

## エソ肉のホルムアルデヒド生成に及ぼす貯蔵温度に関する研究

福島英登<sup>†</sup>, 黒川清也, 石上 翔<sup>1</sup>, 桑田智世<sup>1</sup>, 山内春菜<sup>1</sup>, 福田 裕<sup>1</sup>

### Influence of Storage Temperature on Formaldehyde Formation of Lizardfish Meat

Hideto FUKUSHIMA<sup>†</sup>, Shinya KUROKAWA, Shou ISHIGAMI<sup>1</sup>, Tomoyo KUWATA<sup>1</sup>, Haruna YAMAUCHI<sup>1</sup>, and Yutaka FUKUDA<sup>1</sup>

**Abstract** : It is known that lizardfish meat yields formaldehyde (FA) during frozen storage. FA denatures muscular proteins and leads to the marked decrease of thermal gel-forming ability. This indicates a large problem to use lizardfish meat for frozen surimi or surimi product. In this study, temporal changes of FA and its precursor substances in minced lizardfish meat were investigated during storage at -10, -20, -25, -35 and -50°C. The frozen meats at -10 and -20°C yielded high amounts of FA about 7.0–10 μmol/g in 40 days. On the other hand, the frozen meats at -25, -35 and -50°C hardly did FA in the same period. These results raise the possibility that freezing under -25°C inhibit FA formation in lizardfish meat.

**Key words** : Lizard fish, Formaldehyde, Frozen temperature, Protein denaturation.

### 緒 言

新鮮なエソ肉は優れた加熱ゲル形成能を有し、「足」と呼ばれる独特なテクスチャーやしなやかさを有する最高級かまぼこの素材となる。一方、鮮度の落ちたものや凍結貯蔵したエソ類魚肉から製造されたかまぼこの加熱ゲル形成能は著しく低下する<sup>1,2)</sup>。エソ類の冷凍すり身は国内、国外問わず製造されているが、加熱ゲル形成能は著しく低いため、高級カマボコの原料としては不向きであり、多くの場合増量肉として用いられているのが現状である。

エソ類魚肉の加熱ゲル形成能低下の主な原因は、魚肉または血液中に含まれる浸透圧調節成分であるトリメチルアミン-N-オキサイド (TMAO) から生成されるホルムアルデヒド (FA) が筋肉タンパク質と結合し変性を起こすためと考えられる<sup>1,3-6)</sup>。魚肉すり身に対してFAを0.1% (10 μmol/kg) 添加した実験では加熱ゲル形成能が8分の1に低下した報告<sup>1)</sup> からも、FAは強烈的なタンパク変性剤で

あることがうかがえる。TMAOからFA生成の機構は以下のようなものである<sup>7)</sup>。血合い肉中や、微生物が生育しやすい室温下ではTMAO還元酵素によりTMAが生成される。氷蔵や加熱時ではTMAOaseによりDMAとFAが等モル量生成される。

現在練り製品業界では、高鮮度のエソ魚肉を簡単な水晒しを経て「生すり身」を製造し、氷結晶を形成させないように4°C程度の低温度下で貯蔵しながらかまぼこ原料として利用している。これがエソ類魚肉の利用の実際であるが、「生すり身」の利用期間は製造後の数日に限られる。そのため、かまぼこの生産が集中する冬季はエソの価格が高騰し、需要の少ない夏場は価格が非常に安価になり、漁業者、練り製品産業にとってそれぞれ問題となっている。エソ魚肉から品質の安定した冷凍すり身製造技術が確立されれば、周年通してエソ魚肉の利用が可能となり、練り製品産業は原料の安定供給体制が構築され、エソ漁業者にとっても夏場の漁獲物の需要が拡大する。

2011年11月25日受付. Received November 25, 2011.

水産大学校水産学研究所 (Graduate school of Fisheries Science, National Fisheries University)

1 水産大学校食品科学科 (Department of Food Science and Technology, National Fisheries University)

〒759-6595 下関市永田本町2-7-1 (2-7-1 Nagata-honmachi, Shimonoseki 759-6595)

†別刷り請求先 (corresponding author) : hfukushi@fish-u.ac.jp

先述の様に、エソは貯蔵中にFAが生成することが問題となっているが、貯蔵温度とFA生成の関係については詳細な研究が無い。FA生成を抑制できる貯蔵温度が判明すれば、原料やすり身を安定的に保管できる可能性が見出せる。本研究は、エソ肉の冷凍すり身化を目指し、様々な温度で貯蔵したエソ肉のFA生成の温度依存性を明らかにすることを目的とした。

## 材料と方法

### 試料

下関近海で底引き網にて漁獲後、直ちに氷蔵された漁獲後1~2日のワニエソ (*Saurida wanieso*) を市場で購入後、研究室に冷蔵で持ち帰った。魚体は三枚におろし、頭、皮、内臓、血液を除去した普通肉を回転刃のついたフードプロセッサー (National社製 MK-K48-W) でミンチ状にしたものを試料とした。ミンチ肉を厚手のチャック付きポリビニレンパック (ジップロック; 旭化成 L&L 株式会社 縦13.3cm, 横17.7cm, 厚さ0.07mm) に入れ15℃, 4℃, -20℃ および-50℃ で20日間, -10, -20, -25℃, -35℃ および-50℃ で40日間貯蔵した。

### 揮発性塩基成分分析用試料液の調製

エソ肉約5gを精秤し、4%過塩素酸水溶液15mlを加えポリトロンホモジナイザーでホモジナイズ後、常温で30分間放置し、ろ紙 (Toyo Roshi Kaisha製No.2 110mm) でろ過した。ろ液は4%過塩素酸水溶液で25mlに定量し試料液とした<sup>1,8)</sup>。

### トリメチルアミン (TMA) の測定

試料液5mlを栓付き試験管にとり、10%ホルムアルデヒド水溶液1mlを加え混合後、脱水トルエン10mlを加えた。さらに25%水酸化カリウム水溶液2mlを加え30℃の湯浴中に10分間静置後、1分間激しく振とうした。振とう後、室温に5分間以上静置した後、上層のトルエン層を硫酸ナトリウム約0.5g加えた別の栓付き試験管に移し、数回振り混ぜ脱水した。この脱水トルエン溶液を別の試験管に入れておいた0.02%ピクリン酸トルエン5mlと混合し、波長410nmで吸光度を測定した<sup>1)</sup>。

### TMAOの測定法

試料液2mlに対して1%三塩化チタン溶液1mlを加えよく混合し、80℃の湯浴中で90秒間加熱を行い、TMAOをTMAに還元した。これを流水中で冷却した後TMAの測定を行い、還元前から存在していたTMA量を差し引いてTMAOを算出した<sup>1)</sup>。

### FAの測定法

FAはタンパク質と容易に結合することから正確な定量が困難であるが、FAはTMAOからDMA (ジメチルアミン) とともに等モル量生成することから<sup>7)</sup>、FA量は生成したDMA量から求めた。

DMA量の測定は以下の様に行った。試料液2mlを栓付き試験管にとり、銅アンモニア試薬 (酢酸アンモニウム25g, 硫酸銅0.2gを蒸留水30mlで溶解させ、40%NaOH水溶液25ml, 濃アンモニア水20mlと混合させたもの) 1mlを加え混合し、5%二硫化炭素-ベンゼン液10mlを加え、栓をして50℃の湯浴中に2分間放置した。湯浴後、直ちに90秒激しく振とうした。振とう後、30%酢酸1ml加えさらに30秒激しく振とうした後10分間室温に静置しベンゼン層が透明になってから硫酸ナトリウム約0.5gが入った試験管に移し脱水した。脱水した後、ベンゼン層を440nmで吸光度を測定した<sup>1)</sup>。

### 遊離FAの測定法

エソ肉約5gを精秤し、蒸留水を約40ml加えポリトロンホモジナイザーでホモジナイズ後、20%リン酸水溶液1mlを加え水蒸気蒸留装置で蒸留を行った。初留液約20mlまで蒸留を行い、留液を蒸留水で25mlに定容したものを試料液とした<sup>9)</sup>。試料液5mlを栓付き試験管にとり、アセチルアセトン溶液5mlを加えよく攪拌した後、60℃湯浴中に10分間放置した。アセチルアセトン溶液は酢酸アンモニウム15gを蒸留水で溶解後、酢酸0.3mlを加えよく攪拌した後、アセチルアセトン0.2mlを加えアセチルアセトンをよく溶解させ、蒸留水で100mlに定容した。湯浴後、よく冷却し420nmで吸光度を測定した<sup>9)</sup>。先に求めたFA量より遊離FA量を差し引いた値をタンパク質に結合したFA量とした。

なお、揮発性塩基物質の測定はそれぞれn=3で行い、そ

の平均値を表記した。

## 結 果

### 15℃, 4℃, -20℃および-50℃で20日間貯蔵した時のFA関連化合物の変化

15℃, 4℃, -20℃および-50℃で20日間貯蔵したときのFA関連化合物の経時変化をFig. 1に示す。標品を調製した貯蔵開始日のTMAO量は34 $\mu\text{mol/g}$ であったが, TMAおよびFAは全く検出されなかった。15℃貯蔵では貯蔵開始後からTMAOが減少し, それに伴いTMAが約40 $\mu\text{mol/g}$ と著しく増加した (Fig. 1A)。貯蔵4日後にはTMAOはほぼ消失したが, FAは殆ど生成しなかった。すなわち, エソ類魚肉を15℃で貯蔵した場合, TMAOのほとんどがTMAに変化し, FAは生成しなかった。

4℃貯蔵ではTMAOが減少するにつれて, TMAは増加し貯蔵10日後には約30 $\mu\text{mol/g}$ となった (Fig. 1B)。一方, FAも貯蔵5~10日後から増加し, 貯蔵20日後には6.9 $\mu\text{mol/g}$ に増加した。遊離FAは貯蔵20日後では約0.1 $\mu\text{mol/g}$ と僅かに検出される程度であったことから, 殆どがタンパク質と結合した状態と推定された。すなわち, エソ類魚肉を4℃で貯蔵した場合, TMAOの変化は15℃でのそれより若干緩慢であり, 大半はTMAに変化するが, 一部はFAに変化した。なお, 遊離FAはほとんど検出されなかったことから, 生成したFAの大半はタンパク質と結合した状態であることが示唆された。

-20℃で冷凍貯蔵したときはTMAOおよびTMAは20日間貯蔵を行っても明確な変化は認められなかった (Fig. 1C)。一方, FAは貯蔵20日後に0.67 $\mu\text{mol/g}$ と僅かに増加した。遊離FAは貯蔵20日後に約0.30~0.45 $\mu\text{mol/g}$ が検出さ

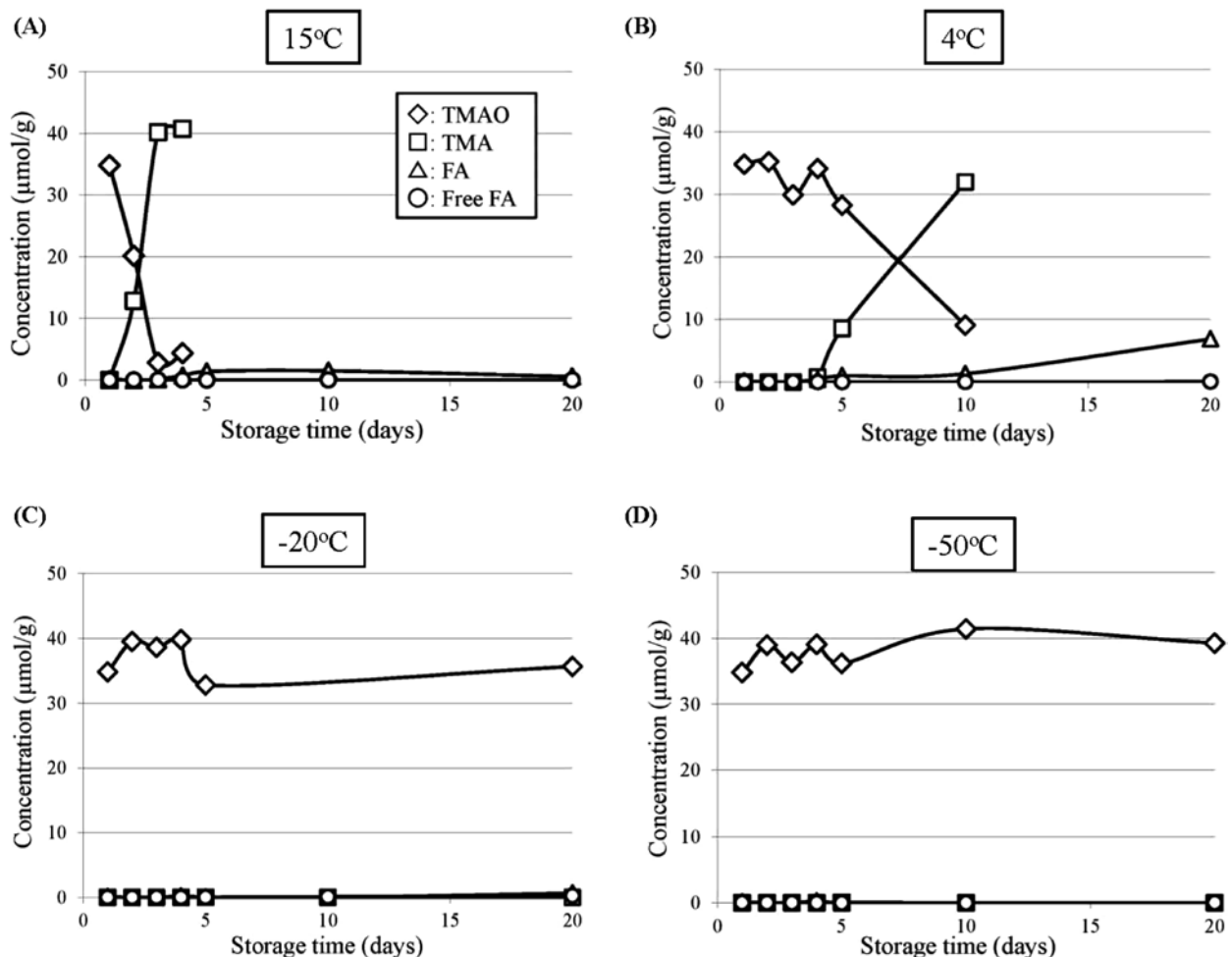


Fig. 1. Changes in the amount of TMAO, TMA, FA and Free FA in lizardfish meats for 20 days at 15℃ (A), 4℃ (B), -20℃ (C), and -50℃ (D).

れ, 生成したFAの約半分が遊離の状態が存在した。すなわち,  $-20^{\circ}\text{C}$  貯蔵では, TMAOはTMAに変化せず, 少量ではあるがFAに変化し, そのうち約半分が遊離の状態が存在した。

$-50^{\circ}\text{C}$  で冷凍貯蔵したときは20日貯蔵後でもTMAOは殆ど変化せず, TMAおよびFAは全く生成しなかった (Fig. 1C)。 $-50^{\circ}\text{C}$  貯蔵ではTMAOは非常に安定な状態で存在し, FAに変化しないことがわかった。

以上の結果より, エソ類魚肉では,  $15^{\circ}\text{C}$  および $-50^{\circ}\text{C}$  貯蔵ではFA量は検出されなかったが,  $4^{\circ}\text{C}$  および $-20^{\circ}\text{C}$  貯蔵で僅かにFA量が検出された (Fig. 2)。ここで検出されたFA量は魚肉の加熱ゲル形成能を阻害するのに充分な量で

あったことから<sup>1,10)</sup>, 安全に品質を保持する温度ではなかった。そこで $-50^{\circ}\text{C}$  までの凍結温度下でFAの生成を防止できる貯蔵温度を明らかにすることが必要と考えられた。

$-10^{\circ}\text{C}$ ,  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $-25^{\circ}\text{C}$ ,  $-35^{\circ}\text{C}$  および $-50^{\circ}\text{C}$  で40日間貯蔵した時のFAの変化

$-20^{\circ}\text{C}$  貯蔵と $-50^{\circ}\text{C}$  貯蔵ではFAの生成に相違があり,  $-50^{\circ}\text{C}$  という極めて低温下で生成は抑制できることが判明した。しかし, 一般的に使用される冷凍庫に近い凍結温度下でFA生成を抑制できるかは不明である。そこで新たにエソ類魚肉を $-10^{\circ}\text{C}$ ,  $-20^{\circ}\text{C}$ ,  $-25^{\circ}\text{C}$ ,  $-35^{\circ}\text{C}$  および $-50^{\circ}\text{C}$  で貯蔵しFA生成の凍結貯蔵温度依存性を検討した。

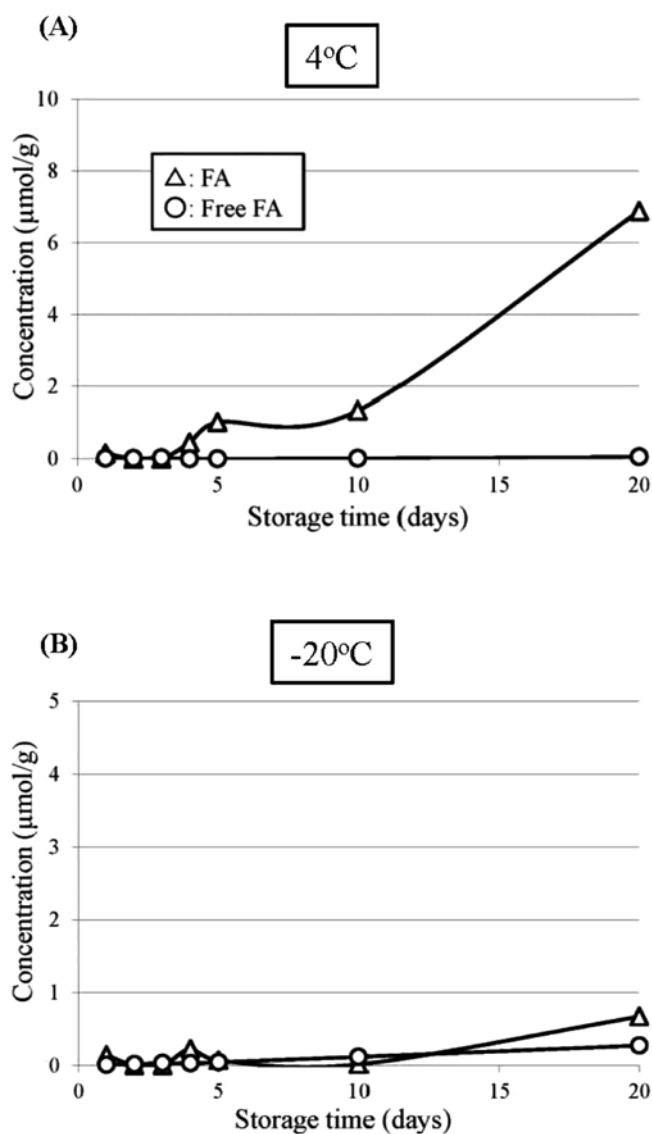


Fig. 2. Changes in the amount of FA and free FA in lizardfish meats for 20 days at  $4^{\circ}\text{C}$  (A), and  $-20^{\circ}\text{C}$  (B).

貯蔵開始日のTMAO量は25~34 $\mu\text{mol/g}$ であり、TMAは検出されず、FA量は1.0~2.0 $\mu\text{mol/g}$ が検出された（データ未掲載）。先の貯蔵実験に用いた魚体よりも若干鮮度が低下した魚肉であったと推察される。

各貯蔵温度におけるFAの経時変化をFig. 3に示す。FAの-10 $^{\circ}\text{C}$ 貯蔵では、FAは貯蔵日数が経過するとともに増加し貯蔵40日後には約10 $\mu\text{mol/g}$ と顕著に生成した。遊離FAは貯蔵40日後に約1 $\mu\text{mol/g}$ が検出され、生成したFAの90%近くがタンパク質と結合していると考えられた。-20 $^{\circ}\text{C}$ 貯蔵では貯蔵40日後には7.5 $\mu\text{mol/g}$ と-10 $^{\circ}\text{C}$ 貯蔵と比較すると僅かに少ないもの明確に生成していた。遊離のFAは貯蔵40日後には約0.67 $\mu\text{mol/g}$ 検出され、-10 $^{\circ}\text{C}$ と同様に生成したFAの90%近くがタンパク質と結合したと考えられた。このように、-20 $^{\circ}\text{C}$ 貯蔵ではFA関連化合物の変化傾向は-10 $^{\circ}\text{C}$ に比べ僅かに緩慢であったがよく類似していた。

一方、-25 $^{\circ}\text{C}$ 貯蔵ではTMAO、TMAおよびFAは貯蔵40日後でも貯蔵開始時と殆ど変わらなかった。FAは貯蔵開始時に2.2 $\mu\text{mol/g}$ であったが、貯蔵40日後も2.4 $\mu\text{mol/g}$ とほぼ同様の値を示した。-25 $^{\circ}\text{C}$ 貯蔵は-20 $^{\circ}\text{C}$ よりわずか5 $^{\circ}\text{C}$ 低いだけであるが、FA関連化合物の分解生成に相違があることがわかった。-35および-50 $^{\circ}\text{C}$ 貯蔵ではFA関連化合物の変化傾向は-25 $^{\circ}\text{C}$ 貯蔵と同様の傾向を示し、FAは貯蔵40日後で両温度ともに2.3 $\mu\text{mol/g}$ であった。

## 考 察

エソ同様にFAを生成する魚として知られているスケトウダラではFA生成の貯蔵温度依存性がある程度判明しており、-40 $^{\circ}\text{C}$ で貯蔵すればFAの生成を抑制できることが分かっているが<sup>11)</sup>、より0 $^{\circ}\text{C}$ に近い温度でFAの抑制ができるかどうかは不明である。また、エソ類においても同様の貯蔵温度特性があるのかは不明であった。そこで本研究ではエソ類のFAおよびその関連物質の貯蔵温度特性を検討した。

エソ類落とし身を0 $^{\circ}\text{C}$ 以上の温度で貯蔵した場合、15 $^{\circ}\text{C}$ 貯蔵ではTMAOからTMAへの分解が認められ、FAは生成しなかった。4 $^{\circ}\text{C}$ 貯蔵ではTMAOからTMAとともにFAの生成が認められた。15 $^{\circ}\text{C}$ 貯蔵では、TMAOからFAが生成する前に、細菌の活発な活動によってTMAOからTMAのみが生成したと考えられた<sup>12)</sup>。4 $^{\circ}\text{C}$ 貯蔵では、15 $^{\circ}\text{C}$ 貯蔵に比べて低温であるため細菌による活動が抑制され、FAが生成したものと推定された。生成したFAはほとんどが結合FAとして存在しており、落とし身中のタンパク質は変性していると考えられた。

次に0 $^{\circ}\text{C}$ 以下の凍結温度で貯蔵した場合、-10 $^{\circ}\text{C}$ および-20 $^{\circ}\text{C}$ ではFAの生成が認められ、-25 $^{\circ}\text{C}$ 以下ではFAの生成は抑制された。凍結貯蔵中のFAの生成は、-20 $^{\circ}\text{C}$ と-25 $^{\circ}\text{C}$ で大きく異なり、-25 $^{\circ}\text{C}$ より低い温度で凍結貯蔵すればFA

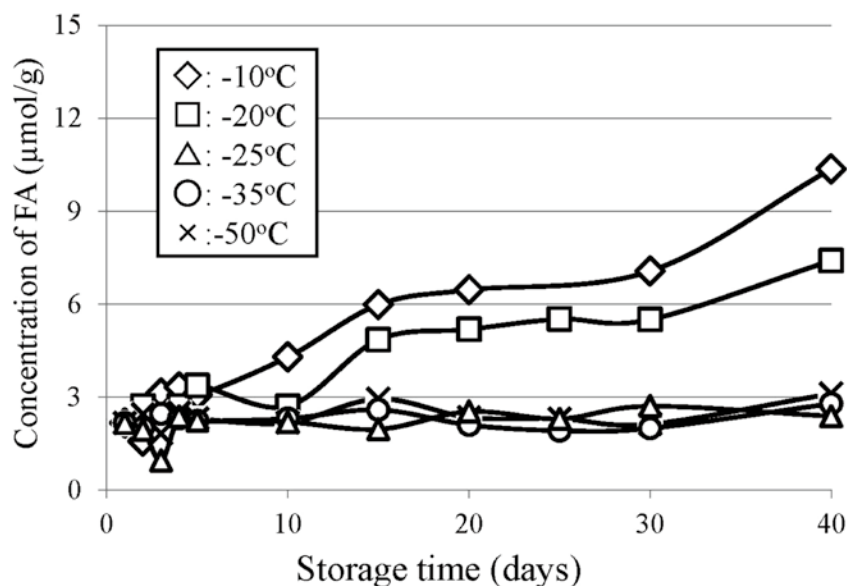


Fig. 3. Comparison of the changes in the amount of FA in lizardfish meats for 40 days at -10, -20, -25, -35 and -50 $^{\circ}\text{C}$  (C).

の生成は防止できることがわかった。一方、 $-20^{\circ}\text{C}$ 以上の凍結貯蔵温度ではFAが生成され、遊離FAは少量であったことから、凍結状態であってもタンパク質と結合した状態で存在していることが示唆された。凍結貯蔵中のFAの生成と抑制の機構は不明であるが、一般に凍結貯蔵温度帯では $0^{\circ}\text{C}$ に近いほど生化学反応が起こりやすく、低い温度帯では抑制されることから、FA生成の反応も同様の傾向であったと推定された。また凍結貯蔵温度で異なる氷結率がFAの生成度合いの相違に関与している可能性も考えられた。

本研究ではエソ魚肉のFA生成と凍結保管温度の関係を調べ、FAを生成しない凍結貯蔵温度を明らかにした。一方、長期貯蔵できたとしてもその後の解凍中や加工中にFAが生成する可能性がある。一度FAが生成すると筋肉タンパク質と強く結合するため取り除くのは困難であるが、その初期物質であるTMAOは水溶性であることから、水晒しにより取り除くことが可能である。次報ではエソ魚肉に対する水晒しの効果を報告する予定である。

## 謝 辞

本研究を行うにあたり、試料魚の入手にご尽力を頂いた山九水産株式会社の坂水正志様、彦島シーレディーズの廣田郁江様、末永水産株式会社様、株式会社博水の江越猛信様、寄付金を寄付して頂きました西京銀行(株)山口県応援ファンド・はつらつ長州寄付金選考委員会様に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 平岡芳信, 管忠明, 黒野美夏, 平野千恵, 松原洋, 橋本照, 岡弘康, 関伸夫: トカゲエソの貯蔵中に生成するホルムアルデヒドがかまぼこの品質に及ぼす影響. 日本水産学会誌, 69, 796-804 (2003)
- 2) 岡弘康: エソの種類別ゲル形成能. 水産ねり製品技術研究会誌, 10, 9-14 (1984)
- 3) 原田勝彦: 魚介類におけるホルムアルデヒドとトリメチルアミンを生成する酵素に関する研究. 水大校研報, 23, 136-241 (1975)
- 4) 関伸夫, 原研治: ホルムアルデヒドの生成とTMAOase. 山澤正勝, 関伸夫, 福田裕 (編), かまぼこ: その科学と技術. 恒星社厚生閣, 東京, 87 (2003)
- 5) 山田金次郎: 魚介類におけるトリメチルアミンオキシドの分解. 日本水産学会誌, 34, 541-551 (1968)
- 6) 池田静徳, 川合真一郎, 坂口守彦, 佐藤 守, 牧之段保夫, 吉中禮二, 山本義和: トリメチルアミンとその関連化合物. 魚介類の微量成分: その生化学と食品化学. 恒星社厚生閣, 東京, 13-17 (1981)
- 7) 木村メイコ, 関伸夫, 木村郁夫:  $0^{\circ}\text{C}$ 以下の温度におけるトリメチルアミン-N-オキシドの酵素的および非酵素的分解. 日本水産学会誌, 68, 85-91 (2002)
- 8) 橋本芳朗, 岡市友利: トリメチルアミン及びトリメチルアミンオキシドの定量法について-Dyer法の検討. 日本水産学会誌, 23, 269-272 (1957)
- 9) 厚生省生活衛生局: 食品中の食品添加物分析法 ホルムアルデヒド アセチルアセトンによる法. 食品衛生検査指針, 日本食品衛生協会, 東京, 397-399 (1989)
- 10) Sikorski Z, Kostuch S: Trimethylamine-N-oxide demethylase: Its occurrence, properties, and role in technological change in frozen fish. *Food Chem.*, 9, 213-222 (1982)
- 11) 徳永俊夫: 冷凍スケトウダラの品質に及ぼすトリメチルアミンオキシド分解物の影響. 日本水産学会誌, 40, 167-174 (1974)
- 12) Kimura M, Seki N, Kimura I: Purification and characterization of trimethylamine-N-oxide demethylase from walleye Pollack muscle. *Fish. Sci.*, 66, 967-973 (2000)