

두부 부패에 관여하는 주요 미생물 동정

신동화·김문숙·배경숙*·고영희*

진북대학교 식품공학과, *한국과학기술연구원 유전공학연구소

Identification of Putrefactive Bacteria Related to Soybean Curd

Dong-Hwa Shin, Moon-Suk Kim, Kyung-Sook Bae* and Yung-Hee Kho*

Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University

*Genetic Engineering Research Institute, KIST

Abstract

Three microorganisms were isolated from staled market soybean curd and confirmed their reproducibility of putrefaction. The isolates were identified as *Acinetobacter calcoaceticus* var. *anitrat*(97.9%) and *Klebsiella pneumoniae* subgroup *pneumoniae*(99.0%). The third microorganism has same characteristics as *A. calcoaceticus* var. *anitrat* except mucoid production.

Key words: soybean curd, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Klebsiella pneumoniae*, putrefaction

서 론

두부는 수용성 콩단백질을 염으로 응고시켜 압착한 제품으로 수분함량이 높아 쉽게 변질되어 4~10월은 24시간, 11~3월은 48시간, 0~10°C 냉상에서는 3일을 유통기한으로 권장⁽¹⁾하고 있으며 일본의 경우도 보통 두부는 일반 생균수가 g당 100,000 이하를 지도 기준으로 삼고 있다.

두부 제조 후 변질되는 현상을 보면 30°C에서는 보통 15~20시간 후 부패취가 나고^(2,3) 균수는 초기 10⁴에서 10⁷까지 증가⁽⁴⁾하고 있으며 온도가 낮아지면 균수 증가가 크게 둔화^(5,6)되면서 shelf-life가 연장되는 현상을 보이고 있어 두부의 유통중 변질은 주로 미생물이 관여하는 것으로 추정된다.

지금까지 우리나라에서 제조된 두부의 부패 원인균이 동정된 바가 없으므로 본 연구에서는 시중에 유통되는 두부의 변질에 관여하는 주요 부패균을 분리하고 이를 동정하였기로 이에 보고한다.

재료 및 방법

부패균의 분리

제조 직후의 두부를 유통되는 물(18~20°C)과 함께 살균된 삼각 플라스크에 옮기고 실온(20~25°C)에 2일 정도 방치하면서 기포발생, 탁도의 변화와 냄새에 의하여 3명의 관능요원이 모두 변패를 인정할 때를 두부 부패

시점으로 하고 부패균 분리원으로 하였다. 이 분리원 침지액 1 ml를 생균수를 10⁶배까지 희석한 다음 nutrient agar에 평판배양하여 균락을 얻고 균락의 형태로 구분, 가장 많이 나타난 순으로 3균수를 조균(釣菌)하였다. 분리 균주를 streak method에 의하여 재분리하고 0.1% Tween 80을 함유한 희석액으로 2회 희석 배양하여 최종적으로 순수분리 균주를 얻어 현미경으로 형태상 순수성을 확인하였다. 분리균주를 S₁, S₂ 및 S₃ 분류하였으며 이들이 전체 나타난 Colony의 90% 이상을 대표 하였다.

부패성 확인

1 cm³ 크기로 절단한 두부 100g을 멸균수 40 ml와 함께 삼각 플라스크에 넣고 121°C에서 15분간 살균, 냉각하고 여기에 두부에서 순수분리한 각 균주를 Tryptone soya broth(Oxoid)에 30°C, 48시간 증식, 이 액 1 ml를 접종 하였다. 이를 30°C에서 2일간 배양하면서 액즙의 형태와 냄새 등 관능검사로 부패성을 확인하고 액즙을 직접 취하여 그람염색 후 현미경 관찰로 접종균과의 일치여 부를 확인하였다.

분리 균주의 동정

균주의 동정을 위하여 순수 분리된 균주를 nutrient agar에 접종하여 18시간 배양하고, 그 균락의 형태 및 색깔을 관찰하였다⁽⁷⁾. 다른 균락과 잘 분리된 한 균락 으로부터 취한 균주를 슬라이드 유리판에 도말하여 현 미경으로 세균의 형태와 운동성을 관찰하였고, 그람 염 색하여 그 성질을 조사하였다.

균주의 생화학적 성질은 API 20E(API System S.A., Montalieu-Veroieu, France)를 사용하여 조사하였다.

Corresponding author: Dong-Hwa Shin, Department of Food Science and Technology, Chonbuk National University, Dukjin-dong, Chonju 500-756, Korea

Table 1. Appearance of soybean curd after inoculation with various isolates¹⁾

Isolate	Incubation ²⁾ time(hr)	Odor ³⁾	Apperance of syrup ³⁾	Gram staining
None	24	Fresh	Clear	No growth
	48	Fresh	Clear	No growth
S ₁	24	Abnormal	Turbid	G ⁻
	48	Stale	Turbid with surface film	G ⁻
S ₂	24	Abnormal	Turbid	G ⁻
	48	Stale	Turbid	G ⁻
S ₃	24	Abnormal	Turbid	G ⁻
	48	Stale	Turbid	G ⁻

¹⁾Isolated from staled soybean curd²⁾Incubation temperature: 30°C³⁾Three panels evaluated by organoleptic method**Table 2. Characteristics of each isolate from staled soybean curd**

	S ₁	S ₂	S ₃
Colony 색깔 (NA)	creamy	white	creamy
Colony 형태 (NA)	round	round	round
Cell 형태	coccobacilli	rod	coccobacilli
Gram stain	-	-	-
Motility	+	-	+
Aerobic	F	F	F
Mucoid	very mucoid	-	-
Catalase	+	+	+
Oxidase	-	-	-
β-Galactosidase	-	+	-
Arginine dihydrolase	-	-	-
Lysine decarboxylase	-	+	-
Ornithine decarboxylase	-	-	-
Citrate utilization	+	+	+
H ₂ S production	-	-	-
Urease production	-	+	-
Tryptophane deaminase	-	-	-
Indole production	-	-	-
Acetoin production	-	+	-
Gelatinase	-	-	-
Acid from:			
Glucose	+	+G ¹⁾	+
Mannitol	-	+G	-
Inositol	-	+G	-
Sorbitol	-	+G	-
Rhamnose	-	+	-
Sucrose	-	+G	-
Melibiose	+	+G	+
Amygdalin	-	+G	-
Arabinose	+	+G	+

¹⁾Means gas production

API 20E의 사용 방법은 제조자의 지시에 따랐으며, 37°C에서 24시간 배양하여 그 결과를 관찰하고, API System S.A.에서 제공하는 Analytical Index를 참고하여 동정하였다.

결과 및 고찰

분리균주에 의한 부패양상

부패된 두부에서 분리한 S₁, S₂ 및 S₃ 균주를 살균된 두부에 접종하여 30°C에 배양하면서 액즙의 외관, 냄새 및 증식균의 그람염색을 한 결과는 Table 1과 같다. Table 1에서 보인 바와 같이 분리된 3균주 모두 두부에서 활발히 증식하면서 24시간 이내에 독특한 변패취를 내었고 액즙이 혼탁하여 미생물의 증식을 인지할 수 있었다. 이는 30°C 저장시 6시간 후부터 경미한 부패취를 내고 9~12시간 이후 부패취가 난다는 결과와 일치하고 있다^(3,5). 또 그람염색 결과와 현미경 관찰에서도 원래 접종한 균주와 동일하여 이들이 모두 두부 부패의 주된 원인균임을 확인하였다. 균을 접종하지 않은 표준구에서는 48시간 이후도 두부 본래의 향과 맛을 유지하였고 미생물 증식 현상도 보이지 않았다.

분리균의 동정

분리된 균주의 형태학적 및 생화학적 특성은 Table 2와 같다. Table 2의 결과를 API System과 비교하여 판정한 결과 균주 S₁과 S₃는 점액성 성질만이 차이 나는 동일한 균으로 *Acinetobacter calcoaceticus* var. *anitrat*로, 균주 S₂는 *Klebsiella pneumoniae* subgroup *pneumoniae*로 동정되었다.

요 약

시판 두부를 20~25°C에 방치하여 부패를 유발시킨 후 이 부패두부로부터 주요 관여 미생물 3균주를 순수 분리, 부패성을 확인한 후 동정한 결과 *Acinetobacter calcoaceticus* var. *anitrat*(97.9%)와 *Klebsiella pneumoniae* subgroup *pneumoniae*(99.0%)로 확인되었으며 나머지 한 균주는 *Acinetobacter calcoaceticus* var. *anitrat*와 동일한 특성을 보유하며 점액성을 지닌 균주로 확인되었다.

문 헌

1. 보건사회부: 식품공전. p.182(1990)
2. 河瑞俊治, 辻藤: 食品工場における微生物制御(第2版). 建帛社, p.427(1983)
3. 송석훈, 장건형: 두부에 관한 연구(제 2보). 두부의 shelf-life 연장에 관한 연구. 기술연구소 보고(제 3집), 육군기술연구소, p.5(1964)
4. 송석훈, 장건형: 두부의 shelf-life 연장에 관한 연구(제 2보). 기술연구소보고(제 4집), 육군기술연구소, p.21(1965)
5. 이명환, 이혜원: 두부의 물성 및 보존에 관한 연구. 서울여자대학 논문집 제 13호, p.437(1984)
6. 北村廣志, 佐佐木裕: 素材豆腐の開発と應用, 食品と開發, 26(2), 24(1991)
7. Gerhardt, P., Murray, R.G.E., Costilow, R.N., Nester, E.W., Wood, W.A., Krieg, N.R. and Phillips, G.B.: *Manual for General Microbiology*. American Society for Microbiology, Washington D.C.(1981)

(1991년 8월 12일 접수)