

## 亜塩素酸ナトリウムの使用基準案見直しについて

エコラボ合同会社

平成 26 年 4 月 23 日の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会での検討結果を踏まえ、酸性化亜塩素酸ナトリウム溶液 (ASC) としての使用に限定した使用基準の改正案として、再度要請を行うことといたしました。

## (1) 使用基準案

現行の亜塩素酸ナトリウムの使用基準に、食肉類について、ASC として、使用基準を追加することを要請いたします(使用基準改正案並びに現行の使用基準及び改正後の使用基準案の比較は以下のとおり)。

## ○改正案(改正箇所:下線部)

亜塩素酸ナトリウムは、かずのこの加工品(干しかずのこ及び冷凍かずのこを除く。)、かんきつ類果皮(菓子製造に用いるものに限る。)、さくらんぼ、食肉及び食肉製品、生食用野菜類、卵類(卵殻の部分に限る。以下この目において同じ。)、ふき、ぶどう及びもも以外の食品に使用してはならない。亜塩素酸ナトリウムの使用量は、亜塩素酸ナトリウムとして、かずのこの加工品(干しかずのこ及び冷凍かずのこを除く。)、生食用野菜類及び卵類にあつては浸漬液 1kg につき 0.50g 以下、食肉及び食肉製品にあつては浸漬液又は噴霧液 1kg につき 0.50~1.20g でなければならない。また、使用した亜塩素酸ナトリウムは、最終食品の完成前に分解し、又は除去しなければならない。

亜塩素酸ナトリウムは、食肉及び食肉製品に使用するとき、pH2.3~2.9 の浸漬液又は噴霧液を 30 秒以内で使用しなければならない。

表1. 現行の使用基準及び改正後の使用基準案の比較(改正箇所:下線部)

	現行			改正後		
	使用できる食品等	使用量の最大限度等	使用制限	使用できる食品等	使用量の最大限度等	使用制限
果実類	かんきつ類果皮*、さくらんぼ、ぶどう、もも	なし	最終食品の完成前に分解、又は除去しなければならない	かんきつ類果皮*、さくらんぼ、ぶどう、もも	なし	最終食品の完成前に分解、又は除去しなければならない
野菜類	ふき	なし		ふき	なし	
	生食用野菜類	0.50g/kg 浸漬液		生食用野菜類	0.50g/kg 浸漬液	
魚介類	かずのこの加工品(干しかずのこ及び冷凍かずのこを除く)		かずのこの加工品(干しかずのこ及び冷凍かずのこを除く)			

	現行			改正後		
	使用できる食品等	使用量の最大限度等	使用制限	使用できる食品等	使用量の最大限度等	使用制限
食肉類			最終食品の完成前に分解、又は除去しなければならぬ	食肉、食肉製品(保存品を含む)	<u>0.50～1.20g/kg (pH 2.3～2.9) 漬液又は噴霧液</u>	最終食品の完成前に分解、又は除去しなければならぬ 浸漬又は噴霧は30秒以内
卵類	卵殻	0.50g/kg 浸漬液		卵殻	0.50g/kg 浸漬液	最終食品の完成前に分解、又は除去しなければならぬ

※ 菓子製造に用いるものに限る

(2) 使用基準の設定根拠

上記使用基準の改正案は、米国の連邦規制基準(Code of Federal Regulations , CFR) 第 21 編 (Title 21, sec. 173.325 Acidified sodium chlorite solutions) に定められた食肉類への使用基準(文献 1)をもとに、ASC の有効性と安全性を証明するデータがある範囲内で使用基準を設定いたしました。なお、有効性及び残留性のデータは別添「酸性化亜塩素酸ナトリウム(ASC)の有効性及び残留性に関するデータ」にまとめました。

また、今回要請します使用基準改正案と米国連邦規制基準における使用基準との対比は表2のとおりです。

表2. 亜塩素酸ナトリウム<sup>注1</sup>の使用基準改正案と米国連邦規制基準の対照表

改正案			米国連邦規制基準(21CFR173.325) (仮訳)						
使用できる食品等	使用量等の最大限度等	使用制限		使用できる食品	ASC 使用目的・方法	ASC (濃度)	ASC (pH 値)	注釈	
食肉類	食肉、食肉製品(保存品を含む)	0.50～1.20g/kg (pH2.3～2.9) 浸漬液又は噴霧液	最終食品の完成前に分解、又は除去しなければならない 浸漬又は噴霧は30秒以内	食肉類	家禽類のと体、と体の一部 (poultry carcass parts)	予備冷却または冷却のための溶液	0.05～0.15g/kg (50～150ppm)	pH2.8～3.2	
					家禽類のと体、と体の一部 (poultry carcass parts)、内臓、その他関連部位 (related parts or trim)	噴霧または浸漬のための溶液	0.50～1.20g/kg (500～1200ppm)	pH2.3～2.9	
					赤身肉、部分肉、内臓	噴霧のための溶液		pH2.3 <sup>注2</sup> ～2.9	
					赤身肉の部分肉、内臓	浸漬のための溶液			
				加工、細断、成型した食肉製品	噴霧または浸漬のための溶液		pH2.5～2.9	製品の包装前に用いること。	

注 1: 亜塩素酸ナトリウムには、ASC が含まれる。

注 2: 米国連邦規制基準では赤身肉用の ASC の pH 値は 2.5～2.9 だが、米国農務省 (USDA) は米国食品医薬局 (FDA) と協議の上、pH 2.3～2.9 の範囲での実際の使用を認めている (文献 2)。

酸性化亜塩素酸ナトリウム(ASC)の有効性及び残留性に関するデータ

## 1 ASCの有効性に係る試験概要

今回改正を要請する使用基準案の対象食品となる食肉類について、表 1-1 に示されたサンプル、ASC 処理条件、菌の組み合わせで試験を行い、ASC の有効性を確認した。各試験の方法と結果の詳細は 1.1～1.3 のとおり。なお、平成 26 年 4 月 23 日の薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会添加物部会で報告された内容と変更はございません。

**表 1-1 ASC の有効性試験に係る知見の概要**

サンプル	ASC 処理条件	菌	章番号
鶏肉(枝肉)	浸漬(5 秒)または噴霧 1200 ppm、pH 2.3 又は 2.5	一般生菌	1.1.1
鶏肉(枝肉)	浸漬(5 秒) 500～850 ppm、 pH 2.3～2.9	大腸菌群(Coliforms) 大腸菌(E.coli) サルモネラ カンピロバクター リステリア	1.1.2
赤身肉(枝肉)	噴霧(10～15 秒) 1000 ppm、pH 2.3～2.9	一般生菌	1.2.1
加工肉 (フランクフルト・ ソーセージ)	浸漬(10～30 秒) または噴霧(10～30 秒) 1100 ppm、pH 2.5	リステリア	1.3.1

### 1.1 食肉(鶏肉)に対する有効性

#### 1.1.1 一般生菌に対する有効性

①水洗浄した場合(対照)と、②クエン酸で酸性化した 1200 ppm(pH 2.3 又は 2.5)の ASC で処理した(ASC に 5 秒間浸漬後に 30 秒間液切り、又は噴霧後に 30 秒間液切り)場合に、鶏枝肉に残る一般生菌数を比較した(表 1-2)(文献 3)。その結果、ASC 処理した場合はいずれも一般生菌数の減少効果がみられた。

**表 1-2 鶏枝肉の一般生菌に対する ASC の殺菌効果**

処理条件	温度(°C)	水洗浄(対照) (Log <sub>10</sub> CFU/g)	1200 ppm ASC pH2.5 (Log <sub>10</sub> CFU/g)	1200 ppm ASC pH2.3 (Log <sub>10</sub> CFU/g)
浸漬 5 秒間後、 液切り 30 秒間	21.1	2.79	2.03	未実施
	17.3	2.95	未実施	2.13
	26.9	3.51	2.75	未実施
150 ml 噴霧後、 液切り 30 秒間	18.6	2.83	2.30	未実施
	15.0	3.20	未実施	2.67
	25.4	3.57	3.35	未実施

### 1.1.2 大腸菌、大腸菌群、サルモネラ、カンピロバクター、リステリアに対する有効性

①内部/外部鶏洗浄 (IOBW) を 25 ppm の塩素水で行った後、40 ppm の塩素冷却水に浸漬した場合と、②IOBW を 25 ppm の塩素水で行った後、リン酸で酸性化した 500 ppm 又は 850 ppm (pH 2.3~2.9) の ASC に 5 秒間浸漬、30 秒間の液切りを経て、塩素を含まない冷却水に浸漬した場合とで、鶏枝肉に残る大腸菌 (*Escherichia coli*) 及び大腸菌群 (Total coliform count) の数を測定した (表 1-3)。また、サルモネラ属 (*Salmonella* spp.)、カンピロバクター属 (*Campylobacter* spp.) 及びリステリア属 (*Listeria* spp.) についても定性的分析を行った (表 1-4)。その結果、IOBW を塩素水のみでの処理よりも、ASC を加えた処理の方が菌数の減少や検出率が低くなった (文献 4)。

表 1-3 鶏肉の大腸菌群等に対する ASC の殺菌効果

処理	検査対象菌種	IOBW 後の菌数	冷却水浸漬後の菌数	対数減少数
塩素水 (25 ppm、IOBW) →塩素冷却水 (40 ppm)に浸漬	大腸菌群 (total coliform count)	3.91	2.82	1.09
	大腸菌 ( <i>E.coli</i> )	3.72	2.44	1.28
塩素水 (25 ppm、IOBW) →ASC (500 ppm、pH2.3~2.9) 5 秒間浸漬後、液切り 30 秒 →塩素を含まない冷却水に浸漬	大腸菌群 (total coliform count)	5.55	2.58	2.97
	大腸菌 ( <i>E.coli</i> )	5.42	2.24	3.18
塩素水 (25 ppm、IOBW) →ASC (850 ppm、pH2.3~2.9) 5 秒間浸漬後、液切り 30 秒 →塩素を含まない冷却水に浸漬	大腸菌群 (total coliform count)	4.20	1.00	3.2
	大腸菌 ( <i>E.coli</i> )	4.06	0.78	3.28

IOBW = 内部-外部鳥洗浄 (Log<sub>10</sub> CFU/mL)

表 1-4 鶏肉のサルモネラ属等に対する ASC の殺菌効果

処理	検査対象菌種	IOBW 後の検出率	冷却水浸漬後の検出率	増減比
塩素水 (25 ppm、IOBW) →塩素冷却水 (40 ppm)に浸漬	<i>Salmonella</i> spp.	10%	10%	0%
	<i>Campylobacter</i> spp.	40%	70%	+75%
	<i>Listeria</i> spp.	45%	30%	-33%
塩素水 (25 ppm、IOBW) →ASC (500 ppm、pH2.3~2.9) 5 秒間浸漬後、液切り 30 秒 →塩素を含まない冷却水に浸漬	<i>Salmonella</i> spp.	5%	0%	-100
	<i>Campylobacter</i> spp.	5%	15%	+200%
	<i>Listeria</i> spp.	70%	10%	-85%
塩素水 (25 ppm、IOBW) →ASC (850 ppm、pH2.3~2.9) 5 秒間浸漬後、液切り 30 秒 →塩素を含まない冷却水に浸漬	<i>Salmonella</i> spp.	25%	0%	-100%
	<i>Campylobacter</i> spp.	40%	20%	-50%
	<i>Listeria</i> spp.	55%	0%	-100%

## 1.2 食肉(赤身肉)に対する有効性

### 1.2.1 一般生菌に対する有効性

①無処理の場合と、②クエン酸で酸性化した 1000 ppm (pH 2.3~2.9) の ASC を噴霧した場合に、牛枝肉に残る一般生菌数を比較した。その結果、ASC 処理した場合には、一般生菌数に減少効果がみとめられた。また、2 ガロン(7.6 L)で処理したほうが 1 ガロン(3.8 L)で処理より有効であった(表 1-5) (文献 5)。

表 1-5 赤身肉の一般生菌に対する ASC の殺菌効果

処理条件	対照(無処理)	ASC(1000 ppm)
10 秒間噴霧:1ガロン/片側面	2.31	1.49
10 秒間噴霧: 2 ガロン/片側面	2.37	1.21
15 秒間噴霧:1ガロン/片側面	2.23	1.59
15 秒間噴霧: 2 ガロン/片側面	2.43	1.33

菌数(Log10 CFU/cm<sup>2</sup>)、1 ガロン=3.8 L

## 1.3 食肉製品に対する有効性

### 1.3.1 リステリアに対する有効性(ソーセージ)

5 種のリステリア・モノサイトゲネス(*L.monocytogenes* ATCC 13932、49594、43256、51414、7647)を接種したフランクフルトソーセージについて、①無処理(対照群)、②水洗浄、③クエン酸で酸性化した 1100 ppm (pH 2.5) の ASC に浸漬又は噴霧(流量:約 1.33 L/min)処理、それぞれの場合に残る菌数を比較した。その結果、ASC に 15 又は 30 秒間浸漬させるか、30 秒間噴霧することにより、水洗浄に比べて効果的な殺菌効果がみとめられた(表 1-6) (文献 6)。

表 1-6 食肉製品(ソーセージ)のリステリア・モノサイトゲネスに対する ASC の殺菌効果

処理	処理後の菌数	減少菌数
無処理(対照群)	6.08	—
水洗浄	4.75	1.33
ASC 10 秒浸漬	4.62	1.46
ASC 15 秒浸漬	3.94	2.15
ASC 30 秒浸漬	3.33	2.76
無処理(対照群)	6.09	—
水洗浄	5.08	1.01
ASC 10 秒噴霧	4.65	1.43
ASC 15 秒噴霧	4.20	1.88
ASC 30 秒噴霧	3.84	2.24

菌数 Log<sub>10</sub> CFU/ソーセージ

## 2 ASCの残留性に係る試験概要

### 2.1 分析対象化合物

亜塩素酸ナトリウムをクエン酸等の食品グレードの酸の溶液と混合することにより、酸性化した亜塩素酸ナトリウム(=ASC)には、下記の4種類の化合物が生成される。

- ・亜塩素酸イオン( $\text{ClO}_2^-$ )
- ・塩素酸イオン( $\text{ClO}_3^-$ )
- ・塩化物イオン( $\text{Cl}^-$ )
- ・二酸化塩素( $\text{ClO}_2$ )

このうち、ASC処理した食品に残留が考えられ且つ人体への影響が懸念される、亜塩素酸イオン( $\text{ClO}_2^-$ )及び塩素酸イオン( $\text{ClO}_3^-$ )について残留性試験を行った。

二酸化塩素( $\text{ClO}_2$ )は、ASCからの生成量は非常に少ないこと、また生成されたとしても揮発性が非常に高く残留が考えられないことから、分析対象としなかった。なお、ASCからの二酸化塩素の生成量については、米国農務省が、1~3 mg/Lを超えない程度である旨報告している(文献7、JECFA (2008)で引用(USDA (2002))(未公表))。また、二酸化塩素の揮発性については、JECFA等で確認されている(文献7)。塩化物については、食品に本来含まれる塩化物成分に比してごく僅かであることから対象外とした。この点についても、JECFAで確認がなされている(文献7)。

### 2.2 試験サンプルと分析方法の概要

ASCを用いた殺菌処理を想定している食肉類について、ASC処理を施した後に、イオンクロマトグラフィーを用いて亜塩素酸イオン( $\text{ClO}_2^-$ )及び塩素酸イオン( $\text{ClO}_3^-$ )の残留濃度を測定した。試験サンプルと各試験サンプルの分析方法は表2-1にまとめたとおり。

表 2-1 残留性試験のサンプルと分析方法

サンプル	処理条件	分析方法	検出下限値※
赤身肉(牛肉)	浸漬(30秒) 1200 ppm、pH2.5 液切り1~48時間	イオンクロマトグラフィー (「2.3 分析方法」に詳 述)	亜塩素酸:0.025 µg/mL 塩素酸:0.043 µg/mL
鶏肉			

※亜塩素酸及び塩素酸の検出下限値は、抽出液としての検出下限値。

### 2.3 分析方法

#### 2.3.1 分析方法の概要

食品に残留している亜塩素酸塩及び塩素酸は、水により浸出し亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンとしてイオンクロマトグラフィーにより測定する。本試験方法は、EPA(アメリカ合衆国環境保護庁)の公定法である Method 300.1 Determination of Inorganic Anions in Drinking Water by Ion Chromatography に準ずるものである(文献8)。

### 2.3.2 分析条件の設定と機器の調整

分析条件・機器の概要を以下に示す。

検出器:	電気伝導検出器
カラム管:	Dionex/Thermo IonPac AS9-HC (内径 4.0 mm、長さ 250 mm)
溶離液:	12 mmol/L 炭酸ナトリウム、5 mmol/L 重炭酸ナトリウムの混合液
カラム温度:	室温
流速:	1.0 mL/分
試料注入量:	250 $\mu$ L
サプレッサ:	Dionex AERS 500 (4mm)

### 2.3.3 試料及び試料液の調製

#### 2.3.2.1 試料液の調製

40～50 g を目安に切り分けた食品試料を約 1200 ppm の ASC 水溶液 100 mL に 30 秒間浸漬させる。30 秒後、食品試料を ASC 水溶液から取り出し、所定の時間液切りをする。液切り後、食品試料を 100 mL の水に 30 秒間浸漬させ、食品試料表面に付着している亜塩素酸及び塩素酸を抽出する。抽出液に 1 mL のエチレンジアミン溶液を加え、0.45  $\mu$ m のシリンジフィルターでろ過したものを試料液とする。

#### 2.3.2.2 測定

試料液をイオンクロマトグラフに注入し、得られたピーク面積と検量線によって試料液中の亜塩素酸イオン及び塩素酸イオン濃度 ( $\mu$ g/mL) を求め、検体中の亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンの含量 (mg/kg) を計算する。

#### 2.3.2.3 検量線の作成

亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンについて、3 つの濃度とブランク用の検量線標準液を用意し、各検量用標準液のイオン濃度とそれぞれのイオンに相当するピーク面積より検量線を作成する。

## 2.4 食肉における ASC 生成物の残留性試験結果

### 2.4.1 残留性試験結果

食品サンプルは赤身肉及び鶏肉を用いた。実際の使用方法として、食肉が ASC 処理されてから、その食肉が消費者に飲食されるまでに 48 時間以上の間隔があることを考慮し、ASC 処理後の液切りの時間を 1、2、18、22、48 時間取った場合の残留量を分析した。

分析の結果、表 2-2 に示すとおり、赤身肉、鶏肉いずれにおいても、48 時間までに亜塩素酸イオン、塩素酸イオン共に検出下限値を下回った。亜塩素酸イオンは、赤身肉では液切り 1 時間以降で検出下限値未満、鶏肉では液切り 18 時間以降で定量下限値未満、48 時間で検出下限値未満となった。塩素酸イオンについ

ては、赤身肉では液切り 48 時間で検出下限値未満、鶏肉では液切り 18 時間以降で検出下限値未満となった(文献 9)。

表 2-2 ASC 処理した赤身肉及び鶏肉への亜塩素酸イオン及び塩素酸イオンの残留量

30 秒間 ASC に浸漬した赤身肉				
液切り (時間)	試料中の亜塩素酸 イオン濃度 (µg/mL)	検体中の亜塩素酸* イオン含量 (mg/kg)	試料中の塩素酸 イオン濃度 (µg/mL)	検体中の塩素酸* イオン含量 (mg/kg)
1	ND (<0.025)	<0.056	0.66	1.481
2	ND (<0.025)	<0.056	0.29	0.651
18	ND (<0.025)	<0.056	0.10	0.224
22	ND (<0.025)	<0.056	0.10	0.224
48	ND (<0.025)	<0.056	ND (<0.043)	<0.097
30 秒間 ASC に浸漬した鶏肉				
液切り (時間)	試料中の亜塩素酸 イオン濃度 (µg/mL)	検体中の亜塩素酸* イオン含量 (mg/kg)	試料中の塩素酸 イオン濃度 (µg/mL)	検体中の塩素酸* イオン含量 (mg/kg)
1	0.53	1.338	<0.074**	<0.187
2	0.14	0.354	<0.074**	<0.187
18	<0.075**	<0.189	ND (<0.043)	<0.109
22	<0.075**	<0.189	ND (<0.043)	<0.109
48	ND (<0.025)	<0.063	ND (<0.043)	<0.109

\* 試料中各イオン濃度から検体中各イオン含量の換算式:

赤身肉 - 検体中のイオン含量(mg/kg) = 試料中のイオン濃度(µg/mL) × 101(mL) / 45(g)

鶏肉 - 検体中のイオン含量(mg/kg) = 試料中のイオン濃度(µg/mL) × 101(mL) / 40(g)

\*\* 分析方法の定量下限値より低い濃度。

ND = Not Detected、検出下限値より低い濃度。

#### 2.4.2 分析法バリデーションの結果

本残留性試験に用いた分析方法及び装置のバリデーションの結果を表 2-3 に示す(文献 9)。

表 2-3 残留性試験のバリデーション結果

項目	亜塩素酸イオン	塩素酸イオン	判定基準*
装置の精度 (@ 1 µg/mL)	1.64%	4.06%	11%
方法の精度			
ASC 処理赤身肉 (15 秒液切り)	NA**	9.7	11%
ASC 処理鶏肉 (15 秒液切り)	10.1	NA**	11%
方法の精度			
ASC 処理無し赤身肉	10.9%	6.7%	11%
ASC 処理無し鶏肉	7.1%	7.8%	11%
直線性 (試液)	0.025~5 µg/mL	0.0428~21.4 µg/mL	—

項目	亜塩素酸イオン	塩素酸イオン	判定基準*
真度 (鶏肉の洗浄液に亜塩素酸及び塩素酸をスパイクした溶液)	Passed at all concentrations tested 0.075~1.00 µg/mL	Passed at all concentrations tested 0.0736~0.981 µg/mL	70%~120%***
検出下限値	0.025 µg/mL	0.043 µg/mL	—
定量下限値	0.075 µg/mL	0.074 µg/mL	—
耐久性 (Ruggedness)	0.99%	4.84%	5%
頑健性 (Robustness)	1.42%	1.56%	5%

\* 判定基準については、次のウェブページ (Labcompliance “Validation of Analytical Methods and Procedures”) の Table 4.

Analyte concentration versus precision 及び Table 7. Analyte recovery at different concentrations 参照:

[http://www.labcompliance.com/tutorial/methods/default.aspx?sm=d\\_d](http://www.labcompliance.com/tutorial/methods/default.aspx?sm=d_d).

耐久性 (Ruggedness) と頑健性 (Robustness) については、同ウェブページで基準が明確に示されていないため、エコラボ社の社内試験室の基準を採用した。

\*\* Not available: 検出下限値未満

\*\*\* 真度の判断基準は、検体中に含まれる食肉由来の物質によりイオンの存在が不安定であることを考慮し、上記ウェブページで示された 80~110% に対し拡大した基準 70~120% を用いた。

## 引用文献

1. Code of Federal Regulations, Titel 21, Sec. 173.325. Available online at:  
<http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcr/CFRSearch.cfm?fr=173.325> [Accessed on March 24, 2015].
2. United States Department of Agriculture (USDA). Letter responding to the request for a letter of no objection to allow a variance 0.2 units from the target pH of 2.5. 2002.
3. Ecolab. ASC の有効性に関するデータ 食肉類(鶏肉:一般生菌) Experiment No. 012698UA
4. Ecolab. ASC の有効性に関するデータ 食肉類(鶏肉:大腸菌、大腸菌群、サルモネラ、カンピロバクター、リステリア) Experiment No. 050496US
5. Ecolab. ASC の有効性に関するデータ 食肉類(赤身肉:一般生菌) Experiment No. 092399AP
6. Ecolab. ASC の有効性に関するデータ 食肉類(食肉製品:リステリア) Experiment No. 090199KSUA
7. JECFA/WHO. WHO FOOD ADDITIVES SERIES 59 Safety evaluation of certain food additives and contaminants: Acidified Sodium Chlorite. 2008; 3-54.
8. United States Environmental Protection Agency (US EPA). Method 300.1 Determination of Inorganic Anions in Drinking Water by Ion Chromatography. Revision 1.0. 1997. Ohio: US EPA.
9. Ecolab. Chlorite and Chlorate Decay on Meat and Poultry and Validation of Ion Chromatography Method. 2014.