

## *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 determined 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

大豆는 各種 必須 amino acid<sup>(1~4)</sup>가 골고루 함유되

어 있어 營養價値가 높아 蛋白質의 給源으로서 우리나라를 비롯하여 東洋人의 重要한 食糧資源이다.

大豆는 加工方法에 따라 그 營養價値가 달라지게 되는데 그 중 醱酵食品은 消化率이 가장 效率的이라고 金<sup>(4)</sup>

은 報告했고 鄭<sup>(5)</sup> 등은 數種 大豆加工食品으로써 쥐의 窒素 및 生育試驗과 蛋白質의 利用率을 檢討한 結果 納豆의 營養價値가 가장 좋았음을 밝힌 바 있었다. 한편 鄭<sup>(3)</sup> 등은 納豆의 free amino acid 가 다른 豆類의 그것보다 越等 많다고 하였다.

이와 같이 大豆醱酵에 있어서는 納豆가 營養上 有益하므로 著者は *Bacillus natto* 를 利用하여 된장을 만듦으로써 營養價를 높이고, 특수한 芳香을 내게하며 熟成期間을 短縮하고자 實驗한 몇 개의 給果를 얻었으므로 그 一部를 報告한다.

이외에도 納豆에 對한 細菌學的<sup>(6-8)</sup>, 酵素學的<sup>(9-10)</sup> (14-15) 納豆의 成分<sup>(11)</sup> 및 香氣<sup>(12-13)</sup>에 관한 研究가 있고 또 納豆의 製造方法<sup>(1, 4, 16)</sup>과 粉末된장에 粉末納豆를 첨가하여 맛을 強化한 된장에 對한 研究<sup>(17)</sup> 등이 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)

스금(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 50 ml 와 증류수 49 ml 를 混合한 液)

種水(上水道)

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

*Aspergillus oryzae* : 綿粒 殺菌한 100 ml 삼각 플라스크에 小麥 5 g 와 물 30 ml 를 넣고 잘 混合해서 autoclave 에 넣어 15 Lbs 에서 20 分間 殺菌하여 30°C 程度로 冷却한 다음 여기에 *Asp. oryzae* 를 接種하고 30°C 에서 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 autoclave 에서 15 Lbs 로 30 分間 蒸煮하였다.

小麥은 精選하여 볶아서 割碎하였다.

###### (2) Koji 製造<sup>(18)</sup>

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

에서 50 時間<sup>(19)</sup> 동안 常法에 따라 製造하였다.

##### (3) 納豆製造<sup>(1)</sup>

處理된 蒸煮大豆를 60°C 에서 種菌을 接種하여 42°C 에서 24 時間<sup>(4)</sup> 常法에 따라 製造하였다.

##### 2) Protease 力價 測定法

###### (1) 酵素液 調製<sup>(20)</sup>

잘 磨碎된 natto 와 koji 를 각 1 g 씩 시험관에 취하고 증류수 50 ml 와 toluene 몇 방울을 加하여 30°C 에서 1 時間 振盪抽出한 後 東洋濾紙 No. 5 로 濾過해서 얻은 透明한 濾液에 20% CaCl<sub>2</sub> 溶液 1 ml 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<sup>(21)</sup>에 의하였다. 즉 調製된 酵素液을 倍數로 稀釋한 試驗管列에 基價 0.1% casin 2 ml 를 加하고 30°C 의 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 濁濁이 일어나지 않는 試驗管의 酵素量을 計算하였다. 그리고 供試酵素液 1 ml 가 分解한 0.1% casein 溶液의 ml 數로 力價를 表示하였다.

###### 3) 된장 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 區로 하였다.

原料는 chopper 로 磨碎하여 20°C 의 恒溫器에서 13 日間 溫成하였고 그 後부터는 室溫에 放置하였다. 스금 함량(건물량)은 10%이고, 水分<sup>(23)</sup>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	Soy 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) 된장 熟成中 각종 成分 測定

###### (1) 試料의 處理

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

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

(2) 암모니아태 질소

암모니아태 질소는 Wuerster 氏法<sup>(24)</sup>으로 定량하였다. 즉 供試液 50 ml 를 500 ml 증류 플라스크에 취하여 약 200 ml 의 증류수를 加하고 MgO 로 알칼리성되게 한 後 Wagner 장치로 증류하여 0.1N NaOH 로 적정했다.

(3) Amino 酸

Amino 酸은 Soerensen 氏 formol titation method<sup>(24)</sup>에 따라 定량하였다. 즉 供試液 15 ml 를 0.1N NaOH 로 中 和한 後 2 倍 회석한 formaldehyde 20 ml 를 加하고 phenolphthalin 를 지시약으로 하여 0.2N NaOH 로 적정 했다.

(4) 還元糖

Iodometry 法<sup>(12)</sup>으로 定량하였다. 즉 供試液 10 ml 에 0.05N I<sub>2</sub> 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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50 ml 를 加 하고 0.05N Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 로 滴定했다.

(5) 總 酸

中和法<sup>(25)</sup>으로 定량하였다. 즉 供試液 20 ml 를 取해 0.1N 로 滴定하여서 젯산으로 換算하였다.

(6) 소금<sup>(26)</sup>

供試液 5 ml 를 2% K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> 溶液은 지시약으로 하여 0.02N AgNO<sub>3</sub> 溶液으로 滴定했다.

(7) 總窒素

총질소는 Kjeldahl 法<sup>(24)</sup>에 따라 定량하였다.

(8) 水 分

水分測定은 恒量法<sup>(24)</sup>으로 했다.

結果 및 考察

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 의 變化

된장 熟成中 amino acid 의 測定結果는 Fig. 2 와 같다. 대체로 納豆를 첨가하였거나(A, B, C, D, 區)納豆만 (E 區)의 된장은 標準區(As, Bs 區) 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 된장인때는 390 mg%<sup>(27)</sup>

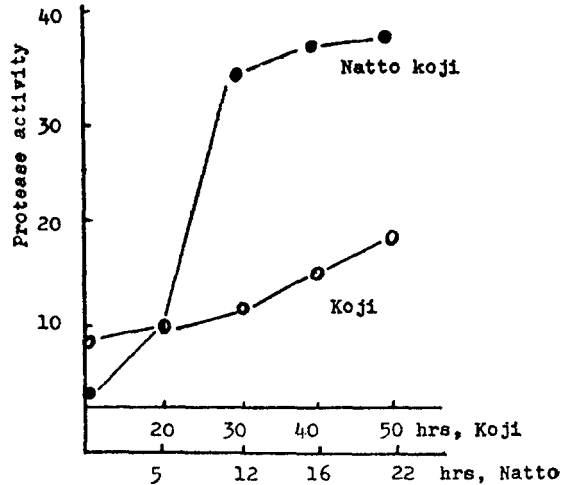


Fig. 1. Changes in the proteolytic activity of natto and koji during its preparation

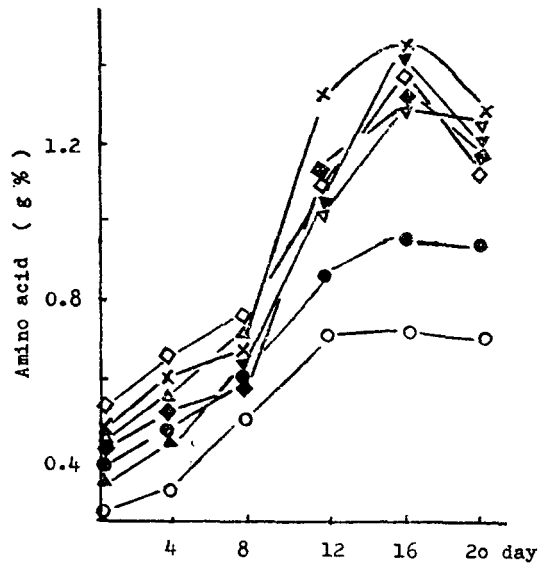


Fig. 2 Changes in the amount of amino acid during the fermentation of soybean paste

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

이고, 한편 原料配合를 달리한 콩 koji 된장의 경우는 150 mg%이나<sup>(28)</sup> 納豆를 첨가한 된장中의 amino acid 含量은 훨씬 많은 1,350 mg% 가 량 되었다. 이는 韓國醬類 協同組合<sup>(32)</sup>의 1 級規格 300 mg% 보다 훨씬 많은 量을 보인 것이다. 대체로 amino acid 의 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

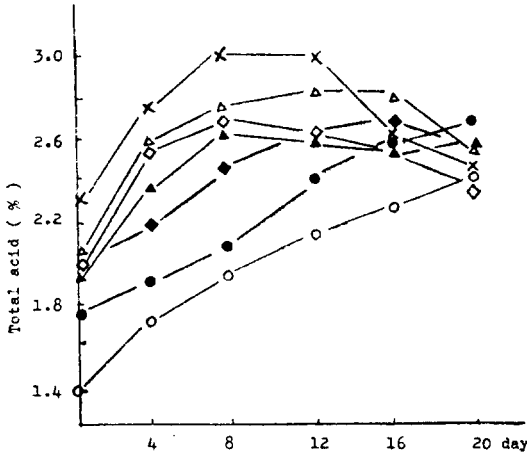


Fig. 3. Changes in the amounts of total acid during the fermentation of soybean paste  
—○—: As, —●—: Bs, —△—: A, —▲—: B.  
—□—: C, —■—: D, —×—: E.

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

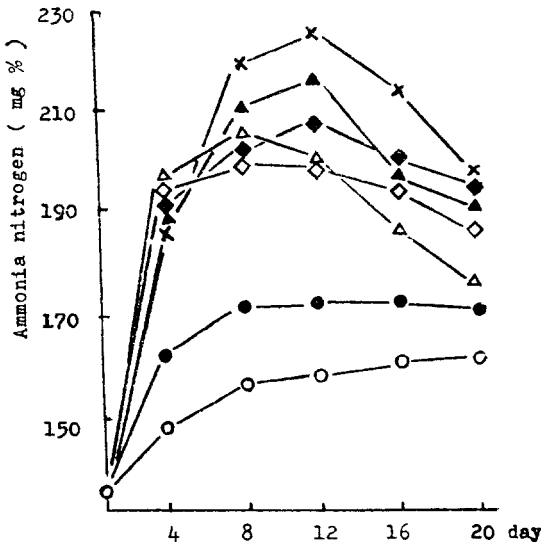


Fig. 4. Changes in the amount of ammonia-nitrogen during the fermentation of soybean paste  
—○—: As, —●—: Bs, —△—: A, —▲—: B.  
—□—: C, —■—: D, —×—: E.

速醱된 것으로 본다. 13日以後 溫醱으로 하지않았을 때 數量의 증감을 보인 것은 熟成이 지연됨에 따라 糖分解도 完化하고, 일단 生成된 數의 一部는 알코올과 에스텔化되어 芳香成分等으로 소모되어진 것으로 본다. 熟成中 總酸量은 稻森<sup>(33)</sup>의 된장에 0.48%와 友田<sup>(34)</sup>의 된장에 2.3% 보다는 좀 많았으며 含量變化는 熟成 9日까지는 대체로 급증하였고 13日 부터는 서서히 감소되었다.

4. 암모니아태 질소의 變化

熟成中 암모니아태 질소의 測定 結果는 Fig. 4 와 같다. 納豆된장은 koji 된장(As, Bs 區) 보다는 암모니아태 질소가 대체로 많은 편이며 이것은 納豆된장이 protease 力價가 높아 된장의 熟成도가 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<sup>(7)</sup>의 總합으로 이루어지는데 15% 以上の 納豆를 첨가한 된장(B, C, D, E 區)은 NH<sub>3</sub> 以外の 香氣成分 즉 有機酸, alcohol, aldehyde, 含硫黃, phenol 等에 비해 NH<sub>3</sub>가 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<sup>(29)</sup>가 指摘한 바와 같이 tyrosine 이 tyrosol 과 NH<sub>3</sub>로 되는 機作과 같은 담금중의 旺盛한 菌代謝에 依한 것 같으며 그 後부터 減少된 것은 溫醱으로 하지않아서 protein의 分解가 지연되기 때문인 것으로 본다.

5. 還元糖의 變化

된장 熟成中 환원당의 變化를 測定한 結果는 Fig. 5 와 같다.

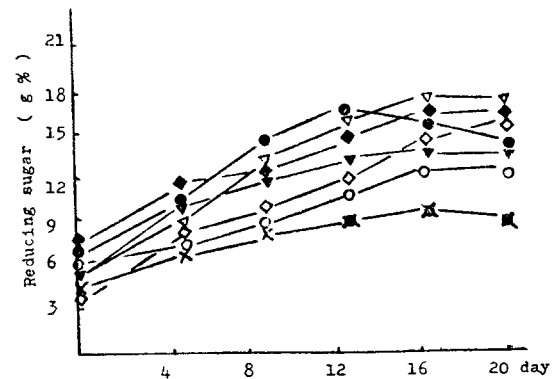


Fig. 5. Changes in the amount of reducing sugar during the fermentation of soybean paste  
—○—: As, —●—: Bs, —△—: A, —▲—: B.  
—□—: C, —■—: D, —×—: E.



에 비례하였다.

9) 15% 納豆를 첨가하여 13日間 30°C 에서 速醱하면 좋은 된장을 만들 수 있다.

文 獻

1) 中野政強 : 醱酵食品, 光琳書店, 東京, 122 (1968)

2) 朴泰源, 黃圭晟, 林善旭, 金珠熙 : 科研彙報, 4, 31 (1959).

3) 鄭泰錫, 金燦祚, 黃圭晟 : 科研彙報, 3, 83 (1958).

4) 金株榮, 金載勛 : 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, 金燦祚, 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 : 日本醱酵工學雜誌, 37, 272 (1959)

11) 伊藤武男 : 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) 村松舜祐 : 日本學術協會報告, 5, 340 (1930).

14) 兪日濬 : 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 : 釀造工業, 光琳書院, 東京, p.140(1960).

17) 朴泰源, 金順燦 : 科研彙報, 2, 52 (1959).

18) 金浩植 : 農產加工學, 鄉文社, 서울, p.144 (1964).

19) 梁漢喆 : 韓國農化學會誌, 7, 68 (1966).

20) 友田宣孝外 3人 : 醱酵食品(微生物工學 講座 3) 東京, p.38 (1963).

21) 赤堀四郎 : 酵素研究法(Ⅱ), 東京, p.252 (1966).

22) 強智鉉 : 서울農業大學論文集, 1, 212 (1963).

23) 金鏞揮, 金載勛 : 韓國農化學會誌, 4, 17 (1963).

24) 山田正一 : 釀造分析法, 産業圖書, 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) 稻森道三郎 : 強化味傷, 釀造工場, 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) 湯川又夫 : 日本化學總覽, 3, 129 (1915).

30) 西田孝太郎, 藤田省一 : 農產製造寶典, 東京, p.208 (1963).

31) 岩田久敏 : 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 檢査 (1962).

33) 稻森道三郎 : 日本醱酵工學雜誌, 30, 370 (1952),