

## 高圧処理による卵白の変性と殺菌技術

山崎邦雄・ヤコ・ダイヴェンポールデン\*・熊林義晃・清水英樹

### Denaturation and Sterilization of Egg White by High-pressure Treatment

Kunio YAMAZAKI, Jacco Duivenvoorden\*, Yoshiteru KUMABAYASHI, Hideki SHIMIZU

Raw eggs are widely used in the making of surimi paste and confectioneries. Every year, however, eggs result in cases of food poisoning, many of which are due to *Salmonella sp.* contamination. Low-temperature pasteurization has been employed to combat *Salmonella sp.*, but at the price of altering the physical properties of the egg white. This study investigates the possibility of using a high-pressure treatment to sterilize egg whites and thereby eliminate *Salmonella sp.*

In these experiments, egg-white turbidity (absorbance at 660nm) increased with increasing pressure. As absorbance is a good indicator of the onset of egg-white denaturation,  $A_{600nm}=0.20$  was deemed to delineate the onset of denaturization. Treatments at 200 MPa for 30 minutes, 300 MPa for 5 minutes and 400 MPa for 5 seconds at room temperature did not denature the egg white or exceed the 0.20 limit. High pressure was also successful in reducing *Salmonella sp.* Pressure and temperature treatments used in combination and repetitive high-pressure treatments yielded even more effective results. Treatments of 200 MPa at 50°C for 30 minutes and five repetitive treatments of 300 MPa at room temperature for 1 minute both reduced viability of the bacteria to  $10^{-6}$ .

一般に食品素材に超高压 (100~700 MPa) をかけると加熱処理と同じようにタンパク質は変性し、酵素や微生物は不活性化あるいは死滅する。加熱と異なり熱による変質、呈味、呈色、物性の劣化、ビタミンなどの不安定な栄養素の損失が少ないという利点がある。食品加工における革新技术として高压利用が注目されて、特に殺菌への高压適用研究が活発に行われるようになり、現在では数企業において加圧食品が市販されるまでになった。

液卵白はババロア、ムースなどデザート、菓子類、カマボコなどに利用されているが雑菌に汚染されやすく、特にサルモネラ菌による汚染が問題となっている。そのため低温加熱殺菌 56°C 4分が行われているが、起泡性、乳化性等の物性低下するのは避けられない。本研究は卵白の物性を変化させずにサルモネラ菌の殺菌が可能かを検討した。

### 実験方法

#### 1. 試料

卵白は 4°C で貯蔵した市販品卵を手で割り黄身と分離しカラザを除きマグネチックスターラーで空気を含まぬよう低速で 10 分間均一にしポリエチレン袋又はテフロンチューブに封入し使用した。

#### 2. 加圧装置

使用した高压処理装置は神戸製鋼所製の小型試験機 (WIP) で処理室寸法は D 60×L 200 mm, 最高使用圧力 700 MPa, 使用温度範囲は室温~80°C で、水を圧力媒体としてピストン直圧方式にて加圧するものである。本試験機は低温側のコントロールが出来ないので予め反応容器内に長時間、冷水を循環し容器全体を十分冷やした後室温以下の実験を行った。本試験機の 200 MPa, 300 MPa, 400 MPa に到達する時間は各々 35 秒, 55 秒, 80 秒を要し解放には 30 秒, 35 秒, 40 秒を要した。

\*ワーゲニンゲン農業大学 (オランダ)

### 3. 加圧処理方法

試料をプラスチック容器に満量充填した後に密封し高圧処理をした。加圧処理時間は設定圧力に到達した時から圧力を解除しを始めるまでの時間とした。本実験は保持時間を5秒～30分、処理圧力200～500 MPa、処理温度8°C～50°Cの範囲で行った。

繰り返し加圧方法とは短時間の保持時間で昇圧と降圧を繰り返す処理でここでは保持時間の合計を通常処理保持時間と同じとした。例えば30分間加圧の場合、5回繰り返しとは6分間保持の加圧処理を5回繰り返して加圧する方法である。

### 4. 供試菌

使用したサルモネラ菌は *Salmonella enteritidis* IFO 3313 (*Sal. enteri*), *Salmonella typhimurium* IFO 14193 (*Sal. typhi*) を1.0%ペプトン、0.2%酵母エキス、0.1%MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、pH 7.0の液体培地で37°C18時間培養した。その後4,000 rpm 10分間遠心分離にて集菌し0.8%NaCl水で希釈後、および卵白に添加後圧力処理した。菌数の測定は上記培養液の1.5%寒天培地を用いて行った。殺菌効果はlog(N/N<sub>0</sub>)として計算した。Nは加圧後の生存菌数(個/ml)、N<sub>0</sub>は未処理の菌数(個/ml)である。

### 5. 物性測定

濁度は分光光度計(島津製作所 UV-1200)を用い、660 nmでの吸光度を3回測定し平均値より求めた。

起泡力は20 mlの卵白をハンドミキサー(ナショナル MK-1000)にて900 rpmで6分間泡立てた後、直に30 mlのペトリ皿に入れかさ密度を測定し未処理卵白密度(1.050 g/cm<sup>3</sup>)との比により体積増加度で表した。

NMR測定は日本電子製 JNM-EX 270を用いた。Jonasはリゾチームたん白質の圧力による変性をNMR測定で示すことが出来ると報告している<sup>1)</sup>。卵白の変性を

を検討するために<sup>1</sup>H-NMRを用い卵白0.3 mlと1 mlのD<sub>2</sub>Oを混合し、3 mgの3(トリメチルシリル)プロパンスルホン酸ナトリウム(DSS)を標準試料として加え測定した。

## 実験結果及び考察

### 1. 卵白の加圧による物性変化

200～600 MPaで1分～30分室温で高圧処理した卵白の濁度をTable 1に示した。卵白は200 MPaでは変化しないが300 MPa、10分で微かに白濁を生じ400 MPa、1分で白濁を生じ、600 MPaからゲル化した。一般的に行われている低温加熱殺菌(56°Cで4分)卵白は400 MPa、1分の処理と同等であった。300 MPa、5分から10分の加圧処理の吸光度は0.2付近で変性のボーダーラインとした。

室温にて各圧力で10分間加圧処理した卵白の起泡力をTable 2に示した。起泡力をかさ密度より換算した体積増加度でみると処理圧力の増加とともに減少し300 MPa以上で減少が進み9以下となり、攪拌し始めてから泡を維持できるに要する時間も300 MPaまでの低圧では20～40秒であったのが300 MPa以上の高圧では90～120秒かかった。卵白の食品加工において、起泡性は

Table 2 Effect of pressure on whipability of egg white

Pressure (MPa)	Volume (Times)
Untreated	10.6
200	9.7
300	8.9
400	8.5
500	8.0
56°C, 4 min.	9.0

Table 1 Effect of pressure on the absorbance of egg white

Pressure (MPa)	Time (min)	Absorbance (660 nm)	note
Untreated	—	0.09	clear
200	10	0.10	//
200	30	0.12	//
300	5	0.16	//
300	10	0.21	very slightly clouded
400	1	0.34	slightly clouded
400	10	1.12	clouded
500	10	2.27	//
600	10	not measured	
56°C	4	0.32	slightly clouded

重要な特性であり、低温加熱殺菌の起泡力は9で、300 MPa 加圧処理時とほぼ同等な値でありこの点からみても300 MPa, 10分が起泡性に関する卵白たん白の変性のボーダーラインと考えられる。泡の粒径、個数、体積は測定していないが外観から加圧により小粒径の気泡を含むようになり、300 MPa 以上で起泡性は20%減少していた。

500 MPa までの各処理圧力で10分維持した時の濁度と起泡性を Fig.1 に示す。左縦軸に濁度として吸光度で右縦軸に起泡性として体積増加度(Times)で示した。図から明らかなように濁度は300 MPa から急上昇しているが、起泡性は500 MPa までゆるやかな減少を示している。当然のことではあるが、起泡性の急激な減少は、ゲル化の始まる600 MPa 以上である。

卵白変性の温度と圧力の併用効果について Fig.2 に示す。実験温度は50°Cまで15°C間隔で4段階に分けて行った。図では8°C, 19°C(室温), 35°C, 50°Cの4点とした。400 MPa, 10分を除きいずれの場合も35°Cまでは変化は小さいが50°C処理では上昇率が大きい。吸光度0.2のボーダーラインを基準にみると50°C処理では200 MPa のみを変性が少なかった。35°C処理では200 MPa 30分, 300 MPa 5分, 400 MPa 5 sec が基準内でありこれらの変性しない条件下で温度と圧力の併用効果による殺菌試験を行うこととした。

卵白の加圧処理による構造変化を検討するために行ったNMRの測定結果を Fig.3 に示す。全チャートにみられるシャープなピークは基準物質DSSの化学シフトで

0 ppmにはシリルトリメチルのメチル基のシフトが0.6, 1.8, 2.9 ppmにはプロパンの各メチレン基のシフトによるピークが見られる。卵白によるピークは0.7~1.0 ppm (Peak 1) と1.8~2.2 ppm (Peak 2) のところにブロードのピークが見られる。未処理物にくらべ処理圧力が高くなるにつれピークは増加していく傾向にある。ピーク1及びピーク2は卵白たん白質のアミノ酸側鎖のメチル基及びメチレン基によるものと考えられる。ピーク1, ピーク2の積分強度比較面積を Table 3 に示す。Fig.3 にはないが500 MPa, 10分と低温加熱殺菌の値も表示した。濁度、起泡性とほぼ同じく低温加熱殺菌は300 MPa, 10分の処理に近くそれ以上では急激に増加している。卵白のたん白質の圧力変性による高次構造

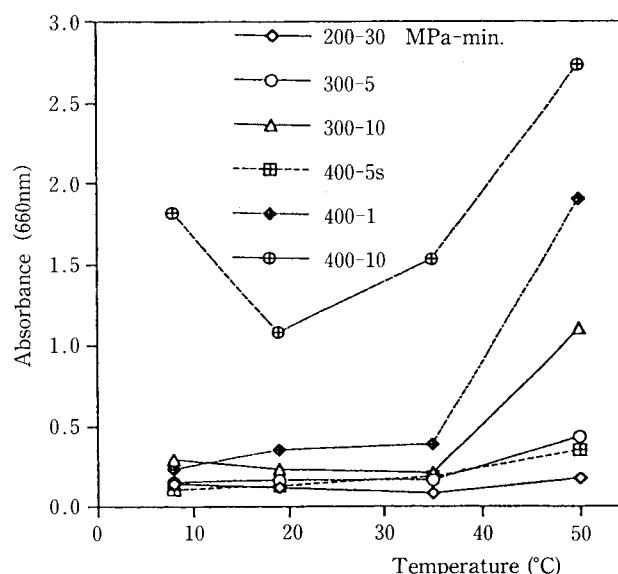


Fig.2 Effect of temperature on the absorbance of pressure-treated egg white

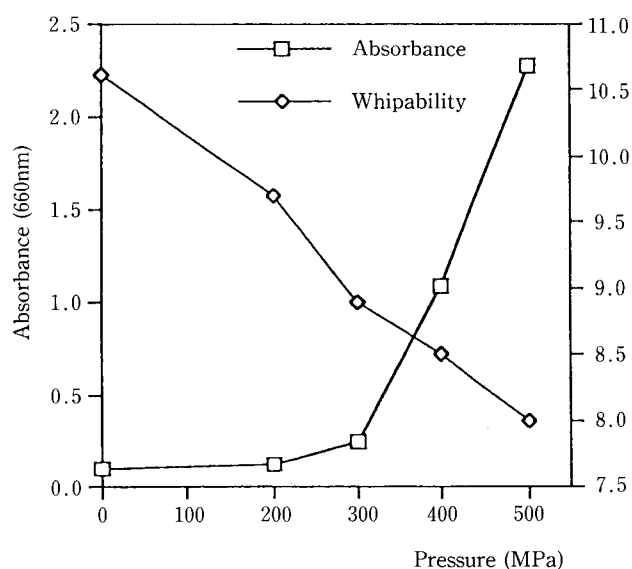


Fig.1 Effect of high pressure on the absorbance and whipability of egg white (10min)

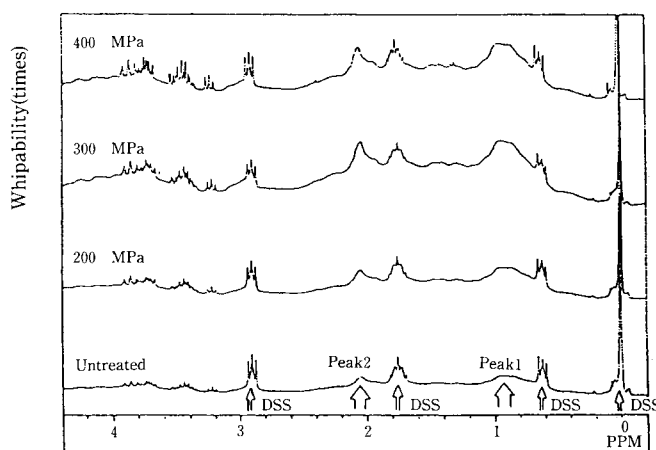


Fig.3 <sup>1</sup>H-NMR chart of egg whites treated at different pressures (10min)

Table 3 Comparative peak areas on <sup>1</sup>H-NMR of pressure-treated egg white

Pressure (MPa)	peak 1	peak 2
Untreated	0.356	0.156
200, 10 min	0.396	0.165
300, 10 min	0.448	0.185
400, 10 min	0.530	0.230
500, 10 min	0.850	0.357
56°C, 4 min	0.469	0.254

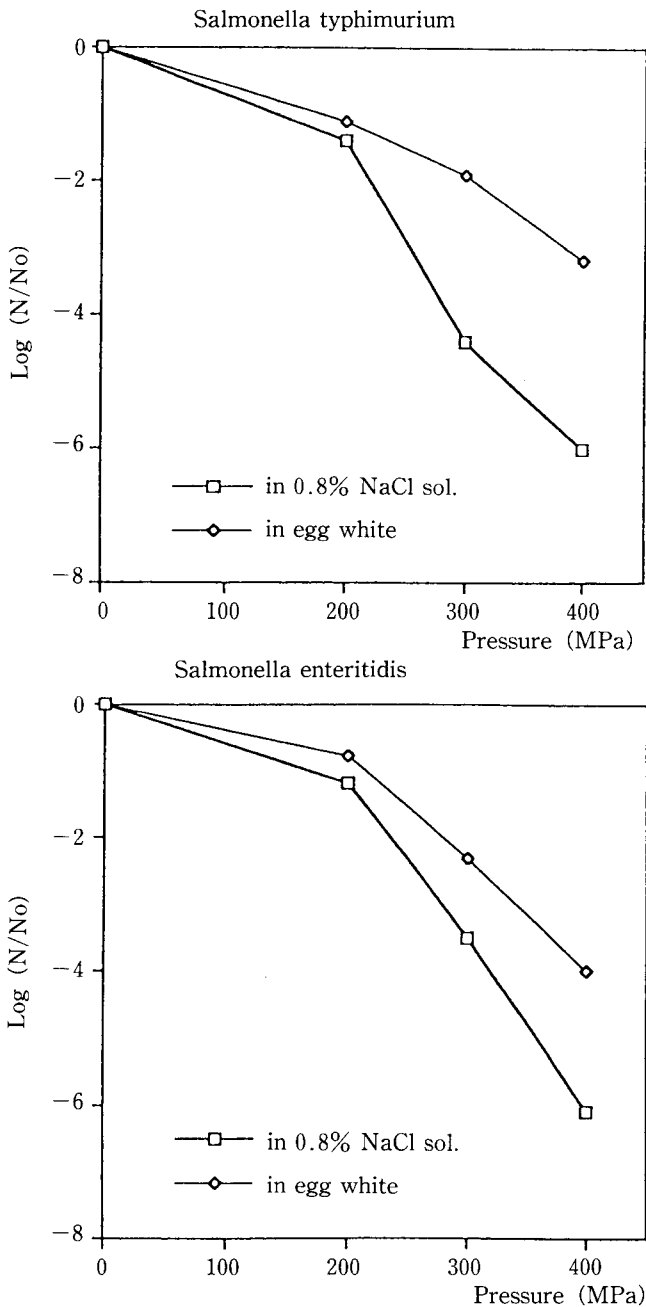


Fig.4 Effect of high pressure on the sterilization of Salmonella sp. (10min)

の変化のあったことは NMR 測定でも推定できた。

2. 卵白の加圧による殺菌

培養した *Sal. enteri* と *Sal. thyhi* の 2 種類について生理食塩水中の試料と卵白に添加した試料を高圧処理し殺菌効果を検討した。初発菌濃度は  $10^8 - 10^{10}$  の範囲のものを使用した。室温にて 400 MPa まで処理したときの結果を Fig.4 に示す。図から明らかなように卵白中の殺菌効果は食液中に比べ低くなっている。微生物の加熱殺菌に関し種々の環境因子が熱抵抗性に影響し死滅促進効果や保護作用があることは知られている。たん白質は微生物に対し保護的に作用するが、高圧殺菌の場合にも同様なことが考えられるのではないだろうか。一定濃度以上の蛋白質が微生物を保護し圧力抵抗性が増したものと思われる。特に 400 MPa の処理においてその差は大きくなっている。*Sal. enteri* と *Sal. thyhi* と殺菌効果に若干の差が出てきている。これらのことから食品の高圧殺菌は食品別、微生物別に個々に確認しなければならない。

加圧殺菌の効率をあげるため繰り返し加圧する方法が考えられている<sup>2)3)</sup>。同じ圧力で長時間処理するより短時間で連続して何回も処理した方が微生物に与える圧力ストレスとショックがより大きいものと考えられる。卵白の変性の少ない条件下で繰り返し加圧法により 200 MPa 30 分 (6 分 5 回)、300 MPa 5 分 (1 分 5 回)、400 MPa 5 秒 (1 秒 5 回) 加圧処理した結果を Fig.5 に示す。いずれの処理圧力においても繰り返し効果のあったことが認められるが特に *Sal. enteri* の 300 MPa と 400 MPa 処理の場合、効果があった。繰り返し処理の場合、所定圧力保持時間は同じでも昇圧時間と降圧時間が増え総合的圧力ストレスが多いことを考慮にいれなければならない。

高圧処理装置の特徴から見た場合、実用的圧力限界があり、いかに低圧力で効果を発揮するかが大切である。そのため圧力と温度の併用効果が考えられている<sup>4)</sup>。

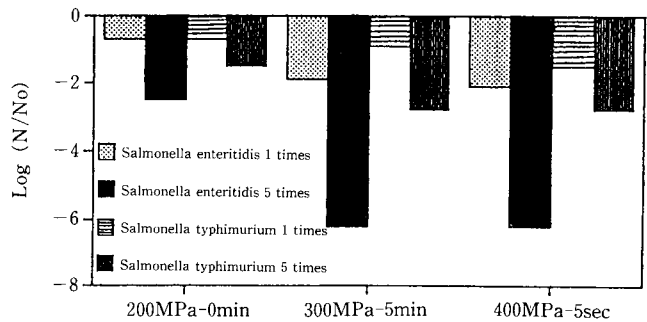


Fig.5 Effect of repeated pressure treatment on the sterilization of Salmonella sp.

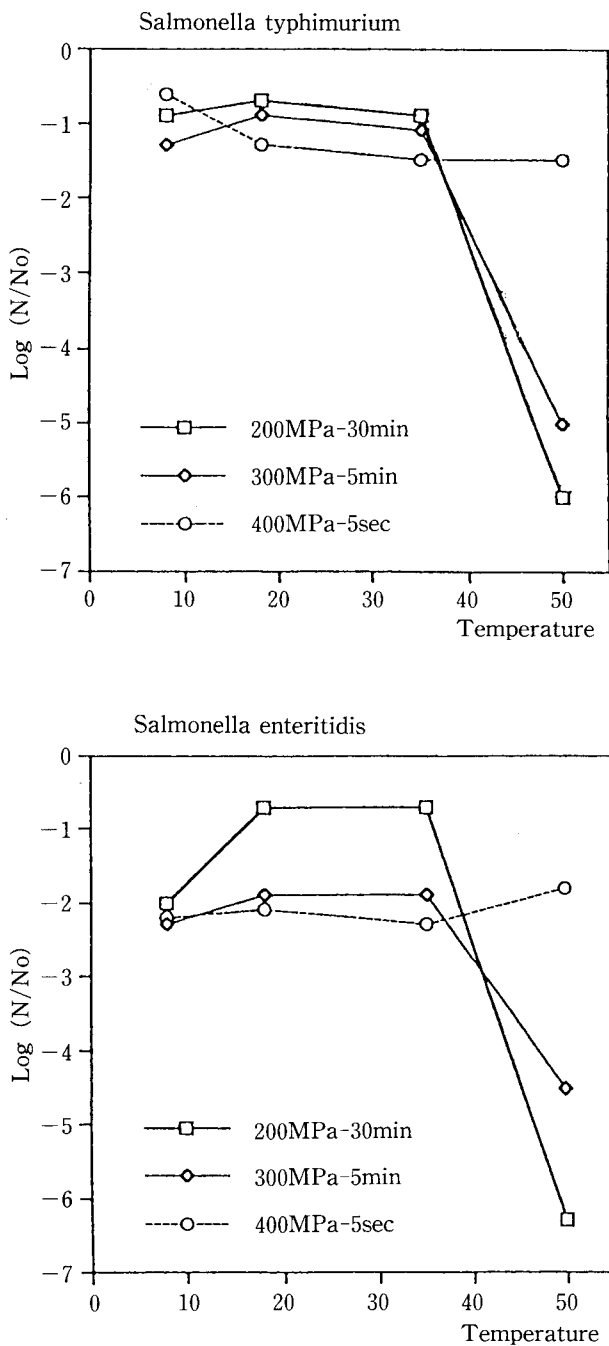


Fig.6 Effect of temperature on the sterilization of *Salmonella* sp.

50°Cまでの卵白変性の少ない条件下で温度との併用によるサルモネラ菌の殺菌結果を Fig.6 に示す。 *Sal. enteri*, *Sal. thyhi* とも 400 MPa を除き 50°C 保持が効果的で 200 MPa 30 分処理で殺菌効果  $\log(N/N_0)$  で -6 以下に殺菌された。図から緩やかな逆U字カーブが予測され、低温度の併用効果も期待される<sup>5)</sup>。

要 約

卵白の物性変化なしにサルモネラ菌の殺菌方法として超高压処理による可能性を検討した。卵白の濁度 (660 nm の吸光度) は圧力の上昇につれ増加した。この吸光度は卵白の変性指標としてよい方法でありボーダーラインを 0.20 とした。室温において 200 MPa 30 分, 300 MPa 5 分, 400 MPa 5 秒以内の高压処理は変性もなくボーダーライン (0.2) の中だった。サルモネラ菌の殺菌について高压処理は有効であり、温度・圧力の併用効果、加圧の反復処理効果があることを明らかにした。200 MPa 30 分 50°C 処理と 300 MPa 1 分 5 回繰り返し処理で変性なしに初菌数  $10^9$  オーダーを  $10^3$  (殺菌効果  $\log(N/N_0)$  で -6) 以下にサルモネラ菌を滅菌できた。

文 献

- 1) J. JONAS *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **94**, 307-315 (1990)
- 2) 本間一男・芳賀紀之：高圧科学と食品，林力丸編 (さんえい出版，京都) p.317 (1991)
- 3) 原昭弘・長浜源壮・大林晃・林力丸：加圧食品—研究と開発—林力丸編 (さんえい出版，京都) p. 225 (1990)
- 4) 滝妥恵・粟生武良・光浦暢洋・高垣康雄：加圧食品—研究と開発—林力丸編 (さんえい出版，京都) p.143 (1990)
- 5) 高橋観二郎・石井久雄・石川宏：高圧科学と食品，林力丸編 (さんえい出版，京都)，p.225 (1991)