

魚粉における N-ニトロソ-2-メチルチアゾリジンの生成

| | |
|-------|------------------|
| 誌名 | 日本水産學會誌 |
| ISSN | 00215392 |
| 著者 | 戸沢, 晴巳 河端, 俊治 |
| 巻/号 | 53巻12号 |
| 掲載ページ | p. 2259-2262 |
| 発行年月 | 1987年12月 |

魚粉における*N*-ニトロソ-2-メチルチアゾリジンの生成^{*1}戸沢晴巳^{*2}, 河端俊治^{*3}

(1987年7月31日受理)

Formation of *N*-Nitroso-2-Methylthiazolidine in Fish Meals

Harumi Tozawa and Toshiharu Kawabata

In our previous paper, it was reported that cysteamine (CysA) in fresh sardine meat reacted with formaldehyde (FA) in the meat to form thiazolidine which may act as a precursor of nitrosothiazolidine (NTHZ) in fish meal. CysA is known to react with various carbonyl compounds including FA to form thiazolidine derivatives. Several types of carbonyl compounds have been reported to exist in dried sardines. In the present study, a survey was conducted on the distribution of nitrosated thiazolidine derivatives in fish meal samples. The presence of *N*-nitroso-2-methylthiazolidine (NMTZ) could be confirmed in three commercial fish meal samples and also in the test meal samples after being treated with gaseous NO₂. In the case of test meal samples, it was found that the yield of NMTZ apparently increased with the storage periods of raw materials at 10°C, and the changes in NMTZ contents were almost proportional to the levels of acetaldehyde in meal samples. The above-mentioned results indicate that acetaldehyde in the fish material would play an important role in the formation of NMTZ in fish meals.

前報¹⁾では、魚粉製造時におけるニトロソチアゾリジン (NTHZ) の生成には、システアミン (CysA) およびシステインを起源とする2つの生成経路があることを見出した。すなわち、第1の経路では、CysA とホルムアルデヒド (FA) の反応によってチアゾリジン (THZ) を生成し、これが NO_x によりニトロソ化されて NTHZ が生成される。第2の経路では、システインと FA の反応によってチアゾリジン-4-炭酸 (TZC) を生成し、その NO_x との反応生成物であるニトロソチアゾリジン-4-炭酸 (NTZC) が、高温の乾燥工程中に分解 (脱炭酸) して、NTHZ を生成するものである。上記いずれの経路においても、まず魚体 (マイワシ) 中に存在する FA が反応に関与して前駆物質が生成され、最終的に NTHZ の生成が行われることになる。

ところで CysA やシステインは、FA 以外にも多くのカルボニル化合物と反応してチアゾリジン環を形成し、チアゾリジン誘導体をつくることが知られている。²⁻⁴⁾ マイワシ魚体からは、FA 以外にもいくつかのアルデヒド類が検出されているので、⁵⁾ 魚粉においても THZ や

TZC の生成と同様な過程でチアゾリジン誘導体が生成され、そのニトロソ化合物が存在する可能性がある。この点を明らかにするため、市販魚粉および前報^{1,6)} で用いたのと同じ試験魚粉 (NO₂ 処理試料) を用いて、ニトロソチアゾリジン誘導体の検索を行った結果、*N*-ニトロソ-2-メチルチアゾリジン (NMTZ) の存在を確認した。また、NMTZ の生成量、およびそれと魚粉に含有されるアセトアルデヒド (ACA) との関連性について、若干の検討を加えたので、その結果を報告する。

実験方法

魚粉試料 前報^{6,7)}に記載した市販の直火型魚粉のうち3試料、および原料鮮度別の試験魚粉 (魚粉 A: 原料マイワシは 10°C に 0, 2, 7 日保存, 魚粉 B: 原料は 10°C に 0, 2, 4, 7 日保存) を用いた。

試験魚粉の NO₂ 処理 前報⁹⁾と同様にして行った。なお処理条件は、魚粉 10g に対して NO₂ 5 ml, 120°C で 60 分加熱とした。

VNA (NMTZ) 分析用試料の調製 前報⁷⁾と同様にし

*1 魚粉における揮発性ニトロサミンの存在および生成—IV. (Occurrence and Formation of Volatile *N*-Nitrosamines in Fish Meal—IV).

*2 東京大学農学部水産化学教室 (Laboratory of Marine Biochemistry, Faculty of Agriculture, The University of Tokyo, Bunkyo, Tokyo 113, Japan).

*3 国立予防衛生研究所 (National Institute of Health, Kamiosaki, Shinagawa, Tokyo 141, Japan).

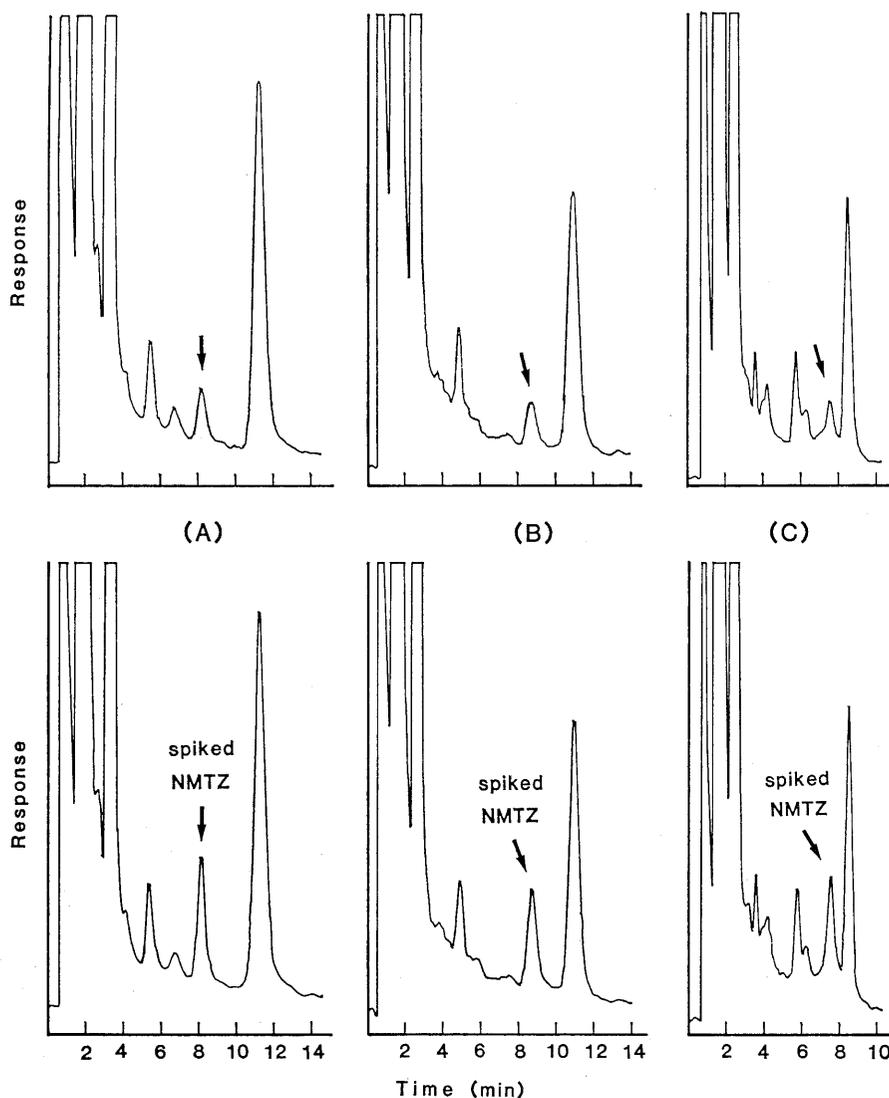


Fig. 1. *N*-nitroso-2-methylthiazoline (NMTZ) in a commercial fish meal sample identified by GC-TEA using three different packed columns.*

Upper: The purified sample solution for VNA analysis obtained from a commercial fish meal sample

Lower: The sample solution spiked with about 5 ng of authentic NMTZ

* Packed columns employed: (A) 5% OV-275 on Chromosorb W,
(B) 5% PEG-20 M on Chromosorb W,
(C) 10% Versamide-900 on Chromosorb W

て調製した。すなわち、NMTZ 測定用試料の場合は、魚粉 (NO₂ 処理の試験魚粉) 10 g より得た分析用試料を、100 μ l に濃縮して使用した。また、NMTZ の検出および確認の場合は、市販魚粉 100 g より分析用試料を調製後、下記のようにして精製した。

NMTZ 分析用試料の精製 上記の分析用試料 (市販魚粉 100 g より調製) を 100~200 μ l に濃縮して、前報²⁾ に記したアルミナカラム (メルク製・水分 0%, 5 g) の上

部に吸着させた。このカラムに *n*-ペンタン・ジクロロメタン混液 (4:1, 以下この比率の場合は 20% DCM ペンタンと略称) 20 ml を通過させ、次いで 30% DCM ペンタン 50 ml で溶離し、この溶離液を濃縮して 100~200 μ l とし、再度アルミナカラムに吸着させた。これを 20% DCM ペンタン 20 ml, および 30% DCM ペンタン 30 ml で溶離し、後者を濃縮して精製試料とした。

NMTZ 標品 Ratner らの方法²⁾により調製した。

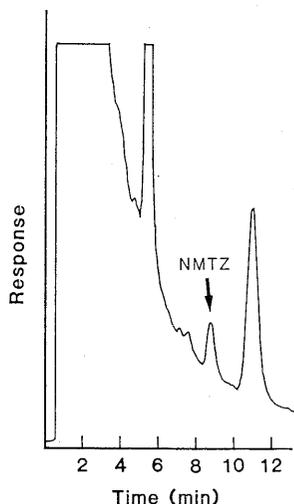


Fig. 2. Detection of NTHZ by GC-TEA in the test meal sample treated with gaseous NO_2 .
A 10 g of meal sample added with gaseous NO_2 (5 ml at 30°C) were heated in a vessel at 120°C for 60 min.

アセトアルデヒド (ACA) の分析 飯田らの方法⁵⁾ によって行った。

実験結果

NMTZ の市販魚粉からの検出 市販魚粉より検出された NMTZ の GC-TEA クロマトグラムを Fig. 1 に示した。GC 充てん剤は担体として Chromororb-W, 液相には 5% OV-275, 5% PEG-20M, および 10% Versamide-900 をそれぞれ用いた。各充てん剤の場合とも精製試料, およびこれに約 5 ng の NMTZ 標品を添加した混合試料の, それぞれ 2 種のクロマトグラムを比較し, 保持時間 (RT) の同一性につき検討した。Fig. 1 から明かなように, 試料中の NMTZ 該当物質の RT は, 3 種の充てん剤のすべてについて NMTZ 標品の RT と一致した。なお, アルミナ精製による NMTZ の損失がかなり大であるため, 市販魚粉中の NMTZ の正確な含有量は求められなかったが, $0.5 \mu\text{g}/\text{kg}$ 以下の低いレベルであったと推定される。

試験魚粉の NO_2 処理による NMTZ の生成 NO_2 処理を行った試験魚粉から得られた GC-TEA クロマトグラムには, 市販魚粉より得られたものより, かなり大きい NMTZ のピークが認められた。Fig. 2 には, その 1 例 (魚粉 B, 原料保存 4 日) を示した。つぎに, 原料鮮度別の試験魚粉試料 (魚粉 A および B, 各身粕魚粉および全魚粉) について, NO_2 処理を行った場合に生成した NMTZ 量を, Table 1 に示した。前報^{1,6)}で述べたように, NTHZ の生成量は原料鮮度の低下とともに減少し

Table 1. Effect of storage period of raw sardines at 10°C on the formation of NMTZ in the NO_2 treated meal samples*¹

| Meal* ² samples | Storage* ² period (days) | NMTZ ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | |
|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|--------------------------|
| | | Ordinary meal* ³ | Whole meal* ³ |
| Meal-A | 0 | 1.8 | 2.0 |
| | 2 | 3.7 | 3.8 |
| | 7 | 7.7 | 8.3 |
| Meal-B | 0 | 6.4 | 8.7 |
| | 2 | 11.3 | 14.7 |
| | 4 | 13.8 | 22.8 |
| | 7 | 23.3 | 29.1 |

*¹ See the footnote of Fig. 2.

*² Meal-A samples were made from medium-sized sardines (mean weight, 53.8 g) which had been stored at 10°C for 0, 2 and 7 days, and meal-B were produced from large-sized ones (mean weight, 132.6 g) which had been stored at 10°C for 0, 2, 4 and 7 days.

*³ Methods of preparation of ordinary and whole meal samples were the same as in the previous paper.⁶⁾

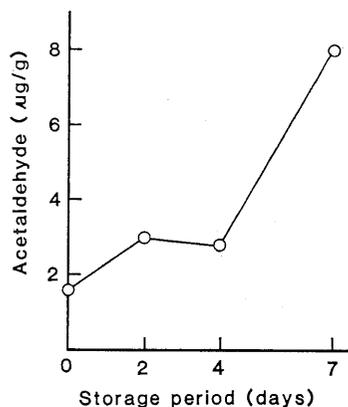


Fig. 3. Effect of storage period of raw sardines at 10°C on acetaldehyde contents in the test meal samples.

Meal-B samples (ordinary meal) shown in the footnote of Table 1 were used in this experiment.

たが, Table 1 の結果から明かなように, NMTZ の値はこれとは逆に, 原料鮮度の低下 (保存日数の増加) にしたがって増大する傾向が見られた。魚粉 A と B とでは, 魚粉 B のほうが明らかに NMTZ の生成量が大きく, 身粕魚粉と全魚粉とでは後者のほうがやや生成量が大きい点は, NTHZ 生成量において見られた傾向⁶⁾と一致した。

試験魚粉中のアセトアルデヒド (ACA) 含有量 原料鮮度別の試験魚粉 (魚粉 B, 身粕魚粉) に含有される ACA 量を Fig. 3 に示した。ACA は揮散し易く, また, 試験魚粉保存中の脂肪酸化によるアルデヒド類の量的変

動も考慮せねばならないが, Fig. 3 に示したように, ACA の生成量は原料保存日数の増加とともに増大しており, Table 1 に示した NMTZ 生成量の増大傾向と, 大体において一致した。

考 察

近年, *N*-ニトロソチアゾリジン系化合物の 2-メチル誘導体として, ニトロソ-2-メチルチアゾリジン-4-炭酸が, ニトロソチアゾリジン-4-炭酸 (NTZC) とともに人尿中から検出されている。⁹⁾ しかし NMTZ の存在に関しては, ベーコン中での生成の可能性をモデル系で検討した報告^{9,10)}はあるものの, 実際に食品や魚粉から検出されたという報告は見当たらない。したがって本報の結果は, 食品および餌料における NMTZ の存在に関し, はじめての例となるものである。

本報の結果から, 魚粉における NMTZ の生成には, 原料マイワシ中に存在する ACA が関与することは明らかといえよう。しかし今回の NMTZ の場合は, 前報¹⁾で NTHZ に関して示したような前駆体あるいは生成経路については, 明らかにするまでにはいたらなかった。飯田⁹⁾は, -10°C 貯蔵の丸干しイワシを用い, 原料鮮度と ACA 量との関連について検討を行った結果, 貯蔵中にかなりの ACA 量増加が認められたと報告している。このように, ACA は凍結貯蔵中にも, 魚体の脂肪酸化によって増加する可能性があるところから, 長期間冷凍貯蔵した原料魚を用いて魚粉を製造する場合には, NMTZ 生成量が増大する可能性が考えられる。

本研究の遂行に当って, 貴重な御協力と御指導を賜っ

た東海区水産研究所・中添純一, 飯田 遙の両氏に厚く感謝の意を表します。

文 献

- 1) 戸沢晴巳, 河端俊治: 日水誌, **53**, 2209-2216 (1987).
- 2) S. Ratner and H. T. Clarke: *J. Am. Chem. Soc.*, **59**, 200-206 (1937).
- 3) G. E. Woodward and E. F. Schroeder: *J. Am. Chem. Soc.*, **59**, 1690-1694 (1937).
- 4) M. Sakaguchi and T. Shibamoto: *J. Agric. Food Chem.*, **26**, 1179-1183 (1978).
- 5) 飯田 遙, 中村弘二, 徳永俊夫: 東海水研報, 98 号, 77-85 (1979).
- 6) 戸沢晴巳, 河端俊治: 日水誌, **53**, 1449-1456 (1987).
- 7) 戸沢晴巳, 河端俊治: 日水誌, **52**, 1969-1974 (1986).
- 8) H. Ohshima, I. K. O'Neill, M. Friesen, B. Pignatelli and H. Bartsch: in "N-Nitroso Compounds: Occurrence, Biological Effect and Relevance to Human Cancer" (ed. by I. K. O'Neill, R. C. von Borster, C. T. Miller, J. Long, and H. Bartsch), IARC Scientific Publications No. 57, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, 1984, pp. 77-85.
- 9) A. K. Mandagere, J. I. Gray, D. J. Skrypec, A. M. Booren and A. M. Pearson: *J. Food Sci.*, **49**, 658-659 (1984).
- 10) W. G. Ikins, J. I. Gray, A. K. Mandagere, A. M. Booren, A. M. Pearson and M. A. Stachiw: *J. Agric. Food Chem.*, **34**, 980-985 (1986).