亜硫酸塩処理エビ中の二酸化イオウ残存とホルムアルデヒド生成に関する研究

山中英明・菊池武昭・天野慶之

(1976 年 7 月 12 日受理)

Studies on the Residue of Sulfur Dioxide and the Production of Formaldehyde in the Prawn Treated with Sodium Bisulfite

Hideaki YAMANAKA*, Takeaki KIKUCHI*, and Keishi AMANO*

The level of sulfur dioxide in the muscle portion of imported frozen prawn treated with sodium bisulfite ranged from 10 to 30 ppm, which was below the permissible residual amount (100 ppm) designated in the food additives standard under the Japanese Food Sanitation Law. However, at the same time, 4 to 6 ppm of formaldehyde was detected in the muscle.

When the Japanese prawn (*Penaeus japonicus* BATE) was dipped in 0.5 % solution of sodium bisulfite, 40 ppm of sulfur dioxide was recovered in the muscle immediately after the treatment, and 0.6 ppm and 1.5 ppm of formaldehyde were produced after 2 days of cold storage at 3°C and after 2 months of frozen storage at -20°C respectively, while no formaldehyde was detected in the muscle of the untreated prawn. It may be presumed that formaldehyde was generated from trimethylamine oxide in the muscle of prawn by a non-enzymatic reaction as a result of the treatment with sodium bisulfite.

Sulfur dioxide in the muscle and shell of prawn decreased considerably during frozen as well as cold storage.

近年、国内におけるエビ類の消費は増加の一途をたどり、その需要に応じて、エビ類の輸入は急増し、金額面からいうと輸入水産物の過半を占めるに到っている。

ところで、市販冷凍エビ類には、黒変^{1,2)}による商品価値の低下を防止する目的で、亜硫酸塩おもに亜硫酸水素ナトリウム (NaHSO_3) が使用されている。その使用基準が最近になり、 SO_2 としての残存量が 30 ppm からむきみで、100 ppm と緩和された。これは黒変防止効果を十分にあげるためである。このように、亜硫酸塩処理した冷凍エビ類が食用に供される機会が多くなってきた現在、SOUDAN ら^{3,4)} の亜硫酸塩処理によつて FA が生ずるという報告は注目に値する。SOUDAN らは、亜硫酸塩処理した塩蔵タラと、同様な処理後缶詰にしたモロッコエビにおいて FA の生成を確認し、その来源が TMAO であるとしている。また、徳永⁵⁾ も TMAO 溶液に NaHSO_3 を添加し、その際に FA が生成することを観察している。

市販冷凍エビは亜硫酸塩処理したものが大半である現状からして、TMAO からの FA の生成は当然予想される。しかし、市販冷凍エビ中の FA 量に関する報告は現在のところ見当たらない。以上の経緯から、本研究では市販冷凍エビ中の SO_2 残存量が食品添加物使用基準に則しているかを確かめるとともに、亜硫酸塩処理による FA の生成量を精査し、食品添加物としての亜硫酸塩の適正使用に資することを目的とした。

* 東京水産大学 (Tokyo University of Fisheries, Konan 4, Minato-ku, Tokyo).

本報においては次の略号を用いた: TMAO; trimethylamine oxide, TMA; trimethylamine, DMA; dimethylamine, FA; formaldehyde.

実験方法

試料 市販冷凍エビとしては、日本産クルマエビに類似の南米北岸産のエビを用いた。俗に、ピンクと称する種である。一尾の平均体重（無頭）は約 11 g であった。また、日本産のクルマエビ (*Penaeus japonicus* BATE) も用いた。一尾の平均体重（無頭）は約 12 g であった。エビは筋肉と外殻に分け、筋肉は乳鉢中で十分に磨砕し、腸や神経などは除去した。外殻は解剖バサミで細かく切つたものを用いた。

TMA ならびに TMAO の定量 DYER 法の橋本らによる改良法⁶⁾に準拠した。TMAO の還元には三塩化チタンを用いた。

FA の定量 岩見らのアセチルアセトン改良法⁷⁾を採用した。

DMA の定量 銅・ジチオカーバメート法⁸⁾に従った。

SO₂ の定量 佃らの方法⁹⁾を採用した。

結 果

市販冷凍エビ（ピンク）中の TMAO, TMA, DMA, FA および SO₂ 含量 NaHSO₃ 溶液に浸漬後数ヶ月間冷凍した市販冷凍エビを解凍後、筋肉と外殻に分け、直ちに分析した結果を Table 1 に示した。これらの結果から明らかなように、2 尾の冷凍エビともかなりの量の FA が検出された。筋肉中には 4~6 ppm, 外殻中には 6~16 ppm であった。また、SO₂ の残存量は、筋肉中で 10~30 ppm, 外殻中には筋肉中の 10 数倍量の SO₂ が残存していた。筋肉の pH は 7.6~7.8, 外殻の pH は 9.1~9.3 であった。外殻中にかなり多量の TMAO が検出されたのは興味深い。

Table 1. Concentrations of TMAO, TMA, DMA, FA and SO₂ in the muscle and the shell of the imported frozen prawn

Specimen No.	TMAO-N (mg/100g)	TMA-N (mg/100g)	DMA-N (mg/100g)	FA (ppm)	SO ₂ (ppm)	pH	Moisture (%)
1 Muscle	74.8	0.5	0.7	5.9	14.6	7.74	73.5
1 Shell	47.1	0	trace	6.3	183.5	9.23	37.8
2 Muscle	111.2	0.7	1.2	4.7	29.3	7.63	73.8
2 Shell	82.2	trace	0	15.2	363.6	9.12	39.7

Fig. 1. Changes in the TMAO and TMA levels in the muscle and the shell of the prawn dipped in 0.5% or 5% solution of NaHSO₃ during cold storage at 3°C in comparison with those of the sample without NaHSO₃ treatment.

—: TMAO ----: TMA

Fig. 2. Changes in the DMA and FA levels in the muscle and the shell of the prawn dipped in 0.5% or 5% solution of NaHSO₃ during cold storage at 3°C in comparison with those of the sample without NaHSO₃ treatment.

—: DMA ----: FA

Fig. 3. Changes in the SO₂ level and pH in the muscle and the shell of the prawn dipped in 0.5% or 5% solution of NaHSO₃ during cold storage at 3°C in comparison with those of the sample without NaHSO₃ treatment.

—: SO₂ ----: pH

NaHSO₃ 処理クルマエビの冷蔵中における TMAO, TMA, DMA, FA および SO₂ の量的変化 日本産クルマエビを用い、断頭即殺後、NaHSO₃ 溶液に 5 分間浸漬し、ポリエチレン袋に包み、冷蔵庫 (3°C) に保管した。これらのエビを 0, 2, 6, 10 日後に取り出し、筋肉と外殻に分け、上記の項目につき分析を行なった。なお、亜硫酸水素ナトリウム溶液濃度としては 0.5% と 5% を用い、浸漬しない場合も対照として行なった。その結果を Fig. 1~3 に示した。まず、Fig. 1 に示したように、筋肉の場合、NaHSO₃ 処理の有無にかかわらず、冷蔵中にほぼ同程度の速さで TMAO が分解された。一方、TMA は NaHSO₃ 溶液に浸漬した場合の方が、無浸漬の場合に比較して、わずかに生成量が多いことが観察された。また、Fig. 2 に示したように、DMA および FA は 5% NaHSO₃ 溶液に浸漬した場合が最も生成量が多く、0.5% の場合にもかなりの生成が認められた。対照では冷蔵中に DMA ならびに FA は全く検出されなかった。次に、SO₂ 量についてみると、Fig. 3 に示したように、5% NaHSO₃ 溶液に浸漬した場合、筋肉に約 270 ppm が

浸入した。また、0.5% 溶液に浸漬した場合は、約 40 ppm の SO_2 の浸入がみられた。浸入 SO_2 は浸漬した NaHSO_3 溶液の濃度の 1/100~1/200 に相当した。冷蔵中に SO_2 は徐々に減少することも確認された。pH に関しては、当初 7.2 程度であるが、浸漬の有無にかかわらず漸増し、8.3~8.5 に達した。

次に、外殻についてみると、Fig. 1 に示したように、TMAO は即殺直後ではほとんど検出されなかつたが、冷蔵 2 日後に顕著な増加がみられ、その後減少した。一方、TMA は NaHSO_3 溶液に浸漬したものでやや多量の生成が認められた。FA は、Fig. 2 に示したように、 NaHSO_3 に浸漬した場合、冷蔵 2 日で最大に達し、以後減少した。一方、無浸漬の場合は FA は検出されなかつた。次に、 SO_2 についてみると、Fig. 3 に示したように、5% NaHSO_3 に浸漬した場合、当初 7,000 ppm が検出されたが、冷蔵中に減少し、10 日後には 4,000 ppm になつた。また、0.5% NaHSO_3 に浸漬した場合は、当初 600 ppm であつたが、同様に漸減し、10 日後には 150 ppm になつた。pH に関しては、最初 9.5~9.7 と高いが、冷蔵中にやや低下がみられた。

NaHSO_3 処理クルマエビの冷凍中における TMAO, TMA, DMA, FA および SO_2 の量的変化 クルマエビを断頭即殺後、0.5% NaHSO_3 溶液に浸漬し、ポリエチレン袋に包み、 -20°C のフリーザーに保管した。また、対照として無浸漬のエビを同様に凍結保管した。1 か月ならびに 2 か月間凍結保管後、筋肉と外殻に分け、上記の項目について分析を行なつた。その結果を Fig. 4~6 に示した。まず、筋肉についてみると、Fig. 4 に示したように、 NaHSO_3 浸漬を行なわない場合、TMAO 量はほとんど変化を示さなかつた。一方、0.5% 溶液に浸漬を行なつたエビでは TMAO が幾分減少したが、TMA は検出できなかつた。しかし、Fig. 5 に示したように、 NaHSO_3 浸漬によつて DMA と FA の生成は明らかに観察された。無浸漬の場合は DMA および FA は全く検出されなかつた。次に、 SO_2 についてみると、Fig. 6 に示したように、凍結保管中にわずかな減少が認められた。また、筋肉の pH は 7.2 からほとんど変化を示さなかつた。

次に、外殻についてみると、Fig. 4 に示したように、TMAO 量は冷蔵した場合の外殻と同様に著しく増加した。この増加は NaHSO_3 浸漬の有無にかかわらず観察された。一方、TMA は検出されなかつた。次に、DMA と FA に関しては、Fig. 5 に示したように、0.5% NaHSO_3 に浸漬した場合、凍結 2 か月後 FA が 0.5 ppm 程度認められたが、DMA は検出されなかつた。 SO_2 の残存量は Fig. 6 に示したように当初 800 ppm であつたが、2 か月後に 600 ppm まで減少した。また、pH は 9.7 から 9.2~9.3 と凍結中に低下がみられた。

Fig. 4. Changes in the TMAO and TMA levels in the muscle and the shell of the prawn dipped in 0.5% solution of NaHSO_3 during frozen storage at -20°C in comparison with those of the sample without NaHSO_3 treatment.

—: TMAO ----: TMA

Fig. 5. Changes in the DMA and FA levels in the muscle and the shell of the prawn dipped in 0.5 % solution of NaHSO_3 during frozen storage at -20°C in comparison with those of the sample without NaHSO_3 treatment.

—: DMA ----: FA

Fig. 6. Changes in the SO_2 level and pH in the muscle and the shell of the prawn dipped in 0.5 % solution of NaHSO_3 during frozen storage at -20°C in comparison with those of the sample without NaHSO_3 treatment.

—: SO_2 ----: pH

考 察

南米北岸産のエビのむきみ中の SO_2 残存量を測定してみると、Table 1 に示したように高くても 30 ppm 程度であり、日本における現在の NaHSO_3 の使用基準すなわちエビのむきみで SO_2 としての残存量が 100 ppm 未満という基準に抵触することはまずあり得ないものと思われる。中村ら¹⁰⁾ が南米産の輸入冷凍エビで残存 SO_2 を定量しているが、本実験に用いたのと同じ程度の大きさのエビでは 10~35 ppm と報告しており、本実験の結果とよく一致している。

エビ中の SO_2 は冷蔵保管中には Fig. 3 に示したように、筋肉、外殻ともかなり速やかに減少することが観察され、さらに、Fig. 6 に示したように、凍結保管中にも緩慢ではあるが、明らかな減少が認められた。これらの結果も佃ら²⁾ の報告とかなりよく一致している。

ところで、魚介類中の TMAO が酵素的に分解され、DMA と FA が生成することに関しては、天野ら¹¹⁻¹⁵⁾、徳永¹⁶⁾、原田¹⁷⁾、FLORES ら¹⁸⁾ などの詳細な報告がある。一方、すでに述べたように、SOUDAN

ら^{3,4)}や徳永⁵⁾によつて報告されたところの、 NaHSO_3 によつて TMAO が非酵素的に還元されて DMA と FA が生ずるという現象もある。本研究において、Fig. 2 および Fig. 5 に示したように、冷蔵ならびに冷凍保管中に、 NaHSO_3 溶液に浸漬しなかつたエビでは FA が全く検出されなかつたが、0.5% NaHSO_3 浸漬 (5 分間) によつて、冷蔵 2 日後に 0.6 ppm の FA が筋肉中に検出され、冷凍保管の場合には 2 か月後に 1.5 ppm の FA が測定された。5% NaHSO_3 に浸漬 (5 分間) した場合は、浸漬直後にすでに 0.8 ppm の FA が生成され、冷蔵中に増加し、6 日目に 3 ppm の FA が検出された。以上の結果から、エビ筋肉中の FA の生成は、主に NaHSO_3 処理によつて TMAO から非酵素的に生成されたものと考えられる。また、DMA は FA と全く同様に NaHSO_3 濃度の高いものに浸漬したエビほど多量生成された。すなわち、TMAO が NaHSO_3 処理によつて還元され、DMA と FA が生じるわけである。冷蔵中に FA の減少がみられたが、これは FA とアンモニア、アミノ酸または蛋白のアミノ基などとの反応が一部起こるためと考えられる。

この研究によつて、エビのむきみ中の SO_2 残存量が 100 ppm 未満の場合でも、TMAO の分解による FA が検出されたのは今後食品衛生上問題とならう。本実験で 0.5% NaHSO_3 に 5 分間浸漬した場合でも FA が生成されたが、 SO_2 残存量 100 ppm 未満の使用基準では 1% NaHSO_3 に 5 分間ないし 0.5% NaHSO_3 に 20 分間の浸漬が可能なので、その際には FA はさらに多量生成してくるものと推定される。佃ら²⁾によれば、 NaHSO_3 による黒変防止効果は 0.7% に 10 分間浸漬すると十分であるとしているが、黒変防止効果を十分にあげようとすれば、FA の生成は避けられない。

エビ筋肉の pH は、即殺直後 7.2 と高く、冷蔵中に徐々に上昇し、8.3~8.5 に達した。これは魚肉の場合と明らかに異なるが、おそらくエビ筋肉にはベタイン、アルギニンなどの塩基性物質が多いためであろう。エビの外殻の pH は即殺直後 9.5~9.7 と高く、冷蔵、冷凍中にやや低下はみられるが、この高 pH がいかなる物質によるものか今後検討してみる必要があらう。

最後に、エビの外殻中には、即殺直後ほとんど TMAO が存在しないが、Fig. 1, Fig. 4 および Table 1 に示したように、冷蔵ないし冷凍したエビの外殻中には多量の TMAO が検出された。これは極めて興味ある現象であり、TMAO 増加の原因がエビの外殻の吸着作用によるものか、あるいは外殻中に TMAO を生成する酵素系が存在するためか、さらにまた酵素系が存在するならば TMAO の前駆物質が何なのかを現在検討中である。

文 献

- 1) 柿本大壺・金沢昭夫：本誌，22，471-475 (1957).
- 2) 佃 信夫・天野慶之：東海水研報，72，9-19 (1972).
- 3) F. SOUDAN: *Rev. Trav. Inst. Pêches marit.*, 23, 203-210 (1959).
- 4) F. SOUDAN, G. BRUN, C. SCHREIBER, and L. RENAULD: *ibid.*, 25, 407-412 (1961).
- 5) 徳永俊夫：北水研報，31，95-111 (1966).
- 6) 橋本芳郎・岡市友利：本誌，23，269-272 (1957).
- 7) 岩見公和・安本教伝・満田久輝：栄養と食糧，27，387-391 (1974).
- 8) W. J. DYER and Y. A. MOUNSEY: *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 6, 359-367 (1945).
- 9) 佃 信夫：水産生物化学・食品学実験書 (齊藤恒行ら編)，恒星社厚生閣，東京，1974，pp. 357-359.
- 10) 中村昌道・馬場奈保子・中岡正吉・和田 裕・河端俊治：神奈川衛研報，5，23-28 (1975).
- 11) 天野慶之・山田金次郎・尾藤方通：本誌，29，695-701 (1963).
- 12) K. AMANO and K. YAMADA: *This Bull.*, 30, 430-435 (1964).
- 13) K. AMANO and K. YAMADA: *ibid.*, 30, 639-645 (1964).
- 14) K. YAMADA and K. AMANO: *ibid.*, 31, 1030-1037 (1965).
- 15) K. YAMADA and K. AMANO: *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, 41, 89-96 (1965).
- 16) 徳永俊夫：北水研報，29，108-122 (1964).
- 17) 原田勝彦：水大校報，23，163-241 (1975).
- 18) S. C. FLORES and D. L. CRAWFORD: *J. Food Sci.*, 38, 575-579 (1973).