

パルス電圧を用いた殺菌・酵素活性制御

Control of pasteurization and enzyme activities by using pulsed electric field

大嶋孝之

Takayuki OHSHIMA

群馬大学理工学府

Faculty of Science and Technology, Gunma University

はじめに

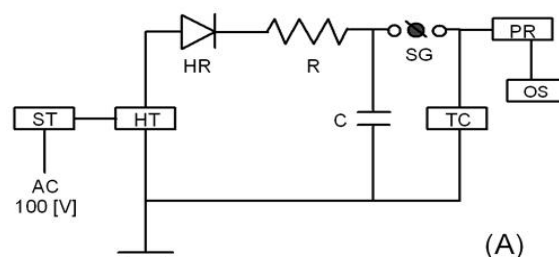
食品プロセスにおいて殺菌処理は不可欠の工程である。加熱殺菌は確実な微生物制御方法であるが、加熱・冷却には多くのエネルギーを必要とするばかりでなく品質の変化を伴う操作で、場合によっては好ましくない操作である。そこで様々な非加熱殺菌技術が提案されている。非加熱殺菌法とは（少なくとも積極的に）熱を用いない殺菌法全般を指し、大別すると化学的殺菌法と物理的殺菌法に分けることができる。化学的殺菌法は塩素系薬剤やナイシンなど天然抗菌剤を利用する方法であるが、食品に使う場合には残留性が問題になること、複雑な食品組成の場合には十分な殺菌効果を得ることが困難などの問題がある。一方、物理的殺菌方法は残留性のリスクが少ないこと、プロセスの制御がしやすいことなどの利点があり、実用化に向けて多くの研究がされているが、製造プロセスとして稼働しているものはほとんどない。

筆者はこの非加熱殺菌技術開発の一環として高電圧パルスを利用を試みている。高電圧パルスとは間欠的に数マイクロ秒間、10kV以上の電圧を印加する操作で、電極を通して水または液状食品に印加した場合に電界効果を生じさせることができる。この電界効果によりバクテリアの細胞膜が破壊され、殺菌することが可能である。これを一般に高電圧パルス殺菌と呼んでおり、筆者らをはじめ様々な研究がなされ、実用化が試みられている。またパルス電界作用は酵素活性に影響があることも報告されている。ここでは筆者らが行っているパルス殺菌に関する研究、および酵素に与える影響について報告する。

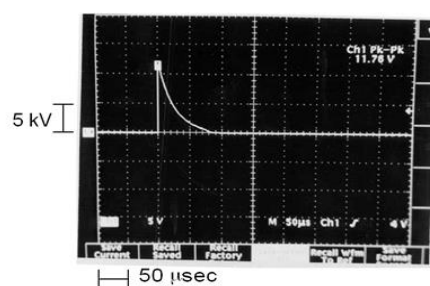
パルス殺菌の実用化に向けて

図1は筆者らが主に用いているスパークギャップ型パルス発生器の回路図と、得られる高電圧パルス電圧の波形の一例（オシロスコープ

写真）を示している。簡単な回路で瞬間的な大電流にも対応でき、タフであるため筆者らの研究室では広く使用している。



ST : Slide transformer
HT : High voltage transformer
HR : High voltage rectifier
R : High voltage resistor
C : Capacitor
SG : Rotary spark gap
TC : Treatment chamber
PR : High voltage probe
OS : Digital oscilloscope



(B)

図1 ギャップ式パルス電圧発生回路(A)と電圧波形(B)

パルス殺菌の実用化に向けて様々な試みがなされている。オレンジやグレープなどのフレッシュジュース、牛乳、液卵、ビールなどの酒類などが対象となっている。筆者は全乳のパルス殺菌に関して検討し、40 kVpのパルス電圧を印加すること、前後の温度管理を行うことで、全乳に大腸菌を混濁させた系で、確実に大腸菌を滅菌する系を提案・報告している。図2にこのパルス殺菌プロセスを示す¹⁾。60℃に加熱し、パルス殺菌槽（40 kV, 50 Hz）を平均滞留時間10秒で通過した後、70℃で20秒間保持、急速冷却する方法で、確実に大腸菌未検出を達成している。パルス殺菌は温度に対し極めて依存性が高いので、前後の温度管理も含めた厳密な温度管

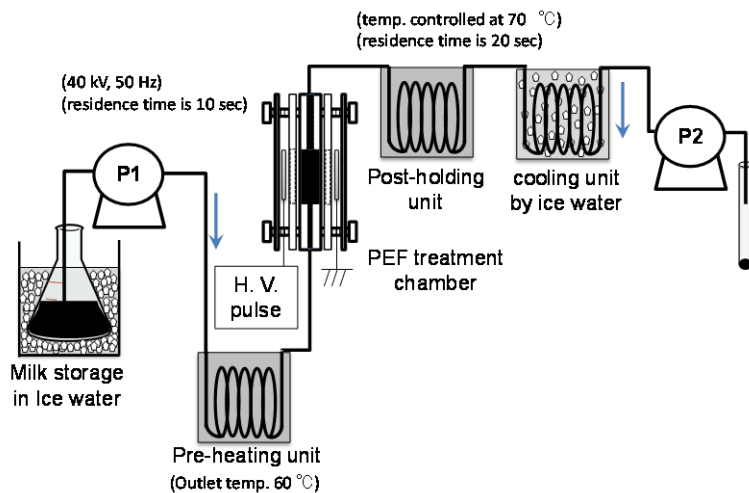


図2 牛乳のパルス殺菌のためのプロセス

理を組み合わせることでパルス殺菌の確実性が向上するものと考えている。

パルス電界のタンパク質機能に与える影響

フレッシュジュースにはエステラーゼをはじめとする酵素群が含まれており、褐変化の原因等となるため、製品化の段階で失活させることが望ましい。前述のパルス殺菌による微生物の殺菌とともに酵素を失活することが試みられている。近年、オレンジジュース²⁾や牛乳³⁾中の酵素のパルス電界による失活が報告されている。筆者らは6種類の酵素にパルス電界処理したときの活性の変化を報告している⁴⁾。この中で、パルス電界により酵素活性が向上する酵素と失活する酵素があることを示している。処理前後でタンパク質のSDS-PAGE結果に変化がないことは確認されているので、パルス電界によりタンパク質のコンフォメーションに影響を与えていると考えられる。このコンフォメーション変化が酵素の失活または酵素の活性化に関係していると考えられる。したがって場合によりパルス殺菌とともに酵素の失活を誘導できる場合もあるが、困難な場合もあり、酵素の確実な失活のためには加熱処理などと併用することが必要である。

筆者らはパルス電界による酵素の活性化を応用できないか研究している。図3はパーオキシダーゼを熱失活したのちにパルス電界を印加し、活性の回復を観察した結果である。この図からパルス電界により酵素のリフォールディングが促進されていることが分かる。また最終的に回復した活性もネイティブより20%ほど高くなることが分かった。この差は48時間後も変化しておらず、電界の一時的な変化ではな

いことも確認している。

またリゾチームなど数種の酵素では熱失活を防止する効果も確認している。市販のリゾチームは耐熱性が高いが94℃で保持すると20分ほどで50%程度失活する。ここに1 kV/cm程度のパルス電界を断続的に印加すると活性の低下がほとんど認められなかった。これは一般に熱に弱い酵素の耐熱性を高め、反応速度を上げられる可能性を示している。

また遺伝子組換え大腸菌で生成される2種類のインクルージョンボディ（緑色蛍光タンパク質(EGFP)と *Candida antarctica* 由来リパーゼ B (CALB)) の可溶化が促進できるのではないかと考え、種々のパルス電界条件で検討した⁵⁾。EGFPは20分のパルス電界処理で10%の可溶化が確認された。CALBは界面活性剤存在下で有意のリフォールディングが確認された。

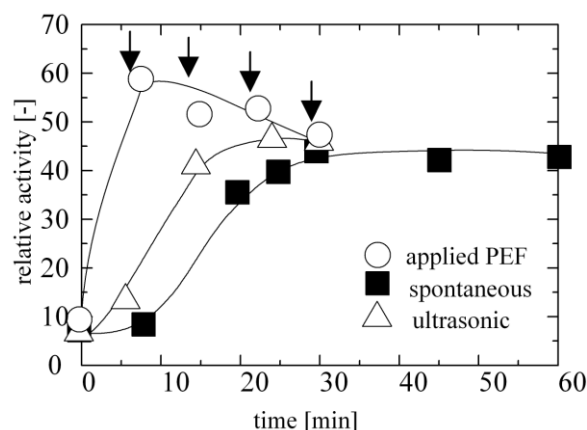


図3 パルス電界によるパーオキシダーゼのリフォールディング促進

参考文献

- 1) Ohshima T, Tanino T, Kameda T, Harashima H (2016) Engineering of operation condition in milk pasteurization with PEF treatment. Food Control. 68:297-302
- 2) Agcam, E., Akyıldız, A., Akdemir Evrendilek, G., Effects of PEF and heat pasteurization on PME activity in orange juice with regard to a new inactivation kinetic model, Food Chemistry, 165(15), pp. 70–76 (2014)
- 3) Sharma, P., Oey, I., Bremer, P., Everett, D.W., Reduction of bacterial counts and inactivation of enzymes in bovine whole milk using pulsed electric fields, International Dairy Journal, 39(1), pp.146-156 (2014)
- 4) Ohshima, T., Tamura, T. and Sato, M., Influence of pulsed electric field on various enzyme activities, J. Electrostatics, 65, 156-161 (2007).
- 5) 谷野孝徳, 坂井一貴, 大嶋孝之, 「高電圧パルス電界を用いたタンパク質インクルージョンの可溶化とリフォールディング」, 静電気学会誌, 37(1):28-33 (2013)