

好気性微生物(ほうれん草)の不活性化における微酸性電解水の効果.
Efficacy of Slightly Acidic Electrolyzed Water on inactivation of aerobic
microorganism present on intact (*Spinacia oleracea* L.) leaves.

鹿児島大学 農学部

Laboratory of Food & Agricultural Process Engineering,

Faculty of Agriculture, Kagoshima University

〒890-0065 鹿児島市郡元 1-21-24

Korimoto 1-21-24, Kagoshima, Japan 890-0065

PhD. Student

Guest Researcher

Professor

Professor

A・イッサ・ザカリア

紙谷 喜則

守田 和夫

岩崎 浩一

Abdulsudi Issa-ZACHARIA

KAMITANI, Yoshinori

MORITA, Kazuo

IWASAKI, Kouichi

1. 要約

本研究では、ほうれん草を用いて、微酸性電解水(SAEW: pH5.88, 有効塩素濃度 (ACC) 20.5mg/L)の微生物不活性化効力を次亜塩素酸ナトリウム溶液: pH9.9, (ACC) 103mg/Lと比較した。ほうれん草に存在する好気性菌は、SAEWと次亜塩素酸ナトリウムによる洗浄で、それぞれ99.5%、90%減少した。NaClOの有効塩素濃度は、5倍であるにも関わらずSAEWの方が高い効果が得られた。また、SAEWを密閉して25℃にて貯蔵した場合の抗菌力の維持とその間の物理化学特性について測定した。

2. 序論

果実や野菜は、圃場、果樹園、採収、輸送、加工処理、市場、小売および家庭で食するまでの過程で、食中毒事故を引き起こす微生物にて汚染されることがある。その汚染は、ポストハーベスト、小売店、食品提供、家庭での人が介する工程で起こることもある。果実と野菜の病原微生物の混入を予防すること、および適切にそれを除去することが、収穫前・収穫後から消費者に至るまで維持することが望まれている。塩素を原料とした殺菌剤(特にNaClO)は長い間、この目的で使用されている。生食用の食材と農作物に対するNaClOの殺菌効果には限界があることが指摘されている(Suslow, 2001)。殺菌効果を増大させるために、高い濃度NaClOを使用する場合には、食品価値を損ねることが指摘されている(Adams, 1989)。この問題に対して、電解水(EW)を使用することが新しい殺菌剤代替として農作業、食品工業で使用され、環境と人体に対しても安全であると紹介されている(Al-Haq and Sugiyama, 2005)。酸性電解水(AEW)は、他の薬品よりも広く使用されているが、それには、強酸性(StAEW, pH2.5±0.2)とSAEW(pH5-6.5)の酸性電解水がある。食物と農業でAEWのアプリケーションに関連する文献の大部分は、StAEWを用いて病原菌の不活性化を扱ったものである(Kim et al., 2000a)。商業的に紹介されているSAEWのインビトロにおける研究では、強い殺微生物、殺ウイルス、殺菌効果が得られることを示している(Okamoto et al., 2006)が、SAEWは、食物と農工業における殺菌方法として比較的新しい概念であり、あまり多くの報告がされていない。SAEWは、StAEWより優れた保存の能力を持っていると報告されている(Suzuki et al., 2005)が、その報告には、どんな貯蔵方法の下で貯蔵されたか、貯蔵期間にその抗菌力を維持することができるかについて記載されていない。本研究は、SAEWの保存期間における安定性と好気性細菌の殺菌効果をほうれん草(*Spinacia oleracea* L.)を用いてNaClO溶液と比べることで明らかにすることを目的に行われた。

3. 材料と方法

ホウレン草は、鹿児島市内のスーパーマーケットで購入し、健全な状態であることを確認して、損傷のある葉は取り除き、10℃で保存し2日以内に使用した。SAEWは、微酸性電解水生成装置(Apia60, HOKUTY社, 神奈川, JAPAN)を用い、1.0L/minでHCl(2%)溶液と水道水により希薄混合溶液を電解して生成した。比較対照として、約100mg/L ACCを含むNaClO溶液を準備した。試験水は、pH計(HM-14P; TOAエレクトロニクスLtd., 東京, JAPAN 電極: GST-2419C)を使用してpHを測定した。ORP計(RM-12P, TOA Electronics Ltd., 東京, JAPAN ORP電極(PST-2019C))を使用してORPを測定した。有効塩素濃度は、分光々度計(DR/4000V, HACH Co., Loveland, U.S.A)を用い、分光々度計法によって測定された。10リットル(260mm x 224mm x 250mm)のポリエチレンプラスチックコンテナの中に貯蔵し、SAEWのORP, pH, ACCの経時変化を以下の4つの貯蔵条件下でテストした。開放と密閉、遮光と透明、満液と半分、および保存温度10℃と25℃を組み合わせた。ORP, ペーハーおよびACC値は14日間毎日測定した。サンプルのほうれん草30gは、水道水(コントロール)とSAEW又は、NaClO溶液(ACC100mg/L)にて室温で処理した。ホウレン草は、第一試験では、前洗いせず1000mLのサンプル水(SAEW, NaClO溶液と水道水: コントロール)に5分間浸漬した。第二試験では、水道水による5分の前洗い工程を行い、各サンプルによる浸漬時間を5, 10, 15と20分(浸漬容量1000mL)に設定して実験を行った。浸漬時間に達した時点で、サンプル水を排水し、無菌状態にて2分間乾燥させた。非洗浄と洗浄後の好気性細菌数を計測するために、サンプル菌液は、希釈したのち二枚の標準寒天培地(NISSUI Pharmaceutical, Ltd, JAPAN)に播種し、37±3℃にて48時間培養し、生菌数はlog₁₀ CFU/g(サンプル)として示した。

$$\% \text{ reduction} = 100 \times \frac{\text{Untreated}_{\text{CFU/g}} - \text{Treated}_{\text{CFU/g}}}{\text{Untreated}_{\text{CFU/g}}}$$

4. 結果と考察

SAEW溶液の初期のpH, ORPおよびACCは、5.88, 845mV, および20.5mg/Lであった(Table 1)。広口の開放容器と半分量の貯蔵ボトルを除いては、測定期間内における変化は、pH5-6.5, 有効塩素濃度

Table 1: Effect of a 14 days storage under different condition on pH, ORP (mV) and ACC (mg/l) of slightly acidic electrolyzed water

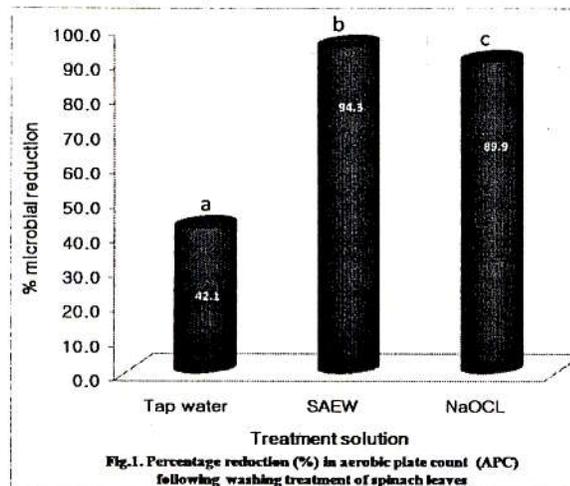
Storage conditions	ORP (mV)		pH		ACC (mg/L)	
	Initial (Day 0)	Final (Day 14)	Initial (Day 0)	Final (Day 14)	Initial (Day 0)	Final (Day 14)
Clear, closed, full, 25° C	845	880	5.88	6.43	20.5	18
Dark, closed, full, 25° C	845	885	5.88	6.38	20.5	18
Clear, closed, half filled, 25° C	845	855	5.88	6.90	20.5	18.2
Clear, open, full, 25° C	845	780	5.88	7.37	20.5	5.8
Clear, closed, full, 10° C	845	889	5.88	6.09	20.5	18.9

度10~30mg/Lであり、厚生労働省が食品添加物に認めている範囲の間で収まった。SAEWの有効塩素濃度は、もともと少ないが保存期間中に、徐々に減少していく傾向が見られた。全ての条件中で、開放系のボトルを用いた場合には、SAEWの有効塩素濃度は急激な消失が確認された。25℃で14日間保存した場合、開放ボトルではACCが72%減少したが、密閉ボトルでは、透明・遮光によらず12%の減少に留まった(Table 1)。透明で密閉されたボトルを10℃で保存した時の有効塩素濃度は8%減少した。同様に半分量で25℃の場合には11%の減少であった。これらの結果は、小出ら(2009)が行ったSAEWの

様に半分量で25℃の場合には11%の減少であった。これらの結果は、小出ら(2009)が行ったSAEWの

遮光状態で蓋をきちんと閉めた場合とそう出ない場合の1週間貯蔵した時に、9.5%と95.8%の有効塩素濃度減少した実験結果と一致している。開放状態での有効塩素濃度の高くて急激な減少は、Lenら(2002)によって、蒸発における一次速度論に従うと報告されている。一方、密閉状態の有効塩素濃度の消失は塩素の自己分解によるものであると報告されている(ホワイト, 1999)。

微生物不活化における, SAEW(ACC20.5mg/L, pH6.88, ORP 845mV)の効力は, NaClO 溶液(ACC 103mg/L, pH9.9, ORP 604mV)と水道水(コントロール)を前洗浄無しの区にて5分間洗浄で比較した(Fig.1)ところ, NaClO 溶液は SAEW よりも5倍の有効塩素濃度を含有しているにも関わらず, SAEW と NaClO の減菌率はそれぞれ94.3%と89.9%となり有意な差がえられた($P < 0.05$)。



低濃度である SAEW の効力はこの pH におけるおよそ 97%が HClO を形成することにより微生物殺菌活性を増加させている可能性があるとして Sapers(2006)によって報告されている。また、この pH による塩素含有水が最も微生物殺菌効果が高い pH 範囲であることを Parish 他(2003)によって報告されている。水道水による5分間の前洗浄を行うと、前洗浄しない区と比べて好気性菌の減菌率が有意に減少した($P < 0.05$)、その割合は前洗浄なし $93.3 \pm 1.06\%$ であり、前洗浄ありの時 $99.5 \pm 0.02\%$ であった(Table 2)。このことは、小関・五十部(2007)が報告した、強酸性電解水(pH2.6, ACC 30mg/L)がキャベツ葉の好気性菌が $2 \log_{10}$ CFU/g (99%) 減少した結果、および、小出らが微酸性電解水(pH6.1, ACC 20mg/L)を用いてキャベツに存在している好気細菌の減少率が $1.5 \log_{10}$ CFU/g(約99%)との報告と結果は一致している。しかし、水道水のみで洗浄する場合には、微生物的安全性の一般的な条件を達成することができないと思われる。今回の研究結果でも、水道水のみで洗浄した場合の好気性菌の減少率は42%であった(Fig.1)。ハウレン草と微酸性電解水との暴露時間を5~20分変えても、微生物不活性効果は変化しなかった($P > 0.05$)。すべての暴露時間において好気性菌が99%近く減少している (Table 3) ことから、微生物不活性化効果が変わらなければ、暴露時間を長くすることで、不必要な費用と時間を浪費するだけなのでそれは避けるべきである。

Table 2-The Effect of a 5 min pre-washing step before SAEW washing treatment on percentage reduction of aerobic plate count (APC)

Treatment	n	Aerobic plate count (APC) reduction express in (%)
SAEW1	30	93.3 ± 1.06^a
SAEW2	30	99.5 ± 0.02^b

¹: Washing with SAEW without a pre-washing step

²: Washing with SAEW following a pre-washing step with running tap water for 5 min
Values are mean \pm standard error with n=30 for each treatment. Values of means in the same column preceded by different lower case letters showed significant difference ($P < 0.05$).

Table 3-Percentage reduction of aerobic plate count (APC) on spinach samples treated with SAEW with a pre-washing step of different wash time.

Treatment time (min)	n	Aerobic plate count (APC) reduction express in (%)
5	10	99.27 ± 0.03^a
10	10	99.15 ± 0.04^a
15	10	99.15 ± 0.04^a
20	10	99.14 ± 0.05^a

Values are mean \pm standard error with n=10. Values of means in the same column preceded by same lower case letters showed no significance difference ($P > 0.05$)

5. 結論

微酸性水(pH5.88, ACC 20.5mg/L)と NaClO 溶液(pH9.9, ACC103mg/L)を用いて, 新鮮なホウレンソウ葉の好気細菌不活性化効力を測定した結果, NaClO 溶液は, 微酸性電解水の有効塩素濃度より5倍も高い濃度であるにも関わらず殺菌効果が低い結果であった. 微酸性電解水は, 貯蔵期間における安定性があり, 低い有効塩素濃度であることを考えると, 生食野菜や果物の殺菌および, 農業や食品工業で環境にやさしいアプリケーションとなる可能性を有する.

6. 参考文献

Adams, M.R., Hartley, A.D. and Cox, L.J. (1989). Factors affecting the efficacy of washing procedures used in the production of prepared salads. *Food Microbiol*, 6, 69-77.

Al-Haq, M.I., J.Sugiyama and S. Isobe. 2005. Applications of Electrolyzed Water in Agriculture & Food Industries. *Food Sci Technol Res*. 11(2): 135-50.

Kim, C., Y.C. Hung. and R. E. Brackett. 2000a. Efficacy of electrolyzed oxidizing (EO) and chemically modified water on different types of foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*.61:199-207

Koide, S., Takeda, J., Shi, J., Shono, H., Atungulu, G.G. (2009). Disinfection efficacy of slightly acidic electrolyzed water on fresh cut cabbage. *Food Control* 20 (294-297).

Koseki, S. and Isobe, S. (2007): REVIEW Microbial Control of Fresh Produce using Electrolyzed Water. *JARQ*, 41 (4): 273-82

Len, S.V., Hung, Y.C., Erickson, M. and Kim, C. (2000): Ultraviolet spectrophotometric characterization and bactericidal properties of electrolyzed oxidizing water as influenced by amperage and pH. *J Food Prot*, 63(11):1534-7.

Okamoto, M., Komagata, Y., Okuda, S., Nishimoto, Y., Kamoshida, M. and Komiyama, K. (2006): Microbicidal Effect of Slightly Acidic Electrolyzed Water. *J Antibact Antifung Ag*, 34 (1), 3-10.

Parish, M.E., Beuchat, L.R., Suslow, T.V., Harris, L.J., Garrett, E.H., Farber, J.N. and Busta, F.F. (2003): Methods of reduce/eliminate pathogens from fresh and fresh-cut produce. *Comp Rev Food Sci Food Safe*, 2, 161-73.

Sapers, G.M. (2006): Washing and sanitizing treatments for fruits and vegetables. In: Sapers, G.M., Gorny, J.R., Yousef, A.E, editors. *Microbiology of fruits and vegetables*. Boca Raton, Fla.: CRC Press. p 375-400.