



(10) **LT 5567 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

- (11) Patent numeris: **5567** (51) Int. Cl. (2006): **A23L 3/26**
A61L 2/08
B65B 55/04
- (21) Paraiškos numeris: **2008 060**
- (22) Paraiškos padavimo data: **2008 08 06**
- (41) Paraiškos paskelbimo data: **2009 02 25**
- (45) Patent paskelbimo data: **2009 04 27**
- (62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos numeris: —
- (86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: —
- (85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: —
- (30) Prioritetas: —
- (72) Išradėjas:
Živilė LUKŠIENĖ, LT
Irina BUCHOVEC, LT
- (73) Patent savininkas:
VILNIAUS UNIVERSITETAS, Universiteto g. 3, 01122 Vilnius, LT
- (74) Patentinis patikėtinis/atstovas:
Liudmila GERASIMOVIČ, IĮ „Liudmila Gerasimovič, Patentinis patikėtinis”,
Vingrių g. 13-42, LT-01141 Vilnius, LT

- (54) Pavadinimas:
Maisto ir su maistu susietų paviršių nukenksminimo būdas

- (57) Referatas:

Išradimas susijęs su maisto ir su maistu susietų paviršių nukenksminimu nuo mikroorganizmų, apdorojant spinduliavimu be kaitinimo, kartu panaudojant maistui nekenkiančius fotosensibilizatorius. Siūlomas būdas skiriasi tuo, kad sudrėkina maisto arba su maistu susietą paviršių fotosensibilizatoriaus tirpalu, pamerkiant ir palaikant augalinės kilmės medžiagos vandeniniame tirpale, kurio koncentracija neviršija $7,5 \times 10^{-3}$ M, kur augalinės kilmės fotojautri medžiaga yra pasirinkta iš grupės, apimančios hematoporfirino dimetilo eterį, 5-aminolevulino rūgštį, chlorofilo natrio druską ir hipericiną. Paviršiui leidžiama apdžiūti ir po to jis apšvitinamas šviesa, kurios bangos ilgis atitinka fotosensibilizatoriaus absorbcijos $\lambda_{\max} \pm 40$ nm ir šviesos intensyvumas neviršija 50 mW/cm^2 , optimaliai - neviršija 20 mW/cm^2 .

Išradimas skirtas maisto pramonei ir gali būti panaudotas vaisių ir daržovių, naudojamų paruoštom salotom (morkos, šparaginės pupelės, pomidorai, agurkai, daiginti grūdai), su maistu susijusiems paviršiams (stalai, įrankiai, indai), pakavimo priemonėms (pakavimo indeliai, pakavimo plėvelė), vaisių ir daržovių (tokių kaip braškės, persikai, nektarinai, mandarinai) saugojimui.

5 Išradimas susijęs su maisto ir su maistu susietų paviršių nukenksminimu nuo mikroorganizmų, apdorojant spinduliavimu be kaitinimo, kartu panaudojant maistui nekenkiančius fotosensibilizatorius. Išradimas skirtas maisto pramonei ir gali būti panaudotas vaisių ir daržovių, naudojamų paruoštom salotom (morkos, šparaginės pupelės, pomidorai, agurkai, daiginti grūdai), su maistu susijusiems paviršiams (stalai, įrankiai, 10 indai), pakavimo priemonėms (pakavimo indeliai, pakavimo plėvelė), vaisių ir daržovių (tokių kaip braškės, persikai, nektarinai, mandarinai) saugojimui.

Su maistu siejamos ligos ir sveikatos krizės nepaliauja būti grėsme visuomenės sveikatai visame pasaulyje. Šiuo metu žinoma daugiau negu 250 su maistu siejamų ligų, kurias gali sukelti bakterijos, virusai, grybeliai ar parazitai. JAV apie 5.000 ligonių per 15 metus miršta nuo su maistu siejamų ligų. Sveikatos ekspertai apskaičiavo, kad šių ligų sukelti ekonominiai nuostoliai siekia 10-83 bilijonus dolerių kasmet. Pagrindiniu su maistu siejamų ligų šaltiniu išlieka minimaliai perdirbtas (semi-prepared) arba paruoštas vartojimui (ready-to-eat) maistas. Tokio maisto paruošimo ir laikymo technologijos neapsaugo nuo nepageidaujamos ir patogeniškos mikrofloros augimo ir vystymosi. Šios maisto rūšys 20 neišvengiamai sukuria naujas nišas mikrobams daugintis (vakuuminis įpakavimas, silpnas terminis apdirbimas, saugojimas šaldikliuose, kur temperatūra neviršija 4° C) (M. Peck, S. Stringer, The safety of pasteurised in-pack chilled meat products with respect to the foodborne botulism hazard, Meat Science, 2005,70,461-475). Šie faktai rodo, kad egzistuojančios maisto žaliavų mikrobiologinės kontrolės priemonės nėra efektyvios.

25 Augant ekologiškos maisto produkcijos paklausai, iškyla ne tik efektyvesnių, neterminių bet ir ekologiškai neutralių maisto žaliavų mikrobiologinės saugos technologijų problema. Alternatyvių mikrobiologinės maisto kontrolės technologijų ieškoma tarp pasižyminčių necheminiu ir neterminiu poveikiu, apimant:

- aukštą hidrostatinį slėgį, kuris veikia nekovalentines jungtis, inaktyvuoja vegetatyvines 30 ląsteles (kombinacijoje su lengvu terminiu poveikiu) ir sporas, taikomas skystų ir pusiau

skystų produktų paruošimui (Devlieghere F., Vermeiren L., Devebere J. New preservation technologies. Possibilities and limitations, Int. Dairy J., 2004, 14, 273-285);

- galingą impulsinę šviesą, kuri veikia tiek vegetatyvines ląsteles, tiek sporas, gali būti pritaikyta naikinti mikrobus maisto paviršiuje (V.M. Gomez-Lopez, P. Ragaert, J. Devebere, F. Devlieghere, Pulsed light for food decontamination, Trends in Food Science and Technology, 2007, 18, 464-473);
- impulsinį elektrinį lauką: 10-20kV/cm² elektroporuoja membranas, mažai veikia sporas, kartu su švelniu terminiu poveikiu gali būti efektyvus alkoholinių gėrimų pasterizacijai (Gould G.W. New processing technologies: an overview, Proceedings of the Nutrition Society, 2001, 60, 463-474);
- mikrobangos: 2450MHz efektyviai naikina mikrobus visame maisto matricos gylyje, tačiau dėl netolygaus temperatūros pasiskirstymo derinama su kitais metodais (Gould G.W. New processing technologies: an overview, Proceedings of the Nutrition Society, 2001, 60, 463-474);
- jonizuojančią spinduliuotę: pažeidžia DNR struktūrą, veikia vegetatyvines ląsteles ir sporas (išskyrus laktobakterijų).
- natūralių agentų bakteriocinų (nizinas, lizozimas), augalinių ekstraktų panaudojimas.

Visos šios didelių intensyvumų neterminės technologijos taip pat turi savo trūkumų:

- Aukštas hidrostatinis slėgis keičia baltymų ir polisacharidų struktūrą, tuo pačiu maisto tekstūrą ir funkcionalumą, intensyvus ultragarsinis poveikis denatūruoja baltymus, produkuoja laisvus radikalus, kurie keičia vaisių, taip pat riebalingų maisto produktų kvapą; didelės dozės jonizuojančios spinduliuotės keičia bet kurios mėsos spalvą (Gould G.W. New processing technologies: an overview, Proceedings of the Nutrition Society, 2001, 60, 463-474). Spinduliuoti produktai turi pakitusias skonines savybes, jie nepaklausūs vartotojų tarpe.

Pastaruoju metu augant vartotojų susidomėjimui natūraliais, minimaliai perdirbtais ir be cheminių priedų saugiais maisto produktais daiginti grūdai ar sėklos gali būti siūlomi kaip maistingas, vertingas ir naudingas sveikatai produktas. Tačiau su daigintomis sėklomis yra susijusi ir padidintos mikrobinės taršos problema, kuri pasaulyje iki šiol neišspręsta.

Besivystantys mikroorganizmai ant daigintų sėklų neigiamai veikia produkto kokybę, įtakoja galiojimo trukmę, o kai kurie iš jų gali sukelti pavojingus žmogui susirgimus, kadangi kai kurie grūdus pažeidžiantys mikromicetai gamina ir į aplinką išskiria nuodingas

medžiagas – mikotoksinus, galinčius sukelti žmogaus ir gyvulių ligas mikotoksikoze ar tapti vėžio priežastimi.

Problemos, susijusios su daigintų sėklų mikrobiologine tarša, sprendimą sunkina dar ir tai, kad naudojama dezinfekcinė priemonė turi neįtakoti sėklos daigumo. Labiausiai paplitę ir dažniausiai rekomenduojamos ir naudojamos (ypač JAV) šios cheminės daigų, skirtų maistui, dezinfekavimo priemonės: kalcio arba natrio hipochloritas, vandenilio peroksidas. Bandymai buvo atliekami su plačiu dezinfekantų diapazonu (kalio sorbatu, kalcio propionatu, galio rūgštimi, benzoine rūgštimi, salicilo rūgštimi, dihidroksibenzoine rūgštimi, riboflavinu, nizinu ir kt.), tačiau laukiamų rezultatų nedavė (U. S. Food and Drug Administration National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Food Adopted May 28, 1999, Microbiological Safety Evaluations and Recommendations on Sprouted Seeds)

Egzistuojantys mikrobiologinės kontrolės metodai naudojant cheminius preparatus turi trūkumų: 2% kalcio hipochloritas inaktyvuoja mikromicetus, bet negali sunaikinti visos natūralios mikrofloros (Fett, F.W., Reduction of the native microflora on alfalfa sprouts during propagation by addition of antimicrobial compounds to the irrigation water. International Journal of Food Microbiology 30, 13–18). Be to, tiek 2% kalcio hipochloritas, tiek 6% vandenilio peroksidas yra reaktyvios cheminės medžiagos, ardančios vaisių ir daržovių paviršių bei inaktyvuojančios grūdų dygimą (National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods, 1999). Natrio hipochloritas yra efektyvi antimikrobinė priemonė, bet jos koncentracija, didesnė nei 1% inaktyvuoja grūdų dygimą taip pat (Soylemez, G., Brashears, M.M., Smith, D.A., Cuppett, S.L., 2001. Microbial quality of alfalfa seeds and sprouts after a chlorine treatment and packaging modifications. Journal of Food Science 66 (1), 153–157).

Todėl šie ir kiti iki šiol naudoti cheminiai vaisių, daržovių, daigintų grūdų dezinfekavimo būdai dėl liekamųjų cheminių junginių ir aplinkos taršos tampa nebeapkreipūs (Fett, F.W., 2002. Reduction of the native microflora on alfalfa sprouts during propagation by addition of antimicrobial compounds to the irrigation water. International Journal of Food Microbiology 30, 13–18).

Patentinėje literatūroje nurodoma, kad maisto produktų dezinfekcija kartais atliekama tirpalais, turinčiais vandenilio peroksido arba jo darinių (patentas RU 2207036), *in situ* pasigaminamu ozonu (patentas US 6171625); vandenilio peroksido garais (tarptautinės

paraiškos publikacija WO 9404036) ar panašiai (EP 0397228). Tačiau visos šios priemonės yra cheminės ir vengtinės paruošto vartojimui maisto atveju.

Natūralios antimikrobinės priemonės, tokios kaip organinės rūgštys, askorbo rūgštis, greipfrutų sėklų ekstraktas nėra pakankamai efektyvios: 250 mg/l greipfrutų sėklų ekstraktas
 5 tik nežymiai keičia pradinį mikrobiologinį sėklų užkrėstumą (Park, W.P., Lee, D.S., Cho, S.H., 1999. Effect of grapefruit seed extract and antibrowning agents on the keeping quality of minimally processed vegetables. In: Lee, J.M., Gross, K.C., Watada, A.E., Lee, S.K. (Eds.), On Quality of Fresh and Fermented Vegetables: Proceeding of International Symposium. Acta Horticulture, vol. 483, pp. 325–328).

10 Apšvitinimas ultravioletine šviesa yra žinomas, ypač medicinoje, kaip savarankiška dezinfekcijos priemonė, tačiau reikalauja ilgesnių ekspozavimo laikų, kas nėra racionalu maisto paruošime, nes gali sukelti vertingų maisto komponentų pasikeitimą ir/arba skaidymą.

Norint sumažinti daigintų grūdų, vaisių ir daržovių žaliavų mikrobiologinį užterštumą
 15 prieš nuplovimą šiame išradime siūloma naudoti antimikrobinį fotosensibilizacijos būdą.

Fotosensibilizacija pagrįsta dviejų agentų- matomos šviesos ir fotojautrios medžiagos tarpusavio sąveika. Tam tikromis sąlygomis fotojautri medžiaga lengvai kaupiasi mikroorganizmuose ir sužadinta atitinkamo bangos ilgio ir galios šviesa, indukuoja fotocitotoksines reakcijas ir žūtį. Fotosensibilizacijai reikalinga visai nekenksminga
 20 nejonizuojanti spinduliuotė, matomos šviesos arba UV diapazono. (P. Manas, R.Pagan, Microbial inactivation by new technologies of food preservation, J. Applied Microbial., 2005, 98, 1387-1399).

Fotosensibilizacija gali būti taikoma kaip efektyvi, mikrobus naikinanti priemonė. Yra žinoma, kad didžioji dauguma gram-teigiamų ir gram-neigiamų bakterijų gali būti suardytos
 25 fotosensibilizacijos metu, parenkant atitinkamą šviesai jautrią organinę medžiagą- fotosensibilizatorių. Net rezistentiškiausi mikromicetai, sudarantys nemažai problemų maisto paruošime, visoje grandinėje nuo "lauko iki stalo", yra jautrūs fotosensibilizacijai (Lukšienė, Z., Peciulytė, D., Jurkonienė, S. & Puras, R. (2005). Inactivation of possible fungal food contaminants by photosensitization. Food Technology and Biotechnology, 43,
 30 1-7).

Ankstesni autorių darbai parodė, kad daugelis mikromicetų-*Alternaria alternata*, *Fusarium avenaceum*, *Acremonium strictum*, *Rhizopus oryzae*, *Aureobasidium sp.*, *Rhodotorula sp.*, *Penicillium stoloniferum*, *Aspergillus fumigatus*, *Aureobasidium pullulans*,

Ulocladium chartarum - gali būti inaktyvuoti fotosensibilizacijos dėka (Luksiene, Z., Peciulyte, D. & Lugauskas, A. (2004). Inactivation of fungi in vitro by photosensitization: Preliminary results. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 11, 215-220; Luksiene, Z., Peciulyte, D., Jurkonienė, S. & Puras, R. (2005). Inactivation of possible
 5 fungal food contaminants by photosensitization. *Food Technology and Biotechnology*, 43, 1-7). Pasirodo, tai yra efektyvi priemonė net patiems rezistentiškiausiems mikromicetams ir jų sporoms bei konidijoms naikinti, nepadarant žalos nei aplinkai, nei žmogaus sveikatai.

Yra žinomas fotosensibilizacijos reiškinio panaudojamas medicinoje navikinių darinių
 10 destrukcijai, artritu, aterosklerozės, infekcinių ligų gydymui (JAV patentas US 682189 ir eilė kitų).

Žinoma, kad 5-aminolevulino rūgštis (toliau ALA) gali efektyviai naikinti mikroflorą (Luksiene, Z., Peciulyte, D. & Lugauskas, A. (2004). Inactivation of fungi in vitro by photosensitization: Preliminary results. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 11, 215-220; Luksiene, Z., Peciulyte, D., Jurkonienė, S. & Puras, R. (2005).
 15 Inactivation of possible fungal food contaminants by photosensitization. *Food Technology and Biotechnology*, 43, 1-7). Be to ši medžiaga žinoma kaip augimo faktorius augaluose, chlorofilo bei kitų tetrapirolinių molekulių sintezės pradininkas (Tanaka, Y., Tanaka, A. & Tsuji, H. (1992). Stabilization of apoproteins of light-harvesting chlorophyll-a/b protein complex by feeding 5-aminolevulinic acid under intermittent illumination. *Plant Physiology and Biochemistry*, 30, 365-370; Wang, L.J., Jiang, W.B., Huang, B.J., 2003. Promotion of 5-aminolevulinic acid on photosynthesis of melon (*Cucumis melo*) seedling under low light
 20 and chilling stress conditions. *Physiologia Plantarum* 121, 258-264. Wang, L.J., Jiang, W.B., Liu, H., Kang, L., Hou, X.L., 2005. Promotion by 5-aminolevulinic acid of germination of Pakchoi (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* var. *communis* Tsen et Lee)
 25 seeds under salt stress. *Journal of Integrative Plant Biology* 47, 1084-1091; von Wettstein, D., Gough, S., Kananagara, C.G., 1995. Chlorophyll biosynthesis. *Plant Cell* 7, 1039-1105; Bindu, R.C., Vivekanandan, M., 1988. Hormonal activities of 5-aminolevulinic acid in callus induction and micropropagation. *Plant Growth Regulation* 26, 15-18). Tačiau ALA praskiesto tirpalo efektyvumas, inaktyvuojant maisto ir su maistu susietą paviršių, tiesiogiai
 30 su juo kontaktuojant, ir po apibrėžto laiko apšvitinant UV šviesa, kurios intensyvumas neviršija 20 mW/cm², nebuvo akivaizdus.

Bakteriochlorofilas - bakterijų metabolizmo produktas - yra žinomas kaip fotosensibilizatorius vėžio fotodinaminėje terapijoje (PTD) (patentas EP 0468997).

Patentinėje publikacijoje WO 2008023378 yra paminėta, kad auglių fotodinaminės terapijos tikslais šalia bakteriochlorofilo gali būti naudojamas chlorofilas ar jo dariniai, būtent konjugatai RGD-turinčio baltymo su specialiais bakteriochlorofilo (geriausiai) arba chlorofilo dariniais. Tačiau maisto paruošimui gali būti naudojamos tik tos medžiagos, kurios įtrauktos į maisto papildų, dažiklių ir maisto komponentų sarašą.

Chlorofilo natrio druska yra augalų žaliojo pigmento pagrindas, ši medžiaga yra žinomas maistinis dažiklis E140 (Natural Green 3, CI75810) plačiai naudojama maisto pramonėje. Tačiau jokių pranešimų apie chlorofilo natrio druskos panaudojimą fotosensibilizacijai, juo labiau nukenksminant paruoštus vartojimui maisto produktus, nerasta.

Patento paraiškoje US 2006/0124442 aprašytas patogenų, bakterijų ir kitų molekulių pašalinimo iš ištekancios terpės būdas ir įrenginys, kuriame tekančią per įrenginio kanalą terpę (oras, vanduo, kt.), esant joje fotosensibilizatoriams, apšvitina, šviesos šaltiniu naudojant bent vieną LED-šviestuką, kur šviesos šaltinio emituojamos šviesos intensyvumas yra 90-110 mW/cm². Šis būdas siūlomas naudoti, pavyzdžiui, kai kurių patalpų oro gryninimui.

Yra žinomas mikrobų ir virusų inaktyvavimo įrenginys, kuriame objektai – dažniausiai skysčiai, tokie kaip kraujas - yra apie 1 min. apšvitinami kamerose, šviesos šaltiniu naudojant LED-šviestukus, prieš tai injekavus į objektą atitinkamą fotojautrą agentą (patentas CN1416904, 2003).

Analogiškos sistemos su LED šviestukais, skirtos inaktyvuoti mikroorganizmus biologiškai aktyvių baltymų turinčiuose skysčiuose gali turėti priemones temperatūrai kontroliuoti (tarptautinės paraiškos publikacija WO02/26270; patentas US 7094378). Pastaruosiuose sistemose fotosensibilizatoriais naudojamos sintetinės medžiagos-izoaloksazino dariniai, pavyzdžiui, 1-200 mM 7,8-dimetil-10-ribitilizoaloksazinas.

JAV patente US 6692694 (publ. 2004) aprašytas būdas ir įrenginys objektų nukenksminimui ir dezinfekcijai, kuriame fotosensibilizatoriaus turinčiu aerozoliu apipurškia apdorojamą objektą ir po to objektą švitina 200-320 nm bangos ilgio šviesa, kurios intensyvumas iki 1000 mW/cm². Fotosensibilizatoriais buvo naudojami peroksijunginiai arba jų mišiniai, pavyzdžiui, turintys iki 10% vandenilio peroksido. Nors šis būdas netinkamas maisto paviršiui nukenksminti, pagal esminių požymių visumą jis galėtų būti laikomas artimiausiu siūlomam būdui.

Problema ta, kad fotosensibilizatorius ir sąlygos, naudojami vaisių ir daržovių mikrobiologinei kontrolei turi būti tinkamai parinktas: jie turi būti ne tik efektyvūs, bet ir nesukelti žmogui kenksmingo poveikio ar neigiamai paveikti maisto produkto organoleptines savybes. Daugelis fotojautrių medžiagų, net ir būdamos netoksinės cheminės medžiagos, gali paveikti ne tik mikroorganizmų, bet ir maisto komponentų ląstelių membranas. Be to, biologiniai objektai pakankamai selektyviai absorbuoja fotojautrias medžiagas.

Iš žinomo technikos lygio matyti, kad dar nėra sukurtų nebrangių ir universalių metodų, padedančių apsaugoti maistinius ir pašarinius grūdus nuo užteršimo mikroorganizmais bei jų veiklos produktais, išvengti žalingo poveikio žmogui ir šiltakraujiams gyvūnams.

Dėl egzistuojančių maisto saugos problemų, iškyla būtinybė ieškoti naujų ekologiškų ir žmogui bei aplinkai draugiškų technologijų.

Šio išradimo pagrindinis tikslas yra sukurti tokį maisto produktų nukenksminimo būdą, kuris įgalintų inaktyvuoti patogeninius mikroorganizmus, tačiau nepaveiktų maisto matricos „gyvybingumo“ savybių (pavyzdžiui, 100 % išsaugotų sėklų daigumą) ir nepablogintų produkto maistinių ir juslinių savybių. Todėl vienas išradimo uždavinys buvo surasti sąlygas, užtikrinančias apdorotų maisto produktų kokybės ir maisto vertės išsaugojimą. Kitas svarbus išradimo uždavinys – surasti tokius fotosensibilizatorius, kuriuos mikroorganizmai absorbuotų pakankamai efektyviai, kad būtų galima tikėtis būtent pagrindinių maisto bakterijų inaktyvavimo.

Tikslas pasiekiamas visų išradimo apibrėžties punktuose 1-10 nurodytų požymių visuma. Išradimo pagrindinis objektas yra maisto arba su maistu susietų paviršių nukenksminimo būdas, kuriame nukenksminamą objektą apdoroja fotosensibilizatoriumi ir apšvitina fotosensibilizatoriaus absorbcijai pakankamu šviesos srautu. Šis būdas skiriasi tuo, kad objektą apdoroja, sudrėkinant maisto arba su maistu susietą paviršių fotosensibilizatoriaus tirpalu, palaiko kol apdžiūva ir po to apšvitina šviesa, kurios bangos ilgis atitinka fotosensibilizatoriaus absorbcijos $\lambda_{\max} \pm 40$ nm ir šviesos intensyvumas neviršija 50 mW/cm^2 , optimaliai - neviršija 20 mW/cm^2 ; fotosensibilizatorius yra augalinės kilmės fotojautri medžiaga, o apdorojamas maistas yra daiginti grūdai, nepjaustytos daržovės arba nepjaustyti vaisiai.

Apdorojamą paviršių sudrėkina, pamerkiant ir palaikant augalinės kilmės fotojautrios medžiagos tirpale, kurios koncentracija neviršija $7,5 \times 10^{-3}$ M. Augalinės kilmės fotojautri medžiaga yra pasirinkta iš grupės, apimančios hematoporfirino dimetilo eterį, 5-aminolevulino rūgštį, chlorofilo natrio druską ir hipericiną.

5 Daigintus grūdus iki 4 val. išlaiko hematoporfirino dimetilo eterio vandeniniame tirpale, kurio koncentracija neviršija 5×10^{-6} M, palaiko kol apdžiūva ir po to iki 30 min. apšvitina 405 ± 40 nm šviesa, kurios šviesos intensyvumas neviršija 20 mW/cm^2 .

Alternatyviai daigintus grūdus arba su maistu susietą paviršių 5-30 min išlaiko 5-aminolevulino rūgšties vandeniniame tirpale, kurio koncentracija neviršija $7,5 \times 10^{-3}$ M, 10 palaiko kol apdžiūva ir po to iki 30 min. apšvitina 405 ± 40 nm šviesa, kurios šviesos intensyvumas neviršija 20 mW/cm^2 .

Daigintus grūdus, nepjaustytas daržoves, nepjaustytus vaisius arba su maistu susietą paviršių iki 10-30 min išlaiko chlorofilo natrio druskos vandeniniame tirpale, kurio koncentracija neviršija $1,5 \times 10^{-5}$ M, palaiko kol apdžiūva ir po to iki 30 min apšvitina $405 \pm$ 15 40 nm šviesa, kurios šviesos intensyvumas neviršija 20 mW/cm^2 .

Arba daigintus grūdus iki 2 min. išlaiko hipericino vandeniniame tirpale, kurio koncentracija neviršija 2×10^{-8} M, palaiko kol apdžiūva ir po to 10-80 min apšvitina 589 ± 40 nm šviesa, kurios šviesos intensyvumas neviršija 20 mW/cm^2 .

20 Detaliu išradimo aprašymui svarbios yra sąlygos, kuriomis fotosensibilizacija be žalos žmogui ir aplinkai gali inaktyvuoti kenksmingus ir patogeniškus mikroorganizmus maisto žaliavų (vaisiai, daržovės, daiginti grūdai), maisto pakuočių paviršiuje.

Svarbu, kad augalinės kilmės fotojautrios medžiagos, būtent aminolevulino rūgšties, hematoporfirino dimetilo eterio, hipericino, chlorofilo natrio druskos praskiesti vandeniniai 25 tirpalai, kurių koncentracija neviršija $7,5 \times 10^{-3}$ M, pasirodė ne tik efektyviais fotosensibilizatoriais, naudojant inaktyvuoti maisto iš su maistu susietą paviršių pagal išradimą, bet ir atitiko specifinius reikalavimus medžiagoms, susijusioms su maistu, ypač su paruoštu vartojimui maistu. Pavyzdžiui, ypatingai patrauklus šio išradimo įgyvendinimui 30 fotosensibilizatorius yra chlorofilo natrio druska - natūrali mūsų maisto dalis, kuri leista naudoti daugeliui maisto produktų, tokių kaip salotos ir sumuštinių užtepai; pieno produktai įskaitant sūrius; vaisiai ir daržovės acte, aliejuje, sūrime, marinuotos daržovės (negalima apdoroti tik pjaustytų daržovių); konservuoti raudonieji vaisiai; vaisiniai užtepai; vaisiai ir daržovės cukruje; desertai; grūdinės kultūros, padažai ir kt.. Ši medžiaga gali būti naudojama

neribojant kiekio, tai yra ją galima naudoti, pavyzdžiui, daržovių plovimo mašinoje, todėl labai sumažėtų technologijos diegimo ir naudojimo kaštai gamyboje, nes nereikėtų papildomos įrangos sensibilizacijos procesui. Tyrimai parodė, kad chlorofilo natrio druskos naudojimą koncentraciją galima stipriai sumažinti ir gauti tokį pat gerą antimikrobinį efektą nuo $10^{-3}M$, kaip naudojama ALA ar nuo $10^{-6}M$ kaip naudojamas hematoporfirino dimetilo eteris iki $10^{-7}M$, kas yra labai patrauklu maisto technologijai.

Kitas vertingas augalinės kilmės fotosensibilizatorius galimas naudoti maisto saugai pagal išradimą yra jonažolių pigmentas hipericinas. Ši medžiaga pasirodė ne tik efektyvus fotosensibilizatorius, bet ir yra negenotoksiškas, nemutageniškas, nekancerogeniškas, daugiafunkcinis vaistas. Pašaliniai efektai (fotojautrumas) nėra tikėtini, kadangi fotojautrumas stebimas tik esant 20mg/kg kūno svorio hipericino organizme.

Išradime siūloma maisto paviršių arba su maistą susietą paviršių (pavyzdžiui, naudojamų paruoštam maistui pakuočių) apdoroti, jį sudrėkinant – geriausiai pamerkiant į praskiestą vandeninį fotosensibilizatoriaus tirpalą. Nupylus tirpalą, paviršiui leidžia apdžiūti apie 20 min., kas, kartu su mirkymo laiku sudaro pakankamą inkubacijai su fotosensibilizatoriumi laiką. Po to paviršių apšvitina žmogui ir maistui nekenksmingo šviesos diapazono šviesa, kurios intensyvumas optimaliai yra 20 mW/cm^2 . Apšvitinimo trukmė vidutiniškai buvo apie 30 min. ir priklauso nuo objekto (paviršiaus formos, šiurkštumo ir pan.) bei pasirinkto fotosensibilizatoriaus.

Apšvitinimą vykdė nedidelėje kameroje, kurioje numatyta galimybė įvairiuose aukščiuose talpinti padėklus (pvz., 40x40 cm) su švitinamais maisto produktais. Pasirenkant aukštį, galima keisti lentynos paviršiaus apšviestumą. Kameros viršutinėje plokštėje iš vidaus tvirtinamas didelės galios simetriškai išdėstytų LED-šviestukų blokas, pvz., simetriškai išdėstant Optodevice Co., Ltd. gamybos didelės optinės galios S8D40 šviestukus, kurių emituojamos šviesos bangos ilgis 405 nm. LED šviestukų blokas buvo naudotas kaip kontroliuojamo spinduliuotės srauto šviesos šaltinis, kurio schema apima tris pagrindines dalis: kontroliuojamą aukštos energijos maitinimo bloką, skaitmenę spinduliuotės srauto detekcijos sistemą ir švitinimo trukmės kontrolerį, kuriuo dėka nustatoma norima švitinimo trukmė. Šviestukų blokui aušinti kameroje buvo įtaisyta ventiliacijos sistema.

Siūlomo būdo įgyvendinimo galimybė yra detaliau paaiškinama pavyzdžiais, kurie pateikti iliustravimo tikslu ir neapriboja išradimo apimties.

1 pavyzdys. Maistui skirtų grūdų nukenksminimas su hematoporfirino dimetilo eteriu.

Nedidelė kviečių grūdų porcija (apie 100 grūdelių) užpilama 50ml $5 \cdot 10^{-6}$ M hematoporfirino dimetilo eterio vandeniniu tirpalu (fosfatinis buferis, pH 7,2) ir 4 val. palaikoma 18°C temperatūroje. Po to vandeninis tirpalas nupilamas, grūdai džiovinami atviroje lėkštelėje apie 20 min ir apšviečiami kameroje LED-šviestukų emituojama ultravioletine 405 nm, 20mW/cm² intensyvumo tolydine šviesa. Poveikio trukmė 20 min. Po poveikio pelėsinių grybų (mikromicetų) ant grūdų paviršiaus sumažėjo nuo 3000 iki 100 kolonijas formuojančių vienetų. Čia ir toliau inaktyvacijos rezultatai buvo nustatomi, įprastu būdu skaičiuojant kolonijas formuojančius vienetus (CFU/ml).

2-4 pavyzdžiai. Hematoporfirino dimetilo eterio panaudojimas kaip fotosensibilizatoriaus, inaktyvuojant maisto paviršiaus mikrobinį užterštumą.

Palyginamieji pavyzdžiai atlikti su daigintais kviečių grūdais pagal 1 pavyzdžio metodiką.

Lentelė 1

Hematoporfirino dimetilo eterio (40 mM) ir/arba šviesos (405 nm; 20 mW/cm²) poveikis bendram užkrėtimo pelėsiais mikromicetais sumažėjimui

Pavyzdžio Nr.	Apdorojimas	Bendro užkrėtimo pelėsiais sumažėjimas, %
2	vien mirkymas (4 val.)	neaptikta
3	vien apšvitinimas (30 min)	neaptikta
4	mirkymas (4 val.) ir apšvitinimas (30 min)	88

Iš 1 lentelės duomenų matyti, kad jei grūdus tik mirkome hematoporfirino dimetilo eterio tirpale arba vien tik apšviečiame UV šviesa, antimikrobinis efektas per tą laiką nepasiekiamas. Tik naudojant mirkymą fotosensibilizatoriaus tirpale kartu su apšvietimo UV šviesa procedūrą galima nuvalyti grūdus nuo mikroorganizmų ir nepakenkti jų daigumui bei fiziologijai. Po poveikio grūdus galima daiginti.

5 pavyzdys. Maistui skirtų grūdų nukenksminimas su 5-aminolevulino rūgštimi.

Pagal metodiką, analogišką aprašytai 1 pavyzdyje, buvo atliktas daigintų grūdų nukenksminimas, naudojant ALA kaip fotosensibilizatorių.

100 grūdų užpilama 50ml, $1 \cdot 10^{-3}$ M 5-aminolevulino rūgšties tirpalu (PBS buferis) ir palaikoma kambario temperatūroje 4 val. Po to vandeninis tirpalas nupilamas, grūdai džiovinami atviroje lėkštelėje apie 20 min. ir veikiami 20mW/cm² 405 nm tolydine šviesa.

Poveikio trukmė 20 min. Po poveikio mikromicetų ant grūdų paviršiaus sumažėjo nuo 2500 iki 300 kolonijas formuojančių vienetų.

Buvo pastebėta, kad ši procedūra 100% išsaugo grūdo daigumą ir pagerina šaknelės (nuo 5 cm kontroliniuose nepaveiktuose grūduose iki 6 cm - paveiktuose) bei stiebelio (nuo 3 cm kontroliniuose nepaveiktuose grūduose iki 4 cm - paveiktuose) vystymąsi. Daigelių spalva tampa labiau žalia dėl pagerėjusios chlorofilo sintezės: nuo 0,8 µg chlorofilo/g grūdo nepaveiktuose grūduose išauga iki 1,88 µg chlorofilo/g grūdo paveiktuose grūduose.

Po poveikio maistui (pvz. paruoštoms salotoms) naudotinus grūdus papildomai plauti nebūtina.

10

6-11 pavyzdžiai. 5-aminolevulino rūgšties panaudojimas kaip fotosensibilizatoriaus, inaktyvuojant maisto paviršiaus mikrobinių užterštumą.

2 lentelėje pateikti rezultatai rodo, kad svarbų maisto patogeną *Bacillus cereus*, taip pat kaip bendrą mikrobiologinį užterštumą ant grūdų paviršiaus galima sumažinti, naudojant mirkymą 7,5 mM ALA tirpale ir 30 min apšvitinimą kameroje.

15

Lentelė 2

ALA ir/arba šviesos (405 nm; 20 mW/cm²) poveikis mikrobu inaktyvacijai

Pavyzdžio Nr.	Apdorojimas	ALA konc., mM	<i>B.cereus</i> sumažėjimas, %	Bendro mikrobiologinio užterštumo sumažėjimas, %
6	Vien mirkymas, 30 min	3,0	neaptikta	neaptikta
7		7,5	neaptikta	neaptikta
8	Vien apšvitinimas, 30 min	3,0	neaptikta	neaptikta
9		7,5	neaptikta	neaptikta
10	Mirkyamas (30 min) ir apšvitinimas (30 min)	3,0	neaptikta	neaptikta
11		7,5	59	40

12-17 pavyzdžiai. Grūdų nukenksminimas, apipurškiant 5-aminolevulino rūgštimi. Pagal analogišką metodiką grūdai buvo apdorojami, išpurškiant ALA 3,0 mM arba 7,5 mM tirpalu ir leidžiant apdžiūti, o po to apšvitinant, kaip ankstesniuose pavyzdžiuose. Vienam užpurškimui naudota apie 0,150 ml tirpalo; ALA tirpalu apipurkšti grūdai prieš apšvitinant 15 min buvo laikomi tamsoje.

20

Lentelė 3

Pavyzdžio Nr.	Apdorojimas	ALA konc., mM	<i>B.cereus</i> sumažėjimas, %
12	Vien purškimas, po 10 kartų iš kiekvienos pusės	3,0	neaptikta
13		7,5	neaptikta
14	Vien apšvitinimas, 30 min.	3,0	neaptikta
15		7,5	neaptikta

16	Purškimas (po 10 kartų)	3,0	neaptikta
17	ir apšvitinimas (30 min)	7,5	6

Kaip matyti iš pateiktų rezultatų, analogiškas apdorojimas, kai maisto paviršius yra sudrėkinamas, jį apipurškiant fotosensibilizatoriaus tirpalu, pasirodė mažiau efektyvus, nei mirkymas.

5

18-25 pavyzdžiai. Kenksmingų mikroorganizmų pašalinimas nuo maistui naudojamų pakavimo indelių paviršiaus

Išlaikymas 3,0 mM ir 7,5 mM ALA tirpaluose ir atitinkamas apšvitinimas buvo naudojami, nukenksminant pakavimo indelių paviršių. Tam tikslui pakuotės pavyzdžiai (10 cmx10 cm) 20 min. buvo mirkomi tamsoje 160 ml atitinkamos koncentracijos (3,0 ir 7,5 mM) ALA tirpale. Kontrolinis pavyzdys buvo 20 min. mirkomas vien fosfatiniame buferyje (pH 7,2). Po mirkymo ir džiovinimo 40-120 min. kambario temperatūroje pakuotė buvo apšvitinama 5 min., 10 min., 15 min. ir 20 min. Rezultatai pateikti 4 lentelėje.

10

Lentelė 4

15 Fotosensibilizatoriaus ALA koncentracijos ir apšvitinimo (405 nm; 20 mW/cm²) laiko įtaka kenksmingų mikroorganizmų pašalinimui nuo maistui naudojamų pakavimo indelių paviršiaus. Išlaikymo su ALA laikas 20 min.

	Pvz. Nr. 18		Pvz. Nr. 19		Pvz. Nr. 20		Pvz. Nr. 21	
ALA konc., mM	Apšvitinimo laikas 5 min		Apšvitinimo laikas 10 min		Apšvitinimo laikas 15 min		Apšvitinimo laikas 20 min	
	Sumažėjimas, %		Sumažėjimas, %		Sumažėjimas, %		Sumažėjimas, %	
	<i>B.cereus</i>	<i>S.enterica</i>	<i>B.cereus</i>	<i>S.enterica</i>	<i>B.cereus</i>	<i>S.enterica</i>	<i>B.cereus</i>	<i>S.enterica</i>
3,0	95	27	99	32	100	38	100	39
	Pvz. Nr. 22		Pvz. Nr. 23		Pvz. Nr. 24		Pvz. Nr. 25	
7,5	100	65	100	87	100	95	100	97

Tyrimai parodė, kad maistui naudojamų pakuočių paviršiui nukenksminti pakanka mažesnių ALA koncentracijų ir trumpesnių mirkymo ir apšvitinimo laikų.

20

26-31 pavyzdžiai: Daigintų grūdų nukenksminimas su chlorofilo natrio druska.

Pagal metodiką, analogišką aprašytai 1 pavyzdyje, buvo atliktas daigintų grūdų nukenksminimas, naudojant chlorofilo natrio druską kaip fotosensibilizatorių.

25

Tirpalui paruošti buvo naudota chlorofilo natrio druska (būtent, E140, FLUKA), kambario temperatūroje paruošiant koncentruotą (1,5x10⁻³M) vandeninį tirpalą. Šis koncentruotas chlorofilo natrio druskos tirpalas buvo naudojamas skiedimo būdu gauti visoms

reikalingoms chlorofilo natrio druskos koncentracijoms gauti, 20°C vandenyje. 100 grūdų buvo mirkyta 50ml $1,5 \times 10^{-5}$ M chlorofilo natrio druskos tirpale 10 min. kambario temperatūroje, po to, nupylus tirpalą ir padžiovinus lėkštelėje 60-90 min. 37°C temperatūroje, grūdai buvo apšviečiami 405 nm, 20mW/cm² šviesa 30 min. Po poveikio mikroorganizmų ant grūdų paviršiaus sumažėjo 74%.

Kitos chlorofilo natrio druskos koncentracijos (pvz. 10^{-4} M) irgi gali būti veiksmingos (mikrobiologinis užterštumas sumažėja 99%), tačiau 10^{-5} M laikytina pradine optimalia koncentracija, nes mažesnė koncentracija (10^{-6} M) labai silpnai inaktyvuoja mikroorganizmus. Maisto technologijoje svarbiausios yra mažiausios veikiančios koncentracijos, todėl pasirinkta 10^{-5} M koncentracija.

Mikrobų inaktyvacijos efektas nepasireiškia, kai taikomas vien mirkymas chlorofilo Na druskos tirpale ar vien apšviečiant 30 min. pasirinktos UV šviesos srautu (5 lentelė).

Lentelė 5

Chlorofilo natrio druskos (ChlNa) ir šviesos (405 nm; 20 mW/cm²) poveikis mikrobų inaktyvacijai (grūdai)

Pavyzdžio Nr.	Apdorojimas	ChlNa konc., mM	<i>B.cereus</i> sumažėjimas, %	Bendro mikrobiologinio užterštumo sumažėjimas, %
26	Vien mirkymas,	$7,5 \times 10^{-7}$	neaptikta	neaptikta
27	10 min.	$1,5 \times 10^{-5}$	neaptikta	neaptikta
28	Vien apšvitinimas,	$7,5 \times 10^{-7}$	neaptikta	neaptikta
29	30 min.	$1,5 \times 10^{-5}$	neaptikta	neaptikta
30	Mirkymas 10 min. ir	$7,5 \times 10^{-7}$	neaptikta	neaptikta
31	apšvitinimas 30 min.	$1,5 \times 10^{-5}$	87	74

32-40 pavyzdžiai: Daržovių ir vaisių paviršiaus nukenksminimas su chlorofilo natrio druska.

Pagal metodiką, analogišką 26 pavyzdžiui, buvo apdorotos daržovės (šparaginės pupelės, žalieji žirneliai) arba vaisiai (nektarinai), pamerkiant 10 min. į $1,5 \times 10^{-5}$ M chlorofilo natrio druskos tirpalą, leidžiant apdžiūti ir po to 30 min. apšvitinant, kaip ankstesniuose pavyzdžiuose. Rezultatai pateikti 6 lentelėje.

Lentelė 6

Chlorofilo natrio druskos (ChlNa) ir/arba šviesos (405 nm; 20 mW/cm²) poveikis mikrobu inaktyvacijai (vaisiai, daržovės)

Pavyzdžio Nr.	Apdorojimas	Maisto matrica	<i>B. cereus</i> sumažėjimas, %	Bendro mikrobiologinio užterštumo sumažėjimas, %
32	Vien mirkymas, 10 min.	Nektarinai	20	0
33		Šparaginės pupelės	30	8
34		Žalieji žirnėliai	10	25
35	Vien apšvitinimas, 30 min.	Nektarinai	0	0
36		Šparaginės pupelės	0	0
37		Žalieji žirnėliai	0	0
38	Mirkyamas 10 min. ir apšvitinimas 30 min.	Nektarinai	97	22
39		Šparaginės pupelės	85	28
40		Žalieji žirnėliai	94	95

5 Buvo nustatyta, kad analogiškai 32 pavyzdžiui apdorojus kitus nepjaustytus vaisius (braškes, persikus, mandarinus) ar nepjaustytas daržoves (morkas, pomidorus, agurkus), būtent, pamerkiant į 1,5 x 10⁻⁵ M chlorofilo natrio druskos tirpalą 30 min ir, po apdžiovinimo, 30 min apšviečiant 405 nm ± 40 nm UV šviesa, kurios intensyvumas 10 20mW/cm², produktų mikrobiologinis užterštumas sumažėdavo bent 2-3 kartus. Švitinant 10 kartų mažesnės galios šviesa (2mW/cm²) poveikio laikas prailgėjo 10 kartų, norint gauti 2-3 kartus sumažėjusi užterštumą ant vaisių paviršiaus.

15 41-42 pavyzdžiai: Kenksmingų mikroorganizmų pašalinimas nuo maistui naudojamų pakavimo indelių paviršiaus su chlorofilo natrio druskos tirpalu.

Pagal metodiką, analogišką pateiktai 18-25 pavyzdžiuose, pakavimo indelių paviršius buvo apdorotas chlorofilo natrio druskos 7,5x10⁻⁶ M ir 7,5x10⁻⁷ M tirpalais, išlaikant indelius tirpaluose 2 min. Po apdžiovinimo (20-40 min) indeliai buvo apšvitinami kameroje 5 min. 405 nm, 20 mW/cm² šviesa. Rezultatai pateikti 7 lentelėje.

20

Lentelė 7

Kenksmingų mikroorganizmų pašalinimas nuo pakavimo indelių paviršiaus fotosensibilizacijos pagalba naudojant chlorofilo natrio druską kaip fotosensibilizatorių

Pavyzdžio Nr.	Mikroorganizmų sumažėjimas, %			
	7.5x10 ⁻⁶ mM koncentracija		7.5x10 ⁻⁷ mM koncentracija	
	<i>B. cereus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>B. cereus</i>	<i>L. monocytogenes</i>
41-42	100	100	100	100

25

Pavyzdžiuose optimalus šviesos bangos ilgis yra 405nm; pašvietus 350nm tos pačios galios (?) šviesa ar 450nm tos pačios galios (?) šviesa antibakterinis efektas praktiškai išnyksta. Mažinant šviesos galią žemiau 10 mW/cm², antimikrobinis fotosensibilizacijos efektas išnyksta ir mikroorganizmai lieka ant apdorojamo produkto paviršiaus. Naudojant 50 mW/cm² šviesos galią pradeda pasireikšti papildomas terminis efektas (vaisius įšyla).

43-49 pavyzdžiai: Daigintų grūdų nukenksminimas su jonažolių pigmentu hipericinu. Pagal metodiką, analogišką 1 pavyzdžiui buvo atliktas grūdų nukenksminimas jonažolių pigmentu hipericinu. Šiuo atveju buvo naudota mažesnė fotosensibilizatoriaus koncentracija (2x10⁻⁸ M), grūdus laikė hipericino tirpale 2 min ir apšvitinimui naudojo šviesą, kurios bangos ilgis 589 nm. 7 lentelėje parodytas apšvitinimo laiko poveikis maisto patogeno *Listeria monocytogenes* inaktyvacijai.

Lentelė 7

Pavyzdžio Nr.	Apšvitinimo 589 nm šviesa trukmė, min	<i>Listeria monocytogenes</i> sumažėjimas, %
43	1	9
44	5	14
45	10	75
46	20	99
47	40	99
48	60	100
49	80	100

Naudojant siūlomą maisto ir su maistu susietų paviršių nukenksminimo būdą pagal išradimą galima pasiekti, kad patogeninių mikroorganizmų (*Bacillus cereus*, *Salmonella enterica*, *Listeria monocytogenes*, kt.) ant vaisių ir daržovių paviršiaus sumažėtų iki 94 procentų, ant pakuočių paviršiaus iki 100 procentų. Taip pat galima pasiekti, kad bendras mikrobiologinis užterštumas ant vaisių ir daržovių paviršiaus sumažėtų iki 74 procentų. Antimikrobinis technologijos poveikis priklauso nuo šviesos šaltinio parametrų (šviesos bangos ilgis, šviesos galia, ekspozicijos trukmė), pasirinkto fotosensibilizatoriaus cheminės formulės, koncentracijos, mirkymo jame laiko, vaisiaus paviršiaus ir formos.

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. Maisto arba su maistu susietų paviršių nukenksminimo būdas, kuriame nukenksminamą objektą apdoroja fotosensibilizatoriumi ir apšvitina fotosensibilizatoriaus absorbcijai pakankamu šviesos srautu, besiskiriantis tuo, kad objektą apdoroja, sudrėkinant maisto arba su maistu susietą paviršių fotosensibilizatoriaus tirpalu, palaiko kol apdžiūva ir po to apšvitina šviesa, kurios bangos ilgis atitinka fotosensibilizatoriaus absorbcijos $\lambda_{\max} \pm 40$ nm ir šviesos intensyvumas neviršija 50 mW/cm^2 , optimaliai - neviršija 20 mW/cm^2 ; fotosensibilizatorius yra augalinės kilmės fotojautri medžiaga, o apdorojamas maistas yra daiginti grūdai, nepjaustytos daržovės arba nepjaustyti vaisiai.
2. Būdas pagal 1 punktą, besiskiriantis tuo, kad apdorojamą paviršių sudrėkina, pamerkiant ir palaikant augalinės kilmės fotojautrios medžiagos tirpale, kurios koncentracija neviršija $7,5 \times 10^{-3} \text{ M}$, kur augalinės kilmės fotojautri medžiaga yra pasirinkta iš grupės, apimančios hematoporfirino dimetilo eterį, 5-aminolevulino rūgštį, chlorofilo natrio druską ir hipericiną.
3. Būdas pagal 1 arba 2 punktą, besiskiriantis tuo, kad daigintus grūdus iki 4 val. išlaiko hematoporfirino dimetilo eterio vandeniniame tirpale, kurio koncentracija neviršija $5 \times 10^{-6} \text{ M}$, palaiko kol apdžiūva ir po to iki 30 min. apšvitina 405 ± 40 nm šviesa, kurios šviesos intensyvumas neviršija 20 mW/cm^2 .
4. Būdas pagal 1 arba 2 punktą, besiskiriantis tuo, kad daigintus grūdus arba su maistu susietą paviršių 5-30 min išlaiko 5-aminolevulino rūgšties vandeniniame tirpale, kurio koncentracija neviršija $7,5 \times 10^{-3} \text{ M}$, palaiko kol apdžiūva ir po to iki 30 min. apšvitina 405 ± 40 nm šviesa, kurios šviesos intensyvumas neviršija 20 mW/cm^2 .
5. Būdas pagal 1 arba 2 punktą, besiskiriantis tuo, kad daigintus grūdus, nepjaustytas daržoves, nepjaustytus vaisius arba su maistu susietą paviršių iki 10-30 min išlaiko chlorofilo natrio druskos vandeniniame tirpale, kurio koncentracija neviršija $1,5 \times 10^{-5} \text{ M}$, palaiko kol apdžiūva ir po to iki 30 min apšvitina 405 ± 40 nm šviesa, kurios šviesos intensyvumas neviršija 20 mW/cm^2 .

6. Būdas pagal 1 arba 2 punktą, besiskiriantis tuo, kad daigintus grūdus iki 2 min. išlaiko hipericino vandeniniame tirpale, kurio koncentracija neviršija $2 \times 10^{-8} \text{M}$, palaiko kol apdžiūva ir po to 10-80 min apšvitina $589 \pm 40 \text{ nm}$ šviesa, kurios šviesos intensyvumas neviršija 20 mW/cm^2 .
7. Hematoporfirino dimetilo eterio panaudojimas kaip fotosensibilizatoriaus, mažinant maisto paviršiaus mikrobinių užterštumą.
8. 5-aminolevulino rūgšties panaudojimas kaip fotosensibilizatoriaus, mažinant maisto paviršiaus mikrobinių užterštumą.
9. Chlorofilo natrio druskos panaudojimas kaip fotosensibilizatoriaus, mažinant maisto ir su maistu susietų paviršių mikrobinių užterštumą.
10. Hipericino panaudojimas kaip fotosensibilizatoriaus, mažinant maisto paviršiaus mikrobinių užterštumą.