

시판 간장 중의 biogenic amine의 함량 조사

김재현 · 박현진¹ · 김미정² · 안현주 · 변명우*

한국원자력연구소 방사선식품 · 생명공학기술개발팀,
¹고려대학교 생명공학원, ²안양대학교 식품영양학과

Survey of Biogenic Amine Contents in Commercial Soy Sauce

Jae-Hyun Kim, Hyun-Jin Park¹, Mi-Jung Kim², Hyun-Joo Ahn and Myung-Woo Byun*

Team for Radiation Food Science & Biotechnology, Korea Atomic Energy Research Institute

¹Graduate School of Biotechnology, Korea University

²Department of Food Science and Nutrition, Anyang University

Nine commercial soy sauces (A-I) were investigated for their biogenic amine (BAs) levels. Detected biogenic amines were putrescine (PUT), cadaverine (CAD), tryptamine (TRP), β -phenylethylamine (PHE), spermine (SPM), histamine (HIS), and tyramine (TYR). All products tested had biogenic amines as detected level. PUT was the major biogenic amines detected in six products, and difference between the highest and the lowest among products was more than 16 mg/kg. Six products had all seven biogenic amines tested, while one product had only five. Results indicate that soy sauces commercially available in Korea contain biogenic amines at various levels. Studies related to biogenic amines including survey of contents must be performed continuously.

Key words: commercial soy sauce, biogenic amines

서 론

Biogenic amine은 인체 및 동물체내에서 중추신경의 신경 전달물질 또는 직·간접적 혈관계 조절에 관여하는 필수 성분의 하나이며, 또한 다양한 종류의 식품 특히 발효식품에서 저장, 숙성 및 발효과정 중에 생성되는 물질로서 과량섭취시 신경계 및 혈관계를 자극하여 식중독 증상을 유발시키거나 혹은, 일부 biogenic amine은 N-nitrosamine과 같은 강력한 발암물질로 전환될 수 있는 잠재성을 가지고 있다⁽¹⁻³⁾. 식품에서 주로 검출되는 biogenic amine으로는 putrescine, cadaverine, β -phenylethylamine, tyramine, tryptamine, histamine, spermine, spermidine 및 agmatine 등이 있으며, 보통 미생물에 의해 유리아미노산의 탈탄산 반응으로 생성되는 것으로 알려져있다⁽¹⁻³⁾.

최근 국외의 연구결과들을 살펴보면, 분석방법 최적화에 대한 연구, 각종식품 중에 존재하는 biogenic amine의 함량 조사 및 생성에 관여하는 미생물의 탐색 등이 활발히 진행되고 있으며, sauerkraut, 발효치즈, 발효소시지, 맥주, 콩제품

등을 포함한 발효식품 중에 상당한 양의 biogenic amine이 함유된 것으로 보고되고 있다⁽¹⁻⁸⁾. Biogenic amine에 대한 국내 연구는 효소 reactor를 이용한 측정 방법 개발⁽⁹⁾, 어육의 화학적 선도 지표로서의 biogenic amine 함량 측정⁽¹⁰⁾ 및 기타 일부 식품군 중의 함량조사⁽¹¹⁻¹⁴⁾ 등 극히 일부의 연구만이 이루어져 있으며, biogenic amine이 존재 가능한 여러 각종 식품에 관한 연구는 아직까지 상당히 미비한 실정이다. 따라서 고유의 발효식품이 특히 발달한 우리나라의 식생활을 고려할 때 각 식품에 따른 biogenic amine에 대한 연구는 매우 중요하며, 시판 되고 있는 발효식품 중에 폭 넓게 존재할 것으로 사료된다. 이 중 간장은 대두를 주원료로 제조한 한국의 대표적인 전통 발효조미식품으로 그 섭취량 및 소비량이 매우 높기 때문에⁽¹⁵⁾, 식품안전성 측면에서 biogenic amine의 분포 및 함량 조사가 매우 중요하다.

본 연구는 전보^(12,14)의 시판 된장 및 맥주 중의 biogenic amine함량 조사에 이어 국내에서 상업적으로 제조되어 시중에 유통되고 있는 대표적인 발효식품의 하나인 간장 중의 biogenic amine 종류와 함량을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료

간장은 대형 소매점에서 유통되고 있는 9개 제품을 3개의 매장에서 각각 구입하여 살균한 유리병에 혼합한 후 실험에

*Corresponding author: Myung-Woo Byun, Team for Radiation Food Science and Biotechnology, Korea Atomic Energy Research Institute, Yusung, P.O. Box 105, Daejeon 305-600, Korea
Tel: 82-42-868-8060
Fax: 82-42-868-8043
E-mail: mwbyun@kaeri.re.kr

Table 1. Labeled composition of the commercial fermented soysauce analyzed in this study

Sample	Labeled composition
A ¹⁾	Fermented soysauce (<i>Shoyu</i> , Japanese type, 100%), Salt, Defatted soybean (10.0%, US ²⁾), Wheat flour (8.2%, US), Fructose, Alcohol
B	Fermented soysauce (<i>Shoyu</i> , Japanese type, 100%), Defatted soybean (19.4%, US), Wheat flour (19.14%, US), Salt, Fructose, Fermented flour (<i>Koji</i>)
C	Fermented soysauce (<i>Shoyu</i> , Japanese type, 100%), Defatted soybean (15.47%, US), Wheat flour (13.58%, US), Salt, Oligo-saccharide, Alcohol
D	Fermented soysauce (<i>Shoyu</i> , Japanese type, 100%), Soybean (12.86%, US), Defatted soybean (12.86%, US), Salt, Fermented flour (<i>Koji</i>)
E	Fermented soysauce (<i>Shoyu</i> , Japanese type, 100%), Defatted soybean (19.52%, US), Wheat flour, Salt, Fructose, Alcohol
F	Fermented soysauce (<i>Shoyu</i> , Japanese type, 30%), Chemical soysauce (acidic digest of soybean, 70%), Defatted soybean (22.45%, US), Wheat flour (5.0%, US), Salt, Fructose, Caramel, Ethyl-p-Hydroxybenzoate (less than 0.2 g/L)
G	Fermented soysauce (<i>Shoyu</i> , Japanese type, 35%), Chemical soysauce (acidic digest of soybean, 65%), Defatted soybean (14.39%, US), Wheat flour (3.56%, US), Salt, Caramel, Fructose, Butyl-p-Hydroxybenzoate (less than 0.025%)
H	Fermented soysauce (<i>Kanjang</i> , Korean type), Korean <i>Meju</i> ³⁾ (36.0%), Salt (21.0%), Mineral water
I	Fermented soysauce (<i>Shoyu</i> , Japanese type, 35%), Lemon syrup (concentrated), Defatted soybean (10.6%, US), Wheat flour (8.7%, US), Salt, Alcohol, Fructose

¹⁾The commercial soy sauce was remarked irrespective of their own brand.

²⁾US: Raw material from United State America.

³⁾Korean *Meju*: Fermented soybean with *Asp. oryzae* (0.05%) as a starter and dried, then ground.

사용하였다. 시판 간장의 포장 용기에 표시된 성분 및 첨가물 함량은 Table 1과 같으며, 각 9개 제품은 회사 및 제품과 관계없이 A-I의 순으로 나열하였다.

Biogenic amine

시판 간장의 biogenic amines(BAs)의 함량은 García-García 등⁽¹⁶⁾ 및 Hwang 등⁽¹⁷⁾의 방법을 약간 변형하여 측정하였다. BAs의 표준시약으로 putrescine, cadaverine, tryptamine, β -phenylethylamine, spermine, spermidine, histamine, tyramine 및 agmatine(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)을 각각 100 mg/kg의 농도로 조제하여 stock solution으로 냉동 보관하며 실험에 사용하였다. 각 시료 10 mL를 5% trichloroacetic acid(TCA)를 가하여 50 mL로 정용하고 약 3분간 vortex mixer(G-560, Scientific Industries Inc., Bohemia, NY, USA)로 추출 한 후 여과하여 실험에 사용하였다. 표준시약 및 TCA 추출시료 2 mL에 2 M NaOH 1 mL와 benzoyl chloride 10 μ L를 가하여 30°C에서 40분간 반응을 시킨 후 (benzylation), 포화 NaCl 2 mL로 반응을 정지시키고, diethyl ether 3 mL를 가하여 vortex mixer(Scientific Industries Inc.)를 이용, 3분간 추출한 후 2500 rpm에서 20분간 원심분리를 실시하였다. 상등액 1.5 mL를 분취한 후 질소 가스를 사용하여 diethyl ether를 모두 건조시키고, methyl alcohol 1 mL에 용해하여 HPLC system으로 분석하였다.

BAs 함량측정에 사용한 HPLC system은 Separations module(2690, Waters Co., Milford, MA, USA), Photodiode array detector(996, Waters), Millennium 32 chromatography manager(System Software, Workstation version 3.0, Waters), Symmetry[®] C18, 3.9 \times 150 mm, particle size; 5 μ m column (Waters)을 사용하였으며, 이때 HPLC의 분석조건은 이동상 methyl alcohol : water(gradient composition; 50, 70, 85,

100%)을 0.9 mL/min의 유속으로 사용하였으며, injection volume은 20 μ L, column 온도는 25°C 고정하여 225 nm에서 분석하였다. 모든 측정은 전과정을 3회 반복하여 시행하였다.

통계분석

BAs 함량 측정 결과는 Statistical analysis system(Version 5 edition)⁽¹⁸⁾을 이용하여 ANOVA 분석 후 Student-Newman-Keuls test로 p<0.05에서의 유의차 검정을 하였다.

결과 및 고찰

Biogenic amine 함량

시판 간장 중의 biogenic amine(BA) 함량은 Table 2와 같다. 검출된 BAs는 총 7종류로 putrescine(PUT), cadaverine(CAD), tryptamine(TRP), β -phenylethylamine(PHE), spermine(SPM) 및 histamine (HIS)으로 각 제품에 따라 검출 BAs 종류 및 함량 차이를 보였다. F 및 G 제품은 TRP를 제외한 6가지, I 제품은 CAD 및 TRP를 제외한 5가지 종류의 BAs가 검출되었다. 특히 I 제품은 PUT를 제외한 BAs 함량이 유의적으로 가장 낮게 나타나 BAs에 대한 안전성이 높은 것으로 나타난데 반해 B 제품은 검출된 7가지의 BAs 함량이 모두 유의적으로 가장 높게 나타났다(p<0.05). 다른 독성 아민류로의 변환 잠재성 및 혈압상승 등을 유발하는 것으로 알려진 PUT, CAD 및 TRP⁽¹⁻³⁾ 가운데 PUT의 경우, A, C 및 F 제품을 제외한 6개 제품에서 높은 수준의 함량을 나타내었으며, 제품에 따라 다양한 함량 차이를 보였다(0.908~17.832 mg/kg). 그 중 유의적으로 가장 낮은 수준을 보인 A 및 C 제품을 비롯해 F 및 G 제품이 10 mg/kg 내외의 높은 함량을 나타낸 다른 제품들에 비해 상대적으로 낮은 함량이 검출되었다. CAD의 경우 I 제품에서는 검출되지 않았으며, TRP

Table 2. Biogenic amines in commercial fermented soybean sauce in Korea

(unit: mg/kg)

Sample	Biogenic amine						
	PUT ¹⁾	CAD	TRP	PHE	SPM	HIS	TYR
A ²⁾	1.109 ^{g3)}	0.063 ^{de}	0.038 ^{de}	0.645 ^d	0.455 ^d	1.051 ^{cd}	1.917 ^d
B	17.832 ^a	0.429 ^a	0.408 ^a	2.499 ^a	0.849 ^a	2.283 ^a	11.112 ^a
C	0.908 ^g	0.040 ^e	0.026 ^e	0.658 ^d	0.170 ^f	0.695 ^e	0.996 ^{ef}
D	12.795 ^c	0.054 ^{de}	0.309 ^b	2.395 ^a	0.556 ^c	1.545 ^b	4.177 ^b
E	13.133 ^b	0.148 ^b	0.046 ^d	0.873 ^c	0.323 ^e	1.122 ^{cd}	1.260 ^e
F	1.569 ^f	0.098 ^{cd}	-. ^{4)f}	1.593 ^b	0.629 ^b	1.251 ^c	3.127 ^c
G	1.790 ^f	0.118 ^{bc}	-. ^f	0.198 ^e	0.427 ^d	0.875 ^{de}	0.481 ^{fg}
H	11.953 ^d	0.082 ^{cd}	0.094 ^c	0.477 ^d	0.391 ^d	1.282 ^c	0.867 ^{ef}
I	9.512 ^e	-. ^f	-. ^f	0.195 ^e	0.132 ^f	0.249 ^f	0.139 ^g
SEM ⁵⁾	0.147	0.018	0.064	0.076	0.025	0.099	0.216

¹⁾PUT: putrescine, CAD: cadaverine, TRP: tryptamine, PHE: β -phenylethylamine, SPM: spermine, HIS: histamine, TYR: tyramine.

²⁾The commercial soy sauce was remarked irrespective of their own brand.

³⁾Different alphabet (a-f) in same column means significantly different at $p < 0.05$.

⁴⁾-.: not detected.

⁵⁾SEM: Standard errors of mean (n=27).

도 제조사에 따른 유의적 차이를 나타내었는데 F, G 및 I 제품에서 검출되지 않았다. 교감신경자극, 혈압상승 및 편두통 등의 증세를 유발할 수 있는 PHE⁽¹⁻³⁾의 경우도 제품에 따라 함량 차이가 다양하게 나타났으며, 강력한 발암물질인 N-nitrosamine으로의 전환 가능성을 가진 SPM⁽¹⁻³⁾의 경우, C 및 I 제품이 0.1 mg/kg 내외로 유의적으로 가장 낮은 함량을 보였다. 신경 및 근육자극 등 각종 식중독 증세를 유발할 수 있는 것으로 알려진 HIS⁽¹⁻³⁾과 말초혈관 자극에 의한 혈압상승 및 박동증가, 신경계질환, 동공확대, 호흡 및 혈당 증가 등과 같은 여러가지 임상병리학적 증세를 동반할 수 있는 TYR⁽¹⁻³⁾의 경우도 B 제품이 유의적으로 가장 높게 나타났는데 반해 I 제품은 B 제품에 비해 약 89~98%이상 낮은 수준으로 검출되었다.

국외 여러 연구에서 식품의 종류 및 특성에 따른 BAs 독성수준 제시가 미흡한 실정이며, 국내에는 조사되지 않은 기초적인 함량 조사에 우선 연구목적에 둔 바 본 연구에서 조사된 각 시판제품의 독성유발 함량수준 제시에 아직 어려움이 있으나, 현재 국내 시판간장 중의 BAs 함량은 식중독 유발 함량에 미치지 않는 것으로 사료된다.

따라서 전보^(12,14)의 시판 발효식품 중의 biogenic amine 함량조사에 이어 현재 시판 간장 중의 BAs의 섭취로 인해 발생할 수도 있는 다양한 임상병리학적 증세 및 질병 유발 가능성 배제를 위한 BAs의 생성억제, 제거 및 허용함량의 기준규격 설정 등과 관련한 국내 시판 간장의 화학적 안전성 확보를 위한 지속적인 함량조사 및 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

요 약

국내에서 시판·유통되고 있는 9개(A~I)의 간장제품 중의 biogenic amine(BA) 함량을 조사하였다. 시판 간장에서 검출된 biogenic amine은 putrescine, cadaverine, tryptamine, β -phenylethylamine, spermine, histamine 및 tyramine으로 총 7종류가 검출되었으며, 각 제품에 따라 그 종류 및 함량 차이

를 나타내었다. PUT은 6 제품에서 가장 높은 수준으로 검출되었으며, 가장 높은 제품과 낮은 제품에서의 함량차이가 약 16 mg/kg이상으로 나타났다. 6개의 제품에서 7종류의 BA이 모두 검출된데 반해 한 제품(I)에서 5종류의 BA만이 검출되었다. I 제품은 putrescine을 제외한 모든 BA에서 유의적으로 가장 낮은 함량 수준을 보였으며, B 제품의 경우 7종류의 BA이 모두 검출되었고 함량도 유의적으로 가장 높게 나타났다. 따라서 간장의 화학적 유해요소에 대한 안전성 확보를 위해 지속적인 함량조사를 포함한 다양한 저감화 연구 등이 필요하다.

감사의 글

본 연구는 과학기술부의 원자력 연구개발사업의 일환으로 수행되었으며, 그 지원에 감사드립니다.

문 헌

- Shalaby, A.R. Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Res. Int.* 29: 675-690 (1996)
- Bardócz, S. The role of dietary polyamines. *Eur. J. Clin. Nutr.* 47: 683-690 (1993)
- Ten Brink, B., Damink, C., Joosten, H. and Huis in't, V. Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *Int. J. Food Microbiol.* 11, 73-84 (1990)
- Kalac, P., Spicka, J., Krizek, M. and Pelikánová, T. Changes in biogenic amine concentrations during sauerkraut storage. *Food Chem.* 69: 309-314 (2000)
- Valsamaki, K., Michaelidou, A. and Polychroniadou, A. Biogenic amine production in Feta cheese. *Food Chem.* 71: 259-266 (2000)
- Fernández-García, E., Tomillo, J. and Núñez, M. Effect of added proteinases and level of starter culture on the formation of biogenic amines in raw milk Manchego cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 52: 189-196 (1999)
- Bover-Cid, S., Izquierdo-Pulido, M. and Vidal-Carou, M.C. Influence of hygienic quality of raw materials on biogenic amine production during ripening and storage of dry fermented sausages. *J. Food Prot.* 63: 1544-1550 (2000)

8. Bover-Cid, S., Schoppen, S., Izquierdo-Pulido, M. and Vidal-Carou, M.C. Relationship between biogenic amine contents and the size of dry fermented sausages. *Meat Sci.* 51: 305-311 (1999)
9. Park, I.S., Kim, D.K., Shon, D.H., Cho, Y.J. and Kim, N.S. Measurement of biogenic amines with a chitopearl enzyme reactor. *Korean J. Food Sci. Technol.* 31: 593-599 (1999)
10. Kim, D.K., Park, I.S. and Kim, N.S. Determination of chemical freshness indices for chilled and frozen fish. *Korean J. Food Sci. Technol.* 30: 993-999 (1998)
11. Mah, J.H., Han, H.K., Kim, E.J. and Hwang, H.J. Determination of biogenic amines in Korean traditional fermented food products. P10-4. p. 230, Proceedings of 11th World Congress of Food Sci. Technol., Seoul (2001)
12. Kim, J.H., Ahn, H.J., Yook, H.S., Park, H.J. and Byun M.W. Biogenic amines content in commercial Korean traditional fermented soybean paste. *Korean J. Food Sci. Technol.* 33: 682-685 (2001)
13. Kim, J.H., Ahn, H.J., Kim, D.H., Jo, C., Cha, B.S. and Byun, M.W. Effects of gamma irradiation on biogenic amines levels in Doenjang during fermentation. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 31: 713-716 (2002)
14. Kim, J.H., Ahn, H.J., Hong, J.H., Han, S.B. and Byun, M.W. Survey of biogenic amines contents in commercial beers. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 1127-1129 (2002)
15. Chung, J. H., Mok, C., Lim, S., Woo, G. J., Baek, H. H. and Park, Y. S. Desalination of traditional soy sauce using electro dialysis. *Korean J. Food Sci. Technol.* 34: 811-817 (2002)
16. García-García, P., Brenes-Balbuena, M., Hornero-Méndez, D., García-Borrego, A. and Garrido-Fernández, A. Content of biogenic amines in table olives. *J. Food Prot.* 63: 111-116 (2000)
17. Hwang, D.F., Chang, S.H., Shiua, C.Y. and Chai, T.J. High-performance liquid chromatographic determination of biogenic amines in fish implicated in food poisoning. *J. Chromatography B* 693: 23-30 (1997)
18. SAS Institute, Inc. Statistical Analysis System User's Guide. Statistics Version 5th ed. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA (1985)

(2003년 1월 29일 접수; 2003년 3월 14일 채택)