

김치 저장 중 N-Nitrosodimethylamine 생성에 배추 내 아질산염과 질산염 함량의 영향

강경훈¹ · 이수정² · 하은선² · 성낙주^{2,3} · 김정균¹ · 김성현⁴ · 김상현⁵ · 정미자⁶

¹경상대학교 해양식품공학과·해양산업연구소, ²경상대학교 식품영양학과

³경상대학교 기초과학연구소, ⁴세계김치연구소

⁵경상대학교 수의학과, ⁶광주대학교 식품영양학과

Effects of Nitrite and Nitrate Contents of Chinese Cabbage on Formation of N-Nitrosodimethylamine during Storage of Kimchi

Kyung Hun Kang¹, Soo-Jung Lee², Eun-Seon Ha², Nak-Ju Sung^{2,3}, Jeong Gyun Kim¹,
Sung Hyun Kim⁴, Sang-Hyun Kim⁵, and Mi Ja Chung⁶

¹Department of Seafood Science and Technology, Institute of Marine Industry,

²Department of Food Science and Nutrition, ³Research Institute of Natural Science,

and ⁵College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University

⁴World Institute of Kimchi

⁶Department of Food Science and Nutrition, Gwangju University

ABSTRACT Nitrite and dimethylamine (DMA) are the immediate precursors of carcinogenic N-nitrosodimethylamine (NDMA). This study investigated the effects of nitrite and nitrate contents in Chinese cabbage on changes in NDMA, nitrite, nitrate, and DMA contents during storage of kimchi. Contents of nitrite in Chinese cabbage 1 (HNC), Chinese cabbage 2 (MNC), and Chinese cabbage 3 (LNC) were 47.54±1.07, 10.12±0.31, and 6.10±0.09 mg/kg, respectively. Kimchi were assigned to one of the following three groups: kimchi used HNC (HNK), kimchi used MNC (MNK), and kimchi used LNC (LNK). HNK had higher levels of nitrite and nitrate than those in MNK and LNK after storage for 10 days and 20 days. DMA and NDMA contents decreased in all kimchi during the storage period. HNK had higher NDMA content than LNK until 20 days of storage. These results suggest that the contents of nitrite and nitrate in Chinese cabbage have significant effects on the formation of NDMA in kimchi.

Key words: Chinese cabbage, dimethylamine, kimchi, N-nitrosodimethylamine, nitrite

서 론

질산염(nitrate)을 매개체로 공급하는 질소는 식물의 성장발육에 반드시 필요하고, 질산염은 토양에서 자연적으로 발생할 수 있으며 인위적으로 비료를 뿌려 질소 화합물이 생성되기도 한다(1). 질산염은 식품의 저장 중에 질산환원효소나 질산염 환원세균에 의해 환원되어 아질산염으로 전환될 수 있으며, 체내에 흡수된 질산염이 구강 타액에서 환원 미생물에 의해 환원되어 아질산염이 되고 이들 아질산염은 산성조건인 위 내에서 김치, 젓갈 등과 같은 식품에 함유된 아민류 특히 제2급 아민인 dimethylamine(DMA)과 반응하여 강력한 발암물질로 알려져 있는 N-nitrosodimethylamines(NDMA)을 형성할 수 있다(2). NDMA는 N-nitros-

amines(NA) 중 하나인데 식품 중에서는 NA 중에 NDMA가 주로 검출된다(2).

다양한 식품에서부터 질산염과 아질산염을 섭취할 수 있는데 그중에서 야채가 가장 주된 섭취원이고 특히 한국인이 부식으로 식사 때마다 자주 섭취하고 있는 김치의 주재료인 배추와 무에는 다량의 질산염과 아질산염이 함유되어 있다. 배추의 질산염 함량은 평균 2,871.3 mg/kg이었고 최소와 최대 함량은 각각 1,349.5와 4,974.6 mg/kg이었다(1). 배추의 질산염 함량이 높은 이유는 과도한 비료와 퇴비의 사용을 들 수 있으며, 재배지의 토양, 일조량, 강우량, 수확시기 등도 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 질소시비량의 증가에 따라 배추와 무의 경우 질산염 함량은 130배와 41배까지 증가하였다고 보고된 바 있다(3,4). 배추와 무에 다량 함유된 질산염은 저장, 유통, 김치 제조, 김치 숙성 중 다양한 원인에 의해 아질산염으로 환원될 수 있을 것이다.

김치는 주재료인 배추와 무를 절인 후 젓갈, 고추, 마늘, 생강, 파 등의 양념으로 버무리려 숙성시킨 한국의 대표적인

Received 2 October 2015; Accepted 16 November 2015

Corresponding author: Mi Ja Chung, Department of Food Science and Nutrition, Gwangju University, Gwangju 61743, Korea
E-mail: mijachung@gwangju.ac.kr, Phone: +82-62-670-2049

발효식품으로 국민 1인당 하루 평균 배추김치 섭취량은 70 g 정도로 알려져 있다(5). 김치의 주재료인 배추와 무는 질산염과 아질산염이 다량 함유되어 있고, 전라도, 경상도 등에서는 다량의 젓갈을 김치의 부재료로 사용하고 있다. 새우젓과 멸치젓을 많이 이용하고 있는데 이들 젓갈들에는 다량의 아민류 특히 DMA가 함유되어 있어, 김치 숙성 중에 pH가 산성 조건이 되거나 김치를 섭취한 후 위 내 산성 조건에 도달하게 되면 배추에 함유된 아질산염과 젓갈에 함유된 DMA가 반응하여 NDMA를 형성할 수 있다(2). 한국인이 매일 섭취하는 김치에 강력한 발암물질인 NDMA 생성 가능성이 있다면 시판되는 김치의 모니터링, NA 생성 원인, NA 생성 저감화 기술 개발 등 체계적인 연구가 진행되어 안정성이 확보된 김치를 제공함으로써 국민보건 향상과 국내 김치 시장 활성화 및 중국 김치보다 안전성에서 우위를 확보하여 세계시장으로 김치 수출 확대 등과 같은 성과를 얻어야 할 것이다.

김치에서 NDMA 생성에 영향을 미치는 가장 중요한 요인은 NDMA의 직접적인 전구물질인 아질산염과 DMA의 양이 될 것이다. 더하여 질산염은 아질산염으로 환원될 수 있으므로 배추와 무의 질산염의 함량도 NDMA 생성에 주요 요인이 될 수 있다. 따라서 본 연구에서는 김치 내 NDMA 생성 원인을 파악하기 위해 질산염과 아질산염 함량이 다른 배추를 이용하여 김치를 담았고, 김치 숙성 및 저장 중 NDMA, 아질산염, 질산염 및 DMA 함량 변화를 알아보았다.

재료 및 방법

아질산염 분석

배추는 전남 무안에서 재배된 것을 일주일 간격으로 두 번 구입하였고, 충남 아산에서 재배된 배추를 구입하였다. 전남 무안 1, 전남 무안 2 그리고 충남 아산 3 배추의 아질산염(nitrite)과 질산염(nitrate)의 함량을 분석하였다. 배추와 김치의 아질산염 측정에는 nitrite assay(6)를 변형하여 측정하였다. 즉 배추와 김치를 믹서기(HMF-3450, Hanil Electric, Seoul, Korea)로 간 다음 시료 20 g에 증류수 25 mL를 넣고 vortex mixer(VM-10, Daihan Scientific Co., Wonju, Korea)를 이용하여 10분간 격렬히 진탕한 후 여과한 시료를 분석용 시료로 사용하였다. 시료의 NO₂ 농도는 100 µL 분석용 시료와 동량의 100 µL Griess reagent[A : B=1:1, A: 0.1% N-1-naphthyl ethylenediamine dihydrochloride (Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) in H₂O, B: 1% sulfanilamide(Sigma-Aldrich Co.) in 5% H₃PO₄]를 잘 혼합한 후 빛을 차단한 상태로 실온에 10분간 방치시킨 다음 540 nm에서 흡광도를 측정한다. NaNO₂의 검량선을 이용하여 정량하였다.

질산염 분석

배추와 김치의 질산염 함량 측정을 위해 갈아 균질화된 시

료 2.5 g에 증류수 22.5 mL를 넣어 vortex mixer(Daihan Scientific Co.)로 3분간 격렬히 진탕한 후 Shaker(SHO-1D, Daihan Scientific Co.)로 30분간 진동(shaking)하였다. 그다음 60분간 95~100°C에서 중탕하여 식힌 후 15% K₄(Fe(CN)₆) 0.5 mL와 2 M ZnSO₄ 1 mL를 첨가한 다음 여과하였다. 여과된 시료 용액 0.4 mL, 혼합산(H₂SO₄ : H₃PO₄=1:1) 3 mL 그리고 0.12% 2,6-dimethylphenol-acetic acid 0.4 mL를 혼합한 후 324 nm에서 흡광도를 측정하였다(7, 8). NaNO₃의 검량선을 이용하여 정량하였다.

김치 제조

전남 무안 1, 전남 무안 2 그리고 충남 아산 3 배추의 아질산염과 질산염의 함량을 분석한 결과 아질산염과 질산염의 농도가 가장 높은 배추(HNC)를 이용한 절임배추 1(salted Chinese cabbage 1), 아질산염과 질산염의 농도가 중간 정도 수준인 배추(MNC)를 이용한 절임배추 2(salted Chinese cabbage 2) 그리고 아질산염과 질산염의 농도가 낮은 배추(LNC)를 이용한 절임배추 3(salted Chinese cabbage 3)을 김치 제조에 사용하였다. 즉 우선 포기당 중량 2.5~3.0 kg의 배추를 비가식 부분을 제거하고 2등분하여 배추 1 kg당 천일염(Sajo Haepyo, Seoul, Korea) 0.135 kg과 물 1.2 kg을 혼합하여 습식법으로 절였다. 이때 절임수의 염도 농도는 이론적으로 약 10%였다. 절임공정은 실온에서 16시간 수행한 후 흐르는 물에 3회 세척하여 실온에서 탈수하였다. 절여진 배추는 Table 1과 같은 배합비로 김치를 제조하였다. 부재료로 본 연구에 사용한 현진식품 고춧가루(Jeju, Korea), 청정원 남해안 멸치액젓(Seoul, Korea), 풀무원 다진 마늘(Seoul, Korea), 삼양사 큐원 하얀 설탕(Seoul, Korea)은 광주 시내 대형 마트에서 구입하였고, 파와 생강은 국내산으로 같은 곳에서 구입하였다.

HNC를 사용하여 제조한 김치 HNK와 CNC를 사용하여 제조한 김치 MCK 그리고 LNC를 사용하여 제조한 김치 LNK 총 3종류의 김치(3 그룹)를 본 실험에 사용하였다. 제조한 김치는 각각 400 g씩 low density polyethylene(LDPE) 필름(폭 25 cm×길이 30 cm)으로 하나씩 포장한 후 김치 통에

Table 1. Composition of kimchi ingredients

Ingredient (g)	HNK	MNK	LNK
Salted Chinese cabbage 1 ¹⁾	100	—	—
Salted Chinese cabbage 2 ²⁾	—	100	—
Salted Chinese cabbage 3 ³⁾	—	—	100
Red pepper powder	3.5	3.5	3.5
Garlic	1.4	1.4	1.4
Ginger	0.6	0.6	0.6
Green onion	2.0	2.0	2.0
Sugar	1.0	1.0	1.0
Fermented anchovy juice	2.5	2.5	2.5
Water	2.0	2.0	2.0

¹⁾High nitrate and nitrite levels in Chinese cabbage 1.

²⁾Middle nitrate and nitrite levels in Chinese cabbage 2.

³⁾Low nitrate and nitrite levels in Chinese cabbage 3.

넣어 실온에서 12시간 숙성시킨 다음 -1°C 로 설정된 김치 냉장고(RP20H3010HY, Samsung, Seoul, Korea)에 넣거나 0일차는 바로 실험에 사용하였다. 0일차에 바로 실험을 할 수 없을 경우는 -20°C 에서 냉동보관 하였다. 시료를 제조한 후 30일간 10일 간격으로 NDMA와 그것의 전구물질인 DMA, 아질산염 및 질산염의 함량 변화를 알아보았다. 김치는 믹서기(Hanil Electric)로 갈아 균질화한 후 실험을 위한 시료로 사용하였다.

pH 측정

제조된 김치들을 숙성 후 저장 0, 10, 20 그리고 30일에 채취하여 믹서기(Hanil Electric)로 갈았고, 이것을 pH 측정을 위해 사용하였다. pH는 시료 10 g에 증류수 90 mL를 가한 후 다시 균질화하여 실온에서 pH meter(Docu-pH, Sartorius Mechatronics, Göttingen, Germany)로 측정하였다.

DMA 분석

김치에 함유된 DMA 함량은 Dyer와 Mounsey(9)의 copper-dithiocarbamate 방법을 응용한 Gou 등(10)의 방법으로 측정하였다. 즉 제조된 김치를 숙성 후 저장 0, 10, 20 그리고 30일에 채취하여 믹서기(Hanil Electric)로 갈아 균질화한 김치 25 g에 찬 7.5% trichloroacetic acid(TCA, Sigma-Aldrich Co.) 용액을 50 mL 더한 다음 vortex mixer(Daihan Scientific Co.)로 3분간 격렬히 진탕한 후 Shaker(SHO-1D, Daihan Scientific Co.)로 30분간 진동(shaking)하였다. 원심분리($3,000 \times g$, 15 min, 4°C) 하여 얻은 상정액은 1 M NaOH로 pH 7.0으로 맞추었고, 모든 시료는 3차 증류수로 60 mL로 정용한 후 DMA 측정을 위한 시료로 사용하였다. 일정농도(5~125 mg/mL) DMA(Sigma-Aldrich Co.) 표준용액을 시료와 함께 준비한다.

시료 또는 표준용액 2 mL와 chloroform에 녹인 5% CS_2 5 mL를 섞은 후 40% NaOH와 NH_4OH 용액 0.2 mL, copper-ammonia reagent 1 mL 그리고 30% acetic acid 1 mL를 더한 후 섞었다. 25°C 에서 10분간 방치한 후 chloroform 층을 취하고 0.2 g anhydrous sodium sulphate(Junsei Chemical Co., Ltd., Tokyo, Korea)를 더한 후 440 nm에서 흡광도를 측정하였다. DMA의 검량선을 이용하여 정량하였다.

NDMA 분석

균질화한 김치 10 g을 정밀히 달아 50 mL 실험관에 넣고 내부표준물질로 N-nitrosodipropylamine(Chem Service Inc., West Chester, PA, USA)(NDPA, $1 \mu\text{g/mL}$) 1 mL와 0.1 N NaOH(Waco, Osaka, Japan) 10 mL를 넣어 vortex mixer(Daihan Scientific Co.)를 이용하여 3분간 진탕하였다. 이에 Extrelut NT(Merck, Darmstadt, Germany) 12 g을 넣고 다시 vortex mixer(Daihan Scientific Co.)를

이용하여 1분간 진탕한 후 깔때기를 이용하여 유리 칼럼관(내경 3.0 cm, 길이 30 cm)에 넣고 유리막대로 잘 다졌다. Dichloromethane(Merck, Darmstadt, Germany)과 n-hexane(Thermo Fisher, Waltham, MA, USA)의 70:30(v/v) 혼합액 5 mL로 시험관, 유리막대 및 깔때기에 남은 잔류물을 2회 씻어 합친 후 칼럼에 넣었고, dichloromethane : hexane(70:30, v/v) 혼합액 20 mL로 용출하여 250 mL 둥근바닥 플라스크에 받고 이것을 한 번 반복하였다. 둥근바닥 플라스크에 모인 용출액을 30°C 수욕상에서 2~3 mL가 되도록 감압 농축하였다. 정제과정을 위해 Sep-pak florisisil cartridge(Waters, Milford, MA, USA)에 6 mL hexane을 통과시키므로 활성화시켰으며, 활성화된 Sep-pak florisisil cartridge에 위 농축액을 넣고 플라스크를 hexane 1 mL씩 3회 씻어 얻은 액을 다시 Sep-pak florisisil cartridge에 통과시켰다. 그 후 hexane 3 mL를 더 통과시켰으며 용출된 모든 hexane은 버렸다. 이어서 dichloromethane : hexane(95:5, v/v) 혼합액 6 mL로 용출하여 Kuderna-Danish 수기에 받아 질소를 통과시키면서 정확히 1 mL로 농축하여 분석용 시료로 사용하였다(11). Thermal energy analyzer(GC-TEA; Model 543, Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, USA)로 분석하였으며, 이때 GC-TEA의 조건은 Table 2와 같다. 김치의 NDMA 동정은 Table 2와 같은 GC-TEA의 분석 조건 하에서 분석한 NDMA 표준물질(Chem Service Inc.) 및 시료의 GC-TEA chromatogram에서 NDMA peak의 머무름 시간과 시료의 NDMA peak가 표준물질 NDMA와 co-injection 했을 때 동일 peak 지점에서 peak 높이와 면적이 증가하는지 확인하므로 동정하였다. 김치에 함유된 NDMA의 정량은 농도가 알려져 있는 표준물질 NDMA 검량선을 이용하여 정량하였다.

통계처리

본 실험 결과들은 평균(mean)±표준편차(standard deviation, SD)로 표시하였고 실험군 간 평균의 차이는 one-way ANOVA로 유의성을 확인한 후 Duncan's multiple

Table 2. Condition for GC-TEA analysis of N-nitrosamine

Items	Conditions
Instrument	GC-Agilent Technology 6890 N TEA-Thermo Orion Model 510
Column	HP-Ultra 2, 25 m \times 0.2 mm
Carrier gas, flow rate	He, 28 mL/min
Oven temp.	$60^{\circ}\text{C} \sim 200^{\circ}\text{C}$ (for 16 min), 200°C (1 min), $200^{\circ}\text{C} \sim 270^{\circ}\text{C}$ (for 4 min)
Injection temp.	270°C
Pyrolyzer temp.	550°C
Analyzer pressure	35.03 psi
Split ratio	10:1
Split flow	23 mL/min
Injection volume	3 μL

range test를 이용하여 사후 검정하였으며 $P < 0.05$ 수준에서 유의성의 여부를 검증하였다. 모든 통계 분석은 SPSS (statistical package for the social science) version 12.0 프로그램(SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

김치 저장 중 pH 변화

아질산염과 질산염 함량이 다른 배추로 제조한 김치의 저장기간별 pH 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 아질산염과 질산염 함량이 가장 낮은 배추로 제조한 김치(LNK), 아질산염과 질산염 함량이 중간 정도 수준의 배추로 제조한 김치(MNK) 그리고 아질산염과 질산염 함량이 가장 높은 배추로 제조한 김치(HNK)를 12시간 상온에서 숙성시킨 후 -1°C 에 저온 보관하면서 pH를 측정된 결과 4주 동안 변화가 거의 없었고 그룹 간의 차이도 없었다(Fig. 1).

Lee 등(12)은 김치 담금 후 즉시 저온(-1°C 또는 -2.5°C)에 저장한 김치는 저장 4주까지 pH 및 산도의 변화가 거의 없다고 보고하였는데 이는 본 연구 결과와 유사하였다. 따라서 본 연구에서 12시간이라는 짧은 숙성기간 후 저온 보관하였기 때문에 pH 변화가 거의 없는 것으로 생각된다. 이상의 결과는 발효시키지 않고 저온 저장을 하거나 짧은 기간 숙성 후 저온 보관을 하면 변화속도가 매우 느려 오랫동안 김치를 보관하면서 섭취 가능할 것이라고 추정할 수 있었다. 또한 아질산염과 제2급 아민인 DMA는 산성 조건에서 주로 반응하여 NDMA를 생성할 수 있으므로(2) 4주 동안 pH 변화가 거의 일어나지 않는 pH 5.92~5.63 범위라면 4주 동안 NA 생성 증가 가능성도 낮아질 수 있다. 일반 김치는 담은 0일에 pH 5.97이었고, 4°C 에서 보관한 후 저장 14일째 pH 5.21, 저장 28일은 pH 4.13으로 28일째가 되면 NA 생성에 유리한 산성조건이 된다(13). 그러나 pH 5를

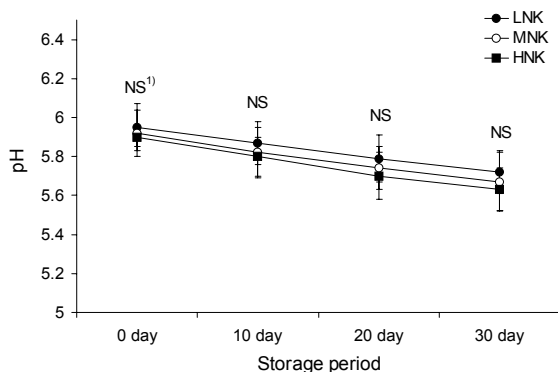


Fig. 1. Changes of pH in kimchi during storage for 30 days. LNK, kimchi used Chinese cabbage containing low nitrate and nitrite levels; MNK, kimchi used Chinese cabbage containing middle nitrate and nitrite levels; HNK, kimchi used Chinese cabbage containing high nitrate and nitrite levels. NS: not significant. Each value is mean \pm SD (n=3).

한계로 그 이하에서는 아질산인 NO_2 가 휘산되거나 pH 저하로 녹황색 채소류의 플라보노이드류에 의한 NO_2 소거작용 증가 또는 산성 조건에서 NO_2 는 아미노산과 반응하여 질소 가스를 생성시키는 등의 요인에 의해 아질산염이 감소될 수 있는데(14), pH 5 이상을 4주 동안 유지하고 있을 경우 아질산염 함량이 높아 NA 생성에 유리한 조건이 될 수도 있다. 본 연구의 pH 결과가 NDMA 생성에 미치는 영향력은 NDMA 분석 결과에 의해 추정할 수 있을 것이다. 만약 저장 기간이 증가할 때 NDMA 함량이 감소되면 pH가 5.5 이상을 유지함으로써 NDMA 생성 반응이 잘 일어나지 못하게 하였고 더하여 NDMA 생성 억제 및 파괴에 관여하는 유산균이나 좋은 물질들이 증가한 결과일 것으로 생각된다.

배추의 아질산염 및 질산염 함량

예비실험에서 아질산염과 질산염 함량을 달리한 배추들을 구분하여 실험군들로 나누었고, 본 연구에 사용된 김치를 담기 전에 예비 실험 결과를 재확인하였다. 즉 전남 무안 배추 1(아질산염과 질산염 함량이 중간 정도 수준의 배추, MNC), 전남 무안 배추 2(아질산염과 질산염 함량이 높은 수준의 배추, HNC), 그리고 충남 아산 배추(아질산염과 질

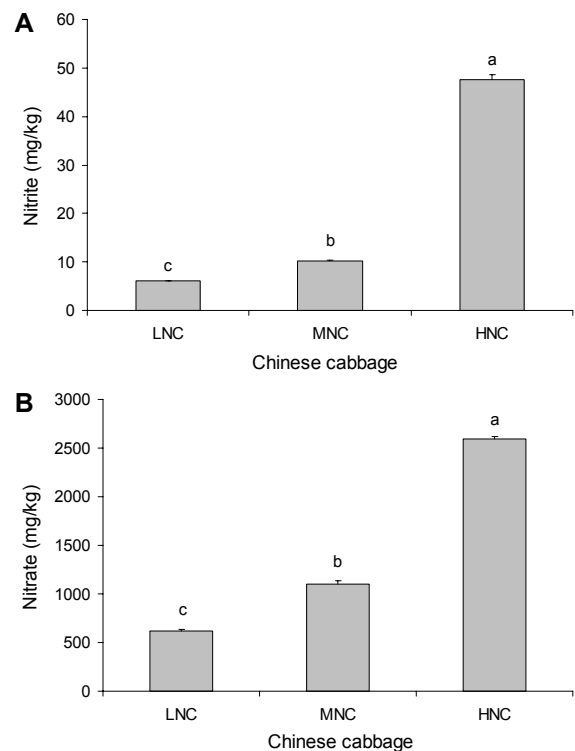


Fig. 2. Contents of nitrite (A) and nitrate (B) in Chinese cabbage. LNC, Chinese cabbage containing low nitrate and nitrite levels; MNC, Chinese cabbage containing middle nitrate and nitrite levels; HNC, Chinese cabbage containing high nitrate and nitrite levels. The values are expressed as the mean \pm SD (n=3), and the means with different letters above the bars are significantly different from each other ($P < 0.05$), as determined by Duncan's multiple range test.

산염 함량이 낮은 수준의 배추, LNC)의 아질산염과 질산염 함량을 분석하였다(Fig. 2).

HNC와 MNC에 함유된 아질산염 함량은 47.54 ± 1.07 과 10.12 ± 0.31 mg/kg이었고, 충남 아산에서 재배한 배추인 LNC에 함유된 아질산염 함량은 6.10 ± 0.09 mg/kg이었다. HNC, MNC 그리고 LNC에 함유된 질산염 함량은 각각 $2,595.83 \pm 23.64$, $1,099.75 \pm 37.9$ 그리고 619.85 ± 16.74 mg/kg이었다. 아질산염과 질산염은 비슷한 경향을 나타내었으며 아질산염과 질산염 모두 높은 함량 순서는 HNC > MNC > LNC였다. 본 연구를 위한 김치 제조에 사용한 배추의 아질산염과 질산염 분석 결과들은 예비실험 결과와 일치하였으므로 예비실험에 사용한 아질산염과 질산염 양의 차이에 따라 붙여진 실험군명인 HNC, MNC 그리고 LNC를 그대로 사용하였다.

배추는 절임과정 중에 질산염과 아질산염이 감소되지만 여전히 높은 함량의 질산염을 가지고 있다(결과 미제시). Jo 등(1)은 농산물의 질산염 함량을 분석한 결과 무 잎이 평균 $4,875.8$ mg/kg으로 가장 높았고 배추는 평균 $2,871.3$ mg/kg이었으며 채소류의 질산염 함량은 1~10,000 mg/kg까지로 광범위하게 분포하고 있는데, 이는 질소비료의 시비 그리고 토양, 일조량, 산지, 강우량, 수확시기, 생육과정 등 재배 조건에 의한 것으로 생각된다. Jo 등(1)이 보고한 배추의 질산염 함량은 본 연구에서 사용한 전남 무안에서 재배한 배추 HNC에 함유된 질산염과 비슷한 함량이었다.

채소에 존재하는 질산염은 작물의 생육과 수량 증대에 가장 중요한 필수원소의 하나로서 다수확을 위해 사용되는 질소비료의 과다시비, 시설재배를 통한 일조량의 부족 등으로 인하여 작물의 가식부 내에 축적된다(3,4). 채소 부위별로도 함량 차이가 있는데 배추의 경우는 내부엽보다는 외부엽, 즉 녹색이 진한 겉부분에 질산염 집적량이 많다(15). 엽채류 중 질산염 함량이 높은 주요 요인은 과다한 비료와 퇴비 사용을 들 수 있으며 질소시비량이 증가할수록 채소류의 NO_3^- 의 집적량이 높아져 배추와 무의 경우 130 그리고 40배까지 증가하였다고 보고된 바 있다(3,4).

Kim 등(7)의 보고에 의하면 유기농 케일과 일반농 케일의 아질산염 함량은 22.9 와 22.9 mg/kg으로 유사하였고, 유기농 신선초의 아질산염 함량은 13.3 mg/kg인데 비하여 일반농 신선초는 81.9 mg/kg으로 일반농 신선초가 유기농 신선초와 비교하여 현저히 높은 아질산염 함량을 가지고 있다고 보고하였다. 본 연구에서 분석한 배추의 아질산염의 함량은 $6.1 \sim 47.54$ mg/kg으로 일반 채소와 유사한 함량이었으며, 질산염이 아질산염으로 환원될 수 있으므로 질산염의 함량에 영향을 미칠 수 있을 것으로 생각된다.

김치의 주재료로 사용하는 배추와 무가 재배조건 특히 질소비료의 과다시비에 의해 질산염의 함량이 급격히 증가할 수 있으며 또한 아질산염 함량도 증가하여 니트로사민의 전구물질로 작용하고 김치 내 NA 생성 원인이 된다면, 김치 내 NA 생성 저감화의 방법으로 배추와 무를 유통할 때 일정

량 이하의 질산염과 아질산염을 함유해야 한다는 법적인 규제와 배추와 무에 질산염과 아질산염 함량을 감소시킬 수 있는 재배방법이 개발되어야 할 것이다.

김치 저장 중 아질산염 및 질산염 함량 변화

아질산염과 질산염 함량이 다른 배추로 제조한 김치의 저장 중 아질산염과 질산염 변화는 Fig. 3과 같다. 3종류(또는 3그룹)의 김치 중에 아질산염과 질산염 함량이 가장 낮은 배추로 제조한 김치(LNK), 아질산염과 질산염 함량이 중간 정도 수준의 배추로 제조한 김치(MNK) 그리고 아질산염과 질산염 함량이 가장 높은 배추로 제조한 김치(HNK)의 0일 차에는 아질산염의 함량이 3종류 모두 유의적 차이가 없었다(Fig. 3A). 저장 10일과 20일에 3종류 김치의 아질산염 함량이 차이를 비교해 본 결과 MNK가 LNK보다 약간 높은 함량이 검출되었지만 유의적 차이는 없었다. 그러나 저장 10일에는 HNK가 LNK와 MNK보다 아질산염 함량이 현저하게 높았고 이러한 경향은 저장 20일에 더욱 뚜렷하게 나타났다(Fig. 3A). 저장 30일에는 LNK, MNK 그리고 HNK 모두 유의적으로 아질산염 함량에 차이가 있었고 배추에 함유된 아질산염의 순서와 같았는데, 높은 순서는 LNK(3.35 ± 0.19 mg/kg) < MNK(4.36 ± 0.56 mg/kg) < HNK(14.77 ± 1.15 mg/kg)였다(Fig. 3A). 배추의 아질산염 및 질산염의

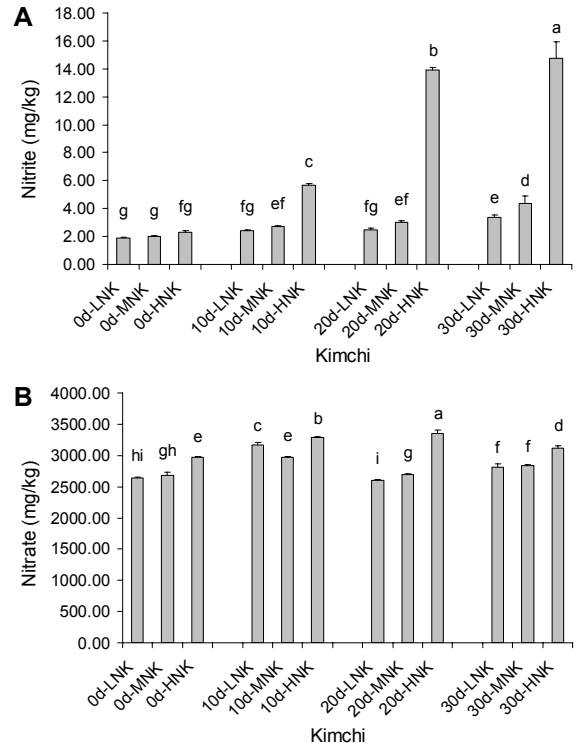


Fig. 3. Changes of nitrite (A) and nitrate (B) in kimchi during storage for 30 days. Groups (LNK, MNK, and HNK) explanations are the same as in Fig. 1. The values are expressed as the mean±SD (n=3), and the means with different letters above the bars are significantly different from each other (P<0.05), as determined by Duncan's multiple range test.

농도가 높지 않을 경우 김치 저장기간이 증가하여도 아질산염의 증가율이 낮았지만 배추의 아질산염과 질산염 함량이 높은 경우 저장기간이 증가할수록 아질산염의 함량이 증가하였다.

아질산염과 질산염 함량이 다른 배추로 제조한 김치의 저장 동안 질산염 변화를 알아본 결과 김치 제조 0일은 LNK와 MNK에 함유된 질산염에 차이가 없었으나 HNK는 LNK와 MNK보다 유의적으로 높은 질산염을 함유하고 있었다(Fig. 3B). 저장 10, 20 그리고 30일에 3종류 김치의 질산염 함량을 비교해 본 결과 LNK와 MNK는 일관된 경향을 나타내지 않았지만 김치 제조 0일, 저장 10, 20 그리고 30일에 모두 HNK는 LNK와 MNK보다 유의적으로 질산염 함량이 높았다(Fig. 3B). 배추보다 김치에 질산염 함량이 높은 것은 양념으로 사용되는 파, 마늘, 생강, 고춧가루에도 질산염을 함유하고 있기 때문인 것으로 생각된다.

김치를 섭취하는 중에 질산염은 구강 타액에 존재하는 환원미생물에 의해 환원되어 아질산염이 되고 이들 아질산염은 산성조건인 위 내에서 김치 부재료로 사용하는 것갈 등과 같은 식품에 함유된 아민류 특히 2급 아민과 반응하여 니트로사민을 생성할 수 있다. 니트로사민 중의 강력한 발암물질인 NDMA가 생성될 때 반응속도는 제2급 아민인 DMA의 농도에 그리고 아질산염 농도의 제곱에 비례하며, 이때 최적 산도는 pH 3.4이다(16,17). 따라서 김치에 함유된 질산염과 아질산염은 니트로사민 생성에 가장 중요한 전구물질로 알려져 있다. 본 연구에서는 김치 내 NA 생성 원인을 알아보기 위한 연구의 일환으로 질산염과 아질산염 함량이 다른 배추를 이용하여 김치를 제조하였고 아질산염과 질산염 함량이 높은 배추(HNC)로 제조한 김치(HNK)는 아질산염과 질산염 함량이 높았다. 배추의 아질산염과 질산염 함량의 차이가 크지 않은 배추들(LNC와 MNC)로 제조한 김치들(LNK와 MNK)에서는 뚜렷한 경향을 나타내지 않았다. 김치에 함유된 아질산염의 일부는 것갈에 함유된 제2급 아민인 DMA와 반응하여 NA 생성에 관여하지만 이와 같은 반응에 김치에 함유된 모든 아질산염이 사용되는 것은 아니다. 즉 김치에 함유한 질산염이 아질산염으로 전환되어도 김치의 양념에는 아질산염 소거작용 및 니트로사민 생성 억제작용을 하는 비타민 C와 E, 페놀화합물 그리고 SH 화합물이 함유되어 있고(2), 또한 김치 유산균이 아질산염 소거작용을 나타내기 때문에 김치에 함유된 아질산염이 니트로사민 생성에 이용되는 것을 막아 준다(18). 그러나 다량의 아질산염이 존재할 경우 아질산염 소거작용으로 제거할 수 없는 아질산염은 니트로사민 생성에 사용될 것이다. 따라서 배추에 높은 함량의 질산염과 아질산염을 함유하고 있을 때 직접적으로 김치 내 니트로사민 생성에 영향을 미칠 것으로 생각된다.

김치 저장 중 제2급 아민 DMA 함량 변화

아질산염과 질산염 함량이 다른 배추로 제조한 김치의 DMA 함량 변화를 Fig. 4에 나타내었다. 김치에 사용하는

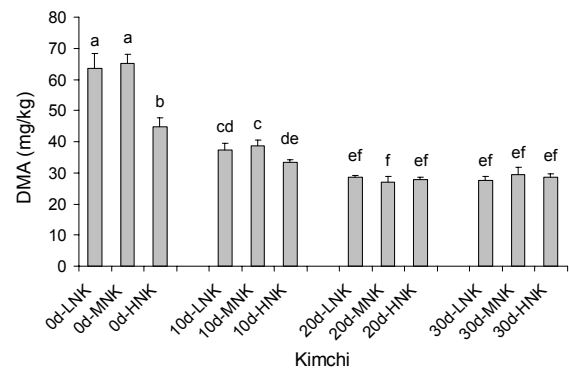


Fig. 4. Change of DMA in kimchi during storage for 30 days. Groups (LNK, MNK, and HNK) explanations are the same as in Fig. 1. The values are expressed as the mean±SD (n=3), and the means with different letters above the bars are significantly different from each other ($P < 0.05$), as determined by Duncan's multiple range test.

것갈에는 다량의 아민류가 함유되어 있고(2), 본 연구에 사용한 멸치 액젓의 DMA 함량은 28.9 mg/kg이었다. 김치 제조 후 12시간 숙성한 0일차 김치의 DMA 함량은 아질산염과 질산염의 함량이 가장 낮은 배추와 중간 정도 함량을 가진 배추로 제조한 LNK와 MNK가 배추의 아질산염과 질산염이 높은 배추로 제조한 김치(HNK)보다 높았다. 이는 김치 제조 시 부재료로 사용된 것갈에 함유된 DMA가 김치 중 아질산염의 함량이 높으면 김치 내 다양한 요인에 의해 아질산염 소거작용이 일어나지만 여전히 상당량의 아질산염이 김치 내 존재하고 이것이 쉽게 DMA와 반응하여 니트로사민을 생성하기 때문에 HNK 내 DMA 함량이 낮은 것으로 생각된다. 저장 10일째 DMA 함량은 0일과 비교하여 현저히 감소하였고, 저장 20 그리고 30일째에는 3종류 간의 DMA 함량 차이가 없었다. 본 연구 결과 저장 10일째 DMA 함량은 다량 감소하였지만 저장 30일까지 멸치 액젓을 양념에 첨가한 김치에서 상당량의 DMA가 검출되었다.

DMA는 아질산염과 함께 NDMA 생성에 직접적으로 관여하는 NDMA 전구물질이다. 따라서 김치 제조에 것갈을 많이 사용하는 전라도와 경상도와 같이 남쪽 지방에서 다량의 아질산염과 질산염을 함유한 배추로 김치를 제조할 경우 니트로소아민 생성 및 이와 같은 발암물질이 증가하여 발암 위험성이 증가할 수 있을 것이다.

김치 저장 중 강력한 발암물질 NDMA 함량 변화

Fig. 5는 DNMA 표준물질과 김치 시료에 함유된 NDMA의 GC-TEA chromatogram이고, 아질산염과 질산염 함량이 다른 배추로 제조한 김치의 저장 중 NDMA 함량 변화는 Fig. 6과 같다. 내부표준 물질로 NDPA를 사용하였고 김치 시료에는 NDMA만 검출되었다. 아질산염과 질산염 함량이 높은 배추로 제조한 김치(HNK)는 숙성 12시간 후 바로 시료로 사용한 0일, 저장 10일과 저장 20일째에 중간 정도 함량의 아질산염과 질산염을 함유한 배추로 제조한 김치

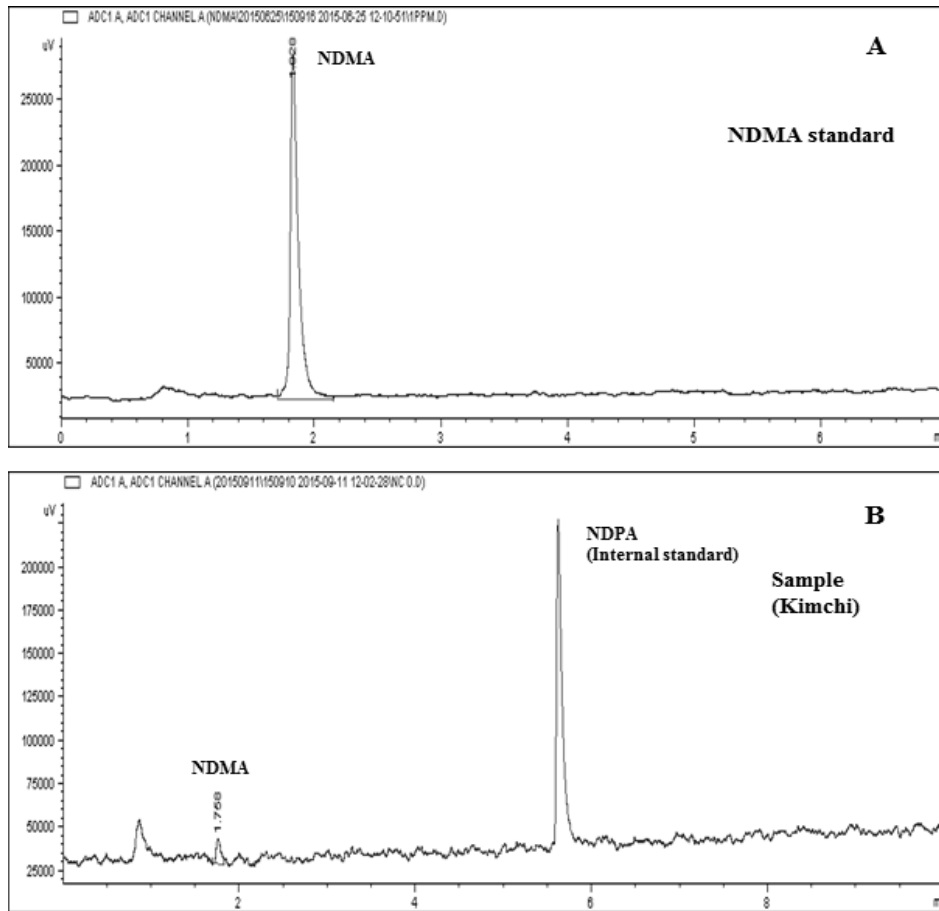


Fig. 5. GC-TEA chromatograms of NDMA standard (A) and NDMA in kimchi (B). NDPA: internal standard.

(MNK)와 낮은 함량의 아질산염과 질산염을 함유한 배추로 제조한 김치(LNK)보다 NDMA 함량이 높았고 HNK는 LNK와 비교하여 유의적으로 높았다. 그러나 저장 30일째 김치는 김치 종류에 따른 NDMA 함량 차이가 없었다.

김치에 다량 함유된 질산염의 일부는 아질산염으로 전환

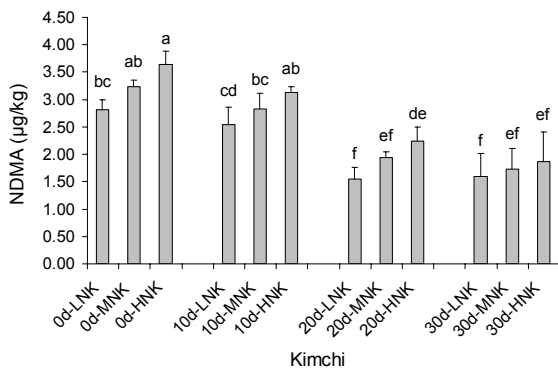


Fig. 6. Change of NDMA in kimchi during storage for 30 days. Groups (LNK, MNK, and HNK) explanations are the same as in Fig. 1. The values are expressed as the mean±SD (n=3), and the means with different letters above the bars are significantly different from each other (P<0.05), as determined by Duncan's multiple range test.

될 수 있고 김치 제조 시 젓갈을 첨가할 경우 아민류 중 특히 제2급 아민인 DMA가 아질산염과 반응하여 발암물질인 NDMA를 생성할 수 있으며 숙성기간 중에 김치의 pH가 낮아지면 NDMA 생성 반응이 잘 일어날 수 있는 산성조건을 제공하여 준다. 그러나 김치에는 니트로사민 생성 억제작용을 하는 비타민 C와 E, 페놀화합물 그리고 SH 화합물이 함유되어 있고(2,16,17) 숙성기간이 증가함으로써 김치 유산균 증식도 증가하여 이들 유산균이 아질산염 소거작용 및 NDMA를 직접적으로 파괴하는 작용이 있는 것으로 알려져 있어(19) 김치가 숙성됨에 따라 니트로사민 생성이 억제되어 적은 양이 검출되었다.

김치 냉장고가 보편화되었고 원숙한 숙성 김치보다는 숙성 후 신선한 김치를 선호하는 사람들이 증가함으로써 질산염과 아질산염을 다량 함유한 배추를 이용한 김치 제조는 숙성 후 김치 냉장고에 저장 20일까지 니트로사민 생성에 영향을 미쳐 질산염과 아질산염 함량이 낮은 배추로 제조한 김치보다 유의적으로 NDMA 함량이 높다는 것을 알 수 있다. 따라서 김치의 니트로사민 생성 요인 중 하나가 배추에 함유된 질산염과 아질산염에 기인된 것이라는 것을 알 수 있었다. 한국이나 미국, 일본은 채소에 대한 질산염 허용기준을 설정하지 않고 있으며, 유럽연합(EU)인 오스트리아,

벨기에, 덴마크, 핀란드, 독일, 그리스, 스페인 등에서는 일부 채소에 대한 질산염 허용기준을 설정하여 시행하고 있다. 오스트리아에서 무의 질산염 허용기준은 겨울 무 4,500 ppm, 여름 무 3,500 ppm이고 배추는 2,500 ppm이다. 1일 섭취허용량(acceptable daily intake, ADI)은 어떤 물질을 안전하게 사용하기 위한 지표가 되는 것으로 인간이 어떤 물질을 일생동안 매일 섭취해도 어떤 영향도 받지 않는 1일 섭취량을 말한다. 식품첨가물로써 아질산나트륨과 질산나트륨의 ADI는 각각 0.06과 3.7 mg/kg 체중으로(20), 60 kg 몸무게를 가진 사람이 아질산나트륨 및 질산나트륨을 식품첨가물로 각각 3.6 mg과 222 mg 이하를 평생 섭취하여도 어떤 영향을 받지 않는다는 것이다. 한국인의 김치 섭취에 관한 연구 보고에 의하면 한국인의 일일 김치 섭취량은 115.6 g이다(5). 본 연구 결과 저장 20일째 김치 HNK의 질산염 함량은 3,356.62 mg/kg으로 가장 높았고, 이들 김치를 115.6 g 섭취하면 388.03 mg의 질산염을 섭취하는 것이므로 식품첨가물 기준으로 이들 양을 비교하면 60 kg 사람을 기준으로 질산나트륨 ADI의 1.75배이다. 본 연구에 사용된 김치의 아질산염 함량은 저장 30일째 HNK가 14.77 mg/kg으로 가장 높았으며, 이들 김치를 115.6 g 섭취하면 1.71 mg의 아질산염을 섭취하는 것이고 이것을 식품첨가물 기준 60 kg 사람의 아질산나트륨 ADI와 비교하면 0.48배이다. 김치를 통해 다량의 질산염과 아질산염을 섭취할 수 있고 이것은 ADI보다 많은 양일 수 있다. 식품첨가물 ADI와 김치를 통해 섭취하는 질산염 및 아질산염이 인체에 미치는 영향이 다를 수 있지만 질산염인 경우는 ADI보다 높은 양을 김치로 섭취 가능하다는 것을 알 수 있었고 이것은 건강에 악영향을 줄 수 있을 가능성을 제시하였다. 김치에 함유된 질산염과 아질산염이 인체에 미치는 가장 큰 악영향은 니트로사민 형성에 전구물질로 관여하는 것이므로, 김치의 니트로사민 저감화의 일환으로 유통되는 배추와 무 및 양념에 사용할 부재료로 사용되는 채소의 질산염과 아질산염 적정 함량을 설정하고 함량 초과 시 규제하는 법적 조치와 아질산염과 질산염 함량을 줄일 수 있는 채소 재배법을 개발하여 농가에 보급하는 연구가 진행되어야 할 것이다.

요 약

아질산염과 dimethylamine(DMA)은 발암물질인 N-nitrosodimethylamines(NDMA)의 직접적인 전구물질이다. 본 연구에서는 아질산염과 질산염 함량이 다른 배추가 김치 저장 중에 NDMA, 아질산염, 질산염 그리고 DMA 함량 변화에 미치는 영향을 알아보았다. 배추 1(HNC), 배추 2(MNC) 그리고 배추 3(LNC)의 아질산염 농도는 각각 47.54 ± 1.07 , 10.12 ± 0.31 그리고 6.10 ± 0.09 mg/kg이었다. 김치는 세 그룹으로 나누었다. 즉 HNC를 사용하여 제조한 HNK, MNC를 사용하여 제조한 MNK 그리고 LNC를 사용하여 제조한 LNK이다. HNK는 저장 10일과 20일째 아질산염과 질

산염 수준이 MNK와 LNK의 그것들보다 더 높았다. 모든 김치에서 DMA와 NDMA 함량은 저장기간 동안 감소하였다. HNK는 저장 20일까지 LNK보다 높은 NDMA 함량을 가지고 있었다. 이들 결과들은 배추의 아질산염과 질산염의 함량이 김치 내 NDMA 형성에 현저한 영향력을 가지고 있다는 것을 제안하였다.

감사의 글

이 연구는 세계김치연구소 기관고유사업(KE1501-3)의 연구비 지원을 받아 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Jo SA, Kim EH, Han SH, Yuk DH, Kim JH, Park SG. 2010. Analysis of nitrite contents of agricultural products by HPLC-UV. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 39: 1335-1339.
2. Chung MJ, Lee SH, Sung NJ. 2002. Inhibitory effect of whole strawberries, garlic juice or kale juice on endogenous formation of N-nitrosodimethylamine in humans. *Cancer Lett* 182: 1-10.
3. Sohn SM, Oh KS. 1993. Influence of nitrogen level on the accumulation of NO_3^- on edible parts of Chinese cabbage, radish and cucumber. *J Korean Soc Soil Sci* 26: 10-19.
4. Sohn SM, Oh KS. 1993. Study on utility of nitrate content in edible parts of crops as an indicator of simplified judgment for superior agricultural products by low nitrogen input. *Korea J Organic Agriculture* 2: 2-15.
5. Kim EK, Park YK, Ju SY, Choi EO. 2015. A study on the kimchi consumption of Korean adults: using Korea National Health and Nation Examination Survey (2010~2012). *J Korean Soc Food Cult* 30: 406-412.
6. Seo J, Lim H, Chang YH, Park HR, Ham BK, Jeong JK, Choi KS, Park SB, Choi HJ, Hwang J. 2015. Effect of Jeju *Citrus unshiu* peel extracts before and after bioconversion with cytolase on anti-inflammatory activity in RAW264.7 cells. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 44: 331-337.
7. Kim JD, Lee OH, Lee JS, Jung HY, Kim B, Park KY. 2014. Safety effects against nitrite and nitrosamines as well as anti-mutagenic potentials of kale and *Angelica keiskei* vegetable juices. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 1207-1216.
8. Raikos N, Fytianos K, Samara C, Samanidou V. 1988. Comparative study of different techniques for nitrate determination in environmental water samples. *Fresenius Z Anal Chem* 331: 495-498.
9. Dyer WJ, Mounsey YA. 1945. Amines in fish muscle: II. Development of trimethylamine and other amines. *J Fish Res Board Can* 6: 359-367.
10. Gou J, Lee HY, Ahn J. 2010. Effect of high pressure processing on the quality of squid (*Todarodes pacificus*) during refrigerated storage. *Food Chem* 119: 471-476.
11. Jo CH, Park HR, Kim DS, Lee KH, Kim M. 2010. Exposure assessment of N-nitrosamines in foods. *Korean J Food Sci Technol* 42: 541-548.
12. Lee EH, Lee MJ, Song YO. 2012. Comparison of fermentation properties of winter kimchi stored for 6 months in a kimchi refrigerator under ripening mode or storage mode. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 41: 1619-1625.
13. You BR, Kim HJ. 2013. Quality characteristics of kimchi added with *Allium hookeri* root. *J Korean Soc Food Sci*

- Nutr* 42: 1649-1655.
14. Park KY, Cheigh HS. 1992. Kimchi and nitrosamines. *J Korean Soc Food Nutr* 21: 109-116.
 15. Lee EH, Kim SK, Jeon JK, Chung SH, Cha YJ. 1982. Nitrate and nitrite content of some fermented sea foods and vegetables. *Bull Korean Fish Soc* 15: 147-153.
 16. Mirvish SS. 1970. Kinetics of dimethylamine nitrosation in relation to nitrosamine carcinogenesis. *J Natl Cancer Inst* 44: 633-639.
 17. Mirvish SS, Wallcave L, Eagen M, Shubik P. 1972. Ascorbate-nitrite reaction: possible means of blocking the formation of carcinogenic N-nitroso compounds. *Science* 177: 65-68.
 18. Ko JL, Oh CK, Oh MC, Kim SH. 2009. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from commercial kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 38: 892-901.
 19. Nowak A, Kuberski S, Libudzisz Z. 2014. Probiotic lactic acid bacteria detoxify N-nitrosodimethylamine. *Food Addit Contam Part A* 31: 1678-1687.
 20. Baek HH, Kwon HJ, Choi SH, Lee KW. 2010. *Safety of food additives*. Korea Food Safety Research Institute, Seoul, Korea. p 21.