



1998

Quantitative determination of carbon monoxide residue in tuna flesh

Follow this and additional works at: <https://www.jfda-online.com/journal>

Recommended Citation

Chow, C.-J.; Hsieh, P.-P.; and Hwang, M.-S. (1998) "Quantitative determination of carbon monoxide residue in tuna flesh," *Journal of Food and Drug Analysis*: Vol. 6 : Iss. 1 , Article 1.
Available at: <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2912>

This Original Article is brought to you for free and open access by Journal of Food and Drug Analysis. It has been accepted for inclusion in Journal of Food and Drug Analysis by an authorized editor of Journal of Food and Drug Analysis.



鮪肉中一氧化碳殘存量之定量

周照仁^{1*} 謝蘋萍² 黃明受¹

¹國立高雄海洋技術學院水產食品工業科

²省立成功商業水產高級職業學校

摘 要

本研究探討以氣相層析法 (gas chromatography, GC) 定量經過一氧化碳 (CO) 氣體處理過之鮪肉的 CO 殘存量, 結果發現在 GC 的分離管柱之後加裝還原管, 使 CO 變成甲烷之後再進入火焰離子偵檢器 (FID), 可使儀器的靈敏度較未裝還原管者提高 200 倍, 感度可達 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of meat 的程度, 而且 GC 所呈現的波峰面積與 GC 的注入量相關性很高 ($r > 0.99$), 可以用來做為定量魚肉中 CO 殘存量之用。

將紅色深淺程度不同之鮪肉, 同樣以 CO 氣體處理 5 天, 其結果顯示肌紅蛋白 (myoglobin, Mb) 的含量愈多者, 其鮪肉中 CO 的殘存量也愈高。不同試樣之間, CO 與 Mb 的莫耳數比例約在 11~13% 之間。

關鍵詞: 鮪魚, 一氧化碳, 氣相層析法。

前 言

超低温冷凍鮪魚係指漁船將鮪魚凍藏於 $-50 \sim -60^\circ\text{C}$ 的溫度下, 由於此等漁獲物的鮮度極佳、肉色鮮紅、肉質良好, 大多供做生食用 (生魚片) 之原料, 因此其售價較其他水產加工品的原料為高。唯此等超低温冷凍鮪魚在解凍之後極易褐變^(1, 2), 影響價格至鉅, 因此有部份業者嘗試以一氧化碳 (CO) 氣體在解凍後處理魚肉, 使鮪肉呈現較為漂亮之鮮紅色, 此舉不但使魚肉顏色較未處理者為佳, 而且具有較長之商品期限 (shelf-life)。甚至有業者, 將冰藏的鮪魚肉亦同樣使用 CO 氣體處理之後, 再用 -20°C 來凍藏、銷售, 其目的不但在延長冰藏鮪魚的商品期限, 也同時可以避免使用高成本的超低温冷凍貯藏法。以 CO 氣體處理鮪肉之呈色作用, 主要是利用 CO 容易與鮪肉之肌紅蛋白 (myoglobin, Mb) 結合而生成 MbCO 之故⁽³⁾。

由於經過 CO 氣體處理的鮪肉即使予以長

時間的冷凍或冰藏, 仍然保有其鮮艷之紅色, 容易誤導消費者的選購, 因此日本厚生省⁽⁴⁾及我國衛生署⁽⁵⁾均通令加工業者不得使用 CO 氣體來處理魚肉。日本厚生省也訂出一套檢驗冷凍魚片中 CO 殘存量的方法⁽⁴⁾, 而目前我國則無任何單位在從事這方面的檢驗與分析, 因此實有待國人自行開發, 並訂定魚肉中 CO 殘存量的檢驗方法。

目前日本係以氣相層析法 (gas chromatography, GC) 分析鮪肉中 CO 氣體的殘存量^(4, 6), 但本研究依照其方法所測得之結果, 感度並不如文獻中預期的靈敏, 因此本研究將其條件經過修改, 以便得到高感度而穩定之結果。

材料與方法

一、材料

(一) 鮪肉

本實驗之原料均購自東港漁市場。將新鮮且未經冷凍的黃鰭鮪(*Thunnus albacares*) 重量約 25 ~ 35 kg，攜回研究室後，即予以除臟、去頭、去骨、剔除血合肉，以靠近脊椎骨顏色較紅也較均勻之部位供做實驗用材料。先將魚肉切成長約 8 cm、寬約 3 cm、厚約 2 cm 的魚肉塊。將每塊魚肉塊分別以 PE (polyethylene) 袋包裝後排盤，置於 -60 °C 的超低温冷凍櫃中，使其迅速凍結，經過 36 小時後予以脫盤，任取 2 塊為一組予以分裝，再置於 -60 °C 冷凍櫃中保存，隨時供下列實驗之用。使用前，魚肉塊連同包裝袋置於流水中解凍，至完全解凍後使用。

(二) 氣體及藥品

本實驗所用之 CO 氣體係由高雄互成氣體公司所提供，為國外原裝進口之 CO 氣體 (CP 級，純度在 99.5 % 以上)。本實驗所使用之化學藥品均為試藥特級及一級。

二、方法

(一) CO 氣體之定量

1. GC 測試條件的設定

依照日本厚生省規定之方法⁽⁴⁾，以氣相層析法定量 CO 之殘存量，但參照日本藥學會⁽⁷⁾之方法在 FID 之前加裝還原管並以 H₂ 為攜帶氣體，使 CO 轉變成 CH₄，以提高其靈敏度。GC 裝置如圖一，其分析條件如下：

機型：Hitachi G-5000

管柱材料：SUS (2.5 m × 3 mm i.d.)

充填劑：Molecular sieve 13X，60 ~ 80 mesh

還原管材料：SUS (60 cm × 3 mm i.d.)

還原管充填劑：Chromosorb W : Raney Nickel
= 1 : 1

攜帶氣體：H₂

流速：12 ml/min

注入口溫度：150 °C

烘箱溫度：120 °C

還原管溫度：390 °C

偵測器：FID

偵測器溫度：150 °C

2. CO 檢量線之測定

將純度在 99.5 % 以上之 CO 氣體於常壓下取出置於玻璃瓶 (head space bottle，容積約 120 ml) 中，蓋緊橡皮蓋備用。另於常壓下同樣取空氣數瓶，將純 CO 氣體利用空氣做不同濃度的稀釋，各取 1 ml 打入 GC 並經直線回歸以求出 CO 之檢量線。每個稀釋濃度均至少經過三次的測定，以求其平均值與標準偏差。

3. CO 氣體回收率之測定

在附橡皮蓋之玻璃瓶 (head space bottle，容積約 120 ml) 中，先加入 75.25 ml 之蒸餾水，蓋緊橡皮蓋，然後以注射針刺入橡皮蓋取出 1 ml 之上部空氣，然後補充打入 1 ml 已稀釋至不同濃度的 CO 氣體與瓶中上部氣體混合，經振盪 1 min，並靜置 1 hr 後，取瓶中上部氣體 1 ml 注入 GC，以求出在水溶液的存在下，CO 含量的基準檢量線。

以同樣的玻璃瓶，瓶中先加入 55 ml 之蒸餾水，0.25 ml 之 1-octanol，20 ml 之 20 % H₂SO₄，再同樣打入 1 ml 已稀釋至不同濃度的 CO 氣體經振盪、靜置後，取 1 ml 上部氣體注入 GC，以求出在藥品溶液的存在下，CO 含量的空白檢量線。

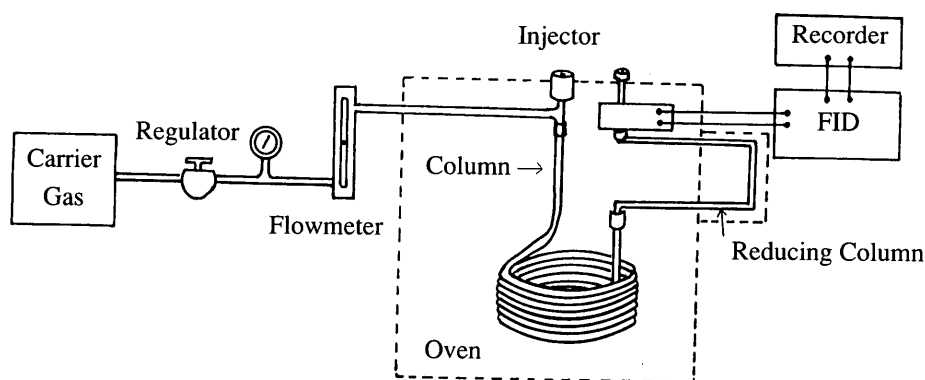


Figure 1. Equipment system of gas chromatography.

以同樣的玻璃瓶，瓶中先加入 50 ml 之鮭肉 Mb 抽出液、5 ml 之蒸餾水、0.25 ml 之 1-octanol、20 ml 之 20% H₂SO₄，然後再同樣打入 1 ml 不同稀釋濃度的 CO 氣體經振盪、靜置後，取 1 ml 上部氣體注入 GC，求在魚肉抽出液及藥品溶液的存在下，CO 含量的對照檢量線。

以上每個測試點均至少經過三次的測定，以求其平均值與標準偏差。將空白檢量線，對照檢量線的測定值分別除以基準檢量線，以求出 CO 氣體的回收率。

4. 鮭肉 Mb 抽出液的製備

將鮭肉塊切碎後直接以 2 倍量的冰冷蒸餾水均質 2 min (Waring commercial blender, USA) 抽出，經 4,500 rpm 離心 10 min (Hitachi refrigerated centrifuge, 05PR-32, Japan) 後，取上澄液為 Mb 抽出液供實驗之用。

(二) 鮭肉中 CO 殘存量之定量

1. 鮭肉中 Mb 濃度的定量

取鮭肉碎肉 10 g，於冰冷之研钵中以 20 ml 之冰冷蒸餾水研磨淬取，於 4,500 rpm 離心 10 min (Hitachi refrigerated centrifuge, 05PR-32, Japan) 可得 Mb 抽出液。取 Mb 抽出液 15 ml 於離心管內，先以 1 N NaOH 數滴調整 pH 值至中性 (pH 7.0)，然後於 16,000 rpm 下離心 15 min (Hitachi refrigerated centrifuge, CR20B2, Japan)。取上澄液 2 ml 於試管中，加入等量之 1 M 磷酸緩衝液 (pH 7.0) 及 50 μl 之 5% NaNO₂，搖勻後放置 1 min，再加入 50 μl 之 1% KCN 後搖勻，測定 540 nm 之吸光值，以 11,300 為 MbCN 的分子吸光係數⁽⁸⁾，以 16,200 為 Mb 的分子量⁽⁹⁾，依下式計算鮭肉中 Mb 的濃度。每個試樣均做三次測試，以平均值表示。

$$\text{Mb (mg/kg)} = 16,200 \times \frac{C \times 2}{11,300} \times \frac{V}{W} \times 1000$$

C：Mb 之吸光值

V：抽出液之體積 (ml)

W：鮭肉之重量 (g)

2. 以 CO 氣體處理鮭肉片

將完全解凍之鮭肉塊，平鋪置於乾淨之 PE 袋中，每袋放置二塊鮭肉，先排除袋中之空氣後，將 CO 氣體以細管插入袋子底部，使袋子充滿氣體後抽出細管，以橡皮筋紮緊袋

口。為防 CO 氣體滲漏，其外再套二層 PE 袋，同樣以橡皮筋紮緊袋口。將袋子置於鐵盤上並於已舖有碎冰的保溫箱中保存，將保溫箱再置於冷房 (4°C) 中，隨時注意添加碎冰以保持鮭肉溫度在 4°C 以下。鮭肉塊在袋中以 CO 氣體處理時，每隔 10~12 hr 翻面一次，使 CO 氣體能充分滲透，經 120 hr 處理之後取出供定量 CO 殘存量之用。

3. 鮭肉供試液之製備與 CO 殘存量之測定

取經 CO 氣體處理 5 天的鮭肉約 40 g，以 2 倍之冰冷蒸餾水均質抽出，經 4,500 rpm 離心 10 min 之後，取 50 ml 上澄液置於附橡皮蓋之玻璃瓶中，加入 5 ml 之蒸餾水，0.25 ml 之 1-octanol，再加入 20 ml 之 20% H₂SO₄ 後迅速加蓋，立即振盪 1 min，經靜置 1 hr 後取瓶中上部氣體 1 ml 注入 GC，將所得之波峰面積經由對照檢量線，以求出 CO 殘存量。本項之測定均為三重覆，以其平均值表示。

另外，由未經 CO 氣體處理之鮭肉同樣製成供試液，取供試液 50 ml 置於附橡皮蓋之玻璃瓶 (head space bottle, 容積約 120 ml) 中，在冰浴狀態下通 CO 氣體於抽出液中，使 CO 氣體的氣泡不斷產生並與抽出液中之 Mb 結合，30 秒後停止通 CO 氣體，靜置 5~10 min 後再蓋上橡皮蓋，同樣加入 5 ml 之蒸餾水、0.25 ml 之 1-octanol、20 ml 之 20% H₂SO₄，迅速加蓋，振盪，靜置後取 1 ml 上部氣體注入 GC，以同樣方式經由對照檢量線求出 CO 殘存量。本項之測定均為二重覆，以其平均值表示。

結果與討論

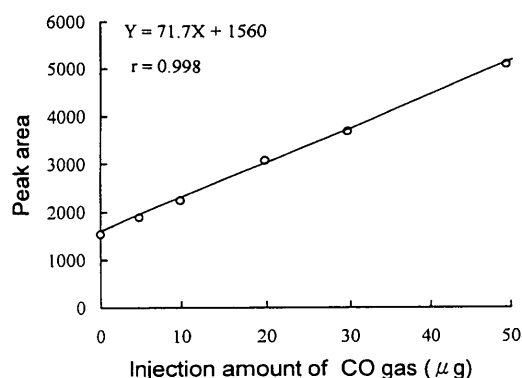


Figure 2. Response area of injected CO gas detected by gas chromatography without reducing column.

一、CO 氣體的檢量線與回收率

將純 CO 氣體以空氣稀釋到不同濃度後，各取 1 ml 打入未加裝還原管之 GC 中(以氫氣為攜帶氣體)，所測得之波峰面積如圖二所示，

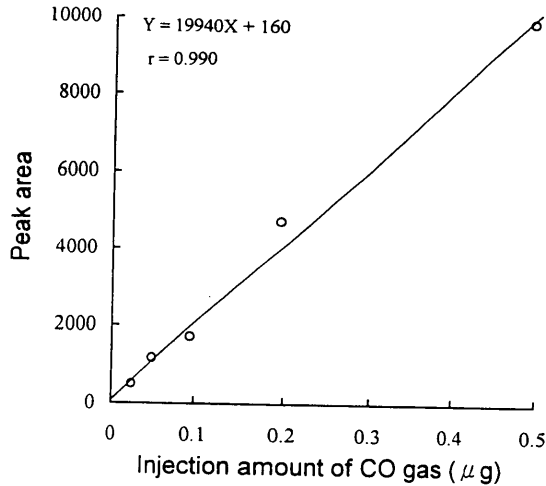


Figure 3. Response area of injected CO gas detected by gas chromatography equipped with reducing column.

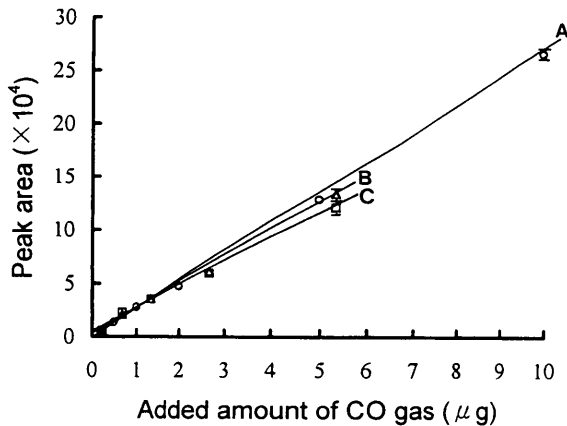
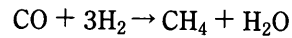


Figure 4. Response area in GC of CO gas in recovery experiments. (A) Basic standard line: CO gas was added into the bottle containing 75.25 ml of water. $Y=2.668X-0.169$, $r=0.999$. (B) Blank standard line: CO gas was added into the bottle containing 55 ml of water, 20 ml of 20% H_2SO_4 and 0.25 ml of 1-octanol. $Y=2.455X + 0.129$, $r=0.996$. (C) Control standard line: CO gas was added into the bottle containing 50 ml of tuna flesh extracts, 5 ml of water, 20 ml of 20% H_2SO_4 and 0.25 ml of 1-octanol. $Y=2.179X + 0.438$, $r=0.995$.

其 FID 所感應之波峰面積與 CO 氣體的注入量呈對應之直線關係，相關係數 $r = 0.998$ ，顯示以 GC 的方法可以很準確的檢出 CO 氣體。唯儀器之靈敏度並不高，需要 CO 約 $5 \mu g$ ，即 CO 濃度 4000 ppm /ml 的量，才能加以辨識。本法所得結果之靈敏度遠低於 Abe *et al.*⁽⁶⁾之結果，彼等的 GC 亦同樣未使用還原管，係以 TCD 做偵測器加上增幅裝置，感度可到 $20 \sim 30 \mu g/kg$ of meat (換算後約 CO 濃度 $20 \sim 30$ ppm /ml) 的程度。

將 GC 裝置參照日本厚生省之規定方法⁽⁴⁾加裝還原管，以高溫 $390^\circ C$ 將 CO 還原成甲烷，並參照日本藥學會⁽⁷⁾之方法改以氫氣為攜帶氣體，則可利用下列方程式之原理，測定所得 CO 氣體的濃度與波峰面積，如圖三所示。



CO 氣體的注入量仍為 1 ml，CO 氣體經空氣稀釋後的濃度與 GC 所呈現的波峰面積依然顯現相關性極高的直線關係，但其儀器的靈敏度已明顯提高，可以分析到 CO $0.025 \mu g$ (約 CO 20 ppm /ml) 的程度，與圖二之結果相較，靈敏度升高了 200 倍，顯示在 GC 的分離管柱之後加裝還原管，將 CO 還原成 CH_4 之後再以 FID 測定，可以大幅提升 GC 對 CO 的分析感度。

根據日本厚生省之規定方法⁽⁴⁾，其 GC 所用之攜帶氣體為氫氣，而在 FID 之前加裝價格

Table 1. Recovery of added CO gas in solution and fish extracts

Added amount of CO gas (μg)	Recovery of CO (%)	
	Solution ^a	Fish Extracts ^b
0.023	70.5	118.5
0.046	97.7	78.9
0.113	93.4	75.6
0.226	94.2	72.4
0.452	—	75.9
0.679	93.5	76.7

^a A mixture of 55 ml water, 20 ml of 20% H_2SO_4 and 0.25 ml of 1-octanol.

^b Minced meat without being treated with CO gas was homogenized with 2 volumes of water, then centrifuged at 4,500 rpm for 10 min, and 50 ml of the supernatant was added to the solution described above as a substitute for 50 ml of water.

不菲的 methanizer 裝置，並同時導入氫氣使其轉變成 CH_4 ，以提高 GC 的靈敏度，其感度可達 $2 \mu\text{g}/\text{kg}$ of meat (換算後約 CO 濃度 $2 \text{ ppm}/\text{ml}$) 的程度，顯示 GC 的機型配備與測定的條件可能影響 CO 定量的靈敏度。日本藥學會⁽⁷⁾之方法係將氣相層析儀之攜帶氣體 (氮氣) 與 FID 之氫氣對調，而其分離管柱溫度為室溫，還原管溫度為 260°C ，其感度可達 CO 濃度 1 ppm 的程度；但本研究曾依照其方法所得之結果的感度卻不如文獻中預期的靈敏。而本研究中所用之機型為最簡單之機型 (Hitachi G-5000)，且未加裝任何配備，因此可以分析到 CO $0.025 \mu\text{g}$ 的程度應屬於最佳之狀況。另一方面，就應用面來看，CO 濃度 $20 \text{ ppm}/\text{ml}$ 已可測定 CO 的殘存量在 $20 \mu\text{g}/\text{kg}$ of meat 之鮪肉樣品，亦即相當於

20 ppb 濃度之樣品，所以本法應足以分析 CO 氣體處理過之鮪肉並定量其 CO 之殘存量。

其次，為瞭解 CO 氣體與藥品溶液或供試液共存時之溶解情形，因此使用同樣之玻璃瓶，分別裝入同量之水，藥品溶液 (內有水、1-octanol、 $20\% \text{H}_2\text{SO}_4$) 及供試液 (內有未經 CO 氣體處理之鮪肉供試液、水、1-octanol、 $20\% \text{H}_2\text{SO}_4$) 後，再添加不同稀釋濃度之 CO 氣體於瓶內，經振盪、靜置後，取上部氣體 1 ml 打入 GC，則所呈現之波峰面積如圖四所示。

當 CO 氣體與水共存時，其所得之基準檢量線波峰面積與 CO 直接打入 GC 所得之波峰面積幾乎完全一致；當 CO 氣體與藥品溶液共存時，則其所得之空白檢量線之波峰面積較 CO 直接打入 GC 所得之波峰面積略低；但當 CO 氣體與供試液共存時，則其所得之對照檢量線之波峰面積又較空白檢量線略低，顯示供試液有吸附 CO 之現象。惟不論 CO 氣體與何種液體共存，其 CO 的添加濃度與回收之波峰面積，均仍呈現相關性極高的直線關係，相關係數 r 均在 0.99 以上，因此仍可做為定量試樣中 CO 殘存量之用。

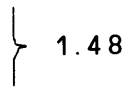
比較圖四之結果所得之 CO 氣體的回收率如表一所示，除了最低添加量 $0.023 \mu\text{g}$ 之外，其餘之 CO 氣體添加量的回收率均大致維持在

Table 2. Mb content and CO residue in CO gas treated 5-day tuna flesh

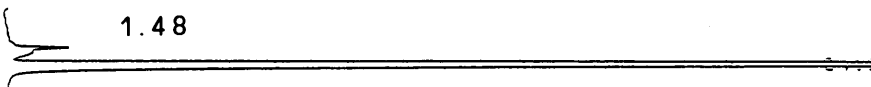
Sample	Mb content ^a (mg/kg)	CO residue ($\mu\text{g}/\text{kg}$ of meat)	Mb mole : CO mole
A	1630	343	1: 0.122
B	1460	286	1: 0.113
C	1140	247	1: 0.125

^aMolecular weight of Mb is regarded as $16,200^{(9)}$.

(A) Control



(B) CO bubbled extracts



(C) CO treated extracts

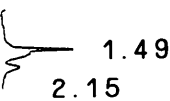


Figure 5. Gas chromatograms of tuna flesh extracts (A), CO gas bubbled extracts (B), and CO gas treated 5-day tuna flesh extracts (C). The extracts from CO free tuna flesh was provided as control (A), while the same extracts bubbling with CO gas for 30 sec was provided as "CO bubbled extracts" (B). The extracts from CO gas treated 5-day tuna flesh was provided as "CO treated extracts" (C).

一個定值，與藥品溶液共存時之空白檢量線的回收率約在93%以上，與供試液共存時之對照檢量線的回收率約在72~79%之間。因此在分析試樣中CO殘存量時，似應以對照檢量線來推算較為準確。

二、鮪肉中CO氣體殘存量的分析與定量

將經CO氣體處理5天之鮪肉與未處理肉分別製備成供試液，經GC分析後，其吸收峰之記錄圖如圖五A及C所示。未處理肉之供試液所測得之吸收峰記錄圖僅於1.48 min處出現一個吸收峰(圖五A)，應是瓶內中之氧氣的吸收峰，氮氣則幾無吸收峰呈現。將未處理肉之供試液經灌入CO氣體30秒鐘後，以同樣分析方法所得之吸收峰記錄圖則除了1.49 min處出現一個吸收峰之外，還在2.12 min處出現一個極大的吸收峰，應該是屬於CO之吸收峰(圖五B)。若經由檢量線回歸計算再換算成鮪肉中CO殘存量時，應為24,760 µg/kg of meat。將鮪肉以CO氣體處理5天之後製備成供試液，則所得之吸收峰記錄圖與圖五B類似，分別在1.49 min及2.15 min處各產生一個吸收峰(圖五C)，而2.15 min處之吸收峰屬於CO之吸收峰，但其呈現之波峰面積與圖五B之2.12 min的波峰相較則甚小。換算成鮪肉中CO殘存量時為307 µg/kg of meat。圖五C的結果顯示即使以CO氣體處理鮪肉5天，其肉中之Mb並未全部吸附CO，因此只顯現相當小的吸收峰。但若與未處理肉相較，則有2.12 min(或2.15 min)處之吸收峰的出現，因此由CO吸收峰之出現應可推斷鮪肉有經過CO氣體之處理。另外，為了提高定量CO之靈敏度，鮪肉採樣的部位似應以表層部位較佳。

其次，將紅色深淺程度不同之鮪肉，同樣以CO氣體處理鮪肉5天，再同樣製備成供試液，定量其鮪肉中CO的殘存量，並與其鮪肉中Mb的濃度同列於表二。在表二中，鮪肉的顏色愈紅者，其Mb的濃度愈高，經CO氣體處理5天之後的肉中CO殘存量也愈高，可能與較多的Mb吸附較多之CO有關。不同試樣之間CO與Mb的莫耳數比例約在11%至13%之間，其間的差異可能與鮪肉中結締組織的多寡，脂肪含量的高低有關，因而影響CO氣體在鮪肉中之滲透以及與Mb結合的比例。惟，鮪肉即使經CO氣體處理5天卻仍只有11~13%的Mb與CO結合，其原因則仍有待進一步之

探討。

綜合以上結果可以得知，以GC的方法可以由吸收峰記錄圖來定性鮪肉中有否經過CO氣體之處理，亦可以由吸收峰的面積經檢量線的比對來定量鮪肉中CO的殘存量，其靈敏度相當高，可達20 µg/kg of meat的程度。

誌 謝

本研究計畫承行政院農委會補助全部經費，計畫編號為85科技-1.9-糧-37，特此深致謝忱。

參考文獻

1. Chow, C.J., Ochiai, Y., Watabe, S. and Hashimoto, K. 1988. Effect of freezing and thawing on the discoloration of tuna meat. *Nippon Suisan Gakkaishi* 54: 639-648.
2. Chow, C.J., Ochiai, Y., Watabe, S. and Hashimoto, K. 1989. Reduced stability and accelerated autoxidation of tuna myoglobin in association with freezing and thawing. *J. Agric. Food Chem.* 37: 1391-1395.
3. Di Iorio, E.E. 1981. Preparation of derivatives of ferrous and ferric hemoglobin. *Methods in Enzymology* 76: 57-72.
4. 日本厚生省生活衛生局。1995。鮮魚中の一酸化炭素の検査の實施について。生活衛生局衛化第七號通知。東京。日本。
5. 行政院衛生署。1995。84年8月19日衛署食字第84039148號公告。台北市。
6. Abe, M., Miyazaki, H., Nagai, Y., Nakajima, M. and Miyabe, M. 1994. Determination of carbon monoxide in dark-fleshed fish by gas chromatography. *Annual Report of Nagoya City Public Health Research Institute* 40: 10-15.
7. 日本藥學會。1990。衛生試驗法·注解1990。1360-1362頁。日本藥學會編，金原出版株式會社。東京。日本。
8. Drabkin, D.I. 1945. Crystallographic and optical properties of human Hemoglobin. A proposal for the standardization of hemoglobin. *Am. J. Med. Sci.* 209:268-270.
9. Fosmire, G.J. and Brown, W.D. 1976.

Yellowfin tuna (*Thunnus albacares*) myoglobin: Characterization and comparative stability.

ty. *Comp. Biochem. Physiol.* 55B: 293-299.

Quantitative Determination of Carbon Monoxide Residue in Tuna Flesh

CHAU-JEN CHOW^{1*}, PING-PING HSIEH² AND MIN-SHOU HWANG¹

¹ National Kaohsiung Institute of Marine Technology, Kaohsiung, Taiwan, R. O. C.

² Taiwan Provincial Chen-Kung Commercial and Fishery High School, Taitung, Taiwan, R. O. C.

ABSTRACT

An attempt was made to determine the carbon monoxide (CO) residue in tuna flesh being treated with CO gas. Gas chromatography (GC) equipped with a reducing column after the main column to change CO to methane before entering the FID, was used to measure the CO residue. Its determination conditions were discussed. The sensitivity improved 200 times than using GC without a reducing column. Sensitivity limit was about 20 mg/kg of meat. There was a high correlation ($r > 0.99$) between the response peak area and the amount of CO gas injected. These results suggested that quantitative determination by GC was appropriate. Several tuna flesh having different grade of red color were treated with CO gas for 5 days. Higher CO residue was found in the flesh contained more myoglobin. The molar ratio of CO to Mb was about 11 ~ 13%.

Key words: tuna, carbon monoxide, gas chromatography.