

Bacillus natto 가 된장에 미치는 影響

李 甲 湘 · 鄭 東 孝

江原大學 農化學科, 中央大學校 農科大學
(1973년 6월 30일 수리)

Effects of *Bacillus natto* on the Soybean Paste

by

Kap Sang Lee and Dong Hyo Chung

Kang Won College · College of Agriculture, Chung-Ang University
(Received June 30, 1973)

Abstract

In order to study on the effects of *Bacillus natto* on the soybean paste used natto, there were determining the contents of total nitrogen, amino acid, ammonia-nitrogen, total acid, reducing sugar and proteolytic activity etc.

The results are summarized as follows;

- 1) Fermentation of natto paste were faster than koji paste and the fermentation period were sufficient in thirteen days.
- 2) The chemical components, color, taste and flavor of natto paste (added 15% natto) were excellent than the other soybean paste.
- 3) The contents of ammonia-nitrogen and amino acid of soybean paste were gradually increased during thirteen days in the fermentation, while total nitrogen contents were decreased.
- 4) After thirteen days of the fermentation, the contents of amino acid were decreased.
- 5) The contents of amino acid of natto paste were much more those of koji paste.
- 6) Total acid and reducing sugar contents indicated a rapid increased from nine to fifteen days during the fermentation, and a slower and decrease after fifteen days.
- 7) Total acid and reducing sugar contents of natto paste were somewhat higher than those of koji-paste.
- 8) No significant difference was observed in the contents of reducing sugar and total acid according to the amount of natto added.
- 9) The contents of reducing sugar and amino acid were proportional to the proteolytic activity.
- 10) A good soybean paste may be produced by adding 15% natto to the raw material in thirteen days of the fermentation.

緒 論

이 있어營養價值가 높아蛋白質의給源으로서 우리나라를 비롯하여東洋人の重要한食糧資源이다.

大豆는加工方法에따라 그營養價值가 달라지게 되는데 그중醣酵食品은消化率이 가장efficiency이라고 金⁽⁴⁾

大豆는各種必須 amino acid^(1~4)가 끌고루 함유되

은 報告⁽⁵⁾하고 鄭⁽⁵⁾等은 數種 大豆加工食品으로써 콩의 窒素 및 生育試驗과 蛋白質의 利用率을 檢討한 結果 納豆의 營養價值가 가장 좋았음을 밝힌 바 있었다. 한편 鄭⁽³⁾等은 納豆의 free amino acid 가 다른 豆類의 그것 보다 越等 많다고 하였다.

이와 같이 大豆釀酵에 있어서는 納豆가 營養上 有益하므로 著者は *Bacillus natto* 를 利用하여 된장을 만들므로써 營養價值를 높이고, 特殊한 芳香을 내게 하며 熟成期間을 短縮하고자 實驗한 몇 개의 結果를 얻었으므로 그一部를 報告한다.

이외에도 納豆에 對한 細菌學的^(6~8), 酵素學的^(9~10)^(14~15), 納豆의 成分⁽¹¹⁾ 및 香氣^(12~13)에 관한 研究가 있고 또 納豆의 製造方法^(1, 4, 16)과 粉末된장에 粉末納豆를 첨가하여 맛을 強化한 된장에 對한 研究⁽¹⁷⁾等이 있다.

實驗材料 및 方法

1. 原料 試藥 使用菌株

大豆(黃色中粒)

小麥(수원 85號)

소금(天日鹽)

Casein(Merk 製)

Formaldehyde(和光藥品, 特級)

醋酸·酒精混合液(醋酸 1ml, 96% alcohol 50ml 와 증류수 49ml 를 混合한 液)

種水(上水道)

Bacillus natto: 삼각 플라스크에 물기울 20g 와 물 40ml 를 넣고 autoclave 에 넣어 15Lbs에서 30分間 殺菌하여 60°C 程度로 冷却한 다음 여기에 *Bacillus natto* 를 接種하여 42°C에서 30時間 培養하여 種菌으로 使用하였다.

Aspergillus oryzae: 綿栓 種菌한 100ml 삼각 플라스크에 小麥 5g 와 물 30ml 를 넣고 잘 混合해서 autoclave 에 넣어 15Lbs에서 20分間 殺菌하여 30°C 程度로 冷却한 다음 여기에 *Asp. oryzae* 를 接種하고 30°C에서 3日間 培養하여 種菌으로 使用하였다.

2. 實驗方法

1) Natto 와 Koji 의 製造

(1) 原料處理

大豆를 精選하여 室溫의 물에서 12時間 浸漬한 것을 autoclave에서 15 Lbs로 30分間 蒸煮하였다.

小麥은 精選하여 볶아서 割碎하였다.

(2) Koji 製造⁽¹⁸⁾

蒸煮된 大豆를 40°C로 冷却하여 原料의 1/4에 해당하는 볶은 割碎 小麥과 種麴을 均一하게 混合하여 30°C

에서 50時間⁽¹⁹⁾동안 常法에 따라 製造하였다.

(3) 納豆製造⁽¹⁾

處理된 蒸煮大豆를 60°C에서 種菌을 接種하여 42°C에서 24時間⁽⁴⁾常法에 따라 製造하였다.

2) Protease 力價 測定法

(1) 酵素液 調製⁽²⁰⁾

질 磨碎된 natto 와 koji 를 각 1g 씩 시험판에 取하고 증류수 50ml 와 toluene 몇 방울을 加하여 30°C에서 1時間 振盪抽出한 後 東洋濾紙 No. 5로 濾過해서 얻은 透明한 濾液에 20% CaCl₂ 溶液 1ml 를 加하고 遠心分離한 濾液을 供試液으로 하였다.

(2) Protease 力價

protease 力價 測定은 Fuld Gross method⁽²¹⁾에 의하였으나, 즉 調製된 酵素液을 倍數로 稀釋한 試驗管列에 基價 0.1% casin 2ml 를 加하고 30°C의 恒溫水槽中에서 1時間 反應시킨 다음 곧 冷水中에서 冷却하여 醋酸, 酒精混合液 6 방울을 이 冷却된 反應液에 滴下하여 가장 濁渦이 일어나지 않는 試驗管의 酵素量을 計算하였다. 그리고 供試酵素液 1ml 가 分解한 0.1% casein 溶液의 ml數로 力價를 表示하였다.

3) 豉醬 담금

된장 原料配合比는 Table 1 과 같이 標準區 As, Bs, 및 試驗區 A, B, C, D, E 区로 하였다.

原料는 chopper로 磨碎하여 30°C의 恒溫器에서 13日間 溫醸하였고 그 後부터는 室溫에 放置하였다. 소금 함량(건물량)은 10%이고, 水分⁽²³⁾은 45%~50% 정도이다.

Table 1. Soybean paste with various ratio of raw materials mixed (weight ratio%)

Raw materials Groups	Steam- med soy bean	Koji		Natto	
		Soybean + Wheat	Wheat	Soybean bean	Soybean + Wheat
As	50	50			
Bs		100			
A		85	15		
B	33	33	33		
C		50			50
D			50	50	
E				100	

※ soybean : wheat = 4 : 1

4) 豉醬 熟成中 各種 成分 測定

(1) 試料의 處理

各 試料(As, Bs, A, B, C, D, E)區를 10g 정도 取해서 waring blender에 넣고 마쇄하고 증류수로 씻어내린 후 일정양으로 하고 濾過하였다. 여액에 10% trichloro-

acetic acid 5 ml 를 加하여 하룻밤 放置하여 첨전된 蛋白質을 여과하여, 적당히 회석한 후 다음 실험을 하였다.

(2) 암모니아태 질소

암도니아태 질소는 Wuerster 氏法⁽²⁴⁾으로 定量하였다. 즉 供試液 50 ml 를 500 ml 중류 플라스크에 취하여 약 200 ml 의 중류수를 加하고 MgO 로 일칼리性되게 한 後 Wagner 장치로 중류하여 0.1N NaOH 로 적정했다.

(3) Amino 酸

Amino 酸은 Soerensen 氏 formol titration method⁽²⁴⁾에 따라 定量하였다. 즉 供試液 15 ml 를 0.1N NaOH 로 中和한 後 2 倍 회석한 formaldehyde 20 ml 를 가하고 phenoiphthalin 를 지시약으로 하여 0.2N NaOH 로 적정했다.

(4) 還元糖

Iodometry 法⁽¹²⁾으로 定量하였다. 즉 供試液 10 ml 에 0.05 N I₂ 溶液 20 ml, 0.5N NaOH 4 ml 를 加한 後 10~15 分間 暗所에 放置한다. 여기에 N H₂SO₄ 50 ml 를 加하고 0.05 N Na₂S₂O₃ 를 滴定했다.

(5) 總 酸

中和法⁽²⁵⁾으로 定量하였다. 즉 供試液 20 를 取해 0.1N 로 滴定하여서 젖산으로 换算하였다.

(6) 소금⁽²⁶⁾

供試液 5 ml 를 2% K₂CrO₄ 溶液은 지시약으로 하여 0.02N AgNO₃ 溶液으로 滴定했다.

(7) 總窒素

총질소는 Kjeldahl 法⁽²⁴⁾에 따라 定量하였다.

(8) 水 分

水分測定은 恒量法⁽²⁴⁾으로 했다.

結果 및 孝察

1. Natto 와 콩 koji 의 Protease 力價

Natto 와 콩 koji 의 成熟時間에 따른 protease 力價는 Fig. 1 과 같다.

納豆의 protease 力價는 koji 보다 2 倍 以上이나 높았고 5 時間後부터 급진적으로 增加하였으며 그 後부터는徐徐히 增加되어 24 時間에 最高에 達하였다.

2. Amino acid 的 變化

된장 熟成中 amino acid 的 測定結果는 Fig. 2 와 같다. 대체로 納豆를 첨가하였거나(A, B, C, D, E) 納豆만(E區)의 된장은 標準區(As, Bs 区) 보다 amino acid 含量이 많았다. 그것은 *Bacillus natto*의 protease 力價가 크기 때문이라 생각된다.

Amino acid 는 原料一部 koji 된장인 때는 390 mg%⁽²⁷⁾

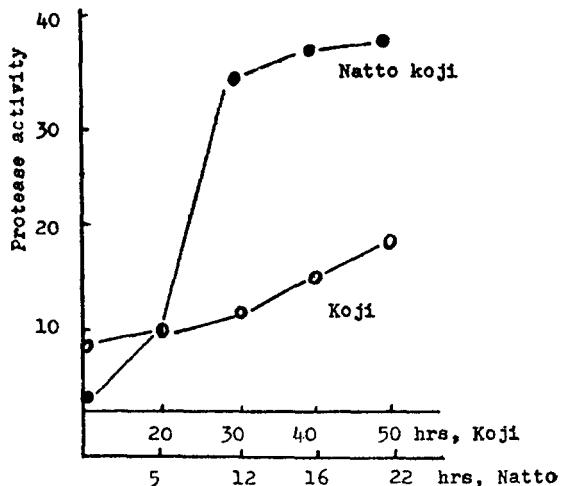


Fig. 1. Changes in the proteolytic activity of natto and koji during its preparation

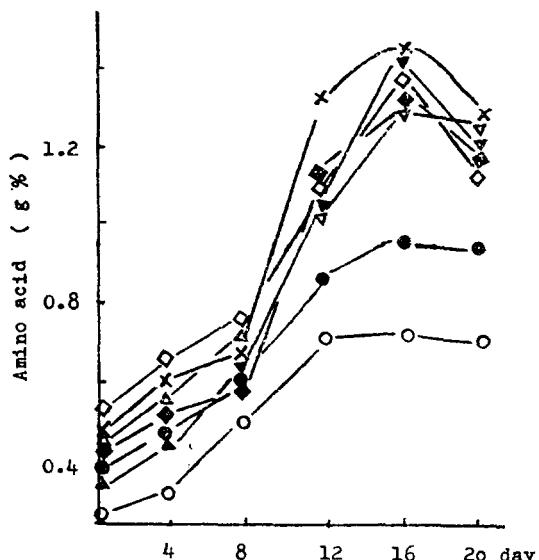


Fig. 2. Changes in the amount of amino acid during the fermentation of soybean paste

—○— : As, —●— : Bs, —△— : A, —▲— : B
—□— : C, —■— : D, —×— : E.

이고, 한편 原料配合을 달리한 콩 koji 된장의 경우는 150 mg% 이나⁽²⁸⁾ 納豆를 첨가한 된장中의 amino acid 含量은 훨씬 많은 1,350 mg% 가량 되었다. 이는 韓國醬類協同組合⁽³²⁾의 1 級規格 300 mg% 보다 월등 많은 量을 보인 것이다. 대체로 amino acid 的 增量은 全窒素減量과 比例的으로 變化하였고, 13日 後는 減量되었다. 그것은 生成되는 量보다 減少되는 amino acid 量이 많기 때문인 것으로 본다.

3. 總酸의 變化

熟成中 總酸의 測定結果는 Fig. 3 과 같다. 標準區 As, Bs 區를 比較하면 Bs 區나 As 區보다 總酸의 含量이

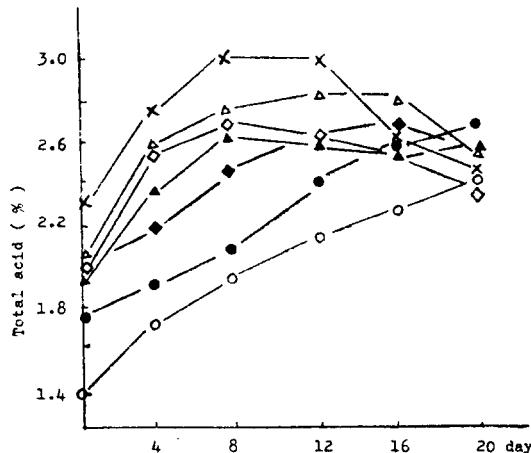


Fig. 3. Changes in the amounts of total acid during the fermentation of soybean paste

—○— : As, —●— : Bs, —△— : A, —▲— : B,
—□— : C, —■— : D, —×— : E.

많았다. 納豆 添加量의 相異에 依한 總酸은 別差가 없었으며 標準區는 13日 後에 서서히 增加되었으나 納豆 된장은 대체로 13日 부터 減少되어一部 koji 된장(As 區) 보다는 다소 많고 全 koji 된장(Bs 區)보다는 적은 편이다. 이것은 納豆된장이 koji 된장 보다 熟成이 빨라

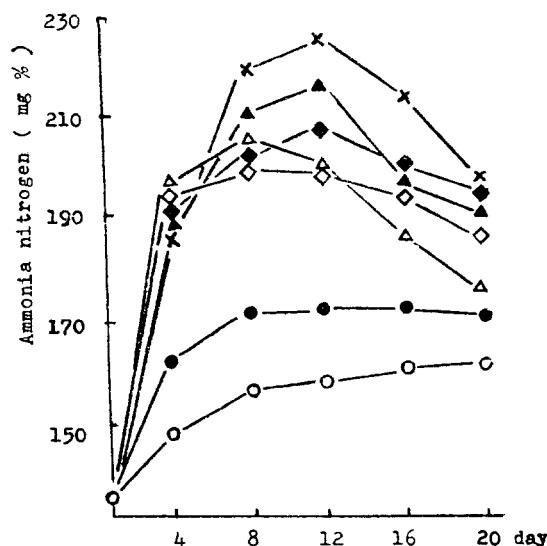


Fig. 4. Changes in the amount of ammonia-nitrogen during the fermentation of soybean paste

—○— : As, —●— : Bs, —△— : A, —▲— : B,
—□— : C, —■— : D, —×— : E.

速釀된 것으로 본다. 13日 以後 溫釀으로 하지 않았을 때 數量의 증감을 보인 것은 熟成이 지연됨에 따라 糖分解도 완화하고, 일단 生成된 數의一部는 알코올과 에스텔화되어 芳香成分等으로 소모되어진 것으로 본다. 熟成中 總酸量은 稲森⁽³³⁾의 된장에 0.48%와 友田⁽³⁴⁾의 된장에 2.3% 보다도 좀 많았으며 含量變化는 熟成 9日 까지는 대체로 급증가했고 13日 부터는 서서히 감소되었다.

4. 암모니아태 질소의 變化

熟成中 암모니아태 질소의 測定結果는 Fig. 4 과 같다. 納豆된장은 koji 된장(As, Bs 區) 보다도 암모니아태 질소가 대체로 많은 편이며 이것은 納豆된장이 protease 力價가 높아 된장의 熟成度가 큰 까닭에 암모니아태 질소가 많은 것 같다. 그 중 全納豆(E 區)로 한 된장이 가장 많았다.

芳香은 納豆된장을 15% 첨가한 것이 가장 좋다. 된장의 芳香은 많은 香氣成分⁽⁷⁾의 종합으로 이루어지는 데 15% 以上的 納豆를 첨가한 된장(B, C, D, E 區)은 NH₃以外의 香氣成分 즉 有機酸, alcohol, aldehyde, 含硫黃, phenol 等에 比해 NH₃가 너무 많아 芳香이 나쁜 것으로 본다. 그러나 이것은 소금량의 증가로서 調節될 수 있으리라 본다

9日 까지 암모니아태 질소가 증가된 것은 湯川⁽²⁹⁾가 指摘한 바와 같이 tyrosine 이 tyrosol 과 NH₃로 되는 機作과 같은 담금중의 旺盛한 菌代謝에 依한 것 같으며 그 後부터 減少된 것은 溫釀으로 하지 않아서 protein의 分解가 지연되기 때문인 것으로 본다.

5. 還元糖의 變化

된장 熟成中 환원당의 变化를 測定한 結果는 Fig. 5 과 같다.

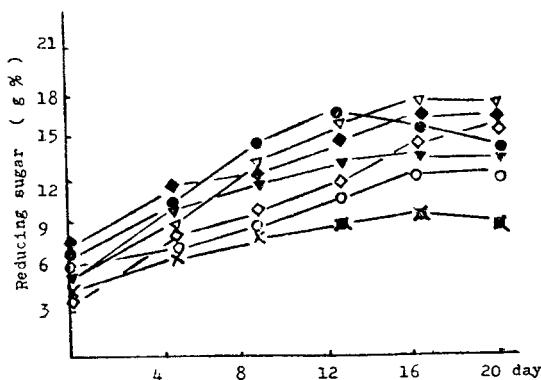


Fig. 5. Changes in the amount of reducing sugar during the fermentation of soybean paste

—○— : As, —●— : Bs, —△— : A, —▲— : B,
—□— : C, —■— : D, —×— : E.

標準區(As, Bs 區)를 比較하면 As 區 보다 Bs 區 된장이 많았으며, 試驗區中 15% 된장(A 區)이 全納豆된장(E 區) 보다 또 標準區(As, Bs 區) 보다 第一 좋은結果를 가져왔으며, 納豆된장과 koji 된장의 特別한 差는 없었다.

還元糖量은 된장의 原料에 따라 다르고 酵素處理에 依해 다르나 普通 쌈 된장의 경우 10個月 熟成한 것의 6.02%에 比해서⁽³⁰⁾ 약 2倍가량 많았으며 金⁽³⁸⁾이 實驗한 3~11%에 比해서도 적은 편은 아니다. 대체로 9~15日까지 急增加하였고 15日後부터는 서서히 減少하였는데 還元糖量으로 보아서는 15日間의 熟成이면 充分하다.

6. 總窒素의 變化

된장 熟成中의 총질소의 变化는 Fig. 6 과 같다. 納豆된장(A, B, C, D, E 區)은 標準區(As, Bs 區) 보다 총질소

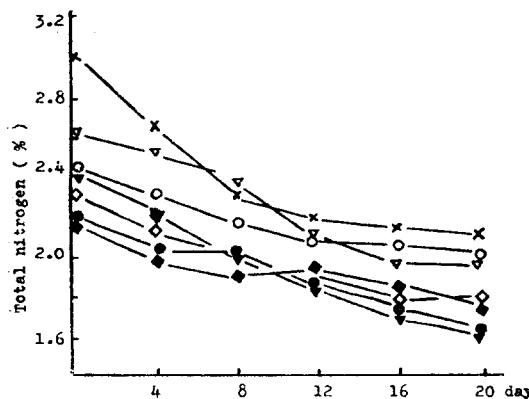


Fig. 6. Changes in the amount of total nitrogen during the fermentation of soybean paste

—○— : As, —●— : Bs, —△— : A, —▲— : B
—□— : C, —■— : D, —×— : E.

의 감량이 많았다. 총질소의 감량은 15日까지는 甚하고 그後부터는 감소율이 比較的緩和되었다. 이것은 암모니아태 질소 및 amino acid 증가량과 비례적이었다. 이는 된장 중 蛋白質의 一部가 koji 菌, 細菌類의 酵素에 의하여 amino acid로 되고 다시 鹽基類, NH₃, 有機酸, phenol 等으로 變化하기 때문이라 본다.⁽³¹⁾ 그중 納豆의 냄새는 一部 NH₃에 主原因이 된다.⁽³¹⁾

된장의 分解를 中 전 질소의 30~40%⁽²⁹⁾가 非蛋白形態로 存在하며 熟成되어 점에 따라 그 含量이 增加하게 된다.

試驗區中 全納豆된장(E 區)은 총질소의 감량이 다른 試驗區보다 현저하였다.

된장 koji의 protease 力價, amino acid의 變化, 총질소의 消長關係를 보면 총질소는 15日까지는 감소율이 甚하고 그後부터는 比較的緩和되었으며, amino acid는 이와 比例적으로 13日까지는 急增加하였고 그後부

터는 徐徐히 증감을 보였다. protease 力價는 20時間까지 徐徐히 증가되었으며, 총질소의 감소와 비례적이었다. 한편 納豆된장의 protease 力價, amino acid의 變化, 총질소의 消長關係를 보면 納豆의 protease 力價가 13時間까지 급증과 함께 따라 amino acid量도 比例의으로 급증과 함께 총질소의 감량은 이와 比例의으로 증감하였다. 13時間後부터 protesse 力價가 缓和됨에 따라 총질소의 감소율과 amino acid의 증가율도 작아졌다. 따라서 納豆된장의 熟成은 13日이면 充分하다.

9. 官能検査

食品에 전문지식을 가진 10名의 官能検査結果는 Table 2와 같다.

Table 2. Sensory difference test

Items	Groups						
	As	Bs	A	B	C	D	E
색	갈	굴색	글색	담색	담색	암색	암다
냄새	+	+++	+++	+	-	+	--
맛	++	++	+++	++	-	+	-

(the degree of good, bad are expressed as +, -)

1) 색갈 : 標準區(As, Bs 區)는 굴색이고 그 外는 대체로 어두운 색을 나타내었다. 즉 A, B 區는 담색이고 C 區는 암주황색이었다.

2) 냄새와 맛 : 納豆量이 많은 C 區와 E 區은 단맛도 달하고 냄새도 가장 나쁘으며 기타 As, Bs, A, B, D 區는 다소 단맛을 떠우고 냄새도 좋은 편인데, 其中 15% 納豆된장이 냄새와 맛이 가장 좋았다.

摘要

1) 熟成은 納豆된장이 koji 된장 보다 빠르고 13日間이면 充分하다.

2) 化學成分 品質 및 냄새와 색깔은 15% 納豆된장이 다른 것보다 가장 좋은 영향을 주었다.

3) 총 질소량의 变化는 담금한 후 13日까지는 점차로 감소되었으나 amino acid量과 암모니아태 질소량은 증가되었다.

4) Amino acid量의 變化는 13日以後부터 減少되었다.

5) Amino acid量은 納豆된장이 koji 된장 것보다 많았다.

6) 총산과 환원당량의 变化는 숙성 9~15日까지 급증과 하였으며 그 後부터는 서서히 증감하였다.

7) 총산과 환원당은 koji 된장 보다 納豆된장이 약간 많았으며, 納豆 첨가량의 相異에 依한 큰 差異는 없었다

8) 환원당량과 amino acid量의 變化는 protease 力價

에 비례하였다.

9) 15% 納豆를 첨가하여 13日間 30°C에서 速醸하면
좋은 된장을 만들 수 있다.

文 獻

- 1) 中野政強：醣酵食品，光琳書店，東京，122 (1968).
- 2) 朴泰源，黃圭成，林善旭，金珠熙：科研彙報，4，31 (1959).
- 3) 鄭泰錫，金燦禪，黃圭成：科研彙報，3，83 (1958).
- 4) 金洙榮，金載勗：韓國農化學會誌，8，14 (1967).
- 5) 鄭泰錫，桂聖烈，尹斗石：科研彙報，4，41 (1959).
- 6) 鄭泰錫，金燦禪，尹斗石：科研彙報，3，75 (1958).
- 7) 澤村眞：日本農學會報，67，1 (1905).
- 8) 澤村眞：日本農學會誌，120，1 (1912).
- 9) 逸見文雄：札幌縣會報，13，57 (1921).
- 10) 林右市：日本醣酵工學雜誌，37，272 (1959).
- 11) 伊勢武男：日本農藝化學會誌，2，32 (1926).
- 12) 小幡彌太郎：日本農藝化學會誌，38，567 (1959).
- 13) 村松齊祐：日本學術協會報告，5，340 (1930).
- 14) 徐日濬：朝鮮醫學會報，75，284 (1927).
- 15) 鄭泰錫：科研彙報，1，19 (1956).
- 16) 好井久雄：醣酵工業，光琳書院，東京，p.140 (1960).
- 17) 朴泰源，金順燦：科研彙報，2，52 (4290).

- 18) 金浩植：農產加工學，鄉文社， 서울，p.144 (1964).
- 19) 梁漢喆：韓國農化會誌，7，68 (1966).
- 20) 友田宣孝外 3人：醣酵食品(微生物工學 講座 3) 東京，p.38 (1963).
- 21) 赤堀四郎：酵素研究法(Ⅰ)，東京，p.252 (1966).
- 22) 強智鉉：서울農業大學論文集，1，212 (1963).
- 23) 金鏞揮，金載勗：韓國農化學會誌，4，17 (1963).
- 24) 山田正一：醣造分析法，產業圖書，東京，p.57，71，112，116，117 (1967).
- 25) A.O.A.C : Method of Analysis of the A.O.A.C, 9, 430. (1960).
- 26) A.O.A.C : Method of Analysis of A.O.A.C, 9, 235 (1960).
- 27) 稲森道三郎：強化味傷，醣造工場，東京(食品工業臨時增刊) 150 (1960).
- 28) 金浩植，李瑞來，趙漢玉：韓國農化學會誌，2，22 (1961).
- 29) 渡川又夫：日本化學總覽，3，129 (1915).
- 30) 西田孝太郎，蘇田省一：農產製造寶典，東京，p.208 (1963).
- 31) 岩田久敬：食品化學，養賢堂，東京，p.324, 601 (1955).
- 32) 大韓醬類協同組合規格集：된장 檢查 (1962).
- 33) 稲森道三郎：日本醣酵工學雜誌，30，370 (1952),