

오징어젓 숙성 중 제4급 암모늄 화합물의 변화

김 성 수* · 오 창 경** · 오 명 철** · 송 대 진*** · 김 수 현***

The Changes in Quarternary Ammonium Compounds during the Fermentation of Squid, *Sepiell maindroni*

Sung-Soo Kim*, Chang-Kyung Oh**, Myung-Cheol Oh**,
Dae-Jin Song*** and Soo-Hyun Kim***

ABSTRACT

The changes in precursors of N-nitrosamines, such as choline-N, betaine-N and total creatinine-N, during the fermentation of high salt-fermented squid, *Sepiell maindroni*, group with 20% of salt and low salt-fermented squid group with 10% of salt, 6% of ethanol, 6% of sorbitol and 0.5% of lactic acid were investigated. During the fermentation, the contents of VBN were rapidly increased from the beginning of the fermentation until 140 days, and these contents were more in high salt groups as compared with low salt groups. The contents of choline-N were little changed until 80 days of the fermentation and slowly decreased after 80 days of the fermentation to 120 days, but the different of the contents between both salt groups were little. Betaine-N also showed the similar tendency to choline-N, but the changes in low salt groups were slowly increased and decreased as compared with these in high salt group. Total creatinine-N was slowly increased from the beginning of the fermentation until 60 days in both salt groups, but rapidly decreased after this to 120 day.

Key words : N-Nitrosamines, Choline-N, Betaine-N, Total creatinine-N, Salt-fermented squid

-
- * 제주오리엔탈호텔
Cheju Oriental Hotel
 - ** 제주대학교 대학원
Graduate School, Cheju Nat'l Univ
 - *** 제주대학교 식품공학과
Dept. of Food Sci. and Technol., Cheju Nat'l Univ.

1. 서 론

인류 보건위생상 커다란 문제로 대두되고 있는 발암물질인 N-nitrosamine에 대한 관심은 최근 더욱 고조되고 있다. 이들 N-nitrosamine

은 종류가 매우 많고 대부분이 발암성을 나타내며 ppb수준의 낮은 농도에서도 암을 유발하는 것으로 알려져 있다.^(1,3) 더욱이 이러한 *N*-nitrosamine은 환경에서 쉽게 생성될 수 있을 뿐만 아니라 인류의 식생활과 밀접하게 관련되는 어류와 육가공품, 주류, 건조식품 및 발효식품과 같은 많은 식품에 존재하고 또는 제조과정에서 생성될 가능성이 연구자들에 의해서 보고되고 있다.^(4,12)

Choline과 acetylcholine은 산성조건에서 제3급 아민인 2-dimethylaminoethanol과 그의 acetate 유도체 등으로 분해되고 다시 제2급 아민으로 분해되어 NDMA를 생성할 수 있다.⁽¹³⁾ Betaine은 trimethylamine oxide(TMAO)와 함께 오징어육의 단맛을 내는 중요한 역할을 하며 그 함량도 매우 높으며,⁽¹⁴⁾ 연체류와 갑각류 등의 근육 중에도 그 함량이 많다.⁽¹⁵⁾ Betaine은 유리 choline으로부터 생성되어 제3급 아민과 기타 저급 화합물로 분해된 후 아질산염과 반응하여 *N*-nitrosamine을 생성할 수 있다.⁽¹⁶⁾ Creatinine은 여러 반추동물의 근육 내에 존재하고 있는 화합물인 creatine 대사의 최종산물로서 creatine과 함께 근육조직과 혈액 등에서 발견되고 있다.⁽¹⁷⁾ 이들 creatine 및 creatinine은 *N*-carboxyl-*N*-methylglycine을 거쳐 탈메틸화되어 *N*-methylglycine으로 된 후 아질산염과 반응하여 쥐 등에서 식도암을 유발하는 *N*-nitrososarcosine을 형성할 수 있고⁽¹³⁾, 또한 creatinine의 분해산물이 아질산염과 공존했을 때 *N*-nitrosodimethylamine(NDMA) 및 기타 *N*-nitrosamines을 생성할 수 있다.⁽¹⁸⁾

따라서 본 연구는 저식염 오징어젓과 고식염 오징어젓을 제조하여 *N*-nitrosamines의 전구물질인 choline-*N*, betaine-*N*, total creatinine-*N*의 변화를 분석하여 식품위생학적으로 *N*-nitrosamine과의 관계를 검토하였다.

II. 재료 및 방법

2.1 실험재료

2.1.1 실험재료

제주도 근해에서 어획한 신선한 오징어 (*Sepiell maindroni*, 체중 1.0~1.3kg, 체장 25~30cm)를 제주시 수협공판장에서 구입한 후, 즉시 실험실로 옮겨 실험재료로 하였다.

2.1.2 시료의 조제

시료는 먼저 오징어의 내장과 비가식부를 제거한 후, 0.3×4cm의 크기로 잘라서 한 구는 채취식 방법에 따라서 식염 20%를 첨가하였고 다른 한 구는 식염 10%, 젓산 0.5%, sorbitol 6%, ethyl alcohol 6%를 첨가하여 젓갈을 담그어 1/들이 유리병에 넣어 상온(17℃~21℃), 암소에서 숙성시키면서 20일 주기로 임의로 1병씩을 꺼내어 혼합마쇄한 것을 분석용 시료로 사용하였다.

2.2 실험방법

2.2.1 휘발성염기질소(VBN)

Conway unit를 사용하는 미량확산법⁽¹⁹⁾으로 정량하였다.

2.2.2 Choline-*N* 및 Betaine-*N*의 정량

Choline-*N*는 佐藤와 福山⁽²⁰⁾의 방법에 따라서 정량하였으며, betaine Konosu와 Kasai⁽²¹⁾의 방법에 따라서 정량하였다.

2.2.3 총 creatinine-*N*(creatine-*N* + creatinine-*N*)의 정량

Sato와 Fukuyama⁽²²⁾의 방법에 따라 실험하였다.

III. 결과 및 고찰

3.1 휘발성염기질소(VBN)의 변화

오징어젓 숙성 중 VBN의 변화는 Fig. 1에 나타내었다. 숙성기간 중 오징어젓 생시료의 VBN은 12.6mg%이었으나 숙성이 진행됨에 따라 식염 20 및 10%구 모두에서 급격히 증가하는 경향을 보여 숙성 60일에는 10%구는 40.9mg%, 20%구는 45.5mg%로써 생시료에 비하여 약 4~4.5배 증가하였으며 그 이후에는 양 구 모두 다소 완만히 증가하는 경향을 보였다. 전체적으로

는 20%구가 10%구보다 증가폭이 컸으며 숙성 140일에는 20%구가 71.0mg%로 생시료보다 5.6배, 10%구는 58.5mg%로 4.6배 증가하였다.

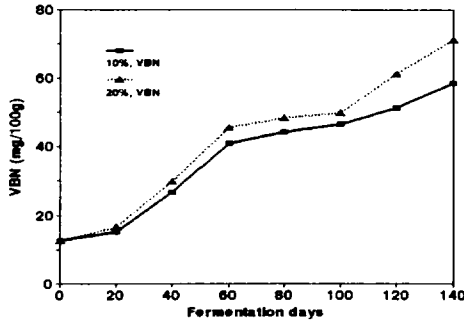


Fig. 1 Changes of VBN during the fermentation of salted squid (moisture and salt free basis).

VBN은 멸치젓,⁽²³⁾ 새우젓⁽²⁴⁾ 및 오징어 염신 숙성⁽²⁵⁾ 중에 지속적으로 증가하는 것으로 알려지고 있는데, 뽕⁽²⁶⁾은 분말 가쓰오부시의 제조 및 풍미성분에 관한 연구에서 VBN의 급격한 증가는 자숙 및 훈연처리 중 육성분과 TMAO 등이 분해되어 암모니아, trimethylamine(TMA), dimethylamine(DMA) 등의 휘발성 염기가 생성되기 때문이라 하였다.

3.2 Betaine-N의 변화

오징어 염장 숙성 중 betaine-N의 변화는 Fig. 2에 나타내었다.

Betaine-N 함량 변화는 숙성 60일까지는 식염 10%구와 20%구 모두에서 완만한 증가를 보였는데, 이때 20%구는 133.1mg%, 10%구는 126.4mg%로써 최고치를 나타내었다. 그러나 숙성 80일 이후부터는 다시 감소하여 140일에는 생시료의 양보다 낮은 값으로 20%구가 116.2mg%, 10%구가 118.2mg%였으며, 전반적으로 10%구가 20%구보다 다소 완만하게 증감하는 경향을 나타내었다.

Lee⁽¹⁴⁾는 betaine이 TMAO와 함께 오징어육의 단맛을 내는데 중요한 역할을 하며 그 함량

도 매우 높다 하였으며, 清水와 遠藤⁽¹⁵⁾는 연체류와 갑각류 등의 근육중에 betaine이 많다 하였고, Konosu와 Kasai⁽²¹⁾는 4종의 수산동물의 betaine질소를 분석하여 오징어에는 68.3mg%, 문어에는 98.2mg%, 대합에는 96.8mg%, 닭새우에는 76.5mg% 등으로 많은 양이 존재한다고 하였다. 그리고 遠藤⁽²⁷⁾는 6종의 오징어육의 betaine 질소를 분석하여 대부분이 100mg% 전후라 하였는데 이와 본 연구 결과가 잘 일치하고 있다.

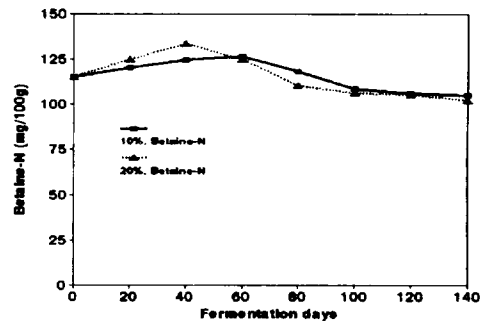


Fig. 2 Changes in betaine-N during the fermentation of salted squid (moisture and salt free basis).

새우젓의 정미성분에 관한 연구에서 새우젓 숙성 중 betaine 질소는 숙성과 더불어 점차 증가하다가 완숙기 이후에는 다시 감소한다.⁽²⁴⁾ 成⁽²⁸⁾은 굴비의 가공 저장 중에 betaine 질소가 완만하게 증가한다고 하였는데, 이러한 현상에 대하여 Johnston 등⁽²⁹⁾은 가공 중 choline의 산화에 의한 것으로 설명하고 있으며, Bilinski⁽³⁰⁾도 betaine을 생합성하는 데는 choline이 좋은 전구 물질이라 하였다.

본 연구에서 오징어젓 중에는 다른 어패류와 비교해서 betaine-N 함량이 매우 높았는데, 이 betaine이 제3급 및 제2급 아민의 생성모체가 되는 동시에 N-nitrosamine의 직접적인 전구물질이 될 수 있다는 보고들로 미루어 볼 때, 오징어젓에서 N-nitrosamine의 생성은 물론 숙성 중 TMAO, TMA, DMA 등의 아민류의 변화에

도 큰 영향을 미칠 것으로 생각된다.

3.3 Choline-N의 변화

오징어 염장 숙성 중 choline-N의 변화는 Fig. 3에 나타내었다.

Choline 질소는 생시료 13.7mg%에서 식염 10%구와 20%구 모두에서 숙성 20일 경과시에 약간 증가하였고 그후 숙성 80일까지 거의 변화가 없었으나 80일 이후 숙성 120일까지 다시 감소하였으며 숙성 120일부터 140일에는 거의 같은 양으로 변화가 없었으나, 전반적으로 생시료와 숙성 시료의 함량간에는 별 차이가 없었다.

成⁽²⁸⁾은 굴비의 가공 및 저장중 인지질은 계속해서 감소하고 choline 및 betaine은 증가한다고 하였으며, Johnston 등⁽²⁹⁾과 Ishibashi 등⁽¹⁶⁾은 인지질이 choline으로 분해되고 이것이 다시 betaine으로 산화된 후 다시 제3급 아민 및 기타 저급 화합물로 분해될 것이라고 추정하였는데, 본 실험에서 숙성이 감소하는 것도 앞의 보고와 같이 betaine으로의 산화가 진행된 듯하다. 그러나 본 연구에서 감소율로 보아 숙성 중 choline 함량은 betaine 함량에는 큰 영향은 미치지 못한 듯하다.

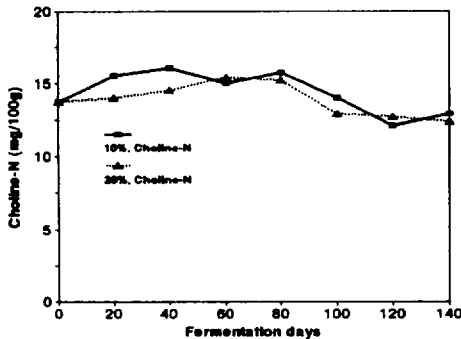


Fig. 3 Changes in choline-N during the fermentation of salted squid (moisture and salt free basis).

3.4 총 creatinine-N의 변화

오징어 염장 숙성 중 총 creatinine-N의 변화는 Fig. 4에 나타내었다.

총 creatinine 질소는 생시료 1.25mg%에서 10%구와 20%구 모두가 숙성이 진행됨에 따라서 완만하게 증가하여 숙성 60일경에 20%구가 1.5mg%, 10%구가 1.49mg%로 최고치에 도달한 이후 숙성 120일까지 급격히 감소하여 20%구가 0.75mg%, 10%구가 0.73mg%로 감소하였다.

Creatinine은 척추동물의 근육중에 다량으로 존재하는 creatine 대사산물로써 이들은 아질산염과 반응하여 N-nitrososacosine을 형성할 수 있고,⁽¹³⁾ 또한 creatinine의 분해 생성물이 아질산염과 반응하여 N-nitrosamine을 생성할 수 있다.⁽¹⁸⁾ Lee⁽¹⁴⁾는 갈고등어와 고등어 생시료의 creatinine-N가 건물량 기준으로 각각 314.2와 330.8mg%였으며 건조 중에 큰 변화는 없었다고 하였다. 그리고 成⁽²⁸⁾은 참조기육 중에 creatinine질소가 건물량 기준으로 50.2mg%이었으며, 가공 및 저장 중 전체적으로 감소한다고 하였다. 金과 甝⁽³¹⁾는 고등어 염장 저장 중 생시료에서 55.3mg%이었던 것이 저장 40일째에 최고치를 나타낸 후 서서히 감소한다고 하였다. 오징어젓에서는 이들에 비해 매우 적은 값이었다.

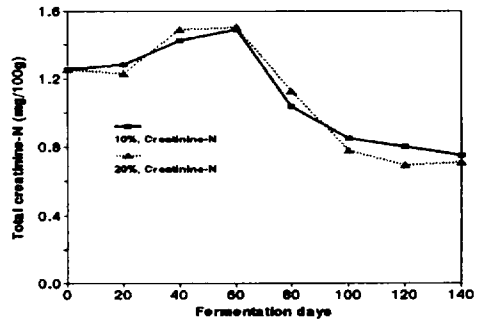


Fig. 4 Changes in total creatinine-N during the fermentation of salted squid (moisture and salt free basis).

IV. 요약

본 연구는 오징어에 식염 20%를 첨가하는 고

식염구와 식염 10%에 솔비톨, 에탄올, 젖산 등을 첨가한 저식염구로 나누어 오징어젓을 제조한 후, 이들을 숙성시키면서 VBN과 N-nitrosamine의 전구물질인 betaine-N, choline-N 및 총 creatinine-N의 함량 변화를 검토하였다.

오징어젓 발효 중 VBN의 변화는 발효 초기부터 140일까지 급격히 증가하였으며 고식염구가 저식염구에 비하여 함량이 높았다. Choline-N의 함량은 숙성 80일까지는 거의 변화가 없었으며 숙성 80일부터 120일 사이에 서서히 감소하였으나, 양 식염구간의 함량차이는 거의 없었다. Betaine-N도 또한 choline-N과 비슷한 경향을 보였는데, 저식염구에서의 함량 변화가 고식염구에서에 비하여 증감폭이 낮았다. 총 creatinine-N은 숙성 초부터 60일까지 양 식염구에서 서서히 증가하였으나 이 이후부터 120일까지 급격히 증가하였다.

참고문헌

- Magee, P.N. and J.M. Barnes, 1967, Carcinogenic nitroso compounds. *Aud. Cancer Res.*, 10, 163~246.
- Fong, Y. Y. and E. O. Walsh, 1971, Carcinogenic nitrosamine in Cantonese salt-treated fish. *The Lancet*, 2, 1032.
- Hildrum, K.I., J.L. Williams and R.A. Scanlan, 1976, Effect of sodium concentration on the nitrosation of proline at different pH levels. *J. Agric. Food Chem.*, 23 : 439~422.
- Fazio, T., J.N. Howard, R.H. White and J.O. Watts, 1971, Gas chromatographic determination and mass spectrometer confirmation of N-nitrosodimethylamine in smoke processed marine fish. *J. Agric. Food Chem.*, 19(2), 250~253.
- Crosby, N.T., J.K. Foreman, J.F. Palframan and R. Sawuer, 1972, Estimation of steam-volatile N-nitrosamines in foods at the $1\mu\text{g}/\text{kg}$ level. *Nature*, 238, 342~343.
- Goff, E.U. and D.H. Fine, 1979, Analysis of volatile N-nitrosamines in alcoholic beverages. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, 17, 569~573.
- Sen, N.P., 1972, The evidence for the presence of dimethylnitrosamine in meat products. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, 10, 219~223.
- Sen, N.P., B.Donaldson, J.R. Iyengar and T. Panelaks, 1973, Nitrosopyrrolidine and dimethylnitrosamine in bacon. *Nature*, 41, 473~474.
- Sen, N.P., S.Seaman, K.Karpinsky, 1984, Determination of N-nitrosodimethylamine in nonfat dry milk : Collaborative study. *J. AOAC*, 67(2), 232~236.
- Panalaks, T., Iyengar, J. R., Donaldson, B.A., Miles, W.F. and N.P. Sen, 1974, Further survey of cured meat products for volatile N-nitrosamines. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 57, 806~812.
- Pensabene, J.W., Fiddler, W., Gates, R.A., Fagan, J.C. and A.E. Wasserman, 1974, Effect of frying and cooking conditions on nitrosopyrrolidine formation in Bacon. *J. Food Sci.*, 39, 314~316.
- 成洛珠, 梁漢喆, 李周燾, 1982, 醃酵食品中 N-Nitrosamine에 관한 研究. 第1報 市販젓갈 中の N-Nitrosamine. *慶尙大論文集(理工系篇)*, 21(2), 145~150.
- Fiddler, W., J.W. Pensabene, R.C. Doerr and A.E. Wassermann, 1972, Formation N-nitrosodimethylamine from naturally occurring quaternary ammonium compounds and tertiary amines. *Nature*, 236, 307.
- Lee, E.H., 1968, A study on taste compounds in certain dehydrated sea foods. *Bull. Pusan Fish. Coll.*, 8(1), 21~44.

15. 清水 亘, 遠藤金次, 1956, 水産動物肉に關する研究 - XXIV. 遊離ベタインの定量法. 日本誌., 22(7), 413~416.
16. Ishibashi, T., T. Kawabata and M. Matsui, 1984, Nitrosation of some asymmetric tertiary amine and quaternary ammonium compounds with nitrite or nitrogen dioxide gas. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 50(8), 1425~1429.
17. Archer, M.C., S.D. Clark, J.E. Thilly and S.R. Tannenbaum, 1971, Environmental nitroso compounds : Reaction of nitrite with creatine and creatinine. *Science*, 174, 1341~1343.
18. Drukery, H., R. Preussermann, S. Ivankovis and D. Schmahl, 1967, Organotrope carcinogene wirkungen bei 65 verschiedenen N-notrosoverbindungen an BD-Ratten. *Z. Krebsforsch.*, 69, 103~201.
19. 日本厚生省編, 1960, 食品衛生検査指針(1). 揮發性鹽基窒素. pp. 30~32.
20. 佐藤徳郎, 福山副太郎, 1958, 生化學領域における光電比色法(各論 2). 南江堂, 東京, pp 102~108.
21. Konosu, S. and E. Kasai, 1961, Muscle extracts of aquatic animals-III : On the method for determination of betaine and its content of some marine animals. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 27(2), 194~198.
22. Sato, T. and F. Fukuyama, 1957, *Electrophotometry*, 34, pp. 269~272.
23. Pyeun, J.H., B.Y. Jeoung and K.S. Hwang, 1976, Formation of dimethylamine in the course of anchovy fermentation with salt. *Bull. Korean Fish Soc.*, 9, 223~231.
24. 鄭承鏞, 李應昊, 1976, 새우젓의 呈味成分에 관한 研究. 韓水誌., 9(2), 223~231.
25. 森一 雄, 山本泰男, 赤羽義章, 大藪末知, 1972, 肉製品の鹽漬に關する研究. 日本水産學會誌., 38, 1383~1389.
26. 吳光秀, 1987, 粉末 가쓰오부시의 製造 및 風味成分에 관한 研究. 釜産水産大學校, 博士學位論文.
27. 遠藤金次, 藤田眞夫, 清水亘, 1963, 水産動物肉に關する研究-XX. イカ肉中の遊離アミノ酸, トリメチルアミンオキサイドおよびバタインについて. 日本水産學會誌., 29, 366~370.
28. 成洛珠, 1985, 굴비 加工中 N-nitrosamine의 生成에 關한 研究. 高麗大學校, 博士學位論文.
29. Johnston, J.J., H.A. Ghanbari, W.B. Wheeler and J.R. Kirk, 1983, Lipid composition of brown shrimp. *J. Food Sci.*, 48, 33~36.
30. Bilinski, E, 1961, Biosynthesis of trimethylammonium compounds in aquatic animal II. Role of betaine in the formation of trimethylamine oxide by lobster, *Homarus americanus*. *J. Fish. Res. Bd. Canada*, 18(2), 285~286.
31. 金洙賢, 吳昌璟, 1993, 고등어 염장 중 N-nitrosamine 생성 및 전구물질들의 변화. 제주대학교논문집, 제36집, 309~320.