

石油汚染が海洋生物に及ぼす影響の基礎的研究I

誌名	日本水産學會誌
ISSN	00215392
著者	徳田, 廣 新崎, 盛敏
巻/号	43巻1号
掲載ページ	p. 97-102
発行年月	1977年1月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



石油汚染が海洋生物に及ぼす影響の基礎的研究—I

流出油乳化剤の植物プランクトンに対する致死濃度

徳田 廣・新崎盛敏

(1976年6月23日受理)

Fundamental Studies on the Influence of Oil Pollution upon
Marine Organisms—I.Lethal Concentrations of Oil-spill Emulsifiers for
Some Marine PhytoplanktonHiroshi TOKUDA*¹ and Seibin ARASAKI*²

The lethal concentrations of 84 commercially produced oil-spill emulsifiers for marine phytoplankton were determined by culture experiments. The samples of oil-spill emulsifiers were collected in August of 1971 (54 domestic and foreign products), 1973 (12 domestic products), 1974 (14 domestic products) and 1975 (4 foreign products). Among 3 species of phytoplankton used as test organisms, *Skeletonema costatum* was the most sensitive, *Nitzschia closterium* moderately sensitive, and *Chlamydomonas* sp. the least sensitive to the toxicity of oil-spill emulsifiers. The toxicity of oil-spill emulsifiers was reduced year after year due to the improvements in their components. The most recently produced oil-spill emulsifiers did not inhibit the growth of *Skel. costatum* at a concentration of 100 ppm; moreover, some of them allowed the growth of this alga even at a concentration of 10,000 ppm.

現代は石油時代といわれ、石油なくして現在の文明社会の存続や発展が考えられないほど、われわれの生活は石油の恩恵をうけている。先進諸国における石油消費の増大によつて、油産国から消費国へ海上を經由して運ばれる石油量は、年間莫大な量にのぼり、空船時にタンカーによつて海上投棄された dirty ballast や tank cleaning water, あるいはその他の原因から海上に流出した石油により、すでに世界の海の大部分は汚染されている。

一方、地球上の人口は年々増加の一途を辿り、現在でもすでに食糧不足が叫ばれており、食糧生産あるいはタンパク質生産の場としての海洋は、今後ますます重要性を増してくるわけである。人類の生存にとつてかけがえのない海が、石油によつて汚染される結果、そこに生息する生物がどのような影響をうけるか、すでにすぐれた総説¹⁻⁶⁾が発表されているが、まだ未知な点も多く残されている。そこで筆者は、微力ながら海洋生物におよぼす石油汚染の影響の研究に着手した。

流出油の処理には、物理的方法と化学的方法に大別される2法が適用されており、それぞれの方法はさらにいくつかの方法に細分されるが、⁶⁾ 本論文では化学処理剤の一種、乳化分散剤（以下単に油処理剤と記す）の対生物毒性の程度を知る手がかりとして、その植物プランクトンに対する致死濃度を求めてみた。

材料と方法

油処理剤は、1971年8月、当時わが国で市販されていたほとんどすべての国産品および外国製品の54種

*¹ 東京大学農学部水産学科 (Dept. of Fish., Univ. of Tokyo, Tokyo, Japan).

*² 日本大学農獣医学部水産学科 (Dept. of Fish., Nihon Univ. Tokyo, Japan).

類, 1973年8月および1974年8月にそれぞれ当時の市販国産品より無作為に抽出された12種類と14種類, さらに1975年8月に入手した外国製品4種類, を毒性試験に用いた。

供試生物としては, 神奈川県三浦半島油壺湾産の海産 *Chlamydomonas* sp., *Nitzschia closterium*, ならびに北海道釧路港沖産の *Skeletonema costatum* を用いた。

基本培養液には岩崎によるSW II⁷⁾を用い, これに各油処理剤を超音波処理により乳化させ, 10倍希釈列もしくは対数的希釈列を験液として調製し, 験液 50 ml に対し, あらかじめSW II 液中で培養しておいた指数関数的増殖期の供試生物懸濁液 0.1 ml を接種した。なお基本培養液に供試生物を接種したものを対照とした。

培養条件は, 1971年8月入手の試料に関しては, *Chlamyd.* sp., では温度 26°C, 照度 4,000 lux, 培養期間 7 日間, *Nitz. closterium* では照度 4,000 lux, 温度は 71-1 から 71-43 までの試料では 26°C 71-44 から 71-54 の試料では 19°C, 培養期間はいずれも 7 日間, また *Skel. costatum* では温度 19°C, 照度 4,000 lux, 培養期間 6 日間で行なつた。1973年8月以後に入手した試料に関しては, すべて *Skel. costatum* を供試生物とし, 温度 20°C, 照度 4,600 lux にて 10 日ないし 2 週間培養を行なつた。

上記のいずれの場合も培養器は恒温槽内に静置し, 下側より連続照明を施した。また培養期間中, 1 日数回手で軽く培養器を振とうし, 内容物をかくはんした。培養終了後, 各験液中での植物プランクトンの増殖の有無を肉眼ならびに光学顕微鏡で確め, 油処理剤の致死濃度を求めた。

結果と考察

1971年8月に入手した油処理剤の植物プランクトンに対する致死濃度は, Table 1 に示したごとくである。本表中で, ある濃度を示す数字の真下に線 (太い直線, 点線もしくは破線) が引かれている試料は, その濃度が線の種類によつて区別された供試生物の致死濃度を示しており, また 2 つの濃度の中に線が引かれている試料では, 両濃度の中に供試生物の致死濃度があることを示している。

すなわち, *Nitz. closterium* で毒性検定を行なつた 54 種類の試料については, 致死濃度が 1 ppm 未満のもの 7 種類, 1 ppm のもの 1 種類, 1 ppm と 10 ppm との間 (以下 1~10 ppm のごとくに記す) の

Table 1. Anti-algal spectrum of 54 oil-spill emulsifiers sampled in August 1971

Sample No.	Concentration(ppm)					Sample No.	Concentration(ppm)				
	1	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴		1	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴
71-1						71-15					
"-2						"-16					
"-3						"-17					
"-4						"-18					
"-5						"-19					
"-6						"-20					
"-7						"-21					
"-8						"-22					
"-9						"-23					
"-10						"-24					
"-11						"-25					
"-12						"-26					
"-13						"-27					
"-14						"-28					

Note: *Nitz. closterium*, ---- *Chlamyd.* sp., — *Skel. costatum*.

もの5種類, 10 ppmのもの3種類, 10~100 ppmのもの19種類, 100 ppmのもの2種類, 100~1,000 ppmのもの1種類, 1,000 ppmのもの4種類, 1,000~10,000 ppmのもの1種類, 10,000 ppmのもの6種類, 10,000 ppmを越えるもの5種類であった。

Chlamyd. sp. で毒性検定を行つた43種類の試料については, 致死濃度が1 ppm未満のもの2種類, 1 ppmのもの1種類, 10~100 ppmのもの4種類, 100 ppmのもの4種類, 100~1,000 ppmのもの7種類, 1,000 ppmのもの5種類, 1,000~10,000 ppmのもの3種類, 10,000 ppmのもの11種類, 10,000 ppmを越えるもの6種類であった。

Skel. costatum で検定を行つた11種類の試料については, 致死濃度が1 ppmのもの1種類, 10 ppmのもの3種類, 10~100 ppmのもの2種類, 100 ppmのもの1種類, 1,000 ppmのもの1種類, 1,000~10,000 ppmのもの3種類であった。

以上の結果を生物種別に比較してみると, *Skel. costatum* が油処理剤に対してもつとも敏感で低い耐性を示し, *Nitz. closterium* は *Skel. costatum* より10倍以上強く, *Chlamyd. sp.* は *Nitz. closterium* よりさらに10倍ないし100倍強いといつてよからう。したがつて, これ以降の油処理剤の毒性試験用供試生物には, もつばら *Skel. costatum* 鋤路株を用いることに定めた。この株は, 日本各地の沿岸水より分離した9株の *Skel. costatum* のうちで, 油処理剤に対してちょうど平均的な感受性を示すものである⁹⁾。

1973年, 1974年, および1975年の各8月に入手した試料の *Skel. costatum* に対する致死濃度は, Table 2, Table 3, および Table 4 に示した。この結果から, 油処理剤の毒性は, 年を追つて低くなつていくのが明白である。

油処理剤の組成は, 企業秘密とされているようであるが, 筆者が調査した結果を示すと, ひじょうに概括的であるが, Table 5のごとくである。71-1 から 71-41 までのほとんどの油処理剤の組成は, 界面活性剤部としてエーテル型非イオン系界面活性剤, 溶剤部として石油系炭化水素, から成つており, トレーキャニオン号座礁事故(1967年3月18日)の際に使用された高毒性の油処理剤¹⁾と同類の組成のものである。

油処理剤によつて海水中に乳化した石油は, 種々の海洋生物, なかんずく微生物によつて変質・分解されるわけであるが, 界面活性剤のエーテル結合や芳香族環を分解しうる酵素をもつ生物は稀であるし, またト

Table 1. continued

Sample No.	Concentration (ppm)					Sample No.	Concentration (ppm)				
	1	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴		1	10 ¹	10 ²	10 ³	10 ⁴
71-29						71-42					
"-30						"-43					
"-31						"-44					
"-32						"-45					
"-33						"-46					
"-34						"-47					
"-35						"-48					
"-36						"-49					
"-37						"-50					
"-38						"-51					
"-39						"-52					
"-40						"-53					
"-41						"-54					

レーキャニオン号当時の油処理剤に使用されていた溶剤部には、流出油との乳化状態を安定させるため、芳香族分画を多く含んだ石油系炭化水素が好んで用いられていたため、油処理剤は対生物毒性が高いうえ、微生物分解が困難であつた。このような理由から、油処理剤散布時の実施方法によつては、2次汚染の原因となつたのである。

しかし、71-43, 71-46, 71-52 の試料では、界面活性剤部はエステル型非イオン系界面活性剤に、71-52 では溶剤部も *n*-パラフィンに改められ、生分解を容易ならしめるとともに低毒性化が計られている。

Table 2. The growth of *Skeletonema costatum* on media with various concentrations of 12 domestic oil-spill emulsifiers sampled in August 1973

Sample No.	Concentration (ppm)								
	10	18	32	56	100	180	320	560	1,000
73- 1	+	+	+	+	+	+	-	-	-
73- 2	+	+	+	+	+	+	±	-	-
73- 3	+	+	+	+	+	+	±	-	-
73- 4	+	+	-	-	-	-	-	-	-
73- 5	+	+	+	+	+	/	/	/	-
73- 6	+	+	+	+	+	/	/	/	-
73- 7	+	+	+	+	+	±	-	-	-
73- 8	+	+	+	+	+	/	/	/	-
73- 9	+	+	+	+	+	/	/	/	-
73-10	+	+	+	+	+	/	/	/	-
73-11	+	/	/	/	-	/	/	/	-
73-12	+	/	/	/	-	/	/	/	-

Note +: grown luxuriantly as on control medium,
 ±: grown little or suppressed to grow,
 -: killed,
 /: not tested.

Table 3. The growth of *Skeletonema costatum* on media with various concentrations of 14 domestic oil-spill emulsifiers sampled in August 1974

Sample No.	Concentration (ppm)								
	100	180	320	560	1,000	1,800	3,200	5,600	10,000
74- 1	+	+	±	-	-	-	-	-	-
74- 2	+	+	+	+	+	+	±	-	-
74- 3	+	+	±	-	-	-	-	-	-
74- 4	+	+	±	±	-	-	-	-	-
74- 5	+	+	-	-	-	-	-	-	-
74- 6	-*	-	-	-	-	-	-	-	-
74- 7	+	+	+	+	+	+	±	±	-
74- 8	+	+	±	-	-	-	-	-	-
74- 9	+	+	+	+	±	-	-	-	-
74-10	+	+	+	±	-	-	-	-	-
74-11	+	+	+	+	+	+	+	+	+
74-12	+	±	-	-	-	-	-	-	-
74-13	+	±	-	-	-	-	-	-	-
74-14	+	+	+	+	+	+	±	-	-

Note *: grown slightly for 4 days after inoculation, but killed later.
 See also the footnote under Table 2.

Table 4. The growth of *Skeletonema costatum* on media with various concentrations of 4 foreign oil-spill emulsifiers sampled in August 1975

Sample No.	Concentration (ppm)						
	56	100	180	320	560	1,000	1,800
75-1	+	±	-	-	-	-	-
75-2	+	+	+	+	+	+	-
75-3	+	+	+	-	-	-	-
75-4	+	+	+	+	±	-	-

Note See the footnote under Table 2.

Table 5. Composition of several oil-spill emulsifiers shown in Table 1

Sample No.	Solvent	Surfactant
71- 1	Petroleum hydrocarbon	POE* alkyl aryl ether POE alkyl ether
71- 2	Petroleum hydrocarbon	POE alkyl phenol ether POE alkylamide ether
71- 3	Petroleum hydrocarbon	POE alkyl phenol ether Alkyl benzene sulfonate
71-15	Kerosene70%	POE alkyl phenol ether27% PEG** fatty acid ester 3%
71-19	Petroleum hydrocarbon70% (composed of 100% aromatics)	Higher alcohol ester.....10% Non-ionic surfactant }20% Anionic surfactant }
71-21	Kerosene75%	POE alkyl phenol ether18% POE alkyl ether 7%
71-26	Water80%	POE alkyl phenol ether20%
71-30	Petroleum hydrocarbon	POE alkyl aryl ether Alkanolamine fatty acid ester
71-31	Petroleum hydrocarbon	Amine-type non-ionic surfactant
71-36	Petroleum hydrocarbon	POE alkyl phenol ether PEG oleate Sorbitan monooleate
71-37	Petroleum hydrocarbon	Sorbitan fatty acid ester Alkyl alkanolamide
71-39	Petroleum hydrocarbon	POE alkyl phenol ether PEG oleate
71-41	Petroleum hydrocarbon	POE alkyl ether Alkyl alkanolamide POE alkyl aryl ether
71-43	Kerosene70%	PEG fatty acid ester27% Sorbitan fatty acid ester 3%
71-46	Petroleum hydrocarbon70%	Higher fatty acid ester10% PEG alkylate20%
71-52	n-paraffin	PEG (7 mole) oleate

Note *: Polyoxyethylene, ** Polyethyleneglycol.

1973年8月の試料は、低毒性化に移行するための中間的な製品であり、改良された低毒性製品に当時在庫中の旧処方製品を混合して市販したのもあつたようである。1974年8月および1975年8月の試料では、ほぼ全製品が全面的に低毒性化されたとみなしうる。すなわち、界面活性剤部においては、脂肪酸、ソルビタン、あるいはソルビタン脂肪酸エステルなどに、それぞれエチレンオキサイドやエチレングリコールの縮合物を付加したエステル型非イオン系界面活性剤が、溶剤部には *n*-パラフィン、エチレングリコール、イソプロピルアルコール、ジエチレングリコールモノブチルエーテル、水などが用いられており、油処理剤として、生分解性および対生物毒性のうえからこれ以上すぐれたものは考えられないほどの組成に達している。

油処理剤の各成分の植物プランクトンならびに他の海洋生物への影響や蓄積性、生分解性については、今後の報文にゆずりたい。

格筆に際し、試料の入手にご尽力下さるとともに、有益な示唆を戴いた海上保安庁試験研究センター、および社団法人日本海難防止協会に深甚なる謝意を表す。

要 約

1971年8月に入手した国産および外国産油処理剤54種類について、3種の海産植物プランクトン、すなわち *Chlamyd. sp.*, *Nitz. closterium* および *Skel. costatum* に対する致死濃度を、また1973年、1974年および1975年の各8月に入手した国産12種類、同14種類、外国産4種類の油処理剤について、*Skel. costatum* に対する致死濃度を、それぞれ培養実験により求めた。

3種のプランクトンでは、*Skel. costatum* がもつとも油処理剤に敏感で、*Nitz. closterium* がこれにつき、*Chlamyd. sp.* がもつとも耐性が強かつた。

油処理剤の対生物毒性は、その成分の改良の結果、年の経過とともに低毒性化され、1974年および1975年に入手した試料では、ほとんどのものが *Skel. costatum* に対する致死濃度が100 ppm以上で、なかには10,000 ppmでも生育可能な製品があつた。

文 献

- 1) J. E. SMITH: 'Torrey Canyon' Pollution and Marine Life, Cambridge Univ. Press, London, 1968, pp. 196.
- 2) J. D. CARTHY and DON R. ARTHUR: The Biological Effects of Oil Pollution on Littoral Communities, Field Studies Council, London, 1968, pp. 198.
- 3) E. B. COWELL: The Ecological Effects of Oil Pollution on Littoral Communities, Inst. of Petroleum, London, 1971, pp. 250.
- 4) A. NELSON-SMITH: in "Advances in Marine Biology" (ed. by F. S. RUSSELL and M. YONGE), Vol. 8, Academic Press, London and New York, 1970, pp. 215-306.
- 5) A. NELSON-SMITH: Oil Pollution and Marine Ecology, Elek Science, London, 1972, pp. 260.
- 6) 徳田 廣: 化学と生物, 13, 93-95 (1975).
- 7) H. IWASAKI: *Biol. Bull.*, 121, 173-187 (1961).
- 8) H. TOKUDA: in "Proc. VIIIth International Seaweed Symp." (Bangor, 1974), in press.