

極超短時間殺菌による乳酸菌の殺菌

福田嘉和・日比野慎治・内藤茂三・安藤俊之

食品の保存性と安全性の向上を図るため、食品の殺菌は食品業界において最も重要な技術である。なかでも、加熱殺菌は効果の確実性、操作の安全性から現在も殺菌方法の主流となっている。食品の有効成分の熱分解は微生物の熱死滅に対して、短時間であれば温度の影響を受けにくいことから、高温で短時間処理することが品質向上につながる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た。

我々は、従来の高温短時間殺菌法よりもさらに高温で、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に、ミリ秒単位で加熱時間を制御し、0.01秒レベルの加熱処理を行う極超短時間殺菌技術の開発を行ってきた²⁾。この極超短時間殺菌技術を応用するためには、食品中の有効成分や微生物の加熱による変化を知ることが必要である。めんつゆに代表されるつゆ類では、乳酸菌による変敗が問題となっており、本研究では乳酸菌の耐熱性に及ぼす溶液条件の影響と、つゆの加熱劣化の特性を求め、つゆ類の高品質化のために極超短時間殺菌技術を応用することを検討した。

実験方法

1. 使用菌株

乳酸菌は、*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435を用いた。

2. 乳酸菌の耐熱性測定

50ml 液体培地に保存菌液0.5mlを加え、30℃で2日間前培養した。培養液を遠心分離(5 000rpm, 10min)し、分離した菌体を生理食塩水25mlに懸濁した。この菌懸濁液1mlを溶液条件の影響を求めるために調製した加熱処理液50mlに加え、菌濃度をおよそ 1×10^7 /mlにした。乾熱殺菌したスピッツ管に加熱処理液1mlを採取し、アルミ箔でふたをし、恒温水中で加熱処理した。加熱処理後スピッツ管を直ちに氷水中で1分間冷却し、残存菌

数をBCP加プレートカウント寒天培地で平板希釈法により測定した。D値は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4または5段階の温度で求めた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。

乳酸菌の耐熱性に及ぼす食塩濃度、しょ糖濃度、アルコール濃度、pHの影響を求めため、食塩:0.85, 5, 10, 15% (W/V)、しょ糖:10, 20, 30% (W/V)、エタノール:1, 2, 3% (V/V、生理食塩水に添加)、pH4.0, 5.0, 6.0, 7.0(各pHに調整したMcIlvaine緩衝液10mlを0.8%食塩水250mlに添加)の溶液で耐熱性を測定した。

3. 乳酸菌の極超短時間殺菌

2と同様に培養、遠心分離、生理食塩水25mlに懸濁した菌懸濁液を10lの生理食塩水に希釈、極超短時間加熱処理した。この菌濃度はおよそ 1×10^6 /mlであった。

4. つゆ中の乳酸菌の耐熱性と加熱劣化

(1) つゆの調製と成分分析

水1lに昆布(北海道産)10gを入れて加熱し、沸騰する直前(約85℃)で昆布を取り出し、かつお削り節(厚削り)30gを入れ、一度沸騰させた後、ろ過してだし汁を得た。だし汁8に対して、濃口醤油1、みりん1を加えてつゆを調製した。

市販つゆ2種類(2倍濃縮タイプ、ストレートタイプ)及び試作つゆの成分分析を行った。

水分、灰分、脂質、たんぱく質、炭水化物及びエネルギーの分析は、四訂日本食品標準分析表(二版)³⁾に従った。比重は、10mlの重量測定により、pHはガラス電極pH計(堀場製作所製、F-12型)により測定した。食塩は、原子吸光光度計(日本ジャーレルアッシュ製、AA-880型)により測定したナトリウム含量に2.54を乗じ食塩相当量として示した。しょ糖、ぶどう糖、果糖、エタノール濃度は、高速液体クロマトグラフ(HPLC、日本分

*愛知工業大学

光製)を用いて測定した。HPLC条件は、カラム:Shodex Ionpak S-801, 8mmφ×500mm, カラム温度:40℃, 移動相:水, 1.0ml/min, 検出器:示差屈折検出器とした。

試作つゆ中における乳酸菌の耐熱性を2.の方法で測定した。

(2) つゆの加熱劣化の官能評価

次の方法でつゆの加熱劣化を評価した。すなわち、つゆ200mlを300ml容耐圧ガラス瓶に入れ、ラップフィルムをして、電子レンジ(500W)で1分30秒予備加熱した後、アルミキャップで密栓し、加熱処理温度の恒温水中で設定時間加熱処理した。加熱処理後、流水中で冷却し、冷蔵保存して翌日に官能試験した。

加熱条件は、70℃:2, 5, 8時間, 80℃:1, 3, 5時間, 90℃:1, 2, 3時間とした。

電子レンジで1分30秒加熱し、直ちに冷却したつゆを対照とし、加熱処理したつゆとの優劣を、2点比較法⁴⁾により判定した。官能試験は、18名で行った。

次の方法で極超短時間殺菌処理を評価した。すなわち、未加熱の対照、160℃/0.013秒の極超短時間殺菌処理したつゆ及び、90℃/3時間温水加熱したつゆを、香り、味、総合の3項目について順位法⁵⁾により官能試験した。20名のパネラーで行った。

実験結果及び考察

1. 乳酸菌耐熱性に及ぼす溶液条件の影響

濃度が異なる食塩、しょ糖、及びエタノール溶液中で加熱処理したときの乳酸菌(*L. lactis* subsp. *lactis* ATCC19435)の耐熱性について、D_{55C}値[分]、Z値[℃]を表1に示した。

生理食塩水におけるD_{55C}値は12.0分、Z値は5.9℃であった。食塩濃度5, 10%溶液ではD値、Z値ともに生理食塩水と大きな差はなかった。15%溶液では、生理食塩水に比べD値は約2.5倍大きく、Z値も6.4℃とやや大きな値であり、食塩高濃度溶液中で耐熱性が高まること示された。

しょ糖溶液では分単位の加熱処理をした測定温度域(52~60℃)で、しょ糖を添加した方が生理食塩水に比べてD値は小さく、耐熱性は低下した。しかし、Z値は高濃度で大きくなる傾向にあり、高温短時間の加熱処理で耐熱性が高くなること示された。

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、耐熱性は増大する傾向があるといわれている¹⁾。本研究では、しょ糖溶液でD値の低下がみられ、同様な結果をHärnultvら⁶⁾は*Bacillus stearothermophilus*の胞子の耐熱性(D_{55C})で示している。

エタノールの影響は、エタノール濃度の上昇に伴いD_{55C}値が下がり、乳酸菌の耐熱性を低下させることが示された。Z値については明確な影響はなかった。

表1 乳酸菌の耐熱性に対する溶液条件の影響

溶液条件	D _{55C} 値 [分]	Z値 [℃]
食塩濃度(W/V)		
0.85% (生理食塩水)	12.0	5.9
5%	12.0	5.3
10%	9.8	5.6
15%	28.3	6.4
しょ糖濃度(W/V)		
10%	4.2	7.2
20%	7.0	6.9
30%	2.6	9.8
エタノール濃度(V/V)		
1%	7.8	6.2
2%	6.8	5.3
3%	4.6	5.9

乳酸菌として、*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC19435を使用した。

pH4.0~7.0の溶液中で加熱処理したときのD_{55C}値、Z値を表2に示した。D_{55C}値はpH6.0の溶液で最も大きく、pHが低下するに従いD_{55C}値も低下し、pH4.0液では、6.0の時に比べて20分の1以下に低下した。温度の影響を示すZ値は、大きな差がなかった。

乳酸菌は乳酸を生産し、低いpH域で生育できるという特徴を持つが、耐熱性については、Xezonesら⁷⁾がボツリヌス菌の胞子で求めた影響と同様に低pHで耐熱性が低下し、弱酸性ないし中性付近で耐熱性が最高になることが示された。

表2 乳酸菌の耐熱性に対する溶液pHの影響

pH	D _{55C} 値 [分]	Z値 [℃]
4.0	1.7	6.1
5.0	9.3	5.2
6.0	37.3	5.2
7.0	17.0	5.8

乳酸菌として、*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC19435を使用した。

2. 極超短時間殺菌による乳酸菌の殺菌

当センター所有の極超短時間殺菌装置を用い、0.01秒レベルの加熱処理におけるD値を求めた。

加熱前、加熱保持部、冷却後の試料温度及び流量を測定し、柴田ら²⁾の報告に従い、殺菌条件を解析した結果を図1に示した。加熱、冷却部の温度変化は実線のように解析され、加熱保持時間の0.013秒に加熱、冷却工程の殺菌効果をZ値5.9℃で加算した結果、加熱時間は0.017秒に相当した。

極超短時間殺菌処理前後の生菌数の比と加熱時間からD値を求め、加熱温度とD値の関係を溶液条件の影響を求めた実験結果及び考察1.で得た従来法の結果とともに図2に示した。両加熱法のD値はほぼ一直線上にあり、従来法で得られたD値、Z値によって、極超短時間殺菌の条件設定が可能なが示された。

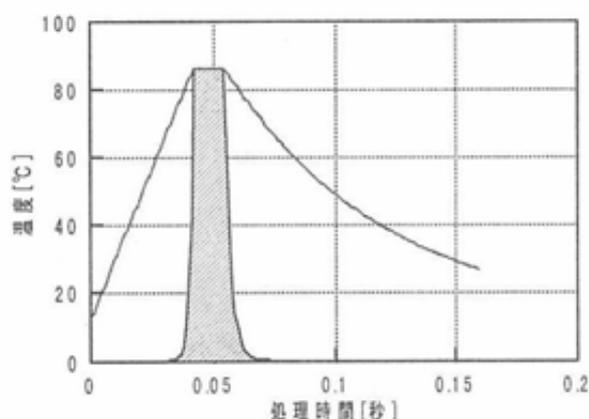


図1 極超短時間加熱処理における殺菌効果
—, 温度: 86.0℃; ▨, 殺菌効果: 0.017秒

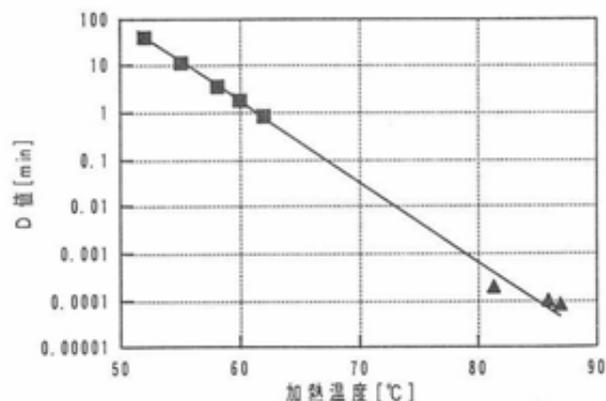


図2 極超短時間殺菌機による耐熱性の測定
菌株: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC19435
Z値=5.9℃; ■, 従来法; ▲, 極超短時間殺菌機

3. つゆ中の乳酸菌の耐熱性

市販のつゆ2種類(2倍濃縮タイプ、ストレートタイプ)及び試作つゆの成分を表3に示した。つゆの成分の特徴(2倍濃縮タイプは、使用時の濃度として)は、ブ

リックス10~15、食塩濃度1.8~3.5%、pH5.0~5.2、アルコール0.9~2.4%であった。

表3 つゆの成分

(100g中)	市販品 (2倍濃縮)	市販品 (ストレート)	試作品
水分(g)	74.6	86.0	91.3
灰分(g)	6.8	3.5	1.9
脂質(g)	0.1	0.1	0.0
たんぱく質(g)	1.9	1.0	1.3
炭水化物(g)	16.6	9.4	5.5
エネルギー(kcal)	74.9	42.5	27.2
比重(20℃)	1.113	1.057	1.033
pH(20℃)	5.0	5.0	5.2
食塩(g)	6.3	3.4	1.8
ブリックス	27.0	15.0	10.0
しよ糖(g)	11.7	3.8	0.7
ぶどう糖(g)	3.1	3.8	3.8
果糖(g)	1.8	1.9	0.0
エタノール(%V/V)	1.8	2.4	1.6

試作つゆ中における乳酸菌の耐熱性は、図3に示したとおりD_{55℃}値34分、Z値4.8℃であり、D_{55℃}値はpH6.0液で測定された最大のD_{55℃}値に近い値が示された。Z値は逆に小さな値となり、高温における耐熱性の低下が示された。

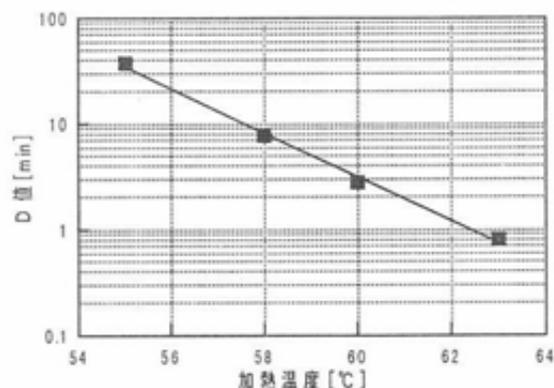


図3 つゆ中における乳酸菌の耐熱性
菌株: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC19435
D_{55℃}値=34分; Z値=4.8℃

4. つゆの加熱劣化の官能評価

試作つゆを温水中で加熱したときの品質劣化を2点比較法で評価した結果を表4に示した。70℃では8時間加熱処理した試料でも対照との有意差は認められなかった。80℃、90℃では、3時間加熱処理したとき5%の有意水準で劣化していると評価された。

対照の未加熱品、温水中での加熱劣化が確認された90℃、3時間(1×10⁴秒)加熱処理と、Z値10℃としてこれと同等以上の殺菌条件となる極超短時間殺菌(160

で、0.013秒)処理した3試料を順位法により比較した結果を表5に示した。

クレーマーの検定表より試料数3, パネラー数20の時の1%有意な点は30以下, 50以上であるので, 香り, 味, 総合の3項目ともに, 3試料の間に有意な差があり, 対照に比べて極超短時間殺菌処理, 温水加熱90℃, 3時間処理の順に加熱劣化していると評価された。さらに, パネラーの意見では, 極超短時間殺菌処理した試料と対照との差はわずかであるのに対して, 温水加熱90℃, 3時間処理した試料の劣化は顕著であるというものが多かった。

この結果から, つゆの加熱殺菌において同等の殺菌効果を持つ条件では高温で短時間の加熱処理をした方が品質劣化は少なく, 極超短時間殺菌技術により, つゆの高品質化が可能なが示された。

表4 つゆの加熱劣化

時間 温度	1時間	2時間	3時間	5時間	8時間
70℃	-	11	-	8	10
80℃	9	-	14	9	-
90℃	11	9	13	-	-

試料: 試作つゆ, 試験法: 2点比較法。
パネラー: 18名, 有意水準 5%: 13≤, 1%: 15≤。

表5 つゆの加熱劣化に対する極超短時間殺菌処理と温水加熱との比較

	対照 未加熱	極超短時間殺菌 160℃, 0.013秒	温水加熱 90℃, 3時間
香り	27	37	54
味	30	36	51
総合	28	39	50

試料: 試作つゆ, 試験法: 順位法(クレーマーの検定),
パネラー: 20名,
有意水準 5%: 32-48, 1%: 30-50。

要 約

極超短時間殺菌技術を応用してつゆ類の高品質化を図

るため, つゆ類の変敗の原因となっている乳酸菌の耐熱性とつゆ類の加熱劣化の特性を求めた。

(1) 乳酸菌の耐熱性に対する溶液条件の影響を検討した。食塩溶液では10%溶液までは大差なかったが, 15%溶液では耐熱性が高くなった。しょ糖溶液では, 10~30%溶液で濃度上昇に伴いD値が小さくなり, Z値は大きくなった。エタノールの影響は1~3%溶液で高濃度ほどD_{50C}値が小さくなった。溶液pHは, pH6.0の時最大のD_{50C}値を示し, 低pH(4.0)でD_{50C}値は著しく低下した。

(2) 極超短時間殺菌機を用いて求めた0.01秒レベルの加熱処理におけるD値は, 従来法で求めたD値, Z値から算出した値とほぼ一致し, 極超短時間殺菌の殺菌条件は従来法で求めたD値, Z値から設定できることが示された。

(3) つゆ中での乳酸菌の耐熱性はD_{50C}値34分, Z値4.8℃であった。つゆの加熱劣化に関する官能評価の結果は, 高温短時間処理で品質劣化がある程度少ないことを示し, つゆの高品質化に極超短時間殺菌技術が有効であることが確認された。

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. II-1 (1995).
- 3) 科学技術庁資源調査会編: 四訂日本食品標準成分表(二版)(大蔵省印刷局, 東京), p. 8 (1995).
- 4) 山口静子: 新版官能検査ハンドブック, 印東太郎・野中敏雄・芳賀敏郎・野呂影勇編(日科技連出版社, 東京), p. 249 (1979).
- 5) 野中敏雄・山口静子: 新版官能検査ハンドブック, 印東太郎・野中敏雄・芳賀敏郎・野呂影勇編(日科技連出版社, 東京), p. 305 (1979).
- 6) Härnqvist, B.G., Johansson, M. and Snygg, B.G.: *J. Food Sci.*, 42, 91 (1977).
- 7) Xezones, H. and Hutchings, I.J.: *Food Technol.*, 19, 113 (1965).