

## ナホトカ号流出重油及び汚染環境試料中の 芳香族炭化水素と毒性

早川 和一<sup>1)</sup>, 木津 良一<sup>1)</sup>, 安藤 京子<sup>1)</sup>, 村橋 毅<sup>2)</sup>,  
東 成見<sup>1)</sup>, 山本 茂樹<sup>1)</sup>, 長谷川幸司<sup>1)</sup>, 中浜 慶子<sup>1)</sup>,  
山下 克美<sup>1)</sup>, 松本 健<sup>3)</sup>, 後藤 純雄<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>金沢大学薬学部 (〒920 石川県金沢市宝町13-1)

<sup>2)</sup>金沢大学大学院自然科学研究科 (〒920 石川県金沢市宝町13-1)

<sup>3)</sup>金沢大学理学部 (〒920 石川県金沢市角間町)

<sup>4)</sup>国立公衆衛生院 (〒108 東京都港区白金台4-6-1)

[平成9年7月24日受理]

### Aromatic Hydrocarbon Concentrations and Toxicities of Oil Spilled from the Nakhodka and Contaminated Environmental Samples

Kazuichi HAYAKAWA<sup>1)</sup>, Ryoichi KIZU<sup>1)</sup>, Kyoko ANDO<sup>1)</sup>, Tsuyoshi MURAHASHI<sup>2)</sup>,  
Masachika AZUMA<sup>1)</sup>, Shigeki YAMAMOTO<sup>1)</sup>, Koji HASEGAWA<sup>1)</sup>, Keiko NAKAHAMA<sup>1)</sup>,  
Katsumi YAMASHITA<sup>1)</sup>, Ken MATSUMOTO<sup>3)</sup> and Sumio GOTO<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup>Faculty of Pharmaceutical Sciences, Kanazawa University  
(13-1 Takara-machi, Kanazawa, Ishikawa 920)

<sup>2)</sup>Graduate School of Natural Science and Engineering, Kanazawa University  
(13-1 Takara-machi, Kanazawa, Ishikawa 920)

<sup>3)</sup>Faculty of Science, Kanazawa University  
(Kakuma-machi, Kanazawa, Ishikawa 920)

<sup>4)</sup>National Institute of Public Health  
(4-6-1 Shirokanedai, Minato-ku, Tokyo 108)

[Received July 24, 1997]

#### Summary

Aromatic hydrocarbons in the oil spilled from "the Nakhodka" and in the environmental samples including air, reached oil and sea water were determined by gas chromatography/mass spectrometric detection and high-performance liquid chromatography/fluorescence detection. Aromatic hydrocarbons determined in the oil were as follows: benzene, toluene, ethylbenzene, xylenes, naphthalene, acenaphthene, fluorene, anthracene, fluoranthene, pyrene, benz[*a*]anthracene, chrysene, benzo[*b*]fluoranthene, benzo[*k*]fluoranthene, benzo[*a*]pyrene, dibenz[*a,h*]anthracene and benzo[*ghi*]perylene.

Concentrations of benzene, toluene, xylenes and naphthalene in the air collected at contaminated seashores were much lower than their toxic levels. However, a model experiment suggested that their concentrations in the air might be higher just after the oil spill. Although the naphthalene concentration in the reached oil samples tended to decrease with time,

pyrene and benzo[a]pyrene concentrations were relatively constant. The decrease in naphthalene concentration in the reached oil samples was considered to be due to vaporization. Benzo[a]pyrene concentrations in sea water tended to decrease with time.

The mutagenicity and DNA damage of the oil were assayed. The oil showed indirect-acting mutagenicity in the *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 strains in the presence of S9 mix. Production of p53 protein was enhanced in human FL cells after the treatment with the oil, indicating that the oil caused DNA damage.

**Key words:** oil spill, Nakhodka, aromatic hydrocarbon, mutagenicity, DNA damage

## 1. はじめに

平成9年1月2日に日本海の島根県沖でロシア船籍タンカー「ナホトカ号」から重油が流出する事故が起きた。1月7日、船首部が福井県三国町安島に座礁、同地区一帯に重油が漂着し始め、以後、島根県から山形県の日本海沿岸の広い範囲に重油が漂着した。特に石川県では加賀海岸から能登半島まで多量の重油が漂着し、大きな被害を与えた。

重油は高沸点の炭化水素が主体であるが、微量ながら揮発性の高いベンゼンなどの芳香族炭化水素類を含む。初期の重油回収現場では悪臭の他に眼の痛みや頭痛、めまいなどの症状を訴える作業者が続出し、これらの揮発成分との関連が疑われた。一方、重油には発がん性/変異原性を有するベンゾ[a]ピレンなどの多環芳香族炭化水素も含まれており、それによるヒトや生態系への長期的な影響も懸念されている<sup>1)</sup>。

そこで今回、流出重油並びに漂着重油、海砂、海水中の芳香族炭化水素及び多環芳香族炭化水素を定量して、事故直後の汚染状況とその後の変化を明らかにするとともに、重油の生体影響を明らかにする目的で、微生物を用いた変異原性試験とヒト上皮由来の培養細胞を用いたDNA損傷試験を行った。

## 2. 実験方法

### 2.1 試薬

ベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、キシレン標準溶液はSupelco (Bellefonte, PA, USA) 製を購入した。多環芳香族炭化水素標準溶液 (SRM1647c: ナフタレン, アセナフチレン, アセナフテン, フルオレン, アントラセン, フルオランテン, ピレン, ベンゾ[a]アントラセン, クリセン, ベンゾ[b]フルオランテン, ベンゾ[k]フルオランテン, ベンゾ[a]ピレン, ジベンゾ[a,h]アントラセン, ベンゾ[ghi]ペリレン, インデノ[1,2,3-cd]ピレンを混合する) はNational Institute of Standards & Technology (Gaithersburg, MD, USA) から購入した。その他の試薬は市販特級品を用いた。

### 2.2 試料

試料の採取地点をFig. 1に示した。重油試料はナホトカ号船首部から1997年2月6日に抜き取られたものを用いた。漂着重油、海岸砂及び海水の採取地と日付はTable 1にまとめた。

大気試料は、パーソナルサンプラー (Sibata MP-15CF) により活性短チューブ (Sibata チャコールチューブ・ジャンボ型) 上に捕集した。捕集は作業者による携帯捕集と固定捕集の2つの方式で行い、いずれも捕集時間は2h (大気捕集量 $0.12\text{ m}^3$ ) とした。携帯捕集は石川県珠洲市鞍崎海岸 (1月30日) 及び石川県鳳至郡門前町鹿磯

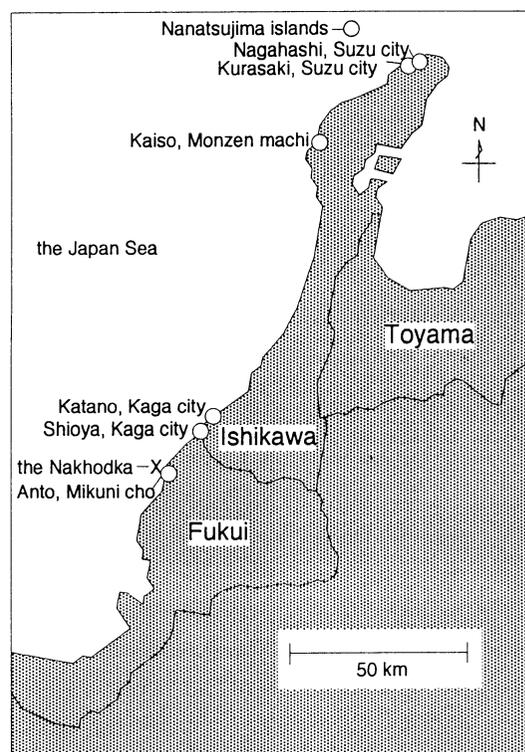


Fig. 1 Sampling Locations

(2月23日, 3月9日, 3月28日)で行った。固定捕集は石川県珠洲市長橋海岸の波打ち際 (A1), 海岸から約10 m離れた木造建築物の救護所内 (A2) 及び海岸から約30 m離れた重油プール脇 (A3) で1月30日~2月2日に行った。

### 2. 3 モデル実験

三角フラスコ (1 dm<sup>3</sup>) に海水500 cm<sup>3</sup>及びナホトカ号抜き取り重油10 gを入れ, 海水をスターラーで攪拌した。所定の時間ごとに空気を三角フラスコに1 dm<sup>3</sup>min<sup>-1</sup>で送り込み, このときのフラスコから排出する空気を5~15 min ずつ前出の活性炭チューブに捕集した。反応温度は10℃とした (Fig. 2)。

### 2. 4 水分の定量

JIS K2275 (原油及び石油製品—水分試験法) に従い重油中の水分含量を次のように測定した。蒸留法水分試験器の蒸留フラスコに重油試料約6~18 gを秤り取り, トルエン-キシレン (2+8) 混合液100 cm<sup>3</sup>を加えて重油を溶解した。フラスコに沸石を加え, 還流装置を取り付けて加熱し, 検水管の捕集水量が変わらなくなるまで蒸留を続けた。検水管中の凝縮水を取り出して遠心分離 (3000rpm, 10 min) し, 水相の質量を測定して, 重油中の水分量を求めた。

### 2. 5 揮発性芳香族炭化水素の定量

ナホトカ号抜き取り重油0.15 gを二硫化炭素2 cm<sup>3</sup>に

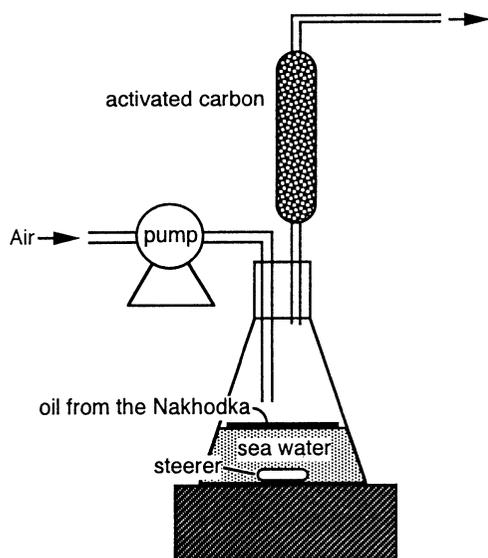


Fig. 2 Schematic diagram for collection of volatile compounds from oil

溶解した。また, 活性炭チューブ捕集試料は二硫化炭素で2 h浸透抽出した。これら二硫化炭素溶液についてベンゼン, エチルベンゼン, トルエン, キシレン, ナフタレンをGC/MSで定量した。分析条件はTable 2に示した。

### 2. 6 多環芳香族炭化水素の定量

ナホトカ号抜き取り重油0.5 gをベンゼン30 cm<sup>3</sup>に溶解した後, アセトニトリルで160倍に希釈した。漂着重油も同様に処理した。海水 (500 cm<sup>3</sup>) はメンブランフィルター (富士フィルムFR-40, 孔径0.4 μm) でろ過しSPE-GLFカートリッジ (横河アナリティカルシステムズ, ポリメタクリレート) を通した後, 濃縮された有機化合物をアセトニトリル20 cm<sup>3</sup>により溶出回収した。また, メンブランフィルターはベンゼン/エタノールで抽出した。両液の多環芳香族炭化水素の定量値を併せて海水中濃度を求めた。蛍光検出HPLCは既法<sup>2)</sup>の条件を一部変更して (Table 2), 上述の16多環芳香族炭化水素のうちアセナフチレンを除く15化合物を定量した。

### 2. 7 変異原性試験 (Ames試験)

重油0.1 gをDMSO 5 cm<sup>3</sup>に溶解し, さらにDMSOで段階希釈してAmes試験プレインキュベーション法<sup>3)</sup>に供した。試験菌株としては, *S. typhimurium* TA98株及びTA100株を使用した。代謝活性因子共存下 (+S9 mix) 及び非共存下 (-S9 mix) の2つの条件で行った。復帰変異コロニー数をカウントし, 試験溶液で得られたコロニー数がコントロールのその2倍以上の場合に有意な変異原性有り と判定した。各試験液についてのコロニー数をコントロールを100とした相対値で示した。

Table 1 Sampling sites and dates

sample site	sampling date and period
oil	
Nakhodka	2/6
Shioya, Kaga city	1/11
Nanatsujima islands	1/16
Nagahashi, Suzu city	2/3
Kaiso, Monzen machi	2/18
Kaiso, Monzen machi	3/20
Nagahashi, Suzu city	3/20
air	
Kurasaki, Suzu city	1/30 (each 9:00-11:00)
Kaiso, Monzen machi	2/23, 3/9, 28 (each 9:00-11:00)
Nagahashi, Suzu city	
A1	1/30, 31, 2/1, 2
A2	1/30, 31, 2/1, 2
A3	1/30, 31, 2/1, 2
	(each 9:00-11:00, 11:00-13:00)
sea water	
Anto, Mikumi cho	2/8, 3/20, 5/2

Table 2 Analytical conditions of GC/MS and HPLC

<b>GC/MS</b>	
apparatus	Shimadzu GC/MS QP2000
injection	split, 1 mm <sup>3</sup> , 100 °C
column	Ulbon HR-1 (50 m x 0.25 mm i.d.)
oven	30 °C (3 min) to 300 °C (10 min) at 10 °C min <sup>-1</sup>
detection	selected ion monitoring (m/z=78 for benzene, 92 for toluene, ethylbenzene and xylenes, 128 for naphthalene)
<b>HPLC for oil</b>	
apparatus	Shimadzu LC-10AD pump, SIL-10A auto sampler, CTO-10AC column oven, RF-10A fluorescence detector
mobile phase	50 % acetonitrile-water (0 min) to 100 % acetonitrile (20 min) at 1 % min <sup>-1</sup> , 1 cm <sup>3</sup> min <sup>-1</sup>
injection	20 mm <sup>3</sup>
column	Vydac 201 TP54 (250 mm x 4.6 mm i.d.), 20 °C
wavelength	excitation/emission (nm) = 280/340 for naphthalene, acenaphthene, fluorene; 250/400 for anthracene; 286/433 for fluoranthene; 311/392 for pyrene; 266/402 for benz[a]anthracene, chrysene; 294/430 for benzo[b]fluoranthene, dibenz[a,h]anthracene, benzo[ghi]perylene; 300/430 for benzo[k]fluoranthene, benzo[a]pyrene
<b>HPLC for sea water</b>	
apparatus	Shimadzu LC-6A pump, Rheodyne 7125 injector, Shimadzu CTO-6A column oven, Jasco 820-FP fluorescence detector
mobile phase	80 % acetonitrile-water, 1 cm <sup>3</sup> min <sup>-1</sup>
injection	50 mm <sup>3</sup>
column	Wakosil 5C18AR (250 mm x 2 mm i.d.), 40 °C
wavelength	excitation/emission (nm) = 384/406

## 2. 8 DNA 損傷試験

重油試料は Ames 試験で使用したものと同じものを用いた。ヒト羊膜上皮由来の FL 細胞にルシフェラーゼ遺伝子の up 流に p53 蛋白質応答配列をつないだプラスミド DNA を導入し、重油試料を投与した。試料投与 24 h 後に細胞から蛋白質を抽出し、ルシフェラーゼ量を測定した。

## 3. 結果及び考察

### 3. 1 水分

漂着重油は漂流中に海水を包含することが推定され、ナホトカ号抜き取り重油も船倉内に海水が入り多量の水分を含んでいる可能性がある。しかも、重油試料を凍結保存後解凍すると水相と重油相に分離する場合があります。重油中有機成分の定量値が保存法によっても影響を受けることが考えられた。従って、水分含量の違いによらず各化合物濃度を正確に求めるためには、重油中の水分量を測定し、補正する必要がある。今回の重油試料は多量の海水を含むことが予想されたので、採取量を JIS 法記載量より減らして測定した。

冷蔵保存した試料に限ってみると、水分含量はナホト

カ号抜き取り重油で 56%、漂着重油で 60~62% と極めて大きく、海水混合によると考えられた。以下には水分含量を除いた重油中濃度として補正した値を示した。

### 3. 2 揮発性芳香族炭化水素

上述したように、初期の重油回収作業の中には眼の痛み、頭痛、吐き気などの症状を訴える者がいた。この原因を明らかにし、対策を講じるには作業環境中の揮発性成分を分析する必要がある。ベンゼンやトルエン、キシレンなどは沸点が低いため揮散しやすく、また中枢神経毒性を有することから、重油回収作業現場の大気中濃度の測定が行われた<sup>4,5)</sup>。

著者らも、当初は現場大気中のベンゼン、トルエン、キシレン濃度を分析した (Table 3)。携帯捕集を行った珠洲市鞍崎海岸 (重油回収作業、1 月 30 日) ではトルエン、キシレンが比較的高い濃度で検出されたが、ベンゼンは検出されなかった。また、門前町鹿磯海岸 (漁業作業、2 月 23 日、3 月 9、28 日) は、ベンゼンは検出されたが、トルエン、キシレン濃度はいずれも低かった。一方、固定捕集を行った珠洲市長橋海岸 (1 月 30 日 ~ 2 月 2 日) の中で最も高濃度の揮発性芳香族炭化水素が検出されたのは A2 (救護所内) であったが、これはこの地点のみが屋内であり、揮散成分がこもり易いことが原因として考えられた。しかし、珠洲市長橋海岸の A1 (波打ち際)、A2、A3 (重油プール脇) のいずれの地点も珠洲市鞍崎海岸や門前町鹿磯海岸より低かった。

Table 3 Atmospheric concentrations of benzene, toluene, xylenes and naphthalene

sample site, date	benzene	toluene	m+p-xylene	o-xylene	naphthalene
Kurasaki, 1/30 nd		11.7	33.8	16.3	na
Kaiso, 2/23, 3/9, 28	7.9±9.1	9.0±6.7	10.4±13.5	4.9±6.6	2.5±2.0
Nagahashi A1, 1/30-2/1	0.9±0.4	1.7±0.9	0.7±0.6	0.2±0.2	na
2/2	2.1±0.6	2.0±1.8	0.8±0.5	0.6±0.4	1.8±1.1
A2, 1/30-2/1	1.4±0.3	4.1±1.1	8.9±4.0	4.0±1.4	na
2/2	3.5±3.9	9.9±11.3	15.2±18.5	2.0±0.6	1.7±1.2
A3, 1/30-2/1	1.1±0.4	2.2±1.1	1.2±0.1	0.4±0.1	na
2/2	2.2±1.8	4.0±4.0	0.5±0.0	0.4±0.0	0.3±0.4

Unit, µg m<sup>-3</sup>; nd=not determined; na=not analyzed. Sampling sites and dates, see Table 1.

今回調査したいずれの地点も労働環境基準（ベンゼン  $32 \text{ mg m}^{-3}$ , トルエン  $380 \text{ mg m}^{-3}$ , キシレン  $430 \text{ mg m}^{-3}$ ）より低かったが、その理由の一つとして、大気の採取が重油漂着から2週間以上経過した時点で行われたために、ベンゼン、トルエン、キシレンのほとんどは既に揮散していたことが考えられた。

一方、著者らは重油中揮発成分のGC/MC分析から、重油中にはナフタレン ( $408 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$ ) がベンゼン、トルエン、キシレン以上の濃度で含まれることを見出した (Table 4)。さらに Table 3 からわかるように、門前町鹿磯海岸と珠洲市長橋海岸のいずれからもナフタレンが検出されている。しかも、ナフタレンには眼や粘膜に刺激作用があることが知られている。そこで、漂着直後のベンゼン、トルエン、キシレンとナフタレンの揮散状況を推定するために、三角フラスコ内で重油成分の揮散実験を行った。その結果、 $10^\circ\text{C}$  という比較的低温にもかかわらずナフタレンがトルエン、キシレンより速やかに揮散していることがわかった (Table 5)。この結果より、重油漂着直後の現場では、ナフタレンの大気中濃度が高かった可能性があり、ベンゼン、トルエン、キシレンの他にナフタレンの影響も無視できないと考えられた。

### 3. 3 多環芳香族炭化水素

ナホトカ号抜き取り重油から多環芳香族炭化水素としてナフタレン、アセナフテン、フルオレン、アントラセン、フルオランテン、ピレン、ベンゾ[a]アントラセン、クリセン、ベンゾ[b]フルオランテン、ベンゾ[k]フルオランテン、ベンゾ[a]ピレン、ジベンゾ[a,h]アントラセン、ベンゾ[ghi]ペリレンの13化合物が検出され、その濃度は  $14 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  (ベンゾ[k]フルオランテン) から  $408 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  (ナフタレン) の範囲であり、代表的な発がん性多環芳香族炭化水素として知られるベンゾ[a]ピレンは  $103 \text{ } \mu\text{g g}^{-1}$  であった (Table 4)。また、Fig. 3 からわかるように、蛍光検出クロマトグラムにはこれら以外にも多くのピークが認められたことから、側鎖を有する多環芳香族炭化水素などが検出されているものと推定される。しかも、今回は2~6環の多環芳香族炭化水素のみを分析したが、重油には7環以上の多環芳香族炭化水素も存在する上に、芳香環を有するアスファルテンやレジジンなどの高分子化合物も含まれていることが知られている。今後、これら難分解成分を多く含む重油の微生物や光などによる分解状況の把握や、毒性への寄与を知るためには、これらの分析は極めて重要と考えられる。著者らは、今回使用したHPLC/蛍光検出法の条件をさらに改良して、7環以上の多環芳香族炭化水素を含めたより多種類の重油成分を分析できる方法を検討中である。

漂着あるいは漂着後の重油中の多環芳香族炭化水素濃度の経時変化を推定するために、1月11日~3月20日ま

Table 4 Aromatic compounds in oil from the Nakhodka

compound	concentration ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
benzene <sup>1</sup>	8.8
toluene <sup>1</sup>	120
ethylbenzene <sup>1</sup>	43
<i>m</i> -+ <i>p</i> -xylenes <sup>1</sup>	88
<i>o</i> -xylene <sup>1</sup>	81
naphthalene <sup>2</sup>	408
acenaphthene <sup>2</sup>	44
fluorene <sup>2</sup>	126
anthracene <sup>2</sup>	50
fluoranthene <sup>2</sup>	47
pyrene <sup>2</sup>	213
benz[a]anthracene <sup>2</sup>	208
chrysene <sup>2</sup>	299
benzo[b]fluoranthene <sup>2</sup>	124
benzo[k]fluoranthene <sup>2</sup>	14
benzo[a]pyrene <sup>2</sup>	103
dibenz[a,h]anthracene <sup>2</sup>	93
benzo[ghi]perylene <sup>2</sup>	203

<sup>1</sup> determined by GC/MS; <sup>2</sup> determined by HPLC/fluorescence detection.

Table 5 Time courses of benzene, toluene, Xylene and naphthalene concentrations in gas phase at  $10^\circ\text{C}$

time (h)	benzene	toluene	<i>m</i> -+ <i>p</i> -xylene	<i>o</i> -xylene	naphthalene
72	na	28	67	31	84
146	na	15	34	13	5
197	na	12	28	12	0
332	na	8	22	9	0
575	na	4	8	3	0

Unit,  $\mu\text{g m}^{-3}$ ; na=not analyzed. Other incubation conditions, see in text.

で石川県内各地 (Table 1) で採取した漂着重油を分析した。漂着重油の採取地点によらず採取日の順に見ると、まず2環のナフタレン濃度は時間経過とともに減少する傾向が見られた。この減衰が一次反応式に従うと仮定すると半減期は3~8日と比較的速い。3環のアントラセンも速度は小さい (半減期150~530日) が、比較的低温でも減少する傾向が認められた (Fig. 4)。ナフタレンとアントラセンのオクタノール/水分配係数はそれぞれ  $2.3 \times 10^3$ ,  $3.5 \times 10^4$  であるので、漂流中に海水に溶解したことも考えられるが、前出の Table 5 の結果を考えあわせると、少なくともナフタレンは主として揮散した可能性が大きい。

一方、ピレン (4環)、ベンゾ[a]ピレン (5環)、ベンゾ[ghi]ペリレン (6環) の濃度は時間が経過しても減少は認められず、これらの化合物は砂浜に打ち上げら

れた後も安定なことがわかった。また、ボーリングして砂中から採取した重油についても同様の傾向が認められ、1～3月の間は生分解も顕著ではなかったことが推

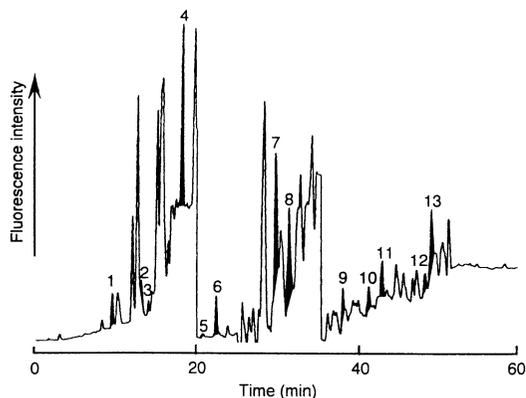


Fig. 3 Chromatogram of oil from the Nakhodka

Peaks: 1, naphthalene; 2, acenaphthene; 3, fluorene; 4, anthracene; 5, fluoranthene; 6, pyrene; 7, benz [a] anthracene; 8, chrysene; 9, benzo [b] fluoranthene; 10, benzo [k] fluoranthene; 11, benzo [a] pyrene; 12, dibenz [a,h] anthracene; 13, benzo [ghi] perylene

定される。今後、気温が上がり、太陽光も強くなれば、揮発性並びに生分解性が高まると予想され、多環芳香族炭化水素濃度の減衰速度の増加が予想される。

漂流中に多環芳香族炭化水素が重油から海水中に移行すれば海洋生物に影響を与えることが懸念される。そこで、多量の重油が漂着した三国町安島のみならず、代表的な変異原性多環芳香族炭化水素であるベンゾ[a]ピレリンの海水中の濃度を測定した。その結果、事故から約1カ月後(2月8日)に $4\sim 5\ \mu\text{g m}^{-3}$ 前後であったが、4カ月後(5月2日)には $0.3\ \mu\text{g m}^{-3}$ 以下に減少し、汚染の改善傾向が見られた(Fig. 5)。同地点のその後の経過は他の地点と併せて、現在調査を継続中である。

### 3. 4 変異原性試験

TA98株及びTA100株の+S9 mix条件では、ナホトカ号抜き取り重油はコントロールの2倍以上のコロニー数を示し、間接変異原性を示すことが明らかとなった。また重油の間接変異原性は、フレームシフト型変異原性を検出するTA98株に比べ、塩基置換型変異原性を検出するTA100株で少し強く現れる傾向が見られた。一方、TA98株及びTA100株の-S9 mix条件では、コロニー数はコントロールのそれと比べて同等かそれ以下であり、直接変異原性は検出できず、重油成分の毒性による菌の死滅(killing)で生菌数が減少した可能性が大きいと考

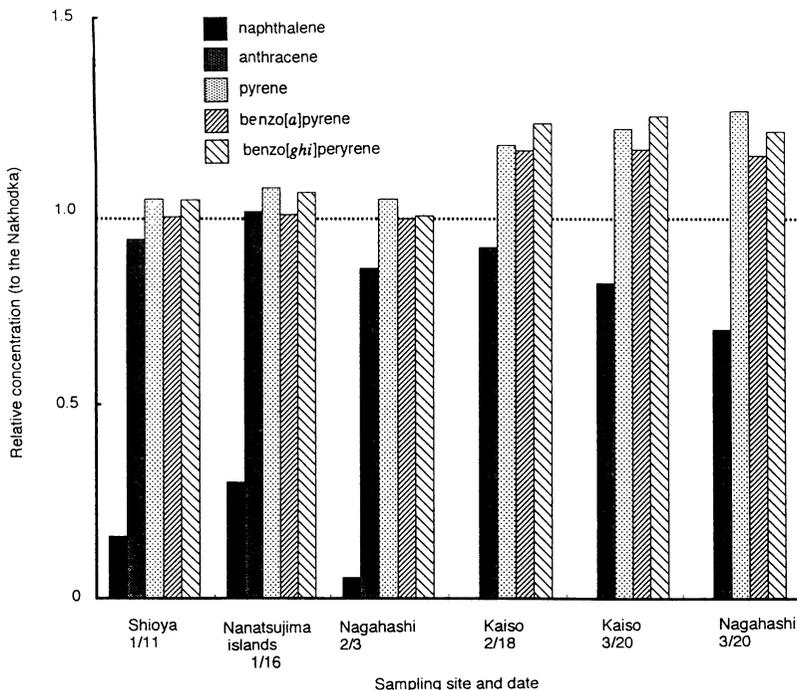


Fig. 4 Polycyclic aromatic hydrocarbon concentrations in reached oil

えられた (Fig. 6)。ベンゾ[a]ピレンを含む多環芳香族炭化水素の多くは塩基対置換型の変異原物質である<sup>8)</sup>ことから、本研究で見られた重油の塩基対置換型の間接変異原性の一部は多環芳香族炭化水素に基づくと考えられた。

### 3. 5 DNA 損傷試験

Fig. 7 に示すとおり、重油に弱いながら p53 遺伝子の活性化が認められたが、必ずしも容量依存性は観察されなかった。この理由の一つとして、高濃度では細胞死の典型である丸く浮遊した細胞が数多く検出されたことから、重油による細胞毒性が現れたためと考えられた。

以上より、重油には、直接変異原性は検出されず、また p53 の活性化もそれほど顕著ではないことから、直接変異原としての生体影響は低いと考えられた。一方、肝臓の酵素によって変異原物質として活性化される化学物質 (間接変異原物質) も数多く存在し、Ames 試験でも S9 mix 存在下で変異原性 (間接変異原性) が認められている。今回の遺伝毒性試験では p53 遺伝子の強い活性化はそれほど強く認められなかったが、今後肝臓由来の細胞に p53 応答遺伝子を導入しその反応性を測定することで、重油に含まれる間接変異原物質の p53 による検出も可能と期待される。

平均的日本人が焼き魚などで摂取するベンゾ[a]ピレンの1日量は約0.5 μg といわれている<sup>9)</sup>。この量はナホトカ号流出重油の約5 mg 中のベンゾ[a]ピレン量に匹敵する。このことは重油回収作業においてマスク等の十分な対策を施していれば、その影響は少ないことを示している。しかし、未だに重油が残る汚染海岸や海域に生息

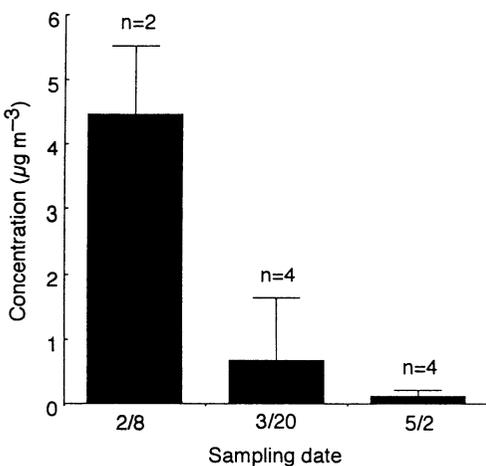


Fig. 5 Benzo [a] pyrene concentration in sea water at Anto, Mikuni-cho  
Data are expressed as means +SD

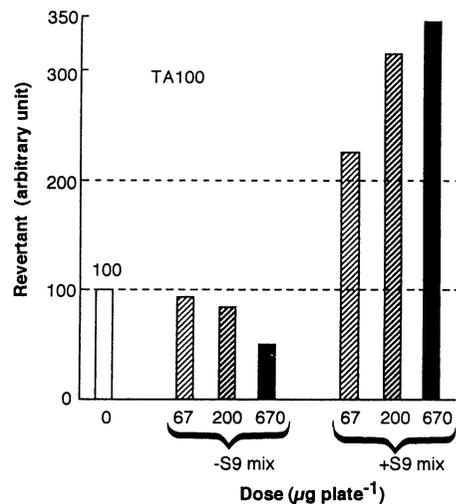
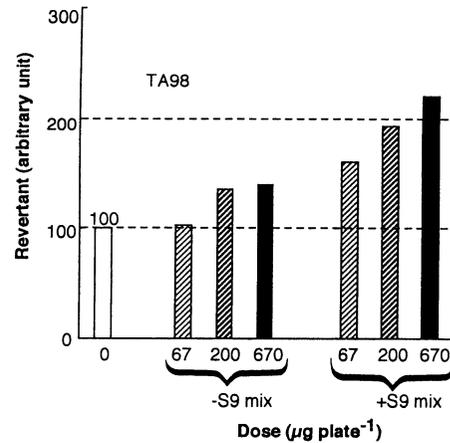


Fig. 6 Mutagenicity of oil from the Nakhodka

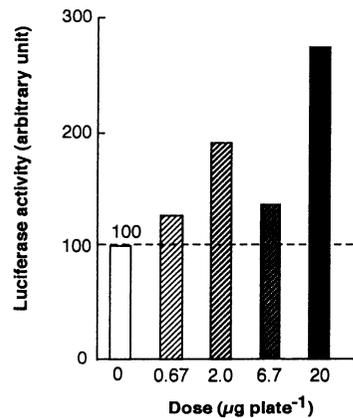


Fig. 7 DNA damage of oil from the Nakhodka

する魚貝類などでは、重油成分を長期間摂取して影響が出る可能性も考えられる。これら魚貝類をヒトが摂取することを考えると、魚貝類中の多環芳香族炭化水素の蓄積量の把握も重要である。著者らは、事故発生後、魚貝類も定期的にサンプリングしており、その中の多環芳香族炭化水素類の分析を継続中である。

#### 4. まとめ

1月11日～5月2日までに採取したナホトカ号抜き取り重油及び石川県内の重油漂着現場大気、漂着重油、海水について以下のことを明らかにした。

- 1) 重油漂着現場の大気からベンゼン、トルエン、キシレン、ナフタレンが検出されたが、いずれも濃度は低く、その理由として大気捕集が重油漂着より2週間以後であったことが考えられた。
- 2) ナホトカ号抜き取り重油のナフタレン濃度はベンゼン、トルエン、キシレンより高く、モデル実験から、重油漂着直後の大気ではナフタレンが高濃度になったことが推定された。
- 3) ナホトカ号抜き取り重油中からは2～6環の多環芳香族炭化水素として13種類が検出された。
- 4) 漂着重油中の2, 3環の多環芳香族炭化水素の濃度は経時的に減少する傾向があり、主として揮散によると考えられた。これに対して、4環以上の多環芳香族炭化水素の濃度は減少しなかった。
- 5) 重油漂着海岸の海水中ベンゾ[a]ピレン濃度は減少傾向が認められた。
- 6) 重油に塩基対置換型の間接変異原性が認められた。
- 7) 重油にはDNA損傷作用が認められた。

#### 謝 辞

試料の捕集に協力頂いた石川県保健環境センター、珠洲保健所、珠洲市役所はじめ多くの方々に感謝致します。本研究の一部は文部省科学研究費補助金によりました。

#### 要 約

「ナホトカ号」から抜き取った重油、環境試料(大気、漂着重油、海水)中の芳香族成分をGC/MS、蛍光検出HPLCで定着した。重油からはベンゼン、トルエン、エチルベンゼン、キシレン、ナフタレン、アセナフテン、フルオレン、アントラセン、フルオランテン、ピレン、ベンツ[a]アントラセン、クリセン、ベンゾ[b]フルオランテン、ベンゾ[k]フルオランテン、ベンゾ[a]ピレン、ジベンツ[a,h]アントラセン、ベンゾ[ghi]ペリレンが検出された。

大気中ベンゼン、トルエン、キシレン、ナフタレン濃度は有毒なレベルより遥かに低かった。しかし、モデル

実験から重油流出直後はベンゼン、トルエン、キシレン、ナフタレン濃度は高いことが推定された。漂着重油中のナフタレン濃度は低下傾向が認められたが、ピレン、ベンゾ[a]ピレン濃度はほとんど同じであった。ナフタレンの減少は揮散のためと考えられた。また、海岸砂中の多環芳香族炭化水素類の組成は漂着重油中のそれと類似していた。ベンゾ[a]ピレンの海水中濃度は低下傾向を示した。

重油の変異原性、DNA損傷についても調べた。重油は *Salmonella typhimurium* TA98及びTA100株に対し間接変異原性を示した。また、重油で処理するとヒトFL細胞中でp53遺伝子を活性化させることから、DNA損傷を引き起こすことが明らかとなった。

#### 文 献

- 1) Niff, J. M. and Stubblefield, W. A.: Chemical and toxicological evaluation of water quality following the Exxon Valdez oil spill, pp 141-177, "Exxon Valdez Oil Spill" Edited by P. G. Wells et al., American Society for Testing and Materials, Philadelphia (1995)
- 2) 村橋 毅, 早川和一, 岩本侑子, 宮崎元一: 蛍光/化学発光検出クロマトグラフィーによる大気粉じん中の多環芳香族炭化水素及びそのニトロ誘導体の同時分析, 分析化学, **43**, 1017-1020 (1994)
- 3) 矢作多貴江: 環境中の発ガン物質を微生物を使ってスクリーニングする実験法について, 蛋白質核酸酵素, **20**, 1178-1189 (1975)
- 4) 重油流出事故における福井県の対応, 福井県環境保全課, 1997年1月
- 5) 国立環境研究所, ホームページ, 1997年6月
- 6) Wolfe, D. A., Hameedi, M. J., Galt, J. A., Watabayashi, G., Short, J., O'Claire, C., Rice, S., Michel, J., Payne, J. R., Braddock, J., Hanna, S. and Sale, D.: The fate of the oil spilled from the Exxon Valdez, *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 561A-568A (1994)
- 7) Speight, J. G.: Evidence for the Types of Polynuclear Aromatic Systems in Nonvolatile Fractions of Petroleum, pp201-215, "Polynuclear Aromatic Compounds" Edited by Ebert, L. D., The American Chemical Society, Washington DC (1988)
- 8) 若林敬二: アミノ酸, 蛋白質加熱分解により生じるヘテロサイクリックアミンの変異原性と癌原性, 代謝, **19**, 939-948 (1982)
- 9) 澤村良二, 濱田 昭, 早津彦哉: pp170, "衛生化学・公衆衛生学 改訂第2版", 南江堂, 東京 (1995)