J. Fd Hyg. Safety 13(4), 332 - 336(1998)

김치숙성중 숙성온도, pH 및 소금농도가 니트로스아민의 생성에 미치는 영향

김준환 · 장영상* · 신효선†

*동국대학교 식품공학과, *중부대학교 식품영양학과*

Effects of Temperature, pH and Salt Concentration on Formation of N-nitrosamines during Kimchi Fermentation

Jun-Hwan Kim, Young-Sang Chang* and Hyo-Sun Shin†

Department of Food Science and Technology, Dongguk University, Seoul 100-715, Korea

**Department of Food and Nutrition, Jungbu University, Chungnam 312-940, Korea*

ABSTRACT — The effect of ripening temperature, pH and salinity on the formation of N-nitrosamine (NA) during Kimchi fermentation and in vitro was studied, respectively. During Kimchi fermentation for six weeks at cold storage temperature (4°C) and room temperature (16± 2°C), the contents of nitrite and dimethylamine (DMA) showed variation at room temperature but no variation at cold storage temperature. The maximum generation of nitrosodimethylamine (NDMA) resulted low content (2.69 μg/kg) at cold storage temperature but started to increase after one week fermentation and reached to the 18-fold higher generation (49.6 μg/kg) at room temperature. During Kimchi fermentation, no correlation was observed between the variation of nitrite and DMA content and the generation of NDMA. However, pH showed effective relation to NDMA generation such as the highest NDMA generation was obtained at lowest pH 4. During *in vitro* test, higher temperature and lower pH resulted more NDMA generation and generation amount was affected more by pH. Also, the salinity of Kimchi provided inhibitory effects on the formation of NDMA. NDMA was produced 5.86 μg/kg at normal salinity (2.5%) but 90.9 μg/kg at lower salinity (15%) after three week. The higher salinity showed lower formation of NDMA in vitro test, too.

Key words □ Kimchi, Nitrosamine, Nitrosodimethylamine, Ripening temperature, pH, Salinity

김치의 주 재료로 사용되는 채소류에는 질산염의 함량이 높고 이것은 미생물 등에 의하여 아질산염으로 전환될 가능성이 있으며, 김치에 사용되는 젓갈류로부터 2급아민이 유래될 수 있고, 또 김치는 발효 숙성중 pH가 3~4로 낮아지는 등 김치는 N-nitrosamine(NA)이 생성될 가능성이 높은 식품이다.[1-3] 그러나 현재까지의 연구에 의하면 김치중의 NA 함량은 불검출 또는 미량 함유되어 있는 것으로 보고되고 있다.[1-3] 현재까지 김치에서 검출된 NA는 N-nitrosodimethylamine(NDMA)뿐이고, 그 함량은 대체로 10 μg/kg 이하의 미량이다. 이 양은 우리나라 사람들의 1일 김치섭취량을 115 g으로[4] 할 때 김치로부터 섭취되는 NDMA의 양은 최고 1.15 μg이 되며, 이는 성인 체중 60 kg을 기준으로 할 때 김치로부터 섭취되는 NDMA에 의한 발암유발량의 1/20,000에 불과한 양이다.[5] 즉, 김치에서 생성될 수 있는 NA의 양은 미량으로서 안전성에 문제가 없다고 할 수 있다. 그러나 NA는 자연 환경 중에서 쉽게 생성될 수 있기 때문에 김치의 제조 및 숙성 조건에 따라 그 생성량도 증가 또는 억제될 수 있을 것이다. 따라서 김치의 발효 숙성중 NA의 생성량에 영향을 주는 인자들을 규명하여 NA의 생성이 억제될 수 있는 환경조건을 조성하여 NA의 생성을 최소화함이 바람직 할 것이다. 본 연구에서는 김치숙성중 숙성온도, pH 및 소금농도가 NDMA의 생성에 미치는 영향을 연구하였다. 즉 김치를 저온과 실온의 다른 온도에서 각각 숙성하는 동안 아질산염, dimethylamine(DMA) 및 NDMA의 생성량 및 pH의 변화를 연구하였다. 또한 소금함량이 다른 김치를 각각 숙성하는 동안 NDMA의 함량 변화

† Author to whom correspondence should be addressed.

를 연구하였고, *in vitro*에서 온도, pH 및 소금농도가 NDMA의 생성에 미치는 영향을 연구하였다.

재료 및 방법

재료

김치제조에 사용된 배추, 고춧가루, 생강, 파, 부추, 마늘, 새우젓, 소금은 서울지역의 재래시장에서 구입하였다.

김치 담그기와 저장조건

배추를 2×3 cm로 절단하여 25% 소금물에 약 4시간 절인 다음 수돗물로 4회 씻었고, 젓갈은 waring blender로 균질하게 마쇄하였으며, 마늘과 생강은 잘게 다졌으며, 파와 부추는 적당한 크기로 절단하여 사용하였다. 소금에 절인 배추 1 kg, 고추가루 20 g, 마늘 20 g, 새우젓 25 g을 배합하여 김치를 담근 다음 200 g씩을 폴리에틸렌용기에 넣었다. 또 소금농도의 영향을 알아보기 위하여 소금농도가 2.5%인 김치와 1.5%인 김치를 담그었다. 담근 김치를 저온 냉장온도(4°C)와 실온(16±2°C)에서 6주간 각각 발효 숙성하면서 1주일마다 김치를 취하여 분석시료로 사용하였다.

시료의 전처리

한 개의 용기에 들어있는 김치 내용물을 전부 취하여 잘게 절단하고 같은 양의 증류수를 넣고 waring blender로 마쇄한 다음 4겹의 거즈로 거르고 그 거른 액을 DMA, NA 및 pH의 분석시료로 사용하였다. 이 시료용액의 일부를 다시 원심분리(6000 rpm, 30분)하여 그 상징액을 아질산염의 분석용액으로 하였다.

온도, pH 및 소금농도가 NDMA의 생성에 미치는 *in vitro* 시험

온도와 pH가 NDMA의 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 pH를 4, 5, 6으로 각각 조정한 증류수 200 m*l*에 2 M 아질산염용액과 2 M DMA 용액을 각각 4 m*l*씩 가한 후 저온 냉장온도(4°C)와 실온(16±2°C)에서 48시간 저장한 후 NDMA의 생성량을 측정하였다.

한편, 소금농도가 NDMA의 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 0, 1, 2, 3, 4% 소금용액 200 m*l*에 2 M 아질산염용액과 2 M DMA 용액을 각각 4 m*l*씩 가한 후 저온 냉장온도와 실온에서 48시간 저장한 후 NDMA의 생성량을 측정하였다.

분석방법

아질산염은 diazo법에 따라 발색시킨 다음 Spectrophotometer(Hewlett Packard, 8452A, USA)[6]로 540 nm에서 흡광도를 측정하여 시료 kg당 mg수로 나타내었다. DMA는 Gas Chromatograph(GC, Hewlett Packard, 5890-II, USA)로 분리 정량[7]하여 시료 kg당 mg수로 나타내었다. NA는 시료를 알칼리로 하여 증류한 액을 dichloromethane으로 2회 추출하고 Kuderna-Danish evaporator로 농축한 것을 Gas Chromatograph-Thermal Eenergy Analyzer(GC-TEA)[8]로 전보[3]와 같은 조건에서 분리 정량하였다. pH는 pH메타(Orion EA 940, Orion Research Inc., USA)로 측정하였다.

결과 및 고찰

숙성온도가 김치숙성중 아질산염과 DMA의 함량 및 pH의 변화에 미치는 영향

김치를 저온 냉장온도와 실온에서 6주간 발효 숙성하면서 아질산염의 함량 변화를 측정한 결과는 Fig. 1과 같다. 저온 냉장온도에서 숙성한 경우 아질산염의 함량은 숙성 1주째에 담근 직후보다 약간 증가하여 3.06 mg/kg으로 최대로 생성된 후 숙성 2주째부터는 0.5 mg/kg 이하로 급속히 감소되었다. 실온에서 숙성한 경우 아질산염의 함량은 3주째까지는 서서히 감소하다가 4주째에 6.5 mg/kg으로 급속히 증가되어 6주째까지 거의 같은 수준으로 유지되었는데, 이때 배추김치의 표면에 백색의 막이 형성되어 식용으로 불가능하였다.

한편, 김치를 저온 냉장온도와 실온에서 6주간 발효 숙성하면서 DMA의 함량변화를 측정한 결과는 Fig. 2와 같다. 저온 냉장온도에서 숙성한 경우는 담근 직후 DMA가 2.2 mg/kg으로 3주까지는 거의 같은 수준으로 약간씩 완만하게 감소되었다가 4주째부터 증가하여 6주째에 4.06 mg/kg으로 최대로 생성되었으나, 담근직후때보다 크게 증가되지 않

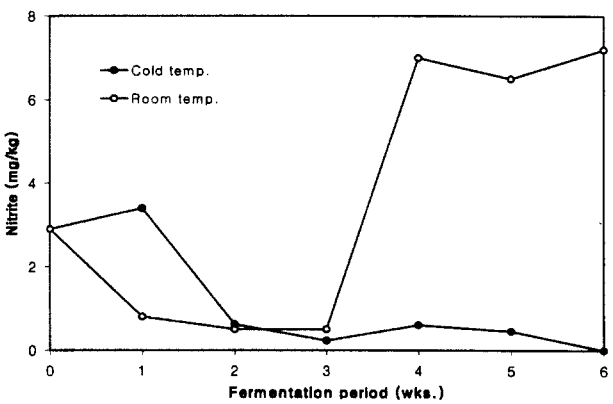

Fig. 1. Changes of nitrite content during fermentation of Chinese cabbage Kimchi at cold (4°C) and room (16±2°C) temperature.

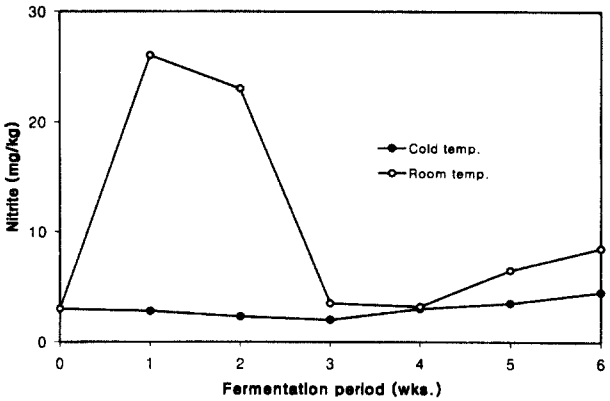

Fig. 2. Chanres of DMA content during fermenation of chinese cabbage Kimchi at cold (4°C) and room (16±2°C) temperature.

았다. 그러나 실온에서 숙성한 경우에는 숙성초기부터 급격히 상승하여 1주째에 25.4 mg/kg에 달하였으며 그 후부터는 감소하여 4주째는 1.92 mg/kg으로 저하되었으며 5주째부터 증가하여 6주째는 8.02 mg/kg으로 되었다. 실온에서 1주일 숙성한 김치중의 DMA 함량은 저온 냉장온도에서 1주일 숙성하였을 때 보다 약 10배 이상 더 많이 생성되었다. 이러한 결과는 김치의 숙성온도가 높으면 DMA의 생성량이 많아져 NDMA의 생성량도 많아질 것으로 추정된다.

김치를 저온 냉장온도와 실온에서 6주간 발효 숙성하면서 pH의 변화를 측정한 결과는 Fig. 3과 같다. 저온 냉장온도에서 숙성한 경우 4주째까지 큰 변화 없이 아주 조금씩 낮아졌으며, 그 후는 다소 급격히 낮아져서 6주째에 5.69로 되었다. 그러나 실온에서 숙성한 경우에는 1주째에 4.42까지 급격히 낮아졌으며 그 후부터는 서서히 낮아져 3주째는 3.79에 이르렀으며, 다시 완만하게 증가하였다.

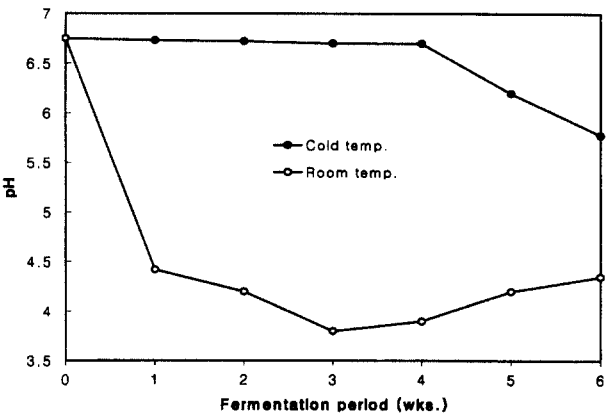

Fig. 3. Changes of pH during fermentation of Chinese cabbage Kimchi at cold (4°C) and room (16±2°C) temperature.

숙성온도가 김치숙성 중 NDMA의 생성에 미치는 영향과 NDMA의 생성량과 아질산염 및 DMA의 함량과 pH 변화와의 관계

김치를 저온 냉장온도와 실온에서 6주간 발효 숙성하면서 NDMA의 생성량 변화를 측정한 결과는 Fig. 4와 같다. 저온 냉장온도에서 숙성한 경우 NDMA의 생성량은 숙성기간동안 거의 변화없이 일정하였으며, 최대 생성량도 2.69 μg/kg으로 아주 낮았다. 그러나 실온에서 숙성한 김치는 1주째부터 증가하기 시작하여 3주째는 49.6 μg/kg으로 최고로 생성되었다가 그 후부터 점차로 감소되어 6주째는 0.9 μg/kg로 낮아졌다. 이와 같은 결과로 볼 때 김치숙성중 숙성온도는 NDMA의 생성에 크게 영향을 미치는 것을 알 수 있었다. 酒井 등[9]은 pH 완충용액에 아질산염과 DMA을 첨가하여 37°C와 60°C에서 3시간 방치하였을 때 NDMA의 생성량은 후자가 전자 때보다 2~3배가 더 많았다고 보고하였다.

김치를 실온에서 6주간 숙성 하는 동안 아질산염의 함량변화와 NDMA의 생성량과의 관계를 보면 아질산염은 숙성초기부터 감소되어 1주에서 3주까지는 0.5 mg/kg 이하였으며 4주째부터는 급격히 증가하여 6주까지는 6.5 mg/kg의 높은 수준으로 유지되었으나 NDMA는 숙성 3주째까지는 급격히 증가되었다가 다시 급격히 감소된 결과로 보아 김치숙성중 아질산염의 함량변화와 NDMA의 생성량과는 거의 관계가 없었다.

또한 김치를 실온에서 6주간 숙성하는 동안 DMA의 함량변화와 NDMA의 생성량과의 관계를 보면 DMA는 숙성 1주째에 급격히 증가되어 2주째까지 거의 같은 수준으로 유지되다가 3주째에 급속히 감소되었는데, NDMA는 3주째까지 급속히 증가되다가 그 후 급격히 감소된 결과로 보아 김치숙성중 DMA의 함량변화와 NDMA의 생성량과는

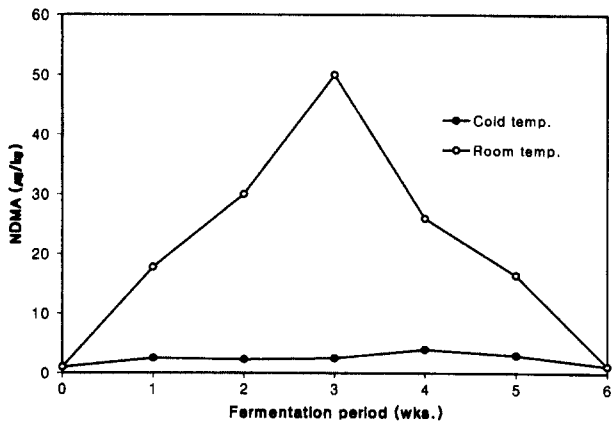

Fig. 4. Changes of NDMA content during fermentation of Chinese cabbage Kimchi at cold (4°C) and room (16±2°C) temperature.

거의 상관관계가 없었다.

한편, 김치를 실온에서 6주간 숙성하는 동안 pH의 변화와 NDMA의 생성량과의 관계를 비교한 결과는 Fig. 5와 같다. 김치를 실온에서 숙성하는 동안 pH는 처음부터 급격히 낮아져 3주째 3.79로 가장 낮았고 그 후부터는 완만하게 증가하였다. NDMA의 생성량도 1주째부터 급격히 증가하여 3주째에 가장 많이 생성되었으며 그 후부터 급격히 감소하였다. 김치숙성중 pH가 낮아지면 NDMA의 생성량은 증가하였으며 pH가 높아지면 NDMA의 생성량도 감소하였다. 따라서 김치숙성중 pH의 변화와 NDMA의 생성량과는 깊은 상관관계가 있는 것으로 추정되었다. 酒井 등[9]은 완충액에 아질산나트륨과 DMA를 가하여 다른 pH에서 NDMA의 생성량을 조사한 결과 pH 3.6에서 가장 많이 생성되었다고 보고하였다.

한편, *in vitro*에서 온도와 pH가 NDMA의 생성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 증류수에 아질산염과 DMA를 첨가하여 저온 냉장온도와 실온에서 48시간 방치한 후 NDMA의 생성량을 측정한 결과는 Table 1과 같다. pH 4에서 NDMA의 생성량은 저온 냉장온도에서는 32.2 μg/kg이었으나 실온에서는 85.9 μg/kg으로 약 2.7배 증가하였다. 그러나 저온 냉장온도에서 NDMA의 생성량은 pH 6에서는

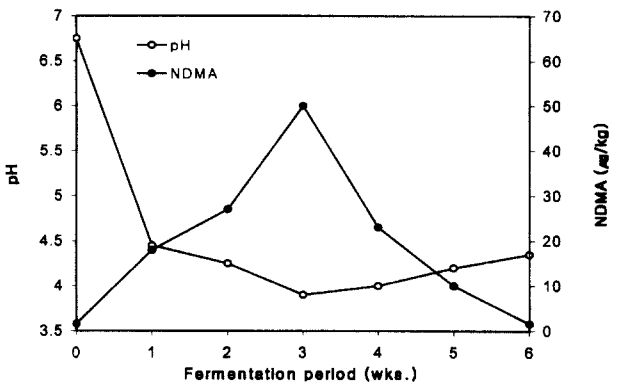

Fig. 5. Relationship between pH change and NDMA formation in chinese cabbage Kimchi during fermation at room (16±2°C) temperature.

Table 1. Effects of temperature and pH on NDMA formation in distilled water with nitrite and DMA[a]

(unit: μg/kg)

Temp. \ pH	6	5	4
Cold temp. (4°C)	3.15	6.73	32.2
Room temp. (14~18°C)	4.29	12.11	85.9

[a]Final concentrations of nitrite and DMA were 4 mM and content of NDMA formed with nitrite and DMA was determined after 48 hours of addition.

약 3.15 μg/kg이었으나 pH 4에서는 32.2 μg/kg으로 약 10배 이상 증가하였다. 이 결과에서 보는 바와 같이 NDMA는 온도가 높을수록 pH는 낮을수록 많이 생성되었으며, 온도보다는 pH의 영향이 더 크다는 것을 알 수 있었다.

소금농도가 김치숙성중 NDMA의 생성에 미치는 영향

소금농도가 2.5%와 1.5%인 김치를 각각 저온 냉장온도에서 4주간 숙성하면서 NDMA의 생성량변화를 측정한 결과는 Fig. 6과 같다. 소금농도가 2.5%인 김치는 숙성기간중 NDMA의 생성량이 최고 5.86 μg/kg의 수준으로 대체로 낮았다. 그러나 소금농도가 1.5%인 김치는 NDMA가 3주째에 최고 90.9 μg/kg까지 생성되었으며, 숙성기간 동안에도 소금농도 2.5%인 김치보다 13~40배 더 많이 생성되었다.

한편, *in vitro*에서 소금농도가 NDMA의 생성에 미치는 영향을 시험한 결과는 Table 2와 같다. 소금농도가 0, 1, 2, 3, 4%인 소금물에 아질산염과 DMA를 첨가하여 48시간 경과하였을 때 NDMA의 생성량은 각각 242.3, 86.2, 70.2, 54.2, 45.5 μg/kg으로 소금의 농도가 증가할수록 NDMA의 생성량은 낮았다. Hildrum 등[10]은 proline의 니트로소화 반응에서 소금이 억제작용을 한다고 보고하였으며, Mirvish 등[11]도 산성에서 소금의 농도가 0.5% 이상이면 NA의 생성이 억제된다고 보고하였다. 또, 식육제품의 염지성분중 소금이 NA의 생성을 억제하는 것으로 보고되었다.[12]

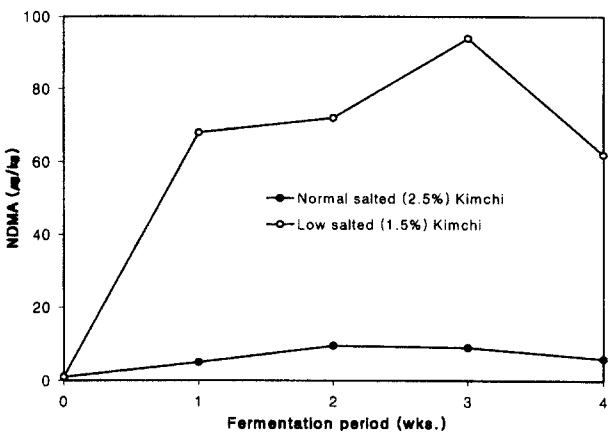

Fig. 6. Effects of salt concentration on NDMA contents in Chinese cabbage Kimchi during fermentation at 4°C.

Table 2. Effects of salt concentration on NDMA formation in salted water with nitrite and DMA

Amounts \ Conc. of salt (%)	0	1.0	2.0	3.0	4.0
NDMA (μg/kg)	242.3	86.2	70.2	54.2	45.5

국문요약

김치숙성중 숙성온도, pH 및 소금농도가 NDMA의 생성량에 미치는 영향과 또한 *in vitro*에서 온도, pH 및 소금농도가 NDMA의 생성에 미치는 영향을 각각 연구하였다. 배추김치를 저온 냉장온도(4℃)와 실온(16±2℃)에서 6주간 숙성할 때 아질산염과 DMA의 함량변화는 실온에서는 숙성기간에 따라 일정하지 않았으나 저온 냉장온도에서는 숙성기간 동안 큰 변화없이 거의 일정하였고 NDMA의 최대생성량도 2.69 μg/kg으로 낮았으나 실온에서는 숙성 일주일째부터 증가하여 3주째는 최대생성량이 49.6 μg/kg으로 저온 냉장때 보다 약 18배 이상 더 많이 생성되었다. 김치숙성중 아질산염과 DMA의 함량변화와 NDMA의 생성량과는 관계가 없었으나 pH의 변화는 NDMA 생성량과 깊은 관계가 있어 김치 숙성중 가장 낮은 pH 4.0 부근에서 NDMA의 생성량도 가장 높았다. *in vitro* 시험에서 NDMA의 생성량은 저온보다는 실온에서 그리고 pH가 낮을수록 더 많이 생성되었고, 그 생성량은 온도보다는 pH의 영향이 더 컸다. 보통 소금농도(2.5%)의 김치와 낮은 소금농도(1.5%)의 김치를 각각 숙성할 때 NDMA의 생성량 변화는 보통 소금농도에서는 숙성기간동안 큰 변화없이 일정하였고 최대 생성량도 5.86 μg/kg으로 낮았으나, 낮은 소금농도에서는 3주째에 최고 90.0 μg/kg 생성되었다. *in vitro*에서도 소금농도가 높을수록 NDMA의 생성량도 낮았다.

참고문헌

1. 박건영, 최홍식: 김치와 니트로소아민. 한국식량영양학회지, **21**, 109 (1992).
2. 박건영, 최홍식: 김치의 항돌연변이성 및 항암성. 한국식품과학회 심포지움 발표논문집, 김치의 과학, p.205 (1994).
3. 김준환, 신효선: 김치숙성중 니트로스아민의 생성에 대한 주원료 및 젓갈의 영향. 한국식품위생안전성학회지, **12**, 333 (1997).
4. 보건복지부: '93 국민영양조사결과보고서 (1995).
5. 김준환: 김치발효중 N-nitrosamine의 생성과 억제. 동국대 박사학위논문 (1996).
6. 日本藥學會編: 衛生試驗法注解. 金原出版株式會社(日本, 東京), pp. 81-82 (1990).
7. Fiddler, W., Doerr, R. C. and Gates, R. A. : Gas chromatographic method for determination of dimethylamine, trimethylamine and trimethylamine oxide in fish-meat frankfutures. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **74**, 400 (1988).
8. 佐藤昭男, 木川 寬, 鈴木幸夫, 河村太郎: 食事に由來するN-nitroso化合物の一日攝取量. 日本食品衛生學雜誌, **26**, 184 (1985).
9. 酒井綾子, 谷村顯雄: 食品中のニトロソアミンに關する研究 (第1報) *in vitro*および *in vivo*におけるジメチルニトロソアミンの生成. 日本食品衛生學雜誌, **12**, 170 (1971).
10. Hildrum, K. I., William, J. L. and Scallan, R. A. : Effect of sodium chloride concentration on the nitrosation of proline at different pH levels. *J. Agric. Food Chem.*, **23**, 439 (1975).
11. Mirvish, S. S., Sams, J., Fan, T. Y. and Tannenbaum, S. R.: Kinetics of nitrosation of the amino acids proline, hydroxyproline and sarcosine. *J. Natl. Can. Inst.*, **51**, 1833 (1973).
12. Theiler, R. F., Sato, K., Aspelund, T. G. and Miller, A. F.: Model system studies on N-nitrosamine formation in cured meats; The effect of curing solution ingredients. *J. Food Sci.*, **46**, 996 (1981).