

原著論文

米の洗米回数および米飯の保存条件の違いによる微生物変化

星野 浩子*・牛腸 ヒロミ**

Change of the bacteria by the difference in the number of the times to washed rice and preservation condition to cooked rice.

Hiroko HOSHINO* and Hiromi GOCHOU**

We tested it for the purpose of preventing a quality drop of the cooked rice. We did the washed rice number of the bacteria measurement (total viable bacteria counts, heat-resistant bacteria counts) before doing it of rice. I considered how long the number of the bacteria changed by difference in washed rice number of times. As a result, there were 10^5 - 10^6 and many bacteria in ① unpolished rice. 10^4 - 10^5 and the number of many bacteria did not decrease even if they went the washed rice number of times to five times. ②The polished rice was 10^2 . There was not the effect of the bacteria elimination by the washed rice number of times like unpolished rice. The number of the bacteria measurement of the cooked rice reached, too. As a result, the bacteria extinction with most samples by heating. However, there were few bacteria, but survived according to a sample. It was the *Bacillus* genus when we identified these bacteria. We thought that these bacteria reduced quality. We stored this cooked rice with 2, 5, 24, 48 and 72 hours. As a result, these bacteria was not growth at 20°C. These Bacteria suddenly growthed at 30°C in 48 hours.

緒言

米は日本人の主食である。日本人の米の消費量は一人当たり一年間に1962年は118.3kgで、2006年は61.0kgであり、減少している。加工米飯の消費量は昭和35年47万トン、昭和48年は80.7万トンでピークとなったが、それ以降は徐々に減り平成10年55.8万トン、平成23年37.3万トンになっている。加工米飯はレトルト、無菌包装、冷凍、チルド、缶詰及び乾燥米飯に分けられており、その中でも冷凍米飯は70%と多く加工されている。

るり。これらの加工米飯は流通が比較的容易で、大量生産もできる。

一方、コンビニエンスストアやスーパーマーケットで売られている日配米飯類は、流通温度を18°C以下にするため、18°C以下にすることができないので腐敗しやすく大量生産しにくい。

家庭における一回の炊飯量も以前は多かったが、一戸に住む人数や生活スタイルの変化により、一回に炊飯する量も減少しており、最近では数回分の米飯を炊飯した

Keywords : rice, washed rice, total viable bacteria counts, heat-resistant bacteria counts

* 東京聖栄大学健康栄養学部 ** 実践女子大学生活科学部

後、炊き立てのおいしさをそのまま保つために、炊飯後すぐ冷凍することも多い。しかし保温機能付きの炊飯器が多く使用されていて、炊飯した後、一回では食べきらず保温し、次の食事に供するという方法をとっている家庭も少なくない。炊飯ジャーを利用して保存した米飯は、時間経過とともに黄変や異臭がおこる。そこでより品質の良い米飯を提供するために、微生物学的見地から検討した。洗米時の菌数測定の報告や、長時間保存した時の微生物動向についての報告はあまりない²⁾のでその基礎的実験として今回、米に付着する細菌数を調べ、洗米過程でどのくらい除去できるのか、また炊飯による菌の減少や保存中の米飯の微生物分布がどのように変化するかを検討したので報告する。

実験方法

1. 試料

試料 14 検体は東京都内スーパーマーケット及び米穀店で購入したもので、Table 1 に示した。玄米はそのまま用い、精白米は家庭用精米機(象印 BR-CB05-HA 型)で白米まで搗精して試料として用いた。

2. 洗米方法、炊飯方法および保存方法

米 50 g を滅菌済みポリ容器に採取し、滅菌水 100 mL を加えて 20 秒間強振し洗米した。洗米した水は滅菌済み試験管に採取した。これを洗米 1 回(洗浄 1 回)とした。再びそのポリ容器に滅菌水 100 mL を加えて、同様の操作を行った。これを洗米 2 回(洗浄 2 回)とし、繰り返し行い計 5 回洗米を行って実験に供した。いずれの洗浄した水も実験に供した。

炊飯方法は洗米した後、滅菌水 100 mL で 15 分間浸水させた後、強火で加熱し、沸騰したら弱火で 15 分間

加熱した。火を消した後、そのまま 10 分間放置して蒸らした。炊飯後、米飯は直ちに生菌数測定を行った。保存実験では温度は 20℃と 30℃の 2 点で行い、時間は炊飯直後より、2 時間後、5 時間後、24 時間後、48 時間後および 72 時間後の 6 点で実験を行った。

3. 一般生菌数測定と耐熱性菌数測定方法

3.1 一般生菌数測定

一般生菌数測定は食品衛生検査指針の生菌数測定法に準拠して実施した³⁾。

玄米および黒米の洗米した水は 1 mL とり、滅菌生理的食塩水 9 mL を加えて試料を希釈した。この操作を繰り返し、1000 倍まで希釈した。精白米、赤米、発芽玄米および無洗米の洗米した水はそのまま試料として使用した。生菌数測定用標準寒天培地(日水製薬製)の入ったシャーレに試料希釈液を 0.1 mL 入れて、滅菌コンラージ棒で塗抹しクリーンベンチ内で表面を乾燥させた。35±1℃、48±2 時間培養した後、出現したコロニーを数えて、一般生菌数を算定した。

炊飯前の生米及び米飯は約 10 g 採取し、滅菌生理的食塩水 90 mL と一緒にストマッカー用滅菌袋に入れ、ストマッカー(オルガノ製)で 1 分間破碎した。この混濁液を 1 mL とり、滅菌生理的食塩水 9 mL を加えて試料を希釈した。この操作を繰り返し、適宜希釈した。生菌数測定用標準寒天培地(日水製薬製)の入ったシャーレに試料希釈液を 0.1 mL 入れて、滅菌コンラージ棒で塗抹しクリーンベンチ内で表面を乾燥させた。35±1℃、48±2 時間培養した後、出現したコロニーを数えて、一般生菌数を算定した。

3.2 耐熱性菌数測定

Table 1 The brand and production area of the rice which we used for the sample

	Brand-name	Producing area	Unpolished rice	Polished rice
A	Koshihikari BL	Niigata	A-1	A-2
B	Milky queen	Fukushima	B-1	B-2
C	Konuhikari	Saitama	C-1	C-2
D	Fusakogane	Chiba	D-1	D-2
E	Koshihikari	Niigata	E-1	E-2
F	Germination rice (Haigamai)	domestic	F	
G	Red rice*	domestic	G	
H	Black rice	domestic	H	
J	Hitomebore	Fukushima		J

* There is indication for packing "Used for heat sterilizing"

耐熱性菌数測定は食品衛生検査指針の芽胞菌数測定法に準拠して実施した³⁾。

各種米を洗米した水は一般生菌数測定用の試験液を採取した後、その試験管のまま75℃の恒温槽に入れ、15分間加熱しヒートショックを行った⁴⁾。この加熱処理した試験管を直ちに冷却し、常法³⁾に従い生菌数測定用標準寒天培地(日水製薬製)の入ったシャーレに試料希釈液を0.1mL入れて、滅菌コンラージ棒で塗抹しクリーンベンチ内で表面を乾燥させた。35±1℃、48±2時間培養した後、出現したコロニーを数えて、耐熱性菌数を算定した。

3.3 炊飯後の米飯の保存時間の違いによる菌数変化

保存実験は、温度は20℃と30℃の2点で行い、時間は炊飯直後から2時間後、5時間後、24時間後、48時間後および72時間後の6点でそれぞれ3.1の一般生菌数測定法により菌数測定を行った。その時の米飯の状態も目視により観察した。

4. 分離菌株の属レベルの同定

菌数測定終了したシャーレを用いて、出現したコロニーを肉眼観察によって異なるコロニーに分け、釣菌し標準寒天培地で2日間培養した後、同様に培養を繰り返して純粋分離菌とした。この分離した菌株の生理的性状を属レベルで同定した⁵⁾。試験項目は形態、グラム染色、芽胞形成の有無、運動性、カタラーゼ試験、オキシダーゼ試験、O-F試験、空気存在下での生育について各試験

を行った。

結果及び考察

1. 各種米に付着する菌数測定および洗米回数の違いによる菌数変化

各種米を炊飯する前の洗米した水に付着していた一般生菌数をTable 2に示した。A~Dの4銘柄いずれも玄米の一般生菌数は 10^5 から 10^6 個(CFU/g)であり、白米は 10^2 から 10^3 個(CFU/g)の菌数であった。白米と比較すると玄米に付着する菌数が多かった。米を精米した時の糠も同様に実験したところ一般生菌数は 3.5×10^6 個であった。このことから糠層に一般細菌がいることが分かった。白米より、玄米や分搗き米に糠層が残っていることもあり菌数が多いと考えられる。

洗米回数の違いによりどのくらい菌数が減少するかを実験した結果、玄米を洗米した水では5回まで洗米しても菌数は 10^5 個と菌数は多く、洗浄回数を増やしてもあまり減少しなかった。玄米は洗米回数を増やしても米の表面に付着している細菌を除去することが難しいことが分かった。これは表面の凹凸の中に潜んでいることもあり、洗米(研ぐ)という操作ではある程度の菌数減少しか望めないことが分かった。より多くの菌を除去するには、米に直接振動を与えたりして菌を除去する方法が良いのではないかと考えられる。生野菜などの微生物制御では電解水や超高速振動処理を用いることにより生菌数を減らすことができるという報告がある⁷⁾。

また各種米を炊飯する前の洗米した水の耐熱性菌数

Table 2 Total viable bacteria counts by the difference in washing number of times (CFU/g)

	Sample	1wash	2 wash	3wash	4 wash	5 wash
unpolished rice	A-1	7.0×10^5	3.0×10^5	2.6×10^5	1.9×10^5	1.4×10^5
	B-1	4.9×10^6	2.3×10^6	1.1×10^6	6.0×10^5	3.5×10^5
	C-1	1.4×10^6	6.7×10^5	4.2×10^5	2.2×10^5	1.7×10^5
	D-1	6.0×10^5	2.4×10^5	1.3×10^5	8.6×10^4	8.2×10^4
	F	<10	<10	<10	<10	<10
	G	0	0	0	0	0
	H	1.7×10^6	7.7×10^5	5.4×10^5	3.1×10^5	3.4×10^5
polished rice	A-2	6.4×10^2	2.2×10^2	5.6×10	1.6×10^2	1.0×10^2
	B-2	2.6×10^3	8.8×10^2	1.7×10^2	33	33
	C-2	9.2×10^2	3.6×10^2	1.5×10^2	85	37
	D-2	2.2×10^2	7.4×10^2	4.0×10^2	2.0×10^2	1.3×10^2
	E-2	9.4×10^2	3.4×10^2	2.0×10^2	93	36
	J	1.2×10^3	2.9×10^2	70	1.0×10^2	2.5×10^2

Uncooked rice

Table 3 The heat-resistant bacteria counts by the difference in washing number of times (CFU/g)

	Sample	1 times	2 times	3 times	4 times	5 times
unpolished rice	A-1	220	180	8	3	7
	B-1	1100	100	37	150	8
	C-1	23	28	41	51	7
	D-1	66	7	17	11	2
	F	0	0	0	0	0
	G	0	0	0	0	0
	H	44	14	5	0	0
polished rice	A-2	10	2	0	0	0
	B-2	5	5	4	2	1
	C-2	9	4	2	1	0
	D-2	11	3	2	2	2
	E-2	8	6	9	6	4
	J	0	6	9	6	4

※heat treatment at 75°C for 15 min.

Uncooked rice : The washed rice number of the bacteria of the water.

Table 4 Total viable bacteria and the heat-resistant bacteria counts in uncooked rice (CFU/g)

	viable bacteria count		the heat-resistant bacteria count	
	unpolished rice	polished rice	unpolished rice	polished rice
A	2.1×10 ⁵	1.0×10 ⁴	7.5×10 ²	1.1×10 ²
B	3.0×10 ⁵	5.9×10 ³	6.5×10 ²	0
C	1.6×10 ⁵	6.8×10 ³	2.5×10 ³	2.5×10 ²
D	1.1×10 ⁵	5.8×10 ³	8.5×10 ²	0
E	2.0×10 ⁴	9.6×10 ³	5.0×10	8.5×10 ²
F	0	/	0	/
G	0		0	
H	1.5×10 ⁵		3.5×10 ³	
J			1.4×10 ⁴	

Uncooked rice : The washed rice number of the bacteria of the rice itself.

の測定結果を Table 3 に示した。玄米は多いもので 1100 個、少ないもので 23 個という菌数であった。耐熱性菌数の多かった試料は A のコシヒカリ、B のミルククイーンで、洗米回数が増えるごとに菌数は減少した。一回洗いで菌数の少なかった試料は菌数の減少に大きな変化はなかった。白米は全ての試料において耐熱性菌数は 11 個以下であったので洗米回数が増えてもほとんど菌数に変化は見られなかった。米に付着している細菌の多くは一般細菌であることが分かった。

2 米自体に付着している一般生菌数と耐熱性菌数の測定

生米に付着している一般生菌数と耐熱性菌数の測定

結果を Table 4 に示した。玄米は銘柄別で大差なく一般生菌数は 10⁵ 個であり、耐熱性菌数は 10² 個～10³ 個であった。また、白米では一般生菌数は銘柄別で大差なく 10³ 個～10⁴ 個であった。耐熱性菌数は、1 試料は 8.5×10² 個と多く、3 試料については耐熱性菌数が 0 個で他の検試料は 10² 個であった。また、炊飯した米自体に付着している一般生菌数と耐熱性菌数の測定結果を Table 5 に示した。玄米に若干の菌があったもののほとんどの米飯で菌数は 0 個であり、これは 92～95℃の炊飯により菌が死滅したことを意味する。しかし、若干生残していた耐熱性細菌が多少なりとも存在すると、保存条件によっては保存中に増殖していくことが考えられる。米飯の変

Table 5 Total viable bacteria counts and the heat-resistant bacteria counts in cooked rice (CFU/g)

	viable bacteria count		the heat-resistant bacteria count	
	unpolished rice	polished rice	unpolished rice	polished rice
A	270	5	30	0
B	0	0	0	0
C	0	5	0	0
D	10	0	0	0
E	0	0	0	0
F	0	/	0	/
G	0		0	
H	10		5	
J			0	

The cooked rice number of the bacteria of the rice itself.

敗には炊飯後に空気中や器具から混入する二次汚染菌の影響も考えられるが、むしろ釜に付着していた耐熱性菌の *Bacillus subtilis* や *Bacillus cereus* が変敗の原因菌として重要であるという報告があり⁹⁾、米に付着している細菌のみならず、釜や炊飯器のふた等に残存する細菌についても、炊飯後の品質に大きく影響すると推察される。今後の課題として炊飯前の玄米からより多くの微生物を除去する方法や炊飯器自体の細菌汚染等についても検討したい。

3. 炊飯後の保存時間及び保存温度の違いによる菌数変化及び米の経時的変化

炊飯直後から2時間、5時間、24時間、48時間、72時間と20℃で保存した時の一般生菌数をTable 6に同様に30℃で保存した時の一般生菌数をTable 7に示した。

Table 6 The change of the number of the bacteria counts by the difference of the preservation time (CFU/g)

	Just after cooking rice	2 hour later	5 hour later	24 hour later	48 hour later	72 hour later
A-1	0	0	0	0	0	0
A-2	0	0	0	0	0	0
F	0	0	0	0	0	0
G	0	0	0	0	0	0
H	0	0	0	0	0	0
J	0	0	0	0	0	0

(Preserved 20℃)

20℃における保存ではすべての米飯で菌数は0であった。しかし30℃保存では24時間後まで一般細菌は認められなかったが、炊飯から48時間後では1試料を除き5試料で一般細菌が確認され、多いもので試料Aのコシヒカりは130個/gであった。少ないものは5個/gであった。72時間後まで保存したが48時間と比較しても一般生菌数の増加はなく横ばいであった。試料Aのコシヒカりは洗米した水、洗米した米、米飯のいずれも一般生菌数、耐熱性菌数が多かったので米自体に多くの細菌が付着していたと考えられる。

4. 分離菌株の属レベルの同定

米に付着している菌を分離し純粋培養されたことを確認した上で、属レベルでの生理的性状を調べた結果をTable 8に示した。玄米から分離した菌株4検体と白米か

Table 7 The change of the number of the bacteria counts by the difference of the preservation time (CFU/g)

	Just after cooking rice	2 hour later	5 hour later	24 hour later	48 hour later	72 hour later
A-1	0	0	0	0	130	50
A-2	0	0	0	0	10	10
F	0	0	0	0	55	55
G	0	0	0	0	0	0
H	0	0	0	0	5	15
J	0	0	0	0	5	10

(Preserved at 30℃)

Table 8

Physiological property of bacteria of rice and cooked rice (genus level)

sample	unpolished rice				porished rice			
	1	2	3	4	1	2	3	4
test								
Form of bacteria	R	R	R	R	R	R	R	R
Gram's stain	+	+	+	+	+	+	+	+
Spore	+	+	+	+	+	+	+	+
Motility	+	+	+	?	+	+	+	+
Catalase test	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidase test	—	—	—	—	—	—	—	—
O-F test	F	O	F	N	F	O	F	N
Growth in the air	+	+	+	+	+	+	+	+

1-4: Pure separation bacteria from cooked rice

R: bacillus, rod F: fermentation O: oxidation N: No action

ら分離した菌株 4 検体について同定したところ、グラム陽性桿菌で芽胞を有し、運動性及びカタラーゼ試験陽性菌であったので *Bacillus* 属と判定した。他の菌叢も存在するだろうと考えて同定を行ったが、今回の供試試料の米飯から分離した細菌は *Bacillus* 属菌以外の菌は確認できなかった。多くの報告によると玄米には多くの微生物が付着しており、*Pseudomonas* 属、*Micrococcus* 属や *Bacillus* 属が主な細菌で、それらの 99% が糠層に存在するといわれ、特に米の耐熱性菌は主に *Bacillus subtilis* や *Bacillus cereus* である⁹⁾。著者らの研究で *Bacillus* 属菌の芽胞の耐熱性を調べたところ、生育していた条件によって同じ細菌であっても耐熱性に大きく差があることを報告している⁹⁾。このことから今回の供試試料に付着していた細菌は比較的耐熱性の低い芽胞であったと推察される。発芽率と生菌数の関係も明らかにされており発芽率が 80% 以上の米では *Bacillus* 属が少なく、発芽率 50% 以下では *Bacillus* 属の汚染率が高いという報告もある⁹⁾。また、米飯の腐敗の様相は比較的単純で関与する菌も限られていて、米は主成分がでんぷんであることや炊飯後に生残する菌は *Bacillus* 属に限られること^{9) 10)}との報告と一致する結果であった。

米の経時的変化は、炊飯直後から 24 時間、48 時間、72 時間において米飯の状態も目視により観察した。その結果、20℃ 保存した米飯は、72 時間と経過しても米飯の生菌数は 0 個であり、目視による状態観察でも変化は見られなかった。

30℃ 保存した米飯は目視により観察した結果、24 時間までは変化は見られなかった。48 時間後から生菌数及び米飯の状態に変化が生じた。このことは Table 7 から生菌数が 0 個という結果と一致していた。48 時間後で

は酸臭が生じて米の表面が黄色っぽくなっており、玄米は若干粘りが出ていた。72 時間後では米自体が黄色になって酸臭がしていた。A-1、B-1、C-1 及び D-1 の玄米は若干水分があり上層に膜が張り始めていたが、玄米は米自体に着色があるので色の変化は顕著ではなかった。今後着色の程度を検討するには、別の方法を用いるのが良いと判断した。米飯が時間とともに黄色く変わるメカニズム²⁾は、アミノ・カルボニル反応により、糖とアミノ酸が反応したメラノイジンという褐色物質を作るもので、米飯中の糖とアミノ酸が反応して黄変したと考えた。また、米飯の黄変には脂質成分も関与していると推察できる。したがって色調を判断するには複数の方法で分析し総合的に判断する必要があるだろう。

米飯の微生物汚染を少なくし品質を保つには、玄米に付着する生菌数を減少させることが効果的であるということが示唆された。今後、玄米中の生菌数の減少に効果的な方法と物理的方法等を併用した除菌方法を検討したい。

要 約

炊飯後の米飯は時間経過とともに黄変や異臭が起こる。そこで品質変化の少ない米飯を提供するために微生物学的見地から検討した。

洗米する前の米の菌数測定(一般生菌数、耐熱生菌数)をした。さらに洗米回数の違いにより生菌数はどのくらい減少するかを測定した。その結果、①玄米には $10^5 \sim 10^6$ 個と多くの細菌がいた。洗米回数を 5 回まで増やしても $10^4 \sim 10^5$ 個と顕著な減少は見られなかった。②白米の一般生菌数は 10^2 個であった。玄米と同様に洗米回数による顕著な減少は見られなかった。

米飯の菌数測定も行った。その結果、加熱により菌はほとんどの試料で死滅していた。しかし試料によっては生菌数は少なかったが菌は生残していた。この生残していた細菌の生理的性状を調べ、属レベルで同定した結果、*Bacillus* 属菌であった。この *Bacillus* 属菌は変敗の原因菌であるということから米飯の品質を低下させると考えた。この米飯を 2, 5, 24, 48, 72 時間と保存した。その結果、20℃では菌の増殖は見られなかったが、30℃では 48 時間で急激に菌が増殖した。

謝 辞

本研究を行うに際しご指導くださいました牛腸技術士事務所の牛腸 忍氏に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 農林水産省：平成 22 年度食糧需給表、農林統計協会 (2012)
- 2) 深井洋一、塚田清秀：洗米回数による保温化の米飯の品質変化、日本食品科学工学会誌、53,(11)、587-591 (2006) .
- 3) 日本食品衛生協会：食品衛生検査指針微生物編 2004, pp.116-123, pp.159-162 (2005).
- 4) 高村一知、星野浩子：*Bacillus* 属細菌の芽胞数測定条件に関する研究、加熱温度の影響について、聖徳栄養短期大学紀要、No.18、14-19 (1987) .
- 5) 三瀬勝利、井上富士男編：食品中の微生物検査法解説書 pp.126-134 講談社サイエンティフィック(1996).
- 6) 好井久雄、金子安之、山口和夫：食品微生物ハンドブック p 313, 321-322 技報堂出版(1995).
- 7) 阿部一博、嘉悦佳子、阿知波信夫：強酸性電解水と超高速振動の併用によるミツバの微生物制御、日本食品保蔵科学会誌、38(6)、p329-334 (2012).
- 8) 高村一知、星野浩子：*Bacillus* 属細菌芽胞の油脂中での耐熱性について、聖徳栄養短期大学紀要、No.18、9-13(1987).
- 9) 竹生治郎監修、石谷孝佑、大坪研一編：米の科学、pp.164-166、朝倉書店、(2001).
- 10) 木村光編：食品微生物学改訂版、pp.128-129、培風館、(1988).