pISSN 1229-1153 / eISSN 2465-9223 *J. Food Hyg. Saf.*
Vol. 35, No. 2, pp. 125~135 (2020)
https://doi.org/10.13103/JFHS.2020.35.2.125

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

학교급식 수산물의 바이오제닉아민 안전성 평가

김영수* · 김범호 · 김경아 · 김대환 · 윤희정 · 곽신혜 · 강경자 · 조욱현 · 모아라 · 최옥경 · 윤미혜
경기도보건환경연구원 농수산물검사부 안산농수산물검사소

Safety Assessment of Biogenic Amines in School-Meal Fishery Products

Young-su Kim*, Beom-ho Kim, Kyung-a Kim, Dae-hwan Kim, Hee-jeong Yun, Shin-hye Kwak, Kyung-ja Kang, Wook-hyun Cho, A-ra Moh, Ok-kyung Choi, Mi-hye Yoon
Ansan Agro-fishery Products Inspection Center, Agriculture and Fisheries Inspection Department, Gyeonggi province institute of Health and Environment, Ansan, Korea

(Received February 5, 2020/Revised February 20, 2020/Accepted February 27, 2020)

ABSTRACT - This study analyzed the content of eight biogenic amines (BAs), including histamine, in 198 fishery products (121 school-meal products and 77 distributed products) in Korea in 2019. Changes in BA content according to time, temperature, and salt treatment in Japanese Spanish mackerel, chub mackerel, and salmon were also observed. The average histamine content of 198 fishery products was 0.4±2.3 mg/kg, and all were within histamine criteria (200 mg/kg or less). As a result, the margin of exposure (MOE) was calculated to evaluate the risk of fishery products, and school-meal fishery products were evaluated as safe with a MOE of 1 or more. At 30°C, the histamine content of the fish increased rapidly to 144 mg/kg (Japanese Spanish mackerel, 36 h), and 308 mg/kg (chub mackerel, 24 h). When the Japanese Spanish mackerel, chub mackerel, and salmon were stored at 4°C, histamine was not detected for 3 days, and it was not detected for 14 days at -20°C. The BA content (histamines, etc.) of salt-treated Japanese Spanish mackerel and chub mackerel was lower than that of fish not treated with salt.

Key words : Biogenic amines (BAs), Histamine, MOE, School-Meal Fishery Products, Fish

수산물은 단백질의 주요 공급원일 뿐만 아니라 철분, 아연과 같은 무기질과 비타민 A, C, D, 칼슘 등 풍부한 영양소를 제공한다. 특히 성장기에 오메가3의 일종인 EPA와 DHA를 충분히 섭취하면 성인이 되었을 때 유방암 발병 확률이 낮다고 알려져 있는데, 오메가3는 야채류보다 생선 등을 통해 훨씬 효과적으로 섭취할 수 있다. 이러한 이유로 미국에서는 청소년기 아이들의 건강 유지를 위해 EPA와 DHA를 하루에 433 mg에서 600 mg 정도 섭취 할 것을 권고하고 있으며, 이는 일주일에 2-3회 이상 생선을 섭취하여야 하는 양이다[1].

학교급식은 학생들에게 수산물을 통한 영양 공급이라는 목적 외에도 어려서부터 올바른 수산물 식습관을 형성시키는 목적을 갖고 있다. 현재, 전국 초·중·고 11,818개(100%) 학교에서 학교급식을 채택하고 있으며, 5,608,000명(전체 5,612,000명, 99.9%)의 학생이 학교급식을 먹고 있다. 또한 학교급식 식품에서 수산물이 차지하는 비중은 약 13%로 전체 유통 수산물 중 4.5%가 학교급식으로 제공되고 있는 것으로 추정하고 있다[2].

학교급식 식재료 중 수산물 이용 현황을 살펴보면, 수입산 이용 현황이 58.0%로 가장 많았고, 지역산 이용 현황이 0.9%로 가장 적었다[3]. 최근, 학교급식으로 제공 된 갈치조림에서 고래회충이 발견되고 유통기한이 경과한 냉동수산물을 학교급식에 납품하는 등 학교급식 식재료에 대한 문제가 지속적으로 제기되고 있다.

현재, 학교급식 공급 수산물에 대해 방사능, 중금속, 잔류농약에 대한 안전성 조사는 실시되고 있으나, 세계적으로 위해성이 대두[4,5]되고 있는 바이오제닉아민류(Biogenic amines, BAs)에 대해서는 관리가 되지 않고 있는 실정이다.

BAs란 생선 등 단백질을 함유한 식품이 부패 또는 발효·숙성 과정에서 미생물의 탈탄산효소에 의해 생성되는 질소화합물[6]이다. Histamine, tyramine, putrescine, cadaverine,

*Correspondence to: Young-Su Kim, Ansan Agro-fishery Products Inspection Center, Agriculture and Fisheries Inspection Department, Gyeonggi province Institute of Health and Environment, 95 Pa-jangcheon-ro, Jangan-gu, Suwon-si, Gyeonggi 16205, Korea
Tel: Tel: +82-31-290-6672, Fax: +82-31-438-5871
E-mail: ys37k@gg.go.kr

β-phenylethylamine, tryptamine, spermidine, spermine 등이 대표적이고 이 중 잘 알려져 있는 것이 histamine과 tyramine 이다. 이들은 식품의 신선도와 부패의 척도[4]로서 물질마다 독성이 다르다고 알려져 있다. Putrescine, spermidine, spermine 등은 암세포 성장을 촉진하며[7], putrescine, spermidine, tyramine, cadaverine 등은 식품 내 아질산염과 작용하여 발암물질인 N-nitrosamine을 생성할 수 있다고 알려져 있다[8-10].

BAs는 참치, 고등어, 삼치, 장류, 젓갈류, 소시지 등의 식품에 많이 함유되어 있으며[11], 특히, 생선류는 여러 국가에서 수산물을 대상으로 기준을 설정하여 관리하고 있다[12]. 우리나라에서는 2013년부터 수산물 중 냉동어류, 염장어류, 통조림, 건조/절단 등 단순 처리한 것에 한하여 histamine 기준을 200 mg/kg으로 설정하여 관리하고 있다[13,14].

따라서 본 연구에서는 경기도 내 초·중·고 학교급식으로 제공되는 수산물을 통해 발생되는 히스타민 등 BAs에 대한 실태조사를 통하여 학교급식 수산물의 안전성을 평가하고 BAs에 대한 과학적 기초자료로 제공하고자 한다.

Materials and Methods

시료

본 연구를 수행하기 위한 시료는 BAs 모니터링을 위해 2019년 2월부터 10월까지 경기도내 학교급식으로 제공되는 식재료 수산물 121건과 통조림 등 유통 수산물 77건을 사용하였다. 또한, 생선의 온도, 시간과 염 처리에 따른 BAs 변화 연구를 위한 시료는 생물 고등어, 생물 삼치와 연어를 각 1건씩을 사용하였다. 실험에 사용된 수산물은 머리와 꼬리, 뼈, 내장을 제거 한 가식부위를 믹서기(HR1393, Philips Korea Co., Seoul, Korea)로 분쇄하여 균질화한 후 밀폐용 백(Ziploc 275)과 크린랩(30 cm×45 cm)에 각각 소분하여 사용하였다.

표준품 및 시약

BAs 표준물질 [tryptamine (TRY), β-phenylethyl- amine (PHE), putrescine (PUT), cadaverine (CAD), histamine (HIS), tyramine (TYR), spermidine (SPD), spermine (SPM)], 내부표준물질(1,7-diaminoheptane), sodium bicarbonate, ammonium hydroxide 용액과 dansyl chloride는 모두 Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA)사 제품을 사용하였다. Perchloric acid는 Junsei (Kyoto, Japan)사, sodium hydroxide는 Yakuri (Tokyo, Japan)사와 ammonium acetate는 Wako (Osaka, Japan)사 제품을 사용하였다.

실험장비

BAs 분석을 위해 사용한 분석장비는 AQUITY UPLC SQD (Waters, Wisconsin, MA, USA), LC-MSMS (Q Exactive Focus, Thermo Scientific, Bremen, Germany)를 사용하였으며, 분석조건은 Table 1, 2에 나타내었다. 시료 전처리를 위해 전자저울(MSA524SDA, Sartorius, Germany), 왕복식진탕기(MMV-1000W, Eyela, Japan, KBT), 초음파추출장치(Branson 8510, Branson Ultrasonic, Saint Louis, MO, USA), 냉동원심분리기(1236MGR,

Table 1. HPLC parameters for the analysis of biogenic amines

Description	Condition	
Instrument	Acquity Ultra Performance LC	
Column	ACQUITY UPLC® BEH C_{18} (2.1 mm ID×100 mm, 1.7 μm, Waters, Ireland)	
Detector	PDA 254 nm (210-490 nm)	
Mobile phase	A : 0.1 M Ammonium acetate B : 100% Acetonitrile	
Time(min)	A(%)	B(%)
Init.	50	50
8.0	45	55
9.0	35	65
13.0	10	90
15.0	50	50
Flow rate	0.4 mL/min (2 μL injection)	
Column temp.	40°C	

Table 2. LC-MSMS(PRM) analytical conditions

Description Condition		
Instrument Q Exactive Focus UPLC mobile phase		
Column BEH C_{18} column(2.1 mm×100 mm×1.7 μm)		
Flow rate 0.4 mL/min (2 μL injection)		
Time (min)	0.1% Formic acid in DW	0.1% Formic acid in Acetonitrile
Init.	45	55
7.5	35	65
8.0	20	80
11.0	20	80
13.0	10	90
15.0	45	55

HESI source	positive
Sheath gas flow rate (N_2, μL/min)	40
Aux gas flow rate (N_2, μL/min)	15
Sweep gas flow rate (N_2, μL/min)	1
Spray voltage (kv)	3.8
Capillary temp (°C)	320
S-lens RF level	50
Aux gas heater temp (°C)	320

GYROZEN Co., Daejeon, Korea)를 사용하였다. 또한, 저장온도 유지를 위한 장비로 냉장고(MPR-721-PK, Panasonic, Korea), 냉동고(CA-G17DZ, LG, Seoul, Korea), incubator (MICOM CFF-0622, Sanyo, Osaka, Japan) 및 dry oven (DS-FCPO 31, Dongseo Science Co., Dangjin, Korea)을 사용하였다.

표준용액 제조

각 표준품 및 내부표준물질을 0.4 M $HClO_4$에 녹여 약 5,000 mg/kg 되도록 한 것을 표준원액으로 사용하였고, 이를 각각 혼합하여 500 mg/kg이 되도록 하여 혼합 표준용액으로 하였으며, 최종농도가 0.1, 1, 5, 10, 20, 30 mg/kg이 되도록 희석한 것을 표준용액으로 하여 사용하였다.

시료의 전처리

본 연구의 전처리방법은 유해물질분석법 안내서[15] 방법에 따라 균질화된 수산물 5 g을 취하여 시험관에 넣은 후, 0.4 M $HClO_4$ 20 mL를 첨가하여 4°C, 2시간동안 추출하였다. 원심분리기로 3,000 rpm, 4°C, 10분 동안 원심분리 후 상등액을 모으고, 새로운 0.4 M $HClO_4$ 20 mL를 검체에 첨가 후 추출하였다. 따로 모은 상등액과 새로운 상등액을 합친 후, 0.4 M $HClO_4$을 가하여 최종 부피 50 mL로 정용하여 여과지로 여과하였다. 마개 달린 유리시험관에 1 mL를 취한 다음 내부표준물질(100 mg/kg)를 100 μm 가한 후 포화 $NaHCO_3$ 300 μL와 2 M NaOH 200 μL을 차례로 넣어 준 뒤 1% dansyl chloride 2 mL를 첨가하였다. 외부의 빛이 차단된 상태에서 40°C, 45분간 반응시켰다. 25% ammonium hydroxide 100 μL를 첨가하고 실온에서 30분간 반응시켜 남은 댄실염화물을 제거하였다. 아세토니트릴로 최종 부피를 5 mL까지 정용 후 3,000 rpm, 4°C, 5분 동안 원심분리한 후 상등액을 마이크로필터(0.2 μm)로 여과하여 HPLC로 분석하였다.

생선의 온도/시간에 따른 BAs 변화

온도와 시간 변화에 따른 수산물(삼치, 고등어와 연어)의 BAs 함량 변화는 20°C와 30°C에서 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72 시간 각각 경과 후와 -20°C와 4°C에서 3, 6, 9, 12, 24, 48, 72시간, 7일, 14일 각각 경과 후에 BAs 8종의 함량 변화를 관찰하였다. BAs 함량은 모두 3번 반복 분석한 평균값으로 나타내었다.

생선의 염 처리에 따른 BAs 변화

염(20%)을 처리한 수산물(고등어와 삼치)과 처리하지 않은 수산물은 30°C에서 1, 2, 3일 각각 경과 후 BAs 8종의 함량을 분석하였다. BAs 함량은 모두 3번 반복 분석한 평균값으로 나타내었다.

시험법 검증

BAs 함량 분석에 대한 검출한계(limits of detection, LOD)와 정량한계(limits of quantitation, LOQ)는 ICH Quality guidelines[16] 에서 제시한 산출방법에 따라 계산하였으며, 회수율은 고등어와 삼치에 표준물질을 5, 10, 30 mg/kg이 되도록 첨가한 뒤 분석법에 따라 3회 반복 처리하여 측정하였고, 그 평균값으로 나타내었다.

위해성평가

수산물의 섭취를 통한 BAs에 대한 안전성을 평가하기 위하여 식품 중 오염도, 식품 섭취량, 평균 체중 등을 고려하여 인체 총 노출량을 산출하고, 벤치마크용량(BMDL)과 비교하여 MOE (Margin of exposure, 노출한계)를 산출하였다.

수산물의 품목별 1인 1일 평균섭취량은 식품별 일일섭취량[17]과 식품섭취량 산출 표준가이드라인[18] 자료를 바탕으로 1일 인체노출량을 산출하였으며, BAs 함량은 노출량이 저평가되지 않도록 최대 함량을 사용하였다. BAs 중 히스타민을 제외하면 독성 기준값이 아직 설정되어 있지 않아 Codex 에서 제안한 히스타민의 독성 기준값 BMDL (Benchmark Dose Lower bound, 기준용량 하한값, 36,920 μg/kg b.w./day)[18]을 이용하였으며, 산출한 인체노출량과 비교하여 MOE(Margin of exposure, 노출한계)를 산출하였다. MOE는 독성 기준값을 인체노출량으로 나눈 값으로 1보다 작은 값일 때 위해성이 있다고 판단할 수 있다.

통계분석

본 연구에서 얻어진 실험결과에 대한 통계처리는 SPSS 18.0(Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) software를 이용하여 분산분석(ANOVA)을 실시하였으며, 유의성 차이 검증을 위해 사후검증으로 Duncan과 Scheffe's multiple range test (P<0.05)를 이용하여 분석하였다.

Results and Discussion

시험법 검증

분석 결과에 대한 시험법 검증을 위한 검출한계, 정량한계 및 회수율 측정 결과는 Table 3과 같으며, LC-MSMS PRM parameters는 Table 4에 나타내었다. 상관계수는 0.9980-0.9995로 양호한 직선성을 보였다. LOD는 0.0054-0.0448 mg/kg, LOQ는 0.0164-0.1356 mg/kg 수준이었다. 회수율은 80.4-112.6%, 정밀도의 상대표준편차는 6% 이내로 본 연구의 실험 수행에 적합한 것으로 판단되었다[19,20].

수산물의 BAs 함량

학교급식 수산물 121건과 유통 수산물 77건(총 198건)

Table 3. LOD[1], LOQ[2], recoveries and precision of BAs

Biogenic amines	Regression equation	R^2	LOD (mg/kg) (n=7)	LOQ (mg/kg) (n=7)	Recovery±SD[3] (%)[4] (n=3)	Recovery±SD (%)[5] (n=3)	Intraday precision (RSD±SD) (%) (n=5)	Interday precision (RSD±SD) (%) (n=5)
TRY[6]	y = 16783x - 9882.7	0.9980	0.0448	0.1356	97.8±5.2	99.3±0.3	3.40±2.30	4.98±1.25
PHE	y = 16520x - 6259.7	0.9989	0.0258	0.0782	97.0±7.0	99.8±1.2	3.35±2.19	4.62±0.46
PUT	y = 33972x - 24736	0.9980	0.0229	0.0694	98.7±8.0	101.1±0.2	2.27±1.24	4.13±1.15
CAD	y = 51323x - 28651	0.9990	0.0291	0.0881	98.7±3.4	102.5±0.6	2.45±1.93	4.09±0.75
HIS	y = 41413x - 17481	0.9995	0.0406	0.1230	96.8±6.5	99.1±0.6	2.37±2.69	3.28±2.50
TYR	y = 37109x - 11796	0.9984	0.0054	0.0164	98.7±4.9	101.4±0.2	2.18±1.23	3.77±1.73
SPD	y = 49563x - 20022	0.9987	0.0107	0.0325	95.6±10.8	85.1±1.2	2.36±1.44	3.36±1.38
SPM	y = 45676x - 14965	0.9986	0.0102	0.0308	88.1±7.8	81.4±1.0	2.92±2.61	3.19±1.12

[1] Limit of detection, [2] Limit of quantification, [3] Standard deviation, [4]Chub mackerel, [5]Japanese Spanish mackerel.
[6] TRY (tryptamine), PHE (β-phenylethylamine), PUT (putrescine), CAD (cadaverine), HIS (histamine), TYR (tyramine), SPD (spermidine), SPM (spermine).

Table 4. PRM[1] conditions for BAs in eight target analytes

Chemicals	Target ion(CE)[2]	Confirming ion
TRY	394 > 144.08052(30)	394 > 170.09605 394 > 130.06497
PHE	355 > 157.08836(30)	355 > 156.08055 355 > 170.09610
PUT	555 > 170.09599(40)	555 > 70.06567 555 > 186.09090
CAD	569 > 170.09601(30)	569 > 569.22382 569 > 84.08115
HIS	578 > 170.09608(30)	578 > 315.10257 578 > 124.08687
TYR	604 > 170.09612(40)	604 > 171.10387 604 > 234.05794
SPD	845 > 360.17300(50)	845 > 170.09610 845 > 84.08118
SPM	1135 > 360.17316(50)	1135 > 624.26636 1135 > 667.30890

[1] PRM : Parallel reaction monitoring.
[2] CE : Collision energy.

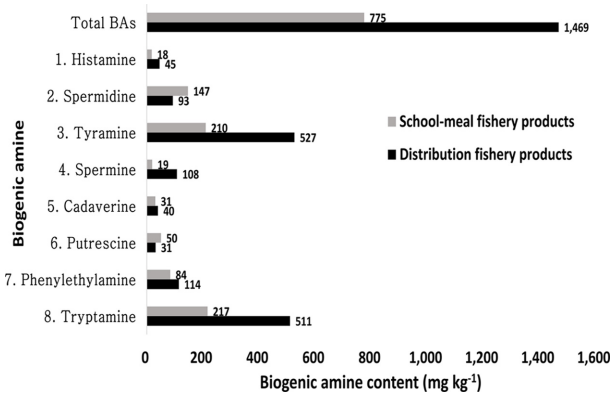


Fig. 1. Distribution of BAs content of distribution fishery products and school-meal fishery products (P<0.05).

에 대한 BAs 8종의 분석결과는 Table 5, 6에 나타내었다. 198건의 BAs 평균 함량은 14.4±17.7 mg/kg(히스타민 평균 함량 0.4±2.3 mg/kg)이었다. 유통 수산물은 평균 BAs 함량이 19.1±19.7 mg/kg(히스타민 0.6±3.4 mg/kg)이었고, 학교급식 수산물은 평균 BAs 함량이 11.4±15.7 mg/kg(히스타민 0.3±1.2 mg/kg)으로 나타났으며, 이는 히스타민의 국내·외 기준 규격[12]에 적용하였을 때 모두 적합한 수준이었다. Fig. 1에서 보는 바와 같이 학교급식 수산물이 유통 수산물에 비해 평균 BAs과 평균 히스타민 함량이 모두 낮게 나타나 학교급식 수산물이 유통 수산물에 비해 안전하게 유통되고 있는 것으로 나타났으며, t-검정 결과 통계적으로 유의한 차이를 보였다(P<0.05).

유통 수산물은 꽁치에서 tryptamine이 98 mg/kg으로 가장

Table 5. The mean concentrations of BAs in distribution fishery products (Unit : mg/kg)

Division	Items	Subcategory	No.	TRY[1)]	PHE	PUT	CAD	HIS	TYR	SPD	SPM	Total BA_S
Distribution fishery product		Total	198	ND-97.8 (4.6±11.4)	ND-21.5 (1.1±2.8)	ND-16.1 (0.6±2.0)	ND-14.5 (0.5±1.7)	ND-29.6 (0.4±2.3)	ND-43.1 (4.2±81)	ND-22.4 (1.9±3.8)	ND-2.2 (1.1±2.6)	ND-106.1 (14.4±17.7)
		Subtotal	77	ND-97.8 (6.6±16.0)	ND-16.6 (1.5±2.9)	ND-6.5 (0.4±1.0)	ND-8.6 (0.5±1.4)	ND-29.6 (0.6±3.4)	ND-43.1 (6.8±10.2)	ND-4.4 (1.2±1.4)	ND-12.5 (1.4±2.4)	ND-106.1 (19.1±19.7)
	External blue colored fish	Chub mackerel	19	ND-56.3 (8.3±16.1)	ND-6.4 (1.6±2.4)	ND-2.0 (0.3±0.6)	ND-4.2 (0.7±1.3)	ND-0.9 (0.1±0.3)	ND-20.1 (6.3±6.5)	ND-4.4 (1.8±1.6)	ND-4.9 (1.2±1.8)	ND-60.7 (20.3±17.4)
		Japanese Spanish mackerel	13	ND-43.1 (4.8±11.3)	ND-0.5 (0.0±0.1)	ND-0.5 (0.0±0.1)	ND-2.9 (0.2±0.8)	ND-2.6 (0.2±0.7)	ND-6.3 (2.2±2.1)	ND-3.9 (2.0±1.4)	ND-12.5 (2.2±3.3)	2.5-46.2 (11.7±11.5)
		Pacific saury	6	4.5-97.8 (27.2±32.8)	ND-16.6 (6.0±5.8)	ND-1.4 (0.4±0.6)	ND-2.9 (0.5±1.0)	ND-2.0 (0.3±0.7)	ND-23.6 (9.8±8.5)	ND-3.5 (1.9±1.5)	ND-9.9 (3.9±4.2)	23.9-106.1 (50.0±27.4)
		(pacific) Herring	5	ND-29.1 (8.3±11.5)	ND	ND-2.4 (1.0±1.0)	ND-5.2 (1.6±2.1)	ND	ND-2.3 (1.1±0.9)	ND-4.1 (1.4±1.8)	ND-3.8 (1.2±1.5)	ND-40.6 (14.5±14.6)
		Horse mackerel	1	ND	0.7	ND	ND	ND	10.3	ND	ND	11.0
	White fish	Flounder	2	ND-0.3 (0.1±0.1)	ND	ND	ND	ND	ND-1.0 (0.9±0.1)	ND-0.3 (0.2±0.1)	ND-3.1 (2.8±0.3)	3.9-4.2 (4.1±0.2)
		Frozen pollack, Alaska pollack	2	ND-6.3 (3.2±3.2)	ND	0.4-2.4 (1.4±1.0)	ND-0.2 (0.1±0.1)	ND-0.2 (0.1±0.1)	1.9-2.1 (2.0±0.1)	0.6-1.3 (1.0±0.3)	ND	5.8-9.6 (7.7±1.9)
		Pacific cutlass fish	3	ND-7.4 (4.5±3.2)	ND-5.94 (2.0±2.8)	ND	ND-0.2 (0.1±0.1)	ND	ND-0.3 (0.1±0.1)	ND-1.3 (1.2±0.1)	ND-2.4 (1.8±0.6)	2.1-17.1 (9.7±6.1)
		Crusian carp	1	4.0	ND	ND	ND	ND	1.2	0.2	0.7	6.1
	Crustaceans	Shrimp	2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	Mollusks	Squid	6	ND-49.9 (9.5±18.3)	ND-3.3 (1.0±1.4)	ND-0.1 (0.0±0.0)	ND	ND-1.2 (0.2±0.4)	0.3-2.9 (1.3±0.8)	0.2-3.6 (1.3±1.2)	ND-4.7 (1.5±1.7)	1.7-55.3 (14.9±18.7)
		Long arm octopus	1	ND	ND	ND	2.2	ND	0.6	0.1	3.0	5.9
		Octopus	1	ND	ND	ND	2.1	ND	1.2	0.9	ND	4.2
	can	Can	15	ND-3.7 (0.3±0.9)	ND-6.8 (2.4±2.5)	ND-6.5 (1.0±1.9)	ND-8.6 (0.6±2.1)	ND-29.6 (2.5±7.4)	ND-43.1 (19.1±14.5)	ND	ND-2.6 (0.2±0.6)	ND-65 (26.0±17.7)

[1)] TRY (tryptamine), PHE (β-phenylethylamine), PUT (putrescine), CAD (cadaverine), HIS (histamine), TYR (tyramine), SPD (spermidine), SPM (spermine).

[2)] ND : Not detected (amine level is less than LOD).

[3)] The range from minimum – maximum (Mean ± Standard deviation).

Table 6. The mean concentrations of BAs in school-meal fishery products (Unit : mg/kg)

Division	Items	Subcategory	No.	TRY[1)]	PHE	PUT	CAD	HIS	TYR	SPD	SPM	Total BA_S
School -meal fishery products		Subtotal	121	ND-44.7 (3.3±6.9)	ND-21.5[3)] (0.9±2.8)	ND-16.1 (0.8±2.4)	ND-14.5 (0.5±1.8)	ND-10.0 (0.3±1.2)	ND-36.0 (2.5±5.9)	ND-22.4 (2.3±4.7)	ND-22.2 (0.9±2.7)	ND-69.9 (11.4±15.7)
	External blue colored fish	Chub mackerel	6	ND-20.8 (6.9±7.7)	ND-21.5 (5.1±8.0)	ND-2.5 (1.3±0.0)	ND-1.2 (0.6±0.0)	ND	2.1-23.7 (11.8±8.0)	ND-3.9 (2.6±1.5)	ND-3.8 (0.7±1.8)	8.3-50.0 (28.9±13.9)
		Japanese Spanish mackerel	9	ND-6.0 (1.0±2.0)	ND-2.8 (0.8±1.1)	ND-0.7 (0.1±0.2)	ND-5.8 (1.1±2.1)	ND	ND-5.7 (2.8±1.9)	ND-4.07 (1.8±1.6)	ND-5.1 (2.2±2.1)	3.1-20.1 (9.8±5.3)
		Pacific saury	1	ND[2)]	ND	ND	ND	ND	ND	3.3	2.7	6.0
		Salmon	8	ND-3.6 (0.4±1.2)	ND	ND	ND	ND-6.8 (2.1±2.4)	ND	ND	ND	ND-6.8 (2.5±2.3)
		Amberjack	8	ND-6.5 (1.8±2.2)	ND-13.4 (4.2±5.4)	ND-2.3 (0.3±0.8)	ND-2.8 (0.4±0.9)	ND-1.1 (0.1±0.3)	9.3-36.0 (17.5±9.0)	ND-14.7 (2.3±4.8)	ND-5.6 (0.7±1.8)	10.0-58.4 (27.4±17.0)
		Anchovy	14	ND-23.77 (14.1±7.0)	ND-5.6 (1.4±2.2)	ND-14.2 (3.2±4.0)	ND-3.8 (0.3±1.0)	ND-0.4 (0.0±0.1)	ND-13.6 (4.2±4.8)	ND-22.4 (11.2±7.4)	ND-4.0 (0.4±1.1)	17.5-50.1 (34.9±11.5)
		Katsuo bushe	1	5.9	ND	ND	14.5	10.0	5.1	12.1	22.2	69.9
		Okhotsk atka mackerel	9	ND-1.2 (0.3±0.5)	ND	ND	ND-0.5 (0.1±0.1)	ND-1.7 (0.2±0.5)	ND	ND-3.5 (0.8±1.3)	ND-5.7 (1.0±2.0)	ND-8.3 (2.3±2.4)
	White fish	Flounder	3	ND	ND	ND	ND	ND-0.3 (0.1±0.2)	ND-2.6 (0.9±1.2)	ND-1.7 (0.6±0.8)	ND	ND-2.9 (1.5±1.2)
		Frozen pollack	11	ND-8.7 (0.8±2.5)	ND	ND-7.8 (0.9±2.2)	ND-5.4 (0.5±1.6)	ND-1.1 (0.1±0.3)	ND-2.2 (0.2±0.6)	ND-3.4 (0.5±1.1)	ND	ND-13.6 (3.0±5.1)
		Pacific cutlass fish	1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
		Pacific cod	10	ND-15.4 (2.3±4.7)	ND	ND-5.8 (0.6±1.8)	ND	ND	ND	ND-4.1 (0.6±1.3)	ND-11.3 (2.0±4.0)	ND-36.6 (5.4±11.2)
		Monkfish	7	ND-8.4 (1.2±2.9)	ND	ND	ND	ND	ND	ND-3.6 (0.5±1.2)	ND-7.9 (1.1±2.8)	ND-8.4 (2.8±3.6)
		Pacific ocean perch	1	ND	2.6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.6
	Crustaceans	Shrimp	2	ND-0.8 (0.4±0.4)	ND	ND	ND	ND	ND	ND-4.5 (2.3±2.3)	ND	ND-5.3 (2.7±2.7)
		Crab	8	ND-1.3 (0.3±0.5)	ND	ND	ND-7.0 (1.7±3.0)	ND	ND	ND-7.7 (1.6±2.9)	ND	ND-12.2 (3.7±4.3)
	Shellfishes	Fresh water snail	1	2.6	ND	16.1	0.0	ND	ND	8.0	1.9	28.7
		Mussel	1	0.9	2.8	1.4	2.3	ND	5.1	ND	0.0	12.5
	mollusks	Squid	2	ND	ND-3.9 (2.0±2.0)	ND	ND	ND	ND-2.5 (1.2±1.2)	ND	ND	ND-6.4 (3.2±3.2)
		Long arm octopus	10	ND-19.8 (2.6±6.0)	ND	ND-6.0 (0.8±1.8)	ND-2.7 (0.4±0.8)	ND	ND	ND-2.9 (0.8±1.2)	ND-1.8 (0.2±0.5)	ND-22.2 (4.7±6.3)
		Webfoot octopus	8	ND-44.7 (6.7±14.6)	ND	ND	ND	ND	ND	ND-1.1 (0.1±0.3)	ND	ND-44.7 (6.8±14.5)

[1)] TRY (tryptamine), PHE (β-phenylethylamine), PUT (putrescine), CAD (cadaverine), HIS (histamine), TYR (tyramine), SPD (spermidine), SPM (spermine).
[2)] ND : Not detected (amine level is less than LOD). [3)] The range from minimum – maximum (Mean ± Standard deviation).

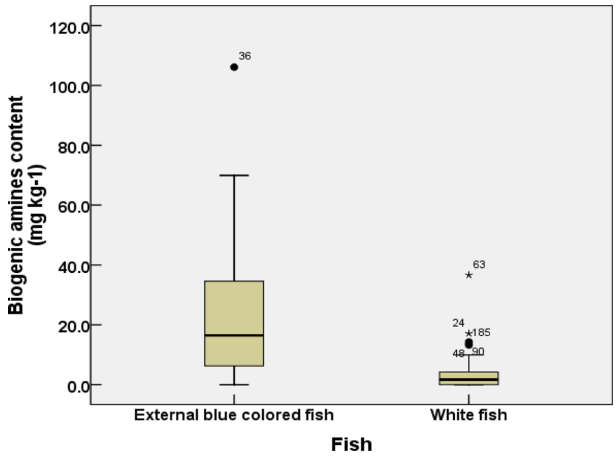


Fig. 2. Distribution of BAs content of externally blue colored fish and white fish. Mean values in the same column that are not followed by the same letters are significantly different (P<0.05).

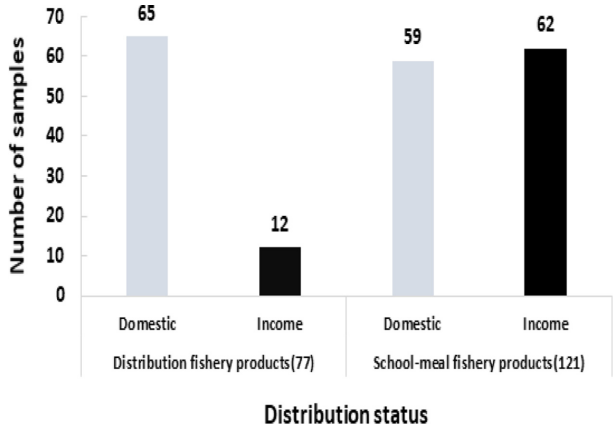


Fig. 3. Distribution of country of origin of distribution fishery products and school-meal fishery products.

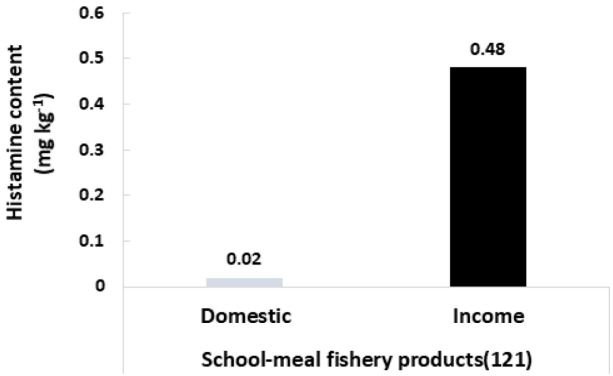
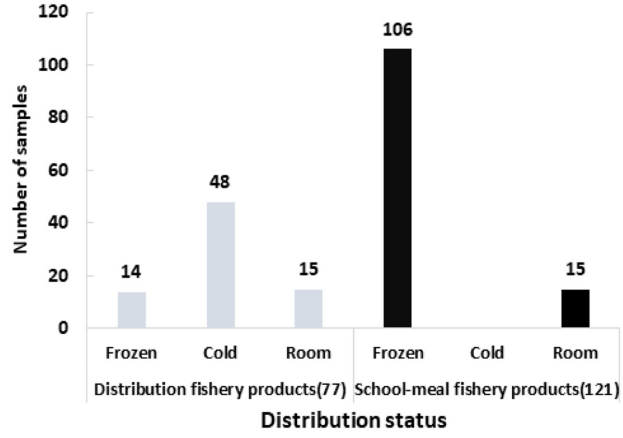


Fig. 4. Distribution of BAs content by country of origin in school-meal fishery products (P<0.05).



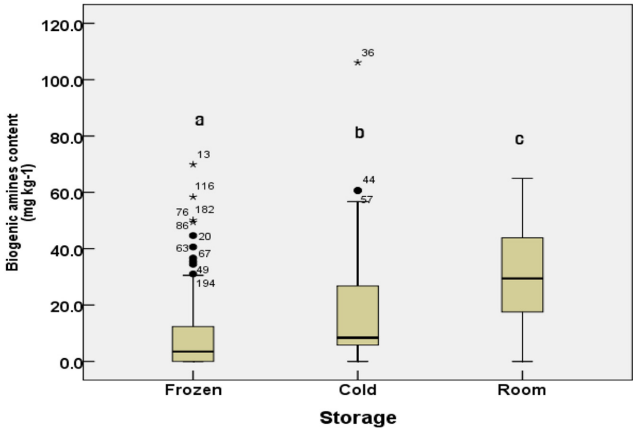


Fig. 5. Distribution of BAs content according to storage method of distribution fishery products and school-meal fishery products. Mean values in the same column that are not followed by the same letters are significantly different (P<0.05).

높게 검출되었고, 히스타민은 참치통조림에서 30 mg/kg으로 가장 높게 검출되었다. 학교급식 수산물에서는 쭈꾸미에서 tryptamine이 45 mg/kg으로 가장 높게 검출되었고, 히스타민은 가다랭이포에서 10 mg/kg 으로 가장 높게 검출되었다. Tryptamine은 tryptophan이 전구체가 되어 탈탄산작용에 의하여 얻어진 BAs로 혈압 상승 및 histamine 산화를 억제하여 인체에 히스타민 독성을 증가시키는 것으로 밝혀져 있다[21].

등푸른 생선과 흰살 생선의 평균 BAs과 히스타민 함량은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 등푸른 생선이 약 4-5배 모두 높았으며, 등푸른 생선과 흰살 생선의 BAs 함량은 통계적으로 유의한 차이를 보였다(P<0.05). 이는 부패가 진행하는 동안 근육 타입 별로는 흰색 근육보다 참치, 고등어 같은 짙은색 근육에서 더 빨리 많은 아민을 생성하고[22], 또한 붉은살 생선은 근육조직에 히스티딘이 풍부하게 함유되어 있다고 보고[23]하고 있는 내용에 부합한다고 판단된다.

원산지 분류 현황(Fig. 3)에서 유통 수산물은 수입산 비율이 전체 유통 수산물에 15%이었고 학교급식 수산물은

전체 학교급식 수산물의 51%를 차지하여 학교급식에서 수입산 비율이 유통 수산물보다 약 3배가 높은 것을 확인하였다.

학교급식 수입산 수산물의 히스타민 평균 함량은 Fig. 4에서 나타난 바와 같이 국내산에 비해 높은 함량으로 나타났으며, t-검정 결과 통계적으로 유의한 차이를 보였다 (P<0.05).

학교급식 수산물은 Fig. 5에서 나타난 바와 같이 87%(106건)가 냉동으로 유통되고 있었고, 보관방법에 따른 BAs 함량은 냉동 유통 수산물이 실온 유통 수산물에 비해 약 4배 정도 낮게 조사되었으며, 통계적으로 유의한 차이를 보였다(P<0.05). 이는 어류에서 BAs 함량은 항구에 도착하여 냉동하는 경우와 선상에서 냉동 또는 냉장하는 경우에 따라 다르다고 보고[24]한 결과와 유사하였다.

BAs 간 상관관계를 살펴본 결과는 Table 7과 같으며, 95% 신뢰수준에서 2개의 BAs 간 상관관계가 있었고, 99% 신뢰수준에서 5개의 BAs 간 상관관계가 있음을 알 수 있었다.

수산물 BAs 위해성 평가

학교급식과 유통 수산물 198건에 대해 모니터링한 자료 중 품목별 BAs의 최대 함량으로 산출한 노출량과 히스타민의 독성 기준값으로사용한 BMDL (36,920 μg/kg b.w./day)[19]을 이용하여 MOE를 산출한 결과는 Table 8과 같다. 유통 수산물의 MOE가 꽁치에서 최소 581로 확인되어 MOE가 1보다 훨씬 높아 학교급식과 유통 수산물의 위해성은 낮은 것으로 평가되었다.

생선의 온도/시간에 따른 BAs 함량

삼치, 고등어, 연어의 온도와 시간에 따른 BAs 함량 변화 결과, 모두 온도와 시간이 증가함에 따라 증가하는 추세를 관찰하였다(Fig. 6). 이는 저장 및 숙성과정에서 미생물의 작용으로 BAs 함량이 늘어날 수 있다는 보고[25]와 동일한 경향을 보였다.

삼치는 30°C, 36시간 경과 후에 히스타민 함량이 144 mg/kg로 급격히 증가하였으며, 고등어는 30°C, 24시간 경과 후에 히스타민 함량이 308 mg/kg로 급격히 증가하였으나, 연어는 서서히 증가하는 경향을 보여주었다. 그러나 삼치, 고등어, 연어의 어종 간의 온도, 시간에 따른 BAs 함량 간의 통계적 유의한 차이는 없었다(P<0.05).

또한, 4°C에서는 3일까지, -20°C에서는 14일까지 삼치, 고등어, 연어 모두 히스타민이 검출되지 않았다. 20°C 이상에서는 모두 미생물의 탈탄산 효소의 작용으로 BAs이 생성되었으며, 4°C 이하에서는 미생물의 탈탄산 효소의 작용이 억제되는 환경 영향에 기인한다고 사료된다.

이러한 결과는 4°C, 10°C, 22°C에서 다랑어의 histamine 함량조사에서 22°C에 1일 300 mg/kg이 증가한다는 보고[25]와 20°C, 35°C에서 저장하는 동안 종에 따라 다르지만, histamine이 2-6일에 500 mg/kg 이상 생성한다는 보고와 냉동보관 시 히스타민은 증가하지 않는다는 보고[26] 내용과 유사하였다.

온도와 시간 경과에 따라 히스타민 등 BAs이 증가하므로 생선 유통은 냉장 또는 냉동차를 이용하고 가능한 신속히 섭취하여야 하며, 실온에서의 보관은 환경에 따라 24

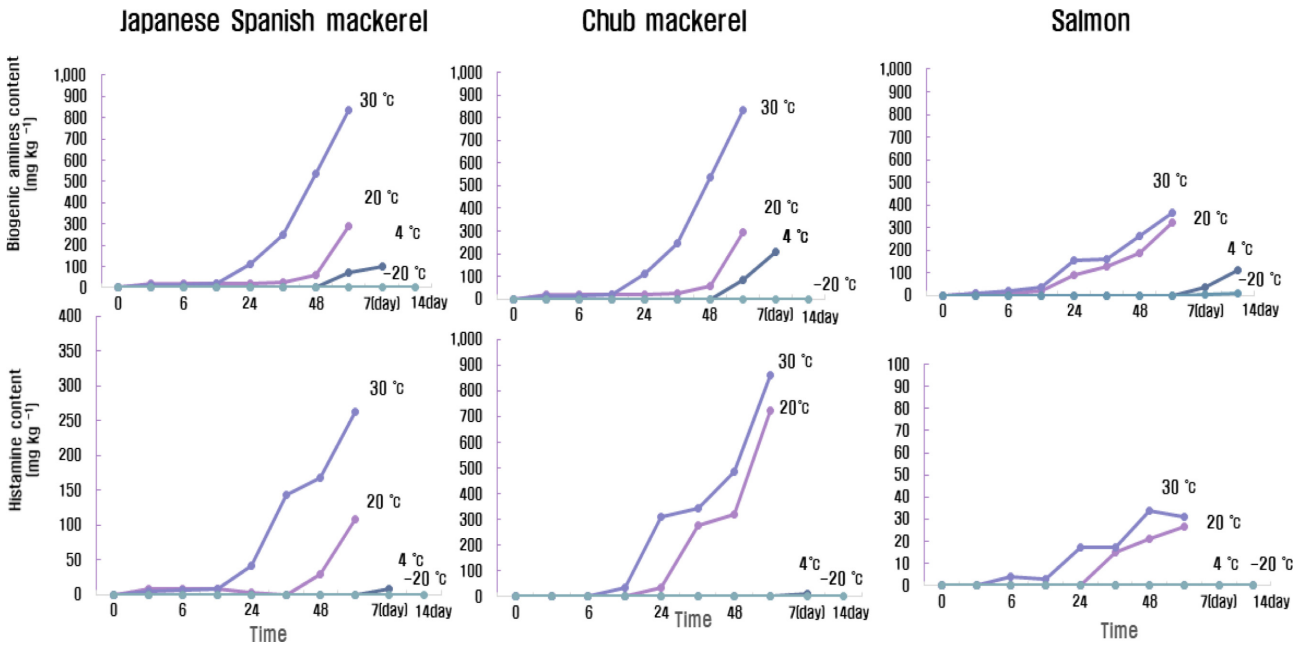


Fig. 6. Changes in BA content with temperature and time(20°C, and 30°C for 3, 6, 9, 12, 24, 48, and 72 h, -20°C, and 4°C for 3, 6, 9, 12, 24, 48, and 72 h, 7 days, and 14 days) of Japanese Spanish mackerel, chub mackerel, and salmon.

Table 7. Pearson's correlation among BAs from the results of monitoring distribution fishery products and school-meal fishery products (198 samples)

	TRY[1)]	PHE	PUT	CAD	HIS	TYR	SPD	SPM
TRY	NS[2)]	NS	NS	NS	NS	NS	0.180*[3)]	NS
PHE	NS	NS	NS	NS	NS	0.621**	NS	NS
PUT	NS	NS	NS	NS	NS	NS	0.415**	NS
CAD	NS	NS	NS	NS	0.474**	NS	0.168*	0.390**
HIS	NS	NS	NS	0.474**	NS	NS	NS	NS
TYR	NS	0.621**	NS	NS	NS	NS	NS	NS
SPD	0.180*	NS	0.415**	0.168*	NS	NS	NS	0.201**
SPM	NS	NS	NS	0.390**	NS	NS	0.201**	NS

[1)] TRY (tryptamine), PHE (β-phenylethylamine), PUT (putrescine), CAD (cadaverine), HIS (histamine), TYR (tyramine), SPD (spermidine), SPM (spermine).
[2)] NS (Not significant).
[3)] * $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$.

Table 8. Results of MOE[1)] risk assessment from calculating the dosage with BMDL[2)] and the maximum content of BAs per item of distribution fishery products and school-meal fishery products

Item	Number of samples	Daily intake (g/day)	TRY	PHE	PUT	CAD	HIS	TYR	SPD	SPM
Chub mackerel	25	55.69	648	1693	14543	8680	39854	1540	8331	7368
Japanese Spanish mackerel	22	59.7	790	12270	53179	5949	13233	5412	8434	2719
Pacific saury	7	35.77	581	3417	40014	20400	29069	2404	16008	5749
Salmon	8	67.08	8440	ND[3)]	ND	ND	4465	ND	ND	ND
Amberjack	8	49.72	6283	3039	17780	14415	42703	1135	2786	7402
(pacific) Herring	5	60.99	1142	ND	13850	6441	ND	12943	8173	8797
Anchovy	14	4.36	24063	ND	33016	124176	1268339	207861	20786	116957
Horse mackerel	1	66.15	ND	46112	ND	ND	ND?	2976	ND	ND
Katsuo bushe	1	19.76	17365	ND	ND	7109	10258	19959	8470	4626
Okhotsk atka mackerel	9	55.14	31038	ND	ND	ND	22029	ND	10475	6462
Flounder	5	55.49	30842	ND	ND	ND	21890	ND	10409	6421
Frozen pollack, Alaska pollack	13	40.78	5738	ND	20625	260702	45670	22193	14768	ND
Pacific cutlass fish	4	39.58	6976	8689	ND	269311	ND	169040	39017	21469
Pacific cod	10	45.13	2913	ND	7704	ND	ND	ND	11079	3982
Monkfish	7	116.62	2078	ND	ND	ND	ND	ND?	4875	2192
Crusian carp	1	110.1	4605	ND	ND	ND	ND	15815	76117	27335
Pacific ocean perch	1	177.86	2850	ND	ND	ND	ND	9790	47119	16921
Shrimp	4	14.00	186143	ND	ND	ND	ND	ND	32071	ND
Crab	8	42.24	36350	ND	ND	6904	ND	ND	6258	ND
Fresh water snail	1	7.84	99042	ND	16096	ND	ND	ND	32179	136376
Mussel	1	20.28	111081	35390	73786	43595	ND	19655	ND	ND
Squid	8	29.12	1396	17785	605314	ND	57984	24310	19435	14830
Long arm octopus	11	60.15	1703	ND	ND	15340	ND	60685	11653	11348
Webfoot octopus	8	54.94	828	ND	ND	ND	ND	ND	35007	ND
Octopus	1	21.81	ND	ND	ND	43564	ND	79298	100026	ND
Can	15	29.45	18586	10158	16569	8053	2326	1601	ND	ND

[1)] MOE (Margin of exposure) : Exposure limit, less than 1 is dangerous,
MOE = BMDL (μg/kg b.w./day) / Dosage (μg/kg b.w./day), Dosage (μg/kg b.w./day) = Daily average intake of each person (g/day) × BAs content (μg/mL) / weight (kg), weight: 55 kg.
[2)] BMDL (μg/kg b.w./day, benchmark dose lower bound, standard capacity lower limit), As there is no toxicological data besides that of histamines, we applied BMDL (36,920 μg/kg b.w./day) of histamine proposed by Codex.
[3)] ND : Not detected.

Table 9. Changes in BAs and histamine content of salted and non-salted fish of 20% salt concentration at 30°C temperature (Unit : mg/kg)

Period (days)	Japanese Spanish mackerel				Chub mackerel			
	Histamine		Total BA[1)]		Histamine		Total BA	
	non-salted	salted	non-salted	salted	non-salted	salted	non-salted	salted
1	41.3[a)]±0.1[2)]	0.0[a)]±0.0	113.5[a)]±0.1	25.2[a)]±0.3	308.2[b)]±0.9	0.0[a)]±0.0	418.9[c)]±0.7	31.8[a)]±3.3
2	168.9[a)b)]±0.2	0.0[a)]±0.0	537.7[c)]±0.2	14.7[a)]±0.0	515.4[b)]±0.4	0.0[a)]±0.0	818.2[c)]±0.4	24.9[a)]±0.0
3	267.8[b)]±0.1	0.0[a)]±0.0	840.7[c)]±0.1	17.8[a)]±0.0	793.8[b)]±1.5	0.0[a)]±0.0	1286.6[c)]±1.5	31.1[a)]±0.0

[1)] Total BA(Sum of Biogenic amines 8 species : TRY (tryptamine), PHE (β-phenylethylamine), PUT (putrescine), CAD (cadaverine), HIS (histamine), TYR (tyramine), SPD (spermidine), SPM (spermine)).

[2)] Results are expressed as mean ± standard deviation. Different superscripts in the same column indicate significant differences between groups at $P<0.05$ by Duncan's multiple comparison test.

시간 이내에 히스타민 기준(200 mg/kg)을 초과할 수 있으므로 특별한 관리가 필요할 것으로 보여진다.

생선의 염 처리에 따른 BAs 함량

생선(고등어와 삼치)의 염(20%) 처리에 따른 BAs 함량 결과는 Table 9와 같다. 염 처리한 삼치와 고등어에서 염 처리하지 않은 삼치와 고등어보다 히스타민 등 BAs이 훨씬 낮게 나타났다. 이는 미생물의 탈탄산 효소의 작용이 억제되어 BAs의 생성이 억제된 것으로 사료된다. 이는 식품 내 아민의 함량은 식염 첨가량 등의 사용 여부에 따라 차이가 발생한다는 보고[27)]와 동일하게 나타났다. 따라서 생선 보관 시 염 처리 후 보관하면 BAs을 줄이는데 효과적일 수 있을 것으로 사료된다.

국문요약

본 연구는 2019년 국내에서 유통되는 수산물 198건(학교급식 수산물 121건, 유통 77건)에 대하여 히스타민 등 8종의 바이오제닉아민(BAs) 함량을 분석하였다. 또한, 삼치, 고등어, 연어에 대하여 시간, 온도와 염 처리에 따른 BAs 함량 변화를 관찰하였다. 수산물의 평균 히스타민 함량은 0.4±2.3 mg/kg이었으며, 모두 히스타민 기준 200 mg/kg이내 이었다. MOE를 산출하여 위해성을 평가한 결과, MOE가 1 이상으로 학교급식 수산물은 안전한 것으로 평가되었다. 시간과 온도에 따른 생선의 BAs 함량 변화는 시간과 온도가 증가함에 따라 증가하는 경향을 나타내었으며, 히스타민 함량이 30°C에서 144 mg/kg(삼치, 36시간)과 308 mg/kg(고등어, 24시간)로 급격히 증가하였다. 또한, 삼치, 고등어와 연어를 4°C와 -20°C에 보관한 결과, 4°C에서는 3일까지, -20°C에서는 14일까지 모두 히스타민이 검출되지 않았다. 생선의 염 처리에 따른 BAs 함량 변화는 염을 처리한 삼치와 고등어에서 염을 처리하지 않은 삼치와 고등어보다 히스타민 등 BAs 함량이 낮게 나타났다.

References

1. Mun, S.L., Lee, J.E., 2019. Promoting seafood consumption in the school meal program. Korea, pp. 1-72.
2. Ministry of Education, 2018. School meal conduct report. Korea, pp. 1-8.
3. Hwang, Y.J., Guk, S.Y., A Study on improving the school food services system. Korea Rural Economic Institute. **55**, 82-139 (2011).
4. Halasz, A., Barath, A., Simon-Sarkadi, L., Holzapfel, W., Biogenic amines and their production by microrganisms in food. *Trends Food Sci. Technol.,* **5**, 42-49 (1994).
5. Rawles, D.D., Flick, G.J., Martin, R.E., Biogenic amines in fish and shelfish. *Adv. Food Nutr. Res*., **39**, 329-365 (1996).
6. Karovicova, J., Kohajdova, Z., Biogenic amines in Food. *Chem. Pap.,* **59**(1), 70-79 (2005).
7. Bardocz, A., Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends Food Sci. Technol*., **6**, 341-346 (1995).
8. Ljerka, P., Biogenic amines in fish, fish products and shellfish: a review. *Food Addit Contam*., **28(11)**, 1547-1560 (2011).
9. Shon, M.Y., Park, G.J., Shin, J.H., Sung, N.J., Correlation of N - nitrosamine formation and mutagenicity in fermented anchovy under simulated gastric digestion. *J. Korean Soc Food Sci Nutr*., **33**, 1560-1565 (2004).
10. Lim, E.S., Lee E.W., Quality characteristics of Cheongguk-jang by mixed culture of biogenic amine producing- and degrading-bacteria. *Korean J. Food Preserv.,* **26**, 521-531 (2019).
11. Park, G.S., 2011. Study on standard for biogenic amines in frozen and salted fish. KFDS. pp. 7-17.
12. Hu, Y., Huang, Z., Li, J., Yang, H., Concentration of biogenic amines in fish, squid and octopus and their changes during storage. *Food Chem.,* **135**, 2604-2611 (2012).
13. Kang, Y.M., Park, S.Y., Lee, S.G., Lee, J.S., Heu, M.S., Kim, J.S., Chemical characterization of commercial dark-fleshed fishes (mackerel scomber japonicus, Japanese Spanish mackerel scomberomorus ni-phonius, pacific herring clupea pallasii) as a raw material for seafood products. *Korean J Fish Aquat Sci*., **50(2)**, 130-138 (2017).

14. Ministry of Food and Drug Safety, 2019. Food Code. Korea, pp. 56.
15. Ministry of Food and Drug Safety, 2017. Hazardous substance analysis guide for total dietary survey. Korea, pp. 154-182.
16. ICH., 2015. International council for harmonization of technical requirements for pharmaceuticals for human use, validation of analytical procedures: Test and methodology Q2(R1). pp. 1-17.
17. Gang, G.J., Ministry of Food and Drug Safety., 2018. Standardization guidelines for food intake calculation and pollution monitoring. Korea, pp. 1-72.
18. Ministry of Food and Drug Safety., 2019. Standard guidelines for calculation of food intake. Korea, pp. 1-92.
19. AOAC., 2013. Guidelines for single laboratory validation (slv) of chemical methods for dietary supplements and botanicals. Rockville, Maryland. pp. 1-32.
20. SANTE/EU., 2017. Method Validation and quality control procedures for pesticide residue analysis in food and feed. EU. pp. 1-42.
21. Kim, J.S., Heu, M.S., Kang, S.I., Kim, M.J., Kim, Y.J., Lee, H.J., Yoon, I.S., 2015. Study on the advanced standard control of animal seafoods. Gyeongsang National University, pp. 232.
22. Wendakoon, C.N., Sakaguchi, M., Non-volatile amine production in mackerel muscle during growth of different bacterial species, *J Food Hyg Soc J ap.,* **33**, 39-45 (1992).
23. Chung, S.P., Scombroid Fish Poisoning and Histamine Food Poisoning. *J Korean Soc. Clin. Toxicol*., **17**, 1-6 (2019).
24. Colombo, F.M., Cattaneo, P., Confalonieri, E., Bernardi, C., Histamine food poisonings: A systematic review and meta-analysis. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, **58**, 1131-51 (2018).
25. Mah, J.H., Kim, Y.J., No, H.K., Hwang, H.J., Determination of biogenic amines in kimchi, korean traditional fermented vegetable products. *Food Sci. Biotechnol*., **6**, 826-829 (2004).
26. Silva, C.C.G., Ponte, D.J.B., Enes Dapkevicius, M.L.N., Storage temperature effect on histamine formation in big eye tuna and skipjack. *J. Food Sci.*, **63**, 644-735 (1998).
27. Ko, S.H., Kim, S.H., Song, H.S., Effect of salt concentration and fermentation temperature on changes in quality index of salted and fermented anchovy during fermentation. *J. Food Hyg. Saf.,* **32(1)**, 27-34 (2017).