

MINISTERIE VAN LANDBOUW
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Rijkscentrum voor Landbouwkundig Onderzoek - Gent
RIJKSSTATION VOOR ZEEVISSERIJ
Oostende
Directeur : P. HOVART

**DE AANWEZIGHEID VAN ALKANEN IN KABELJAUW, BOT EN
HARING VAN DE BELGISCHE KUSTWATEREN.**

K. VANDAMME.

MINISTERIE VAN LANDBOUW
Bestuur voor Landbouwkundig Onderzoek
Rijkscentrum voor Landbouwkundig Onderzoek - Gent
RIJKSSTATION VOOR ZEEVISSERIJ
Oostende
Directeur : P. HOVART

**DE AANWEZIGHEID VAN ALKANEN IN KABELJAUW, BOT EN
HARING VAN DE BELGISCHE KUSTWATEREN.**

K. VANDAMME.

Mededelingen van het Rijksstation voor Zeevisserij (CLO Gent)

Publicatie nr. 181

D/1982/0889/1

1. Inleiding.

Petroleum komt via een groot aantal bronnen in het mariene milieu terecht. Enkele bronnen zijn bijvoorbeeld het lozen van met olie gepollueerd industrieel afvalwater, de al of niet accidentele lozingen van tankers en de verliezen die optreden bij olieprospectie en oliewinning in zee. Volgens Gunkel e. a. (1980) komt van de huidige jaarlijkse ruwe olieproductie van 3×10^9 ton ongeveer 0,2 % of 6 miljoen ton in zee terecht. Niet alle koolwaterstoffen in het mariene milieu zijn echter afkomstig van olieverontreiniging, een belangrijk deel is ook van biogene oorsprong en wordt geproduceerd door microörganismen, plankton of algen (Bocard e. a., 1977). Er bestaan relatief weinig gegevens in verband met de olieverontreiniging van de Noordzee. Nochtans bestaat er een grote bedreiging voor olieverontreiniging, gezien het feit enerzijds dat ongeveer 25 % van de totale wereld-olieproductie via het Kanaal en de Zuidelijke Noordzee getransporteerd wordt en anderzijds dat er enkele vrij belangrijke oliewinningsgebieden in de Noordzee liggen (Ekofisk-, Forties-, Beryl-, Ninian- en Brent gebied). In de Noordzee is er verder een voortdurende verontreiniging door kleine "incidenten". Deze verontreiniging is niet alleen merkbaar door af en toe optredende zeevogelsterftes, maar kan ook in visweefsel worden aangetoond.

In het kader van de studies over organische pollutanten in vis werd een aanvang gemaakt met het onderzoek betreffende de koolwaterstoffen. In onderhavig rapport worden gegevens vermeld over kabeljauw, bot en haring, respectievelijk vertegenwoordigers van de magere rondvissen, magere platvissen en vette vissen. Als maat voor de koolwaterstofverontreiniging werden de n-alkanen opgespoord. Deze n-alkaanfractie maakt ongeveer 30 % uit van ruwe olie. Tevens werden ook de terpenen pristaan en fytaan gekwantificeerd. De bepalingen gebeurden door middel van kapillaire gaschromatografie.

2. Bemonstering en analyse.

2.1. Bemonstering.

Gedurende de maanden september-oktober 1981 werden langsheen de Belgische kust monsters van kabeljauw (*Gadus morhua*), bot (*Platichthys flesus*) en haring (*Clupea harengus*) genomen bestaande uit 10 vissen. Van elke vis werd een stuk visvlees (epidorsale spier) en de lever door invriezen bewaard.

2.2. Analyse.

Aan 20 g visvlees of 2 g vislever worden 100 ml hexaan, 150 ml 4N NaOH en 100 μ g tetratriacontaan (=n-C34) als interne standaard toegevoegd. Dit mengsel wordt gehomogeniseerd en vervolgens gedurende 10 h verzeept. Na afkoelen wordt het mengsel 3 maal met 100 ml hexaan geëxtraheerd. De gekombineerde hexaanlagen worden 2 maal gewassen met een verzadigde NaCl-oplossing en vervolgens overnacht over Na_2SO_4 gedroogd (Shaw e. a., 1980). De hexaanfractie, die de niet-verzeepbare stoffen bevat, wordt gekoncentreerd tot \pm 1 ml. De niet-verzeepbare stoffen bestaan o. a. uit alifatische- (waaronder de n-alkanen) en aromatische koolwaterstoffen. Deze worden op een silicagel kolom gescheiden (Bieri e. a., 1976). Een chromatografie kolom van 1 cm diameter wordt tot een hoogte van 20 cm gepakt met silicagel (70 - 230 mesh) die vooraf is geactiveerd bij 235°C gedurende 16 h. Een elutie met 25 ml hexaan elueert de alifatische fractie. Het eluaat wordt tot \pm 1 ml gekoncentreerd. 1 μ l van dit concentraat wordt gaschromatografisch op een kapillaire kolom (WCOT-kolom, 20 m x 0,3 mm met SE 54 als stationnaire fase) geanalyseerd met een temperatuurprogrammatie van 70°C tot 280°C (stijging van 8°C per min).

3. Resultaten en bespreking.

Het spierweefsel en de lever van kabeljauw, bot en haring werden geanalyseerd naar hun gehalte aan n-alkanen (n-C12 tot n-C30), pristaan (of 2,6,10,14 tetramethylpentadecaan) en fytaan (of 2,6,10,14 tetramethylhexadecaan).

Figuur 1 geeft een beeld van een chromatogram. Een samenvatting van de resultaten wordt in tabel 1 vermeld. Telkens wordt de spreiding, het gemiddelde en de standaardafwijking van 10 analyses gegeven. Tevens wordt de C.P.I. (of koolstofnummer preferentie index) en de pristaan/fytaan verhouding vermeld. Beiden zijn een aanduiding over de mogelijke herkomst van de n-alkanen in de biota. De C.P.I. voor petroleum is ± 1 , hetgeen erop wijst dat er geen dominantie is van oneven of even alkanen, terwijl hogere organismen praktisch uitsluitend oneven ketens produceren. Pristaan en fytaan komen in gelijke hoeveelheden in petroleum voor, terwijl langs biogene weg enkel pristaan wordt gevormd.

Uit de resultaten blijkt dat het n-alkaan gehalte in het visvlees van bot en kabeljauw 100 tot 500 ppb bedraagt. In de levers zijn de gehalten 10 maal hoger en belopen 1.000 tot 5.000 ppb. Haring visvlees en haringlever bevatten beide gemiddeld 3.000 ppb n-alkanen. Deze gehalten zijn vergelijkbaar met de resultaten bekomen door Whittle e. a. (1974a en 1977). De relatief hoge waarden voor haring-visvlees zijn wellicht te verklaren door het hoger vetgehalte waarbij het apolaire vet als matrix dient voor de apolaire alkanen (Whittle e. a., 1974b). Haringweefsel bevat gemiddeld 10 % vet, terwijl kabeljauw- en bot spierweefsel respectievelijk maar gemiddeld 1 en 2 % hebben. De hogere alkaangehalten in de levers van kabeljauw en bot in vergelijking met de gehalten in spierweefsels zijn ook te verklaren door het hogere vetgehalte (Whittle e. a., 1977). Pristaan, die in petroleum voorkomt, maar ook biogeen van oorsprong kan zijn en o. a. in fytoplankton wordt gevonden (Blumer e. a., 1971), is slechts in kleine hoeveelheden aanwezig in de predatoren kabeljauw en bot. In haring is het de voornaamste apolaire koolwaterstof. Gemiddeld werd in het haring-visvlees 14,9 ppm pristaan gevonden. Dit kan toegeschreven worden aan het feit dat haring pristaan uit fytoplankton akkumuleert (Whittle e. a., 1974b).

Fytaan komt in kabeljauw en bot in analoge concentraties voor als pristaan. Gezien fytaan niet biogeen geproduceerd wordt (Platt e. a., 1981) en dus enkel van ruwe olie afkomstig kan zijn, wijst dit dan ook op de aanwezigheid van sporen petroleum in de biota. De pristaan/fytaan-verhouding van ongeveer 1, typisch voor petroleum (Paradis e. a., 1975) wordt ook in kabeljauw en bot teruggevonden. Dat dit niet zo is voor haring is te wijten aan de accumulatie van pristaan uit zijn voedsel.

Uit de CPI (of Koolstof nummer preferentie index) volgt dat er geen dominantie is van de oneven ketens in kabeljauw en bot. Dit is wel het geval voor haringweefsels en is het meest uitgesproken in het spierweefsel. De distributie van de n-alkanen wordt in de figuren 2, 3 en 4 weergegeven. Opvallend in haringweefsels zijn de pieken voor n-C15 en n-C17. Dit kan terug toegeschreven worden aan de voedingswijze van haring. Inderdaad bevatten sommige fytoplankton species n-C15 en n-C17 (Blumer e. a., 1971). Behalve de n-C15 en n-C17 dominantie in haringweefsels valt het vlotte verloop op van de alkaan distributie in kabeljauw- en botweefsels. Wel is er bij de leverweefsels een lichte dominantie merkbaar van n-C27 en n-C29.

Ook is er een verschuiving van het maximum merkbaar. Bij de spierweefsels van bot en kabeljauw ligt dit maximum bij n-C16 en n-C17, terwijl bij de leverweefsels het maximum verschoven is naar de langere ketens n-C27 en n-29. Misschien is dit te wijten aan het feit dat kortere ketens relatief vlugger gemetaboliseerd kunnen worden dan de langere, zodat de lever, als biochemisch centrum van het organisme, relatief rijker wordt aan de langere ketens.

De afwezigheid van de dominantie van oneven ketens, zoals normaal het geval is bij hogere organismen, kan doen vermoeden dat de alkanen aanwezig in de vissen afkomstig zijn van petroleum. Nochtans produceren lagere organismen zoals sommige micro-organismen (Bocard e. a., 1977) en enkele fytoplanktonspecies (Blumer e. a., 1971) ook een reeks n-alkanen zonder preferentie voor oneven of even ketens. Ook algen produceren koolwaterstoffen die in het mariene milieu terechtkomen (Youngblood e. a., 1971 en 1973) en eventueel door vissen kunnen worden opgenomen.

4. Besluit.

De analyseresultaten tonen aan dat er sporen n-alkanen aanwezig zijn in vissen en dat de hoeveelheden beïnvloed worden door het voedingspatroon van de vis. Zo bevat haring, die zich met plankton voedt relatief veel n-C15, n-C17 en pristaan omdat fytoplankton zelf deze koolwaterstoffen bevat.

Het gemiddeld totaal n-alkaan gehalte in het spierweefsel varieert van 146 ppb voor bot en 230 ppb voor kabeljauw tot 3.420 ppb in haring.

De aanwezigheid van fytaan in alle monsters doet vermoeden dat minstens een gedeelte van het n-alkaangehalte te wijten is aan de olieverontreiniging van het mariene milieu. Een ander gedeelte is van biogene oorsprong zoals bijvoorbeeld blijkt uit de gegevens voor haring.

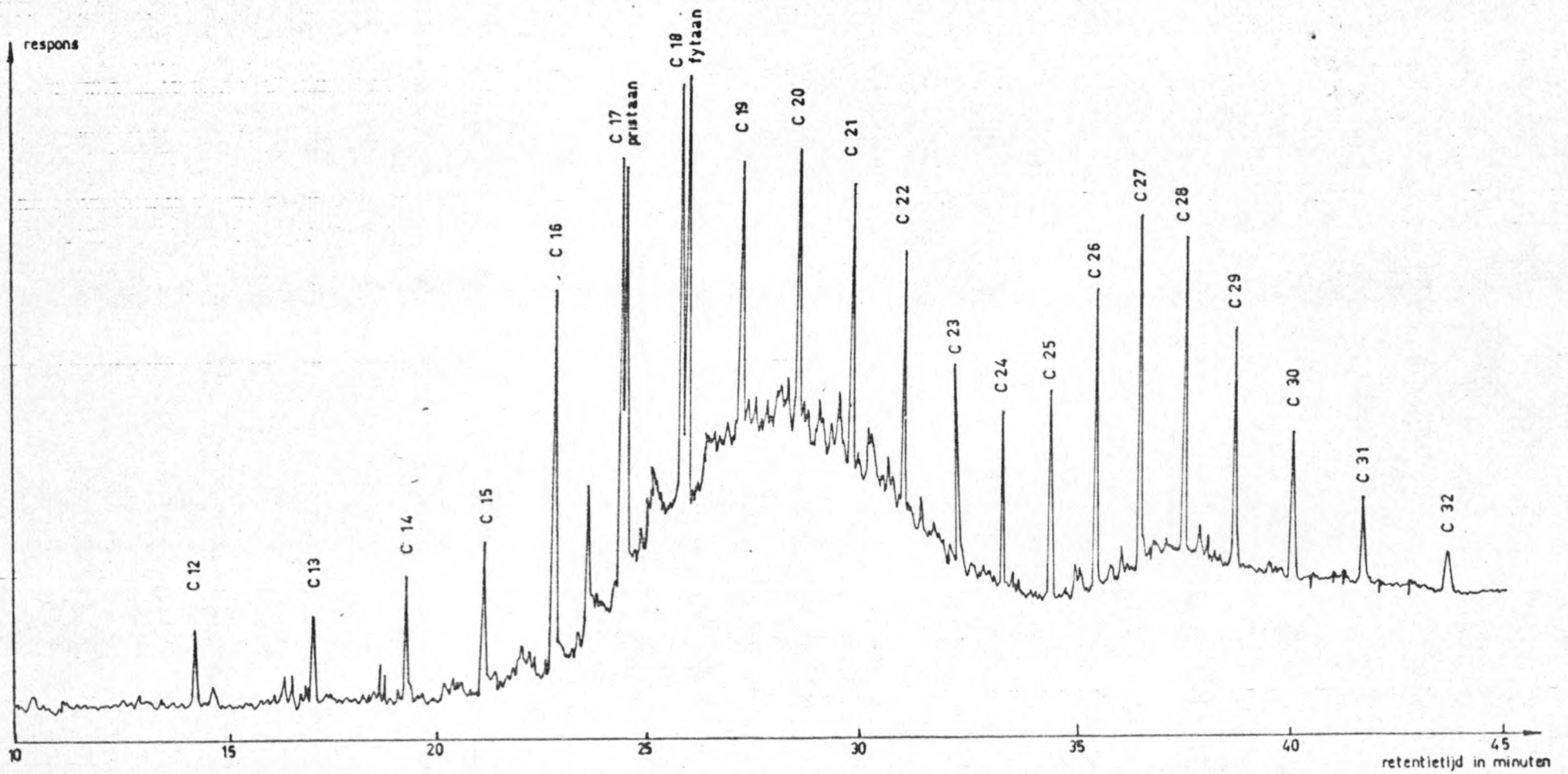
5. Literatuur.

- Bieri, R. en Stamoudis, V. 1976. The fate of petroleum hydrocarbons from a no 2 fuel oil spill in a seminatural estuarine environment. Fate and effects of petroleum hydrocarbons in marine organisms and ecosystems, 478 p. Pergamon Press.
- Blumer, M., Guillard, R. en Chase, T., 1971. Hydrocarbons of marine phytoplankton. Marine Biology 8, 183-189.
- Bocard, C., Gatellier, C., Petroff, N., Renault, Ph. en Roussel, J. 1977. Biogenic hydrocarbons and petroleum fractions. Rapp. P. V. Reun. Cons. int. Explor. Mer 171, 91-93.
- Gunkel, W. en Gassmann, G. 1980. Oil, oil dispersants and related substances in the marine environment. Helgoländer Meeresuntersuchungen 33, 164-181.
- Paradis, M. en Ackman, R., 1975. Differentiation between natural hydrocarbons and low level diesel oil contamination in cooked lobster meat. J. Fish. Res. Board Can. 32, 316-320.
- Platt, M. en Mackie, P., 1981. Sources of A tartic hydrocarbons. Marine Pollution Bulletin, 12, 407-409.

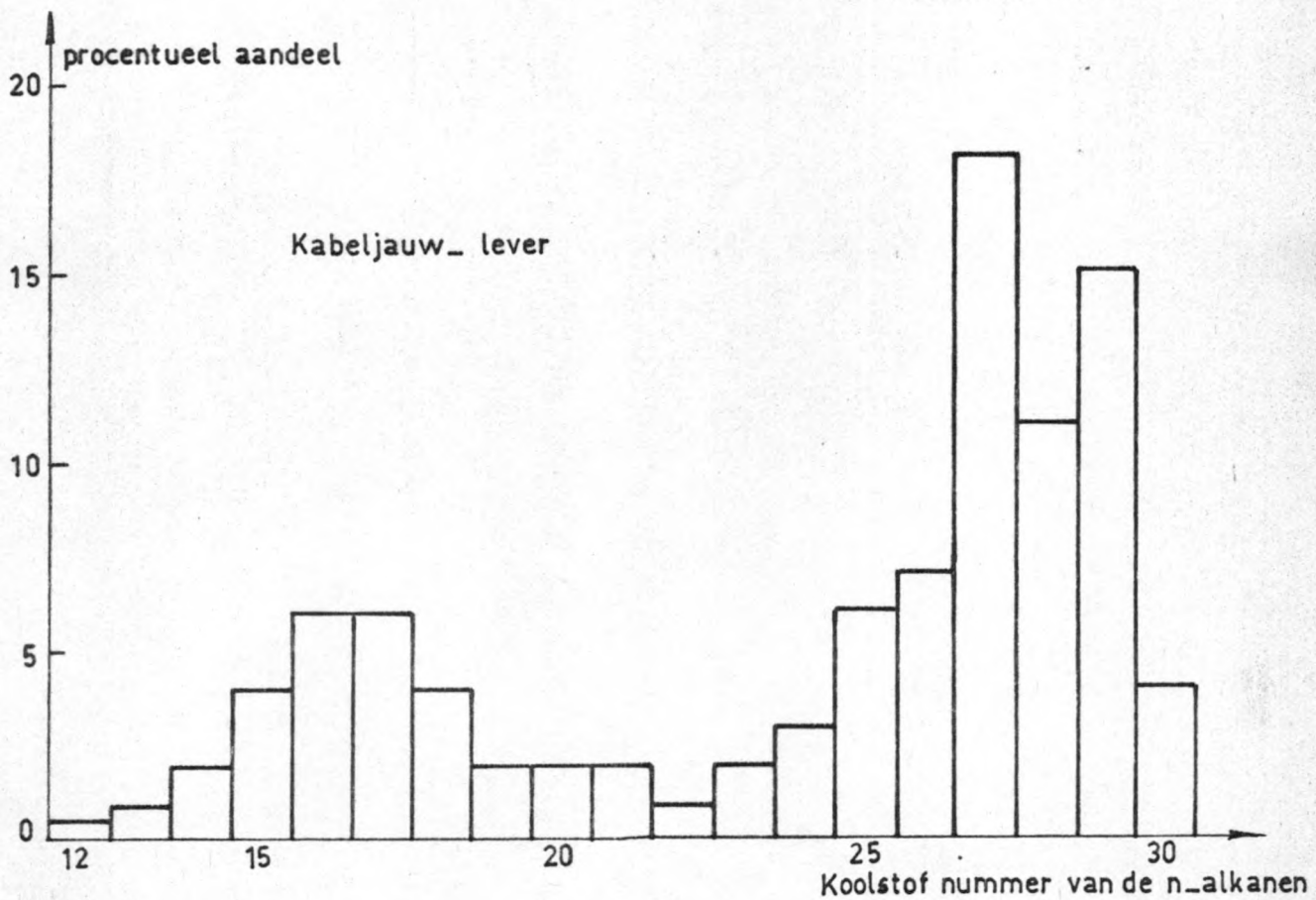
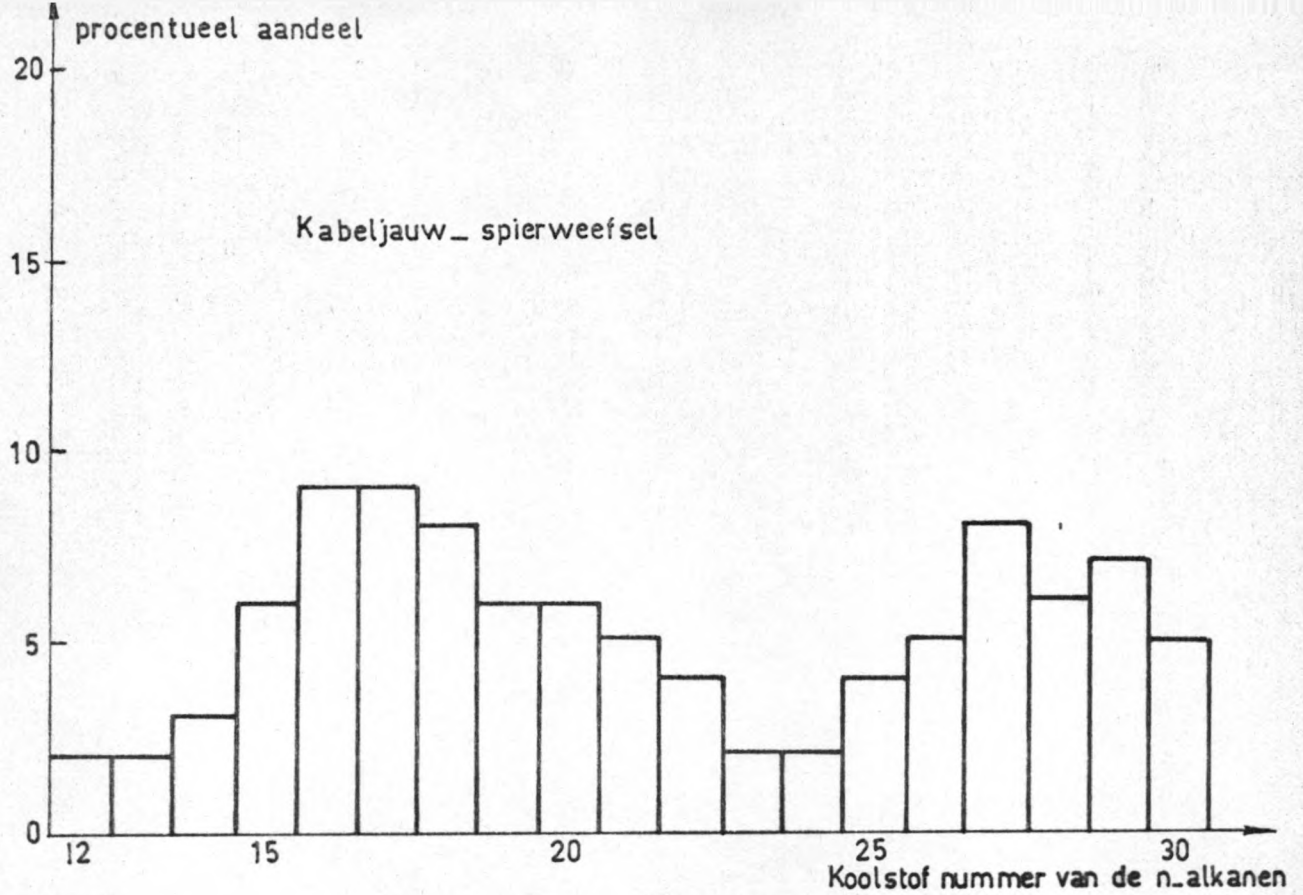
- Shaw, D. en Wiggs, J., 1980. Hydrocarbons in the Intertidal Environment of Kachemak Bay, Alaska.
Marine Pollution Bulletin 11, 297-300.
- Youngblood, W., Blumer, M., Guillard, R. en Fiore, F. 1971.
Saturated and unsaturated hydrocarbons in marine benthic algae.
Marine Biology 8, 190-201.
- Youngblood, W. en Blumer, M. 1973.
Alkanes and alkenes in marine benthic algae.
Marine Biology 21, 163-172.
- Whittle, K., Mackie, R. en Hardy, R. 1974a.
Hydrocarbons in the marine ecosystem.
South African Journal of Science 70, 141-144.
- Whittle, K., Mackie, R., Hardy, R. en Mc.Intyre, A., 1974b.
The fate of n-alkanes in marine organisms.
ICES C. M. 1974/E:33.
- Whittle, K., Mackie, R., Hardy, R., Mc.Intyre A. en Blackman, R. 1977.
The alkanes of marine organisms from the United Kingdom and surrounding waters.
Rapp. P. V. Réunion Cons. Int. Explor. Mer 171, 72-78.

Tabel 1 - Gegevens i. v. m. alkanen in spier- en leverweefsels van enkele visspecies.
(gehalten uitgedrukt in ng/g).

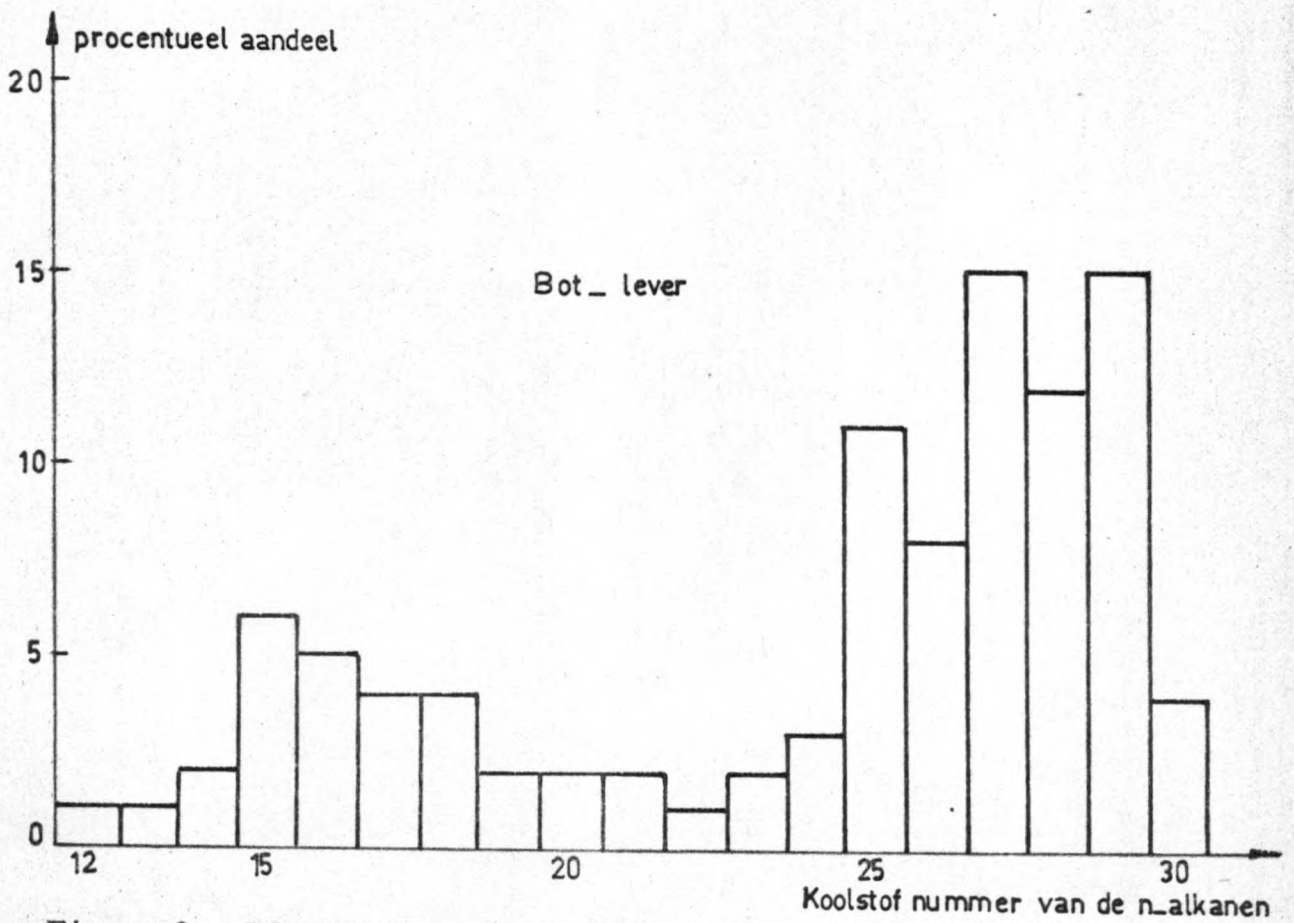
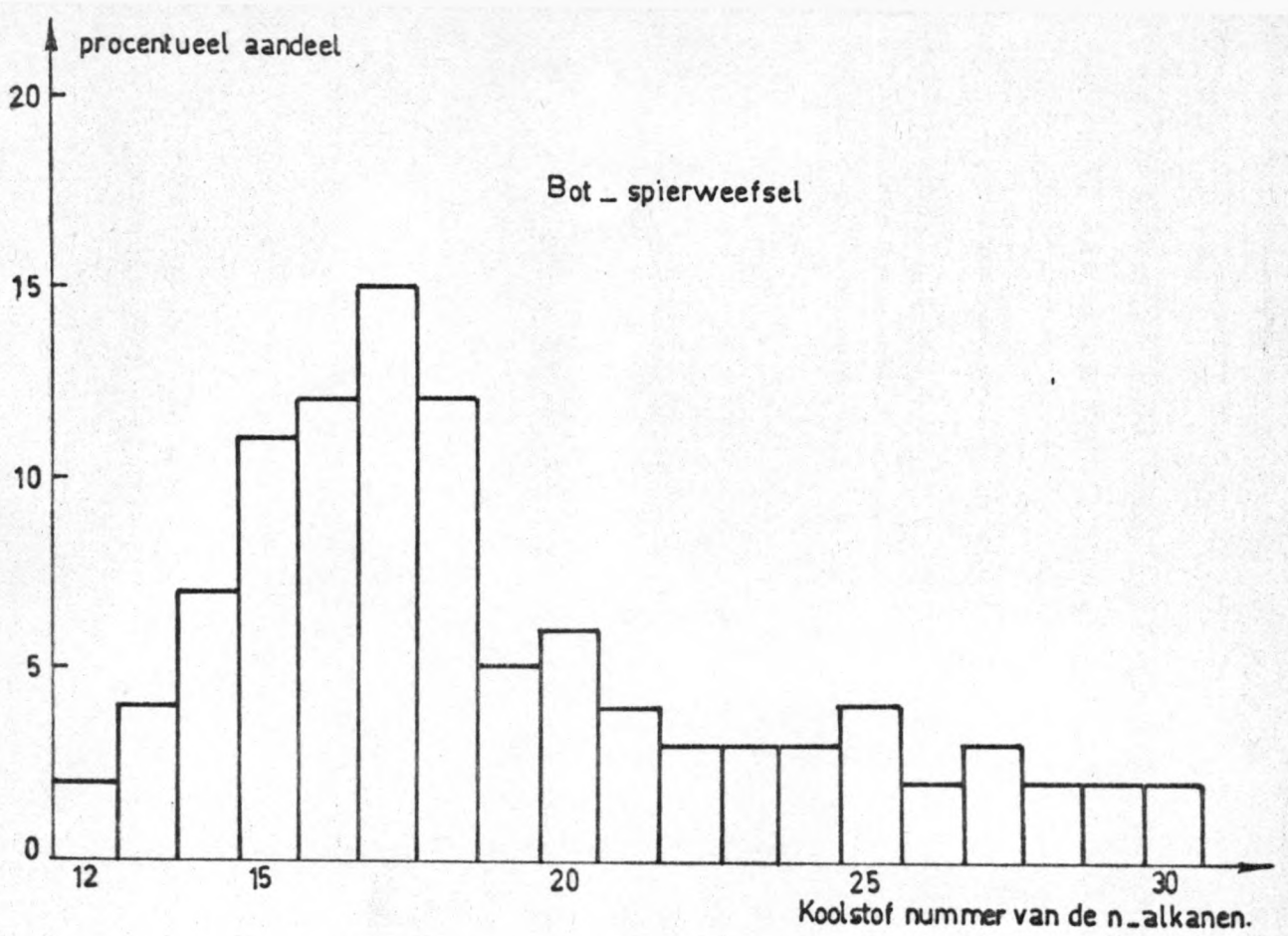
	Kabeljauw (<i>Gadus morhua</i>)		Bot (<i>Platichthys flesus</i>)		Haring (<i>Clupea harengus</i>)	
	Spierweefsel	Lever	Spierweefsel	Lever	Spierweefsel	Lever
Totaal n-alkaangehalte :						
- spreiding	116-425	1358-2770	95-180	2645-4380	1810-5040	1410-8400
- gemiddeld	230	1950	146	3480	3420	3060
- stand. afwijking	95	520	28	735	1330	1600
Pristaan gehalte :						
- spreiding	13-33	35-125	15-36	140-290	4200-30.000	2500-7300
- gemiddeld	20	90	25	170	14900	3650
- stand. afwijking	8	35	8	50	7200	1390
Fytaan gehalte :						
- spreiding	10-30	30-100	9-18	65-160	15-90	60-500
- gemiddeld	18	70	13	110	60	190
- stand. afwijking	9	25	3	30	30	110
Verhouding <u>pristaan</u> : fytaan						
- spreiding	0,9-1,5	1-1,7	1,2-2,8	1,0-4,4	200-400	7-40
- gemiddeld	1,1	1,3	1,9	1,6	248	19
- stand. afwijking	0,2	0,3	0,6	0,4	110	7
$C. P. I. = \frac{2(n-C15+n-C17)}{n-C14+2n-C16+n-C18}$:						
- spreiding	0,9-1,1	0,8-1,2	0,6-2,0	0,6-1,9	6-12	2-4
- gemiddeld	1,0	1,0	1,1	1,2	8	3
- stand. afwijking	0,1	0,1	0,4	0,5	3	1



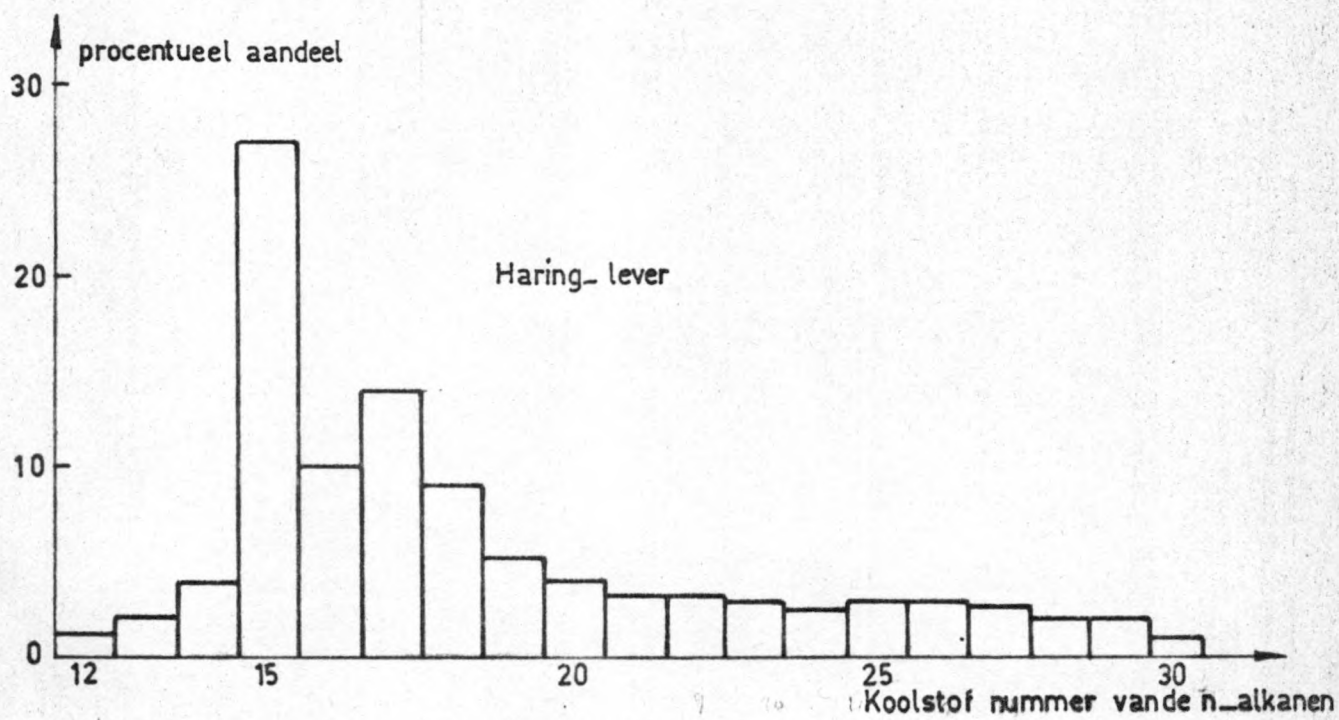
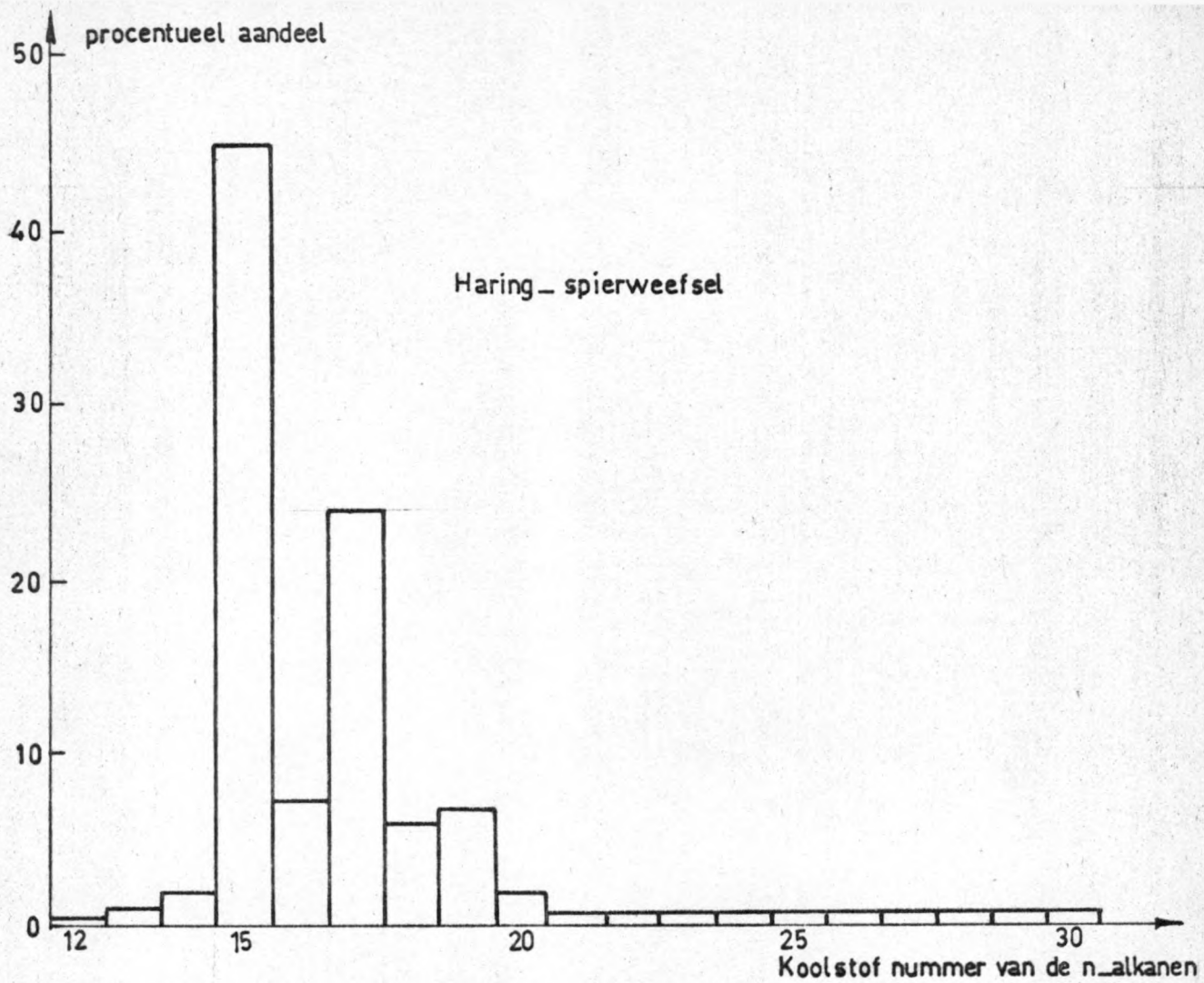
Figuur 1 - Chromatogram van een staal kabeljauw-visvlees.



Figuur 2 - Distributie van de n-alkanen in kabeljauw.
 De n-alkaan distributie wordt weergegeven als procentueel aandeel van elk alkaan in het totaal n-alkaangehalte (n-C12 tot n-C30).



Figuur 3 - Distributie van de n-alkanen in bot.
 De n-alkaan distributie wordt weergegeven als procentueel aandeel van elk alkaan in het totaal n-alkaangehalte (n-C12 tot n-C30).



Figuur 4 - Distributie van de n-alkanen in haring.
 De n-alkaan distributie wordt weergegeven als procentueel aandeel van elk alkaan in het totaal n-alkaangehalte (n-C12 tot n-C30).

