

## 쌀가루의 건조방법에 따른 *Bacillus cereus*와 *Enterobacter sakazakii* 생육 억제 특성

최봉규<sup>1</sup> · 박신영 · 하상도 · 금준석<sup>1</sup> · 이현유<sup>1</sup> · 박종대<sup>1,\*</sup>

중앙대학교 식품공학과, <sup>1</sup>한국식품연구원

### Effect of Drying Methods of Rice Flour on Growth Properties of *Bacillus cereus* and *Enterobacter sakazakii*

Bong-Kyu Choi<sup>1</sup>, Shin-Young Park, Sang-Do Ha, Jun-Seok Kum<sup>1</sup>, Hyun-Yu Lee<sup>1</sup>, and Jong-Dae Park<sup>1,\*</sup>

Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University

<sup>1</sup>Korea Food Research Institute

**Abstract** In order to sterilize *Bacillus cereus* and *Enterobacter sakazakii* in rice flour, hot-air drying (65°C/15 min, HT) and microwave drying (700 watt/30 sec, MT) treatments were evaluated and a storage study performed. Color changes ( $\Delta E$ ) appeared to be less in the MT rice flour than in HT treated rice flour. The effectiveness of the MT treatment showed reduced growth rates for *B. cereus* (0.54 log CFU/g) and *E. sakazakii* (1.45 log CFU/g). The populations of *B. cereus* in the control (NT) rice flour greatly increased during storage at 4, 10 and 20°C as storage times increased. However, the growth of *B. cereus* was minimized in the MT rice flour. In conclusion, MT treatment is considered to be a good drying method when substituted for HT treatment to assure microbial safety in rice flour.

**Key words:** *Bacillus cereus*, *Enterobacter sakazakii*, rice flour, microwave

## 서 론

쌀(*Oryza sativa*, 米)은 전통 식품이나 가공 식품에서 많이 사용되는 중요한 재료이다. 특히 우리나라를 비롯한 동양에서는 주식으로 많이 사용되고 있으며, 일본에서는 쌀가루가 쌀과자, 쌀가루, 청주, 된장, 떡으로 쌀 전체 생산량의 15%를 차지할 정도로 주식과 함께 가공식품의 원료로 많이 사용되고 있는 추세이다(1). 최근에 쌀 소비 확대의 일환으로 쌀가루를 주원료로 한 새로운 가공식품 개발에 대한 많은 시도가 진행되고 있으며, 또한 쌀가루 자체의 산업화를 통한 식품가공 원료로 이용되고 있다(2). 식품가공 원료로 이용되는 쌀가루 등의 곡류가공 식품에서 식중독균이 발견되고 비가공 섭취 식품인 생식, 전식 등의 원료인 쌀가루는 살균과정 없이 바로 섭취하기 때문에 위해 미생물에 의한 식중독 발병의 원인으로 부각되고 있다. 생식, 전식, 쌀가루, 조제분유 등과 같은 건조식품에서 *Bacillus cereus*와 *Enterobacter sakazakii*에 의한 국내의 식중독 발생 사건이 최근 다수 보고되고 있는데, 내열성 포자를 형성하고 독소 생성균인 *B. cereus*에 의한 식중독 환자 발생건수는 2003년 3건에 환자수 198명, 2004년 2건에 환자수 84명으로 다른 식중독균 보다 높은 발병율을 나타내었다(3). *E. sakazakii*에 의해 오염된 분유가 주요 식중독 원인

식품으로 밝혀졌으며 미숙아의 뇌막염에 의한 치사율도 40-80%로 보고되었다(4,5).

최근 미생물 관리의 중요성이 부각되면서 이러한 식중독 원인균의 증식억제 및 제거 방법으로 potassium sorbate, benzoic acid, citric acid, acetic acid, lactic acid, organic acid, chlorine, ethanol, hydrogen peroxide 등과 같은 sanitizer를 이용한 화학적 방법과 고전압 펄스, 전기장, 진동 자기장, 초고압, 초음파, 마이크로파 등을 이용한 물리적 방법이 활용되고 있다(6,7). 편리함과 비용적인 측면을 고려할 때 화학적 살균법이 널리 사용되고 있으나 살균소독제, 방부제 등 화학물질의 잔류 가능성으로 인한 소비자들의 기피현상 발생으로 물리적 제어방법의 이용이 증가하고 있다. 마이크로파는 이런 살균방법들을 대체할 수 있는 새로운 방법 중 하나로 부상하고 있다(8-10). 이러한 마이크로파를 쌀가루 건조에 이용할 경우 건조시간의 단축뿐만 아니라 품질의 변화 없이 미생물의 살균효과를 동시에 얻을 수 있는 효과적인 수단일 수 있으나(11), 쌀가루에 대한 미생물학적 안전성에 대한 연구나 보고가 미비한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 위생적이고 안전한 쌀가루의 생산 및 관리에 참고자료로 활용하고자 쌀가루를 대상으로 병원성 미생물인 *B. cereus*와 *E. sakazakii* 존재를 조사하고 안전성과 유효성을 고려한 상업적 열풍 및 마이크로파 처리 후 생육특성을 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 재료

쌀가루는 태평양물산(주)에서 Jet mill로 기류분쇄한 건조전 쌀

\*Corresponding author: Jong-Dae Park, Korea Food Research Institute, San 46-1 Baekhyun-dong, Bundang-gu, Seongnam-si, Gyeonggi-do, 463-746, Korea  
Tel: 82-31-780-9211  
Fax: 82-31-780-9059  
E-mail: jdpark@kfri.re.kr  
Received March 14, 2007; accepted April 10, 2007

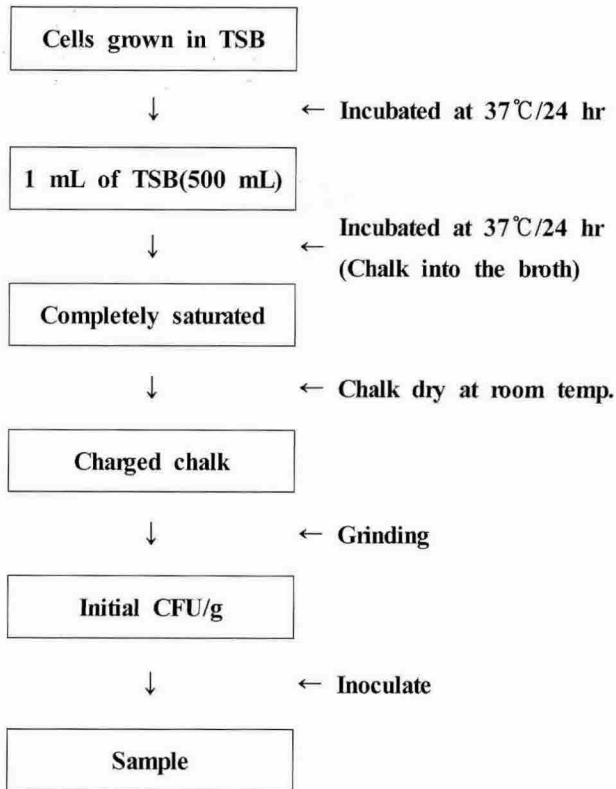


Fig. 1. Preparation method of dry inoculum.

가루(수분함량 21.5%)를 구입하여 냉장상태로 실험실로 이동한 후, 5°C±2로 보관하면서 실험에 사용하였다.

#### 실험균주

본 실험에 사용한 균주는 *Bacillus cereus* ATCC 14579와 *Enterobacter sakazakii* KCTC 2949를 한국생명공학연구원에서 분양받아 사용하였다. *B. cereus*와 *E. sakazakii*는 Fig. 1과 같은 dry inoculum method(12)를 사용하여 쌀가루 시료에 접종하여 사용하였다.

#### 미생물 분리

*Bacillus cereus*의 분리배양은 각 쌀가루 시료 1g을 0.1% peptone water 9 mL에 첨가하여 2분간 균질화한 후 10<sup>-1</sup> 또는 더 희석된 시료 1mL을 Chromogenic *Bacillus cereus* selective supplement를 첨가한 Chromogenic *Bacillus cereus* agar(Oxoid LTD., Basingstoke, Hampshire, UK)에 pour plating한 후 37°C에서 24시간 배양하여 전형적인 청록색 colony를 계수하여 log CFU/g로 나타내었고, *Enterobacter sakazakii* 분리배양은 각 쌀가루 시료 1g을 0.1% peptone water 9 mL에 첨가하여 2분간 균질화한 후 10<sup>-1</sup> 또는 더 희석된 시료 1mL을 Chromogenic *Enterobacter sakazakii* agar(Oxoid LTD., Basingstoke, Hampshire, UK)에 pour plating한 후 37°C에서 24시간 배양하여 전형적인 청록색 colony를 계수하여 log CFU/g로 나타내었다.

#### 상업적 건조 및 살균

제품에 미생물학적 안전성 확보와 동시에 품질의 고급화를 유지하는 살균을 상업적 살균이라 하며(14), 쌀가루의 상업적 살균 기준은 수분함량으로 그 함량은 14-15%이다. 쌀가루의 상업적 건

조 및 살균 처리 조건은 65°C에서 15분간 열풍처리(HT), 700 watt 출력으로 30초간 마이크로파 처리하였다(MT). 대조구는 무처리 쌀가루(NT)를 사용하였다.

#### 쌀가루 저장성 실험

열풍, 마이크로파 상업적 건조 및 살균 처리한 처리구와 대조구 시료를 저장온도, 저장기간 및 반복수에 따라 각각 10g씩 폴리에틸렌 필름에 담아 냉장 저장고(CA-C11AZ, LG Electronics, Korea)를 사용하여 4, 10, 20°C에서 4주간 저장하였으며, 저장 후 0일, 3일, 1주, 2주, 3주, 4주 후에 sampling하여 시험 분석하였다.

#### 이화학적 품질특성

수분함량은 105°C 상압건조법(13)으로 측정하였으며, 수분활성도( $a_w$ )는 직경 4cm, 높이 1cm의 cell에 시료 3g을 넣어 수분활성 측정기(ms1-aw, novasina, Swiss)를 이용하여 측정하였다. 색도는 직경 4cm, 높이 1cm의 cell에 넣어 색도계(CR-300, Minolta, Japan)를 이용하여 5회 반복 측정하였다. 색도는 Hunter scale의 L값(Lightness), a값(+Redness, -greenness), b값(+Yellowness, -blueness) 및 전체적인 색깔차이를 보기 위해  $\Delta E$ 값으로 나타내었다.  $\Delta E$ 값은  $(\Delta L^2 + \Delta a^2 + \Delta b^2)^{1/2}$ 으로 계산하였으며 표준색판(White standard plate)은 L: 96.86, a: -0.07, b: 2.02였다.

#### 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과는 SAS(Statistical Analytical System, USA)를 활용하여 ANOVA 분산분석과 Duncan's multiple range test를 이용하여 유의성 검정을 실시하였다.

## 결과 및 고찰

#### *Bacillus cereus* 생육특성

최적 건조 처리 후 쌀가루에 존재하는 *B. cereus*의 저장온도 및 기간에 따른 생육특성을 Fig. 2에 나타내었다. 쌀가루 초기 *B. cereus*의 균수는 4.46 log CFU/g였고, 마이크로파 처리(700 watt/30 sec, MT)와 열풍 처리(65°C/15 min, HT) 후 쌀가루의 *B. cereus* 균수 측정 결과 각각 0.54 log CFU/g, 0.14 log CFU/g 만큼 감소하였다. 저장온도에 따른 *B. cereus*의 생육변화 측정 결과 4, 10, 20°C 저장 동안 대조구(NT) 쌀가루는 저장 14일째 초기균수에 비해 각각 0.83 log CFU/g, 0.98 log CFU/g, 1.00 log CFU/g 증가하여 저장기간이 증가함에 따라 증식하는 경향을 나타내었다. HT와 MT 쌀가루는 4°C에서 저장기간 4주 동안 균수 변화가 없는 것으로 나타났으나 10°C와 20°C에서는 저장 21일 이후부터 증가하는 경향을 보였다. 4°C에서는 미생물 성장조건에 기준이 되는  $a_w$ 의 변화가 없어 *B. cereus*의 생육이 억제된 것으로 판단된다. Little 등(15)은 Brie 치즈에 *B. cereus*를 접종시켜 4, 8, 20°C에서 *B. cereus*의 저장기간에 따른 생육특성을 측정할 결과 20°C에 *B. cereus*균은 저장 초기에 급격히 증가하였고, 4°C와 8°C에서 *B. cereus*균은 저장기간이 증가함에 따라 균수는 감소한다고 보고하여 본 실험과 유사한 결과를 나타내었다.

#### *Enterobacter sakazakii* 생육특성

최적 건조 처리 후 쌀가루에 존재하는 *E. sakazakii*의 저장온도 및 기간에 따른 생육특성을 Fig. 3에 나타내었다. 쌀가루 초기 *E. sakazakii*의 균수는 6.78 log CFU/g이었고, MT와 HT 살균처리 후 쌀가루의 *E. sakazakii*는 균수 측정 결과 각각 1.45 log CFU/g, 0.42 log CFU/g 만큼 감소하였다. Iversen 등(16)은 *E. sakazakii*의

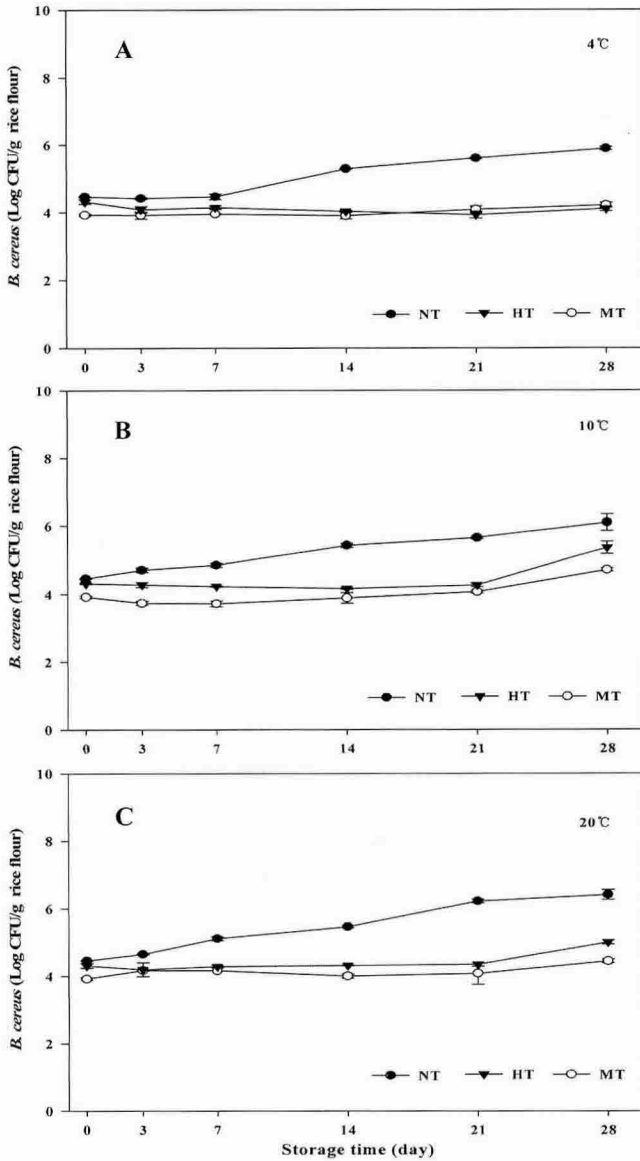


Fig. 2. Growth patterns of *B. cereus* in rice flours during storage at 4°C (A), 10°C (B) and 20°C (C). Initial *B. cereus*: 4.46 ± 0.01 log CFU/g. NT: control, HT: hot-air treatment, MT: microwave treatment.

최적 생육온도는 37-43°C이며 6°C에서도 생육가능하다고 보고하였으나, 저장온도에 따른 *E. sakazakii*의 생육변화 측정 결과 4°C에서 저장한 NT 쌀가루는 7일째 0.4 log CFU/g 증가 후 일정한 균수를 유지하였고, HT와 MT 쌀가루에서는 저장기간이 증가하더라도 균이 성장하지 못하였다. 10°C에 저장한 NT, HT, MT 쌀가루는 저장 7일까지 균수가 약간 증가하였으나, 저장 14일부터 NT, HT, MT 쌀가루는 일정한 균수를 유지하였다. 이는 저장기간에 따른 수분함량이 저장 14일까지 증가함에 따라 *E. sakazakii* 균이 증가하다가 14일 이후 수분함량이 일정수준으로 유지되었기 때문으로 생각된다. 20°C NT 쌀가루는 저장 3일째 6.22 log CFU/g으로 증가하여 초기균수와 차이를 나타내었으나, 저장기간이 증가함에 따라 일정한 균수를 유지하였다. HT, MT 쌀가루는 7일까지 저장기간이 증가함에 따라 증가하였으나, 14일 이후에는 약간 감소 후 균 성장이 멈추어 10°C와 유사한 경향을 나타내었다. Nazaroewc 등(17)은 영유아 식품에서 *E. sakazakii*를 분리하여

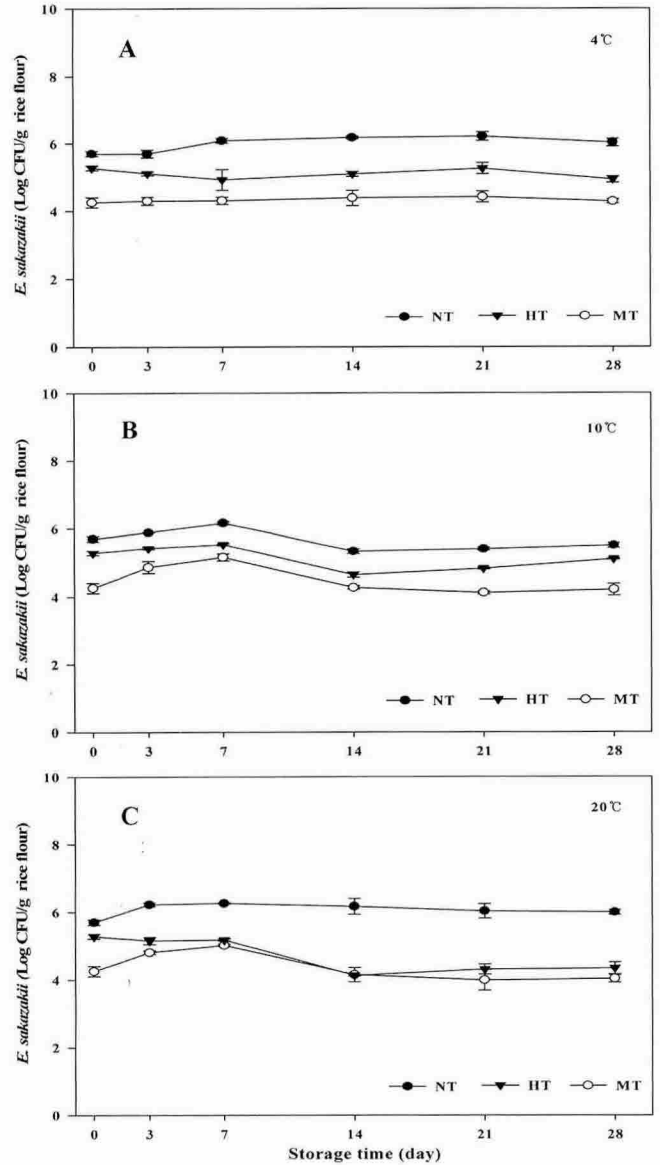


Fig. 3. Growth patterns of *E. sakazakii* in rice flours during storage at 4°C (A), 10°C (B) and 20°C (C). Initial *E. sakazakii*: 6.78 ± 0.02 log CFU/g. NT: control, HT: hot-air treatment, MT: microwave treatment.

4, 10, 23°C에서 배양한 결과, 4°C에서는 생육이 억제되었다고 보고하였다.

### 이화학적 품질특성

쌀가루 수분함량 측정 결과, 대조구 쌀가루 수분함량은 약 25%, HT와 MT 쌀가루는 상업적으로 유통 가능한 약 15% 전후로 건조되었다. 미생물 성장조건에 기준이 되는  $a_w$  측정 결과, 대조구 쌀가루는 약 0.95, MT와 HT는 0.85-0.89로 측정되었으며 저장시 유지되었다(Table 1). 최적 건조방법에 따른 쌀가루 색도값 측정 결과 MT와 HT 처리 후 쌀가루의  $\Delta E$ 값은 각각 0.15와 0.27로 측정되어 마이크로파 건조가 열풍건조보다 색깔의 변화가 적은 것으로 나타났다(Table 1). Kum 등(18)은 냉동 밥을 마이크로파 조사 후 색도 변화를 측정한 결과 L value는 유의적인 차이가 없었으나 a, b value는 유의적인 차이를 나타냈다고 보고하여 본 실험의 결과와 유사한 경향이였다. Taner 등(19)은 열풍 건조와 마

Table 1. Changes in moisture contents, water activity and color of rice flours by various drying treatments

Sample <sup>1)</sup>	Moisture content (%)	Water activity (a <sub>w</sub> )	Color value			
			L	a	b	ΔE
NT	21.5 ± 0.1 <sup>b2)</sup>	0.95 <sup>b</sup>	97.74 ± 0.1 <sup>a</sup>	-0.23 ± 0.3 <sup>b</sup>	2.84 ± 0.6 <sup>b</sup>	0.00 ± 0.00
MT	14.7 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.89 <sup>a</sup>	97.69 ± 0.6 <sup>a</sup>	-0.19 ± 0.1 <sup>a</sup>	2.71 ± 0.6 <sup>a</sup>	0.15 ± 0.02
HT	14.3 ± 0.6 <sup>a</sup>	0.83 <sup>a</sup>	97.60 ± 0.2 <sup>a</sup>	-0.31 ± 0.2 <sup>c</sup>	3.06 ± 0.6 <sup>c</sup>	0.27 ± 0.05

<sup>1)</sup>NT: control, MT: microwave treatment, HT: hot-air treatment.

<sup>2)</sup>Values in the same column are different significantly with different superscripts ( $p < 0.05$ ).

이크로파 건조 후 색도 측정결과, 마이크로파 건조의 L, a, b value 가 열풍건조에 비해 낮은 값을 나타내었다고 보고하였다. MT 처리는 대조구와 유사한 색도값을 보여 품질변화를 최소화하며 건조시간을 단축하였다.

## 요 약

본 연구는 쌀가루의 저장온도 및 저장기간에 따른 병원성 미생물 생육특성을 조사하고 안전성과 유효성을 고려한 상업적 열풍 및 마이크로파 처리방법을 사용하여 쌀가루의 미생물학적 안전성, 저장성 및 품질유지를 최적화하고자 하였다. 마이크로파 처리(700 watt/30 sec, MT)와 열풍 처리(65°C/15 min, HT) 후 쌀가루의 처리전과 대비한 색차변화값(ΔE)은 각각 0.15와 0.27로 측정되어 마이크로파 건조가 열풍 건조보다 색깔의 변화가 적은 것으로 나타났다. *B. cereus*와 *E. sakazakii*의 살균력은 MT 처리 후 각각 0.54 log CFU/g, 1.45 log CFU/g으로 감소하여 HT 처리 보다 살균효과가 강하였다. 대조구(NT) 쌀가루의 *B. cereus*는 4, 10, 20°C 모든 온도에서 빠른 성장을 보였으나, MT 처리시 성장이 최소화 되었다. *E. sakazakii*는 4, 10, 20°C 모든 온도에서 그리고 HT, MT 모든 처리구에서 성장하지 못하였는데, MT 처리시 생존균수가 가장 적었다. 결론적으로 쌀가루의 품질면에서나 미생물학적 안전성 측면에서 마이크로파 처리는 열풍건조 처리를 대체할 수 있는 건조방법으로 평가되었다.

## 문 헌

- Bainotti AE, Pérez ES. Microbiological evaluation of processed rice consumed in Japan. *World J. Microb. Biot.* 16: 77-79 (2000)
- Park JH, Bae SM, Kim JS. Fermentation characteristics of *Takju* prepared with old rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 36: 609-615 (2004)
- John L, McKillip J. Prevalence and expression of enterotoxin in *Bacillus cereus* and other *Bacillus* spp., a literature Review. *Antonie van Leeuwenhoek* 77: 393-399 (2000)
- Farmer JJ, Asbury MA, Hickman FW, Brenner DJ. *Enterobacter sakazalii*: a review species of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 30: 569-584 (1980)
- Nazarowec-White M, Farber JM. *Enterobacter sakazakii*: a review. *Int. J. Food Microbiol.* 34: 103-111 (1997)
- Jang JH, Jang JS, Lee SY, Kim HS, Kang SM, Park JH. Growth inhibition effects of ethanol and sodium chloride on *Bacillus cereus*. *Korean J. Food Sci. Technol.* 35: 998-1002 (2003)
- Giese J. Advances in microwave food processing. *Food Technol.-Chicago.* 46: 118-122 (1992)
- Qingming L, Xinghe T, Yubo H. Advance in microwave sterilization technology for food processing. *Food Ferment. Ind.* 29: 86-89 (2003)
- Schlegel W. Commercial pasteurization and sterilization of food products using microwave technology. *Food Technol.-Chicago.* 46: 62-63 (1992)
- Rosenberg U, Bogl W. Microwave thawing, drying, and baking in the food industry. *Food Technol.-Chicago.* 41: 35-41 (1987)
- Jacques T. Microwaves-industrial, scientific, and medical application. *Artech House, Boston, MA, USA.* pp. 346-356 (1992)
- Hoffmans CM, Fung DYC. Effective method for dry inoculation of bacterial cultures. *J. Rapid Meth. Aut. Mic.* 1: 287-294 (1993)
- AOAC. Official method of analysis of AOAC Intl. 16th ed. Method 325.09. Association of Official Analytical Chemists, Washington DC, USA (1995)
- Ju HK, Kim YH. *Food Technology.* Sunjin Munwhasa. Korea. p. 50 (1996)
- Little CL, Knochel S. Growth and survival of *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* and *Bacillus cereus* in brie stored at 4, 8 and 20°C. *Int. J. Food Microbiol.* 24: 137-145 (1994)
- Iversen C, Lane M, Forsythe SJ. The growth profile, thermotolerance and biofilm formation of *Enterobacter sakazakii* grown in infant formula milk. *Lett. Appl. Microbiol.* 38: 378-382 (2004)
- Nazarowec-White M, Farber JM. *Enterobacter sakazakii*: a review. *Int. J. Food Microbiol.* 34: 103-113 (1997)
- Kum JS, Han O. Effects of food height for microwave blanching on vegetables and reheating on cooked rice. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutri.* 27: 281-285 (1998)
- Taner B, Icier F, Ersus S, Hasan Z. Effects of microwave and infrared drying on the quality of carrot and garlic. *Eur. Food Res. Technol.* 218: 68-73 (2003)