KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 11, No. 1 (1979)

醬類에 있어서 2級 Amine의 形成

第2報 在來式 간장熟成中 2級 amine의 動態

梁 熙 天 · 權 泰 英*
全北大學校 農科大學 農化學科 · *全州永生大學 家政學科

(1978년 12월 20일 수리)

Formation of Secondary Amines in Soysauce and Soy-paste

Part 2. Periodical changes of secondary amines during Korean soysauce aging

Hee-Cheon Yang and Tae-Young Kwon*
*College of Agriculture, Jeonbug National University and *Jeonju Yungsaeng College, Jeonju, Korea*

(Received December 20, 1978)

Abstract

To clarify the formation of secondary amines in Korean native soysauce, periodical changes during 90 days aging were investigated. The results were as follows;

1. The average content of secondary amines in Korean native meju was 20.86 ppm (7.25~50.76 ppm) as dimethylamine(DMA), higher than modified meju(artificial lyinoculated *Aspergillus oryzae*). Especially, the high amount was detected in severely deteriorated meju.
2. Cooked soybean, wheat, barley and rice contained 1.28, 0.57, 0.34 and 0.35 ppm of secondary amines, respectively. The more amounts were detected in koji, the respective contents in soybean, wheat, barley and rice koji were 2.63, 1.09, 0.64 and 0.54 ppm.
3. The new formation of secondary amines was not recognized in normally fermented Korean native soysauce during 90 days aging.
4. Secondary amines were formed below 18% sodium chloride under dark condition during soysauce aging, but not formed at 14% under sun-light condition.
5. The modified soysauce, prepared with modified meju, did not contain the newly synthesized secondary amines at 14% sodium chloride under sun-light condition during 30 days aging.
6. Drying of meju and boiling of soysauce did not affect the evaporation of secondary amines.

序 論

强力한 癌誘發物質로 알려진 nitrosamine은[1,2] 亞窒酸과 2級 amine의 反應으로 合成될 수 있는데 이 反應의 最適酸度는 pH3.4로 알려졌고[3] 人間의 胃液酸度를 考慮할 때 前驅物質을 同時에 攝取하면 體內合成可能性이 높다고 한다.[4,5] 또한 食品에서 各種細菌이나[6~8]

加熱操作等[9,10]에 依해서도 容易하게 合成이 이뤄짐으로 nitrosamine의 被害를 豫防하려면 前驅物質의 生成, 혹은 攝取를 遮斷할 수 있는 方法이 講究되어야 한다.

食品中에는 相當量의 窒酸과 亞窒酸을 含有하고 있는 경우가 많은데, 特히 大部分의 植物性 食品에는 多量의 窒酸이 存在하며 加工 및 調理過程에서나 食品이 口腔을 通過할 때 窒酸還元細菌에 依하여 쉽사리 亞窒酸으로 還元될 수 있다.[11~14] 또한 食品衛生法上 窒酸鹽과 亞窒酸鹽은 添加物로서 使用이 許可되어 肉類와 魚類加工品에 多量이 쓰이고 있어 이것의 攝取는 거의 日常化되고 있는 實情이다.

反面에 2級 amine은 調査資料가 不充分하여 자세한 實態를 把握하기 어려우나 亞窒酸의 경우보다는 食品에서의 生成經路나 分布가 보다 限定되어 있을 것으로 推測이 되며[11] nitrosamine에 依한 被害를 豫防함에 있어 2級 amine의 生成 및 攝取를 遮斷하는 것이 効果的일 것으로 생각된다.

2級 amine이 食品에서 問題視되기는 魚類의 腐敗過程에서 dimethylamine(DMA)이 增加한다는 事實에서 비롯되었는데[15-17] 魚類外에도 몇가지 穀類와 茶[11], 煙草[18,19], 醱酵食品等[20,21]에서 檢出例가 있으며, 河村等[22,23]은 日本産 食品에 對하여 比較的 幅 넓은 檢索을 實施하였으나 魚類를 除外하고는 少數의 食品에서 極微量의 DMA와 diethylamine을 檢出하였을 뿐이다. 特히 이들은 檢出限界 0.05 ppm水準에서 간장, 된장 및 코오지에서 2級 amine이 전혀 檢出되지 않았다고 報告하였다.

國內에서는 金[24]이 魚類에서, 尹[25]은 젓갈류에서, 任等[26]은 魚類 및 그 加工品, 젓갈류, sausage類 및 김치에서 2級 amine을 檢出하였다. 한편 文等[27]은 서울市內 一般家庭과 市販의 醬類에 對한 分析에서 간장과 된장에 DMA量으로 換算하여 5ppm 內外의 2級 amine이 含有되어 있음을 報告하였다.

著者等[28]도 全北一員의 간장과 된장을 調査한 結果 高濃度의 2級 amine을 檢出하였는데, 特히 在來式 간장은 平均 9.32 ppm(4.45~20.79 ppm)으로 他食品에 比하여 상당히 含量이 높았으며, 한편 調査試料間의 差異도 많다. 이것은 在來式 간장의 自然的으로 附着되는 微生物에 依存하는 放任的인 製造過程에 基因하는 것으로 볼 수 있으며, 보다 正確한 生成要因을 밝힐 必要가 있다고 생각된다. 따라서 在來式 간장의 담금에서부터 熟成過程에 있어서 2級 amine의 生成誘因과 動態를 中心으로 몇가지 實驗을 實施하였던바 그 結果를 報告하고저 한다.

材料 및 方法

1. 材 料

(1) 메주 및 코오지

在來式 메주 : 3月에 全州近郊의 一般家庭에서 蒐集하여 形狀, 크기, 水分含量, pH, NH_3-N 및 2級 amine 含量을 調査, 比較하였다.

改良式 메주(Ⅰ) : 在來式 메주와의 比較를 위해서 콩만을 使用하여 原料量의 0.5%가량의 種麴을 섞어 18×12cm, 2cm 두께로 메주를 빚어 常法에 따라 醱酵시켜 分析用 試料로 使用하였다.

改良式 메주(Ⅱ) : 金[29]의 方法에 따라 벽돌型(5×3×2cm)과 가락型(5×2 cm)의 改良式 메주를 製造하여 간장담금에 使用하였다.

코오지 : 코오지의 原料에 따라 2級 amine의 生成程度를 比較하기 위해 250 m*l*의 綿栓三角 flask에 各各 20g씩의 콩, 쌀, 보리, 밀을 넣고, 水分含量이 60%內外가 되도록하여 加壓殺菌한 후에 *Aspergillus oryzae*를 1白金耳씩 接種하고 28~30°C에서 培養하면서 2日間隔으로 pH와 2級 amine의 含量을 測定하였다.

乾燥實驗用 試料 : Table 1의 D番 在來式 메주를 5×3cm, 두께 2cm로 切斷하여 各各 45, 55, 65°C의 乾照器內에서 24時間 乾燥시키면서 4時間마다 試料를 取하여 2級 amine의 揮散程度를 調査하였다.

(2) 간 장

一般家庭의 在來式 간장 : Table 1의 A에서 H까지의 8家口를 選定하여 간장담금 10日후부터 90日까지 10日間隔으로 試料를 2級 amine 및 理化學的 性狀을 調査하였다. 장담금方法은 各 家庭마다 慣習的 製造에 따르도록 放任하였다.

食鹽濃度를 달리한 在來式 간장 : Table 1의 在來式 메주 A와 B를 使用하여 食鹽濃度를 12, 16, 20, 24% 水準으로 간장을 담그고 pH, NH_3-N 및 2級 amine의 含量을 調査하였다. 장담금은 500m*l*容量의 병에 粉粹混合한 메주 80g씩을 담고, 所定濃度의 食鹽水를 320m*l*씩 부어서 햇볕이 전혀 들지않는 곳에서 熟成시키다가 20日, 50日후에 分析에 使用하였다.

또한 Table 1의 D番 메주로 食鹽濃度 14, 18, 22, 26%水準으로 간장을 담그고 一群은 暗所에, 다른 一群은 햇볕이 잘 쪼이는 곳에서 熟成시켜 20日후에 pH, NH_3-N, 2級 amine을 比較하였다.

食鹽濃度를 달리한 改良式 간장 : 改良式 메주(Ⅱ)를 使用하여 14, 18, 22, 26%의 食鹽水를 4배량씩 가하여 간장을 담그고 햇볕이 잘 드는 곳에서 熟成시키면

서 5日마다 試料를 取하여 30日間의 pH, NH_3-N, 2級 amine의 變化를 調査하였다.

간장 달이기用 試料 : Table 1의 H番 메주로 담근 熟成80日經過후의 간장 1*l*씩을 2*l*容量의 비—커에 넣고 덮개를 하지 않은채 60, 80, 100°C로 各各 加熱하면서 10分마다 試料를 取해서 2級 amine의 濃度를 測定하였다.

2. 實驗方法

(1) 水分[31]

粉粹, 混合한 試料를 2枚의 slide glass 사이에 넣고 약간 强하게 密着시켰다가 떼내어 105°C에서 乾燥, 秤量하여 重量減少量으로 水分含量을 測定하였다.

(2) pH[31]

Sargent-Welch NX pH meter를 使用하여 測定하였다.

(3) 2級 amine

2級 amine의 抽出[22,27,28] : 試料 50 g(m*l*)에 1 N HCl과 50% ethanol 等量混合液 50m*l*를 加하여 氷室에서 30分間 浸出하고, 10N NaOH 10m*l*와 消泡劑로 Dow Corning antifoam agent 4~5방울을 加하여 1N HCl 10m*l*를 넣은 受器에 蒸溜液이 50m*l*가 될 때까지 水蒸氣蒸溜를 行하였다.

2級 amine의 比色定量[28,20] : 水蒸氣蒸溜液 1~2 m*l*를 檢液으로 前報[28]의 銅試藥으로 發色시키고, spectronic-20을 使用 435 nm에서 DMA量으로 比色定量하였다.

(4) NH_3-N[32]

2級 amine定量用 蒸溜液에서 一定量을 取하여 0.33M-phosphate buffer溶液으로 稀釋하고, Nessler試藥으로 發色시켜 Spectronic-20로 435 nm 에서 比色定量하였다.

(5) 色度[31]

3,000 rpm으로 30分間 遠心分離시킨 간장上澄液 5 m*l*를 10% NaCl 溶液으로 稀釋하고, Spectronic-20로 500nm에서 optical density를 求하고, 稀釋倍數를 곱하여 色度로 하였다.

(6) 食鹽濃度[31]

試料를 50倍로 稀釋하고 2%-K_2CrO_4 溶液을 指示藥으로 1/10N $AgNO_3$로 滴定하였다.

(7) 還元糖[31]

0.3N-$Ba(OH)_2$로 蛋白質을 沈澱, 遠心分離한 上澄液에 對하여 Somogyi變法으로 測定하였다.

(8) 總酸[31]

간장 25m*l*를 中和시키는데 所要된 1/10N NaOH의 m*l*數에 0.09를 곱하여 젖산량으로 定量하였다.

(9) 全窒素[31]

Semimicro-Kjeldahl法으로 定量하였다.

結果 및 考察

1. 메주의 性狀 및 2級 amine의 含量

在來式 메주의 水分含量, pH, NH_3-N, 2級 amine, 크기 및 색깔을 調査하고 改良式 메주와 比較한 結果는 Table 1과 같다.

Table 1. Characteristics of Korean native and modified meju

Samples		Water content (%)	pH	NH_3-N	Secondary amines(ppm)	Size*	Color
Korean native meju	A	30.5	7.36	0.749	49.46	M	dark brown
	B	34.5	7.08	0.583	9.58	L	brown
	C	40.3	6.67	0.501	24.19	M	brown
	D	26.8	7.49	0.726	12.36	L	brown
	E	24.5	7.73	1.162	50.76	M	black
	F	31.7	7.66	0.706	13.34	M	dark brown
	G	26.0	7.39	0.608	25.30	M	brown
	H	24.8	7.20	0.568	20.53	L	brown
	I	38.8	6.59	0.701	9.25	L	brown
	J	32.4	6.54	0.291	7.25	L	brown
	K	28.1	7.11	0.590	7.47	S	brown
	mean	30.8	7.14	0.653	20.86		
Modified meju		16.3	6.60	0.340	2.74	**	yellow green

* Size; L : 25-18-12 cm
M : 20-12-12 cm
S : 15-9-9 cm

**Size; 18-12-2 cm

Table 1에서 볼 수 있는 바와 같이 在來式 메주의 各性狀은 試料間에 큰 差異를 보이고 있다. 水分含量의 差異는 메주의 크기, 保管狀態 및 乾燥程度가 다른 데에 原因이 있는 것 같으며, 11個 試料의 平均水分含量이 30.9%로 改良式 메주의 거의 2倍量에 가까운데 이는 改良式 메주의 두께가 2cm內外로 얇기 때문에 乾燥가 容易하였던 탓으로 생각된다. 水分含量과 2級 amine의 含量과는 뚜렷한 연관성을 찾아볼 수 없었다.

在來式 메주의 pH, NH_3-N와 2級 amine의 含量도 試料間에 큰 差異가 있으나, 全般的으로 改良式 메주에 比하여 높았는데, 特히 2級 amine의 含量은 거의 6~7倍以上이나 되어 在來式 메주의 衛生的인 再檢討가 切實히 要望된다. 一般的으로 食品이 腐敗하게 되면 pH가 上昇하고, NH_3-N와 2級 amine의 含量도 增加하는데[16,17,33], Table 1에서 A와 E番試料의 경우 黑色의 變質部位가 넓고, pH나 NH_3-N와 2級 amine의 含量도 높았던 事實로 미루어 볼 때 2級 amine의 生成은 腐敗現象의 結果로 推測이 된다. 그런데 黑色의 變質部分이 거의 없는 C와 H番試料에서 2級 amine의 含量은 平均値을 上廻하는 높은 水準을 보였으나 pH와 NH_3-N量은 오히려 낮았으며, 反面에 D와 F番試料는 pH와 NH_3-N는 平均値보다 높으나 2級 amine의 含量은 거의 切半程度로 檢出되었다. 한편 全試料에 對한 統計分析結果로도 2級 amine量과 pH나 NH_3-N量間에 相關係數에 有意性이 없었다. 이러한 事實들은 비록 2級 amine이 腐敗過程에서 檢出되는 一般的인 化合物이라고는 하나[33] Shewan[16,17]의 魚類에 對한 實驗에서와 같이 貯藏期間의 差異에서 오는 現象인지, 또는 메주에 따라 2級 amine의 生成能이 特別히 强한 細菌에 汚染되었기 때문인지 앞으로 이에 對한 多角的인 硏究가 要望된다.

조[34]等의 調査로는 在來式 메주의 醱酵는 主로 細菌에 依하며, 朴[35,36] 및 李[37]等의 硏究에서도 細菌의 汚染이 심한 在來式 메주일수록 pH와 NH_3-N量이 월등 높았던 事實을 本實驗結果와 結附시켜 볼 때 在來式 메주의 pH와 NH_3-N量이 높은 것은 이들이 主로 細菌에 依하여 醱酵되었음을 證明하고 있으며, 이들 細菌中에는 2級 amine의 生成에 관여하는 種類가 있으리라고 推測된다. 더우기 콩은 lecithine의 含量이 높은 食品으로[38], Asatoor[39]에 依하면 lecithine은 細菌에 依해 choline, trimethylamine을 거쳐 DMA로 轉換될 수 있어서 腐敗의 경우가 아니라 하더라도 在來式 메주에 附着된 菌中에는 2級 amine의 生成에 관여하는 細菌이 存在할 수 있을 것으로 생각된다.

張[40]의 主張에 따르면 種麴으로서 보리코오지를 添加하므로서 一般好氣性細菌의 密度를 낮출 수 있다고 하는데, 本實驗에서 種麴을 原料量의 0.5%水準으로 添加한 소위 改良式 메주에서는 2級 amine의 含量이 2.74ppm으로 在來式 메주에 比하여 아주 적은 量이 檢出되므로서 2級 amine의 生成이 細菌에 依한 것임을 間接的으로 示唆하는 것으로 생각할 수 있다.

2. 코오지原料別 2級 amine의 含量

醬類製造에 使用되는 콩, 밀, 보리 및 쌀에 *Aspergillus oryzae*를 接種, 培養하면서 pH와 2級 amine의 含量을 調査하였던바 Fig 1 및 Fig 2와 같은 結果를 얻었다.

接種前의 蒸煮한 4가지 穀類에서는 모두 少量이나마 2級 amine이 檢出되었는데 그 量은 穀類의 蛋白質量의

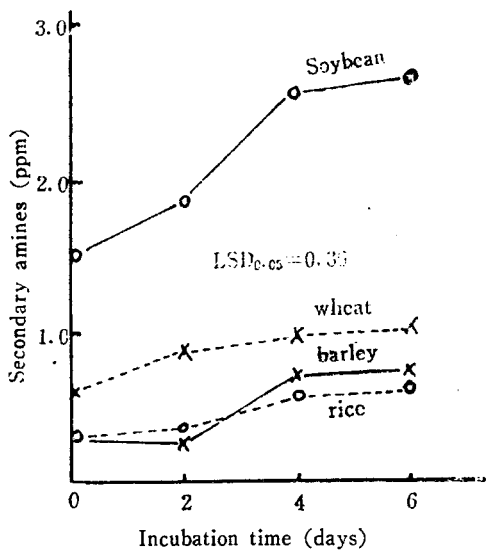

Fig 1. Formation of secondary amines in soybean, wheat, rice and barley koji

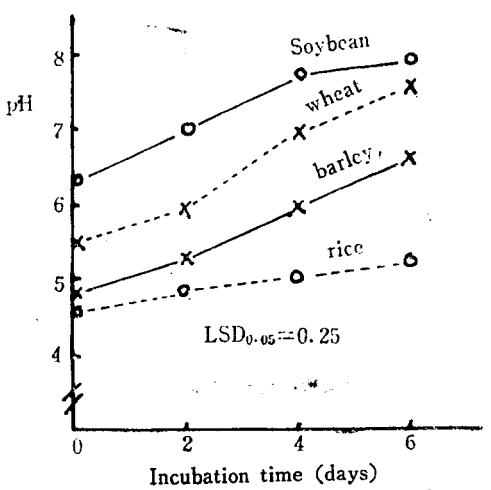

Fig 2. Changes of pH in soybean, wheat, rice and barley koji

Table 2. Changes of properties and secondary amines during Korean soysauce aging

(averages on 8 samples)

Properties \ Days	10	20	30	40	50	60	70	80	90
pH	6.61	6.21	5.99	5.74	5.67	5.47	5.45	5.37	5.32
Color (O.D.)	0.21	0.26	0.29	0.34	0.41	0.47	0.52	0.57	0.60
NaCl (%)	24.17	24.73	24.87	25.13	25.46	25.81	26.09	26.25	26.56
Reducing sugar (g/100 ml)	0.23	0.28	0.30	0.31	0.34	0.40	0.53	0.60	0.58
Total acidity (g/100 ml)	0.13	0.17	0.23	0.25	0.30	0.33	0.36	0.41	0.43
Total-N (g/100 ml)	0.42	0.50	0.60	0.67	0.74	0.82	0.85	0.88	0.92
NH_3-N (g/100 ml)	0.071	0.091	0.104	0.140	0.143	0.152	0.155	0.160	0.158
Secondary amines (ppm)	4.20	4.33	4.12	4.01	3.87	3.61	3.58	3.55	3.54

多寡와 비슷한 傾向을 보여 콩이 1.28 ppm으로 가장 높고, 밀 0.57 ppm, 쌀 0.35 ppm, 보리 0.34 ppm이었다.

麴菌이 증식함에 따라 pH가 높아지고 2級 amine의 含量도 증가하여 菌接種 4日후에는 거의 最高値에 到達하였다. 6日후의 2級 amine의 濃度는 콩이 2.63 ppm으로 가장 높았고, 밀은 1.09 ppm으로 콩의 1/2以下였으며 쌀과 보리는 各各 0.54 ppm, 0.64 ppm으로 밀의 1/2가량으로 檢出되었다.

콩만을 使用하는 在來式 메주의 短點을 補完한 改良式 메주에서는 麴菌을 人工的으로 接種할 뿐만 아니라 밀이나 보리를 副原料로 添加하도록 하는데, 이러한 方法은 메주中의 酵素의 力價를 增進시키고[41,42], 蒸煮한 콩의 水分調節 및 간장의 榮養價와 風味를 向上시킬 수 있는 利點이 있을 뿐만 아니라, 또한 2級 amine의 生成量이 낮은 副原料를 添加하므로서 그만큼 2級 amine量을 낮출 수 있다고 본다. 例를 들면 菌接種 6日후에 밀의 2級 amine含量은 1.09 ppm으로, 메주의 製造時밀을 50%가량 섞는다면 2級 amine量은 計算上 1.85 ppm으로 콩만을 使用한 때의 2.63 ppm에 對해 30%를 낮출 수 있으므로 2級 amine의 含量이 낮은 醬類의 製造가 可能하리라고 본다. 한편 간장의 熟成過程에서 主된 微生物은 메주로부터 그대로 移行된 菌株로 알려져 있는데[43], 밀이나 보리를 섞지않는 在來式 간장中에서는 담금初期의 pH가 높고, 時日이 經過하여도 제대로 pH가 下落하지 않기 때문에 간장熟成에 必要한 乳酸菌과 酵母의 增殖이 어려운 反面에 一般細菌이 더 우세하게 繁殖하므로서[43-45] 2級 amine의 生成可能性이 높아질 것으로 생각된다. 따라서 大豆單用을 피하고 副原料를 添加하는 것이 醬類 品質이나 衛生面에서 바람직하다고 본다.

3. 一般家庭의 在來式 간장熟成過程에서의 2級 amine의 動態

Table 1의 A~H番의 試料를 제공한 8家口를 對象으로 간장의 熟成過程에 있어서 一般性狀 및 2級 amine의 經時的 變化를 調査한 結果는 Table 2와 같다.

在來式 간장의 一般性狀에 對해서는 많은 報告가 있으나[44-52] 研究者에 따라 差異가 커서 比較를 위한 基準의 設定이 어렵다. 이것은 在來式 醬類의 製法이 一定하지 않고, 家庭마다 慣習的인 方法에 依存하고 있기 때문에 個個試料間의 差異가 너무 큰 데에 原因이 있을 것으로 보며 本調査에서도 熟成이 進行되면서 試料間에 심한 差異를 보여 諸般性狀의 推移에 對한 一律的인 結論을 내리기가 어려웠다. 그러나 大體的으로 他研究者의 경우와 비슷한 傾向을 보였으며, 特히 모든 試料에서 非正常的인 醱酵의 症候는 나타나지 않았다.

즉, pH는 張[44], 金[45]等의 報告와는 약간 다르기는하나 꾸준히 下落하여 담금 90日 후에는 平均 5.32로 最低 pH를 보였다. 色度는 계속 增加하였는데 담금初期에는 메주試料의 着色程度에 따라 濃淡에 큰 差異가 있었으나 時日이 經過함에 따라 점차 試料間에 같아지는 傾向을 보였다. 食鹽濃度는 水分의 蒸發로 서서히 진해져 90日후에는 平均 26.56%를 보였다. 總酸量, 還元糖, 全窒素 및 NH_3-N量도 계속 增加하여 90日후에는 各各 0.43 g/100 ml, 0.58 g/100 ml, 0.92 g/100 ml, 0.158 g/100 ml로 나타났다. 2級 amine은 담금 20日후에 平均 4.33ppm으로 最高値를 보이다가 서서히 減少하여 90日後에는 3.54ppm으로 前報[28]나 文[27]의 報告에서보다도 낮았다. 이러한 差異는 調査時期가 다르기 때문에 나타난 것으로 推測할 수도 있으나 보다 明確한 結論을 내리기 위해서는 더 깊은 研究가 必要하다.

以上의 諸般性狀의 變化를 綜合하여 볼 때 모든 試料에서 正常的인 醱酵熟成이 進行되었음을 알 수 있으며, 새로운 2級 amine의 生成을 認定할만한 증거는 없

Table 3. Effects of sodium chloride on pH, ammoniacal N, and secondary amines under dark condition during Korean soysauce aging

Samples	NaCl conc. (%)	After 20 days aging			After 50 days aging		
		pH	NH_3-N (g/100 ml)	secondary (ppm)	pH	NH_3-N (g/100 ml)	Secondary (ppm)
A	12	6.68a*	0.225a	13.04a	7.66a	0.273a	16.42a
	16	6.24b	0.196b	11.78b	7.01ab	0.256ab	16.09a
	20	6.19b	0.154c	9.09c	6.56b	0.243b	8.06b
	24	6.06b	0.134c	9.03c	5.37c	0.176c	8.01b
B	12	7.18a	0.216a	4.18a	7.68a	0.396a	5.69b
	16	6.51b	0.208a	2.96b	7.87a	0.375a	16.27a
	20	5.85c	0.135b	1.74b	6.25b	0.177b	1.84c
	24	5.75c	0.107b	1.73b	5.53c	0.168b	1.47c

* The same letter means not significantly different at 5% level by Duncan's new multiple range test.

었다. 즉 本調査에 使用된 8가지 메주試料는 平均 20.86 ppm의 2級 amine을 含有하고 있기 때문에 메주에 對해 4倍量으로 食鹽水를 加하여 담근 간장의 경우 溶出로 因해 豫想되는 2級 amine의 最大濃度는 5 ppm內外가 될 수 있는데 당금 20日후의 最大濃度는 4.33 ppm이었고, 個個試料에 있어서도 豫想되는 메주로부터의 溶出量以上을 보인 것은 하나도 없었다. 이 事實은 正常的으로 熟成이 進行되고 있는 간장에서는 새로운 2級 amine의 生成은 일어나지 않는다는 것을 말해주고 있다.

한편, 低級의 2級 amine類는 沸點이 극히 낮은 化合物이기 때문에 새로운 生成이 없는限 揮發에 依한 急速한 減少現狀이 豫想되나 減少가 지극히 緩慢했던 것으로 이루어볼 때 간장에 存在하는 2級 amine이 安定한 鹽의 形態를 하고 있지않나 생각된다.[53-55]

4. 食鹽濃度에 따른 在來式 간장熟成時의 2級 amine의 動態

在來式 메주(Table 1의 A와 B番)에 12, 16, 20, 24%의 食鹽水를 4倍量씩 加하여 暗所에 放置하였다가 20日과 50日後에 調査한 pH, NH_3-N와 2級 amine의 含量은 Table 3과 같다.

全般的으로 食鹽濃度가 묽을수록 pH가 높고, NH_3-N量도 많았으며 多量의 2級 amine이 檢出되었다. 이러한 傾向은 20日後의 調査에서보다 50日후에 더욱 뚜렷하게 나타나고 있어 鹽度에 따라 微生物의 生育이 影響을 받았던 때문으로 생각된다. 特히 50日후에는 食鹽濃度 16% 以下에서는 모든 간장의 pH가 7.0以上을 보였고, 2級 amine의 含量도 메주에서의 溶出豫想量以上으로 檢出되어 本實驗條件下에서는 간장의 變敗나 2級 amine의 生成이 防止되는 限界食鹽濃度가 16~20% 사이임을 알 수 있다.

pH, NH_3-N 및 2級 amine 等은 腐敗의 一般的인 指標로 흔히 使用되는데[16,17] pH와 NH_3-N量間을 除外하고는 2級 amine과 pH 및 NH_3-N間에는 相關係數에 有意性이 없고, 試料間에도 2級 amine의 含量에 큰 差異가 있었는데 메주의 경우에서와 같이 本實驗條件下에서 2級 amine의 生成能力이 特別히 强한 微生物의 存在가 擬心되며, B番試料 50日후의 調査에서 12%區보다 16%區에서 2級 amine의 含量이 3倍量이나 더 높았던 理由에 對해서는 더 깊은 微生物學的인 硏究가 있어야만 說明될 수 있을 것으로 생각한다.

5. 在來式 간장의 熟成過程에서 日光의 影響

食鹽濃度 14~26% 水準으로 담근 在來式 간장의 熟成過程에서 日光을 充分히 쪼였을 경우와 暗所에 放置하였을 경우에 담금20日후의 pH, NH_3-N, 還元糖 및 2級 amine의 含量間에는 Fig 3과 같은 差異를 보였다,

日光下에서는 食鹽濃度가 낮을수록 pH가 낮았는데, 酸生成菌의 生育狀況의 差異에서 온 結果로 생각된다. NH_3-N는 鹽濃度가 낮을수록 含量이 높았다. 이 역시 生育하고 있는 微生物의 差異에서 나타난 現象이라고도 볼 수 있으나 還元糖 및 2級 amine의 경우와 마찬가지로 鹽度가 낮을수록 메주로부터의 溶出速度가 빨랐던 데에도 原因이 있을 것으로 본다. 그러나 暗所에서 와는 달리 日光이 充分히 쪼이는 條件에서는 어느 食鹽濃度에서나 메주로부터의 溶出豫想量(2 ppm內外)以上의 2級 amine은 檢出되지 않았다.

暗所의 경우는 이와는 달라서 食鹽濃度가 낮을수록 pH가 높았는데, 特히 14%區에서는 pH 7.2로 變敗의 症候가 보였으며, NH_3-N量도 월등하게 높았다. 2級 amine은 14%와 18%區에서 溶出豫想量을 超過하여 各

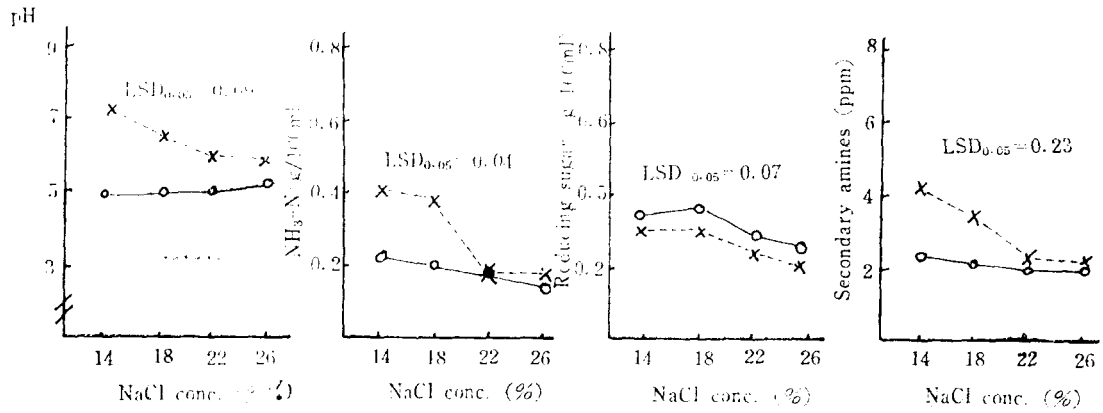

Fig. 3. Difference of pH, ammoniacal N, reducing sugar, and secondary amines under sun-light and dark conditions after 20 days aging in Korean soysauce(○—○: sun-light, ×—×: dark)

Table 4. Effects of sodium chloride on pH, ammoniacal N, and secondary amines under sun-light condition during modified Korean soysauce aging

Days	Properties	Blick type meju				Noodle type meju			
		14*	18	22	26	14	18	22	26
Meju	pH	6.48				6.68			
	NH_3-N (g/100 g)	0.302				0.435			
	S.A.**(ppm)	2.72				3.05			
5	pH	5.72	5.58	5.55	5.52	6.02	6.10	6.00	5.91
	NH_3-N (g/100 m*l*)	0.103	0.081	0.073	0.061	0.143	0.132	0.120	0.111
	S.A. (ppm)	0.24	0.18	0.12	0.07	0.46	0.30	0.22	0.13
10	pH	5.19	5.54	5.49	5.48	5.01	5.50	5.93	5.83
	NH_3-N (g/100 m*l*)	0.115	0.105	0.113	0.080	0.163	0.144	0.131	0.122
	S.A. (ppm)	0.56	0.37	0.27	0.30	0.69	0.60	0.48	0.39
15	pH	5.09	5.06	5.30	5.32	4.95	5.06	5.49	5.58
	NH_3-N (g/100 m*l*)	0.156	0.134	0.132	0.114	0.197	0.167	0.168	0.145
	S.A. (ppm)	0.62	0.64	0.54	0.57	0.82	0.68	0.55	0.58
20	pH	4.86	4.92	5.12	5.26	4.83	4.88	5.29	5.40
	NH_3-N (g/100 m*l*)	0.169	0.150	0.141	0.118	0.219	0.196	0.180	0.154
	S.A. (ppm)	0.69	0.66	0.60	0.62	0.78	0.67	0.66	0.60
25	pH	5.01	5.12	5.29	5.40	5.11	4.94	5.15	5.62
	NH_3-N (g/100 m*l*)	0.182	0.174	0.149	0.132	0.238	0.213	0.198	0.172
	S.A. (ppm)	0.67	0.65	0.60	0.61	0.71	0.65	0.65	0.63
30	pH	5.13	5.21	5.29	5.40	5.15	5.24	5.26	5.67
	NH_3-N (g/100 m*l*)	0.203	0.195	0.172	0.155	0.267	0.234	0.201	0.185
	S.A. (ppm)	0.64	0.65	0.57	0.60	0.70	0.65	0.64	0.62

* Sodium chloride concentration(%)

** Secondary amines

各 4.21과 3.39 ppm으로 檢出되어 Table 3에서와 마찬가지로 간장을 暗所에서 熟成시키면 食鹽濃度가 20% 以下에서는 새로운 2級 amine의 生成이 可能하다는 事實을 보여주고 있다. 한편 食鹽濃度가 보다 높아지면 pH, NH_3-N, 還元糖 및 2級 amine의 含量이 모두 日光下의 경우에서와 差異가 좁아지는 傾向을 보였다. 結局 食鹽濃度가 낮은 간장을 暗所에서 熟成시키게되면 2級 amine의 生成能이 强한 微生物의 生育이 旺盛해지므로서 2級 amine의 含量이 많아지고 日光을 照射하게 되면 이들의 生育이 抑制당하는 可能性을 생각할 수 있겠는데 이 點에 對해서는 次後에 追試하고저 한다.

6. 食鹽濃度가 다른 改良式 간장熟成時의 2級 amine의 動態

改良메주(Ⅱ)의 試料를 가지고 食鹽濃度를 14~26% 水準으로 간장을 담그어 5日 間隔으로 30日間의 pH, NH_3-N 및 2級 amine의 變化를 調査하였던바 Table 4와 같은 結果를 얻었다.

pH는 全般的으로 金[29]의 報告와 비슷한 傾向을 보였는데 食鹽濃度가 낮을수록 더 낮고, 빨리 下落하였다. 메주의 型에 따른 간장間의 比較에서는 食鹽濃度가 낮으면 兩者間에 큰 差異가 없으나 高鹽區에서는 가락型의 경우가 보다 pH가 높았는데 이는 NH_3-N量이 가락型에서 더 높은 것으로 보아 初期의 NH_3-N溶出量이 많아 pH가 높았던 데에 原因이 있지 않나 생각된다.[44-46]

一般的으로 在來式 간장의 pH는 담금 40~50日까지는 下落하다가 다시 약간 上昇하는 것으로 알려져 있는데[44,45], 本實驗에서는 담금 20日後에 最低 pH를 보였다. 이것은 5~6月에 간장을 담그었기 때문에 氣溫이 높아 酸生成菌의 生育이 보다 活發하게 進行되었던 데에 原因이 있다고 본다. 그리고 在來式 간장의 最低 pH는 5.0以上으로 比較的 높은 경우가 많은데[44-52] 이것은 本實驗에서 14~18% 食鹽區에서는 5.0以下를 보였으나 22~26%區에서는 이 以下로 떨어지지 않는 것으로 미루어 볼 때, 在來式 간장에서 大豆를 單用한다던지, 變敗된 메주를 使用한다던지 하는 外에 食鹽濃度가 높은 데에도 (平均 26~28%) 原因의 一部가 있다고 생각된다.

NH_3-N는 鹽度가 낮을수록, 그리고 벽돌型보다 가락型에서 더 많은 量이 檢出되었으나 時日이 經過함에 따라 메주의形態에 따른 差異는 좁아졌다.

2級 amine의 含量도 食鹽濃度가 낮으면 높게 檢出되었으며, 一般家庭의 在來式 간장의 경우와 비슷하게 담금 15~25日後에 最大値를 보였다. 그러나 14%의 最低鹽度에서도 溶出豫想量 0.7~0.8 ppm 以上은 超過하지 않고 있어 改良式 메주를 만들어 간장을 담그면 從來 一般的으로 알려져 있는 長點外에도 nitrosamine의 前驗物質로서 醬類의 重要한 非衛生要素인 2級 amine의 生成을 줄이는 效果 또한 크다고 생각한다.

지금까지의 實驗結果를 綜合하여 볼때 在來式 간장에서 多量의 2級 amine이 檢出되는 原因은 放任的으로 粗雜하게 만드는 메주에 原因이 있다고 볼 수 있으므로 一般家庭에서 메주 製造法의 改善이 時急히 要望된다. 아울러 간장의 熟成 및 貯藏過程에서 적절한 食鹽濃度를 維持하고 充分히 햇볕을 쪼이므로서 2級 amine의 生成을 最少量으로 抑制시킬 수 있을 것으로 생각된다.

7. 高溫에 依한 2級 amine의 揮散

(1) 메주乾燥에 依한 影響

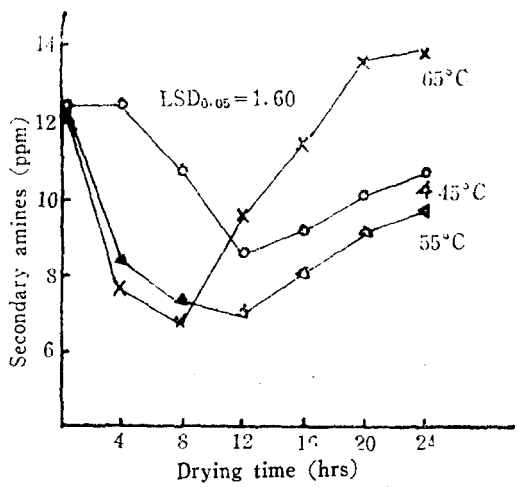

Fig 4. Changes of secondary amines contents during drying in meju (5×3×2 cm)

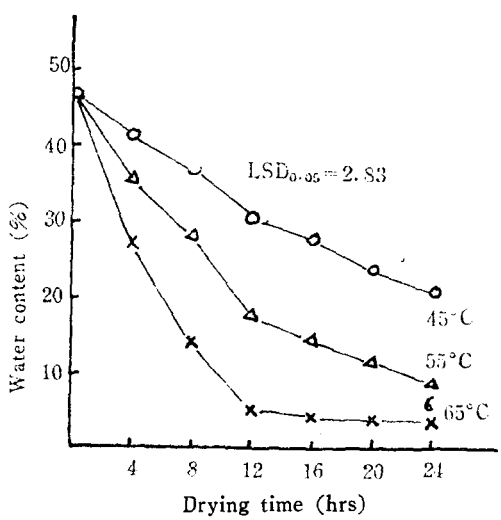

Fig 5. Decrease of water contents by drying in meju(5×3×2 cm)

Fig. 4에서 볼 수 있는 바와 같이 45~65°C에서 24時間 乾燥시켰던바 8~12時間後에는 最少値를 보여 乾燥에 依한 揮散效果를 認定할 수 있었으나 더욱 乾燥가 進行되면서 다시 含量이 增加하였다. 特히 65°C區에서는 初期揮散이 빠르게 나타난 反面에 20時間後에는 原메주에서보다도 더 높은 濃度로 檢出되었다. 그러므로 乾燥에 依한 2級 amine의 揮散效果는 期待하기 어렵다.

(2) 간장 달이기의 影響

殺菌 및 淸澄을 目的으로 장달임을 하게되는데 60~100°C로 30分間 加熱하였던바 메주의 경우와는 달리 初期減少가 없이 계속 增加하였다. 溫度가 높을수록 이러한 傾向은 더욱 뚜렷이 나타났는데 水分이 蒸發하므로서 相對的으로 濃縮된 탓도 있을 것이고, 特히 100°C區에서는 檢出濃度가 대단히 높아서 高溫에서는 2級 amine의 生成이 促進되는 데에도 原因이 있지 않나 생각한다.[56] 그러므로 일단 生成된 2級 amine은 간장의 달이기 過程에서는 除去가 어려울 것 같다.

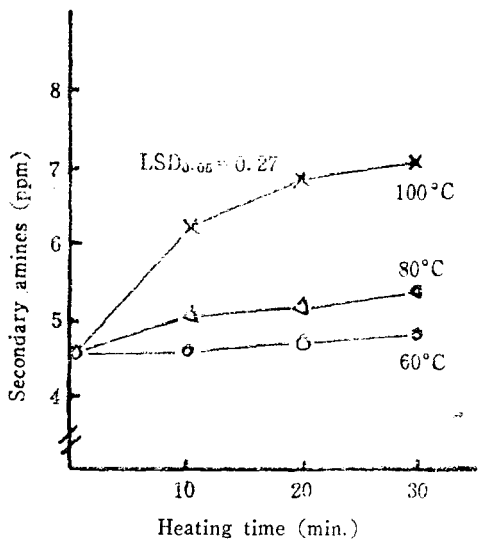

Fig 6. Increase of secondary amines contents by heating in Korean soysauce

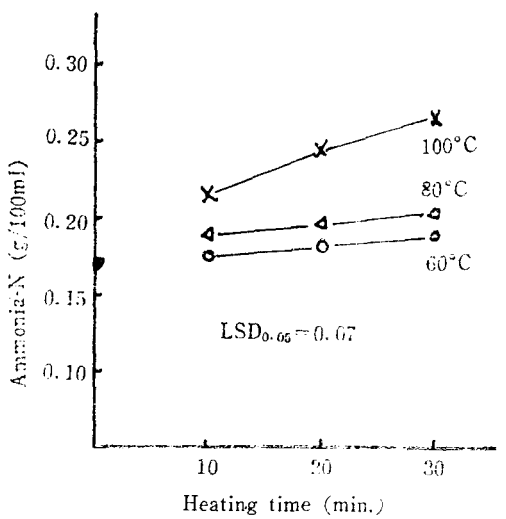

Fig. 7. Increase of ammoniacal N contents by heating in Korean soysauce

要 約

在來式 간장에 있어서 2級 amine의 生成要因을 究明하고저 메주에서부터 간장의 熟成 및 달이기까지의 全過程에 걸쳐 2級 amine의 動態를 調査하였던바 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 一般家庭의 在來式 메주는 *Aspergillus oryzae*를 人工接種하여 製造한 메주보다 2級 amine의 含量이 7倍以上 높아서 平均 20.86 ppm이 檢出되었다. 또한 在來式 메주中에서도 變敗度가 높은 메주일수록 2級 amine의 含量이 높았다.

2. 醬類製造의 原料인 콩, 밀, 쌀 및 보리에서도 少量의 2級 amine이 檢出되었는데 콩 1.28 ppm, 밀 0.57 ppm, 쌀 0.35 ppm, 보리 0.34 ppm이었다. 이들을 原料로 製造한 코오지에서는 보다 많은 量의 2級 amine이 檢出되어 콩코오지는 2.63 ppm, 밀은 1.09 ppm, 쌀과 보리는 0.54, 0.64 ppm 水準이었다.

3. 在來式 간장의 90日間의 熟成過程에서 正常的인 醱酵가 進行되는한 메주에서 由來하는 外에 새로운 2級 amine의 生成은 없었다.

4. 在來式 메주를 使用, 食鹽濃度를 12~26%水準으로 간장을 담그었던바 日光을 充分이 쪼이는 條件에서는 2級 amine의 生成이 없었으나 暗所에서는 18%以下區에서 메주로부터의 溶出豫想量以上의 2級 amine이 檢出되었다.

5. *Aspergillus oryzae*를 人工接種하여 메주를 만들고 食鹽濃度를 14~26%水準으로 간장을 담그어 日光이 充分히 쪼이는 곳에서 熟成시켰던 바 溶出豫想量以上의 2級 amine이 檢出되지 않았다.

6. 메주의 乾燥나 간장 달이기에 依한 2級 amine의 揮散效果는 期待할 수 없었다.

參 考 文 獻

1. Magee, P. N. and Barnes, J. M.: *Brit. J. Cancer*, **10**, 114 (1956).
2. Croby, N. T. and Sawyer, R.: *Advance in Food Research*, 22, 1 (1976).

3. Mirvish, S. S.: *J. Nat. Cancer Inst.*, **44**, 633 (1970).
4. Sander, J.: *Arch. Hyg. Bakt.*, **151**, 22 (1967).
5. Sen, N. P., Smith, D. C., and Schwinghamer, L.: *Food Cosmet. Toxicol.*, **7**, 301 (1969).
6. Sonder, J.: *Hoppe-Seyer's Z. Physiol. Chem.*, **349**, 429 (1968).
7. Ishiwata, H., Tanimura, A., and Ishidate, M.: *J. Food Hygiene Soc. (Japan)*, **17**, 59 (1976).
8. 國崎直道, 松浦宏之, 林誠: 食品衛生學雜誌(日本), **17**, 314 (1976).
9. Sen, N. P., Smith, D. C.. Schwinghamer, L., and Howsan, B.: *Can. Inst. Food Technol. J.*, **7**, 66 (1970).
10. Wesserman, A. E., Pensabene, T. W., and Protowski, E. G.: *J. Food Sci.*, **3**, 276 (1978).
11. Lijinsky, W. and Epstein, S. S.: *Nature*, **226**, 21 (1970).
12. Tannenbaum, S. R., Sinskey, A. F., Weisman, M., and Bishop, W.: *J. Nat. Cancer Inst.*, **53**, 79 (1974).
13. Ishiwata, H., Boridoon, P., Nakamura, Y., Harada, M., Tanimura, A., and Ishidate, M.: *J. Food Hygiene Soc. (Japan)*, **16**, 19 (1975).
14. 權赫姬: 韓國榮養學會誌, **7**, 21 (1974).
15. Beatty, S. A., and Collins, U. K.: *J. Fisheris Research Board Can.*, **3**, 32 (1940).
16. Reay, G. A. and Schewan, J. M.: *Advance in Food Research*, **2**, 343 (1949).
17. Tomiyasu, Y. and Zenitani, B.: *Advance in Food Research*, **7**, 42 (1957).
18. Irvine, W. W. and Saxby, M. J.: *Phytochemistry*, **8**, 473 (1969).
19. Bush, L. P.: *Beitr. Tabakforsch.*, **5**, 275 (1970).
20. Singer, G. M. and Lijinsky, W.: *J. Agr. Food Chem.*, **24**, 550 (1976).
21. Bassir, O. and Maduagwu, E. M.: *J. Agr. Food Chem.*, **26**, 200 (1978).
22. 河村太郎, 堺 敬一, 宮澤文雄, 和田 裕, 伊藤馨志勇, 谷村顯雄: 食品衛生學雜誌, **12**, 192 (1971).
23. 河村太郎, 堺 敬一, 宮澤文雄, 和田 裕, 伊藤馨志勇, 谷村顯雄: 食品衛生學雜誌, **12**, 394 (1971).
24. 金光湖: 경희대 약대논문집, **1**, 31 (1973).
25. 尹惠禎, 李蕙遠: 韓國生活科學論叢(梨花女大), **13**, 159 (1974).
26. 任昌國, 尹明熙, 權肅杓: 한국식품과학회지, **5**, 169 (1973).
27. 文範洙, 金福成, 金準煥, 禹相奎, 金文煥, 張榮珠 국립보건연구원보, **12**, 167 (1975).
28. 權泰英: 全州永生大學論文集, **7**, 365 (1978).
29. 김상순: 한국식품과학회지, **10**, 63 (1978).
30. Pribly, M. and Nedbal-Kova, J. Z.: *Anal. Chem.*, **232**, 261 (1967).
31. 柳洲鉉: 食品工學實驗, 探求堂, 第 I 卷, 725(1975).
32. Noris, J. R. and Ribbons, D. W.: *Methods in Microbiology*, Academic Press, New York, **6A**, 86 (1972).
33. 金在鳳, 辛孝善: 食品衛生學, 探求堂, **125** (1973)
34. 조덕현, 이우진: 한국농화학회지, **13**, 35 (1970).
35. 박계인, 김기주: 국립공업연구소보고, **20**, 89 (1970).
36. 박계인, 박경대: 국립공업연구소보고, **21**, 197 (1971).
37. 李錫健, 李澤守: 한국농화학회지, **19**, 155 (1976).
38. Wolf, W. J. and Cowan, J. C.: *Soybeans as a Food Source*, CRC Press, 24 (1975).
39. Asatoor, A. M. and Simenhoff, M. L.: *Biochem. Biophys. Acta.*, **3**, 384 (1965).
40. 張智鉉: 서울대학교 창립60주년 기념 논문집, 81 (1966).
41. 金浩植, 李瑞來, 趙漢玉: 한국농화학회지, **2**, 23 (1961).
42. 金鏞揮, 金載勗: 한국농화학회지, **4**, 17 (1963).
43. 李宇鎭, 曹惠鉉: 한국농화학회지, **14**, 137 (1971).
44. 張智鉉: 한국농화학회지, **6**, 8 (1965).
45. 金載勗, 趙武濟: 한국농화학회지, **14**, 19 (1971).
46. 李鍾珍, 高漢水: 한국농화학회지, **8**, 247 (1976).
47. 張智鉉: 서울農業大學論文集, **3**, 1 (1963).
48. 張智鉉: 한국농화학회지, **7**, 35 (1966).
49. 張智鉉: 한국농화학회지, **8**, 1 (1967).
50. 張智鉉: 한국농화학회지, **9**, 9 (1968).
51. 張智鉉: 民族文化研究, 서울農大, **80**, 92 (1969).
52. 李澤守, 李錫健: 한국농화학회지, **13**, 97 (1970).
53. 有働繁三: 日本農藝化學會誌, **7**, 852 (1931).
54. 有働繁三: 日本農藝化學會誌, 8, 675 (1932).
55. Amorim, H. V., Basso, L. C., Crocomo, O.J., and Teixeira, A. A.: *J. Agr. Food Chem.*, **25**, 957 (1977).
56. 伊藤馨志男, 作田廣子, 高田廣美, 谷村顯雄: 食品衛生學雜誌(日本), **12**, 404 (1971)