

# 凍結昇圧法による低温殺菌・加工食品の開発

## 「改良装置による低温下での圧力測定と殺菌効果」

早川 潔\*<sup>1</sup>  
宮島 直人\*<sup>2</sup>  
河村 眞也\*<sup>3</sup>  
上野 義栄\*<sup>4</sup>  
松本 雅光\*<sup>5</sup>  
駒居 哲也\*<sup>6</sup>  
大竹 徹\*<sup>7</sup>  
林 力丸\*<sup>8</sup>

### 【要 旨】

凍結昇圧装置については容器の漏れ防止と蓋止めピンの破損防止、圧力伝達装置（フリーピストン）の改良を行った。この改良装置により - 30 ℃ までの各温度での発生圧力を測定し、最大で250MPa（ - 30 ℃ ）が得られた。殺菌については、ウイルスの不活化についても可能性が示された。また、 - 40 ℃ まで測定可能な装置の設計を行った。

### 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圧が発生することを確認し<sup>1-4)</sup>、この方法を新規な超高圧の発生方法として「凍結昇圧法」と名付けた。今回は、前回試作した実験用凍結昇圧装置の改良と超低温凍結昇圧装置の試作設計について検討したので報告する。

### 2. 実験方法

#### (1) 凍結昇圧装置

ピン式についてはテラメックス(株)、ネジ蓋式については(株)第一技研が試作、改良を行った。

#### (2) 凍結昇圧処理

- 
- \* 1 京都府中小企業総合センター 応用技術課長
  - \* 2 応用技術課技師、
  - \* 3 応用技術課主任研究員
  - \* 4 応用技術課技師
  - \* 5 テラメックス(株)
  - \* 6 第一技研
  - \* 7 大阪府立公衆衛生研究所
  - \* 8 京都大学大学院農学研究科

プラスチック袋に入れた試料(菌懸濁液や食品)を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、温度を調整した冷凍庫に入れ、24時間冷凍した。

### (3) 圧力の測定

1 Lのピン式又はネジ蓋式凍結昇圧装置上部に付属したブルドン管方式圧力計により冷凍庫中で圧力を読みとった。

## 3. 結果と考察

### (1) 凍結昇圧装置の改良

#### 蓋固定用ピンの改良

凍結昇圧法では -30℃ で約2,500気圧が発生することが明らかになり、従来のSUS630のピンが曲がり、蓋が取れなくなった。そこで、超鋼であるSKD61を用いてピンを試作した。このピンは凍結昇圧処理で支障なく使えた。ただし、そのうちの一本が10回目の凍結処理中にピン中央部で折れた。今回の破損はピンのみ限定されており、ピンの穴や蓋部分には変形がまったく見られなかった。ピンの破損原因はピン内部への腐食の進行によるものと考えられる。防止法としてはピン表面のクロムメッキ処理が考えられる。

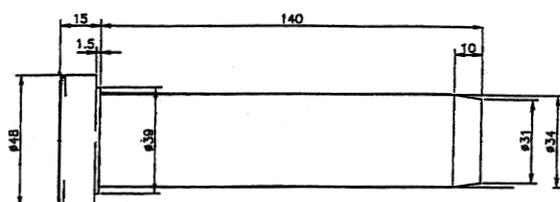


図1 蓋固定用のピン

#### フリーピストンの改良

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(図2)が、繰り返し数回凍結昇圧処理を行うと管内のエタノールが漏れ出し、ピストンの可動距

離が減少した。この状態では一定の圧力以上が測定できなくなるので、エタノールを補充する必要がある。エタノールの代わりに漏れにくい液体としてシリコンオイルをフリーピストンに充填したところ、減少はほとんどなくなり、良好な結果が得られた。圧力伝搬液としてエタノールとシリコンオイルを用いた場合の凍結昇圧結果を図3に示した。両者はほぼ同一の結果が得られた。

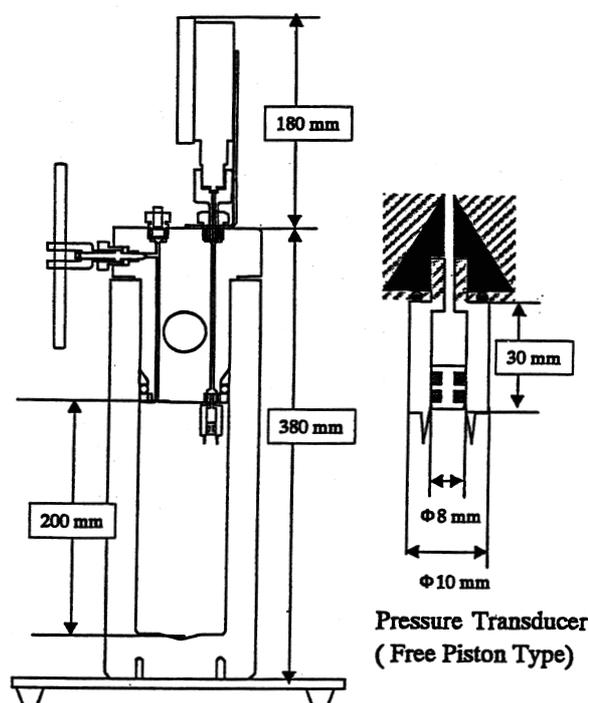


図2 フリーピストン

#### 凍結昇圧時におけるネジ蓋のゆるみ

小型ネジ蓋式凍結昇圧装置(70ml)を図4に示す。SUS630に代えて強度のあるシリコイ鋼を用いて耐圧容器を試作した。SUS630に比較すると容器壁面は2/3の厚さとなり軽量化ができた。圧力上昇によるネジ部分の噛みつきはなくなったが、硬くなったために滑りが起こりネジがゆるんだ。滑り防止のために締め付け金具を用いて蓋のネジを締め付けると滑りはなくなった。

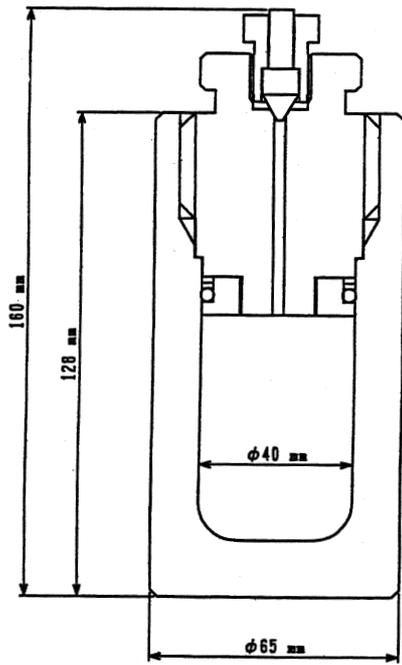


図3 ネジ蓋式凍結昇圧装置

(2) 3重点以下の温度での圧力上昇の測定

前回 -22 以下で発生する圧力を測定し、最大 202MPaを計測した。今回はさらに温度を低下させ -30 までの圧力を計測した。

水の温度と圧力については水の状態図<sup>5・7)</sup>が知られており、この凍結昇圧法による発生圧力はほぼ水 - 氷の平衡曲線上を高圧、低温側へシフトし -22 の3重点へと至っている。前回の測定ではピンの曲がりのため、これ以下の低温での測定はできなかった。今回ピンの材質を代えることにより -30 までの計測が可能となった。

凍結昇圧装置に蒸留水を充填し、空気抜きと水抜きを行い密封後、温度を設定した冷凍庫に入れ、温度平衡に達するように24時間冷却した。凍結により発生した圧力は付属の圧力計により測定し、その結果を図4に示した。冷却温度 -22 までの実測値はBridgmanの水 - 氷の平衡曲線によく一致した。-22 以下の温度では水 - 氷の平行曲線を延長した放物線に沿って圧力はさらに上昇し、-25 で220MPa、-30 で250MPaに達し

た。水の相図では -22 以下の温度で氷 と氷 が共存するとされているが、今回の凍結昇圧による圧力上昇では、-22 以下においても圧力が上昇し、膨張する氷である氷 が生成し続けることが明らかになった。

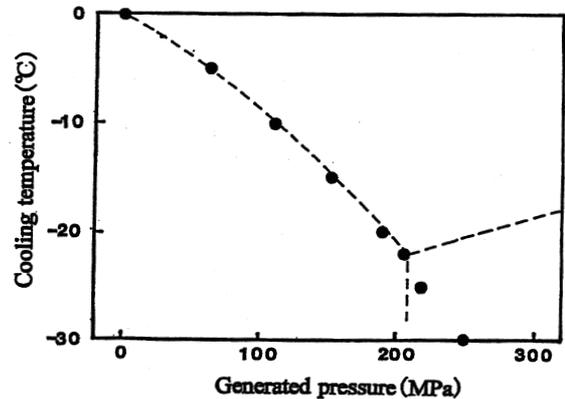


図4 凍結昇圧法による圧力上昇

(3) 低温用凍結昇圧装置の設計

-30 においても圧力上昇が起こるので、さらに低温における到達圧力を計測し、低温下での圧力発生メカニズムを明らかにするために、耐低温 -40、耐圧400MPaの凍結昇圧容器の設計をテラメックス(株)で行った(図5)。材質はSUS630製で歪みゲージ圧力計を内蔵し、内部の凍結状態を観察し、氷の生成が観察できるように光学窓を

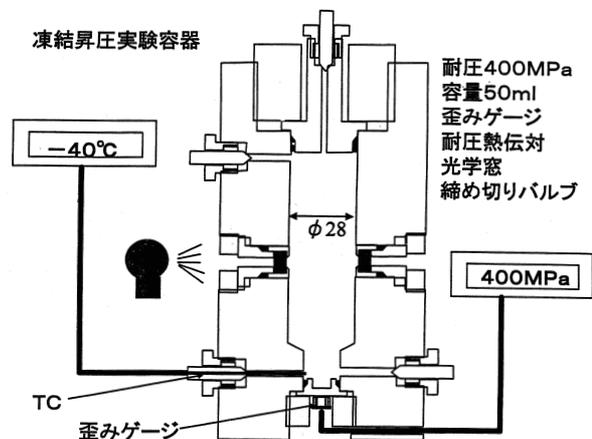


図5 低温対応の凍結昇圧装置

を具えている。この圧力と温度が連続的に記録可能である。現在、試作中である。

#### (4) ウイルスの凍結昇圧による無毒化

凍結昇圧法によるHIVの無毒化についての共同研究の要旨を紹介する。この研究課題はけいはんな地域研究開発促進拠点支援事業の中で共同研究として大阪府立公衆衛生研究所を中心として取り組んでいる。現在、判明している点は - 30 、24時間の凍結昇圧処理によりHIVの感染性がなくなる。しかし、逆転写酵素活性は10%程度残存する。感染性がなくなるのはウイルスエンベロープの変性によるものと考えられる。今回はHIV実験室株と野生株について検討したが、双方ともに感染性を失った。ちなみに、ポンプ式の超高压装置での室温における処理結果では500MPaにおいても感染性は残存していた。

#### 4 . まとめ

- (1) ピン止め式凍結昇圧装置の改良を行った。ピンの曲がり防止のために材質をSUS630から超鋼として知られるSKD61に代えて一応の効果は得られた。
- (2) しかし、SKD61のピンは凍結昇圧処理を10回程度行くとピンが破断した。破断対策としては表面をメッキすることを考えている。
- (3) フリーピストンの圧力計側にエタノールの代わりに蒸発の少ないシリコンオイルを用いたところ良好な結果が得られた。
- (4) 凍結昇圧容器の素材をSUS630からシリコロイ鋼にしたところ容器の厚さを減少させることができ、軽量化が図れた。しかし、新たな問題として、内部圧力の上昇によりネジが滑りゆるみが生じた。
- (5) - 22 以下の低温領域での圧力上昇は、 - 25 で220MPa、 - 30 で250MPaが得られた。

(6) - 30 以下での圧力上昇の測定と凍結状態の観察のため、光学窓をそなえた低温用凍結昇圧装置を設計した。

(7) 凍結昇圧処理は懸濁水中のウイルス不活化に有効であった。

#### (参考文献)

- 1) 早川 潔、上野義栄、河村真也：特許出願：第169575 ( 1997 )
- 2) 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 )
- 3) 早川 潔、上野義栄、河村真也、嘉戸朋之、林 力丸：高圧生物学と高圧技術、鈴木敦士、林 力丸編、さんえい出版、pp.197 ( 1997 )
- 4) 玉岡恭子、森下 誠、松本雅光、河井昭治、早川 潔、林 力丸：高圧バイオテクノロジー、功刀 滋、林 力丸編、さんえい出版、pp.233 ( 1998 )
- 5) P. W. Bridgman, *Water in the liquid and five solid forms under pressure*, *Proc. Amer. Acad. Arts Sci.*, 47, 466 ( 1912 )
- 6) 鈴木啓三「水および水溶液」共立出版、東京、1980、pp . 46
- 7) 狩野征明、羽根 弘、蒔田 薫、低温における水と氷の挙動、「高圧バイオサイエンス」、林 力丸編、さんえい出版、京都、1994、pp . 2