

김치 저장 중 *N*-Nitrosodimethylamine 생성에 젓갈의 함량과 종류의 영향

강경훈¹ · 김성현² · 김상현³ · 김정균¹ · 성낙주^{4,5} · 이수정⁴ · 정미자⁶

¹경상대학교 해양식품공학과 · 해양산업연구소, ²세계김치연구소

³경상대학교 수의학과, ⁴경상대학교 식품영양학과

⁵경상대학교 기초과학연구소, ⁶광주대학교 식품영양학과

Effects of Amount and Type of Jeotgal, a Traditional Korean Salted and Fermented Seafood, on *N*-Nitrosodimethylamine Formation during Storage of Kimchi

Kyung Hun Kang¹, Sung Hyun Kim², Sang-Hyun Kim³, Jeong Gyun Kim¹,
Nak-Ju Sung^{4,5}, Soo-Jung Lee⁴, and Mi Ja Chung⁶

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

³College of Veterinary Medicine, ⁴Department of Food Science and Nutrition, and

⁵Research Institute of Natural Science, Gyeongsang National University

²World Institute of Kimchi

⁶Department of Food Science and Nutrition, Gwangju University

ABSTRACT *N*-Nitrosodimethylamine (NDMA) is formed through reactions between dimethylamine (DMA) and nitrite. Jeotgal, a traditional Korean salted and fermented seafood, contains a large amount of DMA and is an ingredient of kimchi condiment. This study investigated the effects of amount and type of Jeotgal on changes in NDMA and its precursor contents during storage of kimchi. NDMA was found in all 23 Jeotgal samples, and DMA in nine salted and fermented shrimp samples showed levels ranging from 16.5 to 58.9 mg/kg (average of 30.9 mg/kg). The seven salted and fermented anchovy juice samples showed DMA levels ranging from 21.7 to 44.4 mg/kg (average of 34.5 mg/kg). Kimchi was assigned to one of the following five groups: kimchi without salted and fermented anchovy juice and salted and fermented shrimp (control), kimchi with small amount of salted and fermented anchovy juice (AK1), kimchi with large amount of salted and fermented anchovy juice (AK2), kimchi with small amount of salted and fermented shrimp (SK1), and kimchi with large amount of salted and fermented shrimp (SK2). SK2 had higher DMA content than SK1 during storage while AK2 had higher DMA content than AK1 after storage for 10 days. Nitrite contents of AK1 and SK1 were higher than those of AK2 and SK2 after storage for 20 days. NDMA content was significantly higher in SK2 than in SK1 after storage for 0 and 10 days, and NDMA content in AK2 was significantly higher compared to that in AK1 after storage for 0 days. The DMA and NDMA contents decreased in all kimchi samples during storage. The effects of amount and type of Jeotgal on DMA and NDMA contents were reduced after storage for 20 days. The results suggest that the content and type of Jeotgal have significant effects on formation of NDMA in kimchi.

Key words: *N*-nitrosodimethylamine, dimethylamine, Jeotgal, kimchi, nitrite

서 론

발암물질인 니트로사민(*N*-nitrosamines, NA)의 주요 전구물질은 단백질 식품, 특히 수산물에 많이 함유된 아민류와 채소류에 많이 함유된 질산염과 아질산염이다. 질산염은 환원미생물에 의해 아질산염으로 전환될 수 있고, 아민류 중 제3급 아민과 biogenic amines은 2급 아민으로 전환될

수 있으며, 제2급 아민과 아질산염이 반응하여 니트로사민을 생성할 수 있다(1,2). 식품 중에는 니트로사민 중에 강력한 발암물질인 *N*-nitrosodimethylamine(NDMA)이 주로 검출되고 NDMA는 간암을 유발하는 것으로 알려져 있다(3).

니트로사민 생성 가능성이 있는 식품은 아민류, 질산염 및 아질산염을 동시에 다량 함유한 식품인데 대표적인 식품이 김치이다. 김치는 한국의 대표적인 전통 발효식품으로 한국인의 식생활에서 가장 기본이 되는 찬류로 거의 매일 섭취하며 절인 배추와 무에 고춧가루, 마늘, 생강, 파, 젓갈 등의 양념을 더하여 제조한 후 숙성시킨다(4).

김치의 주재료로 사용하는 배추와 무에는 다량의 질산염

Received 25 May 2016; Accepted 28 July 2016

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

과 아질산염이 함유되어 있고, 배추는 재배지에 따라 아질산염과 질산염 함량에 큰 차이가 있으며 그 범위는 아질산염은 10.1~47.5 mg/kg 그리고 질산염은 619.9~2,595.8 mg/kg 이었다(4). 배추에 질산염 함량이 높은 이유는 과다한 비료와 퇴비의 사용을 들 수 있고, 재배지 간의 질산염 함량 차이는 재배지의 토양, 일조량, 강수량, 수확시기 등의 영향에 의한 것으로 알려져 있다(5,6). 배추와 무에 다량 함유된 질산염은 김치 저장, 유통, 제조, 숙성 중 환원미생물에 의해 아질산염으로 환원될 수 있다(1).

김치의 부재료로 사용하는 젓갈은 일반적으로 어패류의 근육, 내장 또는 생식소 등을 원료로 하여 다량의 식염을 첨가한 후 장기간 발효, 숙성시킨 우리나라 고유의 발효식품이다. 젓갈은 한국인의 밥상에 다양하게 이용되고 있으며 젓갈 중에 새우젓, 멸치젓, 멸치액젓, 까나리액젓 등은 김치의 부재료로 사용되고 있어 한국인이 거의 매일 김치를 통해 섭취하고 있다. 젓갈에 함유된 아민류인 dimethylamine (DMA), trimethylamine(TMA), biogenic amines은 니트로사민의 전구물질로 알려져 있다. 그뿐만 아니라 염장에 이용되는 소금 속에 질산염과 아질산염이 오염되어 있을 수 있고 질산염은 환원미생물에 의해 아질산염으로 전환될 수 있으므로 혼합, 발효 및 숙성 동안 니트로사민이 생성될 수 있다(7).

김치 내 니트로사민이 검출된다는 보고가 있고(4,8), 배추 내에서 니트로사민의 전구물질인 질산염과 아질산염 함량이 김치 내 NDMA 생성 요인이라는 연구보고가 있지만(4), 니트로사민의 다른 전구물질인 아민류를 다량 함유한 젓갈의 종류와 양이 김치 내 NDMA 생성에 어떤 영향을 미치는지에 대한 체계적인 연구보고는 전무하다. 따라서 본 연구에서는 김치 내 NDMA 생성 요인을 구명하고자 국내에서 김치를 담을 때 가장 많이 사용하는 멸치액젓과 새우젓을 각각 함량을 달리하여 첨가한 김치 양념으로 제조한 김치 내 니트로사민 및 그 전구물질들의 생성에 미치는 영향을 알아보았다.

재료 및 방법

젓갈 중에 DMA 및 NA 분석용 시료 제조

국내 시판되고 있는 새우젓(salted and fermented shrimp) 9건, 멸치액젓(salted and fermented anchovy juice) 7건, 멸치젓(salted and fermented anchovy) 3건 및 까나리액젓(salted and fermented sand lance juice) 4건, 즉 총 4종 23건을 광주지역 대형마트 등에서 구입하였고 멸치액젓은 그대로 사용하였으나 멸치젓과 새우젓은 믹서기(HMF-3450, Hanil Electric, Seoul, Korea)로 갈아 균질화한 후 시료로 사용하였다.

김치 제조

전남 해남 배추(포기당 중량 2.5~3.0 kg)를 비가식 부분을 제거하고 2등분하여 절임수의 염도 농도가 약 10%가 되도록 배추 1 kg당 천일염(Sajo Haepyo, Seoul, Korea) 0.135 kg과 물 1.2 kg을 혼합하여 습식법으로 실온에서 16 시간 절였다. 절인 후 흐르는 물에 3회 세척하여 실온에서 탈수하였다. 절인 배추는 Table 1과 같은 배합비로 김치를 제조하였다.

부재료로 본 연구에 사용한 현진식품 고춧가루(Jeju, Korea), C사의 멸치액젓(Seoul, Korea), S사의 새우젓(Shinan, Korea), 풀무원 다진 마늘(Seoul, Korea), 삼양사 큐원 하얀 설탕(Seoul, Korea)은 광주 시내 대형 마트에서 구입하였고 파와 생강은 국내산으로 같은 곳에서 구입하였다.

절임배추 100 g당 2.5 g 및 7.5 g의 멸치액젓을 더하여 제조한 김치(AK1과 AK2)와 절임배추 100 g당 2.5 g 및 7.5 g의 새우젓을 더하여 제조한 김치(SK1과 SK2)를 본 실험에 사용하였다. 제조한 김치는 각각 400 g씩 low density polyethylene(LDPE) 필름(폭 25 cm×길이 30 cm)으로 하나씩 포장한 후 김치통에 넣어 실온에서 12시간 숙성시킨 다음 -1°C로 설정된 김치냉장고(RP20H3010HY, Samsung, Seoul, Korea)에 넣거나 0일차는 즉시 실험에 사용하였다. 바로 실험을 할 수 없을 경우는 -20°C에서 냉동보관 하였다. 시료를 제조한 후 0, 10 그리고 20일에 저장 중인 김치를

Table 1. Composition of kimchi ingredients

Ingredient (g)	Control	AK1 ¹⁾	AK2 ²⁾	SK1 ³⁾	SK2 ⁴⁾
Salted Chinese cabbage	100	100	100	100	100
Red pepper powder	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
Garlic	1.4	1.4	1.4	1.4	1.4
Ginger	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
Green onion	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0
Sugar	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Salted and fermented anchovy juice	—	2.5	7.5	—	—
Salted and fermented shrimp	—	—	—	2.5	7.5
Water	7.5	5.0	—	5.0	—

¹⁾Kimchi with small amount of salted and fermented anchovy juice.

²⁾Kimchi with a lot of salted and fermented anchovy juice.

³⁾Kimchi with small amount of salted and fermented shrimp.

⁴⁾Kimchi with a lot of salted and fermented shrimp.

취하여 NDMA와 그것의 전구물질인 DMA, 아질산염 및 질산염의 함량 변화를 알아보았다. 김치는 믹서기(Hanil Electric)로 갈아 균질화한 후 실험을 위한 시료로 사용하였다.

pH 측정

믹서기(Hanil Electric)로 간 김치 10 g에 3차 증류수 90 mL를 가한 후 다시 균질화하여 실온에서 pH meter(Sartorius Basic pH meter PB-20, Sartorius AG, 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 그리고 20일에 채취하여 믹서기(Hanil Electric)로 갈아 균질화한 김치 25 g에 차가운(4~8°C) 7.5% trichloroacetic acid(TCA, Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA) 용액을 50 mL 더한 후 vortex mixer(VM-10, Daihan Scientific Co., Wonju, Korea)로 3분간 격렬히 진탕한 다음, Shakers(SHO-1D, Daihan Scientific Co., Seoul, Korea)로 30분간 진동(shaking)하였다. 원심분리(3,000×g, 15 min, 4°C) 하여 얻은 상층액은 1 M NaOH를 이용하여 pH 7.0으로 맞추었고, 모든 시료는 3차 증류수로 60 mL로 정용한 후 DMA 측정을 위한 시료로 사용하였다. 일정농도(5~125 mg/mL)의 DMA(Sigma-Aldrich Co.) 표준용액을 시료와 함께 준비한다.

시료 또는 표준용액 2 mL와 chloroform에 녹인 5% CS₂ 5 mL를 섞은 후 40% NaOH와 NH₄OH 용액 0.2 mL, copper-ammonia reagent 1 mL 그리고 30% acetic acid 1 mL를 더한 다음 섞었다. 25°C에서 10분간 방치한 후 chloroform 층을 취하고 0.2 g anhydrous sodium sulphate (Junsei Chemical Co., Ltd., Tokyo, Korea)를 더한 다음 440 nm에서 흡광도를 측정하였다.

아질산염 분석

김치 내 아질산염 측정은 Seo 등(11)의 nitrite assay를 변형한 방법을 사용하였는데 균질화한 김치 20 g에 증류수 25 mL를 넣고 vortex mixer(VM-10, Daihan Scientific Co.)를 이용하여 10분간 격렬히 진탕한 후 여과하여 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.) in H₂O, B: 1% sulfanilamide(Sigma-Aldrich Co.) in 5% H₃PO₄]를 잘 혼합하였다. 빛을 차단한 상태로 실온에 10분간 방치시킨 후 540 nm에서 흡광도를 측정하였다.

질산염 분석

김치 내 질산염 함량 측정을 위해 균질화된 시료 2.5 g에

증류수 22.5 mL를 넣어 vortex mixer(VM-10, Daihan Scientific Co.)로 3분간 격렬히 진탕한 후 Shakers(SHO-1D, Daihan Scientific Co.)로 30분간 진동하였다. 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(12,13).

NDMA 분석

김치의 NDMA 분석은 식품의약품안전처 연구팀들이 사용한 Jo 등(14)의 전처리 방법을 사용하였다. 즉 균질화한 김치 10 g을 정밀히 달아 50 mL 실험관에 넣고 내부표준물질로서 *N*-nitrosodipropylamine(Chem Service Inc., West Chester, PA, USA)(NDPA, 1 µg/mL) 1 mL 및 0.1 N NaOH(Waco, Osaka, Japan) 10 mL를 넣어 vortex mixer(VM-10, Daihan Scientific Co.)를 이용하여 3분간 진탕하였다. 이에 Extrelut NT(Merck, Darmstadt, Germany) 12 g을 넣고 다시 vortex mixer(VM-10, Daihan Scientific Co.)를 이용하여 1분간 진탕한 후 깔때기를 이용하여 유리 칼럼판(내경 3.0 cm, 길이 30 cm)에 넣고 유리막대로 잘 다졌다. 용출된 용액을 받을 수 있도록 밑에 250 mL 둥근 바닥 플라스크를 놓고 dichloromethane(Merck)과 *n*-hexane(Thermo Fisher, Waltham, MA, USA)의 70:30 (v/v) 혼합액 10 mL로 시험관, 유리막대 및 깔때기에 남은 잔류물을 2회 씻어 합친 후 칼럼에 넣었다. 계속해서 dichloromethane : hexane(70:30, v/v) 혼합액 40 mL로 시료의 니트로사민을 용출하고 한 번 반복한 후 이때 얻은 혼합액은 250 mL 둥근바닥 플라스크로 받아 합한 다음 30°C 수욕상에서 3~4 mL가 되도록 회전감압농축기(N-1000, EYELA, Tokyo, Japan)로 감압농축 하였다.

정제과정은 미리 Sep-pak florisisil cartridge(Waters, Milford, MA, USA)에 hexane 6 mL를 통과시키므로 활성화시켰고, 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 농축한 후 0.22 µm filter(Millipore, Bedford, MA, USA)로 여과한 후 분석용 시료로 사용하였다(14).

젓갈류 내 니트로사민 추출 및 분석을 위해 고형분이 없는 액젓 형태는 그대로 사용하였고 고형분이 있는 새우젓 같은 젓갈은 균질화한 후 시료로 사용하였다. 젓갈 중의 니트로사민을 분석하기 위한 시료의 추출은 Hotchkiss 등(15)과 Chung 등(1)의 방법에 따라 수증기 증류법으로 추출하였다. 즉 균질화한 김치 시료 20~30 g에 내부표준물질로 NDPA

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×0.2 mm
Carrier gas, Flow rate	He, 28 mL/min
Oven temp.	60~200°C (for 16 min), 200°C (1 min), 200~270°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

(1 µg/mL) 1 mL 및 증류수 150 mL를 가하여 잘 혼합한 후 수증기 발생장치를 이용하여 증류물이 120 mL가 될 때까지 추출하였다. 증류물은 분액깔때기에 옮겨 dichloromethane(60 mL×3회)에 이행시킨 후 sodium sulfate로 탈수시켰다. 이를 Kuderna-Danish 장치에 옮긴 후 60°C 수욕상에서 4~5 mL가 될 때까지 농축한 다음, 질소 가스를 사용하여 다시 최종 부피가 1 mL가 되도록 농축한 후 0.22 µm filter로 여과한 후 분석용 시료로 사용하였다.

분석용 시료는 thermal energy analyzer(GC-TEA; Model 543, Thermo Electron Corporation, Waltham, MA, USA)로 분석하였으며, 이때 GC-TEA의 조건은 Table 2와 같다. 김치 및 젓갈 내 NDMA 동정은 Table 2와 같은 GC-TEA의 분석 조건에서 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 면적의 증가를 확인함으로써 동정하였다.

통계처리

각 실험은 3회 이상 반복(각 군당 n=3) 실험한 결과에 대하여 평균(mean)±표준편차(standard deviation, SD)로 표시하였고, 실험군 간 평균의 차이는 one-way ANOVA로 유의성을 확인한 후 Duncan's multiple 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

젓갈 중 DMA와 NDMA 함량

2015년 5~9월 광주광역시 시내 대형마트에서 유통되고 있는 새우젓 9건, 멸치액젓 7건, 멸치젓 3건 및 까나리액젓 4건, 즉 총 4종 23건을 구입하여 DMA와 NDMA를 분석한 결과는 Table 3과 같다.

새우젓 9건에 함유된 NDMA 함량은 3.6 µg/kg이었으며, 멸치액젓(7건), 멸치젓(3건), 까나리액젓(4건)의 NDMA 함량은 각각 2.6, 3.7, 3.6 µg/kg이었다. 새우젓, 멸치액젓, 멸치젓, 까나리액젓의 가장 낮은 함량은 각각 1.4, 1.6, 2.5, 2.0 µg/kg이었고, 가장 높은 함량은 5.6, 4.5, 4.5, 5.1 µg/kg이었다.

새우젓, 멸치액젓, 멸치젓, 까나리액젓의 DMA 함량은 각각 30.9, 34.5, 47.4, 44.4 mg/kg이었고 그 범위는 각각 16.5~58.9, 21.7~44.4, 23.8~70.7, 22.8~64.8 mg/kg이었다. NDMA와 DMA는 제조사에 따라 함량 차이가 많이 나서 새우젓, 멸치액젓, 멸치젓 및 까나리액젓 간의 통계학적 차이는 없었다($P > 0.05$).

젓갈 중에 니트로사민의 주요 전구물질인 2급 아민류인 DMA, 3급 아민류인 TMA 그리고 biogenic amines이 다량 함유되어 있고, TMA와 같은 3급 아민은 DMA와 같은 2급 아민으로 전환될 수 있으며, 2급 아민류와 아질산염이 반응하여 니트로사민을 생성한다. DMA는 아질산염과 반응하여 NDMA를 생성하고, biogenic amines인 putrescine과 cadaverin은 2급 아민인 pyrrolidine과 piperidine으로 전환될 수 있어 이것이 아질산염과 반응하여 니트로사민인 nitrosopyrrolidine(NPYR)과 nitrosopiperidine(NPIP)을 형성한다(2).

Kim 등(16)은 새우젓과 멸치젓의 DMA 함량이 평균 95.6과 3.6 mg/kg이라 하였고, Yim 등(17)의 보고에서는 새우젓과 멸치젓 내 DMA 함량이 5.05와 2.59 mg/kg이었으므로 두 연구 모두 새우젓이 멸치젓보다 높은 DMA 함량을 보였다고 하였는데 본 연구에서는 제품 간의 큰 함량 차이 때문에 두 젓갈 간의 DMA 함량은 통계학적 유의적 차이를 보여주지 않았다. 본 연구에서 분석한 새우젓 내 DMA 함량

Table 3. Levels of dimethylamine (DMA) and *N*-nitrosodimethylamine (NDMA) in Jeotgal, a traditional Korean salted and fermented seafood

Jeotgals	No. of samples	DMA (mg/kg)		NDMA (µg/kg)	
		Range (Min.~Max.)	Average	Range (Min.~Max.)	Average
Salted and fermented shrimp	9	16.5~58.9	30.9±16.3 ^{NS1)}	1.4~5.6	3.6±1.5 ^{NS}
Salted and fermented anchovy juice	7	21.7~44.4	34.5±8.4	1.6~4.5	2.6±1.0
Salted and fermented anchovy	3	23.8~70.7	47.4±23.5	2.5~4.5	3.7±1.1
Salted and fermented sand lance juice	4	22.8~64.8	44.4±22.9	2.0~5.1	3.6±1.7

¹⁾NS: not significant.

은 Kim 등(16)이 보고한 함량보다 낮았지만 Yim 등(17)이 보고한 함량보다는 높았고 멸치젓의 DMA 함량은 두 연구 결과보다 높았다.

Kim 등(16)은 젓갈에는 니트로사민 중에 NDMA가 검출되었고 멸치젓과 새우젓에 함유된 NDMA 함량은 평균 0.5와 0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이라 보고하였는데 NDMA만 검출된 것은 본 연구 결과와 일치하였으나 함량은 본 연구 결과보다 낮았다. 젓갈은 염장에 이용되는 소금이 질산염 및 아질산염을 함유할 수 있고 혼합, 발효, 숙성 중에 니트로사민을 생성할 수 있다(7). 중국의 salted fish의 NDMA의 최대허용량이 4.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 인데(14), 새우젓, 멸치액젓, 멸치젓 및 까나리액젓에 함유된 NDMA 평균 함량은 모두 4.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 이하였으나 새우젓과 까나리액젓의 일부 시료는 4.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 함량을 초과하는 시료가 있어 국내에서도 젓갈류의 NDMA의 최대허용량을 정하여 국내 유통되는 젓갈의 안전성에 대한 국민의 신뢰를 높여야 할 것으로 생각한다.

본 연구에 사용할 김치 제조에 사용한 멸치액젓과 새우젓의 DMA 함량은 각각 28.9와 29.2 mg/kg 이고 NDMA는 3.5와 3.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 으로 두 젓갈 간에 유사한 DMA 및 NDMA 함량이 검출되었다(Table 4).

김치 저장 중 pH 변화

젓갈의 종류와 함량을 달리하여 제조한 김치의 저장기간별 pH 변화를 Fig. 1에 나타내었다. 저장기간이 증가함에

Table 4. The dimethylamine (DMA) and *N*-nitrosodimethylamine (NDMA) levels of Jeotgal used in this study as kimchi ingredient

Jeotgals	DMA (mg/kg)	NDMA ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Salted and fermented anchovy juice	28.9 \pm 0.7	3.5 \pm 0.7
Salted and fermented shrimp	29.2 \pm 0.2	3.6 \pm 1.4

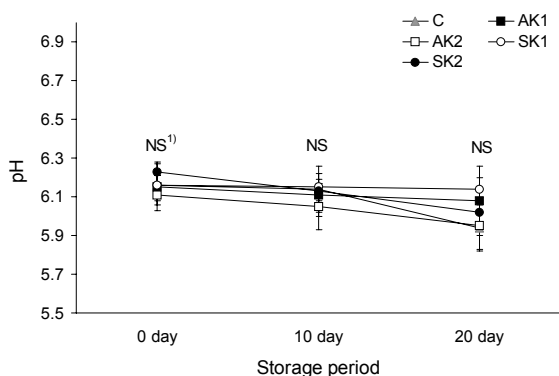


Fig. 1. Changes of pH in kimchi during storage for 20 days. C, kimchi without salted and fermented anchovy juice and salted and fermented shrimp; AK1, kimchi with small amount of salted and fermented anchovy juice; AK2, kimchi with a lot of salted and fermented anchovy juice; SK1, kimchi with small amount of salted and fermented shrimp; SK2, kimchi with a lot of salted and fermented shrimp. NS: not significant. Each value is mean \pm SD (n=3).

따라 pH가 감소하는 경향이었지만 아주 완만한 감소를 나타내었으며 저장기간별 통계학적 유의적 차이는 없었다($P > 0.05$).

Kang 등(4)의 연구보고에 의하면 짧은 숙성 후 김치냉장고(-1°C)에 보관했을 때 4주 동안 pH 변화가 거의 없었다고 하였는데 본 연구와 일치하였고, Lee 등(18)은 김치 담금 후 즉시 김치냉장고(-1°C 또는 -2.5°C)에 저장하면 pH와 산도의 변화 없이 오랫동안 신선하게 보관할 수 있다고 하였는데 이는 본 연구 결과와 유사하였다.

멸치젓과 새우젓은 다량의 단백질과 아미노산을 함유하고 있고 김치 숙성 중에 젓산 함량을 증가시키고 유산균 증식을 촉진하는 것으로 알려져 있으나(19), 본 연구에서는 12시간 숙성 후 김치냉장고(-1°C)에 저장하였기 때문에 젓갈에 의한 젓산 및 유산균 증식에 대한 영향이 냉장고(4°C)나 실온에서 숙성시키는 김치와는 달랐을 것으로 추정되고 각 군 간의 pH 변화가 유의적 차이를 나타내지 않은 것은 멸치액젓과 새우젓의 양의 차이가 젓산 생성에 영향을 거의 주지 않았을 것으로 추정할 수 있다.

니트로사민은 아질산염과 제2급 아민이 동시에 존재할 때 산성조건에서 잘 생성되기 때문에 김치의 pH는 니트로사민의 생성에 중요한 의미가 있다. 김치를 담은 직후의 pH는 6.0 부근이고 김치 숙성 최적 pH는 4.0 부근인 것으로 알려져(20), 김치가 적당히 숙성되었을 때 니트로사민 생성에 유리한 산성 조건이 되지만, 니트로사민과 그 전구물질을 억제하거나 직접 파괴하는 것으로 알려진 유산균이 증식하고 니트로사민 생성 억제물질이 다량 함유한 김치 양념 성분들 때문에(1,21) 니트로사민 생성에 유리한 산성조건이 되어도 니트로사민 함량이 증가할 것이라고는 예측되지 않는다. 니트로사민 저감화를 위한 가장 이상적인 김치는 pH를 감소시키지 않으면서 유산균 수를 증가시키고 니트로사민 생성을 억제하는 물질을 다량 함유한 김치 양념소를 함유한 김치일 것이다.

김치 저장 중 DMA 함량 변화

김치 내 니트로사민 생성 원인을 알아보기 위해 젓갈의 종류와 양을 달리하여 김치 제조 후 12시간 실온에서 숙성한 후 김치냉장고에 넣기 전 0일 그리고 김치냉장고(-1°C)에 저장하면서 저장 10일과 20일에 DMA 함량 변화를 알아본 결과는 Fig. 2와 같다.

멸치액젓을 첨가한 김치(AK1과 AK2)와 새우젓을 첨가한 김치(SK1과 SK2)는 숙성 12시간 후 김치냉장고 저장 10일에 젓갈의 첨가량이 증가할수록 DMA 함량이 현저하게 증가하였으나, 저장 0일과 20일에 멸치액젓은 첨가량에 따른 유의적인 차이를 보여주지 않았고 새우젓은 첨가량이 증가한 김치에서 유의적으로 높은 DMA 함량을 보여주었다(Fig. 2). 새우젓을 다량 첨가한 김치 SK2가 김치 저장 0, 10, 20일 저장기간 동안 5군의 김치들(C, AK1, AK2, SK1, SK2) 중에서 가장 높은 DMA 함량을 나타내었고, 대조군

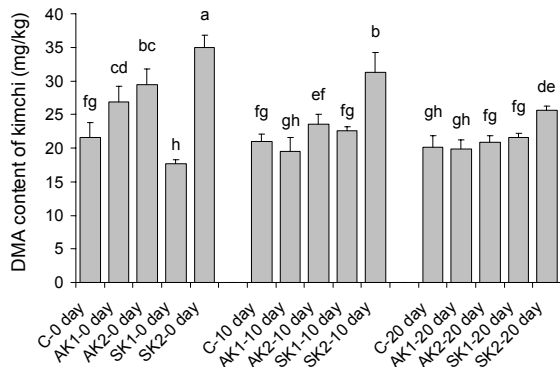


Fig. 2. Change of dimethylamine (DMA) in kimchi during storage for 20 days. Groups (C, AK1, AK2, SK1, and SK2) explanations are the same as in Fig. 1. Values are expressed as the mean±SD (n=3). Means with different letters are significantly different from each other (P<0.05) as determined by Duncan's multiple range test.

(C)과 새우젓이 적게 함유된 김치(SK1)를 제외한 다른 김치들은 저장기간이 지날수록 DMA 함량이 감소하는 경향이였다. 첨가량과 젓갈 종류에 따른 김치 내 DMA 함량 차이는 저장기간이 증가할수록 감소하다가 저장 20일에는 새우젓을 다량 함유한 김치(SK2) 외 모든 김치들이 유사한 DMA 함량을 나타내었다(Fig. 2).

Shon 등(22)은 멸치젓갈의 인공소화 시 니트로사민이 생성되었고 아질산염을 첨가했을 때 니트로사민 함량이 더욱 증가하였다고 보고하였는데 이들 결과들에 의해 젓갈이 김치 내 니트로사민 생성의 주요 요인일 수 있을 것이라는 것을 추정할 수 있었고, 김치에 첨가한 젓갈의 양과 종류가 초기 김치 내 DMA 함량에 영향을 미쳤으며 김치 저장 초기에는 NDMA 함량에 영향을 미칠 것이라 예측할 수 있었다. Shon 등(22)은 인공소화 시스템에서 젓갈 내 DMA가 아질산염과 반응하여 니트로사민 생성 가능성을 제시하였으나 본 연구에서는 김치 양념에 함유된 젓갈과 아질산염을 함유한 절임 배추로 김치를 제조하고 숙성 및 저장 중 NDMA 생성이 가능한지 알아보고 김치 내 NDMA 생성 원인 중 하나가 젓갈의 종류와 양일 것이라는 것을 증명하는 과학적인 결과들을 제시하고자 하였고 이와 같은 연구들은 전무하다.

김치 저장 중 아질산염 및 질산염 함량 변화

멸치액젓과 새우젓을 각각 양을 달리하여 김치를 제조한 후 실온에서 숙성 12시간 다음 김치냉장고(-1°C)에 저장하면서 0, 10, 20일에 김치 내 아질산염과 질산염 함량을 알아본 결과는 Fig. 3A, 3B와 같다.

저장 0일 새우젓 함유 김치(SK1과 SK2), 저장 20일 멸치젓 함유 김치(AK1과 AK2)와 새우젓 함유 김치(SK1과 SK2)는 젓갈을 많이 함유한 김치가 젓갈을 적게 함유한 김치보다 김치 내 아질산염 함량이 낮게 검출되었다(Fig. 3A). 이는 다량의 젓갈 첨가로 김치 내 DMA 함량이 증가하였고 이것이 아질산염과 반응하기 좋은 조건이 되어 김치 내 함유된

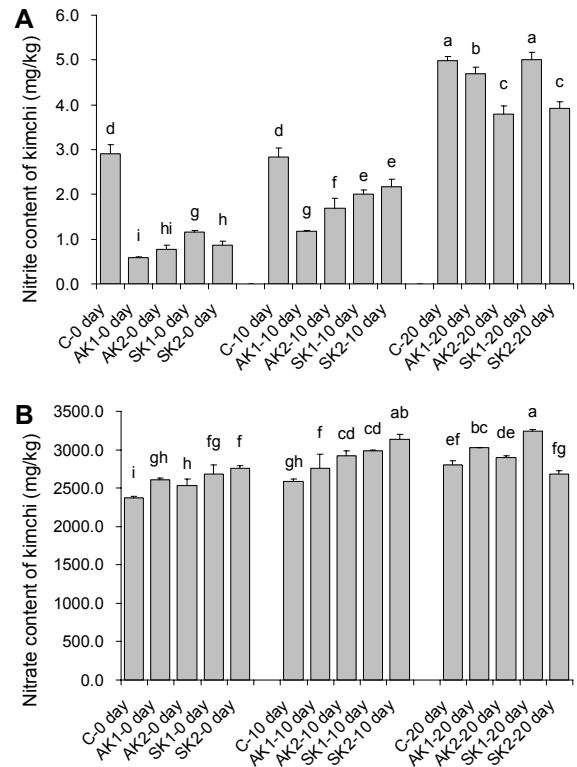


Fig. 3. Changes of nitrite (A) and nitrate (B) in kimchi during storage for 20 days. Groups (C, AK1, AK2, SK1, and SK2) explanations are the same as in Fig. 1. Values are expressed as the mean±SD (n=3). Means with different letters are significantly different from each other (P<0.05) as determined by Duncan's multiple range test.

아질산염이 니트로사민 생성에 사용되었기 때문으로 추정된다. 그러나 환원미생물에 의해 질산염이 아질산염으로 전환될 수 있고 젓갈 종류에 따른 pH에 미치는 영향이 다르고, 젓갈의 양과 종류에 따라 김치 유산균의 성장에 미치는 영향 등 다양한 요인에 의해 김치 내 아질산염의 함량 변화가 일어날 것으로 생각된다.

김치 내 질산염 함량에 대한 젓갈 양의 영향은 미비하였으나 저장 0일과 10일 김치 내 질산염은 다량의 멸치액젓 첨가 김치(AK2)보다는 다량의 새우젓 첨가 김치(SK2)에서, 저장 20일에는 젓갈이 적게 함유된 김치 중에서 멸치액젓 첨가 김치(AK1)보다는 새우젓 첨가 김치(SK1)에서 유의적으로 높은 질산염 함량을 나타내었다(Fig. 3B).

불순한 소금은 질산염과 아질산염을 함유하고 있어 소금의 종류에 따라 젓갈 내 질산염과 아질산염의 함량에 영향을 미칠 수 있고(2), Kim 등(16)은 멸치젓과 새우젓의 질산염 함량이 3.3과 1.6 mg/kg이었고, 아질산염은 두 젓갈 모두 0.3 mg/kg이었다고 보고하였는데 김치의 아질산염 및 질산염 함량에 영향을 미치기에는 적은 함량이었다. Kim 등(23)의 연구에 의하면 김치 숙성 중 질산염 함량은 뚜렷하게 감소하나 아질산염이 비례적으로 증가하지는 않았고 니트로사민 생성은 검출한계 미만이었으며, 김치 숙성 중 멸치젓

및 새우젓 첨가에 따른 DMA 함량은 많았으나 상대적으로 아질산염 함량이 잔존하기 때문에 생성된 니트로사민의 함량은 적은 것으로 고찰되고 있다. 더욱이 김치 숙성 중 아질산염이 생성되지 않는 것이 아니라 질산염에서 아질산염으로 환원되는 동시에 김치 중의 부재료 및 유산균에 의한 소거작용이 연쇄적으로 발생하기 때문에 니트로사민의 생성량은 낮은 것으로 추정할 수 있다(1,21). 본 연구에서는 젓갈의 종류와 양을 달리한 김치 저장 중 질산염 함량 변화는 계속 증가하거나 증가하다 감소하는 경향을 나타내어 김치 숙성 중에 질산염 함량이 감소한다는 Kim 등(23)의 보고와는 일치하지 않았다.

김치 저장 중 NDMA 함량 변화

젓갈의 종류와 양이 김치 내 NDMA 생성에 미치는 영향을 알아본 결과는 Fig. 4와 같다. 김치에서는 니트로사민 중에 NDMA만 검출되었다. 멸치액젓을 첨가한 김치(AK1과 AK2)와 새우젓을 첨가한 김치(SK1과 SK2)는 숙성 12시간 후 김치냉장고(-1°C)에 저장 직전인 저장 0에서 젓갈의 양이 증가할수록 NDMA 함량이 증가하였고 많은 양의 젓갈 첨가 김치군(AK2와 SK2)에서는 멸치액젓 첨가 김치가 새우젓 첨가 김치보다 높은 NDMA 함량을 나타내었으나 적은 양 첨가군(AK1과 SK1)에서는 통계학적으로 유의적 차이가 없었다(Fig. 4). 멸치액젓 첨가 김치(AK1과 AK2)는 저장 10일과 20일에 멸치액젓의 함량에 따른 NDMA 생성에 유의적 차이를 나타내지 않았고, 새우젓 첨가 김치(SK1과 SK2)는 저장 10일까지 젓갈 양이 증가할수록 NDMA 함량이 유의적으로 높았으나 저장 20일에서 유의적 차이는 나타나지 않았다. 김치 저장기간이 증가할수록 NDMA 함량은 감소하는 경향을 보여주었고 김치 저장 20일에 젓갈의 양에 따른 NDMA 함량의 유의적 차이는 없었다(Fig. 4).

Kim(24)은 새우젓이 멸치젓보다 DMA 함량이 높았으나 새우젓과 멸치젓에 아질산염을 첨가하여 숙성시킨 후 니트

로사민을 분석한 결과 NDMA는 멸치젓에 아질산염을 첨가한 군이 새우젓에 아질산염을 첨가한 군보다 높게 검출되었고, 이는 멸치젓이 새우젓보다 산성화가 빠르며 새우젓은 NDMA 생성 시 pH의 변화에 매우 민감하지만 멸치젓은 pH 변화에 비교적 안정적이기 때문이라 추정하였다. 본 연구 결과에서 김치 제조에 사용한 멸치액젓과 새우젓의 DMA와 NDMA 함량은 비슷한데(Table 4), 김치 숙성 12시간 후 저장 0일차 김치에서 많은 양의 멸치액젓 첨가 김치(AK2)와 새우젓 첨가 김치(SK2)에서 보다 높은 NDMA 함량이 검출되었는데 멸치액젓과 새우젓에 함유된 DMA와 배추 등에 함유된 아질산염이 김치 내에서 반응할 때 젓갈의 종류가 영향을 미치는 것으로 추정된다. 본 연구에서도 저장 0, 10, 20일째 같은 양의 멸치젓을 첨가한 김치가 새우젓을 첨가한 김치보다 pH가 약간 낮은 경향을 나타내었는데(Fig. 1), 멸치젓이 새우젓보다 산성화가 빠르다는 연구보고(24)와 유사하였으나 본 연구에서는 김치의 pH 변화가 미비하여 김치의 pH가 니트로사민의 생성에 미치는 영향 역시 미비할 것으로 생각된다.

멸치젓에 아질산염을 첨가하여 인공소화 시킨 다음 *Salmonella* Typhimurium TA98과 TA100을 이용하여 돌연변이 활성을 측정한 결과 아질산염을 첨가하지 않은 인공소화물에도 돌연변이 활성이 있었고 아질산염을 첨가하면 돌연변이 활성이 더욱 증가하는데, 이와 같은 결과는 젓갈에 함유한 니트로사민이 돌연변이원으로 작용할 수 있고 젓갈에 아질산염을 첨가하면 젓갈에 함유된 2급 아민과 아질산염이 인공소화 동안 반응하여 다량의 니트로사민을 생성하기 때문에 돌연변이 활성이 증가한 것으로 추정하였다(22). 따라서 김치는 아민류가 다량 함유한 젓갈과 아질산염과 질산염을 다량 함유한 배추가 함께 공존하므로 김치 내 니트로사민 함량이 낮아도 소화 중에 위내 산성 조건에서 니트로사민 생성 가능성이 높다는 것과 니트로사민은 돌연변이 활성을 나타낼 수 있을 것이라는 것을 시사하고 있다.

그러나 본 연구 결과는 젓갈의 종류와 양이 저장 초기에 NDMA 생성에 영향을 미쳤지만 저장기간이 길어질수록 젓갈의 종류와 양의 영향은 거의 상쇄되었고, NDMA 함량이 감소하였으므로 김치는 숙성되는 과정 중에 김치의 양념에 함유된 니트로사민 저해 물질 및 성장하는 유산균에 의해 니트로사민 생성이 억제되고 직접 니트로사민 및 그 전구물질이 소거되는 일들이 일어나는 것으로 추정할 수 있다(1,21). 초기에 김치 내 니트로사민 저감화 방안은 니트로사민 저해제로 알려진 carotenoids, ascorbic acid, α -tocopherol, 황화합물, 페놀화합물 등(1)을 다량 함유한 김치 양념 개발 및 김치 유산균의 적절한 활용으로 가능할 것으로 생각된다.

요 약

N-Nitrosodimethylamine(NDMA)은 dimethylamine(DMA)

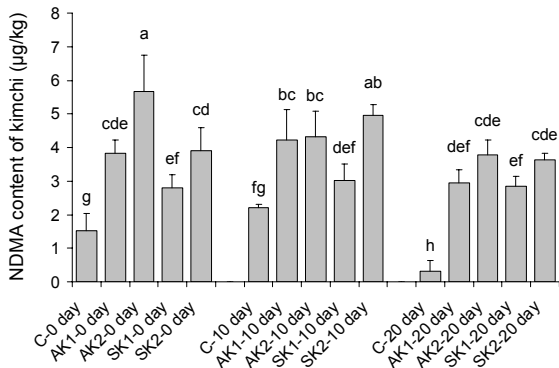


Fig. 4. Changes of *N*-nitrosodimethylamine (NDMA) in kimchi during storage for 20 days. Groups (C, AK1, AK2, SK1, and SK2) explanations are the same as in Fig. 1. Values are expressed as the mean±SD (n=3). Means with different letters are significantly different from each other ($P < 0.05$) as determined by Duncan's multiple range test.

과 아질산염이 반응하여 생성되고 김치의 재료 중 하나인 젓갈은 다량의 DMA를 함유하고 있다. 본 연구에서는 김치 저장 중 NDMA와 그 전구물질 함량 변화에 젓갈의 종류와 양의 영향력에 대해 알아보았다. 젓갈 시료 23건 모두에서 NDMA가 검출되었고 새우젓 9건의 DMA 함량 범위는 16.5~58.9 mg/kg이고, 평균은 30.9 mg/kg이었다. 7건의 멸치액젓에 함유된 DMA 범위는 21.7~44.4 mg/kg이고, 평균은 34.5 mg/kg이었다. 김치는 5그룹으로 나누었다. 즉 멸치액젓과 새우젓을 넣지 않은 김치(대조군), 적은 양의 멸치액젓을 넣은 김치(AK1), 많은 양의 멸치액젓을 넣은 김치(AK2), 적은 양의 새우젓을 넣은 김치(SK1), 그리고 많은 양의 새우젓을 넣은 김치(SK2)로 나누었다. 김치 저장기간 동안 SK2가 SK1보다 DMA 함량이 높았고, 김치 저장 10일 후 AK2가 AK1보다 DMA 함량이 높았다. AK1과 SK1에 함유한 아질산염 함량은 김치 저장 20일에 AK2와 SK2에 함유된 아질산염 함량보다 높았다. 김치 저장 0과 10일에 NDMA 함량이 SK2 내에서 SK1 내의 그것보다 현저하게 높았고, 저장 0일에 AK2 내 NDMA 함량이 AK1 내 그것보다 현저하게 높았다. DMA와 NDMA에 대한 젓갈의 양과 종류에 대한 영향은 저장 초기에는 뚜렷하였으나 20일 동안 저장한 김치에서는 감소하였다. 이들 결과는 젓갈의 함량과 종류가 김치 내 NDMA 형성에 영향을 미친다는 것을 제안하였다.

감사의 글

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

REFERENCES

- 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.
- Al Bulushi I, Poole S, Deeth HC, Dykes GA. 2009. Biogenic amines in fish: roles in intoxication, spoilage, and nitrosamine formation—a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* 49: 369-377.
- Magee PN, Barnes JM. 1956. The production of malignant primary hepatic tumours in the rat by feeding dimethylnitrosamine. *Br J Cancer* 10: 114-122.
- Kang KH, Lee SJ, Ha ES, Sung NJ, Kim JG, Kim SH, Kim SH, Chung MJ. 2016. Effects of nitrite and nitrate contents of chinese cabbage on formation of N-nitrosodimethylamine during storage of kimchi. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 45: 117-125.
- Sohn SM, Oh KS. 1993. Influence of nitrogen level on the accumulation of NO₃⁻ on edible parts of Chinese cabbage, radish and cucumber. *Korean J Soil Sci Fert* 26: 10-19.
- 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. *Korean J Organic Agric* 2: 2-15.
- Teklemariam AD, Tessema F, Abayneh T. 2015. Review on evaluation of safety of fish and fish products. *Int J Fish Aquat Stud* 3: 111-117.
- Park JE, Seo JE, Lee JY, Kwon H. 2015. Distribution of seven N-nitrosamines in food. *Toxicol Res* 31: 279-288.
- Dyer WJ, Mounsey YA. 1945. Amines in fish muscle: II. Development of trimethylamine and other amines. *J Fish Res Board Can* 6: 359-367.
- 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.
- Seo JE, Lim HJ, Chang YH, Park HR, Ham BK, Jeong JK, Choi KS, Park SB, Choi HJ, Hwang JA. 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.
- Kim JD, Lee OH, Lee JS, Jung HY, Kim B, Park KY. 2014. Safety effects against nitrite and nitrosamine as well as anti-mutagenic potentials of kale and *Angelica keiskei* vegetable juices. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 43: 1207-1216.
- 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.
- Jo CH, Park HR, Kim DS, Lee KH, Kim MH. 2010. Exposure assessment of N-nitrosamines in foods. *Korean J Food Sci Technol* 42: 541-548.
- Hotchkiss JH, Barbour JF, Scanlan RA. 1980. Analysis of malted barley for N-nitrosodimethylamine. *J Agric Food Chem* 28: 678-680.
- Kim KR, Shin JH, Lee SJ, Kang HH, Kim HS, Sung NJ. 2002. The formation of N-nitrosamine in kimchi and salt-fermented fish under simulated gastric digestion. *J Fd Hyg Safety* 17: 94-100.
- Yim TK, Yoon MC, Kwon SP. 1973. Study on nitrosamines in food—Part 1. The distribution of secondary amines and nitrites. *Korean J Food Sci Technol* 5: 169-173.
- 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: 1691-1625.
- Ryu CS, Kim EK, Kim YB. 1998. Changes in the bacterial flora during *Kakdugi* fermentation and the physiological characterization of lactic coccal isolates. *Korean J Food Sci Technol* 30: 650-654.
- Ku KH, Kang KO, Kim WJ. 1988. Some quality changes during fermentation of *Kimchi*. *Korean J Food Sci Technol* 20: 476-482.
- Nowak A, Kuberski S, Libudzisz Z. 2014. Probiotic lactic acid bacteria detoxify N-nitrosodimethylamine. *Food Addit Contam Part A* 31: 1678-1687.
- Shon MY, Park HJ, Shin JH, Sung NJ. 2004. Correlation of N-nitrosamine formation and mutagenicity in fermented anchovy under simulated gastric digestion. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 33: 1560-1565.
- Kim SH, Lee EH, Kawabata T, Ishibashi T, Endo T, Matsui M. 1984. Possibility of N-nitrosamine formation during fermentation of kimchi. *J Korean Soc Food Nutr* 13: 291-306.
- Kim JG. 1995. Influence of nitrite and ascorbic acid on N-nitrosamine formation during the fermentation of salted anchovy and small shrimp. *PhD Dissertation*. Gyeongsang National University, Jinju, Korea. p 56-60.