J. Fd Hyg. Safety
Vol. 26, No. 3, pp. 198~202 (2011)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

시판 백미의 미생물학적 프로파일 정량분석

김민주 · 김병훈 · 박성수[1] · 박성희[2] · 김동호[3] · 김근성*
중앙대학교 식품공학과, [1]제주한라대학 제주향토식품연구소,
[2]세계김치연구소, [3]서원대학교

Quantitative Analysis of Microbiological Profiles of Retailed White Rice

Min-Ju Kim, Byung-Hoon Kim, Sung-Soo Park[1], Sung-Hee Park[2], Dong-Ho Kim[3], and Keun-Sung Kim*
Dept. of Food Science and Technology, Chung-Ang University, Korea
[1]Cheju Traditional Food Institute, Cheju Halla College
[2]World Institute of Kimchi, [3]Seowon University
(Received May 24, 2011/Revised July 16, 2011/Accepted August 12, 2011)

ABSTRACT - Rice has been the most important staple food in everyday meals of Korean people for thousands of years. Nowadays, it is getting increasingly used as flour ingredients in a variety of processed foods, so that it is consumed in more diversified ways. As a consequence, production volume of rice flour to manufacture rice cakes, noodles, breads, or confectioneries is recently getting increased in Korea. But there are not sufficient research outcomes to guarantee Korean consumers microbiological qualities of rice flour as well as rice. As a preliminary experiment, therefore, the microbiological profiles (aerobic mesophilic bacteria (AMB), spore-forming aerobic bacteria (SAB), lactic acid bacteria (LAB), yeasts and molds (YM), and *Escherichia coli* and coliforms) have been monitored for nine retailed white rice samples in this study. AMB counts ranged 10^2 - 10^6 CFU/g for all the nine white rice samples. All the nine rice samples have SAB counts within a narrow range (1.0×10^2 - 2.5×10^3 CFU/g). LAB was detected in two white rice samples (4.0×10^2 and 3.7×10^3 CFU/g). YM was detected in one white rice sample (2.0×10^2 CFU/g) only. *E. coli* was not detected from all the nine samples. Coliforms were detected in one white rice sample (4.1×10 CFU/g) only. All the rice samples were conclusively considered to have various microorganisms, though most of them are harmless and some, such as coliforms, may be harmful.

Key words: white rice, microbiological profiles

쌀은 세계적으로 주요한 곡식으로서 벼의 알곡으로 도정 정도에 따라서 불리는 이름과 영양이 각각 다르다. 볍씨에서 왕겨를 제거하면 현미가 되며 일반적으로 도정도가 92% 이상인 경우를 백미라고 한다[1]. 쌀은 밀과 함께 세계인의 주식으로 사용되고 있으며 밀은 가루로 제분하여 다양한 제품으로 가공해 섭취하는 반면, 쌀은 도정하여 낱알의 상태로 물을 넣어 밥을 지어 먹어왔다[2]. 하지만 최근에는 쌀을 밥으로만 먹지 않고 쌀떡류, 쌀면류, 쌀과자류 등 쌀가루를 원료로 한 쌀 가공식품의 수요가 증가하고 있다[3]. 최근 발표한 농식품부의 쌀 가공식품 시장규모는 2006년에 8,000억원대 시장에서 2007년에 9,136억원대 시장에 이르렀다가 최근에 1조 8,000억원에 이르는 시장이 형성되었다[4].

위와 같이 쌀을 원료로 한 쌀가루의 수요는 증가하고 있지만 국내외 적으로 *Bacillus cereus*, 대장균 및 대장균군, 그리고 효모 및 곰팡이 등 쌀 내의 잠재적 미생물 요소들에 대하여 몇 편의 연구논문들이 발표되었을 뿐 국내에서 생산되고 있는 쌀가루의 미생물학적 프로파일에 대한 연구는 거의 전무한 실정이다[5-7]. 쌀은 보통 수분함량이 12-14%로 저장 및 유통되며[8] 이와 같이 수분함량이 낮은 쌀에서도 *B. cereus*를 포함한 대부분 미생물들의 생존이 가능하며 현재 쌀함유 식품류로부터 간헐적으로 식중독이 발생하고 있다[9]. 하지만 국내외의 식품공전 및 CODEX 에 쌀과 관련한 구체적인 미생물학적 위해요소에 대한 정성 및 정량 규격이 설정되어 있지 않다. 더욱이 최근에 국내에서 쌀가루의 사용이 보편화 되면서 쌀가루의 위해 미생물에 대한 정성 및 정량 규격이 설정되어야 한다. 그러나 그러한 미생물학적 규격 설정에 필요한 쌀가루제품의 미생물학적 프

*Correspondence to: Keun-Sung Kim, Department of Food Science and Technology, Chung-Ang University, 72-1, Ansung 56-756, Korea
Tel: 82-31-670-3032, Fax: 82-31-675-4853
E-mail: keunsung@cau.ac.kr

로파일 조차 현재까지 충분하게 규명되어 있지 않다.

그러므로 본 연구에서는 우리의 주식인 밥이나 쌀가루가 첨가된 다양한 식품에 광범위한 용도로 사용될 수 있는 쌀의 미생물학적 프로파일을 규명하기 위하여 쌀의 잔류 미생물들을 총호기성균, 포자형성 호기성균, 젖산균, 진균, 그리고 대장균 및 대장균군 등의 5개 미생물 group으로 구분하였다. 그리고 이들 5개 미생물 group에 대하여 총 9개 쌀 검체별로 잔류 미생물 정량분석을 수행하였다.

재료 및 방법

검체

본 연구에서는 총 9개의 백미 검체를 확보하여 각 검체별 미생물학적 프로파일을 정량분석하였다. 총 9개의 백미 검체는 2010년 가을에 수확하여 2010년 11월에서 2011년 1월에 도정된 검체로 대형 식료품 유통점에서 구입하여 사용하였다. 모든 검체에 대하여 검체를 확보한 직후 즉시 미생물학적 프로파일 분석을 수행하였다.

총호기성균수 정량 분석

총 9개의 검체에 대한 총호기성균수는 2.5% plate count agar base (PCA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)로 제조된 PCA배지를 사용하여 다음과 같이 정량적으로 결정되었다[10]. 각 검체 10 g에 0.85% 멸균생리식염수 90 mL를 첨가한 후 stomacher를 이용하여 2분간 균질하였다. 균질된 검체를 0.85% 멸균생리식염수로 10^{-1}에서 10^{-6}까지 계열희석하여 계열희석별로 각각 희석액 0.1 mL를 취해 PCA배지에 도말하였다. 희석액이 도말된 PCA배지를 36 ± 1°C 에서 24-48 hr동안 배양하였다. 배양 후 PCA배지상에 생성된 colony를 계수하여 검체별 균수를 colony forming unit (CFU)/g으로 나타내었다.

포자형성 호기성균수 정량 분석

총 15개의 검체에 대한 포자형성 호기성균수는 2.3% Nutrient Agar base (NA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)로 제조된 NA배지를 사용하여 다음과 같이 정량적으로 결정되었다[11]. 각 검체 10 g에 0.85% 멸균생리식염수 90 mL를 첨가한 후 stomacher를 이용하여 2분간 균질하였다. 균질된 검체를 0.85% 멸균생리식염수로 10^{-1}에서 10^{-6}까지 계열희석하여 검체별 희석액을 제조한 후, 검체별 희석액을 80°C water bath에 20 min동안 침지시켰다. 침지 후 검체별 희석액을 상온까지 냉각시킨 후 검체별 희석액을 각각 0.1 mL씩 취해 NA배지에 도말하였다. 희석액이 도말된 NA배지를 36 ± 1°C 에서 24-48 hr동안 배양하였다. 배양 후 NA배지상에 생성된 colony를 계수하여 검체별 균수를 CFU/g으로 나타내었다.

젖산균수 정량 분석

총 9개 검체에 대한 젖산균수는 5.5% Lactobacilli MRS broth (MRS, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)에 1.5% agar, 0.02% bromocresol purple, 그리고 0.02% sodium azide를 첨가하여 제조된 MRSA배지를 사용하여 다음과 같이 정량적으로 결정되었다[12]. 각 검체 10 g에 0.85% 멸균생리식염수 90 mL를 첨가한 후 stomacher를 이용하여 2분간 균질하였다. 균질된 검체를 0.85% 멸균생리식염수로 10^{-1}에서 10^{-6}까지 계열희석하여 계열희석별로 각각 희석액 0.1 mL를 취해 MRSA배지에 도말하였다. 희석액이 도말된 MRSA배지를 36 ± 1°C 에서 48-72 hr동안 배양하였다. 배양 후 MRSA배지상에 생성된 colony를 계수하여 검체별 균수를 CFU/g으로 나타내었다. MRSA배지 제조시 첨가되는 sodium azide는 젖산균을 제외한 그람음성 세균을 포함한 기타 세균과 효모 및 곰팡이 등의 성장을 억제시키며, bromocresol purple은 중성에서는 blue-violet color, 산성에서는 yellow color를 나타내는 지시약으로 젖산균 성장시 산을 균체외로 분비하여 MRSA배지상에 생성되는 colony 주변색깔을 yellow color로 변화시킨다.

진균수 정량 분석

총 9개 검체에 대한 진균수는 고압증기멸균시킨 3.9% potato dextrose agar base (PDA, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA)를 45°C로 냉각시킨 다음 냉각된 배지에10% tartaric acid를 첨가하여 제조된 PDA배지를 사용하여 다음과 같이 정량적으로 결정되었다[13]. 각 검체 10 g에 0.85% 멸균생리식염수 90 mL를 첨가한 후 stomacher를 이용하여 2분간 균질하였다. 균질된 검체를 0.85% 멸균생리식염수로 10^{-1}에서 10^{-6}까지 계열희석하여 계열희석별로 각각 희석액 0.1 mL를 취해 PDA배지에 도말하였다. 희석액이 도말된 PDA배지를 25 ± 1°C 에서 3-5 day동안 배양하였다. 배양 후 PDA배지상에 생성된 colony를 계수하여 검체별 균수를 CFU/g으로 나타내었다. PDA배지 제조시 첨가되는 tartaric acid는 yeasts and molds를 제외한 기타 박테리아의 성장을 억제시킨다.

대장균 및 대장균군 정량 분석

총 9개 검체에 대한 *E. coli* 와 coliforms수는 3M 사의 petrifilm (3M, St. Paul, MN, USA)를 사용하여 다음과 같이 정량적으로 결정되었다[14]. 각 검체 10 g에 0.85% 멸균생리식염수 90 mL를 첨가한 후 stomacher를 이용하여 2분간 균질하였다. 균질된 검체를 0.85% 멸균생리식염수로 10^{-1}에서 10^{-6}까지 계열희석하여 계열희석별로 각각 희석액 1 mL를 취해 petrifilm에 도말하였다. 희석액이 도말된 petrifilm을 36 ± 1°C 에서 24 hr동안 배양하였다. 배양 후 petrifilm상에 생성된 colony를 계수하여 검체별 균수를 CFU/g으로 나타내었다. Petrifilm상에 생성된 colony 중 기포를 가진 파

란색 colony는 *E. coli*로 계수하고, 기포를 가진 붉은색 colony는 coliforms로 계수하였다.

자료분석

모든 측정은 3회 반복하여 수행하였으며 검체들의 평균값을 결과값으로 나타내었다.

결과 및 고찰

총호기성균수 정량 분석

백미 검체별로 검출된 총호기성균수를 Fig. 1에 나타내었다. 9개의 백미 검체의 평균 총호기성균수는 3.9×10^5 CFU/g으로 측정되었다. 백미 1 (WR1) 검체의 총호기성균수가 2.4×10^6 CFU/g으로 가장 높았으며, 백미 9 (WR9) 검체의 총호기성균수가 6.0×10^2 CFU/g으로 가장 낮게 측정되었다. Lu[15] 등이 전기화학반응에 의하여 산화된 물로 현미를 발아하는 동안 GABA는 농화되는 반면에 미생물 성장이 억제됨을 연구한 논문에 의하면 발아현미의 발아기간에 따라서 호기성균수가 발아초기에 4 log CFU/g이었으나, 36시간 발아 이후에는 6 log CFU/g으로 증가하였다고 보고하였다. 그러므로, 나아가 쌀의 도정된 정도에 따른 미생물 수의 변화 혹은 현미와 발아현미의 미생물수 비교에 관한 연구는 추가로 수행되어야 할 것이다.

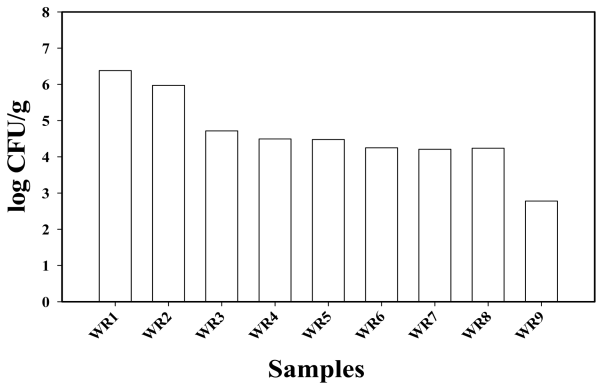

Fig. 1. Total mesophilic bacterial counts of white rice samples using PCA. (WR1-9 are retailed white rice harvested from different locations in Korea).

포자형성 호기성균수 정량 분석

백미 검체별로 검출된 포자형성 호기성균수를 Fig. 2에 나타내었다. 9개 백미 검체의 평균 포자형성 호기성균수는 6.0×10^2 CFU/g으로 측정되었다. 9개 백미 검체의 포자형성 호기성 균수는 백미 1 검체 (WR 1)의 포자형성 호기성 균수가 2.5×10^3 CFU/g, 백미 2 검체 (WR 2)의 포자형성 호기성 균수가 6.0×10^2 CFU/g, 백미 3 검체 (WR 3)의 포자형성 호기성 균수가 4.0×10^2 CFU/g, 백미 4 검체 (WR 4)의 포자형성 호기성 균수가 3.0×10^2 CFU/g, 백미 5 검체 (WR 5)의 포자형성 호기성 균수가 3.0×10^2 CFU/g, 백미 6 검체 (WR 6)의 포자형성 호기성 균수가 2.0×10^2 CFU/g, 백미 7 검체 (WR 7)의 포자형성 호기성 균수가 8.0×10^2 CFU/g, 백미 8 검체 (WR 8)의 포자형성 호기성 균수가 1.0×10^2 CFU/g, 그리고 백미 9 검체 (WR 9)의 포자형성 호기성 균수가 2.0×10^2 CFU/g으로 각각 검출되었다. Ankolekar[11] 등의 미국쌀 검체 내 *B. cereus*와 *B. thuringiensis*오염정도를 파악하는 연구 논문에 의하면 미국 쌀 94개 (52.8%) 검체에서 *Bacillus* species spores가 평균 3.3×10 CFU/g으로 검출되었다. 이때 *B. cereus*는 3.6-460 CFU/g 범위내에서, 그리고 *B. thuringiensis*는 3.6-23 CFU/g 범위내에서 각각 검출되었다. *B. mycoides*는 1개의 쌀 검체에서만 2.4×10^2 CFU/g이 검출되었다. 본 연구논문에서는 9개의 백미 검체에서 포자형성 호기성균이 모두 1.0×10^2-2.5×10^3 CFU/g 범위에서 측정되었는데 이 포자형성 호기성균들중 상당부분이 *Bacillus* species spores로 추정되었다. 그러나 이들 포자형성 호기성균에 대한 정확한 동정 실험이 추가적으로 수행되어야 하겠다.

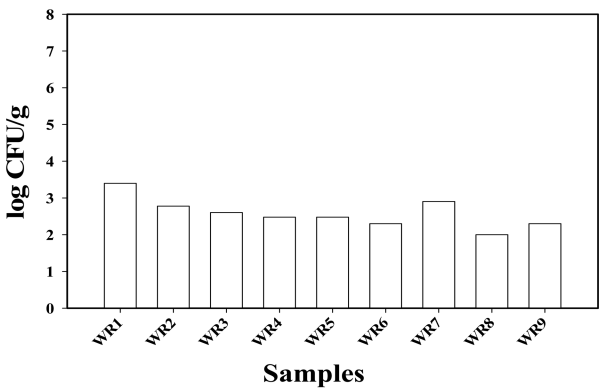

Fig. 2. Spore-forming aerobic bacterial counts of white rice samples using NA. (WR1-9 are retailed white rice harvested from different locations in Korea).

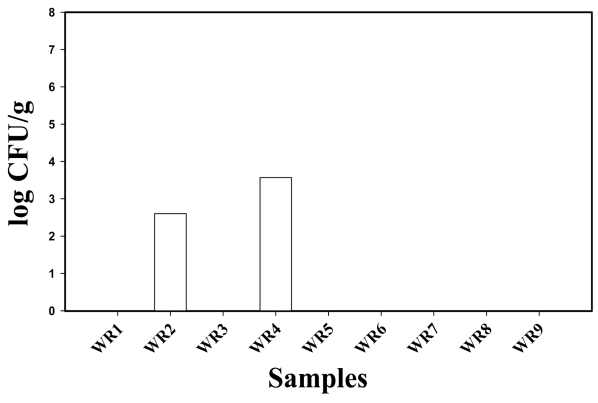

Fig. 3. Lactic acid bacterial counts of white rice samples using MRSA. (WR1-9 are retailed white rice harvested from different locations in Korea).

젖산균수 정량 분석

백미 검체별로 검출된 젖산균수를 Fig. 3에 나타내었다. 백미 2 (WR2) 검체의 젖산균수가 3.7×10^3 CFU/g, 그리고 백미 4 (WR4) 검체의 젖산균수가 4.0×10^2 CFU/g으로 각각 검출되었다. 그리고 백미 2와 백미 4 검체 이외의 다른 백미 검체에서는 젖산균이 검출한계이하 수준으로 존재하는 것으로 확인되었다. Nishino[16] 등의 연구논문에서 whole crop rice의 이화학 및 미생물 분석을 수행한 결과, whole crop rice 내에서 젖산균 수가 2.5 log CFU/g 으로 측정되었다. Nishino[16] 등의 연구논문의 결과로 보아 젖산균은 상대적으로 많이 도정된 일반 백미에서보다 도정이 덜 이루어진 현미나 통벼에서 주로 검출되어 짐을 확인할 수 있었다.

진균수 정량 분석

백미 검체별로 검출된 진균수를 Fig. 4에 나타내었다. 백미 1 (WR1) 검체의 진균수는 2.0×10^2 CFU/g 으로 검출되었으며, 백미 1 검체이외의 다른 8개 멥쌀 검체에서는 진균이 검출한계이하 수준으로 존재하는 것으로 확인되었다. Aydin[17] 등이 터키 쌀에서 mycotoxin의 오염수준을 연구한 논문에 의하면 100개 터키 쌀 검체 중 70개 검체내에 mold가 1.0×10 -1.5×10^4 CFU/g 존재하였다. 본 연구논문에서도 위 연구논문과 비슷한 오염수준을 나타내었다. 쌀 검체내에 진균수의 정량분석뿐만 아니라 곰팡이 독소에 관한 연구가 수반되어야 할 것이라고 사료되어진다.

대장균 및 대장균군 정량 분석

쌀 검체별로 검출된 대장균수는 총 9개의 모든 백미 검체에서 대장균이 검출한계이하 수준으로 존재하는 것으로 확인되었다 (Data not shown). 그리고 백미 검체별로 검출된 대장균군수를 Fig. 5에 나타내었다. 백미 4 (WR4) 검체의 대장균군수가 4.1×10 CFU/g 으로 검출되었으며, 백미 4 검체 이외의 다른 8개 백미 검체에서는 대장균군이 검출한계이하 수준으로 존재하는 것으로 확인되었다. 미국의 쌀가루를 제조하는 회사인 Sage V Foods, Llc. 회사에서는 제조하는 쌀가루 제품들 중 멥쌀이나 찹쌀을 사용한 4가지 제품의 자체 미생물 규격을 설정하였다[18]. 미생물 규격 중 coliforms가 200/g미만, *E. coli*가 10/g미만이었다. 그리고 현미 가루 제품의 자체 미생물 규격은 coliforms가 400/g미만, *E. coli*가 10/g미만으로 설정되어 있다. 멥쌀가루나 찹쌀가루의 미생물 규격과 비교하여 현미가루의 미생물 규격중 *E. coli* 의 최대허용균수는 동일하였지만 coliforms의 최대 허용 균수가 2배 높았다.

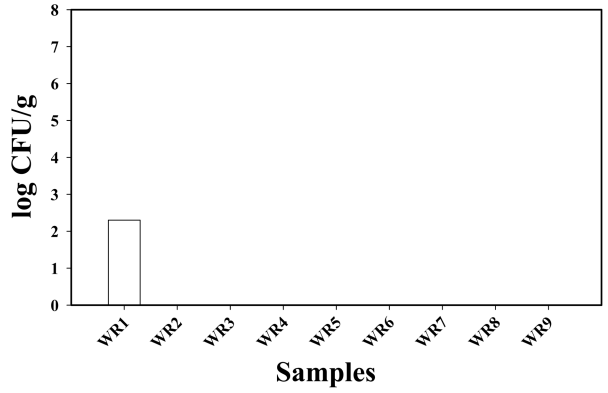

Fig. 4. Yeasts and molds counts of white rice samples using PDA. (WR1-9 are retailed white rice harvested from different locations in Korea).

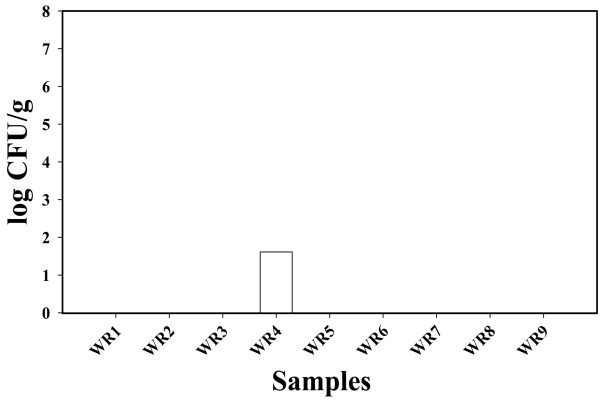

Fig. 5. Coliforms counts of white rice samples using petrifilm. (WR1-9 are retailed white rice harvested from different locations in Korea).

요 약

쌀의 미생물학적 프로파일을 규명하기 위하여 잔류 미생물들을 총호기성균, 포자형성 호기성균, 젖산균, 진균, 그리고 대장균 및 대장균군 등의 5개 미생물 group으로 구분하였다. 그리고 이들 5개 미생물 group에 대하여 총 9개 국내 시판 백미 검체별로 잔류 미생물 정량분석을 수행하였다. 9개 백미 검체 중 백미 1 검체의 총호기성균수 (2.4×10^6 CFU/g)가 가장 높았으며, 9개의 백미 검체의 평균 총호기성 균수는 3.9×10^5 CFU/g 으로 측정되었다. 쌀 검체별 호기성 포자형성균수는 모든 9종의 백미 검체가 1.0×10^2-2.5×10^3 CFU/g 범위에 있었다. 쌀 검체별 젖산균은 총 9개 백미 검체중 2개 백미 검체에서만 검출되었다. 백미 2 검체의 젖산균수가 3.7×10^3 CFU/g, 백미 4 검체의 젖산균수가 4.0×10^2 CFU/g으로 각각 검출되었다. 쌀 검체별 진균수는 총 9개의 백미검체 중 백미 1 검체에서만 검출되었으며, 검체의 진균오염정도는 백미 1 검체의 진균수가 2.0×10^2 CFU/g으로 검출되었다. 쌀 검체별 대장균수는 총 9개의 모든 백미 검체에서 대장균이 검출한계이하 수준으로 존재하는 것으로 확인되었다. 대장균군의 경우 백미 4 검체의 대장균군수가 4.1×10 CFU/g으로 검출되었다. 그리고

다른 모든 백미 검체에서는 대장균군이 검출한계이하 수준으로 존재하는 것으로 확인되었다.

감사의 글

본 연구는 2010년도 농림수산식품부 농림기술개발사업의 연구비 지원으로 수행된 연구결과의 일부로 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. Keum J.S.: 쌀의 영양과 쌀 가공식품. *Korean J. Food Preserv.*, **9**, 38-54 (2010).
2. Shin M.S.: 미래의 녹색 식품산업을 주도할 쌀 가공산업의 활성화. *Korean J. Food Preserv.*, **9**, 16-37 (2010).
3. Min Y.T.: 쌀 소비촉진을 통한 쌀 산업안정방안. *Korean J. Food Preserv.*, **9**, 13-15 (2010).
4. Keum J.S.: 미곡 가공기술 혁신을 통한 쌀 소비확대방안. *Korean J. Food Preserv.*, **9**, 49-59 (2010).
5. Kim S.H, Kim K.P, Jang S.S, Shin E.M, Kim M.J, Oh S, Ryu S.: Prevalence and toxigenic profiles of *Bacillus cereus* isolated from dried red peppers, rice, and Sunsik in Korea. *J. Food Prot*., **72**, 578-582 (2009).
6. Park Y.B, Kim J.B, Shin S.W, Kim J.C, Cho S.H, Lee B.K, Ahn J, Kim J.M, Oh D.H.: Prevalence, genetic diversity, and antibiotic susceptibility of *Bacillus cereus* strains isolated from rice and cereals collected in Korea. *J. Food Prot*., **72**, 612-617 (2009).
7. Park S.K, Ko Y.D, Kwon S.H, Shon M.Y, Lee S.W.: Occurrence of off-odor and distribution of thermophilic bacteria from rice and cooked rice stored at electric rice cooker. *Korean J. Food Preserve*., **10**, 70-74 (2003).
8. Kim K.A, Jeon E.R.: Physicochemical properties and hydration of rice on various polishing degrees. *Korean J. Food Sci. Technol*., **28**, 959-964 (1996).
9. 식중독 통계 시스템. *Korea Food and Drug Administration*.
10. Kim S.R, Shim W.B, Park S.J, Ha S.H, Yoon H.S, Ha S.D, Kim K.S, Lee K.H, Kim M.G, Kim K.Y, Lim C.H, Chung D.H.: Investigation of the level of microbial contamination in the environment for juice production. *Korean J. Food Sci. Technol*., **37**, 287-293 (2005).
11. Ankolekar C, Rahmati T, Labbé RG.: Detection of toxigenic *Bacillus cereus* and *Bacillus thuringiensis* spores in U.S. rice. *Int. J. Food Microbiol.*, **128**, 460-466 (2009).
12. Kim M.J, Kim B.H, Han J.K, Lee S.Y, Kim K.S.: Analysis of quality properties and fermentative microbial profiles of Takju and Yakju brewed with or without steaming process. *J. Fd. Hyg. Safety.*, **26**, 64-69 (2011).
13. Cho J.I, Kim K.S, Bahk G.J, Ha S.D.: Microbial assessment of wild cabbage and its control. *Korean J. Food Sci. Technol*., **36**, 162-167 (2004).
14. Shin Y.P, Choi J.W, Yeon J.H, Lee M.J, Lee D.H, Kim K.S, Park K.H, Ha S.H.: Assessment of contamination levels of foodborne pathogens isolated in major RTE foods marketed in convenience stores. *Korean J. Food Sci. Technol*., **37**, 274-278 (2005).
15. Lu ZH, Zhang Y, Li LT, Curtis RB, Kong XL, Fulcher RG, Zhang G, Cao W.: Inhibition of microbial growth and enrichment of gamma-aminobutyric acid during germination of brown rice by electrolyzed oxidizing water. *J. Food Prot.,* **73**, 483-487 (2010).
16. Nishino N, Hattori H, Kishida Y.: Alcoholic fermentation and its prevention by *Lactobacillus buchneri* in whole crop rice silage. *Lett. Appl. Microbiol.*, **44**, 538-543 (2007).
17. Aydin A, Aksu H, Gunsen U.: Mycotoxin levels and incidence of mould in Turkish rice. *Environ. Monit. Assess*., (2010).
18. Sage V Foods: Standard spec sheets. (http://www.sagevfoods.com/MainPages/Products/Rice-Flour.htm).