

# 凍結昇圧法による低温殺菌・加工食品の開発

早川 潔\*  
宮島 直人\*\*\*  
河村 眞也\*\*  
上野 義栄\*\*\*

## 【要 旨】

実験用と食品加工用の凍結加圧装置の試作を行った。ピン式の凍結加圧装置は超高压によりピンに歪みが出た。ネジ蓋式はネジ部分よりの内部圧力の漏れが生じた。

にごり酒中の酵母は約 $10^6$  cell/mlの酵母が含まれていたが、-10℃で48時間、-20℃以下で24時間の凍結昇圧処理で検出されなくなった。地ビール中では-10℃以下の温度で24時間凍結昇圧処理をすると酵母は検出されなくなった。ヨーグルト中には約 $10^9$  cell/mlの乳酸菌が含まれていたが、-10℃以下の温度で24時間凍結昇圧処理をすると検出されなくなった。原乳中の混入微生物は-30℃で72時間の凍結昇圧処理を行っても約1/1000が残存した。食品への応用については対象とする菌の種類や食品の成分によって殺菌効果が異なるので個々に検討する必要がある。

## 1 緒 言

1 気圧のもとで氷点下にすると水は凍結により膨張する。水を充填したガラス瓶を密栓し冷凍庫で凍結させると割れるのは、水が凍る時の体積膨張によりガラス瓶内壁に圧力が発生し、瓶が圧力に耐えられなくなるからである。これに類する現象は身近で頻繁に起こっており、実験研究の場だけでなく日常生活も含めて多くの人が体験している。冷凍庫中でビール瓶が割れたり、冬の寒い日に水道管が破裂したりするのは、すべて水の体積膨張が原因である。

著者らはガラス瓶のかわりに割れない容器（耐圧容器）を用いれば容器内部に超高压が発生することを確認し<sup>1,2)</sup>、この方法を新規な超高压の発生

方法として「凍結昇圧法」と名付けた。今回は、凍結昇圧法による実験装置の開発や食品処理用装置の開発、さらに、発生した圧力による食品中の微生物や酵素活性への影響等について検討したので報告する。

## 2 実験方法

### 2.1 実験材料

濁り酒、地ビール、ヨーグルトは市販のものを用了。

牛乳は採乳直後のものを冷蔵保存し、凍結昇圧実験に供した。

### 2.2 凍結昇圧処理方法

試料（菌懸濁液や食品）をプラスチックの袋に入れ図1の小型凍結昇圧容器に入れ、周囲を水で満たし、余分な水をオーバーフローさせながら密栓し、冷凍した。

\* 応用技術課長

\*\* 主任研究員

\*\*\* 技師

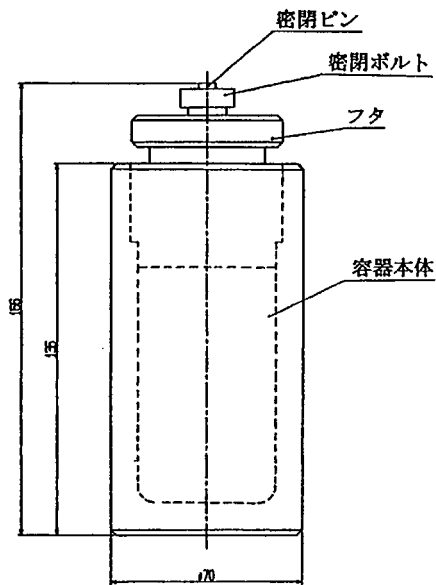


図1 小型凍結昇圧容器

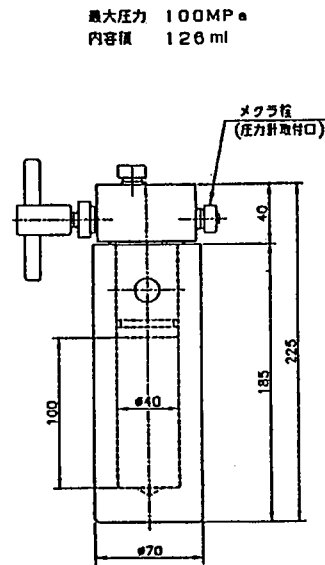


図2 小型ピン式凍結昇圧容器 (125ml)

### 2.3 菌数の測定方法

酵母は麦芽寒天培地、生菌数は寒天培地を用い、希釈平板培養法により測定した。

### 2.4 酵素の抽出および活性の測定法

$\alpha$ アミラーゼ、グルコアミラーゼ、中性プロテアーゼおよび酸性プロテアーゼの抽出活性の測定は国税庁所定分析法<sup>3)</sup>に準じて行った。

## 3. 結果

### 3.1 凍結昇圧用装置開発

#### ①ピン止め式実験用装置の試作と装置の改良

##### 【試作】

(株)テラメックスと共に圧力計付きの実験用装置の試作について検討した。装置の図面を図2、3に示した。

ワンタッチで蓋が開閉できるように本体と蓋に太いピンを差込み固定できるようにした。蓋に取り付けた圧力計の容器内部側先端にはシリコンゴム管を連結し、その管内に不凍液であるエチルアルコールを封入し、容器内部の圧力発生の測定を行った。本装置に蒸留水を充填し凍結したところ、

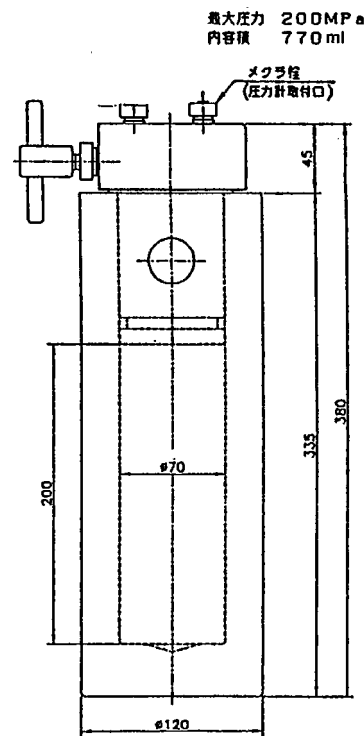


図3 ピン式凍結昇圧容器 (770ml)

- 22 で206MPaの圧力が得られた。

なお、770mlの容器は冷凍庫内部で水を入れ凍結した際に、本体と蓋の摺合わせ部分から内部圧力により水が押し出され、空中で凍結しているのが観察された。また、複数回数の凍結融解により内部圧力は低下した。

凍結昇圧容器 改造項目（蓋部分）

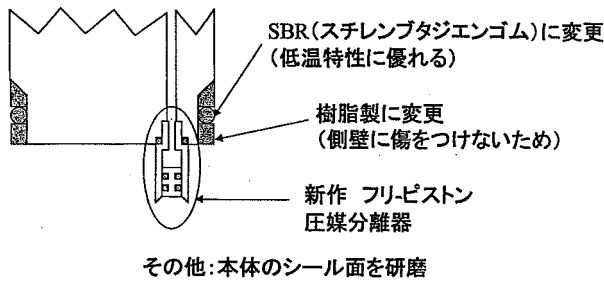


図4 ピン式凍結昇圧容器の蓋の改造

さらに、-30℃に凍結温度を低下させたところピンが歪み、抜けなくなった。温度低下によりさらに高い圧力がかかったためと考えられる。ピンの材質を硬いものに変えることが必要である。

【改良】

図4により蓋部分の改造をおこなった。

-30℃では約2,500気圧発生することが明らかになったので、従来のSUS630のピンに変えて超鋼であるSKD61製のピンを試作した。耐圧試験の結果2,500気圧でも変形を認めず、良好であった。

容器内の凍結水と圧力計内の不凍液（エタノール）を分離するためにフリーピストンを試作した。加圧試験結果は良好であった。圧力計については、歪計を用いるのも一案であるが電源コードが必要であり取り扱いに不便である。比較的安価で電源等を必要としないブルドン管方式が有効である。

Oリングの消耗が激しく、圧力の漏れが生じたので次のような対策を講じた。シール面の密着性を良くするために本体のシールあたり面を研磨した。次に、シール面を傷つけないように蓋の先端部を樹脂製に変更し、さらに、Oリングをバイトン（フッ素系：最低使用温度 -30℃）から、SBR（スチレンブタジエンゴム：最低使用温度 -50℃）製に変更した。

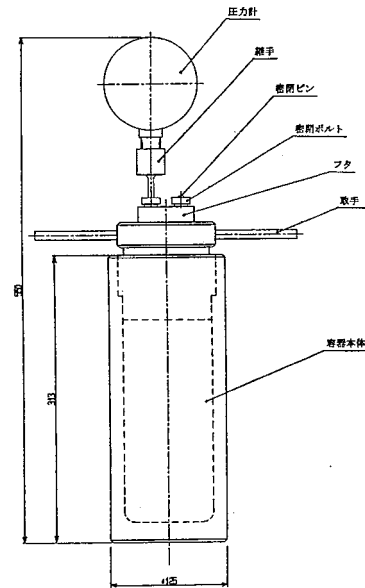


図5 食品加圧用凍結昇圧装置（1L）

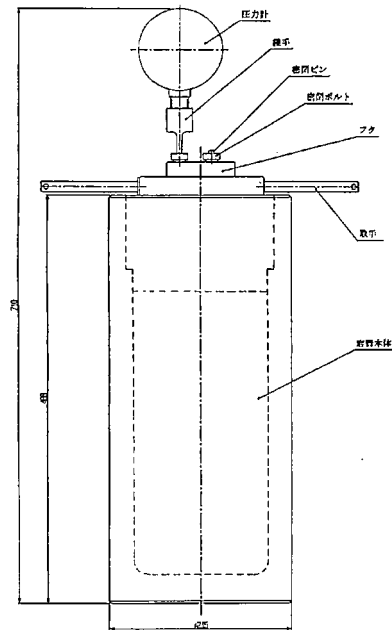


図6 食品加圧用凍結昇圧装置（5L）

②ネジ蓋式食品加工用装置の開発

(株)第一技研およびグンゼ(株)と共同して食品加工用装置の開発について検討した。試験用装置として内容量1L(図5)と5L(図6)の装置を試作した。

当初に試作した1L容器はパッキング部分がなく、蓋をねじ込むことによりネジ溝部分に水が入り込み温度低下初期の段階で凍結し容器は密閉されていた。しかし、この方式ではネジ溝外側に氷

の押し出された痕跡が観察され圧力が漏れ出ること、さらに、容器の融解時には容器の外側のネジ部分から融解が始まるので内部の圧力を遮断することができず、ネジ部分から内溶液が漏出することが観察された。したがって、ネジだけで蓋をする簡易型の容器は良くないことが判った。

図5の1Lの容器は蓋の下部にパッキングが付いており、容器内の液体はそこで遮断されネジ部分へは漏れ出なくなった。蓋の中央部にある空気抜き穴から余分な液体を放出してプラグで止めると内部は完全に密閉される。この容器は-20での冷凍庫内での凍結実験により漏れは認められなかった。容器の内側の低面部分はアールが付いているが、これを直角に加工したものは凍結加圧時に応力の集中が起こり、底が円盤状に抜け、破損した。

図6は食品加工試験用として試作した内容量5Lの耐圧容器である。この容器に水を充填・密封し凍結したところ、凍結に伴う圧力が発生したが、圧力計取り付け部分や蓋のねじ部分から圧力が抜け、所定の圧力に到達しなかった。蓋から圧力が抜ける原因としてはパッキングの密封不足や内圧による蓋の空回り(半回転分)が考えられる。パッキングを改良すると共に蓋の空回りを防止するためのストッパーを取り付けた。

5Lの耐圧容器は約90kgあるため、キャリアーに乗せて移動させる必要がある。このように耐圧容器は容量を大きくすると、装置の重量がほぼ比例して大きくなること、処理に要する時間が長くなること、容器内部の凍結の状態が場所により異なることなど、種々の問題点が想定される。蓋についても今回はネジ蓋式にしたが、クローバー式やフレーム式等も考えられ、大型化につれて開閉の容易な方式を取ることが必要である。さらに、液体用装置では蛇管や集合管方式も考えられ、全

く別方式の凍結昇圧装置として検討が必要である。今後、実用化装置としてどの程度の大型化が可能であるのか、また、技術的、経済的に適正な大きさはどの程度であるのか、さらに検討する必要がある。

### 3.2 食品の凍結昇圧処理

#### ①にごり酒の凍結昇圧処理

にごり酒は日本酒のもろみを荒くろ過し、酵母を加熱殺菌せずに瓶詰めした製品である。生のもろみの旨さを消費者に味わってもらおうとする商品である。当然瓶の中では清酒酵母が生きるので、冷蔵状態に保持しても過度に熟成が進み、また、炭酸ガスが発生し続けて栓を開けたときにシャンパンのように中身が噴き出ることもある。しかし、加熱殺菌してしまうと、生の特徴が失われてしまう。

このにごり酒中の酵母と酵素について凍結昇圧法を用いて不活化することを試みた。図7、表3

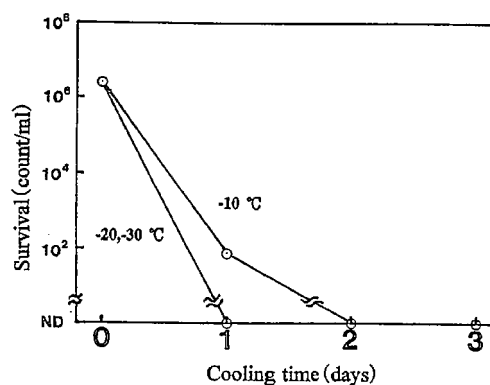


図7 濁り酒の凍結昇圧処理

表1 凍結昇圧処理がにごり酒中の酵素に与える影響

	処理前	1 day	7 day
アマラーゼ(U)	122	17	527
グルコアマラーゼ(U)	111	121	119
中性プロテアーゼ(U)	195	219	91
酸性プロテアーゼ(U)	219	237	278

に示すように、処理前のにごり酒中には $1.1 \times 10^6$ 存在していた酵母が、-20以下で24時間の処理で、-10では48時間の処理で検出されなくなった。酵素については測定結果の変動が大きく、再度検討する必要がある。

### ②地ビール中の酵母の凍結昇圧処理

各地で特徴ある地ビールが製造されているが、菌を除かずに瓶詰めしたものもある。生が特徴であるので加熱殺菌はできない。これも保存中に品質が劣化するので、品質安定化のため凍結昇圧法による地ビールの殺菌を試みた。図8に示すように-10以下で24時間凍結昇圧処理をすると酵母は検出されなくなった。

### ③ヨーグルト中の乳酸菌の凍結昇圧処理

発酵乳の中には品質安定化のために乳酸菌の殺

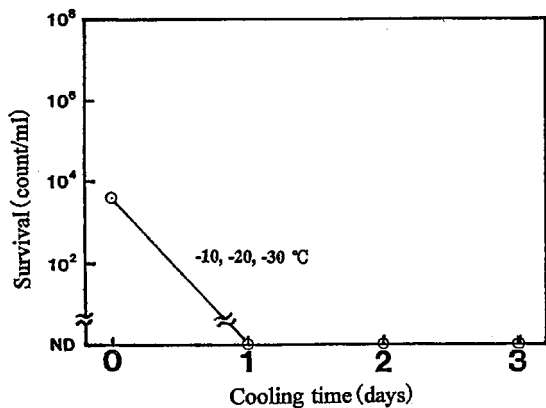


図8 地ビール中の酵母の凍結昇圧処理

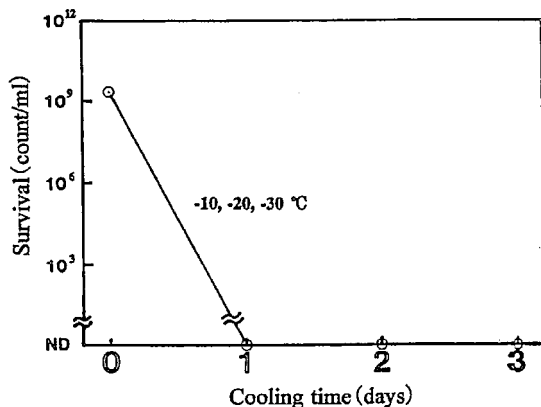


図9 ヨーグルト中の乳酸菌の凍結昇圧処理

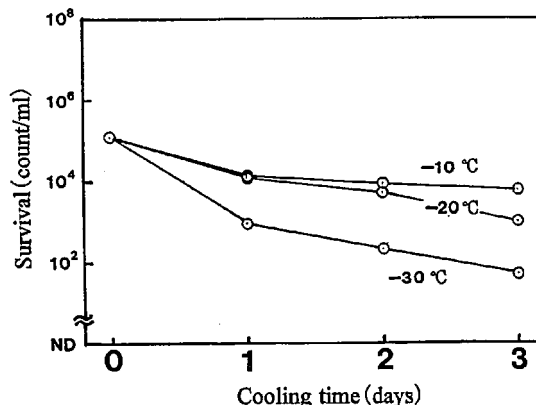


図10 原乳中の混入細菌の凍結昇圧処理

菌処理をしているものが多い。市販ヨーグルト中の乳酸菌の凍結昇圧処理について検討した。-10以下の温度で24時間凍結昇圧処理することによってヨーグルト中に菌は検出されなくなった(図9)。

### ④牛乳中の混入菌の凍結昇圧処理

搾りたての牛乳(原乳)の凍結昇圧処理を行った。-30で1/1000程度に菌は減少したが、滅菌はできなかった(図10)。殺菌効果の少ない理由としては、耐圧性の高い菌が原乳中に多いためか、牛乳成分に由来する特性であるのか(例えば、脂肪球の存在)今後検討したい。なお、凍結昇圧処理により脂肪の分離が起こったため、牛乳の殺菌への適用は難しいと思われる。

## 4. 結 言

実験用と食品加工用の凍結加圧容器の試作を行った。冷却と超高压による歪みのために、容器試作において以下のような問題点が現れた。ピン式の凍結加圧容器は超高压によりピンに歪みが出た。ネジ蓋式はネジ部分よりの内部圧力の漏れが生じた。これらはピンの材質を変えること及びパッキング部分を改良することにより改善できる見通しを得られた。

にごり酒中の酵母は約 $10^6$  cell/mlの酵母が含ま

れていたが、-10 で48時間、-20 以下で24時間の凍結昇圧処理で検出されなくなった。地ビール中では-10 以下の温度で24時間凍結昇圧処理をすると酵母は検出されなくなった。ヨーグルト中には約 $10^9$  cell/ml の乳酸菌が含まれていたが、-10 以下の温度で24時間凍結昇圧処理をすると検出されなくなった。原乳中の混入微生物は-30 で72時間の凍結昇圧処理を行っても約1/1000が残存した。食品への応用については対象とする菌の種類や食品の成分によって殺菌効果が異なるので個々に検討する必要がある。

#### (参考文献)

- 1) K. Hayakawa, Y. Ueno, S. Kawamura, T. Kado, R. Hayashi, Microorganism inactivation using high-pressure generation in sealed vessels under sub-zero temperature, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 50, 415 (1998)
- 2) 早川 潔, 上野義栄, 河村真也: 特許出願: 第169575 (1997)
- 3) 日本醸造協会「第3回改正国税庁所定分析法注解」, 日本醸造協会、1987、p 210