交流高電界による微生物制御技術の開発

はじめに

食品を 2 枚の平板電極で挟み，両電極に電界を印加すると材料中に電流が流れ，発熱する．この発熱は材料が持つ電気抵抗に抗して電流が流れることによるジュール発熱またはオーミック加熱と呼ばれている．ただし，印加する交流電界の周波数が高い場合，その発熱機構はジュール熱だけでなく誘電損によるものも考慮する必要があるため，広い意味で食品材料に電気を通じて加熱することを通電加熱と呼ぶことにする．通電加熱は商用電源と電極だけの簡易な装置で実現できるため，満足な調理器具が無かった戦時中から電気パンとして親しまれてきた食品の加熱方法である．ただし，当時は電源として商用周波数（50Hz または 60Hz）の交流を用いていたので，電極の電気分解でイオン化した金属材料が食品へ汚染する問題等のため，通電加熱の利用が拡大しなかった．しかしながら，最近，腐蝕しにくいチタニウムを電極材料として利用することや，電源の使用周波数を 10kHz 以上に高くすることにより，電極の腐蝕と食品への金属汚染が抑えられることが分かってきた．このため，今日では通電加熱をパン粉の製造，すり身製品の加工，ジャム製造および各種ペースト状食品の加熱に多く利用されるようになった [1,2,3,4]．一方で，病原性大腸菌，リステリア等の微生物による食中毒事故が多く発生したことに対応した簡易な微生物制御手法の一つとしてこの通電加熱が注目されている．通電加熱は食品加工に利用し始めた当初から熱以外に電気的な殺菌効果が期待され，多くの研究がなされてきた [5] が，一部の例外 [6] を除いて通電加熱には電気的な殺菌効果がないことが分かってきた [7]．一方，10kV/cm 以上の高電界のパルスを微生物に印加した場合に，微生物の細胞膜に物理的な損傷が生じることが知られ，その原理を利用した高電圧パルス法 [8,9] とよばれる殺菌方法が開発されている．しかしながら，高電圧パルス殺菌で必要となる大容量の電源装置は高価であり，原理上からも大容量化並びに連続処理が困難である為，高電圧パルス殺菌の実用化が進展していない．そこで，本研究では通常の通電加熱装置と同様の交流電源を用いながら電極間隔を狭くすることにより，高電圧パルスと同程度の電界を発生させることを特徴とする交流高電界殺菌装置を開発した．本装置の応用範囲は液状食品に限られるが，大量，連続的に処理できるため，液状食品の実用的な殺菌装置として期待される．以下に交流高電界殺菌法の原理及び装置について概説する．

1. 交流高電界殺菌の原理

1.1 通電加熱

通電殺菌される液状食品は図 1 に示す電極ユニットを上から下に通過するとき

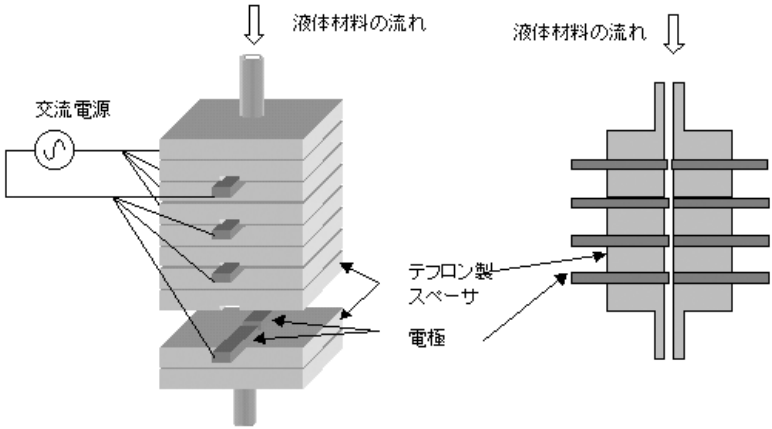

図 1　電界印加ユニットとその断面図

に，左右の電極に印加した交流電界に起因する電流が材料を流れることにより，通電加熱が生じる．具体的には，10°C の 0.1% 濃度の食塩水（オレンジジュースの電気伝導率に相当する）に対して，200V の交流電圧を 0.2mm の電極間に印加して生じた 10kV/cm の電界中を約 0.1 秒で 4 段の電極間を通過させた場合，通電加熱における温度上昇はジュールの法則に従って，材料の電気伝導率に比例し，印加電界の二乗に比例することから，出口に現れる材料の温度（処理温度）は約 80°C まで上昇する．各種液状食品はそれぞれ図 2 に示すような固有の電気伝導率を持つため，同じ電界を印加した場合でも電極ユニット出口の処理温度が異なる．処理温度は以下に示すように殺菌効果に大きく寄与するため，所定の処理温度になるように印加電界，初期温度，および材料の流速を適当に制御する必要がある．

1.2　電気穿孔

液体中に浮遊する微生物の細胞に外部から電界を印加すると，細胞膜の表面に電界（E）および細胞の直径（2r）に比例した正負の電荷が生じ，細胞膜を挟んで両電荷が引っ張り合うクーロン力が作用する．印加電界が高くなり，細胞膜がその力に抗しきれなくなったときに，最大の電位がかかる細胞の極部分（$\cos\theta=1$）の表面に微細な穴が開くことを電気穿孔と呼んでいる（図 3）．電気穿孔が小さい場合は可逆的に修復されるため，この現象は細胞融合に多く利用されているが，電界がさらに強くなると穿孔の穴が大きくなり，細胞膜を修復ができなくなると最終的にその細胞は死に至る．このような不可逆的な電気穿孔が生じるとき，細胞の両端に掛かる電圧は細胞の大きさに関わらず 1V 以上であることが知られている [10]．したがって，対象とする微生物の大きさを 1μm と仮定すると，不可逆的な電気穿孔が

生じるのに必要な電界は 10kV/cm であり，0.2mm の電極間の場合は 200V の電圧を印加すればよいことになる．

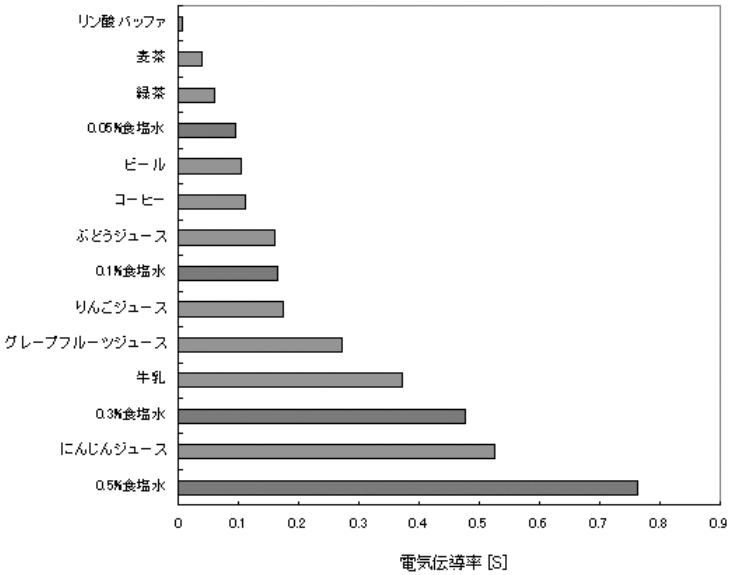

図 2　各種飲料および各種濃度の食塩水の電気伝導率
（10°C, 20kHz の値）

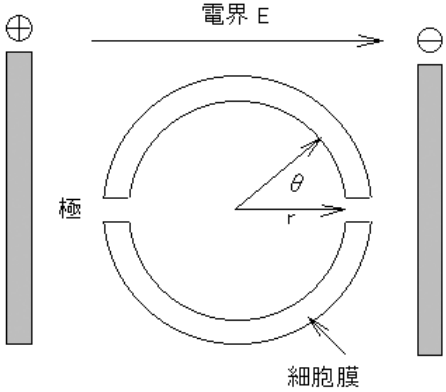

図 3　電気穿孔のメカニズム

2. 交流高電界殺菌[11)]

2.1 装置[12)]

交流高電界装置は図 4 に示す様に電源部，電極部，液送部，冷却部，計測・制御部からなる．電源部は発信機（NF 回路ブロック，1915）で作られた 20kHz の交流信号を電力増幅器（NF 回路ブロック，4510）で最大 282V の電圧，5A の電流に電力増幅した交流を電極ユニットの各電極に給電する．液体材料は溶液タンクから液送ポンプ（山善，THE FMI LAB PUMP）を用いて 100 ～ 150ml/s の一定流速で電極ユニットの材料供給口に送入する．電極ユニットを通過した溶液は直ちに 0°C の冷却水中に浸した試験管内で 20°C 以下まで冷却する．

2.2 交流高電界印加の結果

2.1×10^6 CFU/ml の初発菌数の大腸菌を含む 0.05% の食塩水を用い，印加する電界強度に対して，処理後の残存大腸菌の菌数を図 5 にプロットした．図より，5kV/cm

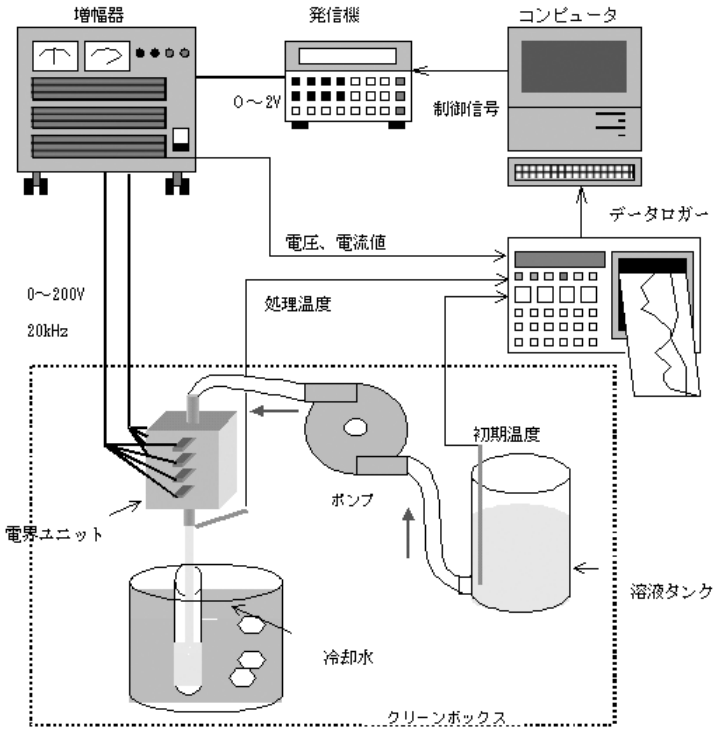

図 4　通電殺菌装置

以上の電界から殺菌効果が現れはじめ，それ以上に電界が高くなれば電界に比例して残存大腸菌数が減少することがわかった．ただし，印加電界を高くすると必然的に通電加熱の効果が高くなり，材料の処理温度が上昇する（図 5 の添え字参照）．したがって，本結果からは，交流高電界処理の殺菌効果から，電界効果と温度効果を分けて考えることはできない．そこで，同一の温度条件で印加電界が異なる条件における殺菌効果を検証するために，濃度の異なる食塩水を材料とした実験を試みた．濃度が異なる食塩水は図 2 に示すように異なる電気伝導率を有するが，印加電界を制御することにより，所望の処理温度とすることが可能である．処理温度を 70°C および 65°C と設定した場合の印加電界と大腸菌数の変化を図 6 に示した．図より，同一の温度条件の場合，大腸菌数の対数は印加電界に比例して減少することがわかった．また，印加電界が同じ場合には，処理温度が高い 70°C の方が 65°C の

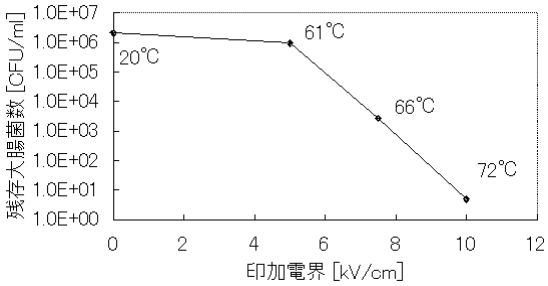

図 5　印加電界と残存大腸菌数
各プロットの添え字は処理直後の温度を示す．

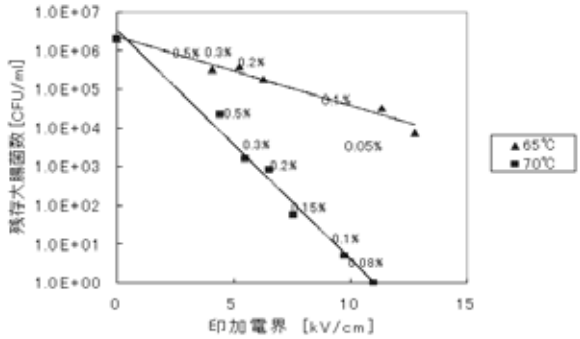

図 6　処理温度が 65°C および 70°C の時の印加電界と大腸菌の生存数
各プロットの添え字は食塩水濃度を示す．

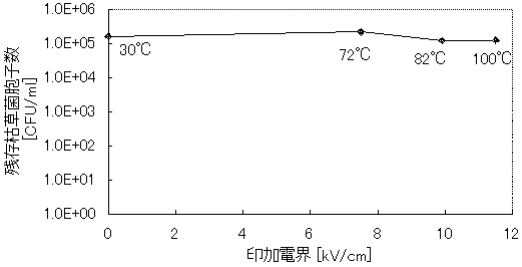

図 7　枯草菌胞子の交流高電界処理

ものよりも殺菌効果が著しく大きくなることがわかった. 以上の結果を考え合わせると，本交流高電界において，電界が殺菌に寄与することが確認され，同時に通電加熱による材料の温度上昇が殺菌効果を増大するため，0.1 秒という非常に短い処理時間で十分な殺菌が実現できたものと考えられる.

大腸菌の代わりに酵母菌を添加した食塩水を通電殺菌したところ，大腸菌と同様に 5kV/cm 以上の電界を印加した場合に電界効果が現れ，印加電界が高くなるほど殺菌効果が高くなることがわかった．大腸菌の結果と比較すると，やや低い温度（26°C）から菌数の減少が始まり，9kV/cm 印加（54°C）したときに，添加した酵母菌を 10^5 オーダー以上低減できることがわかった.

また，0.1% 濃度の食塩水に枯草菌の胞子を添加したものを通電処理したところ，10kV/cm 以上の電界を印加しても枯草菌胞子を殺すことができなかった（図 7 参照）．したがって，枯草菌胞子のような耐熱性の高い微生物の殺菌に対応するために加圧型の交流高電界装置を考案した.

3.　加圧交流高電界殺菌 [13)]

3.1　加圧交流高電界の目的

枯草菌胞子の殺菌を目指して窒素ガスの加圧下で交流高電界処理できる装置を開発した．圧力の物理エネルギーを利用した殺菌法として，超高圧処理技術が既に報告されているが，300MPa 以上の超高圧を用いること，微生物胞子には殺菌効果が少ないことが知られている [14,15)].

ここで用いた加圧は，窒素ガスによる 0.2MPa 程度の圧力のため，圧力による殺菌効果は期待できないが, 液状食品の沸騰温度を 130°C 以上に上昇することを目的とする．ここでは，モデル食品である食塩水の他，市販の濃縮還元オレンジジュースおよび温州みかんのフレッシュジュースを供試材料とし，芽胞菌の殺菌効果およびジュースの品質変化について検討した.

3.2 加圧交流高電界殺菌装置[16)]

加圧交流高電界殺菌装置の電極ユニットおよび一次冷却ユニットを図8に示す様に耐圧ガラス容器（耐圧硝子製，TV1000）内に収め，容器内部を高圧窒素ガスで0.2MPa の圧力に加圧した. 容器原料となる原液はポンプで 120ml/s の速度で加圧容器中に定量供給した. 通電処理された液は, 通電ユニット下の一時冷却タンク（50ml トールビーカー）に入り，タンクの周りの 5°C の冷媒を循環させた冷却器で 100°C 以下まで冷却される．タンク内に処理された液が充満されると，タンクの上部に設置したレベルセンサーが電磁弁を駆動し，溶液は自動的に容器外部に排出される．溶液は容器外部の二次冷却器でさらに 20°C 以下まで冷却される．以上の処理工程は連続的に行うことが可能である．

3.3 加圧交流高電界殺菌の結果

交流高電界処理と同様に，各濃度の食塩水に枯草菌胞子を添加し，処理温度を120°C と固定した時の印加電界と枯草菌胞子数の変化を図 9 に示した．図より大腸菌の結果（図 6）と同様に，菌数の対数が印加電界に比例して減少することがわかった.

市販の濃縮還元オレンジジュースに枯草菌の胞子を添加し，未処理，加圧交流高電界処理，マイクロ波加熱および 100°C の煮沸浴槽中で 5min および 10min 間処理

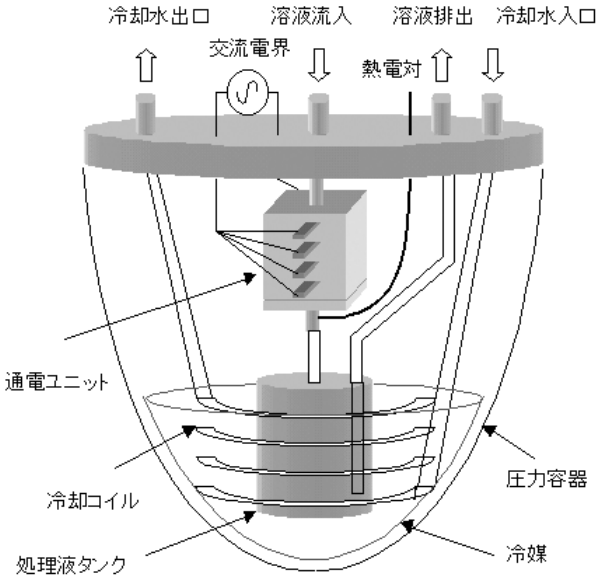

図 8　加圧交流高電界装置

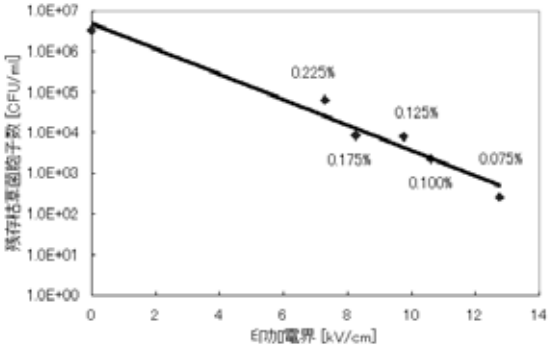

図 9　食塩水中の枯草菌胞子の加圧交流高電界処理（処理温度：120°C）

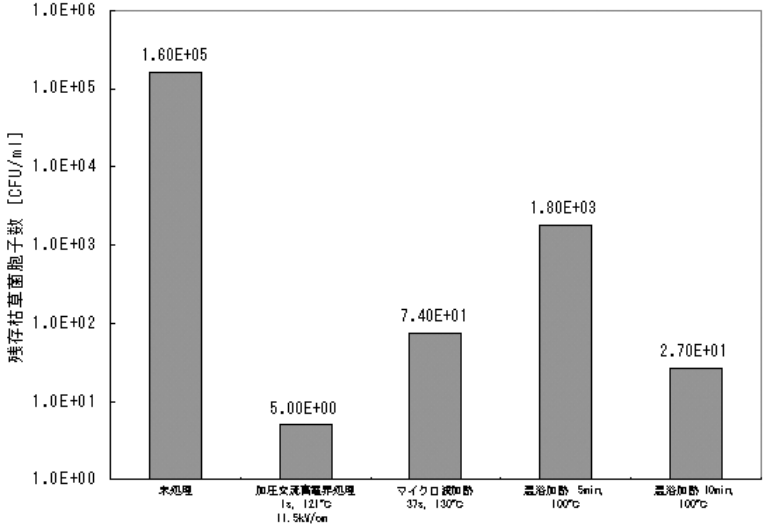

図 10　オレンジジュースの各種殺菌処理による枯草菌胞子数の変化

した後，各処理液 1ml 当たりの枯草菌胞子の生存数をそれぞれ図 10 にプロットした．この結果，加圧交流高電界処理のものが最も殺菌効果が高く，菌数を 10^4 オーダー以上低減させることができることがわかった．図 6 の低濃度食塩水に同様の電界を印加した結果よりも実際のオレンジジュースの殺菌効果が高いのはオレンジジュースの pH が 4 程度と低いことが原因であると考える．

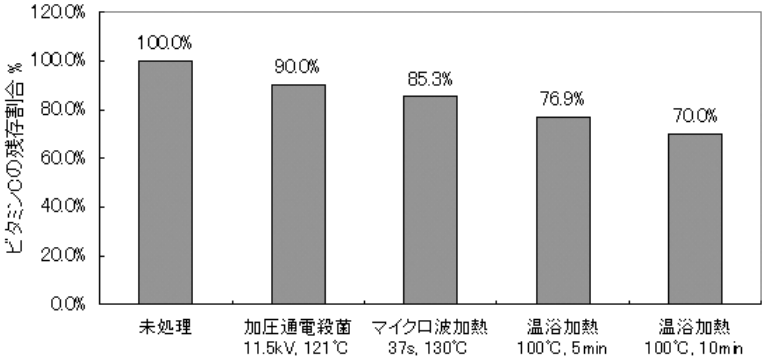

図 11　オレンジジュースの各種殺菌処理によるビタミン C の残存割合

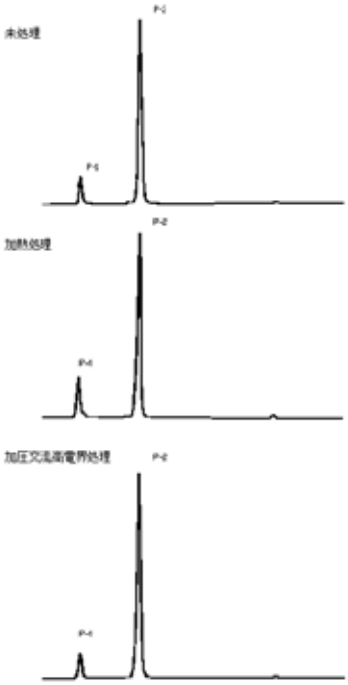

図 12　温州みかんのヘッドスペース GC パターン

P-1：**メチルアルコール，**
P-2：**エチルアルコール**

さらに，交流高電界処理を行ったジュースの品質への影響を検討した．未処理のオレンジジュースに含まれるビタミン C 濃度を 100% として，加圧通電殺菌，マイ

クロ波加熱および煮沸加熱後のビタミン C の変化量を図 11 にプロットした．ここで用いたビタミン C 含有率は，ヒドラジン比色法を用いて測定した還元型ビタミン C と酸化型ビタミン C の総和である．図より，加圧交流高電界処理の区分が最もビタミン C の減少量が少なく（10% 減），マイクロ波加熱，温浴加熱 5min，温浴加熱 10min の順で減少量が大きくなることがわかった．

次に，香気成分の変化について検討した．温州みかんジュースを加圧交流高電界処理したものと，100°C の温浴中で 10 分間処理したもの香気成分を比較したところ，100°C で 10 分間処理したものは俗に芋煮臭と呼ばれる独特の加熱臭が生じるのに対し，加圧交流高電界処理では生じないことが分かった．加熱臭の主成分はジメチルスルフィド（DMS）として知られているが，微量な揮発成分のため測定が困難である．ただし，温州みかんは加熱処理に伴ってメチルアルコールが増加し，エチルアルコールが減少することが報告されている [17,18]．金子らと同様の方法でヘットスペースの GC スペクトルパターンを測定したところ，加熱処理後のメチルアルコール（P-1）は未処理に比べて増加したのに対し，加圧交流高電界処理後のものは未処理のものと成分比に変化が見られなかったことがわかった（図 12 参照）．このことから，交流高電界処理は加熱処理に比べて匂いの変化を生じ難いといえる．

4. まとめ

交流高電界は通電加熱の熱的効果と電界印加の電気的効果の併用により，液状食品中の大腸菌の短時間かつ連続殺菌処理が可能であることがわかった．

また，加圧交流高電界処理では耐熱性の芽胞菌に対しても高い殺菌効果を持ちながら，熱に弱い有用成分（ビタミン C）や香気成分の変化が少ない殺菌方法であることがわかった．現在の交流高電界処理装置の構造上，対象は液体材料に限られるが，果汁やお酒などの液状食品以外にも農業用水や工業用水などの殺菌処理へ適用することが可能である．また，電界の印加方法や電極を工夫することで，液状材料に若干の固形物が含まれているものへの応用が期待される．現在は，本装置の実用化を目指して本装置のスケールアップに取り組んでいるところである．

（農林水産省　総合食料局　植村　邦彦）
（食品総合研究所　食品工学部製造工学研究室　五十部　誠一郎）

参考文献

1）朴聖晙，金道彦，植村邦彦，野口明徳：食科工 , 42, 569-574 (1995).
2）植村邦彦，五十部誠一郎，今井哲也，野口明徳：食科工 , 43, 1190-1196 (1996).
3）植村邦彦，五十部誠一郎，野口明徳：食科工 , 43, 510-519 (1996).
4）植村邦彦，豊島英親，岡留博司 : 食科工 , 45, 533-538 (1998).
5）Anderson, A. K., & Finkelstein, R.: A study of the electro pure process of treating milk. Journal Dairy Science, 2, 374-406 (1919).
6）Simada, K. and Shimahara, K., J. Appl. Bacteriol., 62, 261 (1987).
7）Hall, C. W. & Trout, G. M.: Milk Pasteurization. Van Nostrand Reinhold/AVI, NY. (1968).
8）Zimmermann, U., & Benz, R.: Dependence of the electrical breakdown voltage on the charging time in Valonia utricularis, Journal of Membrane Biology, 53, 33-43(1980).
9）佐藤正之：食品と容器 , 35, 308-314 (1994).
10）Coster, H. G. L., & Zimmermann, U.: The mechanism of electrical breakdown in the membraines of valonia utricularis.Journal MembraneBiology,22,73-90(1975).
11）Uemura, K. & Isobe, S.: Developing a new apparatus for inactivating Escherichia coli in saline water with high electric field AC. Journal of Food Engineering, 53, 203-207(2002).
12）植村邦彦，液体の連続殺菌装置および液体の連続殺菌法，特許登録，第2848591(1998.11.6)
13）Uemura, K. & Isobe, S.: Developing a new apparatus for inactivating *Bacillus subtilis* spore in orange juice with high electric field AC under pressurized conditions. *Journal of Food Engineering*, 56, 325-329 (2003).
14）滝妥恵，栗生武良，光浦暢洋，高垣康雄 : 加圧食品（林力丸編），さんえい出版，143-155(1990)
15）小川哲郎，松崎一，一色賢司：食科工 , 45, 349-356 (1998).
16）植村邦彦，液体の連続殺菌装置および液体の連続殺菌法，特許登録，第2964037 (1999.8.13)
17）金子勝芳，片山修：食研報 , 36, 44-50 (1980).
18）金子勝芳，片山修：食研報 , 36, 57-63 (1980).