>3</sup>規模のフィールド実験を行ったところ、当初0.6%であった油分濃度（C重油）は60日後に約1/2程度に、120日後に約1/5～1/6に低下していることが判明した。また、杉樹皮製油吸着材を平成16年9月発生 of ブルー・オーシャン号事故の流出油回収に用い、実海域における油回収性能が評価された。

### 1. はじめに

杉樹皮を原料とする油吸着材は、平成9年のナホトカ号事故直後に開始した当センターでの基礎的な研究を基に、（独）海上災害防止センターと共同で、平成10年度に日本財団調査研究事業として本格的に開始され、特許出願などを経て平成12年度に実用化し、製造が開始された。現在、ぶんご有機肥料株式会社（大分県竹田市）をメーカーとして「杉の油取り（すぎのゆとり）」の品名で全国に普及しつつある。

杉樹皮製油吸着材の特徴は、全国第2位の生産量を誇る大分県の杉の、樹皮部分を原料に用いる点であり、天然素材製品でありながら従来の石油原料製品並みの吸油性能、価格を実現した点にある。製造、使用、処分時における環境負荷は石油原料製品より小さいと考えられる。杉樹皮製油吸着材の生分解性である特徴を活かし、現状の焼却処分よりさらに環境負荷の小さい処分方法、すなわち微生物によって油と油吸着材とを分解処理する技術が開発の目標となっている。

これまで、平成13年度までの日本財団調査研究事業、平成14～15年度の（独）海上災害防止センター委託事業を行い、使用後の油吸着材と吸着した油とを、微生物活動によって分解処理する技術の開発に着手した。

本年度は、これまでに行われてきた実験室及び小規模、

中規模レベル（36m<sup>3</sup>）での微生物分解処理技術をさらに規模を拡大し、100m<sup>3</sup>の実用規模における分解パイルでの油分解実験を中心に、本着想に基づく研究開発を行った。あわせて、実際の油流出事故で使用した杉樹皮製油吸着材（マット型、万国旗型）を用い、100m<sup>3</sup>の実用規模分解パイルでの分解実験を行った。これは、そのまま実用ヤードとして利用することを念頭に置いた実験でもある。また、本技術の実用化に向けて分解工程の安定化および再現性確保に資するため、変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法（DGGE）の手法を用いて油分解処理・堆肥化に用いる微生物相の変化について研究を行った。

### 2. 微生物分解処理技術の実用フィールド実験

#### 2.1 実験の方法

バーク堆肥原料に、昨年度の油分分解実験に供した分解残留物を混合し、そ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。

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）に、1枚あたり0.6kgを吸着させたものを合計300枚用いた。バーク堆肥はホイールローダの

バケツで容積を計量した約100m<sup>3</sup>ほどを用いた。嵩比重が約0.5であることから約50t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φ7m、高さ3.5m程度となった。

パ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0.03%）。昨年度の油分分解実験に供した分解残留物は、分解開始後約1年が経過したもので、油分濃度は0.09%である。これらを9：1で混合したものを実験に使用した（油分濃度0.03%）。パイル全体の実験開始時の油分濃度の平均値は約0.6%と推定される。

以下の手順に従って、吸着マットをパーク堆肥パイルに埋め込んだ。

- ①大型容器（ドラム缶）を計量する
- ②大型容器に吸着マットを入れる
- ③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（Fig. 1）
- ④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. 2, 3）
- ⑤大型容器の減量分を計量する
- ⑥パイル断面に吸着マットを並べ終わるとパ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
- ⑦結果的に規定枚数で規定油量がほぼ全て吸着されるように途中で微調整する

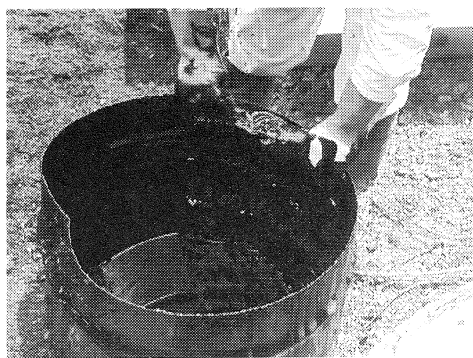


Fig. 1 C重油を吸着マットに吸わせる様子

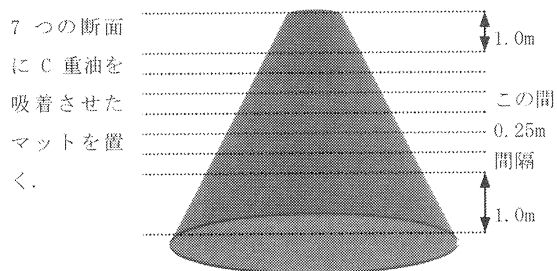


Fig. 2 パーク堆肥断面への吸着マット設置の概念図



Fig. 3 パイル断面に並べた吸着マットを被覆する様子

パーク堆肥は通常、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）を行う必要がある。攪拌はパワーショベルなどの重機を用い、パ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（Fig. 4）。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（Fig. 5）。



Fig. 4 パイルの攪拌の様子



Fig. 5 パーク堆肥パイルからのサンプリングの様子

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), 曲線がほぼフラットになる時期(4~6ヶ月程度)まで計測
- ② 油種の調査(GC定性分析)  
8週間に1回程度, 曲線がほぼフラットになる時期(4~6ヶ月程度)まで計測
- ③ 微生物相の調査(DGGE)  
6週間に1回程度, 曲線がほぼフラットになる時期(4~6ヶ月程度)まで計測
- ④ 目視観察など(油の臭気, 手指への油分付着等)
- ⑤ パイル内の温度(週1回程度)

なお, 油分の測定は n-ヘキサン抽出重量法によった。油分濃度および油種分析は㈱住化分析センターに委託した。測定値からパーク堆肥そのものが含む溶媒可溶分(0.03)を減じ, パーク堆肥からのC重油回収率(0.75)で除することにより, サンプルに含まれる油分濃度を推定した。また, サンプル作業に起因すると思われる誤差を補正するため, パーク堆肥からのC重油回収率(0.75)のかわりに予備実験により算出したサンプリング補正係数(0.48)で除したものを併せて算出することとした。

## 2.2 実験の結果

### 2.2.1 油分濃度

実験開始時(0 DAY)における油分濃度の理論値は, 約0.6%である。この時点では, 吸着マットは原形を保持しており, 油は其中に含まれているので, パイル内の油分濃度は均一になりようがない。従って, 測定も不可能である。

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, これまでの実験同様, 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。油分濃度の変化をFig. 6およびFig. 7に表す。

Fig. 6は, 油分濃度の推定値, すなわちオリジナルの測定値からパーク堆肥がもともと有しているn-ヘキサン可溶分(0.03%)を減じ, 溶媒抽出力による誤差の係数(0.75)で除する補正(誤差補正)を行った数値の, 時系列変化を表したものである。一方, Fig. 7は, 以上の補正に加え, サンプリングの際の誤差を加味した補正を行った参考値である。

これら2つの図によると, 開始直後の油分濃度は60日後に約1/2程度に, 120日後に約1/5~1/6に低下していることが判明した。一方, 120日後以降には油分濃度に大

きな変化は見られなかった。これは従来の実験(36 m<sup>3</sup>パイルなど)と共通する結果である。また, 開始から30日後までは値が大きく外れたものが見られるが, それ以降はほぼ安定した値となった。

また, 昨15年度の36 m<sup>3</sup>のパイルによる実験と, 今回の実験(100 m<sup>3</sup>パイル)による実験において, 平均油分濃度(誤差補正済)を比較した(Fig. 8)。開始時の油分濃度の理論値は今回の実験(100 m<sup>3</sup>パイル)で約0.6%, 昨15年度の実験(36 m<sup>3</sup>パイル)で約1.0%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 m<sup>3</sup>パイル(16年度)による分解の方が, 36 m<sup>3</sup>パイル(15年度)に比して, より安定に減少する傾向が見られる。あわせて, Fig. 6とFig. 9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 m<sup>3</sup>パイルでの実験の方が小さいことがわかる。

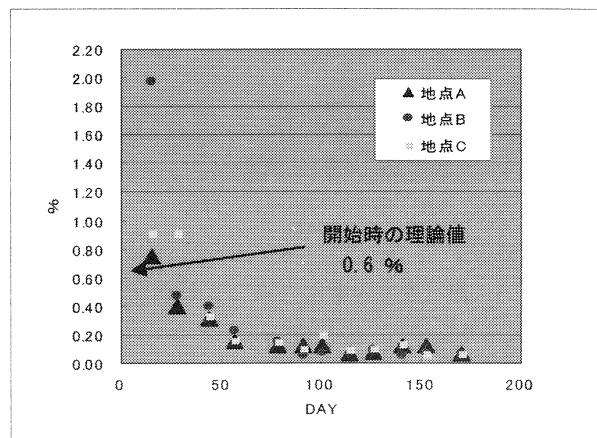


Fig. 6 油分濃度の変化(誤差補正済)

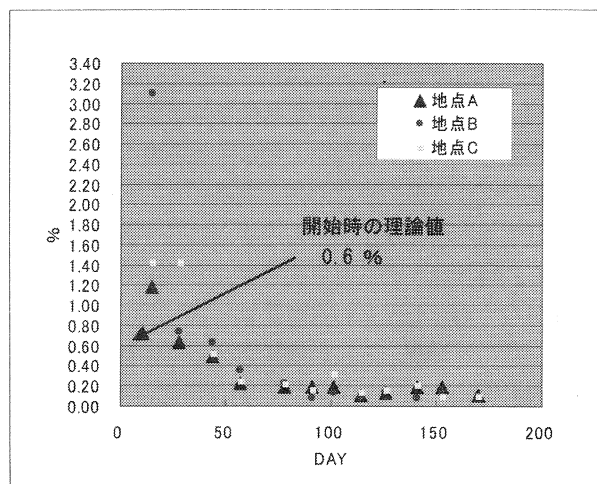


Fig. 7 油分濃度の変化(誤差・サンプリング補正済)

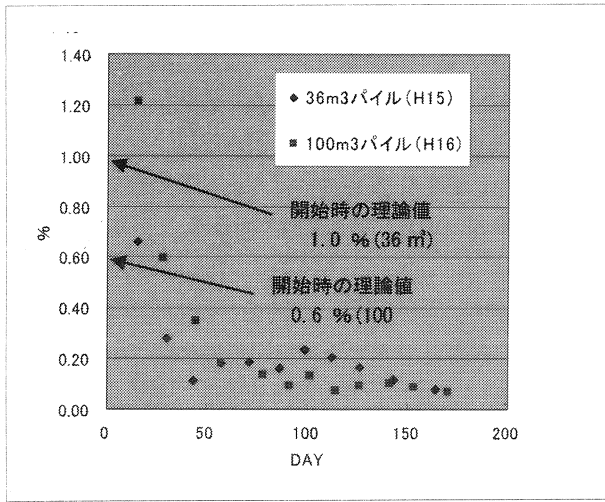


Fig. 8 平均油分濃度（誤差補正済）推移の比較

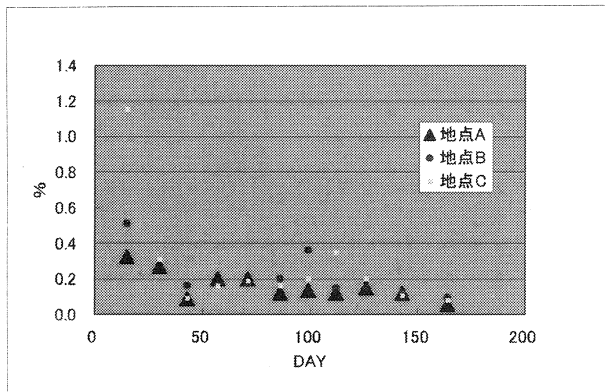


Fig. 9 油分濃度の変化（36 m<sup>3</sup>；誤差補正済）

### 2.2.2 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、ガスクロマトグラフィー(GC)による定性分析により調査した。

Fig. 10に今回実験に使用したC重油（100ppm相当）のクロマトグラムを示す。C重油のピーク分布は、代表的な炭化水素のピーク位置から判断されるように、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、バーク堆肥パイルの残留油分の定性分析結果を示す。Fig. 11に58日経過時点における残留油分のクロマトグラムを示す。油分解が進行している過程の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。

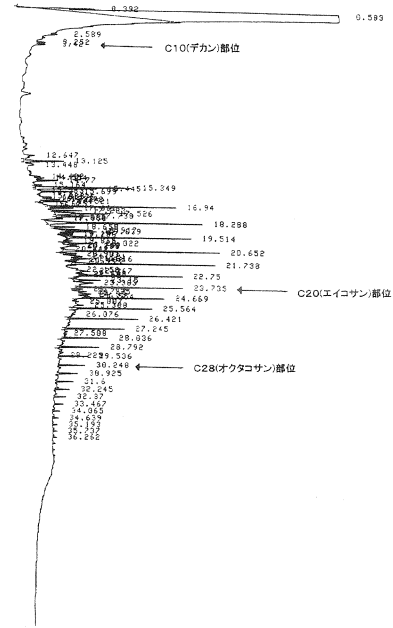


Fig. 10 C重油（100ppm相当）

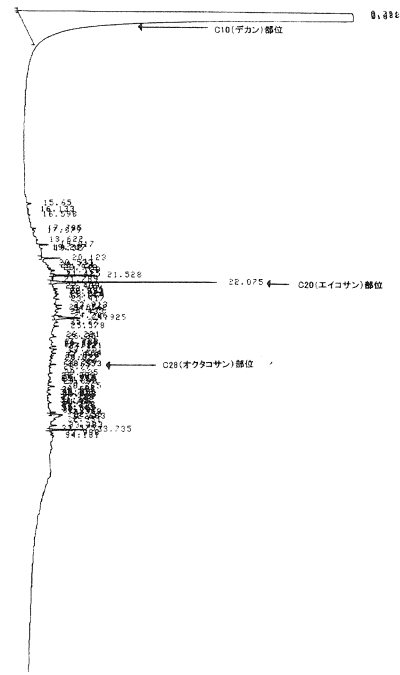


Fig. 11 58日経過時点（1000ppm相当）

### 2.2.3 微生物相の調査

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 DGGE の手法を用いて特定を試みた。

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 サンプルの相違を比較した (Fig. 12)。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 (Fig. 13)。

### バーク堆肥 油分解前後の DGGE パターン比較

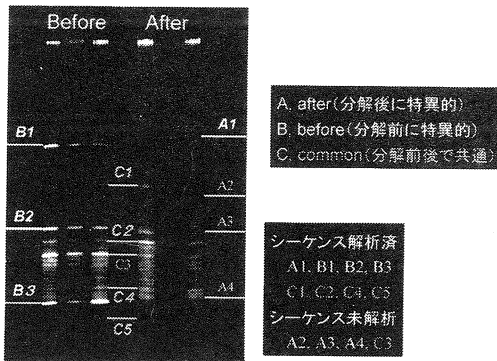


Fig. 12 油分解前後の DGGE パターン比較

バンド	相対性が最も高いシーケンス	相対性 (%)	相対性が高い培養菌株	相対性 (%)	
Before	B2	<i>Bacillus</i> sp.	99.40%	<i>Ureibacillus thermosphaericus</i>	97.01%
		uncultured compost bacterium	97.01%		
	B3	Uncultured bacterium	94.34%		
	Uncultured <i>Chloroflexi</i> bacterium	92.45%			
After	A1	Uncultured CFB group bacterium clone	97.95%	<i>Flexibacter japonensis</i>	91.96%
		<i>Ureibacillus thermosphaericus</i>	95.74%		
	uncultured compost bacterium	95.74%			
Common	C2	uncultured bacterium	87.64%	<i>Clostridium formicaceficum</i>	83.91%
		Uncultured <i>Chloroflexi</i> bacterium	96.18%	<i>Dehalococcoides</i> sp.	87.50%
		uncultured bacterium	95.65%		
	uncultured <i>Chloroflexi</i> bacterium	94.20%			

Fig. 13 油分解前後の微生物種の推定

Fig. 12~13 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」は両者共通のものを示す。*Ureibacillus thermosphaericus* (ウレイバチルス属) が Common にあるが、これは好熱菌であり、通常の土壌には存在しないウレイバチルス属細菌を高濃度となる堆肥内に確認した。

After (油分解後に特異的) に、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) が確認された。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<sup>2)</sup>、この微生物が我々の行うバーク堆肥パイルでの実験において、油分解に関与して

いる可能性が示された。

### 2.2.4 目視観察など

油の臭気については、40~60 日後程度までは、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を変質し、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どうか判別がつかない状態に変化した。

また、60 日経過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。

### 2.2.5 パイル内の温度

バーク堆肥パイル内の温度変化を Fig. 14 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 日経過時点からはほぼ 50℃ 以下を推移し、180 日経過時点ではほぼ 40℃ 程度となった。この傾向はこれまでの 36 m<sup>3</sup> の実験とはほぼ同じものである。

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。

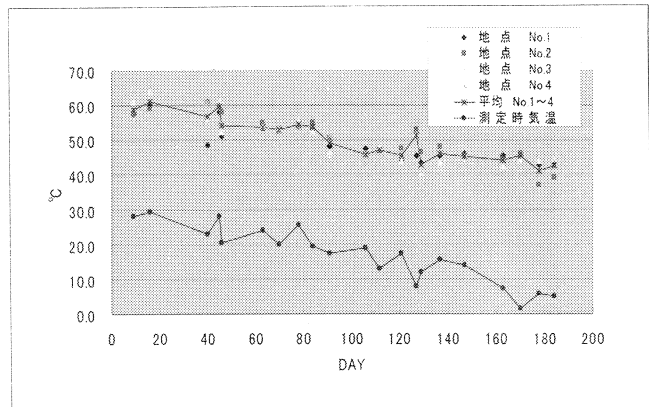


Fig. 14 バーク堆肥パイル内の温度変化

## 3. 実海域における油回収性能の調査

平成 16 年 9 月に広島県廿日市海岸において、木材運搬船ブルー・オーシャン号の転覆に伴う油流出事故が発生し、杉樹皮製油吸着材を使用する機会が得られたため、油回収性能の検証と、回収後の同品を実際に用いた微生物分解処理の実証実験を行った。

現場において、オイルフェンス型の杉樹皮製油吸着材を展張した。15m タイプを 1 本、10m タイプを 6 本、5m タイプを 12 本使用し、状況に応じてロープで連結し、再大 20m にして海面に投入した。また、その内側にマット型 (45cm 角) の吸着材を 350 枚、投入した。

1～5時間後に、それぞれの吸着材の回収（引き上げ）を行った（Fig. 15～16）。おおむねよく吸着しており、マット型をカッターで切り開き、内部の樹皮部分を観察したところ、繊維内に油を保持し、褐色～黒色に変色している様子が観察された。

次に、作業船の後方に幅5m程度の桁を設置し、これにオイルフェンス型の吸着材をU字型に固定し、オイルフェンス外側の薄い油膜の回収を試みた（（独）海上災害防止センター業務課）。0～数ノット程度で曳航し、速度が上がった際に上部からの油のくぐり抜けが見られたものの、強度と作業性には問題が見られなかった。



Fig. 15 ブルー・オーシャン号と作業の様子

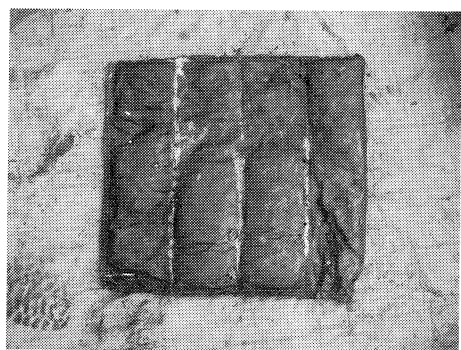


Fig. 16 回収された杉樹皮製油吸着材（マット型）

吸着性については、薄い油膜部分での吸着においてはその厚みから過剰装備（つまりもったいない）の感があるものの、オイルフェンス曳航で集められた厚い油膜の部分では、その本領を発揮することが出来ており、みるみる黒々と油が吸着され、マットの厚みすべてに油が充たされていく様子が観察された。契約防災措置実施者の作業員からも「これは良く吸う」と賞賛の声が聞かれた。

回収した油吸着材の一部を、2.の実験同様に約100 m<sup>3</sup>のバーク堆肥原料の中に埋め込み、定期的に攪拌を行い、油分濃度の変化を調査した。含まれる油量は116kg～232kg程度、実験開始時の油分濃度は0.23%～0.46%と推定される。その後、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ところ、油分濃度は21日経過時点で既に通常のバーク堆肥と同じ0.03%程度となっており、それ以降はほとんど油分濃度に変化が見られない結果となった。

#### 4. まとめ

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、100 m<sup>3</sup>バーク堆肥微生物パイルにおける分解処理により、開始直後の油分濃度（約0.6%）は60日後に約1/2に、120日後に約1/5～1/6に低下していた。120日後以降には油分濃度に大きな変化は見られなかった。
  - ・36 m<sup>3</sup>パイルによる実験との比較においては、油分濃度の減少傾向は共通する結果が得られた。また、100 m<sup>3</sup>パイルによる実験の方が油分濃度はより安定に減少する傾向があるほか、各時点における油分濃度測定値のバラつきがより小さいことが確認された。
  - ・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重油そのもののピーク分布とほぼ一致するものの、いずれもC重油の組成成分炭化水素のピーク強度が減少していることが判明した。
  - ・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。
  - ・ブルー・オーシャン号事故での実験で、杉樹皮製油吸着材の実海域における油回収性能が評価された。
- 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

本研究に支援を頂いた日本財団に御礼申し上げます。また、貴重な助言を頂いた同財団・山田吉彦海洋グループ長、東京大学・山口一教授、九州大学・近藤隆一郎教授、DGGEにご協力頂いた広島大学・長沼毅助教授、資材を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、平成15年度大分県産業科学技術センター研究報告、2004
- 2) S. J. Macnaughton, etc. : Microbial Population Changes during Bioremediation of an Experimental Oil Spill, Applied and Environmental Microbiology, Aug. 1999