

<平成18年度>

## 食品微生物の乾燥による安定化

山本修一

(山口大学工学部応用化学／大学院医学系研究科応用分子生命科学系)

### 1. はじめに

酵母菌や乳酸菌などの食品微生物は、パンやヨーグルトなどの食品製造に不可欠な重要な産業微生物である。また、それ自身が機能性食品としての機能を持つこともよく知られている。

乾燥は食品を脱水することにより容量および重量を減らし保存・流通に適した形態にすることができる。さらに乾燥することにより食品は非常に安定化されるので、その観点からも保存・流通には好都合である。このような乾燥による食品安定化は古くから知られており、伝統的な乾燥食品は世界各国でさまざまな方法で製造されている。また、食生活の変化により、近代的な乾燥プロセスにより製造される乾燥食品も増加している。

加熱操作である熱風乾燥により熱に弱い物質を乾燥するためには適切な乾燥条件の設定や安定化剤の選択などが必要となる。タンパク質の乾燥における失活挙動については、多くの研究があり、糖類による優れた安定化効果や安定にするための乾燥条件の設定方法についても報告されている。

タンパク質の乾燥においては、熱失活が支配的である。基本的には低温で乾燥するか、短時間で乾燥することにより、活性を保持したまま乾燥製品を得ることができる。糖質は溶液中のみならず乾燥時および乾燥後においても非常に有効な安定化剤である。

一方、食品微生物の乾燥においては熱失活以外に脱水失活が起きることが知られているが、脱水

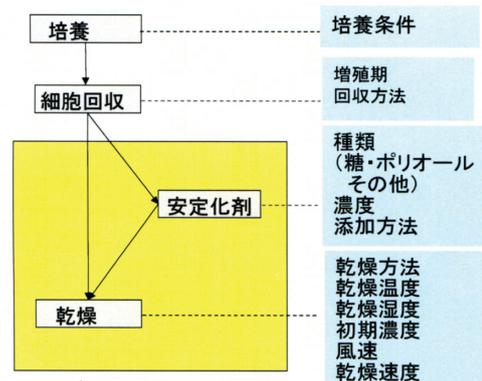


Fig.1 食品微生物の乾燥製造プロセス

失活と乾燥条件あるいは安定化剤との関係については依然としてよくわかっていないのが現状である。食品微生物を効率よく安定に乾燥するためには、乾燥・熱失活・脱水失活機構を解明することが必要である (Fig.1)。

本研究では、熱に不安定な食品微生物のモデルとして酵母菌および乳酸菌を用いて、乾燥速度に対する温度や湿度、添加物などの影響、乾燥および加熱処理後の残存活性（発酵能力）について検討した。

### 2. 実験

(1) 試薬：酵母は市販パン酵母（オリエンタルイースト 以下 OY と示す）を用いた。カネカイーストも比較のために使用したが、ここでは OY のデータのみで説明する。乳酸菌は微好気性菌である *Lactobacillus plantarum* を用いた。

(2) 熱耐性実験：圧搾酵母または酵母懸濁液、乳酸菌懸濁液をマイクロチューブまたは試験管に入れ、一定時間一定温度で加熱後、残存活性測定

を行った。糖質の影響を調べるためには、菌体懸濁液に糖溶液を混合して使用した。

(3) 熱風・静置乾燥実験：酵母は平板状（17×17mm，厚さ0.5～2mm）に成形し，乳酸菌は懸濁液あるいは粉末をアルミまたはフッ素皿に入れたものをサンプルとした。一定温度，一定湿度に保った装置内で乾燥し，サンプルの重量変化を測定した。乾燥時の糖質の影響を調べるときは，菌体を糖溶液に懸濁させ，一定時間（1時間程度）放置した後，減圧ろ過して酵母を圧搾酵母同様に平板状に成形して使用した。

(4) 残存活性測定：一般には生菌数の測定が使用されるが，測定に時間がかかることと研究の目的はどれだけ活性が保持されているかを知ることであるので，発酵能力により失活を評価することにした。

酵母の活性は3%グルコース溶液中，35℃で30分間発酵させ，発生するCO<sub>2</sub>を水上置換法で捕獲し測定した。乳酸菌の活性はpH測定法と吸光度測定法により決定した。乳酸菌懸濁液と緩衝液（pH=7）を0.3～0.4Mグルコース溶液中，35℃で発酵させ，生成する乳酸をpHメーターで測定した。吸光度測定法は溶液にCPR指示薬を加え，35℃に維持されたマイクロプレート分光器内で乳酸発酵させ指示薬の色調変化を吸光度測定した。なお，酵母については生菌数をコロニーカウントとメチレンブルー染色により測定し，発酵能力との関係についても検討した。

### 3. 結果と考察

Fig.2に，乾燥前の酵母の耐熱性を調査した結果を示す。圧搾酵母を密閉容器中で一定温度に保った場合と酵母懸濁液の違いは観察されなかった。酵母は40～50℃にかけて急激に熱失活している。また，コロニーカウントとメチレンブルーの結果は，多少高温側にシフトしているがほぼ対応して

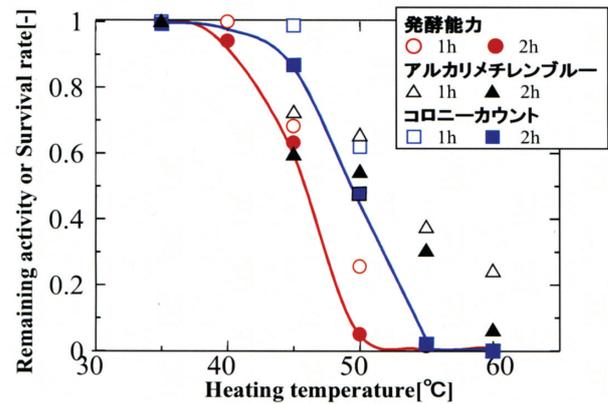


Fig.2 圧搾酵母あるいは水溶液中にけん濁させた酵母の耐熱性。前述したように，殺菌を目的とした場合，コロニーカウントにより非常に少ない生菌数を測定する必要がある。発酵能力を保持したまま乾燥することを目的とする本研究では相対活性が10～20%以下に低下している領域のデータの精度は必要としていないので，発酵能力測定が十分に適していると判断した。また，測定も簡易であり，短時間でできるうえに再現性も高いのが特徴である。

乳酸菌についても発酵能力を指標として耐熱性結果を測定した。Fig.3でわかるように酵母と同様に40～50℃にかけて急激に熱失活している。

酵母にトレハロースを添加すると，耐熱性が上昇し保護効果が観察された。他の糖（ソルビトール等）を用いた実験結果から，保護効果は糖濃度と種類に依存するという結果が得られた（Fig.4, 5）。トレハロースとソルビトールが高い保護効果を示している。

Fig.6は，圧搾酵母の30℃の熱風乾燥挙動結果である。はじめに酵母充填物の間隙の水が蒸発する比較的乾燥速度の速い期間が存在する。乾燥速度は試料厚さに依存し，薄い試料では乾燥時間が短くなっている。1mmの試料についての乾燥時の活性は，乾燥時間が30分を超えたあたりで低下し始め，乾燥時間が45分で含水率がほとんど変化しなくなった時点では，約60～70%の活

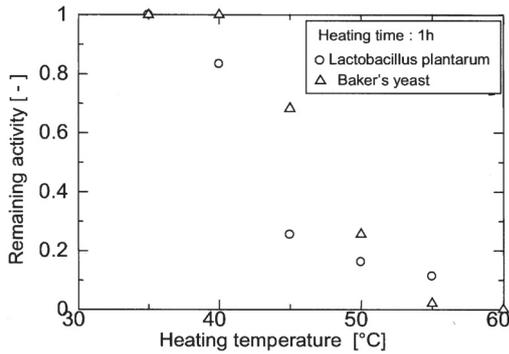


Fig.3 水溶液中にけん濁させた乳酸菌の熱耐性

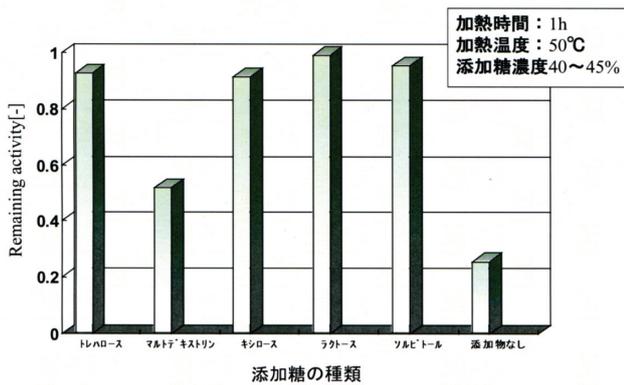


Fig.4 糖の種類と安定化効果の関係

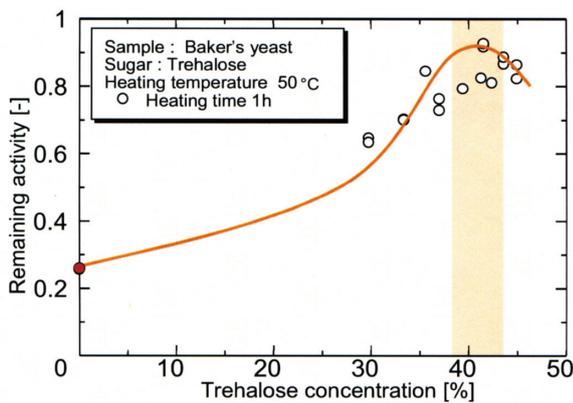


Fig.5 トレハロース溶液にけん濁させた酵母の耐熱性と糖濃度との関係

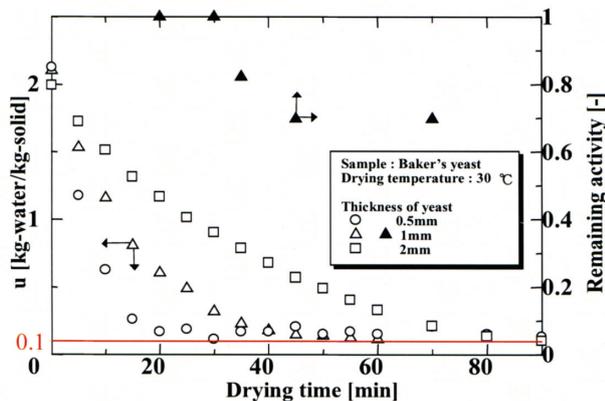


Fig.6 酵母の乾燥挙動と乾燥時の失活  
u: 平均含水率

性しか残っていない。Fig.2で30℃, 1時間では熱失活が起こっていないことを考慮すると, この失活は脱水失活であると考えられる。

脱水失活が細胞膜の損傷に起因するものであるならば, 乾燥速度の影響は大きいと考えられるが, 今までの研究では, 影響するという報告と影響しないという報告が混在しており, 明確ではない。また研究自体が少なく比較することも難しい。ここでは乾燥材料厚さ(成形酵母)と熱風速度を変えることにより乾燥速度を変化させ, その影響を調べた。Fig.7は乾燥実験結果である。厚さとともに乾燥速度が遅くなることと, 直接熱風を酵母に接触させないときの乾燥が遅いことがわかる。

脱水失活の影響を詳細に検討するために相対活性を平均含水率の関数としてプロットしてみた結果がFig.8である。含水率0.1~0.2以下で脱水

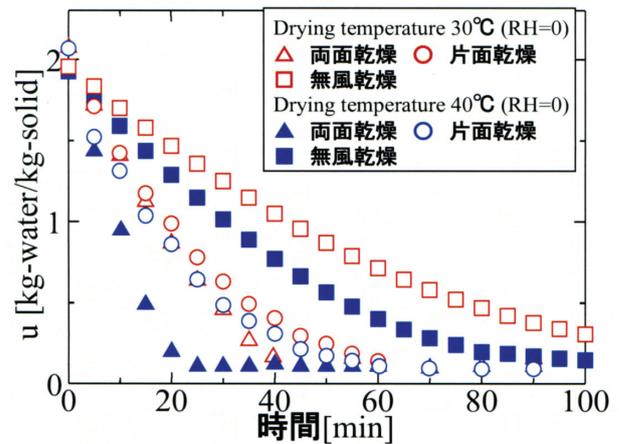


Fig.7 種々の乾燥方法による酵母の乾燥挙動 RH = 相対湿度

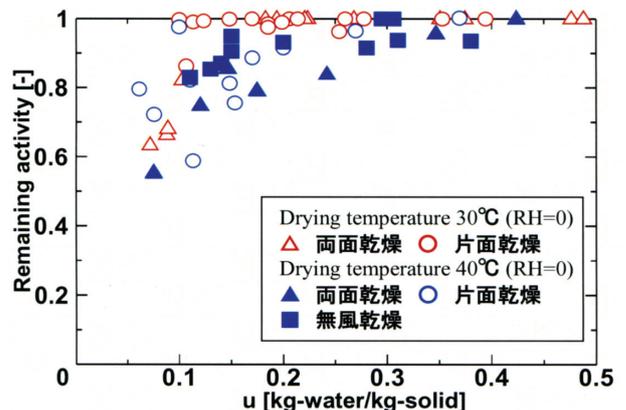


Fig.8 酵母の乾燥における平均含水率と残存活性の関係

失活が起きていることが顕著である。酵母厚さが1あるいは2 mm に比べて0.5mm の場合は脱水失活が高含水率から生じている。乾燥における湿度の脱水失活への影響はほとんど観察されなかった。

乾燥条件以外に添加物による安定化を検討した。脱水失活が起こる低含水率域で糖添加酵母は無添加の酵母より高い活性を維持していた (Fig.9) ことから、糖 (ソルビトール) は脱水失活にも保護効果があると考えられる。様々な糖や、塩あるいは抗酸化剤の安定化効果を調べた結果、現段階ではソルビトールが一番効果的である。

乳酸菌の乾燥時の失活挙動を Fig.10 に示す。酵母では含水率が0.1 ~ 0.2 付近で脱水失活しているのに対し、乳酸菌は含水率が0.2 ~ 0.3 付近で失活している。乳酸菌の方が、多少熱安定性が低い、この失活はやはり脱水失活と考えられる。

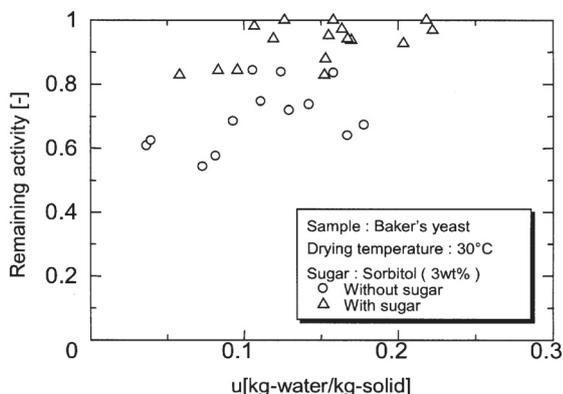


Fig.9 酵母の乾燥における平均含水率と残存活性の関係に対する糖の保護効果

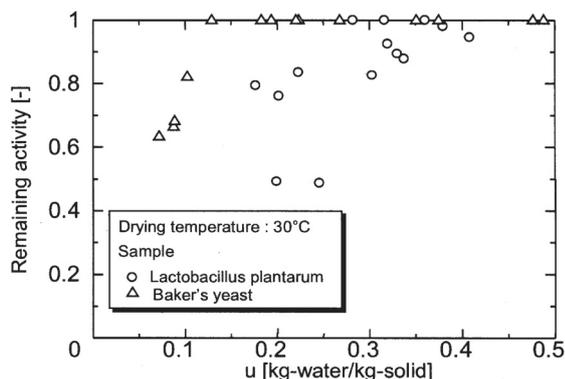


Fig.10 乳酸菌の乾燥における平均含水率と残存活性の関係

一般に低含水率の食品は熱安定性が高い。例えば含水率0.1程度の糖に含まれる酵素は70°C 1時間でも活性を保持することができる。酵母についても同様な低含水率における熱耐性を測定した。Fig.2でも明らかなように、水分の多い状態での酵母は60°C 1時間で完全に失活する。低含水率域まで乾燥させた酵母を密閉容器中で60°C 1時間加熱した。残存活性を含水率に対してプロットした結果が Fig.11 である。含水率の低下とともに残存活性が上昇しており、0.1付近では80%程度となっている。この含水率では、Fig.8でもわかるように脱水失活により活性は80%程度に落ちているので、熱失活はほとんど起こらなかったと考えられる。

また Fig.12 に示すように糖を添加して乾燥した酵母については、さらに耐熱性が向上している。糖は乾燥時のみならず乾燥後の安定性にも有効で

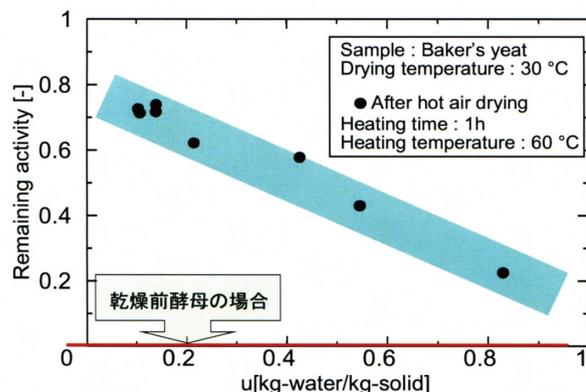


Fig.11 酵母の耐熱性と含水率との関係

Fig.2でも明らかなように、水分の多い状態での酵母は60°C 1時間で完全に失活する。乾燥して含水率を下げた酵母を密閉容器中に60°C 1時間保持し、その後活性を測定し、その値を●でプロットした。

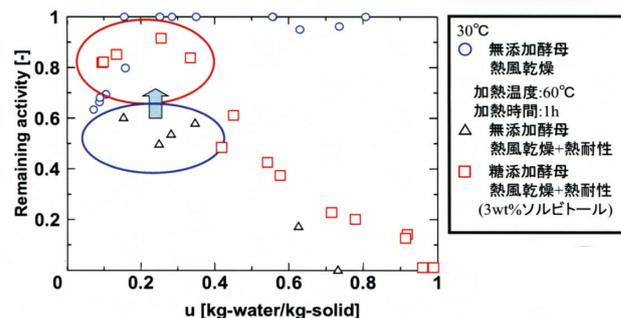


Fig.12 酵母の耐熱性と含水率との関係に対する糖添加効果

ある。これは酵素の乾燥と同様である。

以上の結果から、食品微生物でも活性を保持したまま低含水率に乾燥させると安定な製品ができると考えられる。また、適切な安定化剤の選択も重要である。

#### 4. 結 言

- (1) 水分存在下で酵母と乳酸菌はともに、40～50℃にかけて急激に失活する。
- (2) 酵母は含水率 0.1～0.2 付近で脱水失活が起こり、失活の程度は乾燥速度に依存する傾向がある。
- (3) 酵母において、糖添加は熱失活と脱水失活の両方に対して保護効果がある。
- (4) 乳酸菌の 30℃での熱風乾燥における失活は酵母より顕著であると考えられる。
- (5) 低含水率にまで乾燥させた酵母は非常に安定化される。糖の添加により安定性はさらに向上する。

#### 参考文献

- 1) Bayrock, D. and Ingledew, W. M. (1997) , Mechanism of viability loss during fluidized bed drying of baker's yeast, *Food Research International*, Vol.30, pp. 417-425
- 2) Bruin, S. and K.Ch.A.M Luyben (1980) , Drying of food materials : A review of recent developments, *Advances in drying*, Vol.1, ed.by A.S.Mujumdar, Hemisphere, New York, pp.155-215.
- 3) Buera, M.P., Lodato, P., Segovia de Huergo, M. (1999) , Viability and thermal stability of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* freeze-dried in different sugar and polymer matrices, *Appl.Microbial.Biotechnol.*, Vol.52, pp. 215-220
- 4) Josic, D. (1982) , Optimization of process conditions for the production of active dry yeast, *Lebensm.Wiss. Technol.*, Vol.15, pp.5-14
- 5) Lievense, L.C., M.A.M.Verbeek, T.Taekema, G.Meerding and K.Van' t Riet (1992) , Modelling the inactivation of *Lactobacillus plantarum* during a drying process, *Chem.Eng.Sci.*, Vol.47, pp.87-97.
- 6) Mille, Y., Girard, J.-P., Beney, L., Gervais, P. (2005) , Air drying optimization of *Saccharomyces cerevisiae* through its water-glycerol dehydration properties. *J. Appl. Microb.*, Vol. 99, pp. 376-382
- 7) Rahman, S. (1995) , *Food Properties Handbook*, CRC press, Boca Raton
- 8) Rakotozafy, H., Louka, N., Therisod, M., Therisod, H and Allaf, K. (2000) , Drying of baker's yeast by a new method: Dehydration by Successive Pressure Drops (DDS) . Effect on cell survival and enzymatic activities, *Drying Technology*, Vol.18, pp. 2253-2271
- 9) Yamamoto, S. (2004) , Drying of gelled sugar solutions: water diffusion behavior, in *Dehydration of Products of Biological Origin*, ed.by A.S.Mujumdar, Science Publisher, Enfield, USA pp.165-201,
- 10) Yamamoto, S., Fujii, S., Mako, M, Yoshimoto, N. (2008). Effect of sugars and polyols on the inactivation of yeasts during drying, *Proceedings of the 16<sup>th</sup> international drying symposium*

## Analysis of inactivation mechanism of food microorganisms during drying

Shuichi Yamamoto

(Laboratory of Bio-Process Engineering School of Engineering and  
Graduate School of Medicine Yamaguchi University)

Various food microorganisms play crucial roles in food processing. They are also being produced as functional (health-promoting) foods or probiotics. Among them yeasts have been extensively used for making breads, beers and other foods or beverages. Similarly, lactic acid bacteria are quite important for various different types of foods such as yogurt. Because of their excellent function as probiotics, people tend to take more lactic acid bacteria based foods.

Although dried baker's yeasts (bread yeasts) are available on the market, the inactivation mechanism during and after drying is quite complicated and still not known fully. The drying of lactic acid bacteria is known to be very difficult. The reason why drying of food microorganisms is complicated and difficult is due to dehydration inactivation, which is not important during drying of proteins.

In this study inactivation behavior of commercial bread yeasts and lactic acid bacteria during hot air drying was investigated. Thermal stability of bread yeasts in water (suspension) was first examined as a function of temperature. Protective effect of additives (various sugars and polyols) on thermal activity was also investigated. The fermentation activity of bread yeasts in water (suspension) decreased very sharply above 318K after one hour. Sugars such as trehalose and sorbitol stabilized the yeasts when the sugar concentration is ca 40wt%.

Hot air convective drying experiments of yeasts were carried out at 303 K at constant air-temperature and air humidity. The water content as well as the activity was measured during drying. The fermentation activity decreased during the falling drying rate period even at 303K. This decrease was found to be due to dehydration inactivation. Sugars (trehalose or sorbitol) were also shown to be a good protective agent against dehydration inactivation during drying. The dried yeasts were heated at 333K for one hour. The activity still remained when the water content was below 0.1 kg-water/kg-solid. This indicates that the dried yeasts are much more thermo-stable compared with native ones.

The inactivation behavior of lactic acid bacteria was similar to that of yeast. At low water contents the fermentation activities dropped significantly during drying at 303K. The lactic acid bacteria were less-resistant to dehydration drying compared with the yeast.