

明 細 書

発明の名称：殺芽方法

技術分野

[0001] 本発明は、芽胞を有する芽胞形成菌の殺芽方法に関する。

背景技術

[0002] バチルス属やクロストリジウム属などの菌は、強固な殻構造を作り、熱や薬剤などに極めて高い抵抗力を有する芽胞を形成する。ある種の芽胞を形成しうる菌は人体に侵入すると毒素を産生することが知られている。例えば、医療現場では、シーツや枕カバーなどのリネン製品は主に加熱消毒されるが、加熱消毒では耐熱性である芽胞を有する菌を殺菌できない。そのため、リネン製品を介した芽胞を形成しうる菌の院内感染で死者まで出る被害も発生している。

[0003] 芽胞を有する菌を殺菌するためには、多くの場合、高圧蒸気で滅菌したり、次亜塩素酸Naなどの強力な化学的殺菌剤が高濃度で用いられったりする。また、食品加工においては、芽胞対策として過酷な熱処理、もしくは低温流通方法がとられている。

[0004] 国際公開第01／66471号には、発芽可能な菌が発芽して栄養型細胞となるのに十分な時間かつ好適な条件で、水閉鎖系に発芽剤を接触させること、及び発芽した栄養型細胞を殺菌処理することを含む、水閉鎖系における芽胞の制御方法が開示されている。また、特開2009-118775号公報には、液卵または卵加工品に含まれる芽胞を有する菌を、所定の温度及び圧力で加圧処理を行う発芽方法、及び、その方法で発芽させた後、発芽させた菌を殺菌する方法が開示されている。

発明の概要

[0005] 本発明は、下記の工程1終了後下記の工程2を行う殺芽方法に関する。

工程1：芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩とをpH6以下の条件下で接触させる工程；及び

工程 2：芽胞形成菌を殺菌する工程。

[0006] また、本発明は、下記の工程 1 と下記の工程 2 A を同時に行う期間を有する殺芽方法に関する。

工程 1：芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩とを pH 6 以下の条件下で接触させる工程；及び

工程 2 A：芽胞形成菌を物理的に殺菌する工程。

[0007] また、本発明は、ジピコリン酸又はその塩を含有し、pH 6 以下である、殺芽助剤組成物に関する。

発明の詳細な説明

[0008] 特許文献 1 で具体的に開示された、L-アラニンなどの発芽誘導剤で芽胞を有する菌を処理する技術では、殺菌効果が十分ではない。

[0009] 高濃度の殺菌剤や高圧蒸気滅菌による殺芽方法は、病院など広範囲の環境を消毒するには適しておらず、器材損傷性や人体への毒性がある可能性もあることから、使用用途や使用環境に制約がある。また、例えば、特許文献 2 の開示する技術では、芽胞を有する菌の発芽に 10 MPa 以上の高圧を掛ける必要があり、特殊な装置を必要とする課題がある。食品等への適用による品質の劣化も懸念される。

[0010] 食品加工においては、芽胞対策として過酷な熱処理、もしくは低温流通方法がとられているが、風味や品質の劣化、電力コストなどの課題も生じる。

[0011] 本発明は、医療や食品分野で危害となる芽胞を有する菌を、菌種によらず、効率的かつ効果的に殺菌することができる殺芽方法に関する。さらに、本発明は、芽胞形成菌を殺菌する為に用いる殺芽助剤組成物に関する。

[0012] 本発明者は、ジピコリン酸（2, 6-ピリジンジカルボン酸）又はその塩を pH 6 以下で芽胞形成菌に接触させると、通常用いられる濃度より低濃度の殺菌剤の使用やより低温で効果的に殺芽できることを見出し、本発明に至った。

[0013] 本発明によれば、芽胞を有する芽胞形成菌を、殺菌することができる殺芽方法が提供される。さらに、本発明では、芽胞形成菌を殺菌する為に用いる

殺芽助剤組成物が提供される。

[0014] 芽胞形成菌とは、栄養不存在下で芽胞を形成したことによって、一定の熱処理や乾燥に対して抵抗性を有する細菌のことを言う。芽胞とは、細菌が形づく、菌が形成する強固な殻構造を示し、菌自体とは区別する。本発明の殺芽対象となる「芽胞形成菌」は、医療現場や食品、飲料製品に存在する一般的な芽胞形成菌である。例えば、バチルス・セレウス (*Bacillus cereus*) やバチルス・サチルス (*Bacillus subtilis*) といったバチルス (*Bacillus*) 属の細菌、クロストリジウム・デフィシル (*Clostridium difficile*) といったクロストリジウム (*Clostridium*) 属の細菌、アンフィバチルス (*Amphibacillus*) 属の細菌、スポロサルシナ (*Sporosarcina*) 属の細菌、ジオバチルス (*Geobacillus*) 属の細菌、エアリバチルス (*Aeribacillus*) 属の細菌、アリサイクロバチルス (*Allicyclobacillus*) 属の細菌などが挙げられる。本発明の対象となる「芽胞形成菌」は、芽胞を有する菌であるため、耐熱性を有する。ここで耐熱性とは、本発明の実施例に示されるように、初期菌数 $10^7 \sim 10^9$ CFU/mL である芽胞を有する菌を、 80°C で 30 分以上加熱した場合に、 10^7 CFU/mL 以上の菌が生存できることをいう。

[0015] 本発明において「殺芽」とは芽胞を有する状態の菌を発芽させて殺すことを主に意図する。発芽とは、芽胞を有する芽胞形成菌が発芽することであり、これにより通常の増殖、代謝能を有する菌体になる現象を指す。ここで、殺芽とは、芽胞を有する菌を死滅させること、及び滅菌することを含む。また、殺芽は、集団で存在する菌の全体の菌数を減少させることも含む。殺芽は、特に限定はされないが、実施例で示す殺芽効果指数として表わした場合に 0.21 以上、より好ましくは 0.3 以上、さらに好ましくは 0.5 以上などの状態を示す。本発明において殺芽効果とは、殺芽効果指数で表されるコントロールとの殺菌効果の違いを示す。

[0016] 本発明の殺芽方法が優れた殺芽効果を有する理由は、定かではないが以下

のように考えられる。工程 1 において、芽胞を有する芽胞形成菌に pH 6 以下の条件下でジピコリン酸（以下、DPAとも記載する）又はその塩を作用させることにより、発芽が促進され、工程 2 における殺菌が容易に行われる。また、pH 6 以下の条件下でのジピコリン酸は、菌に対して親和的であるため、菌内に入り易く、効果的に発芽が促進されるものと推定する。

[0017] また、ジピコリン酸又はその塩の芽胞形成菌内における作用は、菌種によって特異的な特定のレセプターを介する作用ではないので、芽胞形成菌の種類によらず殺芽効果又は殺菌効果を有すると考えられる。

[0018] なお、発芽は、例えば、芽胞の暗色化の有無を位相差顕微鏡で調べることによって確認することができる。すなわち、暗色化した芽胞の割合が多い程、発芽が誘起されていることを意味する。

[0019] <工程 1>

[0020] 本発明の工程 1 は、pH が 6 以下の条件下において芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩とを接触させる工程である。工程 1 において芽胞形成菌とは芽胞を有する菌であることが望ましい。芽胞を有しない、芽胞を有しうる菌を含んでいても良い。

[0021] ジピコリン酸又はその塩は、液体又は固体の状態で提供される。ジピコリン酸又はその塩は、簡便性と殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ましくは液体である。また、ジピコリン酸又はその塩は、簡便性の観点から、好ましくは後述の殺芽助剤組成物として提供される。

[0022] 本発明の工程 1 におけるジピコリン酸又はその塩と芽胞形成菌との接触方法は、芽胞形成菌が液中に存在する場合には、ジピコリン酸又はその塩の高濃度溶液又はジピコリン酸又はその塩の粉末を芽胞形成菌が存在する液に混合し、混合した液を常に攪拌しながら接触させる方法、混合した後で攪拌する方法、又は混合した後で静置する方法などが挙げられる。芽胞形成菌が固体上に存在する場合には、ジピコリン酸又はその塩の溶液等、後述の液体の殺芽助剤組成物を固体上に塗布する方法が挙げられる。ジピコリン酸又はその塩の溶液を固体上に塗布する方法としては、噴霧する方法、刷毛やスポン

ジ等の道具を使用する方法が挙げられる。また、粉末等の固体の殺芽助剤組成物を固体に設置し水等を噴霧する方法が挙げられる。ここで、固体上とは特に限定はされないが、硬質表面などを指す。

[0023] 本発明の工程 1 におけるジピコリン酸又はその塩と芽胞形成菌との接触方法は、簡便性の観点から、好ましくはジピコリン酸又はその塩を含有する液体組成物、より好ましくはジピコリン酸又はその塩の溶液、より好ましくはジピコリン酸又はその塩の水溶液を接触させる方法である。

[0024] 工程 1 において、芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩とを溶液中で接触する場合、その溶液の 24℃における pH は、殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ましくは 5 以下、より好ましくは 4 以下、より好ましくは 3 以下、より好ましくは 2.5 以下、より好ましくは 1.8 以下である。また、安全性の観点から、その溶液の 24℃における pH は、好ましくは 1 以上、より好ましくは 1.2 以上である。また、前記溶液の 24℃における pH は、上記の観点を総合すると、好ましくは 1～6、より好ましくは 1～5、より好ましくは 1～4、より好ましくは 1～3、より好ましくは 1～2.5、より好ましくは 1.2～1.8 である。pH は、卓上型 pH メーター型式 9611 (H O R I B A 製) を用い、24℃で測定することができる。

[0025] pH 調整は、ジピコリン酸又はその塩の溶液を予め調製する場合に行うことができる。あるいは、芽胞形成菌と接触させる際に芽胞形成菌を含む溶液中にジピコリン酸又はその塩を加えた後に行うこともできる。pH 調整剤としては、一般に用いられる酸や塩基、例えば、塩酸や硫酸などの無機酸、乳酸やクエン酸あるいはそれらの塩などの有機酸、水酸化ナトリウムや水酸化カリウムなどの無機塩基、トリイソプロパノールアミンなどの有機塩基が挙げられる。pH 調整剤としては、汎用性の観点から、酸としては塩酸や硫酸などの無機酸が好ましく、塩基としては水酸化ナトリウムや水酸化カリウムなどの無機塩基が好ましい。

[0026] 芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩を溶液中で接触させる場合、その溶液中のジピコリン酸の含有量は、殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ま

しくは0.05 mM以上、より好ましくは0.5 mM以上、より好ましくは3 mM以上、より好ましくは4 mM以上、より好ましくは6 mM以上、より好ましくは8 mM以上であり、そして、ジピコリン酸又はその塩の溶液の安定性及び経済性の観点から、好ましくは30 mM以下、より好ましくは25 mM以下、より好ましくは20 mM以下、より好ましくは15 mM以下、より好ましくは12 mM、より好ましくは10 mM以下である。また、芽胞形成菌とジピコリン酸を溶液中で接触させる場合、その溶液中のジピコリン酸の含有量は、上記の観点を総合すると、好ましくは0.05～30 mM、より好ましくは0.5～30 mM、より好ましくは3～30 mM、より好ましくは3～25 mM、より好ましくは3～20 mM、より好ましくは3～15 mM、より好ましくは4～15 mM、より好ましくは6～12、より好ましくは8～10 mMである。ここで、ジピコリン酸の含有量は、ジピコリン酸の塩を用いた場合は、全てジピコリン酸換算の数値とする。

[0027] 接触にあたって、初期菌数とジピコリン酸の濃度との関係は、特に限定はされない。例えば、殺芽効果のさらなる向上の観点から、初期菌数 10^8 CFU/mLに対するジピコリン酸の濃度は、より好ましくは0.1 mM以上、より好ましくは1 mM以上、より好ましくは10 mM以上、より好ましくは100 mM以上であり、そして、経済性の観点から、初期菌数1 CFU/mLに対するジピコリン酸の濃度は、好ましくは1 M以下、より好ましくは100 mM以下、より好ましくは30 mM以下、より好ましくは10 mM以下、より好ましくは1 mM以下である。

[0028] 本発明の工程2開始前の工程1における芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩との接触温度は、殺芽効果のさらなる向上の観点及び経済性の観点から、好ましくは15℃以上、より好ましくは20℃以上であり、そして、経済性の観点から、好ましくは50℃未満、より好ましくは49℃以下、より好ましくは45℃以下、より好ましくは40℃以下、より好ましくは30℃以下である。また、工程1における芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩の溶液との接触温度は、同様の観点から、好ましくは15℃～50℃未満、より

好ましくは15℃～49℃、より好ましくは15℃～40℃、より好ましくは15～30℃である。

[0029] 本発明の工程2開始前の工程1における芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩とをpH6以下で接触する接触時間は、殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ましくは30秒以上、より好ましくは1分以上、より好ましくは3分以上、より好ましくは5分以上、より好ましくは8分以上、より好ましくは10分以上、より好ましくは15分以上、より好ましくは20分以上、より好ましくは25分以上であり、そして、経済性の観点から、60分以下、より好ましくは50分以下、より好ましくは40分以下、より好ましくは35分以下である。また、工程2開始前の工程1におけるジピコリン酸又はその塩の溶液と芽胞形成菌との接触時間は、上記の観点を総合すると、好ましくは30秒～60分、より好ましくは1分～60分、より好ましくは3分～60分、より好ましくは5分～60分、より好ましくは5分～50分、より好ましくは5分～40分、より好ましくは8分～40分、より好ましくは8分～35分、より好ましくは10分～35分、より好ましくは15分～35分、より好ましくは20分～35分、より好ましくは25分～35分である。

[0030] 本発明の工程1における芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩との接触時間の合計は、殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ましくは5分以上、より好ましくは10分以上、より好ましくは15分以上、より好ましくは20分以上、より好ましくは30分以上、より好ましくは45分以上であり、そして、経済性の観点から、好ましくは90分以下、より好ましくは80分以下、より好ましくは70分以下である。

ここで、工程2が工程1より先に終わる場合、工程2終了から工程1終了までの工程1の時間を接触時間の合計には含めない。

[0031] 工程1の後に工程2を行うのが基本であるが、工程1を終了させた後、工程2を行ってもよく、後述するように、工程1を終了せずに工程1と工程2を同時に行ってもよい。また、工程1と工程2を同時に開始してもよく、工

程 2 を開始した後で工程 1 を開始してもよい。

[0032] 工程 1 はジピコリン酸又はその塩を取り除くことにより終了することができる。工程 1 を終了する際のジピコリン酸又はその塩を取り除く方法としては、芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩が液中に存在する場合、遠心分離操作により上清を捨てて、ジピコリン酸又はその塩を除くことが挙げられる。

また、工程 1 は、pH を 6 超に調整することにより終了することもできる。工程 1 を終了する際の pH 調整の方法としては、pH 調整剤を用いることができる。pH 調整剤としては、前述のものが挙げられ、汎用性の観点から、無機酸又は無機塩基が好ましく、塩酸若しくは硫酸又は水酸化ナトリウム若しくは水酸化カリウムがより好ましい。

[0033] <工程 2>

本発明の工程 2 は、芽胞形成菌を殺菌する工程である。ここで、工程 2 における芽胞形成菌とは、工程 1 の処理により発芽が促進された状態の芽胞形成菌を指す。なお、以下に述べる条件次第によっては、発芽していない状態の菌も含む。

[0034] 殺菌する手段は、物理的に殺菌する手段や化学的に殺菌する手段が挙げられる。

前記工程 2 において、物理的に殺菌する手段及び化学的に殺菌する手段は、単独で用いても、物理的手段のうちの 2 種以上、化学的手段のうちの 2 種以上を組み合わせ用いてもよい。さらに物理的手段と化学的手段のうちの 2 種以上を組合せて用いてもよい。

[0035] [物理的な殺菌]

<工程 2 A>

本発明の工程 2 A は、芽胞形成菌、例えば、発芽が促進された芽胞形成菌を物理的に殺菌する工程である。

[0036] 物理的に殺菌する手段は、熱、圧力、電磁波などが挙げられる。電磁波としては X 線や γ 線等の放射線、紫外線などが挙げられる。物理的に殺菌する

手段は、経済性及び簡便性の観点から、好ましくは熱である。

工程 2 A は工程 1 を行った芽胞形成菌に物理的手段を施すことにより開始することができる。また、工程 2 A は、物理的手段を止めることにより中止することができる。

[0037] 本発明の工程 2 A は、殺芽効果のさらなる向上の観点及び経済性の観点から、好ましくは芽胞形成菌を熱により殺菌する工程であり、より好ましくは芽胞形成菌を 5 0℃以上 2 5 0℃以下で殺菌する工程である。

[0038] 芽胞形成菌を熱により殺菌する際の温度は、殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ましくは 5 0℃以上、より好ましくは 5 5℃以上、より好ましくは 6 0℃以上、より好ましくは 6 5℃以上、より好ましくは 7 0℃以上、より好ましくは 7 5℃以上であり、そして、殺芽効果のさらなる向上の観点、経済性及び汎用性の観点から、好ましくは 2 5 0℃以下、より好ましくは 2 0 0℃以下、より好ましくは 1 5 0℃以下、より好ましくは 1 2 0℃以下、より好ましくは 1 0 0℃以下、より好ましくは 9 0℃以下、より好ましくは 8 5℃以下である。

[0039] 本発明の工程 2 において熱により殺菌する際の温度は、上記の観点から、好ましくは 5 0℃～2 5 0℃、より好ましくは 5 0℃～2 0 0℃、より好ましくは 5 0℃～1 5 0℃、より好ましくは 5 0℃～1 0 0℃、より好ましくは 5 5℃～1 0 0℃、より好ましくは 6 0℃～1 0 0℃、より好ましくは 6 5℃～9 0℃、より好ましくは 7 0℃～9 0℃であり、より好ましくは 7 5℃～8 5℃である。

[0040] 通常、芽胞形成菌は発芽しないと 1 0 0℃以下では殺菌し難い。しかし、本発明においては、工程 1 により発芽が促進されるので、工程 2 において 1 0 0℃以下でも殺菌効果が得られる。尚、本発明においても 1 0 0℃より高い温度で殺菌することも可能であり、場合によって 1 0 0℃より高い温度で殺菌することもできる。

[0041] 本発明の工程 2 A の熱により殺菌する時間は、殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ましくは 3 分以上、より好ましくは 5 分以上、より好ましくは

8分以上、より好ましくは10分以上、より好ましくは20分以上、より好ましくは25分以上であり、そして、経済性及び汎用性の観点から、好ましくは90分以下、より好ましくは70分以下、より好ましくは50分以下、より好ましくは40分以下、より好ましくは35分以下である。

[0042] 本発明の工程2Aの熱により殺菌する時間は、上記の観点から、好ましくは3分～90分、より好ましくは5分～70分、より好ましくは8分～50分、より好ましくは10分～50分、より好ましくは20～40分、より好ましくは25～35分である。

[0043] 本発明の工程2Aの熱により殺菌する方法として、芽胞形成菌に乾熱、湿熱、煮沸、熱水、蒸気熱などを適用する方法が挙げられる。例えば、熱水に芽胞形成菌を浸す方法や、芽胞形成菌の存在する硬質表面などの固体や芽胞形成菌を含む液等を恒温槽に設置する方法、食品加工における加熱調理等の加熱処理による方法などが挙げられる。

[0044] 工程2Aの熱により殺菌するpHの条件は、特に限定はされず、pH1～9のようないずれの条件下でも行うことが可能である。工程1と同じpH6以下の条件であってもよい。

[0045] 本発明の殺芽方法において、工程2Aにおいて熱により殺菌した芽胞形成菌を、氷を入れた水、もしくは冷却した容器等で急冷することにより工程2Aを終了することができる。あるいは、工程2Aにおいて熱により殺菌した芽胞形成菌を、しばらく時間を置いて自然に熱を冷ますことにより工程2Aを終了することができる。ここで、殺菌した芽胞形成菌は、液中に存在する状態であり得る。

[0046] 工程1又は工程2Aにおいて芽胞形成菌が液中に存在する場合、本発明の殺芽方法は、工程1若しくは工程2A又はそれらの工程の前後において芽胞形成菌を攪拌する工程を有してもよい。工程1及び工程2を繰り返してもよい。

[0047] [化学的な殺菌]

<工程2B>

本発明の工程 2 Bは、芽胞形成菌を化学的に殺菌する工程である。

[0048] 化学的に殺菌する手段は、経済性の観点から、好ましくは殺菌剤を用いることである。

[0049] 本発明の工程 2 の殺菌剤により殺菌する方法で用いる殺菌剤としては、液状物として用いられる殺菌剤として、次亜塩素酸又はその塩、亜塩素酸又はその塩、ジクロロイソシアヌル酸又はその塩、トリクロロイソシアヌル酸又はその塩、二酸化塩素などの水溶液である塩素系消毒薬や、ポピドンヨードやヨードホルムなどのヨウ素系消毒薬等のハロゲン化物を含む殺菌剤；エタノール、1-プロパノール、イソプロピルアルコール、メタノール等のアルコール類；ホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド等のアルデヒド類；石灰酸、クレゾール、キシレノール、イソプロピルメチルフェノール、トリクロサン等のフェノール類；過酢酸、過酸化水素、オゾン等の過酸化物が挙げられる。また、ガス状で用いられる殺菌剤として、酸化エチレン、ホルムアルデヒド、過酸化水素、オゾン、二酸化塩素等が挙げられる。

[0050] 本発明では、工程 1 により芽胞を有する芽胞形成菌の発芽が促されるので、通常より少ない殺菌剤の使用量で、工程 1 で処理された芽胞形成菌を殺菌することができる。例えば、塩素系消毒薬、好ましくは、次亜塩素酸及びその塩、亜塩素酸及びその塩、ジクロロイソシアヌル酸及びその塩、トリクロロイソシアヌル酸及びその塩、並びに、二酸化塩素から選ばれる塩素系消毒薬、より好ましくは次亜塩素酸ナトリウムにより芽胞を有する芽胞形成菌を殺菌する場合、本発明の工程 1 を行わないのであれば、通常、有効塩素濃度 1000 ppm 以上が必要である。それに対して、本発明の工程 1 を行う場合、殺芽に必要な有効塩素濃度は 1000 ppm より少なくてもよい。具体的には、本発明において、有効塩素濃度は、殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ましくは 10 ppm 以上、より好ましくは 50 ppm 以上、より好ましくは 80 ppm 以上であり、経済性の観点から、1000 ppm 以下、より好ましくは 800 ppm 以下、より好ましくは 500 ppm 以下、より好ましくは 300 ppm 以下、より好ましくは 150 ppm 以下である。ま

た、次亜塩素酸ナトリウム等の塩素系消毒薬を始めとする化学的な殺菌手段で芽胞形成菌を殺菌する温度は、殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ましくは 5°C 以上、より好ましくは 10°C 以上、より好ましくは 15°C 以上、より好ましくは 20°C 以上、より好ましくは 23°C 以上であり、そして、経済性の観点から、好ましくは 50°C 以下、より好ましくは 40°C 以下、より好ましくは 30°C 以下、より好ましくは 25°C 以下である。

[0051] 尚、本発明においても、通常の殺菌剤の使用量で殺菌を行うことができる。例えば、有効塩素濃度 1000 ppm 以上の塩素系消毒薬、好ましくは、次亜塩素酸及びその塩、亜塩素酸及びその塩、ジクロロイソシアヌル酸及びその塩、トリクロロイソシアヌル酸及びその塩、並びに二酸化塩素から選ばれる塩素系消毒薬、より好ましくは次亜塩素酸ナトリウムにより殺菌することができる。

[0052] 工程2は工程1を終了してから行うことができる（態様1）。

工程2が芽胞形成菌を物理的に殺菌する工程2Aである場合、工程1と工程2Aを同時に行う期間を有してもよい（態様2）。態様2は以下の様に分けられる。

態様2-1 工程1を先に開始する

態様2-2 工程1と工程2Aを同時に開始する

態様2-3 工程2Aを先に開始する

態様2の中、殺芽効果のさらなる向上の観点から、態様2-1が好ましい。

また、態様2の工程2Aは熱により殺菌する工程であることが好ましい。

[0053] [態様1：工程1終了後工程2を行う態様]

本発明において、工程1の終了後に工程2を行うことができる。ここで、工程1の終了は、芽胞形成菌の発芽が促進されたことをもって終了することができる。工程2は、工程2A（物理的な殺菌）であっても、工程2B（化学的な殺菌）であっても、いずれの場合でも、この態様1の工程1及び工程2の好ましい条件は前述の通りである。工程1はpHを6超にするか、ジピ

コリン酸を除去することにより終了することができる。その態様は前述の通りである。

ここで、「工程 1 の終了後に工程 2 を行う」とは、工程 1 の終了と共に工程 2 を行う、という意味であり、好ましくは、遅くとも工程 1 を終えて、1 時間以内、より好ましくは 30 分以内、さらに好ましくは 15 分以内、さらに好ましくは 5 分以内、さらに好ましくは 1 分以内に工程 2 に移行することを言う。

[0054] [態様 2 : 工程 1 と工程 2 A を同時に行う期間を有する態様]

本発明において、工程 1 と工程 2 A を同時に行う期間を有することができる。

工程 1 と工程 2 A を同時に行う期間における工程 1 と工程 2 A とが重複する時間及び温度の条件は、前記工程 2 A が熱による殺菌をする工程である場合、前記工程 2 A の条件と同様である。また、工程 2 A が熱以外の物理的な殺菌をする工程である場合、工程 1 と工程 2 A を同時に行うときの温度の条件は、前記工程 1 の条件と同様である。

工程 1 と工程 2 A を同時に行う期間における、時間及び温度以外の条件、例えば、ジピコリン酸の含有量及び pH の条件は、前記工程 1 の条件と同様である。

上記以外の工程 1 のみを行う際の好ましい条件は、前述の通りである。

[0055] [態様 2 - 1 : 工程 1 を先に開始する態様]

本発明の工程 1 と工程 2 を同時に行う期間を有する殺芽方法は、工程 1 を先に開始することができる。すなわち、工程 1 の途中から物理的手段を施して工程 2 A の殺菌を始めることができる。例えば、工程 2 A が芽胞形成菌を熱により殺菌する工程の場合、工程 1 でジピコリン酸又はその塩と芽胞形成菌とを接触させる工程が、溶液中で行われる場合には、そのまま工程 2 A に供し、溶液の温度を工程 2 A の温度帯へと移行させることができる。

[0056] 各工程の終了については、工程 1 を先に終了する、工程 1 と工程 2 A を同時に終了する、工程 2 A を先に終了する、のいずれでもよい。尚、工程 1 及

び工程 2 A の終了方法は前述した通りである。また、工程 2 A が工程 1 より先に終わる場合、工程 2 A 終了から工程 1 終了までの工程 1 の時間は、本明細書における「接触時間の合計」には含めない。

[0057] 態様 2-1 において、工程 2 A を始める前の工程 1 でのジピコリン酸又はその塩と芽胞形成菌との接触時間は、殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ましくは 30 秒以上、より好ましくは 1 分以上、より好ましくは 3 分以上、より好ましくは 5 分以上、より好ましくは 8 分以上、より好ましくは 10 分以上、より好ましくは 15 分以上、より好ましくは 20 分以上、より好ましくは 25 分以上であり、そして、経済性の観点から、好ましくは 60 分以下、より好ましくは 50 分以下、より好ましくは 40 分以下、より好ましくは 35 分以下、より好ましくは 30 分以下、より好ましくは 25 分以下、より好ましくは 20 分以下、より好ましくは 15 分以下、より好ましくは 10 分以下である。また、この接触時間は、殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ましくは 30 秒～60 分、より好ましくは 1 分～60 分、より好ましくは 3 分～60 分、より好ましくは 5 分～60 分、より好ましくは 5 分～50 分、より好ましくは 5 分～40 分、より好ましくは 8 分～40 分、より好ましくは 10 分～40 分、より好ましくは 15 分～40 分、より好ましくは 20 分～40 分、より好ましくは 25 分～40 分である。また、この接触時間は、殺芽効果のさらなる向上の観点及び経済性の観点から、好ましくは 25 分～35 分である。

[0058] 態様 2-1 において、工程 1 での芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩との接触時間の合計は、殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ましくは 30 分以上、より好ましくは 35 分以上、より好ましくは 40 分以上、より好ましくは 45 分以上、より好ましくは 50 分以上、より好ましくは 55 分以上、より好ましくは 60 分以上であり、そして、経済性の観点から、好ましくは 90 分以下、より好ましくは 80 分以下、より好ましくは 70 分以下、より好ましくは 65 分以下である。

ここで、工程 2 A が工程 1 より先に終わる場合、工程 2 A 終了から工程 1

終了までの工程 1 の時間を接触時間の合計には含めない。

[0059] 工程 1 又は工程 2 A を単独で行う期間の温度、pH 等その他の各条件は、工程 1 終了後に工程 2 を行う態様におけるそれぞれの条件と同じである。

[0060] [態様 2-2 : 工程 1 及び工程 2 A を同時に開始]

本発明の工程 1 と工程 2 A を同時に行う期間を有する殺芽方法は、工程 1 と工程 2 A を同時に開始することができる。すなわち、芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩との pH 6 以下における接触を、物理的手段を施すのと同時に開始することができる。物理的手段として熱を用いる場合、工程 1 及び工程 2 A を同時に行う場合の温度は、前記工程 2 A の熱により殺菌する工程の温度と同様である。すなわち、最初から、工程 2 A の熱により殺菌する工程の温度域で、pH 6 以下の条件下で、ジピコリン酸又はその塩と芽胞形成菌を接触させる。

[0061] 各工程の終了については、工程 1 を先に終了する、工程 1 と工程 2 A を同時に終了する、工程 2 A を先に終了する、のいずれでもよい。尚、工程 1 及び工程 2 A の終了方法は前述した通りである。また、工程 2 A が工程 1 より先に終わる場合、工程 2 A 終了から工程 1 終了までの工程 1 の時間は、本明細書における「接触時間の合計」には含めない。

[0062] 工程 1 又は工程 2 A を単独で行う期間の温度、pH 等その他の各条件は、工程 1 終了後に工程 2 を行う態様におけるそれぞれの条件と同じである。

[0063] [態様 2-3 : 工程 2 A を先に開始]

本発明の工程 1 と工程 2 A を同時に行う期間を有する殺芽方法は、工程 2 A を先に開始することができる。すなわち、先に工程 2 A の物理的手段を芽胞形成菌に施し、物理的手段を施している間に、芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩との接触を開始する。物理的手段として熱を用いる場合、予め芽胞形成菌の温度を工程 2 A の温度帯にしておいて、その温度を保ったまま、ジピコリン酸又はその塩を pH 6 以下にて芽胞形成菌に接触させる。

[0064] 各工程の終了については、工程 1 を先に終了する、工程 1 と工程 2 A を同時に終了する、工程 2 A を先に終了する、のいずれでもよい。尚、工程 1 及

び工程 2 A の終了方法は前述した通りである。また、工程 2 A が工程 1 より先に終わる場合、工程 2 A 終了から工程 1 終了までの工程 1 の時間は、本明細書における「接触時間の合計」には含めない。

[0065] 工程 1 又は工程 2 A を単独で行う期間の温度、pH 等その他の各条件は、工程 1 終了後に工程 2 を行う態様におけるそれぞれの条件と同じである。

[0066] <殺芽助剤組成物>

本発明の殺芽助剤組成物は、ジピコリン酸又はその塩を含む組成物である。本発明の殺芽助剤組成物は、発芽を目的として行う処理に使用する。また、常温（20℃～38℃前後）で用いて殺芽することを目的とする殺菌剤組成物とは区別される。特に、本発明の工程 1 の後、あるいは工程 1 と同時に、物理的または化学的手段により殺菌することで殺芽効果又は殺菌効果を発揮し得る組成物を指す。本発明において、殺芽助剤組成物は、工程 1 で使用され得る。

[0067] 殺芽助剤組成物としては、液体組成物又は固体組成物が挙げられる。

[0068] 液体の殺芽助剤組成物は、ジピコリン酸又はその塩及び溶媒を含む。

[0069] 殺芽助剤組成物が液体の場合に、含まれる溶媒としては、水、又は親水性溶媒が挙げられる。親水性溶媒としてはエタノール、メタノール、イソプロパノール等のアルコール類、グリセリン、エチレングリコール、プロピレングリコール等の多価アルコール類、メチルカルビトール、エチルカルビトール等のカルビトール類などが挙げられる。溶媒は、殺芽効果のさらなる向上の観点及び経済性の観点から、好ましくは水又は水と親水性溶媒の混合物であり、より好ましくは水である。

[0070] 液体の殺芽助剤組成物としては、簡便性の観点から、好ましくはジピコリン酸又はその塩の溶液、より好ましくはジピコリン酸又はその塩の水溶液である。

[0071] 液体の殺芽助剤組成物は、さらに、pH 調整剤を含有することができる。液体の殺芽助剤組成物が含有する pH 調整剤としては、一般に用いられる酸や塩基、例えば、塩酸や硫酸などの無機酸、乳酸やクエン酸あるいはそれら

の塩などの有機酸、水酸化ナトリウムや水酸化カリウムなどの無機塩基、トリイソプロパノールアミンなどの有機塩基が挙げられる。pH調整剤としては、汎用性の観点から、酸としては塩酸や硫酸などの無機酸が好ましく、塩基としては水酸化ナトリウムや水酸化カリウムなどの無機塩基が好ましい。

[0072] 液体の殺芽助剤組成物、好ましくはジピコリン酸又はその塩の溶液、より好ましくはジピコリン酸又はその塩の水溶液の24℃におけるpHは、安全性の観点から、好ましくは1以上、より好ましくは1.2以上であり、そして、芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩の溶液とを接触させる場合の殺芽効果のさらなる向上の観点から、6以下であり、好ましくは5以下、より好ましくは4以下、より好ましくは3以下、より好ましくは2.5以下、より好ましくは1.8以下である。また、ジピコリン酸又はその塩の溶液の24℃におけるpHは、上記の観点を総合すると、好ましくは1～6、より好ましくは1～5、より好ましくは1～4、より好ましくは1～3、より好ましくは1～2.5、より好ましくは1.2～1.8である。

[0073] 液体の殺芽助剤組成物中、好ましくはジピコリン酸又はその塩の溶液中、より好ましくはジピコリン酸又はその塩の水溶液中のジピコリン酸の含有量は、殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ましくは0.05mM以上、より好ましくは0.5mM以上、より好ましくは3mM以上、より好ましくは5mM以上、より好ましくは8mM以上であり、そして、ジピコリン酸又はその塩の溶液の安定性及び経済性の観点から、好ましくは30mM以下、より好ましくは25mM以下、より好ましくは20mM以下、より好ましくは15mM以下、より好ましくは12mM以下である。また、ジピコリン酸又はその塩の溶液中のジピコリン酸の含有量は、上記の観点を総合すると、好ましくは0.05～30mM、より好ましくは0.5～30mM、より好ましくは3～30mM、より好ましくは3～25mM、より好ましくは3～20mM、より好ましくは3～15mM、より好ましくは5～15mM、より好ましくは8～12mMである。

[0074] 本発明の殺芽助剤組成物は、ジピコリン酸又はその塩およびpH調整剤、

水あるいは他の溶媒を含み、過酢酸、スルホペルオキシカルボン酸、またはジカルボン酸ジエステルのいずれも含まない組成物であり得る。ここで含まないとは、殺芽助剤組成物が殺芽効果を有しないことを示し、好ましくは 1 0 0 0 p p m 以下、より好ましくは 1 0 0 p p m 以下、より好ましくは 1 0 p p m 以下、より好ましくは 1 p p m 以下、より好ましくは実質的に 0 p p m である。ここで実質的とは検出限界以下である。

[0075] 本発明の液体の殺芽助剤組成物は好ましくはジピコリン酸又はその塩の溶液、より好ましくはジピコリン酸又はその塩の水溶液である。その場合の殺芽助剤組成物は粉末状のジピコリン酸又はその塩を水あるいはその他の溶媒と混合することにより、好ましくは溶解することにより調製することができる。

[0076] 固体の殺芽助剤組成物としては、ジピコリン酸又はその塩自身又はジピコリン酸又はその塩及び固形化剤を含む組成物が挙げられる。

[0077] 固体の殺芽助剤組成物が含有する固形化剤としては、これに限定されるものではないが、数平均分子量が 1, 0 0 0 ~ 1 0 0, 0 0 0 のポリエチレングリコール；カルナウバロウ、キャンデリラロウ、ホホバ油、ミツロウ、ラノリンなどのロウ類；パラフィン、ワセリン、セレシン、マイクロクリスタリンワックスなどの炭素数 1 5 以上の炭化水素；ラウリン酸、ミリスチン酸、ステアリン酸などの炭素数 1 2 ~ 2 2 の高級脂肪酸；セチルアルコール、ステアリルアルコールなどの炭素数 1 4 ~ 2 2 の高級アルコールが挙げられる。

[0078] 固体の殺芽助剤組成物は、さらに、p H 調整剤を含有することができる。固体の殺芽助剤組成物が含有する p H 調整剤としては、一般に用いられる酸や塩基、例えば、塩酸や硫酸などの無機酸、乳酸やクエン酸あるいはそれらの塩などの有機酸、水酸化ナトリウムや水酸化カリウムなどの無機塩基、トリイソプロパノールアミンなどの有機塩基が挙げられる。p H 調整剤としては、汎用性の観点から、酸としては塩酸や硫酸などの無機酸が好ましく、塩基としては水酸化ナトリウムや水酸化カリウムなどの無機塩基が好ましい。

[0079] 固体の殺芽助剤組成物中のジピコリン酸の含有量は、殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ましくは0.1質量%以上、より好ましくは1質量%以上、より好ましくは5質量%以上、より好ましくは10質量%以上、より好ましくは20質量%以上、より好ましくは30質量%以上、より好ましくは40質量%以上、より好ましくは50質量%以上であり、そして、経済性の観点から、好ましくは100質量%以下、より好ましくは90質量%以下、より好ましくは80質量%以下、より好ましくは70質量%以下、より好ましくは60質量%以下、より好ましくは50質量%以下である。

[0080] 固体の殺芽助剤組成物中の固形化剤の含有量は、簡便性の観点から、好ましくは0質量%以上、より好ましくは10質量%以上、より好ましくは20質量%以上、より好ましくは30質量%以上、より好ましくは40質量%以上、より好ましくは50質量%以上であり、そして、殺芽効果のさらなる向上の観点から、経済性の観点から、好ましくは99.9質量%以下、より好ましくは99質量%以下、より好ましくは95質量%以下、より好ましくは90質量%以下、より好ましくは80質量%以下、より好ましくは70質量%以下、より好ましくは60質量%以下、より好ましくは50質量%以下である。

[0081] 本発明の殺芽助剤組成物は、本発明の殺芽方法の工程1で使用する際に、芽胞形成菌と殺芽助剤組成物を含む溶液の24℃におけるpHが、安全性の観点から、好ましくは1以上、より好ましくは1.2以上であり、そして、殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ましくは5以下、より好ましくは4以下、より好ましくは3以下、より好ましくは2.5以下、より好ましくは1.8以下となるように使用することが好ましい。また、本発明の殺芽助剤組成物は、本発明の殺芽方法の工程1で使用する際に、芽胞形成菌と殺芽助剤組成物を含む溶液の24℃におけるpHが、上記の観点を総合すると、好ましくは1～6、より好ましくは1～5、より好ましくは1～4、より好ましくは1～3、より好ましくは1～2.5、より好ましくは1.2～1.8であるように使用することが好ましい。

[0082] 本発明の殺芽助剤組成物は、本発明の殺芽方法の工程 1 で使用する際に、芽胞形成菌と殺芽助剤組成物を含む溶液中のジピコリン酸の含有量が、殺芽効果のさらなる向上の観点から、好ましくは 0.05 mM 以上、より好ましくは 0.5 mM 以上、より好ましくは 3 mM 以上、より好ましくは 4 mM 以上、より好ましくは 6 mM 以上、より好ましくは 8 mM 以上であり、そして、ジピコリン酸又はその塩の溶液の安定性及び経済性の観点から、好ましくは 30 mM 以下、より好ましくは 25 mM 以下、より好ましくは 20 mM 以下、より好ましくは 15 mM 以下、より好ましくは 12 mM、より好ましくは 10 mM 以下であるように使用することが好ましい。また、本発明の殺芽助剤組成物は、本発明の殺芽方法の工程 1 で使用する際に、芽胞形成菌と殺芽助剤組成物を含む溶液中のジピコリン酸の含有量が、上記の観点を総合すると、好ましくは 0.05～30 mM、より好ましくは 0.5～30 mM、より好ましくは 3～30 mM、より好ましくは 3～25 mM、より好ましくは 3～20 mM、より好ましくは 3～15 mM、より好ましくは 4～15 mM、より好ましくは 6～12、より好ましくは 8～10 mM であるように使用することが好ましい。

[0083] 本発明のジピコリン酸又はその塩は、合成によるもの、または微生物から抽出する方法を用いる発酵法によるものの、いずれでも使用できる。

[0084] 上述した実施の形態に関し、本発明は以下の殺芽方法及び殺芽助剤組成物を開示する。

[0085] <項 1>

下記の工程 1 終了後下記の工程 2 を行う殺芽方法：

工程 1：芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩とを pH 6 以下の条件下で接触させる工程；及び

工程 2：芽胞形成菌を殺菌する工程。

[0086] <項 2>

前記工程 2 が、下記の工程 2A である、<項 1>記載の殺芽方法。

工程 2A：芽胞形成菌を物理的に殺菌する工程。

[0087] <項 3>

前記工程 2 A が、芽胞形成菌を熱、圧力又は電磁波により殺菌する工程である、<項 2>記載の殺芽方法。

[0088] <項 4>

前記工程 2 A において芽胞形成菌を 5 0℃以上 2 5 0℃以下で殺菌する、<項 2>又は<項 3>記載の殺芽方法。

[0089] <項 5>

前記工程 2 A において芽胞形成菌を、好ましくは 5 0℃以上、より好ましくは 5 5℃以上、より好ましくは 6 0℃以上、より好ましくは 6 5℃以上、より好ましくは 7 0℃以上、より好ましくは 7 5℃以上で、そして、好ましくは 2 5 0℃以下、より好ましくは 2 0 0℃以下、より好ましくは 1 5 0℃以下、より好ましくは 1 2 0℃以下、より好ましくは 1 0 0℃以下、より好ましくは 9 0℃以下、より好ましくは 8 5℃以下で殺菌する、また、好ましくは 5 0℃～2 5 0℃、より好ましくは 5 0℃～2 0 0℃、より好ましくは 5 0℃～1 5 0℃、より好ましくは 5 0℃～1 0 0℃、より好ましくは 5 5℃～1 0 0℃、より好ましくは 6 0℃～1 0 0℃、より好ましくは 6 5℃～9 0℃、より好ましくは 7 0℃～9 0℃であり、より好ましくは 7 5℃～8 5℃で殺菌する、<項 2>～<項 4>のいずれか 1 項記載の殺芽方法。

[0090] <項 6>

前記工程 2 A において芽胞形成菌を殺菌する時間が、好ましくは 3 分以上、より好ましくは 5 分以上、より好ましくは 8 分以上、より好ましくは 1 0 分以上、より好ましくは 2 0 分以上、より好ましくは 2 5 分以上であり、そして、好ましくは 9 0 分以下、より好ましくは 7 0 分以下、より好ましくは 5 0 分以下、より好ましくは 4 0 分以下、より好ましくは 3 5 分以下である、<項 2>～<項 5>のいずれか 1 項記載の殺芽方法。

[0091] <項 7>

前記工程 2 が、下記の工程 2 B である、<項 1>～<項 6>のいずれか 1 項記載の殺芽方法。

工程 2 B : 芽胞形成菌を化学的に殺菌する工程。

[0092] <項 8>

前記工程 2 B が、芽胞形成菌を殺菌剤により殺菌する工程である、<項 7>記載の殺芽方法。

[0093] <項 9>

殺菌剤が液状物として用いられる、<項 8>記載の殺芽方法。

[0094] <項 10>

殺菌剤が、ハロゲン化物、アルコール類、アルデヒド類、フェノール類及び過酸化物から選ばれる 1 種以上である、また、次亜塩素酸又はその塩、亜塩素酸及びその塩、ジクロロイソシアヌル酸及びその塩、トリクロロイソシアヌル酸及びその塩、二酸化塩素、ポピドンヨード、ヨードホルム、エタノール、1-プロパノール、イソプロピルアルコール、メタノール、ホルムアルデヒド、グルタルアルデヒド、石灰酸、クレゾール、キシレノール、イソプロピルメチルフェノール、トリクロサン、過酢酸、過酸化水素、並びに、オゾンから選ばれる 1 種以上である、<項 8>~<項 9>いずれか 1 項記載の殺芽方法。

[0095] <項 11>

殺菌剤が、次亜塩素酸及びその塩、亜塩素酸及びその塩、ジクロロイソシアヌル酸及びその塩、トリクロロイソシアヌル酸及びその塩、並びに、二酸化塩素から選ばれる 1 種以上の水溶液である、<項 8>~<項 10>いずれか 1 項記載の殺芽方法。

[0096] <項 12>

殺菌剤の有効塩素濃度が、好ましくは 10 ppm 以上、より好ましくは 50 ppm 以上、より好ましくは 80 ppm 以上であり、そして、1000 ppm 以下、より好ましくは 800 ppm 以下、より好ましくは 500 ppm 以下、より好ましくは 300 ppm 以下、より好ましくは 150 ppm 以下である、<項 8>~<項 11>いずれか 1 項記載の殺芽方法。

[0097] <項 13>

殺菌剤が、ガス状であり、酸化エチレン、ホルムアルデヒド、過酸化水素、オゾン及び二酸化塩素から選ばれる１種以上である＜項８＞～＜項１２＞いずれか１項記載の殺芽方法。

[0098] ＜項１４＞

前記工程１の接触時の２４℃におけるｐＨが、好ましくは１以上、より好ましくは１．２以上であり、そして、好ましくは５以下、より好ましくは４以下、より好ましくは３以下、より好ましくは２．５以下、より好ましくは１．８以下である、また、好ましくは１～６、より好ましくは１～５、より好ましくは１～４、より好ましくは１～３、より好ましくは１～２．５、より好ましくは１．２～１．８である、＜項１＞～＜項１３＞のいずれか１項記載の殺芽方法。

[0099] ＜項１５＞

前記工程１において、芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩とを液中で接触させる、＜項１＞～＜項１４＞のいずれか１項記載の殺芽方法。

[0100] ＜項１６＞

液中のジピコリン酸の含有量が０．０５ｍＭ以上３０ｍＭ以下である、＜項１＞～＜項１５＞のいずれか１項記載の殺芽方法。

[0101] ＜項１７＞

液中のジピコリン酸の含有量が、好ましくは０．０５ｍＭ以上、より好ましくは０．５ｍＭ以上、より好ましくは３ｍＭ以上、より好ましくは４ｍＭ以上、より好ましくは６ｍＭ以上、より好ましくは８ｍＭ以上であり、そして、好ましくは３０ｍＭ以下、より好ましくは２５ｍＭ以下、より好ましくは２０ｍＭ以下、より好ましくは１５ｍＭ以下、より好ましくは１２ｍＭ、より好ましくは１０ｍＭ以下である、また、好ましくは０．０５～３０ｍＭ、より好ましくは０．５～３０ｍＭ、より好ましくは３～３０ｍＭ、より好ましくは３～２５ｍＭ、より好ましくは３～２０ｍＭ、より好ましくは３～１５ｍＭ、より好ましくは４～１５ｍＭ、より好ましくは６～１２、より好ましくは８～１０ｍＭである、＜項１＞～＜項１６＞のいずれか１項記載の殺芽方

法。

[0102] <項 1 8>

前記工程 1 を 1 5℃以上 5 0℃未満で行う、<項 1>～<項 1 7>のいずれか 1 項記載の殺芽方法。

[0103] <項 1 9>

前記工程 1 を、好ましくは 1 5℃以上、より好ましくは 2 0℃以上であり、そして、好ましくは 5 0℃未満、より好ましくは 4 9℃以下、より好ましくは 4 5℃以下、より好ましくは 4 0℃以下、より好ましくは 3 0℃以下で行う、また、好ましくは 1 5℃～5 0℃未満、より好ましくは 1 5℃～4 9℃、より好ましくは 1 5℃～4 0℃、より好ましくは 1 5～3 0℃で行う、<項 1>～<項 1 8>のいずれか 1 項記載の殺芽方法。

[0104] <項 2 0>

前記工程 1 を 5 分以上 6 0 分以下行う、<項 1>～<項 1 9>のいずれか 1 項記載の殺芽方法。

[0105] <項 2 1>

前記工程 1 を、好ましくは 3 0 秒以上、より好ましくは 1 分以上、より好ましくは 3 分以上、より好ましくは 5 分以上、より好ましくは 8 分以上、より好ましくは 1 0 分以上、より好ましくは 1 5 分以上、より好ましくは 2 0 分以上、より好ましくは 2 5 分以上、そして、6 0 分以下、より好ましくは 5 0 分以下、より好ましくは 4 0 分以下、より好ましくは 3 5 分以下行う、また、好ましくは 3 0 秒～6 0 分、より好ましくは 1 分～6 0 分、より好ましくは 3 分～6 0 分、より好ましくは 5 分～6 0 分、より好ましくは 5 分～5 0 分、より好ましくは 5 分～4 0 分、より好ましくは 8 分～4 0 分、より好ましくは 8 分～3 5 分、より好ましくは 1 0 分～3 5 分、より好ましくは 1 5 分～3 5 分、より好ましくは 2 0 分～3 5 分、より好ましくは 2 5 分～3 5 分を行う、<項 1>～<項 2 0>のいずれか 1 項記載の殺芽方法。

[0106] <項 2 2>

下記の工程 1 と下記の工程 2 A を同時に行う期間を有する殺芽方法：

工程 1：芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩とを pH 6 以下の条件下で接触させる工程；及び

工程 2 A：芽胞形成菌を物理的に殺菌する工程。

[0107] <項 2 3>

前記工程 2 Aが、芽胞形成菌を熱、圧力又は電磁波により殺菌する工程である、<項 2 2>記載の殺芽方法。

[0108] <項 2 4>

前記工程 2 Aにおいて芽胞形成菌を 5 0℃以上 2 5 0℃以下で殺菌する、<項 2 2>又は<項 2 3>記載の殺芽方法。

[0109] <項 2 5>

前記工程 2 Aにおいて芽胞形成菌を、好ましくは 5 0℃以上、より好ましくは 5 5℃以上、より好ましくは 6 0℃以上、より好ましくは 6 5℃以上、より好ましくは 7 0℃以上、より好ましくは 7 5℃以上で、そして、好ましくは 2 5 0℃以下、より好ましくは 2 0 0℃以下、より好ましくは 1 5 0℃以下、より好ましくは 1 2 0℃以下、より好ましくは 1 0 0℃以下、より好ましくは 9 0℃以下、より好ましくは 8 5℃以下で殺菌する、また、好ましくは 5 0℃～2 5 0℃、より好ましくは 5 0℃～2 0 0℃、より好ましくは 5 0℃～1 5 0℃、より好ましくは 5 0℃～1 0 0℃、より好ましくは 5 5℃～1 0 0℃、より好ましくは 6 0℃～1 0 0℃、より好ましくは 6 5℃～9 0℃、より好ましくは 7 0℃～9 0℃であり、より好ましくは 7 5℃～8 5℃で殺菌する、<項 2 2>～<項 2 4>のいずれか 1 項記載の殺芽方法。

[0110] <項 2 6>

前記工程 2 Aにおいて芽胞形成菌を 5 0℃以上 2 5 0℃以下で殺菌する時間が、3 分以上 9 0 分以下である、<項 2 2>～<項 2 5>のいずれか 1 項記載の殺芽方法。

[0111] <項 2 7>

前記工程 2 Aにおいて芽胞形成菌を殺菌する時間が、好ましくは 3 分以上、より好ましくは 5 分以上、より好ましくは 8 分以上、より好ましくは 1 0 分

以上、より好ましくは20分以上、より好ましくは25分以上であり、そして、好ましくは90分以下、より好ましくは70分以下、より好ましくは50分以下、より好ましくは40分以下、より好ましくは35分以下である、
＜項22＞～＜項26＞のいずれか1項記載の殺芽方法。

[0112] ＜項28＞

前記工程1において、芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩とを液中で接触させる、＜項22＞～＜項27＞のいずれか1項記載の殺芽方法。

[0113] ＜項29＞

前記工程1の接触時の24℃におけるpHが、好ましくは1以上、より好ましくは1.2以上であり、そして、好ましくは5以下、より好ましくは4以下、より好ましくは3以下、より好ましくは2.5以下、より好ましくは1.8以下である、また、好ましくは1～6、より好ましくは1～5、より好ましくは1～4、より好ましくは1～3、より好ましくは1～2.5、より好ましくは1.2～1.8である、＜項22＞～＜項28＞のいずれか1項記載の殺芽方法。

[0114] ＜項30＞

液中のジピコリン酸の濃度が0.05mM以上30mM以下である、＜項22＞～＜項29＞のいずれか1項記載の殺芽方法。

[0115] ＜項31＞

液中のジピコリン酸の含有量が、好ましくは0.05mM以上、より好ましくは0.5mM以上、より好ましくは3mM以上、より好ましくは4mM以上、より好ましくは6mM以上、より好ましくは8mM以上であり、そして、好ましくは30mM以下、より好ましくは25mM以下、より好ましくは20mM以下、より好ましくは15mM以下、より好ましくは12mM、より好ましくは10mM以下である、また、好ましくは0.05～30mM、より好ましくは0.5～30mM、より好ましくは3～30mM、より好ましくは3～25mM、より好ましくは3～20mM、より好ましくは3～15mM、より好ましくは4～15mM、より好ましくは6～12、より好まし

くは8～10 mMである、＜項22＞～＜項30＞のいずれか1項記載の殺芽方法。

[0116] ＜項32＞

前記工程2A開始前に、前記工程1を15℃以上50℃未満で行う期間を有する、＜項22＞～＜項31＞のいずれか1項記載の殺芽方法。

[0117] ＜項33＞

前記工程2A開始前に、前記工程1を、好ましくは15℃以上、より好ましくは20℃以上であり、そして、好ましくは50℃未満、より好ましくは49℃以下、より好ましくは45℃以下、より好ましくは40℃以下、より好ましくは30℃以下で行う、また、好ましくは15℃～50℃未満、より好ましくは15℃～49℃、より好ましくは15℃～40℃、より好ましくは15～30℃で行う、＜項22＞～＜項32＞のいずれか1項記載の殺芽方法。

[0118] ＜項34＞

前記工程2A開始前に、前記工程1を、30秒以上60分以下行う、＜項22＞～＜項33＞のいずれか1項記載の殺芽方法。

[0119] ＜項35＞

前記工程2A開始前に、前記工程1を、好ましくは30秒以上、より好ましくは1分以上、より好ましくは3分以上、よりこのましくは5分以上、より好ましくは8分以上、より好ましくは10分以上、より好ましくは15分以上、より好ましくは20分以上、より好ましくは25分以上、そして、好ましくは60分以下、より好ましくは50分以下、より好ましくは40分以下、より好ましくは35分以下行う、また、好ましくは30秒～60分、より好ましくは1分～60分、より好ましくは3分～60分、より好ましくは5分～60分、より好ましくは5分～50分、より好ましくは5分～40分、より好ましくは8分～40分、より好ましくは10分～40分、より好ましくは15分～40分、より好ましくは20分～40分、より好ましくは25分～40分、より好ましくは25分～35分行う、＜項22＞～＜項34＞

のいずれか1項記載の殺芽方法。

[0120] <項36>

前記工程1を合計で30分以上90分以下行う、<項22>~<項35>のいずれか1項記載の殺芽方法。

[0121] <項37>

前記工程1を合計で、好ましくは30分以上、より好ましくは40分以上、より好ましくは45分以上、より好ましくは50分以上、より好ましくは55分以上、より好ましくは60分以上、そして、好ましくは90分以下、より好ましくは80分以下、より好ましくは70分以下、より好ましくは65分以下行う、<項22>~<項36>のいずれか1項記載の殺芽方法。

[0122] <項38>

ジピコリン酸又はその塩を含有し、pH6以下である、殺芽助剤組成物。

[0123] <項39>

24℃におけるpHが、好ましくは1以上、より好ましくは1.2以上であり、そして、

好ましくは5以下、より好ましくは4以下、より好ましくは3以下、より好ましくは2.

5以下、より好ましくは1.8以下である、<項38>記載の殺芽助剤組成物。

[0124] <項40>

ジピコリン酸を0.05mM以上30mM以下含有する液体組成物である、<項38>又は<項39>記載の殺芽助剤組成物。

[0125] <項41>

ジピコリン酸の含有量が、好ましくは0.05mM以上、より好ましくは0.5mM以上、より好ましくは3mM以上、より好ましくは5mM以上、より好ましくは8mM以上であり、そして、好ましくは30mM以下、より好ましくは25mM以下、より好ましくは20mM以下、より好ましくは15mM以下、より好ましくは12mM以下である、また、好ましくは0.05~

30 mM、より好ましくは0.5～30 mM、より好ましくは3～30 mM、より好ましくは3～25 mM、より好ましくは3～20 mM、より好ましくは3～15 mM、より好ましくは5～15 mM、より好ましくは8～12 mMである、＜項38＞～＜項40＞のいずれか1項記載の殺芽助剤組成物。

[0126] ＜項42＞

ジピコリン酸又はその塩及び溶媒を含有する液体組成物、又は、ジピコリン酸又はその塩、pH調整剤、及び溶媒からなる液体組成物である、＜項38＞～＜項41＞の何れか1項記載の殺芽助剤組成物。

[0127] ＜項43＞

溶媒が、好ましくは水又は水と親水性溶媒の混合物であり、より好ましくは水である、＜項38＞～＜項42＞のいずれか1項記載の殺芽助剤組成物。

[0128] ＜項44＞

pH調整剤が、好ましくは塩酸や硫酸などの無機酸、乳酸やクエン酸あるいはそれらの塩などの有機酸、好ましくは水酸化ナトリウムや水酸化カリウムなどの無機塩基、並びに、トリイソプロパノールアミンなどの有機塩基から選ばれる、＜項38＞～＜項43＞のいずれか1項記載の殺芽助剤組成物。

[0129] ＜項45＞

ジピコリン酸又はその塩、pH調整剤及び水あるいは他の溶媒を含み、過酢酸、スルホペルオキシカルボン酸及びジカルボン酸ジエステルの含有量が、好ましくは1000 ppm以下、より好ましくは100 ppm以下、より好ましくは10 ppm以下、より好ましくは1 ppm以下、より好ましくは実質的に0 ppmである、＜項38＞～＜項44＞のいずれか1項記載の殺芽助剤組成物。

[0130] ＜項46＞

ジピコリン酸又はその塩を含有し、pH6以下である、殺芽助剤組成物の殺芽助剤としての使用。

実施例

[0131] 試験1：実施例1-1～1-4、比較例1-1：

殺芽試験

表 1 に記載された pH に調整した 10 mM ジピコリン酸水溶液（以下、DPA 溶液とも

いう）と *B. cereus* NBRC 13494 株を供試菌株として用いて、次の手順により試験を行い、殺芽効果を評価した。評価結果を表 1 に示す。なお、芽胞形成菌は、以下の全ての試験において、顕微鏡観察により、95%以上が芽胞を形成していることを確認した後に実験に用いた。

尚、下記工程 1-1、工程 1-2 及び工程 2A-1 において、芽胞形成菌はジピコリン酸（以下、DPA ともいう）と pH 6 以下の条件で接触しており、工程 1 に含まれる。また、工程 2A は工程 2 に含まれる。本試験は、第 0052 段落の態様 2-1 に相当する。

[0132] ジピコリン酸水溶液： ジピコリン酸は試薬（和光純薬工業株式会社製、製造コード 165-05342）を、水はイオン交換水を、pH 調整剤は塩酸又は水酸化ナトリウムを用いた。ジピコリン酸水溶液の調製は 24℃ にて行った。卓上型 pH メーター型式 9611（HORI BA 製）にてジピコリン酸水溶液の pH を測定しながら、pH 調整剤をジピコリン酸水溶液に滴下して、ジピコリン酸水溶液の pH を調整した。実施例において、特に断らない限り、pH は、24℃ における pH である。

[0133] 一手順一

（1）工程 1-1：芽胞を有する芽胞形成菌（*B. cereus* NBRC 13494 株）の含有量が 10^8 CFU/mL である水分散液（以下、芽胞液という）100 μ L を、表に記載した pH の 10 mM DPA 溶液 900 μ L と、各々混合し、試験液とした。

（2）工程 1-2：上記（1）の試験液を 24℃ で 30 分間静置した。

（3）工程 2A：上記（2）の後、試験液を 80℃ で 30 分間加熱処理した。

加熱工程には、Major Science 社のアルミブロック恒温槽 MD-01N-110 を用いた。

（4）（3）で熱処理した試験液を滅菌水で段階希釈し、それぞれの希釈液

をLB寒天培地（BD社製）に100 μ L塗抹し、30℃、16時間培養した。

（5）（4）の培養後、生えてきたコロニー数にて、生存菌数X（CFU/mL）を求めた。

（6）下記の式により得た殺芽効果指数により殺芽効果を評価した。

ここで、殺芽効果指数が大きいほど、殺芽効果が高いことを示す。

[0134] （殺芽効果指数）＝ $\text{Log}_{10} \left[\frac{\text{（コントロールの生存菌数）}}{\text{（生存菌数X）}} \right]$

[0135] ここで、コントロールの生存菌数（CFU/mL）は、DPA溶液の代わりに、それぞれのpHに調整した滅菌水を用いて、上記（1）～（6）を行い、求めた生存菌数である。また、表には生存菌数X及びコントロールの生存菌数についても10を底とする対数で記載した。尚、実施例1-1の生存菌数Xは検出限界以下であったので、便宜上、生存菌数Xを1として計算した。

[0136] 表1に示す通り、実施例1-1～1-4は比較例1-1との対比から、本発明の殺芽方法は優れた殺芽効果及び殺菌効果を有する。

[0137]

[表1]

	実施例				比較例
	1-1	1-2	1-3	1-4	1-1
	1.5	2.2	3.5	4.8	6.7
DPA溶液のpH	検出限界	1.90	5.96	8.63	9.37
生存菌数X (Log10[cfu/mL])	5.18	6.86	9.37	9.52	9.41
コントロールの生存菌数 (Log10[cfu/mL])	5.18※	4.96	3.41	0.89	0.04
結果	殺芽効果指数				

※生存菌数Xを1として計算した

[0138] 試験2：実施例2-1～2-3：

10mMジピコリン酸水溶液の代わりに、表2に記載された濃度のDPA溶液を用いた以外は、実施例1-2と同様の条件にて試験を行い、殺芽効果を評価した。評価結果を表2に示す。

[0139]

[表2]

		実施例	実施例	実施例	実施例
		2-1	2-2	2-3	1-2
DPA濃度 [mM]		0.1	1	5	10
結果	生存菌数X (Log10[cfu/mL])	6.19	5.45	2.00	1.90
	コントロールの生存菌数 (Log10[cfu/mL])	6.57	6.57	5.66	6.86
	殺芽効果指数	0.38	1.12	3.66	4.96

[0140] 試験3：実施例3-1：

工程1-2の静置時間を表3に記載された時間に代えたこと以外は実施例1-2と同様の試験を行い、殺芽効果を評価した。評価結果を表3に示す。ここで、工程1-2の静置時間が0とは、工程1及び2を同時に開始したことを示す。

[0141] [表3]

		実施例	
		3-1	1-2
工程1-2の静置時間 [分]		0	30
結果	生存菌数X (Log10[cfu/mL])	3.71	1.90
	コントロールの生存菌数 (Log10[cfu/mL])	6.47	6.86
	殺芽効果指数	2.76	4.96

[0142] 試験4：実施例4-1～4-3：

工程2Aの加熱処理の温度を表4に記載された加熱温度とした以外は実施例1-2と同様の試験を行い、殺芽効果を評価した。評価結果を表4に示す。

[0143]

[表4]

		実施例			
		4-1	4-2	1-2	4-3
加熱温度 [°C]		50	60	80	100
結果	生存菌数X (Log10[cfu/mL])	6.30	4.00	1.90	3.56
	コントロールの生存菌数 (Log10[cfu/mL])	6.52	6.34	6.86	4.30
	殺芽効果指数	0.22	2.34	4.96	0.74

[0144] 尚、実施例4-3ではコントロールでも殺芽効果が比較的高かったので、殺菌効果指数の値が小さかった。

[0145] 試験5：実施例5-1～5-2：

工程2Aの加熱処理の時間を表5に記載された加熱時間とした以外は実施例1-2と同様の試験を行い、殺芽効果を評価した。評価結果を表5に示す。

[0146] [表5]

		実施例		
		5-1	5-2	1-2
加熱時間 [分]		5	10	30
結果	生存菌数X (Log10[cfu/mL])	6.63	4.62	1.90
	コントロールの生存菌数 (Log10[cfu/mL])	7.58	6.02	6.86
	殺芽効果指数	0.95	1.40	4.96

[0147] 試験6：比較例6-1～6-4：

表6に記載した水溶液を用いて、試験1と同様の試験を行い、殺芽効果を評価した。具体的には、DPAに代えて表6に記載した濃度の各薬剤を用いて試験を行い、殺芽効果を評価した。評価結果を表6に示す。尚、水はイオン交換水を、pH調整剤は塩酸又は水酸化ナトリウムを用いた。また、表6記載の薬剤は下記の通りである。

[0148] ・DPA-Ca : ジピコリン酸Ca塩、DPA（和光純薬工業株式会社製、製造コード165-05342）及び塩化カルシウム（和光純薬株式会社製、製造コード039-00475）を用いて調製した。

・L-アラニン : 和光純薬工業株式会社製、製造コード010-01042

・イノシン : 和光純薬工業株式会社製、製造コード095-00233

[0149]

[表6]

	実施例		比較例			
	1-2	1-4	6-1	6-2	6-3	6-4
薬剤	DPA	10mM	—	—	—	—
	DPA-Ca	—	10mM	—	—	—
	L-アラニン	—	—	10mM	5mM	10mM
	イノシン	—	—	—	5mM	10mM
pH		2.2	4.8	7.5	7.5	7.5
結果	生存菌数X (Log10[cfu/mL])	1.90	8.63	7.86	9.34	7.99
	コントロールの生存菌数 (Log10[cfu/mL])	6.86	9.52	8.01	9.35	7.96
	殺芽効果指数	4.96	0.89	0.20	0.10	-0.03

[0150] 表6に示す通り、実施例1-2及び1-4は、比較例6-1～6-4と比べ、優れた殺芽効果を示す。すなわち、pH6以下のDPA溶液を用いる本発明の殺芽方法は、通常のDPA-Caを通常のpHで用いる場合や、L-

アラニン若しくはL-アラニン及びイノシンを併用して用いる場合と比べて、優れた殺芽効果を有する。

[0151] 試験7：実施例7-1、7-2：

殺芽試験

pHを2.2に調整した10mMジピコリン酸水溶液（以下、DPA溶液ともいう）と*B. cereus* NBRC 13494株を供試菌株として用いて、次の手順により殺芽試験を行い、殺芽効果を評価した。評価結果を表7に示す。

[0152] 尚、下記工程1-1及び工程1-2において、芽胞形成菌はジピコリン酸（以下、DPAともいう）とpH6以下の条件で接触しており、工程1に含まれる。また、工程2Bは工程2に含まれる。本試験は、第0052段落の態様1に相当する。

[0153] 一手順—

（1）工程1-1：芽胞を有する芽胞形成菌（*B. cereus* NBRC 13494株）の含有量が 10^8 CFU/mLである水分散液（以下、芽胞液という）100 μ Lを、pHが2.2の10mMDPA溶液900 μ Lと、各々混合し、試験液とした。

（2）工程1-2：上記（1）の試験液を24℃で表7に記載した時間静置した。

（3）工程1-3：工程1-2の試験液を遠心分離器（株式会社クボタ製テーブルトップマイクロ冷却遠心機3500）で12krpm10分間の条件で遠心分離操作を行い、上清を取り除いた。

（4）工程2B：工程1-3の後、上清を取り除いて、ただちに、表7に記載した濃度の次亜塩素酸ナトリウム水溶液を1mL加え、24℃で10分間静置した。

（5）工程2Bの試験液0.5mLに対し、0.1%チオ硫酸ナトリウム入りLP溶液4.5mLを加えることにより、工程2Bの試験液を10倍に希釈し、それを10分間静置して次亜塩素酸ナトリウムの殺菌作用を止めた。

（6）（5）の試験液を滅菌水で段階希釈し、それぞれの希釈液をLB寒天

培地（ＢＤ社製）に１００μＬ塗抹し、３０℃、１６時間培養した。

（７）（６）の培養後、生えてきたコロニー数にて、生存菌数 X （ＣＦＵ／ｍＬ）を求めた。

（８）下記の式により得た殺芽効果指数により殺芽効果を評価した。

ここで、殺芽効果指数が大きいほど、殺芽効果が高いことを示す。

[0154] （殺芽効果指数）＝ $\text{Log}10 \left[\left(\text{コントロールの生存菌数} \right) / \left(\text{生存菌数} X \right) \right]$

[0155] ここで、コントロールの生存菌数（ＣＦＵ／ｍＬ）は、ＤＰＡ溶液の代わりに、ｐＨを２．２に調整した滅菌水を用いて、上記（１）～（８）を行い、求めた生存菌数である。また、表には生存菌数 X 及びコントロールの生存菌数についても１０を底とする対数で記載した。

[0156] 尚、試験７で用いた薬剤は下記の通りである。

・次亜塩素酸ナトリウム：南海化学株式会社製

・０．１％チオ硫酸ナトリウム入りＬＰ溶液：和光純薬工業株式会社製のＬＰ希釈液「ダイゴ」と和光純薬工業株式会社製のチオ硫酸ナトリウムを用いて、ＬＰ希釈液「ダイゴ」のマニュアルに従って調製した。

[0157] [表7]

		実施例	
		７－１	７－２
工程１－２	DPA接触時間 [分]	10	30
工程2B	次亜塩素酸ナトリウム 有効塩素濃度[ppm]	100	100
結果	生存菌数 X (Log10[cfu/mL])	4.3	2.0
	コントロールの生存菌数 (Log10[cfu/mL])	8.0	8.0
	殺芽効果指数	3.7	6.0

[0158] 通常、殺芽には１０００ｐｐｍ程度の有効塩素濃度が必要であるが、表７

に示す通り、より低い濃度の次亜塩素酸ナトリウムを用いた場合でも、殺芽効果指数が高く、よって、工程 1 を行うことで、低濃度の次亜塩素酸ナトリウムでも殺芽効果及び殺菌効果が優れることが示された。

[0159] <発芽の確認>

本明細書において、「発芽」は、例えば、芽胞の暗色化を確認することによって、確認することが可能である。確認のための方法としては、工程 1 及び工程 2 の後、暗色化した芽胞の有無を確認することが挙げられる。すなわち、位相差顕微鏡で暗色化の有無を確認する。ここで、発芽していない場合、白色に見える芽胞は、発芽すると暗色化しており、暗色化したものは発芽していることを示す。

[0160] 本発明の殺芽方法は、例えば、リネン洗浄、食品腐敗防止、環境浄化などの幅広い用途に使用することができる。

請求の範囲

- [請求項1] 下記の工程 1 終了後下記の工程 2 を行う殺芽方法：
- 工程 1：芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩とを pH 6 以下の条件下で接触させる工程；及び
- 工程 2：芽胞形成菌を殺菌する工程。
- [請求項2] 前記工程 2 が、下記の工程 2 Aである、請求項 1 記載の殺芽方法。
- 工程 2 A：芽胞形成菌を物理的に殺菌する工程。
- [請求項3] 前記工程 2 が、下記の工程 2 Bである、請求項 1 記載の殺芽方法。
- 工程 2 B：芽胞形成菌を化学的に殺菌する工程。
- [請求項4] 前記工程 2 Aが、熱により殺菌する工程である、請求項 2 記載の殺芽方法。
- [請求項5] 前記工程 2 Bが、芽胞形成菌を殺菌剤により殺菌する工程である、請求項 3 記載の殺芽方法。
- [請求項6] 前記工程 1 において、芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩とを液中で接触させる、請求項 1～5 のいずれか 1 項記載の殺芽方法。
- [請求項7] 液中のジピコリン酸の含有量が 0.05 mM以上 30 mM以下である、請求項 6 記載の殺芽方法。
- [請求項8] 前記工程 1 を 15℃以上 50℃未満で行う、請求項 1～7 のいずれか 1 項記載の殺芽方法。
- [請求項9] 前記工程 1 を 5 分以上 60 分以下行う、請求項 1～8 のいずれか 1 項記載の殺芽方法。
- [請求項10] 下記の工程 1 と下記の工程 2 Aを同時に行う期間を有する殺芽方法：
- 工程 1：芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩とを pH 6 以下の条件下で接触させる工程；及び
- 工程 2 A：芽胞形成菌を物理的に殺菌する工程。
- [請求項11] 前記工程 2 Aが、熱により殺菌する工程である、請求項 10 記載の殺芽方法。
- [請求項12] 前記工程 2 Aにおいて芽胞形成菌を 50℃以上 250℃以下で殺菌す

る、請求項 10 又は 11 記載の殺芽方法。

- [請求項13] 前記工程 2 A において芽胞形成菌を 5 0℃以上 2 5 0℃以下で殺菌する時間が、3 分以上 9 0 分以下である、請求項 12 記載の殺芽方法。
- [請求項14] 前記工程 1 において、芽胞形成菌とジピコリン酸又はその塩とを液中で接触させる、請求項 10～13 のいずれか 1 項記載の殺芽方法。
- [請求項15] 液中のジピコリン酸の含有量が 0. 0 5 m M 以上 3 0 m M 以下である、請求項 14 記載の殺芽方法。
- [請求項16] 前記工程 2 A 開始前に、前記工程 1 を 1 5℃以上 5 0℃未満で行う期間を有する、請求項 10～15 のいずれか 1 項記載の殺芽方法。
- [請求項17] 前記工程 2 A 開始前に、前記工程 1 を 3 0 秒以上 6 0 分以下行う、請求項 10～16 のいずれか 1 項記載の殺芽方法。
- [請求項18] 前記工程 1 を合計で 3 0 分以上 9 0 分以下行う、請求項 10～17 のいずれか 1 項記載の殺芽方法。
- [請求項19] ジピコリン酸を含有し、p H 6 以下である、殺芽助剤組成物。
- [請求項20] ジピコリン酸を 0. 0 5 m M 以上 3 0 m M 以下含有する液体組成物である、請求項 19 記載の殺芽助剤組成物。