ノート

GC/MS (SIM) による魚介類中の重油関連汚染物の分析

(平成 9 年 9 月 2 日受理)

根本 了* 高 附 巧* 松田りえ子*
佐々木久美子* 豊田正武*

Analyses for Petroleum-related Contaminants in Seafoods by GC/MS (SIM)

Satoru NEMOTO, Satoshi TAKATSUKI, Rieko MATSUDA, Kumiko SASAKI
and Masatake TOYODA(National Institute of Health Sciences: 1-18-1, Kamiyoga,
Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan)

Petroleum-related contaminants in seafoods were analyzed. A GC/MS (SIM) method was developed for the determination of contaminants, which covered 7 *n*-alkanes (C₂₀~C₃₂) and 7 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH), including benzo[*a*]pyrene, and dibenzothiophene (DBT). The detection limits were 2~3 ppb for *n*-alkane, 0.1~0.2 ppb for PAH and 0.2 ppb for DBT.

The concentrations of petroleum-related contaminants in seafoods, collected either from waters that were outside the spill area or before the oil spill, were determined by the GC/MS (SIM) method. Levels of total *n*-alkanes ranged from nd (not detected) to 532 ppb and those of PAH and DBT ranged from nd to 15.5 ppb. The concentrations of *n*-alkanes and PAH in the visceral mass of squid and scallops were higher than those in their muscle tissues.

(Received September 2, 1997)

Key words: 魚介類 seafoods; 魚 fish; 重油 crude petroleum; *n*-アルカン *n*-alkane; 多環芳香族炭化水素 polycyclic aromatic hydrocarbon

緒 言

海難事故などにより流出した重油は、食糧資源の魚介類を汚染してヒトに健康被害をもたらす恐れがある。重油は、炭化水素などの多種多様な化学物質を含有しているが、それらすべてが魚介類に吸収されるとは限らない。また、流出重油以外の原因による魚介類汚染の可能性もある。そこで、各種の重油関連成分を総合的に分析することが魚介類の流出重油への暴露の可能性を判定するために必要である。また、重油汚染を受けていない魚介類の分析データの蓄積は、重油汚染が発生した海域に生息する魚介類の食品としての健全性を判断する上で有用である。

魚介類の重油汚染に関連した研究では、*n*-アルカン、

ベンゾ[*a*]ピレン (B[*a*]P) 及びジベンゾチオフェン (DBT) を分析対象として個別に分析する方法及び分析結果が報告されている^{1)~6)}。また、重油成分の中では多環芳香族炭化水素 (PAH) の分析報告が多く^{7), 8)}、重油成分を総合的に分析した報告は比較的少ない^{9)~11)}。更に、流出事故後の魚介類の分析結果や環境汚染モニタリング目的の貝類の調査結果は報告されているが^{7), 9)}、通常の魚介類の分析結果の報告は少ない。そこで、1997 年 1 月に日本海で発生した「ナホトカ号」による C 重油流出事故に関連して実施した本研究では、C 重油 (最も粘性の高い重油) に比較的多量に含まれる炭素数の多い *n*-アルカンのうち、偶数の炭素を含むもの (炭素数 20 から 32)、B[*a*]P など 7 種の PAH 及び DBT を対象として GC/MS (SIM) による系統分析法を確立するとともに、今回の事故による重油汚染を受けていない魚介類の調査を実施したので結果を報告する。

* 国立医薬品食品衛生研究所: 〒158-8501 東京都世田谷区上野賀 1-18-1

Table 1. List of Analyses with Retention Time and Monitoring Ion Used in GC/MS (SIM)

Compound	Retention time (min)	Characteristic masses (<i>m/z</i>)*		
<i>n</i> -Alkanes				
<i>n</i> -Eicosane (C ₂₀)	14.43	57.1	<u>71.1</u>	85.1
<i>n</i> -Docosane (C ₂₂)	16.27	57.1	<u>71.1</u>	85.1
<i>n</i> -Tetracosane (C ₂₄)	17.97	57.1	<u>71.1</u>	85.1
<i>n</i> -Hexacosane (C ₂₆)	19.54	57.1	<u>71.1</u>	85.1
<i>n</i> -Octacosane (C ₂₈)	21.00	57.1	<u>71.1</u>	85.1
<i>n</i> -Triacotane (C ₃₀)	22.37	57.1	<u>71.1</u>	85.1
<i>n</i> -Dotriacontane (C ₃₂)	23.64	57.1	<u>71.1</u>	85.1
PAH and DBT				
2-Methylnaphthalene	7.27	<u>142.0</u>	141.0	
1-Methylnaphthalene	7.43	<u>142.0</u>	141.0	
Dibenzothiophene (DBT)	12.28	<u>184.0</u>	139.1	
Phenanthrene	12.57	<u>178.0</u>	176.1	
Anthracene	12.70	<u>178.0</u>	176.1	
Pyrene	15.85	<u>202.1</u>	200.1	
Benz[<i>a</i>]anthracene	18.79	<u>228.0</u>	226.1	
Chrysene	18.85	<u>228.0</u>	226.1	
Benzo[<i>b</i>]fluoranthene	21.14	<u>252.1</u>	250.1	
Benzo[<i>a</i>]pyrene	21.81	<u>252.1</u>	250.1	

*Masses underlined were used for determination.

実験方法

1. 試料

ナホトカ号から流出した重油による汚染を受けていない魚介類を試料とした。No. 1～9 は鳥取県沖で1996年2～11月に、No. 10～18 は島根県沖、No. 19～21 は石狩湾、No. 22～26 は函館などでいずれも97年1月に、No. 27 は若狭湾で96年12月に捕獲され、冷凍保存されたものである。

魚は3枚におろし、皮を含む可食部を試料とした。ただし、魚体が小さかったきす (No. 3) 及びはたはた (No. 5) は頭を除く全体を試料とした。はたて、さざえ及びかには殻と内臓を除いたもの、たこ及びいかは内臓を除いたものを試料とした。なお、さば、はたて各2検体といか1検体は、内臓を別途分析試料とした。

2. 試薬及び標準物質

試薬：ヘキサン (*n*-ヘキサン)、アセトニトリル、無水硫酸ナトリウムは残留農薬分析用試薬 (和光純薬工業 (株) 製) を、水酸化カリウム、塩化ナトリウム及びエタノールは特級試薬を使用した。飽和塩化ナトリウム溶液及び蒸留水はヘキサンで洗浄した。カラムクロマトグラフィー用のシリカゲル (Merck 社製, Art. 7734) は、130℃で4時間以上活性化した後、室温に冷却し、蒸留水を5%添加して1昼夜以上置いたものを使用した。

n-アルカン標準物質：*n*-エイコサン (C₂₀)、*n*-ドコサン (C₂₂)、*n*-テトラコサン (C₂₄)、*n*-オクタコサン (C₂₈) 及び

n-ドトリアコタン (C₃₂) は和光純薬工業 (株) 製、*n*-ヘキサコサン (C₂₆) は東京化成工業 (株) 製、*n*-トリアコタン (C₃₀) はSigma 社製のものを使用した。

PAH 標準物質：1-メチルナフタレン (1-MN)、2-メチルナフタレン (2-MN)、アントラセン (AN)、ピレン (PY)、ベンズ[*a*]アントラセン (BA)、ベンゾ[*b*]フルオランテン (B[*b*]F) 及び B[*a*]P は和光純薬工業 (株) 製、フェナントレン (PH) は東京化成工業 (株) 製、クリセン (CH) はAldrich 社製のものを使用した。

DBT 標準物質：和光純薬工業 (株) 製のものを使用した。

3. 装置

ガスクロマトグラフ：HP5890 SERIES II (Hewlett Packard 社製、オートサンプラー HP7673 付き)

質量分析計：HP5972 (Hewlett Packard 社製)

4. GC/MS分析条件

カラム：DB-5 ms (内径 0.25 mm, 長さ 30 m, 膜厚 0.25 μm); カラム温度：50℃ (1 min)-25℃/min-125℃-10℃/min-320℃ (6.5 min); 注入口温度：270℃, トランスファーライン温度：320℃; イオン化電圧：70 eV; キャリヤガス：ヘリウム (35 cm/sec, 定流量モード); 注入量：2 μL (スプリットレス); 測定モード：SIM, Table 1 にモニターイオンを示した。

5. 試験溶液の調製

分析法の概略を Scheme 1 に示した。細切均一化し

Scheme 1. Analytical procedure for petroleum-related contaminants in seafoods

た試料 20 g をナス型フラスコに入れ、蒸留水 20 mL、水酸化カリウム 20 g 及びエタノール 150 mL を加えて、冷却管を接続し、90℃ の水浴中で 2 時間、加熱還流した。放冷後、飽和塩化ナトリウム溶液 160 mL を加え、ヘキサン 100 mL で 3 回抽出した。抽出液を蒸留水 100 mL で 2 回洗浄した後、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水し、5~10 mL に濃縮した。不溶物がある場合は遠心分離した後、上清を精製に使用した。内径 10 mm のガラスカラムに 5% 含水シリカゲル 1 g 及び無水硫酸ナトリウムをヘキサンで湿式充てんした後、ヘキサン 50 mL で洗浄してカラムを調製した。これに試料溶液を注入し、ヘキサン 20 mL で溶出した。溶出液をヘキサン飽和アセトニトリル 25 mL で 3 回抽出し、アセトニトリル層を濃縮して窒素気流下で乾固し、残留物をヘキサン 2 mL に溶解して、PAH 及び DBT の試験溶液とした。残ったヘキサン層を濃縮乾固して残留物をヘキサン 2 mL に溶解し、*n*-アルカンの試験溶液とした。なお、分析に使用する器具はすべて使用直前にヘキサンで洗浄した。

6. 添加回収試験

添加回収試験には、むしがれい (No. 12) を使用した。可食部に同量の蒸留水を加えて細切均一化したもの 40 g (試料 20 g 相当) に、*n*-アルカンの混合ヘキサン溶液 (各 2 µg/mL) 及び PAH 及び DBT の混合ヘキサン溶液 (各 0.2 µg/mL) 各 1 mL を添加した。水酸化カリウム 20 g とエタノール 150 mL を添加した後、分析法に従って操作した。なお、*n*-アルカンの定量は、無添加の試験溶液を用いて標準溶液を調製し、得られた検量線により行った。

結果及び考察

1. GC/MS (SIM) による分析

GC/MS (SIM) では本来ならば *n*-アルカン、PAH 及び DBT の同時測定が可能であるが、*n*-アルカンを注入することによってガスクロマトグラフ注入口やカラムが汚染し、*n*-アルカン自身の定量には影響しないが、PAH の測定に支障を来した。そこで、試料はアセトニトリル-ヘキサン分配 (A/H 分配) によって、*n*-アルカンと (PAH+DBT) を分画し、別個に測定した。PAH

Table 2. Recoveries of *n*-Alkanes, PAH and DBT from Silica Gel Column and Their Distribution in Acetonitrile-Hexane Partitioning

Compound	Recovery (%)			
	Silica gel column*		MeCN/Hex partitioning**	
	0~20 mL	20~40 mL	MeCN	Hex
<i>n</i> -Eicosane (C ₂₀)	100.7	0	0	88.5
<i>n</i> -Docosane (C ₂₂)	97.1	0	0	82.2
<i>n</i> -Tetracosane (C ₂₄)	103.5	0	0	84.7
<i>n</i> -Hexacosane (C ₂₆)	102.4	0	0	85.5
<i>n</i> -Octacosane (C ₂₈)	100.3	0	0	84.8
<i>n</i> -Triacontane (C ₃₀)	105.2	0	0	86.8
<i>n</i> -Dotriacontane (C ₃₂)	103.1	0	0	89.9
2-Methylnaphthalene	19.0	0	0	3.0
1-Methylnaphthalene	23.7	0	2.7	1.0
Dibenzothiophene (DBT)	98.4	0	84.6	3.8
Phenanthrene	102.1	0	85.1	10.8
Anthracene	98.8	0	82.3	3.2
Pyrene	98.0	0	99.3	4.6
Benz[<i>a</i>]anthracene	91.8	0	95.2	2.6
Chrysene	96.3	0	99.4	2.9
Benzo[<i>b</i>]fluoranthene	102.0	0	97.6	3.6
Benzo[<i>a</i>]pyrene	94.1	0	94.0	4.6

* Standard solution (0.1 ppm, 2 mL) was loaded on the column (1 g of silica gel) and eluted with 40 mL of *n*-hexane.

** MeCN: acetonitrile, Hex: *n*-hexane. Hexane solution (0.033 ppm, 15 mL) was extracted with 20 mL of acetonitrile saturated with hexane 3 times.

Table 3. Recoveries of *n*-Alkanes, PAH and DBT Spiked to Fish Meat

Compound	Spiked level (ppb)	Recovery (%)				
		1	2	3	Mean	sd*
<i>n</i> -Eicosane (C ₂₀)	100	90.9	96.3	85.4	90.9	5.5
<i>n</i> -Docosane (C ₂₂)	100	90.6	99.4	87.2	92.4	6.3
<i>n</i> -Tetracosane (C ₂₄)	100	88.7	98.4	89.9	92.3	5.3
<i>n</i> -Hexacosane (C ₂₆)	100	82.2	96.9	91.1	90.1	7.4
<i>n</i> -Octacosane (C ₂₈)	100	83.1	94.9	92.9	90.3	6.3
<i>n</i> -Triacontane (C ₃₀)	100	84.9	90.6	93.0	89.5	4.2
<i>n</i> -Dotriacontane (C ₃₂)	100	87.3	90.5	92.1	90.0	2.4
2-Methylnaphthalene	10	0	0	0	0	—
1-Methylnaphthalene	10	0.8	0.8	1.2	0.9	0.2
Dibenzothiophene (DBT)	10	72.8	66.5	70.5	69.9	3.2
Phenanthrene	10	94.5	89.0	91.0	91.5	2.8
Anthracene	10	71.3	71.1	72.9	71.8	1.0
Pyrene	10	99.7	96.5	97.5	97.9	1.6
Benz[<i>a</i>]anthracene	10	99.3	99.1	102.7	100.4	2.0
Chrysene	10	93.4	97.1	98.1	96.2	2.5
Benzo[<i>b</i>]fluoranthene	10	100.0	101.4	101.1	100.8	0.7
Benzo[<i>a</i>]pyrene	10	98.8	98.2	95.3	97.4	1.9

*sd: standard deviation

Table 4. Analytical Results of *n*-Alkanes in Seafoods

No.	Sample name	Concentration (ppb, wet tissue)*							Total
		C ₂₀	C ₂₂	C ₂₄	C ₂₆	C ₂₈	C ₃₀	C ₃₂	
12	Flatfish (mushigarei)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
19	Scallop (hotategai)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
26	Scallop (hotategai)	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
11	Squid (surumeika)	nd	3	nd	nd	nd	nd	nd	3
20	Flatfish (karei)	nd	nd	2	2	3	nd	nd	7
4	Octopus (tako)	nd	2	3	3	3	nd	nd	11
16	Top shell (sazae)	nd	nd	nd	nd	2	4	5	11
25	Squid (yariika)	nd	nd	nd	nd	2	4	7	13
14	Squid (surumeika)	4	10	2	nd	nd	nd	nd	16
7	Crab (zuwaigani)	nd	nd	2	4	5	4	3	18
17	Squid (yariika)	nd	4	2	4	6	4	nd	20
22	Flatfish (magarei)	2	nd	2	4	6	6	5	25
1	Squid (shiro-ika)	2	5	4	5	5	4	3	28
2	Flatfish (yamagarei)	2	4	5	9	8	6	nd	34
15	Flatfish (etegarei)	6	6	5	6	8	7	3	41
18	Sea bream (medai)	19	17	12	5	4	4	nd	61
21	Seaweed (wakame)	21	14	6	8	9	8	6	72
6	Flying fish (tobiuo)	28	20	9	8	9	8	5	87
5	Sandfish (hatahata)	13	23	18	12	10	11	6	93
3	Sand borer (kisu)	8	11	12	13	21	18	11	94
8	Sardine (iwashi)	58	12	10	13	17	17	15	142
9	Mackerel (saba)	35	46	21	16	13	9	7	147
10	Mackerel (saba)	30	47	28	19	11	8	5	148
24	Trout (masu)	93	11	8	10	18	28	34	202
13	Mackerel (saba)	36	57	46	29	22	15	10	215
27	Skipjack (sodakatsuo)	138	135	50	8	10	6	3	350
23	Atka Mackerel (hokke)	21	28	47	108	137	116	75	532
Reagent blank value (ppb)		4	3	3	4	4	5	5	
LOD (ppb)**		2	2	2	2	2	3	3	

*: Concentration = (measured value) - (reagent blank value), nd: not detected

** : Limit of detection (LOD) calculated from standard deviation (SD) of reagent blank value (LOD = 2 SD)

測定に支障が生じた場合は、注入口を洗浄し、カラム先端部を切断することによって解決した。

各標準品の GC/MS (SIM) 測定の検出限界 (S/N = 3) は *n*-アルカンでは 0.02 ng (試料中濃度として 1 ppb)、PAH では 0.002~0.004 ng (試料中濃度として 0.1~0.2 ppb) であった。

n-アルカンの分析では GC/MS (SIM) は GC-FID よりも高感度で選択性が高く、試料由来の妨害はなかった。GC-FID を用いた場合、実試料では 1 ppb の検出限界で測定することは困難であった。高濃度の *n*-アルカンの分析には GC-FID が使用できるであろうが、バックグラウンド調査には GC/MS (SIM) が適していると考えられた。

PAH の GC/MS (SIM) による測定は、多数の化合物を同時測定できる点で、HPLC (蛍光) より優れてい

た。HPLC で換算総量として測定する方法が PAH のスクリーニング法として有用といわれている⁸⁾が、個別分析には GC/MS が使用されることが多い^{5), 9)}。

GC/MS (SIM) による DBT の検出限界は試料中濃度として 0.2 ppb であり、GC-FPD (S モード) の約 1/100 であった。

2. 試験溶液の調製

操作を簡略化して試薬ブランクを低くするために、カラムからの溶出液を濃縮せずに A/H 分配を行えるようヘキサン 20 mL での溶出を検討した。標準溶液 (0.1 ppm, 2 mL) を含水シリカゲル 1 g 充てんのカラムに負荷したとき、ヘキサン 20 mL で分析対象物質が定量的に溶出した (Table 2)。2 g 充てんのカラムでは、ヘキサン 40 mL で定量的に回収された。1-MN 及び 2-MN は揮発性が高く、操作中に損失しやすいため回収率が低

Table 5. Analytical Results of PAHs and DBT in Seafoods

No.	Sample name	Concentration (ppb, wet tissue)*								Total
		DBT	PH	AN	PY	BA	CH	B[b]F	B[a]P	
6	Flying fish (tobiuo)	nd	nd	nd	0.1	nd	nd	nd	nd	0.1
7	Crab (zuwaigani)	nd	nd	nd	0.1	nd	nd	nd	nd	0.1
12	Flatfish (mushigarei)	nd	nd	nd	0.1	nd	nd	nd	nd	0.1
22	Flatfish (magarei)	0.2	nd	nd	0.1	nd	nd	nd	nd	0.3
15	Flatfish (etegarei)	0.2	0.5	nd	0.1	0.2	nd	0.1	nd	1.1
2	Flatfish (yamagarei)	0.2	0.4	nd	0.2	nd	0.2	0.1	nd	1.1
10	Mackerel (saba)	0.2	0.7	nd	0.1	nd	nd	0.1	nd	1.1
20	Flatfish (karei)	0.2	0.7	nd	0.1	0.2	0.1	nd	nd	1.3
13	Mackerel (saba)	0.3	1.0	nd	0.1	nd	nd	0.1	nd	1.5
3	Sand borer (kisu)	0.2	0.6	nd	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	1.6
4	Octopus (tako)	0.2	0.8	nd	0.2	0.2	0.1	0.1	0.1	1.7
23	Atka Mackerel (hokke)	0.2	1.0	nd	0.1	0.2	0.1	0.1	nd	1.7
18	Sea bream (medai)	0.4	1.0	nd	0.1	0.2	0.1	0.1	nd	1.9
1	Squid (shiro-ika)	0.4	1.2	nd	0.2	0.2	0.1	nd	nd	2.1
9	Mackerel (saba)	0.3	1.4	nd	0.2	nd	0.2	0.2	nd	2.3
16	Top shell (sazae)	0.3	0.8	nd	0.4	0.4	0.2	0.3	nd	2.4
24	Trout (masu)	0.4	1.3	nd	0.2	0.4	0.2	nd	nd	2.5
5	Sandfish (hatahata)	0.5	2.7	nd	0.4	0.4	0.1	0.3	nd	4.4
17	Squid (yariika)	0.3	1.4	nd	1.3	1.2	0.6	0.4	nd	5.2
27	Skipjack (sodakatsuo)	0.5	4.2	nd	0.2	0.2	0.1	nd	nd	5.2
14	Squid (surumeika)	0.2	0.5	nd	0.8	1.7	1.5	0.7	nd	5.4
8	Sardine (iwashi)	0.5	4.1	nd	0.3	0.3	0.2	0.2	1.1	6.7
25	Squid (yariika)	0.3	1.5	nd	1.3	2.2	1.4	0.6	nd	7.3
11	Squid (surumeika)	0.2	1.1	nd	1.2	1.0	3.5	1.3	nd	8.3
26	Scallop (hotategai)	0.2	1.0	nd	1.3	1.9	2.4	2.9	0.3	10.0
21	Seaweed (wakame)	1.3	7.9	nd	1.3	0.2	0.2	0.2	nd	11.1
19	Scallop (hotategai)	0.2	1.5	nd	1.8	1.1	4.3	5.5	1.1	15.5
Reagent blank value (ppb)		nd	0.2	nd	0.1	nd	nd	nd	nd	
LOD (ppb)**		0.2	0.2	0.2	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	

*: Concentrations of PH and PY=(measured value)–(reagent blank value), Concentrations of chemicals except PH and PY=measured value, nd: not detected

Dibenzothiophene (DBT), Phenanthrene (PH), Anthracene (AN), Pyrene (PY), Benz[a]anthracene (BA), Chrysene (CH), Benzo[b]fluoranthene (B[b]F), Benzo[a]pyrene (B[a]P)

***: Limit of detection (LOD) calculated from standard deviation (SD) of reagent blank value (LOD=2 SD) for PH and PY, and from GC/MS determination (LOD: S/N=3) for the chemicals except PH and PY.

かった。

標準溶液について A/H 分配を行ったところ、*n*-アルカン はヘキサン層に、PAH と DBT はアセトニトリル層に分離、回収されたが、1-MN 及び 2-MN は揮発性が高いため回収率が低かった (Table 2)。

Scheme 1 に示した方法により、試料は完全に加水分解された。ヘキサン抽出液を濃縮すると試料によっては不溶物を生じるので、遠心分離を行った上清をカラム精製に用いた。脂肪の多いめだい、いわしなどではカラムからの溶出が遅いので、加圧した。また、ゼリー状を呈しますの抽出液は 1/2 量をカラムに注入し、カラムを加圧して溶出した。ほたての内臓及びわかめなどの色

素が多い試料にはシリカゲル 2 g を使用し、ヘキサン 40 mL で溶出して 20 mL に濃縮した後、A/H 分配を行った。また、いかは A/H 分配後の両画分の濃縮残留物が多かったので再度シリカゲルカラム精製と A/H 分配を行った。

3. 試薬ブランクについて

炭化水素類は自然界に広く分布し、試薬、器具などの汚染が懸念されるため、分析には残留農薬分析用試薬を使用し、蒸留水はヘキサンで洗浄し、器具は使用前にヘキサンで洗浄した。また、シリカゲルカラムは充てん後、ヘキサン 50 mL で洗浄した。

蒸留水 20 mL を試料として本分析法に従って操作し

Fig. 1. Concentrations of *n*-alkanes, PAHs and DBT in muscle and viscera cf. Table 1 and the legend of Table 5 for the abbreviation.

たときの試薬ブランクは、試料中の濃度に換算して、各 *n*-アルカンでは平均値±標準偏差が $3.1 \pm 0.9 \sim 4.7 \pm 1.5$ ppb, PH では 0.24 ± 0.09 ppb, PY では 0.13 ± 0.04 ppb であり、他の PAH と DBT は GC/MS の検出限界未満であった (Table 4, 5).

4. 魚に対する添加回収試験

n-アルカンの回収率は 89.5~92.4% であったが、ヘキサン溶液を検量線用標準溶液に使用して定量した場合は 100% より高くなり (117.6~140.6%), マトリックスの影響が大きいことが分かった。1-MN 及び 2-MN は揮発性が高いため回収されなかったが、その他の PAH 及び DBT は良好な回収率を示した (Table 3)。PAH 及び DBT の回収率は、検量線用標準溶液としてヘキサン溶液を使用した場合と試料抽出液を使用した場合で差はなかった。1-MN 及び 2-MN は回収率が低かったため、実態調査対象から除外した。

5. 魚介類中の重油関連成分の分析

魚介類中の *n*-アルカン、PAH と DBT の定量値をそ

れぞれ Table 4, 5 に総濃度が低い順に示した。*n*-アルカン、PH 及び PY の定量値は測定値から試薬ブランクを差し引いて求めた。試薬ブランク値の標準偏差から計算した検出限界は、各 *n*-アルカン: 2~3 ppb, PH: 0.2 ppb, PY: 0.1 ppb であった。試薬ブランクが検出されなかった PAH は測定値をそのまま定量値とし、GC/MS 測定の検出限界を Table 5 に示した。

多くの検体では長鎖より短鎖の *n*-アルカン濃度が高く、最高値は、かつお (No. 27) の C₂₀ (138 ppb) であった。No. 27, 23 以外の検体では各 *n*-アルカンとも数 ppb から数十 ppb であった。検出限界が異なるので正確な比較はできないが、国内の市販魚から C₂₀, C₂₂, C₂₄ の各 *n*-アルカンが nd~0.7 ppm 検出された報告¹²⁾と比較して高くはなかった。総量で 140 ppb 以上検出されたのはほっけ、かつお、さば、ます、いわしなどの高脂肪性の魚種であり、はたて、いか、かれい、たこ、かになどの低脂肪性魚介類では総量 50 ppb 以下であった。Pineiro ら¹⁾は重油流出直後のさけから C₂₀, C₂₄, C₂₈

の各 *n*-アルカンをそれぞれ 0.98, 10.29, 11.04 ppm 検出し, 各 *n*-アルカンが数百 ppb 以上存在すると石油臭がすると報告している。

可食部から *n*-アルカンが検出されなかったいか及びはたて (2 検体) の内臓からそれぞれ合計 1449, 121, 93 ppb の *n*-アルカンが検出された。さばでは必ずしも内臓の方が高濃度とはいえなかった (Fig. 1)。

一方, PAH では, PH, PY 及び CH の検出率が高かった。AN は全く検出されなかった。従来重油汚染の指標として分析されることが多い B[a]P の検出率 (27 検体中 5) は低かった。検出率が高かった PH と PY は, 試薬ブランクからも微量検出されるが, これらの濃度が高い検体からは他の PAH も検出される傾向があった。PAH ははたて, いかなどの, *n*-アルカン濃度が低かった魚種で高濃度に検出された。

Saxton ら⁷⁾ は重油汚染事故後にさけについて 28 種の PAH を GC/MS で調査した結果, 対照地域の試料では大半が 5 ppb 未満であったが, 汚染海域で翌年に採取した試料の 13% から 5~12 ppb, 87% から 5 ppb 未満の PAH が検出されたと報告している。

PAH の中でも発ガン性のある B[a]P による汚染に関心が高いが PH, PY, BA などの方が重油中の濃度が高く, また, 重油汚染海域の巻き貝からは, B[a]P (3.00~25.0 ppb, dry weight) とともに, perylene (1.5~89.2 同上), benz[*b*]anthracene (2.53~88.3 同上), naphthalene, PY, fluoranthene などの検出が報告されている¹⁰⁾。また, 広島産のかきからは, B[a]P (0.3~2.6 ppb) 以外に, PY (7.0~52 ppb), B[*b*]F (3.0~20 ppb), BA (1.5~10 ppb) 等の検出が報告されている²⁾。また, アラビア湾の魚からは測定した 16 種の PAH のうち naphthalene (14~106 ppb) と acenaphthene (1~69 ppb) だけが検出されたと報告されている¹³⁾。これらの結果からも, 重油汚染の判定には B[a]P と併せてその他の PAH を測定することが必要と考えられた。

Hellou ら⁵⁾ ははたて, ばい貝などを HPLC で分析し, 内臓には CH 換算で筋肉部の数百倍高濃度の PAH が含まれていたと報告している。また, Krahn ら³⁾ は魚類の重油汚染の指標として胆汁中の PAH 代謝物の測定を推奨しており, 可食部から PAH がほとんど検出されない場合も胆汁からはアルキル化された phenanthrols や dibenzothiophenols などの PAH 代謝物が検出されると報告している。本研究でもはたて及びいかの内臓から可食部の 3.4~11.1 倍高濃度の PAH が検出されたことから, モニタリングには内臓の分析が効率的と考えられた (Fig. 1)。

今回分析したほとんどの検体から, 汚染指標の一つとされている DBT が極く微量検出された。重油中には DBT よりも DBT のアルキル化物が多く含まれており, これらも分析対象とするのがよいと考えられている

が^{3), 4), 8)}, 今回は標準品が入手できなかったので分析しなかった。

結 論

1. 魚介類の重油汚染の指標として, 炭素数 20~32 (偶数) の 7 種の *n*-アルカン, B[a]P など 7 種の PAH 及び DBT を分析対象に選び, GC/MS(SIM) による系統分析法を確立した。

2. 重油汚染を受けていない魚介類 27 検体を分析した結果, 合計量で nd~532 ppb の *n*-アルカン及び nd~15.5 ppb の PAH (DBT を含む) を検出した。また, いか及びはたての内臓は可食部に比べて *n*-アルカン及び PAH 濃度が高かった。

謝 辞

本研究は, 平成 8 年度厚生科学研究費補助金食品衛生調査研究事業として実施したものであり, 関係各位に深謝いたします。また, 魚介類試料を提供下さった自治体の関係各位に深謝いたします。

文 献

- 1) Pineiro, M. E. A., Yusty, M. A. L., Barros, C. G., Lozano, J. S.: Bull. Environ. Contam. Toxicol. **57**, 811~815 (1996).
- 2) Obana, H., Hori, S., Kashimoto, T.: *ibid.* **26**, 613~620 (1981).
- 3) Krahn, M. M., Burrows, D. G., Ylitalo, G. M., Brown, D. W., Wigren, C. A., Collier, T. K., Chan, S., Varanasi, U.: Environ. Sci. Technol. **26**, 116~126 (1992).
- 4) Nakamura, A., Kashimoto, T.: J. Food Hyg. Soc. Japan **18**, 252~259 (1977).
- 5) Hellou, J., Upshall, C., Payne, J. F., Naidu, S., Paranjape, M. A.: Arch. Environ. Contam. Toxicol. **24**, 249~257 (1993).
- 6) Kira, S., Izumi, T., Ogata, M.: Bull. Environ. Contam. Toxicol. **31**, 518~525 (1983).
- 7) Saxton, W. L., Newton, R. T., Rorberg, J., Sutton, J., Johnson, L. E.: *ibid.* **51**, 515~522 (1993).
- 8) Krahn, M. M., Ylitalo, G. M., Buzitis, J., Bolton, J. L., Wigren, C. A., Chan, S.-L., Varanasi, U.: Mar. Poll. Bull., **27**, 285~292 (1993).
- 9) Pena, E., Conde, J. E., Montelongo, F. G.: Arch. Environ. Contam. Toxicol. **31**, 444~452 (1996).
- 10) Pena, E., Conde, J. E., Montelongo, F. G.: Bull. Environ. Contam. Toxicol. **57**, 803~810 (1996).
- 11) 井部明広, 西島基弘, 斎藤和夫, 上村 尚, 落合節子, 永山敏廣, 牛山博文, 直井家寿太: 東京衛研年報 **29**(1), 238~243 (1978).
- 12) 西島基弘, 井部明広, 斎藤和夫, 高橋尚子, 上村 尚, 落合節子, 直井家寿太, 木村康夫: 同上 **28**(1), 116~120 (1977).
- 13) DouAbdul, A. Z., Abaychi, J. K., Al-Edance, T. E., Ghani, A., Al-Saad, H. T.: Bull. Environ. Contam. Toxicol. **38**, 546~552 (1987).