

【報文】

塩酸を原料にして製造した微酸性電解水による レタスの洗浄殺菌効果について

鈴木 潔^{1*}, 中村 悌一¹, 土井 豊彦²,
小久保貞之¹, 富田 守¹

The Disinfectant Effect of Slightly Acidic Electrolyzed Water Prepared with Hydrochloric Acid as a Raw Material for Lettuce

Kiyoshi SUZUKI^{1*}, Teiichi NAKAMURA¹, Toyohiko DOI²,
Sadayuki KOKUBO¹, and Mamoru TOMITA¹

¹Kinousui Project, Food Research & Development Laboratory, 1-83, 5-Chome,
Higashihara, Zama-city, Kanagawa 228-8583, Japan

²Engineering Research Center, 4-515 Tatuno, Higashiyamato-city, Tokyo 207-0021, Japan

Lettuce leaves were washed with slightly acidic electrolyzed water (SLAEW) and the disinfectant effects were measured. Even when the concentration of chlorine was changed and the temperature was raised to 50°C and detergent was used together with the treatment, about 1% of bacteria remained. Viable counts on the lettuce surface treated with SLAEW were low. Several reasons were given for the bacterial presence related, for example, to biofilms, cracks in the cuticles, and stomas. In addition, the fact was demonstrated that bacteria existed in the lettuce ducts.
(Accepted 9 June 2005)

Key words : Slightly acidic electrolyzed water (微酸性電解水)/Disinfection (殺菌)/
Vegetable (野菜)/Lettuce (レタス)/Sodium hypochlorite (次亜塩素酸ナトリウム).

緒 言

前報^{1, 2)}において筆者らは塩酸を原料にした微酸性電解水の物理化学的性質について報告した。この報告ではその工業的な利用法的一面である野菜の洗浄除菌効果について述べる。

次亜塩素酸ナトリウムは、従来から食品の殺菌・除菌に使用されてきたが、野菜や果実を殺菌しても微生物を完全に除去することは難しい(戸張³⁾, Nguyen⁴⁾)。また、強酸性電解水や微酸性電解水についても次亜塩素酸ナトリウムと同様とされる(小野⁵⁾, 山中⁶⁾, 伊藤⁷⁾, 筆者ら^{8, 9)})。野菜

の殺菌洗浄操作における生存菌の所在について明確に示した報告はなく、野菜表面における微生物の分布についても詳細は明らかにされていない。

筆者らは野菜における微生物の分布を調べることにより、野菜の効果的な除菌ができるのではないかと考え、塩酸を原料にして製造した微酸性電解水を使用してレタスの表面殺菌を試みたところ、興味ある結果が得られたので報告する。

¹森永乳業(株)食品総合研究所, 機能水プロジェクト 〒228-8583 神奈川県座間市東原5-1-83 ☎046-252-3022

²森永乳業(株)装置開発研究所 〒207-0021 東京都立野4-515 ☎042-565-1232

実験方法

1. 装置と試薬および実験材料

微酸性電解水製造装置：トーワテクノ社製（広島市）のピュアスター Mp-240, および Mp-1200 を用いた。使用にあたり, Mp-240は時間当たりの電解水の製造能力と塩酸供給量を可変できるように, 装置を一部改造した。

野菜洗浄機：ショウワ洗浄機製（横浜市）の ES1-127型を用いた。

pH 測定器：堀場製作所製（京都）の pH メーター F8と, ガラス電極 #6328-10C を用いた。

希釈装置：エルメックス社製（東京）のデルター 1000を用いた。

ストマッカー：IUL Instruments 製 (Barcelona, Spain) の Masticator を用いた。

フィルターバッグ：エルメックス社製（東京）のフィルターつき滅菌ポリエチレン製袋を用いた。

スタンプ：栄研器材製（東京）のぺたんチェック PCA を用いた。

次亜塩素酸ナトリウム：理工協産製（東京）の 10 %次亜塩素酸ソーダ（食品添加物規格）を用いた。

チオ硫酸ナトリウム：和光純薬製（東京）の試薬特級を用いた。

0.01mol/l チオ硫酸ナトリウム溶液：和光純薬（東京）を用いた。

酢酸：和光純薬製（東京）の試薬特級を用いた。

可溶性澱粉：和光純薬製（東京）の試薬特級を用いた。

塩化ナトリウム：イヌイ製（大阪）の日本薬局方規格を用いた。

塩酸：関東化学製（東京）の試薬特級を用いた。

3 %および21%塩酸：トーワテクノ製（広島市）の食添規格塩酸 3 %含有および21%含有を用いた。

標準寒天培地：栄研化学製（東京）を用いた。

水道水：座間市の市水 (pH 7.5 ± 0.2 , 有効塩素濃度 0.4 ± 0.1 ppm) を用いた。

レタスは量販店（複数）および小売店（複数）より購入した。

レタス (*Lactuca sativa* L.): 長野県, 栃木県,

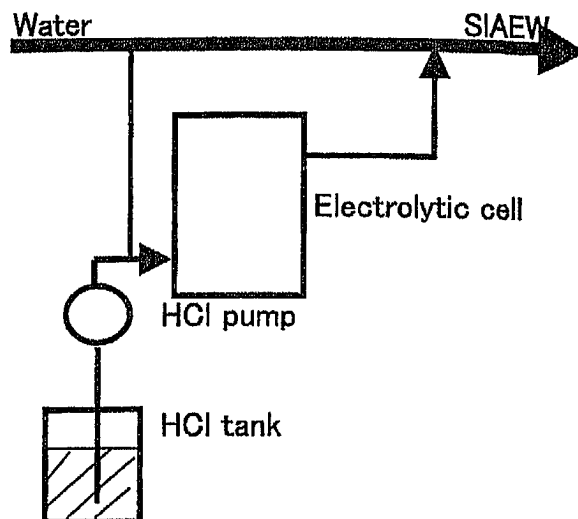


Fig.1. Flow diagram of Purester water unit Mp-1200
SIAEW: slightly acidic electrolyzed water
"Purester" unit produces SIAEW by electrolyzing HCl in a non-septum electrolytic cell.

香川県, 静岡県産 (A または AA グレード) を用いた。

微酸性電解水：水道水と 3 %塩酸を用いピュアスター Mp-240で微酸性電解水（ピュアスター水）を得た。野菜洗浄機にはピュアスター Mp-1200に21%塩酸を供給して得た微酸性電解水を使用した。製造装置ピュアスター Mp-1200の簡単なフロー図をFig.1 に示した。ピュアスター MP-240のフロー図は前報¹⁾を参照されたい。

次亜塩素酸ナトリウム溶液：10%次亜塩素酸ソーダを水道水で希釈し, 所定濃度の次亜塩素酸ナトリウム液を調整した。

残留塩素濃度の測定：よう素滴定法¹⁰⁾により測定した。

pH の測定：pH メーターとガラス電極を用いて測定した。

2. レタスの微酸性電解水による処理条件の検討

レタスは損傷した葉および外葉 2 ~ 3 枚を廃棄し, ナイフで芯を除去し, 水道水を注ぎながら 1 枚ずつていねいに葉を採取した (これを blank とする)。採取した約 4 kg の葉を野菜洗浄機にて微酸性電解水をオーバーフローさせながら, 処

理時間、有効塩素濃度、処理温度、処理回数を変化させて洗浄し、除菌効果を調べた。水道水処理は同様に水道水で洗浄した。次亜塩素酸ナトリウム溶液（以下、次亜水）処理は、所定濃度の次亜水で循環洗浄処理後、水道水の流水中で5分間すすいだ（以下、次亜水処理した試料は、水道水の流水中で5分間すすいだ）。

レタスの処理試料の微生物数調査方法は洗浄殺菌処理したレタスを20L容ステンレス製バットに入れ、サンプリングパイプ（ステンレス製、外径25mm、肉厚1mm、長さ320mm、一端を鋭利に尖らせたパイプ）で容器の上から下までレタスを突き刺し、パイプに詰まったレタスを押し出しパイプ（ステンレス製、外径18mm、肉厚2mm、長さ460mm）でフィルターバッグの中に20～25g押し出し、細菌試験に供した。野菜洗浄機を使用しなかった試料は、そのまま約20gをフィルターバッグにとり、細菌試験に供した。

3. レタスの予備洗浄効果の検討

レタスは、同一ロットのレタス32個（約16kg）の内、8個（約4kg）を無作為にとり、芯を除去後、水道水を使用せずに、葉を採取し、細菌試験に供した（無処理）。残りのレタスは、前述（処理条件の検討）と同様水道水を流しながら葉を採取し、微酸性電解水と次亜水を用い、野菜洗浄機により処理した。各試料はサンプリングパイプにより約20gをサンプリングし、細菌試験に供した。

4. 洗剤の効果の測定

レタスの葉を洗濯ネットに入れ、ファミリーコンパクト（花王、0.75ml/L）溶液（20℃、40℃）中で時々攪拌して10分間処理した。洗剤処理後、微酸性電解水をオーバーフローさせ、10L容ポリバケツの中でレタスを上下洗浄により10分間除菌した。また20℃の洗剤溶液で2～8分間時間を変えて処理し、同様に微酸性電解水で処理して除菌効果を調査し、無処理と比較した。

5. レタスの部位別微生物数の調査

5.1. 葉の位置による菌の分布の調査

購入したままのレタスを外から手袋をした手で1枚ずつはずし、フィルターバッグに入れ、細菌試験に供した。1枚の葉の重量が40gを超えたものは、ナイフで二等分し、その一方のみを細菌試験に供した。試料の重量が5g未満のものは幾枚かをあわせ、10g以上の重量として細菌試験に供した。

5.2. 野菜の部位による菌の分布の調査

レタスの葉を外から手袋をした手で1枚ずつはずし、緑色の葉の部分と白い葉柄部分を70%アルコールで殺菌したナイフで切り分けた。葉を取り除いた芯（主茎）は葉柄のついていた部位を殺菌したかみそりの刃で切り取り葉柄ができるだけ残らないように整えた。さらに、購入時の芯の切断面をナイフで厚さ約5mm除去した。葉柄を除いた葉は清浄な洗濯ネットに入れ、上下洗浄で10分間洗浄除菌した。葉柄と芯は微酸性電解水の流水中で清潔な家庭用スポンジを用いて10分間こすり洗いをした。芯は1個ずつ、葉柄は約10gをフィルターバッグに入れ、あらかじめ潰してから、細菌試験に供した。

5.3. レタスの葉の表面の菌の調査

購入したレタスの外葉2枚を廃棄した後、手袋をした手で外から6枚を丁寧に採取し、その内3枚を無作為にとり、各1枚ずつフィルターバッグに入れ、細菌試験に供した（無処理）。残りの3枚について、それぞれ表面裏面各2箇所スタンプ法で細菌試験後、微酸性電解水の流水中で10分間処理し、再度同様にスタンプ法により表面の菌数を測定した後、フィルターバッグに入れ、細菌試験に供した。

6. 細菌試験

試料はチオ硫酸ナトリウム（40mM）1mlおよび滅菌生理食塩水により、希釈装置を用いて10倍希釈した。1分間高速ストマッキング後、常法により滅菌生理食塩水で段階希釈し、標準寒天培地を用い、35℃で48時間培養し、各試料1g当たりの生菌数を計測した。コロニーが小さく異物と判別が難しい場合は、仮計測後さらに25℃、24

時間培養し、最終コロニー数を計測した。

実験結果

1. レタスの微酸性電解水による処理条件の検討

有意の差の有無は、F 検定および t 検定の結果により判断した ($p < 0.05$)。図には、a, b, c, (a', b', c') により検定結果を表示した (以下の文にも適用する)。

1. 1. 処理時間の検討

レタスについて処理時間の影響を検討し、

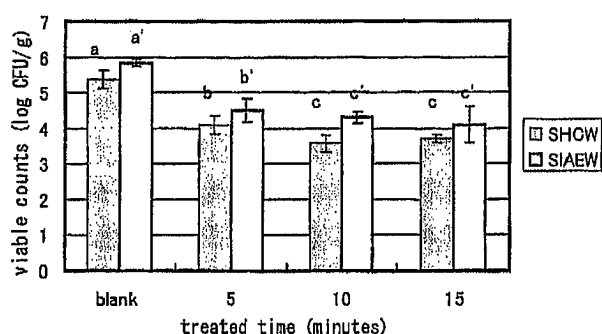


Fig. 2. The effect of treatment time with the tested solution.

SIAEW : slightly acidic electrolyzed water, SHCW : sodium hypochlorite solution, av.Cl : available chlorine concentration, blank : the core of the lettuce was picked out with clean knife, and tap water poured into its hole. Then lettuce leaves separated. (These abbreviations apply in all figures.)

Both tests involved treatment with a vegetable washer. SIAEW was with av.Cl 7.0-7.5, pH 5.91-5.93, at 15.2-16 °C. SHCW was with av.Cl 205-222ppm, pH 8.60-8.77, at 16.8-19.3°C.

To enumerate the microorganisms, samples were combined with 9 times of sterile 0.85% NaCl solution in a sterile polyethylene bag with a filter and pummeled with a Stomacher for 1min. at high speed. Fluid was serially diluted, and 1ml was mixed with approximately 15 ml of Standard Plate Count Agar (Eiken, Tokyo Japan).

All pour plates were duplicated and incubated at 35°C, for 48h, and if necessary at 25°C for 24h more, and then colonies were counted. (These test methods apply to all figures.)

Results are means \pm SD, n=8 without the maximum and minimum data. Values with different letters (a,b,c, or a',b',c') in the figure differ significantly at $P < 0.05$. (These expression of results and statistics apply to all figures in this report without being especially stated.)

Both solutions showed 5 minutes of treatment to be insufficient, and 10 minutes were needed.

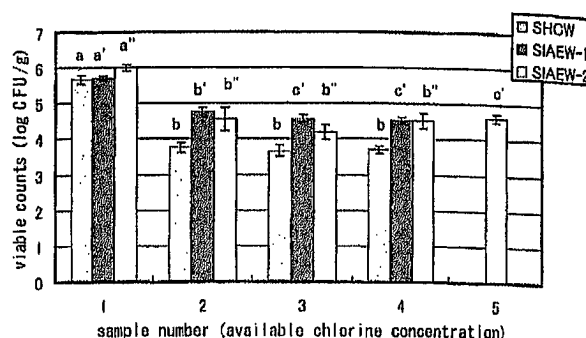


Fig. 3. The effect of the available chlorine concentration of SIAEW and SHCW.

SHCW sample NO.1: blank, NO.2: av.Cl 51ppm, NO.3: av.Cl 102ppm, NO.4: av.Cl 208ppm, (pH 8.37-8.76). SIAEW-1 sample NO.1: blank, NO.2: av.Cl 3.5ppm, NO.3: av.Cl 7.0ppm, NO.4: av.Cl 11ppm, NO.5: av.Cl 15ppm, (pH 5.44-5.76). SIAEW-2 sample NO.1: blank, NO.2: av.Cl 10ppm, NO.3: av.Cl 20ppm, NO.4: av.Cl 30ppm, (pH 6.0-6.07). These tests were treated with a vegetable washer for 10 minutes.

The available chlorine of SIAEW was needed over 7 ppm to treat for lettuce, and there was not a change in effect from 50 to 200ppm in SHCW case.

Fig. 2 に示した。レタスを有効塩素濃度 7 ppm の微酸性電解水で処理した場合、5 分間処理は、10分間処理に比べ有意に菌が多く残っていた。10分と15分では差がなかった。有効塩素濃度 200 ppm の次亜水で処理した場合も、5 分では有意に多く残り、10分と15分間処理では差がなかった。よって以後の処理は特に記載した場合を除いて10分間処理とした。

1. 2. 有効塩素濃度の影響の検討

レタスを用いた有効塩素濃度の影響について調査した結果を Fig. 3 に示した。レタスについて微酸性電解水の有効塩素濃度の影響を調査した結果、3.5ppm では有意に多く菌が残存したが 7 ppm, 11ppm, 15ppm では差がなかった。また、10ppm, 20ppm, 30ppm で処理した場合、互いに有意の差はなかった。次亜水について同様に調査した結果、50ppm, 100ppm, 200ppm の間に有意の差はなかった。

1. 3. 処理温度の影響の検討

レタスについて処理温度の影響を調査した結果を Fig. 4 に示した。室温から 50°C までは温度上昇により残存菌数は減少したが、50°C 処理においても初発菌数の約 1.7% の菌が残った。処理温

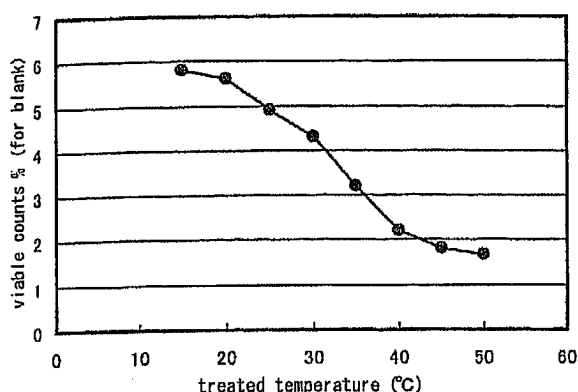


Fig.4. The effect of treatment temperature of SIAEW. These tests were done with SIAEW (av.Cl 7-8ppm, pH 5.61-6.2) treatment for 10 minutes with a vegetable washer.

The viable counts from the lettuce remained about 1.7% even if treated at 50°C.

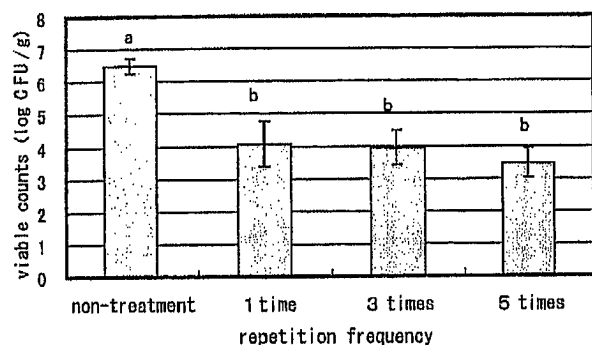


Fig.5. The effect of repetitive operations of SIAEW. SIAEW was av.Cl: 26.4ppm, pH 6.35, at 18°C. Each portion of samples were treated with running SIAEW for 10 minutes.

The disinfectant effect did not change by frequency of repetitions.

度が50°Cを超えるとレタスの葉が一部褐変化したので、それ以上の温度では試験しなかった。

1.4. 処理回数の影響の検討

Fig.5 にレタスの重回洗浄効果の実験結果を示した。2回以上洗浄・除菌を繰り返しても除菌効果の上昇は有意でなかった。

1.5. 弁当惣菜衛生規範の洗浄条件

レタスの衛生状態は、弁当惣菜衛生規範¹⁾によれば、「遊離残留塩素100ppm以上の次亜塩素酸ナトリウムに約10分間浸漬した後、十分な流水ですすぎ洗いを行う」とされている。微酸性電解水を用い弁当惣菜規範と同様の結果が得られる条件を求め、結果を Fig.6 に示した。野菜洗浄

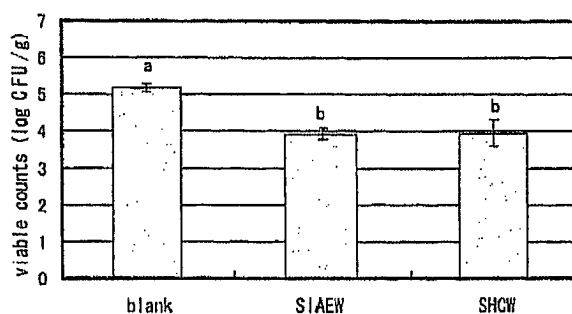


Fig.6. The equality test of SIAEW and SHCW. Treatment with SIAEW was av.Cl 7.5ppm at 16°C for 10 minutes with a vegetable washer. Treatment with SHCW was av.Cl 207 ppm at 16°C for 10 minutes with soaking and occasional mixing.

SIAEW (av.Cl 7.5ppm) washer treatment and SHCW (207ppm) soaking treatment were equal.

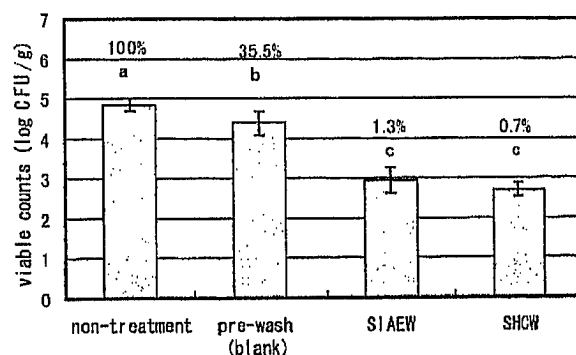


Fig.7. The effect of preparatory wash by tap water. pre-wash : preparatory wash. Preparatory wash was the same as the blank (show Fig.2). SIAEW was at av.Cl 9ppm, pH 5.44, at 18°C and blank was treated with running SIAEW for 10 minutes. SHCW was at av.Cl 200ppm, pH 8.75, at 18°C, and the blank was soaked with SHCW for 10 minutes. SIAEW and SHCW tests used a vegetable washer.

The disinfectant effect of preparatory wash of the lettuce was a decrease of about 65% viable counts.

機を用い、有効塩素濃度 7 ppm 以上で、10分間処理により弁当惣菜衛生規範の条件と同等の結果が得られた。

2. レタスの予備洗浄効果の検討

レタスの水道水による予備洗浄効果を測定し、結果を Fig.7 に示した。レタスは予備洗浄で約65%の菌が減少した。

3. 洗剤の効果の測定

レタスの洗剤の影響について調査した結果を

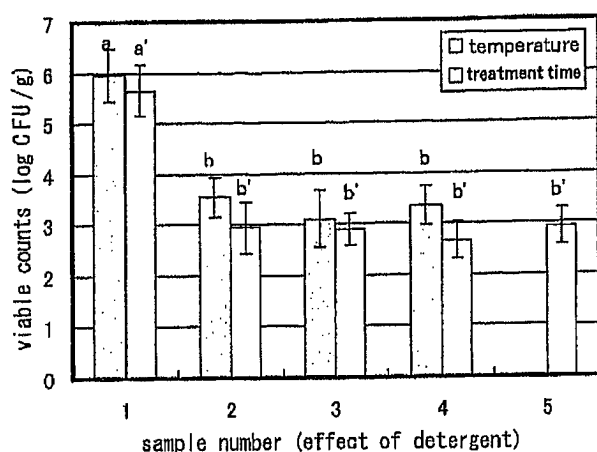


Fig.8. The effect of detergent treatment. "temperature": the effect of treatment temperature of detergent. "treatment time": the effect of treatment time with detergent. The detergent (Family compact, Kao, Tokyo) concentration was 0.75ml/L. Temperature sample NO.1: non-treatment, NO.2: SIAEW, NO.3: detergent (20°C) + SIAEW, NO. 4: detergent (40°C) + SIAEW. SIAEW was av.Cl 21ppm, pH6.03, temp. 18.2°C. Temperature samples NO. (3 and 4) were treated with detergent for 10 minutes then treated with SIAEW for 10 minutes. Treated time sample NO. 1: non-treatment, NO. 2: SIAEW, NO. 3: detergent (2') + SIAEW, NO. 4: detergent (4') + SIAEW, NO. 5: detergent (8') + SIAEW. SIAEW was 20ppm, pH 6.21, at 18°C. Treated time samples NO. (3, 4 and 5) were treated with detergent at 18°C then treated with SIAEW for 10 minutes.

The disinfectant effect did not change by the detergent treatment.

Fig.8 に示した。レタスを洗剤で予備洗浄後、微酸性電解水で洗浄した結果は、微酸性電解水単独処理による結果と変わらなかった。また、試験した範囲において、洗剤の温度も処理時間も除菌効果を上昇させる効果はなかった。

4. レタスの部位別微生物数の調査

4.1. 葉の位置による菌の分布の調査

レタスの葉を1枚ずつ外からはずして、菌数を測定した結果を Fig.9 に示した。中心に向かうに従い菌数は減少する傾向があった。

4.2. レタスの部位による菌の分布の調査

Fig.10にレタスの部位について調査した結果を示した。微酸性電解水処理後の葉と葉柄の間には差はなかったが、芯は有意に多くの菌が残っていた。

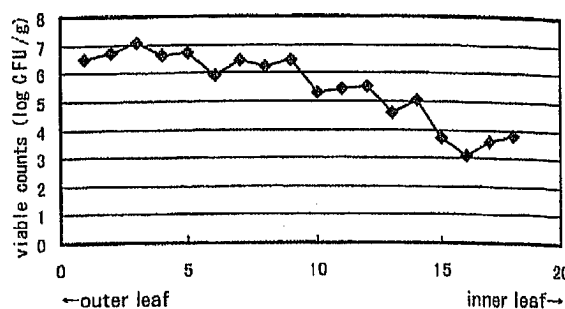


Fig.9. The bacterial number of lettuce leaf. The each leaf was combined with 9 times volume of sterile physiological saline solution in a sterile polyethylene bag with a filter. Then it was pummeled with a Stomacher for 1 minute at high speed.

The bacterial number decreased as the leaf reached the center of the lettuce.

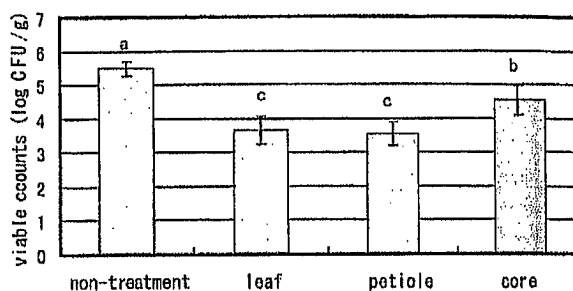


Fig.10. The distribution of bacteria in lettuce "non-treatment": the whole leaf, "leaf": the leaf without the petiole treated with running SIAEW for 10 minutes, "petiole": the petiole scrubbed with a sanitary sponge on its surface in running SIAEW for 10 minutes, "core": the core scrubbed with sanitary sponge on its surface in running SIAEW for 10 minutes.

The lettuce leaf without the petiole had the same counts as the petiole, but the core had higher counts.

4.3. レタスの葉の表面の菌の調査

ストマッカー法によるレスの菌数は平均値で、無処理1,600,000CFU/g、処理後67,000CFU/gであった(残存率約4%, n=3)。スタンプ法によるレタスの葉の表面の菌数は、処理前はコロニーが多く計測不能、処理後は平均14CFU/20cm² (n=12)であった(Pic. 1)。また、統計処理は出来なかったが、葉の表裏、左右で菌数の差はなかったため、スタンプの結果と葉全体の菌の分布が同じであったと仮定すると、微酸性電解水処理後のレタスの葉の表面の菌数は、平均約180CFU/枚(葉)であった。

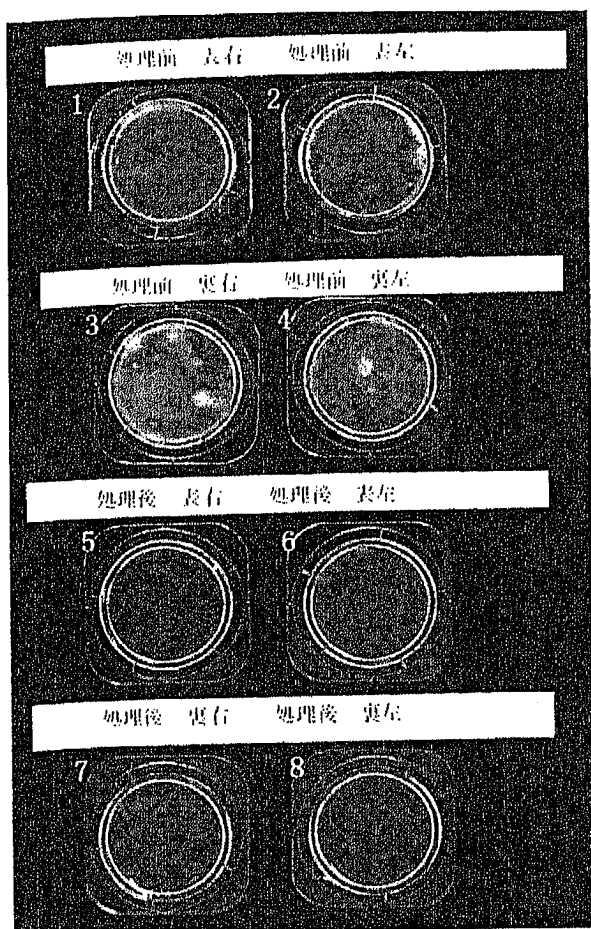


Fig.1. Stamp test of lettuce leaf surface

1 & 2: inside surface of the lettuce leaf before treatment with SIAEW.

3 & 4: outside surface of the lettuce leaf before treatment with SIAEW.

5 & 6: inside surface of the lettuce leaf after treatment with SIAEW.

7 & 8: outside surface of the lettuce leaf after treatment with SIAEW.

Lettuce leaves were treated with SIAEW (av. Cl 31ppm, pH 5.90, at 18.3°C) for 10 minutes.

Viable counts from the lettuce surface treated with SIAEW were low.

考 察

筆者らはレタスについて微酸性電解水による処理時間の影響を調査し、10分間以上処理しても結果は変わらないという結果を得た。Adamsら¹²⁾はレタスを用い次亜水中で5分間洗浄と30分間洗浄の結果は変わらなかったと報告している。レタスを除菌処理する有効塩素濃度は7 ppm以上30 ppmまで除菌効果に有意の差はなかった。レタスについて処理温度の影響を調査した結果、

温度の上昇に伴い除菌効果は上昇したが、50°Cで処理しても初発菌数の1%以上が残存した。亀井ら¹³⁾は、次亜水について試験し、40°Cまで菌数の変化はわずかであったが、50°Cで急激な菌数減少が見られたと報告した。レタスについて重回洗浄効果を調査した結果は2回以上洗浄しても効果は変わらなかった。この結果は亀井ら¹³⁾の次亜水を用いた結果と一致した。

レタスを用い、弁当惣菜規範の条件を満たす微酸性電解水処理の条件は、有効塩素濃度7 ppm以上、室温で野菜洗浄機を用い、10分間処理することであった。

レタスの水道水による予備洗浄効果は、約65%であった。予備洗浄したレタスを使用した微酸性電解水処理により残存した菌数は約5%であった (Fig.2, 3) ので $35 (\%) \times 0.05 = 1.8 (\%)$ となり、実験誤差の範囲で同時測定値1.3%残存と一致した (Fig.7)。

上述したように、レタスの場合は、微酸性電解水による1回洗浄の時間が10分間の室温処理であれば、同一条件で繰り返し洗浄しても、界面活性剤で前洗いしても、有効塩素濃度を食品添加物規格内で変動させても、統計的に有意な除菌効果の上昇は得られなかった。この傾向は強酸性電解水処理も同様であったと報告されている (小野⁶⁾, 小関¹⁴⁾, 泉¹⁵⁾)。微酸性電解水、強酸性電解水や次亜水によりレタスを処理したとき、どの方法で処理してもレタスには初発菌数の約1%程度が生残する理由について以下で検討する。

Fig.9で示したようにしっかり巻いたレタスの中心部の葉にも多数の菌が存在した。成長点には菌がない¹⁶⁾とされており、また外部から表面の葉の隙間を通り入り込むだけであれば、菌数があまりに多いと考えられる。①Fig.10で示したようにレタスの芯にかなりの菌が存在し、葉と同程度の菌が存在したと考えられること。②葉柄の表面を微酸性電解水中でスポンジを用いて擦り、表面の菌を出来る限り除去しても、葉柄を取り除いた葉と同程度の菌が存在したこと (Fig.10)。③Itohら¹⁷⁾はカイワレ大根の導管中に *E. coli* O157:H7 が侵入することを証明したこと。④レタスの導管の直径は約22.2 μm (Fig.11) あり、

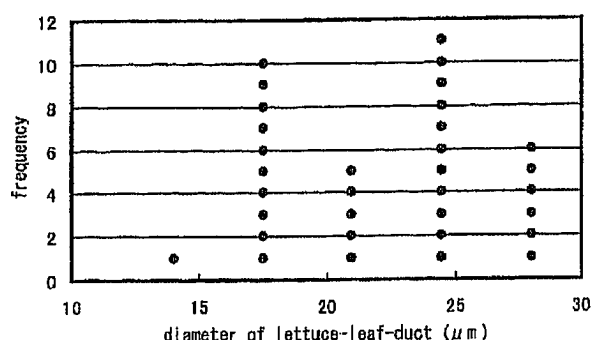


Fig.11. The distribution of diameter of lettuce leaf duct. Lettuce leaf ducts were measured by the pictures of phase contrast microscope. Mean was 22.2 μ m. The diameters were large enough to allow the passage of bacteria.

十分菌が侵入し移動できる大きさであること。⑤微酸性電解水で処理したレタスの葉の表面にはほとんど菌が存在しなかったこと (Pic. 1)。①～⑤の結果を考え合わせるとレタスの導管にも菌が入り込んで、導管を通り中心部の葉を汚染させたと考えられる。

浸透性の乏しい微酸性電解水ではいろいろな方法を組み合わせても初発菌数の約1%が残る理由は、既に報告されている気孔の中、バイオフィルムの中、クチクラのクラックの中や表皮の損傷箇所 (Adams¹⁸⁾, Morris¹⁹⁾, Seo²⁰⁾, Takeuchi^{21, 22)}, Koseki²³⁾) だけではなく、葉の内部に多数存在する導管にも菌が存在し、導管に存在する菌は浸透性の乏しい微酸性電解水、次亜水、および強酸性電解水では殺菌できないと考えられる。

導管に入り込んだ菌は畑で生育している状態でも存在するか、収穫時の芯の切断による汚染のためか、という問題は今後の課題としたい。

文 献

- 1) 鈴木 潔, 中村悌一, 小久保貞之, 富田 守, (2005), 塩酸を原料にした微酸性電解水の物理学的性質, 防菌防黴, 33 (2), 55-62.
- 2) 鈴木 潔, 中村悌一, 小久保貞之, 富田 守, (2005), 塩酸を原料にした微酸性電解水の化学的性質, 防菌防黴, 33 (2), 63-71.
- 3) 戸張眞臣, 佐藤藤孝, 西田 敦, (1992), 細菌の洗浄除去, 月刊フードケミカル, (2) 82-91.
- 4) Christophe Nguyen-the, Frederic Carlin, (1994), *The Microbiology of minimally Processed Fresh Fruits and Vegetables*, 34 (4), 371-401.
- 5) 小野晴寛, 古賀秀徳, 村本信幸, (1993), 特殊処理水による青果物の除菌効果, すかいらくフードサイエンス研究所報告NO. 2, 31-35.
- 6) 山中信介, (1995), 電解酸化水を利用した衛生管理技術, 食品加工技術, 15 (2), 103-112.
- 7) 伊藤和彦, (2001), 電解水を用いたカット野菜の殺菌について, 食品工業, 44 (24), 25-30.
- 8) 鈴木 潔, 中村悌一, 土井豊彦, 加藤 良, 外山一吉 (1999), 塩酸を原料にした電解塩素水の特性について (第3報) 日本防菌防黴学会第20回年次大会要旨集, 65.
- 9) 中村悌一, 鈴木 潔, 土井豊彦, 加藤 良, 外山一吉 (1999), 塩酸を原料にした電解塩素水の特性について (第4報), 日本防菌防黴学会第20回年次大会要旨集, 66.
- 10) 日本規格協会 (1993), JIS K 0102, 36.2 よう素滴定法, 東京.
- 11) 食品衛生研究会編集, (2004), 昭和54年6月29日 環食第161号 弁当およびそうざいの衛生規範について, 食品衛生小六法, pp1255-1270, 新日本法規出版(株), 東京.
- 12) Adams M. R., Hartley A. D., Cox L. J. (1989), Factors affecting the efficacy of washing procedures used in the production of prepared, Food Microbiology, 6 (2), 69-77.
- 13) 亀井正治, 神戸 保, 藤田忠雄, 江川文雄, 吉村 陽, 来住輝彦, 尾立純子, 瓦家千代子, 佐々木清司, (1982), 次亜塩素酸ソーダ加温溶液浸漬による生野菜の消毒について, 大阪市立環境科学研究所報告 調査・研究年報, (44), 77-82.
- 14) 小関成樹, 伊藤和彦, (2000), 電解水によるカット野菜の洗浄・殺菌における物理的補助手段の併用効果, 日本食品科学工学会誌, 47 (12), 914-918.
- 15) 泉 秀実, (2004), 酸性電解水のカット野菜の殺菌剤としての利用効果, 防菌防黴, 32 (2), 91-97.
- 16) 竹内正幸, 中島哲夫, 古谷 力編集 (1986) 植物組織培養の技術, p120, 朝倉書店, 東京.
- 17) Yoshinori Itoh, Yoshiko Sugita-Konishi, Fumiko Kasuga, Masaaki Iwaki, Yukiko Hara-Kudo, Noriko Saito, Yoko Noguchi,

- Hiroataka Konuma, susumu Kumagai, (1998), Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 Present in Radish Sprouts. *Applied and Environmental Microbiology*, 64 (4), 1532 – 1535.
- 18) M. R. Adams, A.D.Hartley, L. J. Cox, (1989), Factors affecting the efficacy of washing procedures used in the production of prepared salads. *Food Microbiology*, 6, 69 – 77.
- 19) C. E. Morris, J. M. Monier, M. A. Jacques, (1997), Method for Observing Microbial Biofilms Directly on Leaf Surfaces and Recovering Them for Isolation of Cultural Microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 63 (4), 1570 – 1576.
- 20) K. H. Seo, J. F. Frank, (1999), Attachment of *Escherichia coli* O157:H7 to Lettuce Leaf Surface and Bacterial Viability in Response to Chlorine Treatment as Demonstrated by Using Confocal Scanning Laser Microscopy. *Journal of Food Production*, 62 (1), 3–9.
- 21) Kazue Takeuchi, J. F. Frank, (2000), Penetration of *Escherichia coli* O157:H7 into Lettuce Tissues as Affected by Inoculum Size and Temperature and the Effect of Chlorine Treatment on Cell Viability. *Journal of Food Production*, 63 (4), 434–440.
- 22) Kazue Takeuchi, J. F. Frank, (2001), Quantitative Determination of the Role of Lettuce Leaf Structures in Protection *Escherichia coli* O157:H7 from Chlorine Disinfection. *Journal of Food Production*, 64 (2), 147–151.
- 23) S. Koseki, K. Itoh, (2001), Prediction of Microbial Growth in Fresh-Cut Vegetables Treated with Acidic Electrolyzed Water During Storage under Various Temperature Condition. *Journal of Food Production*, 64 (12), 1935–1942.