

超高压処理を用いた冷凍食品の品質保持技術の確立

—圧力及び冷凍温度が各種微生物の殺菌に及ぼす影響—

木村 英生・辻 政雄

Technical Development of Sterilization in Frozen Foods by High Pressure Treatment

—Effect of Pressure and Freezing on Sterilization of Microorganism—

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、*Saccharomyces*属（1種）、*Debaryomyces*属（2種）、*Candida*属（4種）及び*Pichia*属（1種）の合計8種類の酵母を用いて、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。酵母属間の比較では、*Saccharomyces*属、*Debaryomyces*属及び*Pichia*属に対して*Candida*属の酵母では耐圧性を示し、殺菌効果は小さかった。

Summary

Effects of pressure and freezing treatments on sterilization of yeasts were examined. In this study, 8 yeast strains selected from *Saccharomyces*, *Debaryomyces*, *Candida*, and *Pichia* were used. Pressure and freezing treatments were more effective than pressure treatments for sterilization of yeasts. In comparison of these yeasts, *Candida* exhibited higher pressure-resistance than *Saccharomyces*, *Debaryomyces* and *Pichia*.

1. 緒 言

冷凍技術は、食品の保存を目的に、菓子、パン、果汁、水産加工品などに幅広く使われている。しかし、冷凍下で品質が保持されていても、解凍後に微生物が繁殖し、食品を腐敗に至らしめる等の問題も少なからず見られる。これは、食品中の微生物が冷凍状態ですべて死滅するわけではなく、多くの場合、その生育が抑制されているだけであることに起因する。

一方、高压処理は、殺菌の手段として利用した場合、常温、400MPa、20分の条件で、ほとんどの微生物を死滅¹⁾させると言われている。しかし、このように高い圧力が使用できる処理装置は、価格が高くなるため、食品での実用化が容易²⁾ではないので、できるだけ低い圧力でも顕著な殺菌効果を得られることが望まれている。

400MPaより低い圧力下では、微生物の死滅率は低下するが、その細胞膜の構造は障害³⁾を受けていると言われているので、さらにこれを冷凍すれば、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。

本研究は、高压処理を冷凍前処理に利用し、加圧と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

た。今回は、食品中に多くの種類が存在する酵母を対象として、加圧及び冷凍処理過程における残存生菌数の変化を測定し、その殺菌条件を検討した。

2. 実験方法

2-1 試料調製

供試菌として、表1に示す酵母菌株を用いた。これらをYM液体培地を用いて25℃、2日間前培養した。培養後、遠心分離にて集菌し、生理食塩水中に菌数が約 10^7 cfu/mlになるように調製した。この微生物懸濁液約6mlを紫外線殺菌した小型プラスチック容器に密封した。

2-2 加圧処理及び冷凍処理

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COOLNITCL600）を用いて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℃、加圧時間10分間で試料を加圧した。

表1 供試菌株

No.	Yeast
1	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IAM4272
2	<i>Debaryomyces hansenii</i> RIFY 4196
3	<i>Candida parapsilosis</i> RIFY 2063
4	<i>Candida tropicalis</i> JCM 1541
5	<i>Candida guilliermondii</i> JCM 2295
6	<i>Candida krusei</i> RIFY YTa3
7	<i>Debaryomyces hansenii</i> YITC No.215
8	<i>Pichia anomala</i> YITC No.204

YITC : The Yamanashi Industrial Technology Center

RIFY : The Institute of Fermentation, Yamanashi University

IAM : Institute of Applied Microbiology, Tokyo University

JCM : Japan Collection of Microorganism, RIKEN

加圧後の冷凍処理は、残存菌数を計測するために試料液0.5mlを採取後、残りの液を滅菌したプラスチック容器に入れ、-20℃に1日保存した。

2-3 菌数の測定

菌数測定は、それぞれ試料調整後、加圧処理後及び冷凍処理後にYM寒天培地を用いて行った。試料調整後及び加圧処理後の懸濁液は、滅菌水にて1/10~1/10⁸に段階希釈を行い、その1mlをシャーレに入れ上記の寒天培地で混濁培養した。冷凍処理後の懸濁液は、水温で解凍した後と同様の操作を行った。菌数は、25℃で2日間静置培養した後、コロニー数を計測することによって求めた。

殺菌率は処理前の菌数に対する処理後の死滅菌数の割合として算出した。

3. 結果及び考察

3-1 *Saccharomyces cerevisiae*への加圧-冷凍処理効果

代表的な酵母である*Saccharomyces cerevisiae*は、図1に示すように400MPaでは加圧処理のみで殺菌率100%に達した。一方、処理圧が400MPa以下では、加圧-冷凍処理及び加圧処理のみの試験区とも、圧力が低くなるほど残存菌数が多く、殺菌率は低下した。しかし、処理圧力が300MPaの場合、加圧-冷凍処理区では、その菌数が100cfu/ml以下であることから、さらに条件を検討することにより300MPaで完全に殺菌できる可能性があると思われる。

加圧-冷凍処理区と加圧処理のみの区とを比較すると、前者では後者より、その残存菌数が低下しており、加圧処理に冷凍処理を組み合わせることで殺菌効果が向上したことがわかる。しかし、加圧処理のみのプロットと加圧-冷

凍処理のプロットとの差は、約1/10と小さく、処理圧力が高くなってこの減少幅に大きな差は見られなかった。このことは、加圧-冷凍処理は加圧と冷凍による相乗効果ではなく、ただ単に相加効果のみである可能性を示唆している。したがって殺菌率を高めるためには、さらに加圧温度や時間、また冷凍温度や時間について検討する必要がある。

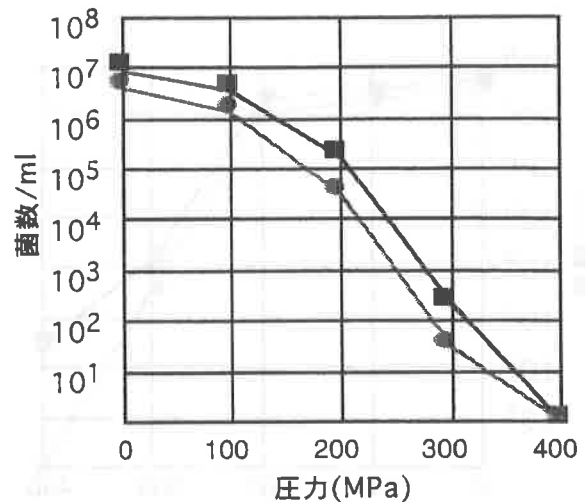


図1: *Saccharomyces cerevisiae* IAM4272への加圧-冷凍処理の効果

■: 加圧処理のみ、●: 加圧-冷凍処理

3-2 *Debaryomyces hansenii*への加圧-冷凍処理効果

*Debaryomyces*属は味噌などの白カビで知られているが、*Debaryomyces hansenii*の結果を図2に示した。*Saccharomyces*属と同様に、加圧-冷凍処理区の残存菌数は、加圧処理のみのものよりも多少低く推移したが、その菌数に大きな差異はなく、冷凍処理の付加効果が見られなかった。

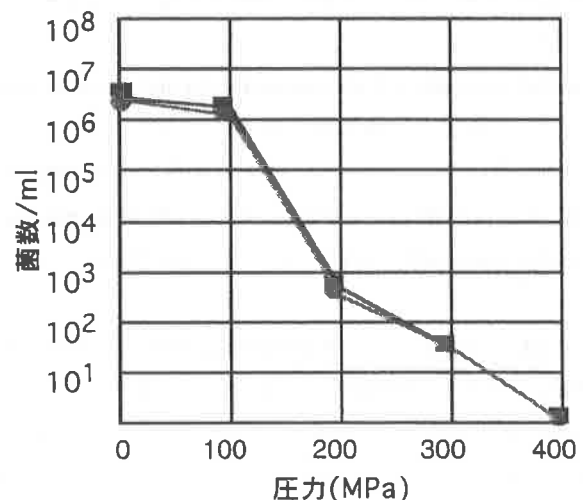


図2: *Debaryomyces hansenii* RIFY4196への加圧-冷凍処理の効果

■: 加圧処理のみ、●: 加圧-冷凍処理

3-3 *Candida paraosilosis*への加圧-冷凍処理効果

海水、人の皮膚及び山ブドウ⁴⁾などから分離されている *Candida paraosilosis*の結果を図3に示した。加圧処理のみでは400MPaでも殺菌率100%に達しなかったが、冷凍処理を加えると100%に達した。また、高い圧力ほど加圧のみのプロットと加圧-冷凍のプロットとの差が大きくなる傾向が見られた。すなわち、この菌の場合には、加圧と冷凍の相乗効果が見られた。

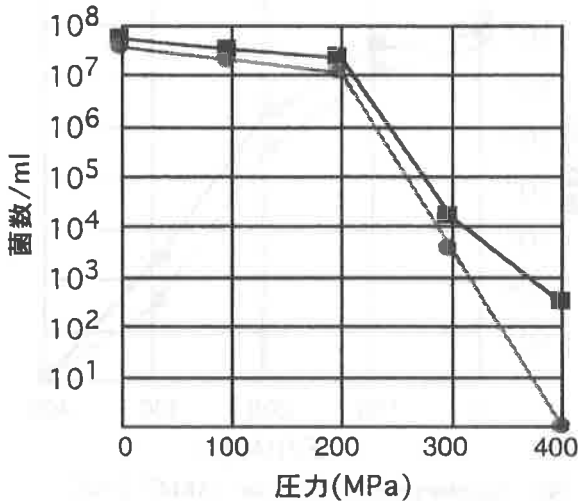


図3 : *Candida parapsilosis* RIFY2063への加圧-冷凍処理の効果

■ : 加圧処理のみ、● : 加圧-冷凍処理

3-4 *Candida*属への加圧-冷凍処理

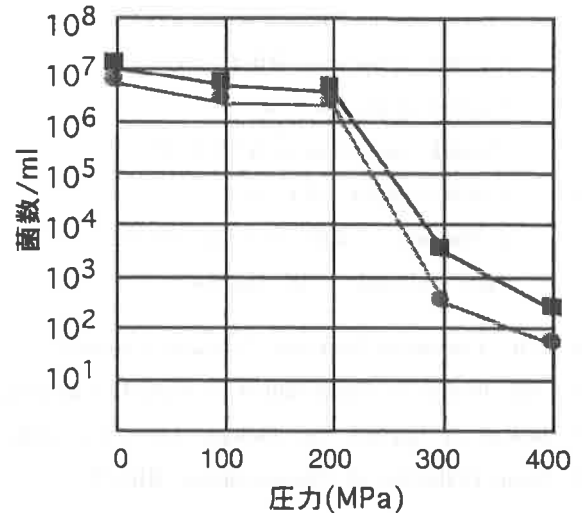
今まで *Saccharomyces cerevisiae*, *Debaryomyces hansenii* 及び *Candida paraosilosis* に対する加圧-冷凍処理の殺菌効果を見てきたが、*Candida paraosilosis* が高圧力側でも比較的高い残存菌数を示していることがわかった。そこで他の *Candida* 属の種においても同様の傾向が見られるかどうかさらに検討した。

Candida tropicalis, *Candida krusei* 及び *Candida guilliermondii* について加圧-冷凍処理を行った結果をそれぞれ図4(a), (b) 及び (c) に示した。いずれの菌でも400MPaの圧力では殺菌率が100%には達せず、*Candida* 属は *Saccharomyces* 属や *Debaryomyces* 属と比較して高い圧力耐性を持つことがわかった。

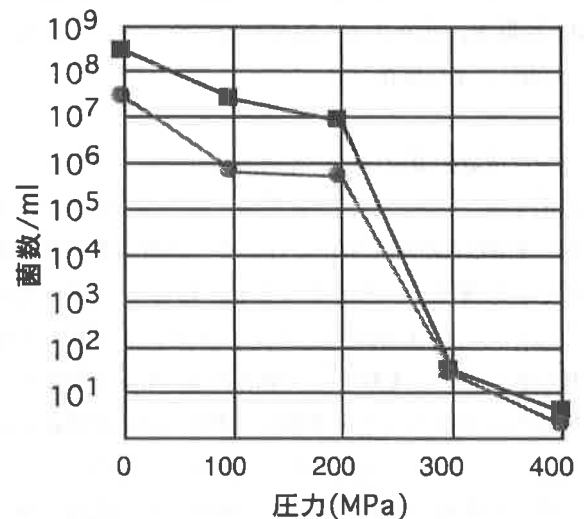
Candida tropicalis では、*Candida paraosilosis* と同様に0~200MPaより300~400MPaで、加圧処理と加圧-冷凍処理との残存菌数の差が大きくなっていることから、加圧処理によって菌がダメージを受けており、冷凍処理によって殺菌効果がさらに高まったと考えられる。すなわち、加圧と冷凍の相乗効果が認められた。

次に *Candida krusei* では *Candida tropicalis* とは逆に300~

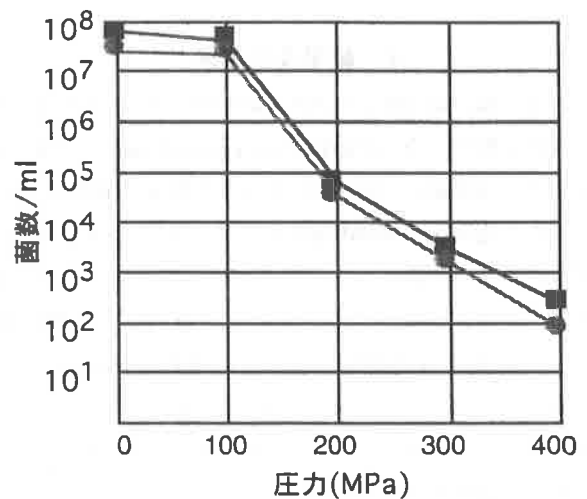
400MPaより0~200MPaで、加圧処理と加圧-冷凍処理との残存菌数の差が大きくなっている。通常では圧力が高いほど菌に与えるダメージは大きく、障害を受けた菌が多く



(a) *Candida tropicalis* JCM1541



(b) *Candida krusei* RIFY YTa3



(c) *Candida guilliermondii* JCM2295

図4 : *Candida* 属への加圧-冷凍処理の効果

■ : 加圧処理のみ、● : 加圧-冷凍処理

表2 各種酵母の加圧-冷凍処理による殺菌率の比較

加圧処理 の圧力 (MPa)	加圧-冷凍処理 ¹⁾ 後の殺菌率 (%)							
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (IAM4272)	<i>Candida parapsilosis</i> (RIFY2063)	<i>Candida tropicalis</i> (JCM1541)	<i>Candida krusei</i> (RIFY YTa3)	<i>Candida guilliermondii</i> (JCM2295)	<i>Debaryomyces hansenii</i> (RIFY4196)	<i>Debaryomyces hansenii</i> (No.215)	<i>Pichia anomala</i> (No.204)
0	51.2	35.7	49.0	80.0	63.1	11.1	37.3	81.8
100	83.8	62.5	80.0	99.8	66.2	55.5	45.8	93.2
200	99.6	80.4	81.0	99.9	99.9	99.9	99.9	99.9

1) 加圧処理：時間 10min, 温度 0℃, 冷凍処理：冷凍期間 1日, 温度：-20℃

2) 殺菌率 = (処理後の死滅菌数) / (処理前の菌数) × 100

存在すると冷凍後に菌数が大きく減少するはずであり、この菌株の場合には特殊な性質なのかどうか、さらに検討する必要があると思われる。

一方、*Candida guilliermondii*では、加圧処理と加圧-冷凍処理との残存菌数の差は僅かであり、冷凍処理による付加効果が小さいことがわかった。しかし、200MPaでの残存菌数が他の*Candida*属と比較して小さく、加圧処理及び冷凍処理時の諸条件を検討することにより、低圧力側での殺菌効果が期待できるとと思われる。

3-5 低圧力側での殺菌効果の比較

低圧力側での加圧-冷凍処理の殺菌効果を比較するため、各酵母の殺菌率を表2に示した。表中の数値は加圧-冷凍処理後の値であるが、圧力0MPaとは、冷凍処理のみの数値を示している。

その結果、いずれの酵母も加圧と冷凍を組み合わせることにより殺菌率が高くなり、しかも圧力が高いほど、その殺菌効果は大きかった。しかし、菌株により殺菌率には差異が認められ、ほとんどの酵母が99%以上の殺菌率を示したが、*Candida parapsilosis*と*Candida tropicalis*は200MPaで約80%と低い値を示した。これらの酵母は比較的高い圧力耐性を示すことが報告^{5) 6)}されており、加圧-冷凍後の低い殺菌率は、この耐圧性の影響によるものと思われる。

4. 結 言

数種の酵母を用いて加圧-冷凍処理過程での残存菌数を測定し、その殺菌効果を検討し、次のような結果を得た。

- 1) 各酵母の属間で加圧-冷凍処理の効果を比較したところ、*Candida*属は*Saccharomyces*属、*Debaryomyces*属及び*Pichia*属より、高圧力側でも高い残存菌数を示し、高い耐圧性を有していた。
- 2) *Debaryomyces hansenii*は、加圧-冷凍処理と加圧処理のみとの殺菌効果がほぼ等しく、冷凍の効果が認められな

かった。

参考文献

- 1) 園池耕一郎：日食科工誌, 44, p.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) 後藤昭二, 小栗博幸:山梨大発酵研研究報告, 18, p.27 (1983)
- 5) 落合信哉, 中川善博:防菌防黴, 19, p.269 (1991)
- 6) 堀江雄, 木村邦男, 井田雅夫, 吉田泰博, 大亀邦仁:農化, 66, p.713 (1992)