

食品保存へのオゾンの利用に関する研究 (第12報)

米飯およびすし飯のオゾン処理効果

内藤茂三

米飯はでん粉質を主成分として水分含量が多いので変敗を生じやすい。20~30℃の温度で米飯を保存すると、すえた臭いが出て、pHが低下するようになり食べられなくなるが、変敗がさらに進行すると糸を引くようになり、米粒が軟化、溶解することは経験的によく知られている。

米飯の成分組成はでん粉を主体としたものであり、100℃以上で炊き上げるため変敗に関与する微生物は、好気性の耐熱性芽胞菌である *Bacillus* がほとんどである。

しかし、米飯の含水量が少ない時、および空気の乾燥した場所に保存して、*Bacillus* の増殖が遅れる時、又は内部のみ変敗するときには糸状菌による変敗がときどきみられる¹⁾。

また釜のふたを開放しないでそのまま保存すると変敗がおくれる点から、炊飯後の空中より落下する菌の繁殖も考えられる。さらに炊飯容器に付着している *Bacillus* の胞子が変敗原因として重要であるともいわれている²⁾。

種々の観点から米飯の変敗を考えてみると、衛生的な工場で製造された米飯の変敗原因菌は、ほとんど *Bacillus* であると考えられる。

その主な理由は上記で述べた以外に、米飯は水分含量が多いため酸化還元電位が高く、*Clostridium* などの嫌気性耐熱性芽胞菌が増殖する可能性は極めて低いことなどである。

Bacillus の中でもでん粉を加水分解できない菌種は単独では米飯にほとんど変化を与えない。

今回、米飯の保存性を向上させる目的で、精白米にオゾン処理(気中、水中)を行って米飯を製造するとともに、炊き上げた米飯を冷却工程でオゾン処理を行った。

実 験 方 法

1. 供試試料

供試した精白米は昭和58年度産水稻で、水分15.5%、たんぱく質6.8%、脂質1.3%、炭水化物75.8%、灰分0.6%のものである。

2. 米飯の製造方法

米の使用量は1回の炊飯に800gを使用し、水加減は米1:水1.1、米1:水1.2、米1:水1.3、米

1 : 水1.4の4通りとした。

電気自動炊飯器を使用して炊き上げた後、そのまま4時間保存した。

冷却工程でオゾン処理を行う試料としてすし飯を用いた。すし飯の製造は次のようにして行った。米飯炊き上げ後、15分間むらし(スイッチが切れてから、ふたをとるまで)、直ちに飯を別器(アルマイト製)に移し、むらのないように合わせ酢をふりかけた。

なお1分間30回(100回/分)の速度で50秒間、飯杓子でまぜ合わせた後まんべんなくかきまぜた。

これに温度20℃の空気を流速100ℓ/分で10~20分間処理し試験品とした。

なお、合わせ酢として、仕上がりすし飯量の0.80%の食塩(市販食塩、塩化ナトリウム99%以上)と6.00%の酢(ミツカン特級米酢、酢酸含量4.51%、食塩含量0.74%)を用いた(pH 2.5)。

3. 保存試験

精白米にオゾン処理を行い調製した米飯及び精白米をオゾン水で洗米、浸漬して調製した米飯は、炊き上げ後そのまま4時間保存したものをプラスチック製(PP製)に盛りつけ、ふたをして25℃の恒温器で1~10日間保存した。すし飯は合わせ酢をふりかけ、20℃に冷却してから上記と同様にして保存した。

4. オゾン処理

4. 1. 精白米の気中オゾン処理 既報^{3)~6)}と同様に、オゾン処理にはオゾン濃度自動調節器(冷凍機付、スガ試験機株製、OMS-2AC)を用い、オゾン濃度50 ppm、流量100ℓ/分、温度10℃で10分から120分間処理を行った。

4. 2. 精白米の液中オゾン処理 精白米800gを水道水で充分洗米し、その後オゾン水(0.3~0.5 ppm)で洗米した。これを30分間、オゾン水(0.3~0.5 ppm)に浸漬した。

オゾン水の製造は、酸素ポンプを用いたオゾン水製造装置(浴面放電型、試作機)を用いて行った。

4. 3. 冷却工程でのオゾン処理 炊き上げ後の冷却工程でのオゾン処理は炊き上げ後調整したすし飯をセイロに移し、セイロごとオゾン照射自動濃度調節器(スガ試験機株製、OMS-2AC)に入れてオゾン濃度0.2, 0.5, 1.0 ppm、温度20℃、流速100ℓ/分で10~20分間処理した。

5. 分離微生物の増殖速度の測定

あらかじめブドウ糖液体培地(ブドウ糖0.5%、酵母エキス0.25%、ポリペプトン0.5%、pH 7.5)で30℃、48時間培養した菌体を用いて微生物増殖曲線自記装置(大衛製作所株製、BT-6)で分析した。

6. 微生物菌数の測定

6. 1. 一般細菌数、酵母菌数および糸状菌数の測定 各試料25gに滅菌生理食塩水を加えて全量を250mlにした後ホモジナイズし、適宜希釈して平板培養法で測定した。なお、一般細菌数測定には標準寒天培地、酵母菌数の測定にはクロラムフェニコールを加えたYM寒天培地、糸状菌数の測定にはツェペック寒天培地をそれぞれ用いた。また、一般細菌数、酵母菌数および糸状菌数の合計を微生物菌数とした。

6. 2. 耐熱性芽胞菌数の測定 試料10gに滅菌生理食塩水を加えて全量を100mlにした後、沸騰水中で20分間加熱処理を行い、水で急冷した。加熱処理を行った試料液をホモジナイズした後、適宜希釈して平板培養法で測定した。

7. pHの測定

試料10gに滅菌生理食塩水を加えて全量を100mlにした試料液をホモゲナイズした後、pHメーター(東亜電波株, HM-5B)で測定した。

8. 微生物の分離および同定

既報⁷⁾⁸⁾と同様に、平板培地に発育した菌を鏡検して菌の形態を観察するとともに孢子の存在を確認し、生理的性質を調べた。桿菌で運動性、カタラーゼ反応陽性、孢子を形成するグラム陽性菌を*Bacillus*とした。また大きさが均一な2連状、4連状あるいは小房状の球菌で非運動性、カタラーゼ反応陽性で、ブドウ糖を酸化的に分解し、孢子を形成しないグラム陽性菌を*Micrococcus*とした。

9. 官能試験

官能試験による米飯の変敗程度は、以下のように区分した。(−)異常なし、(+)異臭を認めず、食用可能であるが、飯は湿潤となる。

(++)異臭を認め、飯粒やや軟化する。

(+++)変敗臭あり、飯粒は形態を止めるが、軟化する。

オゾン処理が米飯の食味に与える影響についての官能検査のパネルは米飯製造会社の職員20名により外観、香り、味、硬さ及び総合について11点法により採点した。

実 験 結 果

1. オゾン処理精白米より調製した米飯の微生物菌数の変化

精白米に10分~120分間オゾン処理を行い、種々の米・水歩合で米飯を炊き上げ4時間後の菌数を測定した結果を第1表に示す。

対照区に比較して精白米はオゾン処理によりやや減少し(処理前： $7.7 \times 10^4/g$ 、処理後 $9.0 \times 10^3/g$)、炊き上げるによりさらに減少した。これはオゾン処理と加熱による併用効果により耐熱性芽胞菌数が減少したものと思われる。またオゾン処理時間は60分間程度が適当と考えられた。

次に精白米に60分間オゾン処理を行い、種々の米・水歩合で米飯を炊き上げた後、プラスチック容器に入れて25℃で保存した時の菌数の変化を測定した結果を第2表に示す。

対照区はいずれの米・水歩合区も保存1~2日で $1.2 \times 10^4 \sim 6.5 \times 10^5/g$ であったが3日では $1.2 \sim 3.4 \times 10^7/g$ となり、変敗臭が生成した。

第1表 オゾン処理米で製造した米飯の炊き上げ後の菌数

オゾン処理 時間 (分)	水歩合 (米/水分比)			
	1:1.1	1:1.2	1:1.3	1:1.4
対照 (0)	2.2×10^3	1.1×10^3	1.0×10^3	1.5×10^3
10	3.0×10^3	2.2×10^3	1.2×10^3	2.8×10^3
20	1.5×10^3	1.0×10^3	1.2×10^3	1.9×10^3
30	6.9×10^2	5.8×10^2	5.8×10^2	3.2×10^2
50	4.7×10^2	3.9×10^2	4.5×10^2	2.7×10^2
60	2.8×10^2	2.7×10^2	3.2×10^2	2.3×10^2
90	3.0×10^2	2.9×10^2	3.1×10^2	2.7×10^2
120	3.1×10^2	2.9×10^2	3.5×10^2	2.5×10^2

(\checkmark g)

炊き上げ後、釜で4時間保存したものを測定

第2表 オゾン処理米で製造した米飯の保存中における微生物菌数の変化

保存期間 (日)	水歩合 (米/水分比)							
	対 照				オゾン処理			
	1:1.1	1:1.2	1:1.3	1:1.4	1:1.1	1:1.2	1:1.3	1:1.4
初発	2.2×10^3	1.1×10^3	1.0×10^3	1.5×10^3	2.8×10^2	2.7×10^2	3.2×10^2	2.3×10^2
1	3.1×10^3	1.2×10^4	3.2×10^4	6.2×10^4	3.9×10^3	5.2×10^3	4.7×10^3	5.2×10^3
2	3.1×10^3	6.5×10^3	5.2×10^3	5.9×10^4	8.9×10^3	1.6×10^4	3.7×10^4	5.9×10^4
3	1.2×10^7	3.4×10^7	3.0×10^7	3.2×10^7	6.2×10^4	7.2×10^4	6.3×10^4	7.9×10^4
4	2.3×10^7	5.2×10^7	4.8×10^7	5.2×10^7	6.1×10^5	9.2×10^5	1.4×10^5	8.4×10^5
5	3.9×10^7	9.2×10^7	9.4×10^7	1.2×10^8	4.9×10^6	7.9×10^6	8.7×10^6	7.6×10^6
6	5.9×10^7	1.8×10^8	3.6×10^8	6.3×10^8	1.2×10^7	2.7×10^7	5.9×10^7	5.3×10^7
7	6.4×10^7	3.2×10^8	5.1×10^8	8.4×10^8	2.6×10^7	3.7×10^7	5.2×10^7	8.6×10^7
8	7.8×10^7	6.8×10^8	9.2×10^8	1.2×10^9	6.2×10^7	7.2×10^7	8.1×10^7	1.5×10^8
9	4.0×10^8	9.0×10^8	1.2×10^9	3.2×10^9	3.6×10^8	5.3×10^8	6.2×10^8	8.3×10^8
10	6.1×10^8	1.0×10^9	2.2×10^9	7.4×10^9	5.3×10^8	8.2×10^8	9.2×10^8	2.7×10^9

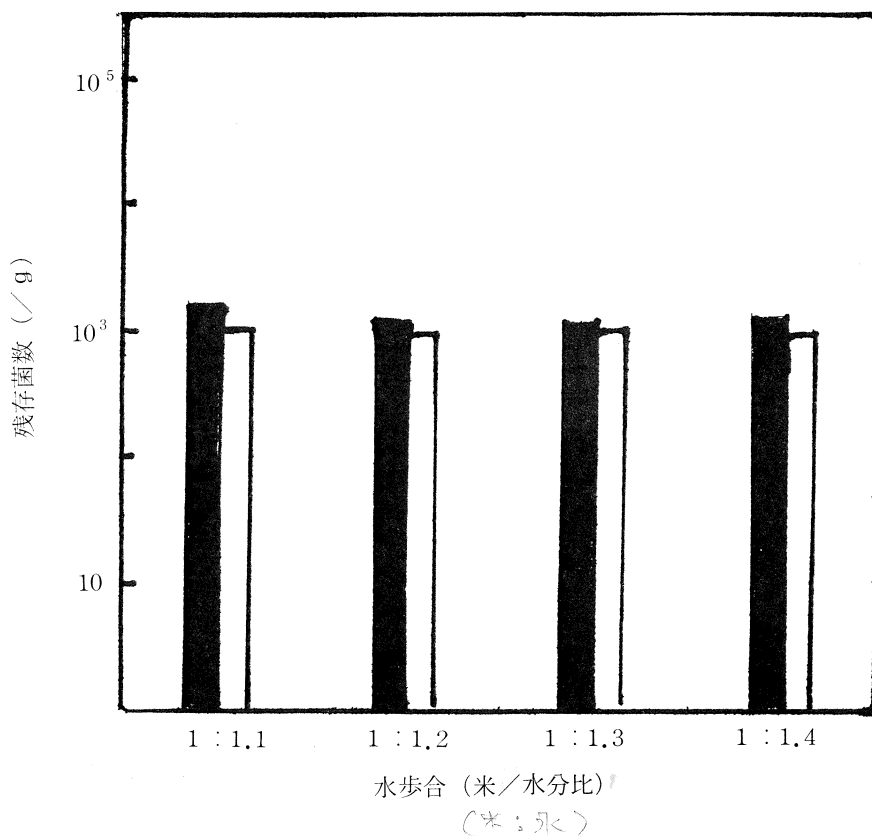
(\checkmark g)

炊き上げ後、釜で4時間保存したものを初発菌数として測定。保存温度25℃。

オゾン処理区はいずれの米・水歩合区も保存1～4日で $3.9 \times 10^3 \sim 9.2 \times 10^5$ /gであったが、5日後では $4.9 \sim 8.7 \times 10^6$ /gとなり、変敗臭が生成した。精白米をオゾン処理することにより菌数の増殖がやや抑制された。

また、いずれの試験区においても、米・水歩合の水分含量の多い試験区ほど菌数の増殖が著しかった。なお、耐熱性芽胞菌数を測定したところ、上記微生物のほとんどが耐熱性芽胞菌であった(第1図)。また、米飯は水分が多く、通気性があるので嫌気性菌はほとんど増殖しない。

炊飯後蓋を開けずに25℃で3～4日保存すると特有のすえた臭がして中心部が軟化し、次いで全体が軟化したところから、米飯の変敗は好気性の耐熱性芽胞菌である *Bacillus* に由来することが予想された。また、米飯を釜からプラスチック容器に移して同様に保存すれば上記よりも約1日早くすえた臭が生成する。これは一部、二次汚染菌が変敗に関与すると考えられる。



第1図 水歩合(米/水分比)の異なる米飯の耐熱性芽胞菌

■ 生菌数
□ 耐熱性芽胞菌数

2. オゾン処理精白米より調製した米飯の pH の変化

米飯はいかに清浄な状態下に保存されても必ず変敗現象が生じる。米飯は存在する微生物の種類によりアルカリ性になったり酸性になったりすることが知られている⁹⁾。そこで今回、米飯保存中における pH の変化を測定し、その結果を第3表に示す。

対照区ではいずれの米・水分歩合区においても保存3日まではほとんど変化せず、4日以降徐々に低下した。しかしオゾン処理精白米使用区は保存4日まではほとんど変化せず、5日以降徐々に低下した。対照区に比較してオゾン処理区は、pHの低下速度はやや遅いことを認めた。また、いずれの試験区においても、米・水分歩合の水分含量の多い試験区ほど pH の低下速度は早いことを認めた。

第3表 オゾン処理米で製造した米飯の保存中における pH の変化

(米:水)

保存期間 (日)	水歩合 (米/水分比)							
	対 照				オゾン処理			
	1:1.1	1:1.2	1:1.3	1:1.4	1:1.1	1:1.2	1:1.3	1:1.4
初発	6.20	6.26	6.28	6.27	6.30	6.30	6.28	6.29
1	6.48	6.30	6.30	6.31	6.40	6.30	6.30	6.32
2	6.35	6.30	6.32	6.32	6.31	6.21	6.32	6.30
3	6.30	6.20	6.15	6.12	6.30	6.32	6.32	6.28
4	6.18	6.10	6.05	6.00	6.28	6.30	6.29	6.25
5	5.95	5.66	5.37	5.28	6.23	6.21	6.11	6.12
6	5.51	5.21	5.12	5.10	6.12	6.08	6.10	6.00
7	5.28	5.00	4.95	4.96	5.95	5.82	5.80	5.80
8	5.22	4.97	4.95	4.65	5.92	5.72	5.68	5.60
9	5.20	4.95	4.65	4.50	5.83	5.61	5.41	5.37
10	5.14	4.80	4.50	4.55	5.43	5.21	5.12	5.07

(/g)

炊き上げ後、釜で4時間保存したものを測定

3. オゾン処理精白米より調製した米飯の官能検査

米飯の変敗に関与する微生物はほとんど *Bacillus* であるため、繁殖最適温度は30~37℃であると考えられる。今回、行った実験は25℃で保存したため、やや微生物の増殖が遅いことが認められた。

オゾン処理精白米より調製した米飯の保存中における変敗の程度を第4表にとりまとめた。

対照区は保存2日後にやや湿潤となり、3日後には異臭が発生し、やや軟化した。米・水歩合1:1.2と1:1.3区は6日後、1:1.1区は8日後に完全に変敗し、大部分が軟化した。

オゾン処理精白米使用区は保存3日後まで変化はなく、4日後にやや湿潤となり、5日後には異臭が発生し、やや軟化した。

9日後に完全に変敗し、大部分が軟化した。

官能検査を行った結果、表には示さなかったが外観、香り、硬さ及び総合について対照区とオゾン処理区との差異は認められなかった。

第4表 オゾン処理米で製造した米飯の保存中における変敗の程度
(※:水)

保存期間 (日)	水歩合 (米/水分比)							
	対 照				オゾン処理			
	1:1.1	1:1.2	1:1.3	1:1.4	1:1.1	1:1.2	1:1.3	1:1.4
初発	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	+	+	+	+	-	-	-	-
3	++	++	++	++	+	+	+	+
4	++	++	++	++	+	+	+	+
5	++	++	++	++	+	++	++	++
6	++	+++	+++	+++	++	++	++	++
7	++	+++	+++	+++	++	++	++	++
8	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++
9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

- : 異状なし, + : 湿潤, ++ : 異臭, 軟化, +++ : 変敗臭, 軟化

炊き上げ後、釜で4時間保存したものをプラスチック容器 (PP 容器) に入れて、25℃で保存

第5表 オゾン水で洗米及び浸漬処理した米で製造した米飯の保存中における微生物菌数の変化
(米:水)

保存期間 (日)	水歩合 (米/水分比)							
	オゾン水で洗米				オゾン水で洗米及び浸漬処理			
	1:1.1	1:1.2	1:1.3	1:1.4	1:1.1	1:1.2	1:1.3	1:1.4
初発	7.3×10^2	5.1×10^2	6.3×10^2	5.2×10^2	3.8×10^2	1.7×10^2	2.2×10^2	1.3×10^2
1	6.1×10^3	5.2×10^3	2.4×10^4	1.2×10^4	2.1×10^3	1.3×10^3	1.7×10^3	2.2×10^3
2	2.5×10^4	3.1×10^4	5.1×10^4	4.2×10^4	7.9×10^3	2.6×10^4	4.7×10^4	1.2×10^4
3	1.2×10^4	3.4×10^4	3.0×10^4	3.2×10^4	3.2×10^4	5.1×10^4	3.3×10^4	2.9×10^4
4	6.3×10^5	7.2×10^5	6.8×10^5	8.2×10^5	2.1×10^5	4.2×10^5	5.4×10^5	6.1×10^5
5	7.9×10^6	6.2×10^6	8.1×10^6	6.8×10^6	5.1×10^6	4.1×10^6	3.7×10^6	2.6×10^6
6	7.9×10^7	8.1×10^7	8.6×10^7	7.1×10^7	4.2×10^7	5.7×10^7	6.1×10^7	6.3×10^7
7	7.4×10^7	9.2×10^7	9.1×10^7	8.8×10^7	6.6×10^7	8.7×10^7	9.2×10^7	9.6×10^7
8	8.8×10^7	9.1×10^7	9.5×10^7	1.2×10^8	8.2×10^7	9.2×10^7	8.5×10^7	5.3×10^8
9	1.0×10^8	1.4×10^8	3.5×10^8	3.2×10^8	5.6×10^8	6.3×10^8	7.1×10^8	8.6×10^8
10	4.1×10^8	4.6×10^8	6.6×10^8	2.8×10^9	6.1×10^8	9.1×10^8	9.5×10^8	1.2×10^9

(/g)

炊き上げ後、釜で4時間保存したものを初発菌数として測定。保存温度25℃。

4. オゾン水洗浄、浸漬精白米より調製した米飯の微生物菌数、pH、官能的な変化

精白米を水道水で充分洗浄後、オゾン水で洗浄し、オゾン水に30分間浸漬後、各水歩合で炊き上げた直後の菌数を測定した。同時にオゾン水洗米のみの試験区も測定した。

その結果、対照区に比較してオゾン水で洗米及び浸漬した試験区、オゾン水で洗米のみを行った試験区はいずれも菌数は減少し、特に水歩合の多い試験区ほどその傾向は強かった。

また、オゾン水で洗米した試験区よりもオゾン水で洗米と浸漬した試験区の方がやや菌数が少ないことを認めた。

次に上記条件で処理を行った後、炊き上げた米飯をプラスチック容器に盛りつけを行った。これを25℃の恒温器で保存し、保存中における菌数の変化を第5表に示した。

その菌数の増加傾向は、精白米にオゾン処理を行った場合とほぼ同様の傾向を示し、対照区（第2表）と比較して菌数の増殖速度が抑制された。またオゾン水で洗米及び浸漬処理を行ったものがオゾン水で洗米のみを行ったものよりもやや菌数の増殖が抑制された。

表には示さなかったが、上記のオゾン水処理区は、いずれも対照区と比較して保存中における pH の低下はやや遅れる傾向を示した。また、これは米、水歩合の水分含量の多い試験区ほど pH の低下速度は早いことを認めた。

なお官能試験は精白米にオゾン処理を行った場合とほぼ同じであった。即ち、対照区は3日後に異臭が発生したのに対し、オゾン水処理区は5日後に異臭が発生した。

さらに炊き上げ直後の食味に関する官能検査では、外観、香り、味、硬さ及び総合について対照区とオゾン処理区との差異は認められなかった。

5. 冷却工程でオゾン処理したすし飯の微生物菌数の変化

米飯を炊き上げ後、15分間むらし、その後合わせ酢を添加してよくかきまぜたすし飯を20℃、オゾン濃度0.2, 0.5, 1.0 ppm, 流速100ℓ/分で10~20分間処理した。

オゾン濃度0.5 ppm で10分間処理した後、^{100ℓ/分}プラスチック容器に盛りつけ、25℃の恒温器で保存し、微生物菌数の変化を測定した結果を第6表に示す。

対照区に比較して、オゾン処理区はやや菌数が少ないことを認めた。保存中における菌数の変化については、対照区に比較してオゾン処理区は増殖が抑制されることを認めた。特に水歩合が1:1.1, 1:1.2のオゾン処理区の菌数増殖が顕著に抑制された。

オゾン濃度0.2, 1.0 ppmでの処理、及び各種濃度10分間処理においても上記の結果とほぼ同様であった。

第6表 冷却工程でオゾン処理したすし飯の保存中における微生物菌数の変化

(米:水)

保存期間 (日)	水歩合 (米/水分比)							
	対 照				オゾン処理			
	1:1.1	1:1.2	1:1.3	1:1.4	1:1.1	1:1.2	1:1.3	1:1.4
初発	8.1×10^2	7.2×10^2	9.2×10^2	8.3×10^2	1.2×10^2	2.3×10^2	3.5×10^2	3.1×10^2
1	1.1×10^3	1.2×10^3	1.4×10^3	1.2×10^3	2.1×10^3	1.3×10^3	1.2×10^3	1.1×10^3
2	3.5×10^3	6.1×10^3	3.7×10^3	6.1×10^3	2.9×10^3	3.6×10^3	3.7×10^3	4.3×10^3
3	2.2×10^4	3.4×10^4	3.0×10^4	3.5×10^4	6.2×10^3	1.2×10^4	2.1×10^4	1.7×10^4
4	8.3×10^5	7.6×10^5	8.1×10^5	7.9×10^5	3.8×10^4	4.2×10^4	9.5×10^4	8.2×10^4
5	5.9×10^6	7.1×10^6	5.4×10^6	6.8×10^6	1.1×10^5	2.1×10^5	3.5×10^5	4.6×10^5
6	3.4×10^7	5.6×10^7	7.1×10^7	6.3×10^7	2.1×10^6	4.2×10^6	5.3×10^6	5.3×10^6
7	4.4×10^7	8.1×10^7	7.9×10^7	6.8×10^7	2.5×10^6	4.7×10^6	7.3×10^6	4.6×10^6
8	5.1×10^7	9.1×10^7	1.5×10^8	1.2×10^8	3.2×10^6	8.1×10^6	8.2×10^6	7.3×10^6
9	7.0×10^7	1.5×10^8	1.5×10^8	1.3×10^8	1.2×10^7	2.3×10^7	3.1×10^7	5.6×10^7
10	1.2×10^8	1.5×10^8	2.1×10^8	2.6×10^8	3.4×10^7	5.2×10^7	6.1×10^7	7.2×10^7

(/g)

炊き上げ後、15分間むらし、合わせ酢を添加し20℃に冷却したものを初発菌数として測定した。
なお保存温度25℃。

6. 冷却工程でオゾン処理したすし飯の pH 及び官能^(g)の変化

冷却工程でオゾン処理したすし飯の保存中における pH の変化について検討した。オゾン濃度0.5 ppm, 20℃で20分間処理した後、プラスチック容器に盛りつけ、25℃の恒温器で保存し、pHの変化を測定した結果を第7表に示す。

初発の pH は4.10~4.39であるが、保存期間の延長に伴い値が大きくなった。これは酢に含まれる酸の一部が、時間の経過とともに発散したことを示している。なお、前記したように調味しない米飯の pH は6.30である。

同様にして冷却工程でオゾン処理したすし飯の保存中における変敗の程度を測定した結果を第8表に示す。対照区は3日後には異状が認められたが、オゾン処理区は3~4日まで異状が認められなかった。表には示さなかったが、冷却終了後の食味に関する官能検査では、外観、香り、味、硬さ及び総合について対照区とオゾン処理区との差異は認められなかった。

第7表 冷却工程でオゾン処理したすし飯の保存中における pH の変化

保存期間 (日)	水歩合 (米/水分比)							
	対 照				オゾン処理			
	1:1.1	1:1.2	1:1.3	1:1.4	1:1.1	1:1.2	1:1.3	1:1.4
初発	4.20	4.21	4.23	4.21	4.13	4.10	4.21	4.39
1	4.41	4.32	4.32	4.36	4.45	4.34	4.36	4.51
2	4.56	4.56	4.64	4.53	4.57	4.65	4.44	4.60
3	4.66	4.67	4.75	4.81	4.60	4.64	4.57	4.67
4	4.78	4.89	4.83	4.90	4.58	4.70	4.59	4.78
5	5.12	5.11	5.21	5.22	4.67	4.78	4.88	4.91
6	5.31	5.36	5.42	5.32	4.80	4.73	4.56	4.81
7	5.38	5.20	5.52	5.12	5.10	5.21	5.11	5.12
8	5.22	5.17	5.25	5.28	5.21	5.27	5.55	5.63
9	5.25	5.23	5.21	5.11	5.23	5.26	5.24	5.28
10	5.11	5.02	5.02	5.05	5.12	5.15	5.02	5.11

(g) 炊き上げ後、15分間むらし、合わせ酢を添加し20℃に冷却したものを初発菌数として測定した。
なお保存温度25℃。

7. 米飯より分離した微生物の同定

対照区の米飯より5菌株, オゾン処理米で製造した米飯より3菌株, オゾン水処理米で製造した米飯より3菌株, 冷却中にオゾン処理を行ったすし飯より2菌株の細菌を検出した。これらの分離細菌の形態的性質を第9表に示した。また, 生理的性質を第10表に示した。

すべての菌株がスターチを資化^{消化}した。分離細菌の顕微鏡写真を写真1, 2に示した。

以上のデータよりNo.1: *Bacillus megaterium*, No.2, No.8, No.11: *B. lentus*, No.3: *B. cereus*, No.4, No.6, No.9, No.12: *B. subtilis*, No.5, No.7, No.10, No.13: *B. coagulans*とそれぞれ同定した。

第8表 冷却工程でオゾン処理したすし飯の保存中における変敗の程度

(*:水)

保存期間 (日)	水歩合 (米/水分比)							
	対 照				オゾン処理			
	1:1.1	1:1.2	1:1.3	1:1.4	1:1.1	1:1.2	1:1.3	1:1.4
初発	-	-	-	-	-	-	-	-
1	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-	-	-	-
3	+	+	+	+	-	-	-	-
4	+	+	+	+	-	-	+	+
5	++	++	++	++	+	+	+	+
6	++	+++	+++	+++	++	++	++	++
7	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
8	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
10	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

-: 異状なし, +: 湿潤, ++: 異臭, 軟化, +++: 変敗臭, 軟化

炊き上げ後, 釜で4時間保存したものをプラスチック容器 (pp 容器) に入れて, 25℃で保存

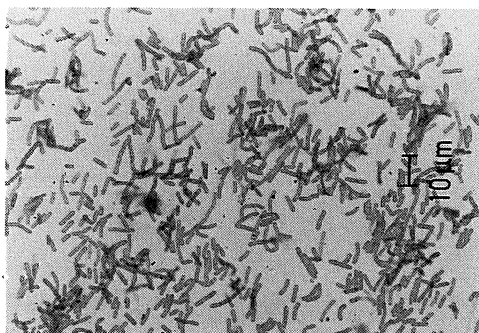
第9表 分離細菌の形態的性質

分離 菌株 (No.)	細 胞		胞 子		胞子の 膨大	分離源
	形	大きさ (μm)	形	大きさ (μm)		
1	桿状	0.8 ~ 1.0 × 2.0 ~ 7.0	橢円形	0.8 ~ 1.0 × 1.0 ~ 1.0 × 1.2	-	対照米飯
2	桿状	0.8 ~ 1.0 × 2.0 ~ 3.2	橢円形	0.6 ~ 0.8 × 1.0 ~ 1.0 × 1.2	-	対照米飯
3	桿状	0.8 ~ 1.2 × 1.5 ~ 3.5	卵形	0.6 ~ 0.8 × 1.0 ~ 1.0 × 1.2	-	対照米飯
4	桿状	0.6 ~ 0.8 × 1.3 ~ 3.0	卵形	0.6 ~ 1.0 × 1.0 ~ 1.0 × 1.2	-	対照米飯
5	桿状	0.8 ~ 1.0 × 1.5 ~ 4.5	卵形	0.6 ~ 0.8 × 1.0 ~ 1.0 × 1.2	+	対照米飯
6	桿状	0.6 ~ 0.8 × 1.5 ~ 2.7	卵形	0.6 ~ 0.8 × 1.0 ~ 1.0 × 1.2	-	オゾン処理米飯
7	桿状	0.8 ~ 1.0 × 1.2 ~ 2.5	卵形	0.6 ~ 0.8 × 1.0 ~ 1.0 × 1.2	+	オゾン処理米飯
8	桿状	0.8 ~ 1.0 × 2.0 ~ 3.5	橢円形	0.6 ~ 0.8 × 1.0 ~ 1.0 × 1.2	-	オゾン処理米飯
9	桿状	0.6 ~ 0.8 × 1.5 ~ 3.0	卵形	0.6 ~ 0.8 × 1.0 ~ 1.0 × 1.2	-	オゾン水処理米飯
10	桿状	0.8 ~ 1.0 × 2.0 ~ 3.5	卵形	0.6 ~ 0.8 × 1.0 ~ 1.0 × 1.2	+	オゾン水処理米飯
11	桿状	0.8 ~ 1.0 × 2.0 ~ 4.5	橢円形	0.6 ~ 0.8 × 1.0 ~ 1.0 × 1.2	-	オゾン水処理米飯
12	桿状	0.8 ~ 0.8 × 2.0 ~ 5.0	卵形	0.6 ~ 0.8 × 1.0 ~ 1.0 × 1.2	-	オゾン処理すし飯
13	桿状	0.8 ~ 1.0 × 1.5 ~ 3.0	卵形	0.6 ~ 1.0 × 1.0 ~ 1.0 × 1.2	+	オゾン処理すし飯

第10表 分離細菌の生理的性質

	菌株No.												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
グラム染色	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
カタラーゼ反応	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
硝酸塩還元	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-
V-P反応	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MR反応	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
クエン酸資化性	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-
ゼラチン溶解性	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-
硫化水素生成	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-
インドール産生	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
スターチ溶解性	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ウレアーゼ活性	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-
7%食塩含有ブイヨンでの成育	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-
カゼイン分解性	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	-
糖の資化性													
グルコース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ラクトース	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	+
マルトース	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
シュクロース	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ガラクトース	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
グリセリン	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
キシロース	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
アラビノース	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+
ソルビトール	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
マンニトール	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+

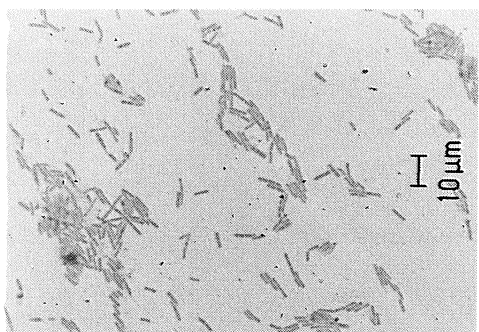
+：陽性，-：陰性



No.1 : *Bacillus megaterium*



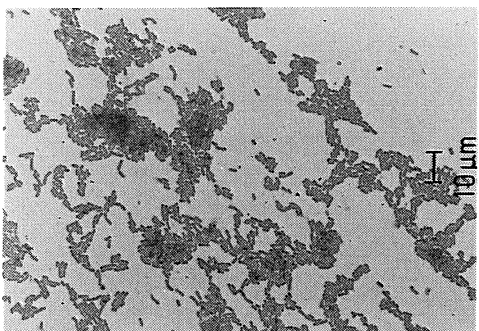
No.2 : *Bacillus lentus*



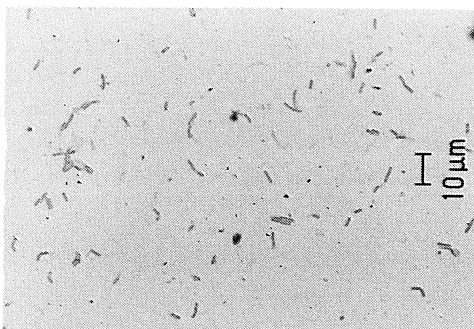
No.3 : *Bacillus cereus*



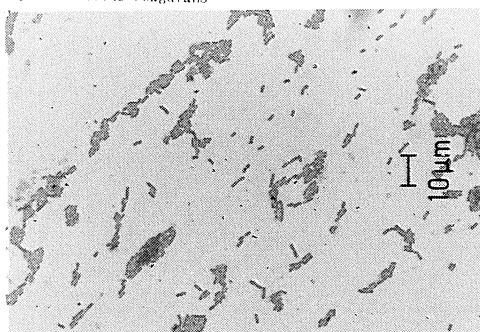
No.4 : *Bacillus subtilis*



No.5 : *Bacillus coagulans*



No.6 : *Bacillus subtilis*

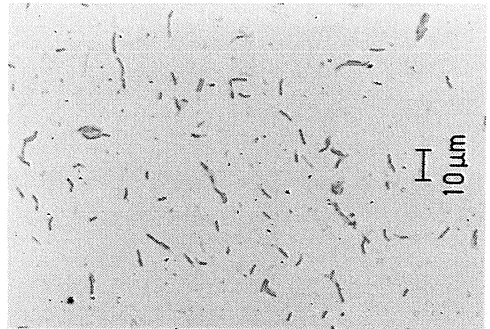


No.7 : *Bacillus coagulans*

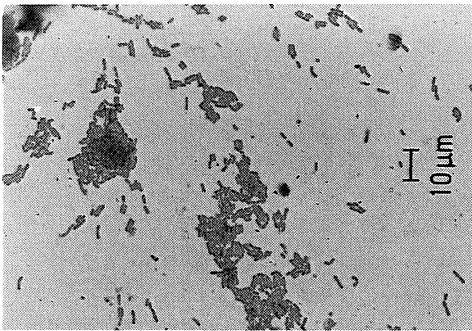
写真1 米飯より分離した微生物の顕微鏡写真



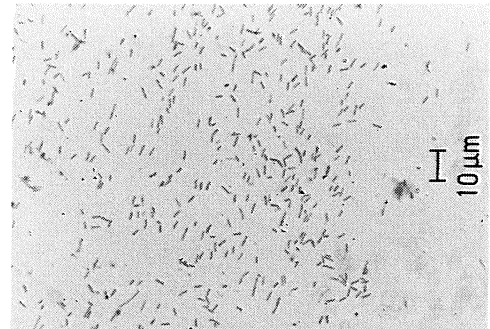
No.8 : *Bacillus lentus*



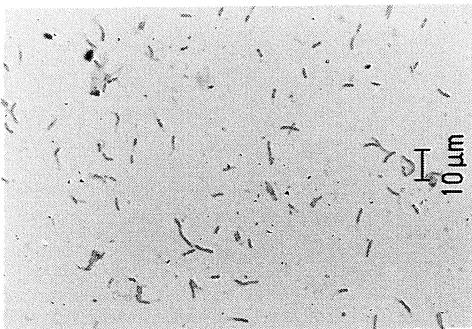
No.9 : *Bacillus subtilis*



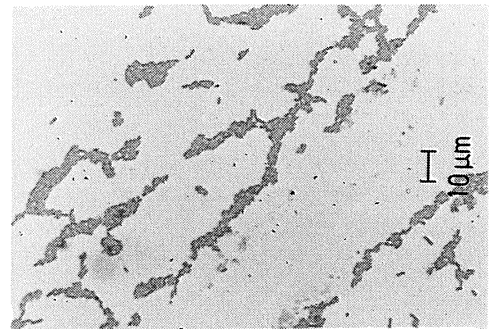
No.10 : *Bacillus coagulans*



No.11 : *Bacillus lentus*



No.12 : *Bacillus subtilis*



No.13 : *Bacillus coagulans*

写真2 米飯より分離した微生物の顕微鏡写真

8. 米飯およびすし飯より分離した微生物の増殖速度

対照米飯, オゾン処理米飯, オゾン水処理米飯, オゾン処理すし飯より分離した13菌株の増殖速度を測定した結果を第11表に示した。

対照米飯より検出した *B. megaterium* (No. 1), *B. lentus* (No. 2), *B. cereus* (No. 3), *B. subtilis* (No. 4), *B. coagulans* (No. 5) の誘導期は, それぞれ5.5, 7.5, 3.5, 6.0, 7.5時間であり対数期はいずれの菌株も3.5~4.5時間であった。また, いずれの菌数も30℃培養では, 8.0~11.5時間で最大菌数に到達することを認めた。

オゾン処理米飯, オゾン水処理米飯およびオゾン処理すし飯より分離した菌株は, 対照区より分離した同一の菌種と比較して誘導期が約0.5~1.5時間遅延することを認めた。

これは, オゾンにより微生物が何らかの損傷を受けたためであると考えられる。

第11表 米飯及びすし飯より分離した微生物の増殖速度

分離菌株 No.	同定名	誘導期 (時間)	対数期 (時間)	定常期 到達時間 (時間)	分離源
1	<i>B. megaterium</i>	5.5	4.0	9.5	対照米飯
2	<i>B. lentus</i>	7.5	4.0	11.5	対照米飯
3	<i>B. cereus</i>	3.5	4.5	8.0	対照米飯
4	<i>B. subtilis</i>	6.0	3.5	9.5	対照米飯
5	<i>B. coagulans</i>	7.5	4.0	11.5	対照米飯
6	<i>B. subtilis</i>	7.5	4.5	12.0	オゾン処理米飯
7	<i>B. coagulans</i>	8.0	4.5	12.5	オゾン処理米飯
8	<i>B. lentus</i>	8.5	4.0	12.5	オゾン処理米飯
9	<i>B. subtilis</i>	6.5	3.5	10.0	オゾン水処理米飯
10	<i>B. coagulans</i>	8.0	4.5	12.5	オゾン水処理米飯
11	<i>B. lentus</i>	7.5	4.5	13.0	オゾン水処理米飯
12	<i>B. subtilis</i>	7.5	4.0	11.5	オゾン処理すし飯
13	<i>B. coagulans</i>	8.0	4.5	12.5	オゾン処理すし飯

B.:Bacillus, 培養は30℃で行い, 接種菌数は $1.2\sim 6.8\times 10^6$

考 察

米飯の場合 pHの変動が大きく4つの型に分けられる⁹⁾。即ち初発7.0のものが, 1. アルカリ側に相

当傾くもの (*B. pumilus*), 2. 徐々に低下するもの (*B. coagulans*, *B. lentus*), 3. 強く酸性側に推移するもの (*B. megaterium*, *B. mycoides*, *B. cereus*), 4. ある一定のところまで急激に低下し、それ以後はほとんど変化しないもの (*B. subtilis*) である。

菌の発育のため米飯はやや変色し、粘稠性を増し、特有の変敗臭を発するのであるが、*B. coagulans*, *B. lentus*, *B. subtilis*, *B. firmus* 中、*B. subtilis* の変敗は幾分他の菌に比しておそい。また *B. pumilus* は米飯に対しては特徴ある変敗を示す。

しかし、*B. subtilis* は米飯の腐敗作用が最も強く、*B. mesentericus* は米飯の軟化作用が強いが、臭気の発散は *B. subtilis* に劣る。*B. megaterium* は腐敗作用が比較的弱い⁹⁾。今回、米飯及びすし飯より分離した13菌株はすべてスターチを分解し、米飯の pH を低下させることを認めた。分離細菌を同定した結果、すべて *Bacillus* に属するところから原料米からの一次汚染菌又は炊き上げ容器等からの二次汚染菌が考えられる。

米飯は100℃で炊き上げるために、炊飯直後の細菌数は少なく $10^2 \sim 10^4$ /gであるが、放置温度が50℃以下になると、最初は小数であった *Bacillus* が増殖し始め、24~72時間で変敗に至る。原料米に付着している *Bacillus* は大部分は洗米のときに水で洗い流されるが、残存した小数の *Bacillus* が炊き上げ後に増殖する (*B. subtilis*, *B. coagulans*)。

また、原料米を水洗後20℃以上で長時間放置したり、洗米後、水に浸漬する時間が長くなる場合は *Bacillus* (原料米より)、*Pseudomonas* (環境からの二次汚染)、*Micrococcus* (環境からの二次汚染) などの細菌が増殖する。しかし通常の炊飯条件では *Bacillus* のみが生き残る (*B. cereus*, *B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. megaterium*, *B. lentus*)。

弁当製造業者では加圧炊飯器 (115~120℃, 15~30分) で炊き上げるので米飯中の細菌はほとんど死滅している。しかしその後の二次汚染菌 (主として *Bacillus*) による変敗を防ぐため、炊き上げた飯に pH 調整剤を添加して、pH を低下させて *Bacillus* の増殖を防いでいる。

オゾン処理 (水中, 気中) を行うことで、*Bacillus* を完全に殺菌することは不可能であるが、その後の炊飯 (加熱) による殺菌効果を高めると考えられる。

すし飯は合わせ酢を加えて調製したものであるため pH は4.20と低く、細菌による変敗は遅い。しかし、貯蔵期間が延長すると酢が揮散し、*Bacillus* の増殖が激しくなり変敗する。このため *Bacillus* の二次汚染が予想される冷却工程でオゾン処理することはすし飯の変敗を防ぐ方法として合理的であるといえる。

さらにオゾン処理した微生物は損傷を受け増殖速度が遅くなることが知られている¹⁰⁾。

今回、分離した13菌株の *Bacillus* のうち、何らかの形でオゾン処理を行ったNo.6~13の菌株は無処理菌と比較して (同定後、同じと判明したものを比較)、やや増殖速度が抑制されていることが認められた。

要 約

精白米にオゾン処理を行って炊飯した米飯，オゾン水で精白米を洗浄し，その後オゾン水に浸漬して炊飯した米飯，オゾン水で洗米後炊飯した米飯，冷却工程でオゾン処理を行ったすし飯の保存性について検討を行い，次の結果を得た。

1. オゾン処理米は，炊飯することにより菌数が減少した。これは残存菌がオゾン処理と加熱作用による併用による併用効果により減少したものと思われる。オゾン処理時間は60分程度が適当と考えられた。また25℃で貯蔵した場合には，オゾン処理米を使用した試験区は対照区に比較して1～2日菌の増殖が抑制された。

2. オゾン水で洗浄し，オゾン水に浸漬した精白米で炊飯した米飯は，菌数は対照区に比較して約1/10となった。また，オゾン水で洗浄したのみの精白米の場合も，ほぼ同様の結果を得た。

3. 米飯を炊飯した後，15分間むらし，その後合わせ酢を添加してよくむらしたすし飯を20℃，0.5 ppm，10分間オゾン処理を行いながら冷却することにより，貯蔵中における菌数は対照区に比較して抑制されることを認めた。

4. 上記いずれの試験区においても水歩合（米：水，1：1.1，1：1.2，1：1.3，1：1.4）が少ない方がオゾン処理の効果は顕著であった。

5. オゾン処理（水中，気中）による食味に関する官能的な変化は認められなかった。

文 献

- 1) 内藤：未発表
- 2) 重山ら：栄養と食糧，14，472（1961）
- 3) 内藤ら：日食工誌，34，788（1987）
- 4) 内藤ら：日食工誌，34，794（1987）
- 5) 内藤ら：日食工誌，35，69（1988）
- 6) 内藤ら：日食工誌，36，878（1989）
- 7) 内藤ら：日食工誌，33，752（1986）
- 8) 内藤ら：防菌防黴，15，225（1987）
- 9) 中島ら：千葉大腐研報，2，3（1949）
- 10) 内藤ら：包装研究，8（2）15（1988）