

# 韓國 在來式 간장의 맛 成分에 關한 研究

## 第4報. 간장 熟成中 不揮發性 Amines

김 종 규 · 강 대 호\*

慶尙大學 食品加工科

### The Taste Compounds of Fermented Ordinary Korean Soysauce

#### Part 4. On the Changes of Nonvolative Amines in the Process of the Soysauce Preparation

Jong-Kyu Kim and Dae-Ho Kang\*

Dept. of Processing, Kyungsang National Univ.

#### Abstract

Nonvolatile amines in fermented ordinary Korean soysauce were separated and quantitated.

1. Tyramine and histamine were detected as nonvolatile amines. Both of them were increased during the fermentation in the soysauce prepared with 22.0% of salt concentration but histamine only was increased in the soysauce with 28.5% salt concentration. Rapid increase of histamine was observed after 80days of fermentation.
2. Two unidentified spots in paper chromatogram which were positive to Sakaguchi reagents were detected.
3. The amounts of tyramine and histamine in fermented ordinary Korean soysauce were much lower than those in Japanese style soysauce.

#### 序 言

韓國 在來式 간장에 있어서 맛 成分에 대한 研究는 그리 상세히 되어 있지 않다.

日本 醬油에 대해서는 山田<sup>12)</sup>, 金子<sup>5)</sup>, 有働<sup>1)</sup>, 南場<sup>8,9)</sup>에 의해 putrescine, cadaverine, choline, betaine,  $\beta$ -phenylethylamine, histamine, tyramine 등이 檢出되고 이들에 대한 呈味作用에 대해서는 有働<sup>2)</sup>, 梅津<sup>4)</sup>, 南場<sup>9)</sup> 등에 의해 研究되어 苦味와 澁味로서 醬油에 特異한

作用을 한다고 알려져 있다. 또한 醱酵食品인 日本 味噌에 대해서는 南場<sup>8)</sup>, 渡邊<sup>11)</sup> 등이 tyramine과 histamine의 含量을 조사 報告하고 있다. 이와 같이 醱酵食品뿐만 아니라 그 原料인 大豆에서 佐佐木<sup>10)</sup> 및 Arai<sup>3)</sup>가 choline, piperidine, dimethylamine, monomethylamine, cadaverine을 檢出하므로써 원천적으로 간장은 그 제조 원료인 大豆에서 또한 매우 製造時 여러가지 菌들에 의해 amines가 生成됨을 알 수 있다<sup>13)</sup>. 그런데 韓國 在來式 간장에서 이들 amines, 특히 不發揮性 amines를 檢出하고 또한 간장 熟成中 變化를 알기

\* 慶尙大學 科學教育科 Dept. of Sci. Edu., Kyungsang National Univ.

爲해 실험하였다.

### 材料 및 方法

#### 1. 材料

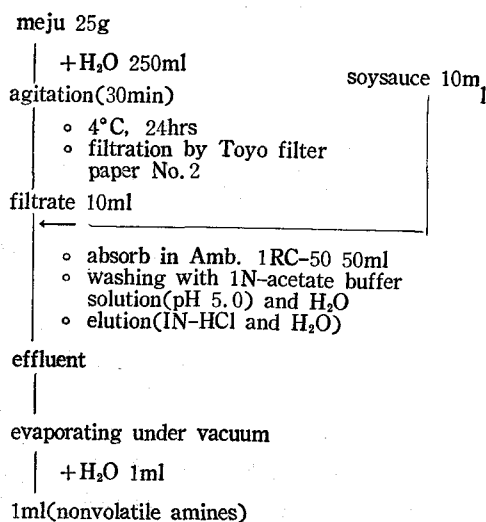
韓國 在來式 간장은 前報<sup>14)</sup>에서 사용한 간장과 同一한 것이다.

#### 2. 實驗方法

##### (1) 不揮發性 amines의 分離精製

南場等<sup>7,8)</sup>의 方法을 참고로하여 Fig.1과 같이 메주 분말 25g에 물 250ml를 加해 室溫에서 30分間 교반하고 4°C에서 1夜 放置後 東洋濾紙 No.2로 濾過한 濾液 10ml를 취하고 간장도 10ml씩을 취하여 各各 1N-acetate buffer solution(pH5.0)으로 완충시킨 Amberlite 1 RC-50 50ml(칼럼 2×25cm)에 吸着시키고 1N-acetate buffer solution(pH5.0) 100ml 및 H<sub>2</sub>O 100ml로

Fig.1 Purification of nonvolatile amines



2回 세척한 뒤 1N-HCl 20ml씩 5回, H<sub>2</sub>O 10ml씩 5回 溶出하고 溶出液은 減壓濃縮하여 乾燥한 후 H<sub>2</sub>O 1ml에 溶解시켰다.

##### (2) tryamine 및 histamine의 定量

金等<sup>9)</sup>에 따라 東洋濾紙 No.51에 精製한 不揮發性 amines液을 spotting하고 展開溶媒(butanol:acetic acid:H<sub>2</sub>O=4:1:5)로 展開하여 diazo reagent로 發色하여 發色部位와 同一 Rf值의 上記와 같이 展開하여 發色하지 아니한 다른 strip의 部位를 잘라서 0.1N-HCl 4ml를

加해 室溫에서 數時間. 抽出했다.

tryamine定量: 抽出液 2ml에 Polincioalteau reagent A液 1ml와 B液 3ml를 加해 30~35°C에 20分間 유지하여 충분히 呈色한 後 660nm에서 比色하여 absorbance를 測定하고 Fig. 2의 standard curve에 의해 定量했다.

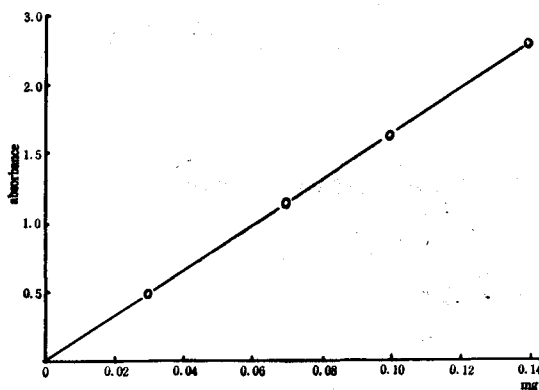


Fig.2 Standard curve of tyramine.

histamin定量: 抽出液 2ml에 sulfanylic acid(3.5% 鹽酸飽和液), 5% 亞硝酸소다 等溶 混液 1ml를 加해 氷水中에 放置, 한편 氷冷한 1M炭酸소다 溶液 3ml를 測定時 加해 發色後 즉시 470nm에서 比色하여 absorbance를 測定하고 Fig. 3의 standard curve에 의해 定量하였다.

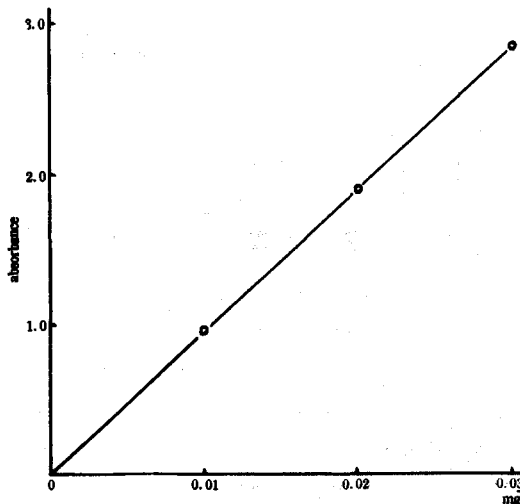


Fig.3 Standard curve of histamine.

(3) tyramine 및 histamine의 確認

定量時와 같이 不揮發性 amines液을 展開하여 抽出하고 다시 減壓濃縮하여 各種 展開溶媒로 展開하여 標準物質의 Rf值와 比較하고 各種 呈色試藥으로 呈色하여 標準物質과 比較하여 histamine은 確認하고 tyramine은 여기에 다시 標準物質과 UV-absorption spectra를 더 比較하여 確認했다.

結果 및 考察

agmatine의 檢出 : 東洋濾紙 No. 51에 精製한 不揮發性 amines를 spotting하고 展開溶媒(1 N-NH<sub>4</sub>OH 飽和 butanol)로 30cm 展開하고 發色試藥 Sakaguchi reagent로 發色한 結果 agmatine의 Rf值는 0.3인데 agmatine은 檢出되지 않고 未知spot로서 Rf值가 0.7 및 0.75인 spot가 나타났다.

tyramine 및 histamine은 東洋濾紙 No. 51에 不揮發性 amines의 精製液을 spotting하고 展開溶媒(butanol: acetic acid: H<sub>2</sub>O=4:1:5)로 一次元 上昇法으로 展開하여 標準物質과 比較하여 Rf值가 同一한 部分을 溶出하여 다시 여러가지 展開溶媒에 의한 展開를 하여 Rf值의 比較와 呈色試藥으로 確認한 結果는 Table 1과 같으며 여러 展開溶媒에 대한 分離物質의 Rf值는 標準物質과 잘 一致하였으며 呈色試藥에 대한 發色도 잘

致하였다. 그리고 Fig. 4에서의 같이 tyramine에 있어서 分離物質과 標準物質의 UV-absorption spectra는 비슷하게 나타났다.

tyramine 및 histamine의 變化 : Table 2에서 보는 바와 같이 tyramine은 鹽濃度 22.0% 간장에 있어서는 熟成과 더불어 점차 增加의 速度가 커져서 多量으로 得

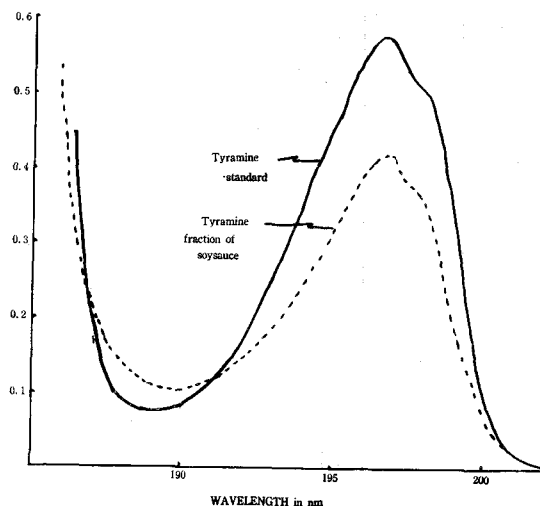


Fig. 4 Ultra violet absorption spectra of tyramine.

Table 1. Confirmation of tyramine and histamine.

	Running solution				Color reagent		
	1	2	3	4	diazo	ninhydrin	iodine
Tyramine standard	0.65	0.69	0.24	0.80	+	+	-
Isolated substance A	0.66	0.69	0.25	0.80	+	+	-
Histamine standard	0.27	0.46	0.08	0.64	+	+	+
Isolated substance B	0.28	0.46	0.08	0.64	+	+	+

Toyo filter paper No. 51, 36×2cm, room temperature, ascending development

Running solution

1. BuOH: acetic acid : H<sub>2</sub>O=4:1:5
2. 1N-NH<sub>4</sub>OH saturated butanol
3. Water saturated butanol
4. Isopropanol: ammonia: H<sub>2</sub>O=80:5:15

Table 2. Changes in amines during the fermentation of soysauce

Amines	Period of fermentation								Meju (mg/100g)
	*22.0	20	40	28.5	60	28.5	80	28.5	
Tyramine	0.5	0.6	1.0	0.5	2.7	0.5	9.5	0.6	4.4
Histamine	1.5	0.8	1.9	1.8	2.1	1.6	2.9	2.9	12.6

\* percent of salt used in fermentation of soysauce.

었으며, 鹽濃度 28.5% 간장에 있어서는 熟成時期에 따라서 變化가 거의 없었다. histamine은 鹽濃度 22.0% 간장이 鹽濃度 28.5% 간장보다 熟成初期에는 그 量이 많다가 熟成과 더불어 점차 같아지며 그 量이 增加하고 있다. 이러한 현상은 여러 微生物들의 酵素에 기인하지 않나 生覺된다.

여기에 使用한 메추에 있어서는 金<sup>9)</sup>이 조사한 韓國産 메추들에 비해 histamine의 量은 훨씬 많고 tyramine의 量은 그 조사된 범위내에 들어가고 있다.

amines에 대해서는 大豆에서 佐佐木<sup>10)</sup>가 choline을, Arai等<sup>3)</sup>이 揮發性 amines인 piperidine, dimethylamine, monomethylamine, cadaverine을 檢出하고 山田等<sup>13)</sup>은 麴菌에 의한 amine(putrescine, cadaverine)의 生成을 確認하고, 金等<sup>9)</sup>은 메추에서 histamine, tyramine을 分離定量했다. 日本醬油에서 山田<sup>12)</sup>는 putrescine과 cadaverine을, 金子<sup>5)</sup>는 histamine을, 有働<sup>1)</sup>는 choline, betaine, putrescine을, 南場等<sup>9)</sup>은 不揮發性인 tyramine, histamine, 揮發性인 cadaverine,  $\beta$ -phenethylamine, putrescine을 確認했다. 有機鹽基들의 醬油에 있어서는 有働<sup>3)</sup>, 梅津<sup>4)</sup>, 南場<sup>9)</sup>들에 의해 研究되어 苦味와 滋味로 알려지고 있으며, 醬油에 특異한 作用을 한다고 한다. 또한 간장중 有機鹽基로서는 주로 鹽基性아미노酸이 차지한다고 한다<sup>9)</sup>. 一般的으로 tyramine과 histamine의 맛은 辛味로 알려져 있는데 日本 간장에서는 그 含量이 韓國在來式 간장에서 보다 多量含有되어 있으나 간장中 기타 有機鹽基와 共存時는 이들의 맛이 나지 않고 苦味와 滋味를 내고 있다. 그러므로서 韓國 在來式 간장에서 또 여러 有機鹽基物質과 함께 苦味와 滋味로서 간장의 독특한 맛에 影響을 미치리라 여겨진다.

### 要 約

韓國 在來式 간장中 不揮發性 amines를 精製確認 및 定量하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 不揮發性 amine으로 tyramine, histamine을 檢出했다.
2. Sakaguchi reagent에 陽性인 未知 spot 2個를 確認했다.
3. 鹽濃度 28.5% 간장의 熟性中 tyramine含量은 거의 變化가 없었다.
4. 鹽濃度 22.0% 간장에서 tyramine 및 histamine, 鹽濃度 28.5% 간장에서 histamine은 熟成과 더불어 增加하고 특히 熟成 80일에 급격히 增加하는 경향이었다
5. 韓國 在來式 간장中 tyramine 및 histamine의 含量은 日本 간장中에서 보다 훨씬 그 量이 적었다.

### 文 獻

- 1) 有働繁三(1931): 醬油の味に關する研究(第二報) 醬油中の有機鹽基類に就て, 日農化, 7, 852~858.
- 2) 有働繁三(1932): 醬油の味に關する研究(第三報) 醬油醱酵中に於ける琥珀酸の増減に就て, 日農化, 8, 673.
- 3) Arai Soichi, Hideki Suzuki, Masa Fusimaki, Yosito Sakurai, (1966): Studies on flavor components in soybean, Part III. Volatile fatty acids and volatile amines. Agri. Biol. Chem. 30(9), 863~868.
- 4) 梅津雅裕(1961): アミン類の清酒酒質に及ぼす影響について(第2報), アミン類の着色, 臭味及び清酒香味に及ぼす影響, 日釀工, 39, 470.
- 5) 金子武夫(1939): 醬油よりヒスタミン及びメチオニンの分離に就て, 日化學, 60(6), 539~541.
- 6) 金明燦, 高木兵治(1971): 韓國醬の菌學的研究(第1報) 特殊醱酵生成物について, 營養と食糧, 24(1), 46~49.
- 7) 南場毅, 好井久鄭(1967): 豆みそのアミン類に關する研究(第1報) 熟成豆みそおよび豆麴中の
- 8) 南場毅, 好井久雄(1974): みそしょう油の有機鹽基類に關する研究(第4報) みそ, しょう油中のチラミン含量, 愛知縣食品工試, 15, 37~40.
- 9) 南場毅, 横尾良夫(1974): しょう油中の有機類の分離とその香味について, 日食工誌, 21(2), 90~92.
- 10) 佐佐木周郎(1932): 大豆の有機鹽基類について, 日農化, 8, 417~420.
- 11) 渡邊一彦(1956): 疫痢と食餌の關係(第12報) 各種食品殊に味噌のヒスタミン量について, 日小兒科學會, 59(9), 935~939.
- 12) 山田正一(1926): 有機鹽基分離にナフトール黃の應用に就て, (ジアミンの新分離法), 日農化, 2, 246~267.
- 13) 山田正一, 石田彰(1926): 麴菌によるamineの生成に就て, 日農化, 2, 635~638.
- 14) 金鍾奎(1978): 韓國在來式 간장의 맛 成分에 關한 研究 1. 간장 熟成中 아미노酸의 變化에 關하여, 慶尙大論文集, 17, 177~186.