

市販 醱酵食品에서 N-nitrosamine의 生成 可能性에 관한 研究

金洙賢, 河璉桓

Studies on the Possibility of N-nitrosamine Formation in Commercial Fermented-foods

Kim Soo-hyun, Ha Jin-hwan

Summary

Traditional Korean fermented-food was examined for the presence of volatile nitrosamines. Except for trace levels in some samples, no N-nitrosodimethylamine (NDMA) were detected in untreated fermented-foods.

N-Nitrosodiethylamine (NDEA) and N-nitrosodibutylamine (NDBA) were not detected in all samples which were nitrosated or not.

In the kimchi of a certain restaurant which added fermented cod sauce, NDMA was less than 13.4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in one sample only.

In the sodium nitrite added sample at pH 3 which is gastric-juice acid condition, all samples produced a large quantity of NDMA and especially, in shrimp sauce, 9-12 mg/kg was formed.

Even though in the same kind of fermented food, different production sauce gave big difference of NDMA content according to the fermentation condition.

This indicates various producing factors of N-nitrosamine depends upon food processing condition.

序 論

現代 文明 生活속에서 우리들은 化學藥品, 醫藥
品, 農藥, 大氣汚染 등으로 인한 各種 化學物質에
둘러싸인 채 살아가고 있다. 그래서 最近에는 特別히
生活 環境속에 存在하는 이들 化學物質에 依한 癌誘
可能性에 對해서 非常한 關心이 모아지고 있다.
生活環境에서 由來되는 發癌物質 들 중에 世界的으

로 크게 研究의 對象이 되고있는 것들은 3·4 ben-
zopyren 等の 多環性 芳香族炭化水素類, aflatoxin과
같은 곰팡이毒(mycotoxin) 및 N-nitrosodimethyl-
amine (NDMA)를 비롯한 各種 N-nitroso 化合物들
을 들 수가 있다. 이들 중에서도 N-nitroso化合物
이 더욱 注目받게 되는 理由로, 우리들의 生命을 영
위해 나아가기 위하여 恒常 먹어야하는 野菜類나 魚
類, 肉類 食品中에는 이것을 生成시킬 수 있는 前
驅物質들이 많이 含有되고 있어 食品의 調理, 加工,
貯藏中에 이들 前驅物質이 서로 反應하여 容易하게

N-nitroso化合物을 생성시키며, 또한 생성된 이化合物은 數 mg/kg 水準의 微量으로도 癌을 誘發시킬 수 있는 強力한 發癌物質이기 때문이다 (Sakai, Tanimura, 1971a).

Magee와 Barnes는 NDMA가 實驗動物에서, 強力한 癌誘發物質임을 1956년에 처음 報告하였는데, 그 이후 이들에 의하여 이러한 事實이 거듭 立證되었다 (Magee, Vandekar, 1957; Magee, 1971).

Ender 등(1964)에 의하면 食品中 NDMA는 dimethylamine(DMA)과 亞窒酸鹽이 反應하여 生成된다고 하였는데, Mirvish(1970)는 이 反應에서 NDMA의 生成速度는 DMA의 濃도에 比例하고 亞窒酸鹽 濃度の 제곱에 비례하며, 이 때의 最適pH는 3.4라고 하였다.

Hata(1979)에 의하면 우리가 恒常 많이 攝取하여야 하는 野菜類인 배추, 무우, 상치등에는 대단히 많은 量의 窒酸鹽이 含有되어 있다하였고, Tannenbaum 등(1974), Ishiwata 등(1956), Maruyama 등(1976), Muramatsu 등(1978)의 報告들을 綜合하면, 動物의 口腔內에 存在하는 여러 細菌에 의하여 食品으로 섭취된 窒酸鹽은 亞窒酸鹽으로 還元되며, 人間의 唾液中에는 恒常 亞窒酸鹽이 存在한다고 하였다. 또한 ham, sausage製造 때에는 *Clostridium botulinum*의 抑制와 發色 및 香辛의 目的으로 亞窒酸鹽은 必須적으로 添加되고 있으며, 음료수에도 이것은 含有되어 있어 우리들은 恒常 窒酸鹽 및 亞窒酸鹽을 攝取하고 있다고 할 수 있다.

Sakai와 Tanimura(1971b)는 魚類의 鹽藏品에 여러 種類의 amine이 많은 量 含有되어 있다 하였고, Kawamura 등(1971), Tokunaga 등(1980)에 의해서도 魚類의 加工, 貯藏中에 2級, 3級 amine이 많이 生成된다고 하였다. 또 우리나라 醱酵食品인 김치, 멸치젓, 새우젓에도 2級, 3級 amine이 많이 含有되고 있음을 金等(1984)은 報告한 바 있다.

우리 國民이 옛부터 즐겨 먹어오고 있는 傳統的 醱酵食品인 멸치젓, 새우젓, 자리젓 및 김치는 amine類 및 窒酸鹽을 많이 含有한 食品이므로 이들의 製造熟成된 製品에서, 또한 이것들이 食品으로 攝取된 후에 體內에서의 N-nitrosamine 生成可能性에 對한 究明方案의 一環으로 市販되고 있는 몇가지의 主要 醱酵食品을 對象으로 하여 實驗하였다.

材料 및 方法

1. 材料의 購入

1984년 1월부터 6월 사이에, 자리젓은 제주도 대정읍내 市場에서 購入하였고, 멸치젓, 새우젓, 김치들은 美國 Massachusetts州의 Cambridge, Allston, Somerville市 地域內에 있는 韓國食料品店 및 食堂에서 購入하였다.

2. 試料의 調製

Gas chromatography thermal energy analyser (GC-TEA)에 의한 分析用 試料의 調製는 Havery 등(1978)의 方法과 Hotchkiss 등 (1980)의 方法을 綜合改良한 Tannenbaum(Kim et al. 1985)의 方法에 따라 蒸溜, 抽出하였는데, 그때 使用한 蒸溜, 裝置의 얼개도는 Fig. 2와 같다.

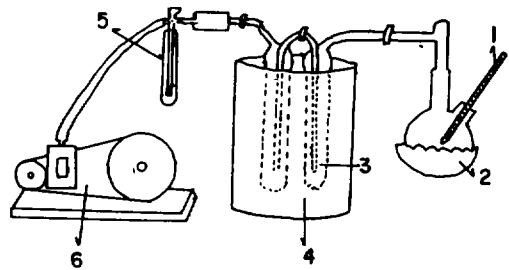


Figure 1. Mineral oil distillation apparatus

1. Thermometer
2. Heating mantle
3. Vacuum trap
4. Cold trap (liquid N₂ or dry ice+acetone)
5. Vacuum gauge (vacmm 2 torr)
6. Vacuum pump

3. 試料의 Nitroso化

Marquardt 등(1977)의 方法에 따라 試料 25g에 NaCl 0.75g, NaNO₂ 0.2g을 各各 10ml의 물에 溶解

한 후 試料과 混合하고 鹽酸으로 pH 3.0으로 調節하여, 1時間동안 暗所에서 反應시킨 후, 0.3g의 ammonium sulfamate를 添加하고 잘 混合시킨 다음 上記와 같은 方法으로 蒸溜, 抽出하였다.

4. GC-TEA에 의한 N-nitrosamine의 分析

蒸溜, 抽出된 試料溶液은 Fine 등(1975)의 方法에 따라 Table 1과 같은 條件에서 定量 分析하였다.

Table 1. Condition for GC-TEA analysis

Packing material	10% Carbowax 20M 2% KOH on 80/100 Chromosorb WAW
Column	2m×3mm i.d. (glass)
Carrier gas, flow rate	He, 20ml/min
GC Temperature	column oven: 100°C injection port: 225°C
Instrument	Varian Model 200 GC
Chart speed	5mm/min.
Ozone	20ml/min.
Analytical pyrolyzer	450°C
Cold trap	-80°C (dry ice + acetone)
Detector	TEA, Thermo Electron Corporation Model 915

동안 紫外線을 照射하고 原來 peak의 再出現如否로 確認하였다.

結果 및 考察

市販되는 漬物類와 김치를 購入하여 이를 그대로, 또는 胃液酸性條件에서 亞窒酸소-다를 添加하고 nitroso化 處理한 후, mineral oil extraction法으로 GC-TEA를 利用하여 分析定量, 同定確認한 結果는 다음과 같다.

1. 市販 醱酵食品中 N-nitrosamine의 含量

Table 2에서 보는 바와같이 모든 試料(before nitrosation)에서 NDMA만이 몇개의 試料에서 檢出되어 痕跡量 또는 微量의 값을 보였을 뿐 NDEA와

5. N-nitrosamine의 同定確認

GC-TEA에 의해 標準物質과 같은 retention time을 갖는 peak가 出現하는 試料溶液에는 N-nitrosamine의 標準物質을 添加한 후에 다시 GC-TEA에 同一한 位置에서 一致하며, 前보다 增加된 N-nitrosamine peak의 出現如否로 同定하였다. 한편 N-nitrosamine이 紫外線에 破壞되는 性質을 利用하여 試料의 溶液을 毛細管에 注入시킨 후 4時間

NDMA는 檢出되지 않았다. 자리젓 2試料과 멸치젓 4개에서는 NDMA도 檢出되지 않았는데, 새우젓 試料 3개에서는 製造源에 따라 不檢出 또는 3.4 μg/l, 3.8 μg /kg이라는 結果를 얻었다. 김치에서는 새우젓을 添加한 것 한개에서 痕跡量을 보이었다. 또한 工場에서 製造하여 市販되는 김치에는 새우젓만을 添加하였기 때문에 一般家庭에서 멸치젓 (製造源: 工場2)을 添加하여 製造된 김치를 分析한 結果, N-nitrosamine은 檢出되지 않았다. 食堂自體에서 製造熟成시킨 대구젓을 使用하여 담그어진 김치에서는 NDMA의 含量이 痕跡에서 13.4 μg /kg을 보이고 있어 Sakai와 Tanimura (1971b)가 報告한 NDMA의 癌誘發量인 2000~3000 μg /kg에는 훨씬 못 미친다 하나, 製造方法에 따라 生成量에 많은 差異를 보이고 있음을 알 수 있다.

2. 酸性條件에서 亞窒酸소-다 添加한 試料中 N-nitrosamine의 含量

Table 2. Contents of N-nitrosamine in sauces and kimchi before and after nitrosation ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Sample	Before nitrosation			After nitrosation			Source
	NDMA	NDEA	NDBA	MDBA	NDMA	MDBA	
Damsel-fish sauce 1	ND	ND	ND	157	ND	ND	market 1
Damsel-fish sauce 2	ND	ND	ND	362	ND	ND	market 2
Shrimp sauce 1	ND	ND	ND	58.3	ND	ND	factory 1
Shrimp sauce 2	3.8	ND	ND	9,050	ND	ND	factory 2
Shrimp sauce 3	3.4	ND	ND	12,629	ND	ND	factory 3
Anchovy sauce 1	ND	ND	ND	16.2	ND	ND	factory 1
Anchovy sauce 2	ND	ND	ND	28.1	ND	ND	factory 1
Anchovy sauce 3	ND	ND	ND	24.3	ND	ND	factory 1
Anchovy sauce 4	ND	ND	ND	64.3	ND	ND	factory 2
Kimchi+shrimp sauce 1	Tr.	ND	ND	82.6	ND	ND	factory 1
Kimchi+shrimp sauce 2	ND	ND	ND	79.3	ND	ND	factory 2
Kimchi+shrimp sauce 3	ND	ND	ND	34.4	ND	ND	home
Kimchi+cod sauce 1	13.4	ND	ND	67.1	ND	ND	restaurant
Kimchi+cod sauce 2	Tr.	ND	ND	33.5	ND	ND	restaurant
Kimchi+cod sauce 3	0.5	ND	ND	-	-	-	restaurant

NDMA: N-nitrosodimethylamine, NDEA: N-nitrosodiethylamine.
NDBA: N-nitrosodibutylamine, Tr.: Trace, ND: Non detected.

우리들은 健康을 維持하기 위해서 恒常 野菜를 많이 먹어야하는데, 이 野菜類中에는 많은 量의 亞窒酸鹽이 含有되어 있고 이들은 調理·加工中에 亞窒酸鹽으로 變한다 (Hamano 1976). 食習慣上 우리 國民이나 日本人들은 亞窒酸鹽이 많은 食品을 恒常 먹게되어 WHO/FAO가 定한 ADI(Acceptable Daily Intake)인 $3.7\text{mg}/\text{kg}$ ($218\text{mg}/60\text{kg}$)보다 많은 量인 $267\sim 422\text{mg}/60\text{kg}$ 을 攝取한다고 한다. 따라서 唾液中의 亞窒酸鹽은 美國人($6\sim 10\text{mg}/\text{kg}$)이나 獨逸人보다 많은 $5\sim 56\text{mg}/\text{kg}$ 을 나타낸다고 한다 (Ishiwata 등 1975a). 그외에 음료수나 畜肉加工 製品을 통해서도 亞窒酸鹽은 體內로 流入되고 있다. 한편 正常人의 胃液의 pH는 1~4이므로, amine類가 많이 含有된 醱酵食品을 먹었을 때에 胃內에서 N-nitrosamine의 生成可能性을 생각할 수 있다. 그래서 醱酵食品에 亞窒酸소-다를 添加하였을 경우에는 Table 2에서와 같이 NDMA만이 많은 量 生成되었다.

새우젓에서는 製造源이 工場1의 試料에서 $58.5\mu\text{g}$

$/\text{kg}$ 인데 비하여 工場2의 製品은 $9,000\sim 13,000\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 높은 값을 나타내고 있고, 멀치젓인 경우에도 製造源에 따라서 $16\sim 25\mu\text{g}/\text{kg}$, $65\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 큰 差異를 나타내고 있다. 김치에서는 $33\sim 83\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 Kim 등(1985)이 報告한 結果와 대체로 一致한 값을 나타내고 있으나 멀치젓 試料에서는 큰 차이를 보이고 있어, 試料의 醱酵狀態와 熟成程度에 따라 時時刻刻 그 含量이 變하는 DMA의 量에 基因한다고 생각된다. 이것은 Pyeun 등(1976), Chung과 Lee(1972), Kim 등(1984)의 報告에서 멀치젓, 새우젓, 김치의 製造過程中에는 그들의 熟成期間에 따라서 amine類의 含量이 커다란 變化를 가져온다는 報告와 잘 부합된다.

결과적으로 자리젓, 새우젓, 멀치젓, 김치와 같은 醱酵食品에는 亞窒酸소-다 添加 前後를 통하여 NDEA와 NDBA는 生成되지 않고 NDMA만이 生成可能性을 보이는데, 이 또한 醱酵食品 熟成條件이 N-nitrosamine 生成 可能性에 커다란 要因으로 나타나며, 더욱 究明하여야 할 課題이다.

3. 試料中 NDMA의 同定確認 結果

N-nitrosamine中 NDMA, NDEA, NDBA의 標準物과 試料와의 GC-TEA에 의한 gas chromatogram의 比較同定한 結果는 Fig. 2와 같이 예시

하였다 (멸치젓4의 試料에서). Nitroso化 시킨 試料溶液(A. N.)에서만, 標準物質 NDMA의 retention time과 一致하는 peak가 나왔으며, 이를 確認하기 위하여 抽出된 試料의 溶液에 NDMA의 標準物質 適當量을 添加 (A. N. +NDMA)한 것의 gas chromatogram은 標準物質의 retention time과 잘 일치하

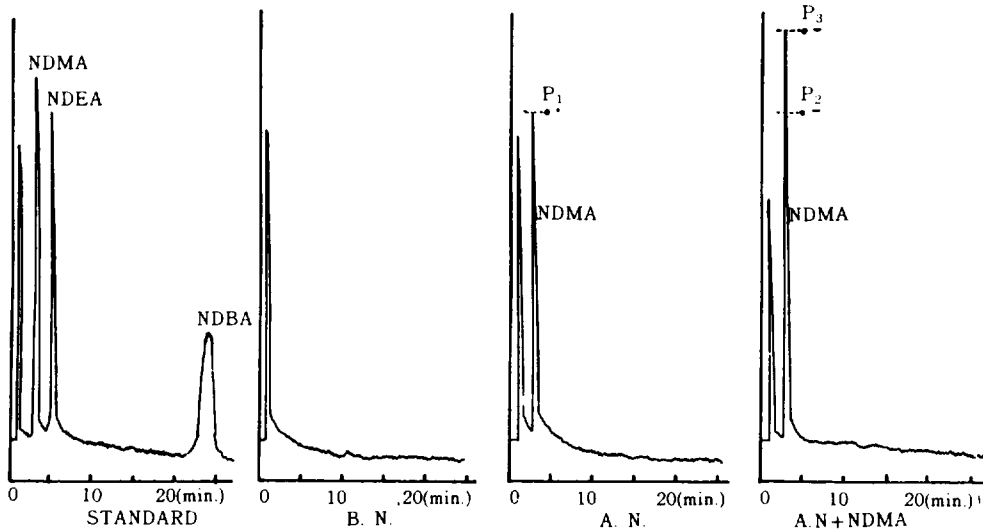


Figure 2. Gas chromatograms of standard and N-nitrosamine in anchovy sauce with Gas-chromatograph Thermal Energy Analyser.

B. N. : before nitrosation of anchovy sauce. A. N. : after nitrosation of anchovy sauce.

는 곳의 peak가 P₁점과 같은 높이인 P₂점보다도 높은 P₃지점까지 상승하여 이들은 同一物質로 判斷되었다. 또한 紫外線 照射한 試料에서는 peak가 나타나지 않아서 亞窒酸소-다를 處理한 試料에서 나타난 peak는 NDMA임을 確認할 수 있었다.

摘 要

우리나라 主要 醱酵食品인 멸치젓, 새우젓, 자리젓, 김치 中에 N-nitrosamine의 生成可能性을 檢討하기 위하여 市販 製品을 對象으로 定量分析한 結果를 要約하면 다음과 같다.

모든 試料에서 NDEA와 NDBA는 檢出되지 않았고, NDMA만이 몇개의 試料에서 微量 檢出되었지만, 이는 食品衛生上 크게 問題될 만한 값은 아니었

다.

飲食店에서, 대구 요리 後 非可食部分을 利用製造한 것갈을 添加한 김치에서 NDMA가 13.4 μg/kg을 나타내는 試料가 한개 있었다.

酸性 條件인 pH3에서 亞窒酸소-다를 添加한 試料들에서도 NDEA와 NDBA는 生成되지 않았고, NDMA만이 많은 量 生成함을 보였으며, 특히 새우젓에서는 試料에 따라서 58.3 μg/kg인 것과 9000~13,000 μg/kg의 매우 높은 값을 갖는 것이 있어 더욱 究明되어야 하겠다.

같은 種類의 醱酵食品이라 할지라도 生産地에 따라 含量에 큰 差異를 나타내었으며, 이것으로 미루어보아 製品의 醱酵狀態, 熟成期間等 製造條件이 N-nitrosamine의 生成可能性에 主要한 要因이 된다고 생각된다.

參 考 文 獻

- Chung, S. Y., E. H. Lee, 1976. The taste compounds of fermented *Scetes Chinensis*. *Bull. Korean fish. Soc.*, 9; 79-110.
- Ender, F., G. Harve, A. Helgebostad, N. Koppang, R. Madsen, L. Ceh, 1964. Isolation and Identification of Hepatotoxic Factor in Herring Meat Produced from Sodium Nitrite Preserved herring. *Naturwiss.*, 51; 637-638.
- Hamano, M., 1976. Nitrite content and Nitrosamine formation with special referane to the storage and cooking of Vegetables with fish and selfish. *Journal of Tokyo Medical college*, 34 (4); 635-657.
- Harvery, D. C., T. Fazio, J. W. Howard, In "Environmental Aspects of N-Nitroso Compounds"; International Agency for Research on Cancer, Lyon, 1978; IARC Scientific Publication No. 19, pp. 1-52.
- Hata, A., 1979. Studies on nitrate and nitrite horticultural products. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 26; 403-415.
- Hotchkiss, J. H., J. F. Libbey, J. F. Barbour, R. a. Scanlan, In "N-nitroso Compounds: Anaysis, Formation and Occurrence", Walker, E. A., Griciute, L., Castegnaro, M., Borzsony, M.; International Agency for Research on Cancer, Lyon, 1980; IARC Scientific Publicaion No. 31, pp. 361-373.
- Ishiwata, H., P. Boriboom, Y. Nakamura, M. Harada, A. Tanimura, M. Ishidate, 1975a. Changes of nitrite and nitrate concentration in Human saliva. after ingestion of vegetables or sodium nitrate. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 16; 19-24.
- Ishiwata, H., A. Tanimura, M. Ishidate, 1975b. In vitro and in vivo formation of dimethylnitrosamine by bacteria isolate from human saliva. *J. Food Hyg. Soc.*, 16(4) 234-239.
- Kawamura, T., K. Sakai, F. Myazawa, H. Wada, Y. Ito, A. Tanimura, 1971. Studies on nitrosamines in food(IV). *J. Food Hyg. Soc.*, 16; 192-197.
- Kim, S. H., E. H. Lee, T. Kawabata, T. Ishibashi, T. Emdo, M. Matsui, 1984. Possibility of N-nitrosamine formation during Fermentation of Kimchi. *J. Korean Soc. food Nutr.*, 13(3); 291-306.
- Kim, S. H., J. S. Wishnok, S. R. Tannenbaum, 1985. formation of N-nitrosodimethylamine in Korean seafood sauce. *J. Agric. Food Chem.* 22; 17-19.
- Magee, P. N., M. Vandekar, 1957. The metabolism of dimethylnitrosamine in vitro. *Toxic liver injury*, 70; 600-605.
- Mage, P. N., 1956. The Production of malignant primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethylnitrosamine. *Br. J. Cancer*, 10; 114-122.
- Magee, P. N., 1971. Toxicity of Nitrosamines: Their Possible human health hazards. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, 9; 207-218.
- Maruyama, S., K. Muramatsu, S. Shimizu, S. Maki, 1976. Reduction of nitrate with bacillus coagulans in human saliva. *J. food Hyg. Soc.*, 17; 1, 19-26.
- Marquardt, H. F. Rufino, J. H. Weisburger, 1977. On ther aetiology of gastric cancer Mutagenicity of Food Extracts after incubation with nitrite. *Food Cosmet. Toxicol.* 15; 97-100.
- Mirvish, S. S., 1970. Kinetic of DMA nitrosation in relation to nitrosamine carcinogenesis. *J. Nat. Canser Inst.*, 44; 633-639.
- Muramatsu, K., S. Maruyama, S. Nishizawa, 1979. Nitrate-reducing bacterial Flora and Its ability to reduce nitrate in human saliva. *J. Food Hyg.*

- Soc.*, 20: 2, 106-114.
- Pyeun, J. H., B. Y. Jeung, K. S. Hwang, 1976. Formation of dimethylamine in the course of anchovy fermentation with salt. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 9: 223-231.
- Sakai, A., A. Tanimura, 1971 a. In vitro and in vivo formation of dimethylnitrosamine. *J. food Hyg. Soc.*, 12(3): 170-176.
- Sakai, A., A. Tanimura, 1971 b. Nitrosamines detected in foods. *J. Food Hyg. Soc.*, 12: 485-488.
- Tannenbaum, S. R., A. J. Sinsky, M. Weisman, W. Bishop, 1967. Nitrite in human saliva. Its possible relationship to nitrosamine formation. *J. Nat. Cancer. Inst.*, 53: 78-82.
- Tokunaga, T., 1980. Biochemical and scientific study on trimethylamine oxide and its related substance in marine fishes. *Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab.*, 101: 1-129.