

식품중 Nitrosamine 관련물질의 함량과 시험관내에서 NDMA의 생성조건

김병태 · 김두희

경북대학교 보건대학원

Contents of Nitrosamine Related Compounds in Some Foods and Condition for NDMA Formation in Vitro

Byung-Tae Kim and Doo-hie Kim

Graduate School of Public Health, Kyungpook National University

Abstract

This study was carried out to investigate contents of nitrosamine precursors such as nitrite and dimethylamine(DMA) in some foods. The diazo and Cu-dithiocarbamate method were used for determination, respectively. The major affecting factors of N-nitrosodimethylamine(NDMA) formation such as pH, contents of DMA and NaNO₂, other chemicals, and UV-ray in beverage were investigated in vitro.

The contents of nitrite in meat sausage and meat ham were 6.44~18.66ppm and 12.85~39.95ppm, respectively. And extremely low level was detected in a certain kind of fish sausage. The contents of DMA in meat sausage, meat ham and fish sausage were 3.34~15.85ppm, 1.20~7.10ppm and 7.38~12.28ppm, respectively.

The optimum pH for NDMA formation in vitro was 3.0. NDMA formation was rapidly occurred at high temperature and formed above 80% within 1 hour reaction.

The formation of NDMA was increased in proportion to the concentration of DMA and the square of the nitrite concentration. 0.1M of sodium citrate, sodium tartarate and sodium thiocyanate enhanced NDMA formation. But sodium chloride did not affect. However, 0.3M of ascorbic acid, erythrobic acid, ascorbyl palmitate and propyl gallate inhibited NDMA forma-

tion approximately 78%, 81%, 86% and 85%, respectively.

Cow milk and soybean milk inhibited 35~47% of NDMA formation but orange juice and apple juice enhanced 15~64% of NDMA formation.

The peak in HPLC for NDMA disappeared by irradiation of UV to prior formed NDMA. This result suggest that NDMA was destroyed by UV irradiation.

I. 서 론

식품공업의 발전과 더불어 우리의 식생활이 질적인 향상은 물론, 더욱 간편해지고 있는 반면 식품의 가공, 저장, 조리 등으로 인하여 생성되거나 인위적으로 가해지는 각종 첨가물들이 때로는 우리의 건강을 위협하는 요소로 작용하고 있다. 근래 식품가공에 있어 관심사중의 하나는 발암물질(carcinogen)의 생성을 억제하는 것이며, 그중에서도 특히 강력한 발암성을 지닌 nitrosamine의 생성을 억제하려는 노력에 관심이 증가되고 있다(김수현 등, 1990). Nitrosamine은 아질산염과 제 2급 amine의 반응으로 생성되는 강력한 발암성 물질로서(Mirvish, 1970; Magee, 1971; Sen, 1979), 1957년 노르웨이에서 아질산나트륨을 첨가하여 제조한 청어의 어분을 가축에 먹인 후 급성 간장해를 일으켜 대량 치사한 사건이 발생하였으며, 그후 Ender등(1964)에 의하여 원인물질이 N-nitrosodimethylamine(NDMA)임이 밝혀졌다.

Nitrosamine은 종류가 많고, 대부분 발암성과 돌연변이원성을 갖는 것으로 보고되어 있고, 표적장기로는 간, 신장, 식도, 폐 및 위 등에 종양을 일으킬 수 있는 것으로 알려져 있다(Sen, 1979). 이들의 생성은 강산성 조건에서 활발하게 이루어지며, NDMA의 경우 생성 최

적 pH가 3.4로 사람 위액의 pH가 1~4인 점을 고려하면 nitrosamine 전구물질을 섭취할 경우 위내에서 생성될 가능성이 높다(Mirvish, 1970; Magee, 1971). Nitrosamine의 전구물질인 아질산염은 야채등의 농산물과 사람의 타액과 음료수 등에 광범위하게 존재하고 있으며(문범수 등, 1973; 임창국 등, 1974; 윤형식 등, 1982; 정규찬 등, 1986), 육류 또는 그 가공품의 발색과 *Clostridium botulinum*을 억제할 목적으로 식품첨가물로 사용되고 있다(White, 1975). 또한 질산염이 질산 환원세균에 의하여 아질산염으로 환원되기도 한다(Phillips, 1968; 정규찬 등, 1986). 아질산염은 혈색소를 산화하여 methemoglobin을 생성하여 유아에게는 생명을 위협하는 경우가 보고되어 있으며, 각종 amine류와 반응하여 발암성의 N-nitroso 화합물을 생성하므로 건강을 위협하는 요소로 작용하고 있다(Wilson, 1949). 한편 dimethylamine(DMA)은 신선한 식품에서는 함량이 낮거나 거의 검출되지 않으나 식품이 변질되면 DMA나 TMA와 같은 amine류의 함량이 증가된다. 식품에서의 DMA의 함량은 부패세균의 증식으로 생성이 촉진되는 것으로 알려져 있으며, 어류에 있어서는 신선도 판정의 중요한 지표로 이용되고 있다(Tomiyasu와 Zentani, 1957). 식품에서의 DMA 함량은 해산어류가 2~70ppm(문범

수 등, 1976; 양희천 등, 1979), 어류가공품이 5~30ppm(김수현 등, 1990), 육류나 육가공품이 0.1~5ppm(George와 William, 1976)으로 보고되어 있다.

Nitrosamine에 관한 연구는 선진국에서는 상당히 많이 이루어졌으며, 식육 및 어육가공품, 담배 등의 nitrosamine 함량에 관한 연구(Joseph 등, 1976; Nrisinha 등, 1979; Klaus 등, 1985; Joseph 등, 1985; William 등, 1986)와, nitrosamine의 생성 조건과 생성 억제물질에 관한 연구(Keki 등, 1974; Tsutao와 Kiyomi, 1979; Tasutao 등, 1980; Masamichi와 Toshiharu, 1981; Mohammad와 Phillip, 1985; Nrishinha 등, 1985; Sotirios, 1987), 그리고 분석법의 개발에 관한 연구(Teruhisa 등, 1978; Charles 등, 1978; Charles와 Keki, 1979; James와 Oswald, 1980; Nrisinha와 Stephen, 1982; Stanley 등, 1988)가 주를 이루고 있다.

최근 우리나라에서도 주류(김준환 등, 1990), 젓갈류(김수현 등, 1990), 간장(권태영, 1983; 김미성 등, 1985), 김치류(김제국 등, 1984) 등 미생물이 관여하는 발효식품에서의 nitrosamine 함량에 관한 연구가 보고되어 있다.

일반적으로 식품중의 nitrosamine의 검출량은 ppb수준의 극미량으로 알려져 있으며 이의 정량을 위해서는 GC, HPLC 등의 감도가 높은 분석 기기가 사용되어야 하므로 식품중의 함량 조사에는 제약を 받고 있다.

따라서 본 연구는 nitrosamine의 생성 가능성이 높은 일부 식육가공품과 어육가공품에 대하여 NDMA의 전구물질인 아질산염과 DMA의 함량을 측정하여 식품내의 NDMA

생성 가능성과 위내에서의 생성 가능성을 조사하고, 시험관내에서 NDMA의 생성에 관여하는 pH와 온도, 전구물질의 농도, 각종 화학물질과 일부 액체식품 그리고 자외선 照射의 영향을 조사하여 다소의 성적을 얻었기에 보고하는 바이다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

아질산염 및 DMA의 분석을 위한 시료는 대구시내 D백화점에서 식육소세지 15개, 식육햄 15개와 어육소세지 15개를 임의로 구입하여 사용하였고, 시험관내에서 NDMA 생성 실험을 위한 시료로 우유는 S사, 두유는 J사, 오렌지쥬스와 사과쥬스는 L사의 100% 무가당 제품을 시중 슈퍼마켓에서 구입하여 사용하였다.

2. 실험방법

(1) 아질산염의 정량

아질산염의 정량은 naphthylethylenediamine에 의한 diazo화법(보건사회부, 1992)에 따라 행하였다.

즉, 세절한 시료 10g을 정확하게 달아 80°C의 물을 적당량 가하여 혼합한 후 약 150ml로 하고 여기에 0.5M-NaOH 용액 10ml, 12% 황산아연용액 10ml를 넣어 흔들어 섞은 후, 80°C 항온수조에서 20분간 가열하였다. 그 다음 냉각하여 초산암모늄 완충액(pH 9.1) 20ml와 증류수를 가하여 200ml로 하고 잘 혼합한 후 10분간 방치하고 여과하여 시험용액으로 사용하였다.

시험용액 20ml에 0.5% 설파닐아미드용액

1ml와 0.12% 나프칠에칠렌디아민용액 1ml를 가하고 증류수로 25ml까지 채운 후 20분간 발색시켜 540nm에서 흡광도를 측정하여 아질산염 표준용액으로 작성한 검량선으로부터 NO_2^- -N를 정량하였다.

(2) DMA의 정량

DMA의 정량은 Dyer 등(1952)의 방법에 준하여 Cu-dithiocarbamate법으로 정량하였다.

즉, 시료 30~50g을 homogenizer로 마쇄한 후 5g을 취하여 20% 과염소산 10ml를 가하여 혼합하고 증류수로 씻어 50ml로 한 후 실온에서 30분간 방치하여 여과한 후 시험용액으로 하였다.

시험용액 5ml에 5% 2황화탄소벤젠용액 10ml와 동 암모니아시액 1ml를 가하여 혼합하고 50°C 항온수조에서 2분간 반응시킨 후 1분 30초간 진탕 추출하였다. 여기에 30% 초산 1ml를 가하여 30초간 진탕시키고 실온에서 10분간 방치한 후 벤젠층을 취하여 무수황산나트륨(Na_2SO_4) 0.5g을 가하여 탈수하고 440nm에서 흡광도를 측정하여 DMA 표준용액으로 작성한 검량선으로부터 DMA-N을 정량하였다.

(3) 시험관내에서 NDMA 생성실험

pH와 온도에 따른 반응성 : NDMA 생성의 전구물질인 DMA와 NaNO_2 의 반응에 미치는 pH의 영향을 조사하기 위하여 DMA 0.1M과 NaNO_2 0.5M을 함유한 반응액을 HCl로 pH 1.0~7.0으로 조절하여 36°C에서 3시간 동안 반응시킨 후 NDMA의 생성량을 조사하였으며, NDMA의 생성에 미치는 반응온도의 영향을 조사하기 위해서는 pH 3.0으로 조절한 반

응액에 DMA, 0.1M과 NaNO_2 0.5M을 가하고 6°C, 16°C, 26°C 및 36°C에서 1~4시간 동안 반응시킨 후 NDMA의 생성량을 조사하였다.

DMA와 NaNO_2 농도에 따른 반응성 : NaNO_2 0.5M을 함유한 pH 3.0의 반응액에 DMA를 0.02M에서 0.16M까지 첨가하여 36°C에서 3시간 동안 반응시킨 후 DMA의 농도에 따른 NDMA의 생성량을 조사하였으며, NaNO_2 농도의 영향을 조사하기 위해서는 DMA 0.1M을 함유한 pH 3.0의 반응액에 NaNO_2 를 0.1M에서 0.8M까지 첨가하여 36°C에서 3시간 동안 반응시킨 후 NDMA의 생성량을 조사하였다.

각종 화학물질의 첨가에 의한 반응성 : NDMA의 생성에 미치는 각종 화학물질의 영향을 조사하기 위하여 pH를 3.0으로 조절한 반응액에 DMA 0.1M과 NaNO_2 0.5M을 가한 후 sodium citrate, sodium chloride, sodium thiocyanate, sodium tartrate, ascorbic acid, erythrobic acid, ascorbyl palmitate 및 propyl gallate를 각각 0.1M 첨가하여 36°C에서 3시간 동안 반응시킨 후 NDA의 생성량을 조사하였으며, 그중 저해작용이 있는 물질은 저해제 농도를 각각 0.05M에서 0.3M까지 첨가하여 저해제의 농도에 따른 영향을 조사하였다.

액체식품내에서의 반응성 : 일부 액체식품이 NDMA의 생성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 우유, 두유, 오렌지쥬스, 사과쥬스를 pH 3.0으로 조절한 후 DMA 10mM과 NaNO_2 50mM을 가하여 36°C에서 3시간동안 반응시킨 후 NDMA의 생성량을 조사하였다.

(4) NDMA에 대한 자외선의 영향

자외선 照射가 생성된 NDMA에 미치는 영

향을 알아보기 위하여 pH를 3.0으로 조절한 반응액에 DMA 10mM과 NaNO₂ 50mM을 가하여 36°C에서 3시간동안 반응시켜 NDMA를 생성시키고 이 액을 20분간 자외선 (253.7nm)으로 照射한 후 NDMA의 분해정도를 관찰하였다.

(5) NDMA의 정량

상기의 방법으로 반응시킨 반응액에 10N-NaOH 50ml를 가하고 dichloromethane 25ml로 2회 추출하여 무수황산나트륨으로 탈수한 후 적당히 희석하여 Table 1과 같은 조건에서 HPLC로 분석하였으며, NDMA 표준품(Sigma사, 미국)의 peak area와 비교하여 정량하였다.

Table 1. Operating condition of HPLC for analysis of NDMA

Instrument	Waters Associates(USA)
Detector	UV 254nm
Column	μ -Bondapak C ₁₈
Mobile phase	H ₂ O : CH ₃ CN(95 : 5) (containing 0.2% H ₂ HPO ₄)
Flow rate	1.0ml/min.
Chart speed	0.5cm/min.
Attenuation	128
Injection size	10 μ l

III. 성 적

1. 식품중 아질산염의 함량

유통중인 식육소세지, 식육햄 및 어육소세지 45개 시료를 대상으로 아질산염 함량을 분석한 결과는 Table 2와 같다.

식육소세지에는 6.44~18.66ppm(평균 10.

Table 2. Content of nitrite in meat and fish products(ppm)

Sample No.	Meat Sausage	Meat Ham	Fish Sausage
1	6.85	27.39	0.31
2	7.35	39.95	ND
3	6.44	33.15	0.24
4	14.50	34.96	0.18
5	15.15	31.83	0.13
6	15.37	20.79	ND
7	8.70	12.85	ND
8	18.66	18.74	0.26
9	7.20	28.72	ND
10	7.15	23.15	0.15
11	6.71	28.28	0.12
12	13.28	32.54	ND
13	9.74	17.71	ND
14	12.51	25.26	0.19
15	10.35	30.14	0.27
Mean \pm SD	10.66 \pm 3.82	27.03 \pm 7.06	0.12 \pm 0.11

ND : Not detected

66ppm), 식육햄에는 12.85~39.95ppm(평균 27.03ppm)으로 식육햄의 아질산염 함량이 높았으며, 어육소세지에는 일부 시료에서 미량만 검출되었다.

2. 식품중 DMA의 함량

유통중인 식육소세지, 식육햄 및 어육소세지 45개 시료를 대상으로 DMA의 함량을 분석한 결과는 Table 3과 같다.

식육소세지에는 3.34~15.85(평균 6.96ppm), 식육햄에는 1.20~7.10ppm(평균 3.54ppm), 어육소세지는 7.38~12.28ppm(평균 10.05ppm)으로 어육소세지에서 DMA함량이 높게 나타났다.

한편 본 실험에 사용한 식육소세지, 식육햄 및 어육소세지의 아질산염과 DMA의 평균 함량은 Fig. 1에 나타내었다.

Table 3. Content of DMA in meat and fish products (ppm)

Sample No.	Meat Sausage	Meat Ham	Fish Sausage
1	14.16	5.41	11.80
2	7.47	3.86	7.38
3	15.85	7.10	10.15
4	6.57	2.85	8.62
5	5.28	3.76	9.25
6	3.34	4.12	8.12
7	5.24	2.35	10.37
8	3.93	1.20	12.28
9	4.63	3.16	9.36
10	4.27	2.32	10.65
11	4.52	2.35	9.65
12	7.96	4.12	11.32
13	5.83	3.92	12.05
14	7.15	2.74	10.28
15	8.20	3.85	9.45
Mean ± SD	6.96 ± 3.48	3.54 ± 1.37	10.05 ± 1.38

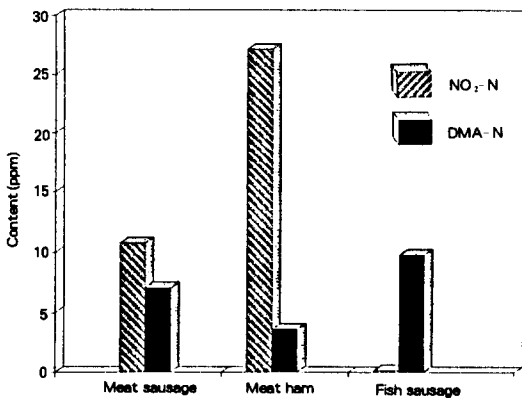


Fig. 1. Average content of nitrite and DMA in sample

3. 시험관내에서 NDMA의 생성조건

(1) pH의 영향

NDMA의 생성에 미치는 반응 pH의 영향을 조사하기 위하여 DMA 0.1M과 NaNO₂ 0.5M을 함유한 반응액을 pH 1.0~7.0으로 조절한 후 36°C에서 3시간 동안 반응시킨 결과는 Fig. 2와 같다.

NDMA는 강산성 조건인 pH 1.0~3.0에서 생성이 활발하였으며, pH 3.0이 NDMA생성의 최적조건이었다. 반면 중성 부근인 pH 6.0~7.0에서는 NDMA의 생성이 급격히 감소하여 pH가 NDMA생성에 관여하는 중요한 인자임을 알 수 있었다.

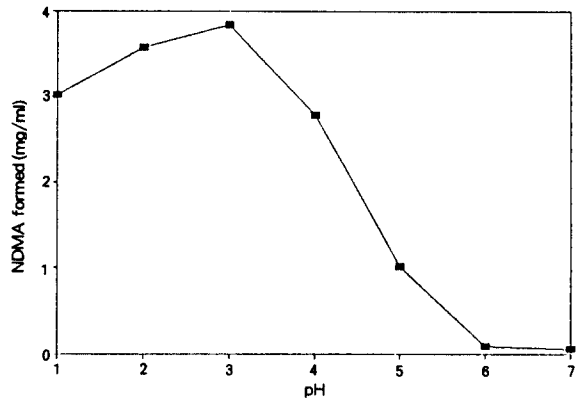


Fig. 2. Effect of pH on NDMA formation

(2) 온도와 시간의 영향

NDMA의 생성에 미치는 반응온도와 시간의 영향을 조사하기 위하여 0.1M DMA와 0.5M NaNO₂을 함유한 반응액을 pH 3.0으로 조절한 후 6°C, 16°C, 26°C 및 36°C에서 1시간에서 4시간동안 반응시킨 결과는 Fig. 3과 같다.

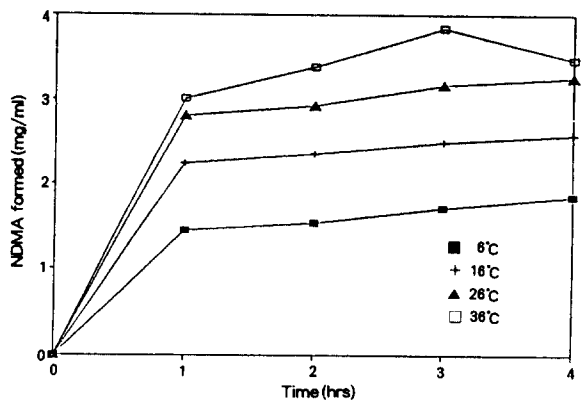


Fig. 3. Effect of temperature and incubation time on NDMA formation

반응온도가 높아질수록 NDMA의 생성량은 증가하였으며, 반응 1시간 이내에 80% 이상의 NDMA가 생성되어 반응조건이 적당할 경우 단시간내에 생성됨을 알 수 있었다.

(3) 아질산염과 DMA 농도의 영향

NDMA의 생성에 미치는 NaNO_2 와 DMA 농도의 영향을 조사한 결과는 Fig. 4와 Fig. 5에 나타내었다.

NaNO_2 의 농도를 0.1M에서 0.8M까지 증가시켰을 때 0.6M까지는 NaNO_2 농도의 제곱에 비례하여 NDMA의 생성량이 증가하였고, DMA의 농도를 0.02M에서 0.16M까지 증가

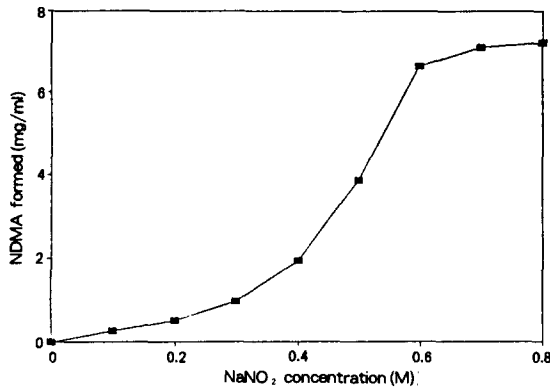


Fig. 4. Effect of NaNO_2 concentration on NDMA formation

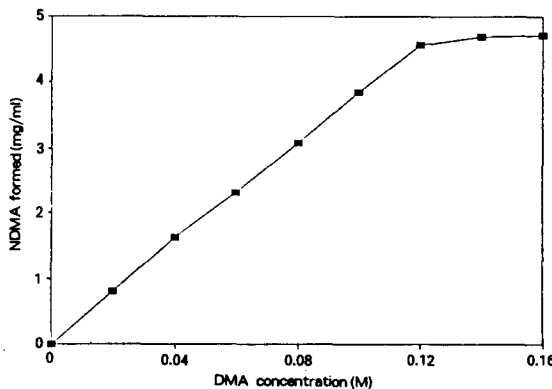


Fig. 5. Effect of DMA concentration on NDMA formation

시킬 경우에는 0.12M까지는 DMA의 농도에 비례하여 증가하였다.

(4) 각종 화학물질의 영향

0.1M DMA와 0.5M의 NaNO_2 을 함유한 pH 3.0의 반응액에 각종 화학물질을 0.1M 첨가하여 NDMA 생성량을 조사한 결과는 Table 4와 같다.

Table 4. Effect of chemical agents on NDMA fomation

Chemicals	NDMA formed(mg/ml)	Relative %
Control	3.84	100.0
Ascorbic acid	2.19	57.0
Erythobic acid	2.04	53.1
Ascorbyl plamitate	1.46	38.0
Propyl gallate	1.38	35.9
Sodium chloride	3.92	102.1
Sodium tratrte	5.48	142.7
Sodium citrate	6.20	161.5
Sodium thiocyanate	4.65	121.1

Sodium chloride는 NDMA 생성에 영향을 미치지 않았으나 sodiumcitrate, sodium tartrate 및 sodium thiocyanate는 NDMA 생성을 21~62% 정도 증가시켰다. 그러나 ascorbic acid와 erythobic acid는 NDMA생성을 43~47% 정도 저해하였고, ascorbyl palmitate와 propyl gallate는 62~64% 정도 저해하였다.

저해제의 농도에 의한 영향을 조사하기 위하여 저해제의 농도를 0.05M에서 0.3M 첨가하여 NDMA의 생성 저해율을 조사한 결과는 Fig. 6과 같다. 저해제의 농도가 증가함에 따라 NDMA의 생성도 감소하였으며, 0.3M 첨가시 ascorbic acid는 78%, erythobic acid는

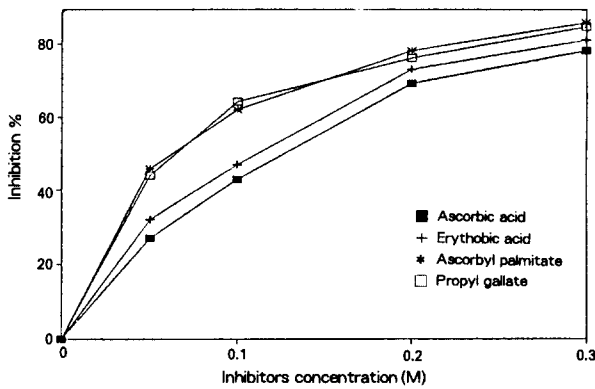


Fig. 6. Effect of inhibitor concentration on NDMA formation

81%, ascorbyl palmitate는 86% 그리고 propyl gallate는 85% 정도 저해효과를 나타내었다.

(5) 액체식품의 영향

일부 액체식품이 NDMA의 생성에 미치는 영향을 조사하기 위하여 우유, 두유, 오렌지쥬스 및 사과쥬스를 pH 3.0으로 조절한 후 DMA 10mM과 NaNO₂ 50mM을 가하여 36 °C에서 3시간동안 반응시킨 후 NDMA의 생성량을 조사한 결과는 Table 5와 같다.

우유는 NDMA 생성을 35%, 두유는 47% 정도 저해하였다. 그러나 오렌지쥬스는 15%, 사과쥬스는 64% 정도 NDMA 생성을 증가시켰다.

Table 5. Effect of liquid foods on NDMA formation

Foods	NDMA formed(μg/ mg)	Relative %
Control	39.03	100.0
Cow milk	24.45	65.2
Soybean milk	20.69	53.0
Orange juice	44.75	114.7
Apple juice	63.86	163.6

4. 자외선 照射의 영향

자외선 照射가 생성된 NDMA에 미치는 영향을 조사하기 위하여 pH를 3.0으로 조절한 반응액에 DMA 10mM과 NaNO₂ 50mM을 가하여 36°C에서 3시간동안 반응시켜 NDMA를 생성시키고 자외선으로 20분간 照射한 후 HPLC로 NDMA의 peak를 관찰하였다.

Fig. 7에서 보는 바와 같이 자외선 照射에 의해서 NDMA의 HPLC peak가 사라지는 것으로 보아 자외선은 NDMA를 분해하는 것으로 추정되었다.

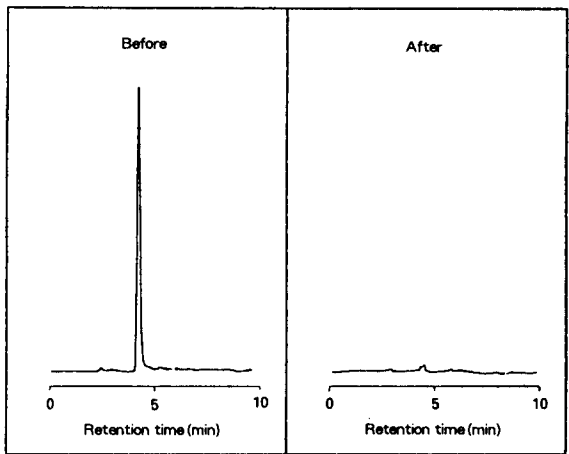


Fig. 7. HPLC chromatograms of NDMA before and after UV irradiation

IV. 고 찰

Nitrosamine은 아질산염과 제2급 아민이 반응하여 생성되는 강력한 발암물질로서 다양한 식품내에 존재하는 것으로 알려져 있으며, 식품을 통하여 전구물질을 섭취할 경우 위내의 산성 조건에서 생성될 가능성이 높다.

본 연구는 nitrosamine의 생성 가능성이 높은 일부 식육가공품과 어육가공품에 대하여

NDMA의 전구물질인 아질산염과 DMA의 함량을 측정하여 식품내의 NDMA생성 가능성과 위내에서의 생성 가능성을 조사하고, 시험관내에서 NDMA의 생성에 영향을 미치는 요인과 자외선 照射에 의한 NDMA의 분해효과를 관찰하였다.

식품내 아질산염의 함량은 식육소세지가 6.44~18.66ppm(평균 10.66ppm), 식육햄 12.85~39.95ppm(평균 27.03ppm)으로 식품첨가물로 아질산나트륨을 첨가한 것으로 판단되었고, 어육소세지는 검출되지 않거나 미량만이 검출되어 아질산나트륨을 사용하지 않은 것으로 생각되었다. 우리나라에서는 식품내 아질산염의 함량을 식육소세지 및 햄은 70ppm, 어육소세지는 50ppm 이하로 규제하고 있는데, 본 실험에 사용한 시료에서는 규제치 이상 검출된 시료는 없었다.

식품내 DMA의 함량은 식육소세지 3.34~15.89ppm(평균 6.96ppm), 식육햄 1.20~7.10ppm(평균 3.54ppm) 그리고 어육소세지 7.38~12.28ppm(평균 10.05ppm)으로 어육소세지와 새우 등 어패류를 함유한 식육소세지에 함량이 높았다.

문범수 등(1976)이 해산어류의 DMA의 함량이 2~70ppm이라는 보고보다는 낮았으나 임창국 등(1973)이 어류가공품에 5~20ppm 검출한 보고와는 유사하였다.

식품내의 NDMA의 함량을 조사하기 위하여 HPLC를 이용하여 분석을 시도하였으나 NDMA의 함량이 ppb 수준의 극미량으로서 정량을 하기에는 어려웠으며 상당수의 시료에서 흔적 정도의 NDMA가 검출된다는 사실만 확인하였다.

NDMA의 정확한 함량을 측정하기 위해서

는 보다 감도가 높은 GC등의 기기가 사용되어야 할 것으로 판단되었다.

Tanimura(1971)는 가축의 생체에서 DMA가 NDMA로 전환되는 최대 생성율이 1.1%라고 보고하였으며, 본 실험에 사용한 시료로부터 생성될 수 있는 NDMA의 추정량은 0.013~0.174ppm(평균 0.075ppm)이었다.

시험관내에서 NDMA의 생성은 강산성 조건에서 활발하였고 최적 pH는 3.0으로 인산 위내에서 생성될 가능성이 높았다. 한편 pH 6.0 이상에서는 NDMA의 생성이 급격히 감소하여 pH가 식품내에서 NDMA 생성을 억제하는 중요한 요인중의 하나로 생각되었다.

NDMA의 생성에 미치는 온도와 시간의 영향을 알아 본 결과, 온도는 높아질수록 생성량이 증가하였고, 반응 1시간 이내에 80% 이상의 NDMA가 생성되어 반응 조건이 적당할 경우 단시간 내에 생성됨을 알 수 있었으며, 사람이 섭취하는 음식물이 위내에 머무르는 시간이 대략 2~4시간인 점을 감안하면 NDMA 전구물질을 섭취할 경우 위내에서 충분히 생성될 것으로 판단되었다.

아질산염의 농도에 의한 NDMA의 생성량은 NaNO_2 농도의 제공에 비례하여 증가하였는데, 이는 Mirvish(1975)의 보고와 일치하였다.

한편 DMA의 농도에 의한 NDMA의 생성량은 일정 농도까지는 DMA의 농도에 비례적으로 증가하여 이 반응은 second order reaction을 따르는 것으로 생각되었다.

0.1M DMA와 0.5M NaNO_2 를 함유한 pH 3.0의 반응액에 일상 생활에서 접할 수 있는 각종 화학물질을 0.1M 첨가하여 NDMA의 생성량을 조사해 본 결과, sodium chloride는

별 영향을 미치지 않았으나, sodium thiocyanate, sodium tartrate, sodium citrate는 NDMA의 생성을 촉진시켰고, ascorbic acid, erythobic acid, ascorbyl palmitate, propyl gallate는 43~64% 정도 NDMA 생성을 저해하였다. Thiocyanate는 사람의 타액중에 존재하여 위내에서 nitrosation을 촉진시키는 것으로 보고되어 있으며(Boyland, 1972), 항산화성 물질인 ascorbic acid, erythobic acid, ascorbyl palmitate 및 propyl gallate는 NDMA의 생성을 저해하였으며, 이는 항산화성 물질이 경쟁적으로 아질산과 반응하기 때문인 것으로 생각되었다.

NDMA 생성을 저해하는 항산화성물질의 농도를 0.05M에서 0.3M까지 증가시켰을 때, NDMA의 생성은 점차 감소하였으며 0.3M 첨가시 ascorbic acid는 78%, erythobic acid는 81%, ascorbyl palmitate는 86%, propyl gallate는 85%의 저해효과를 나타내었는데 이는 Keki 등(1974)의 보고와 유사하였다.

NDMA의 생성에 미치는 일부 액체식품의 영향을 알아 본 결과, 우유는 약 35%, 두유는 약 47% 정도 NDMA의 생성을 저해하였다. 그러나 오렌지쥬스와 사과쥬스는 오히려 NDMA 생성을 촉진시켰다.

Nrshinha 등(1985)은 model system을 이용한 연구에서 오렌지쥬스와 사과쥬스는 NDMA생성을 거의 100% 저해하였다고 하였으나, 본 연구에서는 촉진하여 상반된 결과를 얻었다. 우유와 두유가 NDMA의 생성을 저해한 것은 식품내 존재하는 지방에 의한 영향으로 생각되며, 오렌지쥬스와 사과쥬스가 NDMA의 생성을 촉진한 것은 ascorbic acid에 의한 저해효과보다는 citric acid등 식품내

존재하는 유기산에 의한 촉진작용이 강하게 나타난 것으로 생각되나 이에 대한 명확한 원인은 앞으로 더 연구가 수행되어야 할 것으로 판단되었다.

이미 생성된 NDMA에 자외선을 照射시킨 후 HPLC로 분석해 본 결과, 자외선 照射에 의해 NDMA의 peak가 사라지므로 자외선에 의해 NDMA가 분해됨을 확인할 수 있었으며, 식품내 NDMA의 분석시 물질을 동정하는데 유용하게 활용할 수 있을 것으로 생각되었다.

V. 요약

본 연구는 일부 식품중에서 nitrosamine의 존재를 파악하기 위하여 그 전구물질인 아질산염과 DMA의 함량을 diaz화법과 Cu-dithiocarbamate법으로 정량하고, 시험관내에서는 NDMA의 생성에 영향을 미치는 여러 요인중 pH와 온도, DMA와 NaNO₂의 농도, 각종 화학물질의 첨가, 액체식품내에서의 반응성과 자외선의 영향에 대하여 조사한 것이다.

식품내 아질산염의 함량은 식육소세지 6.44~18.66ppm, 식육햄 12.85~39.95ppm이었다. 그러나 어육소세지는 일부 시료에서만 미량 검출되었다.

식품내 DMA 함량은 식육소세지 3.34~15.85ppm, 식육햄 1.20~7.10ppm 그리고 어육소세지 7.38~12.28ppm으로 어육소세지에 함량이 높았다.

시험관내에서 NDMA 생성의 최적 pH는 3.0이었고, 온도가 높아질수록 반응은 촉진되었으며, 반응 1시간 이내에 80% 이상 생성되었다. NDMA의 생성은 아질산염의 농도의 제곱에 비례하여 증가하였고, DMA 농도에는

비례적으로 증가하였다. 반응액내에 각종 화학물질을 0.1M 첨가하였을 때, sodium chloride는 영향을 미치지 않았으나 sodium citrate, sodium tartrate, sodium thiocyanate는 생성을 촉진하였고, ascorbic acid, erythobic acid, ascorbyl palmitate 및 propyl gallate는 NDMA 생성을 저해하였다. 저해제의 농도를 0.05M에서 0.3M 첨가하였을 때, 저해제의 농도가 증가함에 따라 NDMA 생성량은 감소하였으며, 0.3M 첨가시 ascorbic acid는 78%, erythobic acid는 81%, ascorbyl palmitate는 86% 그리고 propyl gallate는 85% 정도 저해효과를 나타내었다.

일부 액체식품내에서 반응은 우유와 두유는 NDMA의 생성을 35~47% 정도 저해하였다. 그러나 오렌지쥬스와 사과쥬스는 15~64% 정도 NDMA 생성을 증가시켰다.

이미 생성된 NDMA에 자외선을 照射시켜 HPLC로 분석한 결과 NDMA의 peak가 사라지는 것으로 미루어 자외선에 의해 NDMA가 분해됨을 확인하였다.

이상의 결과로 미루어 식품내에서 NDMA의 생성 가능성은 낮았으나, 식품을 통하여 전구물질을 섭취할 경우 위내에서 생성될 가능성은 매우 높았다.

참 고 문 헌

- 권태영 : 한국산 재래간장중 nitrosamine 관련물질에 관한 연구. 전북대학교 박사 학위 논문집, 1983
- 김미성, 고무석, 권태영 : 재래간장의 숙성 중 식염농도와 nitrite 함량에 따른 nitrosamine 관련물질의 변화. 한국영양식량학회지 1985; 14(4) : 329-338
- 김수현, 강순배, 이응호 : 자리젓중 N-nitrosamine 생성에 관한 연구. 한국영양식량학회지 1990; 19(1) : 65-72
- 김준환, 신효선, 감창수, 장영미, 손문기, 김상희, 유미자 : 식품중의 니트로소아민에 관한 연구-주류중의 니트로소아민 분석법-국립보건원보 1990; 27(2) : 425-430
- 김제국, 전세열, 이은숙 : HPLC에 의한 발효식품 및 절임야채류중의 nitrosamine 정량. 인간과학 1984; 8(3) : 122-129
- 문범수, 김복성, 김준환, 김문환, 장영주 : 식품중의 nitrosamine에 관한 연구(Ⅳ) (식품중의 dimethylamine 함량). 국립보건연구원보 1976; 13 : 257-259
- 문범수, 김복성, 이재관, 이상규 : 식품중의 nitrosamine에 관한 연구(제1보). 국립보건연구원보 1973; 10 : 277-283
- 보건사회부 : 식품공전. 일지문화사 1991, 쪽 133-134
- 양희천, 권태영 : 장류에 있어서 2급 amine의 형성. 한국식품과학회지 1979; 11 : 32-37
- 윤형식, 신대휴, 최재춘, 권중호 : 재배중 tomato 과실의 질산염 및 아질산염과 ascorbic acid의 함량 변화. 경북대 논문집(자연과학) 1982; 23 : 525-533
- 임창국, 윤명희, 권숙표 : 식품중의 N-nitrosamine에 관한 연구, 제1보, 일상식품중의 제2급 아민과 아질산염의 분포. 한국식품과학회지 1974; 6 : 169-175
- 정규찬, 김종협, 남경수 : Streptococcus uberis에 의한 질산염의 환원 및 dimet-

- hylnitrosamine의 생성에 관한 연구. 약학회지 1986; 30(1) : 8-13
13. Charles KC, Bharucha KR, Geoffrey MT : Determination of volatile N-nitrosamine in bacon cook-out fat by nitrite release and thin layer chromatography of fluorescent amine derivatives. J Agric Food Chem 1978; 26(3) : 657-660
 14. Dyer WJ, Dyer FE, Snow JM : Amines in fish muscle, V. Trimethylamineoxide estimation. J Fish Res Board Can 1952; 8 : 309-313
 15. Ender F, Harve G, Helgebostad A, Koppang N, Madsen R, Ceh L : Isolation and identification of hepatotoxic factor in herring meat produced from sodium nitrite preserved herring. Naturwiss 1964; 51 : 637-642
 16. George MS, William L : Naturally occurring nitrosatable compounds. I. Secondary amines in foodstuffs. J Agric Food Chem 1976; 24(3) : 550-553
 17. James LO, Oswald EK : An improved procedure for the determination of volatile N-nitrosamines in bacon grease by using the mineral oil distillation thermal energy analyzer method. J Agric Food Chem 1980; 28 : 1262-1264
 18. Joseph HH, Alex JV, Holly DR : N-nitrosamine formation in fried-out bacon fat, evidence for nitrosation by lipid-bound nitrite. J Agric Food Chem 1985; 33 : 5-8
 19. Joseph JW, Donald DB, Richard AS, Leonard ML : N-nitrosopyrrolidine collected as a volatile during heat-induced formation in nitrite-containing pork. J Agric Food Chem 1976; 24(4) : 892-894
 20. Keki RB, Charles KC, Leon JR : Long-chain acetals of ascorbic acid and erythobic acid as antinitrosamine agent for bacon. J Agric Food Chem 1974; 28 : 1274-1281
 21. Klaus DB, Lise G, Dietrich H : N-nitrosamine in chewing tobacco. An international comparison : J Agric Food Chem 1985; 33 : 1178-1181
 22. Magee PN : Toxicity of nitrosamines, Their possible human health hazards. Food Cosmet Toxicol 1971; 9 : 207-211
 23. Masamichi N, Toshiharu K : Effect of japanese green tea on nitrosamine formation in vitro. J Food Sci 1981; 46 : 306-307
 24. Mirvish SS : Kinetics of dimethylamine nitrosation in relation to nitrosamine carcinogenesis. J Natl Cancer Inst 1970; 44 : 633-639
 25. Mohammad SV, Phillip I : Nitrosation of phenol and 2,6-dimethoxyphenol and its effect on nitrosamine formation. J Agric Food Chem 1985; 33 : 428-433
 26. Nrishinha PS, Santosh CK, Stephen WS, Steven GC : Nitrosamines in baby bottle, nipples and pacifiers; Occurrence, migration and effect of infant

- formulas and fruit juice on in vitro formation of nitrosamines under simulated gastric conditions. *J Agric Food Chem* 1985; 33 : 428-433
27. Nrisinha PS, Stephen SS : A rapid liquid-liquid extraction cleanup method for the determination of volatile N-nitrosamines in cooked-out bacon fat. *J Agric Food Chem* 1982; 30 : 364-367
28. Nrisinha PS, Stephen SS, Walter FM : Volatile nitrosamine in various cured meat products; Effect of cooking and recent trends. *J Agric Food Chem* 1979; 27(6) : 1354-1357
29. Phillips WEJ : Change in the nitrate and nitrite content of fresh and processed spanish during storage. *J Agric Food Chem* 1968; 16 : 88-92
30. Sen NP : The safety of foods. 2nd ed., AVI Pub, USA, 1980, pp.319-339
31. Sotirios AK : Ascorbic acid and the formation of N-nitroso compounds; Possible role of ascorbic acid in cancer prevention, *Am J Clin Nutr* 1987; 45 : 1344-1350
32. Stanley MB, Billedeau JM, Harold CT : N-nitrosamine analysis in beer using thermal desorption injection coupled with GC-TEA. *J Food Sci* 1988; 53(6) : 1696-1706
33. Tasutao K, Kiyomi K, Sachiko F : Nitrite-reacting substance in japanese radish juice and their inhibition of nitrosamine formation. *J Agric Food Chem* 1980; 28 : 1265-1269
34. Teruhisa H, Tatsuya K, Syozo F : Application of HPLC for the determination of N-nitrosodialkylamines. *J Food Hygiene* 1978; 19(5) : 468-473
35. Tomiyasu Y, Zentani B : Spoilage of fish and its preservation by chemical agents. *Advance in Food Res* 1957; 7 : 41-48
36. White JW : Relative significance of dietary source of nitrate and nitrite. *J Agric Food Chem* 1975; 23 : 886-890
37. William GI, Gray JI, Arun KM, Alden MB, Albert MP, Michael AS : N-nitrosamine formation in fried bacon processed with liquid smoke preparations. *J Agric Food Chem* 1986; 34 : 980-985
38. Wilson JK : Nitrite in foods and its relation to health. *Agron J* 1949; 41 : 20-28