

## 海浜模擬実験装置による原油の微生物分解

### - 余剰汚泥添加効果の検討 -

海洋バイオテクノロジー研究所 釜石研究所 正会員 牧 秀明

海洋バイオテクノロジー研究所 釜石研究所 佐々木 哲也

海洋バイオテクノロジー研究所 釜石研究所 原山 重明

### 1. はじめに

本研究所では、タンカー事故による海洋への石油流出事故に対し、バイオレメディエーションという観点から流出原油の微生物分解に関わる様々な基礎的な要因を明らかにすべく、種々の原油分解実験を行ってきた。本発表では、中規模の海浜模擬実験装置を用いて、微生物による原油分解を促進させるための、栄養塩の供給源として下水処理場で発生する余剰汚泥を利用した効果について報告する。

### 2. 実験材料および方法

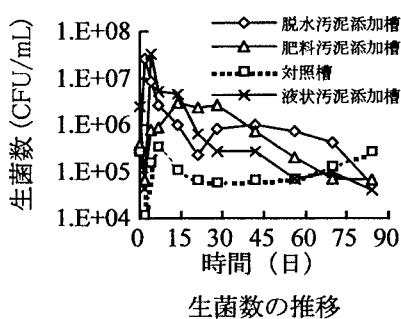
海浜模擬実験装置は屋内外に二つずつ、計四つの水槽を有している。各水槽にはリザーバータンクを設置し、水槽内には砂利を充填した。リザーバータンクには天然海水が供給されており、空気を吹き込むことにより酸素濃度は飽和に維持した。海水は釜石湾の水深15mより取水され、砂ろ過され研究所内に常時供給されている海水を用い、タイマー式のポンプにより1日二回干満を繰り返させた。また、本実験において水温は約20°Cに維持した。屋外据え付けの装置は屋内のものとほぼ同様であるが、リザーバータンクが無く、蓋がついているのみで直接風雨に曝される状態にあり、外気温と海水の温度を反映した実験系である。水槽内の砂利は粒径2~8mmの川砂利を用いた。なお、砂利に付着している微粒子は水で予め洗い流した。供試原油はアラビアンライト原油を230°Cにて常圧蒸留し、低沸点成分を除去したいわゆるウェザリングオイルを用いた。肥料は窒素源としてはイソブチリデン二尿素のみを成分として含む、三菱化学社製「スーパーIB」を用いた。リン源としては磷酸カルシウムおよび磷酸マグネシウムの二成分を含む、同社製「リンスター30」を用いた。余剰汚泥は近辺の下水処理センターより分与してもらい、貯留槽内の液状汚泥、および脱水処理された脱水汚泥の二種類を使用した。余剰汚泥の性状は以下の通りである。液状汚泥：汚泥濃度2%[w/v]、全窒素濃度2.4g/L、全リン濃度0.59g/L、脱水汚泥：全窒素含量17.1g/kg、全リン含量2.73g/kg。供試原油は満潮時、海面上にウェザリングオイル1000gを添加した。実験は肥料添加槽(屋外)、液状汚泥添加槽(屋外)、原油のみ添加した対照槽(屋内)、脱水汚泥添加槽(屋内)の四通りについて行った。実験開始後経時に溶存酸素、および菌数の測定、残存原油分の抽出・分析を行い、分解の評価を行った。原油試料の分析は薄相クロマトグラフ-水素炎イオン化検出器(TLC/FID)、および質量分析器付きガスクロマトグラフ(GC/MS)を用いて行った。

### 3. 結果および考察

屋内外の平均気温はそれぞれ22.8、19.8°Cであった。液状汚泥添加槽では酸素消費、菌数の増加共に、肥料添加槽より早期に開始された。温度差があるため単純には比較できないが、屋内の脱水汚泥添加槽についても同様の傾向が認められた。これは、汚泥から持ち込まれた易分解性の有機質の混入によるものと考えられる。一週間を経過すると逆に肥料添加槽での酸素消費が大きくなり、これ以後この傾向が実験終了まで続いた。これは後述するように、肥料添加槽では汚泥添加槽より全実験期間中に渡って、より高濃度の窒素を供給し続けたことによると考えられる。海水中の菌数は実験開始一週間で液状、脱水両方の汚泥添加槽では

キーワード：バイオレメディエーション、汚泥、微生物、分解、海洋、原油

連絡先：住所〒023釜石市平田第三地割75-1、電話0193-26-6537、FAX0193-26-6584

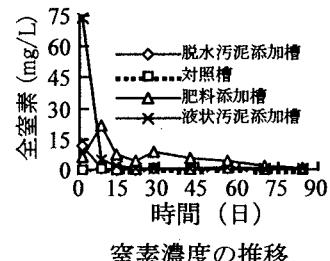


$10^7$  cfu/mL で最大に達しているが、肥料添加槽では二週間後に  $10^6$  cfu/mL で最大となっていた。これを境に以後肥料添加槽の方が液状汚泥添加槽よりも高い菌数を維持していた。

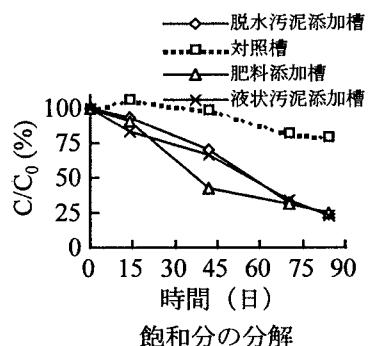
栄養塩の推移では、液状汚泥は実験初日に 75 mg/L もの高濃度の窒素を供給したが、これは海水の干満に伴い一気に系外に放出され、一週間後には 5 mg/L、二週間後には 2 mg/L、それ以後は 1 mg/L となり、一定濃度で窒素を槽内に供給するという点では合成肥料の方が効果があることがわかった。合成肥料は 70 日目まで 2 mg/L 以上の窒素濃度を維持し続けた。脱水汚泥も初

日には 11 mg/L の窒素を供給したがその後はおしなべて 1 mg/L 以下であった。しかしながらリンの供給具合は窒素と様相を異にしており、液状・脱水汚泥両方共に合成肥料より高い濃度のリンを供給し続けた。特に脱水汚泥についてリンの濃度のピークは 20 日後に現れ、徐放性の効果を有していることがわかった。

GC/MS を用いて原油中の内部標準物質である極めて難分解性のホパンを定量することにより、全ての原油成分の分析値を標準化し、それぞれの成分の生分解性を評価した。GC/MS により分析した化合物中、最も早く分解されるのはナフタレン派生物であり、これに  $\alpha$ -アルカン、フルオレン派生物が続いている、これらは何れも実験終了時まで 100% 近く消失された。ジベンゾチオフェン派生物、アントラセンまたはフェナンスレン派生物は前三つの化合物に較べると分解が遅く、実験終了時にも完全には消失していなかった。TLC/FID 分析によると、飽和分だけ対照槽以外の槽で分解がみられ、最終分解率は 75% であった。しかし、他の芳香族分、レジン分、アスファルテン分についてはほとんど分解がみられなかった。レジン分、アスファルテン分については対照槽以外では増加がみられ、最終的にはほとんど二倍に達していた。これは原油中の成分が微生物に代謝され、酸素が添加される等、極性の高い化合物へと変換されることによると推定される。どの成分についても、肥料添加槽では実験開始一、二週間は分解の遅延がみられた。これは汚泥添加槽では実験初期から高い濃度の窒素が供給されていたのに對し、肥料添加槽では一週間後にその濃度が最大となることによると考えられる。反対にそれ以後では肥料添加槽の方が分解がより進行する場合もあり、やはり汚泥添加槽より高い窒素濃度の維持によるものであると考えられた。



窒素濃度の推移



#### 4.まとめ

海水中の土着菌による原油の微生物分解について、海浜模擬実験装置を用いて余剰汚泥の添加効果について検討したところ、合成肥料と同等の効果がみられた。

本研究開発は産業科学技術研究開発の一環として新エネルギー・産業技術総合開発機構から委託を受けて実施したものである。