



# HOKKAIDO UNIVERSITY

|                     |                                                                                                                                                                                                               |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title               | Development of non-thermal microbial inactivation techniques : application of ohmic heating and irradiation of UVC by light-emitting diode [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review] |
| Author(s)           | 村下, 卓                                                                                                                                                                                                         |
| Degree Grantor      | 北海道大学                                                                                                                                                                                                         |
| Degree Name         | 博士(農学)                                                                                                                                                                                                        |
| Dissertation Number | 甲第13145号                                                                                                                                                                                                      |
| Issue Date          | 2018-03-22                                                                                                                                                                                                    |
| Doc URL             | <a href="https://hdl.handle.net/2115/70153">https://hdl.handle.net/2115/70153</a>                                                                                                                             |
| Rights(URL)         | <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/</a>                                                                                           |
| Type                | doctoral thesis                                                                                                                                                                                               |
| File Information    | Suguru_Murashita_abstract.pdf, 論文内容の要旨                                                                                                                                                                        |



# 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称： 博 士（農学）

氏名 村下 卓

## 学 位 論 文 題 名

### **Development of non-thermal microbial inactivation techniques: application of ohmic heating and irradiation of UVC by light-emitting diode**

（非熱的殺菌技術の開発：通電加熱と発光ダイオードによる UVC 照射）

食品の殺菌は食品の安全性を保証するだけでなく品質劣化を最小限に抑えることが求められる。食品産業において主流な殺菌方法は外部の熱源を利用する外部加熱法であるが、過度な加熱は香り、食感、味などの変化や栄養分の損失を引き起こす。本研究では非熱的な殺菌効果に着目することで食品の熱劣化を軽減する殺菌手法の開発を目指した。具体的には通電加熱と紫外線（UVC）を照射可能とする発光ダイオード（light-emitting diode: LED）を利用した殺菌手法の開発を行った。

#### 1. 通電加熱法による細菌芽胞の殺菌

通電加熱とは食品に交流電流を流して加熱する方法である。食品内で発生する発熱を利用して加熱するため外部加熱と比べて食品を均一かつ迅速に加熱すると言われる。さらに通電加熱は微生物を熱だけでなく電気により殺菌する可能性がある。本研究では耐熱性が高く食品の腐敗の原因となる細菌芽胞（*Bacillus subtilis*）を対象に通電加熱による非熱的殺菌効果を検討した。

食塩水を通電加熱法および外部加熱法で沸点（101℃）に維持し、あらかじめ調製した細菌芽胞（*B. subtilis*）を接種後、各時間の菌数を測定し殺菌効果を比較した。また通電加熱法による電界を 5, 10, 20 V/cm, 周波数を 20, 40, 60 kHz とし各条件における殺菌効果を評価した。その結果、通電加熱法は外部加熱法と比べ *B. subtilis* を効率的に殺菌した。すなわち、非熱的殺菌効果認められた。また、電界強度、周波数が高いほど殺菌効果が高まることがわかった。この結果から、通電加熱法を用いることで耐熱性の高い細菌芽胞を従来の加熱方法と比べより低温、短時間で殺菌できる可能性が示された。

#### 2. UVC-LED による氷の殺菌

非加熱殺菌の一つに紫外線（UV：Ultraviolet）殺菌がある。UV の中でも波長が 280 nm 以下の領域は UVC と呼ばれ、特に高い殺菌効果を持つ。UVC による殺菌は研究例が多く、実際に様々な産業に適用されている。しかし、従来の UV 殺菌装置は有害な水銀ランプを使用することからその利用は制限されている。一方で、近年 UVC-LED（UV light-emitting diode）が新たな UV 源として開発された。UVC-LED は水銀を使用せず小型であることから、今後食品産業において幅広く利用されることが予想されるが、その殺菌効果や有効な適用方法については未解明である。本研究では UVC-LED による食品産業における新たな殺菌技術を開発

することを目指して、UVC-LEDによる氷の殺菌を検討した。氷は食品産業で広く利用される一方で、食中毒の原因になっている。氷の微生物汚染を防ぐために、高品質な水の使用、定期的な製氷装置の清掃が求められるが手間がかかる上、薬剤による汚染も考えられる。氷を直接殺菌することが安全な氷の製造に貢献する。本研究ではUVC-LEDとUVランプの殺菌効果の比較すること、UVC-LEDによって氷中の病原菌が殺菌可能か検討すること、UVC-LEDの照射角度を変えた際の殺菌効率を検討した。

供試細菌として主要な食中毒細菌である *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Typhimurium, *Listeria monocytogenes* を用いた。各菌液 1 mL と純水 25 mL を混ぜ、製氷皿を用いて -80°C で 5–6 h 凍結させ氷試料（縦: 3 cm, 横: 3 cm, 高さ 2.8 cm）を作成した。氷中の初期菌数は  $10^6$ – $10^7$  CFU/mL であった。UVC-LED（直径: 5.5 mm, 高さ: 0.2 mm）, UV lamp（縦: 336 mm, 横: 82.3 mm, 高さ: 65 mm）を用いて UV 照度 0.013 mW/cm<sup>2</sup> で UV を照射した。UVC-LED の個数は、1 個, 2 個, 3 個としそれぞれ殺菌効果を検討した。2 個, 3 個の条件では UVC-LED を同一方向, 別々な方向と設置条件を変えて照射角度による影響を検討した。その結果, UVC-LED は  $10^6$ – $10^7$  CFU/mL の氷中の病原菌を殺菌した。また, UV ランプより高い殺菌効果を示した。さらに, 照射角度を変えた条件では同一方向の照射と比べ高い殺菌効果を示した。本研究結果から UVC-LED は氷中の病原菌を非加熱的に殺菌できることが示され氷由来の食中毒を防ぐことに貢献する可能性が示された。

### 3. UVC-LED による野菜の殺菌

食品産業において食中毒を防ぐことは重要な命題であり、食品企業は各工程において微生物の管理を徹底している。しかし、どれだけ徹底しても、飲食店や家庭などに届く前後で微生物の混入や増殖が起こりうる。平成 28 年の原因施設別食中毒発生状況によれば、原因施設が判明したうち 67.8%が飲食店、11.3%が家庭で食中毒が起きたと報告されている。すなわち、喫食直前に殺菌することが食品の安全性の確保に大きく寄与すると考える。しかし、野菜や刺身身など加熱加工を必要としない食品を喫食直前に殺菌する技術は普及していない。本研究では、UVC-LED を用いることで野菜を非加熱的に殺菌できると考え、喫食直前に殺菌する技術として検討した。

供試細菌として *E. coli* ATCC25922 を用いた。調製した菌液を 50  $\mu$ L を洗浄したレタス (5×5 cm) およびミニトマトに滴下し乾燥させた。初期菌数は  $10^6$ – $10^7$  CFU/cm<sup>2</sup> 程度であった。UVC-LED1 個を各野菜から鉛直方向上側に 6 cm 離れたところに設置し、UV 照度 0.013 mW/cm<sup>2</sup> で UV を照射した。照射後、各野菜およびペプトン水 20 mL をストマッカー袋に入れ 1 分間手で擦った。その後、洗浄に用いたペプトン水を適宜希釈して菌数を測定した。また、UV 照射前後の野菜の硬度と色度を測定し品質の変化を検討した。その結果、10 mJ/cm<sup>2</sup> の UV 照射により野菜に付着した *E. coli* ATCC25922 を  $10^2$ – $10^3$  CFU/cm<sup>2</sup> 程度殺菌した。色度や硬度は UV 照射により変化しなかった。この結果から UVC-LED により非加熱的に品質に影響を与えず野菜由来の食中毒を軽減する可能性が示された。しかし、完全に殺菌することはできないことから今後より効率的に殺菌する手法を検討する必要がある。

以上、本研究では食品の加熱による品質低下を抑制するために、非熱的な殺菌効果を最大限に活用することを目指して、通電加熱法および UVC-LED での紫外線照射を検討した。その結果、これら殺菌技術は高い殺菌効果と熱による品質低下を軽減できる可能性が示された。