

超音波の食品への応用

宇都宮泰明・高阪泰治*

広島大学生物生産学部
*カルビー株式会社・広島
1979年10月15日 受理

Application of Supersonic Waves to Foods.

Yasuaki UTSUNOMIYA, Yasuharu KOSAKA*

Faculty of Applied Biological Science, Hiroshima University, Fukuyama
*Calbee Foods Co., Ltd.

(Figs. 1-6, Tables 1-4)

強力超音波は LANGEVIN (1917) による水晶の圧電効果の利用により開発されて以来、熱、光、電気等のエネルギーに匹敵する程の強力な音エネルギーが得られるようになり、物理学、化学、工学、生物学、医学、農学等の分野において超音波を利用した数多くの研究がなされてきた¹⁾。それらのうち微生物に対する破壊作用(殺菌作用)に関するものとしては山中ら(1937)²⁾、船戸(1938)³⁾その他多くのものがあり、程度の差はあるもののそれぞれ殺菌効果を認めている。しかしそれらの研究は山中ら²⁾のものを除き、大部分は生理食塩水中に微生物や病原菌を浮遊させて超音波を照射したものである。筆者らは市販の牛乳と清涼飲料水に大腸菌(*Escherichia coli*)を浮遊させて、これに及ぼす超音波の殺菌効果を生理食塩水を用いたものと比較して実験した。特に清涼飲料水の場合にはpHの値によりいちじるしい差が見られたのでここに報告する。

最近酵素や菌の破壊用の強力音波発生装置が実用化されてはいるが、本実験では周波数約700 KHzの超音波を使用したこと、又食品に与える副作用としては酸化作用以外には考えられないこと、又特に液体食品の攪拌、乳化用として超音波が用いられるとき、同時に殺菌効果もあるとすれば甚だ好都合であると考えられる。

尚本研究のために大腸菌の供与その他種々便宜をはかっていただいたことに対し本学部食品衛生学講座に感謝の意を表す。

材料及び方法

〔菌液の作成〕

斜面培地に培養保存してあった大腸菌(*Escherichia coli*)をブイヨン培地に移し37℃で24~48時間培養する。その一部を遠沈管にとり滅菌生理食塩水を加えて懸濁させ4000 r pmで5分遠沈し上澄を捨てることを2回繰り返す、最後に再び滅菌生理食塩水を加えて原菌液とした。菌濃度の測定には分光光度計(濁度計)を使用した。

〔生菌数の測定〕

超音波を照射した実験区と対照区の菌液はその菌濃度に応じ0.1 mlから1 ml採り乾熱滅菌されたシャーレ

に移す。これに 45℃～50℃の溶けた普通寒天培地 15～20 mlを流し込み、よく菌液と混ぜて蓋をする。培地が固まって後 37℃で 1～2 時間孵卵器内で乾かした後 24～48 時間培養した。その後コロニーの数を数えて生き残り菌数とした。

〔超音波発生装置〕

此の超音波発生装置は著者の一人が製作したもので、高周波発振管として 4 P 60 を 2 本 push pull として用い、この高周波出力を高圧絶縁油中に置いた、直径 4 cm、厚さ 4 mm の X-Cutt 水晶板に加えて超音波エネルギーに変換した。周波数は約 700 KHz であった。

超音波には攪拌、熱、酸化の三大作用があるが、これらの作用は空洞現象(cavitation)を生ずる強さを超えると急激に強くなる。本研究でも空洞現象を生ずる超音波強度以上で使用した。そのとき水晶板上方の噴油の高さは約 1 cm、発振管の電圧約 550 V、電流約 85 mA であった。超音波強度を測定することは困難であるので、実験中超音波の強度として便宜上この電圧、電流値を使用した。

菌液を約 5 ml 入れた試験管を超音波発生中の噴油中に浸して照射するのであるが、超音波の熱作用により菌液の温度が上昇する。50℃以上になると大腸菌が死滅するので、あらかじめ照射時間と温度上昇の関係を調べ、それに基づき実験中大腸菌が熱による死を起さないように留意した。

実験結果

- (1) 約 5 ml の菌液を入れた試験管を超音波発生中の噴油中に浸したとき時間と共に菌液の温度上昇は Fig. 1 の如くであった。

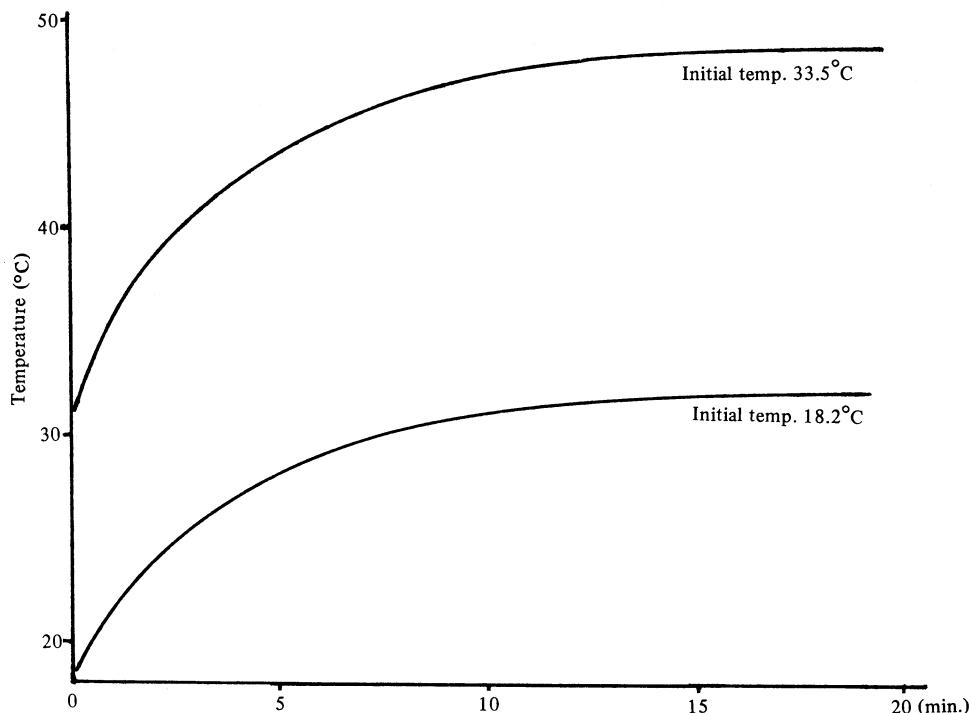


Fig. 1. The relationship between the duration of supersonic waves exposure to sample and temperature rising.

(2) 短時間照射

i) 高温 (=気温=照射前の油温 = 28~32℃) の場合。

10回の実験の結果を Table 1 に示した。これをグラフに示すと Fig. 2 のようになる。 生残率は、0.83% でかなりの効果があった。

Table 1. The relationship between the duration of supersonic waves exposure to *E. coli* and the survivability, in a case of 28~32°C in initial temp.

Duration of supersonic waves exposure (min.)		0	2	4	6	8	10
Exp. no.	1	210	133	126	80	9	2
	2	185	123	109	90	11	0
	3	366	292	42	9	0	5
	4	299	265	24	9	0	2
	5	289	187	64	12	25	0
	6	253	200	34	14	9	0
	7	314	172	53	25	10	12
	8	274	128	32	29	5	2
	9	345	173	62	5	5	0
	10	373	149	59	22	2	1
Total no.		2908	1822	605	295	76	24
Percentage (%)		100	62.65	20.80	10.14	2.61	0.83

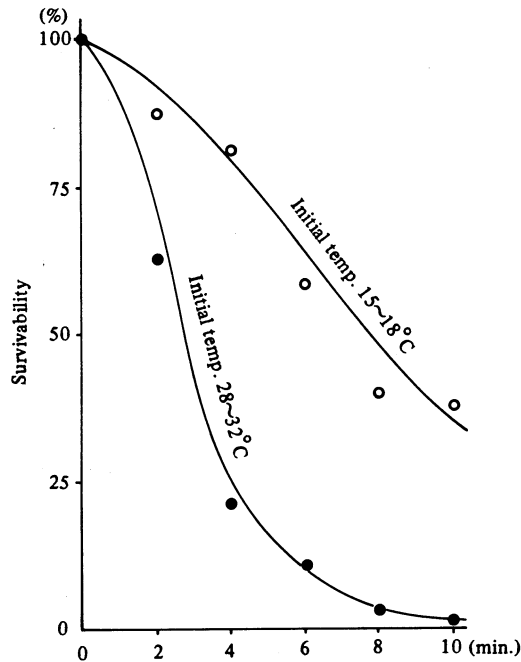


Fig. 2. The graphical expression of the Table 1.

ii) 低温 (15~18℃) の場合

10回の実験の結果を Table 2 および Fig. 2 に示す。

Table 2. The relationship between the duration of supersonic waves exposure to *E. coli* and the survivability, in a case of 15~18°C in initial temp.

Duration of supersonic waves exposure (min.)	0	2	4	6	8	10
Exp. no. 1	464	408	347	203	103	146
2	426	395	327	196	87	82
3	459	473	382	323	320	247
4	459	356	422	350	337	328
5	335	317	239	266	158	193
6	326	255	241	241	148	207
7	361	308	346	130	59	76
8	333	284	337	80	54	65
9	314	244	219	203	116	44
10	274	240	185	200	113	32
Total no.	3751	3280	3045	2192	1495	1420
Percentage (%)	100	87.44	81.18	58.44	39.86	37.86

(3) 熱による効果

超音波照射により発生する熱の影響を見るために次の2つの実験を行なった。先づ40, 45, 50, 55, 60, 65°Cの一定温度に菌液を10分間保った場合の生残率をTable 3に示す。又超音波を照射した場合の菌液の温度上昇に似た温度上昇を与えた場合の結果はTable 4に示す。これらの結果から50°C以下ならば菌に対する温度の影響は無視できると思われる。

Table 3. The relationship between the holding *E. coli* in various fixed temp. during 10 minutes and the survivability.

Temperature (°C)	Exp. no.		Mean
	1	2	
40	318	309	314
45	319	298	309
50	229	209	219
55	2	4	3
60	4	0	2
65	2	1	1.5
Control	362	277	320

Table 4. The relationship between the case of adding heat to *E. coli* as the case of supersonic waves exposure and the survivability.

Exp. no.	Duration (min.)		0	2	4	6	8	10
			1	Temperature (°C)	32.0	36.5	41.5	44.8
1	Survivability		321	319	429	396	442	267
				252	320	355	410	230
	2	Temperature (°C)	32.5	37.2	41.0	44.8	46.0	48.0
		Survivability	364	469	384	293	426	375
2	Survivability			422	303	401	382	319
Total no.			1370	1462	1436	1445	1660	1392
Mean			343	366	359	361	415	348

(4) 長時間照射

実験(2)より長時間超音波を照射した場合、気温が高いときと低いときの結果をFig. 3 に示す。図から明らかな如く(2)よりも生残率は低く、高温の場合で0.2%、低温の場合で8.1%であった。

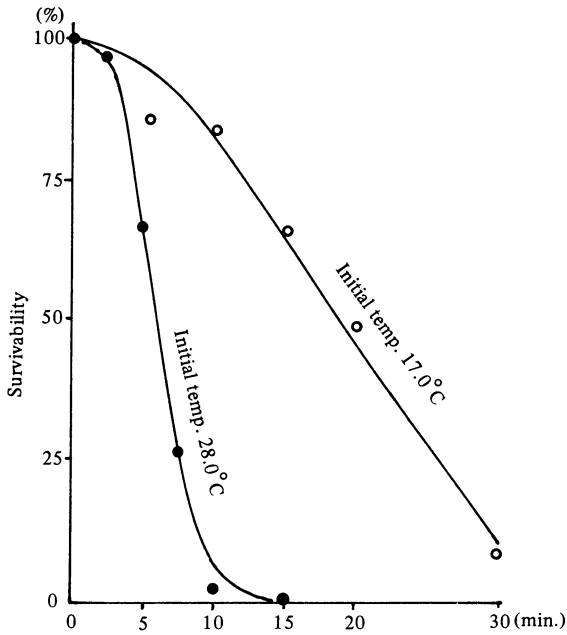


Fig. 3. The relationship between the duration of supersonic waves exposure to *E. coli*, physiological saline suspension, and the survivability in a case of 28°C and 17°C.

(5) 食品への応用

i) 菌液として牛乳を使用した場合。

これまでの実験では何れも菌液として生理食塩水を使用した。この実験では市販の牛乳を使用した。その結果をFig. 4 に示す。図から明らかな如く 30 分の照射でもほとんど効果は認められなかった。

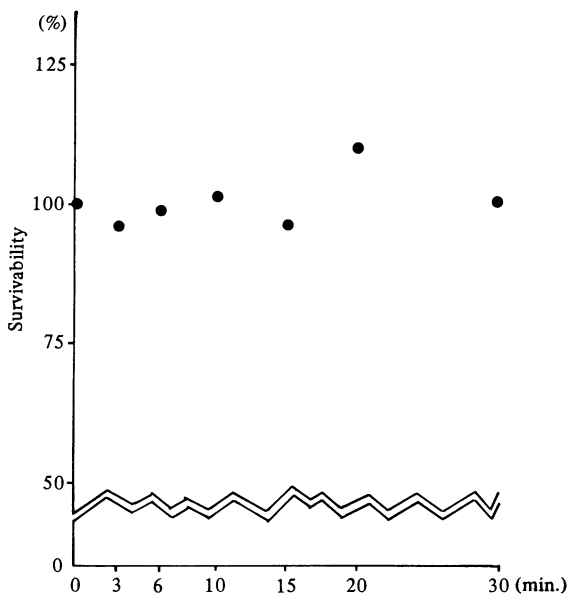


Fig. 4. The relationship between the duration of supersonic waves exposure to *E. coli*, milk suspension and the survivability.

ii) 菌液としてみかん果汁 10% 入りの市販の清涼飲料水を使用した場合。

pH 2.6 で初期試料温度が、高温と低温の場合を Fig. 5 に示す。また同じ試料を pH 5.6 に調整して初期試料温度が 32°C の場合を Fig. 6 に示す。図から明らかな如く生残率は pH 2.6 で高温の場合が最も低く、pH 5.6 の場合が最も高かった。

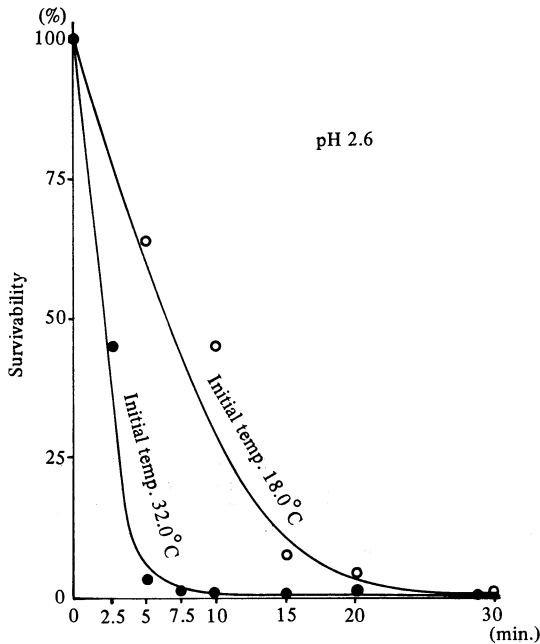


Fig. 5. The relationship between the duration of supersonic waves exposure to *E. coli*, cooling drink suspension, 2.6 in pH, and the survivability.

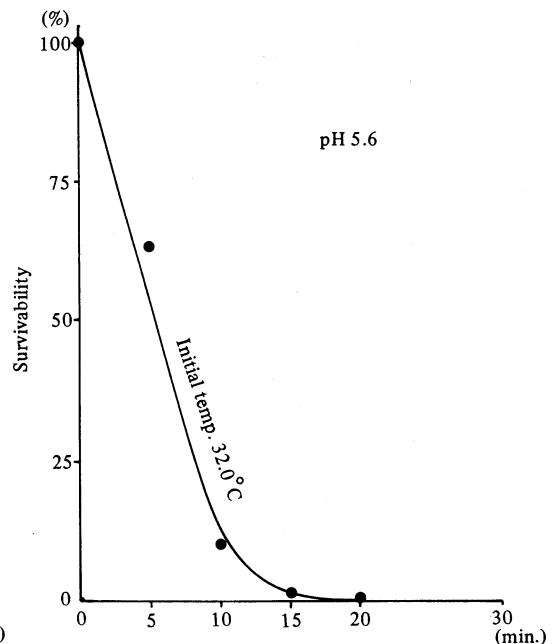


Fig. 6. The relationship between the duration of supersonic waves exposure to *E. coli*, cooling drink suspension, 5.6 in pH, and the survivability.

論 議

此の研究の目的は、液体食品中に含まれる大腸菌に対し超音波が殺菌能力を有するか否かを見ることであるが、比較のために先づ生理食塩水中に含まれる大腸菌に対し行った。実験(2, i) は生理食塩水を使った、気温の高い、短時間照射の場合である。10分間照射で生残率0.83%と、かなりの効果をあげているが、気温の低い場合即ち実験(2, ii) の場合は、10分間照射で生残率37.8%で(2, i) の場合といちじるしい差を示している。ここで当然考えられることは(2, i) の方が初めから気温 (=油温 = 試験管中の生理食塩水の温度) が高かったのだから超音波照射中に生理食塩水の温度が(2, ii) の場合より高く昇り、そのために多く殺菌されたのではないかと云う疑いである。そのために実験(3)を行なった。Table 3, 4の如く50°Cまでは殆んど影響は無視できると思われ、実験(1)の結果と併せ考えて超音波の効果と判断できる。

発生中の超音波の強度を直接測定することは困難なので決定的なことは云えないが、此の装置による他の実験でも油温が高い方が低い場合よりも強度が強いようだと云う経験がある。実験(2, i) と実験(2, ii) の差はそのことに原因すると思われる。

長時間照射の場合即ち実験(4)でも油温の高い場合が低い場合よりも効果が大きく、短時間照射の場合と同じような傾向を示している。

実験(5, i) は菌の浮遊液として生理食塩水の代りに市販の牛乳を使用したものでその結果を Fig. 4 に示

した。油の初温は32℃であったが、30分照射にもかかわらず全然効果はなかった。山中らの0.85%生理食塩水中の細菌31種に450 KHzの超音波を3分間照射した結果によると、一種を除き大腸菌を含む30種の細菌に程度の差はあれかなりの殺菌効果を及ぼしている。しかし市販牛乳中の31種の細菌に対しては3分間照射の結果何れも殆んど影響は見られず、我々の得た結果とよく一致する。牛乳を使用すると何故殺菌効果が現われないかは今後の研究に待たねばならない。

次に実験(5), ii) はみかん果汁10%入りの市販の清涼飲料水のpH 2.6と5.6の場合である。前者の方がいちじるしく生残率が低かった。もともと此の*Escherichia coli*は腸管由来の菌なのでpH 2.6と云う非常に不自然な酸性状態では何らかの傷害を受け、そのため更に加わった超音波の作用で非常に低い生残率を示したものと考えられる。

尚対照区は当然のことながら、菌を実験区に応じてそれぞれ10分ないし30分同じ液に放置した後培養したものである。

要 約

生理食塩水中に浮遊させたヒト由来の*Escherichia coli*に周波数700 KHzの超音波を作用させたところ、試料の初期温度28~32℃のとき10分間照射で生残率0.83%、30分間照射で0.2%であった。しかし初期温度17℃のときは、10分間で37.86%、30分間照射で8.1%であった。

市販の牛乳中に同種の菌を浮遊させたものについては超音波照射によって菌数の変化は殆んど見られなかった。

みかん果汁10%入りの市販の清涼飲料水の場合にはpH 2.6のとき30分照射で初期温度32℃のとき生残率0.3%、18℃のとき同じく1.3%、pH 5.6のときは32℃でかなり効果が低かった。

文 献

- 1) 佐多直康：音化学と音膠質学，5-9，河出書房，東京（1948）。
- 2) 山中太木・松尾 弘・大島 甫・鈴木充夫：大阪高等医学専門学校雑誌，4，106-122（1937）。
- 3) 船戸 準：日本微生物病理学雑誌，54，546，565，641，665，758，788（1938）。

SUMMARY

Escherichia coli, physiological saline suspensions, were exposed to supersonic waves of 700KHz frequency. After the 10 minutes of exposure, in case of 28°C~32°C in initial temperature, the survivability was 0.83% and after 30 min. it was 0.2%. But at 17°C in initial temperature, after 10 minutes exposure we had 37.86%, and after 30 min., 8.1%. However, in the case of the commercialized milk suspension instead of physiological saline, supersonic waves exposure didn't show almost any pasteurization effect. In the case of a commercialized cooling drink containing 10% of orange juice when the supersonic waves exposure was kept on for 30 minutes at an initial temperature of 32°C, the survivability was 0.3% at pH of 2.6, but the effect was insignificant at pH of 5.6.

(Received October 15, 1979)