

天然魚類中のホルムアルデヒドについて

江川 幸恵 ・ 馬場 強三

The Formaldehyde in Fishes

Sachie EGAWA and Tsuyomi BABA

Key words : Fishes、Formaldehyde、HPLC

キーワード：天然魚類、ホルムアルデヒド、高速液体クロマトグラフィー

はじめに

養殖トラフグの寄生虫駆除の目的で、ホルマリンが一部の養殖場において使用されていたが、昭和56年にホルマリン等の動物用医薬品以外の物質を薬剤として使用することは極力さけるよう水産省より通達が出された。しかし、平成15年4月、長崎県下のトラフグ養殖業者のホルマリン使用が判明し、それに伴い、養殖トラフグ等のホルムアルデヒドの残留検査を行った。このホルマリン使用履歴のあるトラフグの残留結果を評価するためには、天然の魚介類の天然由来のホルムアルデヒドと比較する必要がある。しかしながら、たら類以外の天然魚類中のホルムアルデヒド量に関する報告が少ないため、今回調査を行った。

調査方法

1. 試料

外洋で漁獲された魚類(あじ5検体、いわし5検体、やりいか5検体、さば4検体、れんこ鯛2検体、まだい1検体、ぶり1検体、ひらまさ(ひらす)1検体)

2. 検査方法

「養殖トラフグ等のホルムアルデヒド残留実態調査に係る分析方法について(平成9年2月5日付、衛乳第44号 厚生省生活衛生局乳肉衛生課長)に検討を加え、図1に示す方法で行った。

3. 試薬等

- ・ リン酸、塩酸：特級
- ・ 水：HPLC用蒸留水
- ・ ホルムアルデヒド標準：水質分析用(1000mg/L)

- ・ 2,4-ジニトロフェニルヒドラジン：特級(2,4-DNPH)
- ・ Bond Elut C18：メタノール10ml、蒸留水10ml、6%塩酸10mlでコンディショニングして用いた。

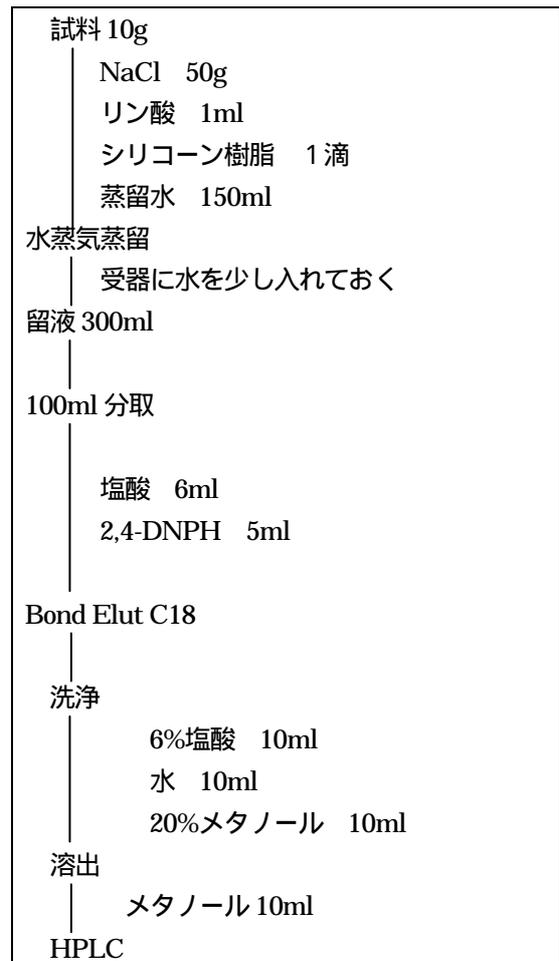


図1 ホルムアルデヒド測定フロー

4. HPLC 測定条件

カラム：Inertsil ODS-3V
 移動相：メタノール：水（65：35）
 流速：0.6ml/min
 カラム温度：40
 測定波長：369nm

5. 検量線

HPLC 用蒸留水 100ml にホルムアルデヒド標準（0～20 μg）添加して、蒸留液と同様に 2,4-DNPH で誘導体化し、固相で精製した後、HPLC で測定し、検量線を作成した。

結果

1. 分析方法の検討を行った。

(1) 蒸留操作

可食部を細切り、その 10g を 1L のナスフラスコに取り、水 150ml、リン酸 1ml 及び食塩 50g を加えた。また、魚類サンプルでは発泡するものがあつたため、シリコーン樹脂を 1 滴加えた。これを水蒸気蒸留に付し、水少量を加えた受器に蒸留装置の先端をつけて留液を 300ml をとつた。

(2) 固相

Sep-pak PS-2 と Bond Elut C18 の比較を行った。Bond Elut C18 の方が、ホルムアルデヒド誘導体をメタノールで溶出した際の検液の着色が少なく、またクロマトグラムにおける妨害ピークが小さかつたため、ピークの分離もよかつた。(図 2、3) また、Bond Elut C18 については、保持能力の確認を行った。魚類の蒸留液 100ml に、ホルムアルデヒド標準液を 0～1ml (ホルムアルデヒドとして 0～1000 μg) 添加し、試料留液と同様に 2,4-DNPH で誘導体化し、固相で精製後、メタノール 10ml で溶出した。その結果、600 μg (検液中濃度として 60 μg/ml) までは保持できることを確認した。(図 4)

(3) 水の比較

検査に用いる水について、水道水、精製水、HPLC 用蒸留水で比較を行った。その結果、HPLC 用蒸留水のブランク値が低かつたため、HPLC 用蒸留水を検査に用いた。

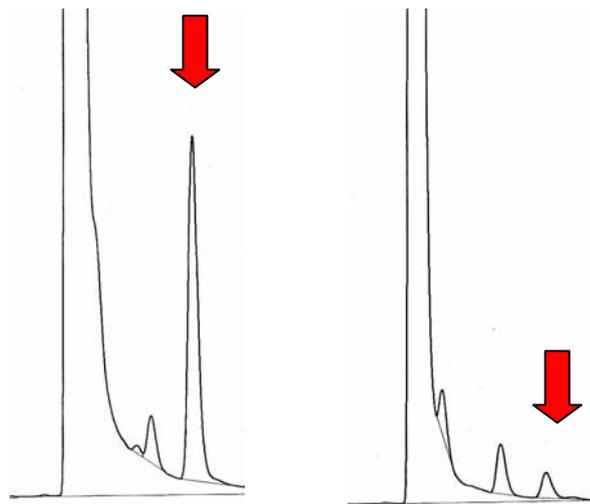


図 2 Sep-pak PS-2

Blank

図 3 Bond Elut C18

Blank

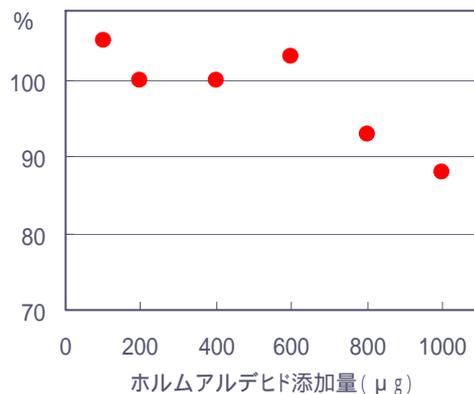


図 4 C18 の保持能力

(4) 2,4-DNPH の精製

ブランク値を抑えるため、誘導体化剤である 2,4-DNPH の精製を行った。公定法における液液抽出法を参考に、2,4-DNPH 水溶液をベンゼン洗浄またはエーテル洗浄を行ったが、溶媒を完全に除去できないため、クロマトグラム上に溶媒ピークが出現し、また、極性が変化するため固相における保持能力が低下した。次に、2,4-DNPH の再結晶を行ったところ、ブランク値を抑えることができた。

(5) 固相からの溶出フラクション

公定法における固相抽出では、ホルムアルデヒド誘導体を固相に吸着させたあと、水 20ml で洗浄し、メタノールで溶出している。妨害物質を除去するため、固相からの溶出フラクションをとり吸着後の固相の洗

浄について検討した。ホルムアルデヒド誘導体を C18 に吸着させ、10%、20%、50%、100%のメタノール 10ml ずつで溶出した。その結果、ホルムアルデヒド誘導体は 10%、20%メタノールでは溶出せず、逆に、妨害物質は 10%、20%メタノールで多くが溶出した。(表 1) 従って、ホルムアルデヒド誘導体をメタノールで溶出する前に、固相を 20%メタノールで洗浄することによって、妨害物質を多く除去することができた。

表 1 溶出フラクション

	メタノール濃度			
	10%	20%	50%	100%
HCHO 誘導体	-	-	++	+
妨害物質	+++	+++	+	tr

(6) 移動相

公定法では、メタノール：水 (70:30) であるが、魚類サンプルで目的ピークと妨害ピークが重なるため、溶媒の比率を変更した。メタノール：水の比率が 60:40 と 65:35 で検討したが、どちらの比率においても妨害ピークとの分離ができ、1 検体あたりの分析時間を考慮して、メタノール：水 (65:35) とした。(図 5, 6)

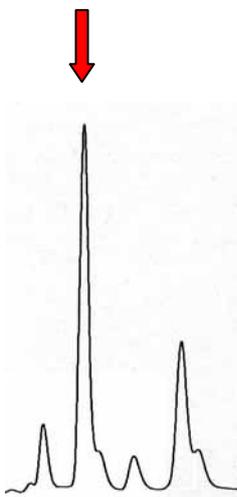


図 5 メタノール：水 (70:30)

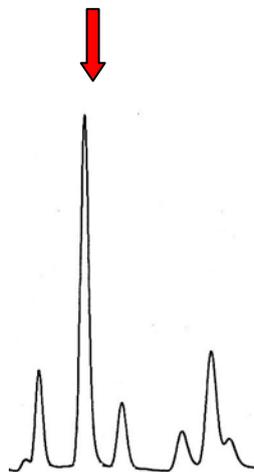


図 6 メタノール：水 (65:35)

2. 添加回収試験と下限値

蒸留操作を含む全操作の回収率は 76%であった。また、ブランクにおいてもピークが検出され、試薬や器具からの汚染が考えられる。この方法における全操作ブランク値は、検液中の濃度として、約 0.14 µg/ml であった。この値を基に魚類中濃度に換算とすると、安

全係数 (1.5) をかけて約 0.7 µg/g となるため、報告下限値は魚類中換算で 1.0 µg/g とした。

3. 検査結果

天然魚類中のホルムアルデヒド濃度の結果を表 2 に示す。あじ、いわし、さば、やりいかについては、報告下限値の 1 µg/g を超えて検出されたものが 6 検体あり、最高 2.1 µg/g であった。

表 2 天然魚類中のホルムアルデヒド濃度 (µg/g)

魚種	検出頻度	検出濃度
あじ	2/5	1.1
いわし	1/5	1.3
さば	2/4	1.2、2.1
やりいか	1/5	1.1
れんご鯛	0/2	<1.0
まだい	0/1	<1.0
ぶり	0/1	<1.0
ひらまさ (ひらす)	0/1	<1.0

考 察

今回調査した天然魚類からは 24 検体中 6 検体からホルムアルデヒドを検出した。文献によると、魚類中にはトリメチルアミンオキサイドが含まれており、その濃度は魚類によって異なっている。このトリメチルアミンオキサイドが酵素分解を受けることにより、ホルムアルデヒドとジメチルアミンが生成されることが報告されている。今回の調査でホルムアルデヒドが検出されたが、使用した天然魚類は、ホルマリンの影響のない外洋で漁獲されたものを用いているため、検出されたホルムアルデヒドは、トリメチルアミンオキサイドが由来であると推測される。

参 考 文 献

- 1) 原田勝彦：魚介類におけるホルムアルデヒドとジメチルアミンを生成する酵素に関する研究, The Journal of the Shimonoseki University of Fishers, 23(3)163-241 (1975)
- 2) 日本化学会編：海洋天然物化学、化学総説 25、学会出版センター