

<平成20年度>

豆乳の交流高電界殺菌および無菌化豆腐に関する研究

植村 邦彦

(独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 食品総合研究所)

1. はじめに

自然食品である豆腐は世界的なヘルシー志向の高まりとともに、日本ばかりではなく世界に広がって多くの人々に食され、その良さが評価されている。栄養学など多くの学術分野における研究が進み、豆腐は非常に良質なたんぱく食品であることが立証され、最近の研究ではガン、高血圧、心臓病、肥満等の予防・抑制にも役立つ機能性食品として注目されている。豆腐は日本全国の家庭や外食産業に幅広く浸透し、日常的に豆腐料理として親しまれている。しかしながら、豆腐の賞費期限が、10℃で4日程度と非常に短いことが消費拡大の足かせとなっている。賞費期限が短い原因としては、豆腐の原料となる大豆には土壌由来の微生物で耐熱性の高いものが付着している可能性があり、豆乳の製造過程では100℃の温度で5分程度の加熱処理を行っているが、耐熱性の高い芽胞はこの加熱工程を経ても残存しているものがある。残存した芽胞は、室温に置かれた場合、大豆の豊富な栄養源を得て、発芽、生育し、豆腐を腐敗してしまう。豆腐の賞費期限を延長するためには、豆腐の原料である豆乳中に含まれる芽胞を完全に失活する必要がある。芽胞を滅菌した豆乳を用いて無菌豆腐が製造できれば、常温保存および賞費期限の大幅な延長が実現可能となる。しかしながら、すべての芽胞を殺菌しようとして、高温、長時間の加熱処理を行った場合、豆乳の栄養成分が損傷したり、たんぱく質の変性が生じたりするこ

とから、豆腐のゲル強度が低下するなどの品質低下が指摘されている¹⁾。そこで、現状では、芽胞を殺菌するような十分な加熱を行っていないのが実態である。

植村らは交流高電界と呼ばれる殺菌方法を独自に開発し、果汁などへの応用を進めてきた。大腸菌や酵母等の微生物は80℃以下²⁾、枯草菌等の芽胞は加圧条件下で120℃の温度まで瞬間的に昇温させることにより、液状食品中の微生物や酵素を効率的に殺菌できることが分かった^{3~5)}。また、交流高電界技術は、従来の加熱殺菌に比べて、微生物の失活速度が非常に速く、加熱時間を短縮することが可能であるため、原料の熱劣化が少ない特徴を有する^{6~7)}。ただし、豆乳等のたんぱく質を含む液状食品に交流高電界技術を適用した場合、電極表面にたんぱく質がスケーリングし、加熱され続けることにより焦げが生じることが問題であった。そこで、本研究では電極表面と豆乳の間にテフロンフィルムを挟み、豆乳と電極が直接接触しないようにすると同時に、交流電源の周波数を短波帯とすることで、豆乳の連続的な通電加熱を可能とする新しい殺菌装置の開発を目指した。印加する交流電源の周波数が短波帯で有ることから、短波帯交流電界処理(RF-AC)と呼ぶことにする。

RF-ACによる食品加熱処理については数多くの研究例がある。RF-ACは材料を均一に加熱するとともに、加熱のために電極が材料に密着する必要がないことが特徴である。

2. 実験方法

2.1 モデル液

20℃の温度における電気伝導率が豆乳のそれに近い値を示す0.2%食塩水を滅菌したものをモデル液として用いた。

2.2 豆乳

市販の無添加豆乳（めいらく，豆腐もできる豆乳）を近くのスーパーで購入したものを供試材料として用いた。

2.3 枯草菌芽胞

枯草菌 *Bacillus subtilis* (PCI219) を標準寒天平面培地に塗布し，37℃，10日間インキュベート後，形成された芽胞を顕微鏡で確認した。芽胞をかき取って，リンゲル液に懸濁し，80℃の恒温槽で20分の加熱処理を行って栄養細胞を殺菌した。遠心分離とすすぎを3回繰り返して，10%グリセリンを添加したリンゲル液に懸濁した芽胞液を実験に供するまで-80℃で凍結保存した。

2.4 電極ユニット構造

電極は，幅6.0mm長さ80mmのチタニウム製電極を5.0mm離して対向させて配置した。電極間を豆乳が流れるように，テフロン製のブロックで流路を形成した。電極ユニットは，①電極表面が剥き出しで，電極が液体材料に直接接触するもの，②電極表面を50 μm厚さのテフロンフィルムで覆ったものの二通りの電極を用意した（図1）。

2.5 インピーダンス測定

電極ユニット①，②に豆乳を満たし，恒温槽で25℃に保った状態でインピーダンスアナライザー（アジレント，4294A）を用いて1MHzから50MHzの周波数範囲の交流インピーダンスを測定した。

2.6 短波帯交流高電界装置

RF-AC装置は図2に示すような構成で，以下の方法で生豆乳の処理を行った。原液タンクから

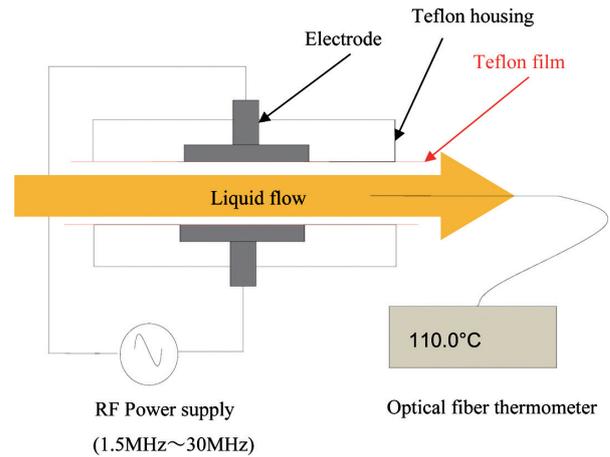


図1 電極部の縦断面および液体材料の流れ

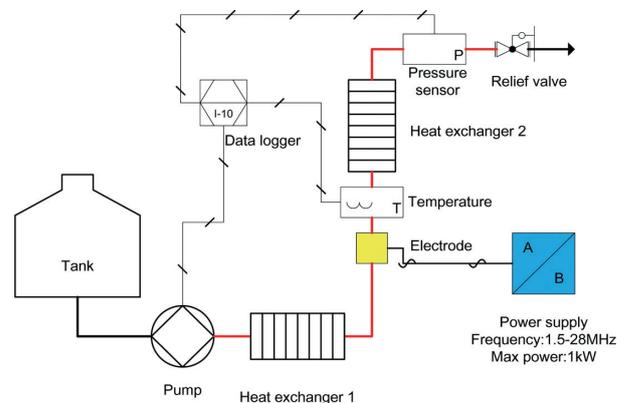


図2 RF-AC処理装置概要

プランジャーポンプを用いて240mL/minの一定速度で搬送し，電極ユニットに送った。電極ユニットでは短波帯の周波数28MHz，最大電力1kWの交流を，整合回路を経て，平行平板電極（6×80×5mm，幅，長さ，電極間距離）に印加した。電極間を通過する豆乳は，電極表面を覆った50 μm膜厚のテフロンフィルムを介して，印加された短波帯電力により自己発熱する。電極の出口側の端から20mmのパイプ中央部に挿入した光ファイバー温度計により，材料の最高到達温度を連続的に計測した。電極ユニットと冷却ユニットまでの配管部で温度を保持した後，直ちに冷却ユニットで25℃に冷却した。処理された試料液体は出口の圧力調整弁で系内の圧力を0.5MPaに保つように減圧しながら排出した。

2.7 菌数検査

RF-AC処理および加熱処理した豆乳50mLを

試料とした。試料を適宜希釈し、1mLを標準寒天培地とともに混釈培養（37℃, 48hour）し、コロニー数をカウントした。

2.8 豆腐の加工

50mLのビーカーに5℃に冷やした豆乳40mLと0.4mLの天然にがりを加え、80℃の恒温槽に30分間浸して加熱後、5℃で12時間冷却し豆腐を作成した。

2.9 豆腐のゲル強度測定

豆腐の破断強度はテンシプレッサー（山電, TPU-2CL）に8mmφのプランジャーを用いてプランジャーが貫入する際の最大圧力を計測した。

生豆乳に枯草菌芽胞 *Bacillus. subtilis* (PCI219) を添加したものを殺菌用試料とした。

比較対象処理としては、試料液体50mLを耐熱性プラスチック容器に入れ、100℃の沸騰水中で10分間加熱後、氷水で冷却した。

3. 結果

3.1 インピーダンスの測定結果

図3に、電極表面のテフロンフィルムの有無によるインピーダンス特性の測定結果を示す。図より、テフロンフィルムがない場合は、測定周波数にかかわらず、ほぼ一定のインピーダンス値となっている。電極表面に50μmのテフロンフィルムを貼った場合は、そのテフロンフィルムがコン

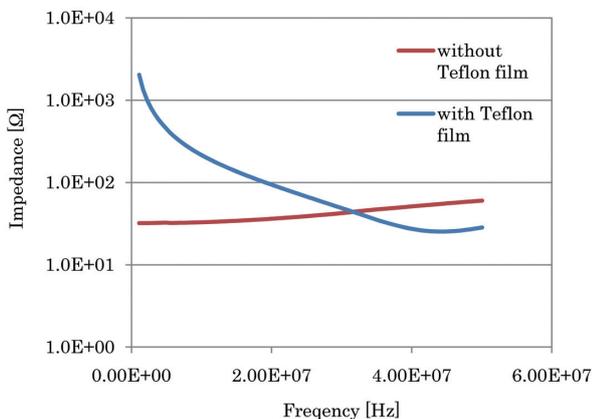


図3 テフロンフィルム有無による豆乳のインピーダンス特性

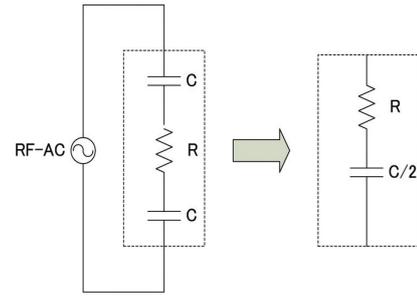


図4 電極表面にテフロンフィルムを貼ったときの電氣的等価回路
 デンサーとみなせる為、周波数が高くなるほどインピーダンスが低下する。両者の値は32MHzのとき60Ωと同じ値となる。したがって、本電極の場合、32MHzの周波数の交流を用いた場合、最も効率的な発熱が期待できる。このとき電極ユニットの等価回路は図4のようになり、両電極のコンデンサーを一つに統合した場合、3MHz～30MHzの各要素の値は、 $R=70\ \Omega$ 、 $C/2=67\text{pF}$ と計算される。

3.2 短波帯周波数が枯草菌芽胞の殺菌に与える影響

0.3%濃度の滅菌食塩水に枯草菌芽胞を添加し、電源の周波数を3MHzから30MHzまで、電源の出力を0Wから1kWまで変化させてRF-AC処理し、得られたサンプルの菌数を測定した結果を図5に示す。図より、各周波数とも電極出口温度を95℃以上まで上昇させた場合、枯草菌芽胞の残存率の対数が出口温度に比例して低下することが分かった。ただし、7MHzよりも周波数が低い場合は、出口温度が105℃以上で殺菌効果が低下した。

3.3 豆乳中の枯草菌芽胞の殺菌効果

エネルギー変換効率および殺菌効率の結果より、以下の実験では周波数として28MHzの短波帯交流を用いることとした。豆乳中に枯草菌芽胞を添加し、100℃の温浴中に10分間浸したものと、28MHzの周波数の交流を印加して電極出口温度が115℃となる条件でRF-AC処理を行った。処理した豆乳中の枯草菌芽胞数を計測したところ、

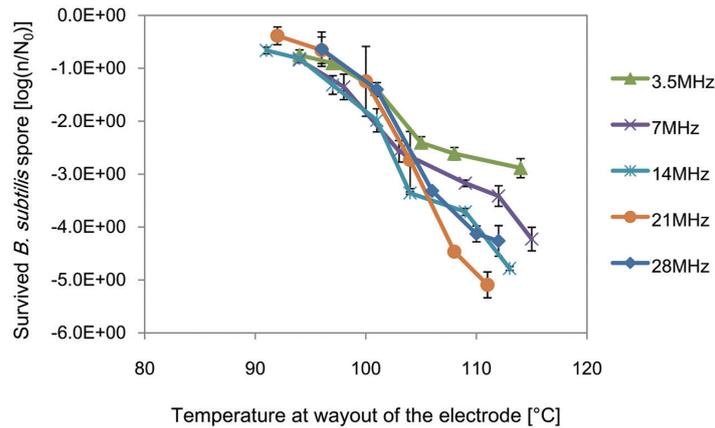


図5 短波帯の周波数が食塩水中の枯草菌芽胞の殺菌に与える影響

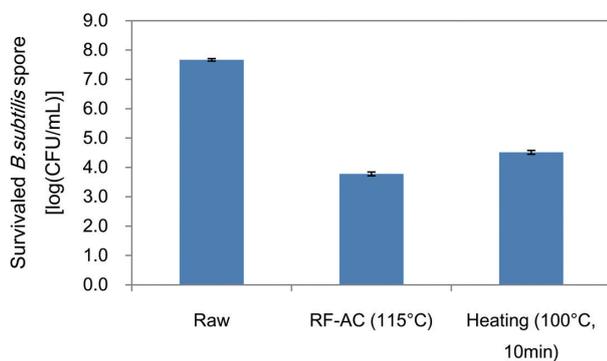


図6 RF-AC 処理および加熱処理による豆乳中の枯草菌芽胞の殺菌効果

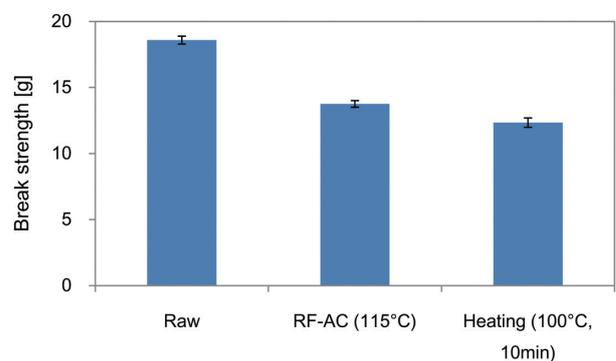


図7 未処理, RF-AC 処理および加熱処理の豆乳から作製された豆腐のゲル強度

RF-AC 処理した豆乳中の枯草菌芽胞は初期菌数に比べて4対数オーダー、加熱処理のものは3対数オーダー失活した(図6)。

3.4 RF-AC 処理した豆乳による豆腐のゲル強度

未処理の豆乳, RF-AC 処理 (115°C) および加熱処理 (100°C, 10min) した豆乳 40mL を用いて3個ずつ豆腐を作製し, テンシプレッサーで陥入強度を測定した結果を図7に示す。一般に, 豆乳の加熱時間が長くなるほどゲル強度が低下するが, RF-AC 処理を行った豆乳で作られた豆腐のゲル強度は, 加熱処理をした豆乳で作られた豆腐よりも高いゲル強度を有することが分かった。

4. ま と め

電極表面をテフロンフィルムで覆い, 短波帯の交流を用いることにより, 大豆たんぱく質が電極

表面へ付着することなく, 豆乳を連続的に RF-AC 処理可能なことを確認した。豆乳中に添加した枯草菌芽胞は RF-AC 処理により, 4対数オーダー失活させることができた。また, RF-AC 処理した豆乳で作製した豆腐は, 従来の加熱処理した豆乳で作製した豆腐よりもゲル強度が高いことが分かった。本研究結果より, RF-AC 処理による高品質な無菌豆腐の作製が可能なが示された。ただし, 本装置の処理量は 240mL/min と小さいことから, 実用的な技術とするためにスケールアップを行うことが今後の課題である。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり, 多大な研究助成を賜りました財団法人浦上食品・食文化振興財団ならびに関係者各位に心より感謝を申し上げます。

文 献

- 1) Tang, Chauan-He. (2007) Effect of thermal pretreatment of raw soymilk on the gel strength and microstructure of tofu induced by microbial transglutaminase. *LWT-Food Science and Technology*, 40, 1403-1409.
- 2) Uemura, K. & Isobe, S. (2002) Developing a new apparatus for inactivating *Escherichia coli* in saline water with high electric field AC., *J. Food Engineering.*, 53., 203-207.
- 3) Uemura, K. & Isobe, S. (2003) Developing a new apparatus for inactivating *Bacillus subtilis* spore in orange juice with a high electric field AC under pressurized conditions. *J. Food Engineering.*, 56. 325-329.
- 4) 井上孝司, 川原優美子, 池田成一郎, 土方祥一, 五十部誠一郎, 植村邦彦: 交流高電界による各種微生物胞子の殺菌, 日本食品工学会誌, Vol. 8, 3, P123-130 (2007)
- 5) 井上孝司, 川原優美子, 池田成一郎, 五十部誠一郎, 植村邦彦: 交流高電界処理による柑橘果汁ペクチンエステラーゼの失活, 日本食品科学工学会誌, Vol. 54, 4, P195-199, (2007)
- 6) Uemura, K., Kobayashi, I. & Inoue, Takashi. : Inactivation of *Alicyclobacillus acidoterrestris* in orange juice by high electric field alternating current. *Food Science Technology Research*, 15, 3, 211-216 (2009)
- 7) Uemura, K., Kobayashi, I. & Inoue, Takashi. Inactivation of *Bacillus subtilis* Spores in Orange Juice and the Quality Change by High Electric Field Alternating Current. *Japan Agricultural Research Quarterly*, 44, 1 (in press) (2010)

Inactivation of spores in soybean milk by radio-frequency alternating current

Kunihiko Uemura

(National Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization)

An apparatus to sterilize soybean milk using radio-frequency alternating current (RF-AC) was developed. An electrode surface was covered with 50 μ m-thick Teflon film, and 28MHz RF-AC was applied to soybean milk flowing through the electrode unit. A four-logarithm order reduction of *Bacillus subtilis* spores was realized in the soybean milk by RF-AC heating at up to 115°C for 0.4s. Scaling of the electrode surface of the protein from the soybean, which became a problem with high-electric-field AC (HEF-AC). When the electrode surface was covered with a Teflon film, it did not produce this effect. Tofu was produced experimentally using RF-AC processed soybean milk and conventionally heated soybean milk. Comparative studies revealed that the tofu made by RF-AC processing had higher gel strength than the tofu made by conventional heating.