特集 ── 高圧極限環境を利用した食品加工における新展開 ──

高圧力によって誘引される形質転換（Hi-Pit）を利用した食品の開発

Development of Food Products Using High-Pressure Induced Transformation (Hi-Pit)

山﨑 彬

Akira YAMAZAKI

Recently significant progress has been made in research into applications of the high-pressure treatment method. This is because it has been demonstrated that high-pressure treatment can induce additional new phenomena when used in combination with other physical, chemical or biological treatments. Practical results can be obtained when two or more phenomena induced by high-pressure treatment are combined, for example, acceleration of enzyme reactions, acceleration of reactions by the breakdown of cell walls, penetration of water into the inside of rice grains, elimination of air bubbles in a wide range of grains, and sterilization obtainable by the synergic action of high-pressure and pulsed electric field application. These extended techniques are expected to form the main stream in the research of practical applications in the future. Therefore, the idea has emerged to call such application techniques "Hi-Pit" (High-Pressure Induced Transformation).

[*high pressure treatment, synergic action, enzyme reaction, pulsed electric field, Hi-Pit*]

1. はじめに

最近，高圧処理の利用に関する研究が，大きく進展している。高圧処理によって誘引される複数の事象を他の物理的，化学的，生物学的な処理と組み合わせることで，更に新しい現象を誘引できることが多数実証されたからである。これらの実用的な成果は，酵素反応の促進，細胞壁の破壊による反応の促進，米粒内部への水の浸透，多種穀粒内部の気泡の排除，高圧とパルス放電による殺菌への相乗効果，等の複数の現象の組み合わせで達成されたものが多い。これは，今後の実用化研究の主流となる分野として期待できるため，「High-Pressure Induced Transformation (Hi-Pit)」と命名したらどうかと新潟薬科大学・応用生命科学部の藤井智幸教授からご提案をいただいている。

2. 酵素反応を利用した食品組成の変換

食品に酵素が内在する場合，高圧処理によって酵素の働く環境を変化させ，有用組成を増加させることができる。環境の変化は複雑だが，細胞壁の破壊によって，基質との会合や水の浸透が促進され，さらに反応の障害となる気泡が排除されることから，酵素反応を活性化させることができる。これらの相乗効果こそが "Hi-Pit" 効果であるが，目的とする酵素反応を促進させる種々の条件（原材料に内在する酵素，処理圧力，時間，温度）を求め，再現性のある基礎データを得なければならない。しかし，条件は一元的なものではなく，常に動力学的に，反応過程で変化する状態を把握して最適環境を維持するべく，条件を変化させなければならない。これらの検索は未だ高圧研究の黎明期であるが，将来最も有望であると考えられる。以下に実現した例を紹介する。

2.1 玄米中に含まれるγ−アミノ酪酸（GABA）の蓄積

Fig. 1 は，米粒に高圧処理を施した走査型電子顕微鏡の写真である。300 MPa，10 min の処理を受けた米粒は，細胞が等方的に圧縮されて，細胞壁が損

〒940-0056 新潟県長岡市呉服町 1-4-5 越後製菓株式会社 総合研究所
Research Institute, Echigo Seika Co., Ltd., 1-4-5 Gofuku-machi, Nagaoka-shi, Niigata 940-0056
Electronic address: a-yamazaki@echigoseika.co.jp

傷し，内部のデンプン粒が吐出している。500 MPa 以上の処理を受けた米の細胞壁は，形を留めず，デンプン粒が完全に露出していて，700 MPa 以上では糊化が生じて糊の薄膜が形成されている[1]。

このように高圧処理で細胞壁を損傷すると，米粒内部に水が容易に浸透するため，炊飯によって糊化度の高い炊飯米ができる。酵素による人工消化実験の結果を Fig. 2 に示した。400 MPa，10 min の高圧処理を施した「玄米ご飯」は，無処理の「白米ご飯」よりも消化性が向上していた[2]。

一般に玄米食は，健康的で栄養も豊富である反面，咀嚼に時間がかかり，高齢者や咀嚼困難者の喫食には嫌われる側面をもっていた。しかし，炊飯前の玄米に高圧処理を施すと，前記の課題が解決され，新しい特殊保健用食品，病者用食品などの用途に利用

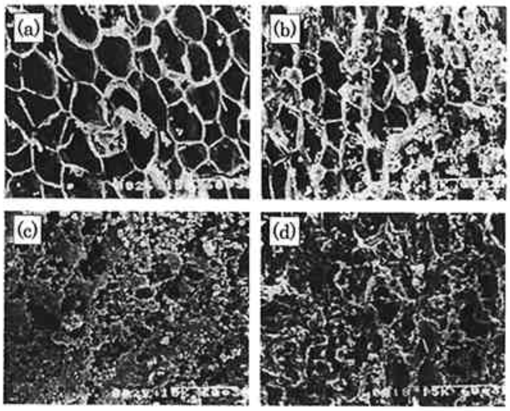

Fig. 1. Changes of rice tissue by high-pressure treatment. (a), control; (b), high-pressure treatment at 300 MPa for 10 min; (c), 500 MPa for 10 min; (d), 700 MPa for 10 min. (bar length 60 μm)

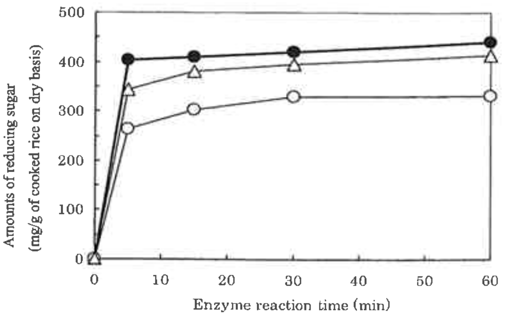

Fig. 2. Comparison of starch digestibility between cooked brown rice and polished rice.
●, brown rice subjected of high-pressure treatment at 400 MPa for 10 min; ○, non-treated brown rice (control); △, non-treated polished rice (control).

できる。さらに，浸漬時間や調理時間も短縮され，炊き上がったご飯も粘りが増加して，玄米特有のパサパサ感がなくなる。粳米で炊いても，糯米で製造した赤飯の食感に近づいていた。

また，浸漬した玄米の細胞壁に高圧処理で損傷を与え，そのまま放置すると，米粒内部のグルタミン酸が脱炭酸酵素（GAD）によってγ−アミノ酪酸（GABA）に変換される。200〜400 MPa，10 min 処理の玄米を，25℃の常圧の浸漬水中に放置し，その後に蓄積される GABA の含有量を Fig. 3 に示した[3]。ヒトの血圧調整作用に効果がある GABA の摂取量は一日当たり 10 mg 前後といわれていて，GABA は病院でも処方されている。この玄米は，発芽玄米よりも遥かに効率がよく GABA が蓄積されているので，100 g の乾物玄米に 18 mg が含有されている場合，玄米ご飯にして，一日あたり 140 g 程度を食べれば良いことになる。最近の多様化した食生活の中で，ご飯だけを沢山食べることができない環境には，高い濃度で GABA が蓄積されている玄米は便利である。この要因は，玄米粒内の細胞壁が高圧で破壊されたために，細胞壁で区切られていた基質と酵素の会合度が飛躍的に増加したことによると考えられる。

2.2 大豆中に含まれる大豆ペプチドの増強

大豆に含まれる大豆ペプチドには，疲労回復，抗酸化，血中コレステロール低下，血圧上昇抑制，並びにエネルギー代謝促進などの種々の作用があると言われている。しかし，食事で大豆を摂取しても体内で消化吸収される大豆ペプチドは僅かであり，機能性食品として種々の栄養補助食品が開発されている。

大豆には，蓄積した自己のタンパク質をペプチド

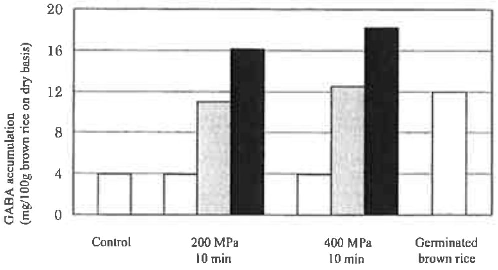

Fig. 3. GABA accumulation in brown rice depending on pressure treatment and soaking time at 25℃.
□, soaking time 0 h; ▒, soaking time 10 h; ■, soaking time 18 h. (brown rice : water = 1 : 1)

やアミノ酸に分解して利用する酵素が含まれているため，前項の玄米の場合と同様に，水に浸漬した後，大豆粒内の細胞壁を高圧処理で破壊し，酵素反応を促進する条件を維持すれば，各種の大豆ペプチドが生成される。しかし，大豆中に生成されたペプチドやアミノ酸は，浸漬水に溶出するので，全体を有効に利用する食品として豆乳を選択し，この分析結果を Fig. 4 に紹介した。即ち，水に浸漬した大豆を圧力処理し，温度 40～55℃で 3～6 時間放置してペプチドを増加させた後，一般の豆乳の製法に従って磨砕し，加熱（90～100℃）して製造したものである。40℃，6 時間保時の場合，ペプチドとアミノ酸の総量は原料大豆の約 4 倍になったが。この大豆で製造した豆乳は，一般の市販品に比較して 2 倍以上であった。現在，得られた大豆ペプチドの画分と，その機能性について継続研究中である。

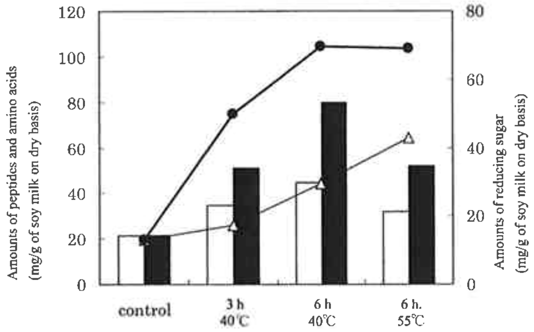

Fig. 4. Effects of high-pressure treatment and subsequent incubation on contents of peptides and amino acids and reducing sugar in soy milk.
□, peptides and amino acids (control); ■, peptides and amino acids (pressure treatment at 400 MPa); △, reducing sugar (control); ●, reducing sugar (pressure treatment at 400 MPa).

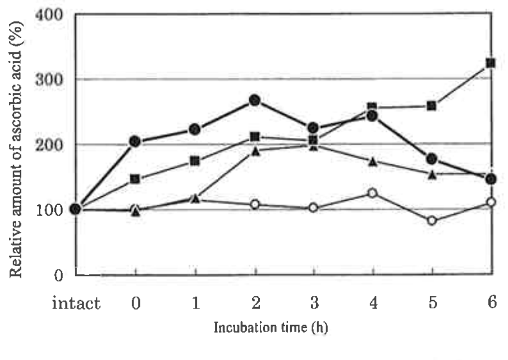

Fig. 5. Changes in relative amount of ascorbic acid in avocado pear.
○, control; ●, high-pressure treatment at 50 MPa for 5 min; ▲, 100 MPa for 5 min; ■, 700 MPa for 5 min.

2.3 アボガド果実中に含まれるビタミン C の蓄積

アメリカの Abomex 社のサビナス（メキシコ）工場を訪問し，米国消費の 25%のアボガド製品（サルサペースト，純粋アボガドペースト，果実）が高圧処理されていることを確認した。保存性の向上を目的として 15℃，600 MPa，3 min の処理を行なっていたが，果実中のビタミン C の増加が想定されたので，温度 10℃，圧力 50，100，700 MPa，圧力保持時間 5 min で処理した後，6 時間の間，酵素反応を継続し，測定した結果を Fig. 5 に紹介した。このグラフに示されたアスコルビン酸の蓄積量は，生成量と分解された量との差で蓄積された相対量（百分率）である。アスコルビン酸を生成する酵素反応は 50 MPa 処理で十分な蓄積効果があり，比較的低圧領域であるため，産業化のコスト負担が少なく，実用性が高いと考えられる[4]。

2.4 イカの内臓を醗酵させた遊離アミノ酸調味液の製造

魚介類は人類共通の資源であるにも関わらず，増加する廃棄物に対する根本的な解決策が見出されていない。また，動物細胞を構成する生体膜は，リン脂質の二重層を基本構造としているため，植物細胞に比べて低い圧力で破壊することができる。ここでは，代表的なサンプルとしてイカの内臓を選択し，内在する多数の酵素を活性化させ，健康維持に有用なアミノ酸調味液を製造した。同様な醗酵食品は，例えばイカの塩辛や魚醤油（しょっつる，いしる等）として，昔から製造されているが，腐敗を防止するために塩分が高く，しかも醗酵期間が一年近く必要である。ここでは，50℃，60 MPa の圧力下で，通常必要とされる 1 年間の醗酵期間を約 1 日（≒ 22 時間）に短縮できることを見出し，この生成状況を Fig. 6 に示した。Fig. 7 は，この成分分析の結果である[5]。

調味液として，重要な旨み成分であるグルタミン酸，人体では合成できないアスパラギン酸，野菜などの植物には含有されていないタウリンなどが全て増加している。この結果は，豊富なバイオマス資源から，人体の健康維持に必要な成分を，低い圧力によって，低コストで，効率良く短時間に，大量に得られることを示している。

圧力下で酵素反応が促進される理由は，前述した

基質と酵素との会合度の増加に加え，圧力によって酵素の立体構造が歪み，力価が増加して反応が促進されるためだと考えられている。酵素自体の反応性を向上させる圧力は，酵素が可逆的に変形する50〜100 MPa程度であり，逆に有効成分の分解を防止し，蓄積量を維持するためには，酵素に不可逆的変形を与える400〜800 MPaが必要である。今後は，多くの生化学反応を圧力で制御し，選択的に目的とする成分を増加させる研究が重要となる。

3. 穀粒内部への液体の浸透効果を利用したアレルゲン抽出効率の向上

現在，食品アレルギーの原因として，卵，牛乳，小麦，そば，落花生の5品目が挙げられ，表示すべき特定原材料に指定されている。また，小麦や米などの穀物には，共通抗原が存在し，主食であるにもかかわらず，どちらも食べられない患者が増加している。米と麦を原料としている食品は，ごはん類，パン類，麺類，パスタ類等，ほとんどの主食であり，これらを除いては食生活が成り立たない。即ち，低アレルゲンの米を開発することは，米アレルギーの患者だけでなく，小麦アレルギーの患者に対する安全な穀物材料の提供にもなるのである。

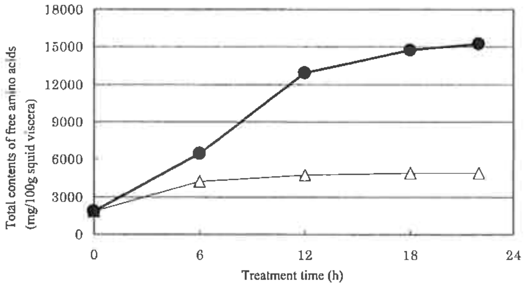

Fig. 6. Effects of pressure treatment on total contents of free amino acids in squid viscera.
△, control (50℃);
●, high-pressure treatment at 60 MPa (50℃).

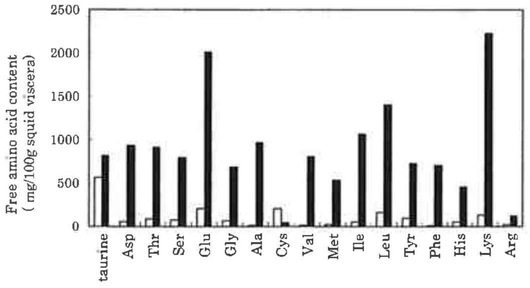

Fig. 7. Effects of pressure treatment on each free amino acid content in squid viscera.
□, control;
■, high-pressure treatment at 60 MPa for 22 h (50℃).

3.1 低アレルゲン米の開発

Fig. 8に高圧処理を利用して得られた低アレルゲン米（A−カット米）の抗原抗体反応の結果を示した[6]。左の写真は，A−カット米のアレルゲンタン

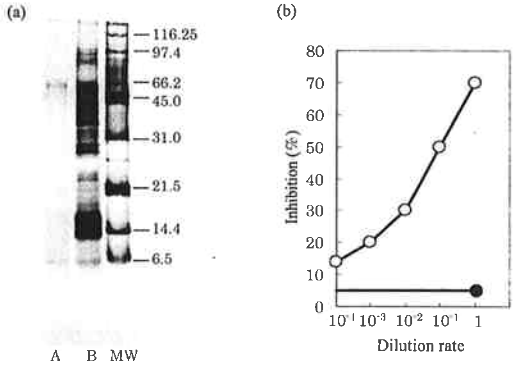

Fig. 8. Comparison of allergen-reduced rice and non-treated rice.
(a), SDS-Polyacrylamide gel electrophoresis pattern of 1M NaCl soluble protein fraction from rice; A, allergen-reduced rice (“A-cut rice”); B, non-treated rice; MW, molecular weight distribution of standard protein; (b), RAST-inhibition of rice proteins based on their dilution rates; ○, non-treated rice (control); ●, allergen-reduced rice by high-pressure treatment at 300 MPa for 10 min.

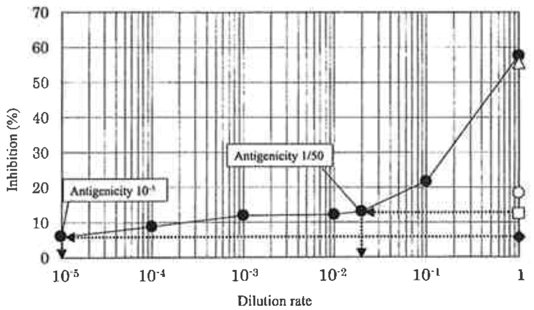

Fig. 9. RAST-inhibition of wheat proteins based on their dilution rates.
●, non-treated wheat; △, commercially available low-allergenic wheat product; ○, allergen-reduced wheat by solvent extraction; □, allergen-reduced wheat by enzyme treatment; ◆, allergen-reduced wheat by high-pressure treatment at 300 MPa for 10 min.

パク質についての SDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動像である。主要なアレルゲンタンパク質は，グロブリン画分の分子量 14，15.5，および 16 kDa に存在していることが報告されている。A の抽出処理米では 60 kDa 付近に薄いバンドが見られるが，他のバンドでは極度に低減化している。右のグラフは，患者の血清を用いた抗原抗体反応（CAP-RAST 法：Pharmacia 社）で，未処理の米飯を徐々に希釈して抑制率を測定し，これを標準曲線として，希釈しない低アレルゲン米の抑制率と比較したものである。300〜500 MPa 処理で，未処理の米の 1/10,000 以下に減少している。この抽出方法の特徴は，酵素法に比較して米粒から選択的にアレルゲンを抽出し，必要なタンパク質を残した低アレルゲン米が得られることにある[7]。

3.2 低アレルゲン小麦の開発

Fig. 9 は，小麦粒からアレルゲンを抽出した結果である。印で示されている市販の低アレルゲン小麦粉は，殆どアレルゲンが減少していなかった。また，高圧処理を併用しない溶剤抽出法，酵素法は，どちらもアレルゲンを 1/50 以下に減少させることができなかった。しかし，300 MPa，10 min の高圧処理で小麦粒の細胞壁を破壊し，抽出効率を向上させると，アレルゲンを 1/100,000 以下に減少させることができた。

4. 高圧処理を利用した微生物制御

高圧の研究が始まった当初は，殺菌に興味が集中し，微生物を制御する観点での研究は少なかった。しかし，各微生物の耐圧性や，食品の製造過程における役割，功罪などが明らかになるにつれて，再度，圧力によって微生物を制御する必要性が生じている。

4.1 微生物の圧力耐性の違いを利用した醗酵漬物の開発

醗酵食材に高圧処理を施し，乳酸菌と酵母の圧力耐性の違いを利用することで長期間にわたり味の低下しない漬物類を得ることができる。ここでは世界で最大市場を占めているキムチを例とした。通常の醗酵漬物は乳酸発酵と同時に酵母発酵が行なわれる。これは，清酒製造で並行複発酵と呼ばれ，麹菌がデンプンを糖化し，酵母が糖を代謝してアルコールを造ることに利用されている。醗酵漬物の場合は，酵母と乳酸菌の交互作用で多くの旨み成分や有用成分が生成される。しかし，いずれ酵母の増殖に伴なってアルコールが生成され，このアルコールを代謝する酢酸菌等が増加することで酸味が増し，ガスの発生と共に味が低下して賞味限界を迎える。そこで，美味しく醗酵したキムチに 300 MPa，5 min の高圧処理を施し，圧力耐性の弱い酵母を死滅させ，酢酸菌による酸味の増加を抑えようとしたものである。

Fig. 10 に処理前，処理後の乳酸菌と酵母の消長を示した。普通，キムチの美味しい期間は 3〜4 日で，その後は酸味が強くなる。しかし 300 MPa の圧力処理を施すと，圧力処理が酵母と乳酸菌の分離篩の役割を果し，酵母が死滅しても有用菌である乳酸菌は生存し，雑菌の繁殖を防止しつつ，長期間に亘って食味を維持することができる。

現在，市販されている多くの漬物類は，保存性向上のために原材料を味付けし，加熱殺菌したものが多く，醗酵過程を経ずに製品化された，所謂「味付け漬物」であって本来の「醗酵漬物」ではない。高圧処理による微生物制御を利用すると，漬物本来の味を保ちながら賞味期限を延ばすことが可能となる。

4.2 乳酸菌と酵母の複醗酵を利用したヨーグルトの製品化

最近，コーカサス地方のケフィア菌を使ったケフィアヨーグルトが話題になっている。ケフィアヨーグルトには長寿の成分があると言われているが，前記と同様に酵母発酵によって炭酸ガスが発生するために容器が膨張し，一般に流通できる市販品は製造さ

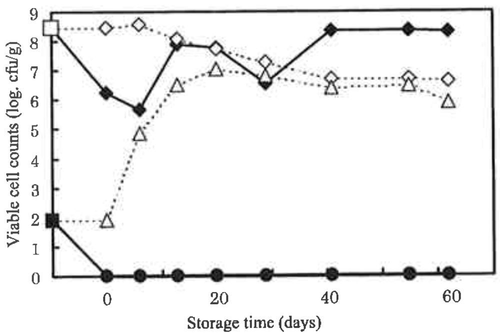

Fig. 10. Change in number of lactic acid bacteria and yeast in kimchi during storage time of 60 days at 10℃.
--△--, yeast (control); --◇--, lactic acid bacteria (control); —●—, yeast (after pressure treatment at 300 MPa for 5 min); —◆—, lactic acid bacteria (after pressure treatment at 300 MPa for 5 min); ■, yeast (before treatment); □, lactic acid bacteria (before treatment).

れていない。そこで，醗酵が終了した後，高圧処理を施せば，生理活性成分や薬理活性成分を残したままで，ガス膨張を防止したケフィアヨーグルトを生産することができる。

5. 高圧処理を利用した微生物の殺菌

食品の品質を維持したままでの非加熱殺菌は食品業界の夢である。高圧処理で栄養型の微生物が殺菌できることは既に多くの研究から自明である。しかし，スポアを形成する芽胞細菌に対しては，決定的な殺菌手段になり得なかった。ここでは，耐圧性，耐熱性に高い抵抗性を有する *B. subtilis* の芽胞を対象とし，パルス電場処理（PEF：Pulsed Electric Field）と高圧処理（HHP：High Hydrostatic Pressure）との組み合わせによる不活化について，新しい知見を紹介する。

5.1 オレンジジュースの殺菌

Fig. 11 にパルス電場処理と高圧処理とを組み合わせたオレンジジュース（pH 3.8）の殺菌結果を示した。試料のオレンジジュースは，市販のジュース 1 g あたり，*B. subtilis* NBRC3007 の胞子を 6×10^6 個の濃度で懸濁したものである。

一般にパルス電場処理は，生細胞へのプラスミド DNA の導入などに使われているが，単独での殺菌手段にはなり難い。また，700 MPa の高圧処理単独では，*B. subtilis* の芽胞を完全に不活化することは難しい。高圧処理後にパルス電場処理を施すと，逆に高圧処理の殺菌効果が打ち消されて，かなりの率（4 オーダー）で活性化（再生）される。

しかし，前処理としてパルス電場処理を施し，その直後に高圧処理を施すと，完全に不活化できることが示された。これは，パルス電場処理で芽胞の表面に損傷を与え，次の高圧処理で，この孔から芽胞内部に静水圧が伝達されることによると考えられている。

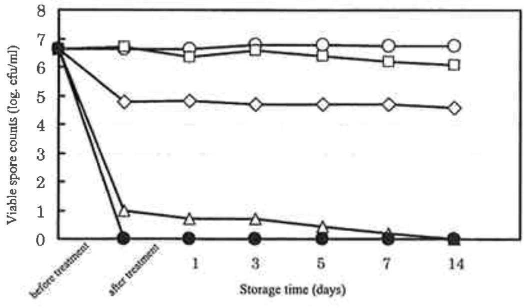

Fig. 11. Effects of PEF, HHP treatment on viable cell counts of *B. subtilis* spores in orange juice with storage time at 5℃. ○, control; □, PEF (12 kV at 55℃ for 20 min); △, HHP (700 MPa at 55℃ for 10 min); ●, PEF/HHP; ◇, HHP/PEF.

多くの試料で再現性を確認すると，処理直後では 0.5 オーダー程度のバラツキが生じる。これは，高圧処理で細胞内部に浸入した液体が，発芽に寄与する酵素の反応系を阻害し，失活させるまでの時間経過を必要としているためだと考えられる。発芽現象についての詳細は他文献[8] に譲るが，この処理を受けた芽胞細胞は，発芽前の光沢のある相明芽胞が暗色化せず，損傷細胞内における相変化が阻害されて不活化されたものと思考される。

5.2 洋ナシ（ル・レクチェ）ジュースの殺菌

Fig. 12 にパルス電場処理と高圧処理とを組み合わせた洋ナシ（ル・レクチェ）ジュース（pH 4.0）の殺菌例を示した。この試料は，実際のル・レクチェに生息していた *B. subtilis* を培養し，ジュース 1 g あたり，6×10^6 個の芽胞濃度となるように調製したものである。結果は，オレンジジュースの場合と同様に，パルス電場処理を前処理とし，その後の高圧処理で完全に無菌化が実現された。このジュースは糖度（11.0）が高く，高圧のみの完全殺菌が不可能な食品であるが，パルス処理との組み合わせで非加熱による完全殺菌が実現された。

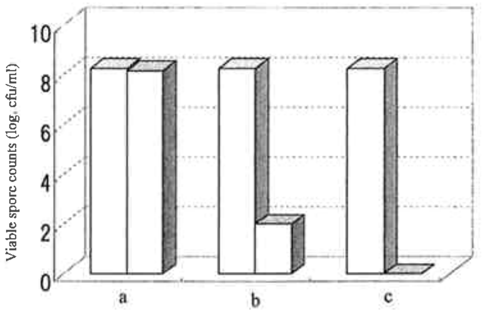

Fig. 12. Effects of PEF, HHP treatment on viable cell counts of *B. subtilis* spores isolated from dropping "Le-Lectier (european pear)".
a, PEF (12 kV at 55℃ for 20 min); b, HHP (700 MPa at 55℃ for 10 min); c, PEF/HHP; □, before treatment; , after treatment.

6. おわりに

林力丸氏によって高圧の利用が提唱された15年前に遡ると，当初は多くの研究者が高圧処理の効果を殺菌に期待し，種々の加圧条件による膨大な基礎データを得た。この時期は高圧研究の黎明期であり，第一期と位置づけられる。

その後，圧力が物質の状態変換因子であることを利用し，温度との併用によってタンパク質やデンプンなどの物性を改質し，新しい食品を創造する研究が始められた。この時期は第二期と考えられる。

近年，高圧力による種々の効果と他の物理的，生物的，生化学的効果とを組み合わせて，新しい現象を誘引し，物質を新しい形質に転換する研究が始められている。食品中に含まれる組成（薬理成分など）を増加させ，新しい機能性食品を開発し，従来の農産物に含有されていない栄養素を生合成させることも可能になっている。高圧とパルス電場との組み合わせで完全殺菌が実現し，さらに高齢化社会に対応し，無添加のままで，消化が良く，食べ易くて飲み込み易い機能性食品の開発も進展している。まさに，Hi-Pit（高圧転換）による第三期の高圧利用世紀の到来である。

即ち，林力丸氏によって提唱された「状態変換因子である圧力」は，熱と共に酵素の働きを制御することで，「食品の組成をも変換する因子」として大きく再評価されている。これは，「食品の医薬品への変換因子」でもあり，これによって，従来の食品機能と一線を画した，人類に役立つ新しい食品が開発され，21世紀の食文化の中心を構築すると確信している。

謝　辞

ここに紹介した内容は，経済産業省の所轄する平成14年度「地域新生コンソーシアム（研究共同体）事業」並びに農林水産省の平成16年度「ブランド・ニッポン」によって得られた研究結果の一部を引用し，さらに新潟県長岡市の推進する「HP未来産業創造研究会の研究結果」を纏めたものである。この研究に関係し，ご支援，ご助言を頂いた関係各位，並びに実際の研究を推進された越後製菓㈱総合研究所の研究員の方々に深く感謝いたします。

参考文献

[1] 笹川秋彦, 杵淵美倭子, 山﨑彬, 山田明文: 高圧バイオサイエンス, 功刀滋, 嶋田昇二, 鈴木敦士, 林力丸編（さんえい出版, 京都, 1994), 第42章, pp. 336-343.
[2] A. Yamazaki: Rev. Foods Food Ingredients J. Jpn., **210**, 29 (2005).
[3] 杵淵美倭子, 関矢美由紀, 山﨑彬, 山元皓二: 日食工誌, **46**, 323 (1999).
[4] 笹川秋彦, 山﨑彬, 山本美穂子, 佐藤悠子: 第45回高圧討論会講演要旨集, 1D08, p. 66 (2004).
[5] 山﨑彬: 第45回高圧討論会講演要旨集, 1D02, p. 60 (2004).
[6] 山﨑彬, 杵淵美倭子: J. Appl. Glycosci., **50**, 89 (2003).
[7] 山﨑彬, 笹川秋彦: 高圧力の科学と技術, **6**, 236 (1997).
[8] R.G.K. Leuschner, D.P. Ferdinando, P.J. Lillford: Colloids Surf. B, **19**, 31 (2000).

[2005年9月21日受理]