

米飯類에 있어서 *Bacillus cereus* 菌의 分布와 生理的特性에 관한 研究

李 明 淑* · 張 東 錫*

DISTRIBUTION AND PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF *BACILLUS CEREUS* IN RICE AND RICE PRODUCTS

Myeong-Sook LEE* and Dong-Suck CHANG*

Recently, *Bacillus cereus* has been identified as one of food poisoning bacteria especially in products of cereal foods in foreign countries. Therefore, the quantitative distribution of *Bacillus cereus* in market foods, its physiological characteristics, growth rate by temperature and heat resistance of its spore were examined. Thirty two samples of cooked rice, 20 samples of kimbab(cooked rice rolled with laver), 23 samples of rice cake, 13 samples of rice and 13 samples of barley were collected from restaurants and food stores in Busan, Korea during the period from May to November in 1980.

Forty samples of 101 samples submitted to the test appeared positive for *Bacillus cereus* showing about 40% in detection ratio. Detection ratio of *Bacillus cereus* was higher than 50% in barley and rice, and about 30% in rice products. Average *Bacillus cereus* content of in the samples was $2.6 \times 10^6/g$ in cooked rice, $2.3 \times 10^6/g$ in kimbab, $4.9 \times 10^4/g$ in rice cake while that in rice and barley was about $10^3/g$.

The result of biochemical tests of the bacterium was 100% positive in catalase, egg yolk reaction, gelatin hydrolysis and glucose fermentation, 100% negative in xylose, arabinose and mannitol oxidation, about 90% positive in acetoin production, 80.0% positive in nitrate reduction and citrate utilization and 55.0% positive in starch hydrolysis test.

Isolation ratio of *Bacillus cereus* which showed haemolysis positive and starch hydrolysis negative results, was about 38% in 40 strains examined. It is known that those strains has a close relation to food poisoning accident.

Growth rate and generation time of *Bacillus cereus* isolated from the cooked rice were 0.34 hr^{-1} , 2.02 hr at 20°C, 0.73 hr^{-1} , 0.95 hr at 30°C and 0.49 hr^{-1} , 1.44 hr at 40°C respectively. Heat resistance value of *Bacillus cereus* spores suspended in phosphate buffer solution was $D_{90} = 29.0 \text{ min}$, $D_{95} = 8.7 \text{ min}$, $D_{99} = 3.7 \text{ min}$ and $D_{101} = 2.3 \text{ min}(z = 10.5)$.

緒 論

Bacillus cereus(以下 *B. cereus*) 菌은 土壤, 먼지, 水中等 自然環境에 널리 分布하고 있는 Gram 陽

性, 好氣性的 有孢子 桿菌으로 食品等 一般有機物의 腐敗 原因菌으로 알려져 있으며 病原性과는 關係없는 雜菌으로 取扱되어 왔다.

그러나 最近 많은 研究者들에 의해 *B. cereus* 菌에

* 釜山水産大學 食品工學科, Dept. of Food Science and Technology, National Fisheries University of Busan, Namgu, Busan, 601-01 Korea.

依한 食中毒事例가 調査報告되고 있다. Hauge (1950)가 最初로 *B. cereus*菌에 依한 食中毒을 報告한 以來 日本에서는 1960年 以後 *B. cereus*菌에 依한 食中毒事例가 繼續 報告되고 있으며(藤原, 1980) 1976年 山形縣衛生部の 報告書에서는 列車內에서 도시락을 먹은 422名中 130名이 發病(發病率 30.8%)하여 3名이 死亡한 食中毒事例의 原因菌은 腸炎 비브리오, 포도 球菌, *B. cereus*菌의 混合感染이라 밝혔는데, 藤原(1976)는 *B. cereus*菌 單獨感染인 境遇에 比하여 腸炎비브리오와 混合感染되었을때 顯著한 病變을 나타낸다고 報告하였다. 村上(1977)는 헝가리에서 1960년부터 1966年사이에 88件의 *B. cereus*菌에 依한 食中毒으로 3,560名이 發病하여 全 食中毒患者의 11%를 차지하였다고 報告하였다.

*B. cereus*菌의 食中毒症狀에 關한 Hauge(1955), Kim과Goepfert(1971 b), Spira와 Goepfert(1972), Gorina(1975), 寺山등(1978), 赤山등(1980), 藤原(1980) 등의 報告에 依하면 潛伏期가 8~14時間으로 下痢, 嘔吐, 腹痛 등이 일어나며 深한 境遇에는 急性胃腸炎을 일으킨다고 하였다.

食品에서 分布와 汚染狀態에 關해서는 Mossel등(1967), Kim과 Goepfert(1971), Bradshaw등(1975), 品川등(1979), 寺山등(1978), 赤山등(1980)이 報告한 바 있는데 澱粉을 主原料로한 食品과 香辛料가 添加된 肉類에 主로 分布하였고 그밖에 乾燥食品, 乳製品을 비롯한 一般食品에 널리 分布하였다고 報告하였다.

食中毒 原因毒素에 關하여 Ezechuck와 Fluor(1971), Gorina 등 (1975), 村上(1977), 安川 등(1979), 藤原(1980) 등이 報告한 바에 依하면 *B. cereus*菌體에서 分離精製된 enterotoxin이 毒性을 가진다고 하였으나 發病的 機構에 對하여서는 아직 밝혀져 있지 않았다.

以上에서 알 수 있듯이 *B. cereus*菌은 食品에 널리 分布하고 있으며, 澱粉食品으로 因한 食中毒事例도 자주 發生하고 있으므로 米飯類를 主食으로 하고 있는 우리나라에서도 *B. cereus*菌에 關한 研究가 時急하나 現在까지 國內에서는 이 菌에 對한 報告가 거의 없는 實情이다.

따라서 本 實驗은 米飯類와 그 原料를 對象으로 *B. cereus*菌의 分布狀態와 그 生化學的 性狀, 溶血性 檢査 그리고 增殖速度와 胞子の 耐熱性을 調査, 檢討하여 食品衛生管理의 基礎資料를 얻고자 1980年 5월부터 11月사이에 5種 總 101個 試料를 對象으로

實驗하여 다음의 結果를 얻었기에 報告하는 바이다

試料 및 方法

1. 實驗試料

本 實驗에 使用된 試料는 1980年 5월부터 11月사이에 釜山市內 所在하는 各種 飲食店과 商店에서 購入한 것으로 밥(cooked rice) 32個, 김밥(cooked rice rolled with laver) 20個, 떡(rice cake) 23個, 쌀(rice) 13個 그리고 보리(barley) 13個 등 5種 總 101個 試料를 對象으로 實驗하였다.

2. 實驗方法

모든 試料는 採取場所에서 滅菌試料瓶에 直接 採取하여 實驗室에 옮긴 즉시 Fig.1과 같이 實驗하였다.

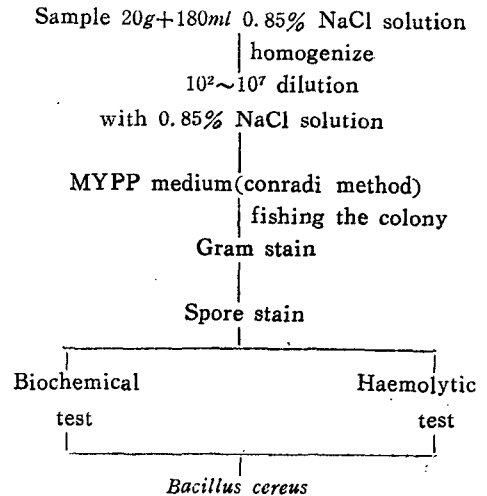


Fig. 1. Analytical method for *Bacillus cereus*.

1) 生菌數

A. P. H. A. (1970)方法으로 實驗하였다.

2) *B. cereus*菌의 分離 및 同定

菌의 分離에는 Mossel등(1967)이 考案한 Man-nitol egg yolk phenol red polymyxin(MYPP) 選擇培地를 使用하였으며 그 組成은 Table 1과 같다. MYPP 培地를 滅菌하여 50°C 附近으로 冷却시킨 후 卵黃과 polymyxin B sulfate를 組成대로 加

Table 1. Composition of MYPP medium

Beef extract	1g
Peptone	10g
D-mannitol	10g
Sodium chloride	10g
Phenol red	0.025g
Agar	15g
Distilled water	900 ml
Final pH	7.1±0.1
Sterilized at 121°C for 15min.	
add	
20% Egg yolk	100 ml
Polymyxin B sulfate	0.01g

하여 平板을 만든 후 表面乾燥시킨 다음 段階別로 稀釋된 試料 0.1ml씩을 conrdi 法으로 接種하여 30.0±0.5°C에서 18~24時間 培養하였다. 培地上에서 卵黃反應陽性, 灰白色~白色的 平平한 S-R型的 集落을 分離培養하여 이 중에서 Gram 陽性, 有孢子 桿菌을 推定 *B. cereus*로 하였다.

*B. cereus*菌의 同定은 東(1962 a)의 好氣性, 有孢子 菌의 間易同定法에 準하였다. 生化學 試驗項目中 citrate utilization과 nitrate reduction test는 東(1962 b)의 方法에 따랐고 나머지 試驗은 Harri-gan과 McCance(1976)의 方法으로 하였다.

3) 增殖曲線

使用된 菌株는 밤에서 分離된 것으로 溶血性이 強하고 培地上에서 典型的인 集落形態를 나타내는 것을 試驗菌株로 하였다. 種菌培養은 Table 2와 같은

Table 2. Composition of culture medium

Beef extract	2g
Peptone	2g
Sodium chloride	5g
Glucose	3g
Distilled water	1000ml
Final pH	7.1±0.1
Sterilized at 121°C for 15min.	

組成의 培地를 使用하여 100rpm으로 調整된 振盪 培養器(Lab-Line incubator. shaker, No. 3595)에서 30°C, 12時間 培養시켰다. 本 培養은 1,000 ml 容量의 삼각 flask에 培地 500 ml를 넣고 最初菌數가 $1.7 \times 10^4 / ml$ 되도록 種菌을 接種하여 培養시켰다.

培養溫度는 10, 20, 25, 30, 35, 40 그리고 50°C로 區分 培養하면서 2時間 間隔으로 一定量의 培養液을 取하여 生菌數를 測定하였다. 培養時間과 生菌數의 關係를 圖示하여 增殖曲線을 求하였다.

이 結果를 다음 式에 適用하여 比增殖速度(specific growth rate, K)와 平均世代時間(generation time, G. T.)를 求하였다.

一般的으로 微生物은 對數的으로 增殖하므로

$$X_t = X_0 \cdot e^{KT}$$

의 關係가 成立되며, K는 다음식으로 表示할 수 있다.

$$K = \frac{2.303 \log X_t / X_0}{T}$$

또한 平均世代時間은 한개의 菌體가 새로운 菌體로 生育되는데 要求되는 時間이므로 다음 식으로 表示할 수 있다.

$$G. T. = \frac{2.303 \log 2}{K}$$

여기서

K: 比增殖速度 [hr⁻¹]

G. T.: 平均世代時間 [hr]

T: 經過時間 [hr]

X: 最初의 菌數

X_t: T時間後의 菌數

4) 孢子的 耐熱性

本 實驗에 使用한 菌株는 增殖曲線實驗에 使用하였던 것과 같았다. 孢子的 生成은 potato dextrose agar(pH 7.1)에 菌을 接種하여 30°C에서 10日培養後 滅菌生理食鹽水에 集菌하여 2,500rpm으로 10分間 2回 遠心分離하여 孢子만 모아 $10^9 \sim 10^{10} / ml$ 되도록 滅菌生理食鹽水에 懸濁시킨 것을 被檢液으로 하였다. 2,000 ml 容量의 round bottom flask에 990 ml의 滅菌 磷酸緩衝稀釋水를 넣어 加熱式 磁氣攪拌機로써 加熱, 攪拌시켜 所定의 溫度에 到達하면 10 ml의 被檢液을 接種하였다. 試驗溫度를 90±0.5, 95±0.5, 98±0.5, 101±0.5°C로 各々 變化시키면서 加熱後 一定時間 間隔으로 菌體液을 10ml取하여 미리 冷却된 滅菌生理食鹽水로 段階別로 稀釋하여 生菌數를 測定하여 孢子的 耐熱性은 D-value와 z-value로 比較하였다.

D-value는 주어진 溫度에서 微生物을 90% 死滅시키는 데 所要되는 時間으로

$$D = \frac{t}{\log \frac{N_0}{N_t}}$$

인 관계가 있다. 여기서

D : D-value [min]

t : 加熱時間 [min]

N_0 : 最初の 菌數

N_t : t 時間後의 菌數

이다. 또한 z-value는 D-value를 1/10로 줄이는데
要하는 溫度 上昇을 뜻하며

$$z = \frac{T_2 - T_1}{\log \frac{D_1}{D_2}}$$

인 관계가 있다. 여기서

z : z-value [°C]

T_1, T_2 : 加熱溫度 [°C]

D_1 : T_1 에서의 D-value [min]

D_2 : T_2 에서의 D-value [min]

이다.

結果 및 考察

1. *B. cereus* 菌의 分布

米飯類와 그 原料에 對한 *B. cereus* 菌의 實驗結果는 Table 3과 같았다. 總 101個 試料中 40個 試料에서 *B. cereus* 菌이 檢出되어 39.7%의 檢出率을 나타내었다. 食品別로는 보리의 境遇가 61.5%로 가장 높았고, 다음이 쌀의 境遇로 46.2% 이었으며 나머

Table 3. Distribution of *Bacillus cereus* in rice and rice products

Sample	No. of tested	No. of positive	Detection ratio(%)	Range/g	Average/g
Cooked rice	32	12	37.5	$2.0 \times 10^3 - 1.5 \times 10^7$	2.6×10^6
Kim bab*	20	6	30.0	$2.0 \times 10^2 - 1.4 \times 10^7$	2.3×10^6
Rice cake	23	8	34.5	$1.0 \times 10^2 - 3.6 \times 10^6$	4.9×10^5
Rice	13	6	46.2	$1.0 \times 10^2 - 2.2 \times 10^3$	5.9×10^2
Barley	13	8	61.5	$1.0 \times 10^2 - 1.4 \times 10^4$	2.6×10^3
Total	101	40	39.7		

* : Cooked rice rolled with laver

지 試料는 30% 程度의 비슷한 檢出率을 나타내었다. 品川(1979)는 日本에서 쌀의 境遇가 65.9%, 밥의 경우가 55.4%, 김밥의 경우가 41.4%의 檢出率을 나타내었다고 報告하였다. 이는 本實驗 結果보다 다소 높은 傾向을 나타내었다. 이 외에도 Kim과 Goepfert(1971a)는 美國內의 乾燥食品類에서는 23.5%, 寺山등(1978)은 牛乳가 70%以上, 菓子類는 6.7%, 통조림은 13.6%이었고 그의 各種市販食品에서는 18.8%의 檢出率을 나타내었다고 報告한 바 있다.

B. cereus 菌의 分布 範圍는 $10^2 \sim 10^7/g$ 이었는데 밥과 김밥의 境遇가 汚染度가 높아서 $2.0 \times 10^2 \sim 1.5 \times 10^7/g$ 의 分布로 平均 $10^6/g$ 이상이었으며 쌀과 보리의 境遇는 $1.0 \times 10^2 \sim 1.4 \times 10^4/g$ 의 分布로 平均 $10^3/g$ 程度이었다.

이상에서 쌀과 보리의 境遇 檢出率은 50% 程度로 높았으나 汚染度는 $10^3/g$ 程度로 낮았으며 밥, 김밥, 떡의 境遇는 檢出率은 30% 附近이었으나 汚染度는 $10^6/g$ 程度로 매우 높았다. 이는 밥, 김밥, 떡

Table 4. Standard plate counts in rice and rice products

	No. of samples	Range/g	Average/g
Cooked rice	32	$<300 - 1.7 \times 10^9$	$<7.8 \times 10^7$
Kim bab*	20	$1.8 \times 10^5 - 4.3 \times 10^8$	9.3×10^7
Rice cake	23	$4.2 \times 10^3 - 2.7 \times 10^8$	1.7×10^7
Rice	13	$5.0 \times 10^2 - 3.5 \times 10^6$	5.4×10^4
Barley	12	$1.7 \times 10^2 - 4.4 \times 10^4$	1.2×10^4

* : Cooked rice rolled with laver

이 *B. cereus* 菌의 發育에 適當한 條件임을 暗示하므로 특히 여름철에는 衛生的인 管理가 要望된다.

米飯類와 그 原料에 對한 一般生菌數 實驗結果는 Table 4와 같은데 食品의 種類에 따라 變化幅이 甚하였으며 原料보다 加工品에서 汚染度가 높아서 $10^7/g$ 以上을 나타내었다. 여기에서 보듯이 *B. cereus* 菌의 汚染度와 一般生菌數 사이에는 一定한 相關關

Table 5. *Bacillus cereus* and standard plate counts in rice and rice products

Sample	No. of samples	Standard plate counts/g at 35°C		No. of <i>B. cereus</i> /g at 30°C			Duration after cooking or processing
		Range	Average	No. of positive(%)	Range	Average	
Rice	13	$5.0 \times 10^2 - 3.5 \times 10^5$	5.4×10^4	6 (46.2)	$1.0 \times 10^2 - 2.2 \times 10^3$	5.9×10^2	Raw rice
Cooked rice	4	<300	<300	ND			Immediately
	14	$2.5 \times 10^3 - 4.2 \times 10^7$	5.6×10^6	4 (28.6)	$2.0 \times 10^3 - 2.5 \times 10^4$	1.1×10^4	5-6hrs
	14	$2.1 \times 10^5 - 1.7 \times 10^9$	1.8×10^8	8 (57.1)	$5.0 \times 10^3 - 1.5 \times 10^7$	3.9×10^6	9-10 hrs
Rice cake	11	$4.2 \times 10^3 - 2.0 \times 10^6$	6.1×10^5	2 (18.2)	$1.0 \times 10^3 - 5.0 \times 10^3$	3.0×10^3	1-2 hrs
	7	$1.8 \times 10^4 - 1.3 \times 10^7$	6.8×10^6	3 (42.9)	$1.0 \times 10^2 - 1.0 \times 10^4$	6.0×10^3	4-5 hrs
	5	$2.2 \times 10^4 - 2.7 \times 10^8$	6.7×10^7	3 (60.0)	$2.1 \times 10^2 - 3.6 \times 10^5$	1.5×10^5	7-8 hrs

ND : Not detected in planting of 0.01g of sample.

係는 찾을 수 없었다.

Table 5는 米飯類와 그 原料의 狀態에 따른 一般 生菌數와 *B. cereus*菌의 實驗結果이다. 쌀의 境遇 *B. cereus*菌의 檢出率은 46.2%, 汚染 平均値는 $5.9 \times 10^2/g$ 이었고 加熱直後의 밥은 試料 0.01g에서 檢出 되지 않았으나 室溫에서 5~6時間 經過하면 28.6%의 檢出率과 $1.1 \times 10^4/g$ 의 汚染度를 보이다가 9~10時間 後에는 各各 57.1%, $3.9 \times 10^6/g$ 으로 增加하였다. 떡의 境遇도 비슷한 傾向을 보였다. 즉 *B. cereus*菌은 加熱에 依하여 거의 파괴되지만 加熱後 室溫에 防置하면 檢出率과 汚染度가 增加하였는데 이는 加熱直後 食品中에 殘存하고 있던 *B. cereus* 胞子が 發芽增殖하는 것과 外部에서 汚染된 菌의 增殖에 起因하는 것이라 할 수 있다. 따라서 調理食品은 加熱後 取扱管理에 注意하면 어느 程度 *B. cereus*菌의 汚染이나 增殖을 막을 수 있을 것이다.

一般生菌數도 時間이 經過함에 따라 밥과 떡의 境遇 비슷하게 增加하였다.

*B. cereus*菌이 食中毒을 일으키는 菌量에 對한 報告로는 品川等(1979)은 주먹밥의 境遇 $10^6 \sim 10^7/g$ 程度, 藤原(1980)은 야채 soup에서는 $10^7 \sim 10^8/g$, 赤山等(1980)은 김밥에서는 $6.2 \times 10^6/g$ 以上 檢出되면 食中毒 發生 頻도가 높아진다고 하였다. 그러므로 一般食品에서 *B. cereus*菌이 $10^6/g$ 以上 檢出되면 食中毒이 發生할 可能性이 있는 것으로 推定할 수 있는데 本 實驗에서는 밥의 境遇 加熱後 9~10時間 經過한 8個 試料中 3個 試料가 $10^6/g$ 以上の 菌數가 檢出되었으며 이중 1個試料는 $1.5 \times 10^7/g$ 이었다. 김밥과 떡에서도 $10^6/g$ 以上 汚染된 試料가 少數이지만 檢出되고 있으므로 年中 氣溫이 높은 6月에서 10月사이에 이들 食品의 保存 溫度와 期間, 取扱 등에

注意가 要望된다.

2. 分離菌株의 生化學的 性狀

MYPP培地에서 *B. cereus*菌으로 確定된 40菌株에 對한 生化學實驗結果는 Table 6과 같았다. catalase, motility, egg yolk reaction, gelatin hydrolysis, glucose fermentation은 100% 陽性反應을, 그리고 xylose, arabinose, mannitol oxidation은 100% 陰性反應을 나타내었다. 그외 Voges-Proskauer test는 92.5%, citrate utilization, nitrate reduction test에서는 80.0%, starch hydrolysis는 55.0%의 陽性反應을 나타내었다. 寺山等(1978)은 日本市販食品에서 分離한 *B. cereus*菌의 生化學性狀은 V-P test는 98.9%, citrate utilization은 74.6%, nitrate reduction은 84.2%, starch hydrolysis는 34.2%의 陽性反應을 나타냈다고 報告한 바 있는데 이는 本 實驗結果와 잘 一致 하였으나 starch hydrolysis가 多少 높은 값을 나타내었다.

生化學 性狀에 따라 Type I에서 X까지 分類할 수 있었다. 이중 Type I, II, VI가 全體의 70% 이상을 차지하였고 나머지는 5.0% 附近이었다. 東(1962 b)은 Type I과 II가 主를 이룬다고 報告하였고 寺山等(1978)은 市販食品에서 分離한 *B. cereus*는 Type II가 52.9%, Type I이 16.2% 차지하였고 나머지는 3~4% 未滿이었다고 報告하였는데 本 實驗結果와 若干의 差異가 있었다.

3. 分離菌株의 溶血性과 澱粉液化能

*B. cereus*菌의 生化學 性狀中 食中毒 發生과 關係 깊은 溶血性과 澱粉液化能의 試驗結果를 Table 7에

Table 6. Frequency of combinaton of various characteristics of *Bacills cereus*

Tested items	Positive percentt	Type differentiated by characteristics									
		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Catalase	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Motility	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V-P rection	92.5	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+
Egg yolk reation	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gelatin hydrolysis	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Citrate utilization	80.0	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
Nitrate reduction	80.0	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-
Starch hydrolysis	55.0	+	-	-	+	-	+	-	-	+	+
Acid formation from											
Glucose	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Xylose	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Arabinose	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mannitol	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
No. of strains of each group		12	11	1	5	2	3	2	2	1	1
Percent in total		30.0	27.5	2.5	12.5	5.0	7.5	5.0	5.0	2.5	2.5

나타내었다. 溶血性 試驗에 使用된 血液은 釜山赤十字 血液院에서 1980.6.11 採血한 O型的 신선한 것이었다.

總 40菌株中 溶血性이 있는 것은 28菌株로 70.0%에 相當하였으며 澱粉液化能 陰性인 것은 19菌株로 47.5%에 相當하였다.

Table 7. Haemolysis and starch hydrolysis test of *Bacillus cereus* strains examined

Sample	No. of strains examined	Haemolysis test positive strains		Starch hydrolysis test negative strains		Haemolysis positive, starch hydrolysis negative strains	
		Number	%	Number	%	Number	%
Cooked rice	12	11	91.7	8	66.7	7	58.3
Kim bab*	6	5	83.3	3	50.0	3	50.0
Rice cake	8	4	50.0	5	62.5	3	37.5
Rice	6	4	66.7	1	16.7	1	16.7
Barley	8	4	50.0	2	25.5	1	12.5
Total	40	28	70.0	19	47.5	15	37.5

*: cooked rice rolled with laver

品川등(1979)은 *B. cereus*菌에 依하여 食中毒을 일으킨 患者의 排泄物에서 36菌株를 分離하여 試驗한 結果 100%의 溶血性과 澱粉液化能陰性을 나타내었다고 報告한 바 있다. 本 實驗의 結果는 37.5%에 相當하는 15菌株가 위의 反應을 나타내었다. 그러므로 15菌株는 菌量이 一定量 以上 增殖하면 食中毒을 일으킬 可能性이 있다고 推定할 수 있으며 食品別로

는 밥의 境遇, 12菌株中 7菌株로 58.3%의 最高値를 나타내었는데 쌀의 境遇, 16.7%인 것은 注目할 만 하였고 이 結果는 品川등(1979)이 報告한 쌀의 境遇 16.7%, 밥의 境遇 61.8%의 結果와 잘 一致하였다.

4. 增殖速度와 平均世代時間

培養溫度를 10℃에서 50℃로 變化시키면서 培養한

結果 10℃와 50℃에서는 菌體增殖을 볼 수 없었으며 20, 25, 30, 35, 40℃에서는 Fig. 2와 같이 增殖하였다. 30℃와 35℃에서 菌株의 增殖이 빨라서 誘導期는 2-3時間이 있으나 30℃에가 對數期가 길어 14時間後 10⁷/ml以上으로 最高菌濃度에 달하였다.

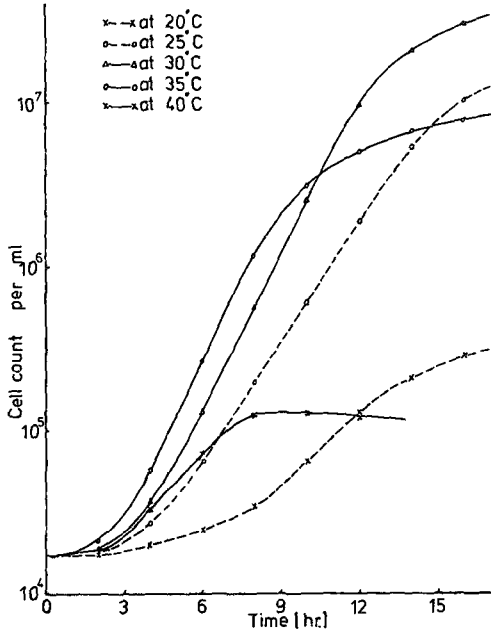


Fig. 2. Temperature effects on the growth of *Bacillus cereus*.

名 溫度別로 培養時間과 生菌數와의 關係式에서 求한 比增殖速度와 平均世代時間을 Table 8에 나타내었다. 35℃의 境遇가 比增殖速度 0.79hr⁻¹, 平均世代時間이 0.88hr로 菌體의 增殖이 빨랐으며 30℃때는 0.73hr⁻¹, 0.95hr이었다. 以上에서 *B. cereus*菌의 生育適溫은 32℃附近이었고 最高菌濃度에 達하는 溫度는 30℃附近으로 判定할 수 있었다.

Table 8. Temperature effects on specific growth rate and generation time of *Bacillus cereus*

Temp. (°C)	Specific growth rate (hr ⁻¹)	Generation time(hr)
20	0.34	2.02
25	0.57	1.22
30	0.73	0.95
35	0.79	0.88
40	0.49	1.44

Warth(1978)는 sporulation medium에서 *B. cereus* T菌과 *B. cereus* sub sp. *mycoides*菌에 대한 試驗結果 生育適溫과 比增殖速度는 名名 39℃, 2.5hr⁻¹와 33℃, 1.2hr⁻¹이었다고 報告하였는데 이는 本實驗과는 使用培地の 組成과 菌種의 差異로 因한 結果로 推定할 수 있겠다.

藤原(1980)에 依하면 卵黃을 添加한 肉에 最初菌數가 9.0×10³/g 되도록 *B. cereus*菌을 接種, 30℃에서 培養한 結果 8時間內에 10⁷/g 以上으로 增殖하였다고 報告하였다.

本實驗에서는 最初菌數가 1.5×10⁴/ml로 接種하여 培養하였더니 10⁷/ml 以上 增殖하는데 30℃의 境遇 12時間 程度걸렸다. 이때 平均 世代時間이 1時間 以內이므로 氣溫이 30℃ 附近으로 上昇하는 여름철에는 保存溫度와 時間에 注意할 必要가 있으며 이 程度의 時間에서는 포도 球菌의 enterotoxin도 食中毒 發症量이 產生되고 腸炎비브리오菌의 增殖도 10⁸/g 以上 된다고 藤原(1980)가 報告하였다.

5. 孢子의 耐熱性

밖에서 分離한 *B. cereus*孢子의 溫度에 따른 死滅曲線은 Fig. 3과 같았다. 이때 加熱溫度는 一般食品을 調理할때의 範圍인 90℃에서 101℃를 擇하였다.

加熱溫度가 上昇함에 따라 孢子의 死滅率은 急格

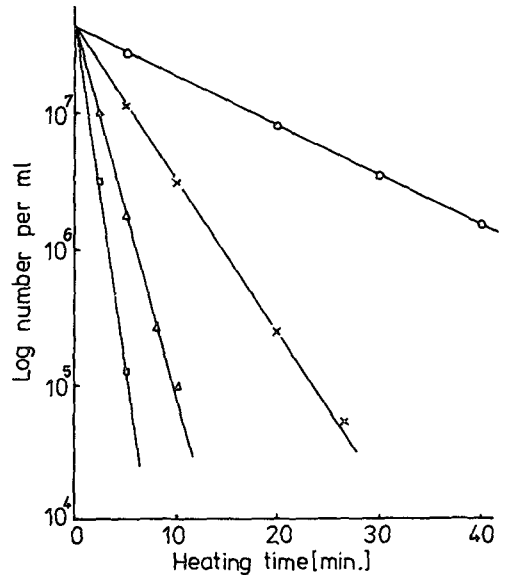


Fig. 3. The relationship between the spore concentration and the heating time at various temperature. ○—○ at 90℃; ×—× at 95℃; △—△ at 98℃; □—□ at 101℃.

히 增加되었으며 加熱溫度에 따른 D-value는 $D_{90}=29.0$ min, $D_{95}=8.7$ min, $D_{98}=3.7$ min, $D_{101}=2.3$ min으로 감소하였다.

D-value와 加熱溫度와의 關係를 圖示한 熱死時間曲線은 Fig. 4와 같았다. 이 直線 기울기의 逆數를 z-value라 하는데 z-value가 클수록 溫度上昇에 따

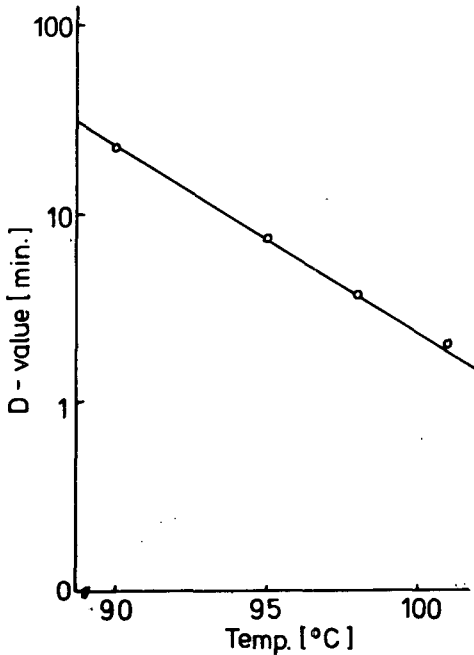


Fig. 4. The variation of the decimal reduction time with temperature.

른 殺菌效果가 적어진다. 本 實驗에서 求한 z-value는 10.5℃이었다. Bradshaw등(1975)은 市販통조림 食品에서 *B. cereus* 2 菌株를 分離하여 D-value를 測定한 結果 各各 $D_{121.1}=0.03$ min($z=9.9$ ℃)와 $D_{121.1}=2.35$ min($z=7.9$ ℃) 이었다고 報告하였다. 本 實驗 結果와 相當한 差異가 있었는데 이는 *B. cereus* 胞子の 耐熱性은 分離된 食品의 種類에 따라서 또 同一食品에서 分離되어도 菌株의 特性에 따라 耐熱性이 달라짐을 알수 있었다.

要 約

最近 食中毒 原因菌으로 많이 報告되고 있는 *Bacillus cereus*菌의 分布狀態와 그 生理的 特性을 調査하기 爲하여 1980年 5월부터 11月사이에 밥 32個, 김밥 20個, 떡 23個, 쌀 13個, 보리 13個 등 5種總 101個 試料를 對象으로 *B. cereus*菌의 分布狀態와

그 生化學性狀, 溶血性과 增殖速度 그리고 胞子の 耐熱性을 實驗한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 米飯類 75個 試料中에서 約 35%에 相當하는 26個 試料와, 그 原料 26個 試料中 約 54%에 相當하는 14個 試料에서 *B. cereus*菌이 檢出되었다. 또한 米飯類에서는 *B. cereus*菌의 檢出率은 낮았으나 菌數는 10^5 - 6 /g으로 많았으며 쌀과 보리에서는 檢出率은 높았으나 菌數는 10^3 /g 程度로 적었다.

2. 總 40菌株에 對한 生化學 實驗結果 catalase, egg yolk reaction, gelatin hydrolysis, glucose fermentation 試驗은 100% 陽性反應을, 그리고 xylose, arabinose, mannitol oxidation 試驗結果는 100% 陰性反應을 나타내었다. 그밖에 Voges-Proskauer, citrate utilization, nitrate reduction, starch hydrolysis 試驗結果는 菌株에 따라 陽性 또는 陰性反應을 나타내었다.

3. 溶血性 陽性菌株는 40菌株中 70.0%에 相當하는 28菌株였으며, 食中毒 發生과 關係있는 溶血性 陽性, 澱粉液化能 陰性인 菌株는 38%에 相當하는 15菌株이었다.

4. *B. cereus*菌은 10℃와 50℃에서는 增殖하지 않았으며 그의 培養溫度別 比增殖速度와 平均 世代時間은 20℃에서는 각각 $0.34hr^{-1}$, 2.02hr이었고, 30℃에서는 $0.73hr^{-2}$, 0.95hr, 35℃에서는 $0.79hr^{-1}$, 0.88hr, 그리고 40℃에서는 $0.49hr^{-1}$, 1.44hr이었다.

5. 胞子の 耐熱性은 $D_{90}=29$ min, $D_{95}=8.7$ min, $D_{98}=3.7$ min 그리고 $D_{101}=2.3$ min 이었으며, z-value는 約 10.5℃이었다.

文 獻

A. P. H. A. (1970): Recommended procedures for the bacteriological examination of sea water and shellfish. 3rd Ed., Am. Pub. Health Assoc., Inc., 1790 Broad way New York 19, N. Y. 17-27.

赤木 正育·深井 猛·片山 修·石原 久芳(1980): 세레우스菌による食品의 汚染實態について, 食品衛生研究 30(8), 31-37.

Buchanan, R. E. and N. E. Gibbons (1923): Bergey's manual of determinative bacteriology. 8th Ed., The williams and wilkins. Co. 530-535.

- Bradshaw, J. D., J. T. Peeler and R. M. Twedt (1975): Heat resistance of ileal loop reactive *Bacillus cereus* strains isolated from commercially canned food. *Appl. Microbiol.* 30(6), 943-945.
- Charm, S. E. (1971): The fundamentals of food engineering 2nd Ed., The AVI publishing Co., Inc. 189-212.
- Ezepchuck, Yu. V. and F. S. Fluor (1971): Isolation and certain properties of *Bacillus cereus* toxin. *J. Microbiol. Epidemiol. Immunobiol.* 7, 124-131.
- 藤原 喜久夫(1977): 食中毒 原因菌の混合感染に 關する 考察. *食品衛生研究* 27(6), 71-81.
- 藤原 喜久夫:(1980): セシウス菌に關する研究の現状と今後の課題. *食品衛生研究* 30(2), 27-38.
- Goepfert, J. M., W. M. Spira and H. U. Kim (1972): *Bacillus cereus* food poisoning organism. *J. Milk Food Technol.* 35, 213-227.
- Gorina, L. G., F. S. Fluor, A. M. Olovnikov and Yu. V. Ezepuck (1975): Use of the aggregate-haemagglutination technique for determining exo-enterotoxin of *Bacillus cereus*. *Appl. Microbiol.* 29(2), 201-204.
- Halvorson, H. O. and N. R. Zeigler (1932): Application of statistics in bacteriology. *J. Bacteriol.* 25, 101.
- Hauge, S. (1950): *Bacillus cereus* as a cause of food poisoning. *Nordisk. Hyg. Tidskr.* 31, 186-206.
- Hauge, S. (1955): Food poisoning caused by aerobic spore forming bacilli. *J. Appl. Bacteriol.* 18, 591-595.
- Harrigan, W. F. and M. E. McCance (1976): Laboratory methods in food and dairy microbiology. Academic Press, 52-98.
- 東島 弘明(1980): 食中毒 發生狀況. *食品衛生研究* 30(8), 60-88.
- Kim, H. U. and J. M. Goepfert (1971a): Enumeration and identification of *Bacillus cereus* in food. *Appl. Microbiol.* 22(4), 581-587.
- Kim, H. U. and J. M. Goepfert (1971b): Occurrence of *Bacillus cereus* in selected dry food products. *J. Milk Food Technol.* 34, 12-15.
- Mossel, D. A., M. J. Koopman and E. Jonn-rious (1976): Enumeration of *Bacillus cereus* in foods. *Appl. Microbiol.* 15(3), 650-653.
- 村上 一(1977): *Bacillus cereus*の分離・同定法. *食品衛生と環境衛生* 23(4), 1-10.
- 朴榮浩・朴有植(1977): *동조립 製造學*. 螢雪出版社, 195-259.
- Rahn, O. (1945): Physical methods of sterilization of microorganisms. *Bacteriol. Review* 9(1).
- Stumbo, C. R., J. R., Murphy and J. Cochran (1950): Nature of thermal death time curves for P. A. 3679 and *Clostridium botulinum*. *Food Technol.* 4, 321-325.
- Spira, W. M. and J. M. Goepfert (1972): *Bacillus cereus* induced fluid accumulation in rabbit ileal loops. *Appl. Microbiol.* 24(3), 341-348.
- Stumbo, C. R. (1973): *Thermobacteriology in food processing*. 2nd Ed., Academic Press. Inc. 93-120.
- 品川 邦汎・國田 信治・佐佐 木寧・岡本 晃(1979): 食中毒事例から分離した *Bacillus cereus* と生未および米飯類から分離した *B. cereus* の生化学性状, 芽胞の熱抵抗性について. *食衛誌* 20(6), 431-436.
- 寺山 武・新垣 正夫・山田 登夫・潮田 弘・五十嵐 英夫・坂井 千三・善養寺 浩(1978): 市販食品における *Bacillus cereus* の分布とその血清型別. *食衛誌* 19(1), 98-104.
- 田川 清・上原初枝(1974): 食ペンと未飯類の温蔵について. *食衛誌* 16(1), 46-52.
- 東量 三(1962a): 食品中の好気性芽胞菌とその簡易同定(I). *New Food Ind.* 4(9), 67-77.
- 東量 三(1962b): 食品中の好気性芽胞菌とその簡易同定(II). *New Food Ind.* 4(10), 61-68.
- 山形縣衛生部 環境衛生課(1976): 酒田驛驛弁食中毒事件について. *食品衛生究研* 26(2), 22-32.
- 安川 章・岡田 陽一・宮本 三郎・吉村 陽・福島 猛・種村 昌城・山本 博昭・川村 脩一・伊藤 謙朗(1979): 大阪市内發生した *Bacillus cereus* によると推定される嘔吐型 食中毒 事例について. *食衛誌* 20(3), 186-191.
- Warth, A. D. (1978): Relationship between the heat resistance of spores and the optimum and maximum growth temperature of *Bacillus* species. *J. Bacteriol.* 134(3), 699-705.