

極超短時間殺菌による酵母の殺菌

小早川和也*¹ 矢野未右紀*² 林 陽子*³ 高橋勤子*¹ 花井將裕*⁴

Super Ultra Short Time Sterilization of Yeast

Kazuya KOHAYAKAWA、 Miyuki YANO、 Yoko HAYASHI
Isoko TAKAHASHI and Masahiro HANAI

Food Research Center,AITEC*^{1*2} Aichi Gakusen University*³
Department of Industry and Labor*⁴

アルコール資化性酵母 *Pichia anomala* を用い、溶液条件が酵母の耐熱性に及ぼす影響について検討した。極超短時間殺菌が有効とされてきた細菌と比較して酵母は体積が大きいため、短時間の高温殺菌では酵母の中心部まで熱が伝わりにくく、殺菌されにくいことが示唆された。

モデル食品(0.2%乾燥卵白溶液、5%食塩溶液)の加熱で、配管内へのスケール沈着、応力腐食が発生した。スケール沈着防止のために線流速の増加、耐ハロゲン化物性の高い材質の選択が課題として残された。

1. はじめに

食品の殺菌は、食品の安全性及び保存性の向上を図る上で、食品業界において最も重要な技術といえる。数多くある殺菌方法の内、近年では食品工場の殺菌に種々の殺菌剤が用いられることが多いが、それに伴って殺菌剤に抵抗力のある真菌による変敗が増加してきた。

一方、加熱殺菌は、効果の確実性、操作の安全性から現在でも殺菌方法の主流を占めており、HACCPシステムにおいても最重要管理点の一つとされている。微生物の熱死滅に比して食品の有効成分の熱分解は短時間であれば温度の影響を受けにくいいため、高温で短時間処理することが品質向上につながるといわれており¹⁾、特に液状食品では急速で均一な加熱・冷却が可能であることから、高温短時間殺菌法が普及している。

我々は従来高温短時間殺菌法よりもさらに高温、短時間で加熱処理を行い、食品の有効成分の劣化を最小限に抑えることを目的とした極超短時間殺菌技術の開発を進めてきた²⁾。本研究では、この極超短時間殺菌技術の幅広い適用を目指して、食品変敗の原因となることも多い酵母の加熱殺菌条件を求める基礎データとすべくその耐熱性を調べ、ついで、極超短時間殺菌装置を模した小型のキャピラリー殺菌装置を用いて、酵母を殺菌対象とした場合の装置の有効性を検討した。また、極超短時間殺

菌装置(大型キャピラリー殺菌装置)に実際に種々の溶液を送液し、装置に及ぼす影響を調査した。

2. 実験方法

2.1 使用菌株

酵母は、耐塩性・耐糖性のアルコール資化性酵母 *Pichia anomala* IFO1760 を使用した。

培養は、YM培地(0.3%酵母エキス、0.3%麦芽エキス、0.5%ポリペプトン、1.0%グルコース、0.01%クロラムフェニコール、pH7.1)を使用(寒天培地には寒天を1.5%添加)し、25℃で行った。

2.2 酵母の耐熱性の測定

(1) 保存菌液の調製

前培養液を1%添加した本培養液を定常期に達するまで180rpmで振とう培養後、4℃、3000rpmで5分間遠心分離した。集菌した菌体は同様な遠心分離操作により数回洗浄した。ついで菌体を本培養液の1/100容の冷却生理食塩水に懸濁後、冷蔵して保存菌液とした。

保存菌液中の菌数は集菌から2~3週間後に1~2桁減少したところで安定となった。以降の実験にはこれを用いた。

(2) 耐熱性測定方法

保存菌液を適宜希釈したものを各1mlを滅菌したスピ

*1 食品工業技術センター応用技術室 *2 食品工業技術センター発酵技術室 *3 愛知学泉大学
*4 産業労働部産業技術課

ツ管に採取し、恒温水中で加熱処理した。処理後、直ちに氷水中で1分間冷却し、残存菌数をYM寒天培地で平板塗抹法により測定した。

D値は、ある一定温度における加熱時間に対して残存菌数を対数プロットし、得られた直線から残存菌数が1/10になる加熱時間として求めた。Z値は、各種温度で求めたD値を加熱温度に対して対数プロットし、得られた直線からD値が1/10になる温度差として求めた。

(3) 耐熱性に及ぼす各種溶液条件の影響の検討

耐熱性に及ぼす食塩濃度、しょ糖濃度、アルコール濃度、pHの影響を調べるため、食塩：0.85、5、10、15%、しょ糖：10、20、30%、エタノール：1、2、3%、pH4、5、6、7(各pHに調整したMcIlvaine緩衝液1mlを0.8%食塩水25mlに添加)の溶液で耐熱性を測定した。

2.3 キャピラリ殺菌装置による加熱試験

極超短時間殺菌装置を模した小型のキャピラリ殺菌装置を用いて、秒単位の加熱試験を行った。内径1.0mmのステンレス(SUS316)キャピラリ管に10%食塩水を通して、流速を調整し、キャピラリ管内の温度が70を少し超えるぐらいになるように設定した後、試験液をキャピラリ管に通し、70以上のところを通過した秒数とそのときの残存菌数とからD値を求めた。

2.4 大型キャピラリ殺菌装置による加熱試験

配管加熱式の(株)ニッセン製キャピラリ式殺菌装置(最大送液量3,000ml/分、最大使用圧力50MPa、加熱部長60cm、キャピラリ内径1mm、キャピラリ材質SUS316)を用いた。供試試料は水、5%しょ糖溶液、0.5及び5%食塩溶液、0.2%乾燥卵白溶液を用い、加熱温度は80、100、120、140、160、送液量600ml/分で加熱処理を行った。

3. 実験結果及び考察

3.1 耐熱性に及ぼす各種溶液条件の影響

濃度が異なる食塩・しょ糖・エタノール溶液中及び異なるpH溶液中で加熱処理したときの酵母(*Pichia anomala* IFO1760)の耐熱性について、D₅₀値[分]、Z値[]を表1に示した。生理食塩水におけるD₅₀値は9.9分、Z値は4.6であった。

食塩濃度5%、10%、15%の溶液中における耐熱性測定の結果を図1に示した。食塩濃度が高くなるにつれてD値は増大し、傾斜が小さくなることから、Z値も増大していることが分かった。

しょ糖濃度10%、20%、30%の溶液中における耐熱性測定の結果を図2に示した。しょ糖溶液も、食塩濃度の場合と同じように、濃度が高くなるにつれてD値は増大した。しかし、傾斜には差が無く、Z値に大きな変化は

見られなかった。

溶質として食塩・糖などを用いて水分活性(A_w)を調整した場合、一般にA_wの低下(溶質濃度の上昇)とともに細菌の耐熱性は増大する傾向があるといわれている¹⁾。今回の結果から、酵母でもこの傾向が当てはまることが示された。

エタノールの場合は、食塩・しょ糖溶液とは異なり、濃度が高くなるにつれてD値は減少していった。Z値も多少減少傾向にあった。いずれもエタノールが耐熱性低下作用を持つことを示しているといえる。

pHについては、他の溶液とは違って傾向が見られず、D₄₅値はpH5、D₅₀値はpH4で最大となったが、他のpHとの差はあまりなかった。Z値についても同様に明らかな傾向は見られなかった。以上の結果は、酵母の耐熱性についてのpHの影響は大きくないという知見と一致する³⁾。

表1 酵母の耐熱性に及ぼす各種溶液条件の影響

溶液条件	D ₅₀ 値[分]	Z値[]
生理食塩水	9.9	4.6
食塩 5%	13.7	4.9
食塩 10%	27.5	6.4
食塩 15%	43.1	8.0
しょ糖 10%	11.3	4.5
しょ糖 20%	18.1	4.5
しょ糖 30%	18.8	4.5
エタノール1%	4.7	4.6
エタノール2%	2.7	4.6
エタノール3%	2.0	4.5
pH4	10.8	4.5
pH5	7.4	4.2
pH6	8.2	4.8
pH7	7.3	4.9

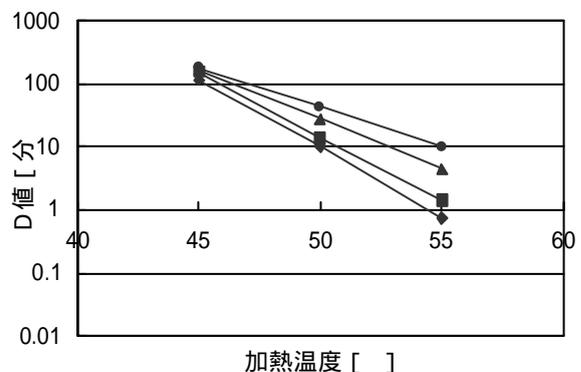


図1 耐熱性に対する食塩濃度の影響
● 15% ▲ 10% ■ 5% ◆ 0.85%

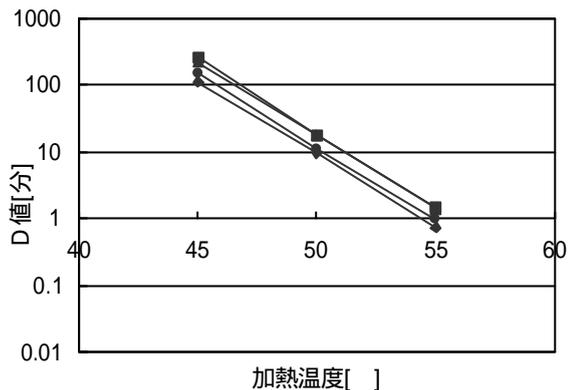


図2 耐熱性に対する糖濃度の影響
 ■ 30% ショ糖 ▲ 20% ショ糖
 ● 10% ショ糖 ◆ 0.85% NaCl

3.2 キャピラリ殺菌装置による加熱試験

極超短時間殺菌装置を模した小型のキャピラリ殺菌装置を用いて、直径の大きい酵母を一般の細菌などと同じように殺菌することができるか、装置が有効であるかどうかを検討した。

キャピラリを用いた実験では、加熱温度を 70 に設定し、10%食塩溶液を試料に用いた。低温域におけるスピッツ管での試験より理論 D_{70} 値は 1.1 秒付近であったが、キャピラリ殺菌の結果から得られた D 値は約 11 秒と予測値と比較してかなり大きく、キャピラリ殺菌装置では酵母が死ににくいことが分かった。細菌ではキャピラリ殺菌装置でも充分短時間で殺菌効果が得られると報告されている⁴⁾が、酵母は細菌と比較して体積が数百倍大きいので、短時間の高温殺菌では酵母の中心部まで熱が伝わりにくいのではないかと考えられる。

3.3 大型キャピラリ殺菌装置による加熱試験

水、5%しょ糖溶液、0.5%食塩溶液では、80 ~ 160 のいずれの設定温度においても送液量 (600 ml / 分)、送液圧力 (10 ± 2Mpa) の変化及び設定温度からのずれはなく安定した運転が可能であった。0.2%乾燥卵白溶液では設定温度 80、100 処理で送液圧の変動 (± 5Mpa) が認められたが、送液量、液温度の変化は認められなかった。一方、120 処理では圧力の上昇 (20 ± 5Mpa) と送液量の低下 (600 ml から 350 ml) が生じ、急激な温度上昇 (2 分後に 180) とキャピラリ外部に加熱変色が認められた。

未加熱のキャピラリ内面及び 120 で 2 分間 (最終温度 180) 0.2%乾燥卵白溶液を処理したキャピラリ内面の走査型電子顕微鏡 (SEM) 写真を示した (写真 1a、b)。写真からも明らかなように内面に加熱変性した卵白がスケールとして多量に沈着していた。

卵白の変性温度は 75 ~ 80 であり、80、100 の加熱処理での圧力上昇、圧力変動は溶液の粘度上昇及び加

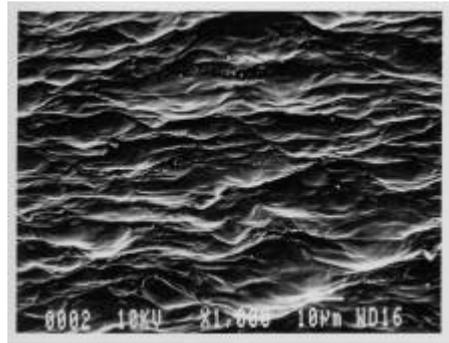


写真 1 a 未使用キャピラリ内面の SEM 写真

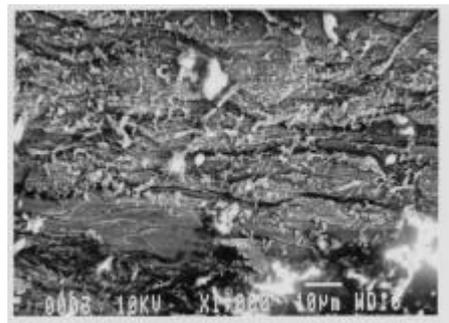


写真 1 b 加熱処理後のキャピラリ内面の SEM 写真

熱スケールの沈着と速い線流速によるスケールの脱離が同時に進行したことが推測される。120 処理ではスケール沈着が流速によるスケール脱離を上回り、キャピラリ内径が減少し、流速低下、滞留時間延長、温度上昇が更にスケールの沈着を促進する悪循環が発生したためキャピラリの急激な温度上昇を招いたと考えられる。

低温で容易に加熱変性、不溶化するタンパク質溶液のキャピラリ殺菌ではスケールの脱離を促進するため、高圧での送液、流速の確保が必要となってくる。

ステンレスは一般に耐食性に優れ、酸、アルカリ、高圧熱蒸気などによる洗浄殺菌が容易なため、食品加工機器、配管に広く利用されている。しかし、ハロゲン化物には弱く、長期間あるいは高温下でハロゲン化物にさらされると腐食 (さび) する。また、応力が発生する状態では更に促進されるため日本工業規格でハロゲン化物による応力試験法が定められている⁵⁾。

キャピラリ加熱では高い圧力、高温、曲げ加工など応力発生原因が多く、液状食品の多くは食塩を含んでいるため、5%食塩 (カルシウム、マグネシウムを含む天然塩) 溶液に対するキャピラリの耐腐食性を検討した。

5%食塩溶液を流速 600 ml / 分、送液圧 10Mpa で加熱処理した結果、100、120 で 30 分間の処理では全く変化が認められなかった。しかし、140 に設定温度を変更した瞬間にキャピラリ曲げ加工部外側で長さ数 cm の配管亀裂 (写真 2)、固定部直近での破断 (写真 3a、

b)が発生した。写真2から明らかなようにキャピラリは内部からの強い力により亀裂が生じ、その周辺部のキャピラリ表面に荒れが認められこの亀裂が応力腐食に伴うことが示唆された。

応力腐食はハロゲン化物と高温が主原因であるが、カルシウム、マグネシウムなど2価イオンの存在が大きく影響し、数ppmの共存で100以下でも強度の応力を受けると応力腐食が発生するといわれ、タレなど食塩含有量の高い食品の殺菌にはチタンなど耐腐食性の優れた材質の選択が必要であった。

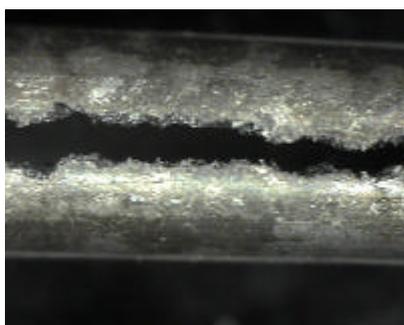


写真2 キャピラリ亀裂部

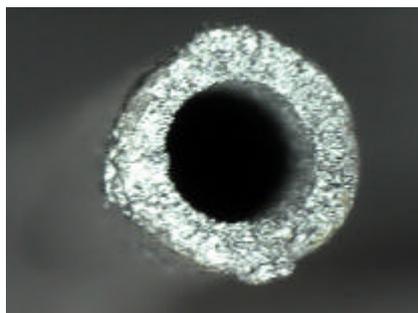


写真3 a キャピラリ破断部

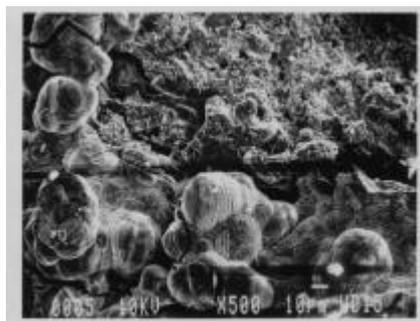


写真3 b キャピラリ破断部のSEM写真

破断部では内部からの物質の溶出と溶出痕の微細孔が認められ、粒界腐食が疑われる。しかし、常圧下では500以上でしか粒界腐食は発生しないといわれており、今回の圧力(20Mpa)、温度(140)での発生を十分には説明できない。今回採用したキャピラリの電氣的加熱法あるいはハロゲンの影響を検討する必要がある。

4. 結 び

アルコール資化性酵母 *Pichia anomala* を用いてその耐熱性を調べた。また、溶質濃度(食塩、糖、アルコール)やpHなどの溶液条件が酵母の耐熱性に及ぼす影響について検討した。

酵母はこれまで極超短時間殺菌が有効に作用するとされてきた細菌と比較し体積が数百倍大きいため、短時間の高温殺菌では中心部まで熱が伝わりにくく、殺菌されにくいことが示唆された。

SUS316キャピラリを用いたモデル食品(0.2%乾燥卵白溶液)の加熱で、配管内へのスケール沈着が認められた。また、5%食塩溶液、140加熱で応力腐食が発生した。スケール沈着防止のために線流速の増加、耐ハロゲン化物性の高い材質の選択が課題として残された。

文 献

- 1) 芝崎勲：新・食品殺菌工学(光琳、東京) p.5 (1983)。
- 2) 柴田正人・山田鍾美・内藤茂三・小早川和也・福田嘉和・幅靖志・石川敬一・長谷川撰：平成6年度技術開発研究費補助事業成果普及講習会用テキスト(愛知県食品工業技術センター、愛知) p. -1 (1995)。
- 3) 好井久雄・金子安之・山口和夫編：食品微生物学ハンドブック(技報堂出版、東京) p.83(1995)。
- 4) 福田嘉和・日比野慎治・内藤茂三・安藤俊之：愛知県食品工業技術センター年報、41、33(2000)。
- 5) 日本工業規格 G 0 5 7 6(2001)。