

## 資料

## しらす干しの過酸化水素試験法の検討

松岡 さゆり 岩屋 あまね<sup>1</sup> 吉村 浩三

## 1 はじめに

しらす干しの過酸化水素については、食品衛生法に基づいて定められた添加物の使用基準により「最終製品の完成前に分解又は除去しなければならない」となっている。

当センターにおいては2001年度より、本県で製造されたしらす干しの過酸化水素検査を実施しているが、添加回収試験における回収率が安定しない場合が見られる。

そこで、抽出方法や過酸化水素の添加量等について検討を行ったので報告する。

併せて、過去10年間の検査結果も検討し、若干の知見が得られたので報告する。

## 2 調査方法

## 2.1 試料

鹿児島県内で製造されたしらす干しを用いた。

## 2.2 検査方法

食品衛生検査指針(食品添加物編2003)により行った。

## 2.2.1 標準品及び試薬

標準品は和光純薬工業(株)製の過酸化水素水(特級30%)を用いた。

りん酸二水素カリウム(特級)、20mmol/Lチオ硫酸ナトリウム溶液(容量分析用)、硫酸(有害金属測定用)は和光純薬工業(株)製を、臭素酸カリウム(特級)、りん酸水素二ナトリウム・12水和物(特級)、よう化カリウム(特級)、デンプン(1級)は関東化学(株)製を、消泡シリコーン、カタラーゼ、電解液はセントラル科学(株)製を用いた。

## 2.2.2 リン酸緩衝浸出液

りん酸二水素カリウム27.2gを量り、水を加えて溶か

して1000mLとしたものを第1液とし、りん酸水素二ナトリウム12水和物71.6gを量り、水を加えて溶かして1000mLとしたものを第2液とした。第1液と第2液を3:5で混和し、両液を用いてpHを7.0に調整した混液1000mLに臭素酸カリウム5gを溶かし、冷蔵保存した。氷冷下1時間以上窒素ガスを通しながら使用した。

## 2.2.3 標準溶液の調製

過酸化水素水1mLを量り、水を加えて100mLとした過酸化水素溶液を、次のとおり標定した。本液は2週間ごとに標定した。

過酸化水素溶液1mLを正確に量り、100mLの共栓フラスコに入れ、水20mL、硫酸(1→10)10mL及びヨウ化カリウム溶液(1→10)10mLを加え、10分間暗所に放置した後、遊離したヨウ素を20mmol/mLチオ硫酸ナトリウム溶液で滴定した(指示薬:デンプン試液1mL)。

この時の値をV(mL)とし、別に空試験を行った時の値をV<sub>0</sub>(mL)として、次式より過酸化水素溶液中の過酸化水素濃度H(mg/mL)を求めた。

$$H(\text{mg/mL}) = (V - V_0) \times 0.3401$$

標定後、1時間以上氷冷した過酸化水素溶液10mLを正確に量り、更にリン酸緩衝浸出液 10×(H-1.0)mLを正確に量って加え、過酸化水素標準原液(1mg/mL)とし、冷蔵保存した。

以降、試験で用いた過酸化水素標準溶液は、用時過酸化水素標準原液をリン酸緩衝浸出液で希釈して用いた。

## 2.2.4 装置

高感度過酸化水素計は、セントラル科学(株)製SUPER ORITECTOR MODEL 5を使用した。

ホモジナイザーは、KINEMATICA社製ポリトロンホモジナイザーPT3100を使用した。

1 鹿児島県始良・伊佐地域振興局保健福祉環境部

〒899-5112 鹿児島県霧島市隼人町松永3320-16

2. 2. 5 試験溶液の調製

試料約5gを精密に量り、100mL遠沈管にいれ、リン酸緩衝浸出液40mLと消泡シリコーン1滴を加え、冷却しながら約20～30秒ホモジナイズした。50mLメスフラスコに移し、リン酸緩衝浸出液を用いて正確に50mLとし、軽く振り混ぜた後、50mL遠沈管に移し、遠心分離(3000rpm, 10min)した。5分間氷冷後、ひだ折りろ紙(東洋濾紙 No.5A)で受器(10mL試験管)を氷冷しながらろ過し、最初のろ液5mLは捨て、その後のろ液を試験溶液とした(図1)。

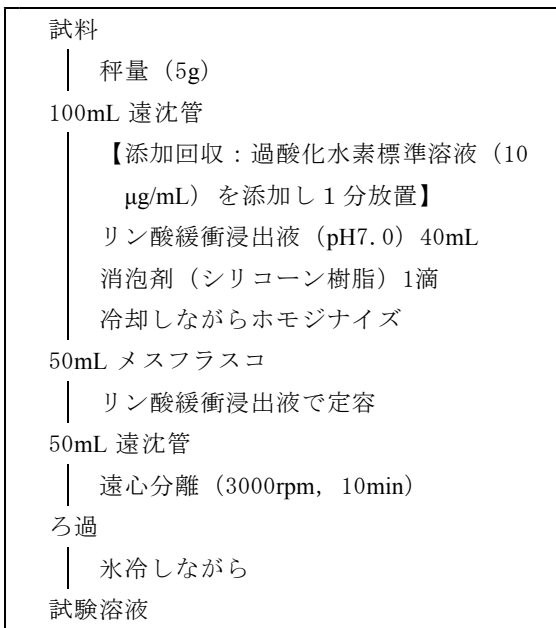


図1 試験溶液の調製

2. 2. 6 測定法

窒素ガスが通気されているセル内に試験溶液2mLを入れ、次に消泡シリコーン1滴を加え密栓した。測定ボタンを押しセル内のスターラーを作動させ、かき混ぜながら溶存酸素を除去し、酸素電極の出力が安定し窒素ガスの通気が自動停止した時点で、カタラーゼ20μLをセル内に注入して、試験溶液中の過酸化水素の分解により生じた酸素濃度を測定した。なお、機器の校正は過酸化水素標準溶液(1μg/mL)を用いて行った。本法における定量限界は試料中換算として0.1μg/gである。

3 結果及び考察

3. 1 抽出方法の検討

食品を過酸化水素で処理した場合、表面のみではなく内部にも浸透する可能性があることから、食品の過酸化水素検査では一般的に、試料をホモジナイズ処理して抽出操作を行っているが、ホモジナイズ処理により魚体内

部の成分が過酸化水素を分解する可能性があるという報告<sup>1)</sup>もある。

そこで試料の抽出方法として、浸漬抽出(20分)、細切し浸漬抽出(20分)、ホモジナイズ(30秒、90秒)の4つの方法を用いて、過酸化水素含有量の高い試料と低い試料について抽出操作をそれぞれ行い、抽出効率の比較を行った(n=3)。

その結果、含有量の高い試料、低い試料とも同様に、90秒のホモジナイズによる抽出が最も高い値を示した(図2)。

これは、十分にホモジナイズすることにより、内部の過酸化水素を抽出することができたためと考えられる。

一方、浸漬抽出における低い値は、内部に残る過酸化水素の抽出不足によるものであると考えられる。

以上のことから、しらす干しの過酸化水素の抽出には十分なホモジナイズが必要であることが分かった。

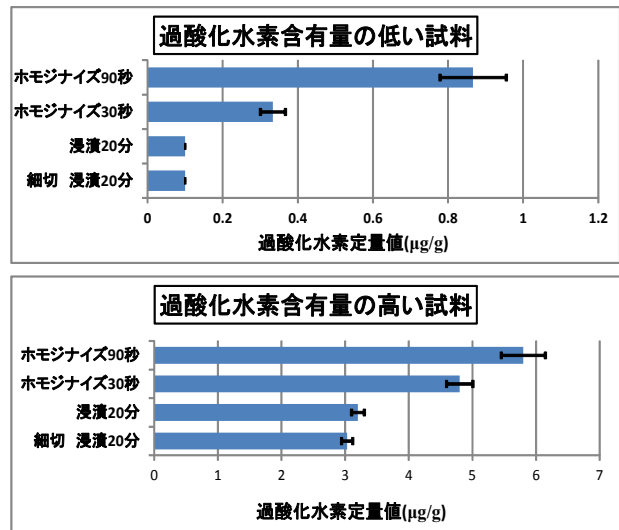


図2 抽出方法の検討結果

3. 2 添加回収試験における添加量の検討

これまで精度管理のために、試料5gに対して過酸化水素標準溶液(10μg/mL)を1mL添加し(試料中換算2μg/g)、添加回収試験を行っていたが、70%未満の回収率しか得られない場合があった。

原因として、3. 1で述べたとおり、しらす干し中の成分が添加した過酸化水素を分解している可能性が考えられたため、添加量を変えて検討を行った。

なお、試料の抽出は、すべてホモジナイズ(90秒)で行った(n=3)。

その結果、回収率は、1μg/gで56.7%、2μg/gで66.7%、4μg/gで80.8%となり、添加量が多いほど回収率が高くなることが分かった(表1)。

しらす干し中の成分により添加した過酸化水素の一部が分解されたため、添加量が少ない場合には回収率に大きく影響することが推察された。逆に添加量が多くなれば、その影響が相対的に小さくなると考えられる。

表1 添加量が回収率に及ぼす影響

添加量 (試料中濃度)	回収率 (%)	平均 (%)
1μg/g	70	56.7
	50	
	50	
2μg/g	65	66.7
	65	
	70	
4μg/g	83	80.8
	80	
	80	

### 3. 3 試験中の温度の影響

3. 2で述べた過酸化水素の分解には温度も影響していると考えられるため、この影響を極力少なくするために可能な限り氷冷中で試験操作を行い、同様の試験を行った。

その結果、1μg/gで70.0%、2μg/gで83.3%、4μg/gで85.0%の回収率となり(表2)、表1に比べて改善が見られ、1μg/g及び2μg/gの添加でも70%以上の回収率を得ることができた。

このことより、試験操作においては温度を低く保つことで過酸化水素の分解をおさえられることが分かった。

表2 氷冷操作が回収率に及ぼす影響

添加量 (試料中濃度)	回収率 (%)	平均 (%)
1μg/g	70	70.0
	70	
	70	
2μg/g	85	83.3
	80	
	85	
4μg/g	80	85.0
	93	
	83	

### 3. 4 過去10年間の検査結果について

当センターで2004～2013年度に実施したしらす干し372検体の過酸化水素検査結果を図3に示す。平均値は2.5μg/g、最大値は10.5μg/gで、1.0～1.9μg/gの範囲の定量値のものが最も多かった。

柴田ら<sup>2)</sup>は、しらす干し30検体から最大4.5μg/gの天然由来の過酸化水素が検出されると報告しているが、当センターの検査結果では、4.5μg/gを超えるものが372検体

中37検体で全体の9.9%であった。

本県では4.5μg/gを超える場合は、製造施設において過酸化水素使用の有無を調査しているが、いずれも過酸化水素を使用していないことが確認されていることから、天然由来の過酸化水素が4.5μg/gを超えることも多くあるものと考えられる。

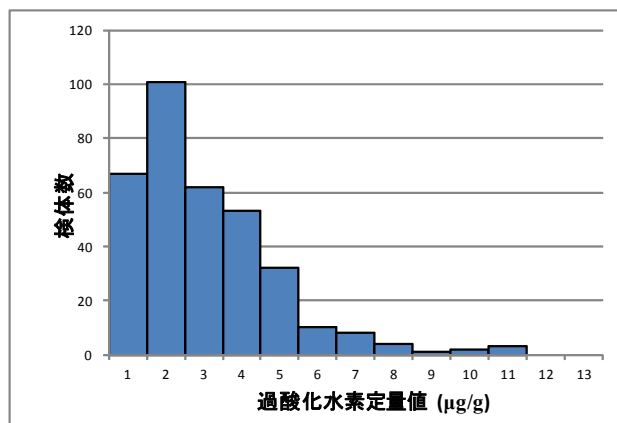


図3 過去10年間の検査結果

## 4 まとめ

- 1) しらす干しの過酸化水素定量においては、抽出の際に試料を十分にホモジナイズする必要がある。
- 2) 精度管理のための添加回収試験では、添加量を4μg/gと高くすることで分解の影響が少なくなることが分かった。
- 3) 操作中の過酸化水素の分解を防ぐためには、「食品衛生検査指針」に氷冷と示されている操作以外も、可能な限り氷冷し、試料の温度を低く保つことが重要である。

## 参考文献

- 1) 宮本文夫, 佐伯政信; 丸干しいわし中の過酸化水素の定量における妨害物質とその妨害の除去について, 食品衛生学雑誌, 27(4), 362～368(1986)
- 2) 柴田正, 辻澄子; 天然にも存在する添加物, 食品衛生研究, 47(7), 29～67(1997)