過酸化水素処理した塩かずのこ中の残留過酸化水素の カタラーゼおよび亜硫酸処理による 除去に関する考察

(昭和 56 年 2 月 18 日受理)

伊藤誉志男* 外海 泰秀* 豊田 正武*
小川俊次郎* 慶田 雅洋*

Evaluation of Methods for Elimination of Residual Hydrogen Peroxide from Salted and Hydrogen Peroxide-treated Herring Roe Cakes by the Use of Catalase and Sulfite

Yoshio ITO, Yasuhide TONOGAI, Masatake TOYODA,
Shunjiro OGAWA and Masahiro IWAIDA

(National Institute of Hygienic Sciences, Osaka Branch:
1-1-43, Hoenzaka, Higashi-ku, Osaka)

A partial amendment of the regulations for food additives in Japan has provided that hydrogen peroxide must be either decomposed or removed from final products (since October 1st, 1980). Accordingly, a method was sought to carry out hydrogen peroxide treatment of herring roe cakes without leaving residual hydrogen peroxide in the finished product.

Raw herring cakes were immersed in 5 times their weight of 1% hydrogen peroxide solution for 48 hrs, then they were taken out and pickled in common salt solution. The product contained around 4,000 ppm of hydrogen peroxide. Next, they were subjected to enzymic treatment by dipping them in catalase solution of 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$. A treatment period of 48 hrs was enough to decompose all the residual hydrogen peroxide provided that the temperature of the enzyme solution was kept at not less than 15°C. The use of sulfite treatment after catalase processing in an attempt to reduce the processing time was not promising since a detectable amount (around 0.3~0.6 ppm) of hydrogen peroxide remained unreduced even in the presence of free sulfite.

(Received February 18, 1981)

Key words: 過酸化水素 hydrogen peroxide; カタラーゼ catalase; 亜硫酸塩 sulphite; かずのこ herring roe

まえがき

我が国で正月のおせち料理によく用いられるかずのこは、そのほとんどが北海道で加工されたものであり、業者は留萌地区に集中している。しかしながら原卵は道沿岸のニシンの不漁続きのために、そのほとんどをカナダ、アラスカまたは中国からの輸入に頼っている。原卵の状態はまちまちであるが、外観は黄かっ色～焦茶色を

しており、血液が残っている場合もあり、また、アニサキスの幼虫が付着していることも少なくないことから、その加工においては、過酸化水素による漂白・殺菌が必要欠くべからざるものとされていた。ところが、マウスによる過酸化水素の発がん性が確かめられたために、厚生省は本品の使用基準を改訂し、「最終食品の完成前に分解又は除去しなければならない」と改めた（昭和55年10月1日より実施）¹⁾。しかしながら、実際問題として過酸化水素がかずのこ製品中に残留しないことを保証するこ

* 国立衛生試験所大阪支所: 大阪市東区法円坂 1-1-43

とができないために、道庁は各保健所に対して、昭和55年10月以降の製造の食品であって、過酸化水素を使用したものは違反食品であるむね通知した²⁾。したがって、各処理工場とも昭和55年9月30日以前の製造加工法を以後踏襲することは不可能となったわけである。一方、かずのこを過酸化水素処理した後、カタラーゼ処理し次いで亜硫酸処理する方法が、北海道留萌水産加工研究会の安達および山田水産研究所の山田技術士によって考案されている（以下留萌・山田法と呼ぶ）。この方法における過酸化水素の残留性について評価した結果を以下に報告する。

実験方法

1. 試料

かずのこの原卵はカナダ産のもので、1979年5月2日に現地でパックし、飽和食塩水に浸漬し冷凍保存したものを1980年12月19日に入手し、使用した。

2. 試薬

亜硫酸ナトリウム：食添規格のものを使用。

カタラーゼ：P-L Biochemicals Inc. (Milwaukee) 製 Bovine Liver カタラーゼ (約 2×10^4 U/mg) および山田水産研究所製ネオカタラーゼ“スパット”を使用。

その他の試薬はすべて特級を使用。

3. かずのこの処理法

留萌・山田法を実験室スケールに縮小して次に示した手順で行った。

原卵 200 g を解凍し、1% 過酸化水素水 1 L 中に室温 (15°) で48時間浸漬した後、試料を取り出し、水洗し、再び 10% 食塩水 1 L 中に室温で 15 分間浸漬した (塩固め)。

次いで 100 μ g/mg のカタラーゼ溶液 1 L に浸漬した。浸漬方法は自由浸漬 (I) と漏斗を逆さに挿入し、浮遊防止した浸漬法 (II) の 2 種類によって行った。反応温度は 5°, 15° 又は 30° とし、48 時間まで浸漬した。

ある程度までカタラーゼ処理した試料を水洗し、次いで 15° で 30 μ g/ml または 1,000 μ g/ml の亜硫酸水溶液 1 L 中に 48 時間まで浸漬した。

4. 分析用検体の調製

浸漬した試料をピンセットでつまみ出し、水中で3回振り混ぜて洗った後、ろ紙上で脱水する。その 1 または 5 g をとり、0.5% 臭素酸カリウム溶液 40 ml を加えて過酸化水素を安定化しながら、ワーリングブレンダー中で3分間ホモジナイズする。0.5% 臭素酸カリウム溶液で 50 ml の定容とした後、東洋濾紙 (株) 製 No. 5A を用いてろ過して調製した。

5. 測定

過酸化水素の測定はオリエンタル電気 (株) 製オリテクター II を用いて溶存酸素電極法⁴⁾によって測定した。亜硫酸の測定は改良ランキン法⁵⁾で行った。

実験結果ならびに考察

1. カタラーゼによる処理条件と過酸化水素の分解率の関係

2 種のカタラーゼ溶液を用い残留過酸化水素量の経時的変化を調べた。浸漬方法としては自由浸漬 (I) と浮遊防止浸漬法 (II) の比較を行った。結果は Table 1 に示すとおりである。I 法の場合には最初の10分ぐらいの間、かずのこは水中に浸漬されているが、酵素作用が進むにつれ、周囲が酸素の気泡で覆われて浮力がつき浮上してくる。II 法では漏斗による圧迫のために浮上は完全に抑えられる。Table 1 より、過酸化水素処理直後のかずのこの過酸化水素含量は約 4,000 ppm であることが知られる。また、過酸化水素の消失は速やかであったが、48 時間後には両者とも過酸化水素は完全に分解されたことがわかった。ただし、これはあくまでも実験室スケールでの結果であって、工場規模で大量処理した場合には折り重って浮上するために分解むらができ、完全に過酸化水素が分解されないかずのこの片の生ずることも考えられる。

また、Biochemical Inc. の精製カタラーゼを使用した方が粗製のスパットよりも分解効率が良いことが知られた。これは当然力価の差によるものと思われる (なお、スパットは難溶性なのでこれ以上濃厚な溶液に調製することは難しい)。ただし、スパットによっても 48 時間後

Table 1. Effect of Catalase Treatment on Residual Hydrogen Peroxide in Herring Roe Cakes

(Average of 5 trials)

Time (hr)	Residual H ₂ O ₂ (ppm)			
	BL-I	BL-II	SPAT-I	SPAT-II
0	3,889			
1/6	1,851	1,652	2,588	2,442
0.5	1,769	1,053	2,427	2,032
1	1,240	263	1,875	1,572
2	540	98.8	904	653
4	112	38.6	165	140
8	12.9	6.0	26.7	15.5
24	0.25	0.13	0.42	0.28
48	nd	nd	nd	nd

BL: Bovine liver catalase was used (P-L Biochemicals Inc., Milwaukee, Wis).

SPAT: "Spat" prepared by Mr. M. Yamada in Sapporo

I: Roe cakes were immersed freely.

II: Roe cakes were press-immersed by use of glass funnel.

nd: not detected (below 0.1 ppm)

Each treatment was carried out at 15°.

Fig. 1. Effect of successive sulphite treatment on residual hydrogen peroxide in herring roe cakes

Exp. 1: Herring roe cakes were taken out from catalase solution after 11 hrs' immersion and then dipped in sulphite solution of $30 \mu g SO_2/ml$ at $15^\circ C$.

Exp. 2: Herring roe cakes were taken out from catalase solution after 40 minutes' immersion and then dipped in sulphite solution of $1,000 \mu g SO_2/ml$ at $15^\circ C$.

Table 2. Effect of Temperature of Immersing Solution on Degradation of Hydrogen Peroxide in Herring Roe Cakes
(Average of 5 trials)

Time (hr)	Residual H ₂ O ₂ (ppm)		
	5°C	15°C	30°C
0	4, 230		
2	909	136	29.4
7	36.0	14.6	0.26
24	1.52	0.17	nd
48	0.12	nd	nd

nd: not detected (below 0.1 ppm)

Concentration of BL catalase: 100 µg/ml

には過酸化水素を完全に分解することができる。

最も効率のよいカタラーゼ処理方法 (BL-II 法) では 24 時間で過酸化水素の残留量を約 0.1 ppm まで減少させることができることがわかったので、以下の実験は BL-II 法で行うものとする。

2. カタラーゼ処理温度の影響

カタラーゼ処理の温度を 5°, 15° (室温) および 30° の 3 段階に変化させ、過酸化水素の分解率を調べた結果は Table 2 に示すとおりである。

カタラーゼの作用は 30° で最も効果的であって 24 時間以内に過酸化水素は完全に消失することがわかった。これに対して 5° では分解は極めてゆるやかであって、24 時間後の残留量は 15° の約 10 倍の 1.5 ppm であり、48 時間後にも完全に分解されないことがわかった。したがって留萌地区では 11 月～3 月の寒冷期にはカタラーゼ浸漬液の温度を調整することが必要であると考える。

3. 亜硫酸処理による過酸化水素の残留に及ぼす影響

残留過酸化水素を速やかに分解させるために亜硫酸併用する効果について検討した。亜硫酸処理条件は次の二つに分けて行った。第 1 に浸漬温度 15° で BL-II 法によりカタラーゼ処理し、11 時間後過酸化水素の残留量が約 2 ppm になったときに SO₂ 濃度 30 µg/ml の亜硫酸水素ナトリウム溶液 (15°) に浸漬する (Exp. 1)。第 2 に同じ条件でカタラーゼ処理して 40 分後、過酸化水素の濃度が約 500 ppm になったときに SO₂ 濃度 1,000 µg/ml の亜硫酸水素ナトリウム溶液 (15°) に浸漬する (Exp. 2)。

亜硫酸に浸漬後 48 時間にわたって試料、浸漬溶液中の亜硫酸含量、ならびに試料中の過酸化水素残留量を追跡した結果を Fig. 1 に示した (ただし、試料は表面に付着した亜硫酸の影響をなくすためにかずのこ片を水洗した後、ろ紙で拭ってから分析に供した)。

Exp. 1 では亜硫酸水素ナトリウム溶液に浸漬後 10 分間は過酸化水素の減少が認められたが、それ以後はほぼ

横ばい状態となり、48 時間後でも 0.4 ppm 程度の残留が認められた。また Exp. 1 および 2 共に亜硫酸水素ナトリウム溶液に浸漬後 1～2.5 時間前後から試料中に SO₂ の残留が認められ、以後過酸化水素と亜硫酸が共存することが認められた。過酸化水素の残留量は Exp. 1 で 5 時間後 0.65, 24 時間後に 0.63 ppm, Exp. 2 ではそれぞれ 0.59 および 0.41 ppm であった。これは安達および山田⁸⁾が SO₂ を 100 または 200 ppm 添加した場合の、24 時間後の過酸化水素の残留量がそれぞれ 0.46 および 0.68 ppm であったといっているのとはよく一致している。

一方、Exp. 2 における亜硫酸溶液 2.5 時間浸漬後のかずのこ中の亜硫酸の存在形態は総 SO₂ 27.4 ppm, うち結合型 25.3 ppm (92.5%), 遊離型 2.1 ppm (7.5%) であった。また、24 時間浸漬後は総 SO₂ 505 ppm のうち、結合型は 334 ppm (66.1%), 遊離型は 171 ppm (33.9%) であった。結合型亜硫酸は反応性はないが、反応性の遊離型も残留するのに過酸化水素が微量残留することは、過酸化水素がかずのこ成分と相互作用して安定な付加化合物の形で残留しているのではないかと考えられる。

4. 過酸化水素の添加回収実験

過酸化水素を使用した後、BL-II 法によりカタラーゼ処理し、亜硫酸の添加を行わずに過酸化水素が残留しないことを確かめたかずのこに、過酸化水素 1 ppm を添加し、回収率を求めたところ、93.8% であった。

結 論

1. かずのこ原卵を 5 倍量の 1% 過酸化水素水に室温で 48 時間浸漬した後、水洗し、塩固めにしたとき過酸化水素の残存量は約 4,000 ppm であった。

2. カタラーゼの活性は温度により著しく影響される。過酸化水素処理したかずのこを 15° でカタラーゼ溶液に浸漬した場合には、48 時間で過酸化水素は完全に分解されることがわかった。低温 (5°) では 48 時間以内に過酸化水素を完全に分解除去することは難しい。

3. 過酸化水素処理し、カタラーゼ分解で過酸化水素残留量が約 2 または 500 ppm になったかずのこをそれぞれ 30 または 1,000 µg SO₂/ml の亜硫酸水素ナトリウム溶液に浸漬したところ、過酸化水素は急激に減少するが、1 ppm 以下となったところで平衡状態になり、48 時間後でも 0.3～0.5 ppm 程度残留することがわかった。

4. したがって、留萌・山田法によるかずのこの処理の場合は、過酸化水素をカタラーゼのみで分解する方が残留過酸化水素を確実に分解させる方法として優れており、亜硫酸の併用による迅速処理法では過酸化水素を完全に除去できないことがわかった。

文 献

- 1) 昭和 55 年 2 月 20 日厚生省告示第 24 号。
- 2) 昭和 55 年 9 月 30 日北海道庁衛生部長発 食品第 946 号。

-
- 3) 安達芳徳, 山田 稔: 塩かずのこの研究 (自費出版物) 1980年9月10日.
 - 4) 宇津木義雄, 大橋 実: 化学と工業, **33**, A241 (1980).
 - 5) Fujita, K., Ikuzawa, M., Izumi, T., Hamano, T., Mitsunashi, Y., Matsuki, Y., Adachi, T., Nonogi, H., Fuke, T., Suzuki, H., Toyoda, M., Ito, Y., Iwaida, M.: Z. Lebensm. Unters. Forsch., **168**, 206~211 (1979).