# 高電界パルスによる大腸菌の殺菌

-高電界パルス殺菌モデルによる生菌率の算出-

村上 祐一\*.1, 岡 洋佑\*, 村本 裕二\*, 清水 教之\*

(2016年3月10日受付;2016年6月22日受理)

Inactivation of *Escherichia coli* by High Electric Field Pulse – Calculation of the Survival Ratio by a Model for Inactivation of High Electric Field Pulse – Yuichi MURAKAMI<sup>\*, 1</sup>, Yosuke OKA<sup>\*</sup>, Yuji MURAMOTO<sup>\*</sup> and Noriyuki SHIMIZU<sup>\*</sup> (Received March 10, 2016; Accepted June 22, 2016)

We have been investigating the inactivation of *Escherichia coli* in liquid using high electric field pulse. This paper compared the survival ratio obtained from experiments and survival ratio calculated from inactivation mechanism model. High voltage pulse (-3.8 kV, -4.4 kV or -5.3 kV) is applied to liquid culture medium with *Escherichia coli*. As a result, the survival ratio of *E. coli* de-creases with the number of pulses. The survival ratios were calculated as a function of the number of pulses by using a model for inactivation of high electric field pulse. The calculated values well agreed with the experimental results.

# 1. はじめに

高電界パルス殺菌法は,非加熱殺菌法の一つであり,加熱殺菌の問題である熱が食品の品質を変化させること やエネルギー効率が低いことを解決できることから,液体食品の新しい殺菌方法として注目されており<sup>1,2)</sup>,多 くの研究者によって研究されてきた.これまで,本研究 室では、高電界パルス印加後の大腸菌の長さは印加前よ り長くなること<sup>3)</sup>や,温度およびパルス間隔がパルス殺 菌に及ぼす影響<sup>4)</sup>について報告してきた.また,高電界 パルスによる殺菌に及ぼす印加電界強度<sup>57)</sup>,印加回数<sup>5,7)</sup>, パルス幅<sup>5)</sup>の影響などが他の研究者から報告されてい る.さらに、高電界パルス殺菌の実用化に向けて、高い 殺菌効果が得られる殺菌処理槽の形状<sup>8-10)</sup>や電極素材<sup>11)</sup> が検討され、さらに、様々な種類の菌(大腸菌<sup>36,9-11)</sup>,酵 母<sup>11-12)</sup>,黄色ブドウ球菌<sup>7,11)</sup>,および黒コウジカビ胞子<sup>11)</sup>等) の殺菌効果が確認されている.

高電界パルス印加による殺菌率の見積りが可能になる ことは、実用化に向けて重要な課題である.H. Hülshegerらは豊富な研究データから、高電界パルス印 加による大腸菌殺菌はパルス処理時間(印加パルス電圧 の幅とその印加回数の積)に依存すると報告している<sup>5)</sup>. 一方,あるパルス印加回数以上では,高電界パルス印加 によるバクテリアの生菌率の減少率は,緩やかになる結 果も報告されており<sup>13)</sup>,この傾向は,本研究室でこれま で実施してきた実験においても確認されている<sup>3,4)</sup>.ま た,大嶋らは消費エネルギー(オシロスコープ上の波形 から算出)とバクテリアの殺菌率は,ある範囲までは相 関があるが,その範囲を超えると生菌率の減少幅は小さ くなると報告している<sup>14)</sup>.本研究室では,U.Zimmermann ら<sup>15)</sup>が提唱する殺菌機構のモデルを使って生菌率の算 出を試みてきた<sup>16)</sup>.本報では,試料中の大腸菌の長さ分 布の要素を考慮に入れ,殺菌機構モデルから算出した生 菌率と殺菌実験から得られた生菌率の比較を行ったので 報告する.

# 2. 実験方法

## 2.1 実験試料

殺菌対象には *Escherichia coli* JM103 を用いた. この菌 を寒天培地(1 wt% Tryptone, 0.5 wt% Yeast Extract, 0.5 wt % NaCl, 1.5 wt% Agar, 96.5 wt% 蒸留水)上に塗布し, 静置培養(37℃ 24時間)させた. 培養後, 寒天培地上 に形成されたコロニー1つを液体培地(1 wt% Tryptone, 0.5 wt% Yeast Extract, 0.5 wt% NaCl, 98 wt% 蒸留水)5 mL 中に入れ, 振とう培養(37℃, 24時間)を行った. こ れらの寒天培地および液体培地は滅菌してから使用し た. 振とう培養した液体培地5 mL 中の100 µL を, 別の 減菌済みの液体培地5 mL 中に入れ, 再び振とう培養(37 ℃)した. 実験試料は, この液体培地の吸光度(OD<sub>620</sub>) が 0.6 になったときのもの1 mL を滅菌した蒸留水9 mL

キーワード:高電界パルス,大腸菌,殺菌モデル \*名城大学大学院理工学研究科

<sup>(〒468-8502</sup> 名古屋市天白区塩釜口 1-501) Graduate School of Science and Technology, Meijo University, Shiogamaguchi 1-501, Tempaku-ku, Nagoya 468-8502, Japan

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup>143441504@ccalumni.meijo-u.ac.jp

に入れたものである.液体培地の吸光度を調整すること で、初期菌数濃度を調整した.実験試料の初期菌数は、 2.4節で後述するコロニー計数法で測定したところ、1× 10<sup>7</sup> CFU/mL だった.また、実験試料のpH および導電率 を pH 計(HM-30R型:TOADKK)および電気伝導率計 (CM-30R型:TOADKK)を用いて測定したところ、室 温で試料の pH は約 6.5、導電率は約 130 mS/m であった.

## 2.2 殺菌槽

図1に同軸円筒電極型殺菌槽の断面図を示す. 電極は ステンレス製のものを用い, 電極の固定には EPDM ゴ ムを使用した. 内部電極の半径  $R_1$  は 2.5 mm, 外部電極 の内半径  $R_2$  は 5.5 mm, 電極間距離は 3 mm, 深さは 80 mm である. 円筒槽内の電界 E(r)は, 内部電極の管軸か らの距離 r の関数として式(1)で与えられる.

$$E(r) = \frac{V}{r \cdot ln_{R_1}^{R_2}} \tag{1}$$

ここで、Vは印加電圧である.



図1 同軸円筒電極型殺菌槽の断面図

Fig.1 Cross section of the coaxial cylindrical electrodes tank.

# 2.3 実験手順

図2に実験回路を示す.パルス電圧印加にはインパル ス電圧発生器(東京変圧器(株)898101)を使用した. 図1に示す殺菌槽内に実験試料6mLを入れ,内部電極 に室温下でパルス電圧を60秒間隔で印加した.印加パル ス電圧の波高値は-3.8kV,-4.4kVおよび-5.3kVとし, 図2中のコンデンサ(62.5[nF])に充電する電圧値を調 整した.殺菌槽にかかる電圧波形は分圧器(IWATSU ELECTRIC CO. LTD, HV-P30)を通してディジタルオシ ロスコープ(Tektronix DPO4034)を用いて観測した. 図3に印加電圧波形を示す.波高値-3.8kV,-4.4kV, および-5.3kVの印加電圧波形の波頭長は約5.3 µs,波



図 2 実験回路

Fig.2 Experimental set up.



図3 印加電圧波形

Fig.3 The shape of the applied voltage.

表 1 電界強度 Table 1 Electric field.

Applied voltage [kV]	Maximum field at	Minimum field at
	inner electrode	outer electrode
	[kV/mm]	[kV/mm]
3.8	1.9	0.87
4.4	2.2	1.0
5.3	2.7	1.2

尾長は 11.5 µs であった.表1 に各印加電圧波高値から 式(1)を用いて求めた殺菌槽内の電界強度を示す.槽内 では内部電極付近に最大電界が,外部電極付近に最小電 界が生じる.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<sub>n</sub>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4 に 印加電流波形を示す.

$$E_n = \frac{\int_0^{20 \times 10^{-6}} V(t) I(t) dt}{T} \cdot \mathbf{n}$$
 (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、パルス電圧印加 30 回後の温 度は、印加前と比較して 3 ℃程度上昇していた。



図4 印加電流波形

Fig.4 The shape of the applied current.

# 2.4 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>17</sup>. 高電圧パルス印加10回ごとに実験試料100µL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,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℃24時間)を行い,培養後, 寒天培地上に形成された大腸菌のコロニー数を測定し 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 5.7 mLのパルス電圧1回印加の投入エネルギーは同 じである.

#### 3. 実験結果

図5に大腸菌の生菌率のパルス印加回数特性を,図6 に大腸菌の生菌率の投入エネルギー特性を示す.生菌率 は(各回の生菌数)/(印加前の生菌数),投入エネル ギーは式(2)より求めた.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.エラーバーが重なり見難くなるため, -3.8 kV および-4.4 kV 印加時の結果のマークとエラー バーは,左右に少しずらしている.なお,図5にはパル ス電圧を印加しない場合の生菌率の変化も示している. この場合,印加回数ではなく,0~30回の印加に要する 時間0~30分に対しての生菌率の変化を示している.パ ルス印加が無い場合には,大腸菌は殺菌されていないこ とが確認できる.

図5から,同じパルス印加回数では,印加したパルス 電圧の波高値が高いほど平均生菌率は低いことがわか る.また,パルス電圧を印加した試料の生菌率はパルス 印加回数とともに減少しているが,ある印加回数を超え るとその減少率は緩やかになることがわかる.

そして図6から、大腸菌の生菌率は投入エネルギーが



図5 大腸菌の生菌率のパルス印加回数特性

Fig.5 The survival ratio of *E. coli* as a function of the number of pulses.

The marks show the averages of survival ratio. The numbers in parentheses indicate the number of experiments. The error bar shows maximum and minimum values.



図6 大腸菌の生菌率の投入エネルギー特性

Fig.6 The survival ratio of *E. coli* as a function of Input energy. The marks show the averages of survival ratio. The numbers in parentheses indicate the number of experiments. The error bar shows maximum and minimum values.

大きいほど減少していることがわかる.また,同程度の 投入エネルギーでも印加電圧の波高値が高いほど,生菌 率は減少しているようにみえる.

### 4. 考察

ここでは、U. Zimmermann ら<sup>15)</sup>が提唱する殺菌機構の モデルに基づき、大腸菌の生菌率を印加回数の関数とし て算出することを試みる.そして、算出した生菌率と実 験から得られた生菌率(図5)を比較し、考察を行う.

## 4.1 殺菌機構モデルによる生菌率の算出

一般的に細胞の表面は細胞膜で覆われ、細胞の内部は 細胞質で構成されている。細胞質は、主に Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> イオンやタンパク質, DNA などの巨大分子を含む液体<sup>18)</sup> であり、導電性流体である。一方、細胞内外のイオンは 細胞膜の脂質二重層を通って移動することがほとんど出 来ないため、細胞膜は絶縁体であると考えることができ る。高電界パルスを細胞に印加するとき、細胞質中と水 溶液中のイオンの移動によって細胞膜の両側に電位差が 発生する。この電位差によってマクスウェル応力が発生 し、細胞膜を圧縮する.その圧縮力に細胞膜が耐え切れ なくなると、細胞膜に孔があく.電位差が小さい時は孔 が小さいため、細胞は自己修復をして孔をふさぐことが できる(可逆的破壊).しかし、電位差が大きい時は孔 も大きいため、細胞は自己修復をできなくなる(不可逆 的破壊).そして高電界パルス印加により細胞膜上に形 成された孔から、細胞内容物が細胞外へ流出することに より菌は死滅すると考えられている<sup>19)</sup>.モデルの大腸菌 の形状を円柱の両端に半球が付いた形で近似すると、細 胞膜にかかる電位差は半球の頂点で最大となる.その値 を $V_m$ とすれば、 $V_m$ は次式(3)で与えられると報告され ている<sup>15)</sup>.

$$V_m = f \cdot E \cdot a \cdot \cos \theta \cdot \frac{1}{2} \tag{3}$$

ここで, E は外部電界, f は細胞の形で決まる係数, a は細胞の長さ, θ は電界の方向と細胞の長軸がなす角 である.印加された電圧は,細胞膜の 2 か所の点で分圧 されるため 1/2 となる.係数 f は桿菌である大腸菌の場 合,式(4)のように与えられる<sup>15</sup>.

$$f = \frac{a}{a - 0.33d} \tag{4}$$

dは、半球の直径である.

式(3)および(4)から、大腸菌の細胞膜に生じる電位差 は、大腸菌の長さと幅に依存していることがわかる. そ こで、試料中の大腸菌の長さと幅の測定を行った、図7 にパルス印加前の 500 個の大腸菌の長さ分布を示す.こ の分布は、パルス電圧印加前の大腸菌の長さを100個ず つ5回測定し、計500個の分布をまとめた結果である. 図8に大腸菌の光学顕微鏡写真を、表2に大腸菌の長さ の区切りと平均値を示す.写真は光学顕微鏡(OLYMPUS 製:BX60)により倍率 500倍にて撮影したものを PC 上 で拡大したものである.対物レンズ(オリンパス製: UMPlamFI)の倍率は50倍であり,開口数は0.80,分解 能は 0.42 μm である. 大腸菌の長さと幅は図 8 のような 写真から測定し、長さは表2に示すように区切った.図 7に示すマーク(○印)は、区切り範囲の平均値で示し てある.長さの測定の際に、グラム染色により大腸菌を 染色しており,図8中の赤い細長い物体が大腸菌である. 測定の結果,大腸菌の長さaは,0.50 µm~4.50 µm であ り,大腸菌の幅 d は約 0.6 µm でほぼ一定だった

U. Zimmermann らは、細胞膜の電位差 $V_m$ が約1Vを 超えると細胞膜穿孔が生じると報告している<sup>15)</sup>. 今回の 計算では、 $V_m \ge 1$ Vになると大腸菌の細胞膜に孔が形成 され大腸菌は死滅する、と仮定した.式(3)において、  $V_m = 1$ Vになる時の角度 $\theta$ を $\theta_c$ とする. $\theta_c$ は,式(1),(3)、



- 図7 パルス電圧印加前の 500 個の大腸菌の長さ分布
- Fig.7 Distributions of the length of 500 *E. coli* before pulses application.



図 8 大腸菌の光学顕微鏡写真 Fig.8 Optical microscope photograph of *E. coli*.

表2 大腸菌の長さの区切りと平均値

Table 2 The section of length of *E. coli* and its average value

Section	Average value	Section	Average value
[ µm ]	[ µm ]	[ µm ]	[ µm ]
0~0.24	0.12	2.50~2.74	2.62
0.25~0.49	0.37	2.75~2.99	2.87
0.50~0.74	0.62	3.00~3.24	3.12
0.75~0.99	0.87	3.25~3.49	3.37
1.00~1.24	1.12	3.50~3.74	3.62
1.25~1.49	1.37	3.75~3.99	3.87
1.50~1.74	1.62	4.00~4.24	4.12
1.75~1.99	1.87	4.25~4.49	4.37
2.00~2.24	2.12	4.50~4.74	4.62
2.25~2.49	2.37	4.75~4.99	4.87

(4)から菌の長さ a, 円筒槽内の菌の位置 r の関数として, 以下の式(5)が導出される.

$$\theta_{c}(a, r) = \arccos\left(\frac{2\ln\frac{R_{2}}{R_{1}}(a - 0.33d)r}{Va^{2}}\right)$$
(5)

図9に円筒槽内の大腸菌の模式図を示す.図9は、円 筒の中心線を含む面で切断した断面図である.大腸菌の 傾き( $\theta$ )の分布は、均一で偏りがないと考えられる.つ まり、 $\theta$ は $0 \le \theta \le \frac{\pi}{2}$ の範囲で均一に分布している.従って、  $\theta$ が $\theta$ 。より小さな領域( $0 \le \theta \le \theta c$ )となる確率は、 $\frac{\theta_c(a,r)}{\frac{\pi}{2}}$ 



The center of the cylindrical tank

図9 円筒槽内の大腸菌の模式図

Fig.9 Schematic diagram of *E. coli* in the coaxial cylindrical tank.

である.一方,長さ a の菌が,半径 r から r+dr の領域に 存在する確率は、菌が均一に分布していると考えられる ためその体積  $\frac{2\pi r dr}{\pi(R_2^2 - R_1^2)}$ に比例する.長さ a の菌の場合, 半径が r から r + dr の領域に存在し、殺菌される確率  $\alpha$ (a,r)は、以下の式(6)で示される.

$$\alpha(a, r) = \frac{2\pi r dr}{\pi (R_2^2 - R_1^2)} \frac{\theta_c(a, r)}{\frac{\pi}{2}}$$
(6)

よって殺菌槽全領域で長さ a の大腸菌が殺菌される確 率 α(a)は、式(7)のように計算できる.

$$\alpha(a) = \int_{R_1}^{R_2} \frac{4r \cdot \theta_c(a, r)}{\pi (R_2^2 - R_1^2)} dr$$
(7)

図 10 に、式(7)から計算した長さaとパルス電圧 1 回 印加による殺菌率の関係を示す.実験試料中の大腸菌に は、図 7 に示すように長さ分布があると確認された.こ の図 7 の分布を用いて、初期菌数  $1 \times 10^7$  CFU/mL 時の 長さaの大腸菌の個数 N(a)を求めた.菌数 N(a)の長さ aの大腸菌にパルス電圧を dx 回印加すると、殺菌率  $\alpha(a)$ で菌数は dN(a)だけ減少する.減少した菌数 dN(a)は式 (8)から求められる.

$$dN(a) = -\alpha(a) \cdot N(a) \cdot dx \tag{8}$$

よって、パルス印加 x 回後の菌数 N(a)は、式(9)で求



図10 長さと殺菌率の関係

Fig.10 Sterilization ratio versa length of E. coli.

$$N(a) = N_0(a)e^{-\alpha(a)x}$$
(9)

ここで, N<sub>0</sub>(a)は長さ a の大腸菌の初期菌数である. パルス印加 x 回後に槽内に存在する全ての長さの大腸菌 (*a*<sub>min</sub>~*a*<sub>max</sub>)の菌数 N は,式(10)で計算することができる.

$$N = \int_{a_{min}}^{a_{max}} N(a) \, da = \int_{a_{min}}^{a_{max}} N_0(a) e^{-\alpha(a)x} da \tag{10}$$

従って,計算される生菌率Yは,式(11)から求めるこ とができる.

$$Y = \frac{N}{N_0} = \frac{\int_{a_{min}}^{a_{max}} N_0(a) e^{-\alpha(a)x} da}{\int_{a_{min}}^{a_{max}} N_0(a) da}$$
(11)

図11に算出した生菌率のパルス印加回数特性に及ぼ す印加電圧波高値の影響を示す.算出生菌率は,式(11) から求めた.



図 11 算出した生菌率のパルス印加回数特性に及ぼす印加 電圧波高値の影響

Fig.11 Effect of the peak value of applied voltage on the calculated survival ratio as a function of the number of pulses.

# 4.2 計算結果と実験結果との比較

図 12 に, -3.8 kV 印加時の算出した生菌率と実験結 果の比較を示す. なお,実験結果は図 5 でプロットして あるものと同一であり,エラーバーは実験結果のもので ある.図 12 より, -3.8 kV 印加時の計算結果と実験結 果の減少傾向は,大方一致している.また,図 13 およ び 14 は, -4.4 kV および-5.3 kV 印加時の計算した生 菌率と実験結果の比較をそれぞれ示しており, -4.4 kV および-5.3 kV 印加時の算出した生菌率も, -3.8 kV 印 加時と同様に,実験結果の減少傾向と大方一致した.

これらから, U. Zimmermann ら<sup>15)</sup>のモデルを用いた本 計算によって,殺菌率を求めることが可能であることが 示された.一方,実験値のエラーバーは大きい.今後は, 実験値のばらつく要因を検討し,これを計算に考慮させ ることで,算出生菌率の精度を向上させる必要がある.



図 12 - 3.8 kV 印加時の算出した生菌率と実験結果の比較 Fig.12 Comparison of calculated survival ratio and Experimental result (application of - 3.8 kV pulses).



図 13 -4.4 kV 印加時の算出した生菌率と実験結果の比較 Fig.13 Comparison of calculated survival ratio and Experimental result (application of -4.4 kV pulses).



図 14 -5.3 kV 印加時の算出した生菌率と実験結果の比較 Fig.14 Comparison of calculated survival ratio and Experimental result (application of -5.3 kV pulses).

算出した生菌率および実験にて得られた生菌率は,図 12,13,14から印加電圧波高値が高くなるほど減少し ていることがわかる.この傾向は,多くの先行研究でも 報告されており<sup>5-77</sup>,式(3)に示すように,印加電圧波高値, すなわち印加電界が高くなるほど膜に生じる電位差が高 くなり,膜が破壊されやすくなったためであると考えら れている.

生菌率の減少の度合いがパルス印加回数の増加ととも に小さくなり、ある一定値に収束していることは、実験







図 16 -4.4 kV 印加時の算出した大腸菌の長さ分布 Fig.16 Calculated distributions of the length of *E. coli* (application of -4.4 kV pulses).



図 17 -5.3 kV 印加時の算出した大腸菌の長さ分布 Fig.17 Calculated distributions of the length of *E. coli* (application of -5.3 kV pulses).

結果および計算結果ともに見られた.図15に,-3.8 kV印加時の算出した大腸菌の長さ分布を示す.なお, 印加前の分布は,図7と同一である.図15より,大腸 菌の長さ分布はパルス印加回数の増加とともに長さの短 い方(左)へシフトしていることがわかる.図16および 17に,-4.4 kVおよび-5.3 kV印加時の算出した大腸 菌の長さ分布を示す. -4.4 kV および-5.3 kV 印加時の 大腸菌の長さ分布でも, -3.8 kV 印加時と同様にパルス 印加回数の増加とともに長さの短い方(左)へシフトして おり,印加電圧波高値が高いほど,短い方へシフトして いる.これは図 10 に示すように,大腸菌の長さが長い ほど殺菌率は高く,生菌数は減少しやすいためである. このことから,生菌率の減少幅が小さくなることは,パ ルス印加回数が増加すると殺菌され難い短い菌が残るた めであると考えられる.また,本研究で印加したパルス 電界では,殺菌されない短い大腸菌も存在するため,生 菌率はある一定値に収束する.U.Zimmermannらのモデ ルから提案した式(11)による算出から,本研究と同じ パルス印加 30回で,滅菌(生菌率が 10<sup>6</sup>以下)を達成 するためには,図 11 に示すように波高値-15.0 kV 以上 のパルス電圧を印加する必要があることが計算される.

今回の計算では考慮していなかったが、高電界パルス 殺菌は印加電圧のパルス幅<sup>6</sup>や液体試料の温度<sup>4</sup>にも影響されるという報告がある。今後、これらの影響も考慮 する必要があると思われる。

## 5. まとめ

大腸菌を含む液体培地試料に-3.8 kV, -4.4 kV, お よび-5.3 kV のパルス電圧を印加し殺菌実験を行い, 高 電界パルス印加後の生菌率と U. Zimmermann らが提唱 する殺菌機構のモデルから算出した生菌率を比較した. 生菌率の計算では, U. Zimmermann らの報告を参考とし, 細胞膜の電位差が1V以上で, 菌が死滅するとして, 殺 菌槽内での菌の位置, 菌と電界方向となす角, および菌 の長さ分布を考慮した. その結果, 計算により求めた生 菌率は, 実験から得られた生菌率と良く一致した.

#### 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元名城大学農学部市原茂幸教授,同 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

- 松田敏生:非加熱殺菌技術による食品の殺菌と保存. 食衛誌,41 (2000) 163
- 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
- オ本裕二,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

- 4)村上祐一,村本裕二,清水教之:高電界パルスを用いた 液体培地中の大腸菌殺菌に及ぼすパルス間隔と液体温度 の影響.静電気学会誌,39 (2015)258
- H.Hülsheger, J.Potel, E.-G. Niemann: : Killing of Bacteria with electric Pulses of High Field Strength. Radiat Environ Biophys, 20 (1981) 53
- H.Hülsheger, and E.-G. Niemann : Lethal Effects on High-Voltage Pulses on E. coli K12. Radiat. Environ. Biophys, 18 (1983) 281
- H.Hülsheger, J.Potel, E.-G. Niemann : Electric Field Effects on Bacteria and Yeast Cells. Radiat Environ Biophys, 22 (1983) 149
- 8) 大嶋孝之,佐藤正之:パルス殺菌―自然のままに安全―. 日本調理科会誌,36 (2003)334
- 9) 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
- 10) 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
- 11) 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
- 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
- 13) Sheshakamal Jayarm, G. S. P. Castle, Argyrios Margaritis : The effects of high field DC pulse and liquid medium conductivity on survivability of Lactobacillus brevis. Appl Microbiol Biotechnol, 40 (1993) 117
- 14)大嶋孝之,谷野孝徳:水中における高電圧パルス電界・ 放電の発生と利用.静電気学会誌,35 (2011)114
- U. Zimmermann, G. Pilwat and F. Riemann : DIELECTRIC BREAKDOWN OF CELL MEMBRANES, Biophysical Journal, 14 (1974) 881
- 16) 岡洋佑,村本裕二,清水教之,加藤雅士:高電界パルス
   を用いた大腸菌の殺菌.電子情報通信学会技術研究報告,
   110 (2011) 33
- 17)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
- 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)
- 19) 佐藤正之:高電圧パルスによる微生物制御.日本食品工 学会誌,8 (2007) 191