

최 종
연구보고서

오염미생물 제어기술에 의한 고품질
청결미분의 가공

Processing Technology for High-quality Rice
Flour by Microbial Decontamination

연구 기관
경 원 대 학 교

농 립 부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “오염미생물 제어기술에 의한 고품질 청결미분의 가공” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2005년 10월 14일

주관연구기관명 : 경원대학교
총괄연구책임자 : 이 영 택
세부연구책임자 : 박 종 현
연 구 원 : 장 학 길
연 구 조 원 : 유 문 식
연 구 조 원 : 최 소 연
연 구 조 원 : 김 준 희
연 구 조 원 : 이 노 아
연 구 조 원 : 장 지 현
위탁연구기관명 : 한 식 연
위탁연구책임자 : 김 상 숙
참 여 기 업 : (주)라이스텍

요 약 문

I. 제 목

오염미생물 제어기술에 의한 고품질 청결미분의 가공

II. 연구개발의 목적 및 중요성

쌀 소비를 촉진하기 위한 대책으로 쌀 가공식품의 다양화를 위해서는 우선적으로 품질이 우수한 쌀가루의 제조가 이루어져야 한다. 또한 식품의 부패, 변질을 막고 유통 저장성을 확보하기 위한 쌀가루의 미생물 측면의 연구가 또한 이루어져야 한다. 미생물에 오염된 쌀은 저장, 가공, 유통 단계에서 품질 저하를 일으키며, 떡류 등과 같은 쌀 가공식품의 저장성 문제는 쌀 가공식품의 유통에 장애 요인으로 작용할 수 있다.

따라서 쌀을 이용하여 미분(米粉)의 가공특성을 향상시킬 수 있는 전처리기술 및 제분방법을 확립함과 아울러 쌀 오염미생물을 제거/불활성화하는 제어 요소기술을 개발하여 청결미분(清潔米粉)으로 생산하는 기술을 개발하며, 이를 떡류, 제빵/제과 등의 고품질의 쌀가공식품으로 개발하도록 하였다.

III. 연구개발 내용 및 범위

1. 쌀 오염미생물의 제어기술 개발

- 쌀의 오염미생물 분석과 저감화 기술개발
- 쌀 품질저하 미생물의 분리와 동정
- 유해식중독 미생물, 오염포자의 제거/불활성화 기술개발
- 개발된 요소기술의 복합 최적화

2. 청결미분의 가공기술 개발

- 미분의 기능성 향상 기술 개발
- 미분의 전분 기능성 연구
- 미생물 제어기술을 적용한 청결미분의 가공기술
- 청결미분 제조공정의 확립

3. 고품질 미분가공식품의 개발

- 미분의 가공적성
- 고품질 떡류 가공식품의 개발
- 고품질 제빵/제과 가공식품의 개발

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

본 연구과제인 “오염미생물 제어기술에 의한 고품질 청결미분의 가공”은 2개의 세부과제 및 1개의 위탁과제로 이루어져 있으며 각 세부과제별로 연구결과를 구분하여 요약하였다.

● 제1세부 연구과제 : 쌀 오염미생물의 제어기술 개발

쌀 오염미생물의 제어기술 개발과 관련하여 우선 쌀에서부터 미생물오염 현황을 분석하였다. 전국 각지에서 벼상태로 시료를 수집하여 겨, 현미, 도정후의 쌀의 표면미생물을 분석한 결과, 겨 부위에 7~8 log CFU/g, 현미 표면에 6~7 log CFU/g, 도정된 쌀 표면에는 3~4 log CFU/g으로 다양한 분포를 보여주었으며 유기농 쌀에서 보다 높은 세균이 분포하는 것으로 분석되었다. 주된 유해 오염세균은 toxigenic *Bacillus*이었고 *Clostridium perfringens*는 많은 오염이 되어 있지 않았으며, 따라서 쌀 toxigenic *Bacillus*의 제어가 필요하다는 것을 시사하였다. *Bacillus cereus* group에서 toxin gene의 존재여부를 확인하기 위하여 *hbl* gene을 target으로 PCR을 수행한 결과 종간의 구분없이 대부분의 *Bacillus cereus* group에서 이들 유전자를 가지고 있는 것으로 나타났다.

쌀가공제품의 품질을 저하시키고 식중독을 유발시키는 오염미생물의 생리특성과

그 제어기술과 관련한 연구를 수행한 결과 포자를 형성하는 *Bacillus cereus*와 yeast가 주된 인자로 밝혀졌다. 이러한 *Bacillus* 식중독을 유발하는 주요 세균인 *B. cereus*는 포자를 형성하므로 *B. cereus*의 영양세포 및 포자의 제어방법을 개발하고자 하였다. 제어하기 위한 방법으로 ethanol, lactic acid, acetic acid, $\text{Na}(\text{ClO})_2$, vitamin B₁ 라우릴 황산염, 오존수, hydrogen peroxide 등을 단독 혹은 병용하여 처리하여 *B. cereus*를 저해하고자 하였다. 이들 처리제중 10% ethanol과 1% hydrogen peroxide 병용시 효과가 우수하였으며 20% ethanol과 1% lactic acid와 2% acetic acid, 10% NaCl, vitamin B₁ 라우릴황산염을 각각 혼합하였을 때에도 효과가 우수한 것을 확인할 수 있었다. 이러한 처리제는 특별한 살균처리 없이 식용되는 쌀소재의 전처리에 적용함으로써 식중독 유발균인 *B. cereus*의 오염을 저감화할 수 있을 것으로 보인다.

Yeast 분리균과 표준균주에 대한 처리제의 효과는 20% ethanol과 유기산의 단독처리보다 복합처리를 했을 때에 사멸효과가 높게 나타났다. 총균수는 시간에 따른 복합 처리를 조사한 결과 20% ethanol과 유기산을 복합 처리했을 때에 시간이 지남에 따라 사멸률이 더 높게 나타났으며, yeast-like strain은 10, 30, 60분 모두 10^1 cfu/mL이하로 생육이 저해되어 배지 상에 검출되지 않았다. Yeast-like strain은 latic acid를 처리했을 때보다 acetic acid를 복합 처리했을 경우 효과가 조금 더 높게 나타났으며 ethanol의 농도가 높을수록 사멸률이 높았다. 20% ethanol에서 5분 처리시 10^1 cfu/mL 이하로 측정되었고 10분처리 하였을때 15% ethanol부터 10^1 cfu/mL 이하로 생육이 저해되었다. 온도에 따른 차이는 크게 없었으며 일반세균인 경우 처리제를 넣은 것은 대조구값에 비하여 10^2 cfu/mL 정도 감소하였다. Yeast 표준균주와 분리균은 30분 처리시 10^1 cfu/mL 이하로 생육이 감소되었고 20% ethanol과 10% NaCl 10분 처리시 21℃일 때 보다 50℃에서 생육 저해효과가 있었다.

● 제2세부 연구과제 : 청결미분의 가공기술 개발

쌀전분은 물리적 변성에 의해 가공용도에 적합하도록 기능성을 향상시킬 수 있으며 어닐링(annealing)처리에 따른 쌀 전분의 물리·화학적 특성을 조사하고 재고미의 어닐링처리 효과를 조사하였다. 40~60℃의 실온 이상의 상승된 온도에서 쌀을 가운 수침처리한 후 습식제분한 쌀가루로부터 분리한 전분의 특성을 조사한 결

과 수침처리하지 않은 대조구 쌀 전분에 비해 수침처리한 쌀 전분의 명도는 약간 감소하였으며 전분의 평균 입자크기는 다소 감소하였다. 전분의 팽윤력과 용해성은 대조구보다 전반적으로 높았으며 특히 40℃에서 수침처리한 쌀 전분에서 가장 높았지만 그 이상의 처리온도에서는 다소 감소하는 경향이였다. DSC 호화개시온도, 호화정점온도는 40℃와 50℃ 수침처리한 쌀 전분에서 감소하였고 호화엔탈피는 증가하였으나 60℃에서 수침처리에서는 호화개시온도와 호화정점온도가 증가하였고 호화온도범위가 감소하여 전분의 annealing 현상이 나타남을 제시해 주었다. 40℃에서 수침처리한 쌀 전분은 Rapid Visco-Analyzer(RVA) 최고점도가 증가한 반면, 50℃와 60℃에서는 최고점도가 감소하였고 breakdown이 감소하였으며 최종 점도는 증가하여 setback이 높게 나타났다.

40~60℃의 상승된 온도에서 수침처리한 재고미로부터 분리한 전분의 이화학적 특성을 조사한 결과 재고미 쌀 전분은 수침처리에 의해 명도가 약간 증가하였고 황색도와 적색도는 감소하는 경향이였다. 수침온도의 증가에 따라 팽윤력과 용해성이 측정온도 70℃ 이상에서 그 증가 폭이 감소하였다. DSC 측정 결과 60℃에서 수침시에 재고미 전분에 부분적인 어닐링 효과를 제시해 주었다. 40℃와 50℃ 수침온도는 재고미 전분의 최고점도, trough 점도, 최종점도, setback 점도를 약간 감소시킨 반면 60℃ 수침온도는 breakdown을 낮추고 최종점도와 냉각후 setback 점도를 증가시키는 결과를 주었다.

쌀가루는 쌀을 물에 침지하는 과정을 거친 후 분쇄하는 습식제분 방법과 쌀을 그대로 분쇄하는 건식제분 방법에 의해 제조하였으며 쌀가루의 미생물을 분석한 결과 건식제분이 습식제분 방법에 비해 총균수와, yeast-like strain의 수가 높은 것으로 나타났다. 습식 쌀가루의 유통 및 저장의 편의성을 증진하기 위하여 습식 쌀가루를 열풍건조하였으며 건조온도별 건조시간에 따른 수분함량을 측정한 결과 쌀가루의 건조온도는 40~50℃ 정도가 적합한 것으로 판단되었다. 쌀 오염미생물의 물리, 화학적 살균기법을 습식제분시 수침공정에 적용하여 오염미생물의 저해효과를 조사하였다. 55℃에서 수침하는 것이 25℃ 수침에 비해 수침후와 분쇄후 쌀가루의 미생물 오염정도가 낮은 것으로 분석되었다. Sanitizing agents에 의한 살균효과에서는 오존수 침지만으로는 미생물 제어 효과가 미미하였으며 오존수+ethanol+NaCl을 병용한 쌀의 침지가 가장 미생물 제어 효과가 큰 것으로 나타났다.

물에 침지하는 습식을 대체하여 분무방식에 의한 반습식 처리하여 제조한 무세미와 부산물 쇠립의 특성 및 오염미생물을 분석하였다. 무세미 쌀가루는 명도와 황색도가 원료쌀에 비해 다소 낮았고 수분흡수지수와 수분용해지수는 원료쌀에 비해 높게 나타났으며 무세미 쇠립에서 gel consistency가 다소 높게 나타났다. 무세미 쌀가루는 amylograph 최고점도와 breakdown이 높았으며 setback은 가장 낮은 반면에 무세미 쇠립은 최고점도와 breakdown이 낮았으며 setback이 높은 것으로 나타났다. 무세미의 DSC 측정 결과 호화개시온도와 호화최고온도가 원료쌀에 비해 약간 감소하는 경향이었으며 호화엔탈피는 다소 높게 나타났다. 무세미는 원료쌀에 비해 total bacteria, yeast-like strain의 수가 감소하여 쌀 표면미생물의 세척효과에 따른 미생물의 오염정도가 낮았다.

쌀가루를 4개월간 5°C, 20°C, 35°C로 저장온도를 달리하여 저장하면서 저장중 품질변화를 측정하였다. 저장기간중에 쌀가루의 수분함량은 감소하는 경향을 보였으며 저장온도가 5°C에서 35°C로 높아짐에 따라 수분의 감소 효과가 큰 것으로 나타났다. 분무수세한 반습식 쌀가루의 색은 저장중 L값이 약간 증가하는 경향이었으며 건식제분 쌀가루와 비교할 때 L값이 높아 보다 밝은 것으로 나타났다. 황색도를 나타내는 b값은 건식제분에 비해 낮았으며 저장중에 크게 변화를 보이지 않았다. 5°C에서 저장한 쌀가루의 최고점도가 가장 낮았으며 20°C, 35°C 저장 순으로 최고점도가 높았다. 최고점도는 모든 저장온도에서 저장 3개월까지 증가하였으나 저장 4개월에서는 감소하였으며 35°C에서 점도의 증가폭이 가장 크게 나타났다. 5°C와 20°C 저장시 최종점도는 저장에 따라 최고점도와 비슷한 증감을 보여 setback 점도는 저장중 크게 차이를 보이지 않았으나 35°C 저장에서는 최종점도의 증가폭이 커짐으로 인해 setback 점도가 증가함을 나타내었다. 전반적으로 5°C에서 저장한 쌀가루의 RVA 점도변화가 가장 적은 것으로 나타났다.

쌀가루의 저장중 총균수는 미세한 증가로 저장 4개월에 10^3 정도였으며 저장중에 분무수세한 반습식 쌀가루의 총균수가 건식제분 쌀가루에 비해 지속적으로 낮았다. 5°C와 20°C의 저장온도에서는 저장중 총균수에 있어 별차이가 없었으나 35°C 저장온도에서는 총균수가 낮게 나타났다. 건식제분과 달리 분무수세후 제분한 반습식 쌀가루는 저장기간중에 효모와 *Bacillus cereus* group이 검출되지 않아 *Bacillus cereus* group으로부터 가장 안전성이 높았으며 효모에 의한 미생물의 오염면에서도 상대적으로 안전한 것으로 분석되었다.

분무수세후 제분한 반습식 쌀가루의 관능적 특성을 조사하기 위하여 떡을 제조하여 관능평가를 실시한 결과 5℃와 20℃로 저장한 쌀가루에서는 큰 차이가 없었으나 35℃에서 저장한 쌀가루로 제조한 떡에서는 관능적 기호성이 상대적으로 떨어지는 것으로 나타났다. 분무수세후 제분한 쌀가루의 저장중에 제조한 떡의 텍스처를 측정된 결과 떡의 경도는 쌀가루의 저장기간이 증가함에 따라 증가하였으며 35℃에서 저장한 쌀가루 떡의 경도 증가가 가장 크게 나타났다. 5℃에서 저장한 쌀가루로 제조한 떡이 경도가 가장 낮아 노화에 가장 긍정적인 저장온도인 것으로 판단되었다.

● 위탁 연구과제 : 고품질 미분가공식품의 개발

고품질 미분가공식품의 개발과 관련하여 우선적으로 가온수침(어닐링처리)후 제분한 쌀가루의 가공적성을 조사하였다. 실온 이상의 온도(40, 50, 60℃)에서 햅쌀과 저장쌀을 가온 수침하여 습식제분한 쌀가루의 특성을 조사하였다. 습식처리한 쌀가루는 모두 30% 이상의 수분을 지니고 있었으며, 60℃에서 수침을 한 쌀가루가 40℃, 50℃ 수침에 비해 수분 함량이 높게 나타났다. 쌀가루의 L값은 햅쌀로 제조한 쌀가루에서 약간 높았으며 황색도를 나타내는 b값은 저장쌀이 햅쌀 백미로 만든 쌀가루보다 높게 나타났다. 햅쌀과 저장쌀 모두에서 쌀가루의 WAI, WSI 및 gel consistency는 수침온도가 증가함에 따라 증가하였다. Amylograph peak viscosity, hot paste viscosity, 그리고 cold paste viscosity 모두 수침온도가 증가함에 따라 증가하였으며 특히 저장쌀 시료에서 보다 큰 폭으로 증가하였다. DSC 호화개시온도 및 호화정점온도는 수침온도가 높아짐에 따라 증가하였고, 호화엔탈피는 감소하는 경향을 보였다. 쌀가루의 입도 분석결과 저장쌀이 햅쌀로 제조한 쌀가루에 비해 작은 경향을 보여주었으며 햅쌀의 경우 수침온도가 60℃, 50℃, 40℃ 순으로 입도분포가 큰 경향을 보여주었다. SEM에 의한 쌀가루의 미세구조 관찰 결과 수침 온도의 증가에 따라 입자 크기의 증가와 손상된 쌀가루 표면이 관찰되었다.

어닐링 가온 수침처리와 살균처리한 청결미분으로 떡을 제조하여 오염미생물과 품질특성을 조사하였다. 어닐링미분 및 청결미분으로 제조한 떡의 텍스처 및 관능적 특성을 분석한 결과 55℃ 수침 미분으로 제조한 떡은 다른 떡에 비해 경도가 높았으며 25℃ 수침 미분으로 제조한 떡은 다른 떡에 비해 색이 하얗게 나타났다.

오존수, ethanol 및 NaCl에 의해 살균처리하여 제조한 떡에서는 떡 이외의 냄새 및 쓴맛이 가장 높게 나타나 이들 살균처리구의 조정이 필요함을 보여주었다. 떡의 초기 총균수는 25℃에서 수침하여 제조한 떡에 비해 55℃ 어닐링 수침처리하여 제조한 떡과 오존수처리 또는 오존수, ethanol, NaCl처리한 떡에서 낮게 나타났다. 떡을 5℃ 저장시에 *Bacillus* group은 거의 검출되지 않았으나 25℃에서는 저장중 증가하였으며 55℃ 어닐링 처리하여 제조한 떡에서 그 수치가 가장 낮았다. 한편 시판 떡류의 저장중 미생물의 수를 측정된 결과, 시판 떡류의 초기 생균수는 본 실험에서 제조한 떡에 비해 훨씬 높았으며 *Bacillus*에 상당히 오염되어 있었다. 전체적으로 어닐링 수침처리 또는 살균처리한 미분으로 제조한 떡은 시판 떡류에 비해 미생물의 오염도가 낮게 나타났다.

제분방법별로 건식, 습식 및 반습식 쌀가루를 제조하였으며, 건식 및 반습식 쌀가루의 경우에는 분급기의 속도(120, 250, 400 rpm)에 따른 입도의 조절로 쌀가루를 제조하였다. 건식미분(건식 120, 건식 250, 건식 400), 반습식 청결미분(반습식 120, 반습식 250, 반습식 400)과 수침처리한 습식미분(수침 25℃, 수침 50℃)으로 제조하여 그 가공특성을 조사하였다. 케익 머핀을 제조하여, 반죽의 물리적 특성을 측정하였으며, 케익 머핀 제조 24시간 후, 48시간 후 TA에 의한 케익 머핀의 텍스처 프로파일과 관능적 묘사분석을 수행하여 각 미분의 제빵 적성 및 저장성을 분석하였다. 반습식 쌀가루 120과 반습식 쌀가루 250의 경우 케익 머핀의 밀도가 낮게 나왔다. 케익 머핀의 TA 텍스처 특성 결과 상온저장 24시간 후 씹힘성, 겹성과 경도는 반습식 250이 가장 높았고 건식 250이 가장 낮았다. 저장 48시간 후 다른 쌀가루 군에 비해 수침하였던 쌀가루로 만든 케익 머핀의 경우 TA에 의한 탄력성, 응집성, 씹힘성, 겹성, 경도가 낮게 나타났다. 케익 머핀에 대한 쌀가루의 효과를 보여준 관능적 특성은 ‘노란색의 정도, 표면의 거칠음성, 기공의 균일성, 응집성, 단맛, 계란맛, 버터맛, 단맛의 후미, 입안을 덮는 정도’였다. 건식 400과 습식 400 쌀가루로 만든 케익 머핀의 경우 다른 쌀가루로 만든 케익 머핀에 비해 노란색이 강하고 건식 120의 경우 표면의 거칠음성이 크고 기공의 균일성, 응집성, 단맛, 계란맛, 버터맛, 단맛의 후미, 입안을 덮는 정도가 낮게 나타났다. 반습식 400의 경우 기공의 균일성이 가장 낮았으며, 응집성이 가장 높게 나타났다. 침지 쌀가루의 경우 다른 쌀가루에 비해 케익 머핀의 단맛과 기타 향미를 증가시키는 경향을 보여주었다. 상온 저장 48시간 후 케익 머핀에 대한 쌀가루의 효과를 보여준

관능적 특성은 노란색의 정도, 표면의 거칠음성, 기공의 균일성뿐이었으며, 그 외 특성에서 쌀가루에 의한 차이는 없었다. 저장 48시간대에서는 수침한 쌀가루로 만든 케익 머핀의 색이 더 노랗고 기공이 더 균일하게 나타났다. 또한 반습식 400 쌀가루로 만든 케익 머핀의 경우 노란색이 강하고 건식 120의 경우 표면의 거칠음성이 크고 기공의 균일성이 낮게 나타났다. 또한 본 연구에서는 머핀 뿐만 아니라 케익도 가정에서 쉽게 구워낼 수 있는 Premix formula 및 그의 사용법을 제시하였다.

SUMMARY

I. Title

Processing Technology for High-quality Rice Flour by Microbial Decontamination

II. Objectives and Significance

Rice has been a staple dietary cereal in Korea. However, the consumption of rice is decreasing with the change in the diet of Koreans. In order to promote rice consumption, high quality rice flour is needed for producing various processed rice products. Also microbial contamination of rice should be minimized for the processed rice products.

The objectives of this project were to develop milling methods for high-quality rice flour, to develop techniques for microbial decontamination of rice, and to develop high quality rice products such as rice cakes.

III. Scope

1. Control of microorganisms contaminated in rice
 - Analysis of microorganisms contaminated in rice
 - Isolation and identification of microorganisms contaminated in rice
 - Inactivation and elimination of pathogenic microorganisms in rice
 - Development of microbial multi-control

2. Development of sanitized rice flour with reduced microbial contamination
 - Development of rice flour prepared by annealing treatment

- Study on starch properties of rice flour with annealing treatment
 - Processing of sanitized rice flour with microbial decontamination
 - Manufacturing process of sanitized rice flour with reduced microbial contamination
3. Development of high-quality rice processed foods
- Processing properties of rice flour with annealing treatment
 - Development of rice cake using sanitized rice flour
 - Development of baked products using sanitized rice flour

IV. Results and Application

● Microbial control of contaminating microorganisms in rice

Microbial contamination in domestic rice samples were investigated. Microbial counts of rice hull, brown rice and milled rice were 7~8 log CFU/g, 6~7 log CFU/g and 3~4 log CFU/g, respectively. Compared to ordinary rice, microbial counts in rice produced by organic cultivation was higher. The predominant pathogenic bacteria was appeared to be *Bacillus cereus* group.

Bacillus cereus group is known to cause food poisoning or spoilage because they can survive even after heat treatment. Microbial control of *Bacillus cereus* group in rice samples was investigated. To analyze the contamination level, the selective separation, the molecular biological and the morphological methods were established. The *hbl* gene of *B. cereus* group was detected by PCR. *B. cereus* seemed to be the most prevalent strain in brown rice and milled rice.

Decontamination of *B. cereus* group in rice samples was studied by treating ethanol, lactic acid, acetic acid, Na(ClO)₂, vitamin B₁ lauryl sulfate, ozonated water, and hydrogen peroxide. Among the treatments, the effects of combining 20% ethanol with 1% hydrogen peroxide showed definitely superior to the

others and 20% ethanol in company with 1% lactic acid, 2% acetic acid, 10% NaCl, and vitamin B₁ lauryl sulfate were followed. Those agents might be applied to the effective *B. cereus* reduction through pretreatment of rice without any hazards from the special sanitizers and nutritional loss from harsh sterilization.

Yeast-like strains were also important contaminating microorganisms in rice samples. Effectiveness of sanitizing agents in alone and in combination against yeast-like strains was tested. Combinations of sanitizing agents such as ethanol and organic acids were more effective in controlling than treating sanitizing agents alone.

● Development of rice flour with reduced microbial contamination

The potential influence of annealing treatment was investigated on rice starch functionality. Rice was steeped at the elevated temperatures of 40, 50, and 60°C for 2 hr, and physicochemical properties of starches isolated from the wet-milled rice flour were investigated. The lightness of rice starch was slightly decreased by steeping at the elevated temperatures, while the yellowness and redness were increased. The average granule size of rice starch was decreased by the steeping treatment. Both swelling power and solubility increased as temperature increased. The starch from rice steeped at 40°C displayed the highest swelling power and solubility. The Differential Scanning Calorimetry(DSC) data of the starch obtained from the steeped rice at 60°C showed increased onset- and peak temperatures, with narrower gelatinization temperature range, suggesting a partial annealing effect. The pasting properties of the starch as measured by Rapid Visco-Analyzer(RVA) indicated the increased peak viscosity as a result of rice steeping at 40°C. However, peak and breakdown viscosities decreased at 50 and 60°C, whereas setback and final viscosities increased.

Rice starch was isolated from 3-year stored milled rice after steeping at elevated temperatures of 40~60°C for 2 hr, and the physicochemical properties

of the rice starch were investigated. The lightness of rice starch was slightly increased by steeping, while the yellowness and redness tended to decrease. The average granule size of starch isolated from the stored rice was increased by the steeping treatment. Increasing steeping temperature increased both swelling power and solubility to a less extent at temperature of $> 70^{\circ}\text{C}$. Differential Scanning Calorimetry (DSC) results suggested a partial annealing effect on the starch of stored rice by steeping at 60°C . The pasting properties by Rapid Visco Analyzer (RVA) indicated that starches from steeped rices at 40 and 50°C gave slightly reduced peak, trough, final, and setback viscosities, while starch from steeped rice at 60°C exhibited a reduced breakdown, resulting in a higher final and setback viscosity after cooling.

Properties of rice flours prepared from milled and broken rice produced by pre-washing and subsequent drying process were investigated. Compared to untreated ordinary milled rice, pre-washing process slightly increased lightness of rice flour, while decreased yellowness. Both WAI and WSI were higher in the flour from pre-washed rice, and gel consistency was the highest in the flour from pre-washed broken rice. Pre-washed rice showed increased amylograph peak viscosity and reduced setback values. On the other hand, pre-washed broken rice showed decreased peak viscosity and increased setback values. Differential scanning calorimetry(DSC) results showed that the pre-washing process reduced gelatinization onset- and peak temperatures, with increased gelatinization enthalpy. Total bacteria and yeast counts were lower in the pre-washed rice, suggesting the pre-washing process could partially eliminate microbial contamination of ordinary milled rice.

Rice flour was stored at 5°C , 20°C and 35°C for 4 months and the changes in physicochemical properties and microbial counts were investigated. Moisture content of flour tended to decrease during storage, and the reduction in moisture content was higher in higher storage temperature. L value of semi-wet milled rice flour tended to increase slightly during storage, and the lightness appeared to be slightly higher, compared to dry milled rice flour. RVA peak viscosity of

rice flour was lower in the following order of rice flour stored at 5°C, 20°C and 35°C. Peak viscosity increased up to 3-month storage, especially at 35°C storage, followed by a slight decrease at 4-month storage. Little changes in setback viscosity were observed in rice flour stored at 5°C and 20°C, while increase in setback viscosity was found in rice flour stored at 35°C. Generally, changes in RVA viscosity were the lowest in the rice flour stored at 5°C.

Total bacteria count was consistently lower in the semi-wet milled rice flour. *Bacillus cereus* group and yeast-like strains were not detected in the semi-wet milled rice throughout the storage. This suggested the pre-washing prior to milling could lower microbial contamination of rice.

● Development of high-quality rice processed products

Newly harvested milled rice and stored milled rice for 2 years were steeped at the elevated temperatures of 40, 50, and 60°C for 2 hr, and physicochemical properties of the wet-milled rice flour were investigated. The lightness of rice flour was slightly higher in the newly harvested milled-rice, while yellowness was higher in the stored milled rice. For both newly harvested and stored milled rice, WAI, WSI, and gel consistency as steeping temperature increased. The Amylograph pasting properties indicated that increasing steeping temperature gave increased increased peak viscosity. The Differential Scanning Calorimetry(DSC) results of the rice flour showed that increasing steeping temperature increased onset- and peak temperatures, with reduced gelatinization enthalphy, suggesting a partial annealing effect. Particle size of rice flour from newly harvested milled rice was higher than that from stored milled rice.

Quality characteristics including microbial contamination were investigated on rice cakes prepared with rice flour by annealing process or sterilization process. Rice cake made of rice flour prepared by annealing process at 55°C was harder than other rice cakes. Rice cakes with rice flour by steeping process at 25°C was whiter than other rice cakes. Rice cakes prepared with sterilized rice flour using ozone, ethanol, and NaCl had off odor and bitterness, suggesting

need for modification of sterilization process. Higher initial colony count was found in rice cake prepared with rice flour annealed at 25°C than other rice cakes prepared with rice flour annealed at 55°C or rice cakes made of rice flour treated ozone, ethanol or NaCl. *Bacillus* group in rice cake was hardly detected during 5°C storage, while it was increased remarkably during 25°C storage. Fewer *Bacillus* group was found in rice cake prepared with rice flour annealed at 55°C than other rice cakes. Initial microbial count of rice cake in market was much higher than the rice cakes prepared with rice flours tested in this research. The rice cakes in market was contaminated seriously by *Bacillus* group. Overall, lower microbial count was found in the rice cake prepared with rice flour treated annealing or sterilization than rice cakes in market.

Various sanitized rice flours (semi-wet milled rice flour 120, semi-wet milled rice flour 250, semi-wet milled rice flour 400), dry milled rice flour 120, dry milled rice flour 250, dry milled rice flour 400 and wet milled rice flours (steeped at 25°C, and annealed at 50°C) were prepared. Cake muffins were prepared with various sanitized rice flour or annealed rice flours. Sensory descriptive analysis and texture profiles by Texture analyzer(TA) were carried out after 24 and 48 hr of storage at room temperature. The specific volume of cake muffin was lower in the muffin made of semi-wet milled rice flour 120 and in the muffin made of semi-wet milled rice flour 250. Cake muffin made of semi-wet milled rice flour 250 was highest in chewiness, gumminess and hardness by TA while those with dry milled rice flour was the lowest. After 48 hr of storage, springiness, cohesiveness, chewiness, gumminess and hardness by TA was lower in the cake muffin made of rice flour prepared by annealing process than other cake muffins.

Sensory panel found the differences in yellowness, surface roughness, uniformity of air cell, cohesiveness, sweetness, egg flavor, butter flavor, sweet aftereffect, and mouth coating of cake muffins after 24 hr of storage at room temperature. Cake muffin made of dry milled rice flour 400 and semi-wet

milled rice flour 400 was higher in yellowness than other cake muffins. The higher in surface roughness, and the lower in air cell uniformity, cohesiveness, sweetness, egg flavor, butter flavor, sweet aftereffect, mouth coating was noted in cake muffin made of dry milled rice flour 120 than others. The lowest in air cell uniformity and the highest on cohesiveness was found in cake muffin made of semi-wet milled rice flour 400. Relatively high in sweetness and flavor intensity were noted in cake muffins made of annealed rice flours than others. After 48 hr of storage at room temperature, difference was found in yellowness, surface roughness, and air cell uniformity of muffin cakes. Cake muffins made of annealed rice flours were higher in yellowness, and in air cell uniformity. The higher in yellowness was found in cake muffin made of semi-wet milled rice flour, while the higher in surface roughness, and the lower in air cell uniformity was noted in cake muffins made of dry milled rice flour 120. Based on the results of this study, the premix formula and direction for preparation of cake or muffins were provided.

CONTENTS

SUMMARY	11
Chapter 1 Introduction	27
Chapter 2 Current Status on Domestic and Foreign Technology	29
Chapter 3 Experiments and Results	32
1. Materials and Methods	32
1.1. Control of microorganisms contaminated in rice	32
1.1.1. Materials and pretreatments	32
1.1.2. Analysis, isolation and identification of microorganisms contaminated in rice	32
1.1.3. Physiological characterization and microbial control of quality-lowering microorganisms in rice	33
1.1.4. Inactivation and elimination of quality-lowering microorganisms in rice ..	33
1.1.5. Optimization of microbial multi-control	34
1.2. Processing of sanitized rice flour	35
1.2.1. Materials	35
1.2.2. Functional improvement of rice flour by annealing treatment	36
1.2.3. Processing of sanitized rice flour	38
1.2.4. Development of manufacturing process of sanitized rice flour	40
1.3. Development of high-quality rice foods	42
1.3.1. Characteristics of sanitized rice flour	42
1.3.2. Development of rice cake using sanitized rice flour	46
1.3.3. Development of baked products using sanitized rice flour	48
2. Results and Discussion	53
2.1. Control of microorganisms contaminated in rice	53
2.1.1. Microbial analysis of paddy rice grown in various regions	53
2.1.2. Microbial analysis of commercial brown and milled rice	53

2.1.3. Identification of <i>B. cereus</i> group and detection of toxin genes	59
2.1.3.1. Identification of <i>B. cereus</i> group using PCR	59
2.1.3.2. Detection of hemolysin BL(HBL) gene	63
2.1.4. Physiological characterization and microbial control of quality-lowering microorganisms in rice	65
2.1.4.1. Effect of NaCl	66
2.1.4.2. Effect of organic acids	66
2.1.4.3. Analyses of spore formation and germinative characteristics	68
2.1.5. Inactivation and elimination of quality-lowering microorganisms in rice ..	71
2.1.5.1. Effect of physical sterilization	71
2.1.5.2. Effect of chemical sanitizing agents	77
2.1.6. Development of microbial multi-control	86
2.1.6.1. Effect of composited sanitizing agents	86
2.1.6.2. Effect of sanitizing treatment time	87
2.1.6.3. Effect of sanitizing treatment temperature	89
2.1.6.4. Effect of ethanol concentration	89
2.1.6.5. Effect of combining ethanol with organic acid on yeast growth	92
2.1.6.6. Effect of combining ethanol with organic acid on microbial counts	93
2.1.6.7. Effect of combining ethanol with NaCl on microbial counts	94
2.2 Development of sanitized rice flour	97
2.2.1. Functional improvement of rice flour by annealing treatment	97
2.2.1.1. Rice flour milling and annealing technique	97
2.2.1.2. Starch properties of milled rice with annealing treatment	98
2.2.1.2.1 Proximate composition of rice starch	99
2.2.1.2.2. Color, size and shape of rice starch	99
2.2.1.2.3. Swelling power and solubility of rice starch	101
2.2.1.2.4. DSC thermal properties of rice starch	103
2.2.1.2.5. RVA pasting properties of rice starch	104
2.2.1.3. Starch properties of stored milled rice with annealing treatment	106

2.2.1.3.1. Chemical composition of stored rice starch	106
2.2.1.3.2. Color and appearance of stored rice starch	107
2.2.1.3.3. Swelling power and solubility of stored rice starch	108
2.2.1.3.4. DSC properties of stored rice starch	111
2.2.1.3.5. RVA pasting properties stored rice starch	112
2.2.2. Processing of sanitized rice flour	113
2.2.2.1. Functional and microbial properties of rice flour prepared by different milling methods	113
2.2.2.2. Drying of rice flour prepared by wet milling	116
2.2.2.3. Sanitization of rice flour during wet milling	117
2.2.2.4. Processing of rice flour by pre-washing process	122
2.2.2.4.1. Moisture, WAI, WAI and gel consistency of pre-washed rice flour ..	122
2.2.2.4.2. Particle size and microstructure of pre-washed rice flour	124
2.2.2.4.3. Amylograph properties of pre-washed rice flour	125
2.2.2.4.4. DSC properties of pre-washed rice flour	126
2.2.2.4.5. Microbial analysis of of pre-washed rice flour	128
2.2.3. Manufacturing process for sanitized rice flour	129
2.2.3.1. Physicochemical and microbial analyses of sanitized rice flour	129
2.2.3.2 Quality of sanitized rice flour during storage	139
2.2.3.2.1. Changes in moisture during storage	139
2.2.3.2.2. Changes in color	139
2.2.3.2.3. Changes in WAI and WSI	142
2.2.3.2.4. Changes in pasting properties	143
2.2.3.2.5. Changes in microbial counts	149
2.2.3.2.6. Changes in organoleptical properties	151
2.3. Development of high-quality rice processed foods	154
2.3.1. Characteristics of sanitized rice flour	154
2.3.1.1. Moisture, ash, fat and protein contents of rice flour	154
2.3.1.2. Color, moisture, WAI, WSI, damaged starch and gel consistency	154
2.3.1.3. Amylograph characteristics	157

2.3.1.4. DSC properties	158
2.3.1.5. Partice size and microstructure	160
2.3.1.6. Physical and organoleptical properties of rice cake using annealed rice flour	162
2.3.2. Development of rice cake using sanitized rice flour	165
2.3.2.1. Properties of rice cake using sanitized rice flour	165
2.3.2.1.1 Textural properties of rice cake using sanitized rice flour	165
2.3.2.1.2 Organoleptical properties of rice cake using sanitized rice flour	169
2.3.2.2. Microbial analysis of rice cake during storage	173
2.3.2.3. Microbial analysis of commercial rice cake	175
2.3.3. Development of baked products using sanitized rice flour	178
2.3.3.1. Physical properties of rice cake muffin	178
2.3.3.2. Organoleptical properties of rice cake muffin	182
Chapter 4. Attainment of Objectives and Contribution	198
Chapter 5. Applications of the Results	199
Chapter 6. Information for Knowledge of Foreign Scientific Affairs ..	201
Chapter 7. References	202

목 차

요 약 문	3
SUMMARY	11
제 1 장 연구개발과제의 개요	27
제 2 장 국내외 기술개발 현황	29
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	32
제 1 절 재료 및 방법	32
1. 쌀 오염미생물의 제어기술 개발	32
가. 시료의 전처리	32
나. 쌀 오염미생물 분석, 분리 및 동정	32
다. 품질저하 세균의 생리특성 분석 및 생육 제어기술 개발	33
라. 분리균의 살균 및 불활성화 기술개발	33
마. 미생물 제어기술의 복합최적화	34
2. 청결미분의 가공기술	35
가. 재료	35
나. 미분의 기능성 향상 및 전분 분석	36
다. 청결미분의 가공	38
라. 청결미분의 제조공정 확립	40
3. 고품질 미분가공식품의 개발	42
가. 미분의 가공특성	42
나. 고품질 떡류 가공식품의 개발	46
다. 고품질 제빵 가공식품의 개발	48
제 2 절 결과 및 고찰	53
1. 쌀 오염미생물 제어기술 개발	53
가. 산지별 벼의 미생물 위해분석	53
나. 시판 쌀과 현미에서의 미생물 위해분석	53
다. <i>B. cereus</i> group 동정 및 toxin gene의 검출	59
1) <i>B. cereus</i> group의 PCR을 이용한 동정	59

2) Hemolysin BL(HBL) gene의 검출	63
라. 품질저하 세균의 생리특성 분석 및 생육제어기술 개발	65
1) NaCl에 대한 영향	66
2) 유기산에 대한 영향	66
3) 포자의 형성 및 발아특성 분석	68
마. 분리균의 살균 및 불활성화 기술 개발	71
1) 물리적인 살균기법 효과 실험	71
2) 화학 살균처리제의 효과 비교실험	77
바. 미생물 제어기술의 복합최적화	86
1) 복합처리에 대한 영향	86
2) 복합 처리시 처리시간에 따른 생육저해 효과	87
3) 복합 처리시 온도에 따른 yeast의 생육저해 효과	89
4) 복합 처리시 ethanol 농도에 따른 yeast의 생육저해 효과	89
5) Ethanol과 농도별 유기산 처리시 yeast의 생육저해 효과	92
6) Ethanol과 농도별 유기산 처리시 쌀 미생물의 생육저해 효과	93
7) Ethanol과 NaCl 복합처리시 미생물의 생육저해 효과	94
2. 청결미분 가공기술의 개발	97
가. 쌀가루의 기능성 향상 기술	97
1) 쌀의 제분 및 어닐링처리기술	97
2) 어닐링처리 쌀가루의 전분 기능성	98
가) Annealing 수침처리한 쌀 전분의 일반성분	99
나) Annealing 수침처리한 쌀 전분의 색, 형태 및 크기	99
다) Annealing 수침처리한 쌀 전분의 팽윤력과 용해도	101
라) Annealing 수침처리한 쌀 전분의 DSC 특성	103
마) Annealing 수침처리한 쌀 전분의 RVA 특성	104
3) 재고미의 어닐링처리 효과	106
가) 재고미 쌀 전분의 화학조성	106
나) 재고미 쌀 전분의 색, 형태 및 크기	107
다) 재고미 쌀 전분의 팽윤력과 용해도	108
라) 재고미 쌀 전분의 DSC 특성	111

마) 재고미 쌀 전분의 호화특성	112
나. 청결미분의 가공기술 개발	113
1) 제분방법에 따른 쌀가루의 특성 및 오염미생물 분석	113
2) 습식제분의 건조조건 확립	116
3) 청결미분 제조를 위한 습식제분의 살균기술	117
4) 분무수세에 의한 반습식 무세미 쌀가루의 제조	122
가) 무세미 쌀가루의 색도, 수분함량, WAI, WSI 및 gel consistency	122
나) 무세미 쌀가루의 입도 및 미세구조	124
다) 무세미 쌀가루의 Amylograph 특성	125
라) 무세미 쌀가루의 DSC 특성	126
마) 무세미 쌀가루의 오염미생물 분석	128
다. 청결미분의 제조공정 확립	129
1) 제분방법에 따른 쌀가루의 이화학적 특성 및 미생물 분석	129
2) 청결미분 쌀가루의 저장중 특성	139
가) 쌀가루의 저장중 수분함량	139
나) 쌀가루의 저장중 색의 변화	139
다) 쌀가루의 저장중 WAI 및 WSI	142
라) 쌀가루의 저장중 호화양상	143
마) 쌀가루의 저장중 미생물 분석	149
바) 쌀가루의 저장중 관능특성	151
3. 고품질 미분가공식품의 개발	154
가. 쌀가루의 가공적성 규명	154
1) 쌀의 수분, 회분, 지방, 단백질함량	154
2) Annealign처리 쌀가루의 색도, 수분함량, WAI, WSI, 전분손상도 및 gel consistency	154
3) Amylogram 특성	157
4) 상전이 특성	158
5) Annealing처리 쌀가루의 입도 및 미세구조	160
6) Annealing처리 쌀가루로 제조한 백설기의 물리적, 관능적 특성	162

나. 고품질 떡류가공식품의 개발	165
1) Annealing 처리 청결미분의 떡류 제조적성	165
가) Annealing 처리미분과 청결미분으로 제조한 떡의 텍스처 특성	165
나) Annealing 처리미분과 청결미분으로 제조한 떡의 관능적 특성	169
2) 떡류의 가공, 저장 중 미생물 분석	173
3) 시판 떡류의 미생물 분석	175
다. 고품질 제빵 가공식품의 개발	178
1) 저장에 따른 케익 머핀의 물리적 특성	178
2) 저장에 따른 케익 머핀의 관능적 특성	182
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도	198
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	199
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	201
제 7 장 참고문헌	202

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적

○ 쌀을 이용하여 미분(米粉)의 가공특성을 향상시킬 수 있는 전처리기술 및 제분 방법을 확립함과 아울러 쌀 오염미생물을 제거/불활성화하는 제어 요소기술을 개발하여 청결미분(淸潔米粉)으로 생산하는 기술을 개발하며, 이를 떡류, 제빵 등의 고품질의 미분가공식품으로 개발하도록 함.

제 2 절 연구의 필요성

○ 우리나라 국민의 식품 소비가 다양해지면서 쌀소비는 1인당 연간 136.4 kg(1970년)에서, 132.4kg(1980년), 119.6kg(1990년), 96.9kg(1999년)으로 감소하여 연간 약 2~3%씩 줄어들고 있으며 2001년말에는 쌀의 재고가 적정량인 550만섬의 2배 가량에 이르고 향후 더 많은 재고의 문제로 인해 경제적 손실이 큼.

○ 쌀소비의 감소에 따른 대책으로 다양한 쌀가공품의 개발이 요구되며 이를 위해서는 밀가루와 같이 쌀을 분말화시켜 중간소재 형태의 제품으로 가공의 편의성을 증대시킬 수 있는 다양한 미분(米粉)의 제조기술이 선행되어야함.

○ 식품의 부패, 변질은 미생물에 의해 유발되며 따라서 식품의 고품질과 유통 저장성을 확보하기 위해서는 미생물적 측면에서의 연구가 이루어져야 함. 미생물에 오염된 쌀은 저장, 가공, 유통단계에서 품질저하를 일으키며, 떡류 등과 같은 쌀가공식품은 유통상 저장성 문제가 쌀가공산업의 큰 장애요인으로 지적되고 있음.

○ 쌀과 같은 곡류는 일반적으로 수분함량이 낮아 미생물에 의한 안전성이 높은 것으로 인식되어 있지만, 국산 쌀의 미생물 오염현황을 조사한 결과에 의하면 쌀은 $10^5 \sim 10^6$ CFU/g의 오염정도를 보여주고 있으며 또한 *Bacillus cereus* group균들도 검출되어 주식으로서 쌀 원료의 미생물 안전성은 취약한 상태임.

○ 현재 쌀가공품으로 이용되는 쌀의 양은 총 쌀 생산량의 3~4% 수준으로, 일본의

15% 수준에 비해 훨씬 낮으며 주로 떡류, 주류, 장류 등에서 한정적으로 소비되고 있음. 최근 쌀과자, 쌀라면, 쌀국수, 쌀빵 등 제품의 다양화로 쌀의 소비확대에 힘쓰고 있으나 전문적으로 미분을 제조하여 가공식품의 소재원료로 사용하는 경우는 아주 미흡하고 대부분 자체설비에 의한 고전적인 제분방법으로 미분을 제조하여 사용하기 때문에 미분의 체계적인 제조기술에 대한 연구가 필요한 실정임.

○쌀 전분은 물리적 변성에 의해 가공용도에 적합하도록 기능성을 향상시킬 수 있으며 어닐링(annealing)처리기법은 전분의 물리화학적특성을 개선시킬 수 있는 기술로서 고품질 미분의 제조를 위해 연구할 필요성이 있음.

○현재 국내의 미분은 보통 건식제분으로 생산되는데 건식제분한 미분은 과도한 전분 손상으로 떡류의 가공에는 어려움이 있으며 쌀을 물에 침지시켜 분쇄하는 습식제분 방법에 의해 품질특성을 향상시키지만 폐수처리의 문제가 있음. 한편 침지, 습식제분시 폐수처리의 문제점을 개선하고자 분무방식에 의한 반습식 제분의 제조기술개발에 대하여 연구중이며, 미분 제조공정시 오염미생물의 제어기술을 도입할 수 있도록 하는 미생물적 측면에서의 연구를 병행하여야 함.

○따라서 쌀소비 촉진을 위한 다양한 쌀가공품의 요구에 부응하도록 미생물학적으로 품질이 제고된 원료 쌀의 공급에서부터(부패미생물, 식중독 병원성세균 free) 장기적으로 보존이 가능하고 품질이 우수하도록 개선된 중간소재 형태의 청결미분으로 개발하고, 고품질의 떡류, 제빵, 제과 등의 미분가공식품으로 개발하도록하는 기술이 요망됨.

제 3 절 연구 범위

1. 국산쌀의 품질저하 미생물 오염을 분석하고 청결미분의 품질을 향상시키기 위한 전처리 기술을 개발하여 그 가공 적성을 조사함
2. 오염미생물의 제어기술을 개발하고 청결미분의 가공기술을 개발하여 이를 활용한 고품질의 떡류 및 제빵 가공식품을 개발함
3. 미생물 제어기술의 복합최적화에 의한 청결미분의 제조공정을 확립

제 2 장 국내외 기술개발 현황

○국내 논미생물은 포자를 형성하는 *Bacillus*와 *Pseudomonas* 등의 세균들이 10^5 cfu/g-soil, 10^{5-7} cfu/g-soil 분포하고 있으며 이들 토양중에는 아포형성 고온성 *Bacillus*균이 유기물의 정도에 따라 10^{3-5} cfu/g-soil 정도 함유되어 있음. 그리고 식중독균의 한 종인 *Bacillus cereus*균이 논에 존재하는 미생물중 약 10%에 달한다는 연구도 있음. 따라서 논에는 이미 많은 부패성 혹은 식중독 유인성 미생물이 많이 존재함을 알 수 있고, 아울러 최근에 환경오염으로 인해 유기물이 논으로 유입되면서 더욱 부패 및 병인성 미생물이 증가하고 이들이 벼와 쌀로 전이 오염되고 있음.

○당해 연구기관이 예비실험으로 국내산 벼를 수집하여 미생물을 분석한 결과에 의하면, 벼의 표면에는 미생물이 10^9 마리/g 존재하였고 그중 열처리에도 죽지 않고 생존하는 미생물수는 $10^3 \sim 10^4$ 정도인 것으로 분석됨. 또한 이들 벼를 무균적으로 껍질을 벗긴 후에 같은 분석을 해 본 결과 열처리에도 살아 있는 미생물은 10^3 정도로 많은 미생물이 존재하는 것을 확인함. 이러한 결과는 이미 벼와 벼의 내부 쌀표면에 많은 수의 미생물이 오염되어 있고 특히 열처리에도 살아있는 균이 다량으로 존재하고 있는 것으로 이로부터 도정된 쌀의 가공제품의 품질과 안전성에 문제가 될 수 있다는 것을 확인할 수가 있었음.

○현재 시중에 유통되고 있는 쌀을 조사한 결과 쌀 1g당 약 만마리의 세균이 이미 오염되어 있음을 확인하였고 이러한 쌀은 열에 저항성이 있는 포자를 형성하는 *Bacillus*가 많이 오염되어 있음을 확인함. 벼(10^9 cfu/g)와 벼내부 쌀표면(10^7 cfu/g), 그리고 이러한 벼로 도정한 쌀의 표면(10^4 cfu/g)에 많은 수의 미생물이 이미 존재하고 특히 포자를 형성하는 *Bacillus*가 다량으로 존재하고 있음. 이러한 사실은 쌀을 가공용의 원료로 사용할 경우 그 가공품의 품질과 위생 안전성에 문제가 될 수 있다는 사실을 입증하고 있음.

○쌀가루의 제조시 사용되는 제분기의 종류 및 제분방법은 쌀가루의 기능성에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있음. 즉, 전분입자들은 제분과정중 기계적 손상을 받게되고, 손상을 받은 전분들은 손상을 받지않은 전분과는 여러 가지 면에서 다른 특성을 가지는데, 밀가루의 경우 물흡수력, 가스발생력, 반죽성, 빵의 체적, 색깔 및 조직 등이 손상전분의 양에 의해 영향을 받게됨.

○쌀가루의 제조는 건식제분 방법인 편밀, 햄머밀, 롤밀 및 터보밀 등을 이용하여 소규모 형태로 조제하고 있으며 당해 연구기관의 쌀가루와 관련된 연구로서 기존의 제분설비인 롤러밀, 햄머밀 등을 사용하여 쌀의 제분적성을 관찰한 바 있으며 건식제분과 습식제분에 따른 쌀가루의 제빵적성, 제면적성 등에 대하여 연구한 바 있음. 그러나 쌀가루를 소재로한 제품개발에 역점을 두고 쌀가루의 구조, 물성 및 성분변화 등의 제분적성과 이를 이용한 제분방법 제시에 대한 심도 있는 연구결과는 미흡한 실정임.

○건식제분한 쌀가루의 경우 정도 이상의 손상전분으로 떡류의 제조에 적합하지 않아 습식제분에 의해 품질특성을 향상시키지만 폐수처리, 건조비용, 미생물 오염 등 공정상의 문제 및 비용면에서의 개선이 요구되고 있음. 현재 침지, 습식제분시 다량의 폐수 방출에 따른 문제점을 개선하고자 분무방식에 의한 환경친화형 반습식 제분의 제조기술개발에 대하여 연구하고 있으나 미생물의 오염과 저장성을 개선하려는 연구는 아직 시도된 바 없음.

○서구에서 쌀은 빵, 케이크, 쿠키, 이유식 등의 가공식품 제조에 이용되어 왔기 때문에 국내에서 보다 심도있는 연구가 진행되었으며, 지금까지 연구결과에 의하면 주로 건식제분방법에 의해 쌀가루의 기능적 특성은 쌀의 종류, amylose와 amylopectin 비율, 입자의 크기, 호화특성 등 물리화학적 특성, 제분기의 종류 또는 형태에의해 크게 영향을 받는 것으로 보고되었음.

○쌀가루의 기능적 특성은 전분의 물리적 변성을 부여하도록 annealing 처리(온수 처리)에 의해 개선할 수 있음. 또한 최근 장기보관한 쌀을 annealing처리에 의해 호화특성을 향상시킨다는 연구가 보고되었음. Japonica 쌀을 10~24년간 장기보관 하였을때 Indica 쌀에 유사한 호화특성을 보여주지만 55℃에서 24시간 annealing 처리했을때 햅쌀과 유사한 호화특성을 다시 회복한다는 결과를 얻었음.

○일본에서는 약 200여종의 쌀가루 제품이 용도별로 다양하게 사용되고 있으며 이들의 제분방법은 건식, 반습식, 습식 등 여러 가지 형태로 발달되어 있음. 현재는 반습식 상태의 제분방법이 보편화되어 있는데, 미분업체의 95%가 반습식 방식을 사용하여 반습식 상태로 제분한 쌀가루 제품시장이 가장 유망한 것으로 조사된 바 있음.

○*B. cereus* 포자는 소수성이 강하여 세척하는 동안 제거가 잘 않되는데, 이는 포자표면에는 부착에 관여하는 부착사 또는 선모를 가지고 있으며, 낮은 표면전하를

가지고 있기 때문이며, 인체내에서 장 상피세포에 부착하여 enterotoxin을 생산하여 식품위해를 유발함.

○주로 일본에서는 전기분해처리, 자기처리, 전장처리, 근적외선 처리등의 물리적인 살균기법들이 많이 시도는 되고 있으나 공업적으로는 전해산화수가 가장 많이 각광을 받고 있고 이러한 전해산화수처리는 국내에서도 연구가 어느 정도 연구가 진행되고 있음.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 재료 및 방법

1. 쌀 오염미생물의 제어기술 개발

가. 시료의 전처리

산지별, 종류별 벼를 현미와 겨 껍질로 무균적으로 분리하여 식품위해성 미생물 (Total bacteria, *Bacillus cereus*, *Cl. perfringens*)에 대한 오염도를 분석하였다.

시료 10 g과 멸균식염수 90 mL를 멸균 bag에 담고, stomaching한 후 선택배지에 접종 후 37°C에서 24~48시간 배양 후 식품위해성 미생물에 대한 오염도를 분석하였다.

나. 쌀 오염미생물 분석, 분리 및 동정

1) 일반세균수 측정

전처리된 검액 1 mL를 취하여 9 mL 0.85% 멸균생리 식염수 용액에 넣어 10진 희석하였다. Plate count agar를 분주, 응고시킨 petri dish에 도말하여 37°C, 48시간 배양한 후 1평판당 30~300개의 집락을 생성한 평판을 택하여 집락수를 계수하였다.

2) *Bacillus cereus* 분석

검액을 10진 희석하여 MYP agar에 도말 후 37°C에서 48시간 배양하였다. MYP agar에서 pink opaque halo를 띄는 집락을 선택하여 Gram(양성), catalase test 후 확인된 colony를 *B. cereus*의 diarrheal gene(enterotoxin) 존재를 PCR로 확인하였다.

3) *Clostridium perfringens* 분석

검액 1 mL을 취하여 난황이 첨가된 Reinforced Clostridial medium(RCM)에 검액

을 접종하여 37°C에서 24시간 동안 혐기 배양한 결과 분리배지상에서 직경 2 mm 정도의 약각 돌기된 유황색으로 주변에 혼탁한 백색환이 있는 집락을 선택하였다.

선택된 colony를 Gram 양성을 확인하고 동시에 37°C에서 24시간 호기 배양하여 균의 비발육을 확인한 후 확인된 집락을 reversed CAMP test를 실시하여 haemolysis를 확인하여 *Cl. prfringens*를 확인한 후 마지막으로 PCR을 이용하여 *Cl. prfringens*가 α -toxin의 생산유무를 확인하였다.

다. 품질저하 세균의 생리특성 분석 및 생육 제어기술 개발

1) NaCl, 유기산에 의한 생육 제어

NaCl은 각각 3%(W/V), 5%, 7%, 10%를 세균에 5분간 단독 처리하였고, 또한 20% ethanol과 10% NaCl을 각각 단독으로 사용 후 MYP agar에서 24~48시간 배양하여 생존여부를 확인하였다. 또한 20% ethanol과 10% NaCl을 조합하여 같은 조건에서 증식저해 효과를 확인하였다. 유기산 처리는 각각 1%(V/V), 2%, 3%, 4%를 세균에 5분간 단독 처리하였고 MYP agar에서 24~48시간 배양하여 생존여부를 확인하였다.

2) 포자형성 및 발아특성 분석

*B. cereus*의 spore형성은 Nutrient broth에 1.5%의 agar와 함께 NaCl, MnSO₄, CaCl₂, glucose, (NH₄)₂SO₄, MnCl₂ · 4H₂O, CuSO₄ · 5H₂O, ZnSO₄ · 7H₂O를 첨가 후 pH 7.2로 보정된 배지에 *B. cereus* vegetative cell을 도말 후 37°C 3일간 배양한 다음 95°C, 10분간 heat shock을 준 후 현미경상에서 spore를 관찰하였다.

라. 분리균의 살균 및 불활성화 기술개발

1) 물리적인 살균기법 효과 비교실험

오존수 처리는 배양된 표준균주에 1차로 직접 처리하여 효과를 확인 한 후 쌀에 직접 처리하였다. 오존수 농도는 Volume 5(오존수 농도 3.51 ppm), Volume 10(오존수 농도 7.54 ppm)으로 하여 배양액을 오존수의 1%(V/V) 접종하여 20분 후 도말하여 생존수를 측정하였다. 쌀은 각각 5배(W/V)의 오존수를 처리하여 총균수와

Bacillus group으로 나누어 생균수를 측정하였다.

방사선 조사는 시료 100 g씩 1 kgray, 3 kgray, 5 kgray의 선량으로 조사하였으며 총균수와 *Bacillus* group, yeast-like strain으로 나누어 생균수를 측정하였다.

2) 화학 살균처리제의 효과 비교실험

Ethanol은 각각 10%(V/V), 20%, 30%, 40%, 50%로 희석하여 사용하였고 회수한 세균에 5분, 10분, 15분, 30분, 60분 동안 노출처리 한 후 MYP agar에서 37°C로 24~48시간 배양하여 생존여부를 확인하였다. 또한 20% ethanol과 10% NaCl을 혼합하여 5분간 처리한 후 확인하여보았다.

Na(ClO)₂는 140 ppm, 200 ppm, 500 ppm, 800 ppm, 1400 ppm 농도별로 10분간 처리하였다.

Vitamin B₁ 라우릴황산염은 단독처리시 0.8%와 1.0%를 처리하였으며, 복합처리시에는 0.06%의 vitamin B₁ 라우릴황산염과 20% ethanol에 혼합 처리하여 사용하거나 0.06%의 vitamin B₁ 라우릴황산염과 20% ethanol에 7.54 ppm의 오존수를 사용하였으며 모든 처리 후 MYP agar에서 24~48시간 배양하여 생존여부를 확인하였다.

마. 미생물 제어기술의 복합최적화

1) Ethanol의 복합처리에 따른 Yeast의 생육 저해 효과

유기산 농도는 각각 1%(V/V), 3%, 5%, ethanol의 농도는 5%, 10%, 15%, 20% 그리고 처리시간은 10, 30, 60분으로 하여 yeast-like strain은 5% rose bengal 0.5 mL과 0.1 g의 chloramphenicol을 첨가한 PDA 배지에 도말하여 48시간 후 계수하였으며, 총균수는 PCA에 배양하여 생존 여부를 확인하였다. 표준균주로는 *Pichia anomala* ATCC 8168과 *Candida anomala* ATCC 750을 사용하였다.

쌀 직접 처리시에 각 처리제 10배 volume을 처리한 후 멸균 식염수에 담아 stomacher를 이용하여 균질화 한 다음 PDA, PCA에 배양하여 저해 효과를 확인하였다.

표준균주와 분리균에 대한 각 처리효과는 처리제 100 mL에 배양액 1 mL 접종

후 YM agar에 도말하여 48시간 후에 확인하였다. Control은 처리제 대신 멸균 식염수를 담아 각 sample의 배양 시간과 동일하게 수행하였다.

2) 복합처리조건에 따른 생육저해 효과

유기산과 ethanol의 단독처리로 ethanol은 20%, 유기산은 1% lactic acid, 1% acetic acid로 각각 처리하여 생육저해 효과를 조사하였다. 복합처리로는 20% ethanol과 1% lactic acid, 20% ethanol과 1% acetic acid, 20% ethanol과 10% NaCl을 각각 30분 처리후 멸균 식염수에 담아 stomaching후 PDA에 도말 후 48시간 후에 확인하였다.

시간에 따른 유기산, ethanol 복합처리 효과로는 20% ethanol과 1% acetic acid 그리고 20% ethanol과 1% lactic acid를 10분, 30분, 60분 처리하였으며, 총균수, yeast-like strain, 분리균 및 표준균주에 대한 생육저해 효과를 관찰하였다.

Ethanol 농도에 따른 생육저해 효과로 1% acetic acid, 1% lactic acid 처리에 ethanol 농도를 5, 10, 15, 20%로 달리하여 10분, 30분간 수행하였다.

유기산 농도에 따른 생육저해 효과는 10% ethanol에 acetic acid를 각각 1, 3, 5%가 되도록 한 후 균주 1 mL(1%)를 접종하여 10분, 30분간 처리하였다. Lactic acid 역시 각각 1, 3, 5%가 되도록 한 후 acetic acid와 동일하게 수행하였다.

2. 청결미분의 가공기술

가. 재 료

Annealing 수침처리에 따른 쌀가루의 제조는 2002년산 일반 백미(경기산 추청미)를 수라청 농협(경기도 화성시)으로부터 구입하여 4℃에서 보관하면서 실험에 사용하였다. 재고미로는 2000년산 일반 백미(경기산 추청미)를 10℃에서 3년간 plastic bag에 보관한 후 실험에 사용하였다.

청결미분의 제조 실험에 사용한 쌀은 2003년산 경기산 추청미로 수라청농협(경기도 화성시)으로부터 구입하여 4℃에서 저장하면서 시료로 사용하였다.

분무수세 반습식 제분에 사용된 쌀은 쌀은 백미(동진 1호)로 우강농협(충남 당진)으로부터 제공받아 4℃ 저장고에 냉장 저장하면서 사용하였다.

나. 미분의 기능성 향상 및 전분 분석

1) Annealing 수침처리 및 제분

백미를 40, 50, 60℃의 온도에서 물에 2시간 동안 침지한 후 체반에 건져 60분간 탈수하였다. 수화된 백미를 roll mill(경창기계, 경기도 광주)에 2번 통과시켜(1번째 통과 간극: 0.475 mm, 2번째 통과 간극: 0.106 mm) 쌀가루로 제조하였다. 제조된 쌀가루는 비닐 백에 밀봉하여 -4℃ 냉동고에 보관하였다.

2) 전분의 제조

쌀전분의 조제는 알칼리 침지법에 의해 실시하였다. 쌀가루 300 g에 0.2% NaOH 용액 1,500 mL를 가하고 Waring blender에서 2분간 마쇄한 후 100과 200 mesh 체를 차례로 통과시킨 후 얻은 침전물위에 노란층이 없어지고 뷰렛반응이 나타나지 않을 때까지 침전물을 0.2% NaOH 용액으로 2회 반복 처리한 다음 증류수로 중성이 될 때까지 씻어 정제된 전분을 얻었다. 전분은 실온에서 2일간 건조한 후 분쇄하여 100 mesh 체를 통과시켰다.

3) 전분의 일반성분 분석

전분의 수분, 조단백, 회분의 함량은 각각 AACC 방법 44-15A, 46-13, 08-01에 의해 분석하였으며, 조지방 함량은 AOAC Soxhlet 방법에 의해 분석하였다.

4) 전분의 색도

색차계(CR-300, Minolta Co., Japan)를 사용하여 Hunter L, a, b값으로 표시하였다.

5) 전분의 입자크기 및 표면형태

전분의 입자크기분포는 particle size analyzer(CILAS, model 1064L, France)를 사용하여 측정하였다. 전분입자의 표면형태는 주사전자현미경(Scanning Electron Microscope; model JSN-5400, JEOL Ltd., Japan)을 사용하여 1,000배로 확대하여 관찰하였다.

6) 전분의 팽윤력과 용해도

전분의 팽윤력은 Schoch 방법을 이용하였는데, 시료 0.4 g을 원심분리관에 넣고 증류수 40 mL에 잘 분산시킨 다음 30~90°C 온도에서 교반기로 30분간 저은 후 5,000 rpm에서 30분간 원심분리하고 상정액을 제거한 다음 침전된 무게로부터 계산하였다. 용해도는 원심분리한 후의 상정액을 페놀-황산법으로 총당을 측정하여 구하였다.

$$\text{팽윤력} = [\text{침전물의 무게/시료의 무게(건량기준)} \times (100 - \% \text{ 용해도})] \times 100$$

$$\% \text{ 용해도} = \text{상정액의 총당 함량/시료의 무게(건량기준)} \times 100$$

7) DSC 측정

전분의 열적 특성은 Thermal Analysis Data Station(Perkin-Elmer Co., U.S.A.) 이 연결된 Differential Scanning Calorimeter(Unix DSC 7, Perkin-Elmer Co., U.S.A.)를 사용하여 측정하였다. 즉, 9 mg(d.b.)의 전분을 stainless steel sample pan에 취하고 여기에 21 mL 증류수를 가하여 밀봉한 다음 2시간동안 상온에서 방치하였으며 10°C/min의 속도로 30°C부터 130°C까지 가열하여 흡열피크를 얻었다. DSC 흡열 peak로부터 호화개시온도(T_0), 호화정점온도(T_p) 및 호화엔탈피(ΔH)를 Lund의 방법에 의하여 산출하였다.

8) Rapid Visco-Analyzer(RVA) 측정

전분의 호화 양상은 신속점도측정계(Rapid Visco-Analyzer, Newport Sci., Australia)로 점도변화를 측정하였다. 즉, 전분 3 g(14% basis)을 증류수에 분산시켜 25 mL로 조제한 시료를 RVA cup에 넣고 50°C에서 1분간 유지한 후 7.5분간 95°C까지 증가시켰으며 95°C에서 2.5분간 유지시킨후 다시 7.5분간 50°C로 냉각시켜 측정하였다. 이로부터 호화개시온도, 최고점도, 95°C에서 2.5분 후의 점도, 50°C로 냉각후의 최종점도를 측정하였다.

다. 청결미분의 가공

1) 쌀가루의 제조

쌀의 건식제분은 Roller mill(경창기계)과 Cyclotec mill(Tecator Co., Sweden)을 사용하여 제분하였다. 쌀의 습식제분은 백미를 25℃와 55℃의 온도에서 물에 3시간 동안 침지한 후 체반에 건져 60분간 탈수하였다. 수화된 백미를 Roll mill(경창기계, 경기도 광주)에 2번 통과시켜(1번째 통과 간극: 0.475 mm, 2번째 통과 간극: 0.106 mm) 쌀가루로 제조하였다. 제조된 쌀가루는 비닐 백에 밀봉하여 -4℃ 냉동고에 보관하였다. 반습식 쌀가루의 제조는 원료쌀에 0.5 kg의 수압으로 물을 분사한 다음 탈수하여 건조한 후 쌀가루로 조제하였다. 습식 쌀가루의 건조는 열풍 건조기를 사용하였으며 건조온도를 30, 40, 50, 60, 70℃로 하여 건조시간별 수분의 함량을 측정하였다.

2) 청결미분제조를 위한 살균기술

쌀의 수침처리시 단계별 sanitizing agent 처리에 따른 생육제어 효과를 조사하였다. 오존수 침지처리(step 1)는 Volume 10(오존수 농도 7.54 ppm)에서 2시간 처리하였으며 30분 간격으로 오존수를 교환하였다. Ethanol+NaCl 병행처리(step 2)는 ethanol 20%(v/v)와 NaCl 10%에 쌀을 30분 동안 수침하였다. 오존수+ethanol+NaCl 병행처리(step 3)는 오존수에서 2시간 침지후 ethanol+NaCl에 30분 침지하였다. 오존수+ethanol+NaCl+오존수 처리(step 4)는 오존수에서 2시간 침지후 ethanol+NaCl에 30분 침지한 다음 오존수에서 20분간 세척하였다.

3) 오염미생물 분석

미생물 분석으로 총균수, *Bacillus* group, yeast-like strains를 분석하였다. 시료 25 g을 멸균 bag에 넣은 후 9배 volume(w/v)의 멸균수를 넣어 stomaching하여 적당한 농도로 희석한 후 총균수[PCA(Plate count agar)], *Bacillus* group [MYP(Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin) Agar], Yeast-like strains[PDA(Potato Dextrose Agar) + antibiotics (erythromycin, chloramphenicol) + rose bengal]를 각각의 배지에 도말한 후 균수를 측정하였다.

4) 쌀가루의 이화학적 특성 분석

가) 쌀가루의 색도, 수분함량, water absorption index(WAI), water solubility index(WSI), 및 gel consistency

쌀가루를 원통형용기(지름×높이, 4cm×1cm)에 담아 색차계(CR-300, Minolta, Japan)를 사용하여 L(lightness), a(redness) 및 b(yellowness)값을 측정하였다. 이때 사용한 표준판은 L=92.67, a=-0.83, b=0.86의 값을 가진 백색판이었다.

쌀가루의 수분흡수지수(WAI)와 수분용해도지수(WSI)는 Anderson의 방법에 의해 측정하였다. 60 mesh 이하의 쌀가루 2.5 g과 30 mL 증류수를 50 mL 원심분리 튜브에 넣고, 가끔 저어주면서 30분간 방치한 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 하였다. 상등액은 미리 항량을 구한 수분정량 수기에 담아 건조하여 남은 고형분을 2.5 g 시료에 대한 백분율로서 수분용해도지수를 산출하였다. 상등액을 제외한 나머지 침전물, gel의 무게를 시료에 대한 수분흡수지수로 계산하였다. 쌀가루의 gel consistency는 Cagampang 등의 방법에 의해 측정하였다. 즉, 쌀가루 100 mg을 시험관에 넣고 0.2 mL의 0.025% thymol blue 용액을 가하여 시료를 젓게 한 후 0.2 N KOH 2 mL를 가하여 vortex mixer로 5초간 혼합하고 즉시 끓는 수조에서 8분간 가열한 후 5분간 실온에서 방치한 다음 얼음물에서 15분간 냉각하여 30분 후 겔이 흐르는 길이를 측정하였다.

나) 입도분석 및 미세구조

쌀가루의 입도분석은 입도분석기(CILAS 1064, France)를 사용하여 측정하였다. 쌀가루의 미세구조는 백금으로 도금한 후 주사전자현미경(model JSM-5400, JEOL Ltd., Japan)을 이용하여 관찰하였다.

다) Amylograph 측정

쌀가루의 amylograph 특성은 Juliano 등의 방법에 의하여 8%(W/W)의 시료농도로 Brabender[®] Viscographer(801360, OHG Duisburg, Germany)를 이용하여 측정하였다. 아밀로그래프 측정조건으로 35℃에서 95℃까지 1.5℃/min의 속도로 가열하여, 95℃에서 15분간 유지시킨 다음 다시 동일한 속도로 50℃까지 냉각하여 15분간 유지시킨 후 측정하였다.

라) DSC 측정

쌀가루의 Differential Scanning Calorimeter(DSC)에 의한 상전이 특성은 Thermal Analysis Data Station(Norwalk, Conn., USA)이 연결된 DSC(Perkin Elmer, Unix DSC 7, USA)에 의해 관찰하였다. DSC는 indium metal에 의해 보정하였고, 시료의 비열의 균형을 잡기 위해 증류수를 넣은 stainless steel pan을 사용하였다. 시료 팬에 시료 9 mg을 넣고 주사기를 사용하여 증류수를 21 mL 넣어, 쌀가루: 증류수 = 3:7이 되도록 하였다. DSC를 작동하기 전에 뚜껑을 덮은 시료팬을 2시간동안 상온에서 방치 하였으며, 시료는 10°C/min의 속도로 30°C부터 130°C까지 가열하였다. DSC thermogram으로부터 쌀가루의 상변화에 흡수된 열량(enthalpy, cal/g)과 호화개시온도 및 호화최고온도를 Lund의 방법에 의해 산출하였다.

라. 청결미분의 제조공정 확립

1) 건식 및 습식 쌀가루의 제조

쌀의 건식제분은 Air Classifying Mill(ACM, 대가파우더시스템)을 사용하였으며, 분쇄실과 연결된 분급기의 rotor speed를 달리함으로써(120, 250, 400 rpm) 입도를 조절하여 제조하였다. 쌀의 습식제분은 백미를 25°C와 55°C의 온도에서 물에 3시간 동안 침지한 후 체반에 건져 60분간 탈수하였다. 수화된 백미를 Roll mill(경창기계, 경기도 광주)에 2번 통과시킨 다음(1번째 통과 간극: 0.475 mm, 2번째 통과 간극: 0.106 mm) 열풍건조기를 사용하여 건조하여 제조하였다.

2) 반습식 청결 무세미 쌀가루의 제조

반습식 청결미분의 제조는 무세미 제조장치(라이스텍, 경기도 안성)를 이용하여 원료쌀인 일반 백미에 상온의 알칼리 이온수를 2초간 분사하면서 분무수세한 후 즉시 10초간 원심탈수(1,700 rpm)한 다음 Air Classifying Mill(ACM, 대가파우더시스템)을 사용하여 제조하였다.

3) 청결미분의 가공저장 실험

가) 쌀가루의 저장방법

쌀가루를 1 kg 단위로 지퍼백에 2중 포장한 다음 5, 25, 35℃ 항온기에서 4개월 간 저장하면서 1개월 간격으로 저장성을 분석하였다.

나) 저장중 쌀가루의 이화학적 특성

저장중 쌀가루의 수분, 조단백, 회분 함량은 각각 AACC 방법 44-15A, 46-13, 08-01에 의해 분석하였으며 조지방 함량은 AOAC Soxhlet 방법에 의해 분석하였다. 쌀가루의 색도는 색차계(CR-300, Minolta Co., Japan)를 사용하여 Hunter L, a, b값으로 표시하였다. 쌀가루의 수분흡수지수(WAI)와 수분용해도지수(WSI)는 Anderson의 방법에 의해 측정하였다. 쌀가루의 저장중 호화양상은 신속점도측정계(Rapid Visco-Analyzer, Newport Sci., Australia)로 측정하였다.

다) 저장중 쌀가루의 미생물 분석

미생물 분석으로 총균수, *Bacillus* group, yeast-like strains를 분석하였다. 시료 25 g을 멸균 bag에 넣은 후 9배 volume(w/v)의 멸균수를 넣어 stomaching하여 적당한 농도로 희석한 후 총균수[PCA(Plate count agar)], *Bacillus* group [MYP(Mannitol-Egg Yolk-Polymyxin) Agar], Yeast-like strains[PDA(Potato Dextrose Agar) + antibiotics (erythromycin, chloramphenicol) + rose bengal]를 각각의 배지에 도말한 후 균수를 측정하였다.

라) 쌀가루의 관능특성 평가

저장중 쌀가루의 관능적 평가는 패널을 구성하여 떡에 대해 색, 향, 맛, 조직감을 9점기호척도로 평가하도록 하였다.

3. 고품질 미분가공식품의 개발

가. 미분의 가공특성

1) 시험재료

본 실험에 사용된 햅쌀 백미로 2002년산 경기 추청미를 사용하였으며, 저장쌀은 2000년산 경기 추청벼를 백미상태로 양평농협으로부터 제공받아 10℃에서 2년 동안 저장된 백미였다.

2) Annealing 수침처리 및 쌀가루의 제조

햅쌀과 저장 백미를 각각 2시간 동안 40, 50, 60℃의 물에 침지한 후 체반에 건져 60분간 물기를 제거하였다. 수화된 백미를 roll mill (경창기계, 경기도 광주)에 두 번 통과시켜 쌀가루를 제조하였다(Table 1). 이때 roll mill의 첫번째 통과 간극을 0.475 mm로 두번째 통과 간극을 0.106 mm로 조절하였다. 제조된 쌀가루는 비닐 백에 밀봉하여 -4℃ 냉동고에 보관하였다.

Table 1. Annealing처리 쌀가루의 제조 조건

		경기 추청의 수확 년도	
		2000	2002
수침온도 (℃)	40	○	○
	50	○	○
	60	○	○
	Control	상업적 쌀가루	

3) 쌀의 수분, 회분, 지방, 단백질함량 (%)

백미의 수분함량은 grain crusher(Kett, Japan)에 의해 분쇄한 후 AOAC 방법에 의해 105℃ 오븐 건조방법에 의해 측정하였고, 회분함량은 직접회화법(AACC

08-01)에 의해 분석하였으며, 조지방은 soxhlet 법으로 측정하였다. 조단백질은 Kjeltac auto sampler system 1035 Analyzer(Tecator Co., Sweden)를 사용하여 Automicro kjeldahl법(AACC 46-13)으로 측정된 질소량에 질소계수 5.95를 곱하여 산출하였다.

4) 쌀가루의 색도 (L, a, b), 수분함량, water absorption index(WAI), water solubility index(WSI), 및 gel consistency

쌀가루의 색도는 원통형용기(지름×높이, 4cm×1cm)에 담아 색도계(CR-300, Minolta, Japan)를 사용하여 L(lightness)값, a(redness)값 및 b(yellowness)값을 측정하였고, 쌀가루의 수분함량은 AOAC 방법에 의해 105℃에서 측정하였다.

수분흡수지수(WAI)와 수분용해도지수(WSI)는 Anderson의 방법에 의해 측정하였다. 미분 gel consistency는 Cagampang 등의 방법에 의해 산출하였다. Gel consistency를 측정하는 절차는 Fig. 1과 같다.

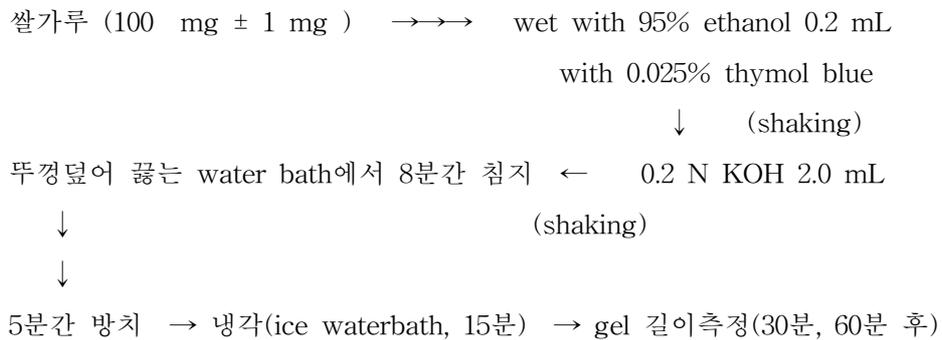


Fig. 1. Gel consistency 측정 절차.

5) Amylogram 특성

Amylogram 특성 및 호화온도는 Juliano 등의 방법에 의하여 측정하였다. Amylogram 특성을 측정하기 위하여 먼저 수분함량에 의해 사용할 시료의 양을 결정하였다.

$$x = \frac{(N \times Y/100)}{(100 - M - Y)/100}$$

x : 시료의 양 (g)

M: 시료의 수분함량 (%)

Y: 시료의 농도 (%)

N: 가한 증류수의 mL수

쌀가루의 Amylograph 특성은 Juliano 등의 방법에 의하여 측정하였으며, 8%(w/w)의 시료농도로 Brabender[®] Viscograph(801360, OHG Duisburg, Germany)를 이용하여 측정하였다. Amylograph 측정조건으로 35℃에서 95℃까지 1.5℃/min의 속도로 가열하여 95℃에서 15분간 유지시킨 다음 다시 동일한 속도로 50℃까지 냉각하여 15분간 유지시킨 후 측정하였다. Amylograph 특성으로는 최고점도(P: peak viscosity), 95℃에서 15분간 유지시킨 후의 점도(H: hot paste viscosity), 50℃에서 15분간 유지시킨 후의 점도(C: cold paste viscosity), breakdown(P-H), total setback(C-H), 그리고 setback(C-P) viscosity를 산출하였다.

6) 상전이 특성

쌀가루 현탁액의 Differential Scanning Calorimeter(DSC)에 의한 상전이 특성은 Thermal Analysis Data Station(Norwalk, Conn., USA)이 연결된 DSC(Perkin Elmer, Unix DSC 7, USA)에 의해 관찰하였다.

7) 쌀가루의 입도분석

쌀가루의 입도분석은 입도분석기(CILAS 1064, France)를 사용하여 측정하였으며, 햅쌀과 저장 백미의 수화온도(40, 50, 60℃)에 의한 쌀가루 입도크기에 따른 축적 비율(%)을 관찰하였다.

8) 쌀가루의 손상전분 및 미세구조

쌀가루의 손상전분은 AACC 방법 76-31에 의해 마련된 Megazyme Assay kit(Megazyme International Ireland Ltd., Wicklow, Ireland)를 사용하였으며, 쌀가루의 미세구조는 백금으로 도금한 후 주사전자현미경(Joel, model JSN-5400, Japan)을 이용하여 관찰하였다.

9) Annealing 쌀가루로 제조한 백설기의 물리적, 관능적 특성

백설기는 김과 윤의 방법에 의해 제조하였다. 백설기의 주재료는 쌀가루였으며, 이외에 설탕(30) 및 소금(1.8)을 시용하였다. 먼저 쌀가루의 최종 수분이 38%가 되도록(쌀가루 + 물 = 300 g) 물을 가하고 Kitchen Aid (model K5SS)를 이용하여 속도 1에서 2분, 속도 6에서 4분간 혼합 수화하였다. 혼합된 쌀가루를 체(14 mesh)를 통과시킨 후 성형용기(12.5 × 19 cm)에 가아제를 깔은 후 2.5 cm 두께로 평평하게 넣은 후 격자(2.5 × 2.5 cm)가 되도록 칼로 금을 그은 후 20분간 증자하였다. 증자가 끝나면 실온에서 방냉한 후 일정한 크기(2.5 × 2.5 cm)로 잘라서 Texture analyzer에 의한 텍스처 특성과 묘사분석 패널에 의한 관능적 특성을 분석하였다.

백설기의 텍스처 특성은 Texture analyzer(model TA-XT2, Stable Micro System Lty., Haslemere, England)를 이용하여 Bourne 등(1978)에 의해 기술된 2 bite compression에 의해 springiness(탄력성), gumminess(겉성), cohesiveness(응집성), adhesiveness(부착성), hardness(경도), chewiness(씹힘성)를 측정하였다. 측정조건은 백설기를 육면체(2.5 × 2.5 × 2.5 cm)로 절단하여 직경 2.5 cm plunger를 사용하여 force and time mode에서 2 bite compression에 의한 texture profile을 측정하였다. 이때 plunger의 속도는 0.2 mm/sec 이었으며, 전체 시료 높이의 25%를 compression하였다.

백설기의 관능적 특성분석에 참여한 패널은 모두 15명이었으며, 백설기의 외관 및 조직감의 특성강도를 중심으로 평가하였으며, 모든 패널요원이 평가하려는 특성 및 그의 정의에 대한 충분한 이해와 검사방법에 익숙하게 한 후 본 검사에 임하였다. 관능검사는 3번 반복 실시하였다.

10) 통계분석

본 실험은 3번 반복 수행하였으며, 실험군간 차이검증은 SAS(Statistical Analysis System)을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, 분산분석결과 실험군간 차이가 있는 특성의 경우, 실험군의 평균값간의 차이수준여부를 결정하기위해 SNK(Student Newman Keul)의 다중비교를 하였다.

나. 고품질 떡류 가공식품의 개발

1) 시험재료

본 실험에 사용된 백미는 2003년산 경기 추청이었다.

2) Annealing 처리미분 및 청결미분의 제조

Annealing 처리 미분은 백미를 3시간 동안 55℃ 물에 침지한 후 체반에 건져 60분간 물을 제거하였다. 수화된 백미를 roll mill(경창기계)에 2번 통과시켜 (1번째 통과 간극: 0.475 mm, 2번째 통과 간극: 0.106 mm) 쌀가루를 제조하였다. 제조된 쌀가루는 밀봉된 비닐 백에 넣어 -4℃ 냉동고에 보관하였다. Annealing 처리 미분외의 처리구로서 일반적인 습식쌀가루 제조군인 25℃ 침지군, 그리고 청결미분으로서 오존수처리군과 오존수+ethanol+NaCl 처리군을 본실험에 사용하였다.

Table 2. 본 실험에 사용된 annealing 처리미분 및 청결미분

미분의 종류	
Annealing 미분	수침 55℃ (Annealing 처리미분) ○ 55℃ 증류수에 3시간 침지(쌀:물= 1: 3)
	수침 25℃ ○ 25℃ 증류수에 3시간 침지(쌀:물= 1: 3)
청결미분	오존수 처리 미분 ○ 오존수에 3시간 침지
	오존수+20%ethanol+10% NaCl ○ 오존수 + ethanol + NaCl에 3시간 침지

3) Annealing 미분 및 청결미분을 이용한 떡의 제조 및 저장

미분(300 gram)의 수분함량에 따라 가수량을 조정(총 45% 수분함량이 되도록)하여 찜기(Tefal 900cl)에 40분간 증자한 후 녹즙기(오스카 만능녹즙기, DA502)를 이용하여 예비실험을 통해 확립한 방법으로 떡을 제조하였으며, 2회 반복(replication) 수행하였다. 제조된 떡은 5℃균과 25℃ 저장균으로 나누어 시간에 따른 관능적, 텍스처 특성(0, 24시간 후) 및 미생물 분석(0~7일)을 수행하였다.



Fig. 2. 녹즙기를 이용한 떡볶기 떡의 제조.

4) 떡의 텍스처 특성

제조된 가래떡은 길이 2.0 cm 크기로 자른 후 Texture analyzer(model TA-XT2, Stable Micro System Ltd., Haslemere, England)를 이용하여 Bourne 등(1978)에 의해 기술된 2 bite compression에 의해 springiness(탄력성), gumminess(겉성), cohesiveness(응집성), adhesiveness(부착성), hardness(경도), chewiness(씹힘성)를 측정하였으며, 조건으로는 plunger diameter 12.5 mm, crosshead speed 10mm/sec., 그리고 2 bite (25%) compression을 사용하였다.

5) 떡의 관능적 특성

가래떡의 관능적 특성분석에 참여한 패널은 떡의 관능검사에 참여할 의사 및 시간적 여유가 있는 15명의 패널로, 모든 패널이 떡의 관능검사에 유 경험 패널이었다. 패널훈련은 일관성 있는 평가가 이루어 질 때 까지 수행하였으며, 관능검사는 3번 반복 실시하였다.

6) 떡의 미생물 분석

Annealing 처리 미분과 청결미분으로 제조한 떡을 각각 5℃와 25℃에 저장하면서 생균수를 측정하였다. 즉, 시료 25 g을 멸균 bag에 넣은 후 9배 volume(w/v)의 멸균수를 넣어 stomaching하여 적당한 농도로 희석한 후 총균수, *Bacillus* group, yeast-like strains 균수를 측정하였다.

7) 통계분석

본 실험은 3번 반복 수행하였으며, 실험군간 차이검증은 SAS(Statistical Analysis System)을 이용하여 분산분석을 실시하였으며, 분산분석결과 실험군간 차이가 있는 특성의 경우, 실험군의 평균값간의 차이수준여부를 결정하기위해 SNK(Student Newman Keul)의 다중비교를 하였다.

다. 고품질 제빵 가공식품의 개발

1) 실험재료

본 실험에 사용한 쌀가루(Table 3)로 건식, 습식 및 반습식 쌀가루를 사용하였다. 건식쌀가루의 제조는 Air Classifying Mill(ACM, 대가파우더시스템)을 사용하였으며, 분쇄실과 연결된 분급기의 rotor speed를 달리함으로써(120, 250, 400 rpm) 입도를 조절하여 제조하였다. 습식제분 쌀가루는 백미를 25℃와 55℃의 온도에서 물에 3시간 동안 침지한 후 수화된 백미를 roll mill(경창기계, 경기도 광주)에 2번 통과시킨 다음(1번째 통과 간극: 0.475 mm, 2번째 통과 간극: 0.106 mm) 열풍건조기를 사용하여 건조하여 제조하였다. 반습식 청결미분의 제조는 무세미 제조장치(라이스텍, 경기도 안성)을 이용하여 원료쌀인 일반 백미에 상온의 알칼리 이온수를 2초간 분사하면서 분무수세한 후 즉시 10초간 원심탈수(1,700 rpm)한 다음 Air

Classifying Mill (ACM, 대가과우더시스템)을 사용하여 제조하였다.

그외 설탕(제일제당, 인천), 탈지우유(서울우유, 서울), 쇼트닝(롯데삼강, 서울), 전분(성수제분, 서울), 분말 바닐라 향(범아식품, 경기도) 베이킹과우더(범아식품, 경기도), 소금(해표, 인천)은 서울 근교의 마켓에서 구입하였다. 메틸셀룰로우스(Dow Chemical, USA)는 유통업체인 서인무역(서울)으로부터 검류(MSC, 서울), 유화제(일신유화, 서울)는 생산회사로부터 제공받아 사용하였다. 본실험에 사용된 계란은 1주일 단위로 한번씩 구입하여 사용하였으며, 물에 의한 실험오차를 줄이기 위해 증류수를 사용하였다.

Table 3. 케익 머핀에 사용된 쌀가루

	쌀가루 종류
1	반습식 120
2	반습식 250
3	반습식 400
4	건식 120
5	건식 250
6	건식 400
7	습식(25℃ 수침)
8	습식(55℃ 수침)

2) 케익 머핀의 제조

김 등(1992)의 연구등을 기초로 예비실험을 통해 확립한 머핀과 케익을 제조할 수 있는 케익 머핀을 만들기 위한 재료비율은 Table 4에 있다. 케익머핀을 만드는 절차는 다음과 같다. 먼저 1) 달걀, 향료, BP를 제외한 모든 재료를 7분간 speed 4에서 mixer(Hobert, USA)로 혼합한다. 2) 달걀을 넣고 3분간 speed 4에서

혼합한 후 향료와 BP를 넣고 3분간 speed 4에서 혼합한다. 3) 기름칠 한 팬(9.5 × 19 × 5 cm, 가로 × 세로 × 높이) 에 300 g 씩 반죽을 담고, 윗불 185℃, 아랫불 190℃에서 25분간 굽는다. 굽기가 끝난 케익 머핀은 상온에서 식힌 후 알루미늄 포일에 포장하여 검사전까지 상온에 저장한다.

Table 4. 케익머핀의 재료 및 비율

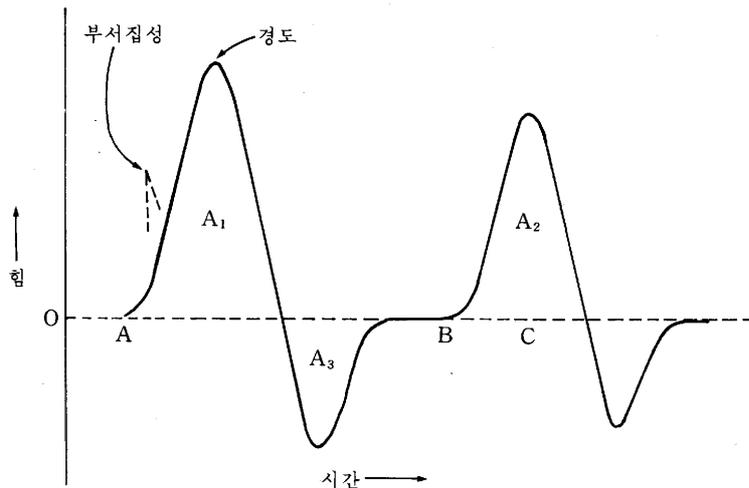
	비율(%)
Sugar	22.11
Salt	0.61
Milk powder	2.56
Rice flour	22.11
Starch	5.53
Shortening	16.58
Water	12.28
Egg	16.58
Flavor(Vanilla)	0.51
Baking powder	0.31
Emulsifier	0.28
Methyl cellulose	0.28
Gums	0.28

3) 케익 머핀 반죽의 pH

케익 머핀 반죽을 반죽과 증류수를 1:1로 희석한 후 pH meter(Corning, USA)를 이용하여 pH를 측정하였다.

4) 기계에 의한 머핀 케익의 텍스처 특성

케익 머핀을 구운 후 상온에 도달할 때까지 방냉하였을 때 무게와 부피를 측정하여 케익 머핀의 밀도를 구하였다. 케익 머핀의 텍스처 특성을 측정하기 위한 시료는 머핀 껍질(crust)를 제외한 crumb을 2.0 × 2.0 × 2.0 cm 크기(가로 × 세로 × 높이)였다. Texture analyzer(model TA-XT2, Stable Micro System Ltd., Haslemere, England)를 이용하여 Bourne 등(1978)에 의해 기술된 2 bite compression에 의해 springiness(탄력성), gumminess(겉성), cohesiveness(응집성), adhesiveness(부착성), hardness(경도), chewiness(씹힘성)를 측정하였다(Fig. 3). 조건으로는 plunger diameter 25 mm, crosshead speed 1.7 mm/sec, 그리고 2 bite (40%) compression을 사용하였다. 실험은 3회 반복 실험하였으며, 매 반복당 5개의 시료를 측정하였다. 텍스처 측정은 케익 머핀을 제조하여 상온에 24시간 저장 후, 그리고 48시간 저장 후 측정하였다.



Cohesiveness : A_2/A_1

Adhesiveness: A_3

Springiness: 눌러진 것이 복원되는 정도

Gumminess: Cohesiveness × Hardness × Springiness

Chewiness: Gumminess × Springiness

Fig. 3. 케익 머핀의 텍스처 프로파일.

5) 케익 머핀의 관능적 묘사분석

본 실험에 사용된 관능검사 방법은 변형된 정량적 묘사분석 방법(Stone and Sidel, 2004)을 사용하였고, 본 검사에 참여한 패널은 12명의 유경험 패널이었으며, 본 실험에 사용된 관능적 묘사특성 정의는 Appendix 1에 있다. 각 관능적 묘사특성은 15 cm 선 척도를 사용하여 강도를 측정하였고, 제시된 시료의 크기는 Texture analyzer에 사용된 동일한 크기의 시료를 사용하였으며 시료 제시 순서는 제시순서에 의한 오차를 최소화하기 위해 랜덤화 하였다. 본 실험은 패널들 간의 상호작용을 최소화 하기위해 칸막이가 설치된 booth에서 수행하였다. 패널들은 한번에 랜덤화된 순서에 의해 한번에 2개의 시료를 평가하였으며, 패널요원들은 시료외에 물컵, 플라스틱 포크가 제공되었다. 케익머핀의 관능적 묘사분석은 상온에 24시간 저장 후, 그리고 48시간 저장 후 수행하였으며, 실험은 3회 반복 실시하였다.



Fig. 4. 훈련된 패널요원에 의한 케익 머핀의 묘사분석.

6) 통계적 분석

자료의 통계적 분석은 SAS를 이용하여 분산분석을 하였으며, 분산분석 결과 쌀가루에 의한 차이가 있는 특성은 SNK 다중비교를 실시하여 각 실험군간 평균값을 비교하였다. 또한 관능적 특성자료와 물리적 특성분석 자료를 요약하기 위해 Unscrambler를 이용하여 주성분분석을 수행하였다.

제 2 절 결과 및 고찰

1. 쌀 오염미생물의 제어기술 개발

가. 산지별 벼의 미생물 위해분석

산지별 벼의 미생물 위해 분석을 위하여 무균적으로 분리된 겨와 현미의 총균수 및 병원성 미생물의 오염도는 Table 5 및 6과 같다. 총균수의 경우는 sample 모두 $10^6 \sim 10^8$ cfu/g 수준으로 높은 오염도를 보였으며, Table 3에서와 같이 *Cl. perfringens*는 검출되지 않았지만 Table 2에서 *Cl. perfringens*는 $10^1 \sim 10^3$ cfu/g 수준을 보였으며 확인결과 5 sample에서 *Cl. perfringens* α -toxin이 생산되는 것을 확인할 수 있었다. Diarrheal gene(enterotoxin)을 가진 *B. cereus* group의 경우 $10^1 \sim 10^3$ cfu/g 수준을 보였으며 대부분이 현미에서보다 겨에서 높은 오염도를 보였다. 이는 국내 논에서의 포자를 형성하는 *Bacillus*가 오염되어 있어 이들이 벼와 쌀로 전이 오염되어 있으며 대부분 겨에서 높은 오염도를 보여 탈부시 전이를 최소화함으로써 *Bacillus* 오염을 감소하리라 사료되었다.

나. 시판 쌀과 현미에서의 미생물 위해분석

시판되는 쌀과 현미의 미생물 위해를 분석한 결과 미생물의 오염도는 Table 7과 같다. Table 7에서와 같이 총균수의 경우는 $10^2 \sim 10^8$ cfu/g 수준을 확인할 수 있었다. 이는 산지별 벼의 미생물 위해 분석 결과에서의 총균수보다 대체적으로 낮은 수준임을 확인할 수 있었지만 sample E의 경우 diarrheal gene(enterotoxin)을 가진 *B. cereus* group이 10^4 cfu/g 수준의 높은 검출을 확인할 수 있었으며 다른 sample의 경우는 $10^1 \sim 10^2$ cfu/g 수준을 나타냈다. *Cl. perfringens*의 경우 산지별 벼와 달리 모든 sample에서 검출되지 않았다.

시판되는 쌀의 미생물 위해를 분석한 결과 미생물의 오염도는 Table 8과 같이 $10^3 \sim 10^4$ cfu/g 수준의 총균수를 확인할 수 있었으며 *B. cereus* group의 경우 2개의 sample에서 $10^1 \sim 10^2$ cfu/g 수준의 검출을 확인하였으며 *Cl. perfringens*의 경우 모든 sample에서 검출되지 않았다.

이상의 결과로부터 벼와 시판되는 쌀과 현미는 상당 수준으로 미생물에 의해 오염되어 있음을 알 수 있었으며, 이들 미생물을 제어하거나 감소시킬 수 있는 적절한 조작을 탈부제조공정 내에 도입하는 것이 필요함을 보여주고 있다.

Table 5. Microbial contamination of brown rice and rice hull

(cfu/g)

Sample NO ^{b)}	Total bacteria		<i>B. cereus</i> group(HBL gene)		<i>Clostridium perfringens</i> (α -toxin)	
	Brown rice	Hull	Brown rice	Hull	Brown rice	Hull
1	5.0×10 ⁷	6.7×10 ⁷	ND ²⁾	3.6×10 ³	ND	ND
2	1.0×10 ⁷	2.2×10 ⁸	ND	3.6×10 ³	ND	1.0×10 ¹
3	3.6×10 ⁷	2.0×10 ⁸	1.0×10 ¹	ND	ND	ND
4	4.5×10 ⁷	4.8×10 ⁸	ND	1.2×10 ⁴	ND	2.0×10 ¹
5	5.2×10 ⁷	4.1×10 ⁸	ND	2.0×10 ¹	ND	ND
6	4.7×10 ⁷	2.3×10 ⁸	ND	1.3×10 ¹	ND	ND
7	7.1×10 ⁷	2.8×10 ⁸	ND	ND	ND	ND
8	5.9×10 ⁷	5.2×10 ⁸	ND	5.0×10 ²	ND	ND
9	1.3×10 ⁸	1.5×10 ⁸	2.0×10 ¹	ND	ND	ND
10	5.0×10 ⁷	1.2×10 ⁷	ND	ND	ND	ND
11	9.0×10 ⁷	1.8×10 ⁸	ND	2.3×10 ¹	ND	1.0×10 ¹
12	6.5×10 ⁷	1.3×10 ⁸	2.0×10 ¹	ND	ND	ND
13	8.0×10 ⁶	2.0×10 ⁷	ND	5.0×10 ¹	ND	ND
14	3.9×10 ⁷	6.0×10 ⁷	ND	1.0×10 ¹	ND	ND
15	2.0×10 ⁷	1.1×10 ⁷	ND	ND	ND	ND
16	2.0×10 ⁷	2.3×10 ⁷	ND	1.5×10 ¹	ND	1.0×10 ¹
17	1.8×10 ⁷	2.8×10 ⁷	ND	5.5×10 ¹	ND	ND
18	1.7×10 ⁷	2.5×10 ⁸	ND	1.0×10 ¹	ND	ND
19	4.9×10 ⁶	3.4×10 ⁸	ND	ND	ND	ND
20	1.2×10 ⁷	3.4×10 ⁷	ND	ND	ND	ND
21	1.8×10 ⁷	2.6×10 ⁷	ND	1.0×10 ¹	ND	ND
22	1.6×10 ⁷	2.5×10 ⁷	ND	1.0×10 ¹	ND	ND
23	1.0×10 ⁷	2.8×10 ⁷	3.0×10 ²	2.8×10 ¹	ND	ND
24	2.6×10 ⁷	3.1×10 ⁷	ND	ND	ND	ND
25	8.0×10 ⁶	5.3×10 ⁷	ND	ND	ND	ND
26	1.3×10 ⁷	5.8×10 ⁷	ND	ND	ND	1.0×10 ¹

- 1) 1.성환 RPC 추청 조선전 수분 21.5%, 2002.10.23
 - 2.성환 RPC 추청 조선전 수분 22.6%, 2002.10.23
 - 3.성환 RPC 추청 조선후 수분 22.6%, 2002.10.23
 - 4.성환 RPC 추청 조선후 수분 19.3%, 2002.10.23
 - 5.성환 RPC 추청 조선전 수분 29.9%, 2002.10.23
 - 6.성환 RPC 추청 조선후 수분 29.9%, 2002.10.23
 - 7.성환 RPC 추청 조선전 수분 19.3%, 2002.10.23
 - 8.성환 RPC 추청 조선후 수분 21.5%, 2002.10.23
 - 9.화성비봉 RPC 추청 조선전 수분 24.4%, 2002.10.15
 - 10.화성비봉 RPC 추청 조선후 수분 24.4%, 2002.10.15
 - 11.화성비봉 RPC 추청 조선전 수분 19.7%, 2002.10.19
 - 12.화성 비봉 RPC 추청 조선전 수분 28%, 2002.10.19
 13. 강원도 농업기술원 표준재배 작화 오대벼
 14. 경기 평택 고덕면 김경남, 추청벼 2002년산 일반 재배
 15. 강원도 농업기술원 표준재배 작화 진미벼
 16. 경기 평택 고덕면 김경남, 추청벼 2002년산 무농약 재배
 17. 경기 안성사 공도읍 윤일기, 2002년산 일반재배 추청벼
 18. 경기 평택 오성면 이한농, 추청벼 2002년산 일반재배 국자 보급소 특등 판정
 19. 강원도 농업기술원 표준재배
 20. 충남 논산시 양촌면 은현태, 2002년산 일풍벼 일반재배
 21. 강원도 농업기술원 표준재배 화성벼
 22. 강원도 농업기술원 표준재배 잘황 일풍벼
 23. 금왕 RPC 1/23 혼합벼 투입벼
 24. 금왕 RPC 1/23 야적된 벼
 25. 금왕 RPC 1/23 평창고 보관
 26. 금왕 RPC 1/23 siro저장
- 2) ND: M/O not-detected.

Table 6. Microbial contamination of brown rice and rice hull

(cfu/g)

Sample NO	Species		<i>B. cereus</i> group(HBL gene)		<i>Cl. perfringens</i>	
	Brown rice	Hull	Brown rice	Hull	Brown rice	Hull
부여규암	2.6×10 ⁶	8.5×10 ⁶	ND	ND	ND	ND
함평학교	1.3×10 ⁷	2.5×10 ⁸	ND	2.0×10 ¹	ND	ND

Table 7. Microbial contamination of milled rice and brown rice in market

(cfu/g)

Sample NO ¹⁾	Species		<i>B. cereus</i> group(HBL gene)	<i>Cl. perfringens</i> (CAMP test)	<i>Cl. perfringens</i> (α-toxin)
	Total bacteria				
A	3.0×10 ²		ND ²⁾	ND	ND
B	7.0×10 ⁵		1.3×10 ²	ND	ND
C	6.0×10 ³		ND	ND	ND
D	4.8×10 ⁵		1.1×10 ²	ND	ND
E	1.0×10 ⁸		3.3×10 ⁴	ND	ND
F	3.9×10 ⁴		5.0×10 ¹	ND	ND
G	1.2×10 ⁶		ND	ND	ND
H	1.2×10 ⁸		1.0×10 ¹	ND	ND
I	7.5×10 ⁴		ND	ND	ND
J	3.7×10 ³		ND	ND	ND

1)

A	씻어나온 쌀		(주)라이텍스 경기도 성남시 분당구 백현동 46-1 (한국식품개발연구원내)	2002년산
B	전환기 유기재배 米 여주쌀		경기도 여주군 홍천면 울곡리 178	2002년산
C	우수여주쌀		경기도 여주군 홍천면 울곡리 178	2002년산
D	여주 오리쌀	여주군 삼교리 312-5생산자: 손부남	여주농협미곡처리장(031) 884-7675	無농약재배
E	쌔싹퓌운 현미	白依千年(주) 경기도 화성군 동탄면 중리 535		
F	미이랑 현미		두보식품(주) 경기도 용인시 수지읍 동천리 426, (031) 262-242 경기도 여주군 점동면 처리 211, (031) 884-2366	2002년산
G	지킴이 현미쌀	군자농협협동조합 충북 괴산군 장연면 오가리 363-1	잡곡가공공장 (043)832-7310	2002년산
H	장세순 발아현미		(주)米力 경기도 여주군 능서면 신지리 771-1 한국농촌경제연구원 벤처농기원창업보육업체	2002년산
I	함박웃음 청결미		수영산업영농조합법인, 전남 무안군 청계면 청수리 58 (061) 454-5315~7	2002년산
J	米다움		제1공장 : 경기도 양촌면 양곡리 김포농협 제2공장 : 경기도 여주군 가남면 태평리 가남농협 제3공장 : 경기도 평택시 안중면 현화리 안중농협 제4공장 : 경기도 고덕면 동청리 송탄농협	2002년산

2) ND: M/O not-detected.

Table 8. Microbial contamination of rice in market

(cfu/g)

Sample NO ¹⁾	Species		
	Total bacteria	<i>B. cereus</i> group(HBL gene)	<i>Cl. perfringens</i>
K	4.1×10 ³	3.0×10 ¹	ND
L	2.4×10 ⁴	ND ²⁾	ND
M	1.2×10 ⁴	ND	ND
N	3.7×10 ⁴	ND	ND
O	1.4×10 ⁴	ND	ND
P	3.2×10 ⁴	2.0×10 ²	ND
Q	5.9×10 ⁴	ND	ND

1)

No.	Name	생산지	판매지	비고
K	새만금	새만금농산 전북 김제시 죽산면 종신리 448-1		2002년산
L	HR玉	해남 해남군 옥천면 영춘리 533-9 (061)532-5638		고시히까리품종 2002년산
M	당진 쌀	당진군 면천면 문봉리 273-3	면천농협	2002년산
N	꿈의 쌀	장성군 상서면 대곡리 815	상서농협 (061)394- 2008	2002년산 우렁농법, 참숯농법
O	함초로미	김제 죽산면 종신리	대창영농조합	2002년산 숯으로 재배한 쌀
P	우렁이 쌀	강원도 철원군 철원읍 화지리		오대품종 무농약인증, 우렁이농법
Q	진미	김천시 덕곡동 1027-1	(주)건양미곡종합처리 장	2002년산 추청벼

2) ND: M/O not-detected.

다. *B. cereus* group 동정 및 toxin gene의 검출

1) *B. cereus* group의 PCR을 이용한 동정

B. cereus group의 선택적 구분을 위해 표준균주 중 *B. cereus*의 *gyrB* gene을 target으로 PCR을 수행한 결과 Fig. 5와 같다.

B. cereus, *B. thuringiensis*의 primer는 *gyrB* gene의 nucleotide sequences에 기초를 두고 합성되었으며, 이 gene은 높은 specific probe target으로 DNA gyrase(topoisomerase type II)의 B subunit protein을 암호화한다.

*B. cereus*는 *gyrB* gene을 target으로 primer인 BC1, BC2r로 PCR을 수행한 결과 *B. cereus* KCCM 40935, *B. cereus* KCCM11773, *B. cereus* KCTC 1094 모두 365 bp의 PCR product를 확인할 수 있었고, *B. thuringiensis* KCTC 1509, *B. thuringiensis* KCTC 3452는 product가 확인되지 않았다. 하지만 *B. thuringiensis* KCCM 11428, *B. thuringiensis subsp. kurstak* KCCM 11429의 경우 또한 *B. cereus*와 같이 365 bp의 PCR product가 확인되었다.

*B. thuringiensis*의 선택적 구별을 위해 표준균주중 *gyrB* gene을 target으로 PCR을 한 결과 Fig. 6과 같다. *B. thuringiensis* primer인 BT1, BT2r로 PCR을 수행한 결과 *B. thuringiensis* KCTC 1509, *B. thuringiensis* KCTC 3452는 368 bp의 PCR product가 확인되었고, *B. cereus* KCCM 40935, *B. cereus* KCCM 11773, *B. cereus* KCTC 1094는 *B. cereus*에서 product가 확인되지 않았다. 하지만 BC1, BC2r로 PCR을 수행시 product를 확인한 *B. thuringiensis* KCCM 11428, *B. thuringiensis subsp. kurstak* KCCM 11429의 경우 PCR product가 확인되지 않았다.

따라서 *B. thuringiensis* KCCM 11428, *B. thuringiensis subsp. kurstak* KCCM 11429 선택적 구분을 위해 모든 *B. cereus* group을 *cryIAb* gene과 *cryIAc* gene을 target으로 PCR한 결과는 Fig. 7과 같다. 곤충의 유충을 치사시키는 능력을 가지고 있는 *B. thuringiensis subsp. kurstak*는 분자량이 약 130 kDa인 단백질로 구성되어 있으며, 아포를 형성할 때 단백질성 결정체로 δ -내독소를 생산하며, 내독소 결정체는 곤충의 유충이 섭취를 하면 중장에서 알칼리성 pH로 인하여 단백질 분해 효소가 활성화되어 살충성의 단백질(insecticidal protein: ICP)로 전환이 되어 곤충을 치사시키는 특성을 이용해서 미생물 살충제로 이용하고 있다.

따라서 이러한 특성을 이용하여 *B. thuringiensis*의 pesticidal *cry* gene을 확인하기 위해 *cry1Ab* gene을 target으로 하는 SB-2, U3-18 primer와 *cryAc* gene을 target으로 하는 RB-19, U8-15 primer를 이용하여 *cry* toxin gene을 확인하기 위해 PCR을 수행한 결과 *B. thuringiensis* KCTC 3452는 SB-2, U3-18 primer에서 858 bp product를 확인하였고, *gyrB* gene을 target gene으로 PCR을 한 결과 구분되지 않았던 *B. thuringiensis* KCCM 11428, *B. thuringiensis* subsp. *kurstac* KCCM 11429 RB-19, U8-15 primer에서 653 bp에서 product가 확인되었다.

*B. mycooides*이 경우 *B. cereus*의 선택적 primer인 BC1, BC2r primer와 *B. thuringiensis*의 선택적 primer인 BT1, BT2r primer에서 product가 확인되지 않았으며, 또한 *cry* toxin gene역시 확인되지 않았다.

식품에서 분리된, *hblA* gene을 갖는 야생형 *B. cereus* group 84개의 균주로부터 선택적 구분을 위해 PCR을 수행한 결과 Fig. 6과 같다. BC1, BC2r primer로 PCR을 수행한 결과 *B. cereus*는 365 bp의 PCR product를 확인할 수 있었고, BC1, BC2r primer로 PCR을 수행한 결과 *B. thuringiensis* 368 bp의 PCR product가 확인되었다. 또한 *B. mycooides*의 경우 BC1, BC2r Primer와 BT1, BT2r primer에서 product가 확인되지 않아 야생형 *B. cereus* group의 선택적 구분을 할 수 있었다.

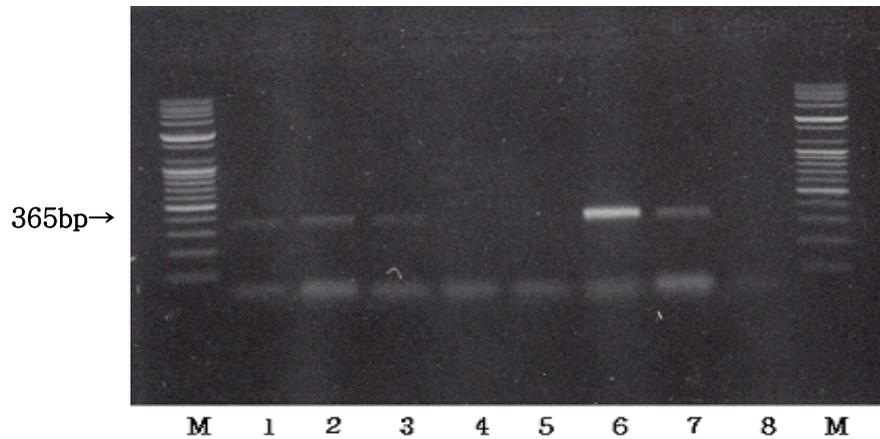


Fig. 5. Agarose gel electrophoresis of *B. cereus* group by PCR with the primers of BC1and BC2r(365bp)

Lane 1, *B. cereus* KCCM 40935; Lane 2, *B. cereus* KCCM11773; Lane 3, *B. cereus* KCTC 1094; Lane 4, *B. thuringiensis* KCTC 1509; Lane 5, *B. thuringiensis* KCTC 3452; Lane 6, *B. thuringiensis* KCCM 11428; Lane 7, *B. thuringiensis subsp. kurstak* KCCM 11429; Lane 8, *B. mycoides* KCTC 3453.

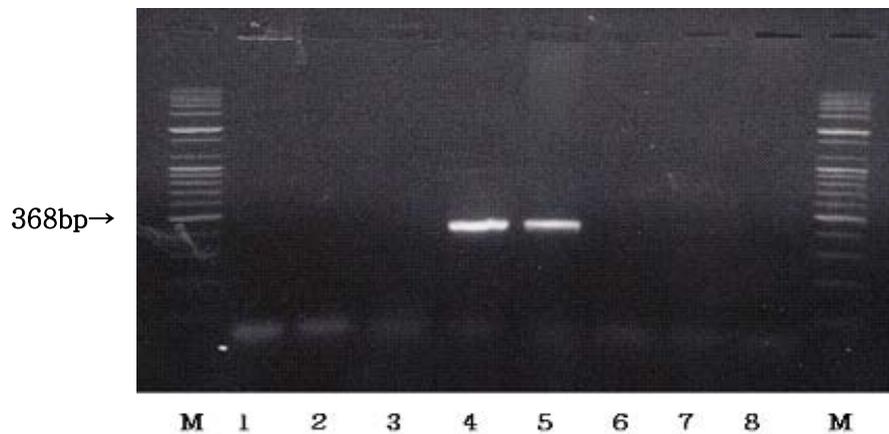


Fig. 6. Agarose gel electrophoresis of *B. cereus* group by PCR with the primers of BT1 and BT2r(368bp)

Lane 1, *B. cereus* KCCM 40935; Lane 2, *B. cereus* KCCM11773; Lane 3, *B. cereus* KCTC 1094; Lane 4, *B. thuringiensis* KCTC 1509; Lane 5, *B. thuringiensis* KCTC 3452; Lane 6, *B. thuringiensis* KCCM 11428; Lane 7, *B. thuringiensis subsp. kurstak* KCCM 11429; Lane 8, *B. mycoides* KCTC 3453.

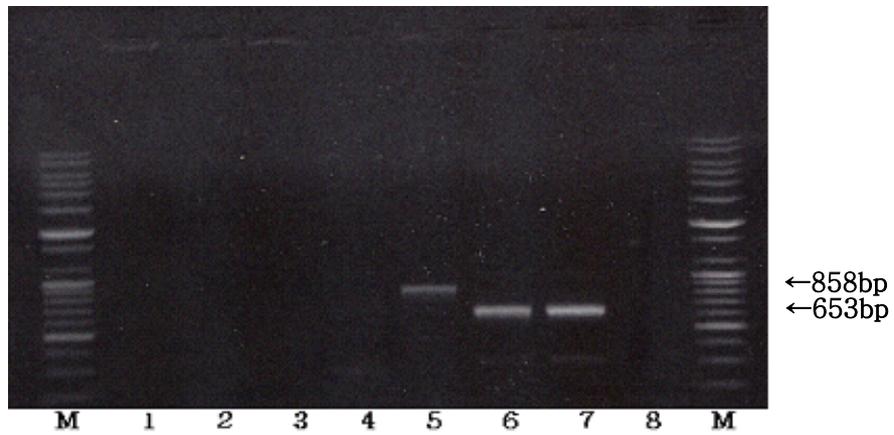


Fig. 7. Agarose gel electrophoresis of *B. cereus* group by PCR with the primers of cryAb(858bp) and cryAc(653bp)

Lane 1, *B. cereus* KCCM 40935; Lane 2, *B. cereus* KCCM11773; Lane 3, *B. cereus* KCTC 1094; Lane 4, *B. thuringiensis* KCTC 1509; Lane 5, *B. thuringiensis* KCTC 3452; Lane 6, *B. thuringiensis* KCCM 11428; Lane 7, *B. thuringiensis* subsp. *kurstak* KCCM 11429; Lane 8, *B. mycoides* KCTC 3453.

2) Hemolysin BL(HBL) gene의 검출

B. cereus, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*의 hemolysin BL gene의 검출을 위해 PCR을 수행한 결과는 Fig. 8과 같다. *B. cereus* F837/76균주로부터 특성화된 HBL은 3개의 protein component를 가지고 있는데 binding component B와 2개의 L₁, L₂ lytic component를 가지고 있다. B component는 *hblA* gene에 의해 암호화되었으며, 이러한 *hblA* gene은 Heinrichs에 의해 clone과 sequence되었다. L₁과 L₂(*hblD*와 *hblC*)의 gene은 Ryan등에 의해 sequence되었다.

Hemolysin BL gene을 target으로 한 HblA1, HblA2 primer는 *B. cereus* group cells의 HBL의 B component에 encoding된 hemolytic enterotoxin binding component gene *hblA* gene을 선택적 검출하도록 설계되었다.

Mäntynen과 Lindström은 장독소를 유발하는 모든 균주에서 PCR을 수행하여 *hblA* gene을 발견하였으며, Hsieh 등은 84개의 균주 중에서 31%가 gene이 발견되었고 Prüß 등은 23개의 균주 중에서 43%가 발견되었다고 보고하였다.

B. cereus group을 *hblA* gene을 target으로 하는 HblA1, HblA2 primer로 PCR 수행하였을 때 8개의 표준균주와 *B. cereus* group 중 *B. cereus* KCCM 11773 균주를 제외한 *B. cereus*와 *B. thuringiensis*, *B. mycoides* 7균주와 식품에서 분리된 균주에서는 모두 873 bp의 산물을 확인할 수 있었다. *hblC* gene을 target으로 하는 HBLC-N/HBLC-C primer로 PCR을 수행하였을 때 *hblA* gene이 나오지 않는 *B. cereus* KCCM 11773균주와 *hblA* gene이 확인된 분리균주 B-28A를 제외한 모든 균주에서 399 bp의 산물을 확인하였다.

hblD gene을 target으로 하는 HBLD-N/HBLD-C primer로 확인한 결과, *hblC* gene과 같이 *B. cereus* KCCM 11773 균주와 분리균주 B-28A를 제외한 모든 균주에서 439 bp의 산물을 확인하였다.

이러한 *hbl* gene은 *B. cereus*의 enterotoxin 존재 여부를 나타내는 것으로 알려져 있으며, 이러한 *hbl* gene이 널리 존재하는 것을 확인하였다.

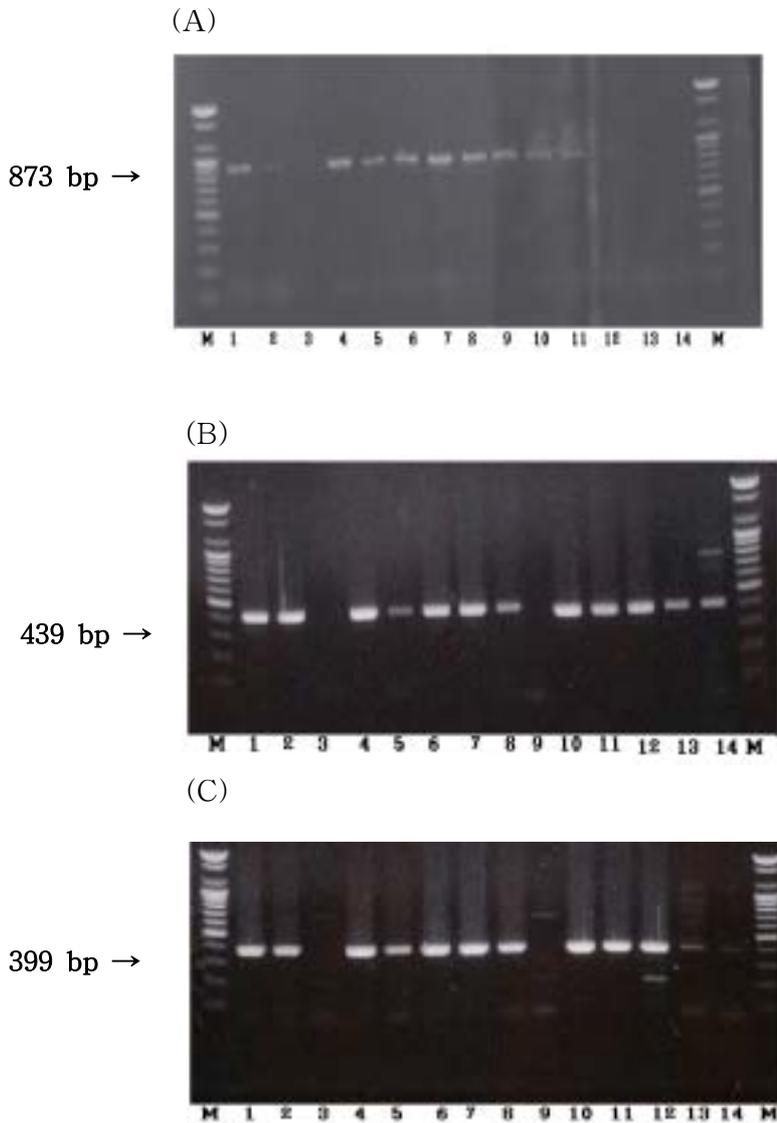


Fig. 8. Agarose gel electrophoresis of *hbl* gene PCR products from *B. cereus* group. (A)*hblC* (B)*hblD* (C)*hblA*

Lane 1, *B. cereus* KCCM 40935; Lane 2, *B.cereus* KCCM 11773; Lane 3, *B. cereus* KCTC 1094; Lane 4, *B. thuringiensis* KCTC 1509; Lane 5, *B. thuringiensis* KCTC 3452; Lane 6, *B. thuringiensis* KCCM 11428; Lane 7, *B. thuringiensis* subsp. *kurstak* KCCM 11429; Lane 8, *B. mycooides* KCTC 3453 ; Lane 9, B-28A (*B. thuringiensis*) ; Lane 10, B-34B (*B. thuringiensis*); Lane 11, B-38B(*B. cereus*) Lane 12, B-50B(*B. cereus*) ; Lane 13, B-59(*B. mycooides*); Lane 14, 11-2(*B. mycooides*).

라. 품질저하 세균의 생리특성 분석 및 생육제어기술 개발

비살균 처리 농산식품 중에 널리 존재하며, 적절한 열처리에도 살아남기 때문에 식중독을 발생시키는 *B. cereus*는 식품의 변패를 일으켜, *B. cereus*를 저감화 할 수 있는 방법을 개발하고자 하였다. 식중독균의 증식억제를 위한 화학적인 방법으로 차아염소산, hydrogen peroxide, potassium sorbate, benzoic acid, propionic acid, citric acid, lactic acid 등 유기산과 NaCl 및 기타 보존제를 단독으로 또는 병용한 실험결과가 많이 보고되고 있다. Fischer 등은 구연산이 삶은 달걀에 세균 번식을 제어하는데 효과적임을 보고하였고, 또한 젖산은 육류의 부패 미생물에 대해서 뛰어난 살균능력을 가지고 있다고 하였다. 현재 국내에서 무균포장밥 등에 사용되고 있는 유기산류를 비롯한 화합물 등에 대한 연구는 어느 정도 이루어졌지만 이들은 관능적으로 좋지 않은 영향을 주고 밥맛을 떨어뜨려 쌀밥 품질의 저하 요인으로 작용하고 있다. 또한 현재 사용하고 있는 식품 보존제(potassium sorbate, butylated hydroxyanisole 등)에 의한 미생물의 생육을 제어하는 방법이 보고되었지만 직접 식용하는 쌀밥에는 적용하기가 어려울 것으로 보인다. 쌀밥 부패미생물의 생육억제를 위하여 녹차의 물 추출물을 사용한 연구와 국내산 약용추출물을 사용하여 이들 *Bacillus* 미생물의 생육제어를 위한 연구가 있지만 아직 초보적인 탐색단계이고 관능적으로 받아들여지면서 산업적으로 활용가능한 물질을 제시하지 못해 보다 적극적인 연구가 요망된다.

Ethanol은 식품의 살포제로서 사용은 불충분하지만 70% ethanol은 표면 살균제로 이용되었고, 과일, 와인, 쌀로 만든 주류와 증류주는 식품조리시 사용되어 왔으며, 이러한 ethanol은 열에 증발되어 식품조리시 쉽게 제거되는 장점을 가지고 있다. 식염은 첨가제로서 식품의 저장성을 향상시키기 위하여 사용되어 왔으며, 식염의 미생물에 대한 번식저해 또는 사멸작용은 탈수작용, 불가역적인 원형질의 분리, 효소활성저해, Cl ion의 독작용, 산소용해도 감소 및 CO₂에 대한 감수성을 높이기 때문인 것으로 알려져 있다. 식염의 보존료로서의 작용은 potassium sorbate를 sodium benzoate와 함께 2%를 첨가 하였을때 *E. Coli*와 *S. typhimurium*에 대하여 생육저해작용이 있음이 보고 되었다. 0.3% potassium sorbate와 3% NaCl의 병용 처리구가 대조구에 비해 유도기간이 12시간 연장되었고, 생균수도 감소되었다고 보고하였다. 오존수는 chlorine과 유사하고 milk biofilm에 있는 미생물의 불활성화에 효과적이라고 보고된 바 있다. Hydrogen peroxide의 *Bacillus* spore에 대한 영

향은 높은 농도에서 radical을 형성하기 때문에 더 효과적이고 *Bacillus* spore의 protoplast, cortex, spore coat는 hydrogen peroxide의 노출정도와 높은 농도, 중성 pH, 높은 온도 살균에 의해 불활성화 된다. 따라서 hydrogen peroxide는 *Bacillus*의 spore에 더욱 효과적이라 사료된다. Ethanol은 NaCl이 첨가되었을때 효소억제와 미생물의 생육억제효과가 증대되므로 NaCl이 첨가된 ethanol은 부패를 방지하고 나아가 식품을 보존하는 다양한 기능을 수행할 수 있으며 이러한 처리제에 의해 목적세균의 생육을 저해 할 수 있다.

1) NaCl에 대한 영향

NaCl를 단독으로 3%(W/V), 5%, 7%, 10%의 농도로 제조하여 식중독 세균을 5분간 처리하여 생육영향을 평가하였다. *B. cereus*, *E. coli*에 대하여 3%, 5%, 7%, 10% NaCl 용액으로 노출처리 하였지만 특별한 생육저해 효과를 관찰할 수가 없었다.

2) 유기산에 대한 영향

Lactic acid를 처리하여 목적세균의 생육을 저해하고자 하였다(Fig. 9). 1% lactic acid 용액에서 살균효과가 나타났기 시작하였고 처리 후 세척하지 않고 생균수를 측정한 것이 효과가 더 컸다. 처리시간은 1% 용액에서 5분정도가 최소한의 조건으로 보였다. 비교실험을 위하여 포자 비생성 균인 *E. coli*와 함께 실험을 병행하였다.

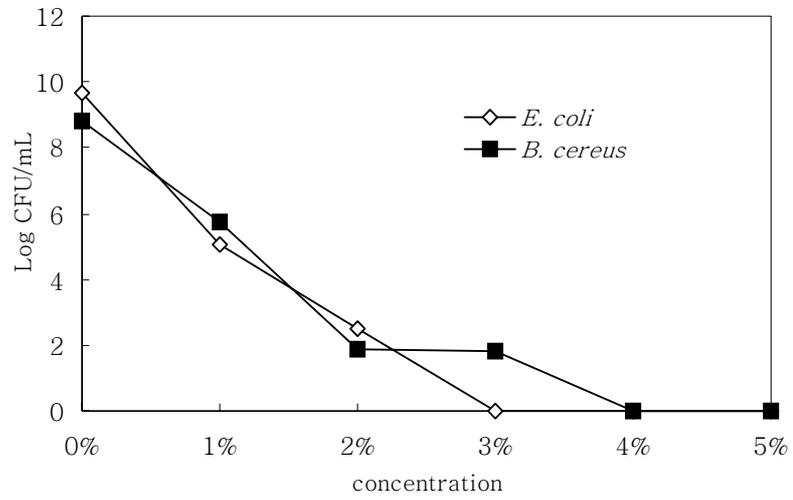


Fig. 9. Inhibitory effects on *B. cereus* and *E. coli* by exposure at different concentrations of lactic acid for 5min.

Acetic acid를 처리하여 목적세균의 생육을 저해하고자 하였다. 2% acetic acid 용액에서 생육저해효과가 나타나기 시작했으나 세균간의 효과에 있어서 차이가 나타났다(Fig. 10).

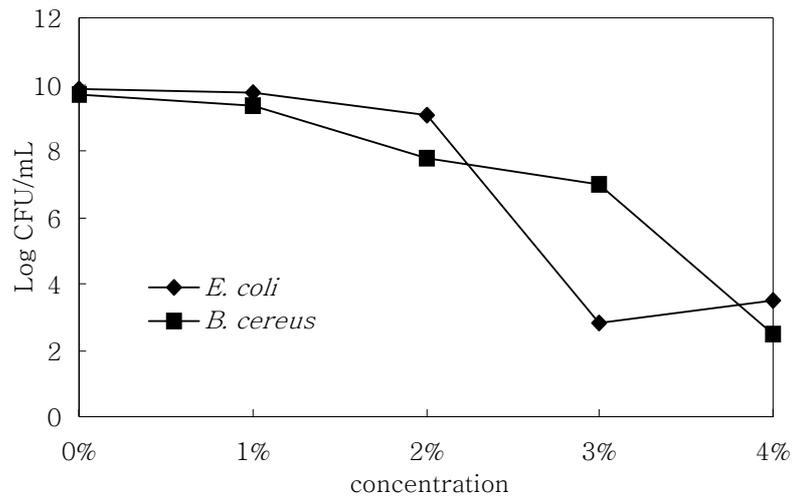


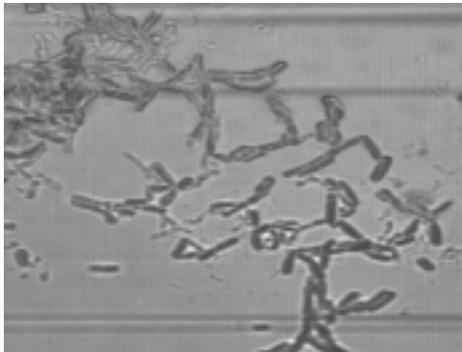
Fig. 10. Inhibitory effects on *B. cereus* and *E. coli* by exposure at different concentrations of acetic acid for 5 min.

3) 포자의 형성 및 발아특성 분석

*B. cereus*의 포자는 nutrient agar에 metal ion(Ca^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+})등을 섞어 배양 후 vegetative cell을 완전히 제거하기 위해 100°C 에서 10분간 heat-shock를 준 결과는 Fig. 11과 같다. *B. cereus*의 포자는 식중독을 유발하는 요인으로서, 강한 표면 부착성질을 가지는데 Husmark는 다른 *Bacillus* 종의 포자보다 소수성이 강하여 표면의 부착할 수 있어 세척하는 동안 *B. cereus*를 제거하기 어려운 점이 있다고 하였으며, Andersson 등은 *B. cereus*포자가 부착에 관여하는 부속사 또는 선모를 가지고 있고, Husmarrk와 Ronner는 *B. cereus*의 낮은 표면 전하 때문이라고 하였다. 이러한 부착 성질은 포자가 정상적인 위생처리에 대해 저항성을 가지게

하여 가공 공정 중에 식품의 오염을 가져올 뿐만 아니라 장의 상피세포와 결합하는데 도움을 주며, 상피세포에 부착한 다음 발아하고 성장하여 enterotoxin을 생산한다.

(A)



(B)

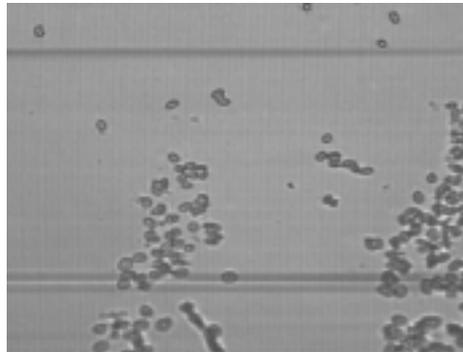


Fig. 11. Difference morphology of vegetative cell and spores of *B. cereus*.
(A) vegetative cell; (B) spore.

*Bacillus*류의 영양세포와 포자는 토양에 광범위하게 분포되어 있다. 토양에는 약 $10^5 \sim 10^6$ /g까지의 포자가 있다고 보고되고 있다. 그리고 열 혹은 방사선조사에 의해 멸균된 경우를 제외하고 거의 모든 가공 및 비가공 식품에서 발견된다. 한국인의 주식인 쌀에도 많은 오염을 보이며 특히 취반과정 중에서도 *Bacillus* 등의 포자 생성균은 살아남게 된다. 이렇게 하여 세균성 식중독균인 *B. cereus*는 식품의 부패를 일으키거나 구토형 및 설사형의 식중독을 일으키는 것으로 알려지고 있다. *Bacillus* 포자는 세척시 생존할 수 있을 뿐 만 아니라 소장의 상피세포에 부착력을 갖게 된다. 쌀을 취반한 후 취반기(밥통)에 보온시의 이취 발생과 이들 원인 미생물을 분리, 동정한 연구 결과, 취반 후 이취의 발생은 고온성 세균의 번식에 의하여 일어나며 이들 균은 *Bacillus* 속의 내열성 아포형성 간균등이며 취반후 포자로부터 germination이 되면서 보온 6시간에는 10^6 cfu/g~까지 생육이 진행된다고 보고되었다. 그러나 이 연구에서는 단지 이취를 발생시키는 것이 내열성 아포 생성 *Bacillus*가 일부 관여하고 있다는 것만 밝혔고 기타의 균과 이를 효과적으로 제거 내지는 저감화 시킬 수 있는 연구가 추가로 이루어지지 않았다. 또한 쌀밥의 가공 유통형태의 하나인 무균 포장밥으로부터 부패미생물을 분리하여 동정 및 전해수를 취반수로 사용한 경우 *Bacillus* 부패미생물의 생육은 저해할 수 있는 것으로 보였으나 밥의 pH가 3.6~4.3의 범위에 있어서 관능적으로 문제가 있는 것으로 보였다. 한편 국외의 경우 스페인에서 102가지의 식품(쌀요리식품 포함)에서 *Bacillus*의 포자를 조사한 결과 82.4%에서 검출되었고 그 중 14.7%는 *B. cereus* 포자였고 쌀 같은 식품에도 광범위하게 오염되어 있다는 보고도 있었다. 영국에서는 쌀밥과 무균포장밥, 볶음밥용밥 등의 미생물학적인 품질을 측정된 연구에 의하면 취반후 직접 섭취하는 경우는 위해성이 적지만 일정기간 저장이 이루어져야 하는 무균포장밥, 볶음밥용밥 등에는 *Bacillus cereus* 식중독 균이 10^4 cfu/g로 존재하는 시료가 약 9%를 보이고 있어 특별한 주의가 요망된다고 하였다.

마. 분리균의 살균 및 불활성화 기술 개발

1) 물리적인 살균기법 효과 실험

오존수의 살균력을 확인하기 위하여 표준균주인 *B. cereus* KCCM 40935와 비교 실험을 위한 *E. coli* O157:H7 932를 TSB(Tryptic Soy Broth)에 선 배양 후 오존수에 1%(V/V) 접종하여 본 결과 Table 9와 같았다. 오존수의 살균력은 포자형성 균인 *B. cereus*와 포자 비형성 균인 *E. coli*를 모두 멸균시키는 수준으로 확인되었다.

Table 9. Inhibitory effects of ozonated water on *B. cereus* and *E. coli* (cfu/mL)

	<i>E. coli</i> O157:H7 932				<i>B. cereus</i> KCCM 40935			
	D.W	Tap water	Ozonated water Vol.5	Ozonated water Vol.10	D.W	Tap water	Ozonated water Vol.5	Ozonated water Vol.10
0min	9.2×10^5	9.2×10^5	9.2×10^5	9.2×10^5	9.0×10^5	9.0×10^5	9.0×10^5	9.0×10^5
30min	9.3×10^5	5.2×10^5	ND ¹⁾	ND	1.9×10^5	2.1×10^4	ND	ND
60min	8.2×10^5	5.8×10^5	ND	ND	1.6×10^5	9.0×10^4	ND	ND
120min	6.3×10^5	4.6×10^5	ND	ND	2.7×10^5	1.7×10^4	ND	ND

¹⁾ ND : Not detected.

오존수를 시료에 직접 처리해 보았으며, 멸균된 비이커에 시료를 넣은 후 5배 volume(W/V)의 오존수를 가하여 시간별로 측정된 결과 Table 10과 같았다. 배양된 표준균주만을 상대로 실험한 결과와는 다르게 살균의 효과가 거의 나타나지 않았다.

Table 10. Inhibitory effects of ozonated water(Vol. 10) soaking on microorganisms of rice samples

(cfu/g)

(A)

		Control	30 min	60 min	90 min
Milled rice	a	1.4×10^5	8.3×10^4	8.2×10^4	1.2×10^5
	b	1.3×10^4	7.5×10^3	9.0×10^3	8.7×10^3
	c	2.9×10^4	2.0×10^4	7.8×10^3	9.0×10^3
	d	3.6×10^4	4.2×10^4	1.8×10^4	2.0×10^4
	e	2.0×10^3	2.3×10^3	9.5×10^2	1.9×10^3
Brown rice	a	7.3×10^6	4.2×10^6	3.0×10^6	1.1×10^6
	b	1.2×10^6	5.8×10^5	7.0×10^5	8.2×10^5
	c	4.6×10^6	2.8×10^6	1.0×10^6	1.2×10^6
	d	5.5×10^6	4.1×10^6	3.3×10^6	5.3×10^6
	e	1.4×10^6	1.4×10^6	9.9×10^5	8.7×10^5

(B)

		Control	30 min	60 min	90 min
Milled rice	a	2.0×10^1	2.0×10^1	ND	1.0×10^1
	b	ND	ND	ND	ND
	c	1.0×10^1	ND	3.0×10^1	1.0×10^1
	d	ND	1.0×10^1	ND	ND
	e	ND	ND	ND	ND
Brown rice	a	1.0×10^1	2.0×10^1	2.0×10^1	ND
	b	4.0×10^1	3.0×10^1	5.0×10^1	4.0×10^1
	c	2.0×10^1	2.0×10^1	ND	ND
	d	6.0×10^1	1.0×10^1	2.0×10^1	4.0×10^1
	e	1.0×10^1	ND	ND	1.0×10^1

(C)

		Control	30 min	60 min	90 min
Milled rice	a	2.1×10^2	7.0×10^1	1.0×10^2	1.1×10^2
	b	1.8×10^2	6.0×10^1	5.0×10^1	6.0×10^1
	c	9.7×10^2	8.2×10^1	2.1×10^2	9.3×10^1
	d	5.0×10^1	2.0×10^1	3.0×10^1	ND
	e	8.0×10^1	2.0×10^1	6.0×10^1	5.0×10^1
Brown rice	a	1.2×10^4	3.2×10^3	5.4×10^3	2.7×10^3
	b	5.0×10^3	7.1×10^2	8.0×10^2	6.4×10^2
	c	6.0×10^3	1.3×10^3	1.1×10^3	3.0×10^3
	d	1.1×10^5	4.5×10^4	8.0×10^4	2.1×10^4
	e	3.0×10^3	6.8×10^2	7.1×10^2	5.8×10^2

A: Total bacteria, B: *Bacillus* group, C: Yeast-like strain

쌀; a:쌀눈OK, b:미사랑인들, c:충북음성쌀, d:경기화성 수라청쌀, e:농협 씻어나온쌀.

현미; a:농협잡곡현미, b:미이랑현미, c:메뚜기잡곡, d:현미쌀 지킴이, e:철원현미.

수용액 상에서 오존수의 반감기가 20분 이내라는 점을 감안해 유수실험을 하였다. 멸균 bag에 시료를 넣은 후 작은 구멍들을 여러 개 뚫어 오존수를 흘려보낸 결과는 Table 11과 같았다. 침지 실험과 마찬가지로 살균의 효과는 거의 보이지 않았다.

Table 11. Inhibitory effects of ozonated water(Vol. 10) flowing on microorganisms of rice samples

(cfu/g)

(A)

		Control	30 min	60 min	90 min
Milled rice	a	1.4×10^5	9.0×10^4	1.2×10^5	8.8×10^4
	b	1.3×10^4	6.2×10^3	3.0×10^3	5.4×10^3
	c	2.9×10^4	8.7×10^3	9.4×10^3	7.6×10^3
	d	3.6×10^4	1.2×10^4	4.0×10^4	9.7×10^3
	e	2.0×10^3	4.0×10^2	5.4×10^2	3.1×10^2
Brown rice	a	7.3×10^6	3.8×10^6	2.0×10^6	1.4×10^6
	b	1.2×10^6	7.9×10^5	8.0×10^5	6.3×10^5
	c	4.6×10^6	4.5×10^6	3.8×10^6	3.3×10^6
	d	5.5×10^6	8.4×10^5	7.6×10^5	9.4×10^5
	e	1.4×10^6	3.0×10^5	6.8×10^5	4.4×10^5

(B)

		Control	30 min	60 min	90 min
Milled rice	a	2.0×10^1	ND	1.0×10^1	ND
	b	ND	ND	ND	1.0×10^1
	c	1.0×10^1	3.0×10^1	4.0×10^1	2.0×10^1
	d	ND	2.0×10^1	1.0×10^1	ND
	e	ND	ND	ND	ND
Brown rice	a	1.0×10^1	4.0×10^1	4.0×10^1	3.0×10^1
	b	4.0×10^1	2.0×10^1	ND	2.0×10^1
	c	2.0×10^1	1.0×10^1	1.0×10^1	2.0×10^1
	d	6.0×10^1	5.0×10^1	ND	2.0×10^1
	e	1.0×10^1	ND	ND	1.0×10^1

(C)

		Control	30 min	60 min	90 min
Milled rice	a	2.1×10^2	1.8×10^2	6.0×10^1	9.0×10^1
	b	1.8×10^2	4.0×10^1	5.0×10^1	3.0×10^1
	c	9.7×10^2	3.2×10^2	4.2×10^2	2.4×10^2
	d	5.0×10^1	8.0×10^1	2.0×10^2	2.0×10^1
	e	8.0×10^1	3.0×10^1	5.0×10^1	4.0×10^1
Brown rice	a	1.2×10^4	6.5×10^3	5.6×10^3	4.2×10^3
	b	5.0×10^3	1.2×10^3	8.0×10^2	9.5×10^2
	c	6.0×10^3	2.0×10^3	1.0×10^3	2.5×10^3
	d	1.1×10^5	8.7×10^3	1.0×10^4	9.4×10^3
	e	3.0×10^3	6.5×10^2	4.5×10^2	8.8×10^2

A: Total bacteria, B: *Bacillus* group, C: Yeast-like strain

쌀: a:쌀눈OK, b:미사랑인들, c:충북음성쌀, d:경기화성 수라청쌀, e:농협 씻어나온쌀.
현미; a:농협잡곡현미, b:미이랑현미, c:메뚜기잡곡, d:현미쌀 지킴이, e:철원현미.

감마선 조사에 따른 곡류 미생물의 사멸 효과를 확인해 보았으며, 곡류의 감마선 허용량 5 kgray 범위 내에서 1, 3, 5 kgray로 각각 시료에 조사하여 총균수와 *Bacillus* group, yeast-like strain으로 나누어 측정 한 결과는 Table 12와 같았다.

Table 12. Effect of gamma irradiation on microbial growth of rice samples
(cfu/g)

(A)

		Control	1 KGy	3 KGy	5 KGy
Milled rice	a	1.4×10^5	1.3×10^3	1.0×10^2	2.0×10^1
	b	1.3×10^4	8.0×10^2	2.0×10^2	ND
	c	2.9×10^4	1.1×10^3	1.0×10^2	ND
	d	3.6×10^4	9.0×10^2	7.0×10^2	ND
	e	2.0×10^3	3.0×10^1	2.0×10^1	1.0×10^1
Brown rice	a	7.3×10^6	1.2×10^5	6.0×10^2	3.0×10^1
	b	1.2×10^6	3.8×10^4	7.0×10^1	ND
	c	4.6×10^6	3.7×10^5	6.0×10^2	ND
	d	5.5×10^6	6.5×10^5	3.9×10^3	1.1×10^3
	e	1.4×10^6	1.7×10^5	2.0×10^2	5.0×10^1

(B)

		Control	1 KGy	3 KGy	5 KGy
Milled rice	a	2.0×10^1	ND	ND	ND
	b	ND	ND	ND	ND
	c	1.0×10^1	ND	ND	ND
	d	ND	ND	ND	ND
	e	ND	ND	ND	ND
Brown rice	a	1.0×10^1	ND	ND	ND
	b	4.0×10^1	ND	ND	ND
	c	2.0×10^1	ND	ND	ND
	d	6.0×10^1	ND	ND	ND
	e	1.0×10^1	ND	ND	ND

(C)

		Control	1 KGy	3 KGy	5 KGy
Milled rice	a	2.1×10^2	1.0×10^1	ND	ND
	b	1.8×10^2	ND	ND	ND
	c	9.7×10^2	ND	ND	ND
	d	5.0×10^1	ND	ND	ND
	e	8.0×10^1	ND	ND	ND
Brown rice	a	1.2×10^4	1.1×10^3	7.2×10^2	7.8×10^2
	b	5.0×10^3	2.1×10^2	2.0×10^2	2.0×10^1
	c	6.0×10^3	2.1×10^3	4.8×10^2	1.1×10^2
	d	1.1×10^5	9.4×10^4	2.2×10^2	9.0×10^1
	e	3.0×10^3	1.1×10^3	7.0×10^2	2.4×10^2

A: Total bacteria, B: *Bacillus* group C: Yeast-like strain

쌀; a:쌀눈OK, b:미사랑인들, c:충북음성쌀, d:경기화성 수라청쌀, e:농협 씻어나온쌀
현미; a:농협잡곡현미, b:미이랑현미, c:메뚜기잡곡, d:현미쌀 지킴이, e:철원현미.

2) 화학 살균처리제의 효과 비교실험

NaOCl을 처리해 보았으며, NaOCl은 살균제로서 넓은 강한 살균력과 표백작용이 있고 알칼리층에서 강하다. *B. cereus*의 경우 NaOCl 농도 800 ppm과 1400 ppm에서 10^7 cfu/mL 수준에서 10^4 cfu/mL 수준으로 약간의 감소를 나타내었다(Fig. 12).

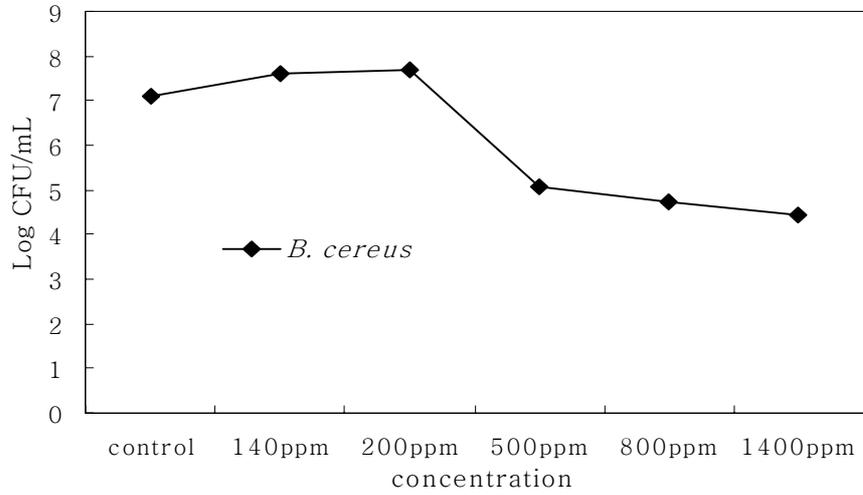


Fig. 12. Inhibitory effects on *B. cereus* according to different concentrations of NaOCl for 10 min.

Ethanol를 처리하여 Fig. 13과 같이 목적세균의 생육을 저해하고자 하였으며, 그 결과 30% ethanol 용액에서 살균효과가 나타났기 시작하였고 처리시간은 30% ethanol 용액에서 5분정도가 최소한의 조건으로 보였다. 20% ethanol 용액에서 5분, 10분, 15분, 30분, 60분 동안 처리한 경우 시간이 경과함에 따라 Fig. 14와 같이 *B. cereus*의 저해효과가 우수한 것으로 나타났다.

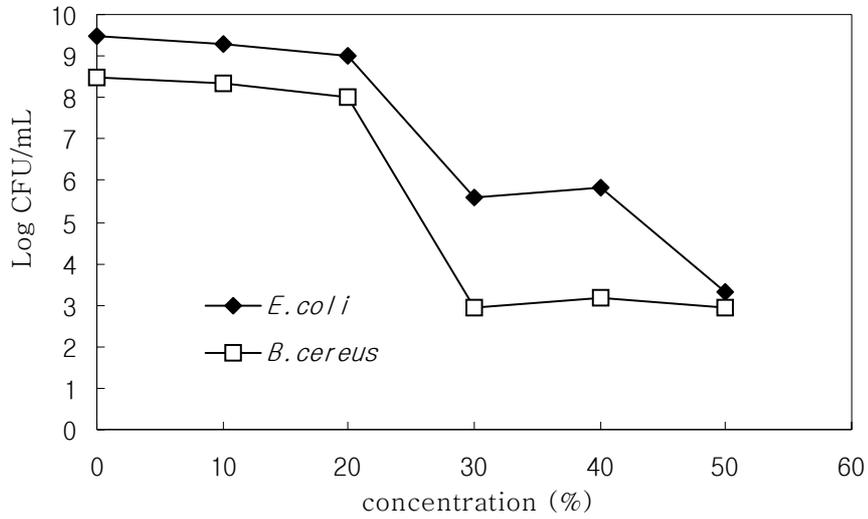


Fig. 13. Inhibitory effects on *B. cereus* and *Escherichia coli* by exposure at different ethanol concentrations for 5 min.

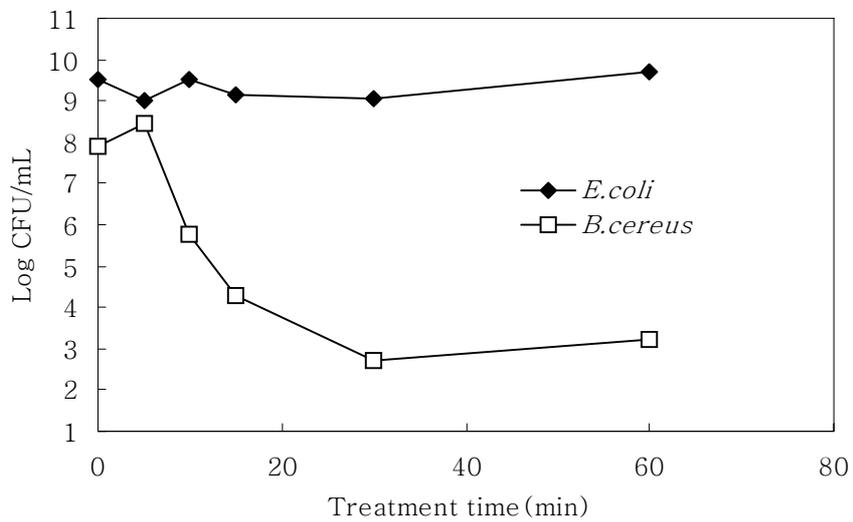


Fig. 14. Growth inhibitory effects on *B. cereus* and *E. coli* by exposure at 20% ethanol solution for 5, 10, 15, 30 and 60 min.

본 실험에서는 단독 처리시 생육저해를 보이지 않는 20% ethanol 용액과 8~10%의 염류가 존재하면 ethanol 농도 20%에서 현저하게 살균이 일어난다는 보고에 따라 3, 5, 7, 10%의 NaCl용액 중 10% NaCl용액을 조합하여 이를 *E. coli* 와 *B. cereus*에 노출 처리하였고, Table 13에서와 같은 결과를 얻었다. 10% NaCl용액 단독 사용시 10분간 처리하였을 때 *E. coli*는 거의 저해되지 않았으나, *B. cereus*의 경우 10^8 cfu/mL에서 10^7 cfu/mL 수준으로 약간 감소하였다.

20% ethanol 용액으로 단독 처리할때 5분간 처리한 경우는 NaCl과 같이 *E. coli*는 거의 저해되지 않았고, *B. cereus*의 경우 10^8 cfu/mL 수준에서 10^7 cfu/mL 수준으로 약간만 감소하는 경향을 보여주었다. 또한 *B. cereus*의 경우 20% ethanol의 단독처리 10분에서 10^4 cfu/mL로 감소한 것으로 나타났다.

20% ethanol과 10% NaCl 혼합물로 10분간 동시 처리할 때에는 *E. coli*의 경우 10^9 cfu/mL에서 10^6 cfu/mL 수준으로 약간의 생육저해 효과가 나타났으나 *B. cereus*는 *E. coli*와 달리 5분 처리시 10^8 에서 10^2 cfu/mL 수준으로 감소하여 생육저해 효과가 뛰어난 것으로 나타났으며, 특히 10분간 처리하였을 경우 완전히 생육이 저해되는 것을 볼 수 있었다. 이러한 결과는 각각의 위생 처리제를 별도로 처리했을 때보다 더 큰 세균 생육저해 synergy 효과를 나타내는 것으로 보였다.

NaCl은 그 자체의 수분활성 저하작용으로 어느 농도 이상으로 되면 미생물의 작용은 저하되지만 ethanol이 첨가되면 보통 세균이 발육하는 농도의 식염에서도 발육을 저지할 수가 있는 것으로 보고되어 있다.

Table 13. Growth inhibitory effects on *B. cereus* and *E. coli* by exposure at 20% ethanol solution in alone or in combination with 10% NaCl for 5 and 10 minutes

(cfu/mL)

Treatments ¹⁾	<i>E. coli</i>		<i>B. cereus</i>	
	5 min	10 min	5 min	10 min
Control	1.8×10 ⁹		2.4×10 ⁸	
20% EtOH	1.5×10 ⁹	1.3×10 ⁹	2.0×10 ⁷	1.6×10 ⁴
10% NaCl	1.5×10 ⁹	1.2×10 ⁹	1.7×10 ⁷	1.7×10 ⁷
20% EtOH+ 10% NaCl	5.0×10 ⁶	2.7×10 ⁶	1.5×10 ²	NG ²⁾

¹⁾ EtOH(ethanol).

²⁾ NG(Non Growth).

Vitamin B₁ 라우릴황산염의 농도와 시간에 따른 저해효과는 Fig. 15와 같다. Vitamin B₁ 라우릴황산염은 치아민라우릴황산염(식품첨가물)으로서 원래 영양강화제로 개발된 것으로, 특기할 만한 성질로 항균성을 가지고 있다. 치아민라우릴황산염은 수온의 상승에 따라 용해도가 높아지며 ethanol과 병용할 경우 항균활성의 상승작용을 기대할 수 있다. *B. cereus*는 10⁶ cfu/mL 수준에서 10² cfu/mL 수준으로 Vitamin B₁ 라우릴황산염의 농도와 시간에 따른 약간의 저해효과를 확인할 수 있었다.

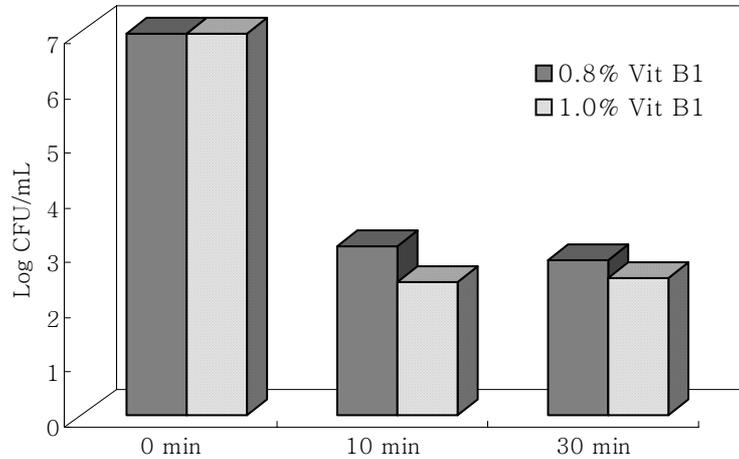


Fig. 15. Inhibitory effects on *B. cereus* according to different concentrations of vitamin B₁ lauryl sulfate and treatment time.

위생처리제를 혼합처리하여 목적세균의 생육을 저해하고자 하였다. 20% ethanol에 sodium hypochlorite, H₂O₂등을 혼합하여 처리한 효과는 synergy 효과가 거의 나타나지 않았지만 acetic acid, lactic acid, NaCl과의 혼합처리에서는 생육저해 synergy 효과를 관찰할 수가 있었다(Figs. 16~18). 특히 20% ethanol과 10% NaCl을 각각의 처리한 경우에는 생육저해 효과가 거의 없었지만 혼합처리하면 생육저해 효과가 나타났다.

Ethanol의 살균작용은 ethanol과 각종 물질을 조합함으로써 강하게 된다. 위와 같은 결과에 따라서 ethanol과 Vitamin B₁ 라우릴황산염 및 오존수의 복합처리 후의 생균수 확인결과는 Table 14, 15와 같다. 따라서 *B. cereus*는 20% ethanol과 0.06% Vit B₁ 라우릴황산염 및 오존수를 10분, 30분간 복합처리 한 결과 10⁷ cfu/mL 수준에서 10³~10² cfu/mL 수준으로 저해되는 것을 확인할 수 있었지만 시간에 따른 저해효과는 확인할 수 없었으며, 또한 20% ethanol과 0.8% Vit B₁ 라우릴황산염을 처리한 경우 10⁷ cfu/mL 수준에서 10¹ cfu/mL 수준으로 저해되는 것을 확인할 수 있었다. 0.8% Vit B₁ 라우릴황산염과 ethanol 및 오존수를 같이 처리한 결과 *B. cereus*가 검출되지 않아 복합처리의 따른 synergy 효과를 확인할 수 있었다.

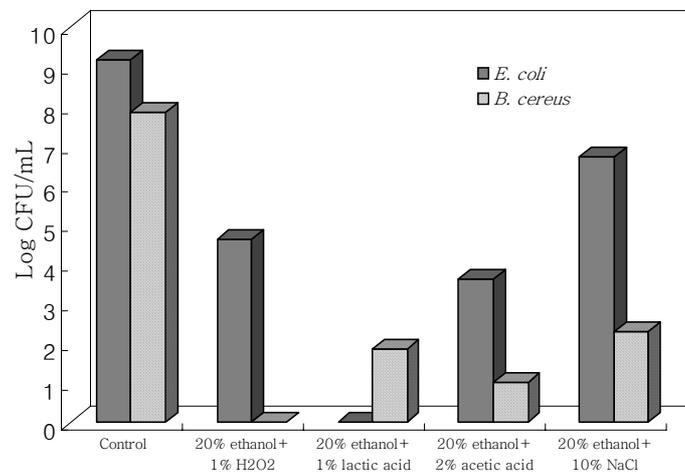


Fig. 16. Inhibitory effects on *B. cereus* by exposure at 20% ethanol solutions with different sanitizing agents for 5 min.

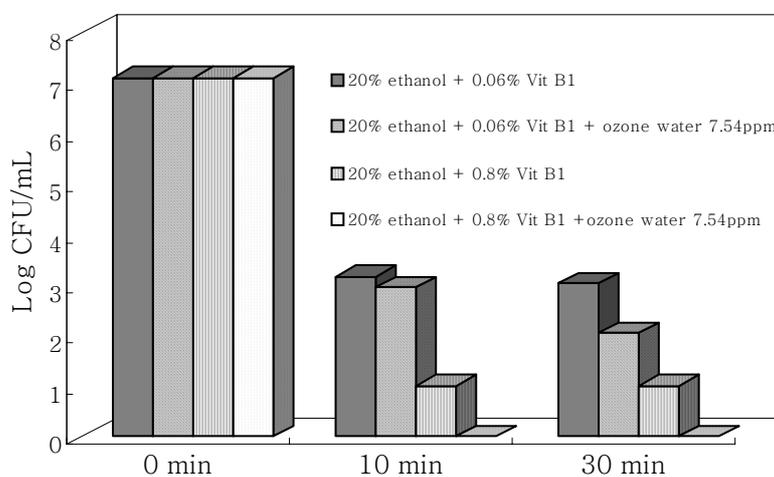


Fig. 17. Inhibitory effects on *B. cereus* according to sanitizing agent combinations for 10 and 20 min.

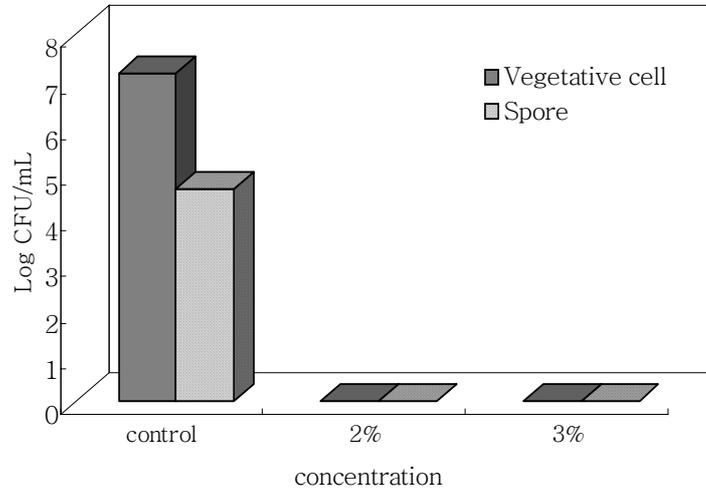


Fig. 18. Inhibitory effects on *B. cereus* vegetative cell and spore according to different concentrations of H_2O_2 for 30 min.

Table 14. Inhibitory effects of ethanol, vitamin B₁ and ozonated water in combination on *B. cereus* and *E. coli*

	(cfu/mL)			
	<i>B. cereus</i>		<i>E. coli</i>	
	1.30×10^7		3.70×10^8	
control	10 min	20 min	10 min	20 min
20% ethanol + 0.06% Vit B ₁	1.50×10^3	1.10×10^3	$<10^1$	$<10^1$
20% ethanol + 0.06% Vit B ₁ + ozone water 7.54 ppm	9.10×10^2	1.10×10^2	$<10^1$	$<10^1$

Table 15. Inhibitory effects of ethanol, vitamin B₁ and ozonated water in combination on *B. cereus* and *E. coli*

(cfu/mL)					
	<i>B. cereus</i>		<i>E. coli</i>		
	1.37×10 ⁷		1.55×10 ⁹		
	10 min	30 min	10 min	30 min	
control					
20% ethanol + 0.8% Vit B ₁	1.00×10 ¹	1.00×10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	
20% ethanol + 0.8% Vit B ₁ +ozone water 7.54 ppm	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	<10 ¹	

바. 미생물 제어기술의 복합최적화

1) 복합처리에 대한 영향

20% ethanol, 1% lactic acid, acetic acid, 10% NaCl을 단독 또는 복합적으로 30 분간 쌀에 직접 처리하여 yeasts-like strain의 생육영향에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 16과 같다. 쌀에 아무처리를 하지 않은 control은 7.8×10^3 cfu/mL 이었고 20% ethanol 단독처리와 1% lactic acid 단독처리한 것은 10^3 cfu/mL 수준으로 생육저해 효과가 없었으며 20% ethanol + 10% NaCl 복합처리 한 것 역시 10^3 cfu/mL로 control 값과 비슷한 수준의 생균수로 조사되었다. 그러나 20% ethanol + 1% lactic acid를 처리 한 것은 1.0×10^1 cfu/mL로 생육이 감소되었고 20% ethanol + 1% acetic acid를 처리 한 것도 10^1 cfu/mL 이하로 생육이 저해 되었다.

Table 16. Effects of sanitizing agents in alone and in combination on the yeast growth of rice

(unit=cfu/mL)

	Yeasts like strain
Control	7.8×10^3
20% ethanol	4.1×10^3
Lactic acid	3.6×10^3
Acetic acid	6.3×10^2
20% ethanol + 1% lactic acid	1.0×10^1
20% ethanol + 1% acetic acid	ND ¹⁾
20% ethanol + 10% NaCl	5.5×10^3

¹⁾ ND : Not detected.

쌀로부터 분리한 균 및 표준균주에 대한 미생물 제어 복합처리를 하여 그 저해 효과를 평가한 결과는 Table 17과 같다. 분리균과 표준균주에 대한 처리제의 효과는 20% ethanol과 유기산의 단독처리보다 복합처리를 했을 때에 그 사멸효과가 높게 나타났다. *Pichia anomala* ATCC8168 과 *Candida tropicalis* ATCC 750, 분리균 2-1은 처리 후 10^1 cfu/mL로 생육저해 되어 배지상에 검출되지 않았으며 분리균 1-1은 2.0×10^1 cfu/mL로 처리제를 사용하지 않은 control값에 비해 현저히 감소하였다.

Table 17. Effects of sanitizing agents in alone and in combination on the growth of isolated and reference yeast strains

(unit=cfu/mL)

	<i>Pichia anomala</i>	<i>Candida tropicalis</i>	Isolated 1-1	Isolated 2-1
Control	4.0×10^6	2.1×10^6	5.8×10^6	8.9×10^5
20% ethanol	3.1×10^6	2.4×10^6	3.0×10^6	2.0×10^6
Lactic acid	5.9×10^5	8.3×10^5	1.8×10^6	6.9×10^5
Acetic acid	3.7×10^5	3.0×10^5	2.1×10^5	3.6×10^5
20% ethanol + 1% lactic acid	ND ¹⁾	ND	2.0×10^1	ND
20% ethanol + 1% acetic acid	ND	ND	ND	ND
20% ethanol + 10% NaCl	7.2×10^5	5.9×10^4	3.4×10^5	2.8×10^4

¹⁾ ND : Not Detected.

2) 복합 처리시 처리시간에 따른 생육저해 효과

쌀에 10배 volume의 처리제에 10, 30, 60분간으로 처리시간을 달리한 후 멸균 식염수에 담아 stomaching 후 PDA와 PCA에 도말한 후 확인한 결과는 다음과 같다. (Table 18, 19)

Table 18. Inhibitory effect of sanitizing agents on total bacteria counts of rice
(unit=cfu/mL)

	10 min	30 min	60 min
Control		6.0×10^3	
20% EtOH +1% A.A	3.1×10^2	2.2×10^2	5.0×10^1
20% EtOH +1% L.A	4.0×10^1	ND ¹⁾	ND

¹⁾ ND: Not Detected.

쌀에 직접 처리한 경우 control의 총균수는 6.0×10^3 cfu/mL이었으며 20% ethanol + 1% acetic acid를 처리한 경우 10분, 30분은 10^2 cfu/ml 수준의 총균수가 관찰되었으며 60분은 10^1 cfu/mL의 균수가 관찰되었다. 20% ethanol +1% lactic acid 를 처리한 경우 10분 처리에서 10^1 cfu/mL로 생육이 저해 되었으며 30분과 60분 처리 시 PCA 배지 내에 균주가 검출되지 않았다.

Table 19. Inhibitory effect of sanitizing agents on yeast-like strains of rice
(unit=cfu/mL)

	10 min	30 min	60 min
Control		3.6×10^2	
20% EtOH +1% A.A	ND ¹⁾	ND	ND
20% EtOH +1% L.A	ND	ND	ND

¹⁾ ND : Not Detected.

쌀에 직접 처리한 각 처리제의 yeast-like strain은 생육저해 용매를 넣지 않은 control 값이 3.6×10^2 cfu/mL이었고 20% ethanol + 1% acetic acid를 처리한 경우 10분, 30분, 60분 모두 도말한 배지 내에 colony가 검출되지 않았다. 총균수는 20% ethanol과 유기산을 복합 처리했을때에 시간이 지남에 따라 사멸률이 더 높게 나타났으며, yeasts-like strain은 10, 30, 60분 모두 10^1 cfu/mL이하로 생육이 저해 되어 배지상에 검출되지 않았다.

3) 복합 처리시 온도에 따른 yeast의 생육저해 효과

처리제 100 mL에 배양액 1 mL 접종 후 각각 상온(21°C)과 50°C에서 30분 후에 YM agar에 도말하여 48시간 배양 한 뒤에 확인하였다 (Table 20).

Table 20. Effects of sanitizing agents and temperature on the growth of isolated and reference yeast strains

(unit=cfu/mL)

	<i>Pichia anomala</i>		<i>Candida tropicalis</i>		Isolated 1-1		Isolated 2-1	
	RT(21°C)	50°C	RT(21°C)	50°C	RT(21°C)	50°C	RT(21°C)	50°C
Control	5.9×10 ⁵		6.8×10 ⁶		2.3×10 ⁶		3.1×10 ⁶	
20% EtOH +1% A.A	ND ¹⁾	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
20% EtOH +1% L.A	ND	ND	ND	ND	1.0×10 ²	ND	3.0×10 ¹	ND

¹⁾ ND : Not Detected.

총균수는 20% ethanol + 1% lactic acid를 처리를 했을 때에 acetic acid를 복합 처리 했을때 보다 사멸률이 높았으며 (Table 16)과 비교했을 때에 yeast like strain은 acetic acid를 처리했을 때에 lactic acid를 처리했을 경우 사멸률이 더 높았다. 또한 (Table 20)의 분리균 1-1과 1-2의 복합 처리시 acetic acid가 사멸률이 높게 나타났으며 50°C에서 저해효과가 보다 큰 것으로 나타났다. 이는 yeast like strain은 latic acid를 처리했을 때보다 acetic acid를 복합 처리했을 경우 효과가 조금 더 높게 나타나며 yeast-like strain 이외의 호기성 균주는 lactic acid로 인해 저해가 된 것이 원인으로 생각되었다.

4) 복합 처리시 ethanol 농도에 따른 yeast 생육저해 효과

1% 유기산과 ethanol 농도별 표준균주 및 분리균의 생육 저해 효과를 알아보기 위하여 처리제 100 mL가 유기산 1%와 ethanol 5, 10, 15, 20%이 포함되도록 한 후 균주 1 mL(1%)를 접종하여 10분, 30분 처리 후 배지에 도말하여 계수하였다 (Table 21, 22).

Ethanol 농도에 따라 10분 처리를 하였을 경우 *Candida tropicalis* ATCC 750는 1% acetic acid와 20% ethanol 10분 처리에서 9.0×10^1 cfu/mL 균체가 감소하였고 1% lactic acid와 20% ethanol 처리하였을 경우 배지상에 검출되지 않았다. *Pichia anomala* ATCC 8168는 1% acetic acid와 20% ethanol 처리시 검출되지 않았으며 1% lactic acid와 20% ethanol 10분 처리에서 2.0×10^1 cfu/mL로 균체가 감소하였다. 분리균 1-1은 유기산과 15% ethanol 처리시까지 $10^{4.6}$ cfu/mL 수준의 균체가 생존하여 생육효과가 거의 없으나 유기산과 20% ethanol 처리시 불검출 또는 10^1 cfu/mL 수준의 균체가 검출되어 10분 처리를 했을 경우는 유기산과 20% ethanol에서 생육 저해 효과를 나타내는 것을 알 수 있었다.

Table 21. Inhibitory effect of ethanol treatment(10 min) with different concentrations on yeast growth

(unit=cfu/ml)

		Control	5% EtOH	10% EtOH	15% EtOH	20% EtOH
<i>Candida tropicalis</i>	1% Acetic acid	3.2×10^6	1.6×10^5	6.4×10^4	8.1×10^3	9.0×10^1
	1% Lactic acid	3.2×10^6	1.8×10^5	9.0×10^4	6.8×10^3	ND ¹⁾
<i>Pichia anomala</i>	1% Acetic acid	3.3×10^6	4.6×10^5	8.8×10^3	3.0×10^3	ND
	1% Lactic acid	3.3×10^6	3.1×10^5	1.6×10^5	2.7×10^4	2.0×10^1
Isolated 1-1	1% Acetic acid	4.9×10^6	2.6×10^5	1.4×10^5	2.9×10^3	ND
	1% Lactic acid	4.9×10^6	4.3×10^5	3.2×10^5	4.3×10^4	5.0×10^1
Isolated 2-1	1% Acetic acid	7.0×10^6	2.0×10^5	4.6×10^4	2.0×10^3	ND
	1% Lactic acid	7.0×10^6	6.8×10^5	1.6×10^5	4.1×10^3	ND

¹⁾ ND : Not Detected.

30분 처리시 *Candida tropicalis* ATCC 750는 control의 3.2×10^6 cfu/mL에서 5%, 10% ethanol 처리시 10^4 cfu/mL로 균수가 감소하였고 15% ethanol로 처리 했을 때에 1.2×10^2 cfu/mL로 생육이 저해되었으며 20% ethanol에서는 검출되지 않았다. *Pichia anomala* ATCC8168는 1% acetic acid와 5% ethanol을 처리하였을 경우와 1% acetic acid와 10% ethanol을 30분 처리하였을 경우 control의 10^6 cfu/mL에서 10^4 cfu/mL로 균수가 감소하였다. 1% acetic acid와 15% ethanol을 처리한 것은 10^2 cfu/mL, 20% ethanol 처리한 것은 10^1 cfu/mL 이하로 생육이 크게 저해되었다.

또한 분리균 1-1은 1% acetic acid와 5%, 10% ethanol 처리시 균체가 10^1 cfu/mL씩 차츰 감소하다가 15% ethanol에서 10^1 cfu/mL 이하로 생육이 저해되었다. 1% lactic acid를 첨가한 경우는 15% ethanol의 농도까지 $10^{5.6}$ cfu/mL 수준으로 생육하다가 1% lactic acid와 20% ethanol을 처리하였을 때에 균체가 검출되지 않았다. Ethanol의 농도가 높을수록 사멸률이 높았으며 5분 처리 시 20% ethanol에서 10^1 cfu/mL 이하로 측정되었고 10분 처리 하였을 때 15% ethanol부터 10^1 cfu/mL 이하로 생육이 저해되었다.

Table 22. Inhibitory effect of ethanol treatment(30 min) with different concentrations on yeast growth

(unit=cfu/mL)

		Control	5% EtOH	10% EtOH	15% EtOH	20% EtOH
<i>Candida tropicalis</i>	1% Acetic acid	3.2×10^6	7.1×10^4	3.1×10^4	1.2×10^2	ND ¹⁾
	1% Lactic acid	3.2×10^6	8.3×10^4	2.2×10^4	ND	ND
<i>Pichia anomala</i>	1% Acetic acid	3.3×10^6	5.0×10^4	7.1×10^4	3.9×10^2	ND
	1% Lactic acid	3.3×10^6	3.1×10^5	5.0×10^4	3.0×10^1	ND
Isolated 1-1	1% Acetic acid	4.9×10^6	1.1×10^5	2.3×10^4	ND	ND
	1% Lactic acid	4.9×10^6	3.5×10^5	1.7×10^5	6.4×10^3	ND
Isolated 2-1	1% Acetic acid	7.0×10^6	6.8×10^4	6.3×10^3	1.0×10^1	ND
	1% Lactic acid	7.0×10^6	1.1×10^5	5.4×10^4	1.0×10^4	2.0×10^1

¹⁾ ND : Not Detected.

5) Ethanol과 농도별 유기산 처리시 yeast 생육저해 효과

Ethanol 10%와 유기산 1, 3, 5%가 되도록 100 mL 처리제를 만든 뒤 균주 1 mL(1%)를 접종하여 10분, 30분 후에 도말하여 계수한 결과는 Table 23, 24와 같다.

Table 23. Effect of organic acid treatment(10 min) with different concentrations on yeast growth

(unit=cfu/mL)

		Control	1%	3%	5%
<i>Candida tropicalis</i>	Acetic acid	4.5×10^6	1.2×10^5	1.0×10^1	ND ¹⁾
	Lactic acid	4.5×10^6	7.1×10^4	1.4×10^3	ND
<i>Pichia anomala</i>	Acetic acid	2.8×10^6	4.3×10^4	ND	ND
	Lactic acid	2.8×10^6	2.6×10^5	4.0×10^2	1.0×10^1
Isolated 1-1	Acetic acid	3.6×10^6	1.8×10^5	ND	ND
	Lactic acid	3.6×10^6	4.1×10^5	4.1×10^4	8.2×10^2
Isolated 2-1	Acetic acid	3.1×10^6	4.5×10^5	3.0×10^1	ND
	Lactic acid	3.1×10^6	7.8×10^4	4.5×10^2	3.0×10^1

¹⁾ ND : Not Detected.

Table 24. Effect of organic acid treatment(30 min) with different concentrations on yeast growth

(unit=cfu/mL)

		Control	1%	3%	5%
<i>Candida tropicalis</i>	Acetic acid	4.5×10^6	1.4×10^4	ND ¹⁾	ND
	Lactic acid	4.5×10^6	3.0×10^4	1.0×10^1	ND
<i>Pichia anomala</i>	Acetic acid	2.8×10^6	8.0×10^3	ND	ND
	Lactic acid	2.8×10^6	3.8×10^4	5.2×10^2	7.0×10^1
Isolated 1-1	Acetic acid	3.6×10^6	4.1×10^4	ND	ND
	Lactic acid	3.6×10^6	2.2×10^5	2.6×10^3	1.6×10^2
Isolated 2-1	Acetic acid	3.1×10^6	6.8×10^4	ND	ND
	Lactic acid	3.1×10^6	3.2×10^5	2.8×10^2	ND

¹⁾ ND : Not Detected.

Ethanol과 유기산 처리시 유기산의 농도가 높을수록 생육저해 효과가 높게 나타났으며 10분 처리 보다 30분 처리하였을 때 생육저해 효과가 높았다. 10분 처리하였을 때는 acetic acid를 3%로 실험하였을 때 *Pichia anomala* ATCC8168와 분리균 1-1이 10^1 cfu/mL 이하로 검출되지 않았다. Acetic acid 5% 처리시 사용한 표준균주와 분리균주 모두 검출되지 않았다. 또한 30분 수행하였을 경우 3% acetic acid를 사용하였을 경우는 표준균주와 분리균주 모두 배지상에 검출되지 않았으며 3% lactic acid를 처리하여 살균제를 처리하지 않은 control값에 비해 $10^{4\sim5}$ cfu/mL 정도로 생육을 저해하였다.

6) Ethanol과 농도별 유기산 처리시 쌀 미생물의 생육저해 효과

Ethanol 10%와 유기산 1, 3, 5%가 되도록 200 mL의 살균제를 만든 후 20 g의 시료를 넣은 뒤 2시간이 경과한 후 관찰한 결과는 Table 25, 26과 같다. 처리제 대신 멸균수를 넣은 control 값은 1.1×10^4 cfu/mL 이었으며 10% ethanol과 1% acetic acid 처리한 것은 7.0×10^1 cfu/mL이었고 3, 5% acetic acid 역시 10^1 cfu/mL의 균수가 관찰되었다. 쌀의 일반 세균수는 acetic acid인 경우 1% 처리했을 때에도 10^1 cfu/mL 수준으로 생육 저해효과를 나타냈으며 lactic acid인 경우 $10^3 \sim 10^2$ cfu/mL 수준으로 저해되었다. 그리고 10% ethanol과 lactic acid를 처리한 것은 1%, 3%일 때에 10^6 cfu/mL 수준의 균수로 균체가 증가하였으며 10% ethanol과 5% lactic acid를 첨가한 것은 1.4×10^2 cfu/mL로 균수가 감소되었다.

Table 25. Effect of 10% ethanol in combination of organic acid with different concentrations on total bacteria count

(unit=cfu/mL)

	Control	1%	3%	5%
10% EtOH + Acetic acid	1.1×10^4	7.0×10^1	6.0×10^1	1.0×10^1
10% EtOH + Lactic acid	1.1×10^4	8.0×10^3	4.2×10^3	1.4×10^2

유기산 처리시 yeast-like strain은 처리제 대신 멸균 식염수를 넣은 control 값이 1.3×10^2 cfu/mL이었으며 1, 3, 5%에서 배지상에 균체가 검출되지 않았다.

Table 26. Effect of 10% ethanol in combination of organic acid with different concentrations on yeast-like strain

(unit=cfu/mL)

	Control	1%	3%	5%
10% EtOH + Acetic acid	1.3×10^2	ND	ND	ND
10% EtOH + Lactic acid	1.3×10^2	ND	ND	ND

7) Ethanol과 NaCl 복합처리시 미생물의 생육저해 효과

최종농도가 20% ethanol, 10% NaCl가 되도록 200 mL 용액을 만든 뒤 쌀 시료 20 g을 넣고 상온(21°C)과 50°C에서 각각 2시간 방치 한 후 stomaching 하여 배지에 도말 후 관찰한 결과는 Table 27과 같다.

Table 27. Inhibitory effect of 20% ethanol and 10% NaCl on the microorganisms of rice

(unit=cfu/mL)

	Control	21°C	50°C
Total bacteria	4.9×10^4	2.6×10^2	1.5×10^2
Yeast-like strains	1.6×10^4	ND ¹⁾	ND

¹⁾ ND : Not Detected.

일반 세균은 처리제 대신 멸균 식염수를 37℃ 처리한 control 값이 4.9×10^4 cfu/mL이었으며 20% ethanol과 10% NaCl 처리한 것은 21℃에서 2.6×10^2 cfu/mL, 50℃에서 1.5×10^2 cfu/mL로 관찰되었다. Yeast-like strain은 control 값이 1.6×10^4 cfu/mL, 그리고 21℃와 50℃에서는 균체가 관찰되지 않았다.

그러므로 온도에 따른 차이는 없었으며 일반세균인 경우 처리제를 넣지 않은 control 값에 비하여 10^2 cfu/mL 정도 감소하였으며 yeast-like strain인 경우 20% ethanol과 10% NaCl 처리시 21℃와 50℃에서 생육 저해효과가 있는 것으로 보인다.

최종농도가 20% ethanol, 10% NaCl가 되도록 100 mL 용액을 만든 뒤 균주 1 mL(1%)를 접종하여 상온(21℃)와 50℃에서 각각 2시간 방치 한 후 10분, 30분 후에 배지에 도말하여 후 관찰한 결과 Table 28과 같다.

Table 28. Inhibitory effect of 20% ethanol and 10% NaCl on the growth of isolated and reference yeast strains

(unit=cfu/mL)

		Control	10분	30분
<i>Candida tropicalis</i>	21℃	5.8×10^5	5.0×10^1	ND
	50℃	5.8×10^5	ND	ND
<i>Pichia anomala</i>	21℃	3.6×10^6	3.0×10^1	ND
	50℃	3.6×10^6	ND	ND
Isolated 1-1	21℃	2.8×10^6	ND	ND
	50℃	2.8×10^6	ND	ND
Isolated 2-1	21℃	8.0×10^5	1.8×10^2	ND
	50℃	8.0×10^5	ND	ND

Candida tropicalis ATCC 750은 21℃, 50℃에서 5.8×10^5 cfu/mL의 균수가 관찰되었으며 10분에 21℃에서 5.0×10^1 cfu/mL로 균체가 줄어들었다. 그리고 50℃에서

는 10분에서 검출되지 않았다. *Pichia anomala* ATCC8168는 21℃, 50℃에서 3.6×10^6 cfu/mL이었으며 21℃, 10분에 3.0×10^1 cfu/mL로 균체가 줄어들었다. 그리고 50℃에서는 10분간 처리하였을 경우 검출되지 않았다.

분리균 1-1은 control이 2.8×10^6 cfu/mL이었으며 10분과 30분은 10^1 cfu/mL 이하로 균체가 배지상에 검출되지 않았으며 분리균 2-1은 control이 8.0×10^5 cfu/mL이었으며 21℃에서 10분 처리 하였을 때에 1.8×10^2 cfu/mL 이하로 감소하였다. 50℃에서 10분 처리하였던 것은 관찰되지 않았다. 그리고 분리균과 표준균주 모두 20% ethanol과 10% NaCl을 30분 처리하였을 때에 배지상에 균체가 관찰되지 않았다.

20% ethanol과 10% NaCl로 만든 용액을 10분간 처리하였을 경우 21℃에서 $10^1 \sim 10^2$ cfu/mL로 생육이 저해되었다. 50℃에서 처리한 것은 검출되지 않았다. Yeast에 20% ethanol과 10% NaCl처리는 50℃에서 1.5×10^2 cfu/mL로 관찰되었던 일반세균에 비해 21℃보다 50℃에서 생육 저해 효과가 높았으며 30분 처리하면 10^1 cfu/mL 이하로 생육을 저해할 수 있었다.

2. 청결미분 가공기술의 개발

가. 쌀가루의 기능성 향상 기술

1) 쌀의 제분 및 어닐링처리기술

쌀을 가공원료로 이용하기 위해서는 분말화시켜 쌀가루로 만들어야 하는 경우가 많으며 쌀가공식품이 다양화됨에 따라 쌀가루를 주 원료로 하는 새로운 가공제품의 개발과 함께 쌀가루의 연구분야에 관심이 높아지고 있다. 쌀가루 제조시 쌀의 품종에 따른 전분의 특성차이 이외에도 제분기의 종류 및 제분방법 등이 쌀가루의 기능성에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있다.

쌀가루는 쌀을 물에 침지하는 과정을 거친 후 분쇄하는 습식제분 방법이나 쌀을 그대로 분쇄하는 건식제분 방법에 의해 제조되고 있다. 습식제분의 경우에는 침지 과정에 따른 과정에서 쌀곡립 성분과 수분과의 상호작용에 따라 쌀가루의 입자크기, 손상전분, 호화양상 등이 건식제분과 다른 것으로 보고되었다. 대부분의 상업용 쌀가루는 건식제분으로 생산되는데 건식제분한 쌀가루는 손상전분의 함량이 높아 떡류의 가공에는 어려움이 있어 떡이나 과자류 등의 전통식품의 제조시에는 습식제분에 의한 쌀가루를 사용한다. 쌀의 수침과정중 수침시간 또는 수침온도는 쌀가루와 전분의 이화학적 및 호화 특성에 영향을 주는 것으로 보고되었다.

쌀 전분은 물리적 변성에 의해 기능성이 달라질 수 있으며 전분의 물리적 변성을 유도하기 위한 방법인 annealing은 충분한 수분의 존재하에 호화온도 이하에서 일정시간 처리하였을 때 일어나는 현상으로 전분내에 결정성 영역의 결합력을 변화시키는 역할을 한다. 옥수수의 습식제분시 43~57℃의 준호화온도에서 침지할 경우 알곡의 생전분 입자의 부분적인 annealing을 유발시켰으며, 장기간 보관한 쌀을 annealing 처리하였을 때 쌀의 호화특성이 개선되었다는 연구가 보고된 바 있다. 쌀가공제품의 제조시 전처리과정으로 물에 침지하는 과정을 거친 후 제분하는 습식제분의 경우 보통 실온에서 이루어지며 최적 수침온도, 시간 등 수침조건에 대하여 연구된 바 있다. 그러나 쌀을 호화온도 이전까지 상승시킨 온도에서 수침처리하여 쌀 전분의 특성을 조사한 바는 없는 실정이다. 본 실험에서는 쌀가루의 가공성을 변화시키기 위한 방안으로 쌀을 실온 이상으로 상승된 온도(40, 50, 60℃)에서 수침처리하여 제분한 후 이로부터 분리한 전분의 물리화학적 특성 변화를 조사

하였다.

쌀가루 제조시 제분방법은 쌀가루의 기능성에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며 쌀을 건식제분과 어닐링처리후 습식제분 처리한 후 분리된 전분의 특성을 비교한 결과(Table 29), 호화온도, pasting 점도, 팽윤력, 용해성 등 전분의 특성에서 약간의 차이를 보여주었다.

Table 29. Properties of rice starch isolated from dry and wet-milled rice

	Dry milling	Wet milling
Color		
L	97.36	98.90
a	-0.09	0.02
b	0.39	0.34
Mean granule size (μm)	5.53	5.62
Pasting temp. ($^{\circ}\text{C}$)	71.4	72.4
Peak viscosity (RVA)	261.3	238.1
Swelling power (at 50°C)	1.16	1.89
Solubility (at 50°C)	0.30	0.73

2) 어닐링처리 쌀가루의 전분 기능성

Annealing은 충분한 수분의 존재하에 호화온도 이하에서 장시간 처리하였을 때 일어나는 현상으로 전분내에 결정성 영역과 무정형영역의 결합력을 변화시키는 역할을 하며, 본 연구에서는 쌀 형태를 유지한 채로 annealing 처리 방법으로 쌀 전분을 변성시켜 쌀 전분의 물리화학적 특성변화를 조사하였다. 본 실험에서는 쌀가루의 가공성을 변화시키기 위한 방안으로 쌀을 실온 이상으로 상승된 온도(40, 50, 60°C)에서 수침처리하여 제분한 후 이로부터 분리한 전분의 물리화학적 특성 변화를 조사하였다.

가) Annealing 수침처리한 쌀 전분의 일반성분

40~60℃의 상승된 온도에서 수침처리한 백미로부터 분리한 전분의 일반성분을 분석한 결과는 Table 30과 같다. 수분, 단백질 및 회분 함량은 9.59~10.55%, 0.15~0.22%, 0.17~0.23% 범위로 처리구간 별 차이를 보이지 않았으나 지방 함량은 50℃와 60℃의 수침 처리구에서 낮게 나타났다.

Table 30. Proximate composition¹⁾ of starches separated from milled rices steeped at elevated temperatures

(%, dry basis)

Steeping temp.	Moisture	Crude protein ²⁾	Crude fat	Ash
Control ³⁾	9.59	0.20	0.33	0.23
40℃	10.49	0.15	0.42	0.23
50℃	10.55	0.18	0.04	0.17
60℃	10.43	0.22	0.03	0.18

¹⁾Values are means of triplicate analyses.

²⁾Nitrogen × 5.95.

³⁾Without steeping.

나) Annealing 수침처리한 쌀 전분의 색, 형태 및 크기

40~60℃에서 수침처리한 쌀로부터 분리한 전분의 색도를 수침처리하지 않은 대조구 전분과 비교한 결과 명도는 약간 감소하였으나 거의 차이가 없었고, 적색도와 황색도를 나타내는 a와 b값은 약간 높은 것으로 나타났다(Table 31). 쌀 전분의 표면구조를 주사전자현미경으로 관찰한 결과는 Fig. 19와 같다. 쌀 전분 입자는 다각형의 형태를 보여주었으며 일부 입자의 표면이 납작해지거나 움푹 들어간 모양을 관찰할 수 있었으며 이는 전분추출시 전분에 붙어 있던 단백질체가 떨어

어저나간 흔적으로 알려져 있다. 쌀 전분의 평균 입자크기는 수침하지 않은 대조구 쌀의 6.3 μm 에서 40, 50, 60 $^{\circ}\text{C}$ 에서 2시간 수침 처리함에 따라 각각 5.5, 5.4, 5.9 μm 로 다소 감소하는 경향을 나타내었다. 이는 수침이 진행됨에 따라 작은 전분 입자의 빠져 나오는 추출량이 증가하기 때문으로 판단되었다.

쌀 전분은 배유 전분세포에서 커다란 복합 전분입자로 형성되며 각각의 전분입자들이 축적되어 원형 또는 타원형의 다양한 크기의 전분복합체(compound starch granule)를 형성한다. 전분복합체의 분포양상은 배유 중앙부위 전분세포에서는 전분입자가 완전히 성숙되어 채워져 있으나, 호분층과 인접한 바깥부위에서는 전분복합체가 성글게 형성되어 있으며 전분입자의 크기도 배유 중앙부위 세포에 있는 전분입자가 바깥부위에 있는 세포의 입자보다 약 2배 정도 크게 성숙되어 있는 것으로 관찰한 바 있다. 이는 40~60 $^{\circ}\text{C}$ 에서 쌀의 수침처리가 전분 분리시에 크기가 상대적으로 작은 바깥부위의 전분입자 추출을 다소 용이하게 한 것으로 사료되었다.

Table 31. Color and mean granule size of starches separated from milled rices steeped at elevated temperatures

Steeping temp.	Color values			Mean granule size ¹⁾ (μm)
	L	a	b	
Control ²⁾	99.84	-0.02	0.24	6.26 \pm 0.09
40 $^{\circ}\text{C}$	99.18	0.00	0.35	5.49 \pm 0.02
50 $^{\circ}\text{C}$	98.33	0.02	0.38	5.44 \pm 0.09
60 $^{\circ}\text{C}$	99.19	0.05	0.30	5.94 \pm 0.02

¹⁾Values are means of triplicate analyses.

²⁾Without steeping.

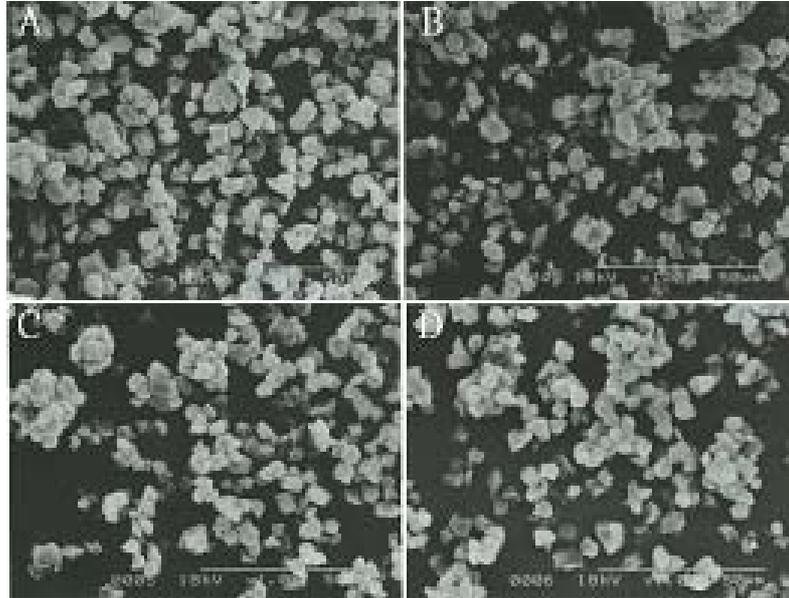


Fig. 19. Scanning electron micrographs(SEM) of starches separated from milled rices steeped at elevated temperatures. Before steeping(A) and steeped at 40(B), 50(C), and 60°C(D), respectively.

다) Annealing 수침처리한 쌀 전분의 팽윤력과 용해도

Annealing 수침처리한 쌀전분의 팽윤력과 용해도를 30~90°C에서 측정한 결과는 Table 32와 같다. 쌀 전분의 팽윤력과 용해도는 측정온도가 상승함에 따라 증가하였다. 전분을 물과 함께 가열하면 전분입자가 팽윤되고 구성성분이 용출되는데 이는 측정온도 및 전분의 종류에 영향을 받는다. 수침처리하지 않은 쌀 전분의 팽윤력은 50°C까지는 완만히 증가하였으며 그 이후로 급속히 증가하여 70°C와 90°C에서는 높은 팽윤력을 보여주었다. 이는 쌀 전분의 팽윤력이 50~60°C 이후부터 크게 증가하며 80°C 이후부터는 완만히 증가한다는 결과와 유사하게 나타났다. 온도가 증가함에 따라 팽윤력이 증가하는 것은 가열 온도의 상승에 따라 입자 내의 분자간 결합이 약해지기 때문이며 전분 입자 내의 결합 강도가 강할수록 팽윤이 강하게 억제된다고 하였다. Leach 등은 온도에 따른 팽윤양상이 전분립 내부의 전

분 분자의 회합정도에 따라 다르며 전분립 내의 결합력이 강하면 팽윤력이 강하게 저항한다고 하였다. Wong과 Lelivere는 입자 크기가 작을수록 팽윤력이 크고 비슷한 크기에서는 입자내의 결정성이 클수록 팽윤력이 낮다고 보고하였다. 한편 본 실험에 사용한 메성 쌀의 전분은 보고된 찰성 쌀 전분에 비해 팽윤력이 낮게 측정되었으며, 이는 전분의 팽윤력이 주로 amylopectin에 의해 기인하기 때문으로 판단되었다.

40, 50, 60°C에서 수침처리한 쌀로부터 분리한 전분의 팽윤력과 용해도는 대조구 쌀 전분에서 보다 높게 나타나는 경향을 보여주었다. 40°C에서 수침한 쌀 전분의 팽윤력과 용해도가 가장 높았으며 그 이상의 처리온도에서는 일부 다소 감소하는 경향이 있었지만 대조구 전분보다는 높게 나타나 annealing을 유발할 수 있는 상승된 수침온도가 쌀 전분의 팽윤력과 용해도에 영향을 주는 것으로 나타났다.

Table 32. Swelling power and solubility of starches separated from milled rices steeped at elevated temperatures¹⁾

Steeping temp.	Swelling power (g/g)				Solubility (%)			
	30°C	50°C	70°C	90°C	30°C	50°C	70°C	90°C
Control ²⁾	1.16±0.09	1.21±0.16	6.61±0.84	12.83±2.92	0.15±0.08	0.17±0.00	2.55±0.78	6.09±1.92
40°C	1.70±0.31	1.88±0.26	7.41±0.32	13.81±3.14	0.55±0.01	0.76±0.01	3.06±0.73	7.85±3.26
50°C	1.51±0.23	1.70±0.00	6.80±0.01	12.27±3.51	0.43±0.07	0.52±0.06	2.24±0.75	6.69±2.16
60°C	1.70±0.29	1.81±0.10	7.22±0.48	12.69±3.47	0.65±0.04	0.86±0.01	2.46±0.84	7.27±2.18

¹⁾Means of three replicates ± standard deviation.

²⁾Without steeping.

라) Annealing 수침처리한 쌀 전분의 DSC 특성

Differential Scanning Calorimetry(DSC)에 의해 전분의 열특성을 측정할 수 있으며 수침처리한 쌀 전분의 DSC 측정 결과는 Table 33과 같다. 쌀 전분의 DSC thermogram은 2개의 peak를 보여주었으며 첫 번째 peak는 호화상전이 현상을 나타내는 것이며 두 번째 peak는 아밀로오스와 지질 복합체가 용해되는 현상으로 나타났다. 수침처리하지 않은 쌀 전분의 첫 번째 peak는 호화 peak로서 호화개시온도, 호화정점온도는 각각 60.21°C, 68.33°C였으며 호화엔탈피는 11.83 J/g 이었는데 이는 Jacobs 등의 결과와 유사하였다. 두 번째 peak는 93°C 부근에서 일어났는데 이는 아밀로오스와 지질 복합체가 용해되는 peak로서 90~120°C에서 나타난다는 결과와 일치하였으며 처리구간에는 거의 차이가 없는 것으로 나타났다.

40°C와 50°C에서 수침처리한 쌀 전분의 호화개시온도와 호화정점온도는 대조구 쌀 전분에 비해 약간 낮아졌으며 호화엔탈피는 약간 증가하였다. 그러나 60°C 수침온도에서 처리한 쌀 전분의 호화개시온도와 호화정점온도가 다시 약간 높아지는 경향이었으며 호화엔탈피에서는 별 차이를 보이지 않았다. 호화에 필요한 엔탈피는 습식제분에 의한 쌀가루가 건식제분에 의해 얻은 쌀가루에 비해 높았으며 호화엔탈피가 낮은 쌀가루일수록 전분의 결정구조가 더 많이 파괴된 것으로 보고되었다. 한편 40~60°C 온도에서 수침처리한 쌀 전분은 호화온도범위인 peak의 폭이 대조구 쌀 전분에 비해 다소 좁아졌다. 전분은 annealing에 의해 호화 endotherm의 온도가 증가하고 호화온도범위가 좁아지며 호화엔탈피가 증가하거나 변화가 없다고 보고한 결과와 비교할때 40°C와 50°C에서 수침처리한 쌀 보다 60°C에서 수침처리한 쌀에서 전분의 부분적인 annealing 효과가 나타난 것으로 판단되었다.

Table 33. DSC thermal properties of starches separated from milled rices steeped at elevated temperatures

Steeping temp.	First peak ¹⁾			Second peak ¹⁾		
	T ₀	T _p	ΔH ₁ (J/g)	T ₀	T _p	ΔH ₂ (J/g)
Control ²⁾	60.21±0.13 ³⁾	68.33±0.37	11.83±0.68	93.53±0.02	93.95±0.02	0.04±0.01
40°C	59.87±0.45	66.30±0.58	12.80±0.52	93.51±0.00	93.95±0.02	0.06±0.00
50°C	57.01±0.14	64.68±0.01	12.84±0.48	93.52±0.01	93.95±0.01	0.06±0.01
60°C	61.63±0.16	68.64±0.03	11.16±0.69	93.55±0.03	93.94±0.03	0.04±0.01

¹⁾T₀ and T_p = onset and peak temperatures (°C). ΔH₁ = enthalpy of gelatinization. ΔH₂ = enthalpy of melting.

²⁾Without steeping.

³⁾Mean±standard deviation.

마) Annealing 수침처리한 쌀 전분의 RVA 특성

신속점도측정기(Rapid Visco-Analyzer)에 의해 수침처리한 쌀 전분의 호화양상을 측정된 결과는 Table 34와 같다. 40, 50, 60°C에서 수침처리한 쌀 전분의 호화개시온도는 각각 71.0, 72.4, 73.8°C로서 대조구 쌀 전분의 71.6°C에 비해 40°C 수침을 제외하고 약간 증가하였으며 이는 수침처리에 의해 호화개시온도는 늦어진다는 결과와 유사하였다.

수침처리하지 않은 쌀 전분에 비해 40°C 수침처리한 쌀 전분은 최고점도가 증가하였고 breakdown이 증가하였으며 50°C 최종점도가 대조구와 비슷하여 setback은 약간 감소하였다. 그러나 50°C와 60°C에서 수침처리한 쌀의 전분은 최고점도가 감소하였고 trough 점도가 증가하여 breakdown이 감소하였으며 최종점도는 증가하여 setback이 증가하는 것으로 나타났다. 최고점도와 95°C에서 2.5분후의 점도인 trough와의 차이 즉 breakdown 점도는 전분 paste의 전단에 대한 안정성을 나타

내 주는 지표이며, 전분 paste의 전단에 대한 저항성의 증가는 전분입자의 annealing에 기인한 점도의 변화 때문인 것으로 판단되었다. 따라서 본 실험 결과 50°C와 60°C의 상승된 온도에서 수침처리한 쌀 전분은 RVA 최고점도, trough, breakdown, 최종점도, setback에 차이를 보여 생전분의 호화 양상에 변화를 유발시키는 것으로 나타났다.

Table 34. RVA pasting properties of starches separated from milled rices steeped at elevated temperatures

Steeping temp.	Onset temp. (°C)	Viscosity (RVU) ¹⁾				
		Peak	Trough	Breakdown	Final	Setback
Control ²⁾	71.6±1.0 ^{b 3)}	239.4±1.0 ^b	139.0±2.8 ^b	100.5±3.0 ^b	263.0±3.4 ^c	23.5±3.4 ^c
40°C	71.0±0.9 ^b	248.5±0.5 ^a	138.8±1.3 ^b	109.8±1.3 ^a	261.3±2.1 ^c	12.7±2.0 ^d
50°C	72.4±1.0 ^{ab}	237.0±0.8 ^c	151.7±6.2 ^a	85.3±5.5 ^c	276.0±5.1 ^b	39.1±4.4 ^b
60°C	73.8±0.4 ^a	228.7±0.3 ^d	156.5±2.1 ^a	72.2±2.0 ^d	293.7±1.6 ^a	65.0±1.4 ^a

¹⁾Trough = minimum viscosity after the peak, breakdown = peak viscosity minus trough viscosity, setback = final viscosity minus peak viscosity.

²⁾Without steeping.

³⁾Means of three replicates ± standard deviation. Means with different letters within the same column are significantly different ($\alpha = 0.05$) using Duncan's multiple range test.

3) 재고미의 어닐링처리 효과

Annealing 처리는 전분결정성 영역의 변화로 정의되며 전분의 이화학적 특성을 영향을 미친다. Yamamoto와 Shirakawa에 의하면 장기간 보관한 쌀을 annealing 처리하였을 경우 쌀의 호화특성이 개선되었다는 연구보고가 있다. 본 실험에서는 3년 동안 보관한 재고미에 annealing 수침처리한 후 전분을 분리하여 이화학적 특성을 조사하였다.

가) 재고미 쌀 전분의 화학조성

40~60℃의 상승된 온도에서 수침처리한 재고미로부터 분리한 전분의 일반성분을 분석한 결과는 Table 35와 같다. 수침처리하지 않은 대조구 전분은 0.15% 단백질, 0.01% 지방, 0.19%의 회분 함량을 주었다. 수침처리한 재고미 쌀로부터 분리한 전분의 일반성분은 대조구 전분과 대체로 유사한 수치를 보여주었다. 단백질, 지방, 회분함량은 각각 0.13~0.15%, 0.01~0.09%, 그리고 0.07~0.15%의 범위에 있었다. 수침처리한 재고미로부터 분리한 쌀전분의 아밀로오스 함량은 대조구 전분에 비해 약간 높았다. 재고미 전분의 아밀로오스 함량은 40~60℃ 수침처리에 따라 27.07%에서 28.04~28.60%로 약간 증가하였다.

Table 35. Proximate composition (%)¹⁾ of starches separated from stored milled rices steeped at different temperatures

Steeping temp.	Moisture	Protein	Lipid	Ash	Amylose
Control	9.77	0.15	0.01	0.19	27.07
40℃	10.43	0.13	0.01	0.12	28.40
50℃	10.53	0.13	0.05	0.15	28.60
60℃	11.33	0.15	0.02	0.07	28.04

¹⁾Values are means of triplicate analyses.

²⁾Nitrogen × 5.95.

나) 재고미 쌀 전분의 색, 형태 및 크기

40~60°C의 상승된 온도에서 수침처리한 재고미로부터 분리한 전분은 대조구 전분 보다 명도 (L값)이 약간 높게 나타났다(Table 36). 수침처리한 재고미 전분은 적색도(a값)와 황색도(b값)가 낮았다. 쌀전분은 다각형의 각진 모양을 하고 있으며 전분의 입자 크기에는 차이가 크지 않은 것으로 관찰되었다(Fig. 20). 쌀전분 입자는 부드러운 표면에 일부 움푹들어간 흔적을 보여주었으며 이는 수침이나 습식제분시 단백질체가 떨어져 나간 흔적으로 관찰하였다. 쌀 전분은 곡류 전분중에서 가장 입자크기가 작은 2~10 μm의 범위로 평균입자크기가 6.4 μm로 가장 작은 것으로 보고한 바 있다. 상승된 수침온도는 Table 36에 나타낸 바와 같이 쌀전분의 평균 입자크기에 영향을 주는 것으로 나타났다. 수침처리하지 않은 대조구 재고미는 평균 입자크기가 5.15 μm 였으며, 40~60°C에서 수침처리한 재고미의 전분 입자크기는 6.02~6.27 μm로 증가하였다.

Table 36. Color, water absorption index(WAI), water solubility index(WSI), and mean granule size of old rice starch annealed at different conditions

Steeping temp.	Color			WAI	WSI	Mean granule size (μm)
	L	a	b			
Control	99.06	0.22	0.77	2.17	0.88	5.15
40°C	99.08	0.06	0.35	2.45	0.53	6.02
50°C	99.12	0.05	0.39	2.49	0.53	6.06
60°C	99.26	0.07	0.49	2.49	0.36	6.27

^DValues are means of triplicate analyses.

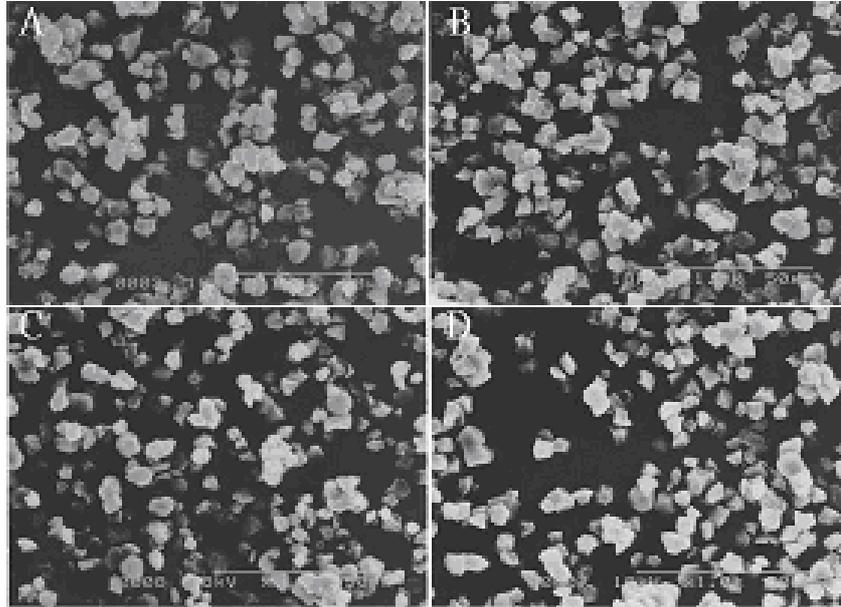


Fig. 20. Scanning electron micrographs (SEM) of starches separated from stored milled rices steeped at different temperatures.
 A, before steeping B, steeped at 40°C for 2 hr C, steeped at 50°C D, steeped at 60°C

다) 재고미 쌀 전분의 팽윤력과 용해도

대조구 재고미와 수침처리한 재고미로부터 분리한 전분은 팽윤력과 용해도는 Fig. 21과 22에 나타나 있다. 쌀전분의 팽윤력은 측정온도가 30~90°C로 증가함에 따라 증가하였다. 30°C와 50°C의 측정온도에서는 수침처리한 재고미 전분의 팽윤력이 대조구 전분보다 약간 높았다. 팽윤력은 50°C에서 급격하게 증가하기 시작하였는데 이는 측정온도가 호화온도에 접근함에 따른 팽윤력의 증가를 의미하였다. 그러나 70°C 이상의 측정온도에서는 수침처리한 전분이 대조구 보다 팽윤력의 증가가 낮아졌다.

재고미 쌀전분의 용해도 역시 측정온도가 높아짐에 따라 증가하였다. 대조구 전분의 용해도는 측정온도 50°C와 70°C 사이에서 증가하기 시작하여 70°C와 90°C에

이러러 큰 증가 폭을 보여주었다. 본 실험의 결과는 Lii 의 연구결과와 유사하게 나타났다. 팽윤력의 패턴과 유사하게, 수침온도가 증가함에 따라(40~60℃) 전분의 용해성은 70℃ 이상의 측정온도에서 증가폭이 덜 한 것으로 나타났다.

전분의 팽윤력과 용해성 측정은 전분 입자내의 분자의 배열을 알고자할 때 사용되어져 왔다. 전분 분자가 수분내에서 가열될 때 결정성 구조는 붕괴되고 수분 분자가 수소결합에 의해 전분의 아밀로오스와 아밀로펙틴과 결합하게 되어 전분 입자의 팽윤과 용해성을 증가시킨다. 곡류 전분의 팽윤과 용해성은 부분적으로 아밀로펙틴의 분자구조, 전분의 구성 (아밀로오스와 아밀로펙틴의 비율, 인의 함량), 그리고 입자의 구조 (결정성과 무정형의 비율) 등에 의해 영향을 받는 것으로 보고되었다.

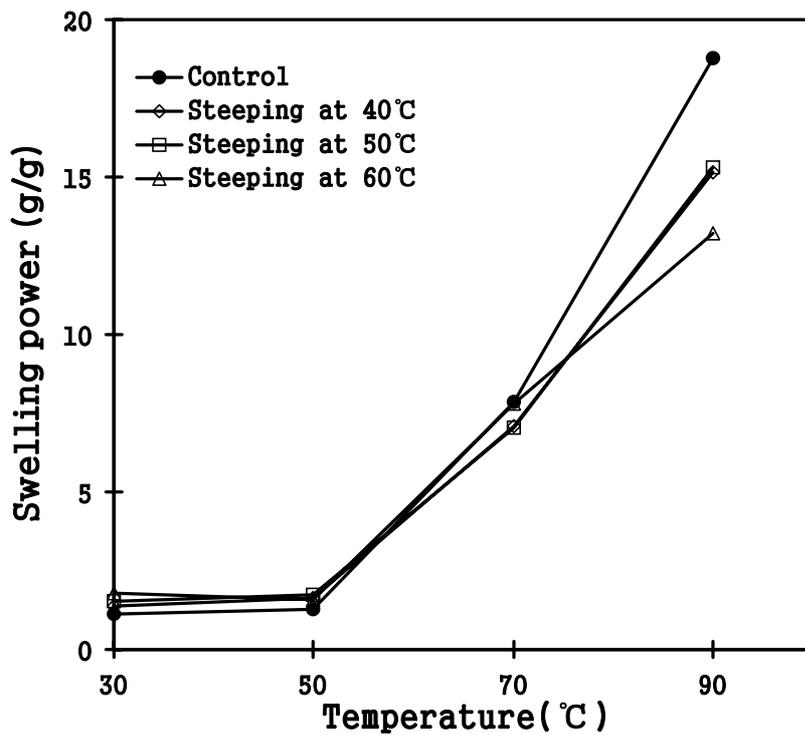


Fig. 21. Swelling power of starches separated from stored milled rices steeped at different temperatures.

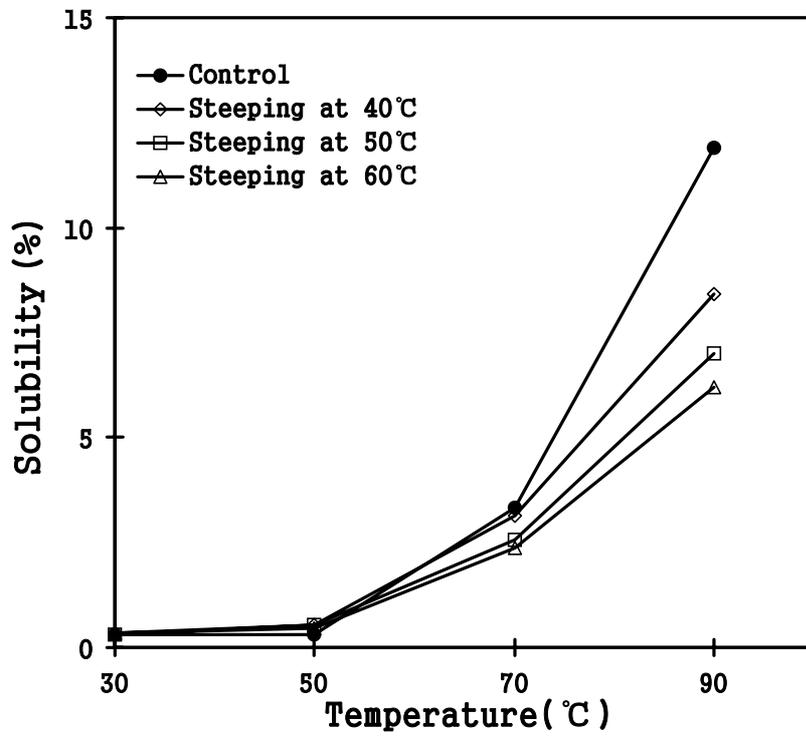


Fig. 22. Solubility of starches separated from stored milled rices steeped at different temperatures.

라) 재고미 쌀 전분의 DSC 특성

수침처리에 따른 재고미 쌀 전분의 열적 특성을 분석한 결과는 Table 37과 같다. 대조구 재고미 전분의 DSC 특성을 분석한 결과 호화개시온도는 60.4℃ 였으며 호화정점온도는 67.8℃로 나타났다. DSC 호화개시온도와 호화정점온도는 40℃와 50℃의 수침온도에서 감소하는 경향을 보였다. 40℃와 50℃에서 수침한 재고미 전분은 수침처리하지 않은 대조구 전분에 비해 약간 호화피크의 폭이 넓고 호화엔탈피가 낮은 것으로 나타났다. 그러나 60℃에서 수침처리한 재고미의 전분은 호화피크의 폭이 약간 좁은 것으로 관찰되었다. 호화피크의 온도범위가 좁아지는 것은 아마 반결정성 전분 고분자의 어닐링에 기인하는 것으로 고찰한 바 있다. 호화온도범위가 좁아지고 호화정점온도가 증가와 함께 호화온도가 좁아지는 현상은 쌀전분 구조의 부분적인 변화를 제시해주며 이는 재고미를 60℃에서 수침한 경우 수침중에 쌀 전분의 annealing이 유발하는 것으로 해석할 수 있다. DSC thermogram에 93~94℃ 부근에 약한 두 번째 피크가 나타났다. 두번째 피크는 이밀로스-지질 복합체가 용해되는 현상으로 수침후에 아밀로오스 결합 지질의 존재를 나타내 주었다.

Table 37. Differential scanning calorimetry(DSC) thermal properties of starches separated from stored milled rices steeped at different temperatures

Steeping temp.	Peak 1			Peak 2		
	T _o	T _p	ΔH ₁ (J/g)	T _o	T _p	ΔH ₂ (J/g)
Control	60.44	67.78	13.32	93.51	93.51	0.03
40℃	56.40	64.74	12.17	93.53	93.93	0.04
50℃	57.96	66.05	11.56	93.60	94.03	0.03
60℃	61.40	68.28	11.58	93.63	94.00	0.03

T_o: Onset temperature, T_p: Peak temperature, ΔH₁: Enthalpy of gelatinization, ΔH₂: Enthalpy of melting.

마) 재고미 쌀 전분의 호화특성

신속점도 측정기(RVA)는 Brabender Viscoamylograp와 유사한 방법으로 그러나 적은양의 시료로 신속하게 전분의 호화특성을 측정하는데 널리 사용된다. 재고미로부터 분리한 전분의 RVA 호화특성을 측정한 결과는 Table 38에 나타나 있다. 대조구 전분의 호화개시온도 72.1℃에 비해 40~60℃에서 수침한 재고미로부터 분리한 전분의 호화개시온도는 72.4~73.0℃ 범위였다. 대조구 전분의 최고점도는 256.7 RVU 였으며 수침한 쌀 전분의 최고점도는 242.6~256.2 RVU 범위로 대조구에 비해 낮았다.

40℃와 50℃에서 수침한 재고미로부터 분리한 전분은 대조구 전분에 비해 trough 점도와 최종점도가 약간 낮았다. 그러나 60℃에서 수침한 재고미 전분은 breakdown이 낮아 냉각후 최종점도가 보다 높았다. Breakdown 점도는 호화전분이 전단에 따른 붕괴에 대한 저항성을 측정하며 최종점도는 냉각중에 전분 paste의 겔형성 경향을 나타내 준다. 본 실험의 결과에 의해 상승된 수침온도가 쌀 전분의 호화 최고점도, breakdown 점도, set-back 점도 등 호화양상에 영향을 끼치는 것으로 나타났다.

Table 38. Rapid visco analyzer(RVA) pasting properties of starches separated from stored milled rices steeped at different temperatures

Steeping temp.	Pasting temp. (°C)	Viscosity (RVA)			
		Peak	2.5-min hold	50℃	Set-back
Control	72.08	256.72	128.69	258.78	130.08
40℃	72.40	248.19	121.17	240.86	119.70
50℃	73.02	256.22	122.86	250.11	127.25
60℃	72.98	242.61	128.72	279.36	150.64

¹⁾Trough = minimum viscosity after the peak, Breakdown = peak viscosity minus trough viscosity, Setback = final viscosity minus peak viscosity. 2) Means of three replicates standard deviation. Means with different letters within the same column are significantly different ($\alpha = 0.05$) using Duncan's multiple range test.

나. 청결미분의 가공기술 개발

1) 제분방법에 따른 쌀가루의 특성 및 오염미생물 분석

쌀가루제조시 제분기의 종류 및 제분방법이 쌀가루의 기능성에 큰 영향을 미치는 것으로 알려져 있으며 제분방법에 따라 미생물의 변화를 예측할 수 있다. 쌀가루는 쌀을 물에 침지하는 과정을 거친 후 분쇄하는 습식제분 방법과 쌀을 그대로 분쇄하는 건식제분 방법에 의해 제조하였다. 쌀가루의 미생물을 분석한 결과 *Bacillus* 균은 검출되지 않았으나 건식제분이 습식제분 방법에 비해 총균수와, yeast-like strain의 수가 높은 것으로 나타났다(Table 39). 물에 침지하는 습식을 대체하여 분무방식에 의한 반습식 처리하여 제조한 쌀가루는 원료쌀에 비해 total bacteria, yeast-like strain의 수가 낮게 나타났으며 쌀 표면미생물의 세척효과로 건식제분한 쌀가루에 비해 미생물의 오염정도가 낮게 나타났다(Table 39).

Table 39. Microbial counts of rice flours prepared by different milling methods

	Total bacteria	<i>B. cereus</i> group	Yeast-like strain
Rice (control)	2.5×10^4	1×10^1	2.8×10^4
Dry milling			
Roller	2.9×10^4	ND*	2.9×10^2
Cyclotec	1.6×10^3	ND	7.5×10^2
Wet milling			
25°C steeping	5.0×10^2	ND	4.2×10^2
55°C steeping	1.4×10^2	ND	ND

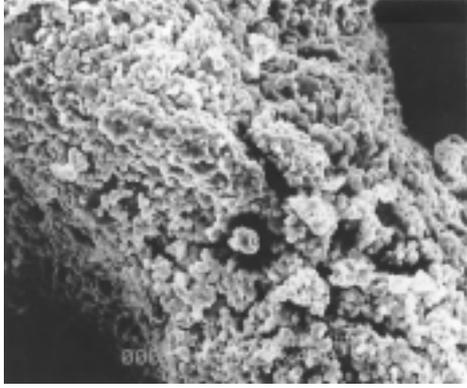
* ND: Not detected.

습식제분은 보통 실온에서 이루어지며 쌀전분의 물리적 변성을 유도하기 위한 annealing 수침처리기술과 관련한 어닐링처리 기술의 결과를 토대로 25℃ 수침과 55℃ annealing 수침처리에 따른 습식제분 쌀가루의 특성을 분석한 결과는 Table 40과 같다. 55℃에서 어닐링 수침처리한 쌀가루가 25℃에서 수침한 쌀가루에 비해 명도가 약간 높았으며 b값은 낮게 나타났다. 수분흡수지수는 유사하였고 수분용해도지수는 55℃ 수침 쌀가루에서 높았으며 gel consistency는 다소 낮았다. 평균입자크기는 서로 유사한 것으로 나타났으며 55℃수침처리한 쌀가루의 미세구조에서 전분 입자를 보다 뚜렷이 관찰할 수 있었다(Fig. 23).

Table 40. Effect of steeping temperature on Properties of wet-milled rice flour

	Steeping temp (°C)	
	25°C	55°C
Color		
L	97.19	97.50
a	-0.27	-0.25
b	2.64	2.31
Moisture content (%)	31.3	35.4
WAI (g/g)	1.71	1.70
WSI (%)	1.37	1.68
Gel consistency	0.80	0.45
Mean particle size (µm)	36.99	37.66

A.



B.

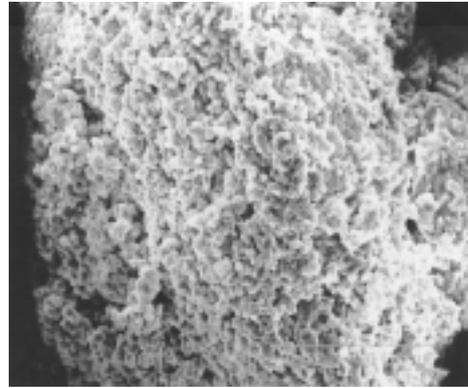


Fig. 23. Scanning electron micrograph (SEM) of flours wet-milled from rices steeped at different temperatures. A, 25°C steeping; B, 55°C steeping.

2) 습식제분의 건조조건 확립

가공적성은 우수하지만 유통기간이 짧은 습식 쌀가루의 유통 및 저장의 편의성을 증진하기 위하여 습식 쌀가루를 열풍건조하였으며 건조온도별 건조시간에 따른 수분함량을 측정한 결과는 Figs. 24 및 25와 같다. 수분함량 15%에 도달하는 시간을 측정한 결과 열풍온도 30℃에서 10시간, 40℃에서 3시간, 50℃에서 1시간 40분, 60℃에서는 1시간 20분, 70℃에서 1시간 정도 소요되는 것으로 나타났다. 쌀가루의 건조온도는 40~50℃ 정도가 적합한 것으로 판단되었다

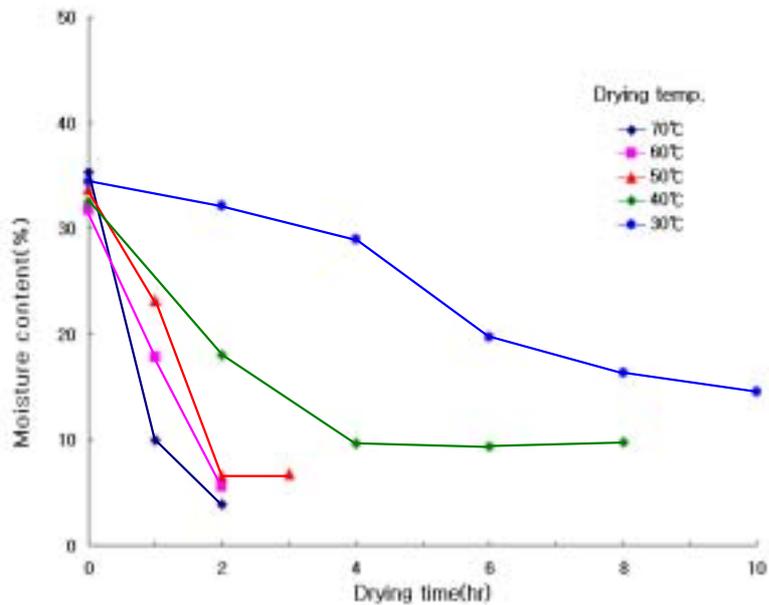


Fig. 24. Moisture content of wet-milled rice flour(25℃ steeping) during drying at different temperatures.

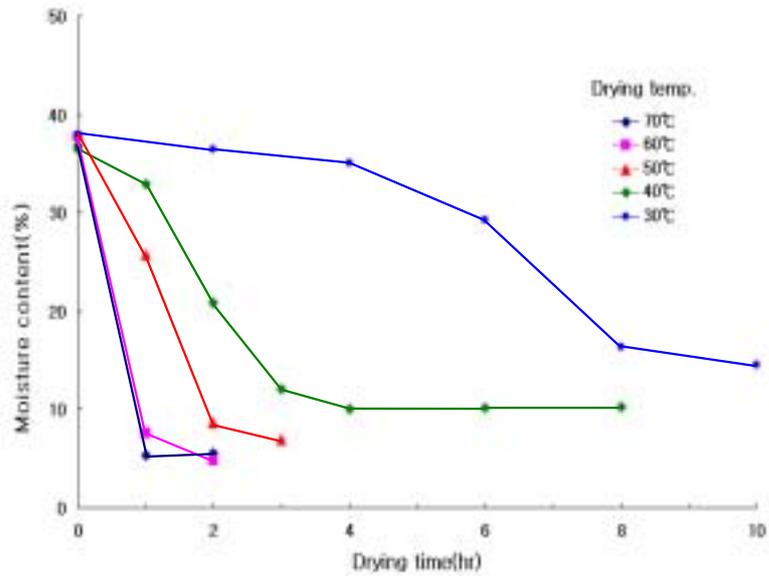


Fig. 25. Moisture content of wet-milled rice flour(55°C steeping) during drying at different temperatures.

3) 청결미분제조를 위한 습식제분의 살균기술

쌀 오염미생물의 물리, 화학적 살균기법을 습식제분시 수침공정에 적용하여 오염미생물의 저해효과를 조사하였다. 오존수 침지와 병행하여 각 단계별 sanitizing agents 처리에 따른 총균수, *Bacillus cereus*, yeast-like strain의 수를 측정하였다. 오존수 침지는 침지후 원료쌀에 비해 살균효과가 미미하였으며 step 2에서 step 4로 갈수록 미생물의 살균효과가 큰 것으로 나타났다(Table 41).

Table 41. Inhibitory effects of sanitizing agents during steeping on microbial counts of rice flour (A) before milling; (B) after milling

(unit = cfu/mL)

(A)

	Total bacteria	Yeast-like strains	<i>Bacillus cereus</i>
control	2.5×10^4	2.8×10^4	ND*
Step 1	1.3×10^4	3.2×10^3	ND
Step 2	1.5×10^2	ND	ND
Step 3	5.5×10^2	ND	ND
Step 4	ND	ND	ND

(B)

	Total bacteria	Yeast-like strains	<i>Bacillus cereus</i>
Step 1	2×10^3	2.5×10^3	ND
Step 2	3.3×10^2	1.3×10^2	ND
Step 3	3.6×10^2	4×10^1	ND
Step 4	1.3×10^2	1.1×10^2	ND

* ND: Not detected.

Step 1. Ozonated water soaking for 2 hr in room temperature.

Step 2. 20% ethanol+10% NaCl soaking for 30 min in room temperature.

Step 3. Ozonated water soaking for 2 hr in room temperature → 20% ethanol+10% NaCl soaking for 30 min in room temperature.

Step 4. Ozonated water soaking for 2 hr in room temperature → 20% ethanol+10% NaCl soaking for 30 min in room temperature → Ozonated water soaking for 20 min in room temperature.

오존수 침지(step 1)와 살균 효과가 가장 큰 것으로 조사된 오존수+ethanol+NaCl+오존수(step 4) 처리와 온도별(25°C, 55°C)로 각각 침지하여 분쇄과정까지의 오염미생물 변화를 측정된 결과는 Table 42와 같다. 55°C에서 수침하는 것이 25°C 수침에 비해 수침후와 분쇄후 쌀가루의 미생물 오염정도가 낮은 것으로 분석되었다. Sanitizing agents에 의한 살균효과에서는 오존수 침지(step 1)만으로는 미생물 제어 효과가 미미하였으며 오존수+ethanol+NaCl을 병용한 쌀의 침지(step 4)가 가장 미생물 제어 효과가 큰 것으로 나타났다. 25°C 수침에 비해 55°C 수침은 total bacteria와 yeast-like strain의 생균수가 낮았으나 수침후 습식제분한 쌀가루에서는 유사하게 나타났다. *B. cereus*의 경우는 수침과 습식제분후에 나타나지 않았다.

Table 42. Inhibitory effects of steeping conditions on microbial counts of rice flour

(unit = cfu/mL)

		Control	After steeping	After milling
Total bacteria	Step 4		3.9×10^3	6.5×10^3
	Ozonatied water steeping for 3h	1.7×10^5	2.3×10^4	1.1×10^4
	55°C		8.0×10^1	3.0×10^4
	25°C		3.4×10^4	2.2×10^4
<i>B. cereus</i>	Step 4		ND*	ND
	Ozonatied water steeping for 3h	1.0×10^2	ND	ND
	55°C		ND	ND
	25°C		ND	ND
Yeast - like strain	Step 4		ND	6.8×10^2
	Ozonatied water steeping for 3h	1.4×10^4	2.1×10^2	3.1×10^2
	55°C		3.0×10^1	7.2×10^2
	25°C		4.7×10^2	5.1×10^3

* ND: Not detected.

습식제분의 수침공정중 살균처리에 따른 쌀가루의 이화학적 특성을 분석한 결과는 Table 43과 같다. 오존수 단독처리(step 1)에 비해 오존수+ethano+NaCl 처리구(step 4)에서 쌀가루의 L값이 높았으며 b값은 낮았다. Step 4처리구는 step 1처리구 쌀가루에 비해 수분용해도지수가 높았으며 gel consistency와 평균 입자크기는 유사한 것으로 나타났다.

Table 43. Properties of wet-milled rice flour according to steeping treatments

	Steeping treatment	
	Ozonated water	Ozonated water+ethanol+NaCl
Color		
L	97.36	97.93
a	-0.26	-0.24
b	2.58	2.23
Moisture content (%)	30.23	32.27
WAI (g/g)	1.56	1.61
WSI (%)	1.20	2.29
Gel consistency	0.90	1.05
Mean particle size (μm)	36.68	36.41

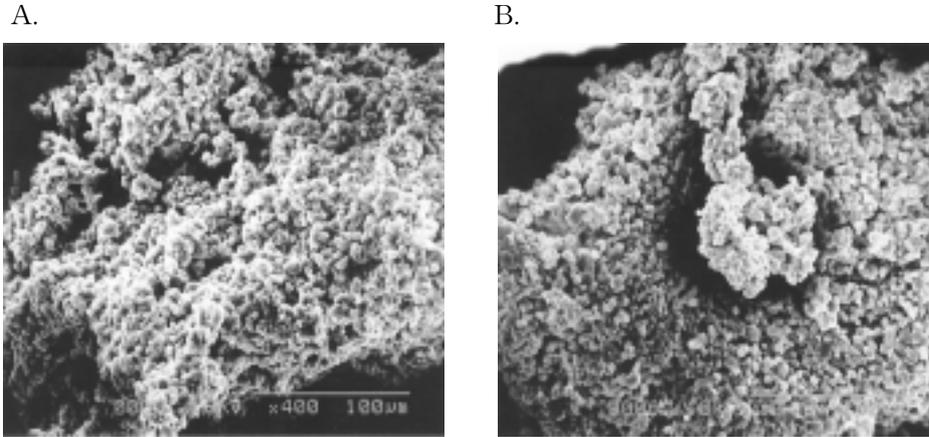


Fig. 26. Scanning electron micrographs of wet-milled rice flours with different steeping treatments. A, Ozonated water; B, ozonated water+ethanol+NaCl.

쌀의 수침처리에 따른 습식제분 쌀가루의 amylograph 특성을 Table 44와 같다. 쌀가루의 최고점도는 55℃에서 수침한 처리구와 오존수처리구에서 가장 높았으며 오존수+ethanol+NaCl처리한 쌀가루에서 가장 낮게 나타났다. 오존수처리구 쌀가루는 breakdown과 cold paste 점도가 높았으나 오존수+ethanol+NaCl처리구는 breakdown과 cold paste 점도가 낮아 setback이 가장 낮은 것으로 나타났다.

Table 44. Amylograph pasting properties of wet-milled rice flour with different steeping treatments

Viscosity (B.U.)	25℃ steeping	55℃ steeping	Ozonated water	Ozonated water+ethanol+NaCl
Peak	365	395	395	340
Hot paste	240	275	250	240
Cold paste	550	595	590	480
Breakdown	125	120	145	100
Total setback	310	320	340	240
Setback	185	200	195	140

4) 분무수세에 의한 반습식 무세미 쌀가루의 제조

쌀의 제분방법에는 기본적으로 건식과 습식제분이 있다. 건식제분은 공정이 간단하고 시간이 절약되는 장점이 있으나 손상전분의 양을 많게 하는 반면 습식제분은 수침과정에 의한 작용으로 인해 쌀가루의 성질이 건식제분과 다르며, 떡이나 과자류 등의 전통 쌀가공식품의 제조시에는 습식제분에 의한 쌀가루가 이용되고 있다. 그러나 습식제분한 쌀가루는 폐수처리 문제, 건조비용, 미생물 오염에 따른 유통의 개선 등의 문제점이 있다. 습식제분 방법의 단점을 보완하기 위하여 수분침투방법에 있어서 침지식 방법(soaking) 대신에 분사식 방법(spraying)에 의한 반습식 제분의 활용성이 증가되고 있다.

다양한 쌀 가공식품의 개발을 위해서는 식품의 부패, 변질을 막고 유통 저장성을 확보하기 위한 쌀가루의 미생물 측면의 연구가 또한 이루어져야 한다. 미생물에 오염된 쌀은 저장, 가공, 유통 단계에서 품질 저하를 일으키며, 떡류 등과 같은 쌀 가공식품의 저장성 문제는 쌀 가공식품의 유통에 장애 요인으로 작용할 수 있다. 쌀은 수분함량이 낮아 일반적으로 미생물에 의한 안전성이 높은 것으로 인식되어 있지만, 국산 쌀의 미생물 오염 현황을 조사한 결과에 의하면, 쌀은 $10^5 \sim 10^6$ CFU/g의 오염정도를 보여주고 있으며, 열에 저항성을 가지는 포자를 형성하는 *Bacillus cereus* group 균들도 검출되어 쌀 원료의 미생물 안전성은 취약한 상태이다.

최근에 밥을 취반하기 위해서 쌀을 씻어야 하는 번거로움을 생략하여 편의성을 증대시킨 무세미가 생산되고 있다. 무세미는 쌀을 세척 및 세정한 다음 열풍에 의해 건조시킴으로써 쌀의 표면에 묻은 이물질과 미생물을 제거함은 물론 쌀의 호분층까지 제거하여 취반시 별도의 수세과정 없이도 쉽게 밥을 지을 수 있도록 하였다.

본 실험에서는 알칼리 이온수로 쌀을 분무수세한 후 건조하여 제조한 무세미와 무세미 제조시 부산물로 생성되는 쉼미를 이용하여 제조한 쌀가루의 이화학적 특성 및 미생물수를 원료쌀과 비교하여 분석하였다.

가) 무세미 쌀가루의 색도, 수분함량, WAI, WSI 및 gel consistency

분무수세 건조공정에 의해 제조된 무세미와 부산물인 쉼미를 이용하여 제조한 쌀가루의 색도, 수분함량, WAI, WSI 및 gel consistency를 측정하여 원료쌀과 비교한 결과는 Table 45와 같다. 쌀가루의 명도를 나타내는 L값은 시료간 크게 차이가 없었으나 무세미가 원료쌀에 비해 유의적으로 약간 높게 나타나 분무수세에

따른 원료쌀 표면의 잔존부유물과 이물이 제거되어 색상이 밝아짐을 알 수 있었다. 본 실험에서 분무수세한 쌀로 제조한 쌀가루는 쌀을 수침과정을 거쳐 제조한 습식 쌀가루가 쌀원료를 그대로 분쇄한 건식제분에 비해 명도가 높다는 결과와 유사한 것으로 나타났다. 쌀가루의 a값은 모두 (-)값으로 시료간에 차이가 거의 없었으며 황색도를 나타내는 b값은 분무수세 건조한 무세미 또는 무세미 쇄립이 원료쌀에 비해 낮은 것으로 나타났다.

쌀가루의 수분함량은 원료쌀에 비해 무세미와 무세미 쇄립에서 약간 높았으며, 이는 원료쌀의 분무수세 및 건조과정에 따른 다소간의 수분함량 변화로 판단되었다. 쌀가루의 수분흡수지수(WAI)와 수분용해도지수(WSI)는 각각 원료쌀과 무세미에서 가장 높았던 반면 무세미 쇄립에서 가장 낮게 나타났다. 수분용해도지수는 쌀의 수침에 의해 증가하는 것으로 보고된 바 있다. 쌀가루의 gel consistency는 원료쌀과 무세미에 비해 무세미 쇄립에서 다소 높았다. Gel consistency는 gel의 강도를 나타내는 지표로써 amylograph cold paste viscosity를 예측할 수 있으며 높은 setback값과 hard gel 특성간에 상관관계가 있는 것으로 보고된 바 있다.

Table 45. Physicochemical properties of flours from milled rice subjected to washing treatment¹⁾

	Rice(control)	Pre-washed	
		Rice	Broken rice
Color			
L	96.05 ^b	97.06 ^a	96.66 ^{ab}
a	-0.40 ^a	-0.37 ^a	-0.39 ^a
b	4.17 ^a	3.41 ^c	3.97 ^b
Moisture content (%)	10.61 ^b	11.23 ^{ab}	12.10 ^a
WAI (g/g)	3.31 ^a	3.23 ^a	3.03 ^b
WSI (%)	2.52 ^{ab}	2.83 ^a	2.18 ^b
Gel consistency	1.15 ^b	1.15 ^b	1.70 ^a
Mean particle size (µm)	39.63 ^b	41.39 ^a	39.65 ^b

¹⁾Values are means of three replications. Means with the same alphabet in each row are not significantly different at p<0.05 using Duncan's multiple range test.

나) 무세미 쌀가루의 입도 및 미세구조

분무수세후 건조한 무세미와 원료쌀로부터 제조한 쌀가루의 입도를 분석한 결과 평균 입자크기는 Table 45에 나타나 있다. 쌀가루의 입도분포는 세가지 실험군 간에 큰 차이를 보이지는 않았으나 원료쌀 보다 무세미 쌀가루에서 평균 입자크기가 유의적으로 큰 것으로 분석되었으며 췌미에서 입자가 작은 경향으로 나타났다. 분무수세후 건조한 무세미의 평균 입자크기가 큰 것은 원료쌀 표면의 미세한 잔존 부유물과 이물이 제거됨에 따른 것으로 사료되었다. 한편 습식제분한 쌀가루가 건식제분에 비해 입자크기가 작다고 보고하였으며 건식제분에서 수분이 많을수록 입도분포가 미세하게 제분될 수 있다는 결과와는 다소 상이하게 나타났다. 쌀가루의 입자크기는 pasting 특성, gel consistency에 영향을 주는 것으로 알려져 있다.

분무수세 건조된 무세미 쌀가루를 SEM에 의해 400배 확대한 미세구조는 Fig. 27과 같다. 원료쌀과 비교할 때 무세미 쌀가루는 입자의 손상이 적고 작게 부서진 조각도 적게 나타났으나 부산물인 췌미로 제조한 쌀가루는 무세미 보다 작게 부서진 조각이 많은 것으로 관찰되었다.

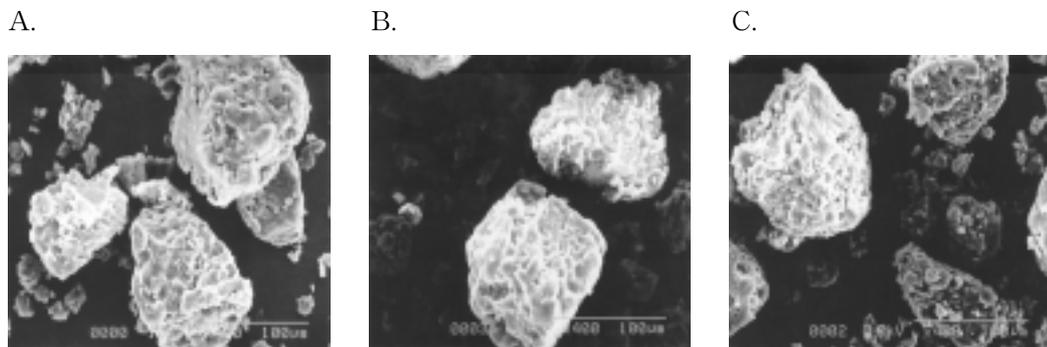


Fig. 27. Scanning electron micrograph(SEM) of flours from milled rices subjected to pre-washing treatment. A, Rice(control); B, Pre-washed rice; C, Pre-washed broken rice.

다) 무세미 쌀가루의 Amylograph 특성

분무수세공정에 따른 무세미와 부산물 채립의 amylograph 호화양상을 측정 한 결과는 Table 46에 나타나 있다. 무세미 쌀가루의 최고점도는 495 B.U.으로 원료 쌀의 410 B.U.에 비해 높았으나 무세미 채립은 403 B.U.으로 낮게 나왔다. 이는 수침한 쌀가루 또는 물로 씻어서 처리된 청결미가 건식제분한 쌀가루에 비해 최고 점도가 높다고 보고한 바와 비슷한 결과로 나타났다. 무세미 채립은 peak viscosity가 낮은 반면에 hot paste viscosity가 320 B.U.으로 가장 높게 나타났으며 무세미 hot paste viscosity 또한 310 B.U.로 원료쌀의 255 B.U.에 비해 높게 나타났다. Peak viscosity와 hot paste viscosity의 차이인 breakdown은 가공중의 안정도를 나타내는 지표로 사용되는데 원료쌀의 155 B.U.에 비해 무세미가 185 B.U.로 다소 높았으며, 낮은 peak viscosity와 높은 hot past viscosity를 보여준 채립에서 breakdown이 83 B.U.로 가장 낮았다.

Amylograph의 50℃ 냉각에 따른 쌀가루의 cold paste viscosity는 무세미 채립이 565 B.U.으로 가장 높았으며 원료쌀 503 B.U., 무세미가 475 B.U.으로 가장 낮게 나타났다. 따라서 setback은 무세미 채립이 162 B.U.로 가장 높은 반면에 무세미는 -20 B.U.으로 낮은 값을 보여주었다. Total setback의 경우에도 원료쌀과 무세미 채립이 245~248 B.U.으로 높은 값을 나타냈으며, 무세미가 165 B.U.으로 가장 낮게 나왔다. 쌀가루의 amylograph 특성은 peak viscosity와 breakdown은 정의 상과관계를 가지며, breakdown과 setback은 부의 상관관계를 가지는 것으로 알려져 있다.

무세미는 amylograph peak viscosity가 원료쌀에 비해 증가하였고 shear-thinning에 따른 breakdown이 높았으며 setback은 낮은 것으로 나타나 분무수세에 이은 건조에 의한 무세미의 제조공정이 쌀의 호화 양상에 다소 변화를 준 것으로 생각된다. 무세미에서 setback이 가장 낮아 노화속도가 가장 느리게 진행된다고 볼 수 있으며 이는 쌀 가공식품의 저장성에 다소간 개선효과가 있을 것으로 사료되었다. 한편 무세미 채립의 경우에는 gel consistency가 높고 노화의 정도를 나타내는 지표인 setback의 경우 높은 값을 주어 호화에 따른 쌀가루 전분의 노화속도가 빠를 것으로 예상되었다.

Table 46. Amylograph pasting properties of flours from milled rices subjected to washing treatment¹⁾

	Rice(control)	Pre-washed	
		Rice	Broken rice
Peak viscosity	410 ^a	495 ^a	400 ^a
Hot paste viscosity	255 ^a	310 ^a	320 ^a
Cold paste viscosity	503 ^a	475 ^a	565 ^a
Breakdown(P-H)	155 ^a	185 ^a	83 ^a
Total setback(C-H)	248 ^a	165 ^a	245 ^a
Setback(C-P)	93 ^a	-20 ^b	162 ^a

¹⁾Values are means of three replications by Amylograph.. Means with the same alphabet in each row are not significantly different at $p < 0.05$ using Duncan's multiple range test.

라) 무세미 쌀가루의 DSC 특성

무세미 쌀가루의 DSC에 의한 호화특성을 측정하여 원료쌀과 비교한 결과는 Table 47과 같다. DSC 측정 결과 무세미는 원료쌀에 비해 호화개시온도와 호화최고온도가 약간 감소하는 경향을 보여주었다. 호화개시온도는 원료쌀에서 가장 높은 값을 나타냈으며 쉐미에서 가장 낮은 값을 나타냈다. 호화최고온도 역시 원료쌀에 비해 큰 차이는 없지만 무세미와 무세미 쉐립에서는 모두 낮게 나타났다. DSC 호화엔탈피는 원료쌀의 8.43 J/g에 비해 무세미는 9.75 J/g으로 다소 높았으며 무세미 쉐립에서는 10.28 J/g으로 보다 큰 값을 나타내어쌀의 분무수세 건조공정이 호화엔탈피를 증가시킨 것으로 나타났다. 이는 습식제분한 쌀가루의 호화개시온도와 호화최고온도가 건식제분한 쌀가루에 비해 낮은 반면에 전분호화에 필요한 열량은 습식제분한 쌀가루에서 높았다는 결과와 유사하였다.

Table 47. DSC thermal properties of flours from milled rices subjected to washing treatment¹⁾

	Rice (control)	Pre-washed	
		Rice	Broken rice
Onset temperature (°C)	63.92 ^a	63.39 ^b	62.00 ^c
Peak temperature (°C)	72.00 ^a	71.26 ^b	71.80 ^{ab}
ΔH (J/g)	8.43 ^c	9.76 ^b	10.28 ^a

¹⁾Values are means of three replications. Means with the same alphabet in each row are not significantly different at $p < 0.05$ using Duncan's multiple range test.

마) 무세미 쌀가루의 오염미생물 분석

무세미와 부산물인 무세미 쉼의 총균수, *Bacillus cereus* group, yeast strain 을 측정 한 결과는 Table 48과 같다. 쌀원료의 총균수는 3.3×10^3 에서 무세미의 총균수는 6.1×10^2 으로 감소하였으며 무세미 쉼의 경우는 9.2×10^3 으로 원료쌀보다 약간 높은 것으로 나타났다. 이는 시판되는 쌀의 미생물 오염도를 분석한 결과 총균수가 $10^3 \sim 10^4$ cfu/g 수준인 것으로 보고한 바와 일치하였으며 수세과정에서 총균수가 약간 감소하는 것으로 나타났다. 쉼의 경우에는 입자의 표면적이 크기 때문에 총균수가 다소 높아진 것으로 사료되었다.

원료쌀, 무세미, 무세미 쉼의 *Bacillus cereus* group을 측정 한 결과는 음성으로 나타났다. *Bacillus cereus*는 일부 시판쌀에서는 $10^1 \sim 10^2$ CFU/g 수준으로 오염되어 있는 것으로 보이며, 특히 취반과정 중에서도 *B. cereus* 포자는 살아남게되며 인체내에서 장 상피세포에 부착하여 enterotoxin을 생산하여 식품위해를 유발시킬 수 있다. *Bacillus cereus* group은 현미에서보다 겨에서 높은 오염도를 보였으며 대부분 겨에서 높은 오염도를 보여 제현시 전이를 최소화함으로써 *Bacillus* 오염을 감소시킬 수 있을 것으로 사료되며 또한 일반 백미의 수세작업에 의해서도 미생물을 저감화할 수 있으리라 판단되었다. 원료쌀에서 효모는 5.1×10^2 CFU/g이었으며 무세미는 7.5×10^1 CFU/g으로 감소하여 분무수세한 쌀은 표면미생물의 세척효과로 효모에 의한 미생물의 오염정도가 감소하는 것으로 나타났다.

Table 48. Microbial Counts¹⁾ of flours from milled rices subjected to washing treatment

	Rice (control)	Pre-washed	
		Rice	Broken rice
Total bacteria	3.3×10^{3b}	6.1×10^{2c}	9.2×10^{3a}
<i>B. cereus</i> group	ND ²⁾	ND	ND
Yeast-like strain	5.1×10^{2a}	7.5×10^{1a}	4.7×10^{2a}

¹⁾Values are means of duplicates. Means with the same alphabet in each row are not significantly different at $p < 0.05$ using Duncan's multiple range test.

²⁾Not detected.

다. 청결미분의 제조공정 확립

1) 제분방법에 따른 쌀가루의 이화학적 특성 및 미생물 분석

제분방법에 따른 쌀가루의 수분함량, 수분흡수지수(WAI) 및 수분용해도지수(WSI)를 측정한 결과는 Table 49와 같다. 상업용 쌀가루의 수분함량은 11.14%였으며 건식제분 방법에 의한 쌀가루의 수분함량은 9~10%였다. 분무수세한 반습식 쌀가루의 수분함량은 건식제분 쌀가루에 비해 약간 높았으며 이는 쌀 원료의 분무수세에 따른 수분함량의 증가로 판단되었다. 쌀가루의 수분흡수지수는 습식제분 쌀가루에서 가장 높았으며 건식제분과 반습식 제분간에는 별 차이가 없었다. 수분용해도지수는 습식제분 쌀가루에서 가장 낮은 수치를 보였으며 건식 및 반습식 제분 쌀가루에서 높게 나타났다.

Table 49. Moisture content, WAI and WSI of rice flours prepared by different milling methods

Milling	WAI (g/g)	WSI (%)	Moisture (%)
Commercial	2.08	1.43	11.14
Dry milling			
Rotor speed 120	2.03	1.57	9.52
250	2.00	1.46	9.80
400	2.10	1.66	9.00
Semi-wet milling			
Rotor speed 120	2.07	1.32	10.70
250	1.99	1.20	10.27
400	2.11	2.01	9.23
Wet milling			
Steeping temp. 25°C	2.17	0.63	9.81
55°C	2.27	0.51	11.89

제분방법에 따른 쌀가루의 색도를 측정된 결과는 Table 50과 같다. 쌀가루의 명도를 나타내는 L값은 습식제분 쌀가루에서 가장 높았으며 반습식 쌀가루가 건식제분 쌀가루에 비해 높았다. 분무수세에 따라 원료쌀 표면의 세척으로 반습식 쌀가루의 색상이 밝아지게 됨을 알 수 있었다. 쌀가루의 a 값은 시료간에 차이가 별로 없었으나 습식제분 쌀가루의 녹색도가 가장 높았다. 황색도를 나타내는 b값은 습식제분 쌀가루에서 가장 낮았으며 반습식 쌀가루가 건식제분 쌀가루에 비해 황색도가 낮았다.

Table 50. Color of rice flours prepared by different milling methods

Milling method	Color		
	L	a	b
Commercial	96.93	0.04	4.29
Dry milling			
Rotor speed 120	96.56	0.05	3.70
250	97.07	-0.07	3.75
400	97.94	-0.01	3.39
Semi-wet milling			
Rotor speed 120	97.48	-0.02	3.61
250	97.44	-0.01	3.58
400	98.27	0.00	2.94
Wet milling			
Steeping temp. 25℃	99.38	-0.25	2.76
55℃	99.28	-0.26	2.96

제분방법에 따라 제조한 쌀가루의 입도를 입도분석기와 sieve shaker로 분석한 결과는 Table 51, 52 및 Fig. 28, 29에 나타내었다. 쌀가루의 입자크기는 건식제분과 습식제분 쌀가루에서 크게 차이가 없었으며 습식제분 쌀가루에서 약간 낮게 나타났다. 제분기의 공기 분급속도가 증가함에 쌀가루의 입자크기가 감소하였다. 습식제분한 쌀가루의 경우 25℃에서 수침한 쌀에 비해 55℃에서 수침하여 분쇄한 쌀가루에서 입자크기가 커서 수침온도가 습식제분한 쌀가루의 입자크기에 영향을 주는 것으로 나타났다.

Table 51. Particle size of rice flours prepared by different milling methods using a sieve shaker

Milling method	Mesh size								
	+50	+70	+100	+120	+140	+170	+200	+230	+270
Commercial	0.08	2.17	3.90	17.14	62.98	12.57	0.57	0.57	0.03
Dry milling									
Rotor speed 120	0.00	0.05	0.08	0.19	65.21	4.02	21.12	9.15	0.19
250	0.02	0.08	0.08	0.20	57.21	6.10	29.43	6.80	0.10
400	0.00	0.17	0.30	0.47	48.05	4.46	37.70	8.56	0.32
Semi-wet milling									
Rotor speed 120	0.02	0.23	0.31	0.36	60.78	9.01	21.67	7.08	0.56
250	0.00	0.18	0.22	0.42	39.33	8.39	34.91	15.29	1.29
400	0.00	0.53	1.43	1.73	37.03	4.02	46.53	7.44	1.31
Wet milling									
Steeping temp. 25℃	29.38	22.76	6.11	2.85	11.44	8.06	7.06	8.58	3.79
55℃	25.14	24.39	6.15	3.21	14.45	6.58	6.45	4.13	9.53

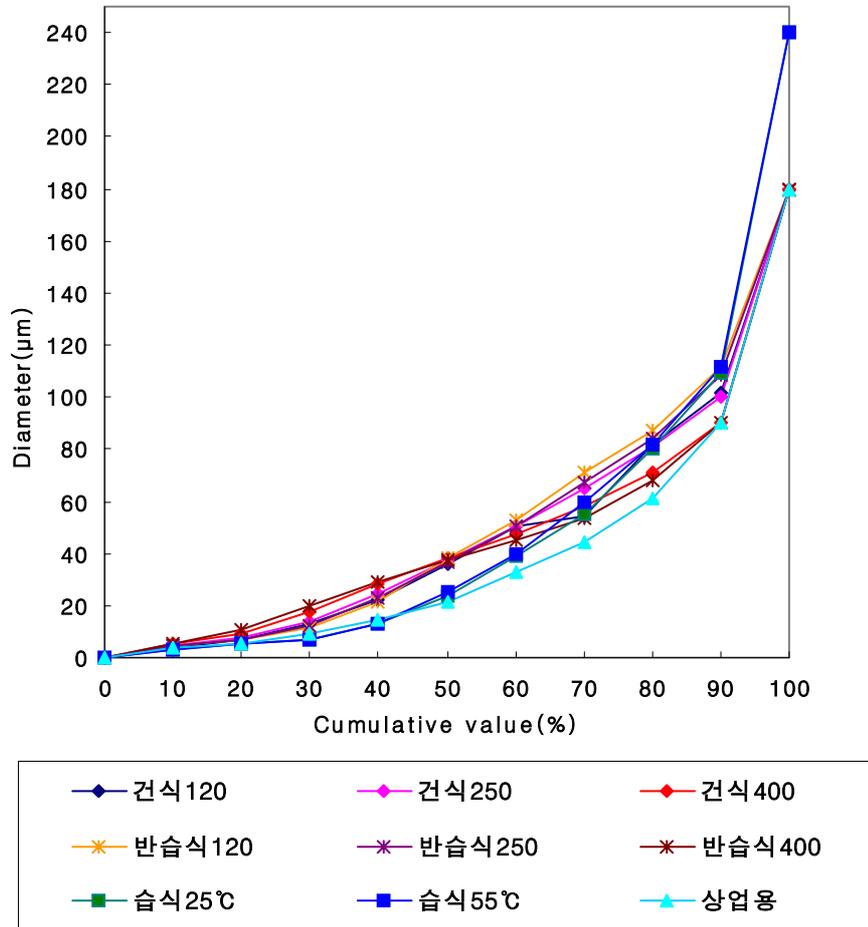


Fig. 28. Particle size of rice flours prepared by different milling methods using particle size analyzer.

Table 52. Mean particle size of rice flours prepared by different milling methods using particle size analyzer

Milling method	Mean particle size (μm)
Commercial	35.11
Dry milling	
Rotor speed 120	45.69
250	44.98
400	43.02
Semi-wet milling	
Rotor speed 120	47.17
250	45.87
400	42.35
Wet milling	
Steeping temp. 25°C	41.72
55°C	43.46

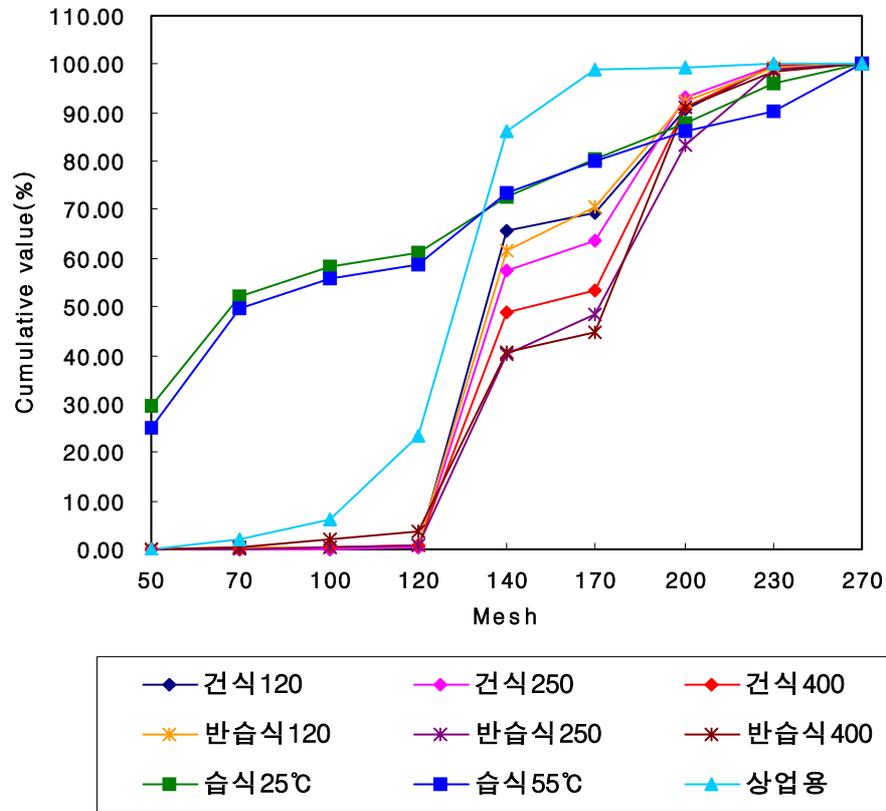


Fig. 29. Particle size of rice flours prepared by different milling methods using a sieve shaker

제분방법에 따른 쌀가루를 SEM을 사용하여 확대 관찰한 쌀가루의 미세구조는 Fig. 30과 같다. 상업용 쌀가루의 입자크기가 가장 작고 작게 부서진 조각이 많아 쌀가루의 입자손상이 많을 것으로 관찰되었다. 반습식 쌀가루의 입자크기는 건식방법에 의한 쌀가루에 비해 약간 크게 보였으며 습식제분한 쌀가루의 입자는 손상도가 적은 것으로 관찰되었다.

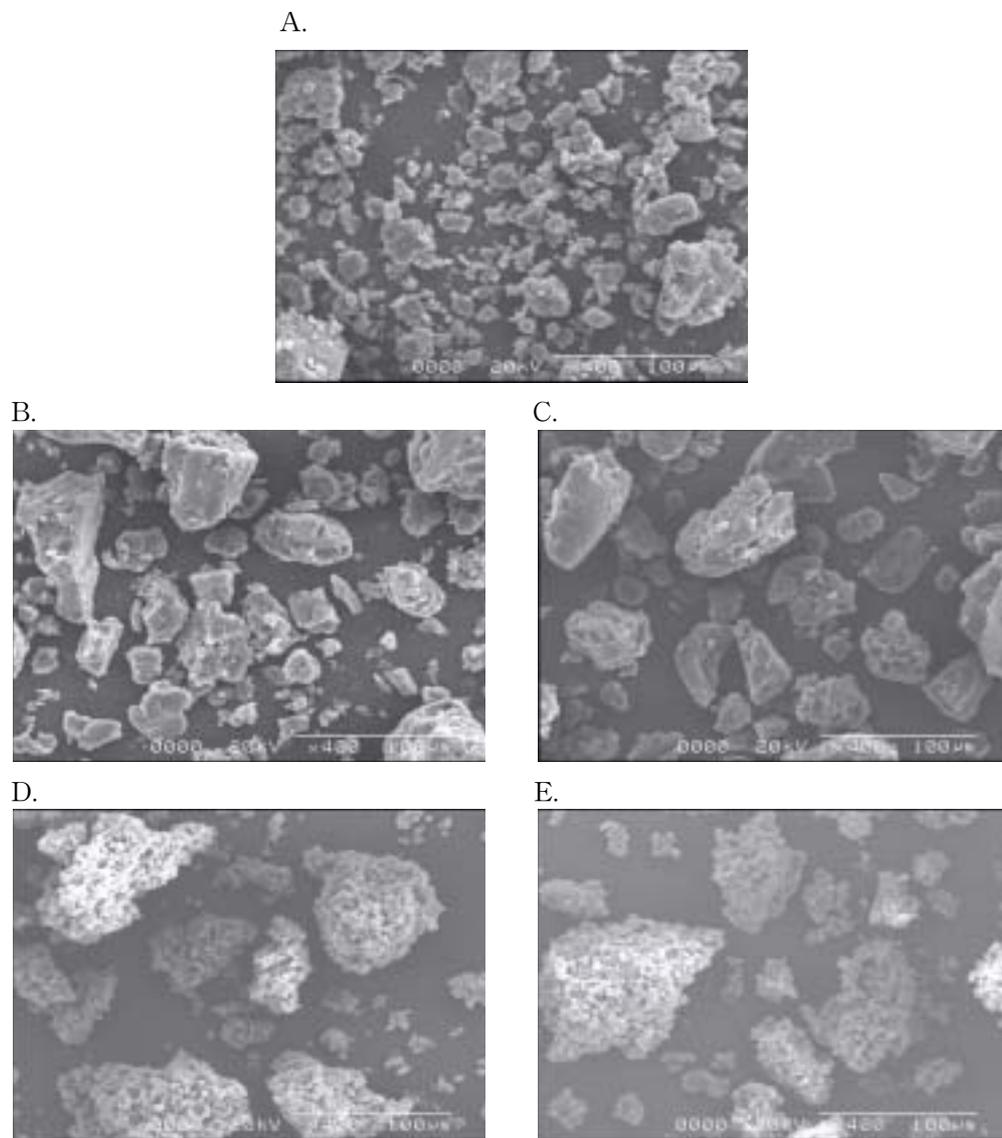


Fig. 30. Scanning electron micrographs of rice flours prepared by different milling methods. A, Commercial; B, Dry-milling; C, Semi-wet milling; D, Wet milling (25°Csteeping); E, Wet milling (55°C steeping).

제조방법에 따른 쌀가루의 DSC에 의한 호화특성을 측정한 결과는 Table 53과 같다. DSC 측정 결과 상업용 쌀가루의 호화개시온도, 호화최고온도 및 호화엔탈피가 가장 낮았다. 건식제분에 비해 습식제분 쌀가루는 호화최고온도 및 호화엔탈피가 낮게 나타났다. 수침온도에 따른 습식제분 쌀가루에서 25℃ 수침온도에 비해 55℃에서 수침한 쌀로 제분한 쌀가루의 호화개시온도가 높은 반면 호화최고온도가 낮아 호화온도범위가 감소하였으며 호화엔탈피는 약간 낮았다. 가온수침처리한 쌀의 전분은 annealing에 의해 호화 endotherm의 온도가 증가하고 호화온도범위가 좁아진다는 결과와 유사하였다. 한편 분무수세후 제분한 쌀가루의 호화개시온도는 증가하였지만 호화엔탈피는 낮게 나타났다.

Table 53. DSC thermal properties of rice flours prepared by different milling methods

Milling method		Onset temp. (°C)	Peak temp. (°C)	ΔH (cal/g)
Commercial		59.308	67.816	7.576
Dry	250	63.179	70.682	9.136
Semi-wet	250	63.519	70.846	8.892
Wet	25℃	60.527	69.681	8.933
	55℃	60.829	69.141	8.839

제분방법에 따라 쌀가루의 총균수, *Bacillus cereus* group, yeast strain을 측정
한 결과는 Table 54와 같다. 건식제분 쌀가루에 비해 반습식 제분한 쌀가루의 총
균수가 낮았으며 *Bacillus cereus* group은 건식제분에서 검출된 것과는 달리 반습
식 제분한 쌀가루에서는 검출되지 않았다. 분무수세후 분쇄한 쌀가루가 원료 백미
를 그대로 건식제분한 쌀가루에 비해 미생물의 오염도가 낮아지는 것으로 나타났
다.

Table 54. Microbial populations of rice flours prepared by different milling
methods

Milling method	Total bacteria	<i>Bacillus cereus</i> group	Yeast-like strain
Commercial	9.4×10^2	-	-
Dry milling			
Rotor speed 120	2.0×10^4	1×10^1	-
250	9.5×10^2	1×10^1	-
400	2.7×10^4	1×10^1	-
Semi-wet milling			
Rotor speed 120	2.7×10^4	-	-
250	2.8×10^2	-	-
400	2.4×10^4	-	-
Wet milling			
Steeping temp. 25°C	1.8×10^7	-	-
55°C	2.2×10^5	-	-

2) 청결미분 쌀가루의 저장중 특성

가) 쌀가루의 저장중 수분함량

쌀가루를 4개월간 저장온도를 달리하여 저장하면서 수분함량의 변화를 측정한 결과는 Table 55와 같다. 전체적으로 저장기간중에 쌀가루의 수분함량은 감소하는 경향을 보여주었으며 저장온도가 5℃에서 35℃로 높아짐에 따라 수분의 감소 효과가 큰 것으로 나타났다.

Table 55. Changes in moisture content (%) of rice flours during storage

Rice flour	Storage temp.	Storage period (month)				
		0	1	2	3	4
Commercial	5℃	11.14	10.45	10.58	11.39	10.58
	20℃	11.14	9.79	10.19	11.17	9.25
	35℃	11.14	9.29	8.94	8.57	8.38
Dry milled	5℃	9.80	8.86	9.16	10.07	9.20
	20℃	9.80	8.66	8.81	9.90	9.42
	35℃	9.80	8.07	8.15	8.35	8.21
Semi-wet milled	5℃	10.27	9.09	9.59	10.58	9.68
	20℃	10.27	8.84	9.24	10.46	9.42
	35℃	10.27	8.72	8.60	8.81	8.36

나) 쌀가루의 저장중 색의 변화

저장조건에 따른 상업용 쌀가루, 건식 및 반습식 제분한 쌀가루의 색의 변화를 조사한 결과는 Table 56~58와 같다. 쌀가루의 L값은 저장기간에 따라 약간 증가

하여 밝아지는 경향이었고 a값은 (-)수치로 녹색도를 보여주었으며 b값은 (+)값으로 황색도를 보여주었다.

건식제분 쌀가루의 L값은 저장중에 약간 증가하였으며 a와 b값은 저장중에 크게 차이를 보이지 않았다. 분무수세한 쌀가루의 색의 경우에도 저장중 L값이 약간 증가하는 경향이었으며 전반적으로 건식제분 쌀가루와 비교할 때 L값이 높아 보다 밝은 것으로 나타났다. a값은 (-)값으로 녹색도를 띄었으며 저장중 녹색도가 증가하였으며 황색도를 나타내는 b값은 건식제분에 비해 낮았으며 저장중에 크게 변화를 보이지 않았다.

Table 56. Changes in color of commercial rice flour during storage

Storage temp.		Storage period (month)				
		0	1	2	3	4
5°C	L	96.93	98.24	98.03	97.77	98.01
	a	0.04	-0.04	-0.08	-0.07	-0.14
	b	4.29	1.53	4.03	4.12	4.03
20°C	L	96.93	98.22	97.80	97.81	97.80
	a	0.04	0.04	-0.07	-0.07	-0.13
	b	4.29	1.61	4.12	4.12	4.21
35°C	L	96.93	98.07	97.76	97.69	97.77
	a	0.04	0.00	-0.14	-0.14	-0.17
	b	4.29	1.92	3.46	4.46	4.63

Table 57. Changes in color of dry milled flour during storage

Storage temp.		Storage period (month)				
		0	1	2	3	4
5°C	L	97.07	98.30	97.52	97.89	97.55
	a	-0.07	0.00	-0.13	-0.08	-0.18
	b	3.75	1.00	3.46	3.52	3.53
20°C	L	97.07	98.33	97.96	97.80	97.87
	a	-0.07	0.03	-0.16	-0.07	-0.13
	b	3.75	1.05	3.68	3.59	3.54
35°C	L	97.07	98.24	98.05	97.83	97.77
	a	-0.07	0.00	-0.15	-0.17	-0.15
	b	3.75	1.25	3.87	3.76	3.93

Table 58. Changes in color of semi-wet milled flour during storage

Storage temp.		Storage period (month)				
		0	1	2	3	4
5°C	L	97.44	97.81	97.57	97.81	98.51
	a	-0.01	-0.05	-0.11	-0.13	-0.24
	b	3.58	1.02	3.34	3.44	3.31
20°C	L	97.44	98.05	97.73	98.05	95.53
	a	-0.01	-0.02	-0.18	-0.09	-0.17
	b	3.58	1.01	3.50	3.48	3.41
35°C	L	97.44	98.39	97.68	97.43	98.05
	a	-0.01	-0.02	-0.14	-0.26	-0.28
	b	3.58	1.05	3.56	3.75	3.78

다) 쌀가루의 저장중 수분흡수지수 및 수분용해도지수

쌀가루의 저장중 수분흡수지수(WAI)를 측정한 결과는 Table 59와 같다. 쌀가루의 저장중 모든 쌀가루에서 저장 3개월까지 점차적으로 증가하였으며 저장 4개월에는 다시 감소하는 경향을 보였다. 저장온도가 높아질수록 습분흡수지수의 증가 폭이 크게 나타났다. 건식제분 쌀가루와 반습식제분 쌀가루의 초기 수분흡수지수에는 차이가 없었으나 저장이 진행됨에 따라 반습식제분 쌀가루의 수분흡수지수가 높게 나타났다.

Table 59. Changes in WAI(g/g) of rice flours during storage

Rice flour	Storage temp.	Storage period(month)				
		0	1	2	3	4
Commercial	5℃	2.08	2.10	2.12	2.13	2.10
	20℃	2.08	2.14	2.17	2.27	2.18
	35℃	2.08	2.17	2.20	2.37	2.33
Dry milled	5℃	2.00	2.11	2.15	2.20	2.16
	20℃	2.00	2.15	2.13	2.35	2.25
	35℃	2.00	2.24	2.36	2.54	2.40
Semi-wet milled	5℃	1.99	2.05	2.18	2.19	2.19
	20℃	1.99	2.22	2.28	2.44	2.31
	35℃	1.99	2.29	2.43	2.53	2.50

쌀가루의 저장중 수분용해도지수(WSI)의 변화를 측정한 결과는 Table 60과 같다. 저장초기에 비해 저장이 진행됨에 따라 저장 4개월 후 쌀가루의 WSI는 다소 증가하는 추세를 보여주었다. 반습식제분한 쌀가루의 수분용해도지수가 저장중 가장 낮은 것으로 분석되었다. 저장온도에 따른 수분용해도지수의 차이는 크지 않은 것으로 분석되었다.

Table 60. Changes in WSI(%) of rice flours during storage

Rice flour	Storage temp.	Storage period(month)				
		0	1	2	3	4
Commercial	5℃	1.43	1.45	1.43	1.36	1.67
	20℃	1.43	1.72	1.44	1.53	1.47
	35℃	1.43	1.47	1.40	1.59	1.55
Dry milled	5℃	1.46	1.76	1.51	1.46	1.72
	20℃	1.46	1.59	1.48	1.48	1.51
	35℃	1.46	1.49	1.44	1.57	1.73
Semi-wet milled	5℃	1.20	1.35	1.29	1.32	1.41
	20℃	1.20	1.49	1.37	1.45	1.44
	35℃	1.20	1.23	1.26	1.58	1.55

라) 쌀가루의 저장중 호화양상

상업용 쌀가루의 저장중 RVA 호화양상을 측정한 결과는 Table 61과 같다. 상업용 쌀가루의 호화개시온도는 초기에 59.76℃에서 저장 1개월에 61~62℃로 증가한 후 저장이 진행됨에 따라 다시 감소하였다. 상업용 쌀가루의 RVA 최고점도는 5℃ 저장시에 가장 낮았으며 저장온도가 높아짐에 따라 증가하였다. 저장 3개월까지는 최고점도가 현저하게 증가하였으나 4개월에는 다시 감소하는 경향이였다. 상업용 쌀가루의 trough 점도 역시 저장 3개월까지 증가하다 4개월에는 다시 감소하는 추세를 보여주었다. 따라서 breakdown 점도 역시 저장기간중에 증가하다 4개월에는 다시 감소함을 보여주었다. 5℃ 저장시 final 점도는 저장에 따라 최고점도와 비슷한 증감을 보여 setback 점도가 저장중 크게 차이나지 않았으나 35℃ 저장에서는 최고점도의 증가폭이 커짐에 따라 setback 점도가 저장중 크게 증가함을 보여주었다.

Table 61. Changes in RVA pasting properties of commercial rice flour during storage

Storage temp.	Storage period (month)	Onset temp(°C)	Viscosity(RVU)				
			Peak	Trough	Breakdown	Final	Setback
5°C	0	59.76	323.55	118.97	204.58	259.42	140.44
	1	62.00	305.41	121.08	184.33	261.11	140.03
	2	59.57	305.75	118.03	187.72	259.78	141.75
	3	59.45	325.53	124.31	201.22	269.25	144.95
	4	59.76	305.80	116.64	189.17	257.22	140.58
20°C	1	62.56	301.66	120.42	181.25	262.25	141.83
	2	59.75	313.70	122.17	191.53	267.25	145.08
	3	59.63	334.97	131.25	203.72	280.44	149.19
	4	59.00	318.03	124.25	193.78	274.22	149.97
35°C	1	61.78	339.72	136.92	202.81	292.03	155.11
	2	58.31	356.64	142.05	214.58	303.17	161.11
	3	59.31	380.08	151.20	228.89	314.28	163.08
	4	59.06	366.64	150.39	216.25	324.33	173.94

건식제분 쌀가루의 저장중 RVA 호화양상을 측정한 결과는 Table 62와 같다. 쌀가루의 RVA 호화개시온도는 저장초기의 60℃에서 저장 1개월후 63~64℃로 증가한 후 저장이 진행됨에 따라 다시 60~62℃로 감소하는 경향이였다. 건식제분 쌀가루의 RVA 최고점도는 초기에 325 RVU 였으며 5℃저장시에 가장 낮았다. RVA 최고점도는 저장온도가 높아짐에 따라 증가하였는데 저장온도가 높아짐에 따라 35℃ 저장온도에서 그 증가폭이 가장 현저하게 상승하였다. 최고점도는 저장 3개월까지 증가하였으나 4개월에는 다시 감소하는 경향이였다. 건식제분 쌀가루의 trough 점도는 저장기간중에 증가하다 4개월에는 다시 감소하는 추세를 보여주었다. 따라서 breakdown 점도 역시 저장기간중에 증가하다 4개월에는 다시 감소함을 보여주었다. 5℃와 20℃저장시 final 점도는 저장에 따라 최고점도와 비슷한 증감을 보여 setback 점도는 저장중 크게 차이를 보이지 않았으나 35℃ 저장에서는 최종점도의 증가폭이 커짐으로 인해 setback 점도가 증가함을 나타내었다. 전반적으로 5℃에서 저장한 쌀가루의 RVA 점도변화가 가장 적은 것으로 나타났다.

Table 62. Changes in RVA pasting properties of dry-milled rice flour during storage

Storage temp.	Storage period (month)	Onset temp(°C)	Viscosity(RVU)				
			Peak	Trough	Breakdown	Final	Setback
5°C	0	60.00	324.58	107.70	216.89	207.33	99.64
	1	63.56	303.39	104.89	198.50	200.69	95.81
	2	59.95	306.95	107.14	199.81	203.83	96.69
	3	60.32	323.89	108.31	215.58	207.55	99.25
	4	60.13	308.83	100.50	208.33	200.47	99.97
20°C	1	64.00	327.64	106.86	220.78	211.03	104.17
	2	59.70	321.58	104.25	217.33	210.67	106.42
	3	59.70	351.47	111.06	240.42	222.25	111.19
	4	60.42	328.31	100.28	228.03	209.50	109.22
35°C	1	64.89	366.25	114.78	251.47	233.50	118.72
	2	60.38	379.20	119.56	259.64	243.56	124.00
	3	62.88	419.81	125.64	294.17	255.17	129.53
	4	59.83	418.61	126.20	292.42	260.53	134.33

반습식 제분한 쌀가루의 저장중 RVA 호화양상은 Table 63과 같다. RVA 호화 개시온도는 저장초기 59℃에서 저장 1개월후 62~64℃로 증가한 후 저장이 진행됨에 따라 다시 60~62℃로 감소한 수치를 보여주었다. 5℃에서 저장한 쌀가루의 최고점도가 가장 낮았으며 20℃, 35℃ 저장 순으로 최고점도가 높았다. 최고점도는 모든 저장온도에서 저장 3개월까지 증가하였으나 저장 4개월에서는 감소하였으며 35℃에서 점도의 증가폭이 가장 크게 나타났다. 건식제분한 쌀가루와 비교했을 때 초기 최고점도가 약간 높았으며 저장기간중에 최고점도가 높은 수치를 주었다. 이는 수침처리하여 제분한 쌀가루나 물로 수세한 청결미가 건식제분 쌀가루에 비해 최고점도가 높다고 보고한 결과와 비슷하게 나타났다. Breakdown 역시 5℃ 저장에서 가장 낮았으며 저장온도가 높아짐에 따라 높았는데 저장 3개월까지 증가한 후 저장 4개월에서는 다시 감소하였다. 건식제분한 쌀가루에 비해 분무수세한 후 제분한 반습식 쌀가루의 최종점도는 최고점도와는 달리 낮게 나타나 setback 점도는 반습식 제분한 쌀가루에서 낮았다. 5℃와 20℃에서는 저장기간에 따라 setback에 거의 차이가 없었으며 35℃에서만 증가함을 나타내었다.

Table 63. Changes in RVA pasting properties of semi-wet milled rice flour during storage

Storage temp.	Storage period (month)	Onset temp(°C)	Viscosity(RVU)				
			Peak	Trough	Breakdown	Final	Setback
5°C	0	59.18	325.61	105.42	220.20	202.36	96.94
	1	62.89	306.69	102.19	204.50	195.50	93.30
	2	60.00	311.67	105.08	206.58	199.83	94.75
	3	60.07	332.86	106.92	225.94	204.69	97.78
	4	59.60	311.72	102.67	209.06	198.94	96.28
20°C	1	62.22	325.47	102.50	222.97	205.30	102.81
	2	59.88	326.75	105.33	211.42	207.92	102.58
	3	59.25	351.78	107.47	244.30	212.67	105.19
	4	60.35	338.14	104.22	233.92	209.14	104.91
35°C	1	64.34	372.66	112.78	259.89	227.11	114.33
	2	60.26	386.39	116.89	269.50	236.92	120.03
	3	59.74	429.47	126.14	303.33	251.39	125.25
	4	59.48	419.11	126.61	292.50	256.42	129.81

마) 쌀가루의 저장중 미생물 분석

쌀가루의 저장조건에 따른 총균수를 측정한 결과는 Table 64와 같다. 초기 총균수에 있어 상업용 쌀가루와 건식제분 쌀가루는 $9.4\sim 9.5\times 10^2$ 으로 유사한 수치를 주었으며 분무수세후 제분한 반습식제분 쌀가루는 2.8×10^2 로 약간 낮았다. 쌀가루의 저장중 총균수는 미세한 증가로 저장 4개월에 10^3 정도였으며 저장중에 반습식 쌀가루의 총균수가 건식제분 쌀가루에 비해 지속적으로 낮았다. 5℃와 20℃의 저장온도에서는 저장중 총균수에 있어 별차이가 없었으나 35℃ 저장온도에서는 총균수가 낮게 나타났다.

Table 64. Changes in total bacteria counts of rice flours during storage

Rice flour	Storage temp.	Storage period (month)				
		0	1	2	3	4
Commercial	5℃	9.4×10^2	2.7×10^3	8.6×10^3	1.1×10^4	2.5×10^3
	20℃	9.4×10^2	1.1×10^3	8.0×10^3	8.4×10^3	1.1×10^3
	35℃	9.4×10^2	4.1×10^2	1.2×10^3	9.5×10^2	1.1×10^2
Dry milled	5℃	9.5×10^2	2.6×10^3	3.5×10^4	2.2×10^4	5.4×10^3
	20℃	9.5×10^2	4.1×10^3	1.9×10^4	9.0×10^3	1.3×10^4
	35℃	9.5×10^2	1.9×10^2	4.9×10^3	2.4×10^3	9.5×10^3
Semi-wet milled	5℃	2.8×10^2	2.4×10^3	1.2×10^4	8.4×10^3	5.3×10^3
	20℃	2.8×10^2	2.2×10^3	5.6×10^3	3.1×10^3	2.2×10^3
	35℃	2.8×10^2	1.5×10^2	2.0×10^2	1.0×10^2	1.0×10^3

쌀가루의 저장중 *Bacillus cereus* group을 측정한 결과는 Table 65와 같다. 상업용쌀가루는 저장초기에 음성으로 나타났으나 저장중 10^1 수준으로 검출이 되었다. 건식제분의 경우에는 저장초기부터 *Bacillus cereus* group이 검출되었으며 4개월 저장기간중 증식하지는 않았으나 지속적으로 10^1 수준으로 검출되어 오염정도가 상대적으로 큰 것으로 나타났다. 그러나 분무수세후 제분한 반습식 쌀가루는 저장

초기에 *Bacillus cereus* group이 검출되지 않았으며 저장기간중에도 음성으로 나타나 *Bacillus cereus* group으로부터 가장 안전성이 높은 것으로 분석되었다.

Table 65. Changes in *Bacillus cereus* group of rice flours during storage

Rice flour	Storage temp.	Storage period (month)				
		0	1	2	3	4
Commercial	5℃	-	5.0×10^1	-	-	2.0×10^1
	20℃	-	1.0×10^1	-	1.0×10^1	3.0×10^1
	35℃	-	-	-	1.0×10^1	-
Dry milled	5℃	1.0×10^1	4.0×10^1	2.0×10^1	-	1.0×10^1
	20℃	1.0×10^1	-	2.0×10^1	2.0×10^1	2.0×10^1
	35℃	1.0×10^1	-	1.0×10^1	2.0×10^1	1.0×10^1
Semi-wet milled	5℃	-	-	-	-	-
	20℃	-	-	-	-	-
	35℃	-	-	-	-	-

쌀가루의 저장중 yeast-like strain을 측정 한 결과는 Table 66과 같다. 건식제분한 쌀가루에서는 저장기간 중 일시적으로 효모가 검출된 것으로 분석되었나 분무수세후 분쇄한 쌀가루에서는 효모가 검출되지 않아 효모에 의한 미생물의 오염면에서도 상대적으로 안전한 것으로 조사되었다.

Table 66. Changes in yeast-like strain of rice flours during storage

Rice flour	Storage temp.	Storage period (month)				
		0	1	2	3	4
Commercial	5°C	-	-	-	-	-
	20°C	-	-	-	-	-
	35°C	-	-	-	-	-
Dry milled	5°C	-	-	-	1.8×10 ²	1.1×10 ²
	20°C	-	-	-	3.0×10 ¹	3.0×10 ¹
	35°C	-	-	-	-	-
Semi-wet milled	5°C	-	-	-	-	-
	20°C	-	-	-	-	-
	35°C	-	-	-	-	-

바) 저장중 쌀가루의 관능특성

분무수세후 제분한 반습식 쌀가루의 관능적 특성을 조사하기 위하여 떡을 제조하여 관능평가를 실시한 결과는 Table 67과 같다. 저장중 쌀가루로 제조한 떡의 향미, 맛, 조직감에 있어서 5°C와 10°C로 저장한 쌀가루에는 큰 차이가 없었으나 35°C에서 저장한 쌀가루로 제조한 떡의 관능적 기호성이 상대적으로 떨어지는 것으로 나타났다.

Table 67. Sensory scores of rice cakes prepared from sanitized rice flours during storage

	Storage temp.	Storage period (month)				
		0	1	2	3	4
Color	5℃	7.77	6.82	6.65	7.07	7.00
	20℃	7.77	5.94	6.71	6.71	6.93
	35℃	7.77	6.47	6.53	6.43	5.93
Flavor	5℃	6.15	6.71	6.59	6.71	6.00
	20℃	6.15	6.24	6.06	6.21	6.07
	35℃	6.15	6.24	5.41	6.21	6.21
Taste	5℃	5.23	6.35	6.71	6.50	6.14
	20℃	5.23	5.41	5.71	6.14	6.43
	35℃	5.23	5.65	5.12	6.00	6.21
Texture	5℃	6.00	5.77	6.53	6.29	5.93
	20℃	6.00	6.18	5.18	6.36	6.43
	35℃	6.00	6.18	4.65	5.86	5.86
Overall acceptability	5℃	6.00	6.18	6.94	6.64	6.36
	20℃	6.00	6.12	5.82	6.29	6.93
	35℃	6.00	6.35	4.94	6.14	6.29

분무수세후 제분한 쌀가루의 저장중에 제조한 떡의 텍스처를 측정된 결과는 Table 68과 같다. 떡의 경도는 저장기간이 증가함에 따라 증가하였으며 35℃에서 저장한 떡의 경도 증가가 가장 크게 나타났다. 이는 쌀가루의 RVA 호화특성에서 나타난 바와 같이 35℃에서 저장한 쌀가루로 setback이 가장 높아 떡의 경도가 높아진 것으로 해석되었다. 떡의 경도증가는 RVA 측정시 노화도의 지표로 판단하는 setback 수치와 연관지을 수 있었다. 5℃에서 저장한 쌀가루로 제조한 떡이 경도가 가장 낮아 노화에 가장 긍정적인 저장온도인 것으로 판단되었다. 씹힘성과 겹침성은 저장중에 증가하였고 저장온도가 높아짐에 따라 증가한 반면에 떡의 탄력성과 응집성은 저장중에 크게 차이를 보이지 않았다.

Table 68. Textural properties of cakes prepared from sanitized rice flours during storage

	Storage temp.	Storage period (month)				
		0	1	2	3	4
Springiness	5°C	0.87	0.79	0.80	0.86	0.86
	20°C	0.87	0.84	0.86	0.83	0.87
	35°C	0.87	0.84	0.83	0.86	0.88
Cohesiveness	5°C	0.71	0.55	0.54	0.54	0.53
	20°C	0.71	0.53	0.54	0.53	0.53
	35°C	0.71	0.53	0.54	0.53	0.53
Chewiness	5°C	360.84	97.87	109.93	135.86	172.95
	20°C	360.84	118.42	152.25	159.33	186.41
	35°C	360.84	126.97	168.24	188.78	196.68
Gumminess	5°C	414.94	123.99	138.02	157.87	202.20
	20°C	414.94	140.41	177.52	192.33	214.46
	35°C	414.94	151.57	201.59	220.64	224.07
Adhesiveness	5°C	-402.22	-735.39	-660.22	-421.60	-201.34
	20°C	-402.22	-385.64	-489.54	-551.48	-327.63
	35°C	-402.22	-518.28	-758.80	-610.74	-335.66
Hardness	5°C	584.07	227.10	254.50	293.30	383.67
	20°C	584.07	265.10	326.53	362.07	406.83
	35°C	584.07	286.23	374.23	412.77	423.60

3. 고품질 미분가공식품의 개발

가. 쌀가루의 가공적성 규명

1) 쌀의 수분, 회분, 지방, 단백질함량

본 실험에 사용된 햅쌀과 저장쌀의 일반성분을 분석한 결과는 Table 69와 같다. 저장쌀의 수분함량은 13.7%로서 햅쌀의 17.3%에 비해 낮았으며, 회분과 단백질 함량은 서로 비슷하였다. 또한 저장쌀의 지방함량은 0.3%, 햅쌀은 0.12%로 저장쌀이 약간 높게 나타났다. 일반 유통 쌀가루의 지방함량이 0.3~0.5% 범위에 있음을 감안할 때 두 시료 모두 지방함량이 낮은 편이었다.

Table 69. Proximate composition¹⁾ of milled rice

	Milled rice	
	Stored	Newly harvested
Moisture (%)	13.7 ^b	17.3 ^a
Ash (%)	0.40 ^a	0.35 ^a
Lipid (%)	0.30 ^a	0.12 ^a
Protein (%) ²⁾	6.34 ^a	6.38 ^a

¹⁾Values are means of three replications; Means with the same alphabet within row are not significantly different at p=0.05.

²⁾Nitrogen × 5.95.

2) Annealign처리 쌀가루의 색도, 수분함량, WAI, WSI, 전분손상도 및 gel consistency

햅쌀과 저장쌀의 가운 수침처리에 따른 쌀가루의 색도, 수분함량, WAI, WSI, 전분손상도 및 gel consistency를 측정된 결과는 Table 70과 같다. 쌀가루의 L값은 전반적으로 시료 간에 큰 차이를 보이지 않았으나 햅쌀이 약간 높은 값을 나타냈다. 쌀가루의 a값은 (-)값으로 시료간의 차이가 거의 없었으나 햅쌀 백미로 만든

쌀가루가 저장 백미로 제조한 쌀가루에 비해 녹색도가 약간 높은 경향을 보여 주었다. 황색도를 나타내는 b값에 있어 저장쌀 백미로 제조한 쌀가루가 햅쌀 백미로 만든 쌀가루에 비해 높게 나타났다. 햅쌀과 저장쌀 백미 모두 수침온도에 따른 쌀가루의 색도 차이는 크지 않았으나 b값의 경우 햅쌀에서 수침온도의 증가에 따라 증가함을 보여주었다. 햅쌀을 40℃로 수침하여 제조한 쌀가루에서 황색도는 가장 낮은 것으로 나타났다.

쌀가루의 수분 함량은 전체적으로 30% 이상이었으며 햅쌀로 제조한 쌀가루가 저장쌀로 제조한 쌀가루에 비해 다소 높은 수분 함량을 지니고 있었다. 수침온도에 따라서는 햅쌀과 저장쌀 모두 수침온도가 40~60℃로 증가함에 따라 습식제분한 쌀가루의 수분 함량이 높아짐을 알 수 있다. 특히 수침온도 60℃ 처리군의 경우 40℃, 50℃의 경우에 비해 수분함량이 뚜렷히 높은 것으로 나타났다.

쌀가루의 수분흡수지수(WAI) 측정결과 햅쌀과 저장쌀의 차이뿐 만 아니라, 여섯 실험군간에 유의적인 차이는 없었다. 통계적으로 유의적이지는 않았지만 수침온도가 높아짐에 따라 모두 증가하는 경향을 나타내었다. 저장쌀의 물 결합능력의 경우 저장 1년까지 증가하다가 그 이후에는 감소되었다는 보고와 함께 저장에 의한 수분흡수력이 증가했다는 상반된 보고가 있다. 이 등은 저장기간이 길수록 수분흡수지수가 감소한다고 하였으며, 이는 수분함량이 감소함에 따라 단백질과 지방 성분들이 증가하여 물과의 결합력을 방해하는 것으로 설명하였다. 본 실험결과는 통계적으로 유의적이지는 않지만 저장보다는 침지온도 증가에 의한 WAI의 증가경향을 보여주어 온도증가에 따른 전분내의 분자운동증가로 인해 수분흡수율이 증가한 것으로 생각된다.

수분용해지수(WSI) 역시 통계적으로 유의적인 차이는 없었지만 햅쌀이 저장쌀보다 높은 경향을 보였으며, 수침온도의 증가에 따라서는 햅쌀과 저장쌀에서 모두 증가하는 경향을 보여주었다. 저장기간이 길어질수록 저장 중 지방질로부터 생성된 지방산은 아밀로오스와 complex를 형성하여 전분의 용해도를 감소시키고, 불포화 지방산의 자동산화에 의해 형성된 carbonyl 화합물 등이 단백질과 상호작용하여 단백질의 용해도도 감소된다고 하였다. 본 연구결과는 저장 쌀로 제조된 쌀가루의 용해도 감소를 보여준 이 등의 결과와 비슷한 경향을 보여주었다.

쌀가루의 전분손상도는 햅쌀이 저장쌀에 비해 높게 분석되었다. 이 등은 쌀보리가루의 경우 전분손상도가 높을 경우 WAI와 WSI가 높게 나타난다고 보고한 바

있다. 본 연구결과는 60℃ 수침의 경우 유의적이지는 않으나 전분손상도가 다소 증가하는 경향을 보였으며, 60℃ 수침군의 경우 다른 수침온도군에 비해 높은 WSI를 보여주어 이 등의 결과를 다시 한번 확인해 주었다. 이러한 현상은 수침온도가 증가함에 따라 제분 과정에서 손상 전분이 증가하는데 기인한다고 생각된다. 쌀가루의 gel consistency 역시 실험군간의 유의적인 차이는 없었지만 저장쌀이 햅쌀보다 모든 수침온도에서 gel의 강도가 다소 높게 나타나는 경향이 있었으며, 햅쌀과 저장쌀 모두에서 수침온도의 증가에 따라 gel 강도가 증가하는 경향을 보여주었다.

Table 70. The effect of elevated steeping temperature on color(L, a and b), moisture, WAI, WSI, damaged starch and gel consistency of wet-milled rice flour¹⁾

	Stored rice			Newly harvested rice		
	40℃	50℃	60℃	40℃	50℃	60℃
L	95.8 ^a	96.0 ^a	95.2 ^a	97.1 ^a	95.6 ^a	96.0 ^a
a	-0.21 ^a	-0.11 ^a	-0.17 ^a	-0.33 ^a	-0.28 ^a	-0.38 ^a
b	5.16 ^a	5.07 ^a	5.22 ^a	2.97 ^d	3.26 ^c	3.69 ^b
Moisture (%)	31.0 ^e	31.6 ^{de}	36.2 ^b	32.3 ^{cd}	33.1 ^c	38.2 ^a
WAI (g/g)	3.07 ^a	3.09 ^a	3.14 ^a	3.01 ^a	3.09 ^a	3.13 ^a
WSI (%)	0.52 ^a	0.59 ^a	0.63 ^a	0.59 ^a	0.69 ^a	0.72 ^a
Damaged starch (%)	3.15 ^b	3.03 ^b	3.83 ^{ab}	3.91 ^{ab}	3.85 ^{ab}	4.58 ^a
Gel consistency	0.35 ^a	0.58 ^a	0.88 ^a	0.23 ^a	0.50 ^a	0.85 ^a

¹⁾Values are means of three replications; Means with the same alphabet within row are not significantly different at p=0.05.

3) Amylogram 특성

햅쌀과 저장쌀의 수침온도에 따른 습식제분 쌀가루의 amylograph 호화양상은 Table 71에 나타나 있다. 전체적으로 저장쌀이 햅쌀에 비해 쌀가루의 amylograph 점도가 비교적 높게 나타났다. 햅쌀과 저장쌀 모두 수침온도가 증가함에 따라 쌀가루의 peak viscosity, hot paste viscosity, cold paste viscosity가 증가하였다. Peak viscosity의 경우 햅쌀은 수침온도의 증가에 따라 510~519 B.U.으로 약간의 증가를 보인 반면 저장쌀의 경우는 40℃에서 50℃로 온도가 높아질 때 큰 폭으로 증가하였다. 이는 쌀가루의 저장기간이 길어짐에 따라 호화점도가 증가하는 경향을 보인다는 결과와 쌀가루를 제조하여 4℃에서 16달 동안 저장하면서 호화 특성을 조사한 결과 저장기간이 늘어남에 따라 호화점도가 증가한다는 보고와 어느 정도 일치하고 있다.

Setback은 햅쌀이 저장쌀 보다 높게 나타났으며, 저장쌀의 경우 수침온도의 증가에 따른 변화는 나타나지 않았으나 50℃에서 수침처리하여 제조한 쌀가루가 높게 나타났고 햅쌀의 경우는 수침온도의 증가에 따라 setback이 높은 값을 나타내었다. Breakdown은 저장쌀이 햅쌀에 비해 높았으며 저장쌀에서는 50℃에서 수침한 경우에 가장 높게 나타났고, 햅쌀은 수침온도가 높아짐에 따라 감소하는 경향을 보여주고 있다. 노화도를 나타내는 setback의 경우 저장 기간에 따라 지속적으로 증가한다는 보고에 반해 본 실험에서는 햅쌀에 비해 저장쌀이 낮게 나타났으며 이는 준호화온도의 수침처리에 따른 쌀전분의 annealing 효과에 의한 영향으로 추측된다. 저장된 쌀 혹은 쌀가루의 amylograph 점도가 높은 이유는 아마도 세포벽의 물질이 저장 기간동안 변환되어 호화 특성에 영향을 주었으리라 생각된다.

Table 71. The effect of elevated steeping temperature on pasting properties¹⁾ of wet-milled rice flour.

	Stored rice			Newly harvested rice		
	40°C	50°C	60°C	40°C	50°C	60°C
Peak viscosity (P)	633 ^b	761 ^a	777 ^a	510 ^c	518 ^c	519 ^c
Hot paste viscosity (H)	347 ^c	389 ^b	420 ^a	267 ^f	286 ^e	322 ^d
Cold paste viscosity (C)	662 ^b	794 ^a	802 ^a	552 ^d	578 ^d	623 ^c
Breakdown (P-H)	285 ^b	372 ^a	356 ^a	242 ^{cd}	232 ^d	197 ^e
Total setback (C-H)	315 ^{cd}	405 ^a	381 ^b	284 ^d	292 ^d	301 ^d
Setback (C-P)	29 ^c	32 ^c	25 ^c	42 ^c	60 ^b	103 ^a

¹⁾Values are means of three replications by Amylograph; Means with the same alphabet within row are not significantly different at p=0.05.

4) 상전이 특성

햅쌀과 저장쌀의 수침에 따른 쌀가루의 DSC에 의한 호화특성 측정 결과한 결과는 Table 72와 같다. 햅쌀과 저장쌀 모두에서 수침온도의 증가에 따라 쌀가루의 호화개시온도와 호화최고온도가 증가하였다. 전분은 annealing에 의해 호화 endotherm의 온도가 증가하고 호화온도범위가 좁아진다고 보고하였으며, 수침온도가 준호화온도까지 증가함에 따라 쌀전분의 부분적인 annealing 현상이 유발되는 것으로 사료되었다. 호화엔탈피는 저장쌀의 경우 50°C에서 수침처리한 쌀가루에서 가장 크고 햅쌀의 경우는 40°C에서 수침처리한 쌀가루에서 가장 크게 나타났으며 햅쌀과 저장쌀 모두에서 60°C에서 수침한 쌀가루는 호화엔탈피가 가장 낮게 나타났다.

본 실험 결과에서 50°C 이상으로 수침 온도가 증가하여 60°C에서 수침한 경우 호화엔탈피가 크게 감소한 것을 보면 햅쌀과 저장쌀 모두 60°C에서 수침을 한 쌀가루가 40°C, 50°C에서 수침한 쌀가루 보다 전분손상도가 다소 높은 경향을 보여준 것(Table

70)을 감안할 때 전분의 결정부분이 많이 파괴되는 것으로 판단되었다. 옥수수 전분의 가온처리에 의한 annealing시 호화엔탈피가 60℃이하의 호화온도에서는 온도 증가에 따라 증가하지만 60℃ 이상의 수침온도에서는 온도 증가에 따라 감소함이 보고된 바 있는데, 본 연구결과도 이와 유사하게 쌀의 가온 수침처리시 60℃의 수침온도가 40℃와 50℃에서 수침했을 경우 보다 annealing 효과가 보다 크게 나타나는 것으로 판단되었다.

Table 72. The effect of elevated steeping temperature on DSC thermal properties¹⁾ of wet-milled rice flour.

	Stored rice			Newly harvested rice		
	40℃	50℃	60℃	40℃	50℃	60℃
Onset temperature (℃)	59.88 ^{bc}	60.35 ^b	64.30 ^a	59.47 ^c	60.01 ^{bc}	63.78 ^a
Peak temperature (℃)	68.05 ^c	68.29 ^c	71.27 ^a	67.83 ^c	68.36 ^c	70.46 ^b
ΔH (cal/g)	7.31 ^a	7.52 ^a	6.19 ^b	7.72 ^a	7.52 ^a	5.85 ^b

¹⁾Values are means of three replications; Means with the same alphabet within row are not significantly different at p=0.05.

5) Annealing처리 쌀가루의 입도 및 미세구조

햅쌀과 저장쌀의 수침처리에 따른 쌀가루의 입도를 분석한 결과는 Fig. 31과 같다. 저장쌀로 제조한 쌀가루가 햅쌀로 제조한 쌀가루에 비해 입자의 크기가 작은 경향을 보여주었다. 저장쌀의 경우 수침처리 온도에 의한 쌀가루 입자의 크기 분포에는 크게 영향이 없었으나, 햅쌀의 경우에는 60℃, 50℃, 40℃ 처리구 순으로 입자크기가 큰 경향을 보여주었다. SEM에 의한 annealing처리 쌀가루의 미세구조 관찰 결과(Fig. 32)에서도 햅쌀은 수침온도가 증가함에 따라 쌀가루의 입자크기가 커짐을 관찰할 수 있었다. 이는 수분 함량이 입자의 크기에 영향을 받아 수분의 함량이 높을수록 입자의 크기가 작아진다고 보고한 결과와 다소 차이를 보여주었다.

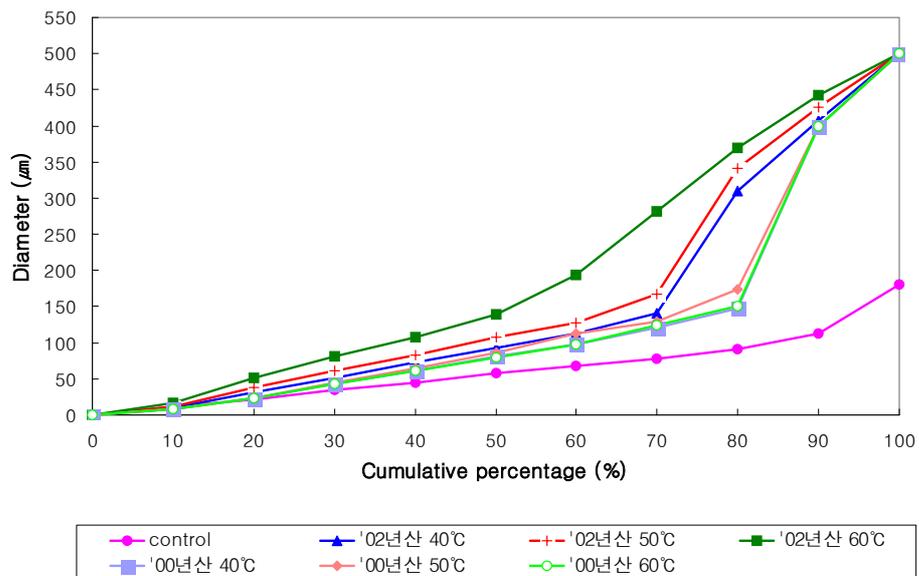


Fig. 31. Annealing처리 쌀가루의 입도 분석 : 생산년도('00, '02년산) 및 수화온도(40℃, 50℃, 60℃)의 영향.

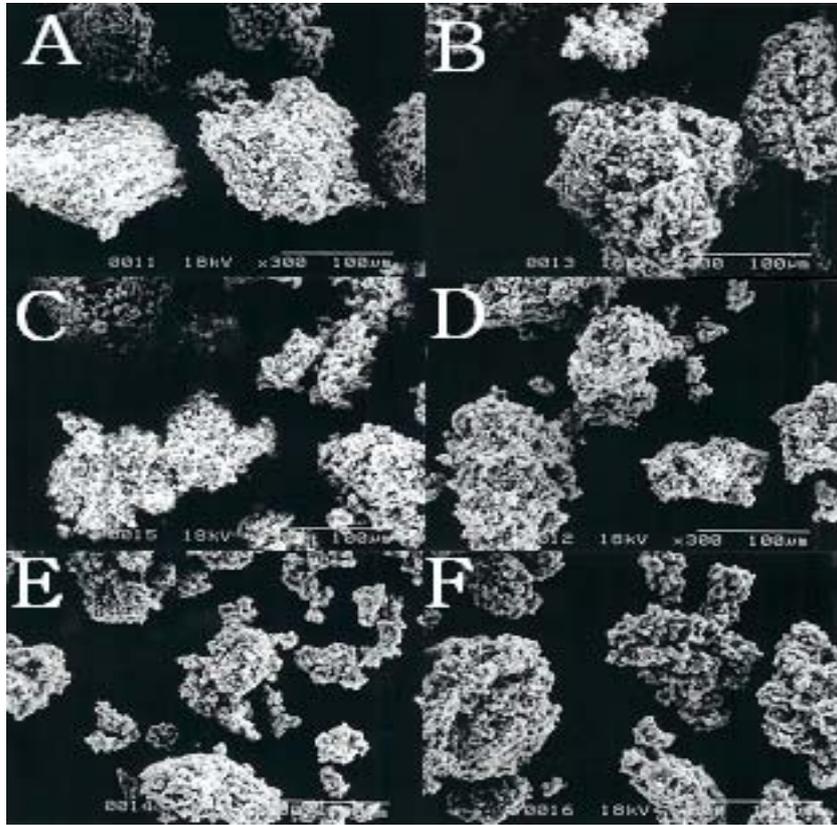


Fig. 32. Scanning electron micrograph(SEM) of flours wet-milled from rices steeped at elevated temperatures. A: stored rice(40°C), B: stored rice(50°C), C: stored rice(60°C), D: newly harvested rice(40°C), E: newly harvested(50°C), F: newly harvested rice(60°C).

6) Annealing처리 쌀가루로 제조한 백설기의 물리적, 관능적 특성

Annealing처리 쌀가루로 제조한 백설기의 저장 초기(Fig. 33) 및 24시간 저장 후(Fig. 34) 관능적 특성분석결과 annealing 처리온도에 의한 영향보다는 수확년도에 의한 영향이 뚜렷하였다. 즉, annealing 처리온도에 관계없이 '02년산으로 제조한 백설기가 '00년산으로 제조한 백설기에 비해 색이 하얗고, 거친정도, 부서짐성, 깔깔한 정도가 적고 백설기의 조직이 조밀하고 촉촉하며, 부착성, 응집성이 높아 패널요원들은 전반적인 품질이 높다고 하였다. 저장 24시간 후, '00년산과 '02년산의 각 관능적 특성에서의 차이는 줄어들었으나, 색의 강도 및 거친정도는 저장 초기와 같이 커다란 차이가 있었다.

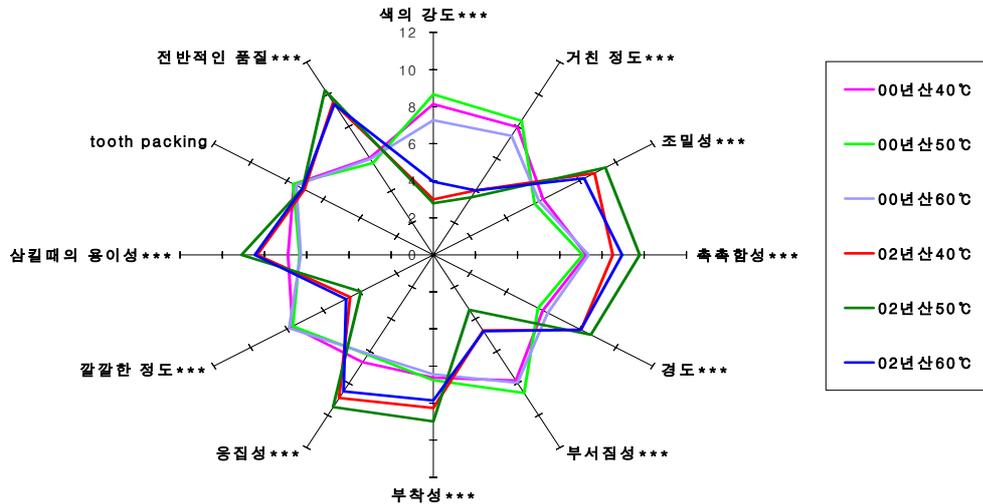


Fig. 33. Annealing처리 쌀가루로 제조한 백설기의 저장 초기의 관능적 특성.

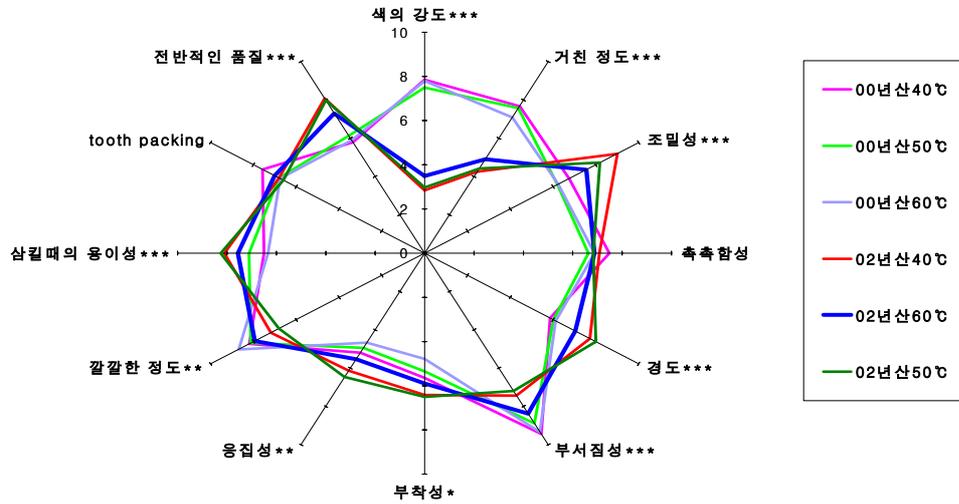


Fig. 34. Annealing처리 쌀가루로 제조한 백설기의 저장 24시간 후 관능적 특성.

Texture analyzer에 의한 annealing처리 쌀가루로 제조한 백설기의 텍스처 특성은 Table 73에 있다. 쌀가공제품의 노화와 관련있는 경도의 경우 저장초기에는 수확년도 및 annealing 처리온도의 영향은 없었으나, 저장 24시간 후 '00년산 annealing 처리군이 '02년산 annealing 처리군에 비해 경도가 낮았다.

Table 73. 쌀가루 제조시 annealing조건에 따른 Texture analyzer에 의한 백설기의 텍스처 특성

수확년도	2000			2002		
수화온도	40℃	50℃	60℃	40℃	50℃	60℃
저장 초기						
Springiness ^{***}	0.60 ^{cd}	0.62 ^{bc}	0.59 ^d	0.65 ^{ab}	0.66 ^a	0.68 ^a
Cohesiveness ^{***}	0.40 ^d	0.43 ^b	0.42 ^c	0.47 ^a	0.48 ^a	0.47 ^a
Chewiness ^{***}	88 ^b	84 ^b	89 ^b	126 ^a	116 ^a	128 ^a
Gumminess ^{***}	157 ^{bc}	135 ^c	142 ^{bc}	198 ^a	176 ^{ab}	145 ^{bc}
Adhesiveness ^{**}	152 ^{ab}	134 ^{ab}	192 ^b	72 ^a	99 ^a	110 ^a
Hardness	360 ^a	320 ^a	349 ^a	398 ^a	379 ^a	381 ^a
저장 24시간 후						
Springiness ^{***}	0.72 ^b	0.74 ^b	0.76 ^b	0.85 ^a	0.85 ^a	0.82 ^a
Cohesiveness ^{***}	0.19 ^b	0.16 ^b	0.14 ^b	0.31 ^a	0.32 ^a	0.32 ^a
Chewiness ^{***}	172 ^b	226 ^b	232 ^b	681 ^a	778 ^a	290 ^b
Gumminess ^{***}	192 ^c	248 ^c	245 ^c	726 ^b	1133 ^a	296 ^c
Adhesiveness	-	-	-	-	-	-
Hardness ^{***}	1210 ^e	1608 ^d	1514 ^d	2255 ^c	3115 ^b	3719 ^a

abc

column내에서 같은 alphabet은 같은 수준임.

*, **, ***

시료가 p=0.05, 0.01, 0.001 수준에서 유의적인 차이가 있음.

나. 고품질 떡류가공식품의 개발

1) Annealing 처리 청결미분의 떡류 제조적성

가) Annealing 처리미분과 청결미분으로 제조한 떡의 텍스처 특성

Annealing 처리미분과 청결미분으로 제조한 떡의 저장 시간에 따른 경도 변화는 Fig. 35에 있다. 저장 온도는 떡의 경도에 커다란 영향을 주었으며, 전반적으로 25℃ 저장군이 5℃ 저장군 떡에 비해 경도가 낮았다. 25℃ 저장군 떡의 경우 48시간을 저장하기 어려웠다. 수침 55℃처리 미분의 경우 저장 48시간 후 다른 실험군에 비해 경도가 높게 나타났다.

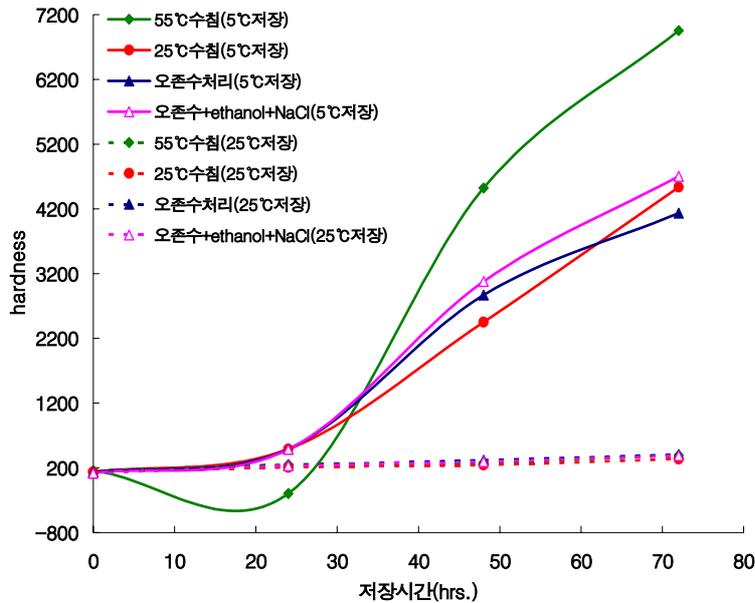


Fig. 35. 미분에 따른 떡의 저장 중 경도 변화.

Annealing 처리미분과 청결미분으로 제조한 떡의 저장 시간에 따른 chewiness(Fig. 36) 및 gumminess(Fig. 37)의 변화는 Fig. 35에서 저장 온도가 떡의 경도에 커다란 영향을 주었듯이, chewiness와 gumminess에서도 전반적으로 25℃ 저장군이 5℃ 저장군 떡에 비해 chewiness 및 gumminess가 낮았다.

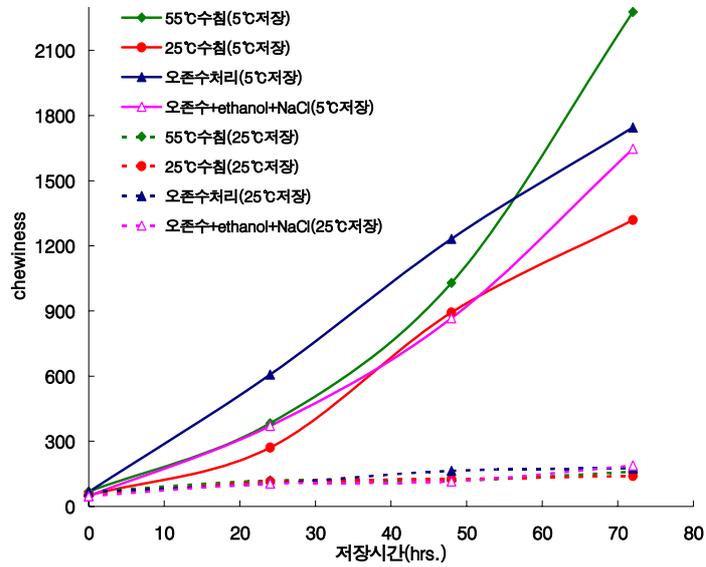


Fig. 36. 미분에 따른 떡의 저장 중 chewiness의 변화.

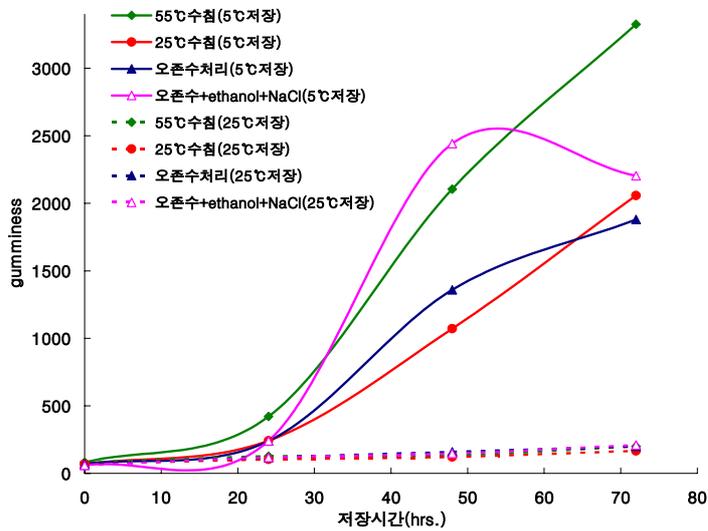


Fig. 37. 미분에 따른 떡의 저장 중 gumminess의 변화.

오존수 처리미분으로 제조한 떡과 (오존수 + Ethanol + NaCl)처리 미분으로 제조한 떡의 경우 5°C에서 4시간 저장후 다른 실험군의 떡에 비해 springiness(Fig. 38)가 높게 나타났으나, 48시간 저장 후에는 저장 온도에 관계없이 모든 실험군 간에는 차이가 없었다.

Cohesiveness의 경우(Fig. 39) 저장 48시간 후 25°C 저장군에 비해 5°C 저장군의 cohesiveness가 낮게 나타났으며, adhesiveness의 경우(Fig. 40) 24시간 저장 후, 25°C 저장군 떡의 adhesiveness가 5°C 저장군에 비해 다소 높게 나타났으나, 48시간 저장 후 5°C 저장군의 adhesiveness가 높게 나타났으며, 저장 72시간 후 그 차이가 더욱 크게 나타났다. 네 시료군중에서 55°C수침 미분으로 만든 떡의 경우 저장 72시간 후 5°C군과 25°C군 모두에서 가장 낮은 adhesiveness를 보여주었다.

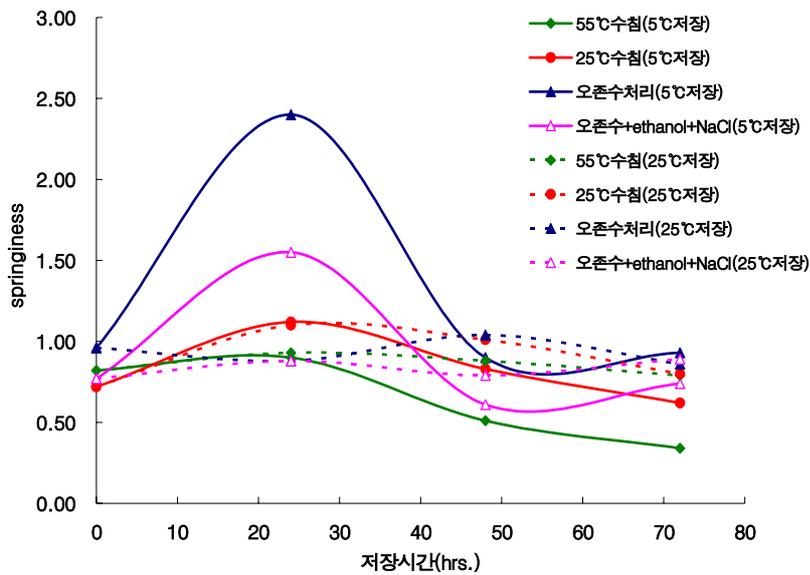


Fig. 38. 미분에 따른 떡의 저장 중 springiness의 변화.

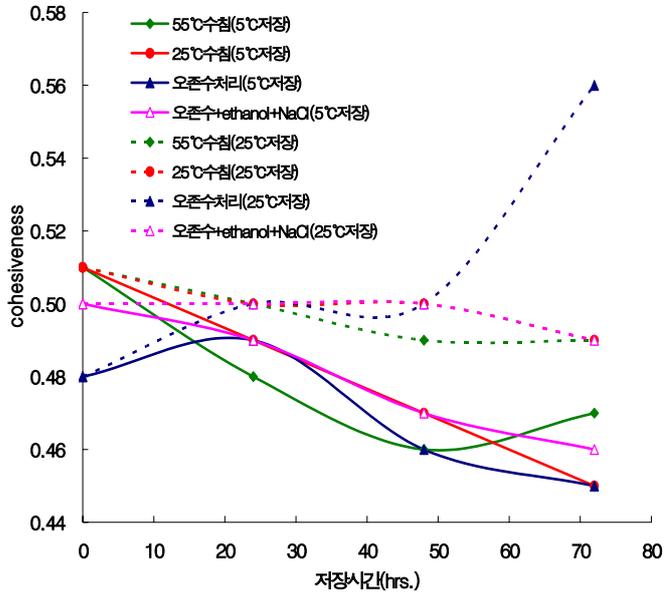


Fig. 39. 미분에 따른 떡의 저장 중 cohesiveness의 변화.

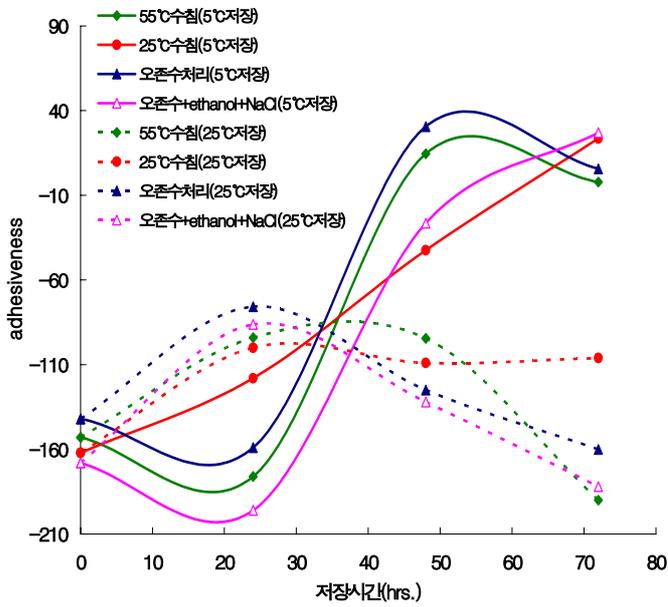


Fig. 40. 미분에 따른 떡의 저장 중 adhesiveness의 변화.

나) Annealing 처리미분과 청결미분으로 제조한 떡의 관능적 특성

제조당일 annealing 미분 및 청결미분으로 제조한 떡의 관능적 특성은 Fig. 41에 있다. 본 실험에 사용된 4 처리군 중 오존수 + ethanol + NaCl 처리군으로 제조한 떡에서 떡 이외의 냄새 및 쓴 맛이 가장 높게 나타나, 이들 처리군의 조정이 필요함을 보여주었다. 전문 패널들은 이들 네처리군 중 55℃ 수침미분으로 제조한 떡은 다른 떡에 비해 경도가 높았으며, 25℃ 수침 미분으로 제조한 떡은 다른 떡에 비해 색이 하얗다고 하였다.

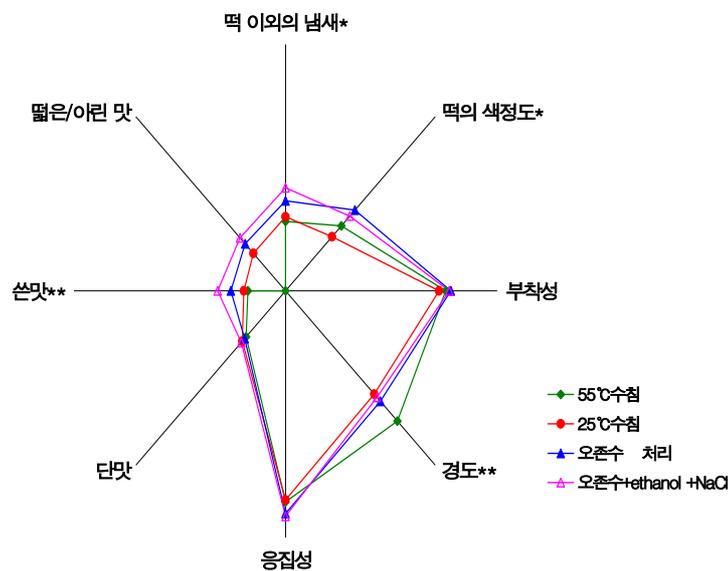


Fig. 41. Annealing 미분 및 청결미분으로 제조한 떡의 관능적 특성-제조 당일.

이들 떡을 5℃에서 24시간 저장한 후의 관능적 특성은 Fig. 42에 있다. 제조 당일에서와 같이 네 처리군중 오존수 ethanol + NaCl 처리군으로 제조한 떡의 쓴맛이 가장 높게 나타났으며, 55℃ 수침 미분으로 제조한 떡의 경우 경도가 높고, 오존수 처리미분으로 제조한 떡과 함께 떡의 색이 강한 것으로 나타났다. 그 외 관능적 특성에서는 네 시료간 유의적인 차이가 없었다.

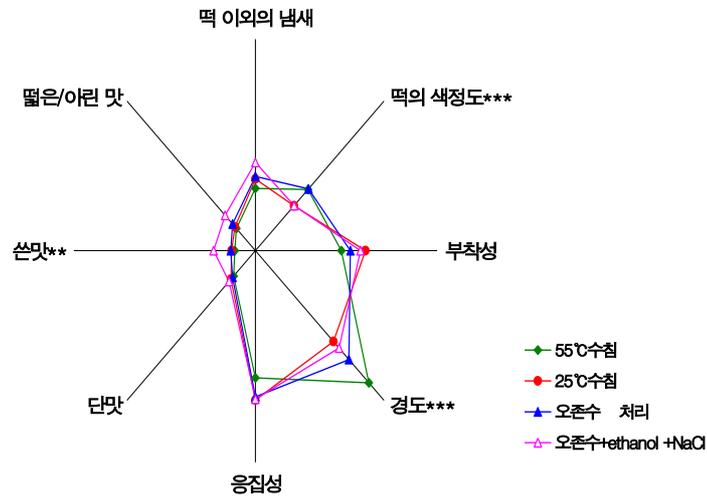


Fig. 42. 청결미분으로 제조한 떡의 관능적 특성 - 5°C 24시간 저장 후.

이들 떡을 25°C에서 24시간 저장한 후의 관능적 특성은 Fig. 43에 있다. 오존수 처리미분으로 제조한 떡과 오존수 + ethanol + NaCl 처리군으로 제조한 떡의 경우 다른 실험군으로 제조한 떡에 비해 떡 이외의 냄새가 강하고 쓴맛, 떫은/아린맛이 높게 나타났다. 55°C 수침 미분으로 제조된 떡의 경우 경도가 비교적 높게 나타났다.

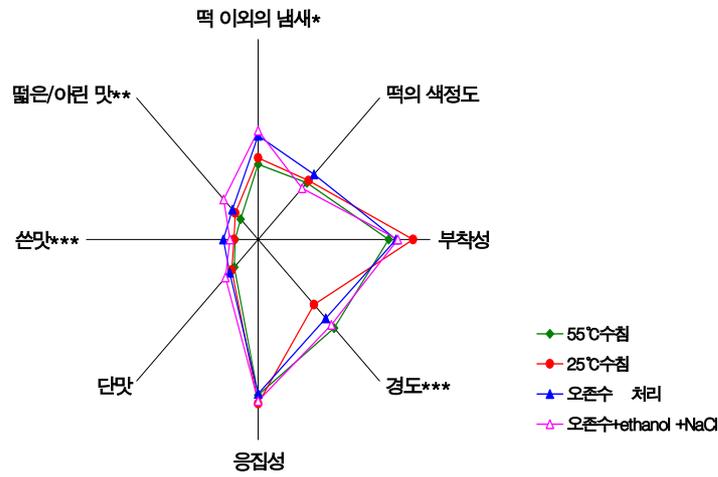


Fig. 43. 청결미분으로 제조한 떡의 관능적 특성 - 25°C 24시간 저장 후.

본 실험에 사용된 네 시료군의 떡을 25°C에서 48시간 저장하였을 때의 외관(Fig. 44)에서 네 시료군의 떡 모두에서 이미 곰팡이를 발견할 수 있었다. 본 실험결과는 미분의 청결도도 중요하지만, 떡 제조 환경에 대한 검토가 필요함을 제시하였다.



Fig. 44. 본 실험에 사용된 떡의 외관 - 25°C 48시간 저장 후.

2) 떡류의 가공, 저장 중 미생물분석

Annealing 처리미분과 청결미분으로 제조한 떡의 저장기간에 따른 미생물의 변화는 Fig. 45와 같다. 떡의 초기 총균수는 25°C에서 수침하여 제조한 떡에 비해 55°C annealing 수침처리하여 제조한 떡과 오존수처리 또는 오존수+ethanol+ NaCl 처리한 떡에서 낮게 나타났다. 특히 오존수+ethanol+NaCl 처리한 떡은 5°C와 25°C 저장 초기일수에 총균수가 가장 낮게 나타났다.

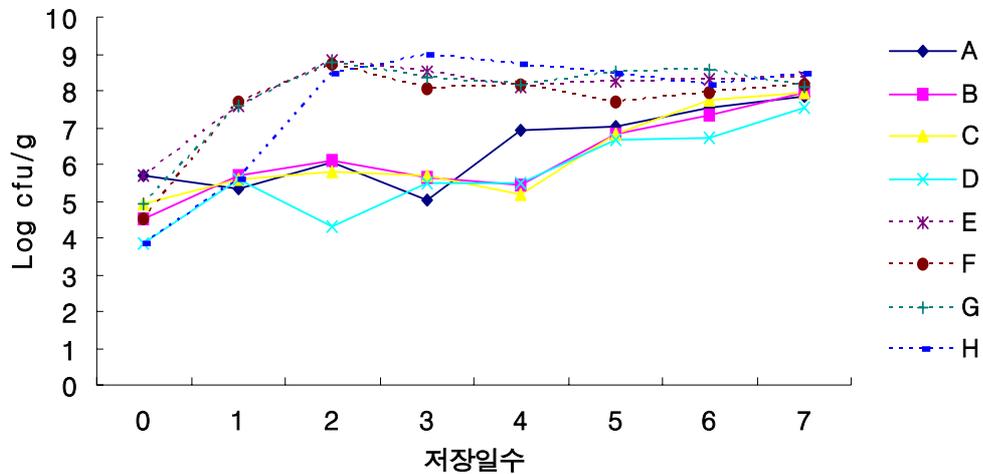


Fig. 45. 미분에 따른 떡의 저장중 총균수 변화.

A: 25°C 수침(5°C 저장), B: 55°C 수침(5°C 저장), C: 오존수 처리(5°C 저장), D: 오존수+EtOH+NaCl(5°C 저장), E: 25°C 수침(25°C 저장), F: 55°C 수침(25°C 저장), G: 오존수 처리(25°C 저장), H: 오존수+EtOH+NaCl(25°C 저장).

떡을 5°C 저장시에 *Bacillus* group은 거의 검출되지 않았으나(Table 74) 25°C에서는 저장일수가 경과함에 따라 증가하였으며 55°C 어닐링 처리하여 제조한 떡에서 그 수치가 가장 낮았다(Fig. 46). Yeast-like strain의 경우 5°C에는 초기 변화가 거의 없었으나 저장 4일후부터 증가하였고 25°C 저장시에는 저장 2일까지 증가하였으며 수침 처리구간에는 크게 차이를 보이지 않았다(Fig. 47).

Table 74. 수침방법에 따른 5°C에서의 *Bacillus* group 생균수의 변화

	수침온도		살균처리	
	25°C	55°C	오존수	오존수+EtOH+NaCl
0	ND	ND	ND*	ND
1	ND	ND	1.0×10 ¹	ND
2	ND	ND	ND	ND
3	ND	ND	ND	ND
4	ND	ND	ND	ND
5	ND	ND	5.0×10 ¹	ND
6	ND	ND	ND	ND
7	ND	ND	ND	ND

* ND: Not detected.

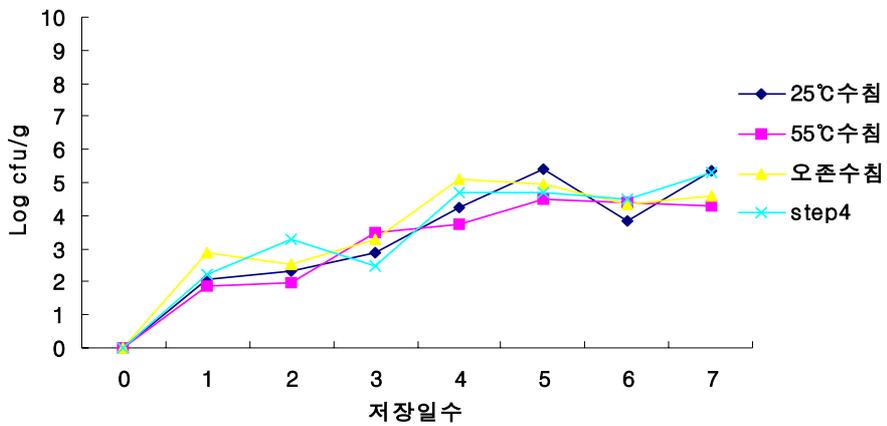


Fig. 46. 미분에 따른 떡의 저장중 *Bacillus* group 생균수의 변화.

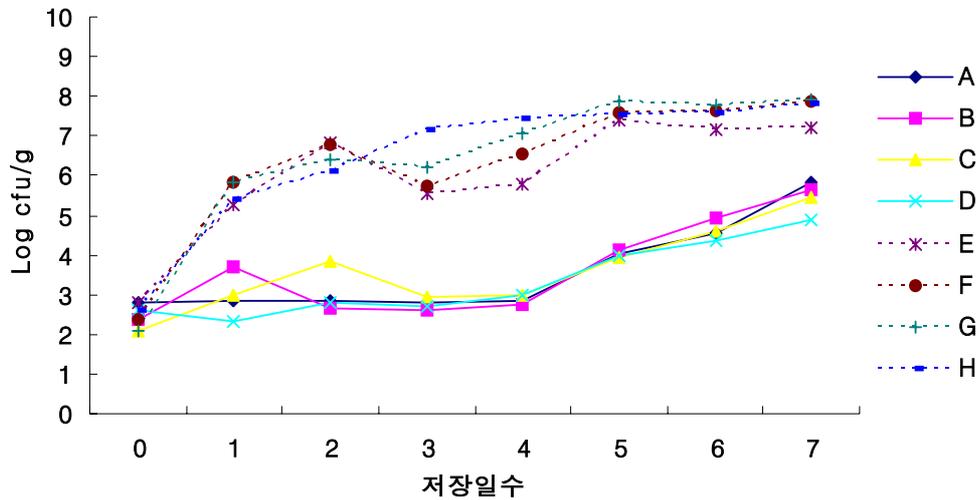


Fig. 47. 미분에 따른 떡의 저장중 Yeast-like strain의 생균수 변화.

A: 25°C수침(5°C 저장), B: 55°C수침(5°C 저장), C: 오존수 처리(5°C 저장), D: 오존수+EtOH+NaCl(5°C 저장), E: 25°C수침(25°C 저장), F: 55°C수침(25°C 저장), G: 오존수 처리(25°C 저장), H: 오존수+EtOH+NaCl(25°C 저장).

3) 시판 떡류의 미생물 분석

시판 떡류 3가지를 수거하여 5°C와 25°C에서 저장중 미생물의 수를 측정한 결과 (Figs. 48~50) 시판 떡류의 초기 생균수는 $10^6 \sim 10^7$ cfu/g 정도로 본 실험에서 제조한 떡에 비해 훨씬 높았으며 저장기간중에 $10^8 \sim 10^9$ cfu/g 정도로 높은 수치를 유지하였다. 시판 떡류는 *Bacillus*에 상당히 오염되어 있었으며 저장일수가 진행됨에 따라 완만히 증가하는 경향을 보여주었다. 전반적으로 시판 떡류는 어닐링 수침처리 또는 살균처리한 미분으로 제조한 떡에 비해 미생물의 오염도가 높게 나타났다.

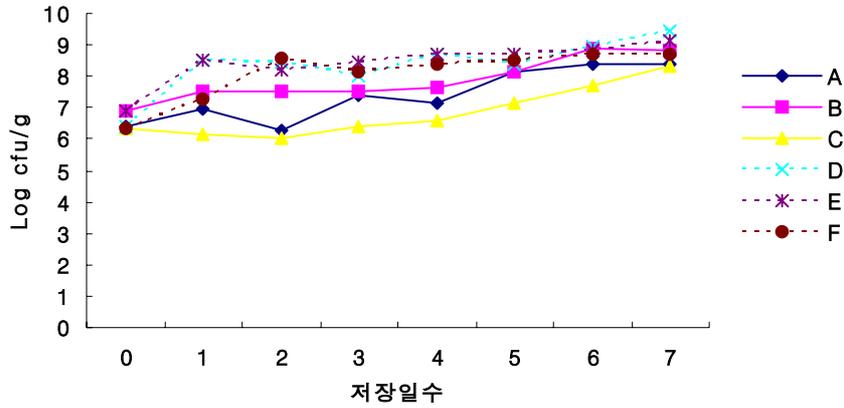


Fig. 48. 시판 떡류의 저장중 총균수 변화.

A : 복정동 떡집(5°C 저장), B : 방이동 떡집1(5°C 저장), C : 방이동 떡집2(5°C 저장), D : 복정동 떡집(25°C 저장), E : 방이동 떡집1(25°C 저장), F : 방이동 떡집 2(25°C 저장).

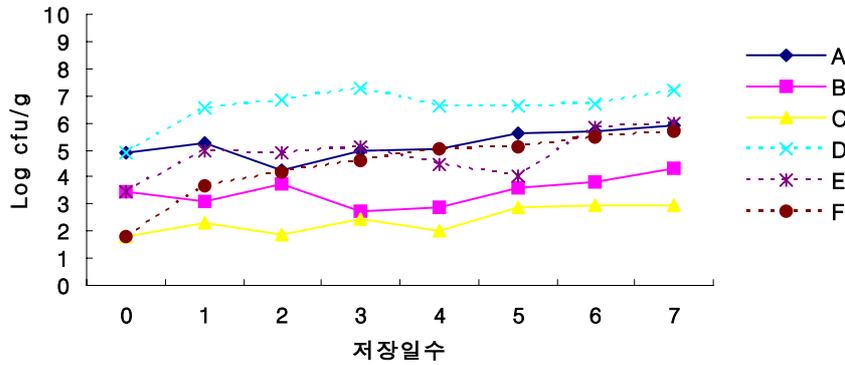


Fig. 49. 시판 떡류의 저장중 *Bacillus* group의 생균수 변화.

A : 복정동 떡집(5°C 저장), B : 방이동 떡집1(5°C 저장), C : 방이동 떡집2(5°C 저장), D : 복정동 떡집(25°C 저장), E : 방이동 떡집1(25°C 저장), F : 방이동 떡집 2(25°C 저장).

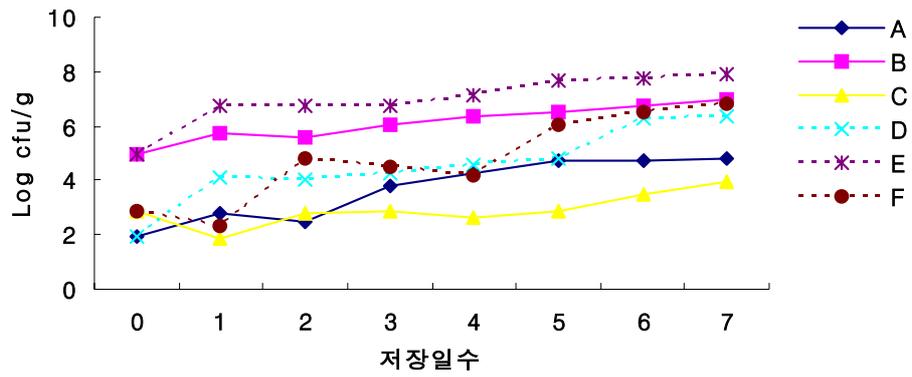


Fig. 50. 시판 떡류의 저장중 Yeast-like strain의 생균수 변화.

A : 복정동 떡집(5℃ 저장), B : 방이동 떡집1(5℃ 저장), C : 방이동 떡집2(5℃ 저장), D : 복정동 떡집(25℃ 저장), E : 방이동 떡집1(25℃ 저장), F : 방이동 떡집 2(25℃ 저장).

다. 고품질 제빵 가공식품의 개발

1) 저장에 따른 케익 머핀의 물리적 특성

케익 머핀 반죽의 pH 및 머핀의 밀도는 Table 75에 있으며, 반죽의 pH와 케익 머핀의 밀도와의 관계는 Fig. 51에 있다. 반죽의 pH는 6.55에서 6.76범위에 있었으며, 케익 머핀의 밀도는 0.43에서 0.49 범위에 있었다. 쌀가루 시료중 수침하였던 시료의 경우 pH가 7.00에 가까웠으며, 밀도 역시 25℃와 50℃에서 수침하여 제조한 쌀가루로 만든 케익 머핀의 밀도가 다소 높게 나타났다. 반습식쌀가루 120과 반습식쌀가루 250의 경우 케익 머핀의 밀도가 낮게 나와 케익과 같은 베이커리 제품에의 적용 가능성을 보여주었다.

반죽의 pH와 케익 머핀의 밀도와의 관계(Fig. 51)에서 반죽과 밀도와의 관계를 2차 수식으로 나타내었을 때 그 수식에 대한 R² 값은 0.64였다. 이때 반죽의 pH가 6.5 근방이었을 때 케익 머핀의 밀도가 낮게 나왔다.

Table 75. 쌀로 만든 케익 머핀 반죽의 pH와 케익 머핀의 밀도

시 료	반습식 120	반습식 250	반습식 400	건식 120	건식2 250	건식 400	25℃ 수침	55℃ 수침
pH*	6.55 ^b	6.58 ^b	6.55 ^b	6.55 ^b	6.56 ^b	6.56 ^b	6.76 ^a	6.62 ^b
밀도*** (g/mL)	0.43 ^c	0.43 ^c	0.45 ^{bc}	0.44 ^c	0.45 ^{bc}	0.45 ^{bc}	0.48 ^{ab}	0.49 ^a

abc row내에서 같은 alphabet은 같은 수준임.
*, **, *** 시료가 p=0.05, 0.01, 0.001 수준에서 유의적인 차이가 있음.

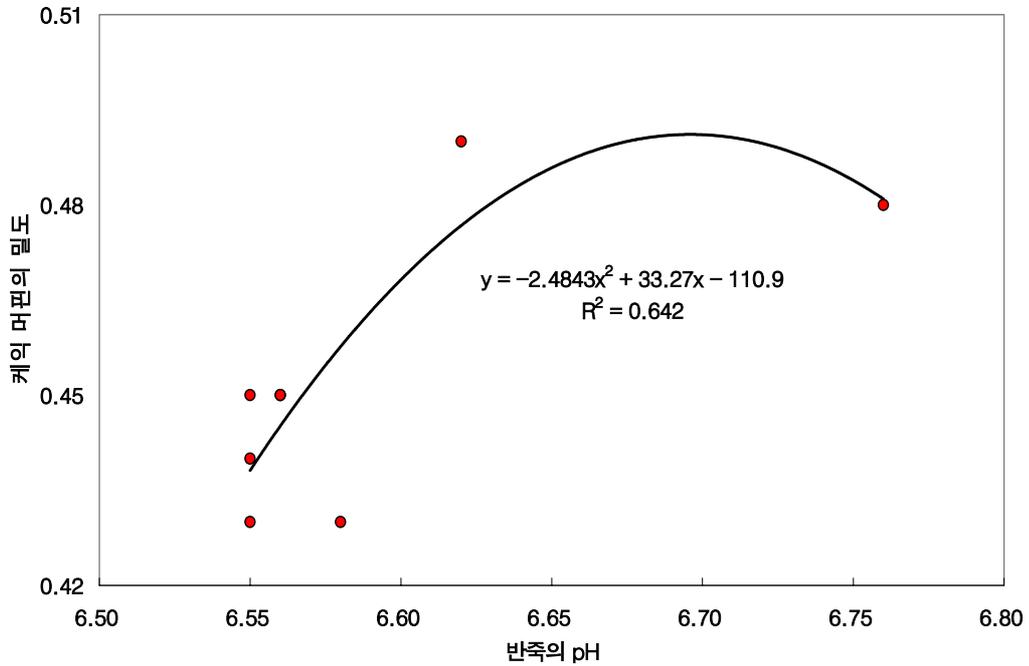


Fig. 51. 반죽의 pH와 케익 머핀의 밀도와의 관계.

쌀을 주원료로 한 머핀 케익의 텍스처 특성을 상온저장 24시간 후 Texture analyser(TA)를 사용하여 측정한 결과는 Table 76과 같다. 모든 특성은 시료들간에 유의적인 차이를 나타냈다. 탄력성과 응집성은 건식 120과 건식 250이 가장 낮았고, 반습식 250, 25℃ 수침과 55℃ 수침이 가장 높았다. 씹힘성, 검성과 경도는 반습식 250이 가장 높았고 건식 250이 가장 낮았다.

쌀가공식품의 주된 문제인 저장중 쉽게 굳어지는 특성은 본 케익 머핀의 경우 나타나지 않았다. 쌀가공제품이라도 formula에 따라, 즉, 설탕과 shortening의 비율이 큰 제품의 경우 제품이 쉽게 굳는 노화현상은 문제가 되지 않음을 보여주고 있다. 다만, 저장 48시간 후 TA의 모든 특성에서 쌀가루에 의한 차이를 보여주었다. 다른 쌀가루 군에 비해 수침하였던 쌀가루로 만든 케익 머핀의 경우 탄력성, 응집성, 씹힘성, 검성과 함께 경도가 낮게 나타났다. 케익 머핀의 TA 정도변화에 대한 쌀가루효과는 Fig. 52에 있다. 건식 400의 경우 경도가 가장 높았으며, 건

식 250의 경우 수침한 쌀가루와 비슷한 경도를 보여주었다. 반습식 쌀가루의 경우 건식 250에 비해 비교적 높은 경도를 보여주었다. 그러나 전반적으로 저장 24시간이었을 때의 케익 머핀의 경도에 비해 48저장 후 경도의 변화는 그리 크게 증가하지 않아, 건식 400을 제외한 본 실험에 사용된 모든 쌀가루는 케익 혹은 머핀을 제조하는데 적합하다고 판단된다. 특히 수침 55의 경우 제품의 경도가 다소 느리게 증가함을 보여주었다. 전반적으로 본 실험에 사용된 모든 쌀가루로 만든 케익 머핀의 경우 저장 48시간 후의 경도는 매우 부드러운 수준이었다.

Table 76. Texture analyzer에 의한 케익 머핀의 텍스처 특성 - 24시간 후

쌀가루 종류	TA 텍스처 특성					
	탄력성***	응집성***	씹힘성***	검성***	부착성***	경도***
반습식 120	0.77 ^b	0.37 ^b	155 ^b	205 ^b	-0.34 ^b	560 ^a
반습식 250	0.81 ^a	0.43 ^a	202 ^a	250 ^a	3.41 ^a	571 ^a
반습식 400	0.79 ^{ab}	0.36 ^b	145 ^{bc}	182 ^{bc}	3.53 ^a	503 ^{ab}
건식 120	0.76 ^b	0.35 ^b	136 ^{bc}	178 ^{bc}	2.48 ^a	510 ^{ab}
건식 250	0.77 ^b	0.35 ^b	117 ^c	152 ^c	-4.07 ^c	431 ^b
건식 400	0.78 ^{ab}	0.39 ^{ab}	150 ^b	191 ^{bc}	-0.15 ^b	493 ^{ab}
25℃ 수침	0.81 ^a	0.42 ^a	154 ^b	190 ^{bc}	1.43 ^{ab}	454 ^b
55℃ 수침	0.80 ^a	0.43 ^a	160 ^b	198 ^b	2.30 ^a	456 ^b

abc

row내에서 같은 alphabet은 같은 수준임.

*, **, ***

시료가 p=0.05, 0.01, 0.001 수준에서 유의적인 차이가 있음.

Table 77. Texture analyzer에 의한 케익 머핀의 텍스처 특성 - 48시간 후

쌀가루 종류	TA 텍스처 특성					
	탄력성***	응집성***	씹힘성***	검성***	부착성***	경도***
반습식120	0.73 ^a	0.28 ^a	149 ^{ab}	204 ^{ab}	6.94 ^a	739 ^{abc}
반습식250	0.72 ^a	0.28 ^a	159 ^a	218 ^{ab}	0.06 ^a	753 ^{ab}
반습식400	0.70 ^{ab}	0.27 ^a	154 ^a	214 ^{ab}	-5.53 ^a	786 ^{ab}
건식 120	0.73 ^a	0.28 ^a	144 ^{ab}	196 ^{ab}	2.14 ^a	689 ^{abcd}
건식 250	0.72 ^a	0.26 ^a	120 ^{abc}	165 ^{bc}	5.07 ^a	631 ^{cd}
건식 400	0.67 ^{bc}	0.28 ^a	155 ^a	226 ^a	-5.44 ^a	799 ^a
25°C 수침	0.65 ^c	0.25 ^{ab}	109 ^{bc}	167 ^{bc}	2.44 ^a	670 ^{bcd}
55°C 수침	0.64 ^c	0.23 ^b	88 ^c	137 ^c	3.66 ^a	614 ^d

abc

row내에서 같은 alphabet은 같은 수준임.

*, **, ***

시료가 p=0.05, 0.01, 0.001 수준에서 유의적인 차이가 있음.

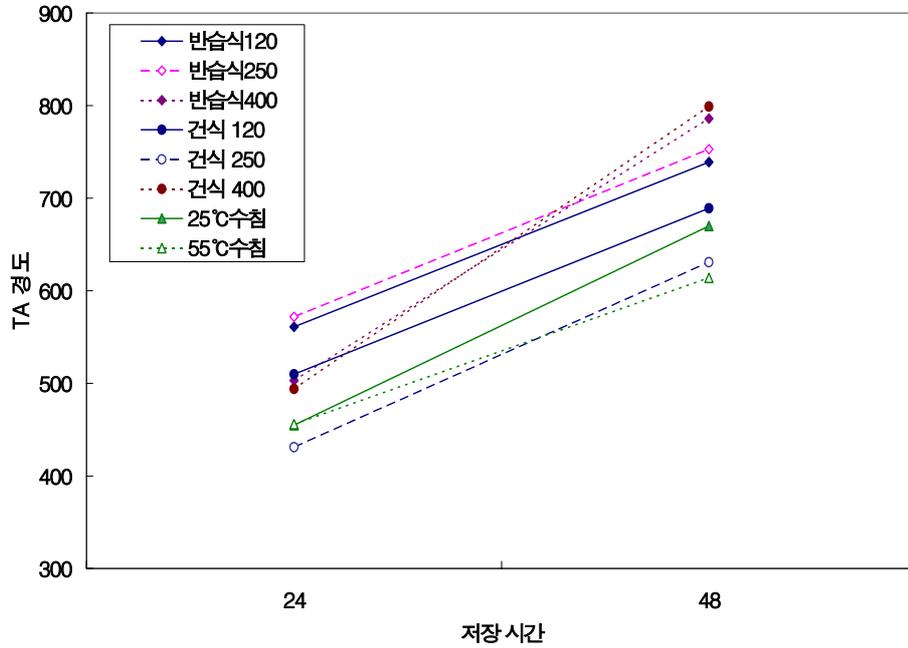


Fig. 52. 케익 머핀의 TA 정도변화에 대한 쌀가루 효과.

2) 저장에 따른 케익 머핀의 관능적 특성

상은 저장 24시간 된 케익 머핀의 관능적 특성은 Fig. 53에 있으며, 그에 대한 Table은 Appendix 2에 있다. 케익 머핀의 특성에서 옥수수향미는 케익 머핀을 만드는 재료로서 사용된 전분이 옥수수전분이었음에 기인된 것으로 생각된다. 케익 머핀에 대한 쌀가루의 효과를 보여준 관능적 특성은 ‘노란색의 정도, 표면의 거칠음성, 기공의 균일성, 응집성, 단맛, 계란맛, 버터맛, 단맛의 후미, 입안을 덮는 정도’였다.

건식 400과 습식 400 쌀가루로 만든 케익 머핀의 경우 다른 쌀가루로 만든 케익 머핀에 비해 노란색이 강하고 건식 120의 경우 표면의 거칠음성이 크고 기공의 균일성, 응집성, 단맛, 계란맛, 버터맛, 단맛의 후미, 입안을 덮는 정도가 낮게 나타났다.

반습식 400의 경우 기공의 균일성이 가장 낮았으며, 응집성이 가장 높게 나타났

다. 수침한 쌀가루의 경우 수침온도에 관계없이 기공의 균일성이 높게 나타났으며, 응집성이 다소 낮고, 단맛, 계란맛, 버터맛, 단맛의 후미, 입안을 덮는 정도가 다소 높게 나타났다. 침지 쌀가루의 경우 다른 쌀가루에 비해 케익 머핀의 단맛과 기타 향미를 증가시키는 경향을 보여주었다.

상은 저장 48시간 된 케익 머핀의 관능적 특성은 Fig. 54에 있으며, 그에 대한 Table은 Appendix 3에 있다. 저장 48시간 후 케익 머핀에 대한 쌀가루의 효과를 보여준 관능적 특성은 '노란색의 정도, 표면의 거칠음성, 기공의 균일성'이었으며, 그 외 특성에서 쌀가루에 의한 차이는 없었다. 저장 48시간대에서는 수침한 쌀가루로 만든 케익 머핀의 색이 더 노랗고 기공이 더 균일하게 나타났다. 또한 반습식 400 쌀가루로 만든 케익 머핀의 경우 노란색이 강하고 건식 120의 경우 표면의 거칠음성이 크고 기공의 균일성이 낮게 나타났다. 이외 향, 맛, 조직감, 후미의 특성에서 쌀가루에 의한 커다란 차이는 보이지 않았다.

본 실험 결과 건식 120의 경우를 제외하고는 케익머핀용 쌀가루로 적합할 것으로 기대된다. 쌀가루로 만든 케익 머핀의 경우 조직이 너무 부드러워 쉽게 부수지는 경향이 있는데, 이점을 감안할 때 반습식 쌀가루 400의 경우 가장 적합한 것으로 판단된다.

케익 머핀의 물리적 특성과 관능적 특성과의 상관분석 결과는 Appendix 4에 있다. 케익 머핀의 노란색 정도는 촉촉함성과 버터 맛과 (+) 상관이 있었으며, 기공의 균일성은 촉촉함성, 버터맛과 (+) 상관이 있었다. 계란향이 높을 수록 계란맛과 버터맛이 높았으며, 단향은 버터 향, 단맛의 후미 및 입안을 덮는 정도와 (+) 상관을 보여주었다. 버터향은 버터 맛 및 입안을 덮는 정도와 (+) 상관이 있었다. 우유향의 경우 TA의 springiness, cohesiveness와 (-) 상관, hardness와 (+) 상관을 보여주었다. 씹힘성은 머핀의 밀도와 (+)상관이 있었으며, 응집성은 부착성과 (+) 상관이 있었고, 단맛은 버터맛, 단맛의 후미, 입안을 덮는 정도와 (+) 상관이 있었다. 짠맛은 TA의 springiness와 cohesiveness와 (+) 상관, hardness와는 (-) 상관이 있었고, 계란맛은 버터맛과 (+) 상관, 밀도와 반죽의 pH와 (+) 상관이 있었다. TA 특성중 springiness는 cohesiveness와 (+)상관, hardness와는 (-)상관 관계였으며, chewiness는 gumminess와 (+) 상관을 보여주었다.

케익 머핀의 관능적 특성 및 물리적 특성자료를 요약하기 위해 PCA분석을 한 결과 PCA 1과 PCA 2좌표상에서의 각 특성의 위치는 Fig. 55에 있으며, 저장시간

에 따른 쌀가루별 케익 머핀의 위치는 Fig. 56에 있다. PCA 1은 총변동의 92%를, PCA 2는 총변동의 8%를 설명해 주고 있으며, 위에서 언급한 상관관계를 PCA 1과 PCA 2좌표상의 위치로서 보여주고 있다.

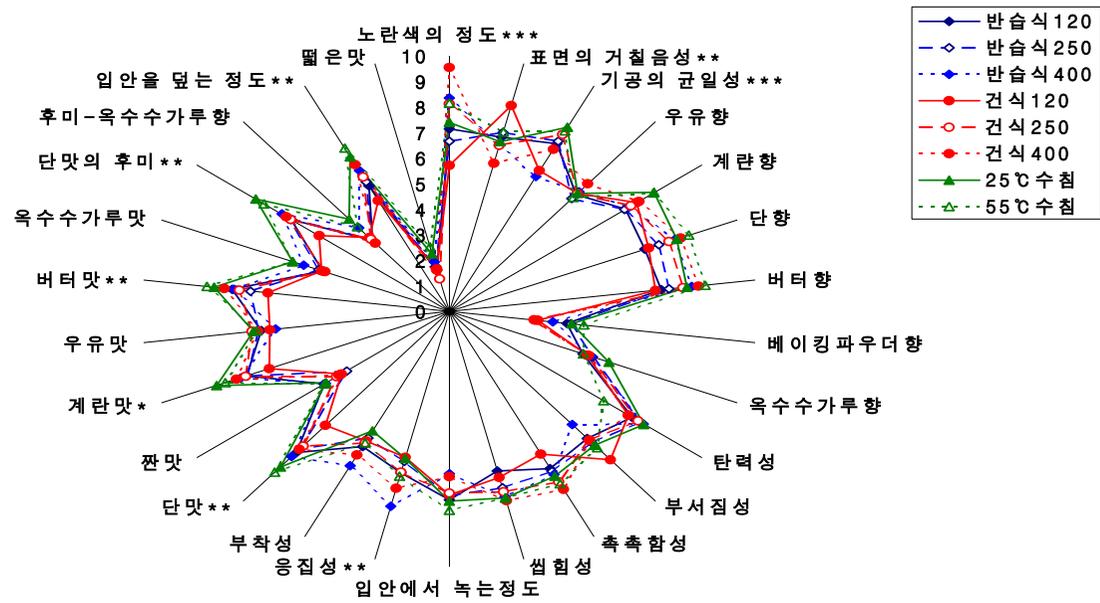


Fig. 53. 케익 머핀의 관능적 특성분석 - 저장 24시간 후.

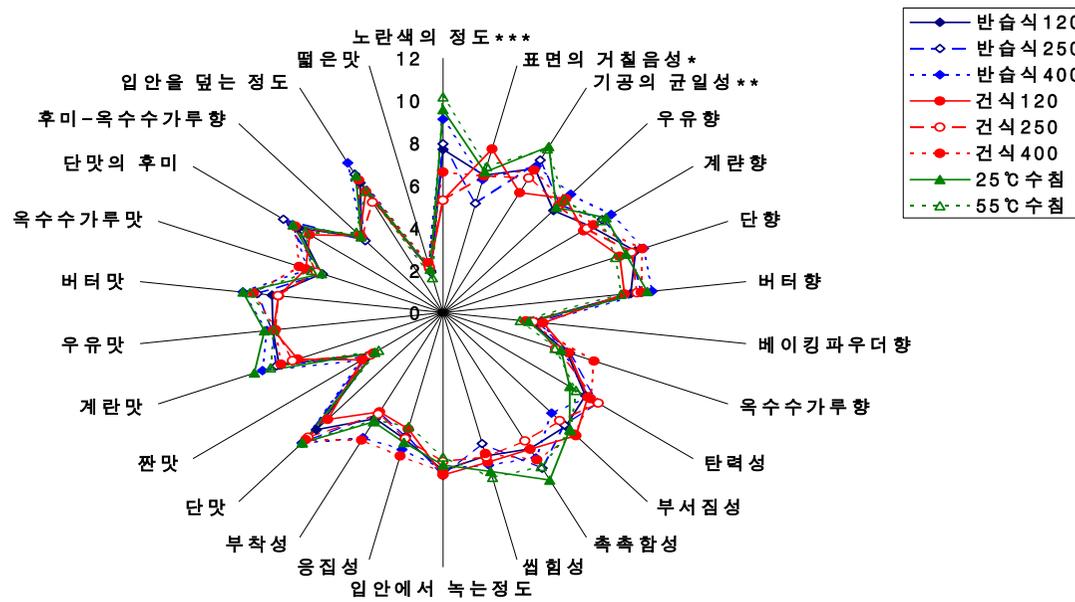


Fig. 54. 케익 머핀의 관능적 특성분석- 저장 48시간 후.

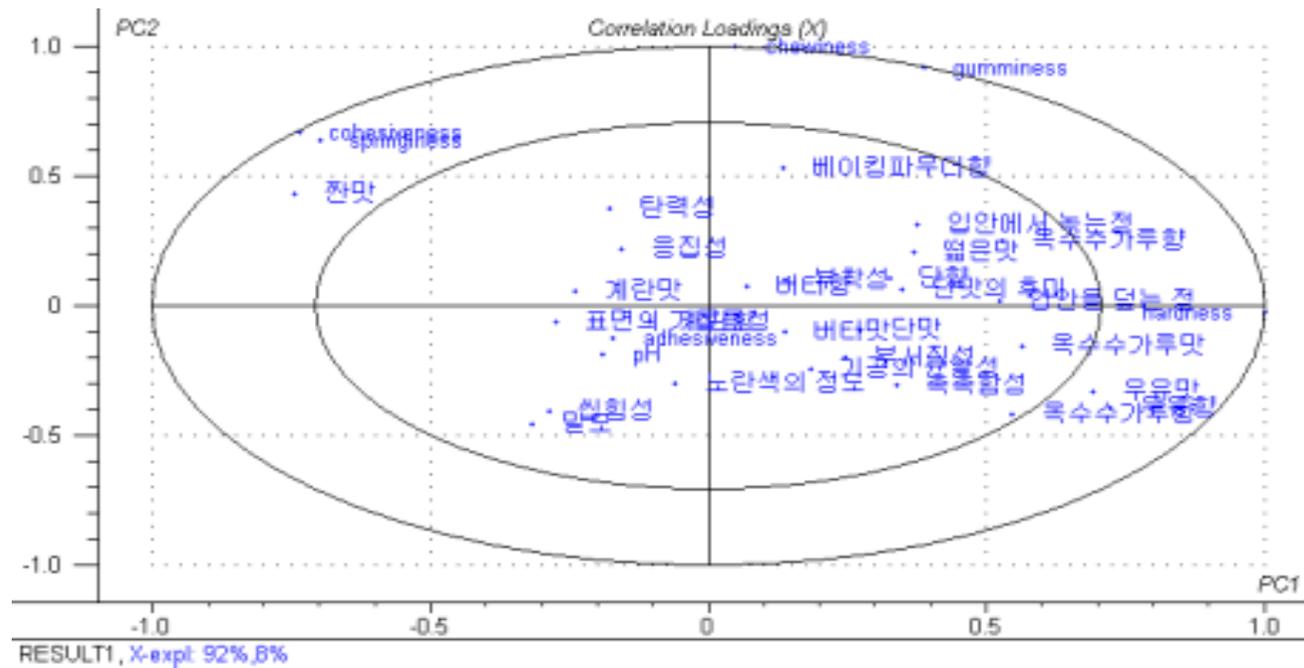


Fig. 55. PCA 1과 PCA 2좌표상에서의 각 특성의 위치.

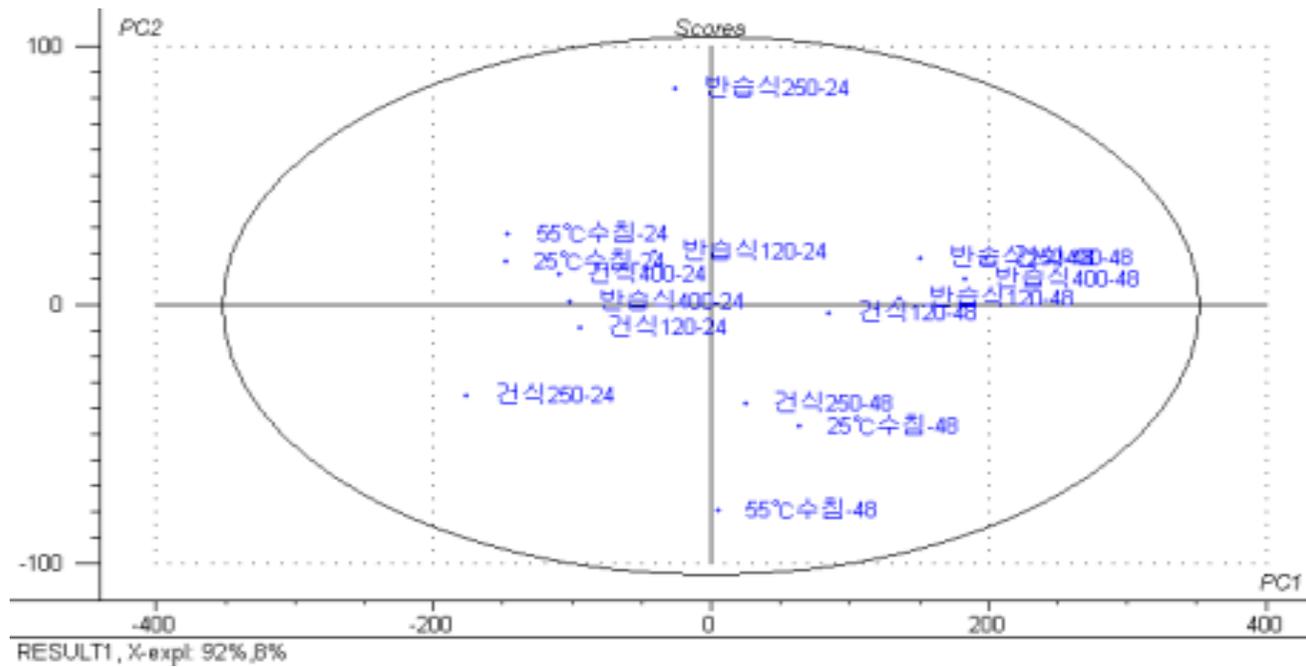


Fig. 56. PCA 1과 PCA 2좌표상에서의 쌀가루별 케익머핀-(저장시간)의 위치.

본 연구에서 제안하는 케익 머핀 용 premix의 비율은 Table 78과 같으며, 케익 머핀은 머핀 뿐만 아니라 케익도 가정에서 쉽게 구워낼 수 있는 formula이다.

Table 78. 케익 머핀용 쌀가루 Premix의 비율 및 사용법

재료	비율
Sugar	40.5%
Salt	1.1%
Milk powder	4.7%
Rice flour	40.5%
Starch	10.1%
Flavor(Vanilla)	1.0%
Baking powder	0.6%
Emulsifier	0.5%
Methyl Cellulose	0.5%
Gums	0.5%

(사용방법)

프리믹스 500 gram pkg에 대해

1. 계란 3개와 쇼트닝 160 gram을 넣어 중간속도(혹은 가정용 Hobart mixer speed 4~6)에서 3분간 혼합한다.
2. 크림상태의 쇼트닝-계란 혼합물에 프리믹스와 물 120 mL를 넣고 저속도(speed 2)에서 1분간 섞은 후, 주걱으로 반죽을 위 아래로 섞는다.
3. 중간속도(혹은 Hobart mixer speed 4~6)에서 1분간 혼합한다.
4. 팬에 담아 185℃ 예열된 오븐에서 먹음직한 갈색이 될 때(20~25분)까지 구워낸다.

Appendix 1. 케익 머핀의 관능적 묘사특성 용어정의

	특성	정의
외관	노란색의 정도 (열은 - 진한)	노란색의 정도
	표면의 거칠음성 (약함 - 강함)	표면의 거칠은 정도 : 표면이 매끄러운 경우는 표면의 거칠음성이 약함
	기공의 균일성 (약함 - 강함)	기공크기의 균일함 : 기공의 크기가 불균일한 경우 기공의 균일성이 약함
향	우유향 (약함 - 강함)	우유향의 정도
	계란향 (약함 - 강함)	계란향의 정도
	단향 (약함 - 강함)	단향의 정도
	버터향 (약함 - 강함)	버터향의 정도
	베이킹파우더향 (약함 - 강함)	베이킹파우더 향의 정도
	옥수수가루향 (약함 - 강함)	옥수수가루향의 정도
Texture	탄력성 (약함 - 강함)	손으로 시료의 반 정도를 누른 후 원상태로 돌아오는 정도
	부서짐성 (약함 - 강함)	포크로 쪼개보았을 때 부서지는 정도
	촉촉함성 (약함 - 강함)	입술에 닿았을 때 느껴지는 수분(물기)의 정도
	씹힘성 (약함 - 강함)	삼키기 전까지 씹는 수
	입안에서 녹는 정도 (약함 - 강함)	입안에서 녹는 정도
	응집성 (약함 - 강함)	입안에서 씹는 동안 뭉치는 정도
	부착성 (약함 - 강함)	씹을 때 이에 달라붙는 정도
향미	단맛 (약함 - 강함)	단맛의 정도
	짠맛 (약함 - 강함)	짠맛의 정도
	계란맛 (약함 - 강함)	계란맛의 정도
	우유맛 (약함 - 강함)	우유맛의 정도
	버터맛 (약함 - 강함)	버터맛의 정도
	옥수수가루맛 (약함 - 강함)	옥수수가루맛의 정도
후미	단맛의 후미 (약함 - 강함)	먹은 후 입안에 단맛이 남는 정도
	옥수수가루향 (약함 - 강함)	옥수수가루향의 정도 / 익히지 않은 곡식가루의 향미
	입안을 덮는 정도 (약함 - 강함)	삼킨 후 입에 남는 느끼함
	뽀은 맛 (약함 - 강함)	뽀은 정도

Appendix 2. 케익 머핀의 관능적 특성-24시간 후

시 료 특 성		반습식			건식			25℃	55℃
		120	250	400	120	250	400	수침	수침
외관	노란색의 정도***	7.15 ^{bc}	6.65 ^{cd}	8.35 ^b	5.71 ^d	8.11 ^b	9.55 ^a	7.39 ^{bc}	8.14 ^b
	표면의 거칠음성**	7.01 ^{ab}	7.22 ^{ab}	6.70 ^b	8.30 ^a	6.70 ^b	5.97 ^b	6.85 ^{ab}	7.24 ^{ab}
	기공의 균일성***	7.42 ^{ab}	7.53 ^{ab}	5.98 ^c	6.24 ^{bc}	7.83 ^a	7.17 ^{abc}	8.16 ^a	8.00 ^a
향	우유향	6.15	5.94	6.30	6.22	6.18	6.72	6.22	5.99
	계란향	6.97	6.94	7.15	7.42	7.19	7.50	8.11	8.08
	단향	6.80	7.28	7.83	6.92	7.63	8.03	7.90	8.32
	버터향	6.92	7.18	7.92	6.73	7.65	8.15	7.77	8.37
	베이킹파우더향	3.84	3.97	3.39	2.89	2.77	2.81	4.00	4.40
	옥수수가루향	4.65	4.97	4.93	4.79	4.83	4.81	5.54	4.67
조직감	탄력성	7.23	7.57	7.69	7.09	7.48	7.09	7.71	6.10
	부서짐성	6.69	6.91	5.95	7.82	6.78	6.79	7.05	7.19
	촉촉함성	6.97	7.10	7.23	6.33	7.55	7.90	7.30	7.64
	씹힘성	6.43	7.11	7.47	6.70	7.28	7.63	7.52	7.52
	입안에서 녹는 정도	7.38	7.20	6.36	7.19	7.11	6.47	7.42	7.78
	응집성**	6.52 ^{ab}	6.04 ^b	7.87 ^a	5.88 ^b	6.49 ^{ab}	7.15 ^{ab}	5.93 ^b	6.66 ^{ab}
	부착성	5.99	5.62	6.84	5.74	5.83	6.37	5.31	5.82
향미	단맛**	7.43 ^{ab}	7.27 ^{ab}	7.64 ^a	6.00 ^b	7.09 ^{ab}	7.27 ^{ab}	8.20 ^a	8.48 ^a
	짠맛	4.96	4.07	4.91	4.27	4.47	4.36	4.89	4.94
	계란맛*	7.05 ^{ab}	7.03 ^{ab}	7.25 ^{ab}	6.25 ^b	7.08 ^{ab}	7.39 ^{ab}	8.08 ^a	7.78 ^{ab}
	우유맛	6.15	6.23	5.69	5.87	6.45	6.26	6.40	6.30
	버터맛**	7.10 ^{ab}	6.50 ^{ab}	7.04 ^{ab}	5.93 ^b	6.86 ^{ab}	7.35 ^{ab}	7.70 ^a	7.92 ^a
	옥수수가루맛	4.41	4.53	5.06	4.45	4.36	4.32	5.45	5.45
후미	단맛의 후미**	6.26 ^{ab}	6.37 ^{ab}	6.64 ^{ab}	5.17 ^b	6.28 ^{ab}	6.45 ^{ab}	7.66 ^a	7.34 ^a
	옥수수가루향	3.73	3.75	4.39	3.87	3.80	3.60	4.85	4.46
	입안을 덮는 정도**	5.55 ^{ab}	5.75 ^{ab}	6.23 ^{ab}	4.91 ^b	5.95 ^{ab}	6.52 ^{ab}	6.85 ^a	7.23 ^a
	뽀은맛	1.66	1.80	1.99	1.71	1.30	1.66	2.31	2.60

abc row내에서 같은 alphabet은 같은 수준임.

*, **, *** 시료가 p=0.05, 0.01, 0.001 수준에서 유의적인 차이가 있음.

Appendix 3. 케익 머핀의 관능적 특성-48시간 후

시 료 특 성		반습식			건식			25℃	55℃
		120	250	400	120	250	400	수침	수침
외 관	노란색의 정도***	7.70 ^b	7.96 ^b	9.12 ^a	5.30 ^c	5.29 ^c	6.62 ^{bc}	9.56 ^a	10.17 ^a
	표면의 거칠음성*	6.68 ^{ab}	5.29 ^b	6.45 ^{ab}	7.96 ^a	6.64 ^{ab}	6.64 ^{ab}	6.84 ^{ab}	7.09 ^{ab}
	기공의 균일성***	7.69 ^{ab}	8.15 ^{ab}	7.83 ^{ab}	6.41 ^b	7.18 ^{ab}	7.61 ^{ab}	8.85 ^a	8.75 ^a
향	우유향	6.48	6.86	7.50	7.23	6.79	6.99	6.66	7.13
	계란향	7.08	7.63	8.07	6.74	6.91	7.23	7.80	7.59
	단향	8.11	7.88	8.45	7.44	7.94	8.38	7.70	7.27
	버터향	7.43	7.85	8.27	7.18	7.68	7.85	8.09	7.06
	베이킹파우더향	3.45	3.68	3.90	3.97	3.58	3.27	3.38	3.05
	옥수수가루향	5.22	5.33	5.03	5.29	4.74	6.36	4.98	4.71
조 직 감	탄력성	6.84	7.41	6.97	6.95	7.46	7.10	6.08	6.38
	부서짐성	7.21	7.13	6.36	7.81	6.86	7.71	7.44	7.48
	촉촉함성	7.27	8.32	7.76	7.30	6.86	7.87	8.95	8.22
	씹힘성	6.96	6.37	7.42	7.28	7.02	6.85	7.72	8.01
	입안에서 녹는정도	7.44	7.67	7.36	7.66	7.02	7.52	7.19	6.81
	응집성	6.15	6.00	6.66	5.66	6.13	6.97	6.30	5.55
	부착성	5.66	5.39	6.69	5.29	5.43	6.82	5.83	5.72
향 미	단맛	7.43	8.27	8.30	6.77	7.92	8.07	8.25	8.28
	짠맛	3.33	3.64	3.91	3.90	3.48	3.33	3.26	3.09
	계란맛	6.91	7.02	7.60	6.13	6.34	6.81	7.93	7.26
	우유맛	6.74	6.77	6.99	6.72	6.64	6.65	7.08	6.71
	버터맛	6.77	7.36	7.92	6.52	6.53	7.51	7.91	7.63
	옥수수가루맛	5.11	5.08	5.70	5.76	5.33	6.07	5.11	5.55
후 미	단맛의 후미	6.94	7.65	7.23	6.41	7.08	7.11	7.21	6.60
	옥수수가루향	4.77	4.57	4.73	4.89	4.79	4.86	4.81	5.10
	입안을 덮는 정도	6.93	7.38	8.00	6.45	5.90	7.07	7.30	6.45
	뽀은맛	2.04	1.97	2.28	2.13	2.24	2.44	2.10	1.71

abc

row내에서 같은 alphabet은 같은 수준임.

*, **, ***

시료가 p=0.05, 0.01, 0.001 수준에서 유의적인 차이가 있음.

Appendix 4. 케익 머핀의 관능적 특성과 물리적 특성과의 상관계수(r) - (1/6)

	관능적 특성							
	노란색의 정도	표면의 거칠음성	기공의 균일성	우유향	계란향	단향	버터향	
노란색의 정도	1.00							
표면의 거칠음성	-0.47	1.00						
기공의 균일성	0.57	-0.38	1.00					
우유향	0.17	-0.23	0.12	1.00				
계란향	0.58	-0.23	0.55	0.07	1.00			
단향	0.25	-0.53	0.22	0.33	0.43	1.00		
버터향	0.46	-0.59	0.29	0.17	0.58	0.86	1.00	
베이킹 파우더향	-0.24	0.09	0.11	-0.09	0.18	0.19	0.19	
옥수수가루향	-0.23	-0.19	0.07	0.30	0.01	0.43	0.16	
탄력성	-0.43	-0.21	-0.47	-0.22	-0.38	-0.12	-0.18	
부서짐성	-0.31	0.46	0.16	0.17	-0.04	-0.20	-0.38	
촉촉함성	0.73	-0.53	0.72	0.42	0.46	0.37	0.55	
관능적 특성	썩힘성	0.60	0.09	0.29	0.17	0.41	0.24	0.37
	입안에서의 녹는정도	-0.38	0.14	0.28	0.04	0.15	0.14	-0.02
	응집성	0.28	-0.35	-0.33	-0.14	0.03	0.42	0.56
	부착성	0.36	-0.22	-0.22	0.18	0.10	0.37	0.40
	단맛	0.51	-0.56	0.70	0.26	0.58	0.59	0.65
	짠맛	-0.08	0.15	-0.38	-0.63	0.13	-0.15	0.08
	계란맛	0.74	-0.36	0.63	-0.17	0.79	0.37	0.62
	우유맛	0.23	-0.31	0.67	0.67	0.23	0.39	0.29
	버터맛	0.72	-0.47	0.70	0.27	0.76	0.55	0.70
	옥수수가루맛	-0.05	0.01	0.21	0.62	0.24	0.54	0.30
	단맛의 후미	0.28	-0.62	0.58	0.26	0.50	0.72	0.70
	옥수수 가루 향	0.06	-0.04	0.35	0.60	0.24	0.42	0.21
	입안을 덮는 정도	0.50	-0.54	0.54	0.51	0.61	0.79	0.76
	뽀은맛	-0.17	-0.01	0.11	0.23	0.37	0.66	0.51
	Springiness	-0.27	0.12	-0.44	-0.74	-0.07	-0.12	-0.01
	Cohesiveness	-0.11	0.15	-0.23	-0.79	0.12	-0.12	0.05
TA	Chewiness	-0.31	-0.08	-0.25	-0.34	-0.07	0.14	0.08
특성	Gumminess	-0.29	-0.16	-0.13	-0.09	-0.09	0.21	0.09
	Adhesiveness	-0.16	0.27	-0.13	-0.30	-0.25	-0.28	-0.32
	Hardness	-0.05	-0.27	0.19	0.73	-0.10	0.32	0.07
기타	머핀밀도	0.49	0.11	0.52	0.03	0.67	0.24	0.39
	반죽 pH	0.32	-0.01	0.62	-0.15	0.60	0.06	0.27

Appendix 4. 케익 머핀의 관능적 특성과 물리적 특성과의 상관관계수(r) - (2/6)

		관능적 특성					
		베이킹 파우더향	옥수수 가루향	탄력성	부서짐성	촉촉함성	씹힘성
관능적 특성	베이킹 파우더향	1.00					
	옥수수가루향	0.07	1.00				
	탄력성	-0.06	0.19	1.00			
	부서짐성	-0.10	0.34	-0.46	1.00		
	촉촉함성	-0.08	0.19	-0.52	0.10	1.00	
	씹힘성	-0.09	-0.21	-0.42	-0.09	0.42	1.00
	입안에서의 녹는정도	0.61	0.38	-0.23	0.49	0.02	-0.43
	응집성	-0.14	0.05	0.18	-0.64	0.05	0.09
	부착성	-0.26	0.19	0.01	-0.44	0.13	0.13
	단맛	0.40	0.19	-0.30	-0.22	0.65	0.32
	짠맛	0.27	-0.30	0.35	-0.48	-0.44	-0.05
	계란맛	0.23	-0.05	-0.26	-0.35	0.55	0.53
	우유맛	0.13	0.29	-0.44	0.31	0.65	0.16
	버터맛	0.25	0.17	-0.45	-0.17	0.76	0.47
	옥수수가루맛	0.40	0.57	-0.28	0.28	0.29	0.24
	단맛의후미	0.50	0.39	-0.11	-0.16	0.56	0.16
	옥수수자루 향	0.27	0.43	-0.34	0.31	0.38	0.29
	입안을 덮는 정도	0.35	0.40	-0.38	-0.06	0.72	0.29
	뽀은맛	0.66	0.45	-0.27	0.14	0.13	0.09
	TA 특성	Springiness	0.28	-0.24	0.52	-0.41	-0.59
Cohesiveness		0.27	-0.19	0.33	-0.29	-0.41	-0.02
Chewiness		0.55	0.26	0.39	-0.21	-0.31	-0.42
Gumminess		0.53	0.45	0.26	-0.07	-0.13	-0.49
Adhesiveness		0.12	-0.38	-0.13	0.12	-0.25	0.11
Hardness		0.12	0.52	-0.18	0.25	0.34	-0.28
기타	머핀밀도	0.07	-0.11	-0.56	0.14	0.45	0.77
	반죽 pH	0.20	0.10	-0.29	0.19	0.47	0.46

Appendix 4. 케익 머핀의 관능적 특성과 물리적 특성과의 상관계수(r) - (3/6)

		관능적 특성					
		입안에서 녹는정도	응집성	부착성	단맛	짠맛	계란맛
관능적 특성	입안에서의 녹는정도	1.00					
	응집성	-0.46	1.00				
	부착성	-0.41	0.84	1.00			
	단맛	0.16	0.13	0.13	1.00		
	짠맛	-0.08	0.41	0.12	-0.20	1.00	
	계란맛	-0.06	0.27	0.20	0.67	0.26	1.00
	우유맛	0.42	-0.41	-0.20	0.50	-0.73	0.15
	버터맛	0.11	0.25	0.31	0.86	-0.02	0.84
	옥수수가루맛	0.39	-0.11	0.09	0.56	-0.40	0.06
	단맛의후미	0.34	0.07	-0.05	0.89	-0.17	0.56
	옥수수자루 향	0.29	-0.29	-0.14	0.57	-0.56	0.09
	입안을 덮는 정도	0.34	0.14	0.22	0.76	-0.29	0.57
	뽀은맛	0.48	0.08	0.08	0.57	-0.10	0.22
	TA 특성	Springiness	-0.06	0.25	-0.11	-0.34	0.86
Cohesiveness		-0.04	0.28	-0.01	-0.21	0.84	0.29
Chewiness		0.32	0.20	0.09	-0.08	0.40	0.03
Gumminess		0.44	0.15	0.16	0.02	0.11	-0.03
Adhesiveness		-0.17	-0.31	-0.52	-0.13	-0.12	-0.16
Hardness		0.37	-0.16	0.13	0.28	-0.75	-0.24
기타	머핀밀도	-0.07	-0.05	-0.02	0.56	0.01	0.63
	반죽 pH	0.12	-0.25	-0.31	0.47	-0.02	0.69

Appendix 4. 케익 머핀의 관능적 특성과 물리적 특성과의 상관계수(r) - (4/6)

		관능적 특성				
		우유맛	버터맛	옥수수 가루맛	단맛의 후미	옥수수 가루향
관능적 특성	우유맛	1.00				
	버터맛	0.44	1.00			
	옥수수가루맛	0.53	0.44	1.00		
	단맛의후미	0.56	0.72	0.59	1.00	
	옥수수자루 향	0.63	0.40	0.90	0.61	1.00
	입안을 덮는 정도	0.68	0.80	0.62	0.83	0.59
	뽀은맛	0.30	0.43	0.79	0.67	0.65
TA 특성	Springiness	-0.73	-0.30	-0.51	-0.19	-0.63
	Cohesiveness	-0.70	-0.08	-0.48	-0.16	-0.65
	Chewiness	-0.30	-0.11	-0.12	0.09	-0.38
	Gumminess	-0.04	-0.02	0.07	0.19	-0.18
	Adhesiveness	-0.18	-0.36	-0.12	-0.09	0.15
	Hardness	0.70	0.14	0.57	0.35	0.56
기타	머핀밀도	0.18	0.65	0.39	0.36	0.44
	반죽 pH	0.29	0.54	0.18	0.48	0.36

Appendix 4. 케익 머핀의 관능적 특성과 물리적 특성과의 상관계수(r) - (5/6)

	관능적 특성		TA 특성				
	입안을 덮는 정도	뽀은맛	springiness	cohesiveness	chewiness	gumminess	
관능적 특성	입안을 덮는 정도	1.00					
	뽀은맛	0.60	1.00				
TA 특성	Springiness	-0.38	-0.13	1.00			
	Cohesiveness	-0.31	-0.08	0.92	1.00		
	Chewiness	0.05	0.23	0.62	0.62	1.00	
	Gumminess	0.22	0.33	0.30	0.33	0.93	1.00
	Adhesiveness	-0.30	0.03	0.13	0.01	-0.11	-0.20
	Hardness	0.52	0.36	-0.71	-0.75	0.03	0.37
기타	머핀밀도	0.33	0.34	-0.21	0.00	-0.48	-0.53
	반죽 pH	0.32	0.28	-0.11	0.07	-0.21	-0.23

Appendix 4. 케익 머핀의 관능적 특성과 물리적 특성과의 상관계수(r) - (6/6)

	TA 특성		기타 특성	
	adhesiveness	hardness	밀도	pH
TA 특성	Adhesiveness	1.00		
	Hardness	-0.17	1.00	
기타	머핀밀도	0.05	-0.31	1.00
	반죽 pH	0.15	-0.19	0.69

제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

구 분	평가의 착안점 및 척도	
	착 안 사 항	달성도 (점수)
1차년도(2002)	○쌀 오염미생물의 정량적 분석	20
	○제어대상 미생물의 정량적 분리·동정	20
	○미분의 기능성 향상	40
	○미분의 가공적성	20
2차년도(2003)	○제어대상 미생물의 살균효과	15
	○제어대상 미생물의 제거 기술	25
	○청결미분의 가공기술	40
	○고품질 떡류 가공식품의 개발	20
3차년도(2004)	○효율적인 미생물제어 복합기술의 개발	30
	○청결미분의 제조공정 확립	40
	○미분가공식품의 개발	30
최종평가	○연구결과의 수행결과 및 효용성	40
	○개발기술의 산업체 이전 및 실용화	30
	○개발기술의 경제산업적 파급효과	30

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

1. 활용방안

본 연구과제의 수행으로 얻은 기초적인 연구결과는 학회에 발표 또는 학술지 논문으로 게재하였음. 특히 쌀 오염미생물의 제어기술에 관한 연구결과는 향후 홍보매체를 통하여 진과함으로써 쌀가루 및 쌀가공식품의 소비확대 및 국민건강증진에 기여할 계획임. 또한 연구개발과 관련된 신기술 중 일부는 특허를 출원할 예정이며 참여기업을 통하여 청결미분과 쌀가공식품의 생산에 적극 활용할 예정임.

2. 학술지 및 관련 홍보매체에 게재

가. 한국식품과학회지 등 식품관련학회에 학술논문으로 투고하여 4편 게재완료, 5편 투고 중

나. 각종 학술발표회에 참여하여 9편의 연구결과 발표

다. 일부 신기술은 특허출원 예정

라. 홍보매체를 통해 고품질 쌀가공식품에 대한 홍보

마. 학술지 논문게재 실적

- 1) Lee YT, Kim SS. Effect of elevated steeping temperature on the starch properties of stored milled rice. Food Sci. Biotechnol. 13: 332-336 (2004)
- 2) Lee, YT, Yoo MS, Lee B, Park JH, Chang HG. Properties of starch isolated from wet-milled rice after steeping at elevated temperatures for annealing effect. Korean J. Food Sci. Technol. 36: 393-397 (2004)
- 3) 김상숙, 강경아, 최소연, 이영택. 가온 수침처리가 습식제분 쌀가루의 특성에 미치는 영향. 한국식품영양과학회지 34(3): 414-419 (2005)
- 4) 최소연, 이상효, 이영택. 씻어나온쌀로부터 제조한 쌀가루의 품질 특성. 한국식품영양과학회지 34(7): 1098-1102 (2005)

바. 학회 논문발표 실적

- 1) Lee YT, Lee HY, Lee B, Kim SS. Physicochemical properties of starch isolated from milled rice after annealing treatment. 2003 International Symposium and Annual Meeting of the KSACB. Jisan Forest Resrot, Icheon, Korea, 2003. 10.
- 2) Lee YT, Yoo MS, Kim JH. Influence of annealing on the starch properties of old milled rice. 2003 International Symposium and Annual Meeting of the KSACB. Jisan Forest Resrot, Icheon, Korea, 2003. 10.
- 3) 이영택, 김상숙, 강경아, 최소연. Annealing 수침처리에 따른 습식제분 쌀가루의 특성. 2004년 한국식품과학회 제 71차 학술대회, 강원도 용평리조트, 2004. 6.
- 4) Jang J.H., Lee N.A., Lee H.J., and Park, J.H. Detection of enterotoxin broadly distributed among *Bacillus cereus* group. 2004 한국식품과학회 제 71차 학술대회지, p166, 2004.
- 5) 이노아, 김현표, 김현구, 박종현. *Bacillus cereus* enterotoxin이 동물 세포주와 실험 동물에 미치는 독성평가. 2004 한국식품과학회 제71차 학술대회지, p 166, 2004.
- 6) 이노아, 정미경, 박종현. 식중독세균의 환경 stress에 의한 biofilm 생성 영향평가. 2004 한국식품과학회 제71차 학술대회지, p166, 2004.
- 7) 최소연, 이영택. 분무수세 건조한 무세미와 부산물 쇄립의 쌀가루 특성. 2005년도 한국식품과학회 제 72차 학술대회, COEX 컨벤션, 2005. 6.
- 8) 최소연, 김혜선, 이영택: 제분방법에 따른 쌀가루의 저장시 품질특성의 변화. 2005년도 한국식품과학회 제 72차 학술대회, COEX 컨벤션, 2005. 6.
- 9) Choi SY, Yoo MS, Lee YT. RVA pasting properties and microbial count of rice flour produced from pre-washed rice during storage. 2005 International Symposium of the KFN. YongPyong Resort, Korea, 2005. 10.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술 정보

○서구에서 쌀은 빵, 케이크, 쿠키, 이유식 등의 가공식품 제조에 이용되어 왔기 때문에 국내에서 보다 심도있는 연구가 진행되었으며, 지금까지 조사한 연구개발 결과에 의하면 주로 건식제분방법에 의해 미분의 기능적 특성은 쌀의 종류, amylose와 amylopectin 비율, 입자의 크기, 호화특성 등 물리화학적 특성, 제분기의 종류 또는 형태에 의해 크게 영향을 받는 것으로 조사되었음.

○쌀가루의 기능적 특성은 전분의 물리적 변성을 부여하도록 annealing 처리(온수 처리)에 의해 개선할 수 있음. 또한 최근 장기 보관한 쌀을 annealing 처리에 의해 호화특성을 향상시킨다는 기술연구가 보고되었음.

○일본에서는 약 200여종의 쌀가루 제품이 용도별로 다양하게 사용되고 있으며 이들의 제분기술은 건식, 반습식, 습식 등 여러 가지 형태로 발달되어 있음. 현재는 반습식 상태의 제분기술이 보편화되어 있는데, 미분업체의 95%가 반습식 방식을 사용하여 반습식 상태로 제분한 미분 제품시장이 가장 유망한 것으로 조사된 바 있음.

○쌀 오염미생물에 대한 연구로는 스페인에서 쌀가공식품을 포함하는 102가지의 식품에서 *Bacillus*의 포자를 조사한 결과 82.4%에서 검출되었고 그 중 14.7%는 *Bacillus cereus*포자였고 쌀 같은 식품에도 광범위하게 오염되어 있다는 보고도 조사되었음.

○*B. cereus* 포자는 소수성이 강하여 세척하는 동안 제거가 잘 않되는데, 이는 포자표면에는 부착에 관여하는 부속사 또는 선모를 가지고 있으며, 낮은 표면전하를 가지고 있기 때문이며, 인체내에서 장 상피세포에 부착하여 enterotoxin을 생산하여 식품위해를 유발함.

○주로 일본에서는 전기분해처리, 자기처리, 전장처리, 근적외선 처리등의 물리적인 살균기술들이 많이 시도는 되고 있으며 공업적으로는 전해산화수가 가장 많이 각광을 받고 있는 것으로 조사되었음.

제 6 장 참 고 문 헌

1. AACC. Approved Methods of the AACC. 10th ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, USA (2000)
2. Acuff GR, Vanderzant C, savell JW, Jones DK, Griffin DB, Ehlers JG. Effect of acid decontamination of beef subprimal cuts on the microbiological and sensory characteristic of steaks. *Meat Sci.* 217-221 (1987)
3. Ahn YS, Shin D. Antimicrobial effects of organic acids and ethanol on several foodborne microorganisms. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 1315-1323 (1999)
4. Alfredo P, Francisco J Sala, Santiago Condón. Heat resistance of native and demineralized spores of *Bacillus subtilis* sporulated at different temperatures. *Appl. Envir. Microbiol.* 65: 1316 - 1319 (1999)
5. Andersson A, Ronner U, Granum PE. What problems does the food industry have with have spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*. *Int J. Food Microbiology.* 28: 145-155 (1995)
6. Anderson RA. Water absorption and solubility and amylograph characterisitcs of rolled-cooked small grain products. *Cereal Chem.* 59: 265-271 (1982)
7. AOAC. Official Methods of Analysis, 15th ed. The Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C. (1990)
8. Asplund K, Nurmi E, Hilli P, Hion J. The inhibition of growth of *Bacillus cereus* in liver sausage. *Int. J. Food. Micbial.* 7: 349-352 (1988)
9. Bean MM, Nishita KD. Rice flours for baking. Ch. 14, pp. 539-556. In: *Rice Chemistry and Technology.* Juliano BO (ed.). American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, MN, USA (1985)
10. Bean MM. Rice flour-its functional variations. *Cereal Foods World* 31: 477-481 (1986)
11. Beecher DJ, Shoeni JL, Wong ACL. Enterotoxin activity of hemolysin BL

- from *Bacillus cereus*. Infect. Immu. 63: 4423-4428 (1995)
12. Birgit M Prüß, D Richard, N Birgit, ErwinMärtlbauer, S Siegfried. The Hemolytic enterotoxin HBL is broadly distributed among species of the *Bacillus cereus* group. Appl. Envir. Microbiol. 65 : 5436-5442 (1999)
 13. Cagampang GB, Perez CM, Juliano BO. A gel consistency test for eating quality of rice. J Sci Food Agric 24: 1589-1594 (1973)
 14. Chen JJ, Lu S, Lii CY. Effect of milling on the physicochemical characteristics of waxy rice in Taiwan. Cereal Chem. 76: 796-799 (1999)
 15. Chiang PY, Yeh AI. Effect of soaking on wet-milling of rice. J. Cereal Sci. 35: 85-94 (2002)
 16. Choi EJ, Kim HS. Physicochemical and gelatinization properties of glutinous rice flour and starch steeped at different conditions. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 26: 17-24 (1997)
 17. Chrastil J. Chemical and physicochemical changes of rice during storage at different temperature. J. Cereal Sci. 11: 71-85 (1990)
 18. Deffenbaugh LB, Walker CE. Comparison of starch pasting properties in the Brabender Viscoamylograph and the Rapid Visco-Analyzer. Cereal Chem. 66: 493-499 (1989)
 19. Dubois M, Gilles KA, Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substance. Anal. Chem. 28: 350-356 (1956)
 20. Fischer R, Fletcher L, Cox NA, Bailey JS. Micro biological properties of hard-cooked egg in a citric acid based preservative solution. J. Food Prot. 39: 252-256 (1985)
 21. Foegeding PM. Construction and expression of a bifunctional single-chain antibody anainst *Bacillus cereus* spores. Appl. Env. Microbiol. 64: 2490-2496 (1998)
 22. Granum PE. *Bacillus cereus* and its food poison toxins. FEMS Microbiol. Lett. 157: 223-228 (1997)
 23. Halick JV, Kelly VJ. Gelatinization and pasting characteristics of rice varieties as related to cooking behavior. Cereal Chem. 36: 91 (1959)

24. Hayakawa T, Seo SW, Igaue I. Electron microscopic observation of rice grain. Morphology of rice starch. J. Jpn. Soc. Starch Sci. 27: 173-179 (1980)
25. Heinrichs JH, Beecher DJ, Macmillan J.D, Zilinskas BA. Molecular cloning and characterization of the *hbla* gene encoding the B component of hemolysin BL from *Bacillus cereus*. J. Bacteriol. 175: 6760-6766 (1993)
26. Herman LM, Vaerewijck MJ, Moermans RJ, Waes GM. Identification and detection of *Bacillus sporothermodurans* spores in 1, 10 and 100 milliliters of raw milk by PCR. Appl. Envir. Microbiol. 63: 3139-3143 (1997)
27. Hsieh YM, Sheu SJ, Chen YL, Tsen HY. Enterotoxigenic profiles and polymerase chain reaction detection of *Bacillus cereus* group cells and *B. cereus* strains from foods and food-borne outbreaks. J. Appl. Microbiol. 87: 481-490 (1999)
28. Humark U, Rommer U. The influence of hydrophobic, electrostatic and morphological properties on the adhesion of *Bacillus* spore. Biofouling. 5: 335-344 (1992)
29. Hyun YJ, Choi KB, Lee JC, Yun WY. Studied on the thermal resistant spore of *Baillus coagulans*. Korean J. Appl. Microl Bioeng. 5: 9-10 (1977)
30. Indudhara-Swamy YM, Sowbhagya CM, Bhattacharya KR. Changes in the physicochemical properties of rice with aging. J. Sci. Food Agric. 29: 627-639 (1978)
31. Ita PS, Hutkins RW. Intracellular pH and survival of *Listeria monocytogenes* Scott A in tryptic soy broth containing acetic, lactic, citric, and hydrochloric acid. J. Food Prot. 54: 15-19 (1991)
32. Jacobs H, Eerlingen RC, Clauwaert W, Deicour JA. Influence of annealing on the pasting properties of starches from varying botanical sources. Cereal Chem. 72: 480-487 (1995)
33. Jang JH. Prevalence of toxigenic *Bacillus cereus* group and contamination reduction in grain food. MS thesis. Kyungwon Univ., Seongnam, Korea (2003)

34. Jaquette CB. Survival and growth of psychrotrophic *Bacillus cereus* in dry and reconstituted infant rice cereal. *J. Food Protection* 61: 1629-163 (1998)
35. Jeong JH, Han SJ, Cho WD, Hwang HJ. Identification of spoilage bacteria isolated from aseptic packaged cooked rice and application of acidic electrolyzed saline solution as water-for-cooked rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 788-793 (1999)
36. Juliano BO, Perez CM, Alyoshin EP, Romanov VB, Bean MM, Nishita KD, Blakeney AB, Welsh LA, Delgado L, El Baya AW, Fussati G, Kongseree N, Mendes FP, Brilhante S, Suzuki H, Tada M, Webb BD. Cooperative test on amylograph on milled-rice flour for pasting viscosity and starch gelatinization temperature. *Starch* 37: 40-50 (1985)
37. Juliano BO, Perez CM, Blakeney AB, Castillo DT, Kongseree N, Laignelet B, Lapis ET, Murty VVS, Paule CM, Webb BB. International cooperative testing on the amylose content of milled rice. *Starch/Starke* 33: 157-163 (1981)
38. Kim DC. Studies on the development of post-harvest technique for paddy. Korea Food Research Institute Report (2000)
39. Kim DJ, Kwon OJ, Byun MW. Combination effect of benzoate, sorbate and pH for control of *Escherichia coli* O157:H7. *J. Food Hygiene & Safety* 12: 200-204 (1997)
40. Kim K, Kang KJ, Lee YH, Kim SK. Changes in properties waxy rice during steeping in water. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25: 86-87 (1993)
41. Kim MH, Park MW, Park YK, Jang MS. Physicochemical properties of rice flours as influenced by soaking time of rice. *J. Korean Soc. Food Sci.* 9: 210-214 (1993)
42. Kim MH, Shin MS. Properties of flours prepared from steamed brown rice after soaking and sprouting and wheat flour mixtures with them. *Food Sci. Biotechnol.* 12: 36-42 (2003)
43. Kim SK, Bang JE. Physicochemical properties of rice affected by steeping conditions. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 1026-1032 (1996)

44. Kim SK, Chang BS, Lee SJ. Ultrastructure of compound starch granules and protein bodies of starchy endosperm cell in rice. *J. Korean Soc. Agric. Chem. Biotechnol.* 39: 379-383 (1996)
45. Kim SS, Kim YJ. Effect of moisture content of paddy on properties of rice flour. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27: 690-696 (1995)
46. Kim SS, Lee SE, Kim OW, Kim DC. Physical characteristics of chalky kernels and their effects on sensory quality of cooked rice. *Cereal Chem.* 77(3): 376-379 (2000)
47. Knutson CA. Annealing of maize starches at elevated temperature. *Cereal Chem.* 67: 376-384 (1990)
48. Koh BK. Quality characteristics of prewashed rice with solution of waxy rice flour. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33: 455-460 (2001)
49. Ko YD, Choi OJ, Park SK, Ha HS, Sung NK. Changes in physicochemical properties of rice starch from rice stored at different conditions. *Korean J. Food Sci. Technol.* 27: 306-312 (1995)
50. Krueger BR, Walker CE, Knutson CA, Inglett GE. Differential scanning calorimetry of raw and annealed starch isolated from normal and mutant maize genotypes. *Cereal Chem.* 64:187 (1987)
51. Kugimiya M, Donovan JW, Wong RY. Phase transitions of amylose-lipid complexes in starches: A calorimetric study. *Starch/Stärke* 32: 265-270 (1980)
52. Kum JS, Lee SH, Lee HY, Kim KH, Kim YI. Effect of different milling methods on distribution of particle size of rice flours. *Korean J. Food Sci. Technol.* 25: 541-545 (1993)
53. Kum JS, Lee SH, Lee HY, Lee C. Retrogradation behavior of rice starches differing in amylose content and gel consistency. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 1052-1058 (1996)
54. Lang HS, Weng Y, Robin YC. Survival of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* as affected by ethanol and NaCl. *J. Food Prot.* 64(4): 546-550 (2001)

55. Lawrence Restaino, Elon W Frampton, Jenifer B Hemphill, Paul Palnikar. Efficacy of ozonated water against various food-related microorganism. *Appl. Envir. Microbiol.* 61(9): 3471-3475
56. Leach HW, McCowen LD, Schoch TJ. Structure of the starch granule. I. Swelling and solubility patterns of various starches. *Cereal Chem.* 36: 534-544 (1959)
57. Lee HY. A study on the development of semi-wet rice flours. Korea Food Research Institute Report (2002)
58. Lee JH, Kim SS, Huh DS, Kim KO. Effects of storage form and period of refrigerated rice on sensory properties of cooked rice and on physicochemical properties of milled and cooked rice. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33: 427-436
59. Lee YT, Seog HM, Cho MK, Kim SS. Physicochemical properties of hull-less barley flours prepared with different grinding mills. *Korean J. Food Sci. Technol.* 28: 1078-1083 (1996)
60. Li JY, Yeh AI. Relationships between thermal, rheological characteristics and swelling power for various starches. *J. Food Eng.* 50: 141-148 (2001)
61. Lii CY, Shao YY, Tseng KH. Gelation mechanism and rheological properties of rice starch. *Cereal Chem.* 72: 393-400 (1995)
62. Lii CY, Tsai ML, Tseng KH. Effect of amylose content on the rheological properties of rice starch. *Cereal Chem.* 73: 415-420 (1996)
63. Lorenz K, Kulp K. Steeping of wheat at various temperatures-effects on physicochemical characteristics of the starch. *Starch/Strake* 10: 333-336 (1978)
64. Lund DB. Influence of time, temperature, moisture, ingredients, and processing conditions on starch gelatinization. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 20: 249-252 (1987)
65. Mäntynen V, Lindstöm KA. Rapid PCR-based DNA test for enterotoxigenic *Bacillus cereus*. *Appl. Envir. Microbiol.* 64: 1634-1639 (1998)
66. Masuda S, Hara-Kudo Y, Kuagai S. Reduction of *Escherichia coli* O157:H7

- population in soy sause, a fermented seasoning. J. Food Prot. 61: 657-661 (1998)
67. Miles MJ, Morris VJ, Ring SG. Gelation of amylose. Carbohydr. Res. 135: 257-267 (1985)
68. Moritaka S, Sawada K, Yasumatsu K. Studies on cereals. VII. Relation between lipid content of milled rice and deterioration of rice flavor during storage. Eiyo To Shokuryo 24: 474-476 (1971)
69. Nichols GL, The microbiological quality of cooked rice from restaurants and take-away premises in the Unite Kingdom. J. Food. Protection 62: 877-882 (1999)
70. Nishita KD, Bean MM. Grinding methods: Their impact on rice flour properties. Cereal Chem. 59: 46-49 (1982)
71. Oh DH, Marshall DL, Enhanced inhibition of *Listeria monocytogenes* by glycerol monolaurate with organic acid. J. Food Sci. 59: 1258-1261 (1994)
72. Park KH. Effect of rice protein and lipid gelatinization properties, cooking quality and palatability of Korean rice. Ph.D. thesis, Kyunghee Univ., Seoul, Korea (1996)
73. Park SK, Ko YD, Cho YS, Shon MY, Seo KI. Occurrence and repression of off-oder in cooked rice during storage under low temperature warming condition of electric rice cooker. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 919-924 (1997)
74. Park YK, Seog HM, Nam YJ, Shin DW. Physicochemical properties of various milled rice flours. Korean J. Food Sci. Technol. 20: 504-510 (1988)
75. Peng JS, Tsai WC, Chou CC. Inactivation and removal of *Bacillus cereus* by sanitizer and detergent. Int J. Food Microbial. 77: 11-18 (2002)
76. Perez OE, Haros M, Suarez C. Corn steeping: influence of time and lactic acid on isolation and thermal properties of starch. J. Food Eng. 48: 251-256 (2001)
77. Podlak RK, Zayas JF, Kastner CL, Fung DYC. Reduction of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium*

- during storage on beef sanitized with fumaric, acetic and lactic acid. J. Food Safety 15: 283-290 (1995)
78. Rice KM, Pierson MD. Inhibition of *Salmonella* by sodium nitrite and potassium sorbate in frankfurters. J. Food Sci. 47: 1615-1617 (1982)
 79. Roh HJ, Shin YS, Lee KS, Shin MK. Antimicrobial activity of water extract of green tea against cooked rice putrefactive microorganism. Korean J. Food Sci. Technol. 28: 66-71 (1996)
 80. Ryan PA, Macmillan JD, Zilinskas BA. Molecular cloning and characterization of the genes encoding the L1 and L2 components of hemolysin BL from *Bacillus cereus*. J. Bacterial 179: 2551-2556 (1997)
 81. SAS Institute, Inc. 1992. SAS User's Guide. Statistical Analysis System Institute, Cary, NC, USA (1992)
 82. SAS. SAS User's Guide: Statistics ver 6.03, SAS institute Inc., Cary, NC. (1988)
 83. Schoch TJ. Swelling power and solubility of granular starches: Whole starches and modified starches. Vol. 4, p. 106. In: Methods in Carbohydrate Chemistry. Whistler RL (ed). Academic Press, New York, USA (1964)
 84. Shandera DL, Jackson DS. Effect of corn wet-milling conditions (sulfur dioxide, lactic acid, and steeping temperature) on starch functionality. Cereal Chem. 73: 632-637 (1996)
 85. Shibuya N, Iwasaki T, Chikubu S. On the changed of rice starch during storage of rice. Studied on deterioration of rice during storage. III. J. Japanese Soc. Starch Science 24-55 (1997)
 86. Shin DH, Kim MS, Han JS. Antimicrobial effect of ethanol extracts from some medicinal herbs and their fractionates against food-born bacteria. Korean J. Food Sci. Technol. 29: 808-816 (1997)
 87. Shin MG, Rhee JS, Kwon TW. Effects of amylase activity on changes in amylogram characteristics during storage of brown rice. Agric. Biol. Chem. 49: 2505-2508 (1985)
 88. Shoichi Y, Eiji O, Norio A, Kasthuri V. Cloning and nucleotide sequence

- analysis of *gyrB* of *Bacillus cereus*, *B. thuringiensis*, *B. mycoides*, and *B. anthracis* and their application of the detection of *B. cereus* in rice. *Appl. Envir. Microbiol.* 65: 1483-1490 (1999)
89. Singh N, Singh J, Kaur L, Sodhi NS, Gill BS. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chem.* 81: 219-231 (2003)
 90. Sowbhagya CM, Bhattacharya KR. Changes in pasting behaviour of rice during ageing. *J. Cereal Sci.* 34: 115-124 (2001)
 91. Stevens DJ, Elton GAH. Thermal properties of starch/water system. I. Measurement of heat gelatinization by differential scanning calorimeter. *Starch/Stärke* 23: 8-11 (1971)
 92. Stone and Sidel. 2004 Sensory evaluation practices. Elsevier Academic press, San Francisco, USA.
 93. Stute R. Hydrothermal modification of starches: the difference between annealing and heat-moisture treatment. *Starch/Stärke* 44: 205-214 (1992)
 94. Suzuki H. Amylograph and alkali viscosity of rice. International Rice Research Institute(Grain Quality Symposium), 261-282 (1979)
 95. Teste RF, Debon SJJ. Annealing of starch : A review. *Int. J. Biol. Macromol.* 27: 1-12 (2000)
 96. Tester RF, Debon SJJ, Sommerville MD. Annealing of maize starch. *Carbohydr. Polymers* 42: 287-299 (2000)
 97. Tester RF, Morrison WR. Swelling and gelatinization of cereal starches. I. Effect of amylopectin, amylose, and lipids. *Cereal Chem.* 67: 551-557 (1990)
 98. The Unscrambler ver 9.1. 1996. Camo Process As, Norway.
 99. Tsai M.L, Li CF, Lii CY. Effects of granular structures on the pasting bahaviors of starches. *Cereal Chem.* 74: 750-757 (1997)
 100. Wong RBK, Lelievre J. Comparison of the crystallinities of wheat starches with different swelling capacities. *Starch* 34: 159-165 (1982)
 101. Yamamoto A, Shirakawa K. Annealing of long-term stored rice grains improves gelatinization properties. *Cereal Chem.* 76(5): 646-649 (1999)

102. Yamamoto K, Sawada, S, Onogaki T. Properties of rice starch prepared by alkali method with various conditions. *Denpun Kagaku* 20: 99-104 (1973)
103. Yonng KM, Foegding PM. acetic, lactic, citric acid and pH inhibition of *Listeria monocytogenes* Scott A and the effect on Intracellular pH. *J. Appl. Bacteriol.* 74: 515-520 (1993)
104. Yousef AE, Juneja VK. Microbial stress adaptation and food safety. CRC Press p. 118-158.
105. Zhou Z, Robards K, Helliwell S, Blanchard C. Effect of rice storage on pasting properties of rice flour. *Food Research International* 36: 625-634 (2003)
106. Zobel HF. Starch granule structure. pp. 1-36. In: *Developments in Carbohydrate Chemistry*. Alexander RJ, Zobel HF (eds.). American Association of Cereal Chemists, Inc., St. Paul, MN, USA (1992)
107. 권오진, 박순연, 김광훈, 이현자, 변명우. 신선초 분말에 오염시킨 미생물에 대한 감마선과 오존의 살균효과. *J. Fd Hyg. Safety* 11(3): 221-225 (1996)
108. 금준석. 쌀가공식품과 신제품 개발 방안, 한쌀회 총서 제 10권 (2001)
109. 김광옥, 김상숙, 성내경, 이영춘. 관능검사 방법 및 응용. 신광출판사 (1993)
110. 김영진, 김상숙, 조동욱. 단체급식용 쌀빵의 개발. 한국식품개발연구원 보고서 (1992)
111. 농산물검사업무수첩. 국립농산물 품질관리원 (2000)
112. 노민정. 돈육 생산공정에서의 미생물 위해분석 및 정량적 위해평가 방법 활용 연구. 연세대학교대학원 생명공학과.
113. 박선희, 이동하, 곽효선, 강윤숙, 박용춘, 조용선, 김창민. 식품중 *Clostridium perfringens*의 분포조사 및 시험법 확립(I). 식품위약품안전청 연구보고서.
114. 식품의약품안전청. 식품공전 (2002)
115. 식품첨가물(비타민 B₁ 라우릴황산염) Yuki Tsunawaki. TANABE SEIYAKU CO., LTD
116. 이계임, 김민정. 쌀 소비행태 분석. 한국농촌경제연구원 (2003)
117. 이현유. 쌀가공식품의 현황과 전망. *식품기술* 6(1), 한국식품개발연구원 (1993)

118. 정동효. 식품미생물 제어론. 대광서림 p. 296-312.
119. 정정환, 한선진, 조원대, 황한준. 무포장밥으로부터 부패 미생물의 동정 및 전해산화수의 취반수로서의 이용 효과. 한국식품과학회지 31: 788-793 (1999)

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.