

# 超高压処理を用いた冷凍食品の品質保持技術の確立

— 加圧及び冷凍処理が食品の殺菌に及ぼす効果 —

木村 英生・辻 政雄

## Technical Development of Sterilization in Frozen Foods by High Pressure Treatment

— Effect of Pressure and Freezing Treatment on Sterilization of Foods —

Hideo KIMURA and Masao TSUJI

### 要 約

高压処理を冷凍前処理に利用し、加圧と冷凍とを組み合わせた冷凍食品の殺菌技術について検討した。今回は食品汚染の指標菌である大腸菌 (*Escherichia coli*) を対象として加圧及び冷凍処理による殺菌率を検討したところ、加圧-冷凍処理は加圧処理単独よりも殺菌効果が大きかった。次に加圧-冷凍処理による殺菌に及ぼす食品成分 (塩、糖) やpHの影響を検討した。塩は殺菌を促進する傾向を示し、糖は殺菌を弱める傾向を示した。またpH4.3、6.0、7.0及び8.0の条件下では、pH4.3で最も高い殺菌効果を示した。

### Abstract

Effect of pressure and freezing treatment on sterilization of *Escherichia coli* was examined. Pressure and freezing treatment was more effective than pressure treatment for sterilization of *Escherichia coli*. When *Escherichia coli* was sterilized in any solution of water containing NaCl or sucrose, the effect on sterilization was increased in NaCl containing solution and was decreased in sucrose containing solution. In solution of pH 4.3~8.0, the most effective sterilization of *Escherichia coli* was found at pH 4.3.

### 1. 緒 言

高压処理は、食品の殺菌に利用した場合、加熱による殺菌に比べ食品そのものの風味を保持するが、微生物を完全に死滅させるには、常温、400MPa、20分の処理が必要<sup>1)</sup>とされている。しかし、このような高い圧力で使用できる処理装置は高価であるため、食品での実用化が進まない<sup>2)</sup>状況にある。

微生物の完全死滅には400MPa以上が必要であるが、これより低い圧力下でも微生物の細胞膜の構造は障害を受けているとされている<sup>3)</sup>ので、さらにこれを冷凍処理すれば、氷結晶形成により更なるダメージを与えることができると考えられる。

前回の報告では高压処理装置を冷凍前処理に利用し、できるだけ低い圧力での加圧と食品の保存に幅広く用いられている冷凍を組み合わせた冷凍食品の品質保持技術の確立を目的として、主に酵母についての殺菌効果を検討した<sup>4)</sup>。

今回は、微生物の中でも加工食品に対して特に厳しい規制のある大腸菌を加圧-冷凍処理の対象とした。大腸菌は食品から検出された場合その食品は不衛生とみなされ出荷は認められない。従って、加圧-冷凍処理を食品の殺菌に

利用しようとするならば、処理条件及び効果を正確に把握しておかなければならない。

ここでは加圧及び冷凍処理の諸条件を検討し、さらに食塩、糖及びpHの殺菌効果に及ぼす影響について検討した。

### 2. 実験方法

#### 2-1 試料調製

供試菌として、大腸菌 *Escherichia coli* JCM 1649を用いた。液体培地 (Nutrient Broth: ペプトン 5 g, 肉エキス 3 g, NaCl 5 g/蒸留水 1 L) を用いて37℃、24時間前培養した。培養後、遠心分離して集菌し、生理食塩水または食塩濃度、糖 (スクロース) 濃度及びpHを調整した殺菌水中に菌数が $10^7 \sim 10^8$  CFU/mlとなるように調製した。この微生物懸濁液約 6 mlを紫外線殺菌したプラスチック容器に密封した。

#### 2-2 加圧処理

高压処理装置は三菱重工 (株) 製MFP-7000 (最高使用圧力 700MPa) を用いた。加圧時の温度は恒温水循環装置 (タイテック (株) 製 COOLNIT CL600) を用い、恒温水を加圧容器のジャケットに循環させることで一定にした。圧力 100~400MPa、加圧温度 0~30℃、加圧時間 10~30分間で

試料を加圧した。

2-3 冷凍処理

加圧後の残存菌数を計測するため、試料液を0.5ml採取後、残りの液を滅菌したプラスチック容器に入れ、 $-20^{\circ}\text{C}$ に設定した冷凍庫に1~30日間保存した。

2-4 菌数測定

菌数測定は、それぞれ試料調製後、加圧処理後及び冷凍処理後にデゾキシコレート培地を用いて行った。試料調製後及び加圧処理後の懸濁液は、滅菌水にて $10\sim 10^5$ 倍希釈を行い、その1mlを滅菌シャーレに入れ混釈培養した。また冷凍処理後の懸濁液は、水温で解凍した後に同様の操作を行った。菌数は、 $37^{\circ}\text{C}$ で24時間静置培養した後、コロニー数を計測することによって求めた。同じ実験を2~3回繰り返して行い、その平均値を図1~8にまとめた。

2-5 食塩濃度、糖濃度及びpHの調整

食塩濃度は塩化ナトリウム(NaCl)を精製水に溶解させ、0, 0.5, 1.0, 5.0及び10.0%とした。糖濃度はスクロースを精製水に溶解させ、0, 1.0, 5.0及び10.0%とした。

pHはリン酸水素二ナトリウム水溶液(0.5mol/L)とリン酸二水素カリウム水溶液(0.5mol/L)を調製し、この2液を混合してpHを4.3, 6.0, 7.0及び8.0とした。

3. 結果及び考察

3-1 大腸菌への加圧-冷凍処理効果

大腸菌*Escherichia coli* JCM 1649を用いた結果を図1に示した。加圧処理単独では処理圧力400MPaで殺菌率100%に達したが、その圧力以下では、低くなるほど残存菌数が多く、殺菌率は低下した。一方、加圧-冷凍処理後の残存菌数は加圧処理後のものと比較して、処理圧力200MPaでは約1/1000ほどに低下した。すなわち、加圧処理に冷凍処理を組み合わせることで大腸菌に対する殺菌効果が加圧処理単独でおこなうよりも向上したことがわかる。前回報告した酵母を対象とした実験では、加圧処理と加圧-冷凍処理との残存菌数の差は約1/10と小さく、冷凍処理が大腸菌の殺菌に対して有効であることがわかった。

処理圧力が300MPaの場合、加圧後冷凍処理することで殺菌率100%に達した。100及び200MPaの場合では、加圧-冷凍処理後に菌が残存している。その菌数は初発菌数 $10^8\text{CFU/ml}$ に対してそれぞれ $10^5$ 及び $10^3\text{CFU/ml}$ であることから、処理圧力200MPaではさらに加圧及び冷凍処理の諸条件を検討することにより、大腸菌を完全に殺菌できる可能性があると思われた。

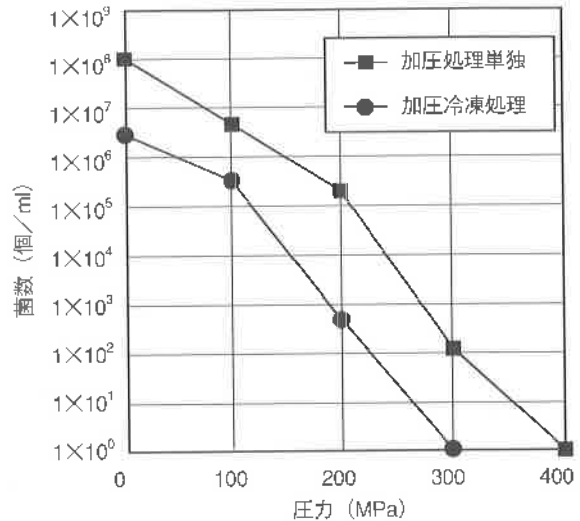


図1 大腸菌への加圧-冷凍処理の効果  
(生理食塩水, 加圧: $0^{\circ}\text{C}$ , 10min, 冷凍: $-20^{\circ}\text{C}$ , 24h)

3-2 冷凍期間の影響

図2に大腸菌の殺菌に及ぼす加圧後の冷凍期間の影響を示した。処理圧力は100及び200MPaとした。初発菌数 $10^8\text{CFU/ml}$ に対して200MPaの条件下では冷凍5日後で菌数が $10\text{CFU/ml}$ 以下となり、15日後では殺菌率100%に達した。しかし、100MPaでは冷凍30日後においても $10^3\text{CFU/ml}$ の菌数が残存したことから、100MPaでの完全な殺菌は難しいと考えられた。この結果を考慮して、加圧冷凍処理の諸条件を検討していく際の処理圧力を200MPaとした。

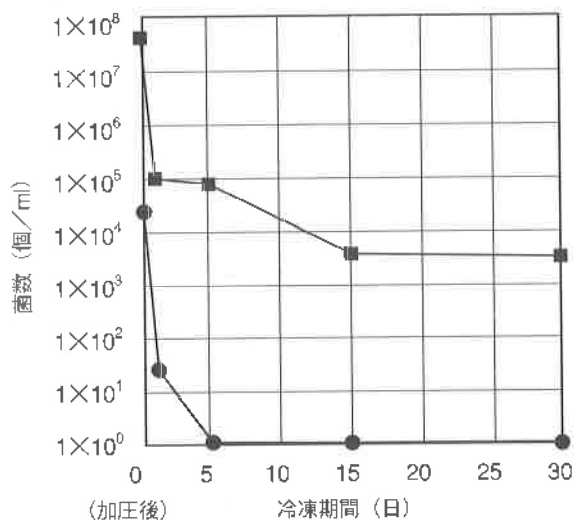


図2 加圧-冷凍処理に対する冷凍期間の影響  
(生理食塩水, 加圧: $0^{\circ}\text{C}$ , 10min, 冷凍: $-20^{\circ}\text{C}$ )  
■: 100MPa, ●: 200MPa

3-3 初発菌数の影響

図3に大腸菌の初発菌数を $10^3$ ,  $10^5$ 及び $10^8\text{CFU/ml}$ としたときの残存菌数を示した。 $10^5$ 及び $10^8\text{CFU/ml}$ の条件では

冷凍1日後で菌が残存していた。10<sup>3</sup>CFU/mlの条件では殺菌率100%となった。

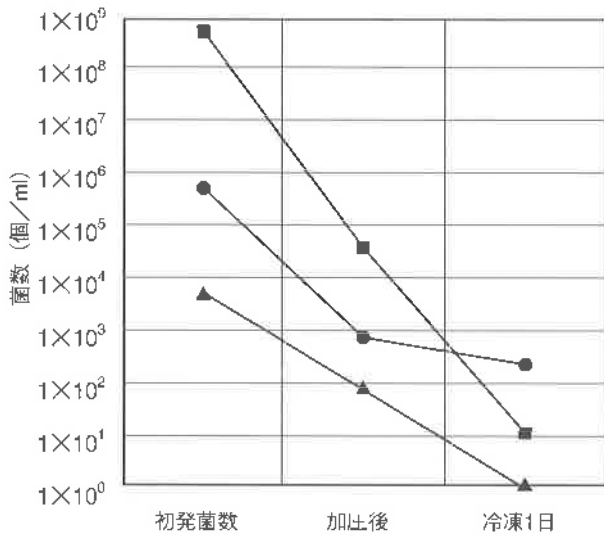


図3 加圧-冷凍処理に対する初発菌数の影響 (生理食塩水, 加圧: 200MPa, 10min, 冷凍: -20℃, 24h) ■: 10<sup>9</sup>個/ml, ●: 10<sup>6</sup>個/ml, ▲: 10<sup>3</sup>個/ml

### 3-4 加圧温度の影響

図4には加圧時の温度を0, 15及び30℃としたときの残存菌数を示した。加圧後の菌数は、15℃試験区では、0℃区、30℃区と比較して約1/10ほど少なかったが、冷凍後ではいずれの温度区も残存菌数に差はみられなかった。

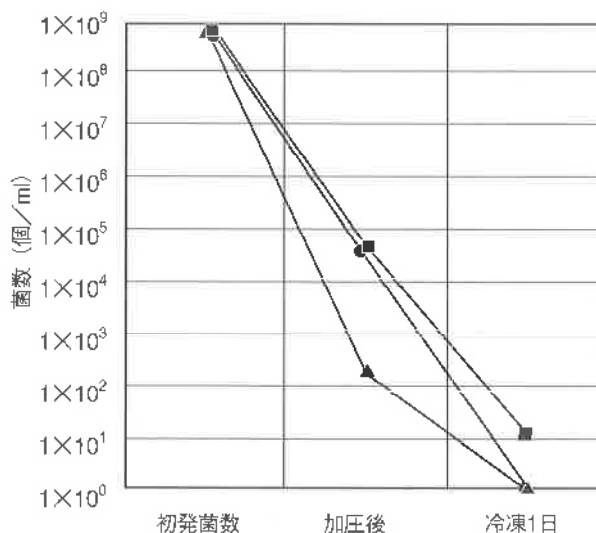


図4 加圧-冷凍処理に対する加圧時温度の影響 (生理食塩水, 加圧: 200MPa, 10min, 冷凍: -20℃, 24h) ■: 0℃, ●: 15℃, ▲: 30℃

### 3-5 加圧時間の影響

次に加圧時間について検討し、図5に結果を示した。加圧後及び加圧-冷凍後の残存菌数は加圧時間が長くなると減少する傾向を示した。すなわち加圧時間30分の条件では

加圧後1日冷凍することで殺菌率100%に達した。

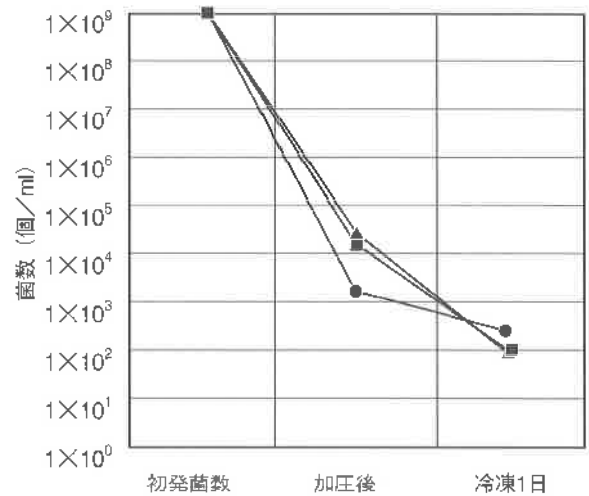


図5 加圧-冷凍処理に対する加圧時間の影響 (生理食塩水, 加圧: 200MPa, 0℃, 冷凍: -20℃) ■: 10分, ●: 20分, ▲: 30分

### 3-6 加圧-冷凍処理による殺菌に及ぼす食塩濃度の影響

次に加圧-冷凍処理による大腸菌の殺菌に及ぼす食塩の影響について検討した。食塩濃度を0~10%に調製した後、これまでと同様に加圧処理及び冷凍処理を行った。

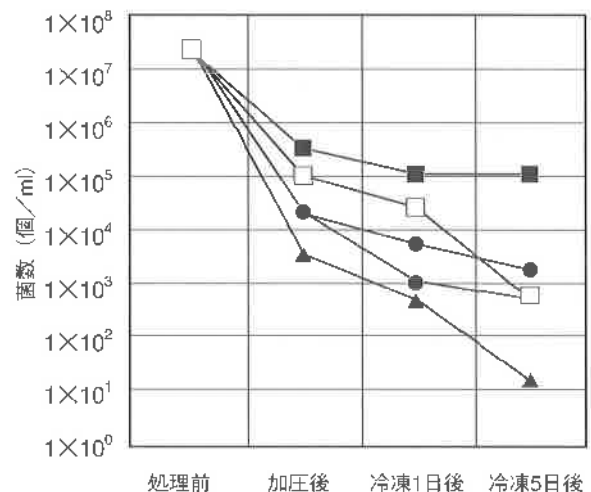


図6 大腸菌への加圧冷凍処理: 食塩の影響 (加圧=200MPa, 0℃, 10min; 冷凍=-20℃) ■: 食塩0%, ●: 食塩0.5%, ▲: 食塩1% ◆: 食塩5%, □: 食塩10%

図6に示したように、食塩添加区(1~10%)は無添加区(0%)に比較して加圧後、冷凍1日後及び5日後の残存菌数はいずれも少なく、食塩により殺菌効果が強められ

たことがわかった。しかも食塩濃度別では冷凍1日後で見ると、食塩10%、0.5%、5%、1%試験区の順に残存菌数が少なくなっており、食塩1%で最も殺菌効果が強められるという特異的な傾向を示した。この原因については今後さらに検討したい。

3-7 加圧-冷凍処理による殺菌に及ぼす糖濃度の影響

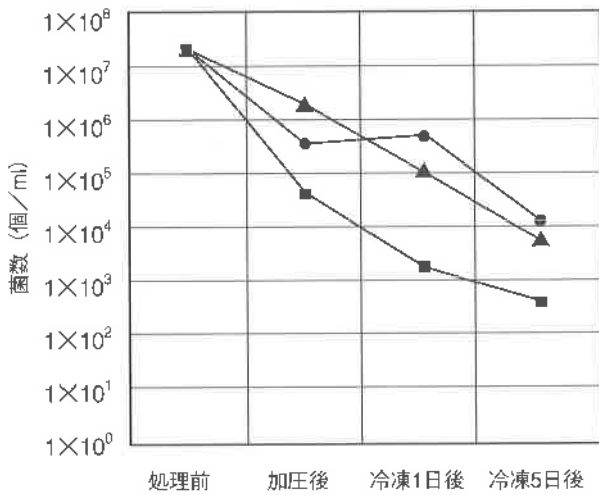


図7 大腸菌への加圧冷凍処理：糖の影響  
(加圧=200MPa, 0℃, 10min; 冷凍=-20℃)  
■：糖0%, ●：糖1%, ▲：糖5% ◆：糖10%

図7に糖（スクロース）濃度別の残存菌数を示した。糖濃度を0, 1, 5及び10%として処理後の菌数を比較した。0%試験区に対し、5%及び10%試験区では残存菌数が多く、糖により殺菌効果が弱められる傾向を示した。

3-8 加圧-冷凍処理による殺菌に及ぼすpHの効果

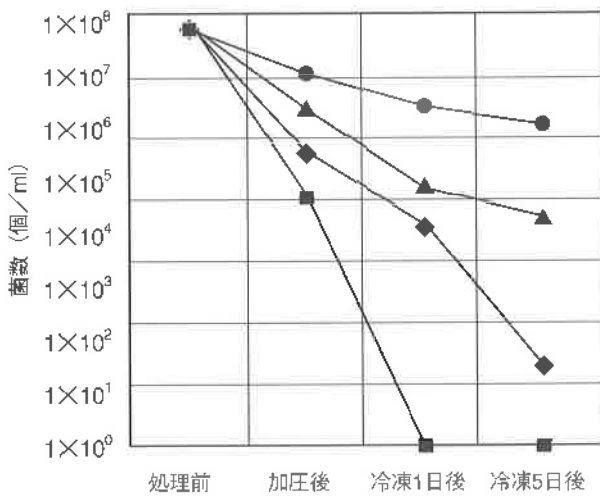


図8 大腸菌への加圧冷凍処理：pHの影響  
(加圧=200MPa, 0℃, 10min; 冷凍=-20℃)  
■：pH4.3, ●：pH6.0, ▲：pH7.0  
◆：pH8.0

pHを4.3, 6.0, 7.0及び8.0として加圧及び冷凍処理を行ったところ、pH4.3の条件下で殺菌効果が最も高く、冷凍1日後には殺菌率100%に達した。以上の結果から、pHを酸性側に調整することが大腸菌の殺菌に効果的であることがわかった。

4. 結 言

大腸菌を用いて加圧-冷凍処理による残存菌数を測定した後、その殺菌効果を検討し、次のような結果を得た。

- 1) 処理圧力が200MPaの条件下でも、加圧時間や冷凍期間を長くすることで殺菌率100%に達した。
- 2) 加圧-冷凍処理に対する食塩濃度の影響を検討したところ、食塩1%で最も高い殺菌効果を示した。
- 3) 糖濃度の影響を検討したところ、糖は食塩とは反対に殺菌効果を低下させる傾向を示した。
- 4) pH4.3~8.0の条件下では、pH4.3でもっとも殺菌効果が高く、加圧後冷凍1日で殺菌率100%に達した。

参考文献

- 1) 園池耕一郎：日食工誌, 44, 522 (1997)
- 2) 佐々木績, 堀恵一, 井上朗:「食品への高圧利用」(林力丸編), さんえい出版, p.191 (1990)
- 3) 嶋田昇二, 高田良雄, 出内智子, 林力丸, 大隅正子:「加圧食品-研究と開発-」(林力丸編), さんえい出版, p.265 (1990)
- 4) 木村英生, 辻政雄:山梨県工業技術センター研究報告, 14, 130 (2000)