

<平成 21 年度助成>

食品の品質を落とさない殺菌システムの開発

高 橋 章

(徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部)

序 論

日常生活における水・食品等の殺菌技術は極めて重要な役割を担っている。食の安全・安心に対する社会の関心は大きい。食品衛生・食の安全性確保のために、安全な水・食品の供給は重要であり、そのために殺菌技術の向上は大きな課題であるとする。生産・加工・流通・消費の各段階における安全性の確保が必要であるが、加工段階においては微生物による交差汚染などにより例年多数の食中毒事件が発生している。加工段階においては、原材料自体の汚染に加え、作業者や作業環境などから食中毒菌の汚染の危険性があるため、原材料の加工前後に十分な洗浄殺菌を行うことが必要である。また、農産物の栽培段階や流通段階においても食中毒菌による汚染の報告もなされている。そこで、将来に向け安全で効率的かつ低コストで実現できる新しい殺菌機構の開発の必要性がある。

これまでに用いられている殺菌方法には、加熱、塩素消毒・従来の紫外線殺菌・オゾン殺菌などがある。現在日本では、塩素殺菌法が水処理、食品処理などに広く使用されている。塩素消毒は比較的低コストであるが、1970年代後半から処理過程におけるトリハロメタン等有害物質の生成や塩素の残留性が問題となってきた。そこで塩素消毒の代替消毒法の一つとして、紫外線による殺菌・消毒が検討されるようになってきている。代替消毒法としては他に加熱殺菌やオゾン殺菌があるが、これらの場合は安全上のデメリットは無視で

きない。加熱殺菌は、1) 耐熱性菌には適さない、2) 殺菌対象物を変化させることがある、3) エネルギーコストが高い、4) 冷却工程が必要で菌が付着しやすい等の問題がある。オゾン殺菌は、1) 人体に有害、2) 低濃度で長時間の作用が必要である、3) 酸化作用によって金属は腐食する、4) 耐熱菌や真菌に対しては長時間作用させなければならぬ等の問題がある。一方、紫外線殺菌は、1) あらゆる菌種に有効、2) 装置が相対的に単純で維持管理が容易である、3) 薬品投入を行わないため残留物質が存在しない、4) 工程の簡素化や時間短縮・経費削減が図れる、5) 副生成物が生成しにくい、6) 常温殺菌可能で耐性菌を作らない等のメリットが多く存在し、非常に有効かつ安全な殺菌方法である。そのため、食品工業、電子工業などの産業用の用水処理に広く使われている。

欧米諸国では既に排水処理施設のみでなく上水道の殺菌処理にも用いられており、あらゆる分野で使用されている (Hiisvirta, L.O. 1993)。また、SODIS (Solar water disinfection) と呼ばれる太陽光による殺菌工程はスイスの研究機関により広く研究され、少量の水の処理には利用可能であることも証明されている (Walker D.C., *et al.* 2004)。太陽紫外線の中で地表にまで到達するのは UV-A (320–380nm)、UV-B (280–320nm)、UV-C (200–280nm) のうち、UV-A と UV-B である (Latonen L., *et al.*, 2005; Tyrrell R.M., *et al.*, 1994; Assefa Z., *et al.*, 2005; Madronich S., *et al.*, 1998)。これらの紫外線が DNA やタンパク質を損傷し、眼や皮膚など生体に影響を与えることはよく知られてい

る (Fly R. J. and Ley R. D.; 1989)。UV-B は、その波長帯が DNA の吸収波長と一部重なっているため、UV-B が直接 DNA の塩基を励起し、CPD や (6-4) PP などの光産物を生成するという「直接的」な DNA 損傷を引き起こす (Ravanat J. L., *et al.*, 2001)。一方、UV-A は DNA への吸収はきわめて弱く DNA を直接損傷することは少ないため、従来は発癌性は少ないと考えられていた。しかし、最近生体内の光増感分子が関与した「間接的」な DNA 損傷機構が存在することが分かってきた (Lage C., *et al.*, 2003)。UV-A 照射によりフラビン類などの光増感分子の励起 (光増感反応) が起こり、細胞内に $^1\text{O}_2$ など活性酸素種を生成されて酸化 DNA 損傷が引き起こされる (Thomas P., *et al.*, 1992; Vidoczy T., *et al.*, 1992; Muela A., *et al.*, 2002)。オランダは特に塩素代替処理において最も先鋭的であり、将来はできるだけ塩素を使用しない消毒方法に切り替えていくとし、紫外線の導入を進めていくとしている。この様な流れは日本においても将来求められるようになっていくと考えられる。

現在日本で一般的に使用されている食品の殺菌方法として確実かつ簡便な方法としては、加熱処理が一番に挙げられるが、加熱により野菜色素の退色や、メイラード反応による着色、味の変化など加熱前の風味が損なわれる場合があり、加熱処理が困難な食品もある。また紫外線による殺菌法は古くから研究されており、維持管理が容易であることや化学物質を食品に加えなくても殺菌が可能なおから、食品関係をはじめさまざまな分野で利用されている。現在、紫外線殺菌には主に殺菌灯として UV ランプ (人口紫外線放射源)、特に波長 260nm 付近の UV を放射する低圧水銀ランプが用いられている。しかし、低圧水銀ランプは 1) 消費電力が大きい、2) 発光管の取替えの頻度が高いため (約 500 時間ごと) ランニングコストが高くつく、3) 水銀を使用しているため人体への有害性および水銀性廃棄物の生じることによる環境へ

の影響が懸念される、といった問題がある。そこで、私たちの研究グループは水銀発光管の変わる紫外線発光物として、近年急速に開発が進む紫外線発光ダイオード (UV-LED) の応用利用を進め、UV-LED を用いた新しい殺菌システムを開発中である (Hamamoto *et al.*, 2007; Lian *et al.*, 2010; Mori *et al.*, 2007)。これは従来の紫外線発生装置よりも通電時間を減少させることが可能であること、発光ダイオードは半永久的に使用可能であること、残留性がないことという特徴を合わせれば、この UV-LED を用いた殺菌システムは食品調理加工産業のニーズである、食品の味や匂いに影響を与えず、低コストで、環境に優しい水殺菌システムとなることが期待される。本研究で使用する発光ダイオードは世界で最も短い照射波長 (365nm) で高出力の普及型のものである。一般的には、最も強力な殺菌作用をもつのは 260nm の波長を持つ紫外線とされている。一方、260nm より長波長側で DNA への吸収は弱い 365nm の波長を持つ近紫外線 (UVA) では、従来あまり殺菌効果がないとされていたが、本研究室のこれまでの研究により、今回使用した UVA-LED の出力する近紫外線が 260nm の波長を持つ紫外線と同様に殺菌能力を持つことが明らかになってきた。

UVA-LED 殺菌法の利点として、1) 長時間の使用が可能であること、2) 装置が小型なので用途に合わせた殺菌装置をつくるのが可能で応用性が高い、3) 光を当てて殺菌を行うため食品に塩素などの残留物がない、4) 装置を廃棄するときに廃棄物が出ない点があげられる。これまで、液体に対する殺菌効果が報告されているが、食品に対する研究はまだ行われていない。そこで本研究は、水に対する UVA-LED 殺菌を野菜に応用することを第一の目的とし、UVA-LED 照射による野菜への影響について検討するとともに実用化を目指した殺菌機構の開発を行った。

実験 1 照射量と殺菌効果の関係

[目的]

定電流モード（連続）で、照射量と殺菌効果の関係を調べた。

[方法]

1. 指標菌：DH5 α キャベツ 1g にLEDを照射
2. 電源：定電流電源モード（連続）
電流：500mA 電圧：36V
3. 照射時間：0-90分
4. 照射距離：5cm
5. 室温：24℃ 循環水温度：25℃（ $\pm 0.3^\circ\text{C}$ ）
6. LED 9個：500mA, 125mW=125J/s
 $125 \times 60 \text{ (秒)} \times N \text{ (分)} \rightarrow J$
例 5分の場合 $125 \times 60 \times 5 \rightarrow 3750 J$
7. 細菌の生存率計算法（survival ratio）
細菌にLEDを照射した場合の細菌の生存数は、ほぼ照射時間に対して指数関数的に減少し、生存率は次の式で示した。

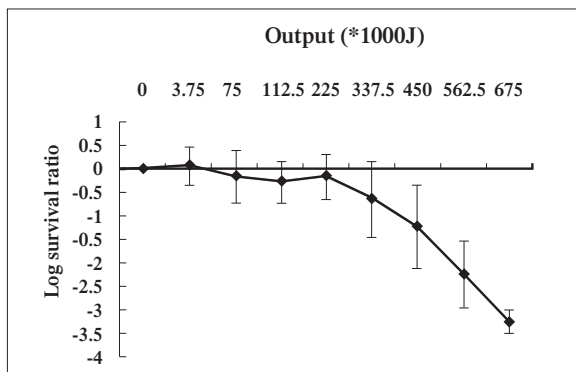
$$S = \frac{P}{P_0} = e^{\frac{-Et}{Q}} \dots\dots\dots (1) \text{ 式}$$

S：細菌の生存率、P、P₀：照射後および照射前の細菌の生存率

Log(10)S = Log survival ratio

[結果]

一枚葉のキャベツにおける殺菌効果としては、Log 生存比 -3 以上の効果が認められた。また、紫外線照射量に比例して殺菌効果が高くなった。



実験 2 照射距離と殺菌効果の関係

[目的]

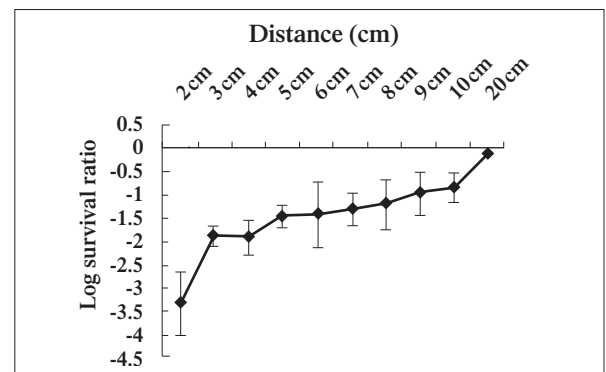
照射時間を一定（60分）→照射距離を5～10cm（1cm 毎）に可変、どの距離まで連続照射で効果があるのかグラフにして検討した。

[方法]

1. 指標菌：DH5 α キャベツ 1g にLEDを照射
2. 電源：定電流電源モード（連続）
3. 電流：500mA 電圧：36V
4. 照射時間：60分
5. 照射距離：2cm～20cm
6. 室温：24℃ 循環水温度：24℃（ $\pm 0.3^\circ\text{C}$ ）

[結果]

一枚葉のキャベツにおける殺菌効果としては、照射距離に比例して殺菌効果が低くなり、3cm～9cmの距離ではほぼ直線的に殺菌力が低下した。さらに20cm以上の距離ではほとんど殺菌効果を認めなかった。



実験 3 電流変更 (0.1・0.3・0.5A) し、殺菌率を検討

[目的]

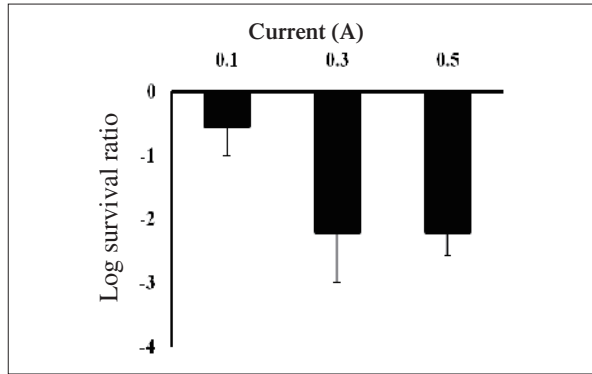
電流の変化と殺菌率の関係を調べる。

[方法]

PBS 2ml UVA 照射後段階希釈しプレートに塗抹しコロニー数を測定した。

[結果]

電流に比例し、殺菌率が高くなった。0.3Aと0.5Aでは差がなかった。よって0.3Aが最も効率が良く考えられた。



実験 4 温度と殺菌効果の関係

温度を変えて、LED の殺菌率を比較する (N=4)。

[目的]

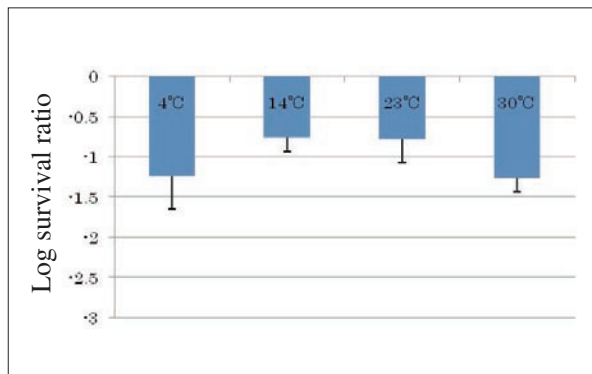
温度と LED 殺菌率の関係を調べる。

[方法]

1. キャベツ 1 g に 107 の大腸菌を乗せて LED を照射
2. 照射時間：60 分、照射距離：5 cm
3. 温度：4℃、14℃、24℃、30℃ (± 0.3℃)

[結果]

有意差がなかったため、LED による殺菌では、温度の影響がないことがわかった。



実験 5 パルス照射と殺菌効果の関係

[目的]

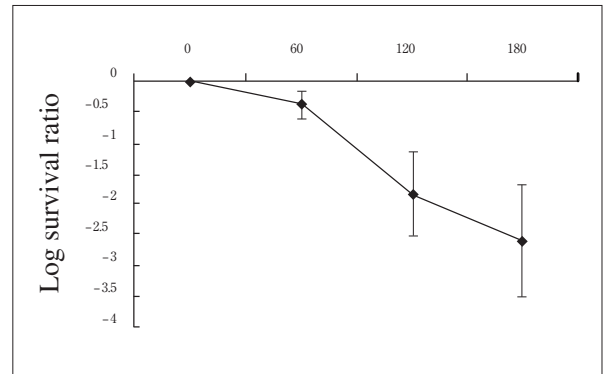
パルスモードで、キャベツの殺菌を調べる。

[方法]

1. キャベツ 1 g に LED を照射
2. 電源：パルス電源モード 電流：1A 電圧：36 V
3. 照射時間：0-180 分、照射距離：4 cm
4. 温度：24℃、循環水温度：25℃ (± 0.3℃)

[結果]

定電流モードと同じ殺菌効果が得られるのは、パルスモードで殺菌時間は 2.25 倍くらいが要る。しかし、パルスモードの消費電力は定電流モードの五分の一ので、野菜の保存に実用化可能性を考えられる。



実験 6 野菜の種類と殺菌効果の関係

[目的]

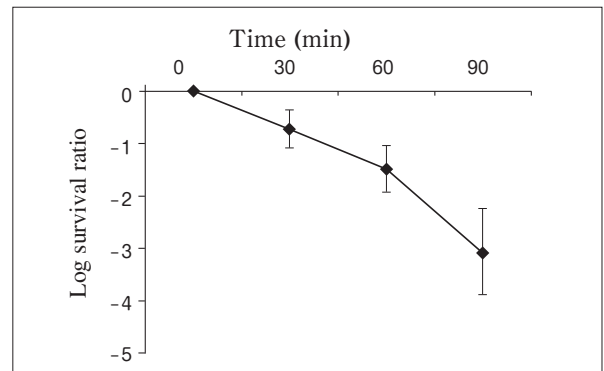
定電流モード（連続）で、レタスに対して殺菌効果を調べる。

[方法]

1. レタス 1 g に LED を照射 定電流電源モード（連続）電流：500 mA 電圧：36 V
2. 照射時間：0-90 分、照射距離：5 cm
温度：-5℃、循環水温度：-10℃

[結果]

レタスに対する殺菌の場合も、キャベツに対する場合と同様に高い殺菌効果が得られた。この結果より、野菜の種類に関係なく、光が当たっていれば殺菌効果が得られることがわかった。



実験 7 UVA 照射によるキャベツの重量変化

[目的]

キャベツは90%以上が水分で、この水が多く失われることが新鮮さがなくなった、つまり品質が低下したといえるため、品質への影響としてキャベツの重量変化を調べた。4℃、15℃、30℃で実験を行った。

[方法]

キャベツ 1g に LED を照射、照射前後の重量を測定する

[結果]

4℃と15℃の実験においては、LED照射したものと照射していないものでは差が見られなかった。このことから、LED照射によるキャベツ重量の変化はないことがわかった。

水分量の変化については、30℃においては温度の影響を受けてコントロールと照射群との間に水分損失に有意差が認められたが、4℃と15℃において差は認められなかった。

実験 8 UVA-LED による UVA 照射前後レタスの色の変化

[目的]

UVA-LEDによるUVA照射が野菜に与える影響をしらべる。

[方法]

1. レタス 1cm² に切って、UVA-LED により UVA を照射する
2. 照射前と照射後、写真を撮って、画像解析ソフトで解析する
3. 同時に照射しないコントロールも同様に解析する

[結果]

Fig 1 置くだけのコントロール。時間が経過すると、赤と青の成分が増加し、緑成分が減少することがわかった。

Fig 2 LEDでレタスを照射前後。野菜の色成分に変化は認められなかった。

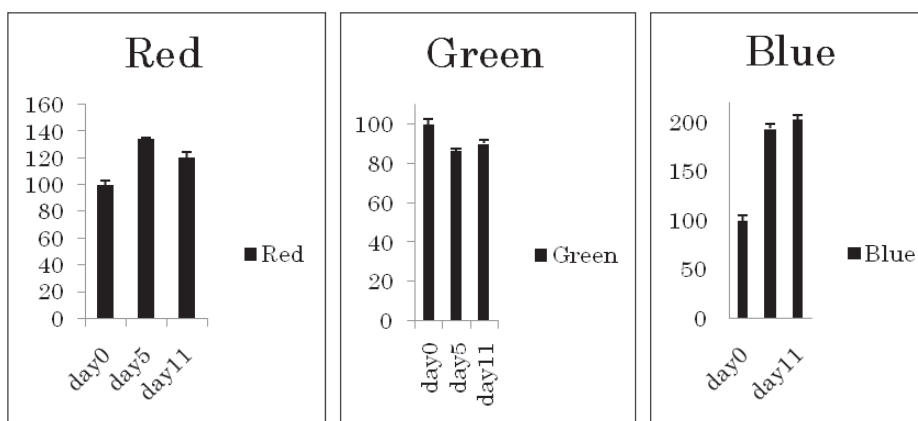


Fig. 1

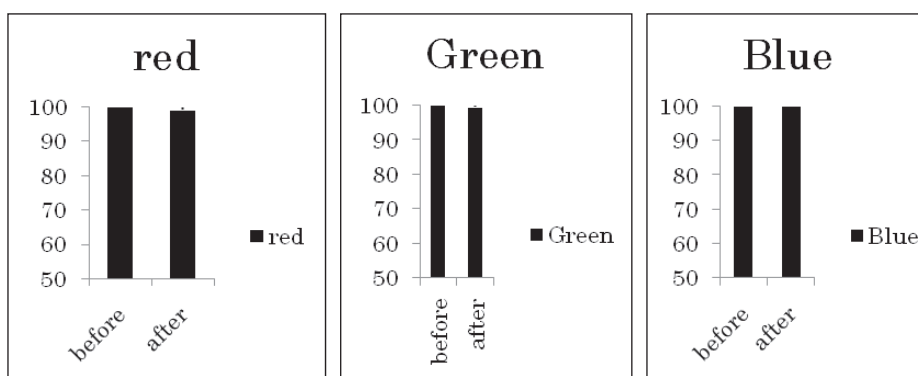


Fig. 2

以上の結果から、色の変化については、各要素ともコントロールと照射群との間に有意差は認められなかった。UVA-LEDによりUVAを照射すると、野菜の鮮度に与える影響が少ないと考えられた。

実験 9 UVA 照射によるキャベツの成分変化

[目的]

定電流モード(連続)で、キャベツの成分変化を調べる。

[方法]

1. キャベツ 1g に LED を照射 定電流電源モード(連続) 電流: 500mA 電圧: 36V
2. 照射時間: 90分、照射距離: 5cm
温度: -5℃、循環水温度: -10℃
3. HPLC でキャベツの成分を解析する
 - ① カラム: Lichrospher 100 DIOL (5 μ m)
 - ② 流量: 1ml/min
 - ③ 感度: 0.16
 - ④ UV: 220nm
 - ⑤ 溶媒: 60% CH₃CN

[結果]

Control と Exposure では、ほとんど同じ波形をしていることから UVA-LED の照射による成分の変化はほとんどないことがわかった。特に Vitamin C 含量はほとんど変化しないと考えられた。

実験 10 LED 照射前後の菌の増殖変化

今までの実験に LED で照射した菌の増殖が遅いことを発見したので、LED 照射前後の菌の増殖を調べた。

[目的]

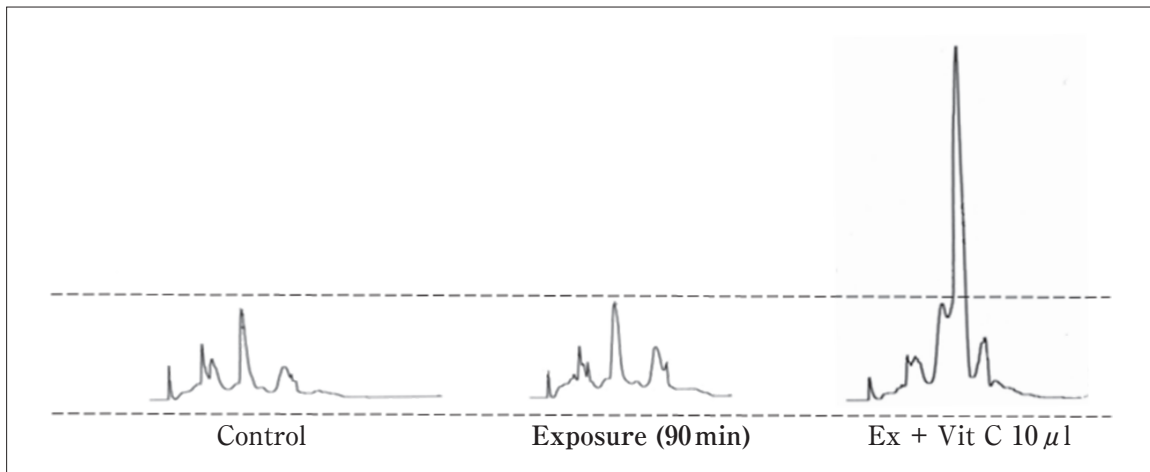
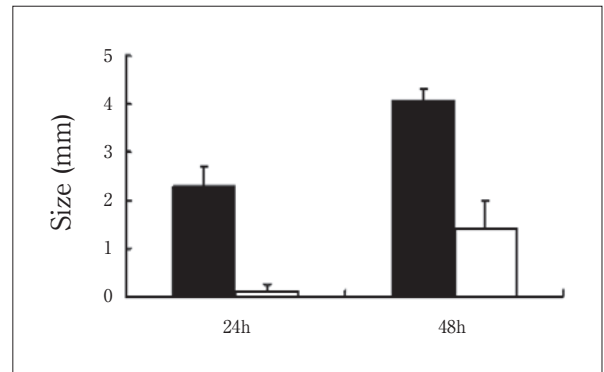
LED 照射前後の菌の増殖を調べる。

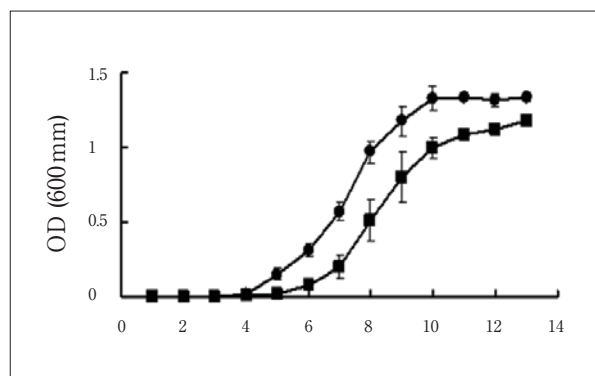
[方法]

24時間培養したプレートのコロニーのサイズを測定した。LED で 90 分間照射後の菌(DH5 α)とコントロールのプレート上で独立したコロニーを選択して、滅菌した楊枝を滅菌したピンセットでつまみ、コロニーに触り、その楊枝を LB 液体培地の入った試験管に入れ、その後さらに試験管で培養して、OD を測定した。

[結果]

増殖の様子を比較すると、照射を行ったものについてはコロニーの直径が有意に小さかった。さらに増殖速度も有意に遅かった。





実験 11 菌の種類と殺菌効果の関係

[目的]

腸炎ビブリオに対して殺菌を調べる。

[方法]

1. レタス 1 g に 10^7 の腸炎ビブリオ菌を乗せて LED を照射
2. 照射時間：0-30 分、照射距離：5 cm
3. 温度：4℃ (± 0.3℃)

[結果]

腸炎ビブリオに対して、30 分で -4.29 Log が得られた。大腸菌より殺菌時間が短いことより菌の種類によって UVA 殺菌に対する感受性が異なることが考えられた。

実験 12

[目的]

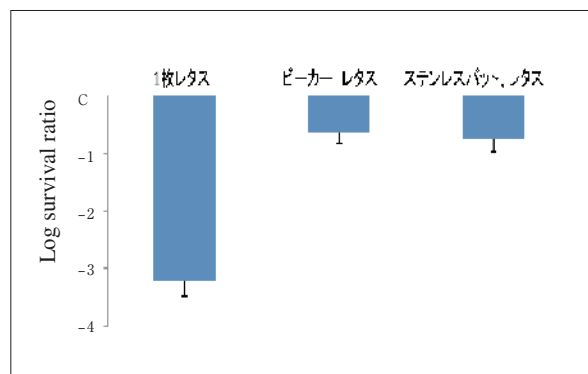
照射形態一枚葉から 50 g までの殺菌効果を比べる。

[方法]

1. 条件：
 - ① 一枚レタスの上に、DH5α を乗せてから LED を照射
 - ② ビーカーの中に 6-7 枚レタスに DH5α を入れ、混ぜてから LED を照射
 - ③ ステンレスバットに 50 g くらいのレタスに DH5α を入れ、混ぜてから LED を照射
2. 照射時間：90 分、照射距離：5-7 cm
3. 温度：4℃ (± 0.3℃)

[結果]

一枚葉のキャベツにおける殺菌効果としては、Log 生存比 -3 以上の効果が認められた。また、照射形態によって殺菌効果は弱まることも明らかとなった。LED を当たってない場所があると考えられ、装置を改良する必要があると考えられた。



実験 13 LED を用いて野菜に付着している菌に対して殺菌効果

[目的]

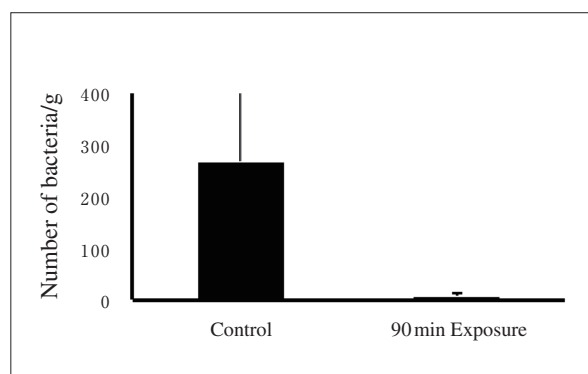
DH5α を使い、実際に野菜に付着している状態の菌に対して殺菌効果を調べる。

[方法]

1. レタス一番外の葉を用いて、LED で照射する
2. 照射時間：90 分、照射距離：5 cm
3. 温度：4℃ (± 0.3℃)

[結果]

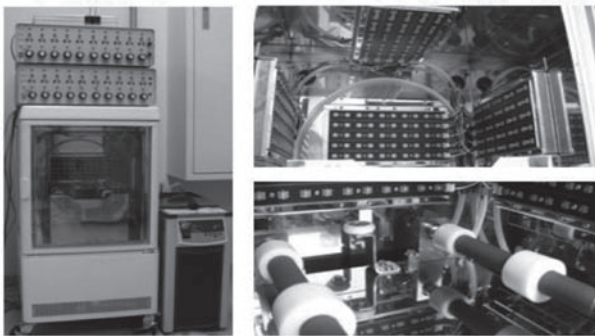
野菜に付着している菌に対しても今回開発した殺菌装置で殺菌が可能であることがわかった。



実験 14 50L 回転タイプ野菜殺菌装置

[装置の概要]

固定タイプと同じ四つの殺菌ユニットを用いて、容量 50L のステンレスの容器の上部、左右及び背面にそれぞれのユニットを固定し冷却装置に接続後、ショーケースの中に固定する。容器の底板に回転装置を固定し、その上に対象物を置き、回転しながら照射した。



回転タイプ野菜殺菌装置

殺菌効果の評価（野菜のみ）

[目的]

50L の回転タイプ LED 装置を作成して、野菜の殺菌効果を調べる。

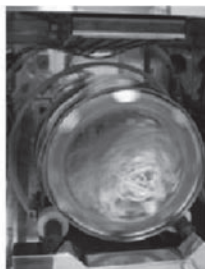
[方法]

- ① DH5 α OD1.0 の菌液を用意する
- ② キャベツの千切り 400g を用意する、DH5 α (OD1.0) 20ml を振りかけて、良く混ぜる
- ③ 定電流 0.45A、UVA で照射する (LED200 個、60 分)
- ④ 2000ml リン酸緩衝生理食塩水 (PBS) を入れ、段階希釈し、菌の生存率を測定する



400g キャベツ

ワンタッチランブ



- 電源：定電流電源 モード
- 電流：0.45A
- 温度：13 $\pm$ 0.5 $^{\circ}$ C
- 照射時間：60 分
- 照度：10.18mW/cm 2 (内)
9.82mW/cm 2 (外)

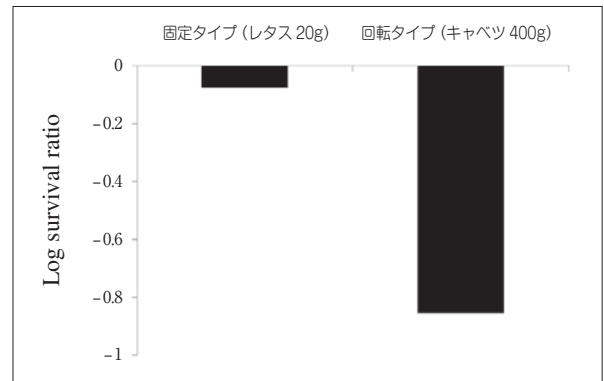
[結果]

温度と湿度

照射前10分から、照射後35分までショーケース中の温度と湿度を温湿度計で測定しながら、温度と湿度を一定に保った。

野菜回転タイプと野菜固定タイプとの比較

回転することによって、殺菌力が増強した。



殺菌効果の評価 (PBS 有り)

[目的]

- ・ 野菜の洗浄ステップで殺菌効果を調べる。
- ・ 野菜の殺菌でよく用いられている塩素殺菌法との併用効果を検討する。

[方法]

- ① DH5 α OD1.0 の菌液を用意する
- ② キャベツの千切り 400g を用意する、DH5 α (OD1.0) 20ml を添加し、2000ml PBS を入れる
- ③ 定電流 0.45A、UVA で照射する (LED200 個、60 分)
- ④ 塩素殺菌法と UVA の併用
- ⑤ 段階希釈し、菌の生存率を測定する

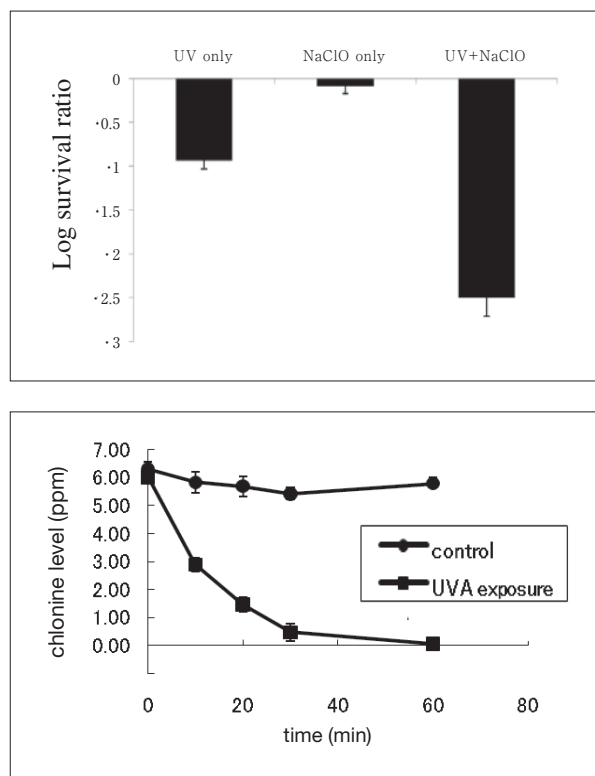
[結果]

① 殺菌効果

UV と塩素を併用することより、高い殺菌効果を得られた。

② 残留塩素の除去

UV-A LED の照射で、塩素を分解して、残留塩素の除去することが可能である。



考 察

野菜表面の殺菌の有効性は、殺菌対象物のタイプとその物理化学的な特性に依存する。殺菌法として塩素が多用されているが、塩素殺菌の有効性は、過去30年にわたって確立されてきた (Suslow *et al.*, 1997; IFPA, 2001; Sapers *et al.*, 2003; Gómez-López *et al.*, 2008)。現在では、塩素殺菌法を基本とした方法なしにはカットサラダや野菜の市場はなりたないとも考えられている。工業調査において、回答者の76%は次亜塩素酸塩の使用を報告している。一方で塩素殺菌法は危険性も指摘されており注意が必要である (Suslow *et al.*, 1997; Dawson *et al.*, 2002)。

本研究では、我々がこれまでに開発してきた水殺菌システムにもとづき新しいUVA-LED殺菌装置を開発した (Hamamoto *et al.*, 2007; Lian *et al.*, 2010; Mori *et al.*, 2007)。細菌の-3.0ログ以上の殺菌能が90分の間UV-A照射の後観察された。これは、野菜の表面に存在した細菌に対すり殺菌能とほぼ一致していた。

キャベツに対してUV-A照射の後、キャベツ組織重量の減少やビタミンC含量、亜硝酸塩 / 硝酸塩含量は変化しなかったことから、UVA照射のキャベツに対する副作用は少ないと考えられる。よって、UVA-LEDによる殺菌システムは、食物製造や加工産業でも使用可能ではないかと考えられる。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり (公財) 浦上食品・食文化振興財団からの支援を受けたことに感謝を表す。

文 献

- Assefa Z., Van Laethem A., Garmyn M., Agostinis P. (2005) Ultraviolet radiation-induced apoptosis in keratinocytes; on the role of cytosolic factors. *Biochim Biophys Acta*, 1755, 90-106.
- Dawson, D. (2002). *The Use of Chlorine in Fresh Produce Washing*. CCFRA Guideline 38.
- Fly R. J., Ley R. D. (1989) Ultraviolet radiation-induced skin cancer. *Carcinog Compr Surv*. 11, 321-337.
- Gómez-López, V. M., Ragaert, P., Jeyachandran, V., Debevere, J., & Devlieghere, F. (2008). Shelf-life of minimally processed lettuce and cabbage treated with gaseous chlorine dioxide and cysteine. *International Journal of Food Microbiology*. 121, 74-83.
- Hamamoto, A., Mori, M., Takahashi, A., Nakano, M., Wakikawa, N., Akutagawa, M., Ikehara, T., Nakaya, Y., & Kinouchi, Y. (2007). New water disinfection system using UVA light-emitting diodes. *J. Appl. Microbiol.* 103, 2291-2298.
- Hiisvirta, L.O. (1993). Disinfection and disinfection by products, International Report, 19th International Water Supply Congress and Exhibition, IWSA
- IFPA. (2001) International Fresh-Cut Produce Association IFPA, Wash water sanitation. In: J.R. Gorny, Editor, Food Safety Guidelines for the Fresh-Cut Produce Industry, International Fresh-Cut Produce Association, Alexandria. (pp. 121-136).
- Lage C., de Padula M., de Alencar T. A., da Fonseca Goncalves S. R., da Silva Vidal L., Cabral-Neto J., Leitao A. C. (2003) New insights on how nucleotide excision repair could remove DNA adducts induced by chemotherapeutic agents and psoralens plus UV-A (PUVA) in *Escherichia coli* cells. *Mutat Res*. 544, 143-57.

- Latonen L, Laiho M. (2005) Cellular UV damage responses-functions of tumor suppressor p53. *Biochim Biophys Acta*. 1755, 71-89.
- Lina, X., Tetsutani, K., Hamamoto, A., Nakano, M., Mawatari, K., Harada, N., Yamato, M., Akutagawa, M., Kinouchi, Y., Nakaya, Y., Takahashi, A. (2010). A new colored beverage disinfection system using UV-A light-emitting diodes. *Biocontrol Science*. 15, 33-37.
- Madronich S., McKenzie R. L., Bjorn L. O., Caldwell M. M. (1998) Changes in biologically activeultraviolet radiation reaching the Earth's surface. *J Photochem Photobiol B*. 46, 5-19.
- Mori M., Hamamoto A., Takahashi A., Nakano M., Wakikawa N., Tachibana S., Ikehara T., Nakaya Y., Akutagawa M., & Kinouchi Y. (2007). Development of a new water sterilization device with a 365 nm UV-LED. *Med. Biol. Eng. Comput.* 45, 1237-1241.
- Muela A., Garcia-Bringas J. M., Seco C., Arana I., Barcina I. (2002) Participation of oxygen and role of exogenous and endogenous sensitizers in the photoinactivation of *Escherichia coli* by photosynthetically active radiation, UV-A and UV-B. *Microb Ecol.* 44, 354-364.
- Ravanat JL, Douki T, Cadet J. Direct and indirect effects of UV radiation on DNA and its components. (2001) *J Photochem Photobiol B*. 63 : 88-102.
- Sapers, G. M. (2001). Efficacy of washing and sanitizing methods for disinfection of fresh fruit and vegetable products. *Food Technology and Biotechnology*. 39, 305-311.
- Suslow, T.V., (1997). Postharvest chlorination. Basic properties and key points for effective disinfection. Publication 8003 by the Regents of the University of California.
- Thomas P. Cutris, D Duncan Mara, Salomao A. Silva. (1992) Influence of pH, Oxygen, and Humic Substances on Ability of Sunlight To Damage Fecal Coliforms in Waste Stabilization Pond Water. *Appl Environ Microbiol.* 58, 1335-1343.
- Tyrrell R. M. (1994) The molecular and cellular pathology of solar ultraviolet radiation. *Mol Aspects Med.* 15, 1-77.
- Vidoczy T., Elzemzam S., Gal D. (1992) Physico-chemical modeling of the role of free radicals in photo-dynamic therapy. I. Utilization of quantum yield data of singlet oxygen formation for the study of the interaction between excited photosensitizer and stable free radicals. *Biochem Biophys Res Commun.* 189, 1548-52.
- Walker, D. C., Len, S-V., Sheehan, B. (2004) Development and Evaluation of a Reflective Solar Disinfection Pouch for Treatment of Drinking Water, *Applied and Environmental Microbiology*, 70, 2545-2550.

The development of the sterilization system which does not drop quality of the food

Akira Takahashi

Institute of Health Biosciences, The University of Tokushima Graduate School

The food manufacturing/processing industry needs a surface sterilization method that eliminates pathogenic microorganisms but does not influence the taste or smell of food. Freshly harvested fruits and vegetables are considered high risk in terms of food safety because they may contain contaminating microorganisms at levels varying between 3 and 7 log units, depending on the season and type of produce. It is well known that disinfection is one of the most critical processing steps in fresh-cut vegetable production, affecting the quality, safety and shelf-life of the end product. UVA (Ultra Violet A) has been reported to have a bactericidal effect and we recently developed a UVA-LED (UVA-Light Emitting Diode) irradiation system, and found that UVA by itself can disinfect water efficiently. In this study, we applied UVA-LED system for surface sterilization that is safe, efficacious, low cost, and apparently harmless to fresh produce.

Escherichia coli strain DH5 α was spot-inoculated onto cabbage or lettuce incubated, and treated under UVA-LED. The vegetable was homogenized and bacteria quantified by colony-forming assay. Possible effects of UVA-LED on cabbage or lettuce quality were evaluated by HPLC. Tissue weight changes were checked after treatment at 4°C, 15°C, and 30°C.

Bacterial inactivation by UVA-LED radiation was observed after a 10 min treatment and increased with increasing time of exposure. The log survival ratio reached -3.23 after a 90 min treatment. Bacterial cells surviving treatment grew slowly compared to untreated control cells. Cabbage tissue lost weight over time after treatment, and weight loss increased with increasing incubation temperature, but there was no difference between losses by UVA-LED treated and control tissues at any temperature tested. In addition, no differences in tissue content were detected by HPLC after UVA-LED treatment.

Next, we created the rotation type UVA-LED irradiation equipment which had 50L tank, and estimated the sterilization ability for bacteria on the cabbage. The rotation type UVA-LED irradiation system had low killing ability (-0.81 log survival ratio). Then, we studied the effects of UVA-LED system for surface sterilization coupled with sodium hypochlorite, which was the mostly used disinfectant in the food industry. Combination of UVA-LED radiation and sodium hypochlorite lead high killing ability for bacteria, and decreased the residual hypochlorite.

These results suggest that UVA-LED treatment has great potential for vegetable surface sterilization in the food manufacturing/processing industry.