

超高压処理による白味噌への影響

誌名	研究報告 = Report of the Food Research Institute and the Fermentation & Food Experimental Station, Kagawa Prefectural Government
ISSN	09185984
著者	白川, 武志 田村, 桂子 末澤, 保彦 香川, 典子
巻/号	85号
掲載ページ	p. 21-29
発行年月	1993年11月

超高压処理による白味噌への影響 (超高压に関する研究 第2報)

白川 武志・田村 桂子・末澤 保彦・香川 典子

Effects of High Pressure Processing on Qualities of Miso (Studies on High Pressure Processing Part II)

Takeshi SHIRAKAWA · Keiko TAMURA · Yasuhiko SUEZAWA · Noriko KAGAWA

緒 言

白味噌の製造中、原料の仕込混合又は加熱摺り工程で防湧を目的としてエチルアルコールを添加する場合がある。しかし、熟成中及び加熱摺り工程でエチルアルコールが揮散するため、揮散量を勘案して、添加しているのが現状である。一方、アルコールを添加しない場合は、湯漬殺菌するため包装袋へのダメージ及び製品へのダメージが避けられない。そこで、アルコール損失及び品質へのダメージを回避する目的で、市販白味噌を使用して、超高压処理を実施し、酵母への殺菌効果、品質への影響を検討したので報告する。

実 験 方 法

1. 加圧試験法

① 試験装置

前報¹⁾と同様に、蒸留水と共に真空包装した試料を冷却装置(アエラ製CA-111)を装着した三菱重工製超高压試験装置MFP-7000を使用し加圧した。

② 試料

白味噌は市販品(ガゼット包装 県内2, 県外1)を使用した。

③ 酵母

酵母は前報¹⁾で使用した, No 26 *Candida famata*, No 29 *Debaryomyces hansenii*, No 32 *Zygosaccharomyces rouxii*, No 34 *Saccharomyces cerevisiae*の4株を前培養し, 2日目に集菌し, 前報¹⁾と同様に前処理後加圧試験用酵母

とした。前処理した酵母を味噌中に添加し, 4%寒天(滅菌済み)で覆い味噌ボールを造り酵母を加圧し, 下記2の電子顕微鏡観察の試料とした。

④ 加圧処理前後の酵母数及び生菌数の測定
前報¹⁾に準じて測定した。

⑤ 分離酵母及び細菌の同定

分離した酵母及び細菌の同定は常法²⁾に準じて属名まで行った。

2. 酵母及び白味噌の電子顕微鏡観察

① 化学固定

M. A. HAYAT³⁾の方法に準じて5%グルタルアルデヒド-ピペラジン緩衝液(pH6.8)及び2%オスミウム酸-ピペラジン緩衝液(pH6.8)で各24時間浸漬(10℃)した。

② 脱水処理

化学固定後, ピペラジン緩衝液及び蒸留水で2度洗浄し, 冷蔵庫内(10℃)でエチルアルコール30%, 50%, 70%, 90%及び, 99.5%により各12時間脱水処理を行った。

③ 臨界点乾燥及びスパッタリング処理

エチルアルコール脱水処理後, 12時間酢酸イソアミルでアルコール置換し, 炭酸ガス臨界点乾燥装置(日立HCP-2)で12時間脱水した後, 表面の寒天を削ぎ, Pt-Pdをイオン源として2分間スパッタリング処理した。

④ 破碎米及び丸大豆の浸漬及び蒸煮

破碎米及び丸大豆は一夜浸漬後, 丸大豆はオートクレーブで蒸煮し, 破碎米は蒸し器で蒸煮した。

表1 酵母に対する殺菌効果

加圧条件*1		酵母数	生菌数 /g	色調変化	30℃ 10日間の保存 中の膨化状況
対照	酵母無添加区	1	5.5x10 ²		9日目膨化
	酵母添加区	1			3日目膨化
4000-10	酵母無添加区	1 x 10 ⁻²	87	対照より白 い	10日目膨化せず
	酵母添加区	2 x 10 ⁻³			4日目膨化
4000-20	酵母無添加区	1 x 10 ⁻²	7 x 10 ⁻³		10日目膨化せず
	酵母添加区	7 x 10 ⁻³			7日目膨化
4000-30	酵母無添加区	0	1 x 10 ⁻⁴		10日目膨化せず
	酵母添加区	1 x 10 ⁻⁴			7日目膨化
5000-10	酵母無添加区	1 x 10 ⁻¹	18	対照より白 い	10日目膨化せず
	酵母添加区	3 x 10 ⁻³			7日目膨化
5000-20	酵母無添加区	0	0		10日目膨化せず
	酵母添加区	0			10日目膨化せず
5000-30	酵母無添加区	0	0		10日目膨化せず
	酵母添加区	0			10日目膨化せず
6000-10	酵母無添加区	0	18	対照より白 い	10日目膨化せず
	酵母添加区	0			10日目膨化せず
7000-10	酵母無添加区	0	7	対照より白 い	10日目膨化せず
	酵母添加区	0			10日目膨化せず

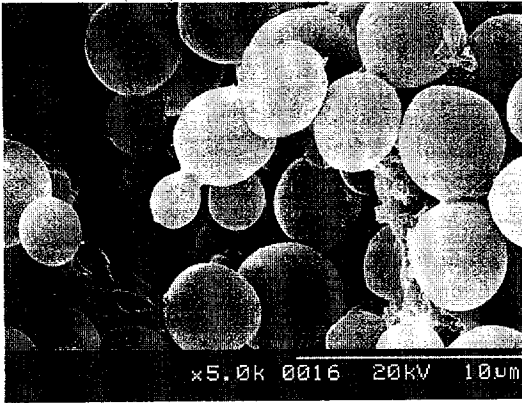
加圧条件*1：4000-10, 5000-10, 6000-10は設定圧力 (kg/cm²) と加圧時間 (min) を示す。加圧中の温度：15℃以下に保持

初発酵母数はそれぞれ酵母無添加区：7.5x10²/g, 酵母添加区：1.4x10⁴/gであるが初発菌数は1とする。酵母無添加区が生菌数：5.5x10²/g

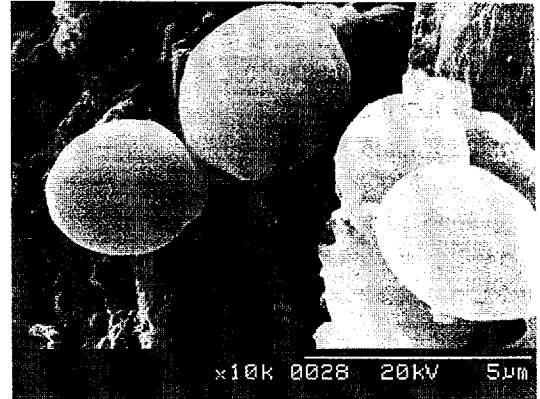
表2 加圧前及び加圧後の味噌中より分離した酵母及び細菌

	生理活性及び形態	属名
対照の酵母無添加区から分離した生菌	グラム陽性 芽胞有 桿菌サイズ(1x3)	<i>Bacillus</i> 属
	グラム陽性 芽胞無カタラーゼ陰性 グルコース発酵 単桿菌サイズ(1x2) BCP培地から分離	<i>Lactobacillus</i> 属
	グラム陽性 球菌	
対照の酵母無添加区より分離した酵母	YM培地 (pH6.5) 培地から分離 グルコース, サッカロース, マルトース, ラフィノースは発酵性有, ラクトース, ガラクトースは発酵性無 菌糸状の形態	<i>Shizosaccharom-ycetes</i> 属
	楕円形の出芽 酵母	
5000-10及び7000-10加圧酵母無添加区から分離した生菌	グラム陽性 芽胞有 桿菌	<i>Bacillus</i> 属
5000-10加圧酵母無添加区及び酵母添加区から分離した酵母	YM培地 (pH6.5) 培地から分離 グルコース, サッカロース, マルトース, ラフィノースは発酵性有, ラクトース, ガラクトースは発酵性無 菌糸状の形態	<i>Shizosaccharom-ycetes</i> 属

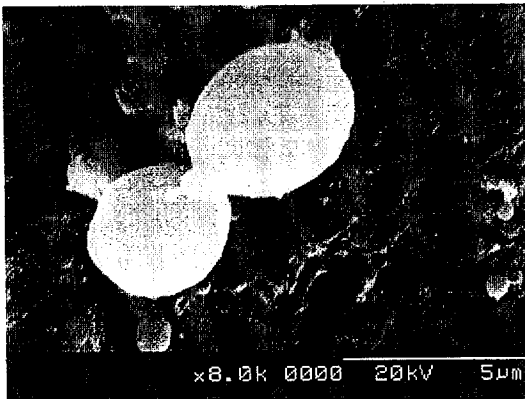
(A)



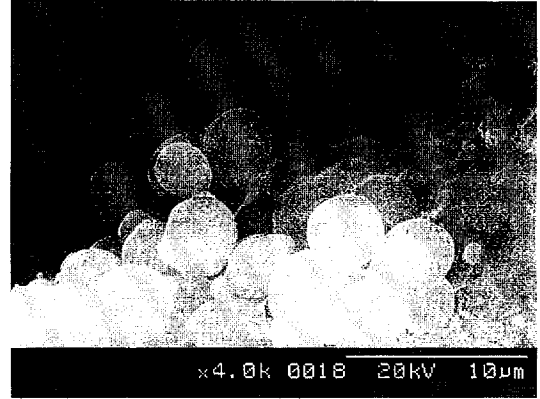
(B)



(C)



(D)



(E)

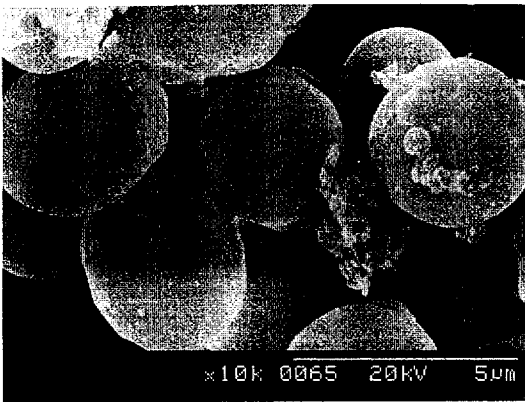


図1 No.32株の電子顕微鏡写真

A : 対照

B : (4000kg-10min加圧処理)

C : (5000kg-10min加圧処理)

D : (6000kg-10min加圧処理)

E : (7000kg-10min加圧処理)

4. 成分分析

味噌の全窒素、滴定酸度、ホルモール窒素は味噌標準分析法⁵⁾に準じて行った。また、色調は測色色差計（日本電色ND-101DP）で測定した。

5. エチルアルコールの測定

加圧処理した味噌30gをφ150mmシャーレに塗り、ガラス製デシケーター2.4lに保存後ラップで覆い、経時的に10mlずつシリンジでサンプル瓶に採取し、ガスクロ測定用試料とした。試料はキャピラリーカラム（CBP20-W25-100）を装着したガスクロマトグラフ（島津製HSS-2B）を使用し、末澤らの方法⁶⁾で測定した。

結果及び考察

1. 加圧処理による酵母の殺菌効果

前報⁷⁾で報告したように酵母の殺菌に対しては食塩濃度が影響するので、事前に市販味噌中3社にNo.26, No.29, No.32及びNo.34酵母添加して膨化するかを検討し、膨化し易い味噌（市販品2）を選択し、No.32株を添加した。加圧による殺菌効果を製品中に残存している酵母への殺菌効果を検討した。表1示すように膨化を引き起こす酵母No.32株に対しては、4000kgの圧力では30分間加圧しても酵母は死滅せず、5000kg-20min（以後5000-20と略する）以上の加圧をしないと完全に死滅しない。しかし、市販味噌中に混入している*Bacillus*属は6000-10, 7000-10でも死滅しなかった。5000-

10処理した酵母添加区からはNo.32株は検出されないうが、*Shizosaccharomyces*属が検出された。（表2）この酵母はNo.32株より耐圧性を持っている。

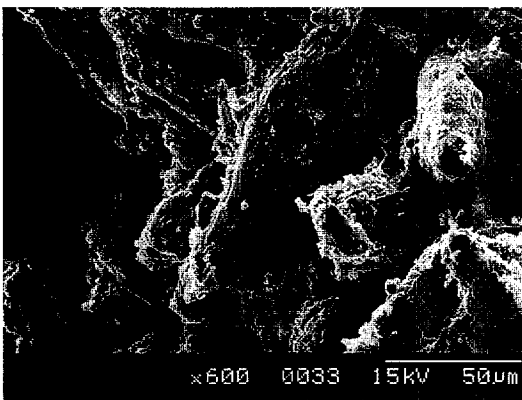
2. 加圧による味噌中の酵母の形態変化

大隅⁸⁾が報告しているように、前報⁷⁾では加圧すると酵母が陥没を含む変形又破断が起き、酵母が死滅又は増殖能力の喪失が起きると報告した。味噌の様なペースト状の食品中では実際に、このような現象が起きているかを見るために、味噌中にNo.26, 29, 32, 34株を添加し、4000-10~7000-10加圧し、酵母の状態を観察した。図1（No.32株以外は省略）に示すように、破断部分は見られなかったが、各酵母は陥没部分が見られ、変形した。

3. 加圧による味噌中の粒子への影響

加圧すると味噌中に残っている大豆の子葉部の粒子（子葉細胞）の加圧による差は明確ではなかった。（図2）更に、米の胚乳部の細胞は確認出来なかった。そこで、原料である大豆及び破碎米の加圧処理による変化をみた。生大豆を6000kg-10min加圧して無加圧のものと比較すると、生大豆の子葉細胞の各細胞の細胞間膜が薄くなり、細胞のサイズも小さくなる傾向であった。（図3）同様に処理した蒸し大豆を比較すると、明らかに子葉細胞は萎縮し、内部の固い粒子の影響の為、表面の凹凸が激しくなった。（図4）このような蒸し大豆における変化のなかで、味噌の中では、少なくとも萎縮は起きていると思われる。味噌中における米の胚乳部の細胞は確認できなかったので、

(A)



(B)

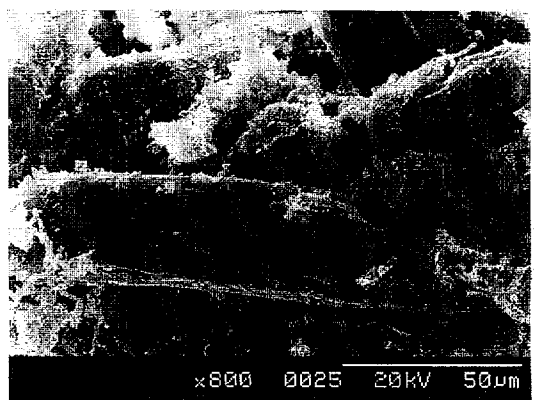


図2 味噌中の子葉部の細胞

A : (対照)

B : (6000kg-10min)

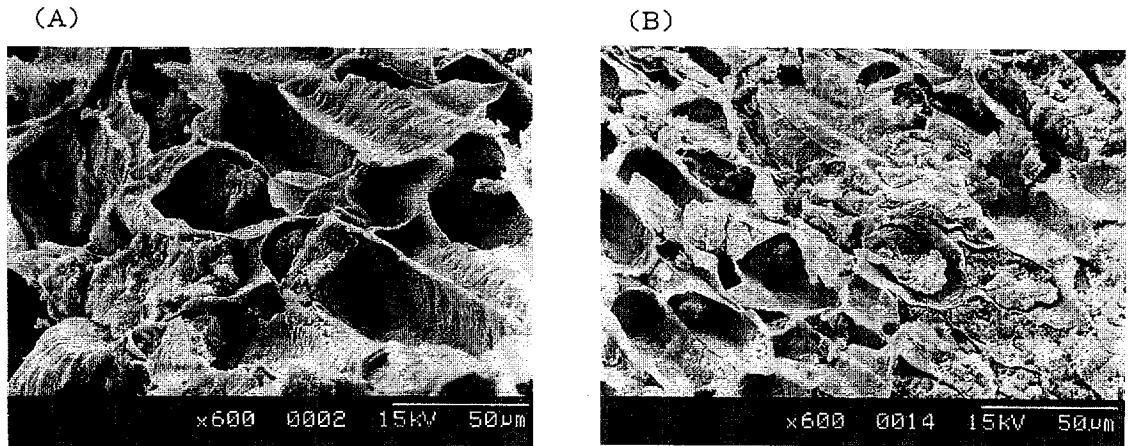


図3 生大豆中の子葉部の細胞

A : (対照)

B : (6000kg-10min加圧処理)

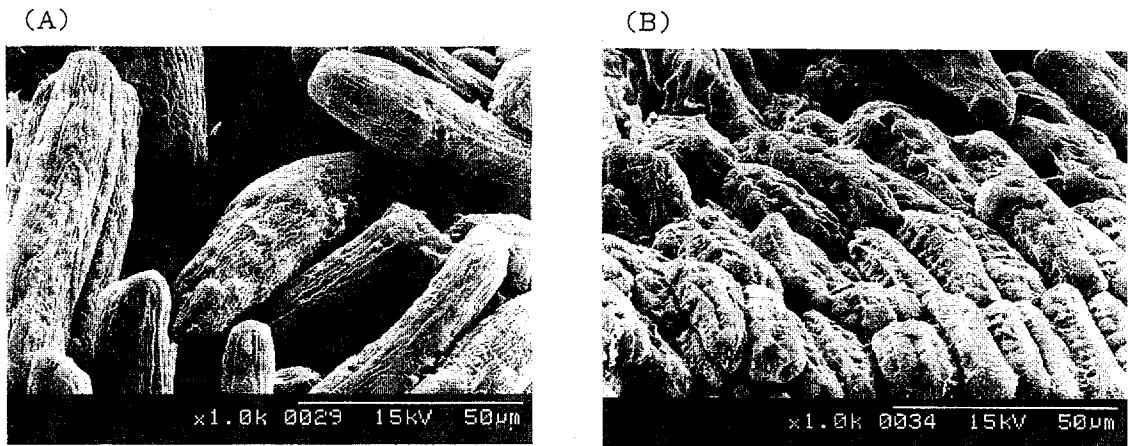


図4 煮沸大豆中の子葉部の細胞

A : (対照)

B : (6000kg-10min加圧処理)

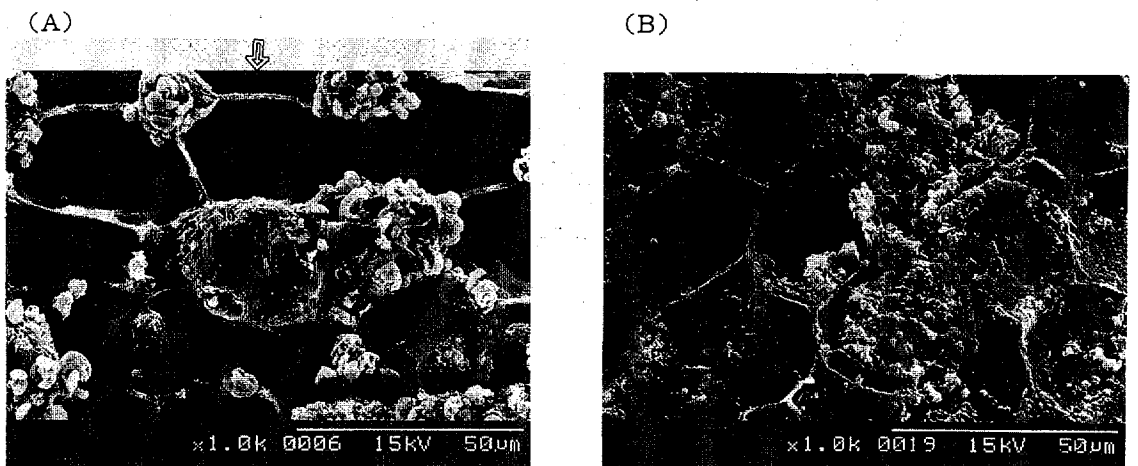


図5 生米中の胚乳部の細胞

A : (対照)

B : (6000kg-10min加圧処理)

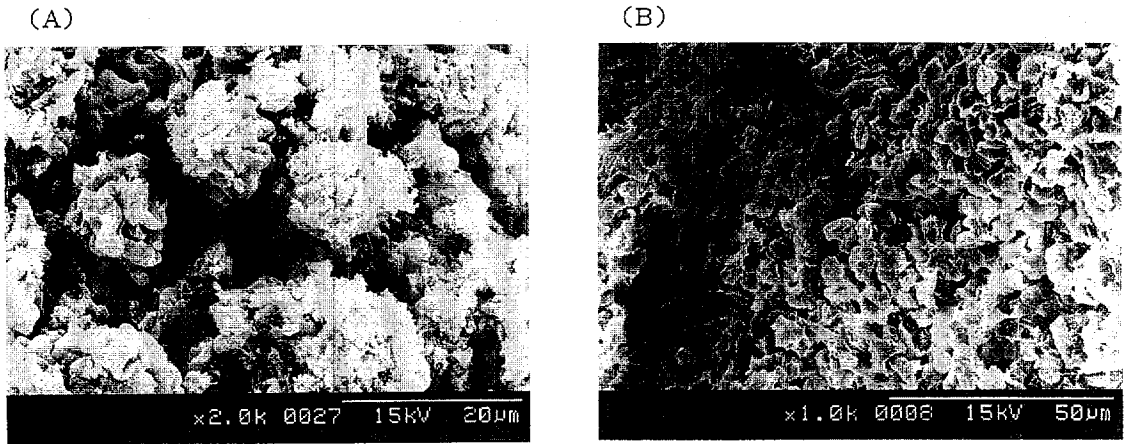


図6 蒸し米中の胚乳部の粒子
A : (対照) B : (6000kg-10min加圧処理)

生米及び蒸し米の場合の加圧前後を比較すると生米の表面胚乳部の各細胞膜も薄くなり、各細胞も萎縮している。(図5) 更に、蒸し米の場合、胚乳の細胞が壊れ易いため、澱粉粒等が流出し、胚乳の細胞は確認できにくい。しかし、胚乳の細胞中の澱粉等の粒子は加圧処理により萎縮した。(図6) 蒸煮した米の胚乳部の細胞はもろくなり、更に内部の澱粉粒子が膨潤し、内部の粒子が流出し、実際の製品では酵素の作用を受けるため、米

の胚乳部の細胞が確認できなかったものと思われる。しかし、図2の味噌中にみられる様な子葉細胞以外の微粒子も同様に加圧処理の影響を受けるため、蒸し米の胚乳の細胞中の粒子と同様に萎縮していると思われる。

このように加圧すると、味噌(製品)に存在する粒子(子葉の細胞、米の細胞)は萎縮する。言い替えると、圧力が取り除かれても元の形に回復しない、非可逆的な構造的変化を受ける。

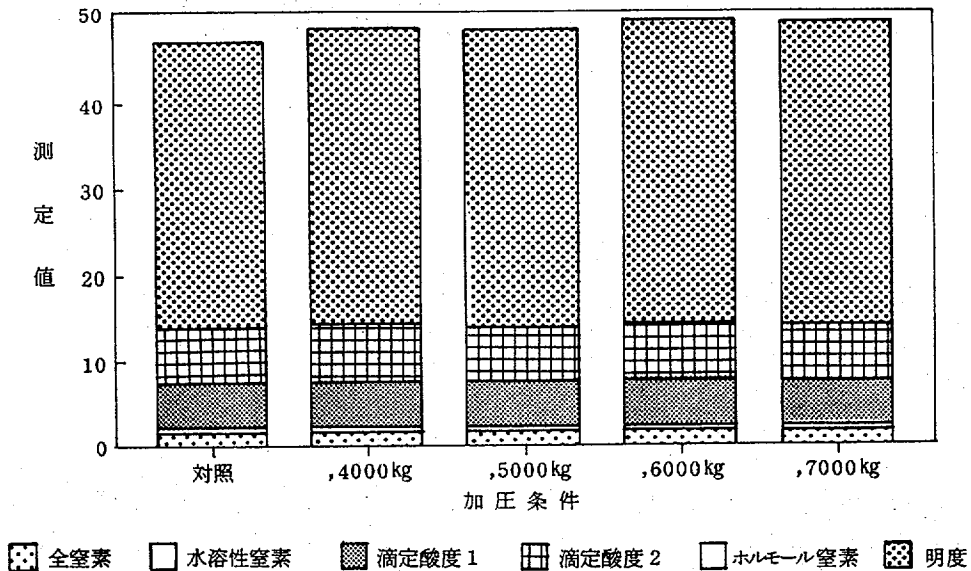


図7 白味噌の品質への影響(市販品1)

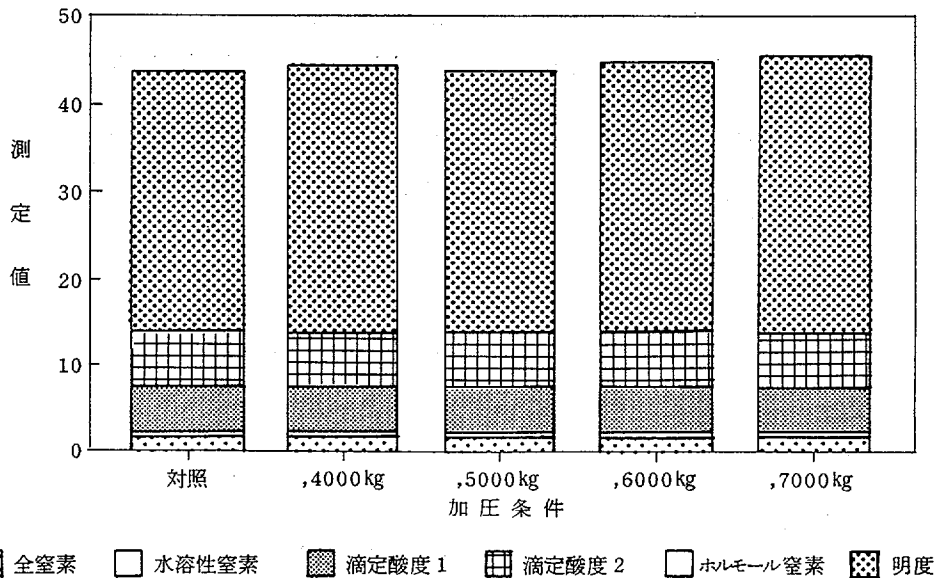


図8 白味噌の品質への影響(市販品2)

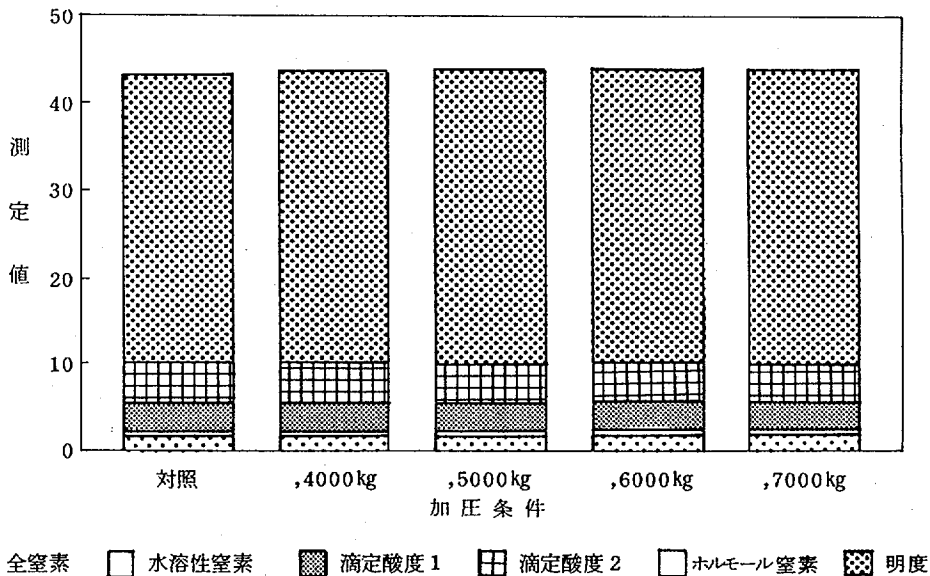


図9 白味噌の品質への影響(市販品3)

4. 加圧による成分への影響

4000-10~7000-10の加圧処理を行っても全窒素、水溶性窒素、ホルモン窒素、滴定酸度1及び2等の各値は対照に比べて殆ど影響されない。しかし、色調の中、x値及びy値を除いて、Y値(明度)は明らかに、加圧することにより、大きくなる。

(図7, 8, 9) 官能的にも色が明るくなる。

市販品のうち、エチルアルコール濃度が高くて、官能的にエチルアルコール臭の強いもの(市販品1, 3)はエチルアルコール臭が弱くなった。(表3)しかし、80℃及び室温で放置した時の味噌のヘッドスペース中のエチルアルコールを測定すると、官能検査の結果のような加圧処理によるアルコール臭の低下は見られなかった。

表3 味噌より揮散するエチルアルコール

	加圧条件	80℃で揮散する * ¹ エチルアルコール濃度	常温で揮散する * ² エチルアルコール濃度	* ³ 官能検査での アルコール臭
市販品1	対照	1971794	22322	アルコール臭強い
	4000-10	2258321	28509	対照より弱い
	7000-10	2318148	34175	対照より弱い
市販品2	対照	919	0	アルコール臭なし
	4000-10	586	0	"
	7000-10	564	0	"
市販品3	対照	1308443	7583	アルコール臭強い
	4000-10	1415346	14234	対照より弱い
	7000-10	1430461	17624	対照より弱い

*1：ピークの面積

測定用容器：味噌4g充填 測定条件：80℃，20min保持した。

*2：ピークの面積

25mlの容器に味噌16gを充填し，ヘッドスペース3mlを測定用容器にとり80℃，20分間保持した。

*3：加圧後，常温にし，開封直後の味噌を官能検査する。

5. 加圧によるエチルアルコールの揮散速度への影響

味噌を加圧すると，官能的に香りがやや弱くなる，特に，エチルアルコール臭が低下する。この原因を検討するために，保持後の容器内に揮散しているエチルアルコールの濃度測定をすると，図10及び11より，官能検査の環境に近い条件である30℃における揮散状態では，特に閾値濃度に達する時間は明らかに，加圧処理すると加圧前に比較して長い。4000kg-5000kgで加圧した場合は60分

間以上経過しないと，官能的に検値出来ない。加圧処理後も，味噌中のエチルアルコールの濃度は変化せず3で見られるように，構造変化により，エチルアルコールが味噌中の大豆及び米等の粒子に吸着され，対照区は時間とともに揮散速度は速くなるが，加圧処理すると対照区に比較して揮散速度が遅くなる。結果的に，加圧すると，閾値濃度(10.0ppm)⁹⁾に達する時間が長くなりエチルアルコール臭を感じない場合が生じるものと思われる。

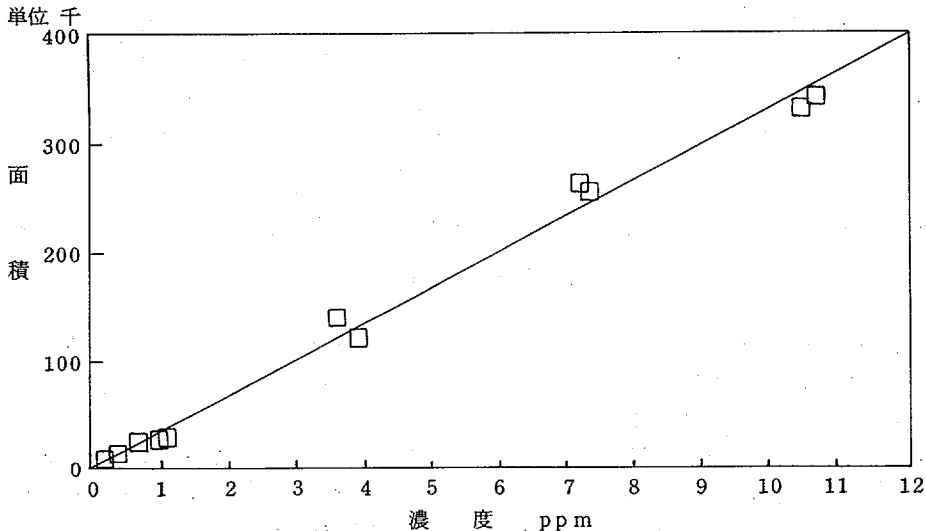


図10 エチルアルコールのピーク面積と濃度(ヘッドスペース中)

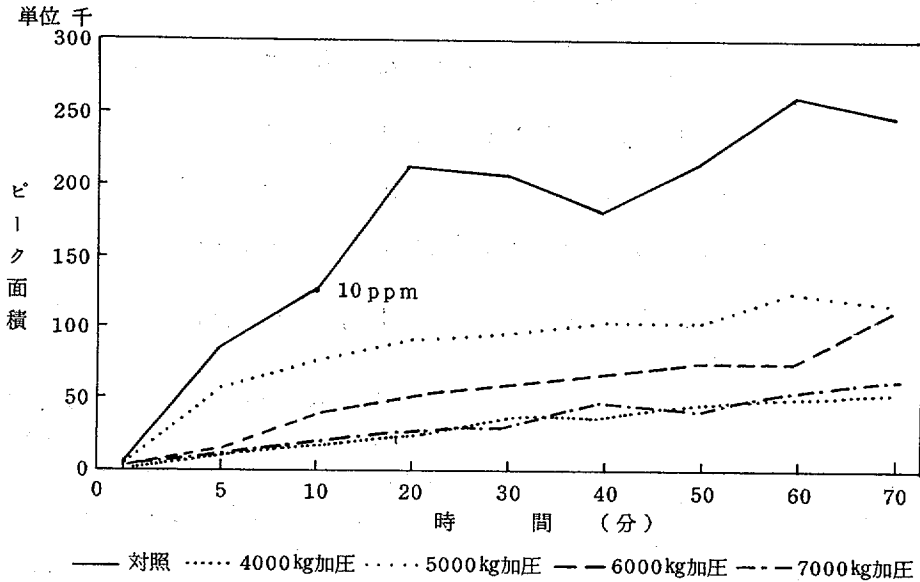


図11 加圧によるアルコールの揮散速度への影響 (30℃保存)

要 約 文 献

白味噌 (市販品) の加圧処理による効果を検討した。

1. 白味噌に混入している酵母を完全に殺菌するには5000kgで20分以上加圧する必要がある。4000kgの加圧処理でも、味噌中の酵母は物理的に破壊されて、死滅するものもある。加圧処理によりこのような加圧条件では市販味噌に混入していた熱に弱い細菌は完全に死滅した。
2. 白味噌を加圧すると、全窒素、水溶性窒素、滴定酸度へは殆ど影響しないが、色調では、明度 (Y値) が大きくなった。
3. 加圧処理を行っても、白味噌中に残存しているエチルアルコール量は変化しないが、香りが弱くなり、特に、エチルアルコール臭が低下した。この低下の原因は、アルコールが加圧処理のため、大豆、米等に吸着され揮散され難くなるためである。
4. 製品中に残っている粒子等が萎縮するため光の乱反射が抑えられるため、結果的に明度が大きくなった。

- 1) 白川武志：香川食研報，84，33 (1993)
- 2) 白川武志：香川発食試報，83，11 (1992)
- 3) D. Yarrow：The yeast a taxonomic study, ed. by N. J. W. Kreger-van Rij Gronigen, Elsevier Science Publishers B. V, Amsterdam, p414 (1984)
- 4) M. A. HAYAT, 永野俊雄 (監修)：透過電子顕微鏡生物試料作製ハンドブック，丸善，p279 (1990)
- 5) 全国味噌技術会編：改訂基準分析法 16 (1968)
- 6) 末澤 池田：香川食研報，84，23 (1993)
- 7) 大隅正子：加圧食品，さんえい出版，p157 (1990)
- 8) 日本化学会編：改訂3版 化学便覧応用編，丸善，1433 (1980)