

凍結昇圧法による低温殺菌・加工食品の開発*

藤 本 恭 史**
早 川 潔***
河 村 眞 也****
宮 島 直 人**

[要 旨]

凍結昇圧装置を用いた低温高圧殺菌の効果と蛋白変性について調べることを目的とし、酵母を用いた処理圧力到達時での殺菌効果と卵白を用いた蛋白変性について検討した。

装置内圧力が50MPa、100MPa、150MPaの各圧力に到達した時点で処理を止め、菌数を調べた結果、酵母は50MPaで50%、100MPaで90%、150MPaで100%が死滅していた。

卵白は100MPa以下では変性しなかったが、150MPaで変性し、やわらかなゲルを形成した。また、凍結昇圧処理では卵白はスポンジ状の固いゲルを形成するが、グルコースを添加することで均一なゲルとなり、グルコースの添加量が増すに従って軟らかいゲルが得られた。

1. 緒 言

大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、水が凍るときの体積膨張によりガラス瓶内壁に圧力が発生し、ビン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に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代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¹⁻⁴⁾、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を用いて圧力による殺菌効果と卵白の蛋白変性について検討したので報告する。

2. 実験方法

2. 1 凍結昇圧処理

プラスチック製の袋に入れた試料（菌懸濁液など）を凍結昇圧容器に入れ、容器内を水で満たして気泡を抜いた後、余分な水をオーバーフローさせながら密栓し、温度を調製した冷凍庫中に入れ冷凍した。

2. 2 圧力の測定

容量770mlのピン式凍結昇圧装置上部に付属したブルドン管方式圧力計の指針値を冷凍庫中で読みとることで行った。

* : 本研究報告は、けいはんなRSP事業可能性試験として実施したものです。

** : 研究開発課 技師
(現 宇治保健所 環境衛生課 技師)

*** : 研究開発課 課長

**** : 研究開発課 主任研究員

2. 3 殺菌効果測定

酵母培養液について -20°C で凍結昇圧処理を行い、凍結昇圧装置内圧力が50MPa、100MPa、150MPaに達した時点で冷凍庫から装置を出し、加温して速やかに圧力を下げた。YM寒天培地で 30°C 48時間培養後、各圧力段階での酵母菌数を測定し、圧力と菌数との関係を調べた。

2. 4 卵白の蛋白変性試験

卵白は卵黄と分離してカラザを取り除いた後、泡立たないように1900rpm 5分間ホモジナイズ処理をし、均一化して使用した。卵白を凍結昇圧処理し、装置圧力が50MPa、100MPa、150MPaに達した時点で冷凍を止め、処理後の卵白を測色色差計で測定し、色変化により凍結昇圧圧力と蛋白変性についての関係を調べた。

また、卵白重量の5%、10%、15%、20%、25%及び30%量のグルコースをそれぞれ添加してグルコース添加量の異なる卵白を調製した後、 -30°C に温度調節した冷凍庫中で12時間凍結昇圧処理し、グルコース添加量と蛋白変性の関係について調べた。

3. 結果と考察

3. 1 酵母の殺菌

酵母菌数は、凍結昇圧処理により処理前の菌数と比較して50MPaで50%、100MPaで90%、150MPaで100%の減少となった(図1)。凍結昇圧装置は氷の体積膨張を利用しているため冷凍を止め、直ちに大気圧に開放することはできないので温風で装置を暖めて解凍を行い圧力を下げた。開放までに150MPa試験で30分を要した。これまでの研究結果から酵母、乳酸菌、大腸菌、カビは -20°C (190MPa)24時間の処理で死滅することが確認されているが、この結果により酵母について

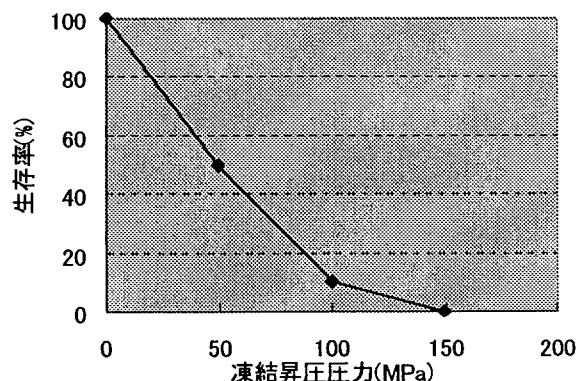


図1 凍結昇圧圧力と酵母生存率

は150MPa以上の圧力に達すれば短時間で死滅することが確認できた。

3. 2 凍結昇圧圧力と卵白蛋白の変性

卵白の蛋白は、高圧処理により変性すると白色のゲルを形成する。この性質を利用して処理圧力と蛋白変性について調べた。50MPaと100MPaまでの処理では処理前の卵白と外見に変化はなく、蛋白の変性は見られなかったが、150MPaでは蛋白が変性し、やわらかな白色ゲルを形成した(図2)。測色色差計で測定した結果、 $L^*a^*b^*$ 表色系で明度を表す L^* 値に白色ゲルの形成による大きな変化があり、赤～緑軸の a^* 値と黄～青軸の

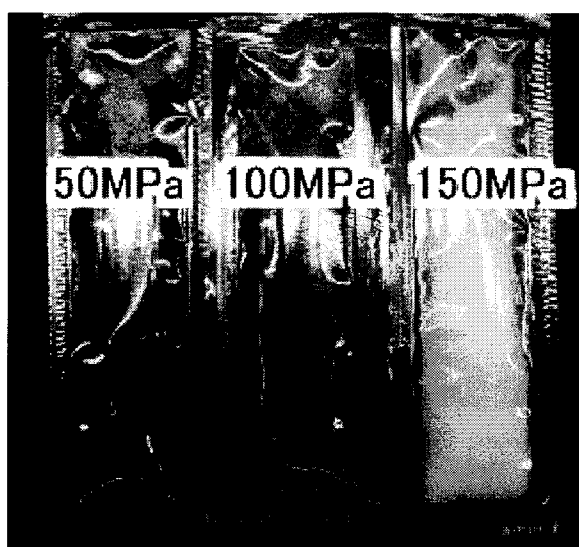


図2 処理圧力と卵白の蛋白変性

b* 値には大きな変化はなかった（表1）。

表1 測色色差計結果（Lab系）

	L*	a*	b*
50MPa	36.99	-1.09	3.57
100MPa	34.96	-0.9	2.46
150MPa	66.04	-3.79	-0.76

3. 3 グルコースの添加と卵白淡白の変性

卵白は、10%が蛋白で残りの90%が水分である。卵白のみを凍結昇圧処理すると水分が氷結晶を形成することで蛋白と分離してしまい、高野豆腐のようなスポンジ状のゲルとなるが食感が悪く食品には適さない。そこで、氷結晶の形成を阻害するためグルコースを添加し、蛋白変性とゲル化への影響を調べた。

グルコース添加なしの卵白では、水分が分離し、スポンジ状のゲルが得られた。グルコースを5%添加した卵白では、少量の水分の分離が見られたが均一なゲルが得られた。これは水分が氷結しはじめた段階で残りの部分が濃縮されグルコース濃度が上がったからと考えられる。10%、15%、20%、25%添加した卵白は均一なゲルが得られ水分の分離は見られなかった。また、グルコースの添加量が増えるに従いやわらかいゲルとなり25%添加では流動性のゲルとなった。30%添加した卵白では若干の白濁はみられたがゲルにならなかった（図3）。

各サンプルについて測色色差計で色を測定し、レオメータで剃刀型プランジャーを用いて幅3mm厚さ2mmのゲルの切断応力を測定した（表2）。

L* 値は添加量が15%まではほぼ値に変化はなく、15%を超えると値が小さくなりゲルに透明感が生じる。切断応力はグルコース5%添加で添加なしから半減し、10%まではほぼ変わらなかったが、10%を越えると急速に小さくなった。97°C15

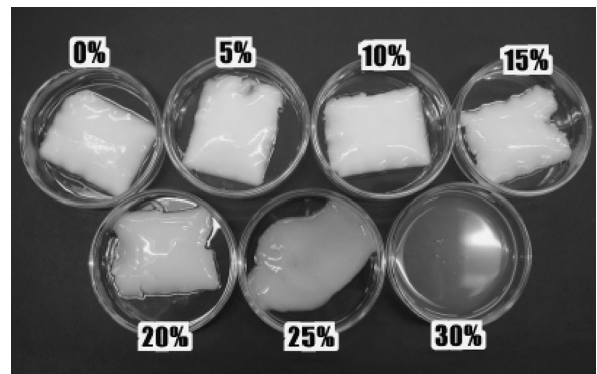


図3 グルコース添加卵白の凍結昇圧処理

表2 L* 値と切断応力

	L* 値	切断応力(g)
グルコース添加なし	85	420
5%添加	88	190
10%添加	84	180
15%添加	83	55
20%添加	73	9
25%添加	54	0
30%添加	40	0
未処理	37	
ゆで卵		23
グミキャンディ		310

分間で作製したゆで卵の白身の切断応力は23gで凍結昇圧のゲルの値と比較してかなり小さく、切断されやすいゲルである。凍結昇圧ゲルに弾力性やかたさが感覚的に似ている食品としてグミキャンディを測定したところ切断応力は310gであった。

今回の結果からは、L* 値と切断応力には相関は見られなかった。これはグルコースの添加が大きく影響したと思われるため、さらに行うとすれば卵白のみについて一定圧力での処理時間の長さやゲル状態での検討するなどが考えられる。

また、常圧、-30°Cで冷凍したところ各卵白はいずれも凍結したが、解凍により元の状態に戻り、凍結による蛋白の変性はないことを確認した。

(4) ピンの破断

-30℃ (250MPa) 試験時に表面処理を施した SDK61 製のピンが破断し、急激な圧力変動が原因と考えられる装置付属の圧力メーターの故障が生じた (図 4)。以前のピンの破断事例では、表面の腐食でできたピンホールからのピン内部への腐食進行が原因と考えられピン表面の硬質クロムめっきで耐食処理を施した。しかし、今回の破断も前回と同じ位置であり、高圧時に最も力の集中が考えられる箇所である。これらのことから、破断は腐食よりもピンの材質とピンへの負荷が大きな原因であると考えられる。



図 4 破断したピン

4. 結 言

酵母は-20℃で凍結昇圧処理の圧力が150MPaに達すれば100%の菌が死滅することが確認できた。これは高圧と低温の相乗効果によるものと思われる、150MPaでの高圧処理や-20℃での凍結を単独で行うよりも非常に効果が高い。食品に適用する場合、菌の種類や食品の成分などにより検討が必要と思われるが、非加熱で風味を生かした食品の殺菌方法として有効と考えられる。

卵白の蛋白は、常温での高圧処理ではゲル形成に600MPa必要であるが凍結昇圧法では150MPa

でゲル形成が確認された。また、卵白のみでは水分とタンパク質が分離して食感の悪いスポンジ状ゲルとなることが問題であったが、グルコースの添加により防ぐことができた。凍結昇圧を食品加工に利用するには、冷凍食品と同様に味覚の劣化の原因である氷結晶の成長を抑えることが重要と思われるが、グルコース以外の塩分や調味料を添加で水分をコントロールすることで氷結晶の成長抑制と食品の調味を行い、凍結による高圧を利用した食品を製造できると考えられる。

(謝 辞)

本研究を遂行するにあたって、御指導をいただきました京都大学大学院農学研究科教授の林力丸先生に深謝いたします。

(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 in activation 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：高圧生物化学と高圧技術、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)