

당근즙(汁)중의 窒酸塩 및 亞窒酸鹽의 消長에 관한 연구

徐 弘 吉

啓明大學校 專門大學

The Change of Nitrites and Nitrates in Carrot Juice

Hong-Kyl Suh

Keimyong University

Abstract

The nitrite and nitrate levels of carrot juice at various temperature and periods were studied. The nitrite level of carrot juice at high temperature increased rapidly as the bacterial level increased. When carrot juice was held at 30°C, nitrite concentration began to decline after 14 hours, although there was no decrease in bacterial population. The nitrate level of carrot juice at high temperature decreased rapidly. The bacteria in carrot juice were supposed to reduce nitrates to nitrites. No increase in nitrite and no decrease in nitrate occurred when bacterial growth was prevented by holding the juice at 5°C or by adding potassium dehydroacetate.

序 言

窒酸鹽 및 亞窒酸鹽은 食肉製品의 發色劑로 첨가되는 외에 天然物 특히 야채등에 널리 함유되어 있다. 또 窒酸鹽은 飲料水 중에도 꽤 높은 농도로 함유되어 있는 경우도 있다. 亞窒酸鹽을 다량 섭취하면 hemoglobin이 산화되어 methemoglobin을 형성하여 methemoglobin症을 유발시키기도 하고, 惡心, 嘔吐등 cyanose症狀을 일으키는 것으로 알려져 있다.¹⁾

특히 乳兒는 胃酸이 적어 胃內에서 腸內細菌에 의해 窒酸鹽이 亞窒酸鹽으로 환원되므로^{2),3),4)}, 窒酸鹽을 많이 함유한 飲料水, 시금치, 당근즙등이 乳兒의 methemoglobin症(infantile methemoglobinemia)을 유발시킨 예도 있다.⁵⁾

또 亞窒酸鹽은 食品中の 第2級 amine과 反應하여

發癌성이 있는 nitrosamine類를 生成하는 것으로 보고되고 있다.^{6),7)}

그러나 최근 亞窒酸鹽 자체가 發癌作用이 있다는 것이 美國 FDA에 의해 밝혀졌다.⁸⁾ 따라서 肉加工品에서의 亞窒酸鹽의 역할 즉 安定한 發色, flavor形成 및 細菌 특히 botulinus에 대한 증식억제⁹⁾ 등의 역할이 亞窒酸鹽의 발암위험성에 의해 상쇄되어 亞窒酸鹽을 식품 첨가물에서 제외시켜야 할 지경에 이르렀다. 그러나 亞窒酸鹽을 대신할만한 發色劑가 없고 食肉製品에 있어서 botulinus中毒의 치명율이 높으므로 發癌성과 비교해서 어느 것을 택일해야 하느냐는 곤경에 처해있다. 亞窒酸鹽은 비단 이러한 食肉製品에서 뿐 아니라 우리가 日常적으로 먹고 있는 야채에서도 섭취되고 있다. 야채는 토양 및 비료에서 由來하는 窒酸鹽을 다량 함유하고 있다.¹⁰⁾ 야채를 섭취하면 窒酸鹽이 体内에 흡

수된 다음 唾液腺을 통해 口腔內로 分泌되어 그 一部가 口腔內細菌에 의해 亞窒酸鹽으로 환원된다.⁸⁾ 따라서 亞窒酸鹽의 최대 공급원은 唾液이라고도 한다. 특히 乳兒에 있어서는 이외에도 胃內에서 환원작용이 크게 일어나 methemoglobinemia, cyanose 등을 일으킬 수 있다.

우리가 日常的으로 먹는 야채에 이러한 危害요인이 있는가를 살펴 볼 필요가 있고, 이 방면의 연구도 더러 있다. 그러나 최근 많이 飲用되고 있는 당근즙중의 窒酸鹽 및 亞窒酸鹽과 이들의 經時的 變化등을 위생학적인 측면에서 고찰한 것은 없으므로 본 실험을 행하였다.

材料 및 方法

1. 材料

1978년 10~11월 사이에, 가을당근으로 많이 재배되어 시판되고 있는 무게 150~200g의 中品 당근을 大邱市內 市場에서 신선한 것을 구입하여 사용했다.

2. 試料調製

당근의 껍질질을 대강 긁어내고 수세하여 당근에 2배의 물을 가해 blending하여 당근즙을 만들었다. 이 당근즙을 삼각후라스크에 넣어 마개하여 5°C, 10~15°C 및 30°C에서 20~36시간 보관하여 NO₂⁻-N, NO₃⁻-N 및 총세균수의 변화를 측정하였다. 따로 DHA 1%를 가해 비교 시험하였다.

3. 試藥¹⁰⁾ 및 장치

(1) NO₂⁻-N 표준용액

NaNO₂ 0.493g을 증류수에 녹여 1,000ml로 하여 stock solution으로 하고, 이 용액 10ml를 증류수로 희석하여 100ml로 한 다음, 이 용액 1ml를 (5)의 완충액으로 100ml로 만들었다. 이 용액은 사용직전 조제했으며 이 표준용액 1ml는 NO₂⁻-N 0.1μg을 함유한다.

(2) NO₃⁻-N 표준용액

KNO₃ 0.722g을 증류수에 녹여 1,000ml로 만들어 stock solution으로 하였다. 이 용액 1ml를 완충액으로 희석하여 100ml로 하여 표준용액을 조제하였다. 이 표준용액 1ml는 NO₃⁻-N 1.0μg을 함유한다.

(3) Sulfanilamide 용액

Sulfanilamide 0.2g을 묽은염산(1:1) 100ml에 녹인다. (4주간 안정하다).

(4) Naphthyl-ethylene diamine 용액

0.1g의 N-(1-naphthyl)-ethylene diamine을 증류수

100ml에 용해시켜 갈색병에 넣어 냉장고에 보관한다.

(5) Ammonium acetate 완충액

1%의 초산암모늄 용액을 10% 수산화암모늄 용액으로 pH 9.0으로 맞춘다.

(6) 단백질 침전제

2% uranyl acetate 용액과 10% 초산아연 용액을 같은량 혼합하여 조제한다.

(7) Cadmium column

황산카드뮴이나 염화카드뮴 50g을 물에 녹혀 250ml로 하고 여기에 붕산아연 60~70g을 침지시켜 4시간 방치한다. 苔狀으로 生成된 금속카드뮴을 취하여 수세한 후 물과 함께 homogenizer중에서 1분간 분쇄한다. 이것을 20mesh의 체로 쳐서 체상의 카드뮴을 다시 homogenizer중에서 분쇄한다. 체로 친 카드뮴을 모아서 경사해서 수세하고 미분상의 금속을 버린다. 다시 묽은 황산을 가하여 stirrer에서 1~2시간 교반한다. 교반을 정지시켜 관찰할 때 세밀한 기포가 발생하는 경우 10배량의 묽은황산을 다시 가하여 一夜 방치하고, 混在하는 아연을 제거한다. (아연이 混在치 않을 경우는 비교적 큰 기포가 서서히 발생한다). 이때 금속이 스폰지狀으로 되어 기포의 발생이 격렬한 경우는 不良品으로 사용 不適이다. 다음 묽은황산을 경사해 버리고 잘 수세하여 정제 금속 카드뮴을 얻는다.

이상의 全操作中 카드뮴은 공기와의 접촉해서는 안된다. 따로 물을 넣은 50ml 뷰렛밀에 약 1.0~1.5cm의 두께로 glass wool을 채우고 glass봉으로 다져 기포를 빼낸 다음 그 위에 海砂(20~30mesh)를 약 1cm 두께로 덮는다. 여기에 조제한 정제카드뮴을 약 10cm 높이로 채워서 column을 만든다. 사용전에 column은 0.1N-HCl 25ml로서 2회, 다음 증류수 25ml로서 2회 씻고 최후로 완충액 25ml로 씻는다. 카드뮴의 윗면은 언제나 液으로 덮여있고 공기에 노출되면 안된다. 여분의 카드뮴은 완충액중에서 공기를 차단한다.

(8) Spectrophotometer

島津分光光度計 UV 100-01을 사용하였다.

4. 定量方法

(1) 亞窒酸鹽의 定量

당근즙을 유발(mortar)로 갈아서 여과한 후 이 여액 10ml에 위의 침전제 2ml를 가해 다시 여과한 여액 10ml, 혹은 NO₂⁻-N 표준용액 10ml에 sulfanilamide 용액(SA) 1ml 및 naphthyl-ethylene diamine 용액(NEDA) 1ml를 가해 20분후 540nm에서 흡광도를 측정하였다. 空試驗은 시료용액 10ml와 SA 1ml 및 증류

수 1 ml의 혼합액의 흡광도로 하였다.

(2) 窒酸鹽의 定量

당근즙을 유발로 잘아서 여과하고 이 여액 5 ml 및 NO_3^- -N 표준용액 5 ml에 완충액 15ml을 가하였다. 이 때 용액이 혼탁하면 10% 수산화암모늄용액 몇방울을 가하여 투명하게 해서 사용하였다. 다음 카드뮴 column에 부어 넣고 유출액이 1분간 4~5ml 나오도록 조절한다. 유출이 끝나면 완충액 20ml로 2회 씻어 내린다.

column을 통과시킨 액을 50~100ml로 정확히 맞추어 이중 10ml에 SA 1 ml, NEDA 1 ml을 넣어 발색시켜 20분후에 540nm에서 흡광도를 측정했다. 이 값에서 NO_2^- -N ppm을 뺀 값을 NO_3^- -N ppm으로 하였다.

(3) 총세균수

Bacto nutrient agar를 써서 표준화천평판배양법으로 30°C에서 48시간 배양 후 집락수를 측정했다.

結果 및 考察

당근즙을 만든 직후와 이것을 삼각후라스크에 넣어 마개한 다음 5°, 10~15°, 30°C에 보관해서 8시간에서 22시간까지의 매 2시간 간격으로 NO_2^- -N을 측정 한 값은 표 1과 같다. 30°C에 보관한 당근즙의 NO_2^- -N농도는 8시간 후에 약 2 배로 증가했고, 10시간 후에는 약 17배, 14시간 후에는 14ppm으로 약 70배로 증가되어 최고치에 달했다. 그 이후에는 급격히 감소

되었다. 10~15°C에서는 10시간까지는 거의 증가 없으나 그 이후에는 완만히 증가하여 20시간 후에는 약 2 배로, 36시간후에는 약 6 배로 증가했다. 5°C에서는 36시간까지 거의 증가가 없고 68시간후에 측정해본 결과 1.32ppm으로 처음 농도의 약 6.5배에 달했다. 이와는 반대로 NO_3^- -N은 표 2에서 보는 바와 같이 시간이 경과함에 따라 감소되어 가고 있음을 알 수 있다.

표 2에서 보면 당근즙의 NO_3^- -N은 30°C에서 보관한 것은 처음부터 급격히 감소되어 처음의 18.5ppm에서 12시간후에는 약 반으로 줄어들었고, 14시간 이후에는 80% 이상의 NO_3^- -N이 소실되었다. 10~15°C에서는 완만하게 감소되어 36시간후에는 약 1/5이 감소되었다. 5°C에서는 극히 완만하게 감소되어 68시간 후에도 거의 조금 밖에 감소되지 않았다. 이것으로 보면 10~15°C 및 5°C에서는 NO_2^- -N 생성도 완만하게 증가한 반면 NO_3^- -N 감소도 완만했다. 30°C에서는 NO_2^- -N은 신속히 증가해서 14시간에서 극대가 된후 신속히 소실되고, NO_3^- -N감소도 신속하게 일어났다.

따라서 NO_2^- -N의 생성은 NO_3^- -N의 환원으로 야기되는데 이것은 당근즙중의 세균에 의해서 일어난다. 표 3에서 볼 수 있듯이 당근즙의 저장온도가 높으면 세균의 증식이 급격히 일어나서 이들 세균이 NO_2^- -N으로 환원시키기 때문이다.

표 3은 마개한 삼각후라스크에 보관한 당근즙의 5°C, 10~15°C, 30°C에서의 총세균수를 나타낸 것이다. 30°C에서 보관한 것은 총세균수가 10시간에 15배

Table 1. Nitrite-N concn(ppm) of carrot juice held at 5°C, 10-15°C and 30°C for various periods.

Temp. (°C)	Hours									
	0	8	10	12	14	16	18	20	22	36
5	0.21	0.25	0.20	0.30	0.18	0.33	0.21	0.24	0.27	0.25
10-15	0.21	0.23	0.22	0.25	0.35	0.35	0.41	0.52	0.61	1.13
30	0.21	0.56	3.51	4.20	14.12	13.50	10.01	7.91	4.52	0.86

Table 2. Nitrate-N concn(ppm) of carrot juice held at 5°C, 10-15°C and 30°C for various periods.

Temp. (°C)	Hours									
	0	8	10	12	14	16	18	20	22	36
5	18.50	18.52	18.71	17.54	18.01	17.52	19.21	18.00	17.55	18.01
10-15	18.50	18.40	18.32	17.40	18.21	16.78	17.11	17.91	16.34	15.20
30	18.50	17.20	12.41	8.74	3.15	3.65	2.83	2.71	1.03	0.51

Table 3. Bacterial population of carrot juice held at 5°, 10-15° and 30°C for various periods.

Temp. (°C)	Hours			
	0	10	15	20
5	1.7×10 ⁴	4.4×10 ⁴	6.5×10 ⁴	1.4×10 ⁵
10-15	1.7×10 ⁴	2.1×10 ⁴	9.2×10 ⁴	2.0×10 ⁵
30	1.7×10 ⁴	2.5×10 ⁵	4.1×10 ⁷	1.8×10 ⁹

로 증가하였고 20시간 후에는 10⁶배로 급격하게 증가하였다. 10~15°C 및 5°C에서 보관한 것은 20시간 후에 10~20배로 완만하게 증가하였다. 여기에 관여하는 세균은 혐기성 및 통성혐기성 세균이 아닌가 추측된다. 세균 및 식물은 NO₃⁻-N을 질소원으로 사용하여 NO₃⁻ $\xrightarrow{\text{nitrate reductase}}$ NO₂⁻ $\xrightarrow{\text{nitrite reductase}}$ NH₃로 환원시켜 이용하고 있다.¹¹⁾ 따라서 이들 세균이 당근즙에서 증식하므로서 NO₃⁻-N이 NO₂⁻-N으로 환원되는 단계에

서 NO₂⁻-N이 측정된 것이다. 이들 세균은 높은 온도에서 증식이 왕성해지므로 당근즙을 높은 실내온도에서 방치할 경우 NO₂⁻-N의 과다 섭취로 methemoglobin症, cyanose등의 장애를 야기할 수도 있겠다.

표 4는 당근즙에 DHA(potassium dehydroacetate)를 1% 첨가해서 5°C, 30°C에 보관했을 때의 NO₂⁻-N 함량 변화 및 세균농도를 25시간까지 측정된 값이다. 5°C에서 보관한 당근즙은 DHA를 첨가했거나 하지 않았거나 상관없이 NO₂⁻-N 및 세균수의 증가가 별로 없으나 30°C에 보관한 것은 DHA를 첨가하지 않은 것은 NO₂⁻-N 및 세균농도가 급격한 증가를 보여 NO₂⁻-N은 14시간후에 17.5ppm으로 처음의 92배, 세균수는 24시간후에 5.3×10⁵배의 증가를 보였으나 DHA를 첨가한 것은 거의 증가가 없었다. 여기에서도 세균 농도증가가 NO₂⁻-N 생성에 밀접한 관계가 있음을 알 수 있다. 그러므로 당근즙을 만들어 보관하려면 즉시 냉각하여 낮은 온도(5°C정도)에서 보관해야 할 것이며 저장시간을 오래 해서는 안될 것이다.

Table 4. Nitrite N concn(ppm) and bacterial population of carrot juice held at 5°, 10-15° and 30°C with and without 1.0% potassium dehydroacetate(DHA)

Temp. (°C)	DHA	Hours					Bacterial cells per ml at 24 hours
		0	10	14	20	25	
5	+	0.19	0.23	0.20	0.19	0.21	1.2×10 ⁵
	-	0.19	0.17	0.21	0.25	0.21	4.5×10 ⁵
30	+	0.19	0.25	0.21	0.19	0.23	6.1×10 ⁵
	-	0.19	5.61	17.51	0.34	2.13	9.0×10 ⁹

要 約

日常的으로 많이 飲用하는 당근즙의 窒酸鹽 및 亞窒酸鹽의 含量 및 이 당근즙을 여러가지 온도 및 시간동안 보관할 때의 변화를 관찰하였다.

1. 1978년 10~11월의 가을 당근의 亞窒酸鹽 含量은 약 0.75ppm, 窒酸鹽은 약 54.9ppm이었다 (당근즙으로서 NO₂⁻-N 0.25ppm, NO₃⁻-N 18.3ppm).

2. 당근즙을 만들어 보관할 때 높은 온도에 보관할수록 亞窒酸鹽의 含量은 신속히 증가되어 30°C에서는 14시간 후에 14.1ppm으로 극대치를 나타내고 그 전 후에 급격한 증가와 급격한 감소를 보였다.

3. 당근즙의 窒酸鹽含量은 亞窒酸鹽의 생성과는 반대로 높은 온도일수록 신속히 감소되었다. 30°C에서 14시간 후에는 약 1/6로 감소되었다.

4. 이러한 亞窒酸鹽의 생성과 窒酸鹽의 감소는 당근즙중의 세균의 증식과 일치하였고 이들 세균이 NO₃⁻-N을 NO₂⁻-N으로 환원시킴을 알 수 있었다.

5. 당근즙에 DHA를 1% 가하여, 세균의 증식을 억제시킨 결과 높은 온도에서도 亞窒酸鹽의 생성은 거의 없었다.

6. 따라서 당근즙을 만들어 보관해야 할 경우는 즉시 냉각시켜 낮은 온도(5°C정도)에서 보관해야 할 것이며, 저장시간을 오래 해서는 안될 것으로 생각된다.

文 献

- 1) 井上良則：食品中の硝酸鹽，亞硝酸鹽に関する衛生學的研究，第1報 ハム，ソーセージ及ホウレン草の硝酸鹽，亞硝酸鹽の含量について，廣島大醫學雜誌，20(10, 11, 12)，341~346, 1972.
- 2) 同上：第2報 硝酸鹽，亞硝酸鹽によるメトヘモグロビンの生成 について，*ibid*, 20(10, 11, 12), 347~351, 1972.
- 3) 林長男 等：硝酸ナトリウム投與サルの唾液血液中における硝酸おとび 亞硝酸 イオンの消長ならびに 口腔内 微生物叢 について，日食衛誌 19(4), 392~400, 1978.
- 4) 丸山節子 等：ヒト唾液および 唾液由來の *Bacillus coagulase* による 硝酸鹽の還元，日食衛誌，17(1)，19~26, 1976.
- 5) Kreating, J. P. *et al*: Infantile methemoglobinemia caused by carrot juice, *New Eng. J. Med.*, 288, 825~826, 1973.
- 6) 酒井綾子，谷村顯雄：日食衛誌，12, 170, 1971.
- 7) 慶田雅洋：*ibid*, 10, 59, 1969.
- 8) 中央日報，8月 13日 1978.
- 9) 谷村顯雄：總説，衛生化學領域における N-ニトロリ化合物，日衛生化學，22(5)，245~253 1976.
- 10) H. Ishiwata *et al*: Studies on vivoformation of nitroso compound(I), *J. Food Hyg. Soc. Japan*, 16(1), 11~17, 1975.
- 11) Roger, Y. Steiner *et al*: *The Microbial World* p.195, Prentice-Hall, Inc., 1976.