

野菜の二段階殺菌法の開発

東 孝憲, 能登裕子, 吉川修司, 柿本雅史¹

Development of a Novel Method for Two-Step Disinfection on Cut Vegetables

Takanori Azuma, Hiroko Noto, Shuji Yoshikawa and Masashi Kakimoto

This study aimed to develop a novel two-step disinfection method to reduce *Escherichia coli* inoculated on cut cabbage with no corresponding loss of quality.

The approach consists of sonication for 5 minutes at 10°C in 0.2% calcinated calcium (CCa) followed by immersion in 0.5% acetate buffer (AB) containing 0.3% polyglycerol monolaurate (C12PG) for 10 minutes at 10°C. Results showed a 2.7 log CFU/g reduction of *E. coli* and a low viable bacterial count during nine days of storage at 4°C. No significant difference was observed in specific volume (a measure of cut cabbage quality) between cabbage treated using this method and cabbage washed with sterilized water.

These results indicate that the two-step disinfection method provides greater bactericidal effects than the conventional method with no adverse influence on the quality of cut vegetables.

野菜表面には、土壌由来の微生物が多く付着しているため、加熱殺菌工程のないカット野菜製品(浅漬けやカット野菜など)は、初発菌数の低減が極めて重要である。

平成24年8月、北海道において、白菜の浅漬けを原因食品とした腸管出血性大腸菌O157による食中毒が発生し、高齢者関連施設を中心に患者数169名、うち死者8名と大きな被害となった。本事例では、原料野菜の殺菌不良が食中毒発生の一因として考えられており¹⁾、微生物制御の重要性が再認識されている。

一般に、カット野菜製品は、微生物制御に加え、色調や食感など品質の保持が必要不可欠である。特に食感は食味要素として重視されており²⁾、殺菌方法の検討にあたっては、食感の影響を考慮する必要がある。

現在、カット野菜製品の殺菌には、主として次亜塩素酸ナトリウム(以下NaClO)が利用されている。しかし、NaClOは、殺菌成分である有効塩素が食品成分と反応し、殺菌効果が低下することが知られている³⁾。また、野菜は複雑な表面構造を有しており、気孔などの窪みに

入り込んだ微生物まで殺菌成分が浸透せず、有効塩素濃度を高めても、十分な殺菌効果が得られないことが報告されている⁴⁾。さらに、過剰な有効塩素濃度での殺菌処理は、野菜の色調変化や食感低下を引き起こすことが知られている^{5) 6)}。

小関らは、前処理に強アルカリ性電解水を用いることにより、野菜に付着した微生物が除去され、殺菌処理の効果が高まることを報告している⁷⁾。また中川らは、界面活性剤で処理した後にNaClOで殺菌することで、殺菌成分の浸透性が向上し、単独の殺菌処理よりも高い効果が得られることを報告している⁸⁾。しかし、これらの報告において、野菜の食感に関する検討は行われていない。

野菜の食感低下は、細胞内の膨圧が減少することに起因する²⁾。本研究では、かさ比容積を野菜のしおれの指標として用い、しおれを生じることなく、従来法よりも殺菌効果の高い方法を開発することを目的とし、二段階殺菌法を検討した。

¹ 現 北海道立総合研究機構 本部連携推進部

事業名：経常研究

課題名：野菜の新たな非加熱殺菌に関する研究

実験方法

1. 供試菌株

独立行政法人製品評価技術基盤機構より入手した *Escherichia coli* NBRC3972を用いた。

2. 供試野菜

殺菌する野菜試料として、キャベツを用いた。外側の葉4～5枚および芯を取り除いた後、約5cm角にカットして試験に供した。

3. キャベツ試料の調製

Tryptic Soy Broth (Difco) にて35℃で一晩培養した供試菌株を約 1.0×10^7 CFU/mLとなるよう滅菌水に接種し、菌懸濁液を調製した。カットしたキャベツをポリエチレン製の袋に入れ、キャベツ重量に対し、9倍量の菌懸濁液を加えた後、10℃、130rpmで10分間振盪した。振盪後、袋から菌懸濁液を除去し、キャベツ試料とした。

4. 一次処理の選定

一次処理は、キャベツに接種した大腸菌を効果的に低減する薬剤と、その処理条件および併用する物理処理、また、キャベツのかさ比容積を低下しない薬剤濃度および処理時間を選定した。

(1) 薬剤、処理温度および併用する物理処理の選定

使用した薬剤は、洗浄効果を有する界面活性剤およびアルカリ剤を用い、対照として滅菌水を使用した。界面活性剤は、ショ糖ラウリン酸エステル（リョートーシュガーエステルLWA-1570、以下C12SE、三菱化学フーズ株式会社）とモノラウリン酸ポリグリセリル（サンソフトM-12J、以下C12PG、太陽化学株式会社）の2種を用いた。アルカリ剤には、貝殻焼成カルシウム（シェルライムHT、以下CCa、北海道石灰化工株式会社）を用いた。各薬剤は、終濃度0.3%となるよう滅菌水に溶解し、処理溶液とした。処理温度は、10℃および50℃とし、処理時間は10分間とした。物理処理は、振盪処理（130rpm）または超音波処理（UT-604、シャープ株式会社）を行った。試験は、表1に示した通り、薬剤、処理温度および物理処理を組み合わせた17試験区で実施した。

具体的には、ポリエチレン袋にキャベツ試料と9倍量の各種処理溶液を加え、試験区に対応する処理を行った。処理したキャベツ試料は、処理溶液と同量の滅菌水で2回洗浄した後、大腸菌数を測定した。なお、大腸菌数の測定は、食品衛生検査指針追補II⁹⁾に従い、XM-G寒天培地（日水製薬）を用いて、35℃で24時間培養後に形成した青紫色のコロニー数を計測することにより行った。

(2) 薬剤濃度および処理時間の設定

選定した一次処理の薬剤濃度は、0.1、0.2および0.3%とし、処理時間を1、5および10分間とした9試験区を設けた。処理したキャベツ試料は、大腸菌数およびかさ比容積を測定した。かさ比容積は、下記の式から算出し、処理前のかさ比容積と比較することでおれを評価した。なお、タッピング後容積の測定は、処理後のキャベツ試料を5mm×5mmに細切し、メスシリンダーに50g充填した後、200回タッピングすることにより行った。

$$\text{かさ比容積 (mL/g)} = \frac{\text{タッピング後容積 (mL)}}{\text{重量 (g)}}$$

5. 二次処理の選定

二次処理は、殺菌剤または有機酸による単独処理および有機酸と他の薬剤との併用処理で殺菌効果の高い処理を選定した。

(1) 単独の薬剤による殺菌効果

使用した薬剤は、殺菌剤として、NaClO（有効塩素濃度100ppm、pH10.0）、亜塩素酸ナトリウム（亜塩素酸ナトリウムとして100ppm、pH9.3、以下NaClO₂）、強酸性電解水（有効塩素濃度40～50ppm、pH2.3、以下AcEW）の3種、有機酸として、0.5%酢酸緩衝液（pH4.0、

表1 各種一次処理によるキャベツの大腸菌数変化

試験区	薬剤	pH	温度 (℃)	物理 処理	反復数	大腸菌数 (log CFU/g)
I N	無し	-			11	6.0±0.1 a
I A1	滅菌水	6.4	10	振盪	3	5.2±0.1 bcd
I A2				超音波	4	4.7±0.1 de
I A3			50	振盪	3	5.0±0.1 bcd
I A4				超音波	3	5.3±0.3 b
I B1	C12SE	6.0	10	振盪	3	5.2±0.1 bcd
I B2				超音波	3	4.7±0.1 cde
I B3			50	振盪	3	5.0±0.1 bcd
I B4				超音波	3	5.0±0.0 bcd
I C1	C12PG	4.8	10	振盪	3	5.2±0.1 bcd
I C2				超音波	3	4.7±0.1 cde
I C3			50	振盪	3	5.1±0.1 bcd
I C4				超音波	3	5.2±0.0 bc
I D1	CCa	12.6	10	振盪	3	4.7±0.0 cde
I D2				超音波	3	3.9±0.1 f
I D3			50	振盪	3	4.6±0.1 de
I D4				超音波	3	4.3±0.1 ef
分散分析					p値	
薬剤					<0.001	
温度					0.015	
物理処理					0.001	
薬剤×温度×物理処理					0.726	

各試験は、0.3%溶液を使用し、10分間処理を行った。

大腸菌数は平均値±標準誤差を示す。

各試験は、3～11反復で実施した。

同一アルファベット間には5%水準で有意差がないことを示す (Tukey法)。

以下AB), および0.5%乳酸緩衝液 (pH4.0, 以下LB) の2種を使用した。なお, 対照として滅菌水を用いた。

処理温度は, 滅菌水および殺菌剤処理で10℃, 有機酸処理で, 10℃および50℃とした。殺菌時間は10分間, 物理処理は振盪処理 (130rpm) を併用した。試験は, 4. (1)に示した手順で行い, 処理溶液と処理温度を組み合わせた上記の8試験区 (表3 単独処理区) に無処理区を加えた計9試験区で実施した。

(2) 有機酸と他の薬剤の併用効果

処理溶液は, 0.5% AB+0.5% グリシン (以下Gly), 0.5% AB+0.3% C12PGおよび0.1% AB+0.06% C12PGを用いた (表3 併用処理区)。比較対象として, 0.5% ABを用いた。処理温度は, NaClOは10℃, その他は10℃および50℃とした。これら9試験区について, 5. (1)の手順に従い, 殺菌効果を比較した。

6. 二段階殺菌の組み合わせ処理

選定した一次処理と二次処理を組み合わせ, 殺菌効果が高く, かつかさ比容積を低下しない二段階殺菌について検討した。

(1) 二段階殺菌の殺菌効果とかさ比容積

設定した条件で一次処理したキャベツ試料を9倍量の滅菌水で2回洗浄し, 次いで選定した二次処理を行った。処理したキャベツ試料は, 処理液と同量の滅菌水で2回洗浄し, 大腸菌数を測定した。比較対象は, 一段階の処理である滅菌水処理, 一次処理単独およびNaClO処理 (有効塩素濃度100ppm, pH10.0) とした。さらに, 高い殺菌効果が得られた二段階殺菌区については, 大腸菌を接種していないキャベツ試料を用いて, 同様の処理を行い, かさ比容積を測定した。

(2) 保存性の検証

6. (1)で選定した条件で二段階殺菌したキャベツは, 4℃で保存し, 経時的に大腸菌数とかさ比容積を測定して二段階殺菌の効果を検証した。

実験結果および考察

1. 一次処理の選定

(1) 薬剤, 処理温度および併用する物理処理の選定

各種一次処理の効果は表1に示した。無処理区INの大腸菌数は, 1.0×10^6 CFU/gであった。各処理が大腸菌数に与える影響を検討した結果, 処理温度や物理処理よりも薬剤の影響が大きかった。薬剤はCCaが最も効果的であり, C12SEおよびC12PGは滅菌水と同程度の菌数低減効果であった。各処理の大腸菌数は, 10℃で超音波処理することにより低下する傾向が認められた。0.3%

CCaを使用し, 10℃で超音波処理と併用した試験区ID2の大腸菌数は, 8.3×10^3 CFU/gを示した。

CCa溶液はアルカリ性であり, pH上昇により殺菌効果を示すことが報告されている¹⁰⁾。また, 表面に付着した微生物は, 高pH域において脱離が促進することが報告されている^{11) 12)}。本研究においてもCCa処理は, pHが高く (表1), キャベツ表面に付着した大腸菌に対して, 殺菌および脱離効果を示したと考えられる。また, CCa処理は, 10℃で超音波を併用することにより菌数が低下した。一方, 50℃処理では併用効果は認められなかった。超音波の洗浄効果は, 液中に生じた空洞が消滅することによって発生する衝撃波 (キャビテーション) により発揮する¹³⁾。50℃処理は, 熱によってキャベツ表面が軟化し, キャビテーションによる洗浄効果が十分に得られなかったことが要因として推察された。これらのことから, 一次処理に用いる薬剤の種類, 処理温度および併用する物理処理を, 各々CCa, 10℃および超音波処理として選定した。

(2) 薬剤濃度および処理時間の設定

CCaの濃度と処理時間が大腸菌数に与える影響を表2に示した。各試験区間で大腸菌数を比較した結果, ID2-a ~ ID2-iの9試験区全てにおいて, 有意な差は認められなかった。したがって, 効果的に大腸菌数を低減するCCa濃度と処理時間の効果的な組合せは, 0.1 ~ 0.3%の濃度で1分間以上の処理であった。

CCaの濃度と処理時間がかさ比容積に与える影響を図1に示した。かさ比容積は, いずれの濃度においても処理時間に伴って増加傾向を示した。処理0分と各種処理後のかさ比容積を比較した結果, 0.1%は5分後, 0.2%および0.3%では10分後に処理0分よりも有意に増加し, かさ比容積は, 各々2.44, 2.48および2.49 mL/gとなった。0.2%および0.3%のかさ比容積は, 5分間以上の処理で一定となった。したがって, 低濃度かつ短時間でかさ比容積を向上する条件は, 0.2%で5分間の処理であった。

過度の薬剤処理は, 野菜組織が軟化し¹⁴⁾, かさ比容積は低下する。一方, CCaを用いた処理の場合, 濃度の上昇に伴い, かさ比容積は増加した。カルシウムは, ペクチンなど細胞壁成分を架橋し, 組織を硬化することが報告されている¹⁵⁾。したがって, CCa処理によるかさ比容積の増加は, 溶液に含まれるカルシウムが組織硬化に寄与したと推察される。

以上のことから, 大腸菌数の低減効果が高く, かさ比容積が低下しない条件として, CCaの濃度は0.2%とし, 10℃で5分間超音波を併用する試験区ID2-eを一次処

理として選定した。

2. 二次処理の選定

(1) 単独の薬剤による殺菌効果

二次処理の試験区を表3に示した。図2に大腸菌を接種したキャベツに対する殺菌剤および有機酸緩衝液の効果を示した。NaClO処理区ⅡBの大腸菌数と他の殺菌剤および有機酸処理区の大腸菌数の間には、5%水準で有意な差が認められなかった。

(2) 有機酸と他の薬剤の併用効果

図3に大腸菌を接種したキャベツに対するABとGlyおよびC12PGの併用処理の結果を示した。0.5% ABを用い10℃で処理を行ったⅡF1の大腸菌数を対照とし、5%水準で有意に低い大腸菌数を示した試験区は、ⅡG2、ⅡH2、ⅡI1およびⅡI2であった。各試験区の大腸菌数は、各々1.7、1.6、1.3および1.3×10⁴CFU/gであった。

以上のことから、試験区ⅡG2、ⅡH2、ⅡI1およびⅡI2を二段階殺菌の二次処理条件として選定した。

3. 二段階殺菌の組み合わせ処理

(1) 二段階殺菌の殺菌効果とかさ比容積

二段階殺菌の試験区を表4に示した。大腸菌を接種したキャベツに対する二段階殺菌の効果を図4に示した。無処理区ⅢNの大腸菌数は9.1×10⁵CFU/gであった。NaClOの一段階処理区ⅢA2およびCCaの一段階処理区ⅢA3の大腸菌数は同等の値を示し、各々1.1×10⁴および9.6×10³CFU/gであった。一次処理にCCa、二次処理

にABとGlyを併用した二段階試験区ⅢB1の大腸菌数は、8.2×10³CFU/gであった。ⅢB1とⅢA3の大腸菌数の間には、5%水準で有意差は認められず、二段階殺菌の有効性は認められなかった。

一方、二次処理にAB+C12PGを用いた試験区ⅢB2、ⅢB3およびⅢB4の大腸菌数は、ⅢA2およびⅢA3に比べ、5%水準で有意に減少した。すなわち、ⅢB2およびⅢB3の大腸菌数は、共にⅢA2の約1/40である1.5×10³CFU/gとなり、ⅢB4の大腸菌数は、ⅢA2の約1/80である7.3×10²CFU/gとなった。したがって、ⅢB2、ⅢB3およびⅢB4を殺菌効果の高い二段階殺菌として選定した。

キャベツのかさ比容積に対する二段階殺菌の影響を図5に示した。ⅢNのかさ比容積とⅢB2およびⅢB3のかさ比容積の間には、5%水準で有意差は認められなかった。一方で、ⅢB4のかさ比容積は、ⅢNに比べ、5%水準で有意に減少し、品質が低下した。

これらのことから、NaClO処理区よりも殺菌効果が高く、かつ無処理区と同程度のかさ比容積となるⅢB2およびⅢB3を二段階殺菌条件として選定した。

有機酸は、グリシンや界面活性剤と併用することにより殺菌効果が高まることが報告されている^{16) 17)}。しかし、二段階殺菌の二次処理に酢酸とグリシンを併用した場合、二段階殺菌後の大腸菌数は一次処理の大腸菌数と同程度であり、二段階殺菌の有効性が認められなかった。Seoら¹⁸⁾は、殺菌処理後に生残した菌は、野菜の気孔や

表2 貝殻焼成カルシウム (CCa) の濃度と処理時間がキャベツの大腸菌数に与える影響

試験区	CCa濃度 (℃)	pH	時間 (分)	反復数	大腸菌数 (log CFU/g)	
I D 2 - a	0.1	12.4	1	3	4.3±0.1	a
b			5	3	4.1±0.0	a
c			10	3	4.0±0.1	a
d	0.2	12.5	1	3	4.0±0.1	a
e			5	3	4.0±0.1	a
f			10	3	3.7±0.1	a
g	0.3	12.6	1	3	4.1±0.2	a
h			5	3	4.0±0.1	a
i			10	3	3.9±0.1	a
分散分析						p値
濃度						0.041
時間						0.096
濃度×時間						0.969

大腸菌数は平均値±標準誤差を示す。

各試験は、3反復で実施した。

同一アルファベット間には5%水準で有意差がないことを示す (Tukey法)。

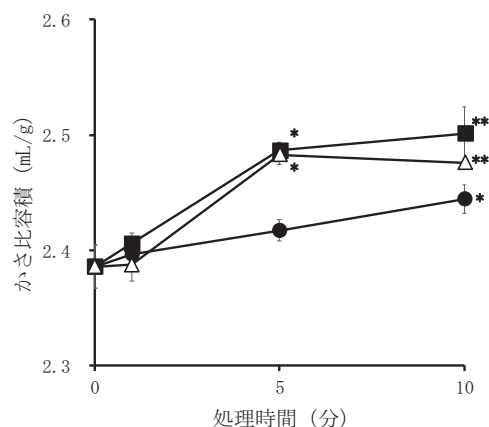


図1 貝殻焼成カルシウム (CCa) 処理によるキャベツのかさ比容積の変化

● : 0.1% CCa, △ : 0.2% CCa, ■ : 0.3% CCa

エラーバーは標準誤差を示す。

試験は5回反復して実施した。

かさ比容積の検定は、処理時間0分を対照群としたDunnett検定によって実施した。

(* : $p < 0.05$, ** : $p < 0.01$)

窪みなど構造的に殺菌成分と接触し難い部分に多く存在することを確認している。本研究においても同様に、一次処理後に生残する大腸菌は、二次処理の殺菌成分と接触し難い状態となっていることが推察され、酢酸とグリシンの併用は、期待する効果が得られなかったと考えられた。一方で、酢酸とC12PGを併用した二次処理を行った二段階殺菌の大腸菌数は、一次処理単独やNaClO処理よりも高い殺菌効果が認められた。

界面活性剤は、野菜表面の濡れ性を向上し、殺菌効果を高めることが報告されている¹⁹⁾。そのため、C12PGを併用した二段階殺菌は、酢酸と大腸菌の接触頻度が増加し、効果的に菌数を低減したと推察される。

(2) 保存性の検証

二段階殺菌したキャベツの4℃保存における大腸菌数およびかさ比容積の経時変化を図6に示した。二段階殺菌区ⅢB2の大腸菌数は、保存期間中に増加傾向を示した。また、ⅢB2のかさ比容積は保存に伴って低下した。一方、ⅢB3の大腸菌数は保存9日目までⅢA2の大腸菌数よりも常に低く推移した。さらに、ⅢB3のかさ比容積は減菌水処理であるⅢA1同様の傾向を示し、保存中の減少は認められなかった。処理温度が50℃であるⅢB4は、保存中に大腸菌数の増加およびかさ比容積の低下が認められた。すなわち、ⅢB4の二段階殺菌処理は、キャベツ品質に影響を与える過剰な殺菌条件であることが明らかとなった。大腸菌数の増加およびかさ比容積の低下は、損傷したキャベツの細胞から溶出した水分や細

表3 二次処理の試験区

試験区	薬剤	pH	温度(℃)
無処理区			
Ⅱ N	無し	-	-
単独処理区			
Ⅱ A	減菌水	6.4	10
Ⅱ B	NaClO	10.0	10
Ⅱ C	NaClO ₂	9.8	10
Ⅱ D	AcEW	2.3	10
Ⅱ E 1	0.5%LB	4.0	10
Ⅱ E 2			50
Ⅱ F 1	0.5AB	4.0	10
Ⅱ F 2			50
併用処理区			
Ⅱ G 1	0.5%AB	4.0	10
Ⅱ G 2	+0.5%Gly		50
Ⅱ H 1	0.1%AB	4.0	10
Ⅱ H 2	+0.03%PG		50
Ⅱ I 1	0.5%AB	4.0	10
Ⅱ I 2	+0.3%PG		50

NaClOおよびAcEWは、有効塩素濃度として、各々100ppmおよび40～50ppm、NaClO₂は、100ppmとした。

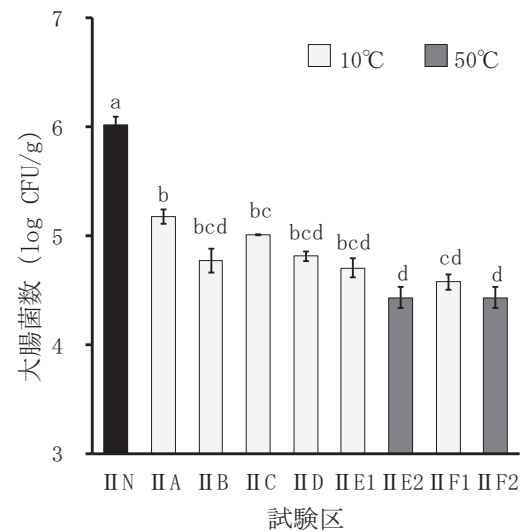


図2 殺菌剤および有機酸緩衝液によるキャベツの大腸菌数変化

試験区は、表3に示した。

エラーバーは標準誤差を示す。

使用した処理溶液は、ⅡA、減菌水；ⅡB、NaClO；ⅡC、NaClO₂；ⅡD、AcEW；ⅡE1およびⅡE2、0.5%LB；ⅡF1およびⅡF2、0.5%ABであり、試験区の末尾の1および2は、各々温度条件10℃、50℃を示す。

NaClOおよびAcEWは、有効塩素濃度として、各々100ppmおよび40～50ppm、NaClO₂は、100ppmとした。

試験は3～8反復で実施した。

同一アルファベット間には5%水準で有意差がないことを示す (Tukey法)。

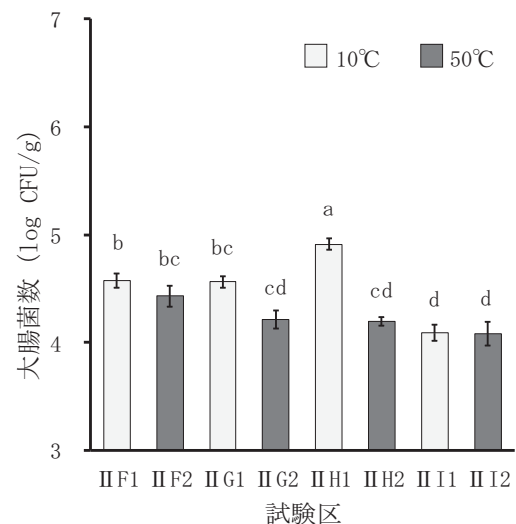


図3 酢酸緩衝液 (AB) とグリシン (Gly) およびモノラウリン酸ポリグリセリル (C12PG) 併用処理によるキャベツの大腸菌数変化

試験区は、表3に示した。

エラーバーは標準誤差を示す。

使用した処理溶液は、ⅡF1およびⅡF2、0.5%AB；ⅡG1およびⅡG2、0.5%AB+0.5%Gly；ⅡH1およびⅡH2、0.1%AB+0.03%PG；ⅡI1およびⅡI2、0.5%AB+0.3%PGであり、試験区の末尾の1および2は、各々温度条件10℃、50℃を示す。

試験は3～6反復で実施した。

同一アルファベット間には5%水準で有意差がないことを示す (Tukey法)。

胞内成分に起因するものと推察された。

とが明らかとなった。

以上のことから、0.2% CCa溶液中で10℃、5分間超音波処理した後、0.5% AB+0.3% C12PGで10℃、10分間処理を行う二段階殺菌は、キャベツ表面に付着した大腸菌を効果的に殺菌し、かつかさ比容積も維持できるこ

要 約

野菜の品質保持と殺菌効果を両立する二段階殺菌法を開発した。大腸菌を接種したキャベツを0.2% CCa溶液

表 4 二段階殺菌の試験区

試験区	一次処理					二次処理				
	一次処理試験区	薬剤	温度(℃)	時間(分)	物理処理	二次処理試験区	薬剤	温度(℃)	時間(分)	物理処理
無処理区	Ⅲ N	無し	-	-	-	-	無し	-	-	-
一段階処理区	Ⅲ A 1	滅菌水	10	10	振盪	-	無し	-	-	-
	Ⅲ A 2	無し	-	-	-	Ⅱ B	NaClO	10	10	振盪
	Ⅲ A 3	I D2-e 0.2%CCa	10	5	超音波	-	無し	-	-	-
二段階殺菌区	Ⅲ B 1	I D2-e 0.2%CCa	10	5	超音波	Ⅱ G 2	0.5%AB+0.5%Gly	50	10	振盪
	Ⅲ B 2	I D2-e 0.2%CCa	10	5	超音波	Ⅱ H 2	0.1%AB+0.06%PG	50	10	振盪
	Ⅲ B 3	I D2-e 0.2%CCa	10	5	超音波	Ⅱ I 1	0.5%AB+0.3%PG	10	10	振盪
	Ⅲ B 4	I D2-e 0.2%CCa	10	5	超音波	Ⅱ I 2	0.5%AB+0.3%PG	50	10	振盪

NaClOは、有効塩素濃度として、100ppmとした。

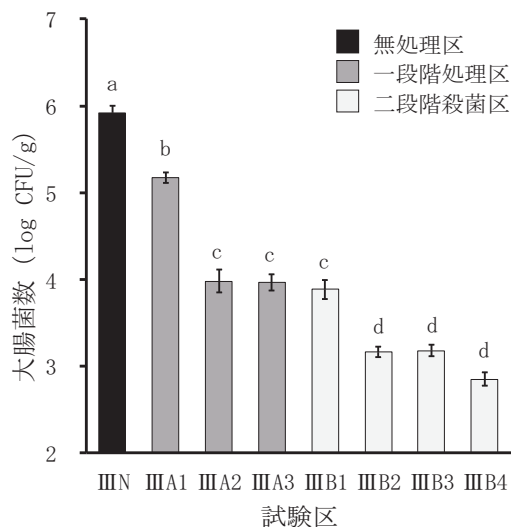


図 4 一段階処理および二段階殺菌によるキャベツの大腸菌数変化

各試験区の処理条件は、表 4 に示した。

エラーバーは標準誤差を示す。

無処理区：Ⅲ N，大腸菌接種のみ。

一段階処理区：Ⅲ A1，滅菌水（10℃，10分間，振盪）；Ⅲ A2，NaClO（10℃，10分間，振盪）；Ⅲ A3，0.2% CCa（10℃，5分間，超音波）。

二段階殺菌区：一次処理はⅢ A3とし、二次処理は、Ⅲ B1，0.5% AB+0.5% Gly（50℃，10分間，振盪）；Ⅲ B2，0.1% AB+0.06% PG（50℃，10分間，振盪）；Ⅲ B3，0.5% AB+0.3% PG（10℃，10分間，振盪）；Ⅲ B4，0.5% AB+0.3% PG（50℃，10分間，振盪）。

NaClOは、有効塩素濃度として、100ppmとした。

試験は 3 ～ 7 反復で実施した。

同一アルファベット間には 5 %水準で有意差がないことを示す (Tukey法)。

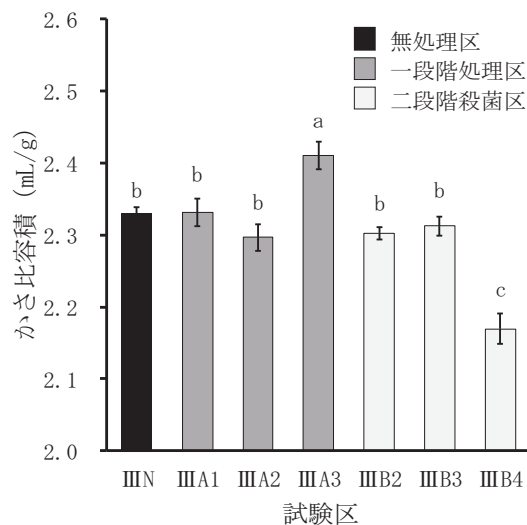


図 5 一段階処理および二段階殺菌によるキャベツのかさ比容積の変化

各試験区の処理条件は、表 4 に示した。

エラーバーは標準誤差を示す。

無処理区：Ⅲ N，大腸菌接種のみ。

一段階処理区：Ⅲ A1，滅菌水（10℃，10分間，振盪）；Ⅲ A2，NaClO（10℃，10分間，振盪）；Ⅲ A3，0.2% CCa（10℃，5分間，超音波）。

二段階殺菌区：一次処理はⅢ A3とし、二次処理は、Ⅲ B2，0.1% AB+0.06% PG（50℃，10分間，振盪）；Ⅲ B3，0.5% AB+0.3% PG（10℃，10分間，振盪）；Ⅲ B4，0.5% AB+0.3% PG（50℃，10分間，振盪）。

試験は 5 反復で実施した。

同一アルファベット間には 5 %水準で有意差がないことを示す (Tukey法)。

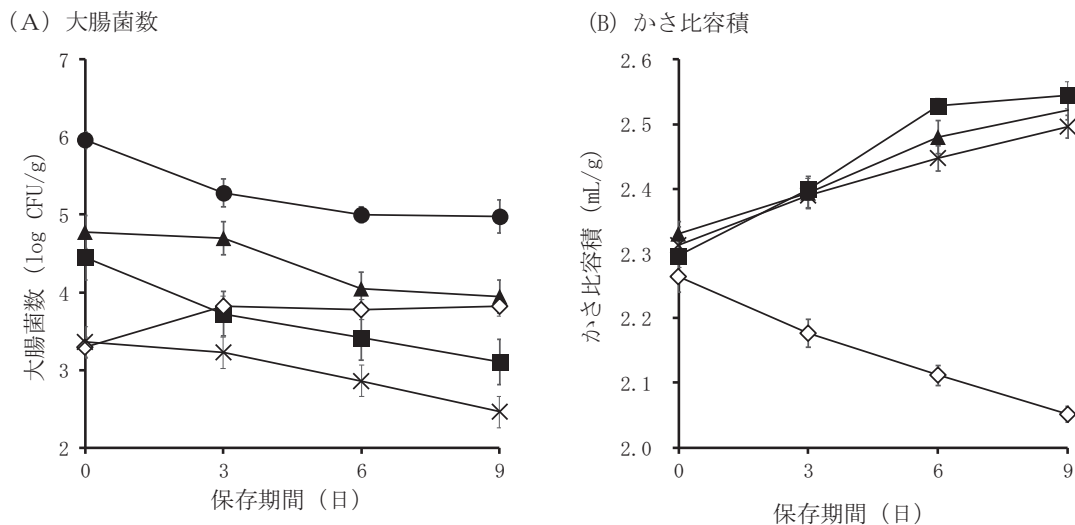


図6 二段階殺菌したキャベツの4℃保存における大腸菌数およびかさ比容積の経時変化

●, III N; ▲, III A1; ■, III A2; ◇, III B2; ×, III B3

各試験区の処理条件は、表4に示した。

エラーバーは標準誤差を示す。

無処理区: III N, 大腸菌接種のみ。

一段階処理区: III A1, 滅菌水 (10℃, 10分間, 振盪); III A2, NaClO (10℃, 10分間, 振盪); III A3, 0.2% CCl₄ (10℃, 5分間, 超音波)。

二段階殺菌区: 一次処理はIII A3とし, 二次処理は, III B2, 0.1% AB+0.06% PG (50℃, 10分間, 振盪); III B3, 0.5% AB+0.3% PG (10℃, 10分間, 振盪)。

菌数測定は, 3反復, かさ比容積測定は5反復で実施した。

中で10℃, 5分間超音波処理した後, 0.5% AB+0.3% C12PGで10℃, 10分間振盪処理を行う二段階殺菌は, 従来法である次亜塩素酸ナトリウム殺菌よりも高い殺菌効果を示した。また, 本法により殺菌したキャベツ試料の大腸菌数は, 4℃, 9日間の保存期間中, 次亜塩素酸ナトリウム処理よりも常に低い大腸菌数で推移し, かさ比容積の減少は認められなかった。

文 献

- 1) Kataoka, I., Eko, M., Terashima, H., Higashi, K., Nakasuji, Y., Miyakita, Y., Miyahara, S., Yamaguchi, H., and Yano, K. (2013). A diffuse outbreak of enterohemorrhagic *E. coli* O157 by lightly-pickled vegetables. *Japanese Journal of Food Microbiology*, **30**, 112-115 (片岡郁夫, 江湖正育, 寺島寛樹, 東小太郎, 中筋ゆり, 宮北佳恵, 宮原誠一, 山口弘行, 矢野公一. 白菜きりつけによる腸管出血性大腸菌O157食中毒の概要について, 日本食品微生物学会雑誌)。
- 2) Tamura, S. (1995). Cooking and cell wall of vegetables. *The Japan Society of Cookery Science*, **28**, 274-282 (田村咲江. 野菜の細胞壁と調理, 日本調理科学会誌)。
- 3) 福崎智司 (2012). 身近な消毒・漂白剤「次亜塩素酸製剤」, 「次亜塩素酸の科学」初版, 米田出版, 千葉, pp. 1-11.
- 4) Nazuka, E., Inatsu, Y., Bari, M. L., Kawasaki, S., Miyamaru, M., and Kawamoto, S. (2005). Survival and recovery of *Escherichia coli* O157: H7 on lettuce, cabbage and cucumber treated with chlorinated water. *Japanese Journal of Food Microbiology*, **22**, 89-94 (名塚英一, 稲津康弘, M. L. Bari, 川崎晋, 宮丸雅人, 川本伸一. レタス, キャベツおよびキュウリに接種した大腸菌O157:H7の次亜塩素酸ナトリウム溶液による洗浄殺菌効果, 日本食品微生物学会雑誌)。
- 5) 泉秀美 (2011). カット野菜製造中の衛生管理と微生物制御のポイント, 「カット野菜品質・衛生管理ハンドブック」復刻版, サイエンスフォーラム, 千葉, pp. 181-187.
- 6) Martin-Diana, A. B., Rico, D., Frias, J., Henehan, G. T. M., Mulcahy, J., Barat, J. M. and Barry-Ryan, C. (2006). Effect of calcium lactate and heat-shock on texture in fresh-cut lettuce during storage. *J. Food. Eng.*, **77**, 1069-1077.
- 7) 小関成樹 (2008). 電解水による野菜の殺菌, 「バイ

- オフィルムの基礎と制御」初版, エヌ・ティー・エス, 東京, pp. 176-189.
- 8) Nakagawa, R., Yabuuchi, H., Yasokawa, D., Nagashima, K., Watanabe, Y., Otomo, N., and Emoto, N. (2004). Pretreatment effect of surfactants for food on the disinfection of shredded cucumber by sodium hypochlorite solution. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology (Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi)*, **51**, 367-369 (中川良二, 藪内裕子, 八十川大輔, 長島浩二, 渡邊由子, 大友直也, 江本直幹. カットキュウリの次亜塩素酸ナトリウム殺菌における食品用界面活性剤の前処理効果, 日本食品科学工学会誌).
 - 9) 仲西寿男, 寺本忠司 (1996). 大腸菌群および糞便系大腸菌の迅速検査法, 「食品衛生検査指針追補II」初版, 日本食品衛生協会, 東京, pp. 28-34.
 - 10) Isshiki, K., Suhara, H., Mizuuchi K., and Tokuoka, K. (1994). Effectiveness of calcium preparation to control microbial growth in food. *Journal of Japanese Society for Food Science and Technology (Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi)*, **41**, 135-140 (一色賢司, 栖原浩, 水内健二, 徳岡敬子. カルシウム製剤による微生物制御の可能性について, 日本食品工業学会誌).
 - 11) Takahashi, K., and Fukuzaki, S. (2012). Removal and inactivation of bacterial cells adhering to polyethylene terephthalate surfaces during a combined alkali-chlorine cleaning. *Journal of Antibacterial and Antifungal Agents (Bokin Bobai)*, **40**, 405-413 (高橋和宏, 福崎智司. ポリエチレンテレフタレート表面の塩素併用アルカリ洗浄における付着細菌の除去および死滅挙動, 防菌防黴).
 - 12) Fukusaki, S., Urano, H. and Yamada, S. (2007). Effect of pH on the efficacy of sodium hypochlorite solution as cleaning and bactericidal agents. *J. Surface Finish. Soc. Jpn.*, **58**, 465-469.
 - 13) 鳥飼安生 (1961). 超音波の作用とその工業的応用. 生産研究, **13**, 279-286.
 - 14) Inatsu, Y., Bari, M. L., Kawasaki, S., Isshiki, K. and Kawamoto, S. (2005). Efficacy of acidified sodium chlorite treatments in reducing *Escherichia coli* O157:H7 on Chinese cabbage. *J. Food Prot.*, **68**, 251-255.
 - 15) Grant, G. T., Morris, E. R., Rees, D. A., Smith, P. J. C. and Thom, D. (1973). Biological interactions between polysaccharides and divalent cations: the egg-box model. *FEBS Lett.*, **32**, 195-198.
 - 16) 松田敏生 (1998). 調味料 (グリシン), 「食品微生物制御の化学」初版, 幸書房, 東京, pp. 91-104.
 - 17) Oh, D-H. and Marshall, D. L. (1994). Enhanced inhibition of *Listeria monocytogenes* by glycerol monolaurate with organic acids. *J. food sci.*, **59**, 1258-1261.
 - 18) Seo, K. H. and Frank, J. F. (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. *J. Food Prot.*, **62**, 3-9.
 - 19) Ono, T., Miyake, M. and Yamashita, K. (2005). Disinfection effect on vegetables by weak acid hypochlorous water to which a nonionic surfactant was added. *Journal of Antibacterial and Antifungal Agents (Bokin Bobai)*, **33**, 257-262 (小野朋子, 三宅真名, 山下光治. 非イオン界面活性剤を添加した弱酸性次亜塩素酸水の野菜に対する殺菌効果, 防菌防黴).