

◇◇◇◇ 技術論文 ◇◇◇◇

準無菌包装米飯 (Cooked Rice Packed Under Semi-aseptic Condition) の商業的無菌性を確保する炊飯条件の検討

佐久間欣也^{1,†}, 河東田治彦¹, 深谷哲也², 城斗志夫³, 伊東 章³, 渡辺敦夫⁴

¹ 日東アリマン(株), ² カゴメ(株)総合研究所, ³ 新潟大学大学院自然科学研究科, ⁴ 食品膜・分離技術研究会

A Study on Commercial Sterility of Cooked Rice Packed Under Semi-aseptic Condition from the Viewpoint of Cooking Condition

Kinya SAKUMA^{1,†}, Haruhiko KATODA¹, Tetsuya FUKAYA²,
Toshio JOH³, Akira ITO³ and Atsuo WATANABE⁴

¹ Nitto Aliment Corporation, 1578-4 Okada, Shibata, Niigata 957-0356, Japan

² Kagome Corporation Research Institute, 17 Nishitomiya, Nasushiobara, Tochigi 329-2762, Japan

³ Graduate School of Science and Technology, Niigata University, 2-8050 Ikarashi, Niigata, Niigata 950-2181, Japan

⁴ Membrane & separation Research Circle of food (MRC), 1-1-3-3321 Kawaguchi, Kawaguchi, Saitama 332-0015, Japan

Many techniques of production have been developed to produce cooked rice packed under semi-aseptic condition (here in after called semi-aseptic cooked rice) with less spoilage by organism, better taste and higher quality. Effect of heat-resistant organisms from rice on commercial sterility of semi-aseptic cooked rice were researched and the improvement of production process were investigated in order to upgrade the stored stability involved organisms for semi-aseptic cooked rice based on philosophy of commercial sterility of retort pouch foods in this study. The necessary time for heat sterilization were estimated at $2D_i$ to ensure commercial sterility in a production process of semi-aseptic cooked rice in this study. D_i means the heating time that 90% of heat-resistant organisms will be dead at any temperature, i . The Time of heat sterilization for present process of production were estimated at $0.43D_{100^\circ\text{C}}$ against *B.subtilis* strain from brown rice, and it didn't reached necessary time of heat sterilization " $F=2D_i$ " to ensure commercial sterility. The Conditions of heat cooking was investigated to ensure commercial sterility on method of production for semi-aseptic cooked rice. We suggest that the conditions of heat cooking are 14 minutes and a temperature of 110°C as new production process to ensure equivalent eating quality to present process and commercial sterility against *B.subtilis* strain from brown rice for semi-aseptic cooked rice in this study.

Keywords: semi-aseptic cooked rice, commercial sterility, cooking conditions, sensory test, F value.

1. 緒 言

常温で長期間の流通販売が可能である無菌化包装米飯 (以下, 準無菌包装米飯 (Cooked Rice Packed Under Semi-aseptic Condition) と称す) は 1988 年ころより販売が開始され, その食味の良さが評価され 2005 年には

製造量が約 9 万 t に達した [i].

そして現在では, より高品質な準無菌包装米飯の製造, すなわち, 炊きたての炊飯米と同様の食味を持ち, 長期間常温流通させても米飯の酸化や水分変化等の理化学的変質を抑え, また微生物的変質のない状態に包装された米飯の製造を目的に多くの研究開発が行われている。これまでに, 理化学的変質を抑える具体的な手法としては, 脱酸素剤の活用や窒素ガス充填による酸化抑制, 酸素透過および水蒸気透過を抑制するための包装容器の改良が行われてきた。微生物的変質を起こさない目的のためには, 適正な原料米の管理と精白・洗米条件, さらに適正な炊飯条件の下で炊飯米中の耐

(受付 2007 年 5 月 1 日, 受理 2007 年 8 月 31 日)

1 日東アリマン(株), 〒 957-0356 新潟県新発田市岡田 1578-4

2 カゴメ(株)総合研究所, 〒 329-2762 栃木県那須塩原市西富山 17 番地

3 新潟大学大学院自然科学研究科, 〒 950-2181 新潟県新潟市五十嵐 2 の町 8050

4 食品膜・分離技術研究会, 〒 332-0015 埼玉県川口市市川口 1-1-3-3321

† Fax: 0254-23-5232, E-mail: kaiatsu-sakuma@nitto-aliment.co.jp

熱性菌を可能な限り死滅させ、適正な包装条件の下で包装米飯を製造することが必要と考えられる。具体的な工場での製造工程の改良として、米の耐熱性菌の低減化のため、玄米の精白率を高めること [1], 洗米方法を改良すること [2], また個食蒸気炊飯装置 [3] などの開発が挙げられる。

しかし、従来の準無菌包装米飯の製造工程においてはこれらの検討は個別の工程改良にとどまっており、全工程を通して耐熱性菌の加熱殺菌効果と米飯の食味の最適化を目的とした定量的な研究はみられない。これに対し、長期常温流通販売されているレトルト食品の製造においては商業的無菌性の考え方をもとに、全工程における加熱殺菌の効果が定量的に取り扱われているのが実状である [4,5]。

そこで本研究では、レトルト食品における商業的無菌性の考え方を準無菌包装米飯の製造工程に適用し、従来の工程において玄米の精白率および洗米方法、炊飯による加熱殺菌と炊飯米の食味との相関関係を定量的に再検討することを目的とした。さらにこの取り扱いを適用して、準無菌包装米飯の保藏安定性の向上と食味の確保が両立できる製造工程について考察した。

2. 加熱殺菌に関する理論的考え方

2.1 商業的無菌性に関する考え方

食品の製造において加熱殺菌による微生物制御は、簡便性や経済性、さらには安全性の観点から広く採用されている。なかでも、レトルト殺菌技術は食品の常温流通を長期間保証するものとして、缶詰、びん詰、レトルト食品に採用され、科学的根拠にもとづく理論が確立されている。食品の加熱殺菌には、食品の香味を一定レベルに維持しつつ微生物を制御する必要があるため、商業的無菌性 [6] という考え方があり、広く世界中で認められている加熱包装食品製造の原則となっている。この商業的無菌性を達成するための加熱条件は、①微生物の耐熱性、②初期微生物汚染量、③食品の性状（たとえば pH）、④食品の貯蔵条件、⑤熱伝達性に大きく依存している。

わが国の食品衛生法では、常温で流通する容器包装詰加圧加熱殺菌食品の製造において、製造基準が規定されている [7]。その pH が 4.6 を超え、かつ、水分活性が 0.94 を超えるもので加圧加熱殺菌による場合には、温度が加熱殺菌中に経時的に変化する食品の部位のうち、最も温度の低い部位、すなわち最冷点を 120℃で 4 分間加熱する又はこれと同等以上の効力を有することが規定されている。この 120℃で 4 分間の加熱は、容器包装詰加圧加熱殺菌食品が仮に食中毒細菌であるボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*) の耐熱性芽胞に汚染していた場合に、これを殺滅することを目的として

いる。また、原材料などに由来して当該食品中に存在し、かつ、発育しうる微生物を殺滅させるのに十分な効力を有することが規定されている。

加熱された食品に関わる主な有害微生物は、耐熱性を有した好気性または通性嫌気性の *Bacillus* 属および偏性嫌気性の *Clostridium* 属の 2 種類の芽胞形成菌である [8]。 *Bacillus* 属の芽胞は 80℃で 30 分程度の加熱には耐えるため [9]、加熱処理した食品の変敗原因菌としてとくに重要であり、多くの研究が行われている [10,11]。

準無菌包装米飯は、米を 98~100℃で 15~20 分間ほど炊飯したのち、クリーンルーム内で充填密封した包装米飯とされている [12]。そのため、前述した食品衛生法の容器包装詰加圧加熱殺菌食品の規定は受けない。しかし、その製造工程では炊飯加熱以外に加熱操作がなく、家庭における炊飯と同等の熱履歴であり、約 98~100℃での炊飯以外に加熱操作がないため、耐熱性芽胞を殺菌することは困難と考えられる。一方で、原料である米の微生物管理、さらに精白および洗米工程において、できる限り耐熱性菌の初発菌数を低減することにより、炊飯工程の加熱により微生物的に変質のない準無菌包装米飯を製造することは可能である。これまで市販の準無菌包装米飯で *Bacillus* 属や *Clostridium* 属による変質の報告例はみられない。

ところで、風間ら [13] は精白米には *Clostridium* 属による汚染がなかったことを、鳥羽 [14] は *Bacillus* 属が玄米に生残していること、清水 [15] は *Bacillus* 属が米飯の変敗原因菌であることを報告している。

しかしながら、その変質原因となり得る *Bacillus* 属の殺菌に及ぼす炊飯加熱の効果に関する定量的な研究はみられない。そこで、より高品質な準無菌包装米飯を製造するためには、原料米由来の *Bacillus* 属の加熱殺菌に関する研究が重要と考えた。

2.2 加熱殺菌の理論

レトルト食品の適正加熱殺菌条件は、当該食品の主要な変敗原因微生物の耐熱性と特定形状の容器中における当該食品の加熱殺菌処理時における熱伝達性によって決まる。

i (℃) における変敗原因微生物の必要殺菌加熱時間 F (分) は、

$$F = (\log a - \log b) \times D_i \quad (1)$$

で求められる（以下、 F 値と称す） [16]。ここで D_i は任意温度 i (℃) における 90% 死滅時間（分）である。 a 値は容器あたりの殺菌加熱前の初発菌数 (CFU) であり、また b 値は容器あたりの殺菌加熱後の生残菌数 (CFU) である。基本的には、 a 値は用いる原材料に含まれる数を実際に測定して決定される。 b 値は通常「製

品 10 万個の 1 個に微生物の生細胞 1 個が残る程度の数であれば許容できる」とされ、 $b=10^{-5}$ が採用される。

現在、容器包装詰加圧加熱殺菌食品の種類およびその原材料が多岐にわたっており、個々の製品について耐熱性芽胞がどの程度含有するかを、把握することは極めて難しくなっている。そのため、実用的には指標菌を用いて、その取り扱いを定量的に行い適正加熱殺菌条件が決定されている [17,18]。

特定形状の容器中における当該食品の加熱殺菌処理時における熱伝達性は、

$$F_0 = \int_0^t 10^{(T-121.1)/z} dt \quad (2)$$

で求められる [5]。 t は加熱時間 (分)、 T は経時的に変化する最冷点温度 (°C) である。 F_0 値は温度 T を 121.1°C における殺菌時間に換算したものである。 z 値は D_i 値の 10 倍の変化に対応する温度変化 (°C) で、通常 z 値は 10 (°C) が用いられる。

F_0 値が上記 F 値と同等またはそれ以上の加熱になるよう適正加熱殺菌条件を決定する。一方、加熱条件が過剰になると香味が劣化するため、上記 F_0 値と同等で香味が許容できる加熱殺菌温度と時間の組合せを設定する必要がある。

本研究では、準無菌包装米飯の製造工程において、加熱殺菌条件と炊飯米の食味との相関関係を定量的に再検討し、準無菌包装米飯の商業的無菌性を確保する炊飯工程の改良について考察した。

3. 実験方法

上記を目的に、①変敗原因菌の選定、分離、②変敗原因菌の耐熱性の測定、③必要加熱条件の算出、④米飯の官能的品質の評価、⑤米飯の熱伝達性の測定を行った。

3.1 試料および試料の調製方法

3.1.1 原料米

通常、玄米は年間低温保管されているため、原料米として平成 13、14 および 15 年度新潟県産「ゆきの精」の玄米 (30 kg、紙袋入り) を、低温倉庫内で 15°C 以下に保管した。これを実験 2~3 日前に取り出し、水分移動が起きずかつ好気性が保たれるようレトルト用アルミパウチに充填密封した後、冷蔵庫内で 15°C 以下に保管し実験に用いた。玄米、精白米および洗浄米の耐熱性菌数の測定は平成 13 および 14 年度産を、パウチ詰玄米米飯およびカップ詰米飯の調製には平成 15 年度産を用いた。

3.1.2 精白方法

玄米の精白は、家庭用精米機 (ツインバード工業㈱製、精米御膳 MR-D610) にて精白率 91% および 89% の 2

段階に調製した。精白率は用いた玄米重量を 100% とし、精白後の重量から算出した。

3.1.3 洗浄方法

洗浄には水道水を用いた。2 種の精白米の洗浄を卓上型プラネタリーミキサー (小平製作所製、KEN MIX MAJOR, 以下ミキサー) にて、精白米 1 kg に対し温水 (35~40°C) 1.5 L を入れ、ミキサーで 90 秒攪拌したのち (攪拌速度、公転 20 rpm, 自転 90 rpm)、ざるに開けて 2 分間水切りした。これを 5 回繰り返した後、水道水で 30 分間浸漬し、これを洗浄米とした。

3.1.4 培地の調製

本研究に用いた培地を以下に示す。これら培地の調製は、1) から 5) は駒木 [19] の方法に準じた。6) はプロトコールに準じた。各培地は、121°C で 20 分間の高圧蒸気殺菌を行い実験に用いた。

- 1) 変法 TGC 培地
- 2) 変法 TGC 寒天培地
- 3) ブドウ糖ブイヨン培地 (以下、GB 培地と称す)
- 4) ブドウ糖ブイヨン寒天培地 (以下、GA 培地と称す)
- 5) 土壌エキスを加酵母エキス寒天培地 (以下、SEA 培地と称す)
- 6) 普通ブイヨン培地 (栄研化学社製、以下、NB 培地と称す)

3.1.5 耐熱性菌分離用パウチ詰玄米米飯の調製

合成樹脂フィルム製パウチ (㈱クレハ製、ベセーラ、150×75 mm) 内に、洗浄していない玄米 25 g と水道水 25 g を加え、約 10 mL 含気するようヒートシールした後、レトルト加熱殺菌装置 (㈱日阪製作所製、RCS-40RTG) にて 80°C、98°C または 105°C で 18 分間加熱処理し調製した。

3.1.6 官能検査用カップ詰米飯の調製

洗浄米 61.8 g と水道水 48.7 g を合成樹脂製深皿型トレイ (内径 123 mm 高さ 50 mm, 皿型、藤森工業㈱製、以下カップと称す) に充填した。その後蒸気式炊飯装置 (藤森工業㈱製) を用い、炊飯温度は炊飯装置内に送気する蒸気圧および時間により調整した。炊飯温度 98°C 区で 18 分間、105°C 区で 18、23、28、33、38 分間、110°C 区で 13、14、15 分間の炊飯加熱をした後、15 分間の蒸らしを行った。その後、炊飯米をクリーンブース内に取り出し合成樹脂製フタをかぶせヒートシールした。

3.2 原料米由来の耐熱性菌の選定、分離および同定

本来は炊飯加熱前の洗浄米から耐熱性菌を分離し研究をするべきであるが、玄米の精白、洗浄工程でどの微生物が低減、または生残するかを明確にすることは困難である。また、後述するが 90°C で 10 分間加熱処理した洗浄米から耐熱性菌は検出されなかったので本研究では、原料米である玄米に生残する耐熱性の高い菌

を選定および分離したのち, 生物学的性状を調査した。

3.2.1 耐熱性菌の選定および分離

3.1.5 で調製したパウチ詰玄米米飯を 35℃で 30 日間の恒温保存した後, 変敗したパウチ詰玄米米飯を検体として, 変敗原因菌を分離した。変敗原因菌の分離は駒木 [20] の方法に準じた。

3.2.2 分離菌株の同定

分離菌株の同定は, Polymerase chain reaction (以下, PCR と略す) 法 [21] により 16SrRNA の一部を増幅し, 増幅した遺伝子の配列を解析し, データベースとの照合で行った。以下にその方法を示す。

1) 分離菌株の DNA 抽出

分離菌株を GB 培地中で 35℃, 2 日間培養した培養液について, DNA は Gen とるくんTM (タカラバイオ株式会社製) を用い, プロトコールに従って調製した。

2) PCR 法による 16SrRNA 遺伝子の増幅

真正細菌用のユニバーサルプライマー 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') および 530R (5'-GTATTACCGCGGCTGCTGC-3') で増幅した。このときの PCR 反応は 94℃で 1 分, 55℃で 1 分, 72℃で 1 分 30 秒のプログラムを 35 サイクル行った。

3) 塩基配列の決定

PCR 反応で得られた PCR 産物を MICROCON[®] (ミリポア社製) によって精製した。

塩基配列は BigDye[®] Terminator v 1.1 Cycle Sequencing Kit (ABI 社製) により DNA シーケンサー (ABI-310) を用いて決定した。得られた配列の編集には DNASIS プログラム (日立ソフトウェア) を用い, プライマー部位を除く約 500 bp の塩基配列を決定した。決定した塩基配列を BLAST プログラムにより DDBJ, EMBL および GenBank の DNA データベース中の登録配列との同一性を比較し, 近縁種を検索した。

3.3 分離菌株の耐熱性 (D_i 値および z 値) の測定

3.3.1 分離菌株の芽胞液の調製

南波ら [22] の方法に準じた。なお, 前培養の加熱処理は 80℃, 20 分間とし, 芽胞形成用培地は SEA 培地を用いた。調製した芽胞液は滅菌バイアル (ウィトン製) に 1~2 mL 分注し, 実験に用いるまで -40℃で凍結保存した。

3.3.2 初発芽胞数の測定

上記芽胞液 1 mL を, GA 培地を用いた混釈平板法により測定した。なお, 芽胞活性化の加熱条件は, 80℃, 20 分間とし, 培養条件は 35℃, 5 日間とした。

3.3.3 1/15M リン酸緩衝液 (pH7.0) 中における耐熱性の測定

松田ら [23] の方法に準じた。なお, 生残芽胞数の測定は, 前述 3.3.2 の初発芽胞数の測定に準じ, 平板培地の培養条件は 35℃, 14 日間とした。その結果より各温

度における D_i 値および z 値を算出した。

なお, 4.5 で後述するが, 分離菌株の耐熱性はリン酸緩衝液中と米飯中とで大きな違いはないものと推察され, 本研究では, リン酸緩衝液中での耐熱性試験結果から炊飯加熱条件の検討を行った。

3.4 原料米の耐熱性菌数 (a 値) の測定

玄米および精白米の耐熱性菌数は, 食品衛生検査指針の好気性芽胞形成菌検査法 [24] (以下, 公定法と称す) により, 原料米を 80℃で 10 分間加熱処理したのち測定した。

洗浄米の耐熱性菌数は公定法ではほとんど検出されなかったため, 大久ら [25] の変法により測定した。試験管 (外径 18 mm, 長さ 180 mm) に 10 mL ずつ NB 培地を調製した。ここに試料を 121℃で 20 分間高压蒸気殺菌した薬匙で, 試験管 1 本当たり 1 g ずつ投入した。恒温槽で試験管内が 80℃および 90℃に到達してから 10 分間加熱した。常温まで冷却したのち, 35℃で 48 時間培養した。各加熱区に試験管 100 本を供した。そのうち肉眼観察し, 培養液が白濁したものは洗浄米 1 g に耐熱性菌が 1 個生残していたとみなした。

3.5 炊飯したカップ詰米飯の官能検査

炊飯温度および炊飯時間が商品としての品質, すなわち米飯の食味に与える影響を確認するため, 以下の方法で炊飯加熱した米飯の官能検査を行った。

3.1.6 で調製したカップ詰米飯を, 98℃で 18 分間の炊飯加熱したカップ詰米飯を対照区として, 1:2 点比較法 [26] を用い研究室員をパネリストとして官能検査を行った。カップ詰米飯を官能検査の直前に電子レンジ (出力 500 W) にて 1 分間の加熱調理したのち用いた。

3.6 炊飯加熱時の熱伝達性の測定

3.1.6 でのカップ詰米飯を炊飯加熱する際, マイクロパクトレーサー (西華産業(株)製) を用い, 米飯の最冷点の温度を測定した。その後, 専用ソフトウェア「Data Trace 2002」(西華産業(株)製) を用いて各炊飯加熱区における F_0 値を算出した。

4. 結果および考察

4.1 玄米より選定および分離した耐熱性菌の性状

4.1.1 分離菌株の菌種

80℃, 98℃または 105℃で 18 分間加熱処理したパウチ詰玄米米飯各 40 袋 ((玄米 25 g + 水 25 g) / パウチ, すなわち玄米 1000 g) を, 35℃で 30 日間恒温静置した。その結果, 80℃では全数に変敗し, 98℃では 14 日目に 6 袋に変敗が認められたが, 他の 34 袋は 30 日目においても変敗は認められず, 105℃では変敗が起こらなかつ

た。

これらの結果から、玄米に98℃で18分間の加熱処理で死滅できない菌株が 6×10^{-3} CFU/g程度生残し、その生残菌は105℃で18分間の加熱処理で死滅されたものと推定された。105℃で18分間の加熱処理において、 F_0 値コンピューター付温度測定装置（株式会社阪製作所製、FVAC-IV）により玄米米飯の最冷点の温度を測定したのち F_0 値を算出した。その結果、 $F_0=0.4$ 分であった。これらの結果から、松田[27]の方法により玄米米飯上での生残した菌株の耐熱性は $D_{121.1^\circ\text{C}}=0.4/(\log 6 - \log 10^{-1})=0.22$ 分から $D_{121.1^\circ\text{C}}=0.4/(\log 1 - \log 10^{-1})=0.40$ 分と推算された。

そこで、変敗した検体から2袋を選択し、それぞれから変敗原因菌2株（以下、B801株およびB802株と称す）を分離した。変敗原因菌の分離において、嫌気培養で分離した菌株は好気培養でも発育がみられた。また、好気培養および嫌気培養で分離した菌株はいずれも同じ集落の形態であった。これらの結果から、B801株とB802株をいずれも通性嫌気性菌と推定した。なお、この実験において偏性嫌気性菌は検出されなかった。

分離したB801およびB802株の2株を、いずれもPCR法により*B.subtilis*と同定した。

4.1.2 分離菌株の耐熱性

B801株とB802株の1/15 Mリン酸緩衝液（pH7.0）における耐熱性を調べた結果をFig. 1に示す。ごく初期を除きFig. 1の生残曲線は概ね直線性を示したので、常法により各温度における D_i 値を算出した。

その結果、B801株の D_i 値は、 $D_{106^\circ\text{C}}=10.4$ 分、 $D_{108^\circ\text{C}}=6.3$ 分、 $D_{110^\circ\text{C}}=4.4$ 分、 $D_{112^\circ\text{C}}=2.6$ 分、 $D_{114^\circ\text{C}}=1.6$ 分であった。またB802株の D_i 値は、 $D_{106^\circ\text{C}}=8.8$ 分、 $D_{108^\circ\text{C}}=5.8$ 分、 $D_{110^\circ\text{C}}=4.2$ 分、 $D_{112^\circ\text{C}}=2.3$ 分、 $D_{114^\circ\text{C}}=1.2$ 分であった。

また、上記で求められた D_i 値から常法によりTDT曲線を得た。その結果をFig. 2に示す。このTDT曲線より、B801株は $z=10.0^\circ\text{C}$ 、B802株は $z=9.5^\circ\text{C}$ であった。2.2の(2)式で、通常は $z=10.0^\circ\text{C}$ が用いられることを述べたが、今回得られたB801株およびB802株の z 値は、その値と概ね同じであった。

4.2 従来の炊飯加熱工程による殺菌加熱時間（F値）の推算

基準温度を $r(^\circ\text{C})$ とし、その時の D 値を D_r とすると、任意の温度 $i(^\circ\text{C})$ における D_i 値は、

$$D_i = D_r \times 10^{(r-i)/z} \quad (3)$$

で求められる[5]。

4.1.2で算出された D_i 値、 z 値から2株を比較してやや耐熱性の高いB801株の100℃における D_i 値は、上記

の(3)式より $D_{100^\circ\text{C}} = (10.4 \times 10^{(106-100)/10.0}) = 41.4$ 分と推算され、この結果から、従来の炊飯加熱とされる100℃で18分間による殺菌加熱時間は $F = (18 \text{ 分} / 41.4$

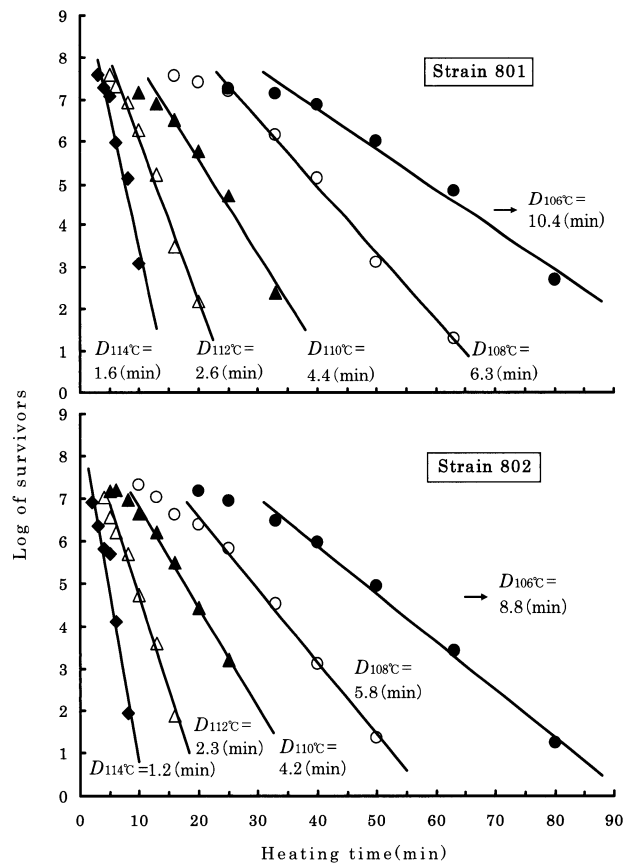


Fig. 1 Survivor curves for Strain 801 and 802 spores heated in 1/15M phosphate buffer (pH7.0).

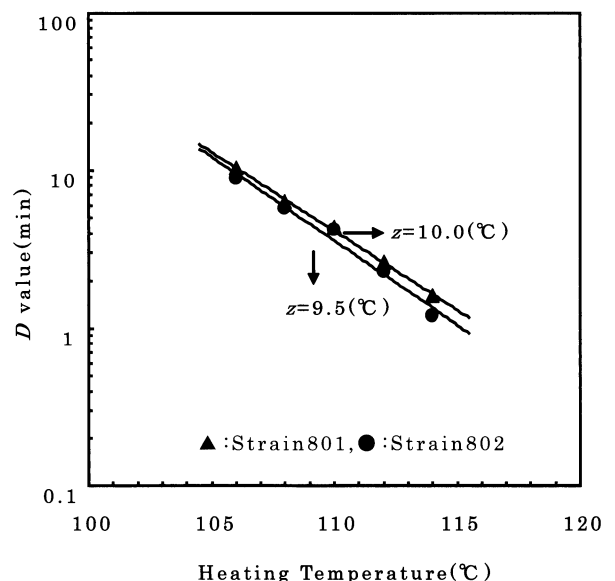


Fig. 2 Thermal death time curves for Strain 801 and 802 spores in 1/15M phosphate buffer (pH7.0).

分) $D_{100^{\circ}\text{C}}=0.43D_{100^{\circ}\text{C}}$ と推算された。

4.3 商業的無菌性を達成するための必要殺菌加熱時間 (F_0 値) の推算

4.3.1 米の耐熱性菌数 (a 値)

1) 玄米

公定法により 80°C で 10 分間処理した玄米，2 種の精白米の耐熱性菌数を測定した結果を Table 1 に示す。

玄米からは $1.0\times 10^1\sim 2.1\times 10^2$ CFU/g の範囲で検出され，平均値は 9.8×10^1 CFU/g となった。鳥羽 [14] は生産年度が不明であるが新潟県産コシヒカリの玄米に *Bacillus* 属の芽胞が 10^2 CFU/g 存在していると，また清水 [15] は生産年度および銘柄が不明であるが玄米に *Bacillus* 属の芽胞が $10^2\sim 10^3$ CFU/g 存在していると報告している。今回用いた平成 13 年度新潟県産「ゆきの精」の玄米から検出された耐熱性菌数もほぼ同様であった。これらのことより，玄米に生残する耐熱性菌数は玄米の銘柄，生産年度に大きな差はないことが推察された。

2) 精白米

精白率 91% の精白米からは $1.0\sim 2.0\times 10^1$ CFU/g 検出されたが，精白率 89% の精白米は検出されなかった。これは江川 [28] の報告と一致していた。精白率を高めることにより玄米の耐熱性菌数は低減され，これにより容器あたりの殺菌加熱前の a 値としての洗浄米の耐熱性菌数を少なくすることが期待できると考えられる。また，前述の (1) 式において，容器あたりの殺菌加熱前の a 値としての洗浄米の耐熱性菌数は殺菌加熱時間または殺菌加熱効果に大きな影響を及ぼすため，精白は重要工程のひとつと考えた。そこで，精白率 87% 区分も調製したが，碎米率が著しく高く実用的でない結果となった。

3) 洗浄米

公定法により 80°C で 10 分間処理した洗浄米において

は，耐熱性菌が検出されなかった。その原因として，耐熱性菌数が微量であるため公定法の 10 倍段階希釈法では検出できないと推察された。

そこで前述した大久ら [25] の変法により 80°C で 10 分間処理した 91% と 89% の精白率の洗浄米の耐熱性菌数の測定を行った。その結果，いずれの精白率区とも供試試料 100 本 ((洗浄米 1 g + NB 培地 10 mL / 試験管)，すなわち洗浄米 100 g) 中，91% 区では 13~16 本，89% 区では 10~19 本に培養液の変化が認められた。 80°C で 10 分間処理した 91% と 89% の精白率の洗浄米の耐熱性菌数は共に 1.5×10^{-1} CFU/g 程度であることが推算された。

精白米の段階では，精白率 91% と 89% で生残する耐熱性菌数に違いがあったが，洗浄米の耐熱性菌数の測定の結果では，生残する耐熱性菌数は同じであった。洗浄工程により精白米の耐熱性菌数を $1/10\sim 1/100$ ($(1.5\times 10^{-1}\text{ CFU/g})/(1.0\sim 2.0\times 10^1\text{ CFU/g})$) 程度に低減されたと考えられる。精白工程と同様に洗浄工程も必要殺菌加熱時間に影響を及ぼすため重要工程のひとつと考える。

以上の結果から，実製造上で玄米および精白米の耐熱性菌数は年間を通して大きな変動はなく，またこのことにより加熱炊飯前の洗浄米の耐熱性菌数，すなわち準無菌包装米飯の必要加熱殺菌条件の算出に必要な a 値は，同じく大きな変動がないものと推察された。

また，炊飯で問題となる耐熱性菌数を特定するため前述した大久ら [25] の変法により， 90°C で 10 分間加熱処理した洗浄米 (精白率 91% と 89%) の耐熱性菌数の測定を行った。その結果，いずれの精白率区とも供試試料 100 本中全てに培養液の変化が認められず，洗浄米から耐熱性菌は検出されなかった。洗浄米に生残して炊飯で問題となる耐熱性菌数は 10^{-2} CFU/g 未満であることが確認されたが菌数としては特定できなかった。

そこで，以下の考えで容器あたりの殺菌加熱前の a 値である洗浄米の耐熱性菌数を求めたのち，商業的無

Table 1 Effect of store time on the number of heat resist spores.

Store time (months)	The number of heat resist spores (CFU/g)			
	Brown rice	Milled rice		
		91% *	89%	87%
2	2.0×10^1	1.0×10^1	ND	ND
4	1.0×10^2	1.0×10^1	ND	ND
6	2.1×10^2	2.0×10^1	ND	ND
8	1.9×10^2	ND	ND	ND
10	1.0×10^1	1.0×10^1	ND	ND
12	5.5×10^1	ND	ND	ND
AVE	9.8×10^1	1.0×10^1	ND	ND

*) Milled rates count by weight of milled rice / weight of brown rice used
ND : not detected

菌性を達成するための必要殺菌加熱時間を推算した。

4.3.2 洗浄米における a 値の推算

4.1.1 で 98℃, 18 分間の加熱処理した 40 袋のパウチ詰玄米米飯 (玄米 25 g + 水 25 g) / パウチ, すなわち玄米 1000 g) から 6 袋変敗が認められたことにより鳥羽 [14] の方法を用い, 玄米に従来の炊飯加熱とされる 98℃ で 18 分間の加熱処理で死滅できない菌株が 6×10^{-3} CFU/g 程度生残していると推定した。

4.3.1 1) において 80℃ の 10 分間の加熱処理した玄米の耐熱性菌数は 9.8×10^1 CFU/g となり, また 4.3.1 3) で同じく 80℃, 10 分間加熱処理した洗浄米の耐熱性菌数は 1.5×10^{-1} CFU/g であったことから, 精白, 洗米により玄米の耐熱性菌数は, おおよそ $1/650$ ($(1.5 \times 10^{-1} \text{ CFU/g}) / (9.8 \times 10^1 \text{ CFU/g})$) に低減されることがわかった。

以上の結果より, 玄米には従来の炊飯操作である 98℃ で 18 分間の加熱処理で死滅できない菌株が 6.0×10^{-3} CFU/g 程度生残していること, 耐熱性菌は精白と洗浄工程で $1/650$ に低減されることが 2 点から, 洗浄米に従来の加熱操作で死滅できない耐熱性菌が 1.0×10^{-5} CFU/g ($(6 \times 10^{-3} \text{ CFU/g}) \times (1/650)$) 生残していると推算された。実製造において洗浄米は容器あたり約 50~100 g が使用されていることから, a 値は 1.0×10^{-3} CFU ($(10^{-5} \text{ CFU/g}) \times (100 \text{ g})$) と推算された。

4.3.3 商業的無菌性を達成するための必要殺菌加熱時間の推算

前述した (1) 式において, 4.3.2 の結果から a 値は洗浄米の耐熱性菌数として $a = 1.0 \times 10^{-3}$ CFU を, b 値は前述した $b = 1.0 \times 10^{-5}$ CFU を代入すると, 準無菌包装米飯の製造工程において商業的無菌性を達成するための必要殺菌加熱時間は, $F = D_i \times (\log(1.0 \times 10^{-3}) - \log(1.0 \times 10^{-5})) = 2D_i$ と推算された。

Fig. 1 の生残曲線を見ると両株とも加熱を始めてしばらくして菌数が減り始め, その後対数的な死滅の様相となっている。 10^5 CFU/mL 前後の耐熱性芽胞を致死効果のある加熱温度で加熱した場合, 加熱が緩やかな温度では, 加熱の初期には顕著には減少せず, 加熱時間が長くなると直線関係が得られるような現象 [29] がみられる。一方, 加熱温度がより厳しい温度では短時間に直線的に減少して行く。今回の結果は, この現象とよく一致していた。缶詰食品などの加熱殺菌条件を設定する場合には, 10^5 CFU/mL 前後の耐熱性芽胞を加熱処理 [18] して生残曲線を求め, 直線的に減少していく傾きから当該微生物の耐熱性は評価すべきとの考えが妥当と考えられている [5]。上記の必要殺菌加熱時間を $2D_i$ とした場合, 厳しい加熱条件での D_i 値から必要殺菌加熱時間を推算しているので, 安全域は確保できているものと推定される。

4.2 で推算した従来の炊飯加熱による殺菌加熱時間は $F = (18 \text{ 分} / 41.4 \text{ 分}) D_{100^\circ\text{C}} = 0.43 D_{100^\circ\text{C}}$ であり, 上記で

推算した準無菌包装米飯の商業的無菌性を達成するための必要殺菌加熱時間 $F = 2D_i$ に達していないと考えられる。また, 従来の 100℃ の炊飯加熱において, B801 株の耐熱性に対して商業的無菌性を達成するための必要殺菌加熱時間は, 4.2 の結果から $F = 2D_{100^\circ\text{C}} = 2 \times 41.4 = 82.8$ 分と推算された。しかし, この炊飯加熱時間は米飯の食味および製造装置の規模の点から現実的な炊飯加熱時間ではないと推察された。

そこで, この問題の解決手法 (Fig. 3) を考察すると, ①炊飯加熱において炊飯温度を高めるまたは炊飯時間を延ばすことにより必要殺菌加熱時間を満たす, ②炊飯加熱において炊き水の pH を下げ耐熱性を弱め必要殺菌加熱時間を満たすなどにより耐熱性菌の発育を抑制するなどが考えられる。

そこで, 第一段階として, 本研究においては上記①の解決手法について検討した。炊飯温度を高めること, または炊飯時間を延ばすことにより米飯の食味に影響を及ぼすことが考えられるため, 炊飯加熱における米飯の食味と殺菌効果の関係を調べた。

4.4 炊飯加熱条件と米飯の食味との関係

98℃ で 18 分間の炊飯加熱したカップ詰米飯を対照区として, 前述の 3.1.6 で調製したカップ詰米飯を 1:2 点比較法で研究室員をパネラーとして官能検査を行った。例えば, はじめに 98℃ で 18 分間の炊飯加熱したカップ詰米飯を与え, 別に 98℃ で 18 分間と 105℃ で 18 分間炊飯加熱したカップ詰米飯を与えて, その後, 98℃ で 18 分間の炊飯加熱したカップ詰米飯を選ばせた。98℃ で 18 分間の炊飯加熱したカップ詰米飯が識別できれば正解とした。その他の改良区も同様に行った。その結果を Table 2 に示す。

対照区と炊飯温度 105℃, 18, 23, 28 分區では米飯の食味に有意差はなかったが, 105℃, 33, 38 分區では有意水準 5% で差がみられ, また 110℃ では 15 分區において有意水準 0.1% で差がみられた。この結果より, 炊飯温度が 105℃ で炊飯時間が 18~28 分間, 炊飯温度が 110℃ で炊飯時間が 13~14 分間の炊飯加熱においては米飯の香味に大きな劣化は起こらず, 従来と同等の米飯の食味が得られるものと考えられた。

そこで, B801 株に対して, 各炊飯条件による商業的無菌性に及ぼす殺菌効果を考察した。

4.5 商業的無菌性と炊飯加熱条件の改良

前述の (3) 式に基づき, 今回分離した B801 株の 121.1℃ における D_i 値を推算した。その結果, $D_{121.1^\circ\text{C}} = (D_{106^\circ\text{C}} \times 10^{(106-121.1)/10}) = 0.32$ 分と推算された。過去の研究において pH7.0 のリン酸緩衝液中の *B. subtilis* の耐熱性 $D_{121.1^\circ\text{C}}$ は 0.04 から 0.48 分と報告されており [30], B801 株は比較的高い耐熱性を有していた。

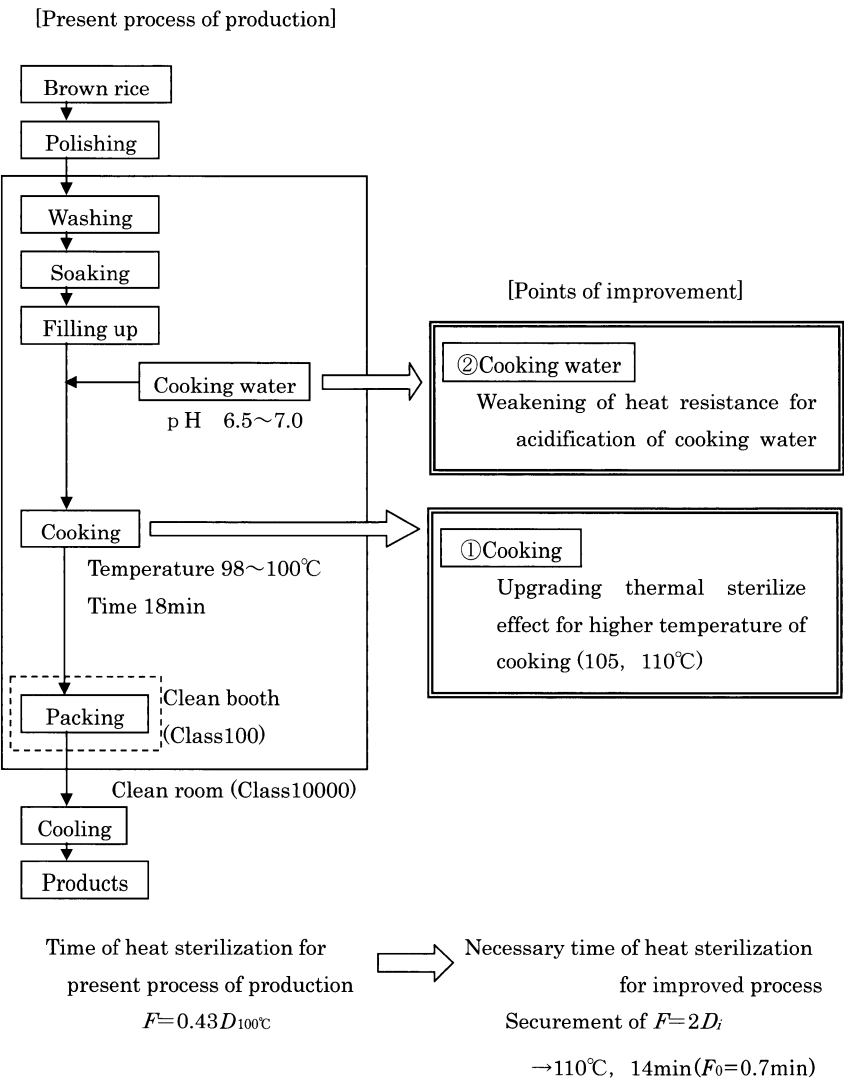


Fig. 3 Present process of production and points of improvement for semi-aseptic cooked rice.

Table 2 Effect of heating factor on F_0 value or taste of cooked rice.

Heating factors			Number of panelists	Right answer	Wrong answer	Significance
Temperature (°C)	Time (min)	F_0 value (min)				
105	18	0.3	21	12	9	NS
105	23	0.4	22	14	8	NS
105	28	0.5	22	13	9	NS
105	33	0.6	21	16	5	5% significant difference
105	38	0.7	21	16	5	5% significant difference
110	13	0.6	37	22	15	NS
110	14	0.7	37	23	14	NS
110	15	0.8	39	31	8	0.1% significant difference

微生物の耐熱性は、そのものの特性であるとともに、食品の成分など存在する環境の諸因子、例えば、水分、脂肪、塩類、炭水化物、pH、タンパク質その他の物価などによっても、違いがでてくること [31] が知られて

いる。そこで、本研究で玄米より分離した *B.subtilis* の耐熱性をリン酸緩衝液中と米飯中とで検討した。

前述の 4.1 で玄米米飯上での生残菌の耐熱性は、 $D_{121.1^{\circ}\text{C}}=0.22\sim0.40$ 分と推算され、リン酸緩衝液中の

$D_{121.1^{\circ}\text{C}}=0.32$ 分と比較して大きな違いはなかった。また、中條ら [32] は *Bacillus* 属の芽胞の耐熱性は、リン酸緩衝液中と食品中とでほぼ同等と報告している。これらのことから、分離した *B.subtilis* の耐熱性はリン酸緩衝液中と米飯中とで大きな違いはないものと推察され、本研究では、リン酸緩衝液での耐熱性試験結果から炊飯加熱条件の検討を行った。

ここで、B801 株に対して推算された準無菌包装米飯の商業的無菌性を達成するための必要殺菌加熱時間 $F=2D_i$ 式に上記の結果を代入すると、 121.1°C における F 値は $F=0.64$ 分となり、準無菌包装米飯の商業的無菌性を達成するための必要殺菌加熱時間は 121.1°C で 0.7 分相当であることが推算された。

3.6 で専用ソフトウェア「Data Trace 2002」を用いて F_0 値を算出した。炊飯温度 105°C 区において、18, 23, 28, 33, 38 分間の炊飯による F_0 値は、それぞれ 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7 分で、 110°C 区において 13, 14, 15 分間の炊飯時間による F_0 値は、それぞれ 0.6, 0.7, 0.8 分であった。その結果を Table 2 に示す。

以上の結果より、準無菌包装米飯の商業的無菌性を達成するための必要殺菌加熱時間 $F_0=0.7$ 分以上が確保される炊飯加熱条件は炊飯温度 105°C 区において 38 分以上、 110°C 区において 14 分以上であった。

本研究の結果より、準無菌包装米飯において従来と同等の食味を有し、微生物的変質がなく、より保蔵安定性を向上させることを目的として、製造工程の炊飯加熱において 110°C で 14 分間 ($F_0=0.7$ 分) とする加熱殺菌操作を提案する。この工程改善提案を Fig. 3 中に示す。なお、具体的な装置としては連続レトルト殺菌装置などが考えられる。

本研究では同一産地、同一銘柄の原料米についてのみ調査したが、実際はさまざまな産地、銘柄の原料米が使用されている。今後原料米からの危害度を最小化するためには更に詳細を検討する必要があると考えられる。

今後の検討事項として炊飯加熱において、炊き水の pH を下げて耐熱性菌の D_i 値を弱める手法により、準無菌包装米飯の製造工程を改良する研究が考えられる。

5. 結 論

準無菌包装米飯の微生物に関わる保蔵安定性をより向上させるため、製造工程の改良を検討した結果、以下のことがわかった。

本研究で玄米より *B.subtilis* を分離した。その耐熱性は $D_{100^{\circ}\text{C}}=41.4$ 分、 $z=10^{\circ}\text{C}$ で、これより従来の炊飯加熱による殺菌加熱時間は $F=0.43D_{100^{\circ}\text{C}}$ と推算された。

商業的無菌性を達成するための必要殺菌加熱時間 F (分) は $F=2D_i$ であることが推算され、従来の製造工程

の炊飯加熱において、上記の商業的無菌性を達成するための必要殺菌加熱時間を満たしていなかった。

そこで、商業的無菌性を達成するための炊飯加熱操作を検討した。その結果、 105°C で 18~28 分間、 110°C で 13~14 分間の炊飯では米飯の食味において問題が生じないことがわかった。

また、玄米より分離した *B.subtilis* の耐熱性は $D_{121.1^{\circ}\text{C}}=0.32$ 分で、これより商業的無菌性を達成するための必要殺菌加熱時間は $F_0=2D_{121.1^{\circ}\text{C}}=0.64$ 分相当以上と推算され、 $F_0=0.7$ 分を達成するには、 105°C で 38 分間以上、 110°C で 14 分間以上の加熱炊飯が必要であることがわかった。

本研究の結果より、準無菌包装米飯において従来と同等の食味で、より保蔵安定性を有した高品質の製造工程として、 110°C で 14 分間 ($F_0=0.7$ 分) の炊飯加熱操作を提案する。

謝 辞

本研究をまとめるに当たりご助言賜りました社団法人日本缶詰協会研究所駒木勝氏に深く感謝いたします。

引 用 文 献

- [1] 金本繁晴; “HACCP 管理による加工米飯の製造システムと品質保証”, 石谷孝佑, 江川和徳, 横山理雄, サイエンスフォーラム, 1995, pp.109-119
- [2] 江川和徳; 耐熱性菌低減のための洗米方法, 北陸農業研究成果情報, 140-141 (1997)
- [3] 影山源三郎; “HACCP 管理による加工米飯の製造システムと品質保証”, 石谷孝佑, 江川和徳, 横山理雄, サイエンスフォーラム, 1995, pp.203-225
- [4] “缶・びん詰, レトルト食品 製造流通基準 (GMP) マニュアル”, (社)日本缶詰協会編, (社)日本缶詰協会研究所, 1992, pp.141-143
- [5] 山口尹通; “レトルト食品”, 岸本昭監修, 光琳, 1996, pp.36-57
- [6] 山口尹通; “レトルト食品”, 岸本昭監修, 光琳, 1996, pp.11-12
- [7] “食品衛生小六法”, 食品衛生研究会編, 新日本法規出版(株), 2005, pp.602-603
- [8] 松田典彦; “缶びん詰・レトルト食品事典”, (社)日本缶詰協会, 朝倉出版, 1984, pp.420-426
- [9] 小嶋宏明; 無菌化包装米飯の現状と将来, ジャパンフードサイエンス, **32**, 37-45 (1993)
- [10] 松田典彦, 駒木勝, 市川良子, 後藤幸恵; 缶詰食品の微生物による変敗原因 (1968~1980), 日本食品科学工学会誌, **32**, 444-449 (1985)
- [11] 松田典彦, 駒木勝, 市川良子, 後藤幸恵; 缶詰食品の変敗

- 原因有芽胞細菌の種と食品の種類との関係, 日本食品科学工学会誌, **32**, 615-621 (1985)
- [12] 福田耕作; “食品の無菌化包装システムハンドブック”, 横山理雄, 柴田守敏, サイエンスフォーラム, 1994, pp.19-26
- [13] 風間朗弘, 牟田智英, 松田典彦; 密封包装米飯における A および B 型ボツリヌス菌の毒素産生に及ぼす pH の影響と芽胞の耐熱性, 日本食品微生物学会誌, **11**, 165-171 (1994)
- [14] 鳥羽茂; “米の科学”, 竹生新治郎監修, 朝倉書店, 2000, pp.162-166.
- [15] 清水潮; “食品微生物学”, 相磯和嘉編, 医歯薬出版, 1976, pp.183-206
- [16] 里見弘治; “有害微生物管理技術 2 巻”, 芝崎勲, フジ・テクノシステム, 2000, pp.110-114
- [17] 松田典彦, 駒木勝; “缶・びん詰・レトルト食品・飲料製造講義総論編”, (社)日本缶詰協会編, (社)日本缶詰協会, 2002, pp.653-657
- [18] “缶・びん詰, レトルト食品 製造流通基準 (GMP) マニュアル”, (社)日本缶詰協会編, (社)日本缶詰協会, 1992, pp.176-179
- [19] 駒木勝; “微生物汚染事例・現場検査法 Q&A 集”, 宇田川俊一, 駒木勝, 佐藤順, 南澤正敏, サイエンスフォーラム, 2003, pp.166-168
- [20] 駒木勝; “微生物汚染事例・現場検査法 Q&A 集”, 宇田川俊一, 駒木勝, 佐藤順, 南澤正敏, サイエンスフォーラム, 2003, pp.168-171
- [21] 高橋秀夫; “新版微生物学実験法”, 杉山純多, 渡辺信, 大和田紘一, 黒岩常祥, 高橋秀夫, 徳田元編, 講談社サイエンティフィック, 1999, pp.189-193.
- [22] 南波護, 駒木勝, 市川良子, 松田典彦; 豆乳における耐熱性有芽胞細菌の発育; 缶詰時報, **66**, 444-450 (1987)
- [23] 松田典彦, 駒木勝, 市川良子; 豆乳における A 及び B 型ボツリヌス菌芽胞の耐熱性, 食品衛生学雑誌, **29**, 151-155 (1988)
- [24] 小久保彌太郎; “食品衛生検査指針 微生物編”, 厚生労働省監修, (社)日本食品衛生協会, 2004, pp.159-167
- [25] 大久長範, 菅原真理, 峯裕喜, 一色賢司; 焼成カルシウムによる *Bacillus* 孢子の殺菌, 日本食品科学工学会誌, **46**, 613-615 (1999)
- [26] 山口静子; “新・食品分析法”, (社)日本食品科学工学会編, 光琳, 1998, pp.792-817
- [27] 松田典彦; 細菌孢子の耐熱性試験 IV, 缶詰時報, **58**, 116-119 (1979)
- [28] 江川和徳; “HACCP 管理による加工米飯の製造システムと品質保証”, 石谷孝佑, 江川和徳, 横山理雄, サイエンスフォーラム, 1995, pp.129-132
- [29] 清水潮; “食品微生物 I 基礎編, 食品微生物の科学”, 幸書房, 2001, pp.126-127
- [30] 林弘通, 三橋重之; “無菌化技術便覧”, ビジネスセンター社, 1983, pp.50-63
- [31] 河端俊治; “食品微生物学”, 相磯和嘉編, 医歯薬出版, 1976, pp.147-181
- [32] 中條均紀, 石津弥生; 変敗した低酸性食品缶詰より分離した *Bacillus coagulans* 孢子の耐熱性, 日本食品工業学会誌, **32**, 725-730 (1985)

引用 URL

- i) www.syokuryo.maff.go.jp/kasyoku/shoukai/komeko/kakoub17.pdf (Nov.16, 2006)

要 旨

微生物の変質がなく, 食味がよい, より高品質な準無菌包装米飯 (cooked rice packed under semi-aseptic condition) の製造を目的に多くの技術開発が進められてきた。今回, レトルト食品の商業的無菌性の考え方に基づき, 準無菌包装米飯において, 微生物に関わる保蔵安定性をより向上させることを目的に, 準無菌米飯の商業的無菌性に及ぼす米由来の耐熱性生菌の影響を調べ, 製造方法の改良を検討した。

本研究で玄米より *B.subtilis* 菌株が分離された。その耐熱性は $D_{100^{\circ}\text{C}}=41.4$ 分で, これより従来の炊飯加熱による殺菌加熱時間は $F=0.43D_{100^{\circ}\text{C}}$ と推算された。 D_i は任意の温度 i ($^{\circ}\text{C}$) のとき耐熱性生菌が 90% 死滅する加熱時間を表す。

また商業的無菌性を達成するための必要殺菌加熱時間 F (分) は $F=2D_i$ であることが推算され, 従来の製造工程の炊飯加熱において, 上記の商業的無菌性を達成するための必要殺菌加熱時間を満たしていなかった。

そこで, 商業的無菌性を達成するための炊飯加熱操作を検討した。その結果, 105°C で 18~28 分間, 110°C で 13~14 分間の炊飯では米飯の食味において問題が生じないことがわかった。

また, 玄米より分離した *B.subtilis* 菌株の耐熱性は $D_{121.1^{\circ}\text{C}}=0.32$ 分で, これより商業的無菌性を達成するための必要殺菌加熱時間は $F_0=2D_{121.1^{\circ}\text{C}}=0.64$ 分相当以上と推算され, $F_0=0.7$ 分を達成するには, 105°C で 38 分間以上, 110°C で 14 分間以上の加熱炊飯が必要であることがわかった。

本研究の結果より, 準無菌包装米飯において従来と同等の食味で, より保蔵安定性を有した高品質の製造工程として, 110°C で 14 分間 ($F_0=0.7$) の炊飯加熱操作を提案する。