

향미성 Natto의 향기성분, 지방산 및 유기산 함량 분석

김복란[†] · 박창희* · 함승시 · 이상영

강원대학교 식품공학과

*샘표식품공업(주) 연구실

Flavor Component, Fatty Acid and Organic Acid of Natto with Spice Added

Bok-Nan Kim[†], Chang-Hee Park*, Seung-Shi Ham and Sang-Young Lee

Dept. of Food Science and Technology, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

*Lab. of Sampyo Food Ind. Co., Ltd., Seoul 132-040, Korea

Abstract

Natto is a Japanese traditional food made from whole soybeans by the fermentation of *Bacillus natto*. This study was attempted to improve the taste of Natto, garlic (2%) and red pepper oleoresin (0.2%) were added. Conventional Natto (N-1), garlic Natto (N-2), red pepper oleoresin Natto (N-3), garlic and red pepper oleoresin Natto (N-4) were prepared. Volatile flavor components, fatty acid, organic acid, pH and titratable acidity in all samples were investigated. The experimental results revealed the presence of 62 volatile components in conventional Natto. Among there, the major flavor compounds were identified to be 2,5-dimethylpyrazine, trimethylpyrazine, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenol. Seventy-one volatile compounds were detected in N-2, and major compounds were identified to be methyl-2-propenyl disulfide, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenol and 2,5-dimethylpyrazine. The amounts of volatile compounds, 2-methoxyphenol and 1,2-benzenedicarboxylic acid increased by addition of garlic, where as, 1,2-propanediol, 1-hexanol and 2,5-dimethylpyrazine decreased. The compounds, 4,5-dihydroxy-5-propyl-1H-pyrazole, 1,1,3-trimethylcyclopentane were identified in N-3. The compounds, such as trimethylpyrazine, 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine increased by addition of red pepper oleoresin, whereas 1,2-propanediol, 1-hexanol and 2,5-dimethylpyrazine decreased. Fatty acid compositions were mainly consisted of linoleic acid (43.66~55.89%) and followed by oleic, palmitic, linolenic, stearic, arachidic, myristic acid. The organic acids were identified to be citric (28.2~30.6), acetic (50.0~73.3) and pyroglutamic acid (2.1~3.7).

Key words : Natto, volatile components, fatty acid, organic acid

서 론

Natto는 중자대두에 *B. natto*를 접종하여 발효시킨 일본의 전통식품이다. 일본에서 Natto에 대한 연구는 1950년대 후 부터 오늘날에 이르기까지 꾸준히 광범위하게 이루어져 왔으며 우리나라에서는 정 등¹⁾이 여러 종류의 대두 가공식품으로서 쥐의 생육실험과 단백질의 이용율을 실험 검토한 결과 Natto의 영양가치가 가장 좋았으며 Natto의 free amino acid가 다른 대두 가공품 보다 월등히 많았다고 보고하였고, Natto 중 효소 및 영양성분에 관한 연구²⁾, Natto 제조 중의 단백질

peptide 및 아미노산의 변화³⁾에 대한 연구와 최근에는 점질물의 특성에 대한 연구^{4,5)}가 보고되었다. 또한 Natto의 발효 과정 중에 생성되는 효소 중에는 혈전증을 예방 및 치료할 수 있는 nattokinase가 함유되어 있다는 연구결과⁶⁾가 있는데 이에 대한 연구는 일본에서도 최근에 시작되어 많이 연구되어 있지는 않다. Natto는 독특한 점질물과 풍미를 가지고 있으며 기능성 식품으로서 가치가 높는데 우리나라는 일본 식품의 대부분을 잘 소화하여 이용하고 있으면서도 Natto 식품의 소비가 전혀 없는 것은 Natto의 맛이 우리의 입맛에 적합하지 않기 때문이라고 생각한다.

일반적으로 향신료는 색택은 물론 맛 성분이나 향미 성분에 영향을 주어 품질평가의 중요한 기준이 되며

[†]To whom all correspondence should be addressed

식품에 첨가하여 향미개선 및 식욕증진의 역할을 한다⁷⁾. 따라서 본 연구는 Natto 제조시 우리나라 사람들이 많이 섭취하고 있는 마늘과 고추가루를 에탄올로 추출·농축하여 제조한 고추 oleoresin을 첨가하여 마늘의 고유한 맛과 향을 동시에 가지며 또한 고추 oleoresin의 carotenoid 색소에 기인하는 색택⁸⁾과 매운맛 성분을 비롯한 향미성분으로 맛 개선의 효과를 가질 수 있을 것이라 생각되며 따라서 향미성 Natto의 품질평가를 위한 기초자료를 얻기 위하여 마늘 및 고추 oleoresin을 첨가한 Natto의 제조 중 당류 및 아미노산 함량 변화에 관한 전보⁹⁾에 이어 발효 중에 생성되는 향기성분을 연속증류 추출장치로 추출하고 GC 및 GC-MSD를 이용하여 분석 동정하였으며 지방산, 유기산, pH 및 적정산도를 측정하여 약간의 결과를 얻었으므로 이에 보고하는 바이다.

재료 및 방법

재료

태백종 대두, 국산 한초 고추가루, 국산 마늘과 일본 朝日食品(株)에서 분양받은 *Bacillus natto*(NN-1)균주를 사용하였다.

Natto의 제조

전보⁹⁾에 준하여 *Bacillus natto* 균주를 배양하여 종균으로 사용하고 Natto 제조에 사용한 대두, 고추 oleoresin, 마늘의 원료 배합 비율에 따라 N-1구(대두 1,000g), N-2구(대두 1,000g, 마늘 40g), N-3구(대두 1,000g, 고추 oleoresin 4g), N-4구(대두 1,000g, 마늘 40g, 고추 oleoresin 4g)로 하여 각각 Natto를 제조하였다.

Natto의 발효

증자대두를 가압증자관에서 꺼내어 품온이 85°C가 되면 종균수를 원료대두 100g당 1ml씩 접종하여 40°C에서 24시간 발효시키고(N-1시험구), N-2, N-3 및 N-4 시험구는 증자대두에 균 접종 후 전처리한 마늘 및 고추 oleoresin을 배합비율 대로 잘 혼합한 후 같은 조건으로 발효시켰다.

향기성분의 분석

시료 각 300g에 1L의 증류수를 가한 후 waring blender로 3분간 마쇄한 후 3L의 둥근 바닥 플라스크에 넣고 Schultz 등의 방법¹⁰⁾에 따라 simultaneous steam distillation-solvent extraction(SDE) 장치를 이용하여 상압

하에서 2시간 추출하였으며, 이때 휘발성 향기성분의 추출용매는 재 증류한 diethyl ether 50ml를 사용하였다. 추출시료는 무수황산나트륨을 사용하여 4°C에서 하룻밤 탈수하고 35°C 수욕조에서 rotary vacuum evaporator로 ether를 제거하여 농축한 것을 휘발성 향기성분 분석용 시료로 사용하였다. 휘발성 성분의 동정은 GC-MS 분석결과로 얻은 mass spectrum으로 부터 mass spectral data(Wiley/NBS database)와 비교하여 확인하였다. 이때 GC의 분석조건으로 column은 DB-Wax fused silica capillary column(30m×0.32mm I.D.), column 온도는 50°C에서 5분간 머문 후 240°C까지 3°C/min 승온 후 5분간 머물렀다. Injector 및 detector 온도는 250, 280°C이며 carrier gas는 N₂(1.0ml/min), chart speed는 0.5 cm/min이었다. 또한 GC-MSD의 분석조건으로 column과 column 온도 조건은 GC에서와 같으며 ionization voltage 72eV, mass range는 30~550m/e, carrier gas는 He(1.0ml/min)이었다.

지방산 분석

시료 10mg에 0.5N-NaOH/MeOH 4ml를 가해 환류 냉각기로 60°C에서 10분간 추출한 후, Metcalfe 등의 방법¹¹⁾에 따라 14% BF₃MeOH 5ml를 다시 가하여 60°C에서 2분간 추출하고 n-heptane을 가하여 50ml를 정용한 다음 gas liquid chromatography(HP 5890 Series II)로서 분석하였으며 기기분석 조건으로 column은 DB-Wax fused silica capillary column(30m×0.25mm I.D.), FID detector temp. 240°C, column 온도는 150°C에서 3분간 머문 후 220°C까지 3°C/min 승온 후 10분간 머물렀다. Injector 온도는 220°C, detector 온도는 240°C이며 carrier gas는 N₂(1.5ml/min), chart speed는 0.5cm/min이었다.

유기산의 분석

Natto 1g을 취한 후 1/10N-HCl로 50ml를 정용하고 현탁 추출한 다음 3,000rpm에서 15분간 원심분리하여 상등액을 membrane filter로 여과한 다음 HPLC(Waters 484)로 분석하였으며, 기기분석 조건으로 column은 Bio-Rad Amine ion exclusion HPX-87H, detector는 UV 214nm, mobile phase는 0.012M H₂SO₄, flow rate는 0.6ml/min이며 data module은 Waters 745B, injector는 Waters 712 Wisp, sample size 20μl, column 온도는 65°C이었다.

pH 및 적정산도의 측정

pH 및 적정산도는 표준 Miso분석법¹²⁾에 의해 측정하였다. 즉 pH는 Natto 30g에 증류수 30ml를 가하여 homogenizer로 5,000rpm에서 3분간 마쇄한 다음 pH meter로 측정하였고, 적정산도는 Natto 10g에 증류수 40ml를 가하여 동조건으로 마쇄한 후 교반하면서 1/10N NaOH용액으로 pH가 8.3이 될 때까지 적정하여 소비된 ml수를 적정산도로 표시 하였다.

결과 및 고찰

향기성분

마늘과 고춧가루 oleoresin을 첨가하여 제조한 Natto의 향기성분을 SDE 방법에 의해 GC를 이용, 분리하여 얻은 total ion chromatogram은 Fig. 1과 같으며 분리된 100여개의 peak 중 GC-MSD에 의해 구조가 확인된 향기성분은 Table 1과 같이 N-1시험구에서 62종, N-2

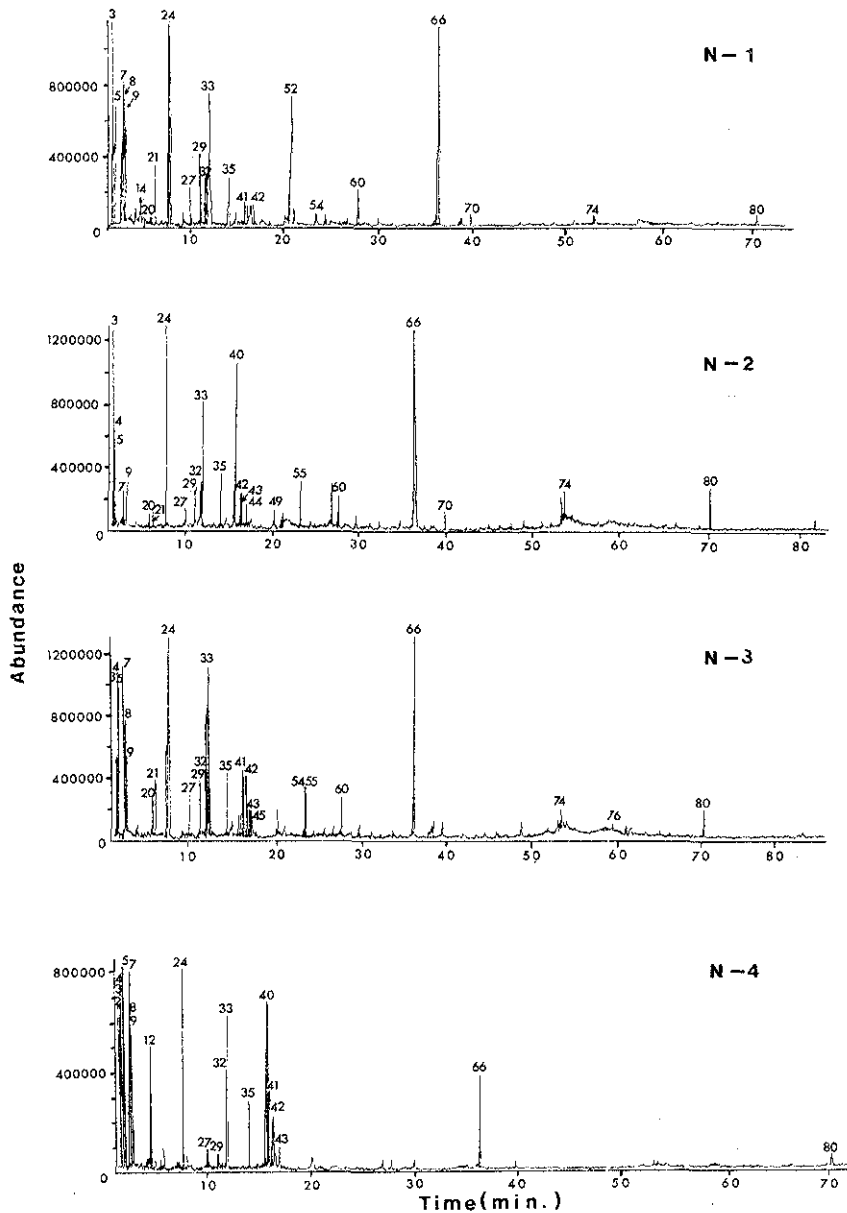


Fig. 1. Total ion chromatogram of volatile components in Natto.

Table 1. Volatile components of Natto fermented for 24 hours

Peak No.	Compounds	Rt ^(a) (min.)	Peak area (%) ^(b)			
			N-1	N-2	N-3	N-4
1	Acetaldehyde	1.38	0.38	0.25	-	-
2	Ethanol	1.44	0.49	0.24	0.04	2.10
3	1,1'-Oxybisethane	1.52	2.25	3.02	1.04	3.20
4	2,3-Butanedione	1.74	0.70	1.33	1.02	2.95
5	Ethylacetate	1.84	1.17	1.19	1.00	9.22
6	3-Methylthio-1-propene	2.41	-	0.16	-	0.82
7	3-Hydroxy-2-butanone	2.53	2.74	0.58	2.06	9.43
8	3-Hydroxy-3-methyl-2-butanone	2.78	2.34	0.40	1.30	1.84
9	1,2-Propanediol	3.01	4.61	2.21	1.82	1.62
10	2-Methylthio ethanol	3.21	0.27	-	0.18	-
11	Acetamide	3.42	-	0.10	0.07	0.56
12	3-Methyl-2-butanol	3.49	0.15	-	0.10	7.02
13	1,2-Butanediol	3.95	0.99	0.21	0.34	0.57
14	Hexanal	3.99	0.52	0.23	0.12	0.21
15	2-Propanol	4.19	0.16	0.09	0.16	0.33
16	2,4,5-Trimethyl-3-oxazoline	4.24	0.32	0.12	0.32	0.16
17	3-Methyl-3-pentanol	4.65	0.21	0.08	0.17	0.15
18	2-Furancarboxyaldehyde	4.89	0.21	0.08	0.14	0.37
19	1,3-Dioxolan-2-one	5.30	0.10	0.25	0.14	0.34
20	2-Furanmethanol	5.76	1.35	0.66	1.02	0.50
21	1-Hexanol	6.22	2.60	0.73	1.73	0.80
22	3,3'-Iminopropylamine	6.77	-	0.19	-	0.08
23	5-Methyl-2-hexanone	6.96	0.14	0.06	0.17	0.52
24	2,5-Dimethylpyrazine	7.82	24.62	9.77	18.36	11.97
25	3-Pyrrolidinol	9.45	-	0.12	-	0.06
26	6-Methyl-2-heptanone	9.85	0.29	0.17	0.12	0.08
27	Benzaldehyde	9.98	1.35	0.82	1.22	0.83
28	5-Methyl-2-heptanone	10.30	0.32	0.15	0.28	0.21
29	1-Octen-3-ol	11.14	3.28	1.80	2.59	0.92
30	2-Buten-1-ol	11.35	0.13	0.12	0.37	0.29
31	2-Pentylfuran	11.56	0.38	0.31	0.47	0.23
32	Phenol	11.62	1.64	1.94	1.21	1.40
33	Trimethylpyrazine	12.15	9.91	9.35	14.15	9.12
34	(E,E)-2,4-Heptadienal	12.56	0.22	0.08	0.06	0.03
35	Benzeneacetaldehyde	14.19	1.75	1.72	1.69	3.02
36	2-Decanone	14.88	0.45	0.65	0.52	0.45
37	6-Methyl-1-heptanol	14.93	0.06	0.14	0.15	0.16
38	4,5-Dihydroxy-5-propyl-1H-pyrazole	15.58	-	-	0.60	0.43
39	1,1,3-Trimethylcyclopentane	15.70	-	-	0.08	0.03
40	Methyl-2-propenyldisulfide	16.00	-	6.83	-	9.44
41	3-Ethyl-2,5-dimethylpyrazine	16.03	0.97	0.82	2.08	1.21
42	Tetramethylpyrazine	16.40	1.01	1.87	1.98	2.72
43	2-Methoxyphenol	16.59	0.46	1.09	1.01	1.08
44	3-Allylthiopropionic acid	16.63	-	0.85	-	0.18
45	3-Allyl-1-thiacyclopentane	16.92	0.73	0.63	1.01	0.72
46	Nonanal	17.39	0.25	0.23	0.20	0.16
47	Methylcinnamate	17.66	0.22	0.49	0.35	0.22
48	Methyl-2-propenyltrisulfide	18.84	-	0.77	-	0.56
49	(E)-2-Nonenal	20.18	0.57	0.65	0.32	0.64
50	2-Nonanone	20.35	0.44	0.52	0.19	0.28
51	1-Nitrosoazetidine	20.84	-	0.11	-	0.06
52	5-Methyl-2-cyclohexanol	20.87	6.82	1.90	0.51	0.68
53	Methylbenzeneacetate	21.11	0.75	0.62	0.40	0.21
54	4-Methylbenzaldehyde	23.46	0.90	-	1.81	0.72
55	2,3-Dihydrobenzofuran	23.57	0.20	2.23	1.81	0.38
56	Ethylbenzeneacetate	24.41	-	0.20	0.19	0.12

Table 1. Continued

Peak No.	Compounds	Rt ¹⁾ (min.)	Peak area(%) ²⁾			
			N-1	N-2	N-3	N-4
57	2-Tridecanone	25.03	0.25	0.38	0.43	0.20
58	(E,Z)-2,4-Decadienal	26.71	0.49	0.55	0.69	0.45
59	2,4,6-Trimethyl-1,3-benzenediamine	27.63	0.29	0.71	0.82	0.21
60	Decadienal	27.78	1.20	1.14	1.17	0.45
61	Dodecamethyl-cyclohexasiloxane	28.57	-	0.16	0.22	0.11
62	2-Methylpiperidine	28.92	-	0.20	0.23	0.13
63	5-Pentyl-dihydrofuranone	29.85	0.27	0.51	0.44	0.30
64	2-Methyl-3-propylpyrazine	34.17	0.76	0.17	0.93	0.18
65	3-Methyl-9H-fluorene	34.73	0.12	-	0.25	0.55
66	2,6-Bis(1,1-dimethylethyl)phenol	36.48	8.20	17.28	11.67	4.13
67	2-Methyl-3-octylpyrazine	38.48	0.12	-	0.44	0.02
68	1,6-Dihydroimidazole	38.70	-	0.17	-	0.13
69	Pentan-1,3-dioldiisobutylate	39.78	0.51	-	0.47	0.39
70	Propanoic acid	39.87	0.23	0.53	0.24	0.55
71	2-Octanone	46.10	-	0.35	0.26	0.21
72	2-Methyleicosane	47.46	0.20	0.14	0.40	0.12
73	Dodecane	50.93	0.63	0.08	0.12	0.09
74	Hexadecanoic acid	53.30	0.66	3.99	3.03	0.40
75	Trichloroecosylsilane	57.97	0.15	0.36	-	0.16
76	Thiosulfuric acid	59.36	-	0.35	0.94	0.52
77	(Z)-9-Octadecenoic acid	61.30	-	1.33	0.86	0.62
78	Octadecane	68.86	-	0.15	0.09	0.06
79	Hexatriacontane	66.23	0.16	0.10	0.12	0.02
80	1,2-Benzenedicarboxylic acid	70.36	0.84	1.57	0.93	0.73

¹⁾Rt : Retention time ²⁾ Tentatively identified by MS data

N-1 : Conventional Natto

N-2 : Natto added with 2% garlic

N-3 : Natto added with 0.2% red pepper oleoresin

N-4 : Natto added with 2% garlic, 0.2% red pepper oleoresin

구 70종, N-3구 69종, N-4구는 78종이었고, 동정된 향기 화합물은 peak 면적 %로 나타내었다.

N-1구에서는 2,5-dimethylpyrazine (24.62), trimethylpyrazine (9.91), 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenol (8.20), 5-methyl-2-cyclohexanol (6.82), 1,2-propanediol (4.61) 등이 peak 면적의 대부분을 차지하였고, N-2구에서는 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenol (17.28), 2,5-dimethylpyrazine (9.77), trimethylpyrazine (9.35), methyl-2-propenyl disulfide (6.83), hexadecanoic acid (3.99) 등의 함량이 높게 나타났는데, 특히 마늘의 향기 성분에서 검출되는 methyl-2-propenyl disulfide의 함량이 높게 나타났다. 또한 N-3구의 성분 중에서는 2,5-dimethylpyrazine (18.36), trimethylpyrazine (14.15), 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenol (11.67), hexadecanoic acid (3.03), 1-octen-3-ol (2.59), 3-hydroxy-2-butanone (2.06) 등이 peak 면적의 대부분을 차지하였으며, N-4구에서는 2,5-dimethylpyrazine (11.97), 3-hydroxy-2-butanone (9.43), ethylacetate (9.22), trimethylpyrazine (9.12), 3-

methyl-2-butanol (7.02), 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenol (4.13) 등이 대부분의 함량을 차지하였는데 ethylacetate 함량은 N-1구와 N-2구 및 N-3구에서 보다 훨씬 높은 함량을 나타내었다.

Sugawara 등¹³⁾은 8시간 증자한 대두에 *B. natto*를 접종하여 37°C에서 15시간 발효시킨 Natto에서 13종의 냄새 성분을 분리 동정하였다고 보고하였으며, 최와지¹⁴⁾는 121°C에서 20분간 증자한 대두에 *B. natto*를 접종하여 36~37°C에서 72시간 발효시킨 청국장 제품에서 17종의 냄새 성분을 동정하였다고 보고하여 본 실험 결과와 상당한 차이를 나타내고 있는데 이와같은 차이는 대두의 종류, 증자온도, 사용균주, 발효시간 및 분석방법 등에 차이가 있었기 때문이라고 생각한다.

본 실험에서 제조한 Natto에서는 6종의 alkylpyrazine류가 동정되었으며 이들 중 2,5-dimethylpyrazine과 trimethylpyrazine의 함량이 특히 많았다. 이는 증자한 대두에 *B. natto*를 접종하여 36~37°C에서 72시간 발효시킨 청국장에서 5종의 alkylpyrazine류가 동정되었는데

그들 중 tetramethylpyrazine과 2,3,5-trimethylpyrazine의 함량이 특히 많았다는 보고¹⁴⁾와 차이를 나타내며, Sugawara 등¹⁵⁾은 8시간 증자한 대두에 *B. natto*를 접종하여 37°C에서 15시간 발효시킨 Natto에서 9종의 alkylpyrazine류를 분리하였는데 그중 2,5-dimethylpyrazine의 함량이 특히 많았고, 2,3,5-trimethylpyrazine의 함량은 다음 수준이었으며 기타 7종의 alkylpyrazine류는 소량이었다고 보고하였다. 또한 복¹⁵⁾은 증자한 대두에 *B. subtilis*를 접종하여 40°C에서 72시간 발효시키면서 냄새 성분의 변화를 측정할 결과 2-methyl-3-oxoethylhexanoic acid, 2,5-dimethylpyrazine 및 2,3,5-trimethylpyrazine이 특히 많이 증가하였고 기타 3종의 alkylpyrazine류가 소량씩 생성되어 발효과정 중 7종의 alkylpyrazine류가 새로이 생성되거나 증가하였다고 보고하였다.

이들의 보고와 본 실험 결과를 종합 고찰해 보면 증자한 대두에 *B. subtilis* 또는 *B. natto*를 접종하여 발효시키면 각종 alkylpyrazine류가 생성되며 그들 중 2~3종의 alkylpyrazine의 함량이 특히 많은데 어떤 alkylpyrazine을 많이 생성하느냐 하는 것은 균주의 특성과 발효조건에 의하여 결정되는 것으로 추정된다. 제주와 된장¹⁶⁾, 일본의 Natto¹³⁾의 휘발성 성분 중에서 높은 함량을 보이고 있는 2,5-dimethylpyrazine, trimethylpyrazine은 당과 아미노산의 분해 축합 등에 의하여 생성되는 것¹⁷⁾으로 알려져 있으며 tetramethylpyrazine은 자극성의 냄새를 부여하는 물질¹⁸⁾로 알려져 있으므로 본 실험에서 제조한 Natto에서의 자극취는 이물질에 기인되는 것으로 생각된다.

휘발성 화합물 중 3-methyl-1-butanol, 1-hexanol 등의 alkylpyrazine류는 생대두 뿐만 아니라 탈지대두, 대두단백 등에 존재하여 특징적인 대두취를 형성하는 물질로 가열에 의하여 감소되는 것으로 알려져 있는데¹⁹⁾, 본 실험결과에 의하면 3-methyl-2-butanol은 N-1구와 N-3구에서는 미량으로 검출된 반면, 1-hexanol은 N-1구, N-2구 및 N-4구에서 비교적 높은 함량을 나타내었다. Alcohol류 중에서는 1-octen-3-ol과 5-methyl-2-cyclohexanol의 함량이 비교적 높게 검출되었는데 1-octen-3-ol은 침지하는 동안 효소적 반응에 의해 생성되는 물질이나, 본 실험 결과 전 시료에서 높은 함량이 검출되어 가열에 의해서도 파괴되지 않는 것으로 보인다.

또한 조 등²⁰⁾은 마늘 정유물에서 GC 및 GC-MS를 이용하여 dimethyl sulfide, diallyl sulfide, methyl-1-propenyl disulfide 등의 6종류의 휘발성 향기물질을 동정하

였는데, 본 실험 결과 Natto 제조과정에서 마늘의 첨가로 인해 methyl-2-propenyl-disulfide와 methyl-2-propenyltrisulfide 등의 화합물이 높게 검출됨과 아울러 2-methoxyphenol, 1,2-benzenedicarboxylic acid, hexadecanoic acid, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenol, 2,3-dihydrobenzofuran 등의 함량은 증가되었고, 반면 1,2-propanediol, 1-hexanol, 2,5-dimethylpyrazine, 1-octen-3-ol, 5-methyl-2-cyclohexanol 등은 크게 감소된 것을 알 수 있었다. 또한 고추 oleoresin 첨가로 인해 4,5-dihydroxy-5-propyl-1H-pyrazole, 1,1,3-trimethylcyclopentane 성분이 검출되었고 trimethylpyrazine, 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine, hexadecanoic acid, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenol 등의 함량은 증가되었지만 1,2-propanediol, 1-hexanol, 2,5-dimethylpyrazine, 1-octen-3-ol 등은 감소되었다.

지방산 조성

GLC를 이용하여 24시간 발효시킨 Natto의 조지방 함량 중 각 지방산의 함량을 나타낸 결과는 Table 2와 같다. Natto의 지방산으로 myristic, palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic, arachidic acid 등이 검출되었으며 함량은 시료구 간에 큰 차이를 나타내지 않았다. 전체 지방산 중 linoleic acid가 43.66~55.89%로 조성 비율이 가장 많았고, oleic acid는 17.30~21.50% 함유하고 있었으며 myristic acid는 0.06~0.08%로 함유 비율이 극히 낮았다.

복¹⁵⁾은 *B. subtilis*을 이용한 청국장 제조 과정에서 palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic acid 등 5종류의 지방산을 검출하였으며, 이중 linoleic acid와 oleic acid 함량이 가장 많았다고 보고하였고 Taira 등²¹⁾도 *B. natto*를 이용하여 38°C에서 20시간 발효시킨 Natto에서 9종류의 지방산을 검출하였고 이중 linoleic acid, oleic acid, palmitic acid의 순으로 함유 비율이 높았다고 보고하여,

Table 2. Fatty acid contents of Natto fermented for 24 hours (unit : %)

Fatty acid	Type of Natto			
	N-1	N-2	N-3	N-4
14 : 0	0.07	0.06	0.07	0.08
16 : 0	10.21	8.73	8.24	10.93
18 : 0	3.69	3.28	2.94	3.73
18 : 1	20.27	17.36	17.30	21.50
18 : 2	54.26	46.37	43.66	55.89
18 : 3	6.23	5.08	5.42	6.23
20 : 0	0.43	0.42	0.37	0.44

See the Table 1 for the abbreviations

본 실험결과와 일치하는 경향이였다. 이는 원료 대두중의 지방산 함량이 linoleic, oleic, palmitic, linolenic acid 등의 순에 기인하는 것 같다²²⁾.

유기산 함량

Natto의 발효 과정 중에 있어서 각종 유기산의 변화를 HPLC로 측정 한 결과는 Table 3과 같다. 그 결과 citric acid, acetic acid, pyroglutamic acid 등의 유기산이 검출되었는데, pyroglutamic acid는 24시간 발효 후에 미량 존재하였다. Citric acid 함량은 12시간 발효에 비해 24시간 발효에 있어서 N-1 및 N-2구는 44~45%, N-3 및 N-4구는 24~28% 감소하였고, N-2구를 제외한 전 시험구에서 다소 증가한 경향을 보였다. Kanno 와 Takamatsu²³⁾는 증자한 대두에 *B. natto*를 접종하여 발효시켰을 때 증자대두 중의 주 유기산이 citric acid로 발효됨에 따라 함량이 감소하였다고 하였으며, 또한 Kiuchi 등²⁴⁾은 *B. natto*에 의해 Natto를 제조하였을 때 검출된 유기산은 acetic, citric, formic, pyroglutamic, pyruvic, isovaleric acid 등이며, 주 유기산은 acetic acid로서 이는 증자대두에 비해 60% 정도 증가하였고, citric acid는 증자대두에 비해 20배 감소하였다고 보고하여 citric acid 함량의 감소와 acetic acid 함량의 증가 등은 본 실험결과와 대체로 일치하는 경향이였다.

pH와 적정산도

Natto의 발효 과정 중 pH와 적정산도의 측정치에 대한 결과는 Fig. 2, 3과 같다. pH는 발효초기 6.4~6.5 범위에서 발효 24시간 후에는 7.52~7.78 범위로 중성에서 약알칼리화 되었다. 이러한 원인은 증자한 대두가 발효시간이 경과함에 따라 deamination이 일어나 암모니아가 생성되기 때문에 pH가 높아지는 것으로 생각된다.

적정산도는 전 시험구에서 대체적으로 발효 12시간

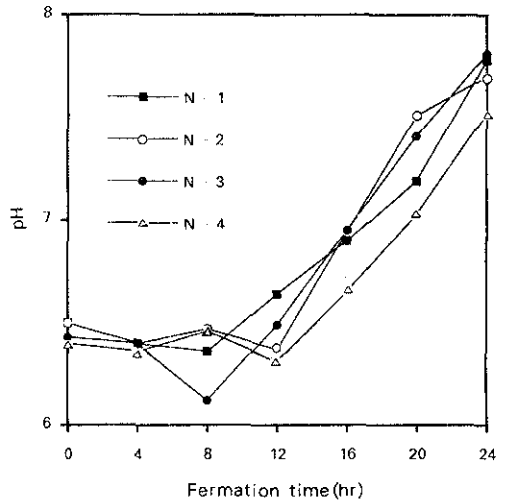


Fig. 2. Changes in pH values of Natto during fermentation. See the Table 1 for the abbreviations.

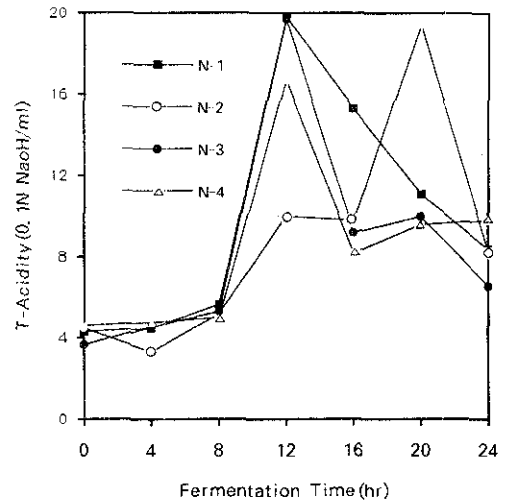


Fig. 3. Changes in titratable acidity of Natto during fermentation. See the Table 1 for the abbreviations.

Table 3. Changes in organic acid contents of Natto during fermentation

(unit : mg%)

Organic acid	Fermentation time (hr)							
	12				24			
	N-1	N-2	N-3	N-4	N-1	N-2	N-3	N-4
Citric	51.4	52.6	42.4	38.5	28.2	29.5	30.6	29.5
Pyruvic	-	-	-	-	-	-	-	-
Malonic	-	-	-	-	-	-	-	-
Formic	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetic	46.7	56.6	53.3	46.7	53.3	50.0	73.3	73.3
Pyroglutamic	-	-	-	-	3.7	2.6	2.1	3.7

See the Table 1 for the abbreviations

에서 크게 증가하다가 그 후에는 점차 감소하는 경향이었는데, 이러한 현상은 이들 유기산이 ester형성 등 향기성분으로 이용되었기 때문이라 생각된다. 또한 N-4구는 24시간 발효시켰을 때 타 실험구에 비하여 산도가 다소 높았고 N-3구가 가장 낮았다. N-4구에서는 Natto 중의 각종 산 생성균의 생육 및 그 대사작용으로 유기산 생성량이 많게 되어 pH 저하와 더불어 적정산도가 증가한 것으로 생각된다.

요 약

Natto의 향미 개선 및 품질 개선을 위한 기초연구를 목적으로 증자대두에 *Bacillus natto*(NN-1)를 접종하고 마늘(2%)과 고추 oleoresin(0.2%)을 첨가하여 40°C에서 24시간 발효시켜 향기성분, 지방산, 유기산, pH 및 적정산도의 변화를 측정하였다. 발효 중에 생성되는 휘발성 물질을 연속 증류 장치로 추출하여 GC 및 GC-MSD로 향기성분을 분석 동정한 결과, 무첨가 Natto에서는 62종류의 휘발성 성분이 검출되었으며 그 중 2,5-dimethylpyrazine, trimethylpyrazine, 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenol 등의 함량이 높게 나타났고, 마늘 첨가에 의한 Natto 제조시 71종의 휘발성 성분이 검출되었는데 2,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenol, 2,5-dimethylpyrazine의 높은 함량과 아울러 2-methoxyphenol, 1,2-benzenedicarboxylic acid 등의 함량은 증가되었고 1,2-propanediol, 1-hexanol, 2-dimethylpyrazine 등의 함량은 크게 감소되었다. 또한 고추 oleoresin 첨가 Natto에서는 70종의 화합물이 분리 동정되었고 그 성분 중에서 4,5-dihydroxy-5-propyl-1H-pyrazole, 1,1,3-trimethylcyclopentane 성분이 검출되었으며 trimethylpyrazine, 3-ethyl-2,5-dimethylpyrazine, hexadecanoic acid 등의 함량은 증가되었지만 1,2-propanediol, 1-hexanol, 2,5-dimethylpyrazine 등의 함량은 감소되었다. 지방산의 조성은 마늘 및 고추 oleoresin 첨가에 의한 변화가 없었으며 전 시험구에서 myristic, palmitic, stearic, oleic, linoleic, linolenic, arachidic acid의 지방산이 검출되었다. 유기산은 전 시험구에서 citric acid, pyroglutamic acid가 검출되었고, citric acid는 24시간 발효시켰을 때 무첨가구와 마늘첨가구는 44~45% 감소, 고추 oleoresin 첨가구는 24~28% 감소하였다. pH는 전 시험구에서 발효 초기 6.4~6.5 범위에서 24시간 발효했을 때 7.52~7.78 범위로 중성에서 약 알칼리화 되었고, 적정산도는 전 시험구에서 대체적으로 발효 12시간에서 크게 증가하다가 그 후에 점차 감소하는 경향이였다.

문 헌

1. 정태석, 계성렬, 윤두석 : Natto 및 가열대두의 영양학적 고찰. *과연회보*, **4**, 41 (1959)
2. 정태석 : 대두식품의 효소화학적 연구(제1보). *과연회보*, **1**, 9 (1956)
3. 김수영, 김재옥 : Natto 제조중의 단백질, peptide 및 amino acid의 변화에 관한 연구. *농화학회지*, **8**, 11 (1967)
4. 이용림, 김성호, 정낙현, 임무현 : 청국장 발효중 점질성 고분자 물질의 생성에 관한 연구. *한국농화학회지*, **35**, 202 (1992)
5. 이부용, 김동만, 김길환 : 청국장 점질물의 이화학적 특성. *한국식품과학회지*, **23**, 599 (1991)
6. Sumi, H., Hamada, H., Tsushima, H., Mihara, H. and Muraki, H. : A novel fibrinolytic enzyme (Nattokinase) in the vegetable cheese Natto : A typical and popular soybean food in the Japanese diet. *Experientia*, **43**, 1110 (1987)
7. 福場博保, 小林彰夫 : 調味料, 香辛料의 事典. 朝倉書店, p.404 (1991)
8. Chou, H. E. and Breene, W. M. : Oxidative decoloration of betacarotene in low-moisture model system. *J. Food Sci.*, **37**, 66 (1972)
9. 김복란, 박창희, 윤복만, 정민철, 이상영 : 향미성 Natto 제조과정 중 당류 및 아미노산 함량 변화. *한국영양식품과학회지*, **24**, 114 (1994)
10. Schultz, T. H., Flath, R. A., Mon, T. R., Egging, S. B. and Teranishi, R. : Isolation of volatile components from a model system. *J. Agric. Food Chem.*, **25**, 446 (1977)
11. Metcalfe, L. D., Schmitz, A. A. and Pelka, J. R. : Rapid preparation of fatty acid esters from lipids for gas chromatographic analysis. *Anal. Chem.*, **38**, 514 (1966)
12. 全圖Miso技術會編 : 全圖 Miso 分析法. 昌平堂印刷, 東京, p.16 (1968)
13. Sugawara, E., Ito, T., Odagira, S., Kuboda, K. and Kobayashi, A. : Comparison of compositions of odor components of natto and cooked soybean. *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 311 (1985)
14. 최성희, 지영애 : 청국장 숙성중의 향기성분 변화. *한국식품과학회지*, **21**, 229 (1989)
15. 복진영 : 청국장 메주 발효 과정중의 화학성분 및 숙성중 Alkylpyrazine류의 변화. 중앙대학교 박사학위논문(1993)
16. 김경업, 김미혜, 최병대, 김태수, 이종호 : 재래식 메주 및 된장의 향기성분. *한국영양식품과학회지*, **21**, 557 (1992)
17. Kato, T., Doi, Y., Tsugita, T., Kosai, K., Kamiya, T. and Kurata, T. : Changes in volatile flavor components of soybeans during roasting. *Food Chemistry*, **7**, 87 (1981)
18. Mastukura, T. : Heterocyclic flavoring and aroma compounds, a pyrazine in food. An update (III). *Spice*, **142**, 83 (1984)
19. Doi, Y., Tsugita, T., Kunata, T. and Kato, H. : Change of headspace volatile components of soybeans during roasting. *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 1043 (1980)
20. 조길석, 김현구, 하재호, 박무현, 신효선 : 마늘 정유물

- 의 향기성분 및 저장 안정성. 한국식품과학회지, 22, 840(1990)
21. Taira, H. and Suzuki, N. : Lipid content and fatty acid composition of Natto. *Rep. Natl. Food. Inst.*, 43, 58 (1983)
 22. 김재근 : 농산식품가공. 문운당, 서울, p.409(1981)
 23. Kanno, A. and Takamatsu, H. : Change in the volatile components of Natto during manufacturing and storage. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaish*, 34, 330(1987)
 24. Kiuchi, K., Yamamoto, K., Hunane, K. and Mori, Y. : Citrate-lyase of natto bacteria. *Rep. Natl. Food. Inst.*, 51, 44(1987)
- (1994년 11월 24일 접수)