

過酸化水素処理による釜揚げシラスについて

1. 過酸化水素とは

用途：漂白剤、殺菌料

使用基準：最終食品の完成前に過酸化水素を分解し、又は除去しなければならない。

2. 経緯

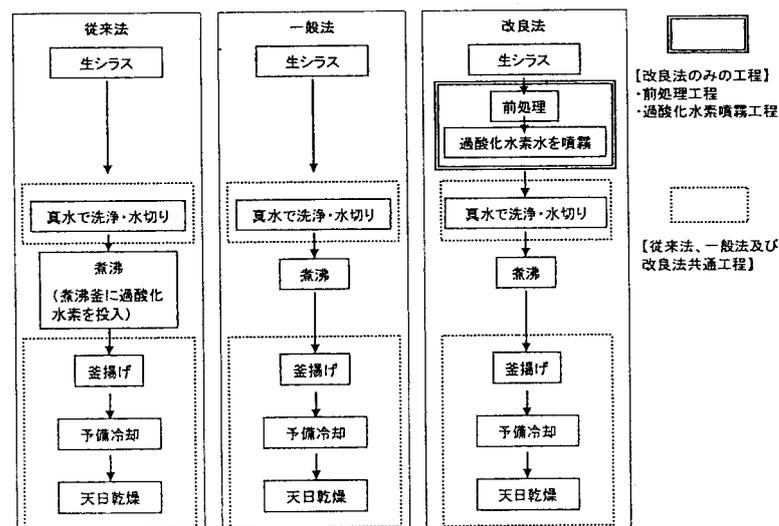
過酸化水素は、昭和 23 年に食品添加物として指定されおり、昭和 44 年には、うどん、かまぼこ、ちくわにあつては 0.1g/kg 以上、その他の食品にあつては 0.03g/kg 以上残存してはならないとする使用基準が設けられた。

その後、弱い動物発がん性が認められたとの報告があつたことを踏まえ、当該物質が分解しやすいという特性も勘案のうえ、昭和 55 年 2 月に使用基準が「最終食品の完成前に過酸化水素を分解し、又は除去しなければならない。」と改められた。その際、最終食品中の過酸化水素の残留については、製造技術、加工技術、工程管理等を包含して評価して、最終食品中に過酸化水素の残留がないことが確実でなければならないとされ¹⁾、現在、かずのこへのカタラーゼ及び亜硫酸塩による過酸化水素の分解処理を行う方法についてのみ使用が認められている。

今般、(株)カワクボ製作所と高知県工業技術センターが、生シラスが過酸化水素を分解するカタラーゼ活性を有するという特性を応用した過酸化水素処理法を開発したとして、同者より本処理法による釜揚げシラスへの過酸化水素の残留について検討を行った結果が提出された。

3. 新しい過酸化水素処理法について

(1) 過酸化水素処理法の比較



従来法（昭和 55 年以前の製法）、一般法（現在の製法）及び改良法の製造工程

¹⁾ 昭和 55 年 2 月 20 日環食化第 10 号厚生省環境衛生局長通知、環食化第 11 号厚生省環境衛生局長食品化学課長通知

(2) 過酸化水素処理条件とシラス加工品の過酸化水素含有量

- ① 過酸化水素処理を行っていない生シラス及びシラス加工品の過酸化水素含有量は、生シラスで 0.2~1.1 $\mu\text{g/g}$ 、釜揚げシラスで 0.2~0.8 $\mu\text{g/g}$ 、チリメンで 6.0~9.0 であった。
- ② 生シラスを種々の条件で処理(過酸化水素濃度:1, 3, 5%(シラス 50g に対して 1mL)、処理時間:0, 5, 10, 15 分、処理温度:0, 5, 10, 15 $^{\circ}\text{C}$)した後に、水洗・煮沸処理してできあがった釜揚げシラスの過酸化水素含有量は、過酸化水素無処理群では 1.3~2.6 $\mu\text{g/g}$ 、過酸化水素処理群では濃度・処理温度・処理時間との関連は認められず 0.7~2.0 $\mu\text{g/g}$ であった。また、一般生菌数は、無処理群に比べ、過酸化水素濃度 3%以上の処理群で少ない傾向が認められた。
- ③ 生シラス及び釜揚げシラスのカタラーゼ活性の測定を行ったところ、生シラスの体表面には、41 $\mu\text{mol/min/g}$ の活性があることがわかった。このことから、上記②と同じ条件で処理した場合、1%の過酸化水素処理では約 9 秒、3%では約 27 秒、5%では約 45 秒で、使用した過酸化水素を分解できるだけの活性を持っていることが明らかとなった。なお、釜揚げシラスにはカタラーゼ活性は認められなかった。

(3) フィールド試験

- ① 上記(1)の結果を踏まえて処理条件(過酸化水素濃度:3%(シラス 1t に対して 20L)、処理時間:10, 15, 20 分、処理温度:15~20 $^{\circ}\text{C}$)を設定し、実生産スケールでのフィールド試験を行った。未殺菌処理原料及び殺菌処理原料の過酸化水素含有量はそれぞれ 0.8ppm 及び 0.6~1.5ppm であり同程度であった。未殺菌処理原料及び殺菌処理原料の釜揚げ製品についても、過酸化水素含有量それぞれ 2.4~2.7 ppm 及び 1.1~3.0ppm であり同程度であった。また、殺菌処理排水中の過酸化水素が定量限界未満であったことから、殺菌処理に使用した過酸化水素は、煮沸処理前に分解、除去され、釜揚げ製品には残留しなかったものと考えられる。
- ② 未殺菌処理原料及び殺菌処理原料の釜揚げ製品における色調試験及び保存試験(一般生菌数、揮発性塩基窒素)では、殺菌処理原料の釜揚げ製品の方がより白色度が高く、また、一般生菌数及び揮発性塩基窒素も低い結果が得られた。

4. 過酸化水素処理による釜揚げシラスに関する部会意見(案)

生シラスに対する過酸化水素の使用については、提出された処理方法の原理並びに各種データを評価した結果、本処理法で処理される場合に限って過酸化水素の使用は差し支えないものと考ええる。

ただし、次の条件が満たされている必要がある。

1. 別紙の製造マニュアルに従うものであること。
2. 加工場において製造マニュアルが十分に遵守されるよう実際的な運用体系が考慮されるべきであること。

過酸化水素処理釜揚げシラス標準的製造マニュアル

- 1 〔原料〕 生シラス
- 2 〔洗淨、水切り〕
原料生シラスを真水で十分に洗淨し、水切りを行う。
- 3 〔過酸化水素処理〕
水切り生シラス 1t に対し、20L の割合で 3% 過酸化水素水を均一に噴霧する。
次の真水による洗淨工程までに 10 分間以上放置する。
- 3 真水による洗淨
真水で十分に洗淨する。
4. 煮沸
数%の食塩水で 1 分半～2 分煮沸する。
5. 放冷（脱水）
煮沸後、脱水して放冷する。

生シラスのカタラーゼ活性を応用した過酸化水素処理法について

I. 経緯及び概要

1. 経緯

過酸化水素水（食品添加物としての品目名は「過酸化水素」で、過酸化水素($H_2O_2=34.01$) 35.0～36.0%を含む。)は昭和 23 年に食品添加物として指定され、昭和 44 年に、うどん、かまぼこ、ちくわに 0.1g/kg、その他の食品に 0.03g/kg 以上残存しないように使用しなければならないという使用基準が定められていた。しかし、その後、過酸化水素水に弱い発ガン性が認められたとの報告を踏まえ、昭和 55 年 2 月 20 日に使用基準は「最終食品の完成前に過酸化水素を分解し、又は除去しなければならない」と改められた（厚生省告示第 24 号）。以後、過酸化水素水を食品に用いる場合には、製造技術、加工技術及び工程管理等を通じ、科学的評価によって過酸化水素が除去されていることを判断しなければならないとされた（昭和 55 年 2 月 20 日環食化第 10 号厚生省環境衛生局長通知）。このため、現在はかすのこを除き、事実上使用されていない。なお、現在、食品中の過酸化水素の分析には、カタラーゼを反応させて発生する酸素を酸素電極を用いて測定する方法が通知法として採用されている。この方法を固体食品に適用した場合には 20 分前後の時間で 0.1 μ g/g まで測定できるため、食品監視等に用いることが可能であり、公的研究機関でも採用されている。

(株)カワクボ製作所と高知県工業技術センターは、生シラスに過酸化水素を分解するカタラーゼ活性があることを発見し、その特性を応用した過酸化水素処理法を開発した。この方法では、生シラスに過酸化水素を作用させるため、数分の内に過酸化水素が完全に分解され、従来法である煮汁への過酸化水素水の添加と比べ、釜揚げ時シラス製品に自然界以上に過酸化水素が残留しない。しかも、過酸化水素水を用いない製法に比べ、釜揚げ後のシラスの色調を改善し、生菌数を減少させることができるため、安定した品質が確保され、賞味期限の延長が可能となる。

本文書では、「生シラス」、「釜揚げシラス」、「チリメン」、「シラス干し」及び「シラス加工品」を以下のように定義して使用する。

- ・生シラス：未加熱・未乾燥のシラス。
- ・釜揚げシラス：釜揚げ後、乾燥を行わない水分含量 70・80%の柔らかい製品。
- ・チリメン：釜揚げ後、乾燥を行い水分含量 30・40%の硬く噛みごたえのある製品。
- ・シラス干し：水分含量によらず、釜揚げ後、乾燥を行った製品全般。
- ・シラス加工品：シラスを用いた加工品全般。

2. 過酸化水素処理法の概要

従来法（昭和 55 年に過酸化水素の使用基準ができる以前の製法）、一般法（現在行われている一般的な過酸化水素水を用いない製法）及び新たに開発した改良法の作業手順は次

のとおりである。

従来法

生シラス→真水による洗浄→水切り→煮沸（過酸化水素水原液を釜に添加）→釜揚げ→予備冷却→機械または天日乾燥→選別→箱詰め

一般法

生シラス→真水による洗浄→水切り→煮沸→釜揚げ→予備冷却→機械または天日乾燥→選別→箱詰め

改良法

生シラス→過酸化水素水噴霧*→真水による洗浄→水切り→煮沸→釜揚げ→予備冷却→機械または天日乾燥→選別→箱詰め

* 3%過酸化水素水を霧状にして満遍なく噴霧（生シラス 1t に対し、3%過酸化水素水 20L の割合）した後、ベルトコンベア上を移動させ、この間（10 分間）に完全に過酸化水素を分解させる。

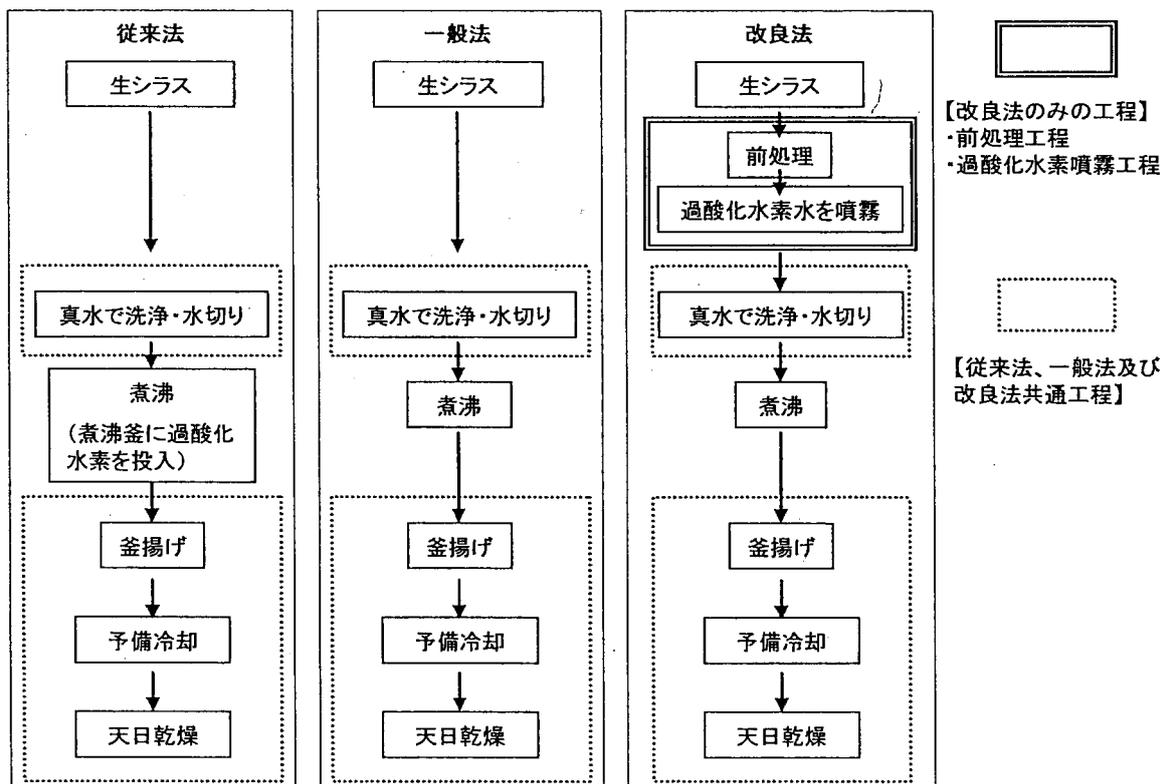


図1 従来法、一般法及び改良法の製造工程

従来法では、煮沸釜に直接過酸化水素水原液を添加し、その後、過酸化水素の分解処理

工程がないため、最終製品に添加した過酸化水素が残存する可能性がある。さらに、使用が認められていた当時、残存量は規制されていたものの、使用量の規制はなかったため、過酸化水素水原液の添加量は、業者によってばらついており、大量に添加している業者も見られるなどの問題点があった。

一般法では、製品の品質劣化が早く、消費期限を短く設定しなければならないことや、色調の悪さが問題点となっている。

そこで、上記 2 法の問題点を解決すべく、改良法（生シラスへの過酸化水素水の添加量を最終製品に残留しない*よう設定し、生シラス自身が持っているカタラーゼ活性を使って添加された過酸化水素を分解する方法）を開発し、本改良法で製造した釜揚げシラスには過酸化水素が残留しないこと及び釜揚げシラスの品質が一般法で製造したものと同等以上であることを示すため、以下の実験を行ったので報告する。

*生シラスには過酸化水素が存在し、シラス加工品には、生シラス以上に過酸化水素が存在する場合もあるので、ここで「残留しない」とは、過酸化水素含有量が、過酸化水素を使用しない場合と同程度であることを意味する。

1. 過酸化水素処理条件とシラス加工品の過酸化水素含有量
 - 1-1 過酸化水素処理を行っていない生シラス及びシラス加工品の過酸化水素含有量
 - 1-2 種々の条件で生シラスを過酸化水素処理した場合の釜上げシラスの過酸化水素含有量と一般生菌数
 - 1-3 生シラス及び釜揚げシラスのカタラーゼ活性の測定
2. 生シラスの過酸化水素分解能（カタラーゼ活性）を利用した洗浄装置のフィールド実験
 - 2-1 各製造工程での生シラス及びシラス加工品の過酸化水素含有量と一般生菌数
 - 2-2 釜揚げシラスの品質についての検証実験（色調試験及び保存試験）

II. 試験成績

1. 過酸化水素処理条件とシラス加工品の過酸化水素含有量
 - 1-1 過酸化水素処理を行っていない生シラス及びシラス加工品の過酸化水素含有量
過酸化水素処理を行っていない生シラスやシラス加工品にも過酸化水素が含まれていることを確認するため、生シラス及びシラス加工品中の過酸化水素を測定した。

【実験方法】

〔過酸化水素の測定〕

通知法（昭和 56 年 5 月 22 日環食化第 30 号）¹⁾ を一部変更して測定した。

試料 5g に窒素ガスを通気しておいた冷 30mM KBrO₄ リン酸緩衝液 45mL を加え、ホモジナイズした後、14000×g で遠心分離して得られた上澄液について、セントラル科学㈱（東京）製 過酸化水素計（SUPER ORITECTOR MODEL 5）を用い、酸素電極法によって測定した。なお、この方法は通知法と異なっている点が三点ある。冷やしたリン酸緩衝液を使用している点、ホモジナイズ後はろ過せずに遠心分離している点、生シラスや釜揚げシラスは含水率が 70-80% であることから、試料 5g の体積≒5ml と考え、ホモジナイズ後の容積を 50mL と仮定し、試料溶液を最終的に 50mL に定容していない点である。これらは、厚生労働省監修食品衛生検査指針の解説²⁾を参照した結果、試料溶液の低温保持と迅速測定が必須であると考えて改良したものであり、通知法に準じていると考えている。測定は 1 試料について 3～7 回行い、単純平均値及び相対標準偏差を求めた。相対標準偏差が 10% 以内の場合は、単純平均値を測定値とした。単純平均値の標準偏差が 10% 以上になる場合は、10% 以内になる 3 つの数値を選択し、その平均値を求め、測定値とした。

〔過酸化水素添加回収試験〕

試料調製時におけるホモジナイズ操作などが与える過酸化水素回収率への影響を調べるため、一般法に準じて製造した釜揚げシラスと釜揚げ後に過酸化水素を添加した釜揚げシラスについて、過酸化水素を測定し比較を行った。

無添加釜揚げシラス：一般法に準じて製造した釜揚げシラス

過酸化水素添加釜揚げシラス：無添加釜揚げシラスに、1g あたり 10 μ g の過酸化水素を添加し、室温にて 10 分放置したもの

【実験結果及び考察】

1) 過酸化水素添加回収試験

過酸化水素の添加回収結果を表 1 に示す。

表 1 無添加釜揚げシラスと過酸化水素添加釜揚げシラスの過酸化水素含有量

	無添加釜揚げシラス	過酸化水素添加釜揚げシラス
過酸化水素 (μ g/g)	1.4	11.4

釜揚げシラスに釜揚げ後に添加した過酸化水素の回収率は 100 % であった。

2) 生シラス及びシラス加工品中の過酸化水素

表 2 に漁獲直後の生シラス（過酸化水素未処理）の過酸化水素の含有量を示した。少ない試料で 0.2、多いものでは 1.1 μ g/g 検出された。表 3 に高知県、徳島県及び宮崎県で製造されているシラス加工品の過酸化水素の含有量を示した。これらは製造工程中に全く過酸化水素水を使用していないものである。いずれの場合も 0.2～9.0 μ g/g の過酸化水素が検出された。特に宮崎県で製造されているチリメンからは釜揚げシラスに比べて高い値が測定

された。

過酸化水素は自然界に広く存在する成分であり、種々の食品は過酸化水素を含有し、シラス干しも多いものでは 4.5ppm 含有していることが報告³⁾されている。また、脂質などからの自動酸化による生成、及び乳酸菌の代謝による生成が報告されている^{4) 5)}。

表2 生シラスの過酸化水素含有量

産地及び漁獲年	過酸化水素 (µg/g)
高知県 (2006年)	0.2, 0.2
高知県 (2007年)	0.6, 1.1, 0.7
徳島県 (2003年)	0.2

表3 シラス加工品の過酸化水素含有量

産地及び製造年	製品の形態	過酸化水素 (µg/g)
高知県 (2003年)	釜揚げシラス	0.4, 0.6
高知県 (2003年)	釜揚げシラス	0.2, 0.2
愛媛県 (2003年)	釜揚げシラス	0.2
徳島県 (2003年)	釜揚げシラス	0.8, 0.6
宮崎県 (2003年)	チリメン (上乾品)	9.0, 6.0

煮沸時間は約 90 秒、煮沸温度は 100℃
製造工程中に過酸化水素水を全く使用していない。

1-2 種々の条件で生シラスを過酸化水素処理した場合の釜揚げシラスの過酸化水素含有量と一般生菌数

生シラスの過酸化水素分解活性を利用して、洗浄装置を用いて過酸化水素処理を行い釜揚げシラスを製造した場合における、最終製品の過酸化水素含有量及び殺菌効果を種々の条件下で確認するためにモデル実験を行った。

【実験方法】

〔供試原料〕

平成 19 年 11 月 13 日午前 9 時頃、兵庫県南あわじ市福良に水揚げされた生シラス (平均体重 0.11g/尾、平均体長 2.97cm) を氷蔵して高知県工業技術センター (高知県高知市布師田) に持ち帰り、50g ずつポリエチレンナイロン積層フィルム袋に詰め、密封後、-50℃の冷凍庫で保管し、必要に応じて解凍して供試した。

〔釜揚げシラスの調製〕

①過酸化水素処理群

過酸化水素濃度と噴霧量：市販過酸化水素水特級試薬（30%）を蒸留水で希釈して 1%、3%及び 5%の過酸化水素水を調製した。500mL 容ビーカーに生シラス 50g ずつを採取し、スプレー容器に充填したそれぞれの濃度の過酸化水素水 1mL を霧状にして振りかけ、更に軽く攪拌して処理した。その後、下記に示した設定温度で所定時間放置後、一部を一般生菌数測定用生シラスとし、残りは下記に示した条件で水で洗浄し、煮沸処理して釜揚げシラスを調製した。

なお、過酸化水素水を一般人が取り扱う場合、6%以上は消防法上届け出が義務づけられ、特別な施設並びに許可を得なければならない。そこで、それらの必要のない 5%以下の濃度で処理群を設定した。また、洗浄装置を使って生シラスを処理する際の過酸化水素水の噴霧量は、生シラス 1t に対して 20L に設計されているため、実験も同等の割合で行った。

処理温度：生シラスに所定濃度の過酸化水素水を噴霧後、それぞれ 0、5、10、15 及び 20℃に設定したインキュベーター内に所定時間放置した。

処理温度は、一年を通じて全国のシラス製造業者が取り扱う環境温度に適應する温度（0-20℃）に設定した。夏季から秋季にかけては水温が上昇し、25℃以上になる場合もあるが、そのような場合は水揚げ後速やかに氷で処理され、生シラスの温度は下げられるため最高温度を 20℃とした。なお、生シラスの温度が 30℃近くになると急激に鮮度が低下して釜揚げシラスに適さなくなるため、塩蔵して釣りえさ等に加工され、食用には用いられない。

処理時間：過酸化水素水噴霧後の放置時間は 0（噴霧直後）、5、10 及び 15 分に設定した。

処理時間は、製造工場で洗浄装置を稼働させた場合の洗浄、煮沸並びに冷却工程を考慮し、15 分までとした。

洗浄条件：生シラス 50g に対して水約 1.5L で水洗いを行った。

煮沸条件：約 800mL の水を沸騰させ、洗浄した生シラスを投入後、1 分 30 秒煮沸して釜揚げシラスを調製した。

なお、煮沸は製造現場で行われている条件（煮沸水と生シラスの割合並びに煮沸時間）と一致するように設定した。

②無処理群

500mL 容ビーカーに生シラス 50g ずつを採取し、その直後及び各温度で 15 分間放置後、一部を一般生菌数測定用生シラスとした。残りは、過酸化水素処理群と同様に、水で洗浄し、煮沸処理して釜揚げシラスを調製した。

〔釜揚げシラスの過酸化水素の測定〕

1-1 と同じ方法で過酸化水素を測定した。

〔生シラスの一般生菌数の測定〕厚生労働省監修食品衛生検査指針微生物編の生菌数測定法⁶⁾に準拠して測定した。標準寒天培地（酵母エキス、ペプトン、ブドウ糖、カンテン）を用いた。生シラス（過酸化水素処理群は、過酸化水素処理後の洗浄前の生シラス、無処理群は、500mL 容ビーカーに採取した直後または 15 分後の洗浄前の生シラス）と滅菌水

を(1:9)となるように滅菌用ポリ袋に入れ、ストマカーで1分間混合し、そのろ液1mLを滅菌した培地約15mLとともにペトリ皿に採取し、混釈してゲル化させた。37℃で48時間培養して発生したコロニー数を計測することにより集落数を算定した。

【実験結果及び考察】

表4に無処理及び各処理条件で処理した釜揚げシラスの過酸化水素含有量を示した。過酸化水素処理群の過酸化水素含有量は、噴霧した過酸化水素水の濃度に関わりなく、処理時間0分では、無処理群に比べて低い値を示したが、処理温度、処理時間との関連は見られなかった。

なお、無処理群はすべて同様に処理しており、0℃と5℃の場合に10℃、15℃及び20℃の場合よりも過酸化水素含有量が高かった理由は不明であるが、供試原料の状態のばらつきなども影響するものと考えられる。

表4 無処理及び各処理条件で試作した釜揚げシラスの過酸化水素含有量

処理温度	処理時間 (分)	過酸化水素(μg/g)			
		無処理	1%処理	3%処理	5%処理
0℃	0	2.6	0.9	0.9	2.0
	5		1.6	1.0	1.3
	10		1.5	1.0	1.5
	15		1.5	0.7	0.9
5℃	0	2.4	1.4	1.4	1.2
	5		1.1	0.9	1.3
	10		1.0	1.0	1.2
	15		1.0	1.0	1.1
10℃	0	1.4	1.0	1.1	1.1
	5		1.0	1.0	1.1
	10		1.5	1.2	1.1
	15		1.1	1.5	0.8
15℃	0	1.3	1.1	1.0	1.1
	5		0.9	1.4	1.1
	10		1.1	1.1	1.1
	15		0.8	1.0	1.3
20℃	0	1.8	0.9	1.4	1.3
	5		1.0	1.0	1.2
	10		0.9	1.1	1.1
	15		0.8	1.1	1.1

無処理：過酸化水素処理を行わず、洗浄し、煮沸した釜揚げシラス

1%処理、3%処理、5%処理：各濃度の過酸化水素水で処理を行い、水洗、煮沸した釜揚げシラス

表5に生シラス（無処理群及び過酸化水素処理群）の一般生菌数を示した。ストマカーで混合したため内臓等が破裂してそれに由来する細菌が混入したと考えられるが、無処理群と比較すると、過酸化水素処理群、特に3%以上の処理群で一般生菌数が少ない傾向が見られた。一方、処理時間と一般生菌数の相関はあまり見られなかった。これらのことから、過酸化水素は噴霧直後の短時間に殺菌効果を示したと推測される。

表5 各処理条件で試作した生シラス中の一般生菌数

処理温度	処理時間 (分)	一般生菌数 ($\times 10^3$ 個/g)			
		無処理	1%処理	3%処理	5%処理
0℃	0	3.3	2.8	1.3	1.5
	5		1.3	1.5	0.9
	10		1.1	1.1	1.7
	15	6.0	1.5	1.3	1.7
5℃	0	2.1	3.5	0.9	0.2
	5		1.1	1.0	1.2
	10		1.6	0.6	0.7
	15	2.2	1.5	0.5	0.6
10℃	0	10.0	0.7	0.7	1.3
	5		2.8	1.1	0.8
	10		2.0	1.0	0.6
	15	9.9	3.5	1.0	0.5
15℃	0	3.1	2.7	0.4	0.4
	5		1.2	1.1	1.3
	10		1.5	2.6	0.7
	15	1.2	1.6	2.7	0.4
20℃	0	1.1	1.4	0.6	1.0
	5		0.9	0.5	0.8
	10		1.9	0.8	1.3
	15	7.3	1.3	0.8	0.3

無処理：過酸化水素処理を行っていない生シラス

1%処理、3%処理、5%処理：各濃度の過酸化水素水で処理を行い、洗浄していない生シラス

1-3 生シラス及び釜揚げシラスのカタラーゼ活性の測定

生シラスに、釜揚げシラス製造工程において過酸化水素を分解するだけのカタラーゼ活

性があるのかどうかを明らかにするため、キットを用いてカタラーゼ活性を測定した。

【実験方法】

〔カタラーゼ活性の測定〕

高知県香南市沿岸で漁獲された生シラス及び同じ日に加工された釜揚げシラス（調製法：沸騰水中で1分30秒煮沸、湯切り、冷却）について測定した。

生シラスまたは釜揚げシラスに10倍量の50mMリン酸緩衝液（pH7.0）を加え、ボルテックスで軽く攪拌して得られた上澄液、並びに生シラスまたは釜揚げシラスに10倍量の50mMリン酸緩衝液（pH7.0）を加え、ホモジナイズした後遠心分離し、得られた上澄液について、シグマ社製の分析キット（Product Number CAT100）を用いてカタラーゼの活性を測定した。

【実験結果及び考察】

結果を表6に示す。

表6 生シラス及び釜揚げシラスのカタラーゼ活性

	カタラーゼ活性
生シラス	41
生シラス（ホモジナイズ）	154
釜揚げシラス	0
釜揚げシラス（ホモジナイズ）	0

カタラーゼ活性の単位は $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ 。

生シラスの体表面または体表面付近（以下、単に体表面と言う）に、 $41\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ のカタラーゼ活性があることがわかった。

1-2では、生シラス50gに過酸化水素水（最高5%）1mLをスプレーしている。1%、3%及び5%過酸化水素水1mL中に含まれる過酸化水素量は $0.01\text{g}(0.3\text{mmol})$ 、 $0.03\text{g}(0.9\text{mmol})$ 及び $0.05\text{g}(1.5\text{mmol})$ である。生シラス50gは、体表面に $41\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g} \times 50\text{g} \doteq 2\text{mmol}/\text{min}$ のカタラーゼ活性を持っている。つまり、1%（ 0.3mmol ）の過酸化水素処理では約9秒、3%（ 0.9mmol ）の過酸化水素処理では約27秒、5%（ 1.5mmol ）の過酸化水素処理では約45秒で過酸化水素を分解できるだけのカタラーゼ活性を持っていることが明らかとなった。

また、生シラスをホモジナイズした場合には活性は高まったことから、生シラスの体内にカタラーゼ活性があることが確認できた。一方、釜揚げシラスで活性が認められないのは、煮沸中にその熱によってカタラーゼが失活してしまうためであると考えられる。そのため、昭和55年以前のように煮沸中に煮釜に直接過酸化水素水を添加する方法では、煮沸中に生シラスのカタラーゼ活性が失われ、過酸化水素は分解されずに残留していたものと考えられる。

1-4 処理条件のまとめと考察

以上の結果より、生シラスには十分なカタラーゼ活性があり、このため過酸化水素処理群では添加された過酸化水素が短時間で、無処理群と同程度またはそれ以下の濃度まで分解され、処理時間（0、5、10、15分）は影響しなかったと考えられる。また、一般生菌数は、無処理群に比べ、過酸化水素処理群、特に3%以上の過酸化水素処理群で少ない傾向が見られたが、一般生菌数に対しても、処理時間（0、5、10、15分）は影響しなかったと考えられる。

これらの試験結果から、噴霧量が生シラス 1t に対して 20L に設計されている洗浄装置の過酸化水素水の濃度は3%とし、過酸化水素処理時間は、作業環境や作業性などを考慮して設定すればよいと考えられる。

2. 生シラスの過酸化水素分解能（カタラーゼ活性）を利用した洗浄装置のフィールド実験

2-1 各製造工程での生シラス及びシラス加工品の過酸化水素含有量と一般生菌数

これまでの実験室レベルでの実験から、生シラスは過酸化水素を分解するカタラーゼ活性を有することが明らかになったので、(社)高知県食品検査センター立ち会いのもとで、洗浄装置を使用して生シラスの過酸化水素処理を行い、排水、生シラス並びにシラス加工品の過酸化水素を測定した。同時に一般法でも製造し、各工程で過酸化水素を測定した。なお、同一の実験を3回行い、3回とも再現性が得られた。なお、サンプリングと過酸化水素の測定は全て(社)高知県食品検査センターが行った。(添付成績書⁷⁾参照)

【実験方法】

一般法、改良法共に「I. 2. 過酸化水素処理法の概要」で示した工程に基づき釜揚げシラス製造を行った。フロー図を図2に示した。

○改良法のための工程

・前処理工程

- 1) 原料タンクに一次的に貯蔵されている生シラスをほぐすことを兼ねてバケットコンベア出口部分のタンクでシャワー洗浄した。
- 2) この洗浄によって生シラスを移動用のベルトコンベアに均一の厚さで一定の幅に広げた。
- 3) 噴霧する過酸化水素水の濃度が希釈されないようにするため、生シラスに付着している余分な洗浄水をブローで吸引除去した。

・過酸化水素噴霧工程

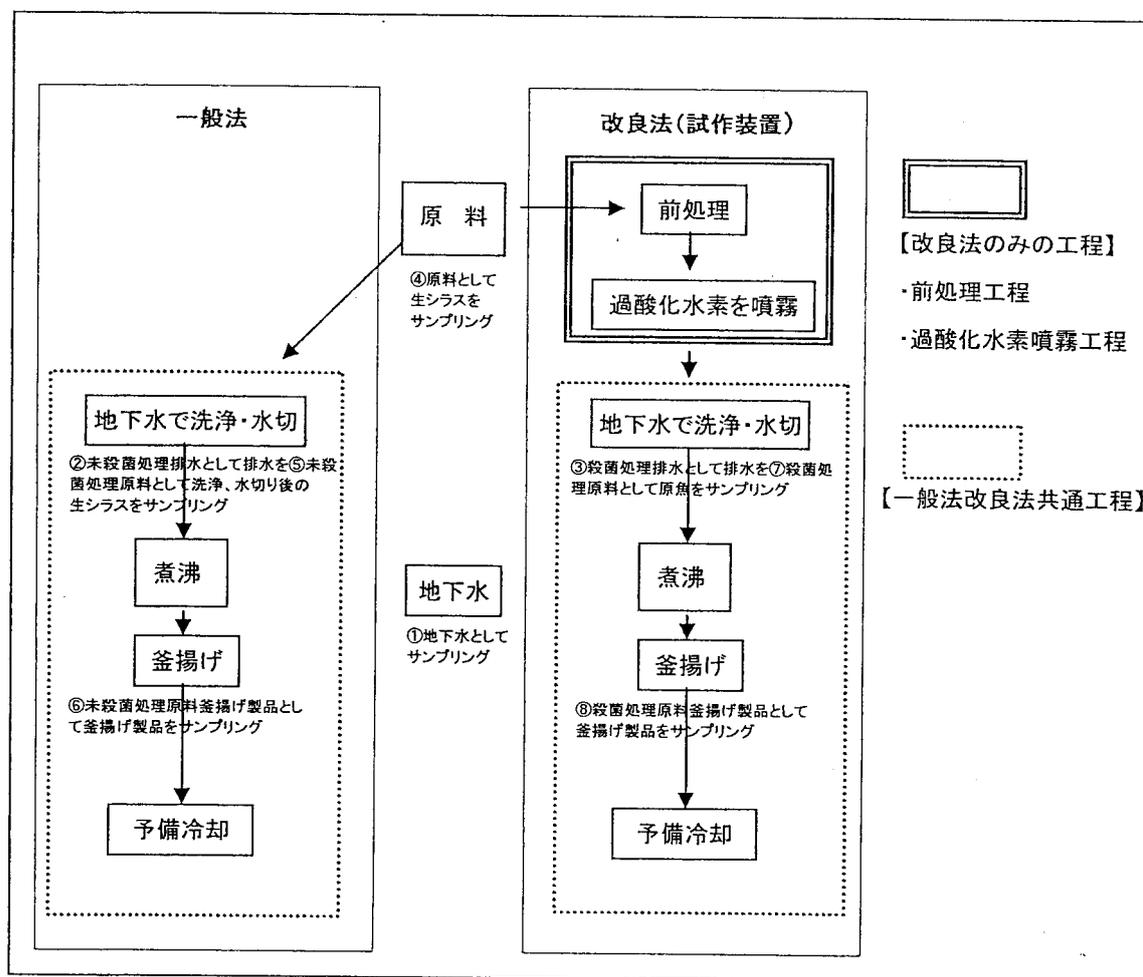
- 4) 過酸化水素水が均一に広がり一定の圧力で噴射できる2流体ノズルを用いて、重なった下方の生シラスにも行き渡るように過酸化水素水を均等に噴霧し、その後

生シラスを殺菌処理槽へ順次移動させた。3%過酸化水素水の噴霧量は1tの生シラスに対し、20Lの比率で行った。

- 5) そのまま殺菌処理槽で10分、15分、20分と殺菌時間を変えて放置貯留した。なお、作業の効率（生シラスの量、ベルトコンベアの長さ、貯留槽まで達する距離等）を踏まえ、放置貯留時間は10分以上で設定した。なお、殺菌処理槽の温度は、試験実施時期（12月～1月）の海水温等を踏まえると15～20℃と推察される。

○一般法及び改良法共通工程

- 6) 順次バケットコンベアを介して殺菌処理槽（一般法では原魚タンク）から生シラスを取り出し、生シラス300g/秒、洗浄水2L/秒で5秒間ベルトコンベアを流しながら洗浄し、煮沸釜（1tの2.5%沸騰食塩水）に投入した。
- 7) 生シラスを90秒間釜中を流した後、ベルトコンベアで流しながら予備冷却した。



注：フロー図中の①～⑧は後述の過酸化水素の測定に供した試料を示したもの

図2 一般法と改良法のフロー図

過酸化水素の測定に供した試料は以下の①～⑧であるが、どの工程でサンプリングされ

たかはフロー図（図2）にも示した。

- ①地下水：工場で使用されている地下水
- ②未殺菌処理排水：一般法で生シラスを地下水で洗浄したときに排出される排水
- ③殺菌処理排水：改良法で生シラスに過酸化水素水を噴霧後殺菌処理槽で放置貯留された後、地下水で洗浄したときに排出される排水
- ④原料：生シラス
- ⑤未殺菌処理原料：一般法で地下水で洗浄し水切りされた後の生シラス
- ⑥未殺菌処理原料の釜揚げ製品：一般法で地下水で洗浄し水切りされ、煮沸された後の釜揚げシラス
- ⑦殺菌処理原料：改良法で生シラスに過酸化水素水を噴霧後殺菌処理槽で放置貯留された後、地下水で洗浄し水切りされた後の生シラス
- ⑧殺菌処理原料の釜揚げ製品：改良法で過酸化水素処理後地下水で洗浄し水切りされ、煮沸された後の釜揚げシラス

但し、③殺菌処理排水、⑦殺菌処理原料及び⑧殺菌処理原料の釜揚げ製品については、殺菌槽での放置貯留時間（10分、15分、20分）毎に、その後の地下水で洗浄工程及び釜揚げ工程が行われるベルトコンベア上で最初に出てくる試料と中間試料及び終了時の試料を供した。（コンベア上で経過した時間は表7及び8に記載）

〔過酸化水素の測定〕（社）高知県食品検査センター

液体試料はそのまま測定し、個体試料は以下に示す前処理を行った。

乳鉢

- 試料 約5g
 - 海砂 適量
 - すり潰す
 - 抽出用緩衝液 40mL
- 50mL 比色管
- 抽出用緩衝液で洗いこみ、50mLとする
 - 遠心分離 10000rpm 1min
- 試料液（上清）

過酸化水素計により測定

固体試料の過酸化水素量(μg/g)
 =測定値(μg/mL)×50mL/試料量(g)
 定量下限(0.1 μg/g)
 液体試料の過酸化水素量(μg/mL)
 =測定値(μg/mL)
 定量下限(0.02 μg/mL)

図2 固体試料の前処理

〔一般生菌数の測定〕（高知県工業技術センター）

i-2と同じ方法で一般生菌数を測定した。

測定した試料は以下の通り。

- ・④原料
- ・⑦殺菌処理原料（殺菌槽での放置貯留時間 10 分）
- ・⑥未殺菌処理原料の釜揚げ製品を 5℃で 10 日間保管したもの
- ・⑧殺菌処理原料の釜揚げ製品（殺菌槽での放置貯留時間 10 分）を 5℃で 10 日間保管したもの

【実験結果及び考察】

添付の(社)高知県食品検査センター成績書(平成 18 年 12 月 26、27 日実験)を転写し、まとめたものを表 7 に、表 8 には平成 19 年 1 月 12 日⁸⁾に実験した結果を示した。なお、過酸化水素の単位は、液体試料の場合は $\mu\text{g/mL}$ 、固体試料の場合は $\mu\text{g/g}$ であるが、表中では添付成績書の通りの記載(ppm)とした。

表 7 平成 18 年 12 月 26、27 日実験結果 (添付成績書より転写)

試料名	過酸化水素 (ppm)
①地下水	0.02 未満
②未殺菌処理排水	0.02 未満
③殺菌処理排水 (殺菌槽放置貯留時間 10 分) 0min (開始) *	0.02
2min50sec (終了) *	0.02 未満
③殺菌処理排水 (殺菌槽放置貯留時間 15 分) 0min (開始) *	0.02 未満
0min58sec (中間) *	0.02 未満
④原料 (水洗い無し)	1.1
⑤未殺菌処理原料 (水洗い有り)	0.8
⑥未殺菌処理原料の釜揚げ製品	2.4
⑦殺菌処理原料 (殺菌槽放置貯留時間 10 分) 0min (直後) **	1.0
2min50sec (終了) **	1.1
(殺菌槽放置貯留時間 15 分) 0min (直後) **	1.4
0min58sec (中間) **	1.5
⑧殺菌処理原料の釜揚げ製品	
(殺菌槽放置貯留時間 10 分) 0min (直後) **	1.5
数分後 (終了) **	1.1
(殺菌槽放置貯留時間 15 分) 0min (直後) **	1.5
数分後 (中間) **	1.3

①—③は 12 月 26 日、④—⑧は 12 月 27 日測定

*殺菌処理後の水洗い工程の開始直後及び中間時もしくは開始直後及び終了時に採水

**コンベアに流れ始め直後と中間時もしくは開始直後及び終了時にサンプリング

まれていなかった（定量限界未満）ことから、洗浄よりも前の段階で、つまり前処理時に噴霧した過酸化水素が分解されていたと考えられる。）これらのことから、1-4で決めた処理条件は適正であると言える。

なお、未殺菌処理原料の釜揚げ製品でも、殺菌処理原料の釜揚げ製品でも、原料に比べると、過酸化水素含有量が高くなることが明らかになった。

また、表9に示したように④原料と⑦殺菌処理原料の生菌数を測定したところ、④は 3.6×10^5 個/g、⑦は 8.5×10^3 個/gであり、この洗浄方法によって初発菌数を二桁減少させることが明らかになった。また、保存試験の結果を表10に示した。保存試験の結果、一般法で製造された釜揚げシラスは 1.8×10^4 個/gであったのに対し、改良法では 1.3×10^3 個/gと一桁少なかった。

表9 生シラスの生菌数

	④原料	⑦殺菌処理原料 (殺菌槽での放置貯留時間 10分)
一般生菌数	3.6×10^5 個/g	8.5×10^3 個/g

表10 5℃10日間の保存試験結果

	⑥未殺菌処理原料の釜揚げ製品	⑧殺菌処理原料の釜揚げ製品 (殺菌槽での放置貯留時間 10分)
一般生菌数	1.8×10^4 個/g	1.3×10^3 個/g

2-2 釜揚げシラスの品質についての検証実験（色調試験及び保存試験）

洗浄装置を用い、一般法又は改良法で試作した釜揚げシラスについて、色調試験及び保存試験を行った。

【実験方法】

〔釜揚げシラスの調製〕

平成20年12月9日に高知県須崎市沖で漁獲された生シラスを高知県香南市赤岡町 村上商店に持ち込み、2-1の方法に準拠して一般法並びに改良法で釜揚げシラスを試作した。改良法では殺菌槽での放置貯留時間を10分とした。

〔色調試験〕

上記釜揚げシラスの色調を色差計（MINOLTA 製 CM-3500d）にて測定した。さらに3点識別法を用いて官能検査を行い、両者の色に有意差があるかを検証した。

3点識別法では、パネル16名（高知県工業技術センター職員及び受託研修生（男10名女6名）により、改良法による2点+一般法による1点の3点から一般法によるもの（色が他のものと異なる）を選ばせる方法、並びに一般法による2点+改良法による1点から改良法によるものを選ばせる方法の二つによる試験を実施した。

【保存試験】

上記釜揚げシラスを 10℃で 7 日間（製造日含む）保存し、一般生菌数並びに揮発性塩基窒素（VBN）を測定した。一般生菌数は 2-1 と同じ方法で行い、VBN は衛生試験法・注解⁹⁾に準拠して測定した。

【実験結果】

表 1 1 に色調計による測定結果を示した。

表 1 1 釜揚げシラスの色調

		一般法	改良法
色調	L*	62.8	64.8
	a*	-1.296	-0.750
	b*	4.053	1.993

L*、a*、b*の値は、L*が白さを、a*が赤さを、b*が黄色さを表す。表 1 1 からは L* 値は改良法によるものの方が高く、一般法より改良法によるものの方が白いこと、b* 値は一般法によるものの方が高く、改良法より一般法によるものの方が黄色いことが分かった。なお、色調を扱うときは一般に 2 以上の差があると人間の目にも色の差として認識できると言われており、実際の現場でもそういった利用がなされている。

さらに 3 点識別法の結果から、一般法によるものを選ぶ試験ではパネル 16 名中 14 名が正解し、改良法によるものを選ぶ試験では、パネル 16 名中 15 名が正解し、これら 2 回の実験で 0.1%の危険率で有意差があることが分かった。

図 3 に保存試験における一般生菌数の結果を示し、表 1 2 に経過日数と VBN の値を示した。

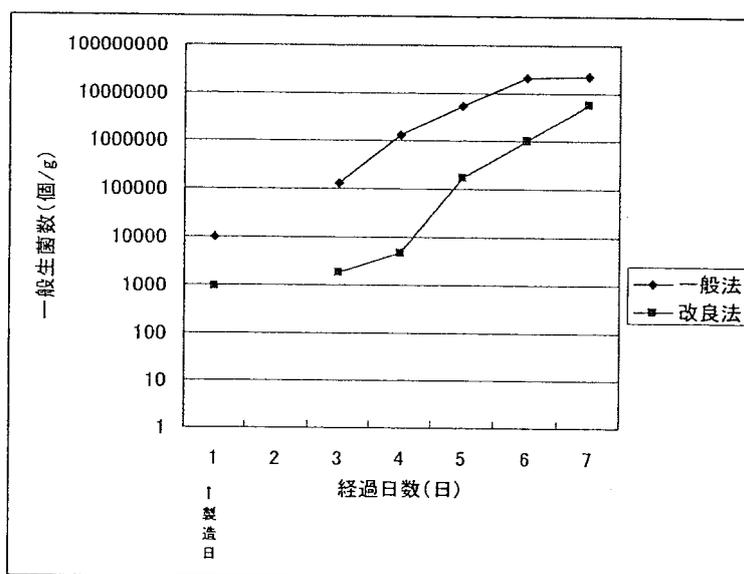


図3 経過日数と一般生菌数

表12 経過日数とVBNの値 (mg/100g)

	一般法	改良法
1日目 (製造日)	0.0	0.0
3日目	1.6	0.0
4日目	3.0	3.3
5日目	4.2	1.2
6日目	27.5	1.1
7日目	57.4	4.8

一般生菌数については、製造日に改良法によるものは一般法によるものに比べて1/10の値を示し、その後も改良法によるものの方が10~100倍少なく推移している。一方、VBNは一般法によるものでは6日目から増加し、7日目には、初期腐敗といわれる30を越えたが、改良法によるものでは7日間、VBNの増加は認められなかった。

現在は、ほとんどの業者が製造日から3日目までに消費期限を設定しているが、一般法によるものの3日目の菌数レベルは、改良法によるものの5日目に相当しており、2日間程度消費期限を延長できると思われる。この2日間は、消費期限切れの廃棄を少なくする上でも有効な日数であると推察できる。

2-3 フィールド実験のまとめと考察

改良法では、過酸化水素による殺菌処理原料を用いて製造した釜揚げシラスの過酸化水

素含有量は、未殺菌処理原料を用いて製造した釜揚げシラスとほぼ同様であることが示された。さらに、改良法は製品の外観を良くするだけでなく、初発菌数を減らし、揮発性塩基窒素の発生も一般法に比べて抑制され、腐敗をより遅延させる効果があることが明らかになった。

以上のように、改良法を用いることにより、より品質のよい釜揚げシラスを長い期間良好な状態で保管できるようになる。

III. 総括

過酸化水素水を加工に使用していないシラス加工品でも、過酸化水素が検出されることが確認された。そこで、シラス加工品の過酸化水素含有量を調べるために、過酸化水素処理及び無処理のシラス加工品を同様の工程で製造し、比較する必要があると考えられた。

改良法に準じ、種々の条件で過酸化水素処理をした釜揚げシラスと過酸化水素無処理の釜揚げシラスの過酸化水素を測定した結果、過酸化水素水の濃度や処理時間によらず、過酸化水素処理をした釜揚げシラスの過酸化水素含有量は無処理と比較して、同程度もしくは同程度未満であった。すなわち、今回検討した過酸化水素処理条件では、外部から加えた過酸化水素が釜揚げシラスに残留しなかったものと考えられる。

また、過酸化水素が無くなった作用機序として、生シラスのカタラーゼによる過酸化水素の分解が考えられた。そこで、生シラスの持つカタラーゼ活性を測定し、分解に必要な時間を求めた。生シラスが体表面に持つカタラーゼ活性は $41\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$ であった。その結果から、生シラス 50g は、体表面に $41\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g} \times 50\text{g} = 2\text{mmol}/\text{min}$ のカタラーゼ活性があると考えられた。つまり、改良法に準じた過酸化水素の濃度 1% (0.3mmol) の処理では約 9 秒、3% (0.9mmol) では約 27 秒、5% (1.5mmol) では約 45 秒で分解できるだけのカタラーゼ活性を持っていることが明らかとなった。改良法で製造した場合も理論上は同じ時間で分解が完了するものとする。しかし、実際の製造にあたっては、作業環境や作業性などを考慮した処理時間を設定する必要がある。過酸化水素処理後の洗浄水や釜揚げシラスの過酸化水素を測定し、残留していないことを確認した上で、それぞれの現場に適した条件を設定することが肝要である。今回は、洗浄装置に設置したベルトコンベアの長さや速度並びに攪拌槽の処理容量などから算定し、過酸化水素処理時間を 10 分に設定した。

生菌数試験では、過酸化水素無処理群と比較すると、過酸化水素処理群、特に 3%以上の過酸化水素水処理群では、生菌数を減少させる傾向が見られた。実際の製造では、制菌効果を示す最も低い濃度であった 3%過酸化水素水の使用が適当であると考えられる。

3%過酸化水素水で処理時間 10 分、15 分及び 20 分の条件で改良法のフィールド実験を行った。加工工程中の生シラス、釜揚げシラスを採取し、それらの過酸化水素含有量を比較した結果、殺菌処理群の値は未殺菌処理群の値と同程度であった。また、殺菌処理排水中の過酸化水素を測定した結果、検出されなかった。以上のことから、フィールド実験で添

加した過酸化水素は、すべて煮沸前に分解、除去され、釜揚げシラスには残留しなかったものと考えられる。

また、フィールド実験では、改良法及び一般法で釜揚げシラスを製造し、色調、一般生菌数、揮発性塩基窒素について測定して、その品質を比較した。その結果、改良法で製造した釜揚げシラスは、一般法に比べ白色度が高く、肉眼的にも白さの違いが確認できた。7日間の保存試験を行った結果、改良法で製造した釜揚げシラスは一般法で製造したものより、一般生菌数が10分の1から100分の1で推移し、揮発性塩基窒素も低かった。改良法で製造した釜揚げシラスは白く高品質でシェルフライフの長い製品ができる製造法であると考えられる。

以上のことより、改良法（処理量：3%過酸化水素水 20L/水切り生シラス 1t、処理時間：10 分間以上）は、加工に使用した過酸化水素を残留させず、一般法よりも高品質の釜揚げシラスが製造できる。

つまり、改良法は、過酸化水素の使用基準である最終食品の完成前に分解又は除去することを満たしているものとする。

過酸化水素処理釜揚げシラス標準的製造マニュアル

1 [原料] 生シラス

2 [洗浄、水切り]

原料生シラスを真水で十分に洗浄し、水切りを行う。

3 [過酸化水素処理]

水切り生シラス1tに対し、20Lの割合で3%過酸化水素水を均一に噴霧する。次の真水による洗浄工程までに10分間以上放置する。

3 真水による洗浄

真水で十分に洗浄する。

4. 煮沸

数%の食塩水で1分半～2分煮沸する。

5. 放冷(脱水)

煮沸後、脱水して放冷する。

文献

- 1) 昭和56年5月22日環食化第30号
- 2) (社)日本食品衛生協会発行厚生労働省監修：食品衛生検査指針 食品添加物編，86-94，2003.
- 3) 辻 澄子他：農産物，畜産物，水産及びそれらの加工品中の過酸化水素の含有量. 日本食品工業学会誌，37巻，No2，111-123，1990.
- 4) 豊田正武(1982)：過酸化水素微量分析法(酸素電極法)について，食品衛生研究，32，No.1，9-20.
- 5) Coxon, D. T., Rigby, N. M., Chan, H. Lund, B. M. and George, S. M. (1987) : The occurrence Of hydrogen peroxide in edible Oils ; Chemical and microbiological consequences, J. Sci. food Agric., 40, 367-379.
- 6) (社)日本食品衛生協会発行厚生労働省監修：食品衛生検査指針 微生物編，116-123，2004.
- 7) (社)高知県食品衛生協会文書 平成19年1月29日18高食検第32号
- 8) (社)高知県食品衛生協会文書 平成19年1月29日18高食検第33号
- 9) 日本薬学会編：衛生試験法・注解，175-176，金原出版株式会社，2000.

共同研究者並びに監修 元高知県工業技術センター研究企画課長 野村 明*
同センター食品開発課 主任研究員 北村有里
研究員 竹田匠輝

*現所属 土佐食株式会社 代表取締役