資 料

高圧殺菌技術—その実用化における課題

園 池 耕一郎*

High Pressure Sterilization Technology—Subject
for the Application to Food

Koichiro SONOIKE*

* The Japanese Research and Development Association for High Pressure
Technology in Food Industry, Minesawa Bldg., 17-17,
Kodenma-cho, Nihonbashi, Chuoh-ku, Tokyo 103

わが国において、食品が「質より量」から「量より質」の時代になって久しい。食品の品質向上と安全性の確保とに資すると考えられる食品加工技術として、我が国が世界に先駆けて開発した高圧殺菌技術の実用化に期待が高まっている。一方、平成8年度には食品衛生法が改正され、「高度で多様な衛生管理」が導入された。これにより、加熱殺菌が義務づけられていた食品分野においても、高圧殺菌を応用する道が開かれた。

APPERT (1804) により発明された缶詰は、その実用性から急速に普及した。APPERT 本人の意図したところは加熱により空気を除くことであったが、缶詰製造における、科学的な加熱殺菌理論が確立されたのは、発明から一世紀以上たってからであった (BIGELOW, 1920)。このように、缶詰は理論よりも実用が先行した事例である。しかし、現代社会は、新しい食品加工技術の実用化に先だって、理論的な裏付けを要求していると考えられる。

本稿では、圧力と微生物の挙動に関する、現在までの知見をまとめ、将来、高圧殺菌技術を応用した食品の開発に当たって、安全性の証明にはどのような検討が必要であるかについて考察した。なお、本稿でいう高圧殺菌とは、300~1000 MPa の高圧を使用する殺菌方法である。本法で使用される高圧殺菌装置は概略、Fig. 1 のごとくである。

1. 高圧殺菌研究の歴史

十九世紀の後半は、主として PASTEUR の研究 (1857-76) により微生物学が学問として確立され、KOCH による炭疽菌の発見 (1876) を始め微生物の発見の時代であった。この時期、現在知られているほとんどの細菌の種が記載され、1884 年には CERTES, REGNAR, FISCHER が、それぞれ高圧力下の深海にも微生物が生存していることを確認している²⁾。一方、19 世紀後半には 100~300 MPa を発生させる水圧機が利用可能になり、科学の分野にも応用され、1884 年に REGNAR は加圧下で酵母の培養を行った³⁾。BUCHNER (1897) はすりつぶした酵母細胞から水圧機を用いて得た圧搾液中にチマーゼを発見し、生化学の始まりが告げられた。BRIDGMAN は 1912 年に高圧力下での水の状態図を報告、高圧物理学を確立し、1914 年には高圧力下での卵白の凝固を報告した。その後、Princeton University の EYRING らの絶対反応速度論も同所の JOHNSON の微生物発光に対する温度と圧力の影響に関する研究を通して確立されていった。また、この JOHNSON の研究室では Scripps 海洋研究所の ZOBELL が加圧培養の研究を行い、その後の海洋微生物学の確立につながった。このように高圧力に関する研究は、物理学、物理化学、海洋微生物学といった広い分野で推進され、発展してきた。

* 食品産業超高压利用技術研究組合 (〒103 東京都中央区日本橋小伝馬町 17-17
連絡先: ヤクルト本社中央研究所 〒186 東京都国立市谷保 1796)

Fig. 1 Principle of pressing methods¹⁾

高圧下での微生物の死滅に関する研究は既に 19 世紀末から始まっている。SALMON and THEOBALD SMITH は 1886 年に死菌ワクチンを開発したが、それ以後、あらゆる病気に対するワクチンの開発が試みられ、ワクチンとして用いる死菌体調製法の一つとして、高圧処理にも目が向けられた^{4)~7)}。一方、食品加工への高圧処理の応用として、早くも 1899 年、HITE は高圧処理による牛乳の保存性の向上を報告した。1914 年にはその詳しい検討結果が報告されているが⁸⁾、その後、長いこと省みられなかった。これは、工業的な水の生産や、家庭への冷蔵庫の普及など、その当時の食品保存技術の発展と無縁ではなかったと思われる。1968 年に起きた研究用潜水艇 Alvin 号の沈没事故では、10 ヶ月後に 1543 m の海底から引き上げられた船内に、乗員の昼食用のサンドウィッチ、リングがほとんどもの状態で発見されたことから、深海現場の高圧下での微生物活性が注目された⁹⁾。しかし、殺菌技術としての高圧処理に再び関心が持たれたのは、1987 年の林による「高圧処理の食品加工への応用」の提唱からであり¹⁰⁾、以来、多くの研究成果が発表され、今日に至っている。

過去約 100 年間に発表された、微生物を高圧処理した報告を Fig. 2 にまとめた。供試された微生物をグラム陽性菌、グラム陰性菌、カビ・酵母、耐熱芽胞形成菌に分類、それらが処理された処理圧力、処理時間の位置に高圧処理後の生残菌の有無をプロットしたものである。ただし、糖、タンパク質濃度が高いものや、特殊な添加物の入ったもの、あるいは 0℃ 以下、40℃ 以上の処理温度で行われた高圧処理の結果は除いた。生残菌の有無は、処理前の菌数の多少により、また、菌数の測定方法により変化するものではあるが、この図では、それらを無視し、報告に現れた結果のまま示した。

この図に登場した菌種、菌株は菌株リスト (Table 1)

に示したように多種類であるが、ほとんどの栄養細胞が 400 MPa、20 分以上に相当する処理圧力、処理時間の高圧処理（ほぼ、X 軸上の 600 MPa と Y 軸上の 10 000 分を結んだ直線より上の高圧処理条件）により殺菌された。グラム陰性菌、カビ・酵母ではそれ以下で死滅する菌種も多く見られ、また、耐熱性芽胞は高圧処理により殺菌することが困難であることがわかる。比較的低圧、長時間処理で耐熱性芽胞が殺菌されたことを示すポイントがあるが、これは芽胞の発芽とその後の栄養細胞の死滅による結果と考えられ、後で詳しく触れる。多くの微生物が死滅する 400 MPa、20 分処理に相当する以上の高圧処理によっても生残する栄養細胞が一部の菌種に認められた。耐熱性が比較的高いことが知られている結核菌の耐圧性が高かった他、*Streptococcus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium* のグラム陽性菌、大腸菌、*Serratia*, *Salmonella* のグラム陰性菌の耐圧性が高い可能性が認められた。

2. 高圧処理による微生物の死滅に影響する因子

(1) 高圧処理中に起こる物理化学的变化の影響

i) pH: 水の pH は、温度の変化に伴い変化するように、圧力の変化によっても変わる。加熱同様、加圧によっても水のイオン化が進み、pH は低下する¹¹⁾。また、水の pH が変化するだけでなく、加圧による体積変化が大きい塩、化合物で調製した緩衝液では圧力の変化に伴い pH が大きく変化する¹²⁾。Good's 緩衝液は概して体積変化が小さく、加圧処理実験に用いるのに適した緩衝液であるといえる。逆に、リン酸緩衝液は、温度の変化による pH の変動は小さいが、加圧による体積変化が大きく、高圧処理には不適当な緩衝液であるといえる。後述するように、高圧殺菌において pH は菌の死滅率に影響するので、加圧による pH の変化についても考慮する必

Fig. 2 Summary of literature on pressure treatment and survival of microorganisms

△ : survived ■ : sterile

要があると考えられる。

ii) 温度: 水といえども 700 MPa まで加圧すると体積は約 16% (22℃) 収縮する。内径 60 mm, 深さ 200 mm, 内容積 565 cm³ の圧力容器を用いた実験では, 7 MPa/sec 以上の速さで加圧, 減圧を行うと, 容器内の水には断熱圧縮に相当する温度変化が起きた¹¹⁾。断熱圧縮による温度上昇量は初期温度が高いほど大きく, 10℃ と 70℃ の水は 700 MPa まで加圧すると, それぞれ約 15℃ と 30℃ 温度が上昇する¹¹⁾。有機溶媒等は水よりも圧縮率が大きく高圧処理による温度上昇が水よりも大きい¹³⁾。高圧殺菌における処理温度の影響について検討された例では, 菌の耐圧性は室温付近での高圧処理で最も高まり, それよりも高温側, 低温側で, 死滅率が高くなっている⁹⁾。このように, 処理温度は高圧処理の殺菌力に影響するので, 温度上昇の大きい高温側での高圧殺菌や, 圧力媒体に水以外のものを使用した場合は, 特

に実際の処理温度を把握することが重要である。

(2) 微生物の耐圧性に影響する食品成分

加熱殺菌においては, 糖, タンパク質, 塩類, pH 等のほか, 成分および理化学的性状が微生物の耐熱性に影響することが知られている¹⁴⁾。糖は低濃度 (3%) では酵母の耐圧性を低下させたが⁸⁾, 10% 以上の濃度では検討されたすべての菌株で耐圧性が高められた^{8) 15) 16)}。高圧殺菌に対する糖の影響は主に濃度で決定され¹⁵⁾, 糖の種類の影響は小さかった^{8) 16)}。食塩も圧力に対して保護作用が有り^{15) 17)}, かつ, 濃度依存性が高かった¹⁵⁾。タンパク質の影響は小さかったが微生物を保護する傾向があった¹⁵⁾。pH も菌の耐圧性に影響したが, その影響の大きさは菌種, 菌株により異なっていた^{8) 15)}。これらの結果は, 概ね加熱殺菌に対する影響と似ていると考えられた。加熱殺菌理論では, 微生物の死滅に対する糖や塩の保護作用を, 食品の水分活性との関連で論ずるが, 高圧

Table 1 Strains used in the studies related with high pressure

<i>Acetobacter aceti</i> IFO 8801 ¹⁵⁾
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> ³²⁾
<i>Aerobacter aerogenes</i> ⁸⁾
<i>Alcaligenes faecalis</i> ³³⁾
<i>Aspergillus awamori</i> ²⁸⁾
<i>Aspergillus niger</i> ³⁴⁾
<i>Aspergillus niger</i> IFO 6341 ³⁵⁾
<i>Aspergillus oryzae</i> ^{35) 36)}
<i>Aspergillus oryzae</i> IFO 4075 ¹⁵⁾
<i>Bacillus alvei</i> ^{33) 37)}
<i>Bacillus anthracis</i> ^{4) 5)}
<i>Bacillus cereus</i> ^{33) 38)}
<i>Bacillus cereus</i> NCTC 8035 ²²⁾
<i>Bacillus cereus</i> PX ²²⁾
<i>Bacillus cereus</i> T ²²⁾
<i>Bacillus cereus</i> IAM 1110 ¹⁷⁾
<i>Bacillus cereus</i> IFO 13494 ²⁴⁾
<i>Bacillus circulans</i> ³³⁾
<i>Bacillus coagulans</i> ³⁷⁾
<i>Bacillus coagulans</i> NCTC 3991 ²²⁾
<i>Bacillus coagulans</i> IFO 3557 ³⁵⁾
<i>Bacillus coagulans</i> IAM 1115 ¹⁷⁾
<i>Bacillus coagulans</i> IFO 12583 ²⁴⁾
<i>Bacillus grobigeri</i> ²²⁾
<i>Bacillus laterosporus</i> ³⁷⁾
<i>Bacillus licheniformis</i> NIAH No. 157 ¹⁷⁾
<i>Bacillus licheniformis</i> IFO 12200 ²⁴⁾
<i>Bacillus megaterium</i> ³³⁾
<i>Bacillus megaterium</i> IAM1245 ¹⁷⁾
<i>Bacillus mycoides</i> ³³⁾
<i>Bacillus polymyxa</i> ³⁷⁾
<i>Bacillus polymyxa</i> M 1 ²²⁾
<i>Bacillus polymyxa</i> IAM 1210 ¹⁷⁾
<i>Bacillus pumilus</i> E 601 ²¹⁾
<i>Bacillus stearothermophilus</i> ³⁶⁾
<i>Bacillus subtilis</i> ^{5) 6) 8) 25) 33) 34) 36)}
<i>Bacillus subtilis</i> A ²²⁾
<i>Bacillus subtilis</i> IAM 1302 ¹⁷⁾
<i>Bacillus subtilis</i> 572 ¹⁵⁾
<i>Campylobacter jejuni</i> T 1 ³⁸⁾
<i>Candida albicans</i> ^{8) 34) 36)}
<i>Candida tropicalis</i> 118-40 A ³⁹⁾
<i>Candida utilis</i> IFO 1086 ^{35) 38)}
<i>Cladosporium cladosporioides</i> IFO 6348 ³⁵⁾
<i>Clostridium chauvoei</i> ³³⁾
<i>Clostridium histolyticum</i> ³³⁾
<i>Clostridium perfringens</i> ³³⁾
<i>Clostridium putreficum</i> ³³⁾
<i>Clostridium septicum</i> ³³⁾

Table 1 continued

<i>Clostridium sporogenes</i> ³³⁾
<i>Clostridium sporogenes</i> PA 3679 ²²⁾
<i>Clostridium sporogenes</i> 932 ¹⁵⁾
<i>Corynebacterium diphtheriae</i> ⁸⁾
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i> ⁵⁾
<i>Corynebacterium</i> sp. ³²⁾
<i>Escherichia coli</i> ^{4)~6) 33) 36)}
<i>Escherichia coli</i> strain B ⁴⁰⁾
<i>Escherichia coli</i> IFO 3301 ³⁵⁾
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 ^{17) 38)}
<i>Escherichia coli</i> JCM 1649 ¹⁹⁾
<i>Escherichia coli</i> IFO 12734 ¹⁵⁾
<i>Escherichia coli</i> ATCC 2592 ⁴¹⁾
<i>Geotrichum candidum</i> ⁵⁾
<i>Gliocladium virens</i> ATCC 9645 ³⁵⁾
<i>Hansenula anomala</i> ^{28) 33)}
<i>Hansenula anomala</i> IFO 0122 ³⁹⁾
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ⁵⁾
<i>Kluyveromyces marxianus</i> ³³⁾
<i>Lactobacillus acidophilus</i> L-54 ¹⁵⁾
<i>Lactobacillus brevis</i> ⁴²⁾
<i>Lactobacillus casei</i> IFO 3425 ⁴³⁾
<i>Lactobacillus casei</i> YIT9018 ¹⁹⁾
<i>Listeria monocytogenes</i> CA ²⁹⁾
<i>Listeria monocytogenes</i> Scott A ²⁹⁾
<i>Micrococcus agilis</i> ⁵⁾
<i>Micrococcus luteus</i> ^{34) 37) 38)}
<i>Micrococcus luteus</i> IAM 1097 ¹⁷⁾
<i>Micrococcus varians</i> ³⁷⁾
<i>Moraxella</i> sp. ³²⁾
<i>Morganella morganii</i> IFO 3168 ³⁵⁾
<i>Mucor plumbeus</i> ²⁸⁾
<i>Mycobacterium phlei</i> ³³⁾
<i>Mycobacterium smegmatis</i> ³³⁾
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> ^{5)~7)}
<i>Octosporomyces octosporus</i> ³³⁾
<i>Paecilomyces</i> sp. ³⁵⁾
<i>Penicillium citrinum</i> ³⁴⁾
<i>Penicillium citrinum</i> IFO 6352 ³⁵⁾
<i>Proteus vulgaris</i> ^{6) 33)}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^{5) 36) 38)}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> IFO 3080 ¹⁵⁾
<i>Pseudomonas fluorescens</i> ³³⁾
<i>Pseudomonas fluorescens</i> IFO 3081 ³⁵⁾
<i>Pseudomonas liquefaciens</i> ⁸⁾
<i>Rhizopus javanicus</i> IFO 5442 ¹⁵⁾
<i>Rhizopus oryzae</i> IFO 31005 ³⁵⁾
<i>Rhodotolura glutinis</i> IFO 1125 ³⁹⁾
<i>Rhodotorula glutinis</i> ²⁸⁾
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ^{5) 8) 28) 33) 34) 36) 44)}

Table 1 continued

<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO 0304 ³⁵⁾
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> K-7 ⁴²⁾
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IAM 4125 ³⁹⁾
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO 0125 ³⁹⁾
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO 0304 ³⁸⁾
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFO 2375 ¹⁵⁾
<i>Saccharomyces uvarum</i> IFO 0565 ³⁵⁾
<i>Salmonella bareilly</i> 9 ¹⁵⁾
<i>Salmonella senftenberg</i> 775 W ³⁰⁾
<i>Salmonella typhi</i> ^{5) 6) 8)}
<i>Salmonella typhimurium</i> ⁵⁾
<i>Salmonella typhimurium</i> 7136 ³⁰⁾
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 ³⁸⁾
<i>Serratia marcescens</i> ^{5) 7) 8) 33)}
<i>Sporobolomyces roseus</i> ³³⁾
<i>Staphylococcus aureus</i> ^{4) ~7) 33) 36)}
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 ³⁸⁾
<i>Staphylococcus aureus</i> IAM 1011 ¹⁵⁾
<i>Streptococcus bovis</i> ³⁷⁾
<i>Streptococcus faecalis</i> ³⁷⁾
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC 12984 ¹⁷⁾
<i>Streptococcus faecalis</i> ^{32) 38)}
<i>Streptococcus lactis</i> ^{8) 33)}
<i>Streptococcus lactis</i> 527 ¹⁵⁾
<i>Streptococcus mitis</i> ³⁷⁾
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ⁶⁾
<i>Streptococcus pyogenes</i> ⁴⁾
<i>Streptococcus sp.</i> ⁶⁾
<i>Thiopedia rosea</i> ⁵⁾
<i>Vibrio cholerae</i> ⁵⁾
<i>Vibrio metchnikovii</i> ⁵⁾
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> T-3765-1 ²⁹⁾
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> IFO 12711 ¹⁵⁾
<i>Xanthomonas canpestris</i> INXC-1 ⁴⁵⁾
<i>Yersinia enterocolitica</i> ³⁸⁾
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i> ⁵⁾
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> IAM 4962 ³⁵⁾
<i>Zygosaccharomyces rouxii</i> IFO 0505 ³⁹⁾

殺菌においても水分活性は重要な要因と考えられる。しかし、0℃以下の水分活性が低い凍結条件下で行われた実験では、溶液中と逆の結果が得られる例があった。黄色ブドウ球菌に対するグルコース¹⁵⁾、酵母に対する食塩^{15) 18)}は20～25℃での高圧処理では保護作用を示したが、-20℃では加圧により死滅を促進した。凍結条件下での高圧殺菌技術は、期待が大きい分野であり、さらなるデータの蓄積が必要である。

(3) 高圧処理の殺菌力の測定値に影響する要因

実際の高圧処理ではFig. 3に示したような圧力、温度、生菌数の変化が起きていると考えられる。高圧処理による生菌数減少の一部は昇圧時、降圧時に起こり、これは高圧処理装置の大きさや、昇圧、減圧の速度にも依存する。後述するように、比較的高温域での高圧処理では、加圧により死滅速度が逆に低下することがあり、この場合、昇圧時、降圧時の菌数減少が相対的に大きくなる(Fig. 3b)。このため、高圧処理前後の菌数変化だけでなく、高圧力下での正味の菌数減少を評価できるような実験が必要と考える。

以上のように高圧処理による菌数の減少には数多くの要因が含まれている。多くの高圧処理実験装置では高圧処理中のサンプルの状態をモニターすることが困難であると思われる。従って、高圧処理中に菌があった状態(温度、pH等)を推定できるような記述が必要である。極端な例で示せば、圧力媒体(通常水が多く用いられるが、実験機では石油やシリコンオイルなども用いられる)とサンプルの溶媒が異なっている場合には、加圧直後には圧力容器、圧力媒体、サンプルがそれぞれ異なる温度になり、サンプルの温度はその熱容量や熱伝導度、対流の起こり易さに応じて変化する。圧力容器の大きさとサンプル量の比を明らかにすることで、サンプルの温度変化は推定しやすくなる。また、圧力容器の壁に近いほど温度は低くなるので、サンプルを置く位置によっても温度は異なる¹¹⁾。

3. 微生物の死滅速度に対する温度と圧力の影響

SONOIKEら¹⁹⁾は上記諸要因に配慮し、N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid (HEPES)中で乳酸菌、大腸菌を種々の温度で高圧処理し、加圧保持時間中の菌の死滅速度を測定した。得られた死滅速度は温度-圧力平面上で低温、低压方向を中心とした楕円状の等高線で示された(Fig. 4)。酵母でも同様な結果が得られた¹⁸⁾。楕円の中心部では微生物は安定であり、外側では死滅速度が速いことを表している。このような楕円状の等高線はタンパク質の可逆変性で見られた相関図とよく似ていた²⁰⁾。得られた等高線から、0～40℃の間では、温度変化に対する死滅速度の変化は小さいが、加圧により死滅速度は指数関数的に上昇する。従って、この温度範囲では、加圧致死時間(一定数の菌をすべて殺すのに必要な処理時間)の対数は直線的に減少する。このような条件下では、加熱殺菌条件決定のために加熱致死時間(TDT)曲線を描くのと同様に、加圧致死時間曲線を描いて高圧殺菌条件を決定することがで

Fig. 3 Conceptual figure of pressure, temperature and viable cell count under pressure sterilization process

Fig. 4 The contours of constant death rates of lactic acid bacteria and *E. coli* on the temperature-pressure plane⁽⁴⁾

1, 0.1, 0.01 of death rate indicate decimal reduction of viable cell count in 1, 10, 100 min, respectively.

きる (Fig. 2 参照). 40℃ 以上の高温側では処理温度を上げることにより死滅速度を上げることができるが、加圧による死滅速度の上昇は小さかった。さらに、常圧下で死滅が起こるような高温になると、乳酸菌の死滅速度は加圧することにより逆に低下した。また、この図から

加圧による死滅速度の上昇は、低温域で効率的に起こると予想され、高圧殺菌は低温で行うのが効果的であると思われた。以下、この等高線で示される、菌の死滅速度に対する温度と圧力の影響を死滅速度曲面と呼ぶ。今後、より多くの微生物について死滅速度曲面が明らかに

されることが望まれる。

4. 耐熱性芽胞の殺菌

過去の多くの研究から、耐熱性芽胞が常温での高圧処理では死滅しないことが明らかである (Fig. 2). CLOUSTON and WILLS²¹⁾ は高圧処理により芽胞の発芽が促進されることを見だし、発芽した芽胞は高圧下で殺菌されることを認めた。SALE ら²²⁾ はこのことを確認するとともに、高圧処理のみで芽胞を殺菌するには至適圧力があること、より高温で処理することにより殺菌力が高まることを明らかにした。芽胞の高圧殺菌に加熱を併用する試みはその後いくつか報告され^{17) 23) 24)}、60℃以上の加熱を併用することで芽胞の殺菌が可能と思われる。一方、常圧下でも芽胞の死滅がおこるような高温では、加圧により逆に死滅が抑制されることもある²⁵⁾。衣笠ら²⁴⁾ は、80℃以下の加熱を併用し、茶飲料の品質を保ったまま芽胞の高圧殺菌が可能であると述べている。このように高圧処理を併用することにより、加熱処理のデメリットを克服する技術の開発は、高圧処理の実用化における一つの方向であろうと思われる。

TANIGUCHI and SUZUKI²⁶⁾ は酵素の反応速度に対する温度と圧力の影響について検討し、反応速度には至適温度、至適圧力が存在することを示した。芽胞の発芽も一連の酵素反応であるとされており、高圧処理による芽胞の活性化に対しても至適温度、至適圧力があつた^{22) 27)}。酵素反応速度に対し至適な温度、圧力条件が存在するのは、酵素反応速度が、加温、加圧による反応の促進と酵素の失活の二つの速度の差し引きによるためである。従って、栄養細胞の殺菌と異なり、加熱や加温により一義的に速度を上げることはできないと考えられる。また、発芽の至適条件は菌種により同じとは限らず、また、

同じ菌でも芽胞の休眠の程度は分布が広い。このため、発芽を促進させることを応用した芽胞の高圧殺菌法は、食品の殺菌処理に応用するのが困難かもしれない。

今後、加熱と加圧を併用した芽胞の殺菌技術を実用化するため、特に高温での加圧によるサンプルの温度上昇にも配慮し、芽胞の死滅速度、発芽率に対する温度と圧力の影響についてさらなる研究が待たれる。

5. 食品の殺菌工程へ高圧処理を応用するための今後の課題

ここまでの調査では、耐熱性芽胞も殺菌する必要のある食品の滅菌工程へ、高圧処理を応用することは困難であると思われた。以下、栄養細胞を殺菌対象とする殺菌工程に、高圧処理を応用するための今後の課題について考察した。

食品の加熱殺菌条件を決定するためには、病原菌、食中毒菌の中で最も耐熱性の高い菌株を指標菌として用いる必要があつた。乳製品では加熱殺菌条件の決定の指標とされたのは結核菌であつた。微生物の死滅速度曲面の形状は、おそらく、乳酸菌など同様のパターンで表されると予想される。耐熱性菌が比較的高い耐圧性を持っている傾向がある^{28) 29)} のはこの予想を裏付けるものであろう。しかし、耐熱性にはほとんど差がない乳酸菌と大腸菌で、乳酸菌の耐圧性が高かつたように¹⁹⁾、細かくみれば、死滅速度曲面の形状は菌種、菌株により異なっていると考えられる。すなわち、耐熱性の高い菌株が、そのまま耐圧性も高いとは限らない。METRICK ら³⁰⁾ は *Salmonella* の耐熱性株と熱感受性株の耐圧性を比較したところ、耐熱性株の耐圧性は高くなかつたことを認めている。今後、食品の殺菌工程へ高圧殺菌を応用する場合、殺菌条件決定の指標とするため、それぞれの食品中

Fig. 5 Effect of food substance on the death rate of lactic acid bacteria³¹⁾

で最も耐圧性の高い病原菌，食中毒菌を見いだすことが重要である。

ある食品で見いだされた耐圧性の指標菌が，他の食品でも利用できれば，高圧殺菌の応用はさらに容易になると思われる。乳酸菌の乳中と HEPES 中での死滅速度を死滅速度曲面で比較すると，乳中での死滅速度曲面は HEPES 中での死滅速度曲面よりも外側（下）にあって，乳中では加圧下，加熱下ともに死滅速度がほぼ一定の割合で HEPES 中より遅いことがわかる（Fig. 5）³¹⁾。このように，乳成分が加わっても乳酸菌の死滅速度曲面の形状は変わらないように思われた。食品成分は微生物の死滅速度曲面の位置を上下させるが，その菌株に特有な曲面の形状を変えないのであれば，耐圧性の指標菌は，他の食品においても指標菌として使うことができる。そのため，微生物の死滅速度曲面に対して種々の食品成分がどのように影響するかを明確にしていけることが重要であろう。

本稿は食品産業超高压利用技術研究組合において行われた調査事業の成果を基にまとめたものである。木村進理事長には調査事業の推進，成果のまとめにご指導を頂きました。本間一男（キューピー（株）），高橋観二郎（（株）ニチレイ），安田篤史（明治製菓（株）），島田昇二（オリエンタル酵母工業（株）），吉岡 薫（（株）加藤美峰園本舗），来栖 隆（日本水産（株）），衣笠 仁（（株）伊藤園），岩田直樹（味の素冷凍食品（株）），野瀬正敏（（株）フジチク），今井泰彦（キッコーマン（株））の調査事業委員に感謝いたします。本稿をまとめるに当たって，懇切なご指導を頂きました国立衛生試験所，三瀬勝利衛生微生物部長，（社）日本缶詰協会研究所，松田典彦博士に感謝いたします。

なお，食品産業超高压利用技術研究組合の研究成果は論文集⁴⁶⁾としてまとめられており，また，高圧の利用技術の現状については木村⁴⁷⁾の解説がある。

文 献

- 1) 山岸紀亮・高橋孝郎・加藤栄一：高圧化学と加圧食品，林 力丸編，（さんえい出版，京都）p. 399（1991）。
- 2) ZOBELL, C.E. : High pressure effects on cellular processes, A.M. ZIMMERMAN ed. (Academic Press, New York), p. 85 (1970)。
- 3) REGNARD, P. : *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences*, **98**, 745 (1884)。
- 4) ROGER, H. : *Arch. Physiol. Normale Pathol.*, **7**, 12 (1895)。
- 5) CHLOPIN, G.W. and TAMMANN, G. : *Zeitschrift für hygiene und infektionskrankheiten*, **45**, 171 (1903)。
- 6) LARSON, W.P., HARTZELL, T.B. and DIEHL, H.S. : *J. Inf. Dis.*, **22**, 271 (1918)。
- 7) BASSET, J. and MACHEBOEUF, M.A. : *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences*, **195**, 1431 (1932)。
- 8) HITE, B.H., GIDDINGS, N.J. and WEAKLEY, C.E. Jr. : *West Virginia University Agricultural Experiment Station Bulletin*, **146**, 3 (1914)。
- 9) 大和田紘一：月刊海洋，**24**, 595 (1992)。
- 10) 林 力丸：化学と生物，**25**, 703 (1987)。
- 11) 蒔田 董・羽根 弘・完山成祢・清水幸司：高圧化学と加圧食品，林 力丸編，（さんえい出版，京都）p. 93 (1991)。
- 12) 谷口吉弘：ケミカルエンジニアリング，**34**, 53 (1989)。
- 13) 中原 勝：加圧食品一研究と開発一，林 力丸編，（さんえい出版，京都），p. 3 (1990)。
- 14) 芝崎 勲：新・食品殺菌工学，（光琳，東京）(1983)。
- 15) TAKAHASHI, K. : *Colloque INSERM*, **224**, 303 (1992)。
- 16) 吉岡 薫・秋保慶志：食品と容器，**35**, 608 (1994)。
- 17) 滝 穂・粟生武良・光浦暢洋・高垣康雄：加圧食品一研究と開発一，林 力丸編，（さんえい出版，京都）p. 143 (1990)。
- 18) HASHIZUME, C., KIMURA, K. and HAYASHI, R. : *Biosci. Biotech. Biochem.*, **59**, 1455 (1995)。
- 19) SONOIKE, K., SETOYAMA, T., KUMA, Y. and KOBAYASHI, S. : *Colloque INSERM*, **224**, 297 (1992)。
- 20) HAWLEY, S.A. : *Biochemistry*, **10**, 2436 (1971)。
- 21) CLOUSTON, J.G. and WILLS, P.A. : *J. Bacteriol.*, **97**, 684 (1969)。
- 22) SALE, A.J.H., GOULD, G.W. and HAMILTON, W.A. : *J. Gen. Microbiol.*, **60**, 323 (1970)。
- 23) 藤木博明・望月恵三：加圧食品一研究と開発一，林 力丸編（さんえい出版，京都），p. 193 (1990)。
- 24) 衣笠 仁・竹尾忠一・福元研治・秦野 徹・石原正美：生物と食品の高圧化学，林 力丸編（さんえい出版，京都），p. 237 (1993)。
- 25) JOHNSON, F.H. and ZOBELL, C.E. : *J. Bacteriol.*, **57**, 353 (1949)。
- 26) TANIGUCHI, Y. and SUZUKI, K. : *J. Phys. Chem.*, **87**, 5185 (1983)。

- 27) MURRELL, W.G. and WILLS, P.A.: *J. Bacteriol.*, **129**, 1272 (1977).
- 28) OGAWA, H., FUKUHISA, K., KUDO, Y. and FUKUMOTO, H.: *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 1219 (1990).
- 29) STYLES, M.F., HOOVER, D.G. and FARKAS, D.F.: *J. Food Sci.*, **56**, 1404 (1991).
- 30) METRICK, C., HOOVER, D.G. and FARKAS, D.F.: *J. Food Sci.*, **54**, 1547 (1989).
- 31) 園池耕一郎: 食品と容器, **35**, 256 (1994).
- 32) 宮尾茂雄・新藤哲也・宮森清勝・有田俊幸: 日食工誌, **40**, 478 (1993).
- 33) ZOBELL, C.E. and JOHNSON, F.H.: *J. Bacteriol.*, **57**, 179 (1949).
- 34) 高橋保男・伊福 靖: 果汁協会報, **370**, 6 (1988).
- 35) 松本 正: 滋賀県工業技術センター研究報告, **3**, 77 (1988).
- 36) BUTZ, P. and LUDWIG, H.: *Physica*, **139 & 140 B**, 875 (1986).
- 37) TIMSON, W.J. and SHORT, A.J.: *Biotechnol. Bioeng.*, **7**, 139 (1965).
- 38) SHIGEHISA, T., OHMORI, T., SAITO, A., TAJI, S. and HAYASHI, R.: *Int. J. Food Microbiol.*, **12**, 207 (1991).
- 39) 落合信哉・中川善博: 防菌防黴, **19**, 269 (1991).
- 40) RUTBERG, L.: *Acta Path. et Microbiol. Scandinav.*, **61**, 81 (1964).
- 41) 梶山 昇・秋住啓二・安部井孝蔵・長田 優・江頭辰昭・三宅義章: 日食工誌, **40**, 406 (1993).
- 42) 原 昭弘・長浜源杜・大林 晃・林 力丸: 農化, **64**, 1025 (1990).
- 43) 末永麻里・蒔田 董: 防菌防黴, **18**, 129 (1990).
- 44) LUYET, B.: *Comptes Rendus Hebdomadaires des Séances de l'Académie des Sciences*, **204**, 1214 (1937).
- 45) HONMA, K. and TAKEUCHI, A.: *Colloque INSERM*, **224**, 291 (1992).
- 46) 食品産業超高圧利用技術研究組合編: 高圧技術と高密度培養 (健康産業新聞社, 東京), (1993).
- 47) 木村 進: 食の科学, **199**, 10 (1994).

(平成9年4月3日受理)