

ナホトカ号流出重油の日本海沿岸海域 微生物による分解性

小森 正樹¹⁾, 芹川 俊彦¹⁾, 庄田 丈夫¹⁾, 中村 嘉利²⁾,
澤田 達郎²⁾, 丸山 明彦³⁾, 東原 孝規³⁾

¹⁾石川県保健環境センター (〒920-1154 石川県金沢市太陽が丘1丁目11番地)

²⁾金沢大学工学部 (〒920-0942 石川県金沢市小立野2丁目40番地)

³⁾工業技術院生命工学工業技術研究所 (〒305-8566 茨城県つくば市東1-1)

[平成10年8月24日受理]

Biodegradation of Heavy Oil Spilled from the Russian Tanker, Nakhodka, on the Sea of Japan Coast

Masaki KOMORI¹⁾, Toshihiko SERIKAWA¹⁾, Takeo SHOUDA¹⁾, Yoshitoshi NAKAMURA²⁾,
Tatsuro SAWADA²⁾, Akihiko MARUYAMA³⁾ and Takanori HIGASHIHARA³⁾

¹⁾Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science
(1-11 Taiyogaoka, Kanazawa, Ishikawa 920-1154)

²⁾Faculty of Engineering, Kanazawa University
(2-40 Kodatsuno, Kanazawa, Ishikawa 920-0942)

³⁾National Institute of Bioscience and Human-Technology
(1-1 Higasi, Tukuba, Ibaraki 305-8566)

[Received August 24, 1998]

Summary

The oil-tanker, Nakhodka was wrecked in the Sea of Japan in January, 1997. The oil-spill from the vessel's damaged tanks polluted the coastline of Ishikawa prefecture. In order to evaluate the oil-degrading potential of coastal areas and to develop bioremediation techniques, surveys the distribution and numbers of hydrocarbon-degrading bacteria (HDB) and degradation of spilled oil by microbial populations in sea water at the oil-polluted sites of Ishikawa were carried out. The numbers of HDB ranged from $10^2 \sim 10^4$ MPN 100 ml⁻¹ of sea water during the 11 months after the spill at 2 sampling points. In the laboratory experiments, degradation activity of the Nakhodka's heavy fuel oil, spilled oil and weathering oil attached to sand by microbial populations in sea water was examined on the basis on the rate of reduction of the components in heavy oils. In regards to oil-biodegrading ability, the percentage and rate of reduction was 17 % and 3.3 g/m³ sea water/day on weight of extracts with dichloromethane and 33 % and 5.2 g/m³ sea water/day on weight of extracts with *n*-hexan-extract, respectively. The addition of nutrients (N, P) enhanced the biodegradation of the Nakhodka's heavy fuel oil and the spilled oil by microbial populations in sea water. Adding nutrients to the sea water sample doubled rate of reduction of extracts with *n*-hexane from the Nakhodka's heavy fuel oil and spilled as compared to those without nutrients.

Concerning the components of heavy oils, the decomposition percentages of *n*-paraffins, dibenzothiophene, pyrene, fluoranthene were 62 %, 100 %, 63 %, 68 % and 81 % respectively after 38 days of incubation at 20 °C. In conclusion, it is suggested that biostimulation treatment by adding nutrients would be able to accelerate oil removal from oil-polluted coasts.

Key words: Nakhodka's heavy oil, *n*-paraffins, dibenzothiophene, benzo(*a*)pyrene, biodegradation

1. はじめに

1997年1月2日に発生したロシアタンカー「ナホトカ号」の海難事故によって、同船の積載された中国産の重油が日本海へ多量に流出した。油災害は海外ではトリー・キャニオン号事故を初めとした幾つかの大規模な例があり、我が国での大規模なものは、ジュリアナ号事故や瀬戸内海の水島製油所タンクヤード事故による油汚染が知られている^{1,2)}。今回の油汚染は1) 日本海海上事故による大量の油流出汚染で、しかも2) 中国産重油というこれまで経験の無い油種での油汚染であることなどに加えて3) 冬の長期間にわたる油の挙動や動態が事前にほとんど把握されていない未経験な状態での油汚染であった。油汚染に関する調査研究は生態系への影響、残留油分等の汚染実態など^{3,4)}を中心に展開されるが、油汚染の収束問題を議論するうえでは環境に残存する油の分解性やそれに伴う自然浄化作用の把握が重要な課題となる。特に分解作用の主要な働きをする微生物がどの程度分解するか、その分解性は油の汚染成分の消長に関しても重要な課題となる。そこで今回、災害発生約2ヶ月後から石川県沿岸海域に実際の程度の石油分解細菌が現場海水中に分布しているかを調査するとともに、現場海域の海水中の微生物群集によるナホトカ号の積載重油、流出漂着重油等の分解性について検討したので報告する。

2. 方法

2.1 調査方法

石油分解細菌の分布生息状況を調べるため、Fig. 1に示した石川県内灘町内灘海岸と石川県で初めて流出重油の漂着が確認された加賀市片野海岸で海水試料を採取し、石川県沿岸における石油分解細菌の分布密度や季節変動などを調べた。石油分解細菌数はNSW培地から酵母エキスを除いた培地に栄養源として0.5% (v/v) *n*-テトラデカンを加えたMPN法⁵⁾にて、また従属栄養細菌数はMarin Agar 2216 (Difco製)を用いて寒天培地平板法にて、それぞれ20°C、14日培養後、計数した。現場海水試料を用いた石油分解実験は微生物源として上記の片野海岸や内灘海岸から1997年2月17日、6月17日に

それぞれ採取した海水を使用した。また、分解試験対象の油は1997年2月10日にナホトカ号の船首から抜き取った重油と、2月3日に片野海岸に漂着した油、さらに6月12日に同海岸で採取した油砂(おそらく漂着油が砂に付着混在してウェザリングを受けたものと推察される)を用いた。以後の文中ではそれぞれ重油、漂着油、油砂という。現場海水中の微生物群集が油を分解するかどうかの確認のため比較対照として*n*-テトラデカンだけを加えた実験も並行して行った。漂着油は片野海岸汀線に漂着した油塊であるが海水、浮遊物、砂などが多く混在しているため、これをソックスレー抽出器により*n*-ヘキサンにて抽出して、ヘキサン抽出物質を漂着油として用いた。しかし、油砂は比較的サラサラして取り扱いが容易なためそのまま用いた。

培養は、培地に添加した油と海水との混合を良くしたり、培養後フラスコ側壁に付着した油の溶媒抽出を容易にするため、予め径3mmのガラスビーズ25gを500ml容三角フラスコに入れ、重油、漂着油200mg、油砂は油の含有量が5%未満のため、5gをそれぞれ添加してオートクレーブ滅菌後、200mlの海水試料を加え、20°Cにて振盪培養、所定の日数ごとにフラスコを取り出し、細菌数の計測や培養液中の残存油の分析を行った。また、

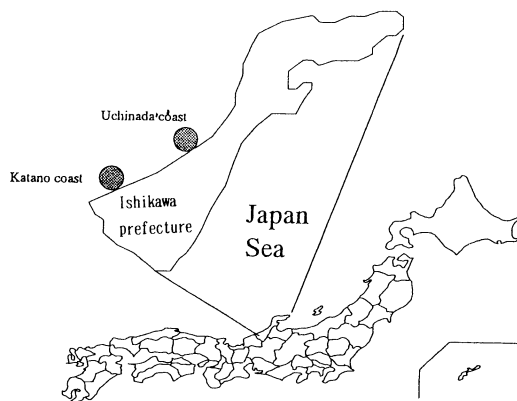


Fig. 1 Location of sampling points at oil-polluted coastal areas in Ishikawa prefecture, Japan

海水試料を滅菌して微生物反応以外のウェザリングによる油成分の物理化学的变化を調べるため、微生物分解実験と同様期間の振とうを行った (Table 4)。さらに、バイオレメデーション技術の基礎的な検討として、現場海域に生息する土着細菌の分解活性を高めるため窒素源として NH_4NO_3 、リン源として K_2HPO_4 を油に対して 10% と 1% の重量比の割合で添加し、同様な条件下で培養し栄養塩を加えない場合との比較を行った。

2. 2 油成分の測定

油の分析は 200ml のジクロロメタンにて抽出し、抽出液を 80°C で 2 時間乾燥した残存量をジクロロメタン抽出物重量として測定した。さらに、この抽出物を 200ml の *n*-ヘキサンにて抽出し、この *n*-ヘキサン抽出液を同様な操作で *n*-ヘキサン抽出物重量を求めた。これらの抽出物は Fig. 2 に示す分析フローチャート⁶⁾ に準じて操作した。すなわち、*n*-ヘキサン抽出物を 20ml に定容とした後、1ml を 10g のシリカゲル (5% H_2O) を充填したカラムに供し、*n*-ヘキサンを展開溶媒として 0~90ml の溶出画分と 90~180ml の溶出画分に分取した。前者の溶出画分はさらにアセトニトリルで有機硫黄化合物成分を抽出し、抽出残液をパラフィン成分試料とし、後者の溶出画分は多環芳香族化合物成分の試料とした。パラフィンとして *n*-パラフィン、有機硫黄化合物としてジベンゾチオフェンおよび多環芳香族化合物としてクリセン、ベンゾ(a)ピレン、ピレン、ベンゾ(k)フルオランテン、フルオランテンを分析対象として、それぞれの成分に内部標準物質として *n*-パラフィンにはピレン、有機硫黄化合物にはアセナフテン D および多環芳香族化

合物にはクリセン D を加え、ガスクロマトグラフ質量分析計 (島津 QP2000) で Table 1 に示す測定条件にて分析した。

3. 結果と考察

3. 1 石油分解細菌の分布

調査した両沿岸海域の海水中に分布する石油分解細菌数を Table 2 に示した。内灘海岸は $1.5 \times 10^3 \sim 4.3 \times 10^4/100\text{ml}$ (平均 $1.6 \times 10^4/100\text{ml}$) であり、片野海岸は $9.1 \times 10^1 \sim 2.4 \times 10^4/100\text{ml}$ (平均 $8.0 \times 10^3/100\text{ml}$) で、季節的变化が多少認められるが石油分解細菌密度は $10^2 \sim 10^4/100\text{ml}$ のレベルでいずれの海域にも生息していた。従属栄養細菌数は内灘海岸が $2.4 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^7\text{CFU}/100\text{ml}$ (平均 $2.3 \times 10^6\text{CFU}/100\text{ml}$) であり片野海岸が $6.0 \times 10^4 \sim 1.7 \times 10^7\text{CFU}/100\text{ml}$ (平均 $3.5 \times 10^6\text{CFU}/100\text{ml}$) で、いずれの海岸でもほぼ同程度の値であった。分解細菌の分布密度と海水中の有機成分である TOC との相関は明確には認められなかった。石油分解細菌数は計数に用いる炭化水素の種類や計数法によっ

Table 1 GC/MS operating conditions

Column: J&W DB5 (15m length, 0.25mm i.d., 0.1 μm film thickness)
Oven temperature: programmed from 60 °C (held for 1.5min) to 300°C at a rate of 10°C/min
Carrier gas : Helium
Column head pressure: 20kPa
Injection temperature: 300 °C
Injection system: splitless
Injection amount: 1 μl
Ion source temperature: 260°C
Interface temperature: 260 °C
Monitor ion(m/z): 57, 71, 85, 99, 178, 184, 202, 228, 252

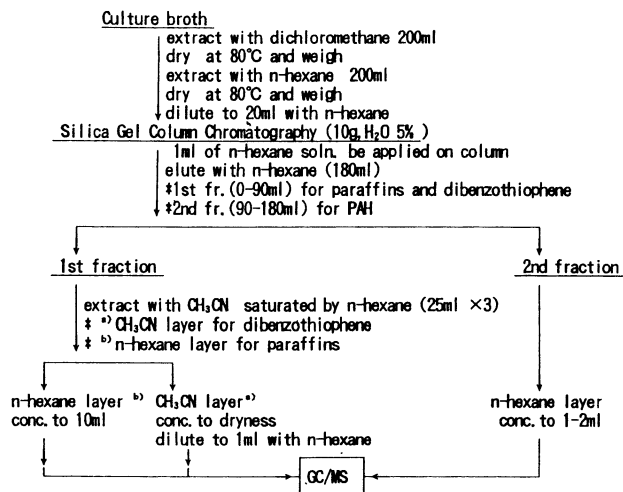


Fig. 2 Analytical method for *n*-paraffins, dibenzothiophene and polycyclic aromatic hydrocarbons in culture broth

Table 2 Seasonal changes and coastal distribution of hydrocarbon degrading bacteria (in the Sea of Japan, 1997)

Area	Bacteria, Temperature, TOC	March	May	July	September	December
Uchinada coast	number of hydrocarbon degrading bacteria(MPN/100ml)	1.5×10^3	4.3×10^4	2.1×10^4	9.3×10^3	4.3×10^3
	number of colony of heterotrophic bacteria(CFU/100ml)	3.6×10^5	2.4×10^5	1.0×10^7	2.0×10^5	6.2×10^5
	Temperature of surface sea water (°C)	12.2	17.1	23.5	17.0	14.5
	TOC of surface sea water (mg/l)	5.9	2.6	2.3	1.7	2.0
Katano coast	number of hydrocarbon degrading bacteria(MPN/100ml)	2.1×10^2	9.1×10^1	1.5×10^4	2.4×10^4	9.3×10^2
	number of colony of heterotrophic bacteria(CFU/100ml)	3.1×10^5	6.0×10^4	1.7×10^7	1.8×10^5	1.0×10^5
	Temperature of surface sea water (°C)	12.5	16.7	23.2	19.5	15.2
	TOC of surface sea water (mg/l)	6.1	2.5	2.5	2.2	1.9

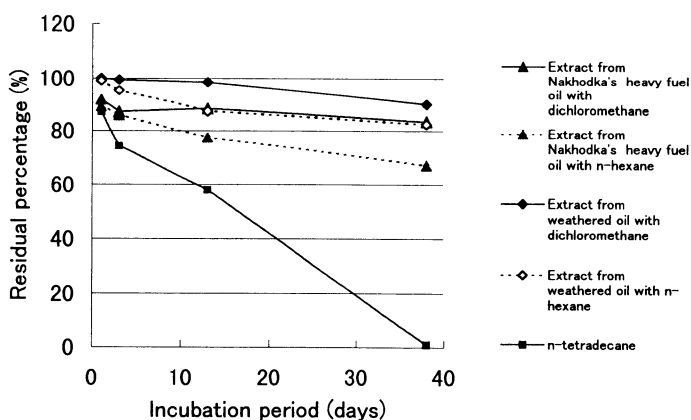


Fig. 3 Degradation of Nakhodka's heavy fuel oil and weathered oil by microbial populations in sea water at Uchinada coast

でも異なってくるが、瀬戸内海の油濁海域である備讃瀬戸の海水中で石油分解細菌数は平均 $3.3 \times 10^3/100\text{ml}$ ，非油濁海域の響灘で平均 $1.9 \times 10^3/100\text{ml}$ また従属栄養細菌数は前者で平均 $4.2 \times 10^6/100\text{ml}$ ，後者で平均 $4.2 \times 10^6/100\text{ml}$ ，と報告されている⁷⁾。本調査結果の石油分解細菌数は汚染海域の備讃瀬戸より若干高い値であったが、従属栄養細菌数はほぼ同程度であった。現場環境における石油分解細菌の分布密度や分解活性に関するバックグランド値は、自然の自浄作用の把握やバイオレメディエーションの基礎データとしてきわめて重要であることから長期的なモニタリングが必要である。

3. 2 重油の微生物分解

現場海域での微生物による油の浄化能力は炭化水素分解細菌の分布密度のみに依存するのではなく、その海域に生息する分解細菌の分解能力や活性にも影響される⁸⁾。そこで、石油分解細菌が生息する海水がどの程度の重油

分解能を有するか、内灘海岸の現場海水試料に重油、油砂およびn-テトラデカンをそれぞれ添加して検討した。分解実験の結果を Fig. 3に、また、実験に用いた海水の水質の結果を Table 3に、それぞれ示した。

n-テトラデカンは直線的に減少し、培養38日ではほぼ100%分解された。これに比べて、重油中のジクロロメタン抽出物の分解は17%、油砂のそれは10%で、ウェザリングを受けた油砂の油は分解されにくいことが示された。また、ヘキササン抽出物でみると、重油では38日の培養で分解率33%、油砂のそれは17%であった。一方、重油のウェザリング試験ではジクロロメタンやn-ヘキササン抽出物重量変化は期間を通じてわずかであった (Table 4)。以上のことから、一般に重油より油砂が分解されにくい油の成分ではヘキササン抽出物より重質油成分が多いと思われるジクロロメタン抽出物が分解されにくい傾向がみられた。

この間の石油分解細菌と従属栄養細菌の増殖曲線を

Table 3 Properties of sea water used for oil-biodegradation tests

Sampling point	Sampling date	TN (mg/l)	TP (mg/l)	COD (mg/l)	pH
Uchinada coast	17, June, 97.	0.82	0.073	3.4	8.01
Katano coast	17, Feb., 97	0.62	0.030	1.7	8.06

Table 4 Result of weathering test

Treatment	Recovery ratio of extraction with solvents (%)		Recovery ratio of components ^{a)} in heavy oil (%)						
	Dichloromethane	n-Hexane	DBT	NPF	BaP	PY	ChS	BkF	FL
Before treating autoclave	100	100	100	100	100	100	100	100	100
After treating autoclave	98	100	100	100	100	100	100	100	100
4 days old	100	100	100	96	100	96	100	100	100
6 days old	100	100	100	90	100	89	100	100	100
13 days old	94	100	100	95	100	100	100	100	100
45 days old	96	99	80	100	100	83	100	100	100

symbols: DBT=dibenzothiophene, NPF=n-paraffins(C₁₄-C₃₂), BaP=benzo(a)pyrene, PY=pyrene, ChS=chrysene, BkF=benzo(k)fluoranthene, FL=fluoranthene

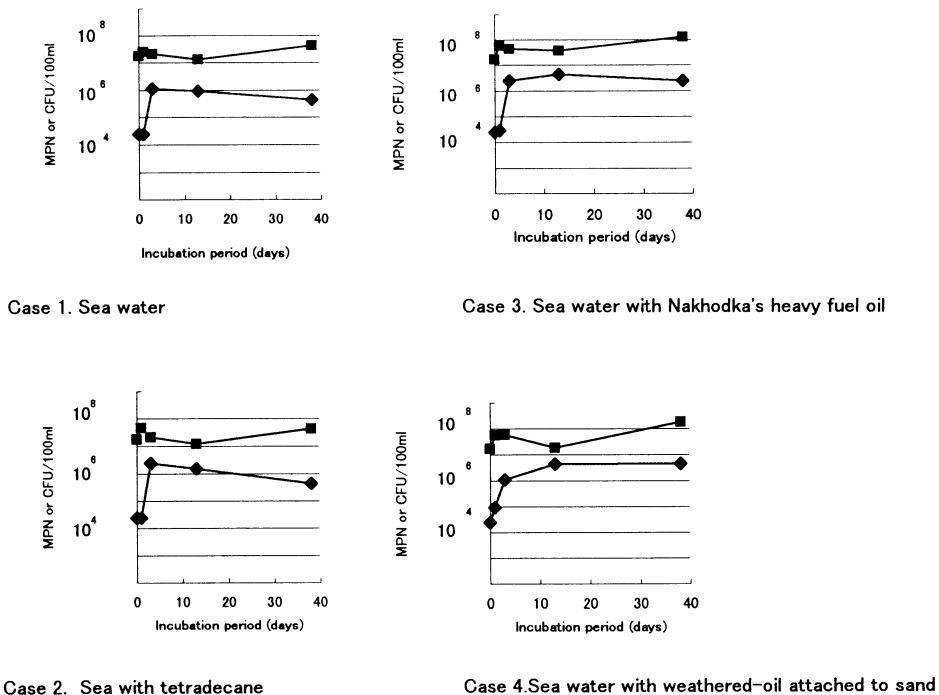


Fig. 4 Growth of oil-degrading bacteria (MPN, ◆) and heterotrophic bacteria (CFU, ■) in microbial communities in sea water added various oil at Uchinada coast

Fig. 4に示した。いずれの場合も、従属栄養細菌数は $10^7 \sim 10^8/100\text{ml}$ 前後で著しい変動はみられなかったが、石油分解細菌数は培養3日で約 $10^4/100\text{ml}$ から約 $10^6/100\text{ml}$ と著しい増加がみられた。これは海水中の微生物

群集が石油にさらされるとそれに急速にレスポンスしてその比率がたかまることを示している。試料採取時期は異なるが、前記と同様に片野海岸での海水試料を用いて検討した結果をFig. 5に示した。重油や漂着油中のn-

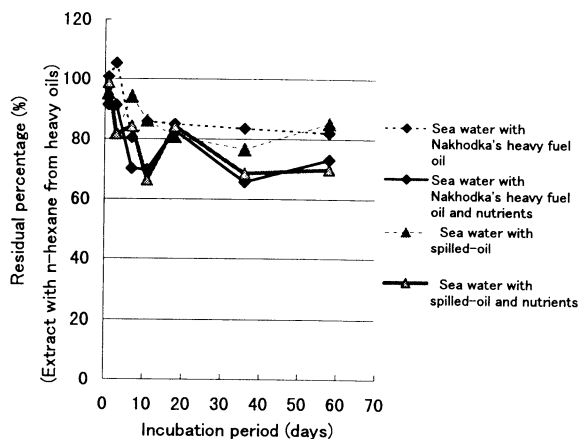


Fig. 5 Effect of addition of inorganic nutrients (N, P) on degradation of Nakhodka's heavy fuel oil and spilled-oil by microbial populations sea water at Katano coast

ヘキサン抽出物の減少パターンは前述の内灘海岸海水試料を用いたときと同様な傾向を示したが、分解率は内灘海岸のそれと比べ低かった。内灘海岸の海水中の平均石油分解細菌数が約100cells/mlであり、ジクロロメタン抽出油当たりの減量からこの浄化能力は1.5~3.3g/m³海水/dayと推測された。この値は村上⁹⁾が求めた0.1~1g/m³海水/dayの範囲よりは大きい。さらに、*n*-ヘキサン抽出油当たりの減量から同様に浄化能力を求めると2.6~5.2g/m³海水/dayであった。同様に片野海岸でも同レベルの石油分解細菌があると仮定すると*n*-ヘキサン抽出油当たりで0.8~2.3g/m³海水/dayと推測され、沿岸海域の海水によって油の分解能力に違いがみられた。この分解性の違いは、海水に含まれているT-NやT-Pが内灘海岸の海水が片野海岸のものより2倍近く高く (Table 3)、これらが栄養塩として浄化作用に影響していると考えられる。この栄養塩濃度の効果をさらに確かめるため、海水に重油や漂着油を入れ、栄養塩である窒素、リンを添加した場合と添加しない場合との培養実験を行った (Fig. 5)。分解率 (100%-残存率) は添加しない場合が重油で15%、漂着油でもほぼ同じ15%程度であるが、栄養塩を添加した場合は分解率がその倍近くになり、30%以上に達した。このように栄養塩を添加すると分解が一層促進され、*n*-ヘキサン抽出油当たりでの浄化能力で推算すると片野海岸では1.7~5.0g/m³海水/dayと2倍の分解速度を持つようになった。これは、現場に從來から生息する土着の菌が栄養塩の供給があれば、積極的に油を分解することを示唆するものである。本実験結果から、直ちに油の消滅速度や量を予測することは難しいが、分解速度は最大5.0g/m³海水/dayと推定される。しかしながら、油の分解は海水への溶解性や油の分散状況により差が生じることを経験しているので、

これらの違いによる分解性については今後の課題となる。

3. 3 油の成分変化

3. 3. 1 *n*-パラフィン

重油、油砂に含まれた*n*-パラフィンを炭素数の長さごとに12~20, 21~24, 25~28, 29~32とグループ分けした*n*-パラフィンの変化をTable 5に示した。*n*-パラフィンのような直鎖状炭化水素の分解は純粋分離された単一菌による検討例がこれまで数多く報告されており¹⁰⁻¹²⁾、*n*-パラフィンの炭素数に応じて分解性が異なり、分解する微生物の種類も炭素数によって異なる傾向がみられる。本結果では炭素数C₁₄からC₃₂までの*n*-パラフィンは培養前の重油に比べて培養後では一様に減少し、全パラフィンで約40%に減少した。分解の特徴は炭素数がC₁₂からC₂₀までが約80%分解されるが、C₂₀以上になると炭素数が増えるごとに分解されにくい傾向を示し、これまでの報告と同様な結果であった。この分解性について、対数で表した縦軸にパラフィン濃度、横軸に経過日数で炭素数毎にプロットした結果をFig. 6に示した。分解直後から3日経過までとそれ以降との2つの近似直線が存在する。そこで前者を第1、後者を第2の直線として近似し、それぞれ下記に示す一次反応として表して第1半減期、第2半減期を求め、炭素数毎に表した (Fig. 7)。

$$dC/dt = -A \cdot C \quad (1)$$

$$\ln(C/C_0) = -A \cdot t \quad (2)$$

$$T_{1,2} = 0.693/A \quad (3)$$

ここで、C; 濃度, C₀; 初期濃度, T_{1,2}; 半減期, A; 係数, t; 日数である。

Table 5 Changes of n-paraffins in Nakhodka's heavy fuel oil after biodegradation using sea water at Uchinada coast in the Sea of Japan

Substance	Incubation period (day)	Residual ratio(%) for range of chain length of n-paraffin				
		C ₁₂ ~C ₂₀	C ₂₁ ~C ₂₄	C ₂₅ ~C ₂₈	C ₂₉ ~C ₃₂	C ₁₂ ~C ₃₂
Nakhodka's heavy fuel oil	0	100	100	100	100	100
	1	61	83	81	78	72
	3	47	66	70	62	58
	13	32	54	58	55	44
	38	18	51	58	77	38
Weathered-oil attached to sand	0	100	100	100	100	100
	1	100	100	100	100	100
	3	61	52	62	65	59
	13	32	40	57	79	46
	38	25	47	57	56	44

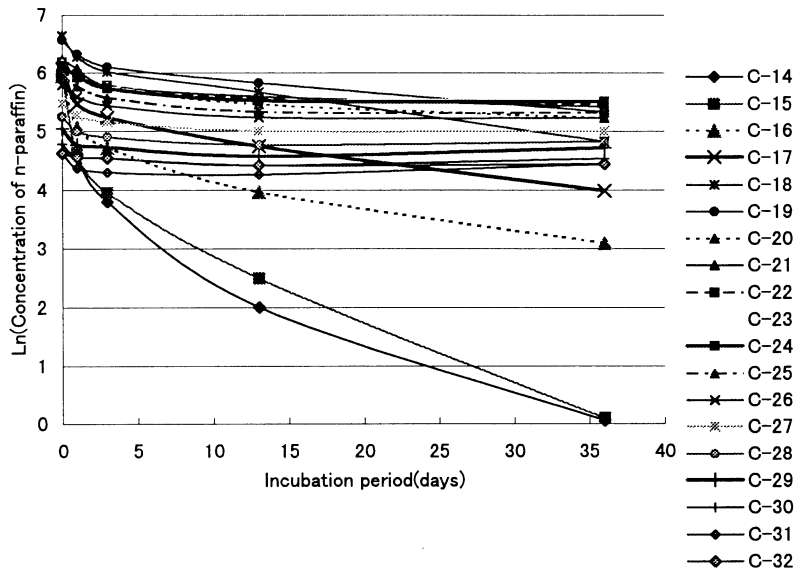


Fig. 6 Relationship between Ln (Concentration of n-paraffin) and incubation period

半減期はこの場合、分解性の難易性を表す指標となる。初期の第1半減期は、第2半減期より短くパッチ型の微生物分解実験での特徴が現れている。それはFig. 4に示したように実験開始後数日で指数的に微生物が増加し、その後定常状態に入る現象が二つの半減期の長さの違いに関係しているのではないかと考えられる。また、炭素数が多いほど半減期が長くなり分解性が悪くなる結果を示している。本実験での半減期の長さを炭素数C₁₅、C₂₀、C₂₉のn-パラフィンについての活性汚泥による分解実験の結果¹³⁾と比較すると第2半減期の値が概ね合ってい

る。物性的には常温ではC₂₀以上は、単品で固形ワックス状であって分解性が悪い。しかしながら、重油の油成分に溶けているパラフィンが混合している場合は、油の分解性に関係する海水への溶解性が単品とは異なって増加し、結果的に分解性が増加することも考えられる。現場海水中の微生物群集には多種多様な分解生物が含まれており、単一菌ではみられない作用、例えば異種菌間で分解中間産物のやり取りをすることによって従来分解しづらいものが形をかえ、結果的に分解されるような共同作用が働いていると思われる。これは、本実験は自然

海水を使用しているの上記のように多種多様な微生物が存在し、しかも油が重油や重油が変質した漂着油や油砂であるから多種の油成分を含む混合系での生物反応であるのでその可能性は大きく、従来の単一菌で観察されたような結果にはならないことを意味していると考えられる。

3. 3. 2 有機硫黄化合物（ジベンゾチオフェン）と多環芳香族化合物

本実験では重油の性質、標準品入取の関係から有機硫黄化合物としてはジベンゾチオフェンについてのみ海水中の微生物群集による生分解性の経時的变化を調べた。ジベンゾチオフェンの毒性は少ないが魚体中に入ると油臭の原因とされるもので、魚の商品価値を著しく損なうものとして油汚染で問題とされる化合物である。また、

重油中の多環芳香族化合物のなかで特に発癌性化合物として知られているベンゾ(a)ピレン、ベンゾ(k)フルオランテン、クリセンを測定対象とした。また、化学構造と分解性の関連から、上記化合物の母体である4員環のピレン、フルオランテンについても検討した。これらの石油汚染由来の化合物の微生物による分解性については、土壌を用いた詳しい分解実験の報告がある¹⁴⁾。これによると、ジベンゾチオフェンは日本土壌では30℃で、90日経過後40%、クウェート土壌で60%分解する。多環芳香族化合物ではピレン、フルオランテンの分解は上述と同様な条件で、日本土壌では90%、70%、クウェート土壌で0%、20%それぞれ分解すると述べられている。その他の化合物ではアセナフテン、アントラセンおよびベリレンの分解が報告され、日本土壌ではそれぞれ90%、80%および0%、クウェート土壌では20%、0%および

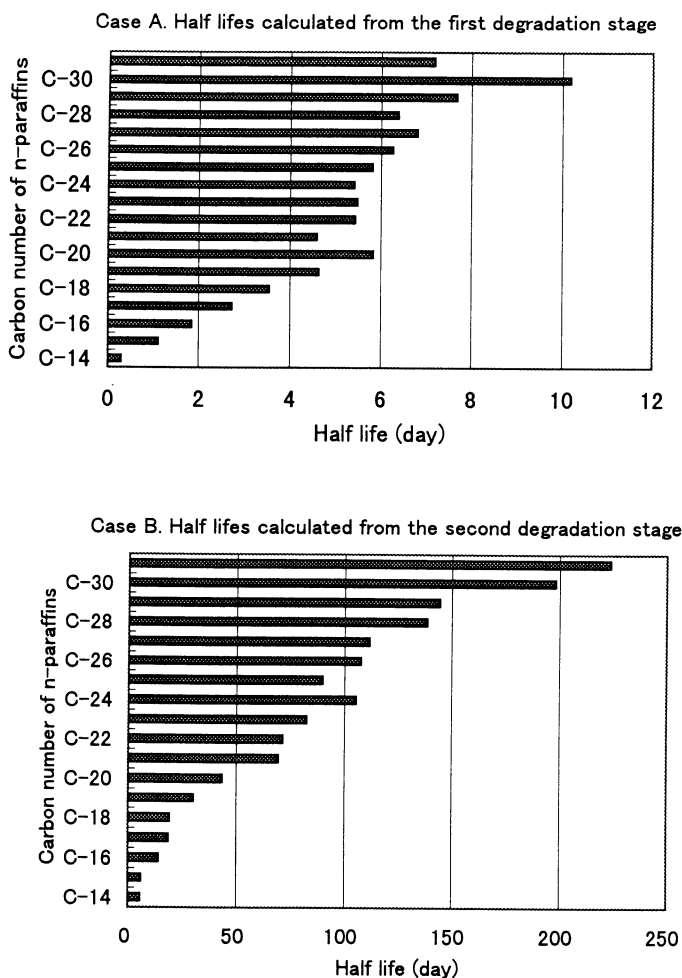


Fig. 7 Relationship between half life of biodegradation and carbon number of n-paraffins in the Nakhodka's heavy fuel oil

0%の分解率を示している。また、ベンゾ(a)ピレンの分解では土壌から単離した菌から TSB 培地でベンゾ(a)ピレンが最大60%分解された報告例¹⁵⁾がある。海洋微生物ではフェナンスレンやピレン、フルオランテンを分解する菌が分離されているが¹⁶⁾5員環での報告例は少ない。

海水に添加した重油や油砂中のジベンゾチオフェンや多環芳香族化合物の経時変化を Table 6に示した。ジベンゾチオフェンは13日以降殆ど分解してしまう結果となった。また、多環芳香族化合物については、本結果では4員環化合物は何れも早期に分解され、5員環以上の化合物ではベンゾ(a)ピレンが分解され、その割合はピレンの32% (38日目) に対してほぼ同程度であり37% (38日目)であった。一方、ベンゾ(k)フルオランテン、クリセンは若干減少傾向は示すもののベンゾ(a)ピレンほど分解されなかった。重油に含まれるこれら多環芳香族化合物の分解性に関する相違は構造的なことや溶解性、微生物毒性等様々な要因が考えられるが、これまで難分解性と考えられた多環芳香族化合物の一部に上述の土壌細菌ほど大きくはないが分解性を示す化合物の存在が観察されたことは、従来の単一菌での分解からみられた現象とは異なり現場海水中の微生物群集の共同作用の関与が示唆された。

4. まとめ

日本海における海洋油汚染物質であるナホトカ号重油や流出した漂着油および油砂について石川県沿岸の現場

海水を用いて微生物分解実験やバイオレメディエーションの基礎的実験を行い、また同時に分解実験に用いた沿岸海域の海水中の石油分解細菌の分布密度を調査し、以下の結果を得た。

- 1) 石川県沿岸の内灘海岸や片野海岸の炭化水素を分解する石油分解細菌の分布密度は夏季に多い季節変動が若干みられたが $10^2 \sim 10^4$ MPN/100mlであり、ほぼ、日本沿岸海域におけるレベルと同程度であり、またいずれの沿岸においても広く分布していることが判明した。
- 2) 両海岸の海水を用いた重油の分解実験結果は38日間の培養では、*n*-ヘキサン抽出物重量の減少率で内灘海岸が33%であり、片野海岸では15%であり、試料採取地点によって分解性に差が認められた。この差は海域による微生物の分解活性の差や海水に含まれる窒素、リンの栄養塩濃度の差に由来するものと推定された。片野海岸海水に、窒素やリンを添加して同様な分解実験を重油や漂着油で行ったところ、分解の割合がほぼ2倍に増加することが認められ、重油汚染における窒素、リン添加によるバイオレメディエーション適用の可能性が示唆された。
- 3) 重油成分の微生物分解性では、ジクロロメタン抽出物のような重質油成分を含むものは*n*-ヘキサン抽出物に比べて分解されにくかった。沿岸の海水中に通常100ml 当り分解細菌の細胞が10000個含まれている1トンの海水の油分解能力は最大5g/dayと推定された。また、重油に含まれる個々の成分におけ

Table 6 Changes of dibenzothiophene and polycyclic aromatic hydrocarbon in Nakhodka's heavy fuel oil after biodegradation using sea water at Uchinada coast in the Sea of Japan

Chemicals		Residual concentration after biodegradation ($\mu\text{g/g-oil}$)				
		Incubation period (days)				
		0	1	3	13	38
Dibenzothiophene	in heavy fuel oil	31.3	17.6	19.3	>	>
	in weathered-oil attached to sand	1.2	1.2	1.1	1.0	0.2
Pyrene	in heavy fuel oil	5.3	4.0	3.1	2.3	1.7
	in weathered-oil attached to sand	0.6	0.6	0.5	0.5	0.4
Fluoranthene	in heavy fuel oil	2.6	3.2	1.2	1.3	0.5
	in weathered-oil attached to sand	0.2	0.4	0.3	0.3	0.1
Benzo(a)pyrene	in heavy fuel oil	64.0	53.2	50.8	39.3	23.6
	in weathered-oil attached to sand	5.5	4.7	6.6	6.2	2.9
Benzo(k)fluoranthene	in heavy fuel oil	26.3	25.9	23.3	21.9	21.3
	in weathered-oil attached to sand	2.5	2.5	3.2	2.8	2.7
Chrysene	in heavy fuel oil	116.9	128.5	112.5	99.9	106.8
	in weathered-oil attached to sand	12.2	10.7	13.6	13.3	7.8

る分解性は炭素数が24以下の *n*-パラフィン、有機硫黄化合物（ジベンゾチオフェン）、ベンゾ(*a*)ピレン、ピレン、フルオランテンが分解されやすく、クリセンやベンゾ(*k*)フルオランテンは分解されにくく、全パラフィン、ジベンゾチオフェン、ベンゾ(*a*)ピレン、ピレンおよびフルオランテンの38日間における分解率はそれぞれ62%、100%、63%、68%および81%であった。

要約

ナホトカ号重油、その漂着油および油砂について石川県沿岸の現場海水を用いて微生物分解実験やバイオレメディエーションの基礎的実験を行い、また、同時に沿岸海域における石油分解細菌の分布密度を調査し、以下の結果を得た。(1)石油分解細菌の密度は $10^2 \sim 10^4$ MPN/100mlであり、(2)石油の分解率は海水中の窒素やリン源の濃度によって大きく変化し、窒素やリンの添加によって約2倍まで増加した。(3)重油成分ごとの分解性では、ジクロロメタン抽出物は *n*-ヘキサン抽出物に比べて分解されにくい。個々の成分における分解性は炭素数が24以下の *n*-パラフィン有機硫黄化合物（ジベンゾチオフェン）、ベンゾ(*a*)ピレン、ピレン、フルオランテンが分解されやすく、クリセンやベンゾ(*k*)フルオランテンは分解されにくく、全パラフィン、ジベンゾチオフェン、ベンゾ(*a*)ピレン、ピレン、フルオランテンの培養38日における分解率はそれぞれ62%、100%、63%、68%、81%であった。

文献

- 1) 日本水産学会編：石油汚染と水産生物，恒星社厚生閣，pp25-32（1976）
- 2) 津田 覚：瀬戸内海の油汚染，大日本図書，pp7-46（1976）
- 3) 日本水産資源保護協会影響調査対策委員会編：ジュリアナ号石油流出事件による漁業への影響調査報告書I，II（1973）
- 4) 水鳥重油流出事故漁業影響調査推進協議会編：水鳥重油流出事故漁業影響調査報告書昭和49年度，50年度（1975）
- 5) Higashihara, T., Sato, A. and Shimidu, U.: An MPN Method for the Enumeration of Marine Hydrocarbon Degrading Bacteria. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, **44**, 1127-1134（1978）
- 6) 内山 充，武田明治，齊藤行生，檜本 隆，中村彰夫，松永和義，今中雅章，足立一彦，黒田弘之，鹿山 光，直井家寿太：海洋の油汚染と海産食品の汚染との関連性に関する研究，昭和52年度環境保全研究成果集（I），26・1-26・34（1977）
- 7) Kimura, B., Murakami, M. and Fujisawa, H.: Characterization and Oildegrading Activity of Heavy Oildegrading Bacteria Isolated from the Sea Water of Oilpolluted Bisan Seto and Oil-unpolluted Hibi-ki Nada, *Nippon Suisan Gakkaishi*, **55**, 1091-1095（1989）
- 8) 日本海洋学会編：沿岸環境調査マニュアルII，恒星社厚生閣，pp305-355（1990）
- 9) 村上昭彦：石油の海洋微生物による分解，ケミカル・エンジニアリング，**27**，20-25（1982）
- 10) Jobson, A., Cook, F. D. and Westlake, D. W. S.: Microbial Utilization of Crude Oil, *Appl. Microbiol.*, **23**, 1082-1089（1972）
- 11) 藤沢浩明，村上正忠：わが国の沿岸海域における炭化水素酸化細菌に関する生態学的研究VI，*J. Shimonoseki Univ. Fish.*, **30**（1），13-24（1981）
- 12) 東原孝規，丸山明彦，河野泰広，倉根隆一郎：海洋石油分解微生物の固定化技術と油濁浄化に係わる微生物生態系解析技術に関する研究（II）油濁浄化に係わる微生物生態系解析技術に関する研究，平成7年度環境保全研究成果集（I），42・II・1-42・II・8（1995）
- 13) 通商産業省基礎産業局化学品安全課監：化審法の既存化学物質安全性点検データ集，日本化学物質安全・情報センター（1992）
- 14) 石油産業活性化センター：微生物による油汚染浄化処理技術調査（1997）
- 15) 峯木 茂，杉田和俊，後藤純雄，渡辺征夫，溝口次夫，石井忠浩，飯田 貢：多環芳香族炭化水素の微生物処理，環境化学，**4**，813-818（1994）
- 16) 岩瀨徳郎：海洋流出油の微生物分解，水環境学会誌，**16**（11），10-15（1993）