

## NaCl を電解処理して生成した電解水による 各種食材の最適洗浄・殺菌処理方法の検討

島村 裕子, 増田 修一

静岡県立大学食品栄養科学部

**概要** 近年, 消費者の食に対する安全・安心への関心が高まり, 衛生面における適切な対応が課題である。これまで, 実験室レベルでの殺菌法が検討されているが, 食材ごとに適した方法に関する報告は少ない。そこで, 本研究では, 各種食材の最適洗浄・殺菌処理方法を確立することを目的に, NaCl を電解処理して生成した電解水を用いた殺菌法の最適条件を検討した。

試験液として, 滅菌水(control), 強酸性電解水(<pH2.7, 20 ppm), 微酸性電解水(pH6.0, 30 ppm), 電解次亜水(pH8.0, 40 ppm)および次亜塩素酸ナトリウム水溶液(NaClO; pH8.0, 40 ppm)の計 5 種類を, 供試菌株として, *Staphylococcus aureus* C-29, *Salmonella* Enteritidis NBRC3313 および *Escherichia coli* ATCC 10798 を用いた。各試験液の有機物(ウシ血清アルブミン; BSA)共存下における殺菌効果を調べたところ, 電解次亜水では, 5% BSA 共存下においても殺菌効果が維持された。また, 鶏むね肉 10 g を用いて試験液(100 mL)の最適浸漬回数を検討したところ, 3 回で各食中毒菌数が 1.0 logCFU/g 減少した。浸漬 4 回と効果に差が認められなかったことから, 最適浸漬回数は, 3 回であると考えられた。そこで, 各試験液への浸漬 3 回における, 鶏むね肉, マグロ赤身およびレタスの殺菌効果を検討したところ, 電解次亜水は, 全ての食材で NaClO より高い, または同程度の殺菌効果を示した。また, 食中毒菌の病原因子(毒素およびバイオフィルム)の発現に対する電解水の影響を評価したところ, 電解次亜水は, 食中毒菌の病原因子の発現を有意に抑制した。さらに, 電解水処理後の食肉における品質(色差, pH, 脂質酸化度および遊離アミノ酸含有量)および処理液の安全性(変異原性)について評価し, 実用可能であるかを検討した。その結果, 電解次亜水処理後の食材の品質劣化は認められず, 処理後の試験液に変異原性も認められなかった。これらの結果より, 電解次亜水を用いた洗浄・殺菌法は, 各種食材に応用できることが示唆された。本研究の成果および今後の更なる研究により, 食品衛生分野における微生物制御法としての電解水利用への展開が期待される。

### 1. 緒言

塩化ナトリウムなどの塩化物イオン( $\text{Cl}^-$ )を含む水溶液を, 弱い直流電圧で電解処理して得られる水溶液を総称して電解水という。電解水は, 2013 年に食品添加物の殺菌料として認可されており, 食品加工および調理時の微生物汚染由来の食中毒を解決する手段として注目されている。電解条件の違いから, 様々な種類の電解水が存在し, pH2.7 以下の強酸性電解水, pH2.7~5.0 の弱酸性電解水, pH5.0~6.5 の微酸性電解水および pH7.5 以上の電解次亜水に分類されている。現在, 最も普及している

食品殺菌料は, 次亜塩素酸ナトリウム(NaClO)であるが, NaClO は, 金属腐食性, 塩素ガスの発生, 皮膚への刺激性, 有機物存在下での殺菌効果の低下や遺伝毒性物質であるトリハロメタン等の生成等の問題点が指摘されている。また, 前述の通り, 電解水には様々な種類が存在するが, どのような食材にどのタイプの電解水が適しているのか, その詳細については, 十分に検討されていない。また, 電解水を用いて食材を処理した際の副生成物や食材の品質(脂質酸化等)に及ぼす影響についての情報も少ない。

そこで、本研究では、食塩(NaCl)を電解処理して生成した各種電解水の各種食材に対する殺菌、またバイオフィーム等の食中毒菌の病原因子の発現および品質に及ぼす影響を比較し、その最適条件を明らかにすることを目的とした。さらに、これら電解水を用いた洗浄・殺菌方法により、変異原性物質等が生成する可能性を考慮し、電解水処理後の食材および処理水中の安全性について、遺伝毒性試験であるエームス試験等を用いて評価した。

## 2. 研究方法

### 2.1 有機物存在下における電解水の殺菌効果の検討

#### 2.1.1 試料液の調製

電解次亜水(40 ppm, pH 8; コトヒラ工業(株))を用いた。pH 8の電解次亜水は、原液(6,000 ppm)をMilliQ水で200 ppmに希釈し、1Nクエン酸溶液を用いてpH 8に調整した。

#### 2.1.2 接種菌液の調製および試験液処理

*Escherichia coli* JCM2449を37°Cで19時間振盪培養(前培養)した培養液30 µLをbrain heart infusion(BHI)液体培地(3 mL)に接種し、37°Cで18時間振盪培養(本培養)した。培養後、マイクロチューブに各菌体の培養液1 mLを4°C、5分間、4,000 x gで遠心分離し、滅菌PBSで2回洗浄した。菌の沈殿に1 mLの0.5または5%ウシ血清アルブミン(BSA)およびPBSを加え懸濁させた。接種菌液1 mLに対し、試験液をそれぞれ9 mL加え、混合して10分間反応させた。反応液1 mLを9 mLのチオ硫酸ナトリウムを分注した遠沈管に加えて反応を停止させた。反応後の菌液を適宜PBSで希釈し、マンニト食塩培地へ滅菌コンラージ棒にて塗布した後、37°C、48時間培養後のコロニー数を計測した。

### 2.2 食材に適した電解水の種類および洗浄条件の確立

#### 2.2.1 試料

食材として、鶏むね肉、マグロ赤身およびレタスを試験に供した。国産若鶏むね肉、マグロ赤身およびレタスは、スーパーにて購入し、4°Cで保存した。鶏むね肉およびマグロ赤身は、試験直前にアルコール消毒した包丁でカットし、約10 gになるように精秤したものをサンプルとした。レタスは4 x 4 cmにアルコール消毒した包丁でカットし、約10 gになるように精秤したものをサンプルとした。

#### 2.2.2 試験液

電解次亜水(40 ppm, pH 8; コトヒラ工業(株))、微酸性電解水(30 ppm, pH 6; (株)コア電子)および強酸性電解水(20 ppm, pH 2.7以下)、次亜塩素酸ナトリウム(40 ppm, pH 8; コトヒラ工業(株))を用いた。pH 8の電解次亜水は原液(8,700 ppm)をMilliQ水で40 ppmに希釈し、1Nクエン酸水溶液を用いてpH 8に調整した。微酸性電解水および強酸性電解水は、電解水生成装置(KC-4000およびAM-2000)を用いて生成した。次亜塩素酸ナトリウムは原液(12%)をMilliQ水で40 ppmに希釈し、1Nクエン酸水溶液を用いてpH 8に調整した。

#### 2.2.3 接種菌液の食肉への接種

*Escherichia coli* JCM2449および*Staphylococcus aureus* C-29(staphylococcal enterotoxin A産生、ヒト分離株<sup>[1]</sup>)を試験に供した。一晚培養した各菌培養液30 µLをBHI(関東化学)液体培地(3 mL)に接種し、37°Cで20時間振盪培養(本培養)した。培養後、マイクロチューブに各菌体の培養液1 mLを4°C、10分間、3,000 x gで遠心分離し、滅菌PBSで1回洗浄し、1 mLの滅菌PBSに再懸濁した。この懸濁液を滅菌PBSで10<sup>7</sup> CFU/mLとなるように希釈し、調製後1時間以内に使用した。食肉への接種は、安全キャビネット内で10 gにカットした鶏むね肉、マグロ赤身の表面に10 µLの各接種菌液を5ヶ所スポットした。(初発菌数10<sup>4</sup> CFU/g)その後、菌が表面に付着するように、安全キャビネット内で15分間乾燥させたものを汚染肉とした。カットレタスへの接種は、安全キャビネット内でストマッカー袋に297 mLの滅菌PBSと各種菌液3 mL加え、その中にカットレタス10 g入れ、安全キャビネット内で5分間付着させたものを汚染カットレタスとした。

#### 2.2.4 試験液処理

各電解水100 mLの入った滅菌マヨネーズ瓶に、各肉片を入れ、室温で150 rpm、3分間浸漬・攪拌させた。次いで、各食肉を同じ種類の電解水の入ったマヨネーズ瓶に移し、3分間浸漬・攪拌させて、殺菌処理を行った。滅菌水で処理した生肉をコントロールとした。最適な浸漬回数を検討するために、浸漬回数はそれぞれ1~4回で試験を行った。各試料の菌数は、電解水処理後の試料をストマッカー袋に入れ、滅菌PBSを90 mL加え、ストマッカー袋にて120秒間ストマッキングすることで回収した。ストマッキング後、0.1 mLを、一般生菌については菌未接種

の食肉を BHI 培地(関東化学株式会社), 大腸菌数については XM-G 寒天培地(日水製薬株式会社)へ滅菌コンラージ棒にて塗布した後, 37°C, 24 時間培養後のコロニー数を計測した。

## 2. 3 電解水における食中毒菌の病原因子発現抑制効果

### 2. 3. 1 供試菌株および試料の調製

*Staphylococcus aureus* C-29, *Salmonella* Enteritidis NBRC3313 および *Escherichia coli* ATCC 10798 を用いた。試料は 2. 2. 1 と, 使用した試験液および試験液処理方法は, 2. 2. 2~4 と同様である。10 g にカットした肉片試料に調製済みの菌培養液 100  $\mu$ L を接種し, 16 時間 4°C で保存したものを細菌汚染肉とした。細菌汚染肉をストマッカー袋に入れ, 滅菌 PBS を 90 mL 加え, ストマッカーバックミキサー (iMIX; Interlab) にて 5 分間ストマッキングを行った。その後, ストマッカー処理液 2 mL を採取し, 15,000 rpm で 3 分間遠心した後, 上清を捨て, 菌体を回収した。また, control として, MilliQ 水で洗浄したものを使用し, 各試料 n=3 で行った。

### 2. 3. 2 ECM タンパク質に付着した食中毒菌の定量

菌体からの RNA 抽出は, RiboPure-Bacteria (Ambion) を用い, キットのプロトコールに従って Total RNA を抽出, 精製し, RNase free water に溶解した。次いで, PrimeScript RT reagent Kit (Takara Bio.) を用いて RT-PCR を行った。リアルタイム RT-PCR は, SYBER ExScript RT-PCR kit (Takara Bio.) およびその取扱説明書に従って, Real-time PCR 装置 (Thermal Cycler Dice® Real Time System II; Takara) にて行った。サンプル間の mRNA 量を補正するために, 16S rRNA 遺伝子を内部標準として用いた。各遺伝子発現量は, コントロールにおける発現量を 1 とした時の相対量で示した。

## 2. 4 電解水処理後の食材の品質評価

### 2. 4. 1 試料の調製

試料は 2. 2. 1 と, 使用した試験液および試験液処理方法は, 2. 2. 2~4 と同様である。試験液処理後, 水気をペーパータオルで拭き取り試験に供した。

### 2. 4. 2 食材の色調の測定

試験液処理前の食材, および処理後の食材をラップに包み, 表面の色差をカラーアナライザー 色差計 TES-135A プラス ((株) 佐藤商事) を用いて L\* 値, a\* 値, b\*

値を測定した。また, 表面の色差を測定後の鶏むね肉, マグロ赤身を包丁で半分に切り, 内部の色調を測定した。測定の際には, 特定部位 3 箇所センサーを当て, その平均値を記録した。滅菌水で処理したものを control とした。

### 2. 4. 3 pH

各種食材サンプル 10 g に MilliQ 水 90 g を加え, ミキサーで 1 分間ホモジナイズした。ホモジナイズ後, 2,000 x g で 20 分間遠心分離し, 上清の溶液の pH を pH メーターにより測定した。滅菌水で処理した食材を control とした。

### 2. 4. 4 食肉中の脂質酸化度の測定

食肉中の脂質酸化について, チオバルビツール酸 (TBARS) 法を用いて, マロンジアルデヒド量を測定した。各生肉サンプル 10 g に 10 % (w/v) トリクロロ酢酸溶液 20 mL を加え, ミキサーで 1 分間ホモジナイズした。ホモジナイズ後, 2,300 x g, 30 分間, 5°C で遠心分離を行い, 上清をろ過した。ろ液から 2 mL 採取して 20 mM チオバルビツール酸溶液 2 mL を加え, 混合した後, 97°C の温浴中で 20 分間加温した。室温で冷却した後, 分光光度計を用いて波長 532 nm で測定した。滅菌水で処理した食材を control とした。

### 2. 4. 5 遊離アミノ酸組成分析

遊離アミノ酸組成分析は, 北海道大学創成研究機構 共用機器管理センター委託分析部門に委託した。試料は鶏むね肉, マグロ赤身を使用した。各食材サンプル 10 g に 2 % スルホサリチル酸 40 mL を加え, ミキサーで 1 分間ホモジナイズした。ホモジナイズ後, 3,000 rpm で 10 分間遠心分離し, 変性タンパク質や脂肪を含まない中間層をさらに 10,000 rpm で遠心分離した。得られた透明層をアミノ酸分析の試料とした。滅菌水で処理した食材を control とした。

## 2. 5 電解水処理後の食肉の安全性評価

### 2. 5. 1 試料の調製

鶏むね肉のブロック肉を試験に供した。使用した試験液および試験液処理方法は, 2. 2. 2~4 と同様である。1 および 2 回目の浸漬液 100 mL に 1/2 量の酢酸エチルを加え, 抽出操作を行い, 酢酸エチル層を, 無水硫酸ナトリウムを用いて脱水した後, エバポレーターにて減圧・乾固した。水層は, 再度, 同様に酢酸エチルで抽出した後, 減圧・乾固した。酢酸エチル抽出二回分の抽出物を DMSO

で 1 mL に定量したものをエームス試験用の試料とした。

## 2. 5. 2 エームス試験

Salmonella Typhimurium TA100 株 ((財) 食品農医薬品安全性評価センターより提供) を解凍し, 菌液 20  $\mu$ L を NB 培地 10 mL に接種し, 37°C, 9 時間振とう培養 (100 strokes/min) した。滅菌した試験管に試料 (コントロールは DMSO) 100  $\mu$ L を加えた。陽性対象としてアジ化ナトリウム (AZS) 1.0  $\mu$ g/100  $\mu$ L, またはアミノアントラセン (2AA) 1.0  $\mu$ g/100  $\mu$ L を加えた (+S9mix: 2AA, -S9mix: AZS)。37°C, 30 分間インキュベーションした (100 strokes/min) 後, S9mix または PBS を 0.5 mL, 菌懸濁液 100  $\mu$ L を順次加え, 37°C, 20 分間振とう培養した (100 strokes/min)。振とう培養後, ヒスチジン/ビオチン溶液を加えたソフトアガー 2 mL を加えて十分に混和し, 寒天培地シャーレの上に播いて, 均一に広げた。固化後, シャーレを倒置し, 37°C, 48 時間インキュベートした。インキュベート後に誘発したコロニー数を計測した。なお, 同一検体は 2 枚のプレートを使用し, その平均値を算出した。陰性対照の 2 倍以上のコロニーが生育したものを陽性と判定した。

## 3. 研究結果

### 3. 1 有機物存在下における電解水の殺菌効果の検討

有機物存在下における電解水の大腸菌に対する殺菌効果を Fig. 1 に示した。有機物非存在下では, control (滅菌水) と比較して, 微酸性電解水処理以外の試験液処理で大腸菌数が有意に減少し, 最も効果的な試験液は, 電解次亜水であった。0.5% BSA を加えた菌液に対しては, PBS を加えたものと比較して, 全ての試験液処理で殺菌効果の低下が認められ, BSA の濃度に依存して殺菌効果が低下した。0.5% BSA 存在下では, 微酸性電解水以外の試験液は, 大腸菌を 1.0 logCFU/g 減少させたが, 5% BSA 存在下では, 全ての試験液において, 1.0 logCFU/g 未満の菌数減少に留まった。また, 微酸性電解水処理では, 0.5% BSA 存在下で殺菌効果が最も低下したが, 0.5 および 5% BSA 存在下における大腸菌数に有意差は認められなかった。

### 3. 2 食材に適した電解水の種類および洗浄条件の確立

#### 3. 2. 1 最適な浸漬回数の検討

大腸菌または黄色ブドウ球菌を付着させた鶏むね肉について, 電解次亜水の浸漬回数を 4 回まで増やし, その洗浄・殺菌効果について検討した (Fig. 2)。その結果, 滅菌水 (Control) では, 浸漬回数を増やしても菌数が減少しなかったが, 電解次亜水では, 3 回目の浸漬により 1.0

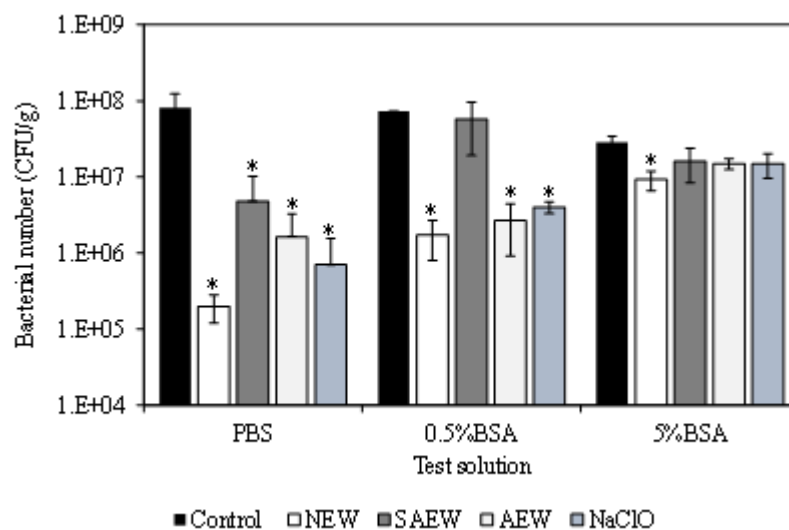
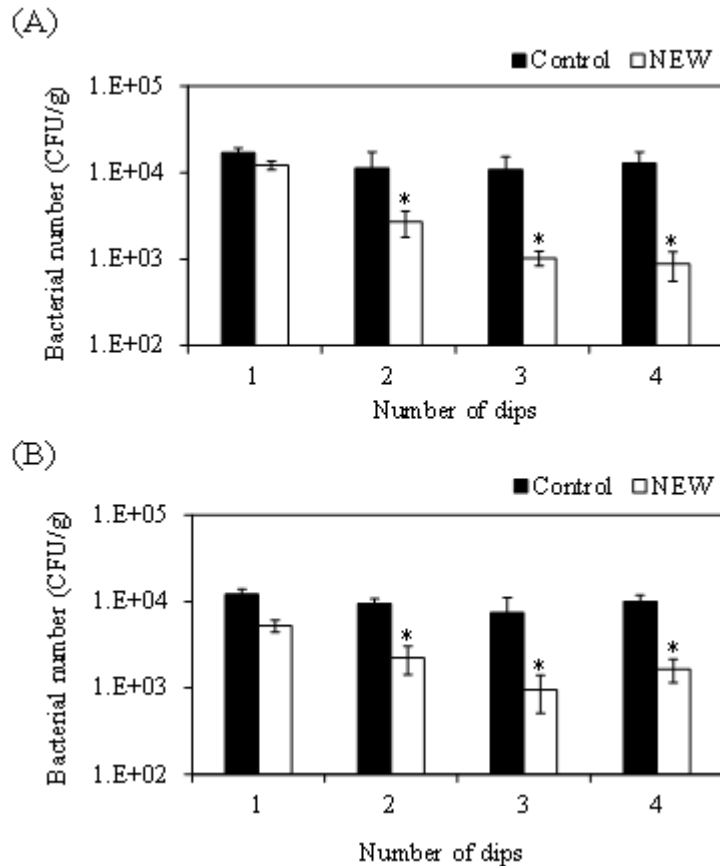


Fig. 1: Bactericidal efficiency of electrolyzed water in the presence of bovine serum albumin (BSA). PBS; phosphate-buffered saline, NEW; neutral electrolyzed water, SAEW; slightly acidic electrolyzed water, AEW; acidic electrolyzed water, NaClO; sodium hypochlorite. Values represent the mean  $\pm$  SD for three independent experiments. \* represents  $p < 0.05$  compared with control.



**Fig. 2:** Effects of dipping times of neutral electrolyzed water on inactivation of (A) *Escherichia coli* ATCC 10798 and (B) *Staphylococcus aureus* C-29. NEW; neutral electrolyzed water. Values represent the mean  $\pm$  SD for three independent experiments. \* represents  $p < 0.05$  compared with control.

logCFU/g オーダーで菌数が減少した。また、浸漬回数 3 回目と 4 回目において、殺菌効果に有意差は認められなかった。

### 3. 2. 2 最適浸漬回数 (3 回) における試験液処理の殺菌効果

電解次亜水は、鶏むね肉に付着させた大腸菌を 1.0 logCFU/g オーダー減少させ、最も高い殺菌効果が認められた (Fig. 3 (A))。レタスにおいても電解次亜水の殺菌効果が最も高く (Fig. 3 (B))、マグロでは、電解次亜水と NaClO の効果は同程度であった (Fig. 3 (C))。黄色ブドウ球菌においても、鶏むね肉およびレタスでは、電解次亜水の殺菌効果が最も高く (Fig. 3 (D)(E))、マグロでは、電解次亜水と NaClO の効果は同程度であった (Fig. 3 (F))。

### 3. 3 電解次亜水における食中毒菌の病原因子発現抑制効果

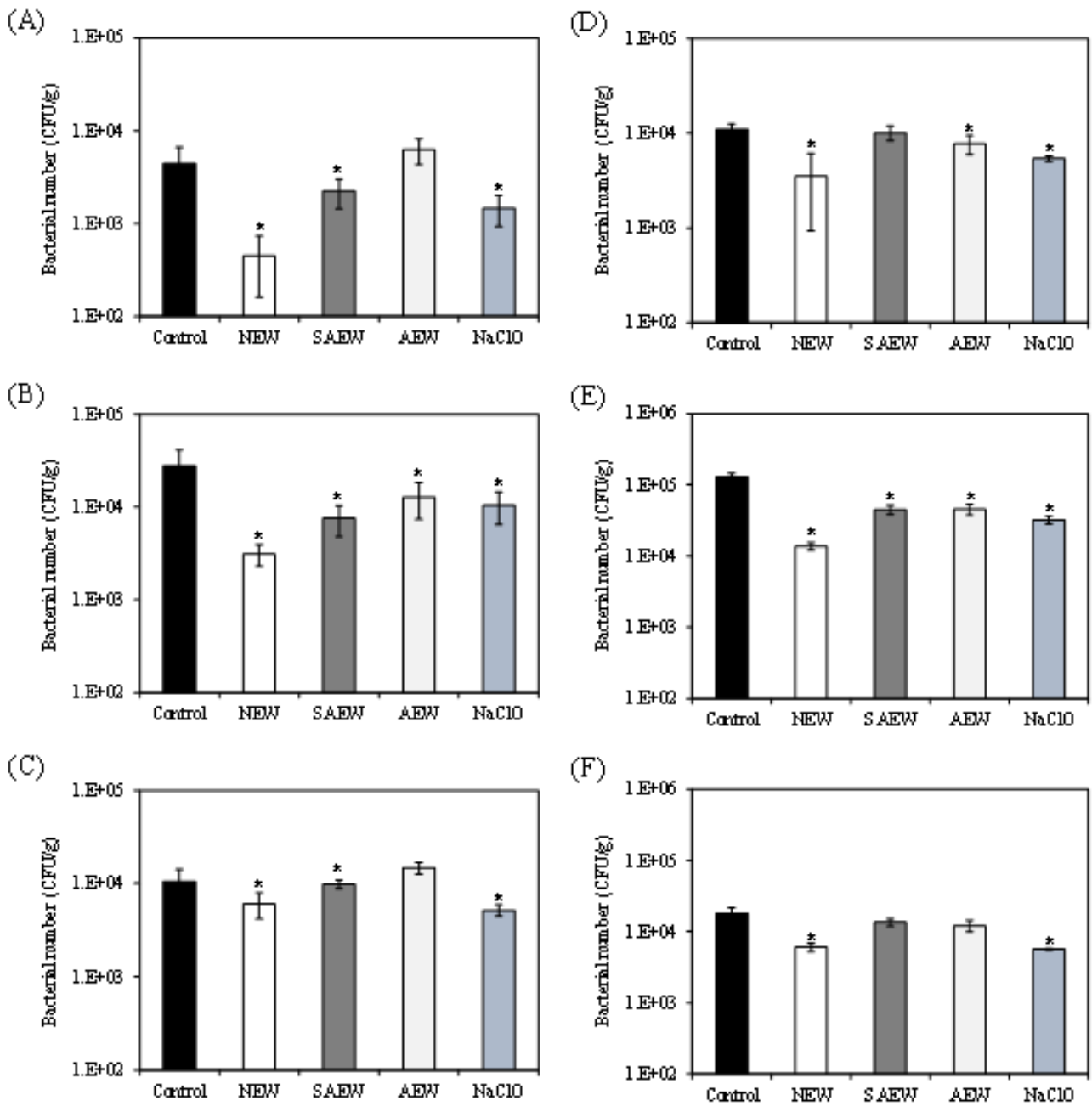
食中毒菌の病原因子 (毒素およびバイオフィルム) の発

現に対する電解次亜水の影響を評価した。その結果、電解次亜水は、黄色ブドウ球菌の耐熱性毒素遺伝子および各種食中毒菌のバイオフィルム関連遺伝子の発現を有意に抑制した (Fig. 4)。

### 3. 4 電解水処理後の食材の品質評価

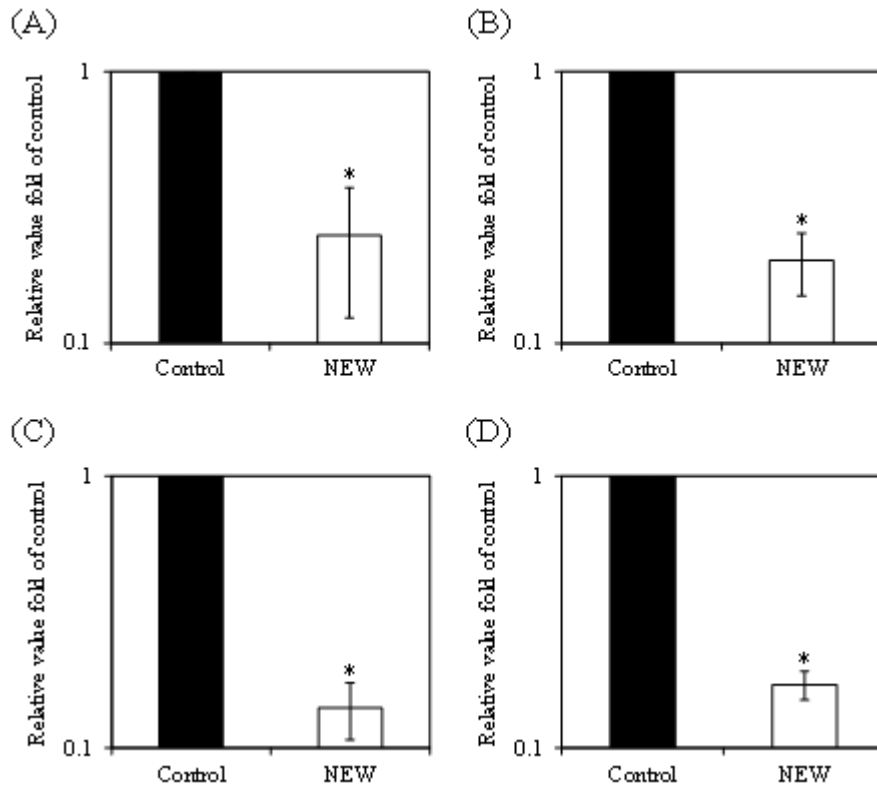
#### 3. 4. 1 色調の測定

試験液処理後の食材について、色差計を用いて食材の色調の測定を行った。鶏むね肉では、強酸性電解水処理した食肉の  $a^*$  値、微酸性電解水処理した食肉の内部の  $b^*$  値、強酸性電解水処理した  $L^*$  値、 $a^*$  値および NaClO 処理した  $b^*$  値を除き、Control と比較して有意な色調の変化は認められなかった (Table 1)。マグロ赤身では、強酸性電解水処理後のマグロ赤身の表面の  $L^*$  値を除き、Control と比較して有意な色調の変化は認められなかった (Table 2)。レタスでは  $L^*$  値、 $a^*$  値および  $b^*$  値ともに有意な色調の差は認められなかった (Table 3)。



**Fig. 3:** Bactericidal effect of various electrolytic waters on food poisoning bacteria inoculated into foods.

(A)-(C); *Escherichia coli* ATCC 10798 A was inoculated into the 3 kinds of food, (D)-(F); *Staphylococcus aureus* C-29 was inoculated into the 3 kinds of food. (A)(D); chicken breast meat, (B)(E); cut lettuce, (C)(F); red meat of tuna. NEW; neutral electrolyzed water, SAEW; slightly acidic electrolyzed water, AEW; acidic electrolyzed water, NaClO; sodium hypochlorite. Values represent the mean  $\pm$  SD for three independent experiments. \* represents  $p < 0.05$  compared with the 0%.



**Fig. 4:** Effect of neutral electrolyzed water on gene expression of staphylococcal enterotoxin A (*sea*) and biofilm master regulator genes (*icaD* and *csgD*) on bacteria. (A) Relative gene expression of *sea* in *Staphylococcus aureus* C-29, (B) Relative gene expression of *icaD* in *S. aureus* C-29, (C) Relative gene expression of *csgD* in *Salmonella* Enteritidis NBRC3313, (D) Relative gene expression of *csgD* in *Escherichia coli* ATCC 10798. Values represent the mean  $\pm$  SD for three independent experiments. TGE; teaflavin-rich green tea extracts. \* represents  $p < 0.05$  compared with the control.

**Table 1:** Change of color on surface and inside of chicken breast after electrolyzed water treatment

		Control	NEW	SAEW	AEW	NaClO
Surface	L*	59.8 $\pm$ 2.36	63.7 $\pm$ 1.69	61.0 $\pm$ 3.54	62.3 $\pm$ 3.60	60.7 $\pm$ 3.38
	a*	0.89 $\pm$ 2.90	0.86 $\pm$ 2.64	3.58 $\pm$ 2.54*	0.68 $\pm$ 1.69	0.60 $\pm$ 1.52
	b*	-3.31 $\pm$ 1.25	-3.55 $\pm$ 1.55	-5.87 $\pm$ 4.42	-4.14 $\pm$ 2.04	-3.37 $\pm$ 1.08
Inside	L*	51.9 $\pm$ 1.77	50.5 $\pm$ 2.82	50.5 $\pm$ 1.74	55.9 $\pm$ 2.76*	54.6 $\pm$ 2.16
	a*	5.09 $\pm$ 0.61	3.57 $\pm$ 2.86	5.10 $\pm$ 2.53	1.38 $\pm$ 1.65*	3.87 $\pm$ 2.07
	b*	-1.23 $\pm$ 0.61	-1.93 $\pm$ 1.03	-2.57 $\pm$ 0.77*	-0.43 $\pm$ 1.16	-2.71 $\pm$ 0.69*

Values represent the mean  $\pm$  SD for three independent experiments. \* represents  $p < 0.05$  compared with control.

**Table 2:** Change of color on surface and inside of red meat of tuna after electrolyzed water treatment

		Control	NEW	SAEW	AEW	NaClO
	L*	37.0±6.79	36.8±6.91	32.5±3.28	43.9±5.28*	34.7±2.60
Surface	a*	9.69±3.89	13.1±8.76	10.4±2.69	12.8±5.54	10.2±3.65
	b*	-0.41±1.81	-2.35±6.82	0.64±1.57	0.03±1.76	-0.73±1.31
	L*	36.7±3.77	38.5±6.26	37.7±6.47	41.7±5.29	35.0±3.80
Inside	a*	19.2±27.3	14.3±9.98	9.84±4.54	17.9±24.5	12.33±6.54
	b*	0.57±1.94	-0.09±3.21	0.98±1.80	1.97±3.34	1.27±1.30

Values represent the mean ± SD for three independent experiments. \* represents  $p < 0.05$  compared with control.

**Table 3:** Change of color on surface and inside of cut lettuce after electrolyzed water treatment

		Control	NEW	SAEW	AEW	NaClO
	L*	57.0±3.29	58.1±10.8	58.3±4.43	59.1±3.69	61.8±4.31
	a*	-6.82±2.21	-2.59±3.33	-2.51±6.30	-1.96±7.28	-6.16±2.95
	b*	15.9±2.59	10.82±4.72	15.03±6.41	13.0±5.94	16.0±2.40

### 3. 4. 2 食肉中の pH および脂質酸化度の測定

試験液処理後の食材について、pH および脂質酸化によって生じるマロンジアルデヒドの量を測定した。その結果、pH においては、強酸性電解水処理後のレタス以外は有意的な差は認められなかった (Table 4)。また、試験液処理後の鶏むね肉およびマグロ赤身の脂質酸化度についても有意差は認められなかった (Fig. 5)。

### 3. 4. 3 アミノ酸組成分析

試験液処理後の鶏むね肉およびマグロ赤身の遊離アミノ酸量 (nmol/100 g) を測定した。鶏むね肉の遊離アミノ酸は、セリン、グルタミン酸、グリシン、アラニン、リジン等で高値を示し、含有量が多かった。マグロ赤身の遊離アミノ酸は、グリシン、アラニン、リジン、ヒスチジン等で高値を示し、含有量が多かった。Control (滅菌水処理) と比較して、鶏むね肉およびマグロ赤身の遊離アミノ酸含有量に有意差は認められなかった。

### 3. 5 電解水処理後の食肉の安全性評価

鶏むね肉を処理した電解次亜水は、+S9mix, -S9mix ともに陰性判定であったことから (Fig. 6), 食肉を電解水処理した溶液中には、有機塩素系化合物等の変異原性物質が生成されていないことが示唆された。

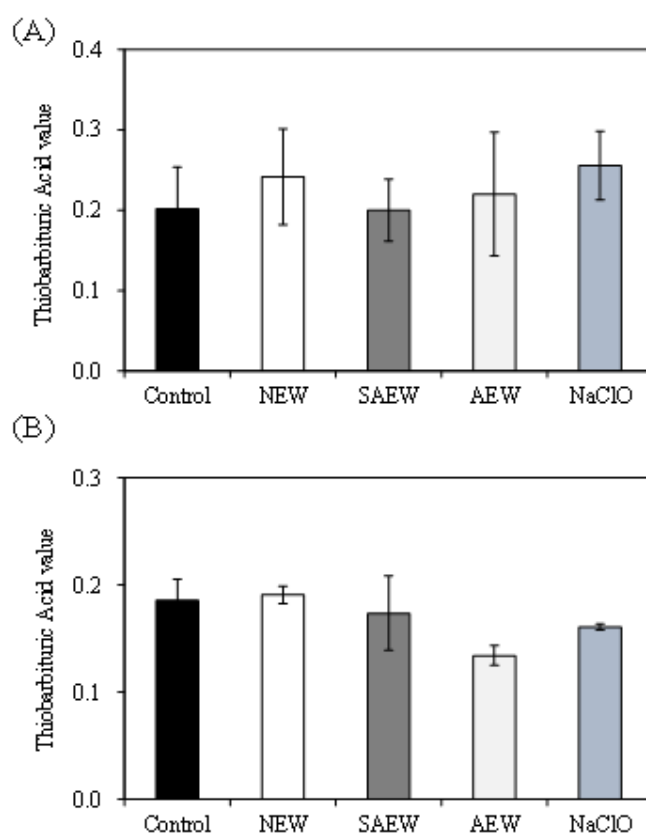
## 4. 考 察

有機物として BSA を用いて検討を行ったところ、全ての試験液において BSA の濃度が高くなるに従い殺菌効果が低くなる傾向が認められた。殺菌効果が低下した理由としては、電解水に有機物が触れることで次亜塩素酸分子 (HClO) が消費されたことが考えられる<sup>[1]</sup>。しかし、電解次亜水においては、5% BSA 共存下においても殺菌効果が維持されていた。HClO は、細菌の細胞膜を通過し、直接内部の栄養素、エネルギー源を変性または消費させ、死滅もしくは不活化させる。一方、次亜塩素酸イオン

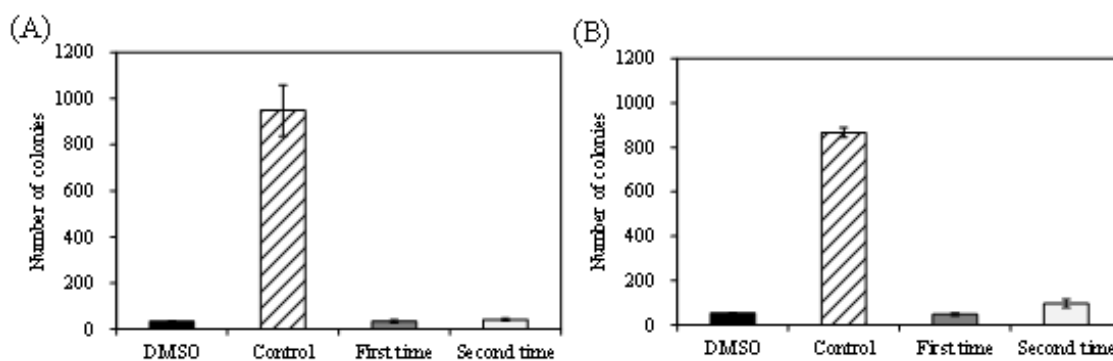


**Table 4:** Changes of pH of various foodstuffs after electrolytic water treatment

	Control	NEW	SAEW	AEW	NaClO
Chicken	6.11±0.02	6.13±0.02	6.16±0.03	6.03±0.02	6.12±0.06
Tuna	6.29±0.02	6.42±0.05	6.35±0.03	6.39±0.05	6.40±0.05
Lettuce	6.14±0.04	6.17±0.01	6.18±0.02	5.89±0.09*	6.23±0.03

**Fig. 5:** Changes of thiobarbituric acid value of various foodstuffs after electrolytic water treatment

(A) Chicken breast meat, (B) red meat of tuna.

**Fig. 6:** Mutagenicity of electrolyzed water after dipping chicken breast meat

(A) +S9mix (Control; 2-anthramine), (B) -S9mix (Control; sodium azide). No statistically significant mutagenicity ( $p < 0.05$ ).

(ClO)は細菌の細胞膜を透過することができないため、外側から作用し、時間をかけて細胞膜を破壊する<sup>2)</sup>。そのため、HClOはClOと比べて殺菌効果が何十倍も高いとされている<sup>3,4)</sup>。これらの結果より、HClOとClOの両者の性質を併せ持つ電解次亜水は、弱アルカリ性であることから、HClOが消費されても非解離状態のHClO<sub>2</sub>やClO<sup>-</sup>などから次亜塩素酸分子が供給されることにより、効果が維持されたことが示唆された。

鶏むね肉を用いて試験液の最適浸漬回数を検討したところ、3回で各食中毒菌数が1.0 logCFU/g減少した。浸漬4回と効果に差が認められなかったことから、最適浸漬回数は、3回であると考えられた。そこで、各試験液への浸漬3回における、鶏むね肉、マグロ赤身およびレタスの殺菌効果を検討したところ、電解次亜水は、全ての食材でNaClOより高い、または同程度の殺菌効果を示した。また、食中毒菌の病原因子(毒素およびバイオフィルム)の発現に対する電解水の影響を評価したところ、電解次亜水は、食中毒菌の病原因子の発現を有意に抑制した。これらの結果より、電解次亜水で洗浄することにより、殺菌だけでなく、食中毒菌の病原性を抑制できる可能性が示唆された。

現在、畜肉加工工程では、大量の水または次亜塩素酸ソーダ等を用いた洗浄が行われているが、塩素系の薬剤を使用することにより生成するクロロホルム等のトリハロメタンや最終製品の塩素臭等の問題が指摘されている。そこで、畜肉加工工程で使用される次亜塩素酸ソーダ等の代替品として電解次亜水処理を提案するために、電解水処理後の食肉における品質(色差、pH、脂質酸化度および遊離アミノ酸含有量)および処理液の安全性(変異原性)について評価し、実用可能であるかを検討した。その結果、各試験液処理後の食材の品質劣化は認められず、処理後の試験液に変異原性も認められなかった。これらの結果より、電解次亜水を用いた洗浄・殺菌法は、各種食材に応用できることが示唆された。

## 5. 今後の課題

本研究では、NaClを電解処理して生成した電解水による各種食材を浸漬させることによる洗浄・殺菌効果について検討した。今後は、浸漬以外の洗浄方法を検討することで、各種食材の最適洗浄・殺菌処理方法の確立を目指したいと考えている。また、電解水で洗浄した食品表面や内部での食中毒菌の挙動や病原因子の発現についてさらに詳細に調べ、電解水を用いたより効果的な殺菌法を開発していきたい。

## 6. 文献

- [1] 土佐 典照, 山崎 幸一.: 強酸性電解水中の残留塩素に対する有機物の影響. *日本食品科学工学会誌*, **47**: 287-295 (2000).
- [2] Hricova, D., Stephan, R., Zweifel, C.: Electrolyzed water and its application in the food industry. *J. Food Prot.*, **71(9)**: 1934-1947 (2008).
- [3] Rahman, S.M., Ding, T., Oh, D.H.: Effectiveness of low concentration electrolyzed water to inactivate foodborne pathogens under different environmental conditions. *Int. J. Food Microbiol.*, **139**: 147-153 (2010).
- [4] Issa-Zacharia, A., Kamitani, Y., Tiisekwa, A., Morita, K., Iwasaki, K.: In vitro inactivation of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella* spp. using slightly acidic electrolyzed water. *J. Biosci. Bioeng.*, **110**: 308-313 (2010).

## 謝辞

本研究は、公益財団法人ソルト・サイエンス研究財団平成30年度研究助成の支援を受けて行いました。ここに記して感謝致します。

## Development of Sterilization Method Using Electrolyzed Water Produced from Sodium Chloride for Various Foods

Yuko Shimamura, Shuichi Masuda

School of Food and Nutritional Sciences, University of Shizuoka

### Summary

In recent years, food safety and security concerns have increased, and appropriate measures for hygiene have been required. Although laboratory-level sterilization methods have been studied, there are few reports of suitable methods for each food. Therefore, we examined that sterilization method using electrolyzed water (EW) produced from sodium chloride for various foods.

Test solutions include sterile water (control), acidic electrolyzed water (AEW; <pH 2.7, 20 ppm), slightly acidic electrolyzed water (SAEW; pH 6.0, 30 ppm), neutral electrolyzed water (NEW; pH 8.0, 40 ppm) and a solution of sodium hypochlorite (NaClO; pH 8.0, 40 ppm) was used. *Staphylococcus aureus* C-29, *Salmonella* Enteritidis NBRC3313 and *Escherichia coli* ATCC 10798 were used as test strains. The bactericidal effect of each test solution was examined in the presence of an organic substance (bovine serum albumin; BSA). In the presence of 5% BSA, NEW maintained its bactericidal effect. When the optimal immersion times of the test solution (100 mL) were examined using 10 g of chicken breast meat, the bacterial number decreased by 1.0 log CFU/g after three times. Because there was no difference between three and four times, it was considered that the optimum immersion times was three. When the optimal immersion times of the test solution (100 mL) was examined using 10 g of chicken breast meat, the bacterial number decreased by 1.0 log CFU/g. In addition, the influence of electrolyzed water on the expression of pathogenic factors of food poisoning bacteria was evaluated. As a result, NEW significantly suppressed the expression of pathogenic agents of food poisoning bacteria. Furthermore, the quality (color difference, pH, degree of lipid oxidation and free amino acid content) in meat after electrolyzed water treatment and the safety (mutagenicity) of the treatment solution were evaluated. As a result, quality deterioration of the foodstuff after the NEW process was not recognized. In addition, no mutagenicity was observed in NEW after treatment. These results suggest that the sterilization method using NEW can be applied to various foodstuffs.