

# 高電界パルスによる大腸菌殺菌に及ぼす 水溶液中のイオンの影響

村上 祐一<sup>\*.1</sup>, 村本 裕二<sup>\*</sup>, 清水 教之<sup>\*</sup>

(2015年11月20日受付; 2016年3月1日受理)

## Effect of Ions in Aqueous Solution on Sterilization of *Escherichia coli* by High Electric Field Pulse

Yuichi MURAKAMI<sup>\*.1</sup>, Yuji MURAMOTO<sup>\*</sup> and Noriyuki SHIMIZU<sup>\*</sup>

(Received November 20, 2015; Accepted March 1, 2016)

We have been investigating the sterilization of liquid food by high electric field pulse. The sterilization mechanism is considered that Maxwell stress caused by application of high electric field pulse destroys cell membrane. The sample is *Escherichia coli* (JM103) in NaCl, KCl, CsCl, or CsBr aqueous solution. High voltage pulse ( $-4.40$  kV) is applied to the each sample at room temperature. As results, the survival rate of *E. coli* decreases with the concentration of ions in aqueous solution regardless of the kinds of electrolytes. The experimental results suggest that the survival rate of *E. coli* depends on the concentration of anion in aqueous solution because the original amount of cation in the cytoplasm is much larger than of anion.

### 1. はじめに

食品の殺菌法には、加熱殺菌法と非加熱殺菌法がある。加熱殺菌法は、簡便性に優れた殺菌方法であり、さらに高い殺菌効果を得られることから、食品の殺菌に広く用いられているが、熱による食品中のビタミン類や栄養成分の破壊、食品の香りや色調の変化などの欠点を持つ。非加熱殺菌法は、これらの加熱殺菌の欠点を解決するために提案されてきた<sup>1,2)</sup>。高電界パルス殺菌法は、非加熱殺菌法の1つであり、液体食品の新しい殺菌方法として注目されている。高電界パルス殺菌法の機構は、U. Zimmermann らが提唱するモデルが支持されており、液体中の細胞にパルス電界を印加することで、細胞膜をマクスウェル応力により機械的に圧縮し、孔を形成させ、細胞内容物 (DNA やタンパク質等) を細胞外へ漏出させることで、殺菌すると考えられている<sup>3)</sup>。これまでに、多くの研究者が高電界パルス殺菌法の研究を実施し、高電界パルス殺菌に及ぼす印加電界強度、印加回数、パルス幅の影響<sup>4,6)</sup>を検討し、さらに電極形状<sup>7,9)</sup>および電極素材<sup>10)</sup>を変えることで殺菌効果が向上した結果を報告している。

高電界パルス殺菌の研究では、実験試料の溶液としてリン酸緩衝液<sup>4)</sup>、NaCl 水溶液<sup>8,9,11)</sup>、液体培地<sup>6,10)</sup>などが多く使用されている。H. Hülshager らは、水溶液中の電解質濃度が高電界パルスによる殺菌率に影響を及ぼすことを報告している<sup>5,12)</sup>。しかし、殺菌率と電解質の種類や濃度の因果関係については不明な点が多い。そこで本論文では、高電界パルス殺菌に影響を及ぼす水溶液中のイオンに注目し、種類や濃度を変化させて、検討を行ったので報告する。

### 2. 実験方法

#### 2.1 実験試料

殺菌対象は *Escherichia coli* JM103 (非病原性) である。この菌を寒天培地上に塗布し、静置培養 (37°C, 24時間) した。その後、寒天培地上に形成されたコロニー1つを液体培地 5 ml 中に入れ、振とう培養 (37°C, 24時間) した。表1にそれぞれの培地の成分を示す。培養した液体培地 5 ml から 1 ml を採取し、滅菌したポリプロピレンチューブ内に入れ、チューブを遠心分離 (8,000 rpm,

表1 液体培地と寒天培地の成分

Table 1 Components of liquid culture medium and agar culture medium.

	Liquid culture medium [wt%]	Agar culture medium [wt%]
Tryptone	1.0	1.0
Yeast Extract	0.5	0.5
NaCl	0.5	0.5
Agar	0	1.5
Distilled water	98	96.5

キーワード: 高電界パルス, 殺菌, 大腸菌, 電解質

\* 名城大学大学院理工学研究科電気電子・情報・材料工学専攻 (〒468-8502 名古屋市天白区塩釜口 1-501)

Division of Electrical and Electronic, Information, and Materials Engineering, Graduate School of Science and Technology, Meijo University, Shiogamaguchi 1-501, Tempaku-ku, Nagoya 468-8502, Japan

<sup>1</sup> 143441504@c alumni.meijo-u.ac.jp

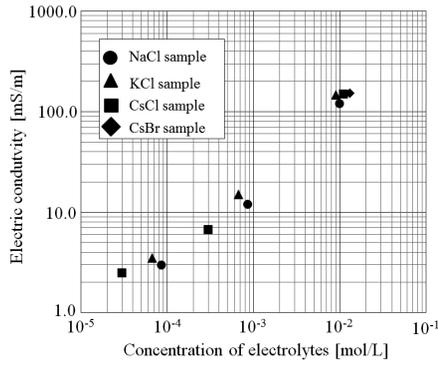


図1 試料の導電率の電解質濃度特性

Fig.1 The electric conductivity of sample as a function of the concentration of electrolytes.

20℃, 5分) した。遠心後, チューブ内の上澄み液を捨て, 沈殿物 (大腸菌) のみをチューブ内に残した。沈殿物の質量は 30 mg だった。実験試料は, チューブ内の沈殿物 (大腸菌) のみを濃度  $3.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-2}$  mol/L の NaCl, KCl, CsCl, CsBr 各種水溶液 10 ml 内に入れたものである。試料容量は, 約 10.3 ml となり, 試料の初期菌数は, 約  $10^7$  CFU/ml である。また, 実験試料の pH および導電率は, pH 計 (HM-30R 型: TOADKK) および電気伝導率計 (CM-30R 型: TOADKK) を用いて測定した。試料の pH は全ての電解質濃度で約 6.5 であった。図1に試料の導電率の電解質濃度特性を示す。図1は, 試料の導電率は電解質濃度が高いほど増加していることを示している。

2.2 実験手順

図2に実験回路を, 図3に同軸円筒電極型殺菌槽の断面図を示す。パルス電圧発生器には, インパルス電圧発生器 (東京変圧器(株) 898101) を使用した。殺菌槽には同軸円筒型殺菌槽を使用した。殺菌槽の内部電極の直径は 5 mm, 電極間距離は 3 mm, 深さは 80 mm である。また, 殺菌槽の電極にはステンレスを用い, 電極の固定にはEPDMゴムを使用した。殺菌槽内に試料6 ml を入れ, インパルス電圧発生器から殺菌槽の内部電極に波高値 -4.40 kV のパルス電圧を 60 秒間隔で 30回印加した。パルス電圧印加1回ごとに殺菌槽を振って攪拌した。なお, 実験は室温で行った。試料の導電率は, イオン濃度により異なるため, 殺菌槽のインピーダンスが変化し, 図2中のコンデンサ (62.5 nF) に充電された電圧値が同じ場合, 殺菌槽に加わる電圧の波高値が変化した。そのため, 殺菌槽に加わる電圧の波高値が同じ値になるようコンデンサの充電電圧値を調整した。殺菌槽に加わる電圧波形は, 分圧器 (IWATSU ELECTRIC CO. LTD, HV-P30) を通してデジタルオシロスコープ (Tektronix DPO4034) で測定した。図4に濃度 0.01 mol/L NaCl 試料のパルス電圧波形図を, 表2に各試料の印加電圧の波頭長および波尾

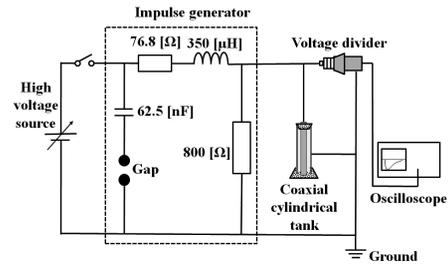


図2 実験回路

Fig.2 Experimental set up.

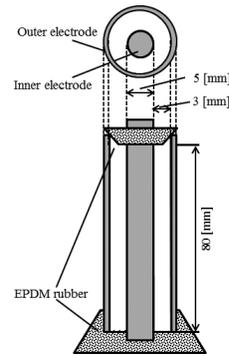


図3 同軸円筒電極型殺菌槽の断面図

Fig.3 Cross-section of the coaxial cylindrical electrodes tank.

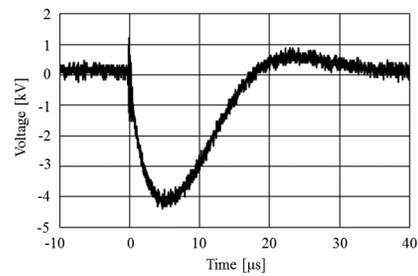


図4 印加電圧波形 (0.01 mol/L NaCl sample)

Fig.4 The typical shape of the applied voltage (0.01 mol/L NaCl sample).

表2 印加電圧の波頭長および波尾長

Table 2 Duration of wave front and tail for applied voltages.

Electrolytes	Concentration [mol/L]	Duration of wave front [μs]	Duration of wave tail [μs]
NaCl	$1.0 \times 10^{-2}$	4.9	11.2
	$8.6 \times 10^{-4}$	5.4	13.0
	$8.6 \times 10^{-5}$	5.1	13.7
KCl	$1.0 \times 10^{-2}$	5.2	11.4
	$6.7 \times 10^{-4}$	5.3	12.4
	$6.7 \times 10^{-5}$	4.9	12.6
CsCl	$1.0 \times 10^{-2}$	4.8	11.5
	$3.0 \times 10^{-4}$	5.6	13.2
	$3.0 \times 10^{-5}$	5.2	13.6
CsBr	$1.0 \times 10^{-2}$	5.3	11.6

長を示す。各試料に印加した電圧の波頭長および波尾長は, 表2より電解質の種類や濃度の変化に対して大きく変化しなかった。殺菌槽内の電界は, 殺菌槽が同軸円筒

状 (図3) であるため, 式(1)から求めることができる.

$$E(r) = \frac{V}{r \cdot \ln \frac{R_2}{R_1}} \quad (1)$$

ここで,  $V$  は印加電圧,  $R_1$  は内部電極の半径 (2.5 mm),  $R_2$  は外部電極の内半径 (5.5 mm),  $r$  は半径を示す. 式(1)から, 殺菌槽の内部電極に近い程電界強度は高く, 最大で 2.22 kV/mm, 最小で 1.01 kV/mm である. また, パルス電圧印加による試料の単位体積当たりの投入エネルギー  $E_n$  は, 式(2)のように印加電圧波形と電流波形の積を積分することで求めた. 図5~8に各試料の印加電流波形を示す.

$$E_n = \frac{\int_0^{20 \times 10^{-6}} V(t)I(t)dt}{T} \cdot n \quad (2)$$

ここで,  $V(t)$  は印加電圧 (V),  $I(t)$  は印加電流 (A),  $t$  は時間 (s),  $n$  はパルス電圧印加回数,  $T$  は殺菌槽内の試料容積 (6 ml) である. 図9にパルス電圧30回印加に対する投入エネルギーの電解質濃度特性を示す. また,

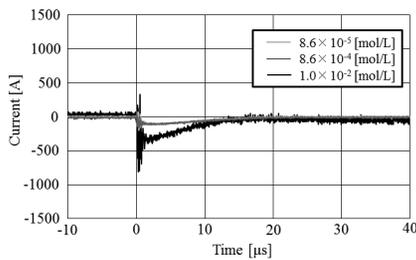


図5 NaCl 試料の印加電流波形  
Fig.5 The typical applied voltage waveform for NaCl sample.

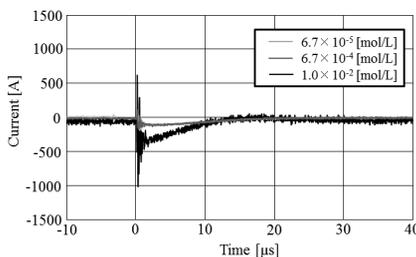


図6 KCl 試料の印加電流波形  
Fig.6 The typical applied voltage waveform for KCl sample.

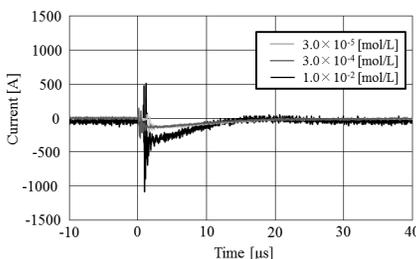


図7 CsCl 試料の印加電流波形  
Fig.7 The typical applied voltage waveform for CsCl sample.

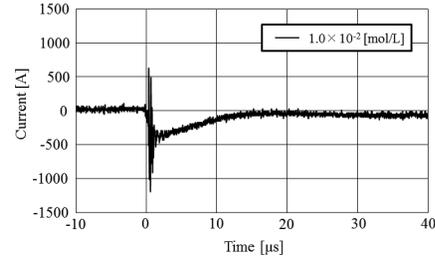


図8 CsBr 試料の印加電流波形  
Fig.8 The typical applied voltage waveform for CsBr sample.

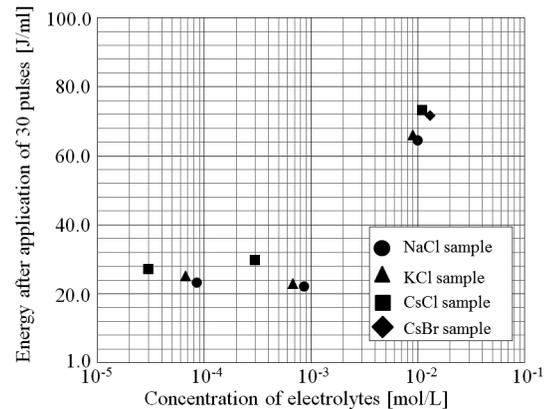


図9 パルス電圧30回印加に対する投入エネルギーの電解質濃度特性  
Fig.9 The input energy for application of 30 pulses as a function of the concentration of electrolytes.

図9中で投入エネルギーが最も高い  $1.0 \times 10^{-2}$  mol/L CsCl 試料では, パルス電圧印加30回後の温度は, 印加前の試料と比較して  $3^\circ\text{C}$  程度上昇した.

### 2.3 生菌数の測定

大腸菌の生菌数の測定には, コロニー計数法を用いた<sup>13)</sup>. 高電圧パルス印加10回ごとに実験試料 100  $\mu\text{l}$  を採取し, 大腸菌のコロニー数が数十~数百個になるように, 採取したサンプル 100  $\mu\text{l}$  を 0.8 wt% NaCl 水溶液で希釈した. 希釈したサンプルを寒天培地に塗布し, 静置培養 ( $37^\circ\text{C}$  24 時間) し, 培養後, 寒天培地上に形成された大腸菌のコロニーを測定した. なお, 実験試料より生菌数測定用のサンプルを採取したことにより, 試料の単位体積当たりの投入エネルギーが変化することが考えられるが, 各試料の容量 6.0 ml と 5.8 ml のパルス電圧30回印加の投入エネルギーの差異は, 3.3%であり, ほとんど変わらなかった.

### 3. 実験結果

生菌率  $r_x$  は  $n_x/n_0$  にて求めた. ここで,  $n_0$  はパルス電圧印加前の生菌数,  $n_x$  は  $x$  回のパルス電圧印加後の生菌数,  $x$  は印加回数である.

図10に無印加時の30分後の大腸菌の生菌率の電解質濃度特性を示す. 図10は, 各試料のパルス電圧印加前

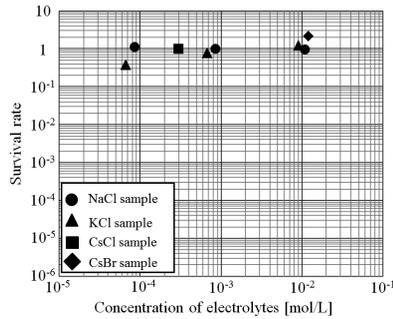


図 10 無印加時の 30 分後の大腸菌の生菌率の電解質濃度特性  
Fig.10 The survival rate of *E. coli* after 30 minutes as a function of the concentration of electrolytes with no pulse application.

の生菌率を 1 とし、パルス電圧を印加せず 30 分間（パルス電圧印加 30 回に必要な所要時間）放置した時の生菌率である。パルス電圧印加が無い場合には大腸菌は死滅しないことが確認できる。

### 3.1 大腸菌の生菌率のパルス電圧印加回数特性

図 11 に NaCl 試料の大腸菌の生菌率のパルス印加回数特性に及ぼす NaCl 濃度の影響を示す。図中のマークは平均生菌率を、エラーバーは最小値および最大値を、括弧内の数字は実験回数を示す。

図 11 より、NaCl の濃度が高くなるほど大腸菌の生菌率は減少していることがわかる。また、NaCl 試料の生菌率は、パルス印加回数の増加と共に減少しているが、生菌率の減少幅は小さくなっている。

図 12 および 13 に KCl および CsCl 試料の大腸菌の生菌率のパルス印加回数特性に及ぼす KCl および CsCl 濃度の影響を示す。図 12, 13 から、KCl および CsCl 試料の大腸菌の生菌率は KCl あるいは CsCl の濃度が高くなるとともに減少していることがわかる。また、これらの生菌率も、NaCl 試料と同様にパルス印加回数とともに減少しているが、その減少幅は小さくなっていることがわかる。生菌率の減少幅が印加回数の増加とともに小さくなることについては前報で、大腸菌の大きさの相違や菌の溶液中の分布によりパルス電界が細胞膜に印加されにくくなり、菌が生き残るためであると報告している<sup>6)</sup>。また、図 14 は濃度  $1.0 \times 10^{-2}$  mol/L の NaCl, KCl, CsCl, および CsBr 試料の大腸菌の生菌率のパルス印加回数特性に及ぼす電解質の種類の影響を示しており、試料中の電解質の種類が異なる場合でも、電解質の濃度が同じであれば、生菌率の減少傾向はほとんど同じであることが示された。

### 3.2 大腸菌の生菌率の電解質濃度特性

図 15 にパルス印加 30 回後の大腸菌の生菌率の電解質濃度特性に及ぼす電解質の種類の影響を示す。図 15 では、横軸は電解質濃度、縦軸は図 11~14 の各試料のパルス印加 30 回後の生菌率をプロットした。図 15 から、

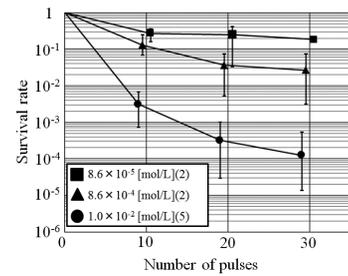


図 11 NaCl 試料の大腸菌の生菌率のパルス印加回数特性に及ぼす NaCl 濃度の影響

Fig.11 Effect of the concentration of NaCl on the survival rate of *E. coli* for NaCl samples as a function of the number of pulses.

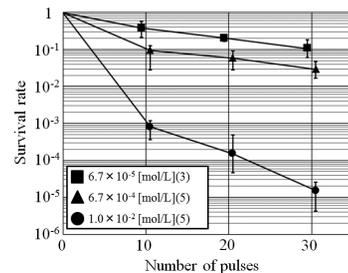


図 12 KCl 試料の大腸菌の生菌率のパルス印加回数特性に及ぼす KCl 濃度の影響

Fig.12 Effect of the concentration of KCl on the survival rate of *E. coli* for KCl samples as a function of the number of pulses.

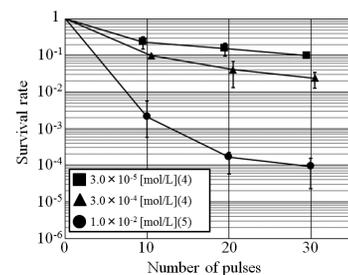


図 13 CsCl 試料の大腸菌の生菌率のパルス印加回数特性に及ぼす CsCl 濃度の影響

Fig.13 Effect of the concentration of CsCl on the survival rate of *E. coli* for CsCl samples as a function of the number of pulses.

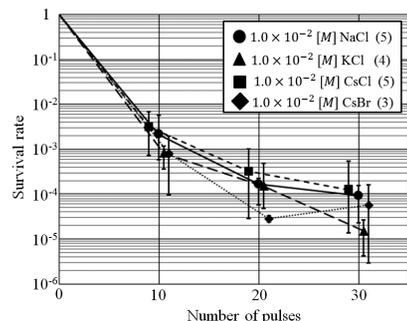


図 14 各試料濃度  $1.0 \times 10^{-2}$  [mol/L] における大腸菌の生菌率のパルス印加回数特性に及ぼす電解質の種類の影響

Fig.14 Effect of the kinds of electrolytes on the survival rate of *E. coli* for  $1.0 \times 10^{-2}$  [mol/L] samples as a function of the number of pulses.

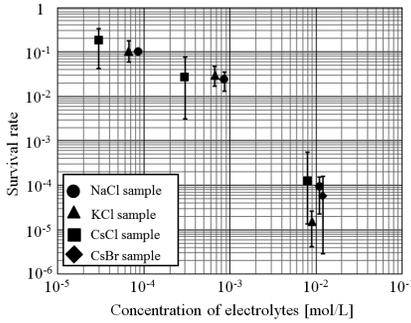


図 15 パルス印加 30 回後の大腸菌の生菌率の電解質濃度特性に及ぼす電解質の種類の影響

Fig.15 Effect of the kinds of electrolytes on the survival rate of *E. coli* after 30 pulses as a function of the concentration of electrolytes.

パルス印加 30 回後の生菌率は、電解質濃度が高くなるほど減少し、その減少の軌跡も電解質の種類によらず、ほぼ同じ傾向を示すことがわかった。

4. 考察

細菌を含む水溶液試料に高電界パルスを印加すると、細胞質（細胞内部）と水溶液試料中（細胞外部）のイオンが細胞膜表面に移動し、整列することで細胞膜間にマクスウェル応力が生じる。高電界パルス殺菌は、この応力により機械的に細胞膜を破壊し、細菌を死滅させると考えられている。以下では、水溶液中のイオンに着目し、電解質の濃度が高くなるほど生菌率が減少することをマクスウェル応力の観点から検討する。

4.1 イオン種の影響

表 3 に水溶液中のイオンの半径、質量、水和半径、および移動度を示す。表 3 から水溶液中の各イオンの半径、質量、水和半径、および移動度は異なっている。それぞれの差異は、イオン半径では 2 倍、質量では 6 倍、水和半径では 1.1 倍、移動度では 1.6 倍である。しかし、図 15 では、大腸菌の生菌率が電解質の種類には依存せず、水溶液中の電解質濃度だけに依存していることが示されている。さらに、図 14 より、濃度  $1.0 \times 10^{-2}$  mol/L において、各試料の生菌率は同程度であることがわかる。こ

表 3 イオンの半径<sup>14)</sup>・質量<sup>15)</sup>・水和半径<sup>14)</sup>・移動度<sup>16)</sup>  
Table 3 radius<sup>14)</sup>, molar mass<sup>15)</sup>, hydrated radius<sup>14)</sup>, and mobility<sup>16)</sup> of ion.

	Ionic radius <sup>14)</sup> [nm]	molar mass <sup>15)</sup> [g/mol]	hydrated radius <sup>14)</sup> [nm]	Mobility <sup>16)</sup> [cm <sup>2</sup> /sV]
Na <sup>+</sup>	0.095	22.99	0.36	$5.19 \times 10^{-4}$
K <sup>+</sup>	0.133	39.10	0.33	$7.62 \times 10^{-4}$
Cs <sup>+</sup>	0.169	132.91	0.33	$7.96 \times 10^{-4}$
Cl <sup>-</sup>	0.181	35.45	0.33	$7.91 \times 10^{-4}$
Br <sup>-</sup>	0.195	79.90	0.33	$8.10 \times 10^{-4}$

れらのことから、本研究で使用した電解質の種類とその濃度範囲では、大腸菌の生菌率は水溶液中のイオンの半径、質量、水和半径、および移動度ではなく、水溶液中の電解質濃度だけに依存していることが示唆された。

4.2 水溶液中の電解質濃度の影響

4.1 から、パルス電界印加による大腸菌殺菌は、水溶液中の電解質の濃度に依存していることが示唆された。図 16 に高電界パルス殺菌機構に及ぼす電解質濃度の影響を示す。水溶液中のイオンは、高電界パルス印加により生じるマクスウェル応力に寄与する。そして、この応力が細胞膜を破壊することで殺菌する。このとき、マクスウェル応力  $F$  は式 (3) で与えられる<sup>17)</sup>。

$$F = \frac{1}{2} \epsilon_m E_m^2 \tag{3}$$

ここで、 $\epsilon_m$  は細胞膜の誘電率を、 $E_m$  は細胞膜に生じる電界強度を示す。また、 $E_m$  は式 (4) で与えられる。

$$E_m = \frac{\delta}{\epsilon_m} \tag{4}$$

ここで、 $\delta$  は細胞膜表面に存在する電荷面密度である。式 (4) から、細胞膜表面に整列するイオンの電荷面密度、従って細胞質および水溶液試料に含まれるイオンの濃度が高いほど、細胞膜に生じる電界強度は高くなることがわかる。また、式 (3) からマクスウェル応力は、細胞膜に生じる電界強度が高くなるほど大きくなることがわかる。従って、図 16 に示すように細胞外（液体試料）中のイオン濃度が高くなるほど、膜に働くマクスウェル応力は強くなり、生菌率は減少したことが考えられる。水溶液中のイオンの量とマクスウェル応力の大きさを関係、マクスウェル応力と高電界パルス殺菌の殺菌率との関係については、今後定量的に評価していく。

一般に細胞内には豊富な正イオン (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>) が存在し、その濃度は 0.15 mol/L 程度である<sup>18)</sup>。一方、細胞質内の負イオン (Cl<sup>-</sup>) の濃度は正イオンの濃度より低く、0.004

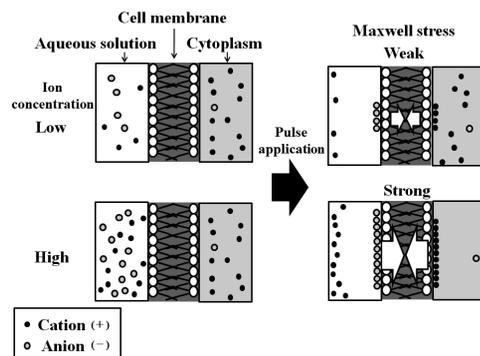


図 16 高電界パルス殺菌機構に及ぼす電解質濃度の影響  
Fig.16 Effect of the concentration of electrolytes on the mechanism of sterilization by high electric field pulse.

mol/L 程度であり<sup>18)</sup>、濃度 0.12 mol/L の RNA や DNA などの巨大分子が細胞内の負電荷を担っていることから、細胞内は電気的に中性に保たれている<sup>18)</sup>。しかし、巨大分子の移動度は低いため、それに担われた負電荷はマクスウェル応力に寄与し難いことが考えられる。これらのことから、高電界パルスが大腸菌を含む水溶液に印加されると、負電極側では、細胞内では細胞質中に豊富に存在する正イオン ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ) が細胞膜内側表面に整列し、これと対となるように水溶液中の負イオン ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ) が細胞膜外側表面に整列することにより、大きなマクスウェル応力が細胞膜間に生じ、高い殺菌率が得られると考えられる。また、細胞中の正イオン濃度は 0.15 mol/L 程度であり<sup>18)</sup>、本研究で使用した電解質の濃度範囲 ( $3.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-2}$  mol/L) と比較して充分高い。そのため、マクスウェル応力は負イオン ( $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ) の濃度が高くなるとともに大きくなる。つまり、負イオンの濃度が生菌率の支配要因であることが示唆される。ここで、水溶液試料中には、 $\text{H}_2\text{O}$  分子が解離した  $\text{OH}^-$  イオンも含まれているが、 $\text{OH}^-$  イオンの濃度は  $3.2 \times 10^{-8}$  mol/L 程度であり、本研究での電解質の濃度と比較してはるかに小さいため、高電界パルス殺菌には影響しないと考えられる。一方、正電極側では、細胞内の巨大分子は移動し難いため、負イオン ( $\text{Cl}^-$ ) が細胞膜内側表面に整列するが、負イオンの濃度は正イオンの 1/40 倍程度しかないためマクスウェル応力は、式(3)、(4)から負電極側に対して 1/1,600 倍程度小さいことが考えられる。

実際の液体食品には、イオン以外にも電荷担体は存在し、マクスウェル応力に寄与することが考えられる。今後、液体食品中に存在する溶質が高電界パルス殺菌の殺菌率に及ぼす影響を検討し、マクスウェル応力の大きさと水溶液中の電荷担体濃度特性を調査していく。

## 5. まとめ

大腸菌を含む  $3.0 \times 10^{-5} \sim 1.0 \times 10^{-2}$  mol/L の NaCl, KCl, CsCl, および CsBr 水溶液にパルス電圧 (波高値: -4.40 kV, 幅: 20  $\mu\text{s}$ ) を 60 秒間隔で印加し、殺菌実験を実施した結果、以下の結論を得た。

- (1) 生菌率は水溶液中の電解質濃度が高くなるほど減少した。また、 $1.0 \times 10^{-2}$  mol/L の NaCl, KCl, CsCl, および CsBr 水溶液中の大腸菌の生菌率は同程度であったことから、本研究で使用した電解質のイオンの半径、質量、水和半径、および移動度は、生菌率に影響を及ぼさないことが示された。
- (2) 細胞内では豊富に含まれている正イオンが細胞膜内側表面に整列し、一方の細胞外 (水溶液試料) では

負イオンが外側表面に整列するとき、大きいマクスウェル応力が細胞膜を圧縮し、高い殺菌効果が得られることが考えられる。よって、水溶液試料中の負イオンの濃度が生菌率を決定していることが示唆された。

## 謝辞

本研究を進めるにあたり、数々の技術的御指導および御助言を頂きました名城大学農学部加藤雅士教授および同大学農学部志水元亨助教に深く感謝致します。

## 参考文献

- 1) 松田敏生: 非加熱殺菌技術による食品の殺菌と保存. 食品衛生学雑誌, **41** (2000) 163
- 2) 五十部誠一郎: 非加熱殺菌法を中心とした新規殺菌技術. 日本食品微生物学会雑誌, **27** (2010) 115
- 3) U. Zimmermann, G. Pilwat and F. Riemann: DIELECTRIC BREAKDOWN OF CELL MEMBRANES. Biophysical Journal, **14** (1989) 881
- 4) H. Hülshager, J. Potel, E. -G. Niemann: Electric Field Effects on Bacteria and Yeast Cells. Radiat Environ Biophys, **22** (1983) 149
- 5) H. Hülshager, J. Potel, E. -G. Niemann: Killing of Bacteria with electric Pulses of High Field Strength. Radiat Environ Biophys, **20** (1981) 53
- 6) 村本裕二, 岡洋佑, 村上祐一, 清水教之, 市原茂幸: 高電界パルス印加による大腸菌の伸長. 静電気学会誌, **38** (2014) 108
- 7) 大嶋孝之, 佐藤正之: パルス殺菌—自然のままに安全—. 日本調理科学会誌, **36** (2003) 334
- 8) 北島信義, 阿久澤悦子, 上田香奈, 大嶋孝之, 佐藤正之: 織物電極によるパルス殺菌. 日本食品工学会誌, **8** (2007) 139
- 9) ネイデ ミホ イシダ, 大嶋孝之, 佐藤正之: スパイラル形状電極処理槽のパルス殺菌特性. 日本食品工学会誌, **5** (2004) 35
- 10) 吉野功, 大嶋孝之, 谷野孝徳, 佐藤正之: 銀電極を用いた高電圧パルス殺菌装置による種々の菌に対する不活性化効果. 静電気学会誌, **34** (2010) 81
- 11) 速水光浩, 天満孝昌, 水野彰: 高電圧パルスによるイースト菌の破壊. 静電気学会誌, **13** (1989) 322
- 12) H. Hülshager, and E. -G. Niemann: Lethal Effects on High-Voltage Pulses on E. coli K12. Radiat. Environ. Biophys, **18** (1983) 281
- 13) 小西正朗, 堀内淳一: 細胞の増殖を捉える - 計測法から比速度算出まで -. 生物工学会誌, **93** (2015) 149
- 14) 水間裕市: 分子間力と表面力, p. 42, (株)マグローウヒル出版 (1991)
- 15) P. Atkins and J. de Paula: ATKINS' PHYSICAL CHEMISTRY, p. 1065, OXFORD UNIVERSITY PRESS, 8th edition (2006)
- 16) 小澤美奈子: 化学・生命科学系のための物理化学, p.159, (株)東京化学同人 (2003)
- 17) 秋山秀典: 高電圧パルスパワー工学, pp.33-36, (株)オーム社 (2011)
- 18) 太田孝之, 岡田節人, 岡田善雄 編: 岩波講座現代生物化学 3 細胞の構造と機能II, pp.309-310, 岩波書店 (1975)