

食品添加物としての過酸化水素の検討

Ⅱ. 過酸化水素の食品防霉作用について

谷 由美子・青木 みか

Examination of Hydrogen Peroxide as the Food Additives

Ⅱ. On the Preservative Effect with Hydrogen Peroxide

By

Yumiko TANI and Mika AOKI

緒 言

食品の漂白と防霉のため広く使用されている過酸化水素 (H_2O_2) は、従来食品の加工、調理および貯蔵の過程において酸素と水に分解して無毒化されると考えられてきた¹⁾。しかしその後食品中に H_2O_2 が残存することが明かとなり、昭和44年8月厚生省告示によってその残存量は麺類と練り製品では 100ppm 以下、その他の食品においては 30ppm 以下という規制がもうけられた。食品添加物としての H_2O_2 の研究は最近、川崎²⁾、高居³⁾、菅野⁴⁾、梅本⁵⁾、諸氏⁶⁾、菅野⁷⁾、梅本⁸⁾ 諸氏の報告があるが H_2O_2 の添加効果と食品衛生上の安全性については解明されていない点が多い。

私共は既にマウスに 0.15% H_2O_2 水溶液を経口的に毎日 5.8mg 投与して 35 週間飼育した場合、肝、腎、脾組織に病理学的変化の生じることを報告した⁹⁾。今回は一般微生物に対する H_2O_2 の生育抑制効果をしらべるとともに、麺類、練り製品を試作して H_2O_2 を添加した時の保存効果を試み、また市販食品の H_2O_2 含有量について実態を調査して H_2O_2 の食品添加物としての意義と使用法を検討した。

実験方法ならびに結果

1. H_2O_2 の微生物抑制効果

方法：培養基はサブロー培地と普通寒天培地を使用した。サブロー培地は市販調合粉末培地 6.5g を水 100ml にとかし、普通寒天培地は市販調合粉末培地 3.5g を水 100ml にとかした後、試験管に 20ml ずつ分注し 120°、15 分間殺菌した。 H_2O_2 添加培地は濃度がそれぞれ 150, 1,500, 3,000, 30,000ppm になるように特級 H_2O_2 を添加し、pH は H_2O_2 無添加の対照区も同様に普通寒天培地 7.0, サブロー培地 6.0 に調整した。これを常法によりシャーレーに移して平板培地とした。この培地に当研究室 (室温 15°C) における 30 分間の空中落下細菌を培養し、37°C の恒温器で 9 日間培養してその期間に発生したコロニーの数を性状と肉眼ならびに顕微鏡下で観察した。

結果：結果は表 1 に示す通りである。すなわちいづれの培地においても H_2O_2 150ppm では微生物の生育を抑制することができず、4 日以後には細菌、5 日以後は糸状菌の発生を見た。とくに糸状菌は *Penicillium* 属、*Mucor* 属、細菌は *Bacillus* と球菌を多く認めた。

2. H_2O_2 の食品防霉効果

a) 方法、供試食品としてうどんと半片を作成し H_2O_2 処理を施した後、室温に保存し腐敗状態を観察するとともに H_2O_2 の残存量を測定してその防霉効果を検討した。

表1 H₂O₂ の微生物抑制効果

培養基	H ₂ O ₂ 濃度 (ppm)	培養日数		2		3		4		5		6		7		8		9				
		生育菌		細	酵	カ	細	酵	カ	細	酵	カ	細	酵	カ	細	酵	カ	細	酵	カ	
		菌	母	菌	母	ビ	菌	母	ビ	菌	母	ビ	菌	母	ビ	菌	母	ビ	菌	母	ビ	
普通寒天培地	0	+	-	-	+	+	+	++	+	+	++	+	+	++	+	+	++	+	+	++	+	+
	150	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-
	1,500	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	30,000	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
サブロー培地	0	-	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
	300	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	450	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	900	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

{ + : コロニー数 1~10
 { ++ : " 11~30
 { +++ : " 30以上

供試食品の作成：半片はヒラメ魚肉 500g を用い30分間水晒しをして色素、脂肪、不純物などを除去した後、水切りをし肉の5%重量の食塩を加えて粘性のでるまで約15分間潰す。これに卵白7%、コーンスターチ7%、蔗糖5%を加えてさらに15分間潰し、直径5cm、厚さ1cmの円形に整形して沸騰水中に入れて5分間加熱してとり出す。

うどんは小麦強力粉400gに10%濃度の食塩水120ml加えて10分間捏ね、ぬれ布巾に包んで30分間熟成させる。これを麺棒で厚さ3mmの麺帯に伸し巾5mmの麺に細長く切って沸騰水中に入れ10分間茹でた後とり上げて水切りする。

H₂O₂ 処理：半片は1%または0.5% H₂O₂ 水溶液に1分間、うどんは0.3%または0.03% H₂O₂ 水溶液に1分間浸漬した後、包装せずにそのまま室温に5日間保存し、菌の発生状況や食品の色、香、品質の変化を観察するとともに、H₂O₂ の残存量を測定した。H₂O₂ の定量は菅野氏の方法によって行った、すなわち試料20gを細切した後、乳鉢に入れ水60ml加えながら磨砕した後、200mlに定容する。これを遠心分離（10分間、4,000 r.p.m.）にかけ上澄液50mlを共栓フラスコに採取し、10% H₂SO₄ 10ml、10% KI 10ml加え、30分間暗所に放置した後、1%デンプン溶液を指示薬として0.05 N-Na₂S₂O₃ で滴定する。同時に空実験を行い次式より試料中の H₂O₂ 含有量を算出した。

$$\text{H}_2\text{O}_2 \text{ 含有量 (ppm)} = 0.8504 \times (V - V_0) \times F \times \frac{1000}{\text{試料採取量 (g)}} \times 4$$

V : 本実験のNa₂S₂O₃ 滴定値 (ml)

V₀ : 空実験の Na₂S₂O₃ の滴定値 (ml)

F : Na₂S₂O₃ の力価

結果：本実験は7月20日～25日と12月15日～20日の2回行ったが室温と湿度は各々前者30±1.5℃，64±1%。後者15±1℃，48±1%であった。

うどんおよび半片の表面に発生した微生物の種類と数を表2にH₂O₂残存量を図1に示し

表2 H₂O₂ 処理による食品の防霉実験

供試食品	H ₂ O ₂ 処理濃度 (%)	保存日数 発生菌種	1	2	3	4	5	6	7
			うどん	0	糸状菌	0	6	← 食品全表面にカビ蔓延 →	
		細菌, 酵母	0	0					
うどん	0.03	糸状菌	0	10	← 食品全表面にカビ蔓延 →				
		細菌, 酵母	0	0					
半片	0.3	糸状菌	0	0	0	0	0	0	0
		細菌, 酵母	0	0	0	0	0	0	0
はんぺん	0	糸状菌	0	0	3	5	5	食品全表面に蔓延	
		細菌, 酵母	0	0	20	24	25		
	0.5	糸状菌	0	0	3	8	10	食品全表面に蔓延	
		細菌, 酵母	0	0	4	5	5		
	1.0	糸状菌	0	0	1	1	3	7	食品全表面に蔓延
		細菌, 酵母	0	0	0	0	1	3	

数字は食品表面のコロニー数を示す。

た。12月の実験においてはH₂O₂無処理の対照区も微生物の発生をみなかったが、これは湿度低く食品の水分が蒸発し乾燥したためと思われる(図2参照)7月の実験においては食品水分の蒸散はなく、対照区と0.03% H₂O₂処理区のうちうどんは2日後に腐敗したが0.3%処理区は7日後も異常を認めなかった。半片は対照区、0.5%、1.0%処理区いずれも3日後に菌が発生し蛋白の変敗による異臭と粘性を生じた。H₂O₂残存量は夏期より冬期の方が多く、規準量100ppm以下となるのは夏期は1%処理区の半片で1日後、冬は2日後である。うどんは0.03%処理区において夏は直後、冬は1日後、0.3%処理区においても夏は4日後に規準量以下となるがその後も菌は発生しない。半片はうどんに比べH₂O₂分解が早く処理後いずれも2日で残存量100ppm以下となるが菌は3日以後に発生し腐敗する。

3. 市販食品のH₂O₂含有量の測定

方法：定量は前記のヨウ素法を採用したが実施するに当たり小麦粉に添加されるKBrO₃の影響を考慮してH₂O₂をCatalaseによって分解したものを空実験とし、Catalase未処理のものとの差よりH₂O₂を算出する方法で定量した。また試料を磨砕する際、H₂O₂が分解されることを懸念して磨砕時に一定量(30% H₂O₂ 0.2ml)のH₂O₂を添加して同様に実験を行い再現率を求めて補正した。食品は食品衛生法による規制以前のもの(昭和44年4月から7月までの期間に購入したもの)と規制以後(昭和45年4月～7月に購入)のもの各々62種を供試したがいずれも名古屋市内で販売された麺類、練り製品、豆腐などである。

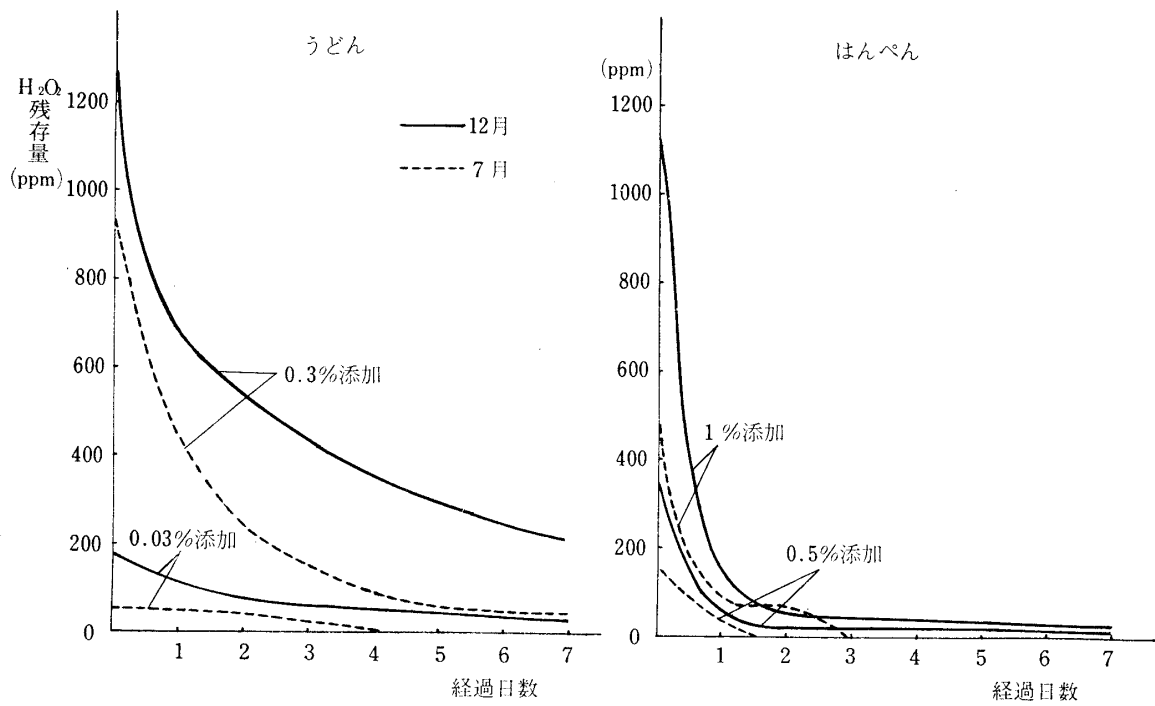


図1 H₂O₂ の残存量

実期	44年7月21日 ～7月28日	44年12月18日 ～12月25日
平均温度(℃)	32.3 ± 2.3	12.1 ± 3.1
平均湿度(%)	62.8 ± 11.8	57.6 ± 8.6

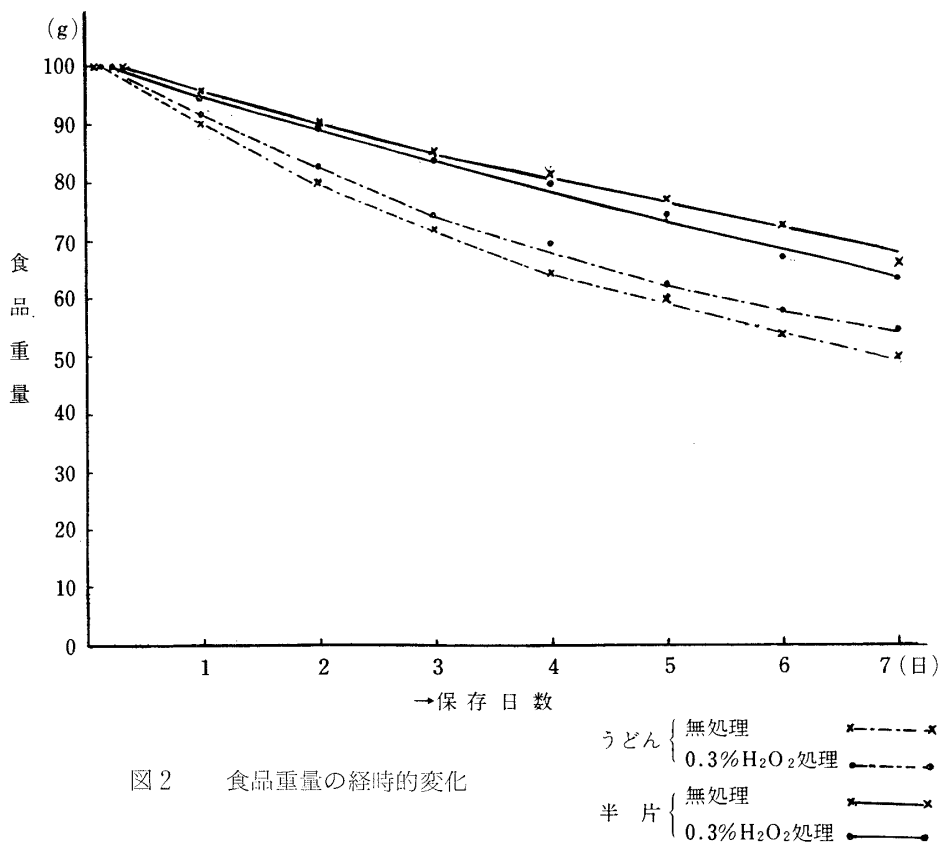


図2 食品重量の経時的変化

表3 市販食品中のH₂O₂含有量

1969年1月～7月測定 (H ₂ O ₂ 規制以前)				1970年1月～7月測定 (H ₂ O ₂ 規制以後)			
供試食品	H ₂ O ₂ (ppm)	供試食品	H ₂ O ₂ (ppm)	供試食品	H ₂ O ₂ (ppm)	供試食品	H ₂ O ₂ (ppm)
包装うどん 1	58	かまぼこ 7	0	包装うどん 1	58	かまぼこ 10	38
2	83	8	0	2	183	11	38
茹うどん 1	0	9	0	3	72	12	56
2	563	10	0	4	36	13	38
3	1,741	11	10	5	54	14	38
4	31	12	0	6	45	15	19
5	522	13	14	7	90	16	28
6	503	14	8	8	18	17	19
7	210	15	14	9	125	18	19
8	191	16	0	10	125	ちくわ 1	0
9	0	17	5	11	18	2	88
10	93	18	78	12	143	3	18
11	10	19	0	13	18	4	18
12	50	20	1,122	茹うどん 1	170	5	35
乾 麵 1	0	21	3,600	2	45	6	35
2	21	22	371	3	18	7	70
3	10	23	31	4	18	8	70
4	0	24	70	乾 麵	27	9	53
はんぺん 1	175	25	63	はんぺん 1	0	10	18
2	17	ちくわ 1	4,505	2	216	11	16
3	700	2	91	3	18	なると 1	17
4	83	3	35	4	18	2	34
5	42	4	22	かまぼこ 1	17	3	34
6	2	5	717	2	19	4	34
7	1,048	6	98	3	0	5	51
かまぼこ 1	122	7	89	4	47	6	8
2	157	なると 1	3,878	5	19	豆 腐 1	17
3	18	2	1,065	6	19	2	25
4	14	3	14	7	19	3	34
5	8	4	16	8	19	4	9
6	4	5	1,209	9	19	5	37
平均値		392		平均値		44	

結果：測定結果は表3ならびに図3に示すとおりである。即ち規制以前の食品はH₂O₂ 100 ppm以上含有する食品が供試料中13%あり、平均含有量は392ppmであったが、規制以後のものは平均含有量44ppmでH₂O₂量は全般に減少していた。しかし規準量以上含有するものも12%認められた。

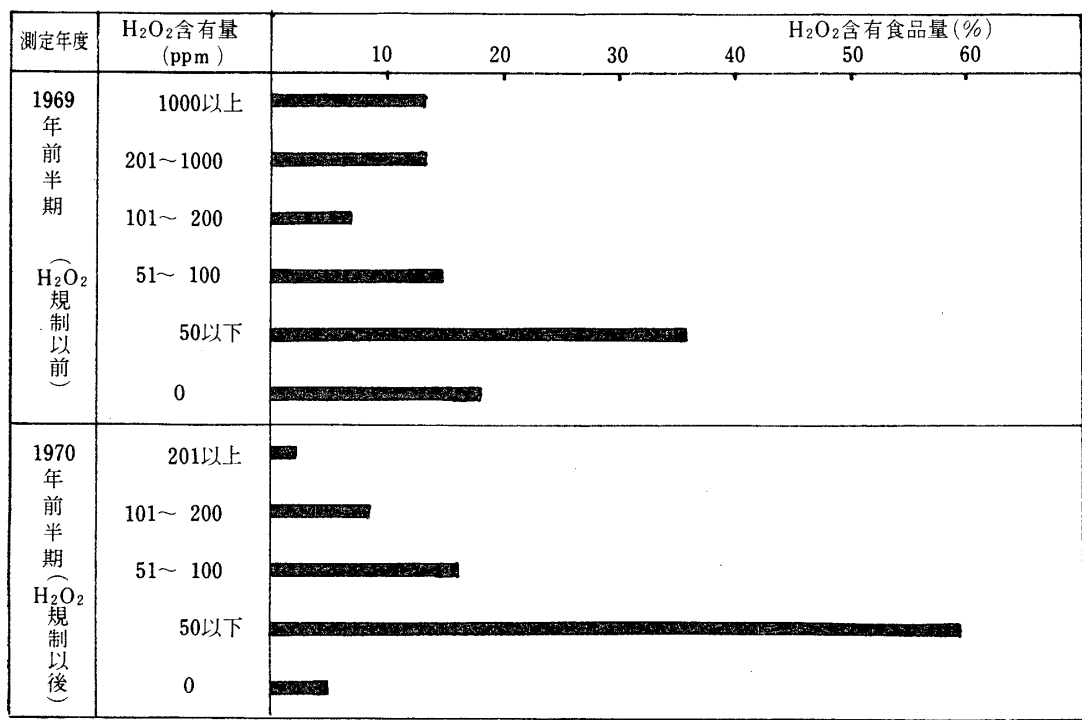


図3 市販食品における H₂O₂ 含有状態

考 察

以上の実験においてサブロー培地、一般細菌培地に所要濃度の H₂O₂ を添加して空中落下細菌に対する生育抑制効果をしらべた結果は H₂O₂ 150ppm 含有培地も生育を抑制することが出来ないことを認めた。三島、直井氏 (1970) は18種の標準菌株を使用して H₂O₂ の抑制効果をみた結果 H₂O₂ 許可限度 (0.01%) では菌の60%近くが阻止されず 0.05% で菌の約80%が阻止され、0.1% 濃度では5日以後若干のカビの発生をみることを報告している。また川崎、永納氏 (1968, 1970) は H₂O₂ は腸炎ビブリオ、大腸菌に高い効力をもつが、枯草菌、ブドウ球菌には効力が劣り、前者は 160ppm、後者は 500ppm以上で殺菌されることを報告している。これらの報告は今回の実験で認めたところの規準量で菌の生育を阻止することができないという結果を裏がきするものでもある。またうどん、ねり製品を H₂O₂ で処理して防腐効果をしらべた結果、麺類は H₂O₂ 0.3% 溶液で処理した場合4日後 H₂O₂ は 100ppm以下になるが、7日後も菌は発生せず、ねり製品は H₂O₂ 1.0% 溶液処理で1日後 100ppm以下になるが3日後には菌の発生をみた。すなわち蛋白性食品は腐敗し易いが麺類は比較的防腐し易く、完全包装をして細菌の二次汚染を防止すれば H₂O₂ 処理によって貯蔵することも可能であると考えられる。棚田、内田氏 (1971) は H₂O₂ 分解剤としてアスコルビン酸を麺類に添加して効果をあげ、小川、室橋 (1967) は H₂O₂ 添加と蒸気殺菌の併用によって H₂O₂ 0.05% 濃度ならば 90~100℃ 10分、0.1% H₂O₂ ならば5分間の蒸気処理を行うことを殺菌臨界条件として報告している。

前報において筆者は H₂O₂ を長期間ラットに投与した場合、肝、腎、脾の諸組織に病理学的変化を認めたが、これらの点も考慮し、食品加工においては製造工程の衛生管理に留意するとともに加熱殺菌や真空包装などを併用し、できる限り H₂O₂ の使用を制限するのが好ましいと考える。

要 約

- 1) サブロー培地，一般細菌培地に H_2O_2 を所要濃度添加して空中落下菌を培養した所， H_2O_2 150ppm 含有培地も微生物の生育を阻止することはできなかった。
 - 2) うどん，ねり製品を作り0.03, 0.3, 0.5, 1.0% H_2O_2 溶液で処理し防腐効果をしらべた結果，麺類は0.3%の H_2O_2 処理で4日後 H_2O_2 100ppm 以下になるが7日後も菌は発生せず，ねり製品は1.0% H_2O_2 処理で1日後に 100ppm以下となるが3日後菌が発生し腐敗した。
 - 3) 市販食品の H_2O_2 含有量を菅野氏の方法で測定した結果， H_2O_2 残存量の規制に関する厚生省告示以後の食品は，それ以前の食品に比べ食品中の H_2O_2 はおおむね減少していた。しかし規準量以上含有するものが供試食品中12%認められた。
- 本実験にあたり協力頂いた村松啓子，江野本聰美様に感謝いたします。

文 献

- 1) 川城巖，藤井清次，岩尾裕之：1967，食品添加物（恒星社厚生閣版）。
- 2) 川崎近太郎，近藤雅臣，永納秀男，永山富雄：1968，食衛誌 **9**，241。
- 3) 川崎近太郎，近藤雅臣，竹内嘉子，永納秀男，永山富雄：1969，食衛誌 **10**，69。
- 4) 川崎近太郎，永納秀男，飯尾利弘，近藤雅臣：1970，食衛誌 **11**，155。
- 5) 高居百合子，柳下義之，岩尾裕之：1968，国立栄養研究所報告 82。
- 6) 高居百合子，柿本富子，岩尾裕之：1969，栄と食，第17回講演会講演要旨集。
- 7) 菅野三郎，和田裕，中岡正吉：1968，食衛誌 **9**，50。
- 8) 梅本滋，榎原和子，天野慶之：1968，食衛誌 **9**，139。
- 9) 青木みか，谷由美子：医学と生物（投稿中）。
- 10) 三島太一郎，直井家壽太，小久保弥太郎，木村庫夫：1970，食衛誌 **11**，195。
- 11) 川崎近太郎，永納秀男，河野桂子，飯尾利弘，近藤雅臣：1970，食衛誌 **11**，139。
- 12) 棚田益夫，内田晴彦，和田時子：1971，食衛誌 **12**，376。
- 13) 小川玄吾，室橋正男：1967，食衛誌 **8**，66。
- 14) 小川玄吾，古賀英久，室橋正男：1967，食衛誌 **8**，233。