

紫外線強化型光パルスの食品殺菌への応用

吉川修司・土井義明*・井上貞仁・金野利春*,**

Application of UV Reinforced Pulsed Xenon Light for Food Sterilization

Shuji YOSHIKAWA, Yoshiaki DOI*, Sadahito INOUE and Toshiharu KONNO*,**

The pulsed light from a high-voltage xenon dis-charge lamp is commonly used by semiconductor manufacturers. It is known to sterilize UV-tolerant fungi and offers an instantaneous sterilization method. However, light-pulse sterilization apparatus is used by only a few pharmaceutical makers and is rarely used in the food industry.

This report describes the sterilization effect of UV reinforced pulsed xenon light on several microorganisms and evaluates the influence on food quality after treatment.

UV reinforced pulsed xenon light was able to sterilize UV-tolerant fungi, bacteria and their spores.

Damage to microbial surfaces was observed after irradiation. Vacuum packed foods wrapped with 21 different films were tested. Packaging films having a UV transparency of over 35% and a UV transparency at 254 nm of over 25% were suitable for light pulse sterilization.

The influence of light pulse irradiation on food quality was examined. The taste and color of foods were not changed and food smells were slightly reduced after irradiation. Changes of exposed food surfaces were detected by scanning electron microscopy and were supposed to be caused by instantaneous heating.

We concluded that light pulse irradiation could be effective for sterilization of food surfaces with less deterioration. -

高電圧をかけて放電したキセノンランプから発生するパルス光は、半導体製造業者では広く利用されてきた。パルス光の紫外線耐性真菌に対する殺菌効果は知られており、瞬間的な殺菌方法として期待されている。しかし、光パルス殺菌装置は製薬業者にのみ使用例があるに過ぎず、食品工業へはほとんど応用されていない。

本報告では数種の微生物に対する紫外線を強化したキセノンパルス光の殺菌効果を明らかにするとともに、処理後の食品の品質を評価した。紫外線を強化したキセノンパルス光照射により紫外線耐性真菌、細菌および細菌芽胞が殺菌可能であった。照射後に微生物表面が損傷し

ているのが確認された。21種類の異なるフィルムで真空包装した食品を試験した。紫外線透過率が35%以上で、かつ波長254nmの光線透過率が25%以上の包材が光パルス殺菌に適していた。

光パルス処理が食品の品質に与える影響を調べた。照射後の食品の味および色には変化はなかったが、臭みが若干少なくなった。曝露した食品の表面を顕微鏡で観察したところ変化が認められ、これらの現象はおそらく瞬間的な加熱によるものと推察された。

紫外線強化光パルス照射は食品の表面の殺菌に効果があり、しかも処理後に品質の劣化を伴わなかった。

事業名：民間共同研究

課題名：光パルス殺菌の食品製造における応用研究

* 北海道電力(株) (〒060-8639 北海道札幌市中央区大通東1丁目2番地)

** 現・タニコー(株)北海道工場 (〒068-0111 北海道空知郡栗沢町字由良2-9)

Key words : **Light pulse** (光パルス) **Sterilization** (殺菌) **Food protection** (食品衛生)

食品の殺菌手段として最も確実かつ簡便でしかも安価な手段は加熱殺菌である。しかし、加熱により野菜のクロロフィルに代表される色素の退色、メイラード反応などによる着色、野菜の繊維質や肉類の結合組織のき弱化による歯ごたえの劣化、あるいはタンパク質の変性による硬化ならびに離水、味の変化など加熱前の風味が損なわれる場合もあり、加熱殺菌が困難な食品も多い。このような場合に、次亜塩素酸ナトリウムやアルコールなどを用いた薬剤殺菌処理が行なわれているが、殺菌剤を用いた場合、過剰使用や長時間の処理によって臭気がつく、あるいはうま味の流出や水っぽくなるなどの問題があり、品質を損ねない程度の処理では殺菌効果が限られてしまうことも多い。

そこで、従来の殺菌方法に変わる手段の一つとして、高エネルギー光パルスが注目されている¹⁻³⁾。光パルスはキセノンガスを封入したランプに瞬間的に高電圧を印加して放電点灯させると発生するもので、波長分布は太陽光とほぼ等しく、殺菌効力のある波長 300 nm 以下の光を含む。そのため、照射により殺菌が可能で、しかも従来の殺菌方法の中でも短時間で殺菌が可能であるとの報告がある⁴⁾。しかし、光パルス殺菌は医薬品製造で実用化されているのみで、食品製造には用いられていない。

従来、光による殺菌方法として紫外線殺菌が実用化されているが、紫外線殺菌は低コストである反面、油脂の酸化や色素の退色の促進、あるいはタンパク質の変性など食品の品質を劣化させる場合があることが知られている。また、光の当る表面のみしか殺菌されないことから、食品の殺菌には適用困難とされていた。

一方で、食品原料の微生物汚染は表面において著しいことが多く、薬剤殺菌や紫外線殺菌よりも効果的に殺菌が可能であれば光パルス殺菌は有効であると考えられる。

そこで、本研究ではカビ、酵母、細菌、および細菌芽胞に光パルスを照射し、殺菌特性を明らかにするとともに、食品の殺菌に用いた場合の効果ならびに殺菌後の品質への影響について検討を加えたので報告する。

実験方法

1. 光パルス照射装置

本試験で用いた光パルス照射装置はパルス光を反射するアルミ製反射板とキセノンランプ、およびランプの放

熱を行うファンよりなるランプ部と交流電圧 (200 V) を高圧の直流電圧に変換する電源部によって構成される。市販のストロボ点灯装置を改良したテスト機 (ウシオ電機 KFS-3000 TU) を用いた。照射部はキセノンランプへの単位面積当りの入力電流 (電流密度) が 1000 A/cm² のキセノンランプとパルス光反射板、さらにランプより生じる熱を放散する空冷装置で構成される。パルス殺菌装置の消費電力は 8 kw、印加電圧は 1500~3000 V の範囲で可変式である。今回用いたキセノンランプの放射光は紫外線領域の分布が多くなるように強化したもので、480 nm に放射ピークがあるものを用いた (Fig. 1)。

2. 抗菌スペクトルの確認

細菌としてグラム陰性菌の大腸菌 (*Escherichia coli* ATCC11229)、グラム陽性菌の枯草菌 (*Bacillus subtilis* ATCC9372)、乳酸菌として *Lactobacillus plantarum* JCM1149T、細菌芽胞として枯草菌芽胞 (栄研化学：枯草菌芽胞菌液)、真菌類として黒カビ (*Aspergillus niger* ATCC16404) および酵母 (*Saccharomyces cerevisiae* JCM7255T) を用いた。

大腸菌、枯草菌、乳酸菌、酵母の試験用菌液は培養液を遠心分離して回収した菌体を 0.85% 滅菌生理食塩水に懸濁した後に同一条件で洗浄菌体を回収し、再度 0.85% 滅菌生理食塩水に懸濁して菌数が 10⁷~10¹¹ cfu/ml となるように調整したものを用いた。また、枯草菌芽胞は市販の芽胞懸濁液を、黒カビについては孢子懸濁液を調製して用いた。各菌を塗抹する平板培地は、大腸菌、枯草菌、枯草菌芽胞はニュートリエント寒天培地 (オクソイド) を、乳酸菌は GAM 培地 (日水製薬) を、黒カビと酵母はポテトデキストロース寒天培地 (オクソイド) とした。試験用菌液を 10¹~10¹⁰ 倍希釈して、その 0.1 ml を直径 9 cm の平板培地上に均一に塗抹した。シャーレとランプの間隔を 20 cm、1 回あたりの照射時間を約 190 μ 秒として、1~30 回照射した。殺菌対象物のエネルギー密度は照射 1 回あたり 0.12 J/cm² とした。

光パルスを照射した試験試料は直ちにインキュベーターで所定の時間と温度で培養し、培養後のコロニーを計数し、生残率を算出した。各菌の培養条件は、大腸菌は 37°C で 24 時間、枯草菌と枯草菌芽胞は 30°C で 24 時間、乳酸菌と酵母は 30°C で 48 時間、黒カビは 24°C で 48~72 時間とした。

3. 走査型電子顕微鏡による微生物表層構造の観察

ニュートリエントアガー上に滅菌したポアサイズ 0.20 μ m の酢酸セルロースフィルターをのせ、その上に大腸菌 (*E. coli* JCM1649T)、黒カビ、酵母を生育させ

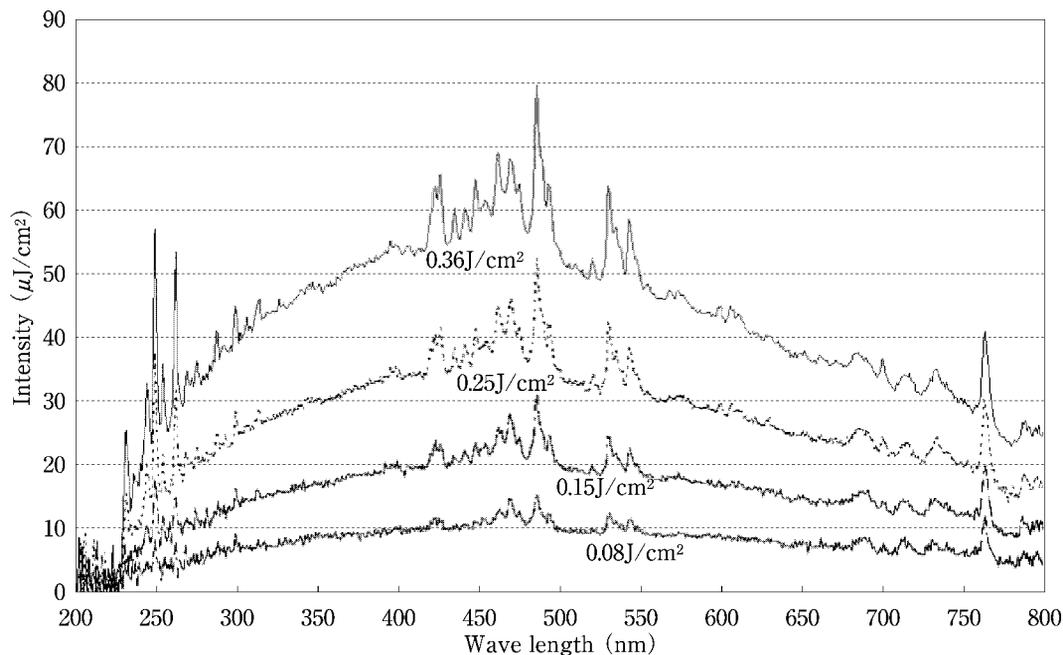


Fig. 1 Spectrum of UV reinforced pulsed xenon light

た。これらの微生物が生育したシャーレをランプの 20 cm 下に置き、0.2 秒間隔で 30 回、総照射エネルギー量が 1.8 J/cm^2 となるよう照射した。その後、菌体(黒カビの場合は孢子)を回収して、2%グルタルアルデヒドで固定後、2%オスミウム酸固定を施した。なお、真菌孢子は照射後に菌体をフィルターごとがし、0.85%生理食塩水を含む蓋付き遠心管に入れ、軽く振とうして回収し固定した。その後、アルコールで段階的に脱水し、さらに酢酸イソアミルで置換した。超臨界点乾燥をして試料台に載せ、イオンスプッター(日立製作所 E 102)で白金を蒸着後、走査型電子顕微鏡(日立製作所 S-2400)で観察を行なった。

4. 食品の光パルス殺菌における包材の影響

クラコウソーセージを乳酸菌懸濁液(1 ml の滅菌生理食塩水中 $10^8 \sim 10^9 \text{ CFU}$)に 3 分間浸漬後、Table 1 に示した構成の異なる 21 種類の包材を用いて真空包装した。光パルスを包装したクラコウソーセージの表裏両面に総照射エネルギー量が 1.8 J/cm^2 となるように照射後、生菌数を測定した。包装材料の紫外線透過率は自記分光光度計(Beckman, DU 7400)を用いて測定した。

5. 光パルス殺菌が食品の品質に与える影響

実験用試料として肥育牛の半腱様筋(M. semitendinosus)を使用した。試料に光パルスを照射して、色調、pH、保水性および臭気の強さの 4 項目について測定し、併せて官能評価を行った。色調はハンター表色系に基づいた分光測色計(ミノルタ CM-2002)を用い、 L^* 値、 a^*

値、 b^* 値および彩度を計測した。pH は細切した試料 5 g に蒸留水 20 ml を加えてホモジナイズし、これを 3000 rpm で 15 分間遠心分離し、上澄みの pH を各試料 2 回測定して平均値を求めた。保水性は試料を塊で 3 g 採取して濾紙で挟み、レオメーター(サン科学 CR-200 D)で 10 kg の加圧で 60 秒間保持し、試料より滲出した圧出水分量の割合を各試料 5 回測定して平均値を求めた。官能検査は試料をスライス後に光パルスを照射したものと未処理のものをサラダ油で炒め、これらを男性 10 名、女性 4 名の計 14 名で試食して畜肉臭の強さを評価した。臭気は光パルスを照射した肥育牛半腱様筋 30 g を真空包装し、 70°C で 90 分間加熱した後にポータブルニオイモニター(理研計器 OD-85)により測定した。

さらに、試料肉を液体窒素で急速凍結後、線維に直角に切断し、切断面の表裏に光パルスを各 15 回照射後、走査型電子顕微鏡による観察を行った。試料の固定方法は、前記の微生物を試料とした場合と同様に行った。また、クラコウソーセージの表裏に光パルスを各 15 回照射ものについても、同様に観察を行った。

結果および考察

1. 各種微生物に対する殺菌効果

光パルスの照射量が 0.5 J/cm^2 程度までは各菌ともに照射回数の増加に伴い生残率が低下し、特に枯草菌の栄養細胞ならびに大腸菌、乳酸菌において照射後の生残率の低下が著しく総照射エネルギー量 0.5 J/cm^2 の場合、

Table 1 Packaging films used for sterilization tests with xenon pulsed light

Composition No. (Outer/Inner)	Transparency(%)			Thickness (μm)
	254nm	UV	Visible	
1 ONY15/LLDPE70	ca.30	50	60~70	85
2 EVOH15/PE60	ca. 0	60*	70~85	75
3 NY25/DL/PO70	ca. 0	40	50~75	95
4 BON15/EVA55	ca.40	50	70	70
5 PET12/DL/AI9/CP70	0	0	0	91
6 IPP30	ca.35	45	65~85	30
7 LDPE/EVOH/LDPE	ca.35	40	50~75	60
8 NY/PE	ca.55	70	80~85	60
9 LDPE30	ca.58	70	70~85	30
10 LDPE60	ca.60	70	70~85	60
11 EVA30	ca.20	30	30~65	30
12 EVA60	ca.25	35	35~60	60
13 LLDPE30	ca.60	65	70~85	30
14 LLDPE60	ca.40	55	60~80	60
15 HDPE15	ca. 1.5	2	2~13	15
16 HDPE30	ca. 1.2	1.5	2~12	30
17 NY/PE	ca. 0	30	40~60	0
18 PE/PVDC/PO	ca.40	20	30~60	65
19 0NY15/CP60	0	45	50~70	100
20 NY/DL/NY/DL/LLDPE	ca.25	30	40~60	70
21 NY/DL/PE	ca. 3	55	60~65	65

* Transparency of over 280nm

Al: Alminum, BON: Biaxially oriented nylon, CP: Cellulose Propionate, CPP: Casting polypropylene, DL: Dry laminate, EVA: Ethylene vinylacetate copolymer, EVOH: Ethylene-vinyl Alcohol, HDPE: High density polyethylene, IPP: Inflation polypropylene, LDPE: Low density polyethylene, LLDPE: Linear low density poly-ethylene, NY: Nylon (Polyamide), 0NY: Oriented nylon, PE: Polyethylene, PET: Polyethylene terephthalate, PO: Poly olefin, PVDC: Polyvinylidene chloride

それぞれ $1.9 \times 10^{-5}\%$, $2.9 \times 10^{-3}\%$, $1.0 \times 10^{-3}\%$ となった。黒カビは紫外線に抵抗性があることが知られており、本試験において用いた微生物の中では照射後の生残率は最も高い値を示した。しかし、照射量 1.2 J/cm^2 では生残率が10%程度となった。枯草菌芽胞は栄養細胞に比べ死滅しにくい、総照射エネルギー量を 0.5 J/cm^2 以上とすると、生残率は最小0.1%程度までになった。本試験に

より、真菌類(カビおよび酵母)と細菌類(グラム陰性および陽性細菌)さらに真菌類孢子および細菌芽胞まで広範な微生物を殺菌可能であることが明らかになった。また、照射量を 1.2 J/cm^2 以上に増やしても生残率に大きな変化はなかった。(Fig. 2)。

五十部ら⁵⁾は大腸菌、腸球菌、枯草菌、ウェルシュ菌、酵母および黒カビを用いて、光パルス殺菌の殺菌効果を

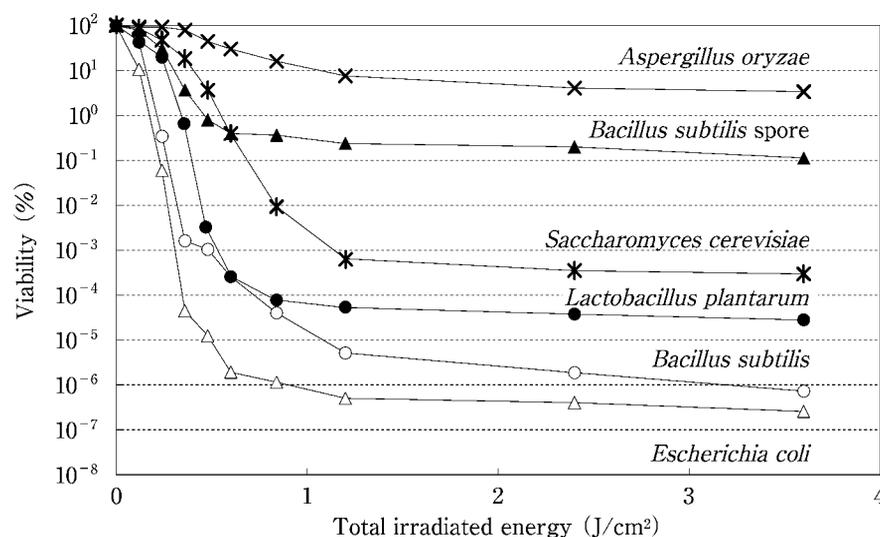


Fig. 2 Viabilities of microorganisms after UV reinforced pulsed light irradiation

調べ、短時間でこれらの微生物が殺菌可能であることを報告しており、本試験でも同様の結果が得られた。

薬剤殺菌に比べ、光パルス殺菌の殺菌スペクトルは広く、紫外線に対し耐性が高い黒カビや殺菌剤と紫外線の双方に耐性で、しかもレトルト処理以外の加熱処理では殺菌が困難な枯草菌の芽胞も殺菌可能であり、従来の殺菌方法に比べて光パルス殺菌の有効性が示された。

大腸菌、黒カビ孢子、酵母を用い、光パルス照射が菌体に与える影響を走査型電子顕微鏡で観察した。光パルス未照射の微生物に比べ、光パルス 30 回照射後の大腸菌

は、菌体表層が欠損しているものが多く (Fig. 3 f), 照射後の黒カビ孢子は菌体表層が破損して金平糖状になっており (Fig. 3 b), 未照射の孢子の球形とは全く異なる形状を示すものが多かった。光パルス 30 回照射後の酵母も他の微生物と同様に菌体表層の損傷が認められ、未照射の菌体が綺麗な卵形を示すのに対し、表面が陥没しているものが多かった (Fig. 3 d)。Komatsu ら⁶⁾は液体窒素で急速凍結した酵母の細胞膜と核膜が損傷することを、Tatsuguchi ら^{7,8)}はグリシンと塩化のトリウムを作用させた大腸菌、および p-ヒドロキシ安息香酸ブチル

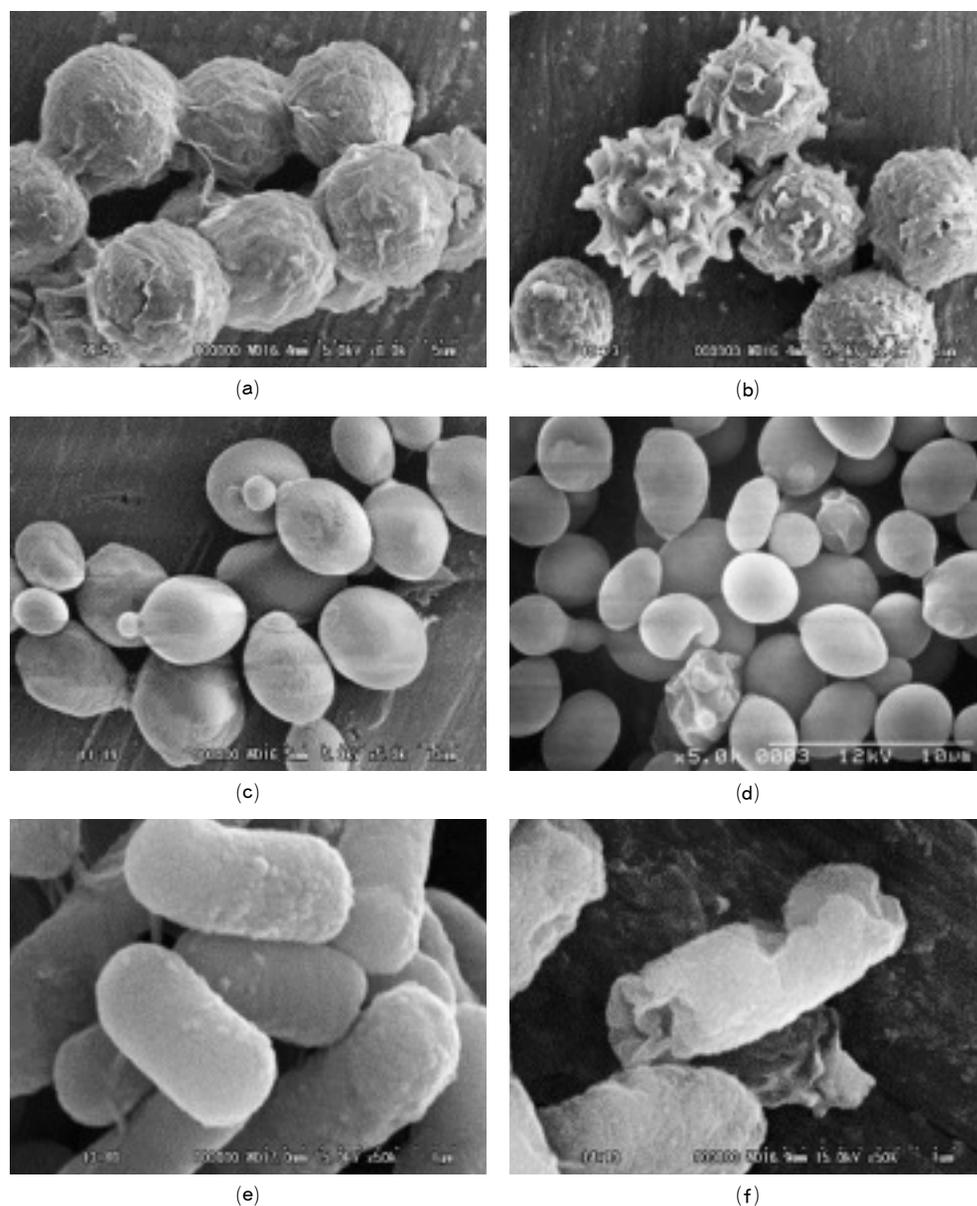


Fig. 3 Surface of microorganisms irradiated by pulsed light (b, d, f) and control (a, c, e)- Spores of *Aspergillus niger* ATCC16404 (a, b), *Saccharomyces cerevisiae* JCM7255^T (c, d) and *Escherichia coli* JCM1649^T (b, e): These micro-organisms on the nutrient agar media were irradiated 30times.

を加えて加熱処理した大腸菌のそれぞれにおいて、菌体の表層構造が損傷して菌体成分が流出することを電子顕微鏡で確認して報告している。よって、本試験の結果は光パルス照射により菌体の表層構造が破壊され、内容物が流出して殺菌されるメカニズムを示唆するものである。

2. 包材が殺菌効果に及ぼす影響

真空包装した食品に光パルスを照射後、生菌数を測定した (Fig. 4)。殺菌効果は包材により異なった。紫外線透過率が35%以上で、かつ波長254 nmの光線透過率が25%以上の包材において殺菌効力が高かった。

パルス光が Fig. 1 に示すように殺菌力の強い波長帯の紫外線を含むこと、ならびに紫外線の透過率が低い包装を用いると殺菌率が低くなる傾向を示すことから、光

パルスによる殺菌機構の一つが、紫外線的作用であることが示唆された。しかし最も殺菌効果が低い包材であっても、総照射エネルギー量を3.8 J/cm²とすると生残率は5%以下に低下可能であった (データ未掲載)。

3. 光パルス殺菌が食品の品質に与える影響

光パルス照射の有無による食品の品質の違いを肥育牛半腱様筋を用いて調べた (Table 2)。pHは、照射の有無にかかわらず同じ値で、保水性を示す圧出水分量もほとんど変わらなかった。色調もL*値、a*値、b*値、彩度の全てにおいて照射の有無による差が認められなかった。色調劣化を伴わずに殺菌が可能であることが明らかとなった。臭いの強さは対照を100とすると、照射区は77.9となり、光パルスの照射によって臭いが抑制されることが分かった。

Table 2 Effects of UV reinforced pulsed light treatment on the qualities of meat (Muscle semitendinosus)

	Control	Irradiated
pH	5.9	5.9
Water content (%)	84.7	88.1
Color L*	36.8	38.1
a*	21.2	20.1
b*	4.3	4.2
Chroma	21.7	20.5
Strength of odor	100	77.9
Tasting with panels	Odor present (14/14)	No odor (10/14) Slight odor (2/14)

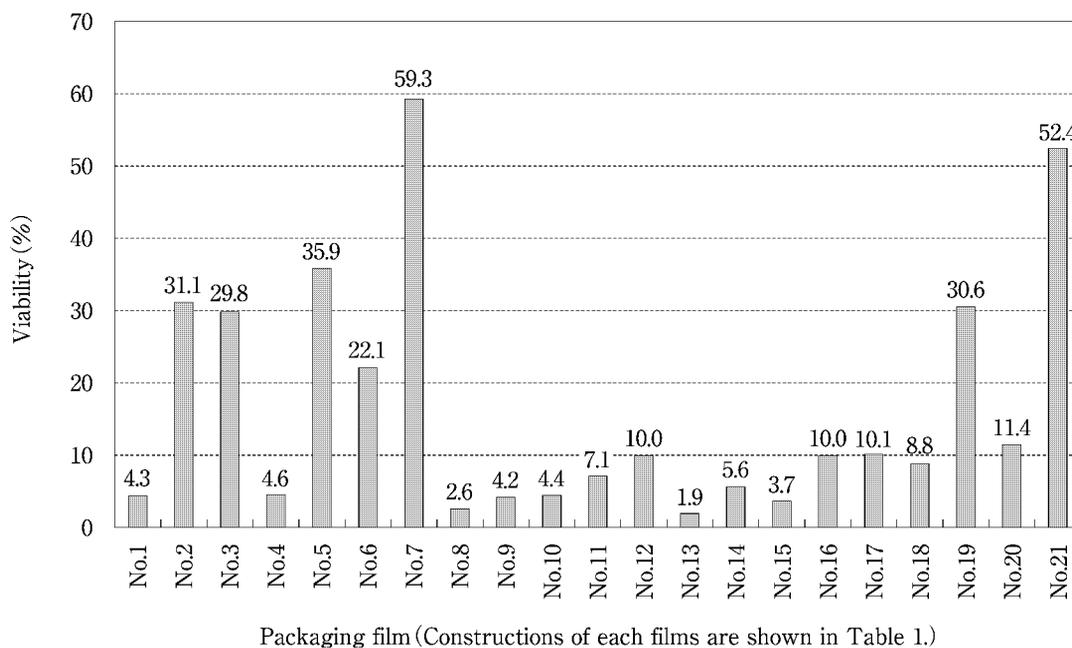


Fig. 4 Viability of *L. plantarum* inoculated to Kurakauer wurst packed with various films after UV reinforced pulsed xenon light irradiation

官能審査による畜肉臭の強さは、光パルス照射したものの方が臭気が弱いとの評価が多く、光パルス照射により食肉の品質への悪影響は無いことが明らかとなった。光パルスの照射によって臭いが抑制される以外には外観や色調、pH、保水性などには変化は認められなかったが、肥育牛半腱様筋の光パルス照射面の構造を走査型電子顕微鏡で観察したところ、未処理の筋組織の断面は、凹凸がなく平滑であったのに対し (Fig. 5 a), 光パルス照射後の筋組織は、断面におびただしい数の物質が見られた (Fig. 5 b). 同様に光パルス照射したクラコウソーセージの表面を走査型電子顕微鏡で観察したところ、未処理のクラコウソーセージの表面には、凹凸がある脂肪球が確認できるのに対し (Fig. 5 c), 光パルス照射後のクラコウソーセージ表面の脂肪球の多くは、凹凸がない滑面を呈していた (Fig. 5 d). この現象はクラコウソーセージ表面の脂肪球の変化はきわめて短時間の加熱によるものと推察された。

以上から、光パルス照射は殺菌対象物を瞬間的に加熱するが、熱変性等の影響は表層に極く限られたものであ

ることが示唆された。

Takeshita ら⁹⁾は、パルス光照射により酵母細胞のDNAが損傷し、その現象が連続紫外線照射と本質的に同等であると結論づけている。しかし、照射細胞における高濃度のタンパク質の溶出および構造変化はパルス光照射でのみ観察されたことを報告している。このことは、紫外線照射ではもたらされない加熱効果や菌体の表層構造の損傷がパルス光照射で確認された本試験の結果とよく符合する。また我々の結果や五十部らの報告にある数回の照射で菌数が大きく減少する紫外線殺菌に無い光パルス殺菌の特性もこれらの現象で説明可能である。

これまで得られた結果より、光パルスは、殺菌スペクトルが広く、紫外線に対し耐性が高い黒カビや枯草菌芽胞も殺菌可能であり、殺菌が短時間で可能であることがわかった。また、光パルス殺菌が食品の殺菌に応用可能であることが示された。しかし、光パルス殺菌により効果的に殺菌可能な食品は主な微生物汚染が食品表面に限られるものであり、かつパルス光が全面にむらなく当たるものに限られることから、実際に食品の殺菌に用いる

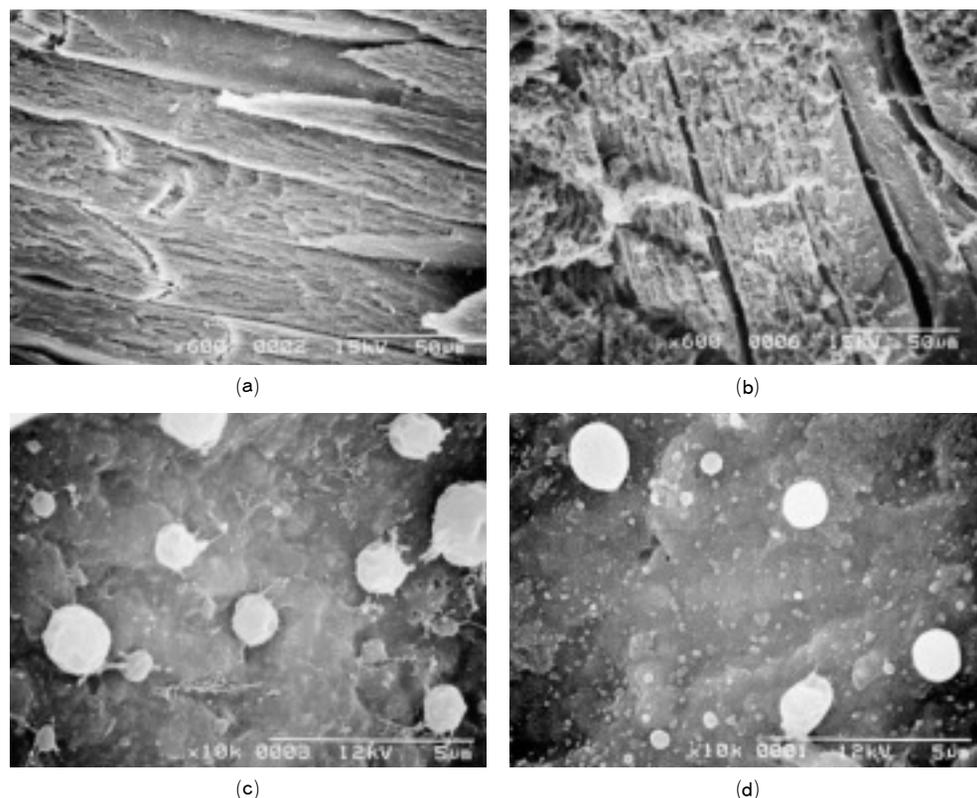


Fig. 5 Surface of muscle semi-tendinosus and Krakauer wurst irradiated by pulsed light (b, d) and control (a, c)

Muscle semi-tendinosus and Krakauer wurst were observed by scanning electron microscopy before and after light pulse irradiation. (a), (b) : muscle semi-tendinosus, (c), (d): Krakauer wurst (a) and (c) : before irradiation. (b) and (d): after irradiated 15 times.

場合は、対象となる食品の形状や微生物の分布を念頭におく必要がある。今後光パルス殺菌の実用性を高めるためには、実生産に近い条件で殺菌効果を検証していくことが重要と思われる。

要 約

紫外線強化パルス光を食品の殺菌に適用可能か試験を行った。光パルス照射により、真菌類(カビおよび酵母)と細菌類(グラム陰性および陽性細菌)の他、紫外線や薬剤に抵抗性のある黒カビ孢子および細菌芽胞まで広範な微生物の殺菌が可能であった。肥育牛半腱様筋を試料として、光パルス処理の品質への影響を調べたが、pH、保水性、色調などへの影響はほとんど無く、畜肉臭が抑制された。光パルス処理した試料を調理し、官能評価した結果でも処理により畜肉臭さが抑えられると評価された。光パルス照射による殺菌原理は、紫外線および瞬間的な加熱による効果と考えられた。光パルス殺菌は包装食品において、従来の煮沸殺菌や紫外線殺菌に比べて殺菌効果が高かった。

以上より、光パルス殺菌は、紫外線照射や加熱効果および菌体表層構造の破壊により殺菌効果が生じると考えられるが、食品の品質には影響を与えない殺菌方法であった。また、包装済み食品においても応用できる可能性が示された。

参 考 文 献

- 1) 土井義明, 食品・医薬品包装ハンドブック, 幸書房, 462-467 (2000)
- 2) 五十部誠一郎ら, 非熱殺菌における予測微生物学手法の適用, 防菌防黴, **28**, 663-668 (2000)
- 3) 河口克巳, 新殺菌工学ハンドブック, サイエンスフォーラム, 325 (1991)
- 4) ウシオ電機(株), 殺菌方法, 特許第1460487号, (1988.9.28)
- 5) 五十部誠一郎ら, 各種微生物に対する閃光パルスの殺菌効果, 防菌防黴, **30**, 277-284 (2002)
- 6) Komatsu, Y., Sato, M. and Osumi, M., Biochemical and Electron-Microscopic Evidence for Membrane Injury in Yeast Cells Quickly Frozen with Liquid Nitrogen, *Journal of Fermentation Technology*, **65**, 127-131 (1987)
- 7) 竜口和恵ら, グリシンおよび塩化ナトリウムによる菌体成分の漏出と表層構造の損傷, 食衛誌, **30**, 507-511 (1989)
- 8) Tatsuguchi, K., Kuwamoto, S. and Watanabe, T., Membrane Degradation of Heat-Injured *Escherichia coli* Stimulated by Butyl-p-hydroxybenzoate, *Journal of Food Hygienics Society of Japan*, **32**, 278-283 (1991)
- 9) Takeshita, K., Shibato, J., Sameshima, T., Fukunaga, S., Isobe, S., Arihara, K. and Itoh, M., *International Journal of Food Micro-biology*, **85**, 151-158 (2003)