

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2013年9月6日(06.09.2013)



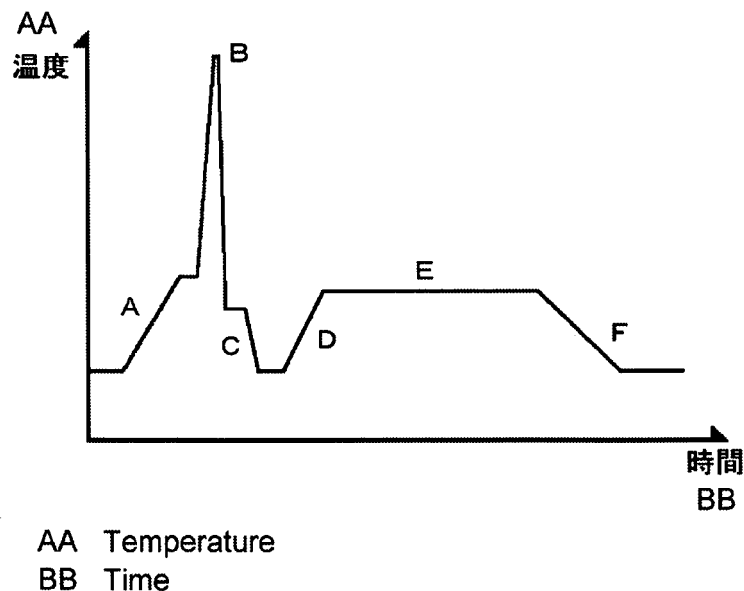
(10) 国際公開番号
WO 2013/129654 A1

- (51) 国際特許分類:
A23L 3/16 (2006.01) A23L 3/24 (2006.01)
A23C 3/037 (2006.01)
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2013/055699
- (22) 国際出願日: 2013年3月1日(01.03.2013)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願 2012-046496 2012年3月2日(02.03.2012) JP
- (71) 出願人: 株式会社明治(MEIJI CO., LTD.) [JP/JP]; 〒1368908 東京都江東区新砂1丁目2番10号 Tokyo (JP).
- (72) 発明者: 長田 堯(OSADA Takashi); 〒2500862 神奈川県小田原市成田540 株式会社明治 研究本部内 Kanagawa (JP). 松原 裕樹(MATSUBARA Hiroki); 〒2500862 神奈川県小田原市成田540 株式会社明治 研究本部内 Kanagawa (JP).
- (74) 代理人: 志村 尚司(SHIMURA Hisashi); 〒5420081 大阪府大阪市中央区南船場2-3-4 日宝長堀ビル Osaka (JP).
- (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI

[続葉有]

(54) Title: STERILIZATION METHOD

(54) 発明の名称: 殺菌方法



(57) Abstract: [Problem] To provide a sterilization method for heat-resistant bacterial spores, with which an effective sterilization effect can be obtained under heating conditions milder than conventional conditions, and which hardly affects the quality of an object to be sterilized. [Solution] A sterilization method comprising: a first heat treatment step, the main purpose of which is damaging spores; and a second heat treatment step, the main purpose of which is subsequently inactivating the damaged spores, and in which the heat treatment is performed at a temperature lower than that in the first heat treatment step.

(57) 要約: 【課題】 耐熱性の細菌孢子に対して、従来と比べて温和な加熱条件で、効果的な殺菌効果が得られ、かつ、被殺菌物の品質への影響が小さい殺菌方法を提供することを課題とする。【解決手段】 孢子に対して損傷を付与することを主目的とする第1の加熱処理工程と、その後に、損傷を受けた孢子を不活性化することを主目的とする、第1の加熱処理工程より低い温度で処理する第2の加熱処理工程、を備える。

WO 2013/129654 A1



(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, —
NE, SN, TD, TG).

請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補
正を受理した際には再公開される。(規則
48.2(h))

添付公開書類:

— 国際調査報告 (条約第 21 条(3))

明 細 書

発明の名称：殺菌方法

技術分野

[0001] 本発明は、殺菌方法に関する。より具体的には、耐熱性の高い細菌の孢子等を含む被殺菌物の殺菌方法に関する。

背景技術

[0002] 食品産業の殺菌方法として、ほとんどの場合に、加熱に伴う微生物の死滅効果（熱的な作用）を利用している。このとき、孢子を形成する細菌では、一般的な微生物に比べて、死滅しにくいいため、UHT処理（120～150℃、1～3秒の加熱処理）やHTST処理（72～75℃、15秒以上）のように殺菌温度を高めたり、LTLT処理（63～65℃、30分の加熱処理）のように加温保持時間を延ばしたりして、加熱（殺菌）条件を厳しくする必要がある。

[0003] しかし、このように加熱条件を厳しくすると、有用な栄養成分（タンパク質、ビタミンなど）の変性や、風味・品質劣化の要因成分（フロシンなど、加熱臭）の生成を促進するなどの問題がある。この状況において、加熱条件（殺菌温度、加温保持時間）を穏やかにし、細菌類のうち特に孢子を形成する細菌や細菌孢子を効果的に殺菌する方法の開発が望まれており、様々な検討が実施されている。

[0004] 例えば、特開平06-303899号公報（特許文献1）には、ミルク等を原料とする液状製品を間接加熱により90～125℃の温度に予備加熱した後、製品中に直接蒸気を噴射して140～150℃に加熱し、その後に間接冷却工程によって製品温度を90～120℃に冷却し、その後にフラッシュ冷却によって70～85℃に冷却することを特徴とする液状製品の滅菌法が開示されている。この方法は、直接蒸気によりUHT処理を行った後、急速に間接冷却を行った後にフレッシュ冷却を行っているので、140～150℃の高い温度からフラッシュ冷却を行う従来法に比べて品質の劣化が抑え

られる。

[0005] 特開2003-125701号公報(特許文献2)には、90℃以上100℃以下の所定温度まで昇温して5分以上保持する第1の加熱処理を行い、次いで110℃以上115℃以下の所定温度まで昇温して2秒以上15秒以下保持する第2の加熱処理を行い、冷却することを特徴とする発酵乳原料の殺菌方法が開示されている。本方法では、90℃以上100℃以下で第1の加熱処理を行っているので、UHT処理における加熱温度よりも低い温度で芽胞形成菌の殺菌を行うことができる。このために、長時間発酵による風味の良い発酵乳を実用化させ得ると共に、短時間発酵や液状発酵乳等の製造においては、発酵乳原料の工程管理の作業負担を軽減でき、風味不良を防止できる。

[0006] 特開平05-227925号公報(特許文献3)には、被殺菌物の細菌芽胞を60～100℃の加熱により発芽活性化処理し、続いて、100～1000MPa、室温～100℃、数時間以内の高圧処理を行う細菌芽胞の殺菌方法が開示されている。この方法では、高圧処理のみで殺菌を行うことに比べ、短い処理時間や低い圧力など緩和な条件で殺菌できる。また、100℃以下の加熱を行うことで、食品・医薬品等で衛生上又は品質保持上問題となり得る細菌芽胞を殺菌できることが示されている。

[0007] 特開2003-235528号公報(特許文献4)には、食品を高圧の二酸化炭素で処理し、細菌の胞子の耐性を低下させた後、殺菌処理を行うことを特徴とする食品の殺菌方法が開示されている。本方法では100℃以下の温度で殺菌できるので、加熱による食品の品質劣化を最小限に抑えて、食品中の細菌胞子を死滅させることができる。

先行技術文献

特許文献

[0008] 特許文献1：特開平06-303899号公報

特許文献2：特開2003-125701号公報

特許文献3：特開平05-227925号公報

特許文献4：特開2003-235528号公報

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0009] しかしながら、特許文献1に開示された方法は、直接加熱によるUHT処理により芽胞形成菌を殺菌している点で殺菌時の加熱条件が十分に緩和されているとは言えない。また、フロシンのような風味・品質劣化成分の生成・増加は加熱温度に比例してその生成速度が高くなる。従って、第2の加熱処理工程における温度が比較的高温である特許文献2に開示された方法では、風味・品質劣化成分が増加しやすい。

[0010] 特許文献3や特許文献4に開示された方法は、100℃以下の温度で加熱しているので風味・品質劣化成分の生成量は抑制されると推測されるが、それぞれ被殺菌物を高圧下に保持するための加圧装置が必要となる。従って、このための設備投資が必要となるだけでなく、温度と時間という2つの因子以外の圧力制御といった第3の因子を必要とする面倒な制御が必要となる。また、高圧下で処理するには連続工程を採用できず、作業効率が悪くなる。

[0011] 本発明は、耐熱性の高い胞子を形成する細菌に対して、標準的な殺菌方法であるUHT処理やLTLT処理と比べて温和な加熱条件で、効果的な殺菌効果が得られ、過剰な加熱（過熱）などに伴う各種の有用な栄養成分（タンパク質、ビタミンなど）の変性や、風味・品質劣化の要因成分（フロシンなど、加熱臭）の生成・増加を抑制した、細菌胞子の効果的な殺菌方法を提供することを課題とする。特に、標準的な殺菌方法であるUHT処理やLTLT処理のように温度と時間の2つの因子で制御可能な殺菌方法を提供することを課題とする。

課題を解決するための手段

[0012] 上記課題を解決するために、本発明者らは、胞子を形成する細菌に対して、温和な加熱条件で、良好な効果を得られる殺菌方法について検討したところ、加熱条件を変化させて多段階で加熱（殺菌）処理することとし、細菌胞子の耐熱性（熱安定性）を低下させた後に、それよりも低い温度で加熱処理

を加えることで、標準的な殺菌方法に比べて穏やかな加熱条件（殺菌温度、加温保持時間）、つまり、標準的な殺菌方法に比べて緩やかな熱履歴で細菌胞子を効果的に殺菌できることを見出した。

[0013] すなわち、本発明の請求項 1 に記載の発明は、被殺菌物に対して第 1 の加熱処理工程と、その後に、第 1 の加熱処理工程より低い温度で処理する第 2 の加熱処理工程、を備えることを特徴とする殺菌方法、である。

[0014] 請求項 2 に記載の発明は、第 1 の加熱処理工程の前に、予熱工程を備えることを特徴とする、請求項 1 に記載の殺菌方法、である。

[0015] 請求項 3 に記載の発明は、第 1 の加熱処理工程の後に、冷却工程を備えることを特徴とする、請求項 1 又は 2 に記載の殺菌方法、である。

[0016] 請求項 4 に記載の発明は、第 1 の加熱処理工程後の冷却工程は、第 2 の加熱処理工程における加熱処理温度よりも低いことを特徴とする、請求項 1 から 3 のいずれか一項に記載の殺菌方法、である。

[0017] 請求項 5 に記載の発明は、第 1 の加熱処理工程が、第 1 の加熱処理工程のみで被殺菌物中の孢子形成菌及び細菌胞子を十分には不活性化できない加熱条件で行うことを特徴とする、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の殺菌方法、である。

[0018] 請求項 6 に記載の発明は、第 1 の加熱処理工程が、第 1 の加熱処理工程のみで被殺菌物中の孢子形成菌及び細菌胞子を十分に不活性化できる加熱条件で行うことを特徴とする、請求項 1 から 4 のいずれか一項に記載の殺菌方法、である。

[0019] 請求項 7 に記載の発明は、第 1 の加熱処理工程が、被殺菌物の温度を 10℃～180℃とし、その温度での保持時間を 1 秒以上 60 秒以下とする工程である、請求項 1 から 6 のいずれか一項に記載の殺菌方法、である。

[0020] 請求項 8 に記載の発明は、第 1 の加熱処理工程が、被殺菌物の温度を 10℃～180℃とし、その温度での保持時間を 1 秒以上 60 秒以下とする工程であり、第 2 の加熱処理工程が、被殺菌物の温度を 40℃～100℃とし、その温度での保持時間を 5 秒以上 60 分以下とする工程である、請求項 1

から7のいずれか一項に記載の殺菌方法、である。

発明の効果

[0021] 本発明では、第1の加熱処理工程と、それよりも低い温度で加熱処理する第2の加熱処理工程を組合せているので、同等の殺菌効果を得るとすれば、加熱処理に伴う熱履歴を低減できる。このため、各種の有用な栄養成分（タンパク質、ビタミンなど）の変性や、風味・品質劣化の要因成分（フロシンなど、加熱臭）の生成・増加を抑制しながら、細菌胞子を不活性化できる。より具体的には、第1の加熱処理工程において、孢子形成菌や細菌胞子を十分に不活性化できない加熱条件、例えば、孢子に対して損傷を付与できる程度の加熱条件で処理し、次いで、第2の加熱処理工程において、第1の加熱処理工程より低い温度での加熱条件で処理して損傷を受けた胞子を不活性化することができる。つまり、第1の加熱処理工程と第2の加熱処理工程を終えた際に、微生物の死滅効果を標準的な方法と同等（同程度）に設定すれば、より緩和な熱履歴で、従来よりも鮮度が高くて、風味が豊かな飲食品（果汁、牛乳、乳製品、豆乳、豆製品（豆腐）など）を製造できる。

[0022] また、第1の加熱処理工程において、孢子形成菌や細菌胞子を十分に不活性化できる加熱条件で、例えば、標準的なUHT処理における加熱条件で処理し、次いで、第2の加熱処理工程において、第1の加熱処理工程より低い温度での加熱条件で処理することもできる。つまり、熱履歴を標準的な方法と同等（同程度）若しくはそれ以上に設定すれば、従来よりも微生物の死滅効果が高くて、細菌汚染による危険性（リスク）を低減した殺菌方法として、賞味期限を延長できる。

[0023] また、本発明では高圧を加えることなく加熱処理できるので、既存の処理装置にわずかな変更を加えることで実施できる。

図面の簡単な説明

[0024] [図1]図1は、本発明の殺菌方法における、時間と温度の関係の例を示した図である。

[図2]図2は、本発明の実施例のブロックフロー図である。

[図3]図3は、本発明の実施例の温度プロファイル図である。

[図4]図4は、本発明の実施例における *Bacillus cereus* B-164 孢子の菌数測定結果である。

発明を実施するための形態

[0025] 本発明の殺菌方法は、被殺菌物に対して第1の加熱処理工程と、その後に、第1の加熱処理工程より低い温度で処理する第2の加熱処理工程、を備える。必要に応じ、第1の加熱処理工程の前に、予熱工程を備える。また、必要に応じ、第1の加熱処理工程の後に、冷却工程を備える。

[0026] 予熱工程は、冷蔵もしくは室温で保管されている被殺菌物を加熱し、被殺菌物の温度が40℃～100℃までの所定の温度になるまで加温する工程である。当該予熱工程は、UHT処理やHTST処理のような公知の滅菌方法において行われる予熱工程と同じ目的で行われる工程である。

[0027] 予熱工程に用いられる加熱装置は、1～30℃から、40～100℃程度にまで加温可能な装置であれば良い。加熱方式は特に限定されないが、例えば間接加熱方式、直接加熱方式、電気加熱方式、マイクロ波加熱方式等が挙げられる。

[0028] この予熱工程は必須ではなく、必要に応じて省略できる。すなわち、第1の加熱処理工程から、本発明の方法を開始しても良い。

[0029] 予熱工程の温度条件は第1の加熱処理工程における温度によっても異なるが、50～95℃が好ましく、60～90℃がより好ましく、70～85℃がさらに好ましく、75～85℃が特に好ましい。

[0030] 本発明の殺菌方法では、次に第1の加熱処理工程を備える。第1の加熱処理工程は、被殺菌物を加熱して高温にし、その温度で短時間保持する工程である。この工程は、被殺菌物中の細菌や孢子（芽胞とも言われる。）を不活性化するための第1の段階である。この工程では、当該工程のみで孢子形成菌や孢子を十分に不活性化できない加熱条件若しくは孢子形成菌や孢子を十分に不活性化できる加熱条件、何れの加熱条件も選択しえる。

[0031] すなわち、緩和な熱履歴で標準的な方法と同等の微生物の殺菌効果を得よ

うとすれば、当該工程のみで孢子形成菌や孢子を十分に不活性化できない加熱条件を選択すればよい。また、標準的な方法と同等又はそれ以上の微生物の殺菌効果を得ようとするれば、当該工程のみで孢子形成菌や孢子を十分に不活性化できる加熱条件を選択すればよい。言い換えると、第1の加熱処理工程は少なくとも細菌孢子への損傷付与を目的とする。そして、緩和な熱履歴にするためには、好ましくは一般細菌の殺菌と細菌孢子への損傷付与を目的として加熱条件を設定すれば良いし、細菌汚染によるリスクをより軽減するには、孢子形成菌や孢子の十分な不活性化を目的として、加熱条件を設定すればよい。なお、熱履歴は殺菌工程において加熱温度とその保持時間の積と比例して把握される指標であって、高い加熱温度で保持時間が長くなると熱履歴が大きくなると考えられている。また、本明細書において、孢子形成菌や孢子を十分に不活性化できない加熱条件とは、例えば、標準的な殺菌方法であるUHT処理やHTST処理よりも緩和な条件であって、当該工程のみでは細菌孢子の不活性化を達成できない条件を意味し、一般細菌が死滅する条件かどうかは問われない。

[0032] 具体的には、この工程では、被殺菌物は100℃～180℃までの所定の温度になるように加温され、その温度で1秒以上60秒以下の時間で保持される。第1の加熱処理工程に用いられる加熱装置は、40℃～100℃程度から、100℃～180℃程度にまで加温可能な装置であれば良い。加熱方式は特に限定されないが、例えば間接加熱方式、直接加熱方式、電気加熱方式、マイクロ波加熱方式等が挙げられる。このとき、プレート式熱交換機、チューブ式熱交換機、スチームインジェクション式加熱機、スチームインフュージョン式加熱機、ジュール式加熱機などの連続式の装置や設備を適用できる。また、タンク、バットなどの回分式の装置や設備も適用できる。

[0033] 加熱条件は、例えば、110～160℃で1～30秒間の保持時間であり、110～150℃で1～20秒間の保持時間であり、115～145℃で1～15秒間の保持時間であり、120～145℃で1～10秒間の保持時間であり、100～120℃で1～10秒間の保持時間であり、100～1

15℃で1～10秒間の保持時間であり、110～115℃で1～5秒間の保持時間であり得る。これらの条件の中で、緩和な熱履歴にするためには、好ましくは100～120℃で1～10秒間の保持時間であり、より好ましくは110～115℃で1～5秒間の保持時間である。また、標準的な方法と同等又はそれ以上の微生物の殺菌効果を得るには、好ましくは115～145℃で1～15秒間の保持時間であり、より好ましくは120～145℃で1～10秒間の保持時間である。後者の効果を得るためには、より具体的には、例えば超高温（UHT）殺菌方法等における加熱温度及び保持時間が採用され得る。

[0034] 本発明の殺菌方法では、第1の加熱処理工程の後、必要に応じ、冷却工程を備える。冷却工程は、高温で処理された被殺菌物をいったん低温に下げる工程である。例えば、設備上の理由や、第1の加熱処理工程で損傷を受けなかった孢子を不活性化しやすくするとの理由などから、第2の加熱処理工程に入る前に、いったん製品温度を下げることを目的として備えられる場合がある。この冷却工程では、被殺菌物は80℃～1℃までの所定の温度、好ましくは第2の加熱処理工程における保持温度よりも低温になるように冷却される。冷却工程に用いられる冷却装置は、100℃～180℃程度から、80℃～1℃程度にまで冷却可能な装置であれば良い。冷却方式は特に限定されないが、例えば間接冷却方式、真空冷却方式（急減圧沸騰冷却方式）、冷却水直接注入冷却方式等が挙げられる。

[0035] このとき、被殺菌物を70～1℃に冷却するのが好ましく、60～1℃に冷却するのがより好ましく、50～1℃に冷却するのがさらに好ましく、40～1℃に冷却するのが特に好ましい。この工程は任意の工程であり、第1の加熱処理が終わり次第、第2の加熱処理工程に移行してもよい。

[0036] 次いで、本発明の殺菌方法は、第2の加熱処理工程を備える。第2の加熱処理工程は、被殺菌物を加熱し、その温度で保持し、必要に応じて冷却する工程である。第2の加熱処理工程では、第1の加熱処理工程の温度よりも低い温度が保持される。ここでは、第1の加熱処理工程での処理を補強する。

つまり、一般細菌の殺菌と細胞孢子の不活性化を目的とし、第1の加熱処理工程で十分に不活性化できなかった細菌孢子を不活性化する。また、第1の加熱処理工程で殺菌されなかった一般細菌の殺菌も行う。第1の加熱処理工程により、被殺菌物中に含まれる耐熱性の高い細菌孢子等は、既に損傷を受けていることから、これらの細菌孢子等を殺菌するためには新たに大きな熱負荷（高い温度や長い時間）をかける必要はなく、低い温度や短い時間でも十分な殺菌効果が得られる。また、低い温度で加熱処理を行うことにより、第1の加熱処理工程で不活性化されなかった細菌孢子等が確実に不活性化される。そして、第1の加熱処理工程で細菌孢子等を十分に不活性化していた場合でも、さらに確実に細菌孢子等の不活性化が行われ、細菌汚染によるリスクが低減される。

[0037] この工程では、具体的には、被殺菌物は40℃～100℃までの所定の温度になるように加温され、その温度で5秒間以上60分間以下の時間で保持される。第2の加熱処理工程に用いられる加熱装置は、1℃～80℃程度から、40℃～100℃程度にまで加温可能な装置であれば良い。加熱方式は特に限定されないが、例えば間接加熱方式、直接加熱方式、電気加熱方式、マイクロ波加熱方式等が挙げられる。このとき、プレート式熱交換機、チューブ式熱交換機、スチームインジェクション式加熱機、スチームインフュージョン式加熱機、ジュール式加熱機などの連続式の装置や設備だけでなく、タンク、バットなどの回分式の装置や設備も適用できる。

[0038] 加熱処理の条件は、例えば50～100℃程度で5秒～30分間の保持時間であり、60～100℃程度で5秒～20分間の保持時間であり、70～100℃程度で5秒～10分間の保持時間であり、80～100℃程度で5秒～10分間の保持時間であり得る。より具体的には、例えば低温長時間（LTLT）殺菌方法や高温短時間（HTST）殺菌方法（72～75℃、15秒以上）等における加熱条件を採用できる。

加熱処理後の冷却時の温度は、例えば30～1℃であり、20～1℃であり、15～1℃であり、10～1℃であり得る。

[0039] 以上に述べた工程により本発明の殺菌方法が構成される。本発明の殺菌方法における、時間と温度の関係を図1に示した。図1では、Aの区間が予熱工程、Bの区間が第1の加熱処理工程、Cの区間が冷却工程、DからFの区間が第2の加熱処理工程を示している。

[0040] 本発明の殺菌方法が適用される被殺菌物は、加熱によって殺菌可能なものであれば特に制約されないが、好ましくは、細菌汚染により衛生上問題が生じる恐れがあり、加熱により品質の変化が懸念される物である。被殺菌物は、例えば、飲食品であり、さらに具体的には、果汁、牛乳、乳製品、豆乳、豆製品（豆腐）、お茶などの清涼飲料水などであり得る。被殺菌物は、完成した製品（被殺菌品）であり、製造途中にある中間品であり、原材料でもあり得る。

[0041] 以下、実施例に基づいて、本発明をより具体的に説明する。なお、この実施例は、本発明を限定するものではない。

実施例 1

[0042] 細菌胞子を用いた殺菌実験を行った。用いた細菌胞子の耐熱性情報は表1に示した。ここで、D値とは、一定菌量の細菌・芽胞をある温度で加熱した際、菌数が1/10に減少する、つまり菌数の90%を死滅させるのに要する時間を示している。また、Z値とは、D値を1/10、もしくは10倍にする温度変化幅を意味する（岸本、「レトルト食品」、株式会社光琳、p37-38、1994年）。

[0043] [表1]

菌名、菌No.	Z値	D値(D110)	D値(D120)
	[°C]	[sec]	[sec]
Bacillus cereus B-164胞子	9.4	132	11.2

[0044] Bacillus cereus B-164（生乳由来）をトリプチケースソイブロスを用いて30℃で1晩培養し、Schaeffer's sp

orulation medium agar (DSM、Difco sporulation medium) 培地に塗抹して30℃で7日間培養した。培養後、滅菌イオン交換水を加え、滅菌綿棒で培地表面のコロニーを掻き取った後、遠心分離管に回収し、遠心分離(3500rpm、15分間)により集菌した。次いで、滅菌イオン交換水で3回遠心分離(3500rpm、15分間)し、滅菌イオン交換水を加えた後、ヒートショック(80℃10分間)をかけ栄養細胞を死滅させた。処理後の菌液をすぐに冷却し、これを細菌孢子懸濁液とした。

[0045] 調製した細菌孢子懸濁液を図2に示すブロックフローに従い殺菌を行った。調製した細菌孢子懸濁液をバランスタンク1に投入し、ポンプ2を介して所定流量(100L/時間)にて殺菌装置(SPX社SPP型殺菌装置)に供給した。予熱工程として予熱プレート3を用い、20℃の細菌孢子懸濁液を、70℃まで加温(予熱)した。その後、第1の加熱処理工程として、細菌孢子懸濁液を加熱装置(スチームインフュージョンチャンバー)4に供給し、瞬間的に110℃まで加熱した。その温度で3秒間保持した後、真空蒸発冷却槽5にて急速に64℃まで冷却した。次に、第2の加熱処理工程として、損傷孢子の不活性化のため、細菌孢子懸濁液を加熱プレート9により再度80℃まで加熱し、温度保持コイル10を用いて10分間、80℃で保持した。その後冷却プレート11で30℃まで冷却した。なお、図2において、7は細胞孢子懸濁液を加熱プレート9に供給するポンプ、6は真空蒸発冷却槽5において発生した蒸気を冷却する冷却装置、8は冷却装置6に冷却水を供給するポンプである。

[0046] 本実施例において、(1)予熱工程の前、(2)第1の加熱処理工程の直後、(3)第2の加熱処理工程の後、にサンプリングを実施し、菌数を測定した。また、(4)別途、細菌孢子懸濁液を80℃で10分間保持し、菌数を測定した。本実施例の温度プロファイルを図3に、*Bacillus cereus* B-164 孢子の菌数測定結果を図4に示した。

[0047] 図4に示した結果から、本発明の殺菌方法により、予熱工程前の5.4 [1

o g c f u / m L] の菌数が、第 1 の加熱処理工程後に 3.3 [l o g c f u / m L] にまで低下し、その後の緩和された加熱条件である第 2 の加熱処理工程の後に 2.5 [l o g c f u / m L] にまで低下した。この菌の D 値 (D 1 1 0 = 1 3 2 秒) から考えると、理論的には第 2 の加熱処理工程の殺菌温度条件 (8 0 ° C 、 1 0 分間) では菌数は減らないはずである。また、図 4 の (4) に示したように、単に 8 0 ° C で 1 0 分間保持しただけでは、菌の減少は見られなかった。つまり、第 1 の加熱処理工程による殺菌 + 孢子への損傷付与効果と、第 2 の加熱処理工程による緩和された殺菌条件を組み合わせることで、耐熱性が高い細菌孢子に対しても効果的な殺菌結果を得ることができた。

[0048] なお、本実施例では第 1 の加熱処理工程での加熱に蒸気を用いたが、電気的な作用により細菌孢子に損傷を与える方法 (電気パルス殺菌、交流高電界殺菌など) と組み合わせることで、より高い殺菌効果が得られると考えられる。

[0049] また、本発明で得られる殺菌効果と同等の殺菌効果を 1 回の加熱操作で得るために必要な加熱条件を計算し、その際に生成される加熱生成物質の量を推定して、本発明の加熱条件で発生する加熱生成物の生成量 (推定値 : 第 1 の加熱処理工程における生成量と第 2 の加熱処理工程における生成量の合計量) と比較した。なお、加熱物質の生成量は文献 (C l a e y s W L e t a l . , J D a i r y R e s , 2 0 0 3 , F e b ; 7 (1) , 8 5 - 9 0) を参考にし、以下の数式 1 を用いて各種加熱生成物の生成量を推定した。

[数1]

$$C = C_0 + k_{ref} \cdot \exp \left[\frac{E_a}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_{ref}} - \frac{1}{T} \right) \right] \cdot t$$

[0050] 数式 1 において、 C は各種加熱生成物の濃度、 C_0 は初期加熱生成物濃度、 k_{ref} は反応速度、 E_a は活性化エネルギー [kJ/mol]、 R は一般気体定数 [$\text{J}/(\text{mol} \cdot \text{K})$]、 T_{ref} は参照温度 [K]、 T は処理温度 [K]、 t は処理時間 [分] を示す。

[0051] ここでは、計算の対象の加熱生成物質として、ヒドロキシメチルフルフラール (HMF)、ラクチュロース、フロシンを選択した。いずれの物質も、牛乳の加熱により生成することが知られている。牛乳における HMF、ラクチュロース、フロシンの k_{ref} 、 E_a 、 T_{ref} を表 2 に示した。

[0052] [表2]

	HMF	ラクチュロース	フロシン
k_{ref}	0.771 [$\mu\text{mol/L/min}$]	31.7 [mg/L]	9.64 [mg/100g protein]
E_a [kJ/mol]	116	109.2	88.4
T_{ref} [°C]	105	105	110

(出典;Claeys WL *et al.*, *J Dairy Res.*, 2003, Feb;7(1), 85-90)

[0053] 今回の実施例で得られた結果、及び表 1 の数値から、 110°C において 1 回の殺菌で $2.9 [\log \text{cfu/mL}]$ の殺菌効果を得るためには、 $132 [\text{秒}/(\log \text{cfu/mL})] \times 2.9 [\log \text{cfu/mL}] = 382.8 [\text{秒}]$ の保持が必要であると計算された。一方、 120°C の場合、1 回の殺菌で $2.9 [\log \text{cfu/mL}]$ の殺菌効果を得るためには、 $111.2 [\text{秒}/(\log \text{cfu/mL})] \times 2.9 [\log \text{cfu/mL}] = 32.5 [\text{秒}]$ の保持が必要であると計算された。

[0054] これらの結果をもとに、本発明で $2.9 [\log \text{cfu/mL}]$ の殺菌効果を得られる条件での各種加熱生成物の量と、1 回の殺菌で $2.9 [\log \text{cfu/mL}]$ の殺菌効果を得られる条件での各種加熱生成物の量を比較した結果を、表 3 に示した。

[表3]

同等殺菌効果 加熱条件 (2.9D減少)	HMF [μ mol / L / min]	ラクチュロース [mg / L]	フロシン [mg / 100g protein]
本発明 (110°C、3秒間 +80°C、10分間)	0.63	29.55	9.59
1回殺菌 (110°C、383秒間)	8.0	318.5	61.5
1回殺菌 (120°C、32.5秒間)	1.7	64.7	10.6
1回殺菌(110°C) ÷本発明	12.7	10.8	6.4
1回殺菌(120°C) ÷本発明	2.7	2.2	1.1

[0055] 表3に示した結果より、本発明の殺菌方法における最高温度と同一の温度（110°C）で同等の殺菌効果を得るために必要な保持時間は383秒であり、この保持時間の間に各種加熱生成物は、HMFで12.7倍、ラクチュロースで10.8倍、フロシンで6.4倍、多く生成することが推定された。

[0056] 同様に、本発明よりも高い殺菌温度（120°C）で同等の殺菌効果を得るために必要な保持時間は32.5秒であり、この保持時間の間に各種加熱生成物は、HMFで2.7倍、ラクチュロースで2.2倍、フロシンで1.1倍、多く生成することが推定された。

[0057] 以上より、本発明の殺菌方法は、同等の殺菌効果が得られる殺菌条件よりも緩和な条件で各種加熱生成物の量が少なく、より新鮮で風味の良い製品が得られることが推定された。また、110°Cで1回の加熱処理を行った後や120°Cで1回の加熱処理を行った後に、それよりも緩和な条件で第2の加熱処理を行った場合、110°Cで383秒を越える加熱時間や120°Cで32.5秒を越える加熱時間による1回の加熱処理を行った場合よりも、各種加熱生成物の量が少なく、より新鮮で風味の良い製品が得られることが推定された。

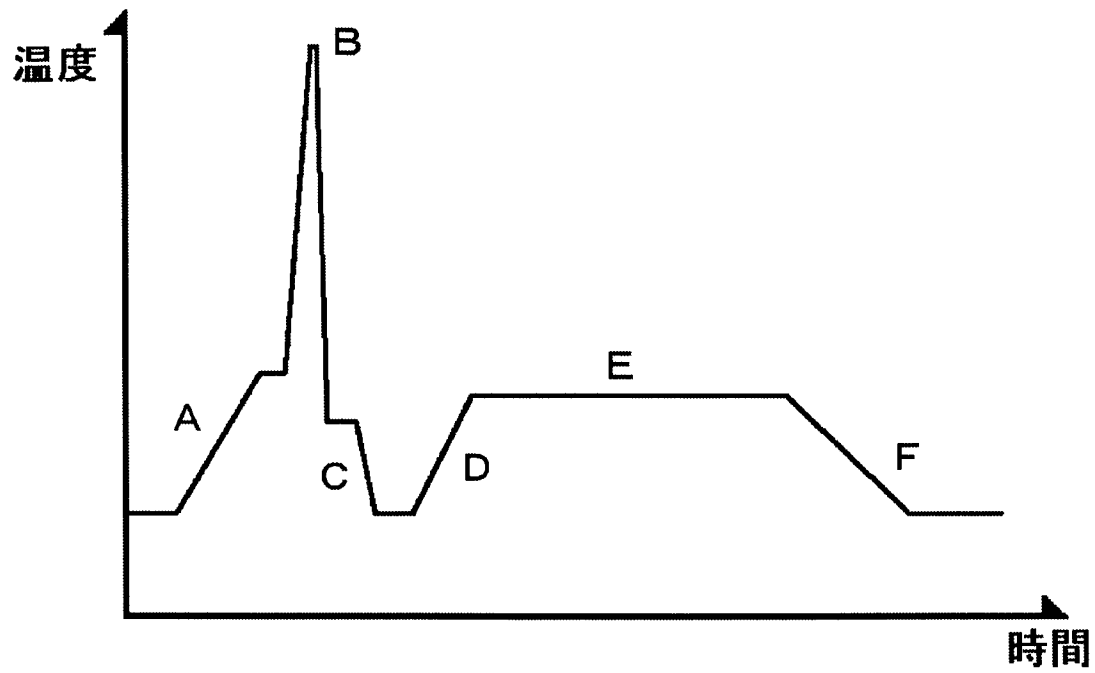
産業上の利用可能性

[0058] 本発明により、過剰な加熱（過熱）に伴う、各種の有用な栄養成分（タンパク質、ビタミン類など）の変性や、風味・品質劣化の要因成分（フロシンなど、加熱臭）の生成・増加を抑制する、細菌胞子の効果的な殺菌方法を開発できる。したがって、例えば食品分野において、加熱による品質劣化を抑制した製品の製造が可能となる。また、従来の殺菌方法と比べ、本発明を利用することで、より微生物学的なリスクを減じた製品の開発や製造が可能となり、例えばより長い賞味期限を持った製品の開発や製造が可能となる。

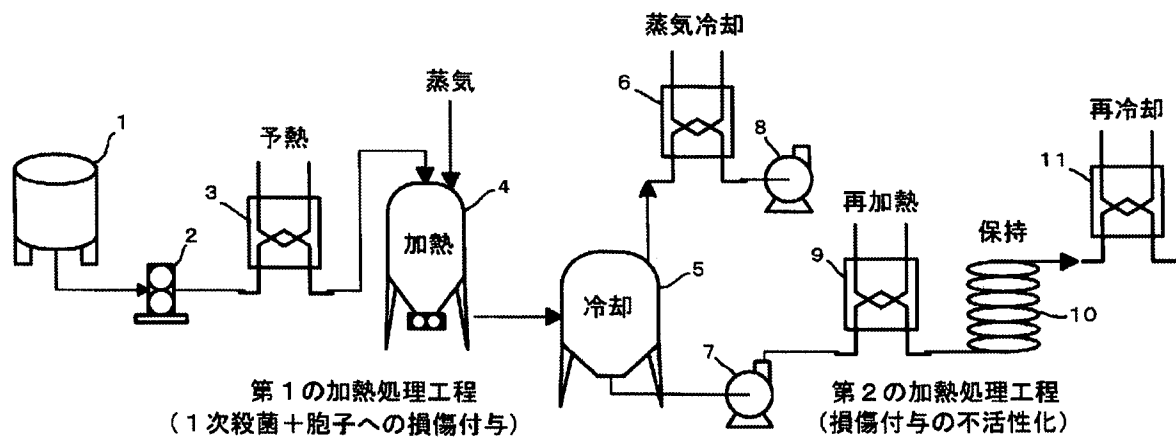
請求の範囲

- [請求項1] 被殺菌物に対して第1の加熱処理工程と、その後に、第1の加熱処理工程より低い温度で処理する第2の加熱処理工程、を備えることを特徴とする殺菌方法。
- [請求項2] 第1の加熱処理工程の前に、予熱工程を備えることを特徴とする、請求項1に記載の殺菌方法。
- [請求項3] 第1の加熱処理工程の後に、冷却工程を備えることを特徴とする、請求項1又は2に記載の殺菌方法。
- [請求項4] 第1の加熱処理工程後の冷却工程は、第2の加熱処理工程における加熱処理温度よりも低いことを特徴とする、請求項1から3のいずれか一項に記載の殺菌方法。
- [請求項5] 第1の加熱処理工程が、第1の加熱処理工程のみで被殺菌物中の孢子形成菌及び細菌孢子を十分には不活性化できない加熱条件で行うことを特徴とする、請求項1から4のいずれか一項に記載の殺菌方法。
- [請求項6] 第1の加熱処理工程が、第1の加熱処理工程のみで被殺菌物中の孢子形成菌及び細菌孢子を十分に不活性化できる加熱条件で行うことを特徴とする、請求項1から4のいずれか一項に記載の殺菌方法。
- [請求項7] 第1の加熱処理工程が、被殺菌物の温度を100℃～180℃とし、その温度での保持時間を1秒以上60秒以下とする工程である、請求項1から6のいずれか一項に記載の殺菌方法。
- [請求項8] 第1の加熱処理工程が、被殺菌物の温度を100℃～180℃とし、その温度での保持時間を1秒以上60秒以下とする工程であり、第2の加熱処理工程が、被殺菌物の温度を40℃～100℃とし、その温度での保持時間を5秒以上60分以下とする工程である、請求項1から7のいずれか一項に記載の殺菌方法。

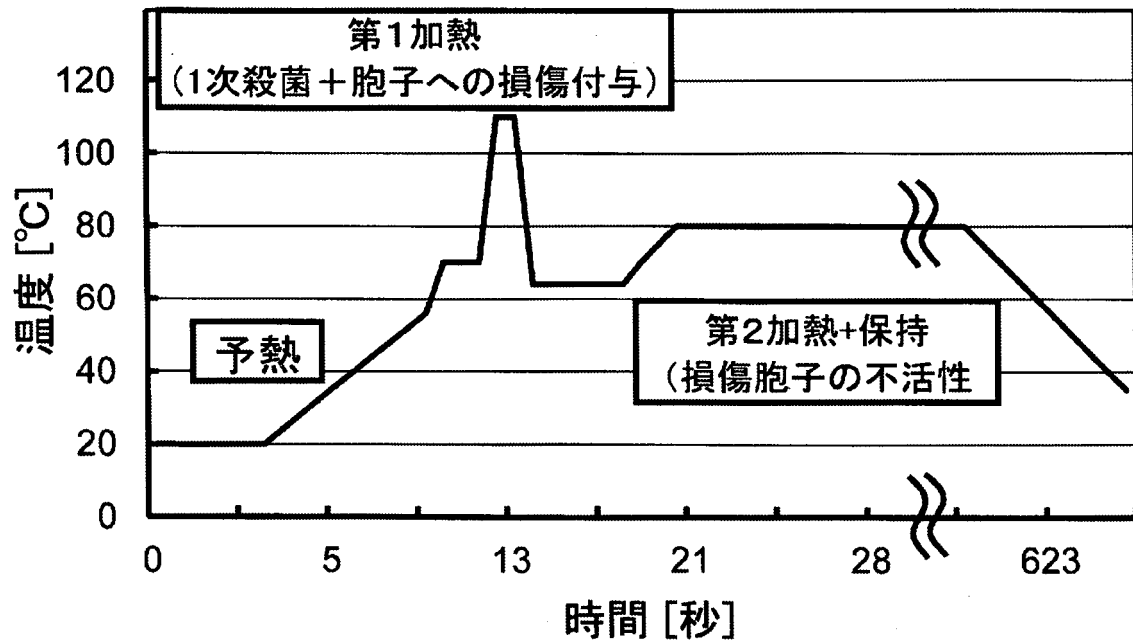
[図1]



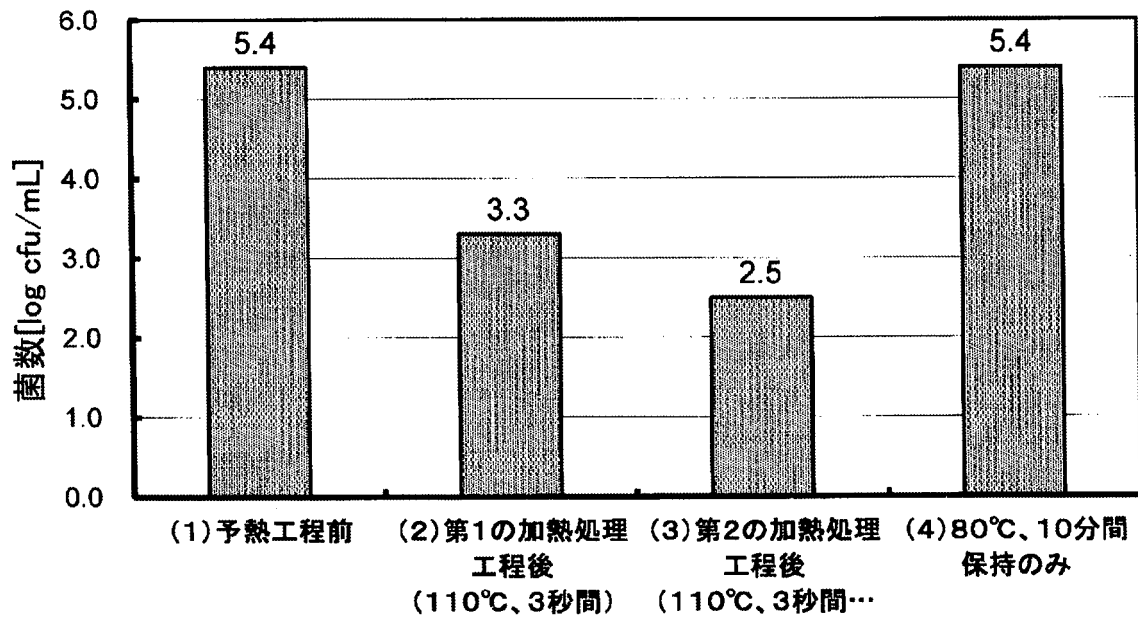
[図2]



[図3]



[図4]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2013/055699

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A23L3/16(2006.01) i, A23C3/037(2006.01) i, A23L3/24(2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A23L3/16, A23C3/037, A23L3/24

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X/Y	JP 1-202247 A (Suntory Ltd.), 15 August 1989 (15.08.1989), entire text; particularly, claims (Family: none)	1, 3, 4, 7, 8/ 1-8
Y	JP 6-303899 A (Tetra Laval Holdings & Finance S.A.), 01 November 1994 (01.11.1994), entire text; particularly, claims & US 5443857 A & EP 617897 A1	1-8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
01 July, 2013 (01.07.13)

Date of mailing of the international search report
09 July, 2013 (09.07.13)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A23L3/16(2006.01)i, A23C3/037(2006.01)i, A23L3/24(2006.01)i

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl. A23L3/16, A23C3/037, A23L3/24

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X/Y	JP 1-202247 A (サントリー株式会社) 1989.08.15, 全文、特に特許請求の範囲 (ファミリーなし)	1, 3, 4, 7, 8/1-8
Y	JP 6-303899 A (テトラ ラヴァル ホールディングズ アンド ファイナンス エス. アー.) 1994.11.01, 全文、特に特許請求の範囲 & US 5443857 A & EP 617897 A1	1-8

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

01.07.2013

国際調査報告の発送日

09.07.2013

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

柴原 直司

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

4 N

3534



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104135875 A

(43) 申请公布日 2014. 11. 05

(21) 申请号 201380010573. 6

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 03. 01

A23L 3/16(2006. 01)

(30) 优先权数据

A23C 3/037(2006. 01)

2012-046496 2012. 03. 02 JP

A23L 3/24(2006. 01)

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2014. 08. 22

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2013/055699 2013. 03. 01

(87) PCT国际申请的公布数据

W02013/129654 JA 2013. 09. 06

(71) 申请人 株式会社明治

地址 日本东京都

(72) 发明人 长田尧 松原裕树

(74) 专利代理机构 北京尚诚知识产权代理有限公司

公司 11322

代理人 龙淳

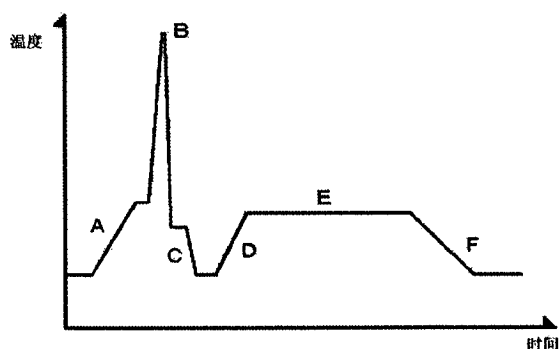
权利要求书1页 说明书8页 附图2页

(54) 发明名称

杀菌方法

(57) 摘要

本发明的课题在于：提供针对耐热性的细菌孢子，在比目前温和的加热条件下，能够有效地得到杀菌效果，并且，对被杀菌物的品质的影响小的杀菌方法。该杀菌方法具有：以对孢子赋予损伤为主要目的的第一加热处理工序；和之后以使受到损伤的孢子失活为主要目的、以低于第一加热处理工序的温度进行处理的第二加热处理工序。



1. 一种杀菌方法,其特征在于,具备:

针对被杀菌物的第一加热处理工序;和之后以低于第一加热处理工序的温度进行处理的第二加热处理工序。

2. 如权利要求1所述的杀菌方法,其特征在于:

在第一加热处理工序之前具有预热工序。

3. 如权利要求1或2所述的杀菌方法,其特征在于:

在第一加热处理工序之后具有冷却工序。

4. 如权利要求1~3中任一项所述的杀菌方法,其特征在于:

第一加热处理工序后的冷却工序中的处理温度低于第二加热处理工序中的加热处理温度。

5. 如权利要求1~4中任一项所述的杀菌方法,其特征在于:

第一加热处理工序在只以第一加热处理工序不能充分地将被杀菌物中的孢子形成菌和细菌孢子失活的加热条件下进行。

6. 如权利要求1~4中任一项所述的杀菌方法,其特征在于:

第一加热处理工序在只以第一加热处理工序能够充分地将被杀菌物中的孢子形成菌和细菌孢子失活的加热条件下进行。

7. 如权利要求1~6中任一项所述的杀菌方法,其特征在于:

第一加热处理工序是将被杀菌物的温度设为100℃~180℃,将其温度的保持时间设为1秒以上且60秒以下的工序。

8. 如权利要求1~7中任一项所述的杀菌方法,其特征在于:

第一加热处理工序是将被杀菌物的温度设为100℃~180℃,将其温度的保持时间设为1秒以上且60秒以下的工序,第二加热处理工序是将被杀菌物的温度设为40℃~100℃,将其温度的保持时间设为5秒以上且60分钟以下的工序。

杀菌方法

技术领域

[0001] 本发明涉及杀菌方法。更具体而言涉及含有耐热性高的细菌的孢子等的被杀菌物的杀菌方法。

背景技术

[0002] 作为食品产业的杀菌方法,大多情况下,利用伴随加热的微生物的灭亡效果(热作用)。此时,在形成孢子的细菌中,与通常的微生物相比,难以灭亡,因此如 UHT 处理(120 ~ 150℃、1 ~ 3 秒的加热处理)、HTST 处理(72 ~ 75℃、15 秒以上)这样提高杀菌温度,或者如 LTLT 处理(63 ~ 65℃、30 分钟的加热处理)这样延长加温保持时间,需要使加热(杀菌)条件变得严格。

[0003] 但是,这样使加热条件变得严格时,存在促使有用的营养成分(蛋白质、维生素等)的变性、和风味-品质劣化的主要原因成分(糠氨酸(furosine)等、加热臭)的生成等的问题。在该状况下,希望开发使加热条件(杀菌温度、加温保持时间)变得温和,有效地将细菌类中特别是形成孢子的细菌、细菌孢子杀菌的方法,进行了各种各样的研究。

[0004] 例如,在日本特开平 06 - 303899 号公报(专利文献 1)中公开了一种液状产品的灭菌法,其特征在于:通过间接加热,将以牛奶等为原料的液状产品预加热到 90 ~ 125℃ 的温度,之后在产品中直接喷射蒸汽,加热为 140 ~ 150℃,之后通过间接冷却工序将产品温度冷却为 90 ~ 120℃,之后通过瞬间冷却而冷却到 70 ~ 85℃。该方法利用直接蒸汽进行 UHT 处理后,快速进行间接冷却,之后进行瞬间冷却,因此与从 140 ~ 150℃ 的高温度进行瞬间冷却的现有方法相比,能够抑制品质的劣化。

[0005] 在日本特开 2003 - 125701 号公报(专利文献 2)中公开了一种发酵乳原料的杀菌方法,其特征在于:进行升温到 90℃ 以上且 100℃ 以下的规定温度并保持 5 分钟以上的第一加热处理,接着进行升温到 110℃ 以上且 115℃ 以下的规定温度并保持 2 秒以上且 15 秒以下的第二加热处理,进行冷却。在本方法中,以 90℃ 以上 100℃ 以下进行第一加热处理,因此能够以低于 UHT 处理的加热温度的温度进行芽孢形成菌的杀菌。因此,能够使通过长时间发酵的风味良好的发酵乳实用化,并且能够在短时间发酵、液状发酵乳等的制造中,减轻发酵乳原料的工序管理的作业负担,能够防止风味不良。

[0006] 在日本特开平 05 - 227925 号公报(专利文献 3)中公开了一种细菌芽孢的杀菌方法,通过 60 ~ 100℃ 的加热,对被杀菌物的细菌芽孢进行萌发活化处理,接着进行 100 ~ 1000MPa、室温 ~ 100℃、数小时以内的高压处理。在该方法中,与只以高压处理进行杀菌相比,能够在短处理时间、低压力等缓和条件下进行杀菌。另外,通过进行 100℃ 以下的加热,能够将在食品、医药品等中会在卫生或品质保持方面造成问题的细菌芽孢进行杀菌。

[0007] 在日本特开 2003 - 235528 号公报(专利文献 4)中公开了一种食品的杀菌方法,利用高压的二氧化碳对食品进行处理,降低细菌的孢子的耐性,之后进行杀菌处理。在本方法中,能够在 100℃ 以下的温度进行杀菌,因此能够将加热导致的食品的品质劣化抑制为最小限度,使食品中的细菌孢子灭亡。

- [0008] 现有技术文献
[0009] 专利文献
[0010] 专利文献 1:日本特开平 06 — 303899 号公报
[0011] 专利文献 2:日本特开 2003 — 125701 号公报
[0012] 专利文献 3:日本特开平 05 — 227925 号公报
[0013] 专利文献 4:日本特开 2003 — 235528 号公报

发明内容

[0014] 发明所要解决的课题

[0015] 但是,专利文献 1 所公开的方法通过直接加热进行的 UHT 处理将芽孢形成菌杀菌,在这点上不能说充分缓和了杀菌时的加热条件。另外,糠氨酸那样的风味-品质劣化成分的生成、增加与加热温度成比例,其生成速度变高。因此,在第二加热处理工序中的温度为比较高温的专利文献 2 所公开的方法中,风味-品质劣化成分容易增加。

[0016] 专利文献 3 和专利文献 4 所公开的方法在 100℃ 以下的温度进行加热,因此推测风味-品质劣化成分的生成量被抑制,但分别需要用于将被杀菌物保持在高压下的加压装置。因此,不仅需要为此的设备投资,而且需要将以温度和时间这样的 2 个因子以外的压力控制这样的第 3 因子为必需的繁琐控制。另外,为了在高压下进行处理,不能采用连续工序,工作效率变差。

[0017] 本发明的课题在于提供一种细菌孢子的有效杀菌方法,其针对形成耐热性高的孢子的细菌,在与标准的杀菌方法的 UHT 处理和 LTLT 处理相比更为温和的加热条件下,能够有效地得到杀菌效果,抑制了伴随过度加热(过热)等的各种有用营养成分(蛋白质、维生素等)的变性和风味-品质劣化的主要原因成分(糠氨酸等、加热臭)的生成、增加。特别而言,其课题在于:提供如标准的杀菌方法的 UHT 处理和 LTLT 处理那样,以温度和时间这 2 个因子能够进行控制的杀菌方法。

[0018] 用于解决课题的技术方案

[0019] 为了解决上述课题,本发明的发明人对于针对形成孢子的细菌,以温和的加热条件可以得到良好效果的杀菌方法进行了研究,结果发现,改变加热条件,以多阶段进行加热(杀菌)处理,使细菌孢子的耐热性(热稳定性)降低后,以比其更低的温度实施加热处理,由此能够以相比于标准的杀菌方法更温和的加热条件(杀菌温度、加温保持时间)、即以相比于标准杀菌方法更温和的热履历,有效地对细菌孢子进行杀菌。

[0020] 即,本发明的第一方面记载的发明为一种杀菌方法,其特征在于,具备:针对被杀菌物的第一加热处理工序;和之后以低于第一加热处理工序的温度进行处理的第二加热处理工序。

[0021] 第二方面记载的发明为第一方面所述的杀菌方法,其特征在于:在第一加热处理工序之前具有预热工序。

[0022] 第三方面记载的发明为第一或第二方面所述的杀菌方法,其特征在于:在第一加热处理工序之后具有冷却工序。

[0023] 第四方面记载的发明为第一至第三方面任一方面所述的杀菌方法,其特征在于:第一加热处理工序后的冷却工序中的处理温度低于第二加热处理工序中的加热处理温度。

[0024] 第五方面记载的发明为第一至第四方面任一方面所述的杀菌方法,其特征在于:第一加热处理工序在只以第一加热处理工序不能充分地将被杀菌物中的孢子形成菌和细菌孢子失活的加热条件下进行。

[0025] 第六方面记载的发明为第一至第四方面任一方面所述的杀菌方法,其特征在于:第一加热处理工序在只以第一加热处理工序能够充分将被杀菌物中的孢子形成菌和细菌孢子失活的加热条件下进行。

[0026] 第七方面记载的发明为第一至第六方面任一方面所述的杀菌方法,其特征在于:第一加热处理工序是将被杀菌物的温度设为 100℃~180℃,将其温度的保持时间设为 1 秒以上且 60 秒以下的工序。

[0027] 第八方面记载的发明为第一至第七方面任一方面所述的杀菌方法,其特征在于:第一加热处理工序是将被杀菌物的温度设为 100℃~180℃,将其温度的保持时间设为 1 秒以上且 60 秒以下的工序,第二加热处理工序是将被杀菌物的温度设为 40℃~100℃,将其温度的保持时间设为 5 秒以上且 60 分钟以下的工序。

[0028] 发明效果

[0029] 在本发明中,组合第一加热处理工序和以比其低的温度进行加热的第二加热处理工序,由此如果得到相同的杀菌效果,则能够降低伴随加热处理的热履历。因此,能够抑制各种有用营养成分(蛋白质、维生素等)的变性和风味-品质劣化的主要成分(糠氨酸等、加热臭)的生成、增加,并能够将细菌孢子失活。更具体而言,能够在第一加热处理工序中,以不能充分地将孢子形成菌、细菌孢子失活的加热条件、例如能够对孢子赋予损伤的程度的加热条件,进行处理,接着,在第二加热处理工序中,以低于第一加热处理工序的温度的加热条件进行处理,将受到损伤的孢子失活。即,结束第一加热处理工序和第二加热处理工序时,如果将微生物的灭亡效果设定为与标准的方法相同(同程度),就能够以更温和的热履历,制造与现有相比鲜度高、风味丰富的饮食品(果汁、牛奶、乳制品、豆浆、豆制品(豆腐)等)。

[0030] 另外,也能够第一加热处理工序中,以能够充分地将孢子形成菌、细菌孢子失活的加热条件,例如以标准的 UHT 处理中的加热条件进行处理,接着,在第二加热处理工序中,以低于第一加热处理工序的温度的加热条件进行处理。即,如果将热履历设定为与标准的方法相同(同程度)或其以上,则与现有相比,微生物的灭亡效果变高,作为降低由细菌污染导致的危险性(risk:风险)的杀菌方法,能够延长保质期。

[0031] 另外,在本发明中,能够不施加高压地进行加热处理,因此能够通过对现有的处理装置进行稍微的改变而实施。

附图说明

[0032] 图 1 为表示本发明的杀菌方法的时间和温度的关系的例子的图。

[0033] 图 2 为本发明的实施例的方块流程图。

[0034] 图 3 为本发明的实施例的温度分布图。

[0035] 图 4 为本发明的实施例的蜡样芽孢杆菌 B-164(*Bacillus cereus* B-164)孢子的菌数测定结果。

具体实施方式

[0036] 本发明的杀菌方法具有：针对被杀菌物的第一加热处理工序；和之后以低于第一加热处理工序的温度进行处理的第二加热处理工序。根据需要，在第一加热处理工序之前具有预热工序。另外，根据需要，在第一加热处理工序之后具有冷却工序。

[0037] 预热工序是将冷藏或以室温保管的被杀菌物进行加热，将被杀菌物的温度加温到 40℃～100℃的规定温度的工序。该预热工序是以与 UHT 处理、HTST 处理这样的公知灭菌方法中进行的预热工序相同的目的而进行的工序。

[0038] 预热工序所使用的加热装置只要是能够从 1～30℃加温至 40～100℃左右的装置即可。加热方式没有特别限定，例如可以列举间接加热方式、直接加热方式、电加热方式、微波加热方式等。

[0039] 该预热工序不是必须的，根据需要可以省略。即，可以从第一加热处理工序开始本发明的方法。

[0040] 预热工序的温度条件根据第一加热处理工序的温度不同而不同，但优选为 50～95℃，更优选为 60～90℃，进一步优选为 70～85℃，特别优选为 75～85℃。

[0041] 在本发明的杀菌方法中，接着具有第一加热处理工序。第一加热处理工序将被杀菌物加热使之达到高温，在其温度保持短时间的工序。该工序是用于将被杀菌物中的细菌、孢子（也称为芽孢。）失活的第一阶段。在该工序中，可以选择只以该工序不能充分地将孢子形成菌、孢子失活的加热条件或者能够充分地将孢子形成菌、孢子失活的加热条件中的任意加热条件。

[0042] 即，如果要利用缓和的热履历得到与标准的方法相同的微生物杀菌效果，选择只以该工序不能充分地将孢子形成菌、孢子失活的加热条件即可。另外，如果要得到与标准的方法相同或其以上的微生物杀菌效果，选择只以该工序能够充分地将孢子形成菌、孢子失活的加热条件即可。换言之，第一加热处理工序至少以向细菌孢子赋予损伤为目的。而且，为了得到缓和的热履历，优选以普通细菌的杀菌和向细菌孢子赋予损伤为目的来设定加热条件即可，为了进一步减少由细菌污染带来的风险，以孢子形成菌、孢子的充分失活为目的来设定加热条件即可。另外，热履历是在杀菌工序中，与加热温度和其保持时间之积成比例而把握的指标，认为以高的加热温度且保持时间长时，则热履历变大。另外，在本说明书中，所谓不能充分地将孢子形成菌、孢子失活的加热条件，是指例如比作为标准杀菌方法的 UHT 处理、HTST 处理温和的条件，且只以该工序不能达成细菌孢子的失活的条件，不论是否是普通细菌灭亡的条件。

[0043] 具体而言，在该工序中，将被杀菌物加温到 100℃～180℃的规定温度，在其温度保持 1 秒以上且 60 秒以下的时间。第一加热处理工序所使用的加热装置只要是能够从 40℃～100℃左右加温至 100℃～180℃左右的装置即可。加热方式没有特别限定，例如可以列举间接加热方式、直接加热方式、电加热方式、微波加热方式等。此时，可以适用板式热交换机、管式热交换机、蒸汽喷射式加热机、蒸汽注入式加热机、焦耳式加热机等连续式的装置、设备。另外，也适用罐、桶等间歇式的装置、设备。

[0044] 加热条件例如可以在 110～160℃为 1～30 秒的保持时间，在 110～150℃为 1～20 秒的保持时间，在 115～145℃为 1～15 秒的保持时间，在 120～145℃为 1～10 秒的保持时间，在 100～120℃为 1～10 秒的保持时间，在 100～115℃为 1～10 秒的保持时

间,在 110 ~ 115℃为 1 ~ 5 秒的保持时间。在这些条件中,为了得到缓和的热履历,优选在 100 ~ 120℃为 1 ~ 10 秒的保持时间,更优选在 110 ~ 115℃为 1 ~ 5 秒的保持时间。另外,为了得到与标准的方法相同或其以上的微生物的杀菌效果,优选在 115 ~ 145℃为 1 ~ 15 秒的保持时间,更优选在 120 ~ 145℃为 1 ~ 10 秒的保持时间。为了得到后者的效果,更具体而言,例如能够采用超高温 (UHT) 杀菌方法等的加热温度和保持时间。

[0045] 在本发明的杀菌方法中,在第一加热处理工序之后,根据需要具有冷却工序。冷却工序是将在高温处理的被杀菌物暂时降低到低温的工序。有时例如从设备方面的理由、和使在第一加热处理工序没有受到损伤的孢子容易失活的理由等考虑,在进入第二加热处理工序之前,以暂时降低产品温度为目的具有冷却工序。在该冷却工序中,将被杀菌物冷却到 80℃ ~ 1℃的规定温度、优选冷却到低于第二加热处理工序中的保持温度的低温。冷却工序所使用的冷却装置只要是能够从 100℃ ~ 180℃左右冷却至 80℃ ~ 1℃左右的装置即可。冷却方式没有特别限定,例如可以列举间接冷却方式、真空冷却方式 (急减压沸腾冷却方式)、冷却水直接注入冷却方式等。

[0046] 此时,优选将被杀菌物冷却到 70 ~ 1℃,更优选冷却到 60 ~ 1℃,进一步优选冷却到 50 ~ 1℃,特别优选冷却到 40 ~ 1℃。该工序是任意的工序,可以在第一加热处理结束马上转移到第二加热处理工序。

[0047] 接着,本发明的杀菌方法具有第二加热处理工序。第二加热处理工序是对被杀菌物进行加热,以其温度保持,根据需要进行冷却的工序。在第二加热处理工序中,保持比第一加热处理工序的温度低的温度。这里,增强第一加热处理工序中的处理。也就是说,以普通细菌的杀菌和细胞孢子的失活为目的,将在第一加热处理工序中没有充分失活的细菌孢子失活。另外,也进行在第一加热处理工序中没有被杀菌的普通细菌的杀菌。通过第一加热处理工序,被杀菌物中含有的耐热性高的细菌孢子等已经受到损伤,因此为了对这些细菌孢子等进行杀菌,不需要新的大的热负荷 (高的温度、长的时间),而即使以低的温度、短的时间也能够得到充分的杀菌效果。另外,以低的温度进行加热处理,由此在第一加热处理工序中没有被失活的细菌孢子等确实被失活。而且,即使是在第一加热处理工序中将细菌孢子等充分地失活的情况下,也可以进一步可靠地进行细菌孢子等的失活,减少由细菌污染带来的风险。

[0048] 在该工序中,具体而言,将被杀菌物加温到 40℃ ~ 100℃的规定温度,以其温度保持 5 秒以上且 60 分钟以下的时间。第二加热处理工序所使用的加热装置只要是能够从 1℃ ~ 80℃左右加温到 40℃ ~ 100℃左右的装置即可。加热方式没有特别限定,例如可以列举间接加热方式、直接加热方式、电加热方式、微波加热方式等。此时不只可以适用板式热交换机、管式热交换机、蒸汽喷射式加热机、蒸汽注入式加热机、焦耳式加热机等连续式的装置、设备,也适用罐、桶等间歇式装置、设备。

[0049] 加热处理的条件例如可以在 50 ~ 100℃左右为 5 秒 ~ 30 分钟的保持时间,在 60 ~ 100℃左右为 5 秒 ~ 20 分钟的保持时间,在 70 ~ 100℃左右为 5 秒 ~ 10 分钟的保持时间,在 80 ~ 100℃左右为 5 秒 ~ 10 分钟的保持时间。更具体而言,例如可以采用低温长时间 (LTLT) 杀菌方法、高温短时间 (HTST) 杀菌方法 (72 ~ 75℃、15 秒以上) 等的加热条件。

[0050] 加热处理后的冷却时的温度例如可以为 30 ~ 1℃,可以为 20 ~ 1℃,可以为 15 ~ 1℃,可以为 10 ~ 1℃。

[0051] 通过以上所述的工序构成本发明的杀菌方法。将本发明的杀菌方法中的时间和温度的关系表示在图 1 中。在图 1 中, A 的区间表示预热工序, B 的区间表示第一加热处理工序, C 的区间表示冷却工序, 从 D 至 F 的区间表示第二加热处理工序。

[0052] 本发明的杀菌方法所适用的被杀菌物只要是能够通过加热进行杀菌, 就没有特别限定, 优选为因细菌污染有可能产生卫生问题、担心由加热而品质变化的物质。被杀菌物例如为饮食品, 进一步具体而言可以为果汁、牛奶、乳制品、豆浆、豆制品(豆腐)、茶等的清凉饮料水等。被杀菌物可以为完成的产品(被杀菌品), 可以为制造途中的中间品, 也可以为原材料。

[0053] 以下基于实施例, 对本发明进行更具体地说明。另外, 该实施例不对本发明进行限定。

[0054] 实施例 1

[0055] 使用细菌孢子进行杀菌实验。使用的细菌孢子的耐热性信息表示在表 1 中。其中, 所谓 D 值表示将一定菌量的细菌、芽孢以某种温度进行加热时, 菌数减少到 1/10 所需要的时间, 也就是说将菌数的 90% 灭亡所需要的时间。另外, 所谓 Z 值, 表示使 D 值为 1/10、或为 10 倍的温度变化范围(岸本、“レトルト食品(译文: 蒸煮袋食品)”、株式会社光琳、p37—38、1994 年)。

[0056] [表 1]

[0057]

菌名、菌 No.	Z 值	D 值 (D110)	D 值 (D120)
	[°C]	[sec]	[sec]
蜡样芽孢杆菌 B-164 孢子	9.4	132	11.2

[0058] 利用胰蛋白胨大豆肉汤培养基 (TRYPTICASE SOY BROTH), 将蜡样芽孢杆菌 B-164(来自生乳) 以 30°C 培养 1 晚, 涂布于 Schaeffer's sporulation medium agar (DSM、Difco 产孢培养基 (Difco sporulation medium)) 培养基, 以 30°C 培养 7 天。培养后, 加入灭菌离子交换水, 利用灭菌棉棒挑取培养基表面的菌落后, 回收到离心分离管中, 通过离心分离 (3500rpm、15 分钟) 进行集菌。接着, 利用灭菌离子交换水进行 3 次离心分离 (3500rpm、15 分钟), 加入灭菌离子交换水后, 施加热激 (80°C 10 分钟), 使营养细胞灭亡。立刻将处理后的菌液冷却, 将其作为细菌孢子悬浊液。

[0059] 按照图 2 所示的方块流程图, 对制备的细菌孢子悬浊液进行杀菌。将制备的细菌孢子悬浊液投加入平衡罐 1 中, 通过泵 2 以规定流量 (100L/小时) 供给杀菌装置 (SPX 公司 SPP 型杀菌装置)。作为预热工序, 使用预热板 3, 将 20°C 的细菌孢子悬浊液加温到 70°C (预热)。之后, 作为第一加热处理工序, 将细菌孢子悬浊液供给加热装置 (蒸汽注入腔室) 4, 瞬间加热到 110°C。以其温度保持 3 秒后, 利用真空蒸发冷却槽 5 快速地冷却到 64°C。接着, 作为第二加热处理工序, 为了损伤孢子的失活, 通过加热板 9 将细菌孢子悬浊液再次加热到 80°C, 使用温度保持线圈 10, 以 80°C 保持 10 分钟。之后利用冷却板 11 冷却到 30°C。另外, 在图 2 中, 7 为将细胞孢子悬浊液供给加热板 9 的泵, 6 为将真空蒸发冷却槽 5 中产生的蒸汽冷却的冷却装置, 8 为向冷却装置 6 供给冷却水的泵。

[0060] 在本实施例中, 在 (1) 预热工序之前、(2) 第一加热处理工序刚结束后、(3) 第二

加热处理工序之后,实施取样,测定菌数。另外,(4)另外将细菌孢子悬浊液以 80℃保持 10 分钟,测定菌数。将本实施例的温度分布表示在图 3 中,将蜡样芽孢杆菌 B-164 孢子的菌数测定结果表示在图 4 中。

[0061] 由图 4 所示的结果可知,通过本发明的杀菌方法,预热工序前的 5.4[log cfu/mL] 的菌数在第一加热处理工序后降低到 3.3[log cfu/mL],在之后的缓和的加热条件的第二加热处理工序之后降低到 2.5[log cfu/mL]。考虑该菌的 D 值 ($D_{110} = 132$ 秒) 时,理论上在第二加热处理工序的杀菌温度条件 (80℃、10 分钟) 下,菌数应该不减少。另外,如图 4 的 (4) 所示,只是以 80℃保持 10 分钟,没有发现菌的减少。也就是说,组合第一加热处理工序的杀菌 + 对孢子的损伤赋予效果与第二加热处理工序的缓和的杀菌条件,由此能够得到对耐热性高的细菌孢子有效的杀菌结果。

[0062] 另外,在本实施例中,第一加热处理工序的加热使用蒸汽,但认为通过与利用电作用向细菌孢子赋予损伤的方法 (电脉冲杀菌、交流高电场杀菌等) 组合,能够得到更高的杀菌效果。

[0063] 另外,计算为了利用 1 次加热操作得到与本发明得到的杀菌效果同等的杀菌效果所需要的加热条件,推定此时生成的加热生成物质的量,与本发明的加热条件产生的加热生成物的生成量 (推定值:第一加热处理工序中的生成量和第二加热处理工序中的生成量的合计量) 进行比较。另外,加热物质的生成量以文献 (Claeys WL et al., J Dairy Res, 2003, Feb ;7(1), 85 - 90) 为参考,使用以下的数学式 1 推定各种加热生成物的生成量。

[0064] [数学式 1]

$$[0065] \quad C = C_0 + k_{ref} \cdot \exp \left[\frac{E_a}{R} \cdot \left(\frac{1}{T_{ref}} - \frac{1}{T} \right) \right] \cdot t$$

[0066] 在数学式 1 中, C 表示各种加热生成物的浓度, C_0 表示初期加热生成物浓度, k_{ref} 表示反应速度, E_a 表示活化能 [kJ/mol], R 表示一般气体常数 [J/(mol · K)], T_{ref} 表示参照温度 [K], T 表示处理温度 [K], t 表示处理时间 [分钟]。

[0067] 其中,作为计算的对象的加热生成物质,选择羟甲基糠醛 (HMF)、乳酮糖、糠氨酸。已知上述任意的物质都是通过牛奶的加热产生的。将牛奶中的 HMF、乳酮糖、糠氨酸的 k_{ref} 、 E_a 、 T_{ref} 表示在表 2 中。

[0068] [表 2]

[0069]

	HMF	乳酮糖	糠氨酸
K_{ref}	0.771 [μmol/L/min]	31.7 [mg/L]	9.64 [mg/100g 蛋白质]
E_a [kJ/mol]	116	109.2	88.4
T_{ref} [℃]	105	105	110

[0070] (摘自: Claeys WL et al., J Dairy Res., 2003, Feb ;7(1), 85-90)

[0071] 根据本次的实施例得到的结果和表 1 的数值,计算为了在 110℃以 1 次杀菌得到

2.9[log cfu/mL] 的杀菌效果,需要保持 $132[\text{秒}/(\log \text{cfu/mL})] \times 2.9[\log \text{cfu/mL}] = 382.8[\text{秒}]$ 。另一方面,计算为了在 120℃ 时,以 1 次杀菌得到 2.9[log cfu/mL] 的杀菌效果,需要保持 $11.2[\text{秒}/(\log \text{cfu/mL})] \times 2.9[\log \text{cfu/mL}] = 32.5[\text{秒}]$ 。

[0072] 以这些结果为基础,比较本发明中得到 2.9[log cfu/mL] 的杀菌效果的条件下的各种加热生成物的量与以 1 次杀菌得到 2.9[log cfu/mL] 的杀菌效果的条件下的各种加热生成物的量,将结果表示在表 3 中。

[0073] [表 3]

[0074]

同等杀菌效果 加热条件 (2.9D 减少)	HMF [μmol/L/min]	乳酮糖 [mg/L]	糠氨酸 [mg/100g 蛋白质]
本发明 (110℃、3 秒 +80℃、10 分钟)	0.63	29.55	9.59
1 次杀菌 (110℃、383 秒)	8.0	318.5	61.5
1 次杀菌 (120℃、32.5 秒)	1.7	64.7	10.6
1 次杀菌 (110℃) ÷ 本发明	12.7	10.8	6.4
1 次杀菌 (120℃) ÷ 本发明	2.7	2.2	1.1

[0075] 由表 3 所示的结果,可以推定为了以与本发明的杀菌方法的最高温度相同的温度 (110℃) 得到同等的杀菌效果所需要的保持时间为 383 秒,在该保持时间期间,产生大量各种加热生成物,HMF 为 12.7 倍、乳酮糖为 10.8 倍、糠氨酸为 6.4 倍。

[0076] 同样,可以推定为了以比本发明高的杀菌温度 (120℃) 得到同等的杀菌效果所需要的保持时间为 32.5 秒,该保持时间期间产生大量各种加热生成物,HMF 为 2.7 倍、乳酮糖为 2.2 倍、糠氨酸为 1.1 倍。

[0077] 由以上,可以推定本发明的杀菌方法,在比能够得到同等的杀菌效果的杀菌条件温和的条件下,各种加热生成物的量少,能够得到更新鲜且风味好的产品。另外,可以推定在 110℃ 进行 1 次加热处理后或在 120℃ 进行 1 次加热处理后,以更温和的条件进行第二加热处理时,相比于进行在 110℃ 超过 383 秒的加热时间、或在 120℃ 超过 32.5 秒的加热时间的 1 次加热处理的情况,各种加热生成物的量少,能够得到更新鲜且风味好的产品。

[0078] 产业上的可利用性

[0079] 根据本发明,能够开发抑制伴随过度加热 (过热) 的、各种有用营养成分 (蛋白质、维生素类等) 的变性、风味 - 品质劣化的主要原因成分 (糠氨酸等、加热臭) 的生成、增加,有效地进行细菌孢子的杀菌的方法。因此,例如在食品领域中,能够制造抑制了加热导致的品质劣化的产品。另外,与现有的杀菌方法相比,通过利用本发明,能够进行进一步减少微生物学上的风险的产品的开发和制造,例如能够进行具有更长的保质期的产品的开发和制造。

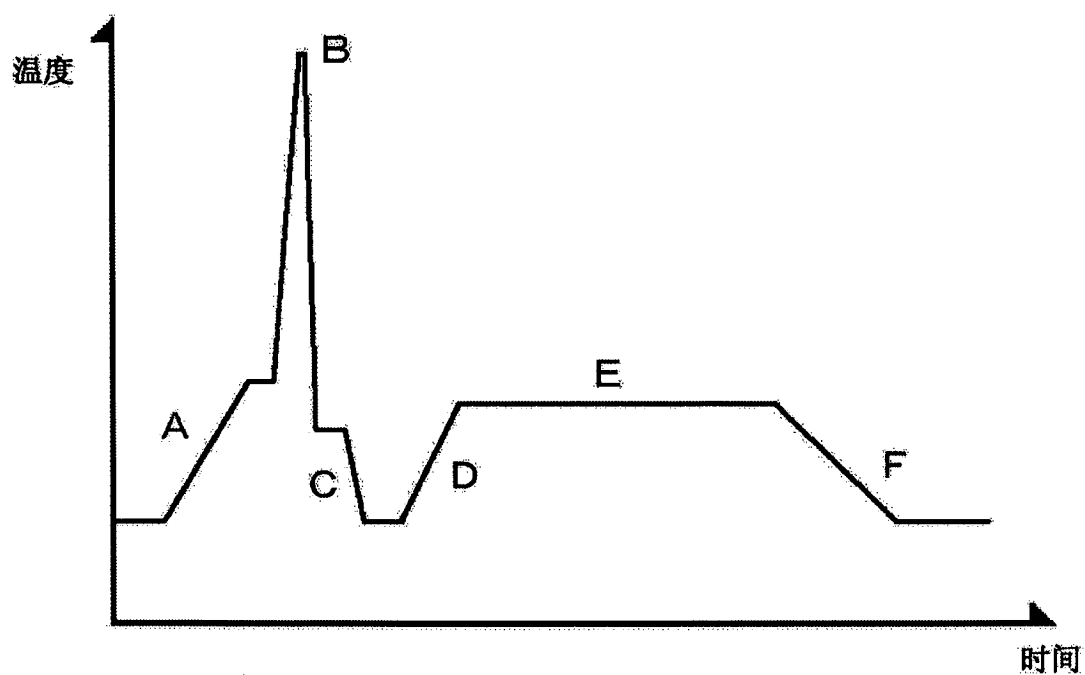


图 1

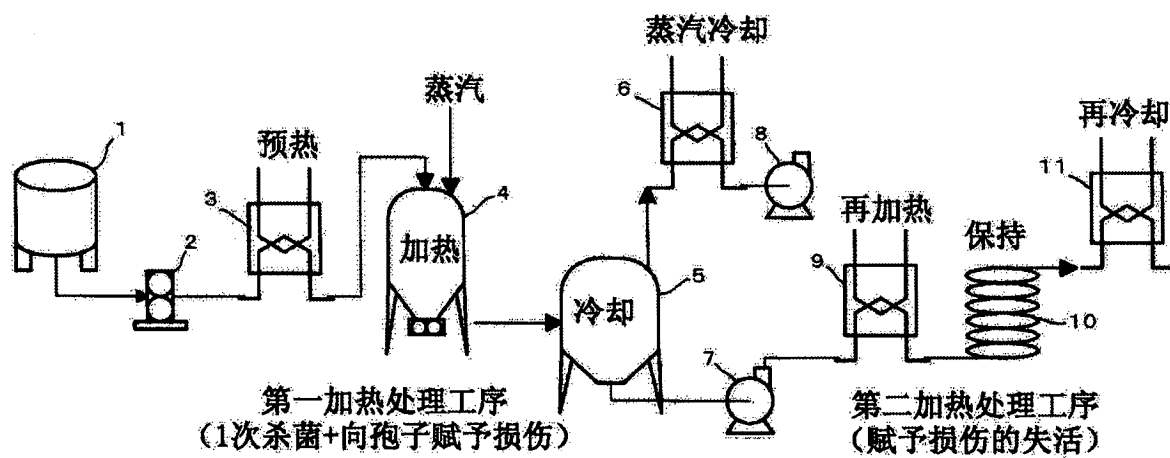


图 2

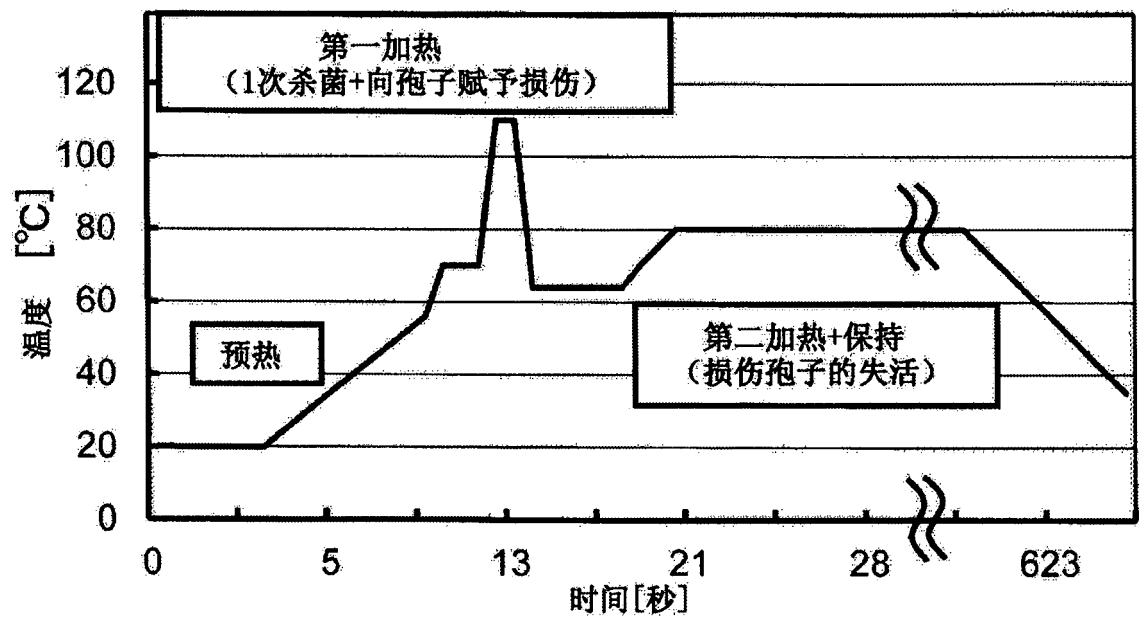


图 3

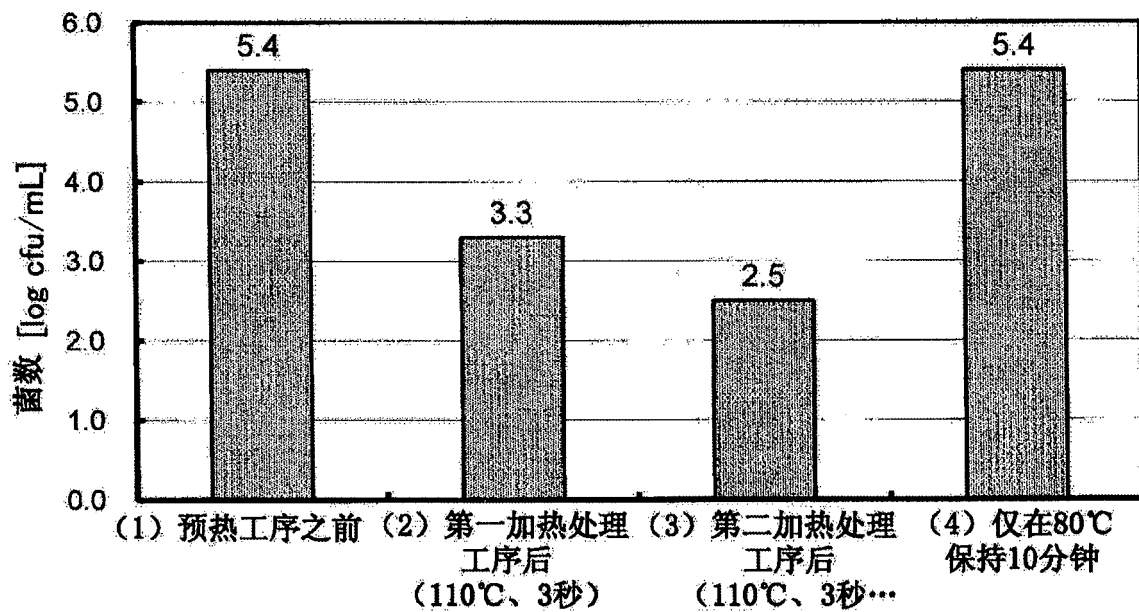


图 4

Sterilization Method

ABSTRACT

[Problem] To provide a sterilization method for heat-resistant bacterial spores, with which an effective sterilization effect can be obtained under heating conditions milder than conventional conditions, and which hardly affects the quality of an object to be sterilized. [Solution] A sterilization method comprising: a first heat treatment step, the main purpose of which is damaging spores; and a second heat treatment step, the main purpose of which is subsequently inactivating the damaged spores, and in which the heat treatment is performed at a temperature lower than that in the first heat treatment step.

杀菌方法

摘要

本发明的课题在于：提供针对耐热性的细菌孢子，在比目前温和的加热条件下，能够有效地得到杀菌效果，并且，对被杀菌物的品质的影响小的杀菌方法。该杀菌方法具有：以对孢子赋予损伤为主要目的的第一加热处理工序；和之后以使受到损伤的孢子失活为主要目的的、以低于第一加热处理工序的温度进行处理的第二加热处理工序。