グリセリン脂肪酸エステル配合剤による 米飯の変敗防止効果

毛利善一*, 西沢一徳*, 葛見 衛**

* 花王石鹼株式会社産業科学研究所 ** 花王石鹼株式会社

An Inhibitory Effect for Putrefaction of Boiled Milled Rice by Formulation Containing Glycerin Fatty Acid Ester

Zenichi MÖRI*, Kazunori NISHIZAWA*, Mamoru KATSUMI**

* Research Laboratories, Kao Soap Co., Ltd., Wakayama

** Kao Soap Co., Ltd., Chuō-ku, Tokyo

In order to prevent the putrefaction of boiled milled rice keeping in commercial electronic jars at various temperatures, the inhibitory activity of glycerol monocaprylate with sucrose fatty acid ester and potassium pyrophosphate, all of which are approved as the food additives, has been tested against the bacteria isolated from the putrefied rice. As a result, it was found that this composition exhibits more effective inhibition of bacterial growth than that of glycerol monocaprylate alone, and also good detergency to remove the bacteria on surfaces of the inside container in an electronic jar.

In addition, it was also verified that the composition is to be sufficient for bacteriostatic activity from the results obtained by practically using electronic jars.

(Received March 17, 1975)

従来、炊飯後の米飯をジャー中に保存していたために、保存中の変敗が問題になり、変敗原因菌の由来について調べられたことがあった¹⁾。近年、ジャーに替わって、電子ジャーの普及が盛んになってきたが、やはり保存中に米飯の変敗現象が見られ、変敗原因菌を分離して米飯を変敗させる試みも、すでに行なわれている²⁾。これらの報告によれば、変敗原因菌は、炊飯時の加熱では死滅しない耐熱性の胞子を短時間で形成する細菌であることが明らかにされている。また米飯変敗の大きな要因として、(1)電子ジャー内部温度の低下(変敗原因菌の増殖)、(2)電子ジャー内容器の洗浄不十分(変敗原因菌の残存)、(3)電子ジャー周囲の環境汚染(変敗原因菌の侵入)などがあげられている。

一方、グリセリン脂肪酸エステルは、界面活性を有する食品添加物として食品の乳化剤に使用が認められているが、その低級脂肪酸エステルは抗菌性を有し、抗菌作用について、すでにいくつかの報文が発表されている^{3)~5)}。とくにカプリル酸エステルは他の脂肪酸エステルより抗菌力がすぐれているため、合成保存料、合成殺菌料の使用できない食品の腐敗防止剤として次第に用途が拡大されてきており、今後の有効利用が期待されている。

る。

著者らはこれらの点を考慮し、まず走査型電子顕微鏡により電子ジャー内容器内壁の状態観察を行ない、変敗原因菌の付着および落入の可能性について調べると同時に、上述のグリセリンカプリル酸エステル、ならびに洗浄効力を有する他の食品添加物からなる抗菌性と洗浄性をあわせ持つ複合剤を配合し、これによる電子ジャー内容器の変敗原因菌の除去効果および増殖抑制効果を調べ、電子ジャー中の米飯保存効果を確認するために、本実験を行ない、満足すべき結果を得たので報告する。

実験方法

1. 変敗原因菌の分離

市販電子ジャー内で変敗した米飯を滅菌生理食塩水中で振盪した上澄液を、普通寒天培地を用いて混釈平板とし、62°C(あらかじめ最適増殖温度を確かめてある)、48時間培養後、各平板から菌集落を3個ずつ約菌分離し、ブレインハートインフュージョン寒天(BHIA)斜面培地(日水製薬製)で62°C、24時間培養したものを実験に使用した。なお分離菌は、集落の外観的形状および検鏡結果から1種類とみなした。得られた分離菌は室温で保存し、1か月ごとにBHIA斜面培地に継代培養した。

* 〒 640 和歌山市湊薬種畑 1334

** 〒 103 東京都中央区日本橋茅場町 1-1

Table 1. Composition of formulated drugs.

Drug	Composition					
	Glycerol mono-caprylate (%)	Sucrose tallow fatty acid ester (%)	Potassium pyro-phosphate (%)	Ortho phosphoric acid (%)	Sodium citrate (%)	Water (%)
A	4	5	0.5	0.1	—	90.4
B	4	5	0.5	0.1	5	85.4
C	4	5	—	—	—	91.0
D	4	5	—	—	5	86.0

2. 供試薬剤

Table 1 に各配合組成を示した。配合組成中の各成分を選んだ理由は、つぎのとおりである。すなわち、グリセリンカプリル酸エステルは上述のように抗菌剤成分として、シヨ糖脂肪酸エステルは洗浄剤およびグリセリンカプリル酸エステルの可溶化剤成分として、クエン酸ナトリウムは有機系洗浄力増強剤成分として、ピロリン酸カリウムは無機系洗浄力増強剤成分としてのほかに抗菌力増強作用^{9)~10)} およびそれ自体も抗菌力を有する^{11)~14)} ことがいわれているために、それぞれ加え、オルソリン酸は配合物の pH を中性にたもつために配合した。

3. 抗菌力試験

1) 米飯非共存下の抗菌力試験 分離菌 1 白金耳を BHIA 斜面培地に移植し、62°C、24 時間培養後、1 白金耳をブイヨン（日水製薬製）、温度変化の試験の場合はブレインハートインフュージョンブイヨン（日水製薬製）10 ml に加え、バイブレーターで混和し、62°C、24 時間培養後、内容物を再びバイブレーターで均一化し、1 白金耳を別の新しいブイヨンに移植し、62°C、24 時間培養した。つぎに、これを 1 ml とり、ブイヨン 1 kg に加え、混合した均一菌液で供試薬剤濃度を 0~0.5% とし、55~70°C、48 時間培養後、抗菌効果を判定した。ここで培養温度を、上限を 70°C と定めたのは米飯が黄ばみ始める限界温度であり、下限を 55°C と定めたのは米飯の保温上の限界温度とみなしたためである。

2) 米飯共存下の抗菌力試験 実験に供した器具、材料の殺菌は原則として乾熱殺菌により、プラスチック材料、食品原料はエチレンオキサイドガス殺菌によった。

まず、殺菌ずみの米、水、ピーカーを用いて蒸器中で炊飯した米飯 200 g と滅菌生理食塩水 800 g を殺菌ずみの市販家庭用ミキサー（東芝 MX-20S）中で 15 分間混合後、分離菌 1 白金耳を滅菌生理食塩水 10 ml に懸濁させたものを加え、5 分間混合し均一菌液とした（なおこのものの菌数測定により初発菌数を求めた）。つぎに、供試薬剤を上記均一菌液で 0~3.2% 濃度としたのち、

殺菌ずみのアルミ箔フタつき 500 ml ビーカーに 100 g 加え、55~70°C、24 時間放置後、菌数測定により抗菌力を調べた。なお、試験温度を 1) と同様に上限、下限を定めた。

3) 菌数測定 検体 5 g を滅菌生理食塩水 45 g に加えて試料原液を調製し、滅菌生理食塩水で順次 10 倍希釈し 10⁵ 倍までの希釈液を調製した。つぎに、これらの各希釈液について BHIA 培地を用いた混濁培養し、62°C、48 時間培養後、生菌数を算定した。ただし、生菌数は同一希釈液について、おのおの 2 枚ずつ平板を作成して、その平均値を求めた。

4. 走査型電子顕微鏡観察

電子ジャー内容器面を観察するために、試料として内容器を 5 mm² の大きさに切り、日本電子製真空蒸着装置 JEE-4C 型を用い、2×10⁻⁵ mmHg 以上の高真空中で試料表面に金を 1,000 Å 程度の厚さに蒸着させたのち、日本電子製走査型電子顕微鏡により、3,000 倍の拡大倍率で観察し写真撮影した。なお、分離菌を同時に撮影する場合は、あらかじめ含有分離菌数が 10³/ml 付近になるように調製した滅菌生理食塩水懸濁液を試料の表面に塗布し自然乾燥後、上と同様な操作で写真撮影した。

5. 電子ジャー中での米飯保存実用試験

殺菌ずみの米、水、ピーカーを用いて、蒸器中で炊飯した米飯 200 g と滅菌生理食塩水 300 g を殺菌ずみの市販家庭用ミキサー中で 10 分間混合し、分離菌 1 白金耳を滅菌生理食塩水 10 ml に懸濁させたものを加え、さらに 5 分間混合後、15 g とり殺菌ずみのナイロンはけにより市販電子ジャー内容器内面（殺菌ずみ）に均一に塗布したのち、1 時間前に通電しておいた電子ジャーに入れ 2~3 時間放置し、完全な被膜を形成させた。つぎに中性洗剤（花王石鹸製品ファミリー）0.2% 水溶液を上記処理済み内容器に 3 l 入れ、スポンジタワシにより同一速度で、ゆっくりと内壁を 3 回こすってから捨て、つぎに同量の水を入れ洗浄に使用したスポンジタワシをそのま

ま用い内壁を1回こすって捨てた。さらに水を入れかえて軽く水をゆり動かしながらすすぎ、十分に水を切ったのち、1時間前に通電しておいた電子ジャーに入れて1時間放置後、殺菌ずみのペーパークロマトグラフ用着色ガラス製噴霧器で供試薬剤の0～1%滅菌水希釈液を内容器内壁へ2.5 ml 均一に噴霧し電子ジャーにもどした。つぎに、市販ガス炊飯器(容量 3.6 l)で市販徳用米を炊飯後、15分間経過してから各電子ジャー内へ0.6 l ずつ入飯(入飯温度はいずれも 62～63℃であった)し22時間放置後、保存米飯の変敗臭について検査パネルにより判定した。

6. 米飯変敗臭確認試験

熟練した嗅覚パネル7名を選び、変敗臭の強弱に応じて下記の点数をつけさせ、2元配置法¹⁵⁾による分散分析の結果から危険率を求め有意差検定を行なった。

変敗臭点数	0	まったくなし
	1	ごくわずかに
	2	かなり
	3	非常に

実験結果と考察

1. 電子ジャー内容器面の走査型電子顕微鏡観察

アルミニウムのみからなる内容器面の走査型電子顕微鏡写真を Fig. 1 に示す。写真からわかるように表面はかなりの凹凸があり、しかも、くぼみの部分は細菌が十分潜入できる大きさがあり、除菌または殺菌(静菌も含む)のいずれかにより、米飯の変敗防止が可能であると推定できる。除菌する場合は洗浄剤の使用があげられ、殺菌および静菌する場合は抗菌剤の使用があげられる。しかしながら、予備試験として、市販中性洗剤を用いて分離菌を塗布した内容器を洗浄したのち、電子ジャーへの入飯試験を行なった結果では、水洗いと同様の効果しか認められず、内容器面の凹凸のために洗浄剤の除菌効果だけでは不十分であった。同様にして、本報で述べる抗菌性と洗浄性をあわせ持つ配合剤も、洗浄剤として使用しただけでは、すすぎの際に抗菌性成分が洗い落とされるために十分な抗菌効果を発揮できなかった。したがって、あくまでも一定量を付着残存させるような使用方法を想定して、後述の抗菌力確認試験を行なった。なお、Fig. 2 に示すように内面をテフロンコートした内容器についても、走査型電子顕微鏡による観察を行なった。この場合、アルミニウム板の場合とは形状を異にする無数の孔の存在をみとめた。テフロンコートした内容器面に分離菌を塗布し、中性洗剤による洗浄後、電子ジャーへの入飯試験を行なった結果、完全に除菌されず変敗臭を発することを認めた。これは無数に存在する孔の中に先述のアルミニウム板と同様に変敗原因菌が潜入

Fig. 1. Scanning electron micrograph of surface on the inside container in an electronic jar (3,000×).

Fig. 2. Scanning electron micrograph of surface on the inside container coated with teflon in an electronic jar (3,000×).

し、洗浄のみでは除菌されないことを示すものと考えられる。さらにまた、このような微細な孔が存在するために、肉眼的には内容器から完全に飯粒が除去できたと思われるような場合でも、ヨードデンプン反応でかなり発色することがあり、おそらく洗浄では除去されないデンプン粒が、これらの孔の中に入り込んでいるものと考えられる。これらのデンプンはまた変敗原因菌の増殖に対しても、絶好の栄養源となりうる。洗浄剤の洗浄作用には限界があるために、抗菌性物質の付着残存することが必要になってくる。本報で述べる抗菌性と洗浄性をあわせ持つ配合剤についても、一般洗浄剤としての使用方法でなく、水によるすすぎを省略した使用方法を想定し、

Table 2. Inhibitory activities of each main component constituted the formulated drug A against putrefactive bacteria incubated in nutrient broth.

Name of component	Concentration (%)	Growth of bacteria
Glycerol monocaprylate	0.01	+
	0.02	+
	0.05	-
	0.10	-
Sucrose fatty acid ester	0.08	+
	0.10	+
	0.15	+
	0.20	+
Potassium pyrophosphate	0.08	+
	0.10	+
	0.20	+
	0.04	+

+ : growth, - : complete inhibition of growth.

Bacteria were incubated with each component at 62°C for 48 hours.

Table 3. Inhibitory activity of formulated drugs against putrefactive bacteria in nutrient broth.

Drug	Inhibiting concentrations for bacterial growth in per cent				
	0	0.01	0.02	0.05	0.1
A	+++	-	-	-	-
B	+++	-	-	-	-
C	+++	±	-	-	-

+++ : very good growth, ± : poor growth, - : complete inhibition of growth.

Bacteria were incubated with antiseptic detergents at 62°C for 48 hours.

抗菌剤として内容器内壁に付着残存させたときの効果を調べることにした。

2. 抗菌力試験

1) 配合剤構成成分単独の抗菌効力試験 Table 2 に示すように、配合剤中の単一成分についてみた場合、グリセリンカプリル酸エステルを除いては、抗菌作用を示さなかった。なお、グリセリンカプリル酸エステルに注目すれば、単独では 0.05% で有効であるのに対し、配合剤 A では、わずか 4% の配合量にもかかわらず、Table 3 より 0.01% で有効であることより数十倍に効力が増強されていることがわかる。

2) 各配合剤の抗菌効力試験

i) 米飯非共存下の抗菌効力試験 Table 3 にはクエ

ン酸ナトリウムを配合しても、抗菌力増強効果のないことを確認した結果を示す。

ii) 米飯共存下の抗菌効力試験 Table 4 において配合剤 A と B, C と D のおのおのの比較から明らかなように、クエン酸ナトリウムを配合しても抗菌力増強効果はまったく認められなかったが、ピロリン酸カリウムにより抗菌力が増強されることがわかった。以下、配合剤 A (以後、単に配合剤と記す) にしぼって検討を進めた。

3) 温度の影響 配合剤の抗菌力におよぼす温度の影響について Table 5 に米飯共存下の結果を示し、Table 6 には非共存下の結果を示した。いずれの場合も、温度が上昇するほど最少有効濃度を低下できることを確認した。また、配合剤の抗菌力に関しては、米飯デンプンが

Table 4. Bacteriostatic activity of formulated drugs against putrefactive bacteria inoculated in boiled milled rice suspension prepared by physiological saline solution.

Drug	Bacterial counts (No./g) after 24 hours at each concentration (%) at 62°C							Initial counts of bacteria
	0	1.0	1.2	1.6	1.8	2.0	2.2	
A	4.4×10^5	1.9×10^2	0	0	0	0	0	1.2×10^4
B	2.9×10^5	2.1×10^2	0	0	0	0	0	1.1×10^4
C	4.4×10^5	6.2×10^4	3.8×10^4	8.1×10^3	4.4×10^3	2.2×10^2	0	1.2×10^4
D	2.9×10^5	4.9×10^4	4.5×10^4	9×10^4	9.1×10^4	2.6×10^4	0	1.1×10^4

Table 5. Influence of incubation temperatures to inhibitory activity of formulated drug A against putrefactive bacteria incubated in boiled milled rice suspension prepared by physiological saline solution.

Incubation temp.	Bacterial counts (No./g) after 24 hours at concentrations of formulated drug A (%)						Initial counts of bacteria (No./g)
	0	0.2	0.4	0.8	1.0	1.2	
55°C	2.5×10^5 (3)	1.8×10^5 (2.2)	5.4×10^5 (1.8)	1.4×10^4 (0.5)	4.6×10^2 (0.3)	0 (0)	2.9×10^3
	6.3×10^5 (3)	7.0×10^5 (2.2)	9.0×10^5 (1.9)	5.4×10^4 (0.5)	6.0×10^2 (0.2)	0 (0)	4.5×10^3
62°C	3.0×10^5 (3)	3.0×10^5 (2.6)	2.5×10^5 (1.5)	3.5×10^5 (0.6)	0 (0)	0 (0)	5.0×10^3
	4.0×10^5 (3)	1.9×10^5 (2.3)	1.3×10^5 (1.1)	1.0×10^5 (0.8)	0 (0)	0 (0)	1.7×10^3
70°C	4.8×10^5 (3)	3.5×10^5 (2.5)	2.1×10^3 (0.4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1.0×10^3
	1.3×10^5 (3)	5.8×10^5 (2.6)	5.8×10^4 (0.4)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3.6×10^3

() : Intensities of putrefactive odor detected by the sensory test.

Odor 0: none, 1: very slightly, 2: moderately, 3: highly.

存在することによって、存在しない場合に比べて変敗原因菌に対する有効阻止濃度が 50 倍前後高濃度側に移行することを認めた。変敗臭については、いずれの場合も 2 元配置法による分散分析の結果、試料間には危険率 0.1% で有意差があったが、検査パネル間には差はなかった。

4) 変敗原因菌数と変敗臭との関係 上記 Table 5 の変敗原因菌数と変敗臭との関係を Fig. 3 に示した。菌数の増加と変敗臭の強さとの間には、ある程度、相関性が認められ、変敗臭が 0.5 までは両者間に明らかな比例関係があるが、0.5 以上では菌数は 10^5 台の横ばいとなっている。これらのことから、ごくわずかでも変敗臭が認められる段階では、変敗原因菌数が 10^5 台に到達して

いることがわかった。

3. 電子ジャー入飯時における配合剤の効果

上述のように、ピーカースケールでの米飯変敗防止試験において配合剤の効力を確認できたので、電子ジャー入飯時にも同様の効果を示すかどうかの実用性を検討した。Table 7 にその結果を示す。5 回入飯試験をくり返し、配合剤の実用性を確認することができた。いずれの場合も 2 元配置法による分散分析の結果、試料間には危険率 0.1% で有意差があったが、検査パネル間には差はなかった。Table 7 の結果より、変敗臭 0.5 以下をほとんど変敗臭がしない領域とすれば、電子ジャー内容器内壁に配合剤を最低 25 mg 付着させることが必要であることを認めた。

Table 6. Influence of incubation temperatures to inhibitory activity of formulated drug A against putrefactive bacteria incubated in brain heart infusion.

Incubation temp.	Growth of bacteria at concentrations (%) of formulated drug A					
	0	0.01	0.02	0.05	0.1	0.2
55°C	+++	+++	—	—	—	—
	+++	+++	—	—	—	—
62°C	+++	+++	—	—	—	—
	+++	+++	—	—	—	—
70°C	++	—	—	—	—	—
	++	—	—	—	—	—

+++ : very good growth, ++ : good growth, — : complete inhibition of growth.

Bacteria were incubated with antiseptic detergent A at 62°C for 48 hours.

Fig. 3. Relation between bacterial counts and intensity of putrefactive odor detected by the sensory test.

本実験に使用してきた配合剤の米飯の味におよぼす影響について検討するため、最低必要量と考えられる 25 mg の 10 倍量に相当する 250 mg を電子ジャー内容器内壁に均一に付着させてから 24 時間入飯した米飯を味のパネル 6 名が試食したが、とくに問題はなかった。

なお、電子ジャー入飯後 24 時間経過した変敗米飯は高尾ら²⁾の報告と同様に変敗臭を呈するのみで、色の変化は認められなかった。

要 約

グリセリンカプリル酸エステルおよびそれを含む配合剤（すべて食品添加物からなる）による市販電子ジャー中の米飯変敗防止効果について検討し、以下の結果を得た。

1) 電子ジャー内容器面には無数の凹凸が認められ、その中には変敗原因菌が十分潜入できるくらいの孔もあり、洗浄による除菌作用のみでは、これらの菌を完全に除去できず、変敗防止効果は不十分であった。

2) 変敗米飯より分離した細菌に対する抗菌効果は、グリセリンカプリル酸エステル単独よりも、それとショ糖脂肪酸エステル、ピロリン酸カリウムなどを配合した配合剤のほうが優れていた。

3) 分離菌に対する配合剤の抗菌力は、デンプン共存下ではデンプン非共存下の 50 分の 1 に低下した。また、温度を 55°C から 70°C に上昇することによって抗菌力は増大した。

4) 米飯の変敗臭がかなり弱い間は、変敗原因菌数と変敗臭との間に比例関係が認められたが、菌数が 10^5 台に増殖すると、変敗臭の強度との相関性が見られなくなった。すなわち、ごくわずかでも変敗臭がすれば菌数は 10^5 台に増殖していることを認めた。

5) 電子ジャーへの入飯試験の結果、グリセリンカプリル酸エステルを含む配合剤を内容器内壁に最低 25 mg 付着残存させることにより、変敗臭を著しく減少させることが可能であることを認めた。

6) 本配合剤の米飯の味におよぼす影響について検討したが、とくに問題はなかった。

7) 以上のことより、電子ジャー中の保存米飯の変敗防止に、グリセリンカプリル酸エステルを含む配合剤を入飯前にあらかじめ内容器内壁に塗布あるいは噴霧する使い方をすれば、十分効果を発揮できると思われる。

Table 7. Inhibitory effect of formulated drug A to putrefactive odor of boiled milled rice when stored in electronic jar.

Intensity of putrefactive odor detected by the sensory test composed of 7 panels.

No. of tests	Concentration of formulated drug A (%)						Initial counts of bacteria in boiled rice suspension
	0	0.05	0.1	0.2	0.5	1.0	
1	2.6	1.8	2.2	0.6	0.8	0.6	1.3×10^4
2	1.6	1.4	1.4	1.2	0.6	0.4	6.2×10^3
3	2.5	1.9	1.5	1.2	1.0	0.3	3.5×10^3
4	1.3	1.3	1.0	1.1	0.7	0.4	8.9×10^3
5	2.8	1.9	1.9	1.8	1.4	0.8	1.0×10^3
Average	2.2	1.7	1.6	1.2	0.9	0.5	

Storage period: 22 hours, storage temp.: 62-63°C.

Intensity of odor 0: none, 1: very slightly, 2: moderately, 3: highly.

文 献

- 1) 重山俊男, 村上八郎, 東日出男: 栄養と食糧, 14, 472 (1961)
- 2) 高尾 朔, 外村佳子: 食衛誌, 13, 488 (1972)
- 3) 上田誠之助, 徳永弘幾: 調味科学, 13 (6), 1 (1967)
- 4) 古賀友英, 渡辺忠雄: 食品工誌, 15 (7), 2 (1968)
- 5) 古賀友英, 渡辺忠雄: 食品工誌, 15 (7), 6 (1968)
- 6) 宇野 勉: 北海道水研報, 20, 191 (1958)
- 7) 岡村一弘, 松田敏生, 横山理雄: 日水誌, 24, 545 (1958)
- 8) 小沢樹夫, 長岡 達, 新垣正次: 食衛誌, 4, 283 (1963)
- 9) 小沢樹夫, 長岡 達, 新垣正次: 食衛誌, 4, 287

- (1963)
- 10) 小沢樹夫, 長岡 達, 新垣正次: 食衛誌, 4, 332 (1963)
- 11) 金礪純子: ニューフードインダストリー, 1 (8), 26 (1959)
- 12) 勝井次男, 梅田真男: ニューフードインダストリー, 3 (2), 1 (1961)
- 13) 幸保文治: 日大医, 20, 1411 (1961)
- 14) 小沢樹夫, 長岡 達, 新垣正次: 食衛誌, 4, 339 (1963)
- 15) 日科技連官能検査委員会: 工業における官能検査ハンドブック, 229 (1962), JUSE 出版社 (東京)

(昭和50年3月17日受理)