

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6325439号  
(P6325439)

(45) 発行日 平成30年5月16日 (2018. 5. 16)

(24) 登録日 平成30年4月20日 (2018. 4. 20)

|                                 |               |
|---------------------------------|---------------|
| (51) Int. Cl.                   | F 1           |
| <b>A 2 3 L</b> 3/18 (2006. 01)  | A 2 3 L 3/18  |
| <b>A 2 3 C</b> 3/037 (2006. 01) | A 2 3 C 3/037 |

請求項の数 3 (全 11 頁)

|               |                              |           |                     |
|---------------|------------------------------|-----------|---------------------|
| (21) 出願番号     | 特願2014-502411 (P2014-502411) | (73) 特許権者 | 000006138           |
| (86) (22) 出願日 | 平成25年3月1日 (2013. 3. 1)       |           | 株式会社明治              |
| (86) 国際出願番号   | PCT/JP2013/055699            |           | 東京都中央区京橋二丁目2番1号     |
| (87) 国際公開番号   | W02013/129654                | (74) 代理人  | 100104307           |
| (87) 国際公開日    | 平成25年9月6日 (2013. 9. 6)       |           | 弁理士 志村 尚司           |
| 審査請求日         | 平成28年2月27日 (2016. 2. 27)     | (72) 発明者  | 長田 堯                |
| (31) 優先権主張番号  | 特願2012-46496 (P2012-46496)   |           | 神奈川県小田原市成田540 株式会社明 |
| (32) 優先日      | 平成24年3月2日 (2012. 3. 2)       |           | 治 研究本部内             |
| (33) 優先権主張国   | 日本国 (JP)                     | (72) 発明者  | 松原 裕樹               |
|               |                              |           | 神奈川県小田原市成田540 株式会社明 |
|               |                              |           | 治 研究本部内             |
| 前置審査          |                              | 審査官       | 柴原 直司               |

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 殺菌方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

第1の加熱処理を行う第1の加熱装置と、第2の加熱処理を行う第2の加熱装置と、冷却装置とを備え、前記冷却装置は第1の加熱装置と第2の加熱装置の間に配置され、前記第1の加熱装置と冷却装置の間及び冷却装置と第2の加熱装置の間はそれぞれ配管により連結された殺菌装置において被殺菌物を、フィルター処理を行うことなく殺菌する方法であって、

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分以下とし、かつ、

前記第2の加熱処理の処理温度は前記第1の加熱処理の処理温度よりも低く、

前記冷却装置において前記第2の加熱処理の処理温度よりも低い温度に前記被殺菌物が冷却される殺菌方法。

【請求項 2】

前記冷却装置において、80 ～ 1 に冷却する請求項 1 に記載の殺菌方法。

【請求項 3】

第1の加熱処理工程の前に、予熱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。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

## 【 0 0 0 1 】

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有する被殺菌物の殺菌方法に関する。

## 【 背景技術 】

## 【 0 0 0 2 】

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。

10

## 【 0 0 0 3 】

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。

## 【 0 0 0 4 】

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。

20

## 【 0 0 0 5 】

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。

30

## 【 0 0 0 6 】

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。

40

## 【 0 0 0 7 】

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、細菌の孢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、食品中の細菌孢子を死滅させることができる。

## 【 先行技術文献 】

## 【 特許文献 】

## 【 0 0 0 8 】

【 特許文献 1 】 特開平06-303899号公報

50

【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。

10

【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。

20

【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。

30

【0013】

すなわち、本発明の殺菌方法は、第1の加熱処理を行う第1の加熱装置と、第2の加熱処理を行う第2の加熱装置と、冷却装置とを備え、前記冷却装置は第1の加熱装置と第2の加熱装置の間に配置され、前記第1の加熱装置と冷却装置の間及び冷却装置と第2の加熱装置の間はそれぞれ配管により連結された殺菌装置において被殺菌物を、フィルター処理を行うことなく殺菌する方法であって、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分以下とし、かつ、前記第2の加熱処理の処理温度は前記第1の加熱処理の処理温度よりも低く、前記冷却装置において前記第2の加熱処理の処理温度よりも低い温度に前記被殺菌物が冷却される殺菌方法である。

40

【0017】

請求項2に記載の発明は、前記冷却装置において、80～1に冷却する請求項1に記載の殺菌方法、である。

【0018】

請求項3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

50

とする、請求項 1 又は 2 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。

10

【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。

20

【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 胞子の菌数測定結果である。

30

【発明を実施するための形態】

【0025】

本発明の殺菌方法は、第 1 の加熱処理を行う第 1 の加熱装置と、第 2 の加熱処理を行う第 2 の加熱装置と、冷却装置とを備え、前記冷却装置は第 1 の加熱装置と第 2 の加熱装置の間に配置され、前記第 1 の加熱装置と冷却装置の間及び冷却装置と第 2 の加熱装置の間はそれぞれ配管により連結された殺菌装置において、被殺菌物を、フィルター処理を行うことなく殺菌する方法であって、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 分以下とし、かつ、前記第 2 の加熱処理の処理温度は前記第 1 の加熱処理の処理温度よりも低く、前記冷却装置において前記第 2 の加熱処理の処理温度よりも低い温度に前記被殺菌物が冷却される殺菌方法である。必要に応じ、第 1 の加熱工程の前に、予熱工程を備える。

40

【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

50

行われる工程である。

【 0 0 2 7 】

予熱工程に用いられる加熱装置は、1 ~ 3 0 から、4 0 ~ 1 0 0 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。

【 0 0 2 8 】

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。

【 0 0 2 9 】

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、5 0 ~ 9 5 が好ましく、6 0 ~ 9 0 がより好ましく、7 0 ~ 8 5 がさらに好ましく、7 5 ~ 8 5 が特に好ましい。

【 0 0 3 0 】

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。

【 0 0 3 1 】

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。

【 0 0 3 2 】

具体的には、この工程では、被殺菌物は1 0 0 ~ 1 8 0 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、4 0 ~ 1 0 0 程度から、1 0 0 ~ 1 8 0 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。

【 0 0 3 3 】

加熱条件は、例えば、1 1 0 ~ 1 6 0 で1 ~ 3 0 秒間の保持時間であり、1 1 0 ~ 1 5 0 で1 ~ 2 0 秒間の保持時間であり、1 1 5 ~ 1 4 5 で1 ~ 1 5 秒間の保持時間であり、1 2 0 ~ 1 4 5 で1 ~ 1 0 秒間の保持時間であり、1 0 0 ~ 1 2 0 で1 ~ 1 0 秒間の保持時間であり、1 0 0 ~ 1 1 5 で1 ~ 1 0 秒間の保持時間であり、1 1 0 ~ 1 1 5 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1 0 0 ~ 1 2 0 で1 ~ 1 0 秒間の保持時間であり、より好ましくは1 1 0 ~ 1 1 5 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胞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。

10

#### 【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】

20

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胞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胞子を不活性化する。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胞子等は、既に損傷を受けていることから、これらの細菌胞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胞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胞子等を十分に不活性化していた場合でも、さらに確実に細菌胞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。

30

#### 【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。

40

#### 【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。

50

## 【 0 0 3 9 】

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。

## 【 0 0 4 0 】

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。

10

## 【 0 0 4 1 】

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】

## 【 0 0 4 2 】

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、p 37 - 38、1994 年）。

20

## 【 0 0 4 3 】

## 【表 1】

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

30

## 【 0 0 4 4 】

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 sporulation 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、これを細菌胞子懸濁液とした。

40

## 【 0 0 4 5 】

調製した細菌胞子懸濁液を図 2 に示すブロックフローに従い殺菌を行った。調製した細菌胞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 の細菌胞子懸濁液を、70 まで加温（予熱）した。その後、第 1 の加熱処理工程として、細菌胞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、損傷胞子の不活性化のため、細菌胞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

50

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  $5.4 [\log \text{ cfu/mL}]$  の菌数が、第 1 の加熱処理工程後に  $3.3 [\log \text{ cfu/mL}]$  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  $2.5 [\log \text{ cfu/mL}]$  にまで低下した。この菌の D 値 ( $D_{110} = 132$  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 (80、10 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 80 で 10 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 (Claeys WL et al., J Dairy Res, 2003, Feb; 7 (1), 85 - 90) 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<sub>0</sub> は初期加熱生成物濃度、k<sub>ref</sub> は反応速度、E<sub>a</sub> は活性化エネルギー [kJ/mol]、R は一般気体定数 [J/(mol・K)]、T<sub>ref</sub> 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<sub>ref</sub>、E<sub>a</sub>、T<sub>ref</sub> を表 2 に示した。

#### 【0052】

【表 2】

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

10

(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において1回の殺菌で2.9[log cfu/mL]の殺菌効果を得るためには、132[秒/(log cfu/mL)] $\times$ 2.9[log cfu/mL]=382.8[秒]の保持が必要であると計算された。一方、120の場合、1回の殺菌で2.9[log cfu/mL]の殺菌効果を得るためには、11.2[秒/(log cfu/mL)] $\times$ 2.9[log cfu/mL]=32.5[秒]の保持が必要であると計算された。

20

## 【0054】

これらの結果をもとに、本発明で2.9[log 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 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<br>加熱条件<br>(2.9D減少)       | HMF<br>[ $\mu\text{mol} / \text{L} / \text{min}$ ] | ラクチュロース<br>[mg / L] | フロシン<br>[mg / 100g protein] |
|----------------------------------|----------------------------------------------------|---------------------|-----------------------------|
| 本発明<br>(110°C、3秒間<br>+80°C、10分間) | 0.63                                               | 29.55               | 9.59                        |
| 1回殺菌<br>(110°C、383秒間)            | 8.0                                                | 318.5               | 61.5                        |
| 1回殺菌<br>(120°C、32.5秒間)           | 1.7                                                | 64.7                | 10.6                        |
| 1回殺菌(110°C)<br>÷本発明              | 12.7                                               | 10.8                | 6.4                         |
| 1回殺菌(120°C)<br>÷本発明              | 2.7                                                | 2.2                 | 1.1                         |

30

40

## 【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)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)で同等の殺菌効果を得るために必要な

50

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で1回の加熱処理を行った後や120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で383秒を越える加熱時間や120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。

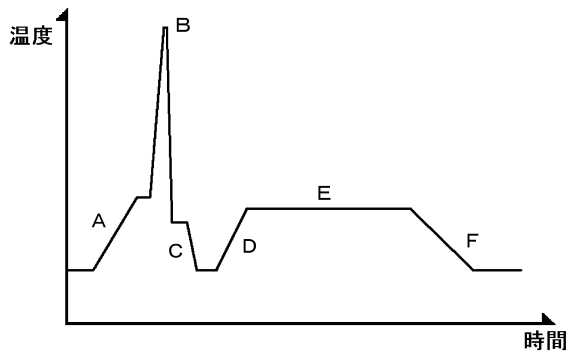
【産業上の利用可能性】

【0058】

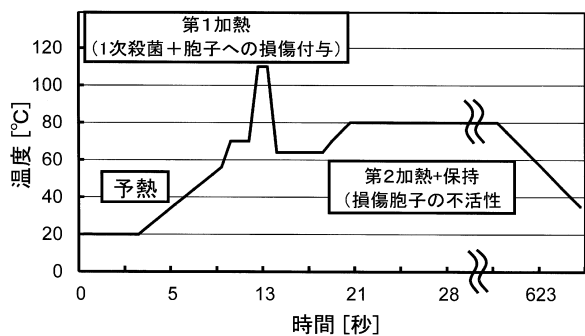
本発明により、過剰な加熱（過熱）に伴う、各種の有用な栄養成分（タンパク質、ビタミン類など）の変性や、風味・品質劣化の要因成分（フロシンなど、加熱臭）の生成・増加を抑制する、細菌孢子の効果的な殺菌方法を開発できる。したがって、例えば食品分野において、加熱による品質劣化を抑制した製品の製造が可能となる。また、従来の殺菌方法と比べ、本発明を利用することで、より微生物学的なリスクを減じた製品の開発や製造が可能となり、例えばより長い賞味期限を持った製品の開発や製造が可能となる。

10

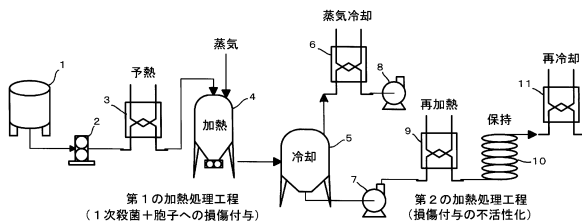
【図1】



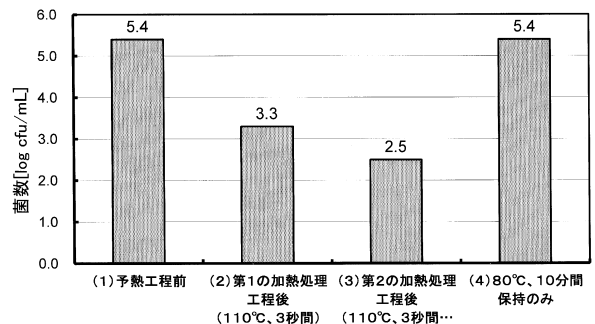
【図3】



【図2】



【図4】



---

フロントページの続き

(56)参考文献 特開平01-202247(JP,A)  
特開平06-303899(JP,A)  
米国特許第06372276(US,B1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)

A23L 3/00 - 3/3598

A23C 3/02

A23L 2/00

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580(JDreamIII)