「日本食品工学会誌」, Vol. 21, No. 1, pp. 11 – 23, Mar. 2020　　DOI : 10.11301/jsfe.20566

◇◇◇ 解説（2018 年度日本食品工学会研究賞）◇◇◇

食品高圧加工における基礎及び応用に関する研究

山　本　和　貴

国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門

Fundamentals and Applications of High Pressure Food Processing

Kazutaka YAMAMOTO

Food Research Institute, National Agriculture and Food Research Organization,
Kannondai 2-1-12, Tsukuba, Ibaraki 305-8642, Japan

Food can be processed by high hydrostatic pressure (HHP). HHP can inactivate microbes, while minimizing loss in food quality such as flavor, color, and nutrition. HHP food processing was first commercialized for producing fruit jams by a Japanese company in 1990, and the technology has been applied in the world to process foods such as meat products, juices, and dips as well as to shuck shellfish and crustaceans, whereas fundamental knowledge has been accumulated by intensive studies. This article reviews HHP-induced quality changes in foods based on our research topics on starch gelatinization, bacterial inactivation, and bacterial injury as fundamentals and pickles and compotes as applications.

Keywords: high hydrostatic pressure, food, starch, pasteurization, injury

1. は　じ　め　に

食品高圧加工技術 [1,2] は，非熱的殺菌（nonthermal pasteurization）を実現する技術として注目され，1987 年，京都大学・林からの実用提言 [3] 以降，飛躍的に研究開発が進み，実用化に結び付き，世界初の高圧加工食品は，日本で 1990 年にジャムとして実用化した [4]．しかしながら，「高圧処理では滅菌できない」，「芽胞は高圧力に強い」など，日本ではその問題点に議論が集まってしまったため，その発展は遅々としたものであった．高圧処理により米粒への含水を促進した高圧浸漬無菌包装米飯（1998 年）[5]，高圧処理で賞味期限を延長した無塩漬の肉加工品（ロースハム，ハーフベーコン，粗挽きウインナー）（2005 年）[6] 等が実用化したが，高圧加工食品市場が国内で著しく拡大することはなかった．一方日本国外では，欧米諸国を中心に，この新技術を活用しようという積極的な動きが趨勢となり，肉製品，ジュース，ペースト類の殺菌の他，ロブスター／貝類の開脱殻などにも活用され，装置の導入も順調に進み，更には受託加工事業が盛んになったこともあり，数，量ともに多くの高圧加工食品が実用化し，その勢いは衰えていない [7,8]．

この間，食品高圧加工を支える食品高圧科学は，生物高圧科学と共に発展し，食品高圧加工の発展と共に，食品高圧科学としての基礎的知見が集積し，食品高圧技術としての応用事例を増やした．

本稿では，食品高圧加工の特徴について概説した後に，これまでに取り組んできた研究トピックスに関連して，澱粉の圧力糊化，細菌の高圧不活性化，高圧損傷菌について解説する．

2. 食品高圧加工の特徴

食品加工には，熱的加工と非熱的加工とに分類され，非熱的加工の 1 つが，食品高圧加工（high pressure food processing）である．高圧加工には，爆破，衝撃波などにより極短時間で高圧力を印加する動的高圧加工（high dynamic pressure processing）と，徐々に圧縮した後に高圧力を比較的長く印加する静的高圧加工（high static pressure processing）とがある．後者のうち，水を圧力媒体とし，食品産業界で実用的に用いられているものは，高静水圧加工（high hydrostatic pressure processing: HHP processing）とよばれる．高圧加工を簡略的に「HPP（high pressure processing）」とよぶこともあるが，衝撃波による食品加工技術もあることから，高静水圧加工との区別が必要である．また，

（受付 2020 年 2 月 10 日，受理 2020 年 2 月 27 日）
〒305-8642　茨城県つくば市観音台 2-1-12
† Fax: +81 29 838 6993, kazutaka@affrc.go.jp

© 2020 Japan Society for Food Engineering

食品高圧加工を，「非加熱加工」または「非熱加工」とする記載もあるが，食品高圧加工の加圧時には断熱圧縮による発熱があるので，非加熱でも非熱でもない点に注意が必要である．さらに，非熱加工というのは，熱加工を施していない意味の「非・熱加工」または熱以外による加工を施した意味の「非熱・加工」のいずれにも解釈される曖昧さを含むため，これら表現の使用はお勧めできない．さらに，食品加工の分野では，いまだに「超高圧」という表現がみられる．地球科学，固体物性など，高圧科学の異分野においては，食品加工で実用的に用いられる 100～600 MPa より 2～3 桁高い 10～100 GPa の高圧力が用いられるので，食品高圧加工で用いられる程度の低い高圧力に，「超」を用いるのは避けるべきである．

食品高圧加工における特徴は，均一かつ瞬時の圧力伝達，化学反応の抑制，密度最大化による物理的変化にある．この物理的変化により，微視的には，澱粉が糊化し，蛋白質が変性し，膜が損傷し，DNA の非標準構造が崩壊し，巨視的には，液体含浸および気泡分散の促進，貝類・甲殻類が開脱殻する [1,2]．食品産業においては，化学反応の抑制により食品の品質劣化を最小化しつつ，微生物，とくに細菌を不活性化 [9,10] する均一加工法という利点が着目されている．つまり，細菌細胞内外の化学反応が抑制されつつも，密度最大化に向けて細胞内の生体高分子内／間に水が浸入し，水和が促進し，蛋白質の解離・変性，脂質の相転移，DNA の構造変化などが誘導され，これら生体成分の変化をひとつの契機として，細胞の活性が低下する．

食品高圧加工では，熱加工による現象と比べると，未解明な点が多いため，期待も高いが，解決すべき課題も多い．また，高圧加工は熱加工を代替するものではなく，以下の特徴 [10] を理解して活用する技術でもある．

2.1 化学反応の抑制

食品を加熱すると，分子運動が活発になり，化学反応が促進され，色素，香気に関与する加熱生成物が生じたり，分子結合が切れて有用成分が失われたりする等，様々な化学反応が起きる．加熱生成物は，Maillard 反応により，独特な風味および色合いの元となり，時として，不快な加熱臭の原因になる．また，活発な分子運動の結果として，蛋白質のような巨大分子では，分子内・分子間の水素結合等が切断され，元の立体構造が崩れて変性が起こる．高圧処理では，分子運動が抑制され，多くの化学反応は促進されないため，新鮮な風味の低下を最小とした加工ができる．

2.2 密度最大化および分子クラウディング状態の考慮

熱処理では，温度が高い程分子運動が活発になり，密度が低下する．一方，高圧処理では，分子運動が抑制されつつ，圧縮により密度が最大となり，生体高分子の巨視的・微視的な物理的変化が起こりうる．高圧処理では，密度の視点が極めて重要であることから，分子クラウディング（molecular crowding）[11] の影響を考慮しなければならない．生化学実験で取り扱う生体分子の濃度は，1～10 mg/ml 程度の希薄系であるが，細胞内は，DNA，蛋白質などの様々な分子および構造体が密に詰め込まれた濃厚系であり，濃度は 300～400 mg/ml に達するとされる．この濃厚状態が，分子クラウディングである．細胞内では，生体分子の占有体積が大幅に減少して活量が増加するが，分子の運動・構造が制約を受ける．それ故，希薄系では影響が少ない弱い相互作用でも，細胞内では重要な役割を担いうる．また，分子拡散速度が低下し，生体分子の結合反応・化学反応の速度が低下する可能性もある．つまり，希薄系での高圧処理実験の結果を，分子クラウディングの状態にある細胞内の現象にそのまま置き換えて考えるのは危険である．分子クラウディングの状態を再現しつつ高圧処理の影響を調べる必要がある．

2.3 蛋白質変性 [12]

蛋白質を熱処理すると，分子運動の活発化による蛋白質の解離・変性があり，高次構造が破壊され，最終的にはランダムコイルになる．このような蛋白質の解離・変性により，酵素が不活性化したり，受容体の機能不全が起こったりする．過度な加熱では，分子の切断を想定することもある．一方，高圧処理においては，蛋白質内または蛋白質間の疎水／静電相互作用は圧力感受性が高いため，三次構造または四次構造が破壊されて変性するとされる．この効果は蛋白質の種類に依存する．また，化学反応が抑制されるので，活発な分子運動による分子断片化は起こらないと考えられる．さらに，蛋白質の変性は，熱変性，高圧変性のいずれでも，単純系では可逆とされるが，複雑系である食品では，変性後に各種成分と相互作用することで，不可逆となりうる．

2.4 DNA の非標準的構造 [13]

DNA は，細胞中で標準的（canonical）な二重鎖構造以外に，非標準的（noncanonical）構造として三重・四重鎖構造を形成する．この非標準的構造の形成により，遺伝子の転写制御が行われることがある．希薄系では標準的な二重鎖構造が安定であっても，細胞内の分子クラウディング状態では，非標準的構造が安定になりうる．また，分子クラウディング状態にあっても，高圧処理によって，DNA の非標準的構造が壊れて，標準的構造の二重鎖に戻りうる．この他にも，DNA もしくは RNA と制御蛋白質との相互作用，DNA・RNA 合

© 2020 Japan Society for Food Engineering

成に関与する酵素の高次構造破壊など，高圧処理によって，遺伝子発現制御に影響があることにも着目すべきである．

2.5 膜への影響および酸化ストレス

生体膜を構成するリン脂質は，圧力が高い程，相転移温度が上昇する傾向があり [14]，高圧下ではリン脂質膜は安定化すると考えられる．一方，常圧から高圧領域にまで加圧すると，細胞質は圧縮されて若干小さくなり，それを取り巻く膜は，分子間隙が最小化して密になると考えられる．減圧時には，細胞膜が損傷を受けることがある．また，死菌では，細胞膜透過性のない蛍光試薬が損傷した膜を透過して細胞内に達するので，細胞膜透過性が有り生細胞および死細胞の両者を染色する蛍光試薬と併用することにより，膜損傷の程度が調べられる [15]．

酸素存在下で細菌を高圧処理すると，損傷した膜の酸化酵素（oxidase）によって活性酸素種が生成するため，酸化ストレスとなる [16]．活性酸素消去能がある物質として，ピルビン酸，カタラーゼ，α-ケトグルタル酸などが知られるが，例えば，ピルビン酸は，致死的不活性化効果を抑制し，高圧損傷菌の回復を促進する [15]．

以下，これら特徴を踏まえ，澱粉の圧力糊化，細菌の高圧不活性化，高圧損傷菌について概説する．

3. 澱粉の圧力糊化 [17–19]

澱粉を水存在下で加熱すると，澱粉分子の分子間結合が壊れ，水素結合が水分子と結合して水和し，秩序–無秩序転移によって不可逆的にゾル又はゲルになる．この構造破壊は熱糊化（または単に糊化）とよばれる．糊化は，澱粉を食品産業，工業，調理で利用する際に不可欠な現象であり，結晶性消失，偏光性消失，アミロース溶出，粒子の不可逆的膨潤によって特徴付けられる [20]．澱粉が糊化する性質は，食品産業では食感改良剤，他の工業では接着剤などとして利用される．

澱粉の物理化学的特性は，アミロース分子もしくはアミロペクチン分子の分岐鎖の長さまたは数によって影響を受ける．アミロースが欠損した澱粉は，粘性を示し，ワキシー澱粉とよばれる．アミロペクチンの短鎖二本が二重螺旋を作り，その二重螺旋がさらに房状になって微結晶領域を構成すると理解されている．広角X線回折により，澱粉の結晶回折図は3種類に分類される．A型図形はトウモロコシ，コムギ，コメといった穀類に由来する澱粉で観察されることが多い．B型図形は馬鈴薯，ユリ，チューリップ，ハス，カンナなどの塊茎澱粉または高アミロース含量の穀類澱粉にみられる．C型図形はA型とB型とを重ね合わせた中間型であり，熱帯植物ならびにクルミ，インゲン，ヒラマメなどのマメ科由来の各澱粉にみられる．結晶性の主要因とされるアミロペクチンの化学構造に関する情報は多いが [21–23]，X線回折図形との関係については十分に解明されていない．また，澱粉粒子構造については，いくつかのモデルは提案されているものの，決定的なモデルはない [24]．

糊化過程においては，澱粉粒子は水を吸収して膨潤し，層状構造の成長環（growth ring）ならびに結晶性を失う．馬鈴薯澱粉に関しては，完全な水和および糊化のためには，構成単位のグルコース1分子あたり14分子より多い水が必要である [25]．また，糊化した澱粉は，例えば冷蔵庫で保存すると，新たな澱粉結晶の生成により固くなることが知られている．この現象は老化とよばれる [26]．熱糊化した澱粉は，酵素消化性が高くなってアミラーゼ類によりよく分解されるが，熱糊化澱粉が老化するとアミラーゼ消化に対して抵抗性を示す．

一方，澱粉のゾル又はゲルは，澱粉と水との混合物を高圧処理することによっても得られる．圧力による糊化（圧力糊化）が，1920年代に示唆されて以降，研究が進展した．圧力糊化においても，熱糊化と同様に澱粉粒子は膨潤するが，しばしば粒子形状ならびに層状構造を保つ（Fig. 1）[27–29]．澱粉の高圧加工を想定した場合に，圧力糊化の機構は熱糊化の場合とは異な

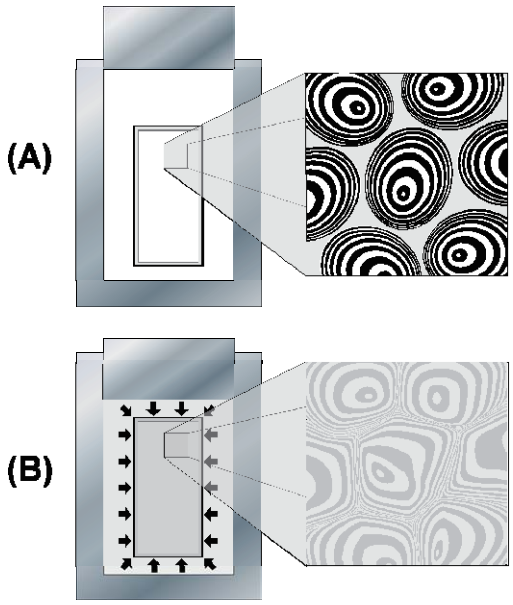

Fig. 1 Schematic diagram of pressure gelatinization via isotropic compression of starch–water mixture [19]
(A), starch granules in water before pressure gelatinization; (B), pressure–gelatinized starch granules which are isotropically compressed with each other and disordered, while maintaining their lamellar structure. Pressure– gelatinized starch granules are swollen and tightly packed at high starch content, whereas they swell with retained granular shapes at low starch content.

© 2020 Japan Society for Food Engineering

ると考えられるが，蛋白質の変性の場合と同様に，温度および圧力が重要な操作因子となる．

しかしながら，澱粉の圧力糊化特性については，澱粉が様々な植物に由来することもあり，様々な澱粉を用いた統一性のない処理条件での限られた知見しかなく，系統的な理解は難しかった．高圧処理澱粉の特性は，少なくとも熱処理澱粉とは異なることが知られ，例えば，熱糊化澱粉からはアミロースが溶出するが，圧力糊化澱粉からはほとんどない [30,31] か，全くない [27]．熱糊化では澱粉粒子は膨潤して粒子が崩壊するのが一般的であるが，圧力糊化では澱粉粒子は粒子形状を保持しながら膨潤する [27–29]．

日本で高圧力の食品加工への利用が提唱 [4] されて以来，圧力糊化の研究は益々活発になった．馬鈴薯澱粉はコムギ澱粉，トウモロコシ澱粉よりも圧力耐性が高いことが報告され [32]，馬鈴薯澱粉，ユリ澱粉のようなB型澱粉は，トウモロコシ澱粉のようなA型澱粉よりも圧力耐性が高く，甘藷（サツマイモ）澱粉のようなC型澱粉はA型とB型との中間的な圧力耐性をもつことが示された [33]．高圧処理における圧力保持時間が，糊化エンタルピー変化およびゲル物性に及ぼす影響はオオムギ澱粉で調べられ [28]，澱粉の高圧処理直後に老化が観察されている [27,34,35]．コメ澱粉を圧力糊化もしくは熱糊化させて老化挙動を調べ，圧力糊化試料の老化速度が熱糊化試料よりも低いことが示されている [36]．

我々は，圧力糊化耐性が高いとされていた馬鈴薯澱粉に焦点を当て，澱粉–水懸濁液の圧力糊化・老化の挙動を系統的に理解できるように，澱粉含量，圧力，温度の視点から状態図に纏めた（Fig. 2）[37,38]．また，圧力保持時間が 1～66 時間の範囲では糊化エンタルピー変化および老化程度に影響がないことを馬鈴薯澱粉について示した（Fig. 3）[39]．さらには，トウモロコシの糯性澱粉と粳性澱粉とを対象に，圧力糊化挙動における差異を調べ，アミロースが圧力糊化時の粒子形状保持に寄与する可能性を示した（Fig. 4）[29]，実用的な視点からは，両親媒性物質の共存下で澱粉を高圧処理することにより，複合化澱粉を製造する手法を提示した [40]．

4. 細菌の高圧不活性化 [9,10]

食品高圧加工により微生物を不活性化する際には，高圧処理に特徴的な因子が関与することを踏まえて，

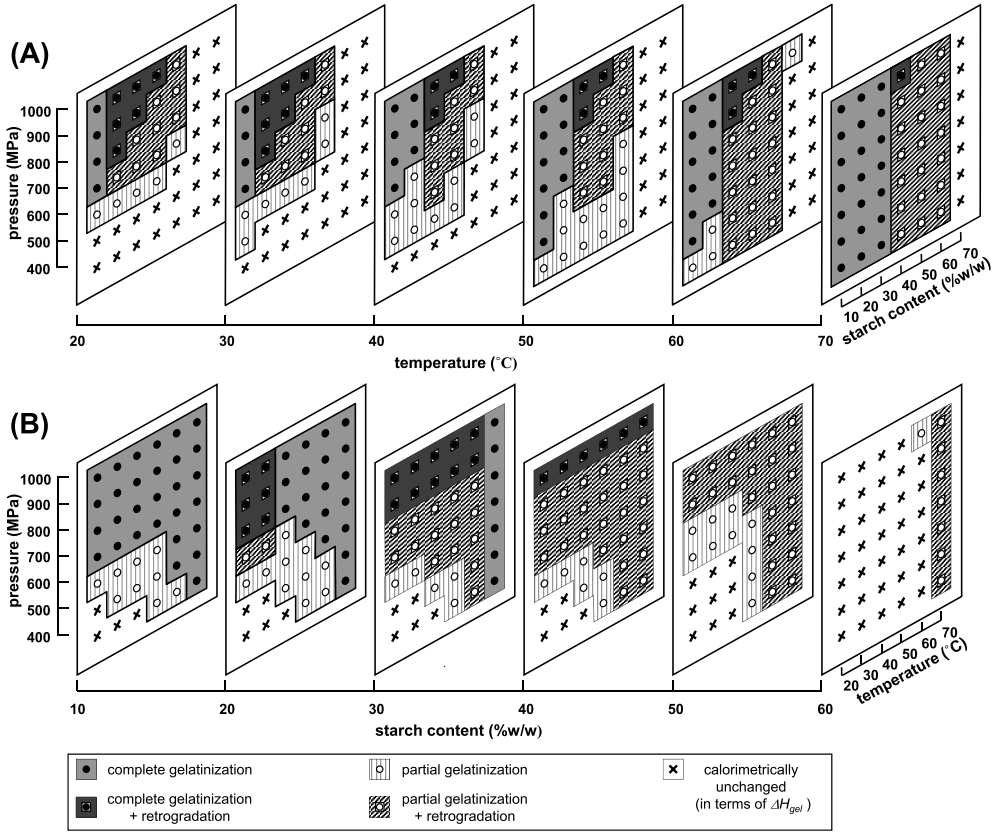

Fig. 2 State diagrams of potato starch–water mixtures treated with high hydrostatic pressure (HHP) [38]
Pressure gelatinization was more promoted at lower starch content, higher temperature, and higher HHP. In addition, retrogradation was observed in some cases immediately after the treatment. The diagram would be applied to control pressure gelatinization and/or retrogradation of potato starch.

© 2020 Japan Society for Food Engineering

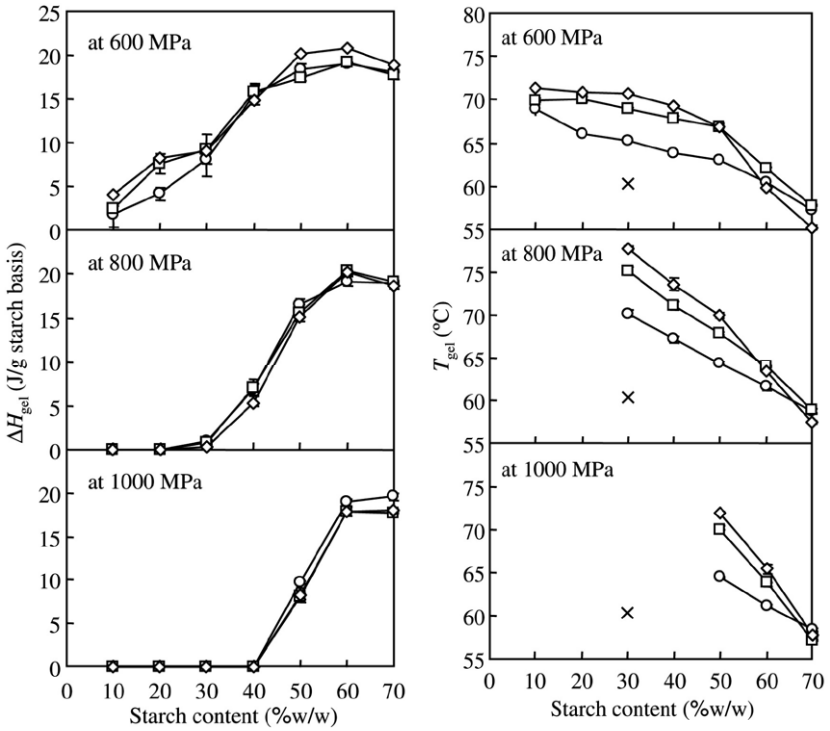

Fig. 3 Effect of holding time on the enthalpy change (ΔH) and gelatinization onset temperature of potato starch–water mixtures which were treated with HHP [39]
Holding time (○, 1 h; □, 18 h; ◇, 66 h) did not affect ΔH remarkably, whereas longer holding time resulted in higher gelatinization onset temperature, probably due to annealing under HHP.

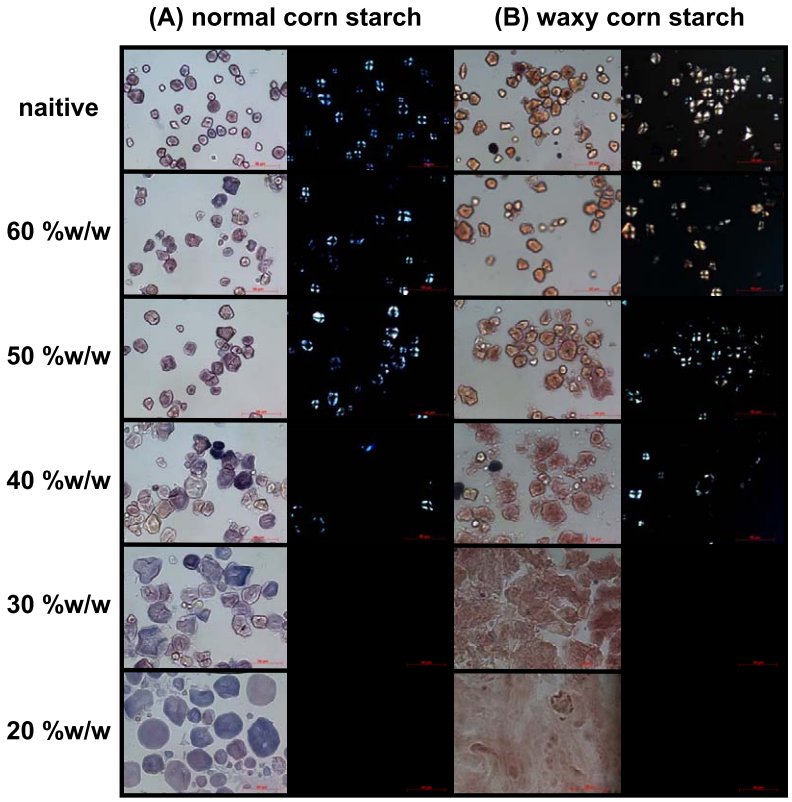

Fig. 4 Amylose alters granular shapes of corn starch treated with 600 MPa [29]
Both of (A) normal starch containing amylose and (B) waxy starch without amylose were gelatinized completely at low starch contents (20% and 30%) by HHP, losing polarized white reflection ascribed to crystalline starch. On the other hand, granular shapes retained with normal starch, whereas they were lost with waxy starch.

© 2020 Japan Society for Food Engineering

食品安全性確保に努める必要がある．食品高圧加工で生物的リスクを十分に低減するためには，原料への付着物の除去・洗浄，装置・器具の消毒などに十分に配慮した上で，清浄原料を密封包装し，高圧加工で殺菌する．生物的リスクの危害要因としての微生物，とくに細菌の高圧不活性化の研究は，最も歴史が長く，食品高圧加工が実用化して以降，飛躍的に進展した．細菌には，病原性細菌および腐敗細菌があるが，いずれもが殺菌対象であり，とくに病原性細菌についての研究事例が多い．一方，黴（カビ），酵母については，品質劣化に関与するものの，黴毒生産などによる健康被害に直ちに繋がる事例が少ないため，知見が限られている．

世界の食品高圧加工では，5℃近傍で 600 MPa を課す低温高圧処理（あるいは単に「高圧処理」）が趨勢である．圧力保持が 3〜5 分間であっても，十分な微生物不活性化効果が期待できる．昇圧および減圧の際には，それぞれ断熱圧縮および断熱膨張による加熱および冷却がある．製品への断熱圧縮による加熱は，初発温度が高い程大きく，低温では約 2℃/100 MPa のものが，約 80℃以上では 5℃/100 MPa とされる．600 MPa まで加圧すると，10℃の初発温度が最高で 28℃程度に到達し，その後は容器への放熱と，減圧時の断熱膨張による冷却とで，再び 10℃近傍に戻る．高圧処理を実施する際には，循環恒温水などで冷却することが，製品の温度管理上重要である．

微生物またはウイルスの高圧不活性化の評価において注意すべきことは，その効果が，生物種，細胞の形状・状態，食品マトリックス，検出手法，装置，その他の影響を受けるということである．微生物・ウイルスの高圧不活性化での耐圧性は，凡そ，芽胞＞グラム陽性菌＞グラム陰性菌・酵母・カビの順に高く，これは，熱処理における傾向と類似している [41]．菌種・菌株によって耐圧性が異なる点にも注意が必要であり，例えば，腸管出血性大腸菌の耐圧性は，菌株によって大きく異なる [42]．細菌形状においては，棒状の桿菌が圧力に最も弱く，球菌が最も強い傾向 [43] もあり，確かに *Staphylococcus aureus*（黄色ブドウ球菌；グラム陽性）の耐圧性は高い [44]．細菌の状態については，定常期の方が，対数増殖期の細胞よりも，耐圧性が高い [45]．また，これらを含む食品マトリックスに糖質，蛋白質などが多く含まれると，微生物は不活化し難い傾向があり，これら以外にも，pH，水分活性，浸透圧などの影響を受ける．その他，高圧処理装置の圧力校正，容器形状および容器内試料設置位置，水以外の圧力媒体の利用など，異なる実験系で得られたデータの直接比較には注意が必要である．

細菌の高圧不活性化についての我々の取り組みは，大腸菌 ATCC25922 を主な対象菌株とし，リン酸緩衝生理食塩水（PBS）中での高圧処理時間依存性の死滅挙動を簡単な予測式で記述する研究から始まった [46]．高圧処理時間を不必要に延長しても効果は少なく，保持圧力到達後に，不活性化効果が最も高い初期数分間で処理することが肝要である [47]．実用的な視点からは，生鮮で数日間しか日持ちしない唐揚用小魚（メヒカリ）を，低 pH の南蛮酢中で高圧処理（600 MPa）して殺菌することで，3 ヶ月間の冷蔵保存性が確保され，また，頭部・内臓を除去してから高圧処理すれば，唐揚にしても身崩れが抑制されることを示した [48]．このように，高圧殺菌は，高品質加工手段として有効であるが，日本では，海外で盛んな高圧加工ジュースへの法的障壁のため，実用化が進まない現実がある．高圧加工ジュースは，低温高圧処理して微生物を制御し，絞りたての生ジュースのようで有りながら一ヶ月前後の賞味期限を保証しており，欧米，韓国，台湾など，国外の市場で伸びている．日本への輸入を希望する企業，国内生産を目論む企業も現れている．しかしながら，高圧加工ジュースは，日本の食品衛生法の清涼飲料水製造基準を満たす必要があり，そのためには，熱殺菌との同等性を示して個別認可を得る必要がある．ところが，殺菌効果の同等性証明には，対象微生物の種類，その低減菌数等，必要条件の提示が不可欠であるにも拘わらず，それが明示されていない．そのため，個別に当局担当者に相談して認可取得のためのデータを提示する必要がある．2020 年 2 月時点では，国際食品規格委員会（Codex Alimentarius Commission）による高圧処理ジュースの国際規格は存在しない問題もある．今後，科学的根拠を明確にしつつ，高圧加工ジュースの普及に努めたい．

5. 高圧損傷菌

健常な細菌（健常菌）へのストレスが強いと死菌となり，そうでなければ損傷菌となる．損傷菌は，損傷程度に応じて，軽度損傷菌（亜致死的損傷菌）および重度損傷菌（致死的損傷菌）となり，「準安定または不安定な状態」にある中度損傷菌が，軽度損傷菌に回復する，または，さらに損傷して重度損傷菌となり死滅する考え方（Fig. 5）[49] がある．この考え方を含め，損傷菌の定義については，更なる研究により精査する必要がある．

損傷菌については，次亜塩素酸，超音波，両性界面活性剤，電子線などの処理と熱処理とを，逐次または同時に組み合わせた時に，健常菌が軽度損傷菌または重度損傷菌を経て死滅する過程が調べられている [50]．これらストレスと同様に，高圧処理によるストレスによっても損傷菌が発生する．

例えば，8 logCFU/ml（10^8=1 億個/ml）程度の大腸菌を高圧処理（500−600 MPa, 25℃, 10 分間）すると，処理後には検出できなくなるが，その後異なる保存温

© 2020 Japan Society for Food Engineering

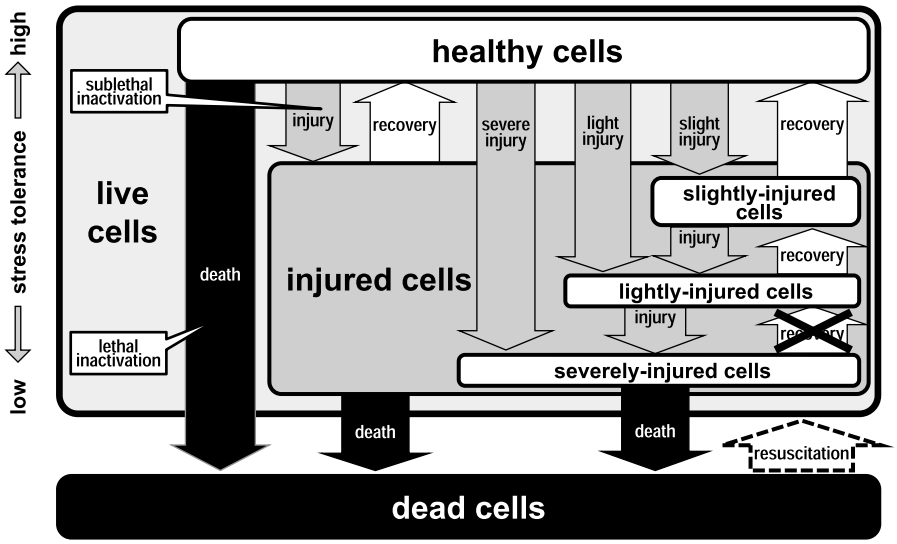

Fig. 5 Suggested classification of injured bacteria[49]
It is suggested to classify into slightly-, lightly-, and severely-injured bacteria, depending on the severity of the injury. Further investigation will be indispensable to verify the classification. Original figure[49] has been modified in part.

度で静置する間に，回復したり，死滅したりすることが示されている（Fig. 6）[51]．また，牛乳に接種したリステリア属菌は，高圧処理（550 MPa, 25℃, 5 分間）後には検出されないが，異なる保存温度で静置する間に，やはり回復したり死滅したりする．37℃，40℃，45℃，50℃と保存温度が高いほど，それぞれ 4 時間，3 時間，1 時間，5 分間以上，静置すれば死滅し，それより短い静置時間では回復しうる（Fig. 7）[52]．

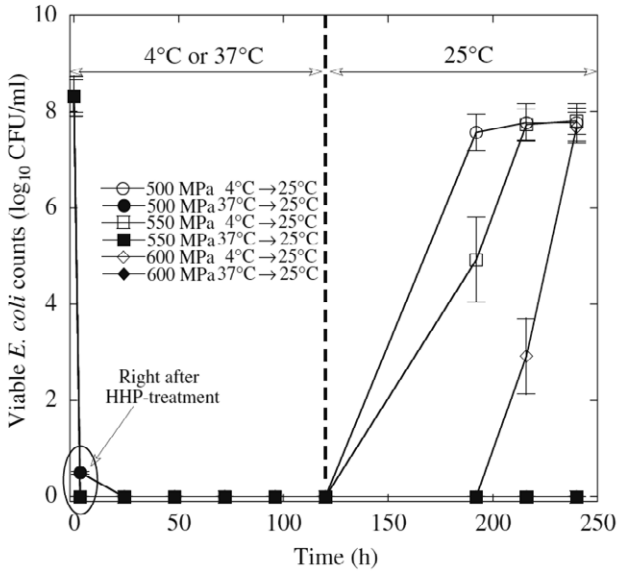

Fig. 6 Colony counts behaviors after HHP treatment of *E. coli* suspended in phosphate-buffered saline[51]
After HHP treatment, the suspension was stored at 4℃ or 37℃ for 120 h, being further stored at 25℃. No cell was detected during and after storage at 37℃, whereas cell counts increased after storage at 4℃ followed by storage at 25℃.

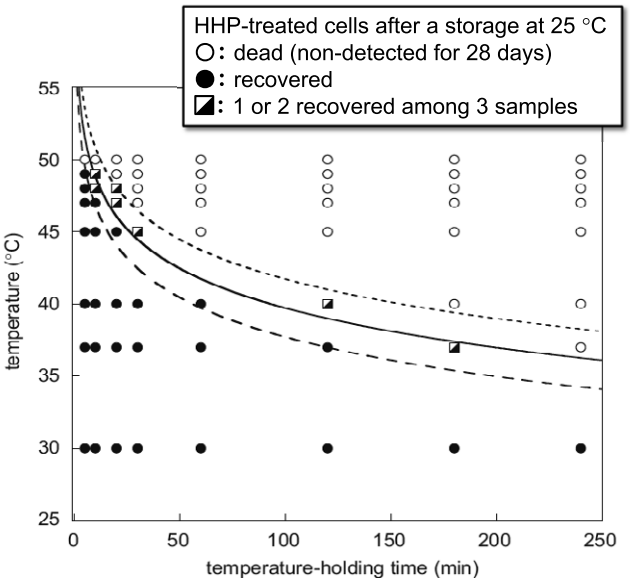

Fig. 7 Dead/live judgement of *Listeria monocytogenes* in milk after 550 MPa treatment followed by storage at different temperatures[52]
With increased storage temperature after HHP treatment, shorter storage time was required to kill the HHP-treated cells: 4 h (37℃), 3 h (30℃), 1 h (45℃), and 5 min (50℃).

損傷菌の検出では，選択培地と非選択培地との両方で平板培養法により計数し，その差を議論することが多い．細菌にとってのストレスが高い選択培地には，健常菌しか生えないが，栄養豊富な非選択培地には健常菌に加え，弱っている損傷菌も生える．高圧損傷菌についても，同様に検出することができるが，一般的な培養温度である 37℃付近で培養すると死滅して検出できないこともあるので [15,51,52]，25℃での長時間

© 2020 Japan Society for Food Engineering

培養，ピルビン酸添加による酸化ストレス軽減 [15] 等を活用して，損傷菌を見逃さない配慮が必要かも知れない．また，高圧損傷菌は，上記のように，コロニー数の差異で調べることもできるが，大きさの不均一性および増殖遅延による出現の遅さも特徴的である（Fig. 8）[15]．高圧損傷菌は，蛍光染色後にフローサイトメトリーで検出することもできる [15]．

高圧損傷菌についての我々の取り組みは，インターンシップ学生が，大腸菌の高圧処理による死滅挙動を調べる中で冷蔵保存を徹底せず，再現性のない菌数挙動結果を出したところから始まった．それまで，損傷菌についての知識の欠片もなかった筆者であったが，高圧処理後の保存温度管理が重要であることを漸く学び，高圧損傷菌についての研究が始まった [51]．近年，食品加工における様々な操作において発生しうる損傷菌に関しては，日本損傷菌研究会が 2016 年に設立される等，研究開発への取り組みが活発になってきた．

上述のように，大腸菌を PBS に懸濁して高圧処理すると，冷蔵保存中には不検出であるが，保存温度を 25℃に変えると回復し [51]，牛乳に懸濁した *Listeria monocytogenes* は，高圧処理直後は不検出になるが，冷蔵，常温での保存中には回復する一方，37℃以上の中温保存中には死滅した [52]．細菌のこれら高圧損傷・回復の機構については，微生物学者との連携によりさらに研究を進めた．大腸菌の高圧処理後の平板培養検出では，37℃よりも 25℃，嫌気条件，ピルビン酸添加の各条件で，損傷菌がより回復し，検出率が向上した（Fig. 9）[15]．また，高圧処理大腸菌のメタボローム解析により，糖・核酸の代謝経路が影響を受け，例えば

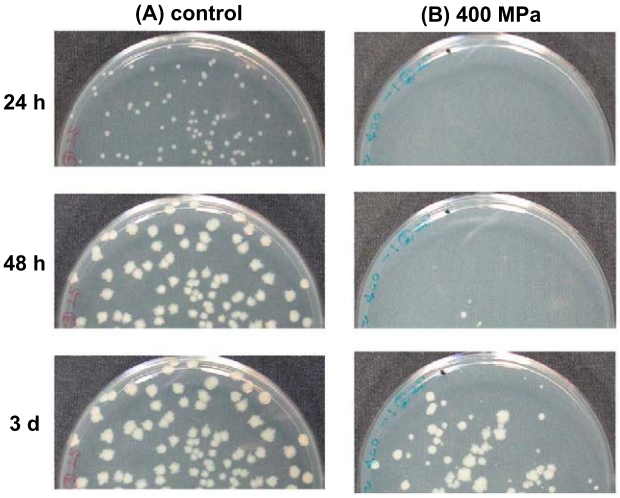

Fig. 8 Difference in colony forming behavior between control and 400 MPa-treated *E. coli* cells[15]
On a selective agar plate, untreated control *E. coli* cells showed homogeneously distributed large cells, which were visibly countable after 1 d. On the other hand, HHP-treated cells formed colonies late and the colony size was heterogeneous in comparison with that of untreated control cells.

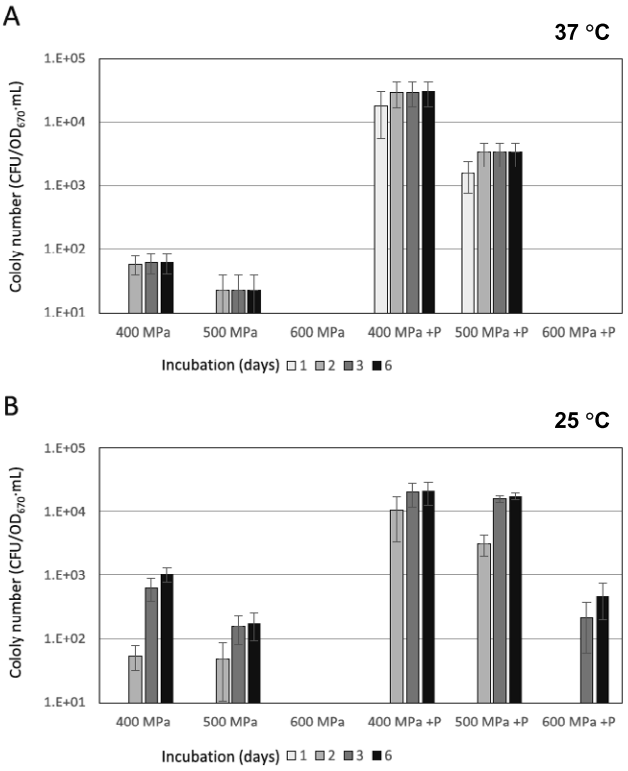

Fig. 9 Effect of incubation temperature and pyruvate addition on the detection of *E. coli* cells after HHP treatment in phosphate-buffered saline [15]
The cells were more detected after incubation at 25℃ than at 37℃. Addition of pyruvate to the agar plate drastically increased the number of detected cells.

解糖系のグリセルアルデヒド 3-リン酸より上流では代謝物が蓄積し，下流では枯渇した [53]．さらに，無栄養の PBS 中で高圧処理すると，大腸菌 [54] および *L. monocytogenes* [55] は，それぞれの共食いにより栄養源を確保する可能性を提示し，温度に依存して損傷状態から回復することを示した（Fig. 10）．芽胞形成能がない変異株の栄養細胞で，溶菌の視点から，芽胞菌の高圧損傷および回復についても調べた [56]．損傷菌検出の最適化に向けては，高圧損傷乳酸菌の検出において，乳酸菌選択培地を複数種類用いて，培養温度および好気・嫌気条件を組み合わせることで，損傷菌コロニー検出数が最大 7 桁異なることを示した [57]．損傷菌は，高圧処理により比較的再現性高く調製できることから，これを活用して研究を進めれば，損傷微生物学の発展にも貢献すると期待している．

6. 食品高圧加工への応用：かぶら寿し，果実コンポート

世界では，600 MPa での高圧加工による殺菌が趨勢である．一方，日本では，100 MPa 前後の中高圧加工，とくに中温領域での加熱と併用した中温中高圧加工が独自に進化し，中温中高圧加工での効率的な酵素分解

© 2020 Japan Society for Food Engineering

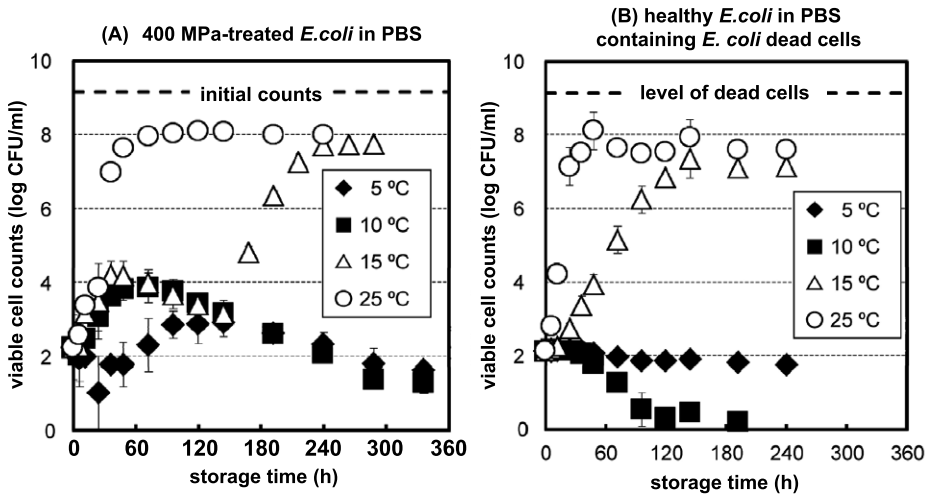

Fig. 10 Viable counts during storage of (A) 400 MPa-treated *E. coli* cells in PBS and (B) untreated healthy *E. coli* cells inoculated in PBS containing heat-sterilized *E. coli* cells [54].
HHP-treated cells show temporary increment and subsequent reduction in the cell counts at low storage temperatures of 5 and 10℃, whereas untreated healthy cells rather maintained (5℃) or decreased (10℃) the counts. On the other hand, the counts of HHP-treated cells drastically increased during storage at 15℃ and 25℃, while the healthy cells proliferated via cannibalism of their heat-sterilized cells. It was speculated that HHP-treated cells would recover the counts via cannibalism of nondetectable HHP-treated cells.

により，エキス製造が実用化している．我々は，高圧加工の中でも，装置製造コストが比較的低い中高圧加工の用途拡大を目指して，石川県の伝統食品であるかぶら寿しの製造工程において，中高圧加工導入によりブリ塩漬工程時間を短縮する技術を考案した（Fig. 11）[58,59]．これにより，従来 5 週間程度必要だった製造期間が 10 日間程度にまで短縮される．これに加えて，脱気中高圧処理による効率的液体含浸と，脱気中温中高圧処理による中温領域での殺菌とを組み合わせることで，生の食感をある程度保持しつつ，長期冷蔵保存可能な果実コンポートを製造する技術（Fig. 12）を考案した [60,61]．リンゴ，アンズ，カキ，ナシ，モモなど，とりわけ収穫期が短い果実の高品質加工品が，冷蔵で通年供給できる利点がある．

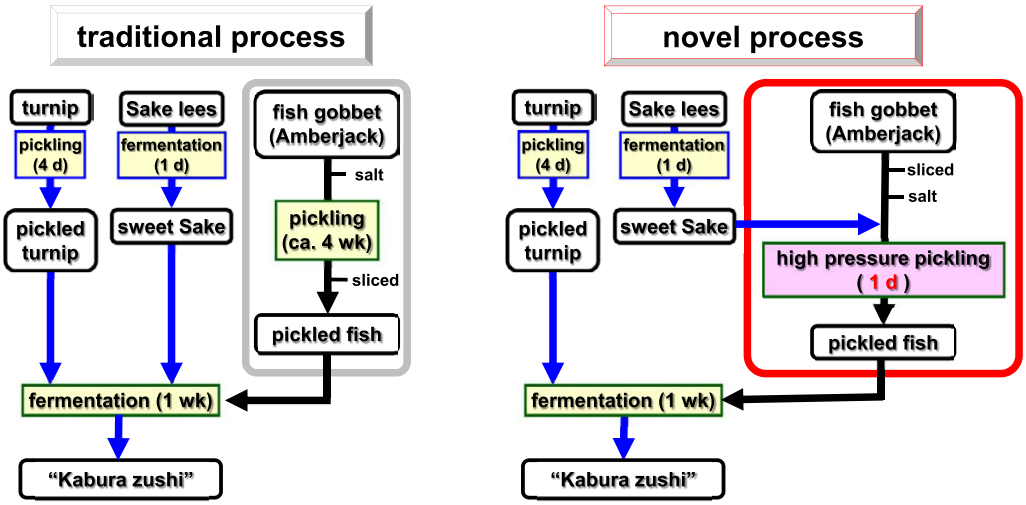

Fig. 11 Novel method to process traditional Japanese fish pickle "Kabura zushi" [59]
In the traditional "Kabura zushi" processing, a fish gobbet of Amberjack (*Seriola quinqueradiata*) is pickled in brine for about 4 weeks, cut into slices, and stuffed between pickled turnip slices with sweet Japanese wine "Amazake" for additional 1-week fermentation. It takes about 5 weeks. In the novel processing, medium HHP process is employed to pickle sliced fish in brine and the salting process is shortened to 1 day, which contributes to reduce the processing time drastically to ca. 10 days.

© 2020 Japan Society for Food Engineering

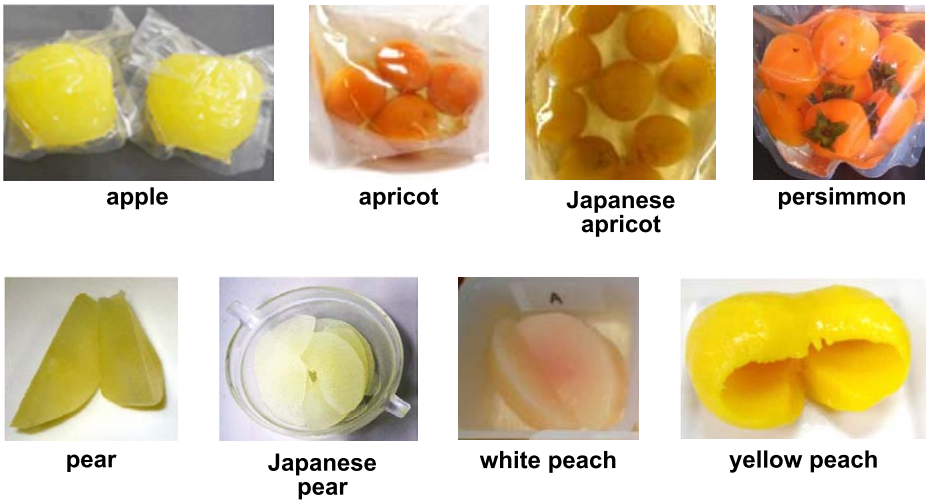

Fig. 12 Fruit compotes processed by medium HHP treatment in combination with vacuum packing and medium high temperature heating [61]
Efficient liquid impregnation of syrup at low pH is achieved by vacuum packing and medium HHP treatment, and the product is pasteurized by medium high temperature heating. The products partly retains fresh texture of fruit, whereas it guarantees microbial safety under refrigeration for months.

7. お わ り に

食品高圧加工は，実用化の用途が，ジュース，肉製品，総菜，開脱殻などと些か限定的であり，熱加工に比べて研究開発の歴史も浅い．逆に考えると，未開拓用途および未解明現象が今後さらに見出されると期待できる．我々の取り組みが，食品高圧加工技術の発展に寄与することを祈念しつつ，今後の研究開発が世界で進展することにより，基礎および応用の視点から，技術が更なる飛躍を遂げることを期待している．

謝 辞

本研究は，農林水産省食品総合研究所（当時）に職を得て，科学技術振興事業団長期在外若手研究員としてスイス連邦工科大学チューリヒ校に派遣（1997–1999）して頂いて依頼，共同研究者から多大なるご貢献を頂いた成果です．とくに，論文の筆頭著者，共著者の皆様には，深く感謝申し上げますと共に，研究補助職員，インターンシップ学生，依頼研究員，留学生の皆様方のご支援には，感謝の念に堪えません．また，競争的資金，運営費交付金，企業からの共同研究資金などを通じて，資金的，人的に各方面から多くのご支援を賜き，研究を継続することができたことに厚く御礼申し上げます．さらに，大学学部で食品工学研究室に配属されて以降，現職に至るまで，温かいご指導およびご激励を賜った指導教員の先生方ならびに諸先輩方は勿論のこと，学会関係者各位，同僚の皆様ならびに家族に，心から感謝を申し上げます．

References

1) K. Yamamoto; Food processing by high hydrostatic pressure, Biosci. Biotechnol. Biochem., **81**, 672–679 (2017).
2) K. Yamamoto, Y. Nakaura; “Food processing technologies utilizing high hydrostatic pressure as nonthermal methods for microbial control, starch gelatinization, and other processes” (in Japanese), Bull. Appl. Glycosci., **7**, 190–196 (2017).
3) R. Hayashi; “Chouri, kakou, sakkin, hozon eno kouatsu riyou no kanousei” (Possibility to apply high pressure to cooking, processing, pasteurization, and preservation) (in Japanese), Food Process. Ingr., **22**, 55–62 (1987).
4) K. Kimura, M. Ida, Y. Yosida, K. Ohki, T. Fukumoto, N. Sakui; Comparison of keeping quality between pressure-processed jam and heat-processed jam: changes in flavor components, hue, and nutrients during storage. Biosci. Biotechnol. Biochem., **58**, 1386–1391 (1994).
5) A. Yamazaki, A. Sasagawa; “Development of rice food products processed by high pressure treatment” (in Japanese), Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, **45**, 526–532 (1998).
6) M. Tanabe; “Hamukakou no shintenkai” (New development of ham processing) (in Japanese), Food Packag., **48**, 628–635 (2007).
7) C. Tonello; “Sekaino syokuhin sangyo ni okeru kouatusouchi no doukou” (The trends of high pressure equipment in food industry in the world) (in Japanese), Food Packag., **58**, 149–156 (2017).
8) E. Raghubeer; “Shokuhin/inryou gyoukai de nobiyuku

© 2020 Japan Society for Food Engineering

niizu ni kotaeru kouatsu kakou shisutem" (Avure' s HPP systems meet the growing needs of the food and beverage industry) (in Japanese), Food Packag., **58**, 214–218 (2017).

9) K. Yamamoto, K. Kimura, T. Inaoka, K. Morimatsu, Y. Nakaura; "Injury and recovery in bacterial inactivation induced by high hydrostatic pressure" (in Japanese), Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, **65**, 154–162 (2018).

10) K. Yamamoto; "Nonthermal pasteurization by high hydrostatic pressure processing of food" (in Japanese), J. Antibact. Antifung. Agents, **47**, 415–422 (2019).

11) S. Nakano, N. Sugimoto; "Influences of molecular crowding on the properties and functions of biomolecules" (in Japanese), Seibutsu Butsuri, **46**, 251–256 (2006).

12) E. Ohmae; "Kouatsu shori niyoru kouso no kasseika to fukasseika" (Enzyme activation and inactivation via high pressure treatment) (in Japanese), Food Packag., **58**, 404–410 (2017).

13) S. Takahashi, N. Sugimoto; "Effect of molecular environment and high pressure on the thermodynamic stability of nucleic acid structures" (in Japanese), Rev. High Press. Sci. Technol., **25**, 116–125 (2015).

14) H. Matsuki; Kouatsu shori niyoru shishitsu no joutai henka (Change in lipid state induced by high pressure treatment) (in Japanese), Food Packag., **58**, 78–86 (2017).

15) K. Kimura, K. Morimatsu, T. Inaoka, K. Yamamoto; Injury and recovery of *Escherichia coli* ATCC25922 cells treated by high hydrostatic pressure at 400–600 MPa, J. Biosci. Bioeng., **123** , 698–706 (2017).

16) A. Aertsen, *et al*., Induction of oxidative stress by high hydrostatic pressure in *Escherichia coli*, Appl. Environ. Microbiol., **71**, 2226–2231 (2005).

17) K. Yamamoto, K. Kawai, K. Fukami, S. Koseki; Pressure gelatinization of potato starch, Food, 3 (SI), 57–66 (2009).

18) K. Yamamoto K, R. Buckow; Pressure gelatinization of starch, "High Pressure Processing of Food", V. M. Balasubramaniam, G. V. Barbosa-Cánovas, H. L. M. Lelieveld, eds., Springer, 2016, p. 433–459.

19) K. Yamamoto, K. Fukami, K. Kawai, S. Koseki; "Denpun no atsuryoku koka" (pressure gelatinization of starch) (in Japanese), Food Packag., **47**, 448–456 (2006).

20) T. A. Waigh, M. J. Gidley, B. U. Komanshek, A. M. Donald; The phase transformations in starch during gelatinisation: a liquid crystalline approach, Carbohydr. Res., **328**, 165–176 (2000).

21) S. Hizukuri; Relationship between the distribution of the chain length of amylopectin and the crystalline structure of starch granules, Carbohydr. Res., **141**, 295–306 (1985).

22) J.-L.Jane, Z. Ao, S. A. Duvick, M. Wiklund, S.-H. Yoo, K.-S. Wong, C. Gardnerk; Structures of amylopectin and starch granules: How are they synthesized?, J. Appl. Glycosci., **50**, 167–172 (2003).

23) K. Seetharaman, E. Bertoft; Perspectives on the history of research on starch Part IV: On the visualization of granule architecture, Starch/Stärke, **64**, 929–934 (2012).

24) S. Pérez, P. M. Baldwin, D. J. Gallant; Structural features of starch granules I, "Starch Chemistry and Technology (3rd ed.)", J. BeMiller, R. Whistler eds., Academic Press, 2009, pp. 149–192.

25) J. W. Donovan; Phase transitions of the starch–water system, Biopolymers, **18**, 263–275 (1979).

26) R. Hoover, Starch retrogradation, Food Reviews International, **11**, 331–346 (1985).

27) R. Stute, R. W. Klingler, S. Boguslawski, M. N. Eshtiaghi, D. Knorr; Effects of high pressure treatment on starches, Starch/Stärke, **48**, 399 (1996).

28) M. Stolt, S. Oinonen, K. Autio; Effect of high pressure on the physical properties of barley starch, Innov. Food Sci. Emerg. Technol., **1**, 167–175 (2000).

29) K. Fukami, K. Kawai, T. Hatta, H. Taniguchi, K. Yamamoto; Physical properties of normal and waxy corn starches treated with high hydrostatic pressure, J. Appl. Glycosci., **57**, 67–72 (2010).

30) J. P. Douzals, J. M. Perrier Cornet, P. Gervais, J. C. Coquille; High-pressure gelatinization of wheat starch and properties of pressure-induced gels J. Agric. Food Chem., **46**, 4824–4829 (1998).

31) H. E. Oh, Y. Hemar, S. G.Anema, M. Wong, D.N. Pinder; Effect of high-pressure treatment on normal rice and waxy rice starch-in-water suspensions, Carbohydr. Polym., **73**, 332–342 (2008)

32) R. Hayashi, A. Hayashida; Increased amylase digestibility of pressure treated starch, Agric. Biol. Chem., **53**, 2543–2544 (1989).

33) S. Ezaki, R. Hayashi; High pressure effects on starch: structural change and retrogradation, "High Pressure and Biotechnology", C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans, P. Masson eds., Colloque INSERM/John Libbey Eurotext Ltd., 1992, pp. 163–165.

34) Y. Hibi, T. Matsumoto, S. Hagiwara; Effect of high pressure on the crystalline structure of various starch granules, Cereal Chem., **70**, 671–676 (1993).

35) H. Katopo, Y Song, J Jane; Effect and mechanism of ultra-high hydrostatic pressure on the structure and properties of starches, Carbohydr. Polym., **47**, 233–244 (2002).

36) X. Hu, X. Xu, Z. Jin, Y. Tian, Y. Bai, Z. Xie; Retrogradation properties of rice starch gelatinized by heat and high hydrostatic pressure (HHP), J. Food Eng., **106**, 262–266

© 2020 Japan Society for Food Engineering

(2011).

37) K. Kawai, K. Fukami, K. Yamamoto; State diagram of potato starch–water mixtures treated with high hydrostatic pressure, Carbohydr. Polym., **67**, 530–535 (2007).

38) K. Kawai, K. Fukami, K. Yamamoto; Effect of temperature on gelatinization and retrogradation in high hydrostatic pressure treatment of potato starch–water mixtures, Carbohydr. Polym., **87**, 314–321 (2012).

39) K. Kawai, K. Fukami, K. Yamamoto; Effects of treatment pressure, holding time, and starch content on gelatinization and retrogradation properties of potato starch–water mixtures treated with high hydrostatic pressure, Carbohydrate Polymers, **69**, 590–596 (2007).

40) K. Yamamoto, S. Koseki, K. Kawai, K. Fukami; "Fukugouka kaishitsu denpun no seizou houhou oyobi fukugouka kaishitsu denpun" (Methods to produce starch complex and complexed starch products thereby) (in Japanese), Japan Patent JP4987271 (11 May 2012).

41) H. Daryaei, A. E. Yousef, V. M. Balasubramaniam; Microbiological aspects of high–pressure processing of food: inactivation of microbial vegetative cells and spores, "High Pressure Processing of Foods," V.M. Balasubramaniam, G.V. Barbosa–Cánovas, H.L.M. Lelieved eds, Springer, 2016, pp. 271–294.

42) H. Alpas, N. Kalchayanand, F. Bozoglu, A. Sikes, C. P. Dunne, B. Ray; Variation in resistance to hydrostatic pressure among strains of food–borne pathogens. Appl. Environ. Microbiol., **65**, 4248–4251 (1999).

43) H. Ludwig, C. Schreck; The inactivation of vegetative bacteria by pressure, "High Pressure Research in the Biosciences and Biotechnology," K. Heremans ed., Leuven University Press, 1997, pp. 221–224.

44) G. Cebrián, P. Mañas, S. Condón; Comparative resistance of bacterial foodborne pathogens to non–thermal technologies for food preservation, Frontiers Microbiol., **7**, 1–17 (2016).

45) B. M. Mackey, K. Forestiére, N. Isaacs; Factors affecting the resistance of *Listeria monocytogenes* to high hydrostatic pressure. Food Biotechnol., **9**, 1–11 (1995).

46) K. Yamamoto, M. Matsubara, S. Kawasaki, M. L. Bari, S. Kawamoto; Modeling the pressure inactivation dynamics of *Escherichia coli*, Braz. J. Med. Biol. Res., **38**, 1253–1257 (2005).

47) M. L. Bari, M. Mori, D. O. Ukuku, S. Kawamoto, K. Yamamoto; Effect of hydrostatic pressure pulsing on the inactivation of *Salmonella* Enteritidis in liquid whole egg, Foodborne Pathog. Dis., **5**, 175–182 (2008).

48) Y. Nakaura, K. Yamamoto; High hydrostatic pressure treatment of greeneye (*Chlorophthalmus albatrossis*) for refrigeration storage as a deep–fry–suitable material, Food Sci. Technol. Res., **24**, 413–420, (2018).

49) K. Yamamoto; "Shokuhin kakou niokeru shokuhin anzensei kakuho" (Food safety assurance in high pressure food processing), Food Packag., **58**, 530–537 (2017).

50) T. Tsuchido, J. Sakamoto; "Sakkin shori niokeru sonshoukin/sonshouhoushi no hassei to seigyo gijutsu"(Occurrence and control of injured cells and spores in disinfection and sterilization processes) (in Japanese), Food Industry, **55**, 45–53 (2012).

51) S. Koseki, K. Yamamoto; Recovery of *Escherichia coli* ATCC25922 in phosphate buffered saline after treatment with high hydrostatic pressure. Int. J. Food Microbiol., **110**, 108–111 (2006).

52) S. Koseki, Y. Mizuno, K. Yamamoto; Use of mild–heat treatment following high–pressure processing to prevent recovery of pressure–injured *Listeria monocytogenes* in milk, Food Microbiol., **25**, 288–293 (2008).

53) K. Kimura, T. Inaoka, K. Yamamoto; Injury and recovery of metabolome analysis of *Escherichia coli* ATCC25922 cells treated with high hydrostatic pressure at 400 and 600 MPa, J. Biosci. Bioeng., **126**, 611–616 (2018).

54) K. Morimatsu, T. Inaoka, Y. Nakaura, K. Yamamoto; Injury and recovery of *Escherichia coli* cells in phosphate–buffered saline after high hydrostatic pressure treatment, Food Sci. Technol. Res., **25**, 479–484 (2019).

55) Nakaura Y, Inaoka T, Morimatsu K, Yamamoto K; *Listeria monocytogenes* cells injured by high hydrostatic pressure and their recovery in nutrient–rich or –free medium during cold storage, High Pressure Res., **39**, 324–333 (2019).

56) T. Inaoka, K. Kimura, K. Morimatsu, K. Yamamoto; Characterization of high hydrostatic pressure–injured *Bacillus subtilis* cells, Biosci. Biotechnol. Biochem., **81**, 1235–1240 (2017).

57) M. Nakane, H. Fuchu, Y. Nakaura, T. Nishiumi, K. Yamamoto; Effect of plating and incubation conditions on the detection of lactic acid bacteria after high hydrostatic pressure treatment, High Pressure Res., **39**, 334–343 (2019).

58) S. Miwa, M. Nakamura, T. Arite, K. Yamamoto, S. Koseki, M. P. Ortega; "Chuhkouatsu shori niyoru gyoniku no kakou houhou" (Methods to process fish meat utilizing medium high hydrostatic pressure) (in Japanese), Japan Patent Kokai JP2013–055912 (28 March 2013).

59) K. Yamamoto, S. Koseki, M. P. Ortega, S. Miwa, M. Nakamura, T. Arite; "Chuhkouatsu shori niyoru kabura zushi no sokusei seizou" (Fast method to produce Kaburazushi utilizing medium high hydrostatic pressure) (in Japanese), "Heisei25nendo shokuhin shiken kenkyu seika jouhou", **26**, 58–59 (2014).

© 2020 Japan Society for Food Engineering

60) K. Yamamoto, S. Miwa, T. Arite, M. Minamide, Y. Fukai, M. Takeuchi, S. Yamazaki; “Shokuhin nitaisuru dakki-kanetsu-kouatsu shori houhou” (Processing methods utilizing vacuum-heat-high pressure treatments) (in Japanese), Japan Patent Kokai 2017-79729 (18 May 2017).
61) Y. Nakaura; “Chuhon chuhkouatsu kakoushita kajitsu kompohto” (Fruit compotes processed by medium high temperature-medium high hydrostatic pressure), Food Packag., **58**, 460-466 (2017).

要　　旨

食品高圧加工について，その特徴を解説しつつ，基礎および応用に関する取り組みについて概説した．基礎的視点からは，系統的理解が進んでいなかった澱粉の圧力糊化について，糊化および老化の有無を明確に示す状態図を作成し，その理解を進めた．また，微生物の高圧不活性化，とくに細菌不活性化に及ぼす高圧処理の影響を調べ，高圧殺菌の効用と限界とについての知見を拡げた．さらに，不十分な圧力での高圧処理後に残存しうる損傷菌について，保存中の回復挙動を保存温度の視点から精査し，損傷菌の検出時には，培養温度，培地組成に注意すべきことを提示した．応用的視点からは，ものづくりに役立つ技術として，中高圧処理を活用したかぶら寿しの促成製造法ならびに脱気中温中高圧処理による高圧加工果実コンポート製造法を提示した．

© 2020 Japan Society for Food Engineering