

凍結昇圧法を用いた京都食材の菌増殖抑制効果の検証

植 村 亮 太^{*1}

上 野 義 栄^{*2}

前 田 一 輝^{*3}

石 原 裕 晃^{*4}

大 槻 心 平^{*5}

杉 浦 弘 忠^{*6}

早 川 潔^{*7}

【要 旨】

京都ブランドである京都宇治の高級茶葉である玉露・碾茶の水出し飲料の凍結昇圧法による菌増殖抑制効果の検証を実施し、冷蔵保存条件で2ヵ月間菌の増殖を抑制できることが確認された。

CFRP 製耐圧容器試作品で凍結昇圧実験を試み、既存の凍結昇圧容器には及ばないものの一定の高圧が発生することが確認できた。

1 はじめに

加工食品は加熱殺菌やろ過除菌が施されているが、これらの方法は食中毒や腐敗・変敗等の原因になる菌を抑制する一方で、食材そのものが持つ風味が損なわれたり、食感を活かすための固形物が除去されることにより、食材が本来持っている特長を維持したまま加工するのが困難な場合がある。

凍結昇圧法は当センターが発明した技術で耐圧

容器と冷凍庫があれば簡単に高圧（約 230 MPa）を発生できる技術である。通常、水は凍結により膨張するが、耐圧容器内で容積一定の状態の水を凍らせると容器の内部に高圧が発生する。この高圧を利用し、細菌、酵母、カビ等の微生物を殺菌することができる^{1~3)}。

本研究では、凍結昇圧法を用いて京都ブランドである京都宇治の高級茶葉である玉露・碾茶の水出し茶を殺菌することによる菌増殖抑制効果の検証を行った。

また、凍結昇圧法をより安価・簡便に応用するための試みとして、耐圧容器の小型軽量化を目指し、CFRP 製耐圧容器の試作検討を行った。

2 実験方法

2. 1 凍結昇圧法による茶葉抽出液の菌増殖抑制効果の検証

2. 1. 1 茶葉抽出液の作製

茶葉抽出液（水出し茶）は京都府宇治産の玉露 10 g または碾茶 10 g に対して、市販の天然水

- * 1 中丹技術支援室 副主査
(現 ものづくり振興課 副主査)
- * 2 応用技術課 主任研究員
- * 3 中丹技術支援室 主任研究員
- * 4 応用技術課 技師
(現 山城北保健所 技師)
- * 5 中丹技術支援室 主事
(現 綾部市役所)
- * 6 中丹技術支援室 嘱託
(現 中丹技術支援室 会計年度任用職員)
- * 7 京都府中小企業特別技術指導員

(軟水) 500 mL を注ぎ、10 °C で 18 時間静置した後、茶漉しで濾して作製した。

2. 1. 2 茶葉抽出液の凍結昇圧

茶葉抽出液を真空パック後、凍結昇圧装置 (図 1) を用いて一晚凍結昇圧処理を施した。



図 1 凍結昇圧装置

2. 1. 3 茶葉抽出液の保存試験

無菌的に真空パックを開封し、凍結昇圧処理を施した茶葉抽出液を 5 mL ずつ試験管に分注し、10 °C で一定期間冷蔵保存後に一般生菌数を測定した。また、凍結昇圧処理を施していない茶葉抽出液も同様に一般生菌数を測定した。

抽出直後の茶葉抽出液、凍結昇圧処理直後の茶葉抽出液、凍結処理後 10 °C (遮光真空パック) で 1 ヶ月保存した茶葉抽出液の官能試験を実施した。

2. 1. 4 種々の方法による芽胞発芽促進および芽胞菌殺菌率向上の検討

一部の芽胞には、煮沸した後、室温で放置し、再び煮沸する作業を繰り返すこと (間欠殺菌) が有効とされている。本研究では煮沸のように加熱される方法以外で、芽胞の発芽を促進し、芽胞菌の殺菌率が向上する方法を探索するために、凍結昇圧処理を 2 回もしくは 3 回繰り返す方法、凍結昇圧処理前に超音波処理を施す方法、凍結昇圧処理前に 10 °C、20 °C、30 °C で一定時間 (1

時間～28 時間) 保存する方法の 3 つの方法について検討を行った。

2. 1. 5 油圧式超高压加工装置による菌増殖抑制効果の検証

油圧式超高压加工装置 (ハイパーバーリック社製) を用いて、茶葉抽出液を室温にて圧力 600 MPa で 3 分間処理し、初発および 10 °C で 15 日間保存後の一般生菌数を測定した。比較のために圧力処理を施さない茶葉抽出液も同様に一般生菌数を測定した。

2. 2 CFRP 製耐圧容器の試作検討

2. 2. 1 試作容器の設計

当センターで開発された凍結昇圧容器 (図 1) の外形は、高さ 380 mm、外径 120 mm、内径 75 mm で重量 30 kg となっている。凍結昇圧の原理は単純なため、操作は容易で誰にでも扱える一方で、大きさや重量の面から使用しにくいなどデメリットがある。そこで、今回は一般的な冷凍室で利用できるような軽量化、小型化の検証を行った。

形状については、压力容器の場合、円筒形状が一般的によく用いられる。応力集中を避け、内容量を確保しやすく、また加工面からも円筒形状を用いることが多い。ただ周方向応力を考えた場合、円筒形状より、中空球形状の方が有利であることが計算上求まる。

中空球形状の压力容器を検証する場合、容器に発生する周方向応力 (σ) は、圧力 (P) と外径 (r_{out}) と内径 (r_{in}) により次式で表せる⁴⁾。

$$\text{周方向応力 } \sigma = \frac{P \cdot r_{out}^3}{(r_{out}^3 - r_{in}^3)} \left(1 + \frac{r_{out}^3}{2 \cdot r_{out}^3} \right)$$

内径が小さいほど、また内径と外径の差 (厚み) が大きいほど容器に発生する応力が小さくなる。そこでサンプルを入れる体積を確保できる内径を $\phi 40$ mm、水を封入できる O リングを取り付ける

ため厚み5 mm とし、図2のとおり球形状で試作を行った。また、使用する材料は軽量化を図るため、3Dプリンタ（材質：PMMA）で形状を作成し、炭素繊維を巻きつける構造とした。

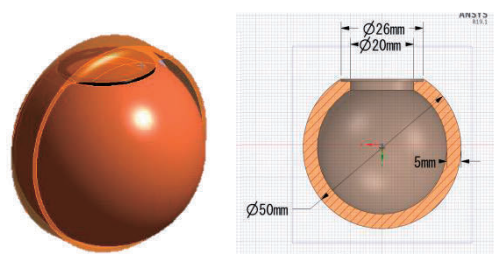


図2 凍結昇圧用容器改良

2. 2. 1 試作容器による凍結昇圧実験

容器内を水道水で満水にし、 -20°C の環境で約2時間放置し、凍結昇圧が発生するかを確認する。容器は炭素繊維の有効性を見るために、樹脂単体の容器と炭素繊維の巻いた容器の2種類を用いた。圧力の確認方法として、市販されている圧力シート（プレスケール®※）を用い、それを専用治具の面で挟み込むようにし、容器内圧に対して、圧力シートが反応するように行った。今回は10 MPa, 50 MPa のスケールのシートを使用した。※プレスケールは推奨使用範囲外であるが、圧力上昇の目安として検証して使用。

3 結果及び考察

3. 1 凍結昇圧法による茶葉抽出液の菌増殖抑制効果の検証

3. 1. 1 菌増殖抑制効果

玉露および碾茶のいずれの茶葉抽出液においても凍結昇圧処理を施さない場合は一週間程度で菌は増殖したが、凍結昇圧処理を施した茶葉抽出液では2ヵ月間一般生菌数は30 cfu/mL未満のまま菌は増殖せず、凍結昇圧処理により茶葉抽出液の菌増殖抑制効果があることが確認された（図3）。抽出直後および凍結昇圧直後の茶葉抽出液中の一

般生菌数は30 cfu/mL未満ではあったが、無菌ではなかった。また、凍結昇圧直後の茶葉抽出液から検出された菌は芽胞菌であった。

以上から凍結昇圧法による玉露および碾茶の茶葉抽出液の菌増殖抑制効果は、凍結昇圧処理によって芽胞菌を死滅させることはできないが、栄養型は損傷し、 10°C 冷蔵保存中に芽胞が発芽しないために菌の増殖が抑制されたものだと考えられる（芽胞菌の不活性化）。

官能試験は少人数で実施したため、統計的評価には至っていないが、抽出直後の茶葉抽出液に対して凍結昇圧処理直後の茶葉抽出液では品質の変化は感じられなかった。凍結昇圧処理後1ヵ月冷蔵保存した茶葉抽出液は、玉露の場合には鮮やかな緑から少し褐変し、風味の変化は感じられたが、美味しいと感じる品質が維持されていた。一方、碾茶の場合には大きく褐変し、美味しいと感じる品質が維持されなかった。凍結昇圧法による菌の不活性化により菌による腐敗・変敗は抑制できているが、酸化による変化が冷蔵保存後の品質変化の原因になっていると考えられる。

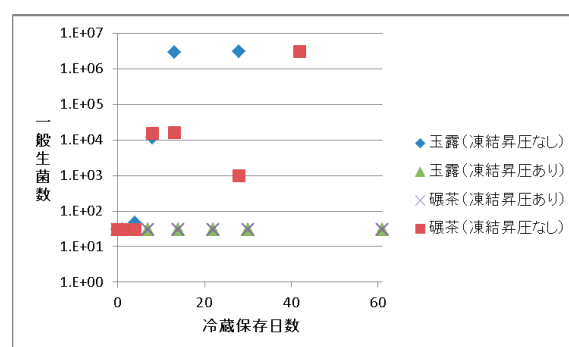


図3 冷蔵保存後の一般生菌数

※30 cfu/mL未満は30 cfu/mLとしてプロットした。

3. 1. 2 種々の方法による芽胞発芽促進および芽胞菌殺菌率向上の検討

今回検討した3つの方法はいずれも芽胞発芽促

進および芽胞菌殺菌率向上の効果はみられなかった。

3. 1. 3 油圧式超高压加工装置による菌増殖抑制効果の検証

玉露茶葉抽出液および碾茶茶葉抽出液のいずれの試料についても初発（高压処理なし）、初発（高压処理あり）、15 日後（高压処理あり）の一般生菌数は 30 cfu/mL 未満であったが、それぞれ無菌ではなかった。また、15 日後（高压処理なし）の一般生菌数は玉露茶葉抽出液で 510 cfu/mL、碾茶茶葉抽出液で 1300 cfu/mL と菌数の増加が確認された。

このことから油圧式超高压加工装置による高压処理(600 MPa、3 分間)によっても凍結昇圧法と同様に芽胞菌が不活性化していると考えられる。

3. 2 CFRP 製耐圧容器の試作検討

樹脂単体容器の場合、1 時間程度で容器全体が破断し、圧力シートの反応も無かった。破断された破片から低温による材料の脆性破壊を起こしていると考えられる。

炭素繊維を巻いた容器では容器は壊れることがなかった。圧力シートが 10 MPa 以上まで反応を示したが、50 MPa は無反応であった。圧力が上がらない原因として、水が膨張する際に蓋をした部分を中心に膨張をしたためと考えられる。次に膨張を抑制するため、蓋部分をバイスでの固定した場合、口付近の樹脂が破損し一部、内封された水が外に出た。そのときの圧力は 10 MPa 以上の反応は出ているが 50 MPa は無反応であった。

一部の樹脂部材に巻きつけられない部分があるため、その部分に関しては再考する必要がある。容器に炭素繊維を巻きつけることにより、樹脂の容器の破断は抑えられることがわかった。



図4 凍結昇圧後の容器
(左：樹脂単体、右：炭素繊維巻)

4 まとめ

茶葉抽出液（水出し茶）の保存性を高めるために凍結昇圧法を用いた菌増殖抑制効果を検証し、2 ヶ月間菌の増殖を抑制する効果を確認した。

この菌増殖抑制効果は茶葉抽出液中の菌のうち芽胞菌以外の菌は死滅し、芽胞菌は芽胞が残るものの冷蔵保存中に発芽することなく、菌の増殖を抑制できたものだと考えられる。

CFRP 製耐圧容器の試作を行い、凍結昇圧実験を行ったところ、既存の凍結昇圧装置（図1）で発生する 230 MPa には到達しなかったものの数十 MPa 程度の圧力が発生したと考えられる。容器形状や炭素繊維の巻き方については検討の余地がある。

(参考文献)

- 1) 早川 潔, 宮島 直人, 河村 眞也, 上野 義栄: 京都府中小企業総合センター技報, No.28, p33 (2000)
- 2) 早川 潔, 宮島 直人, 河村 眞也, 上野 義栄, 松本 雅光, 駒居 哲也, 大竹 徹, 林 力丸: 京都府中小企業総合センター技報, No.29, p59 (2001)
- 3) 上野 義栄, 原口 健司: 京都府中小企業総合センター技報, No.33, p56 (2005)
- 4) 社団法人日本機械学会: 機械実用便覧, 丸善株式会社, p128 (1990)