J. Fd Hyg. Safety 15(2), 101–107 (2000)

염건조기의 인공소화시 Nitrite, Thiocyanate 및 Ascorbic acid가 N-nitrosamine의 생성에 미치는 영향

이수정 · 신정혜 · 김정균* · 성낙주†

*경상대학교 식품영양학과 · 농어촌개발연구소 · *경상대학교 수산가공학과*

Effect of Nitrite, Thiocyanate and Ascorbic acid on N-nitrosamine Formation in Salted and Dried Yellow Corvenia under Simulated Gastric Digestion

Soo-Jung Lee, Jung-Hye Shin, Jeong-Gyun Kim* and Nak-Ju Sung†

Dept. of Food and Nutrition, The Institute of Agriculture and Fishery Development, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea

**Dept. of Marine Food Science and Technology, Gyeongsang National University, Tongyeong 650-160, Korea*

ABSTRACT – This experiment was conducted to investigate the effect of NA formation in the human body with salted and dried yellow corvenia(Gulbi, *Pseudosciaena manchurica*) steamed for 30 minutes and incubated in 10 ml simulated saliva and 40 ml gastric juice at 37°C for 2 hours. And the experiment studied the NA formation after nitrite, thiocyanate and ascorbic acid treatment under simulated gastric conditions. N-nitrosodimethylamine(NDMA) was not detected when nitrite was not added to the digestate mixture. And then increasing the nitrite concentration from 0.5 mM to 8 mM gave a slight increase in the NDMA formation at all level of Gulbi utilized in the experiment. In contrast to the change of the nitrite concentration, the increase of the amount of Gulbi didn't show any marked influence on NDMA formation. At all level of thiocyanate(1~6.4 mM) tested, concentration of NDMA was still proportional to the nitrite concentration. In the catalytic ability of thiocyanate at another high level of nitrite(100 mM) no catalytic activity was observed up to the level of 8mM thiocyanate. The same amounts of salted fish(10 g) and ascorbic acid levels in each single digestate were used to prevent NDMA formation. No prevention effect was observed at nitrite concentration of 0.5 mM and 1 mM. Most importantly, the decrease of NDMA concentration, by the increase of ascorbic acid absolutely, was remarkably shown when nitrite concentration was high. On the contrary, according to the degree of ascorbic acid, the higher the amount of nitrite the higher the prevention of NDMA formation.

key word □ Simulated gastric condition, NDMA, Nitrite, Thiocyanate, Ascorbic acid

수산식품은 NA의 주요 전구물질인 dimethylamine(DMA), trimethylamine(TMA), trimethylamine oxide(TMAO) 및 betaine 등이 풍부하여 이들 식품을 가공할 때 질산염이나 아질산염 등의 니트로소화 물질이 존재할 경우 NA를 생성하게 되고[1,2] 또 이들 전구물질을 함유한 식품을 동시에 섭취할 경우 위내에서 NA를 생성할 가능성이 높아[3] 위암 등의 발생과 더불어 식품의 안전성 측면에서 볼 때 매우 중요하다. 또한 nitrate와 nitrite도 NA의 전구물질이라는 점에서 중요시되는데 사람에게 섭취되는 주요 급원은 야채류, 오염된 물 그리고 질산염이나 아질산염을 첨가한 육가공품 육을 들 수 있다.[4,5] Thiocyanate는 니트로소화를 촉진시키는 인자[6]로서 사람의 타액 중에 정상적으로 존재하는 성분이며,[7] 보고에 의하면 흡연자의 타액은 비흡연자보다 그 농도가 3~4배 높고,[8] 산성 pH에서 제 2급 아민의 니트로소화 반응을 수백배 촉진시킨다고 밝혀져 있다.[6]

반면에 니트로소화 반응의 억제물질로는 ascorbic acid와 그 염을 들 수 있는데, 이에 대한 연구로 Mirvish 등[9]과 Fiddler 등[10]은 ascorbic acid, sodium ascorbate 및 sodium isoascorbate가 아질산과의 상호반응에서 니트로소화 반응을 차단시킬 수 있다고 지적하였고, 또 Dahn 등[11]에 의해

†Author to whom correspondence should be addressed.

ascorbic acid와 아질산과의 상호반응에 대한 kinetics를 밝힘에 따라 니트로소화 억제제로서 각광을 받게되었다.

이와 같이 NA는 식품에 존재하는 여러 가지 성분에 의해 생성되기 때문에 인체와 같은 복잡한 조건에서 NA의 생성을 예측한다는 것은 매우 난해한 문제이다. 따라서 본 실험은 식품을 섭취하였을 때 생체내에서 일어날 수 있는 니트로소화 반응의 제인자를 *in vitro*에서 판정코져 염건조기(굴비)를 시료로 하여 "Simulated digestion"을 응용하여 NA 생성과 그 인자를 예측하였다. 즉, 굴비시료에 인공타액과 위액을 가하여 소화시킬 때 NA 생성에 미치는 영향을 분석하였고, 동시에 nitrite, thiocyanate 및 ascorbic acid가 공존할 경우 이들 물질이 NA 생성에 어떤 영향을 미치는가를 실험하였다.

재료 및 방법

실험재료

시판 굴비는 경남 진주시 수산업 협동조합에서 판매되고 있는 "영광굴비"를 구입하여 내장 및 껍질을 제거한 후 육질부만 취하여 분석용 시료로 사용하였다.

조리용 시료의 조제

10 g의 균질화된 굴비를 삼각플라스크에 취하고, 이어서 5 ml의 물을 가하여 10분간 실온에서 방치한 후 30분간 증탕으로 끓여 냉각시킨 것을 조리용 시료로 하였다.

Table 1. Composition of simulated saliva and gastric juice

Ingredient	Contents
Saliva	
Calcium (mEq/L)	3.1
Chloride (mEq/L)	15.5
Phosphate, inorganic(mEq/L)	4.8
Potassium(mEq/L)	14.1
Sodium(mEq/L)	17.4
Ammonia(mM)	3.5
Glucose(mg/L)	196.0
Urea(mg/L)	88.0
α-amylase(units/ml)	100.0
Lysozyme(units/L)	670.0
pH	6.7
Gastric juice	
Calcium (mEq/L)	3.6
Potassium(mEq/L)	11.6
Sodium(mEq/L)	49.0
free HCl(mEq/L)	57.5
total Chloride (mEq/L)	119.0
pepsin(units/ml)	36.4
pH	2.0

소화용 시료의 조제

상기한 조리용 시료에 대하여 인공타액 10 ml를 혼합한 후 37℃에서 5분간 정치시키고 이어서 40 ml의 인공위액을 가한 다음 3N 염산으로 pH 2.5로 조정한 후 다시 37℃에서 2시간 동안 유지시킨 것을 소화용 시료로 하였다. 이때 사용한 인공타액 및 위액의 조성은 Table 1과 같다.

Nitrite, thiocyanate 및 ascorbic acid를 첨가한 소화용 시료의 조제

조리용 굴비시료(0~10 g)에 대해서 nitrite를 각각 0, 0.5, 1, 2, 4 및 8 mM로 가한 후 전술한 인공타액 10 ml를 혼합하여 37℃에서 5분간 정치시키고 이어서 인공위액 40 ml를 가하여 37℃에서 2시간 인공소화시켰다. Thiocyanate를 함유하는 소화용 시료는 조리용 굴비시료 10 g에 nitrite를 농도별로 첨가하고 thiocyanate를 각각 0, 0.8, 1.6, 3.2 및 6.4 mM 첨가하였고, 또 고농도의 nitrite(100 mM)를 가한 후 thiocyanate를 0, 2, 4, 8 및 16 mM로 넣어 인공타액과 위액으로 소화시켰다. Ascorbic acid를 함유한 소화용 시료의 조제는 조리용 굴비시료 10g에 nitrite를 농도별(0~8 mM)로 넣고 여기에 ascorbic acid를 0, 0.8, 1.6, 3.2, 6.4 및 12.8 mM의 농도로 각각 혼합한 후 소화시키고, thiocyanate를 동일하게 2.8 mM로 넣은 후 ascorbic acid를 0, 0.8, 1.6, 3.2, 6.4 및 12.8 mM로 첨가하였으며, 또 고농도의 nitrite(100 mM)를 가한 후 ascorbic acid를 0, 20, 40, 80, 160 및 320 mM로 첨가하여 소화시킨 것을 NA 분석용 시료로 사용하였다.

NA의 분석

전술한 방법으로 조제된 소화용 시료에 10% ammonium sulfamate 10 ml, 10 μg/kg의 N-nitrosodibutylamine(NDBA)을 내부표준액으로 하여 Sung 등[12]의 방법에 따라 수증기 증류한 후, dichloromethane(DCM, 60 ml×3)으로 이행시켜 망초로 탈수시켰다. 상기 DCM 추출물을 모두 합하여 Kuderna-Danish장치에서 N_2가스를 흘리면서 1 ml로 농축하여 gas chromatography(GC, Model 5890A, Hewlett ℃ Packard) -thermal energy analyzer(TEA, Model 543, Thermo Electron Corp.)로 NA를 분석하였으며, GC-TEA의 조건은 10% Carbowax 20M/80~100 chromosorb WHP로 충전한 칼럼을 이용하였고, He 가스의 유속은 25 ml/min, injection port의 온도는 180℃, pyrolizer 온도는 550℃, interface 온도는 200℃, 압력은 1.9 torr로 하였다. 또 Mass spectra는 GC-MS(Jeol JMS-700, Japan)을 사용하였으며, 시료주입시

온도는 180℃, purge delay 30초, 오븐온도는 최고 40℃(3.5분)에서 분당 10℃ 상승시켜 100℃에서 10분간 유지하였고, scanning은 mass범위 m/z 25~100, scan threshold 100으로 하였다.

결과 및 고찰

인공소화 시 굴비량과 nitrite농도가 NDMA 생성에 미치는 영향

굴비의 인공소화 시 nitrite가 첨가되지 않은 대조구에서는 NA가 검출되지 않았으나, 그 외 모든 시험구에서는 NDMA만이 정량되었으며, 이를 GC-MS로 동정한 결과는 Fig. 1과 같다. 굴비시료 0, 2, 4, 6, 8 및 10 g에 대하여 nitrite를 0, 0.5, 1, 2, 4 및 8 mM의 농도로 첨가하여 인공소화 시킨 결과는 Fig. 2와 같다. Nitrite를 첨가하지 않은 시료군에서는 NA가 전혀 검출되지 않았으나 그 외 모든 시료군에서는 NDMA만이 정량되었고, nitrite농도가 높을수록 이에 비례하여 NDMA가 증가하는 경향을 보였다. 특히 nitrite농도가 2 mM에서 4 mM로 증가될 때 NDMA가 2.1~4.6배로 가장 큰 폭으로 증가하였으며, 그 다음으로 nitrite농도를 1 mM로 하였을 때 2.5~3.9배 증가하였다. NDMA 함량이 가장 높게 검출된 시료군은 굴비 10 g에 nitrite의 농도를 8mM로 한 시료(264.4 μg/kg)로써 굴비

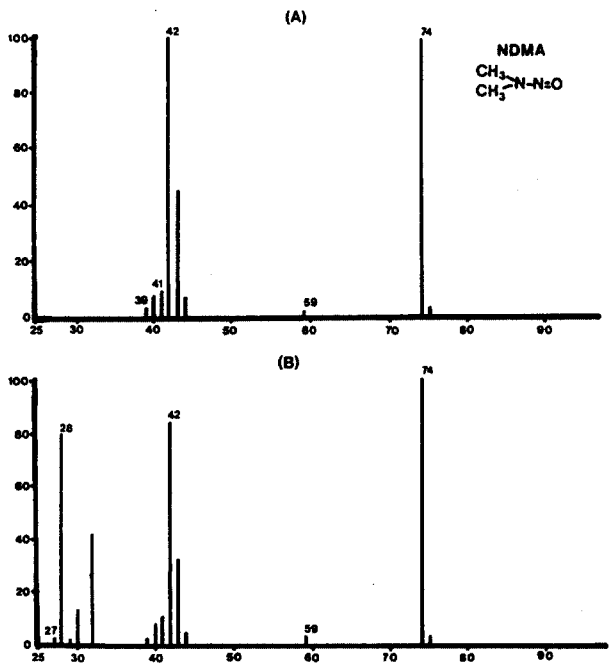

Fig. 1. Mass spectra of NDMA standard(A) and Gulbi digestates(b)

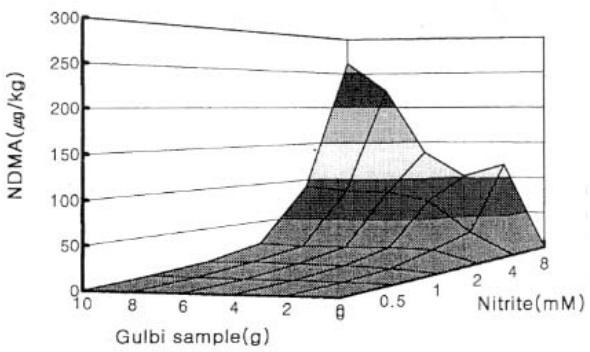

Fig. 2. Effect of Gulbi digestates amount and nitrite concentration on formation of NDMA.

2 g과 nitrite농도가 0.5 mM인 시료군에 비해 203.4배나 높게 검출되었으며, 굴비 10 g에 nitrite 0.5 mM을 첨가한 시료군(3.3 μg/kg)보다는 80.1배, 그리고 굴비시료 2g에 대하여 nitrite 8 mM 첨가한 시료(117.5 μg/kg)에 비해 2.3배 높게 정량되었다. NDMA 생성에 있어서 굴비의 함량보다는nitrite농도에 의해 크게 좌우된 결과를 보였다. 따라서 굴비의 섭취로 인한 발암성 NDMA 생성은 염장어의 섭취량보다는 nitrite의 농도가 더 큰 영향을 미칠 것으로 판단된다.

식사로부터 섭취된 질산염 중 약 25%가 침 속으로 순환되어 구강세균의 작용으로 아질산염으로 환원되는데.[13-15] 이것은 음식물과 함께 위장 내에 상당량 축적된다고 밝혀져 있다.[16] Walters 등[17]은 사람의 위액 중 nitrite농도는 0.01~0.16 mM의 범위이나 음식물을 섭취한 후에는 0.3 mM까지 증가하는데, 이 같은 현상은 질산염이 풍부한 채소류나 채소쥬스를 많이 섭취한 경우에 해당된다.[18] 또 Stephany와 Schuller[13]는 질산염이 풍부한 채소류를 섭취한 후 타액 중 아질산의 농도는 섭취 후 2.5시간내에 최고치를 보이다가 20시간 후에 정상치에 도달한다고 하였다. Eisenbrand 등[19]은 타액선에 분비되는 질산염의 함량과 타액에서 생산되는 아질산염과의 상관관계를 연구한 결과 분비된 질산염의 약 20%가 아질산염으로 전환될 수 있다고 보고하였다.

Groenen 등[20]은 고등어 생시료에서 NDMA가 2.3 μg/portion에 불과하였으나 증기로 찐 고등어를 인공위액 및 인공타액(50 mg $NaNO_2$)으로 소화시킨 결과 NDMA가 8.5 μg/portion으로 검출되었고, 인공타액 대신에 사람의 타액(17 mg $NaNO_2$)으로 소화시킨 후에는 NDMA가 3.9 μg/portion으로 검출되어 NDMA의 생성은 nitrite농도에 의존적이라고 하였다. Sen 등[21]은 24종의 어류에서 NDMA를 검출하였는데 그중 염장고등어, 염건대구, 고등어 통조림 및

청어 등의 시료를 pepsin이 제외된 simulated gastric condition에서 배양한 결과 2배 이상의 NDMA가 검출된다고 보고하였다. 그런가 하면 염장어에 nitrite를 0.3 mM 가하여 인공소화 시킨 결과 NDMA 생성에 큰 영향이 없다는 보고도 있다.[21] 본 실험에서는 인공소화 시 0.5 mM의 nitrite를 첨가한 결과 NDMA가 1.3~3.3 μg/kg의 범위로 정량되어 염장어류의 섭취가 체내 NA 생성과 밀접한 관계가 있음을 알 수 있었다.

굴비의 소화 시 thiocyanate가 NDMA 생성에 미치는 영향

Fig. 3은 굴비의 인공소화 시 nitrite와 thiocyanate의 함량이 NDMA의 생성에 미치는 영향을 실험한 결과이다. Nitrite를 첨가하지 않은 대조구는 thiocyanate의 농도에 관계없이 NDMA가 전혀 검출되지 않았으나, 그 외 시료는 nitrite와 thiocyanate의 농도를 증가시킬수록 이에 비례하여 NDMA가 계속해서 증가하는 경향을 보였다. 즉 thiocyanate를 첨가하지 않은 대조시료에 비해 6.4 mM의 thiocyanate를 첨가할 경우 9.0~661.7 μg/kg의 NDMA가 정량되어 대조구에 비해 약 1.5~3.0배의 증가를 보였는데, 특히 많이 증가한 그룹은 nitrite를 4 mM이상 함유한 시료였다. 그리고 thiocyanate보다는 nitrite가 NDMA의 생성에 더욱 민감하여 thiocyanate를 함유하지 않은 시료에 0.5 mM의 nitrite를 처리하여 인공소화 시킨 결과 NDMA가 3.3 μg/kg에 불과하였으나 nitrite의 농도를 8 mM로 높인 결과 264.4 μg/kg의 NDMA가 검출되어 약 80.1배 증가하였고, 또 3.2 mM의 thiocyanate를 함유한 굴비에 대하여 nitrite의 농도를 0.5 mM에서 8 mM로 증가시켜 인공소화 시킨 결과 NDMA가 무려 86.1배나 증가하였다. 고농도의 nitrite(100 mM)가 존재할 때 thiocyanate 농도(0, 2, 4, 8 및 16 mM)의 촉매활성을 실험한 결과는 Table 2와

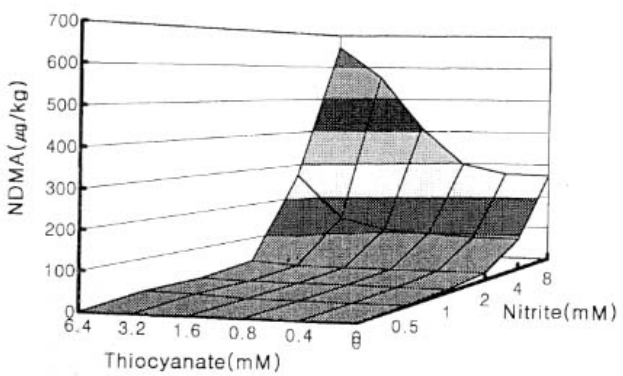

Fig. 3. Effect of thiocyanate and nitrite concentration on NDMA formation in Gulbi digestates.

Table 2. Effects of thiocyanate concentration on NDMA formation in Gulbi digestate* at high level of nitrite concentration(100mM)

Thiocyanate(mM)	NDMA(mg/kg)
0	142.8
2	165.1
4	156.3
8	96.5
16	95.0

*10 g Gulbi sample in each digestate

같다. 100 mM의 nitrite를 함유한 굴비시료에 thiocyanate를 농도별로 가하여 인공소화시킨 결과 2 mM의 농도까지 NDMA가 증가하다가 그 이상의 농도에서는 오히려 감소하는 경향을 보였다. 본 실험결과 thiocyanate가 NA의 생성을 촉진시키는 것으로 확인되었으나, thiocyanate의 농도증가에 따라 NDMA의 생성이 반드시 비례적으로 촉매효과를 나타내지는 않았다. 따라서 니트로소화 반응의 촉매정도는 nitrite의 농도에 따라 thiocyanate의 적정농도가 관여하는 것으로 생각된다.

제 2급 및 3급 아민이 니트로소화되는 비율은 공존하는 촉매의 종류에 따라 달라질 수 있다는 보고로서, Yamada 등[22]은 thiocyanate와 할로겐 이온이 니트로소화를 촉진시킨다고 하였는데, 이 반응을 촉진시키는 대표적인 물질로써 bromide, chloride와 같은 할로겐이온 thiocyanate와 같은 pseudo-halogen을 들 수 있다고 보고하였고, Tannenbaum 등[14]은 정상인의 타액에는 하루에 약 30 mg의 thiocyanate가 분비되고 흡연자는 정상인의 약 3배 가량 분비되어져 이 물질은 제 2급 및 3급 아민의 니트로소화를 촉진시킨다고 주장하였다. Boyland와 Walker[23]는 thiocyanate가 methylaniline과 아질산나트륨의 수용성 반응계에서 약 100배까지 니트로화 속도를 증가시킨다고 최초로 보고하였고, Fan과 Tannenbaum[24]은 *in vitro*에서 N-nitrosomorpholine(NMOR)의 전구물질인 morpholine과 아질산염의 상호반응에 여러가지 촉매제를 가한 결과 니트로소화 반응의 촉진은 $SCN^- >>> Br^- >> Cl^- > SO_4^{-2}$순이라 하였다. 또 2.5 mM의 thiocyanate는 5 mM의 nitrite가 함유된 수용성 반응계에서 morpho- line의 초기 니트로소화 속도를 급증시킨다는 보고도 있다.[25] Yamamoto 등[26]은 NA 생성에 미치는 thiocyanate의 영향을 조사하기 위해 5 mM의 sarcosine과 10 mM의 아질산나트륨의 수용액에 sodium thiocyanate를 100 mM 첨가하여 니트로소화시킬 경우 thiocyanate를 첨가하지 않은 것에 비해 약 2.6배의 NDMA가 생성되었다고 하였다. Schultz 등[27]은 thiocyanate를 사료와 음용수에 첨가하여 설치류에 급이시킨 결과 NA가 생성되지 않는다고 보고하였는데 이것은

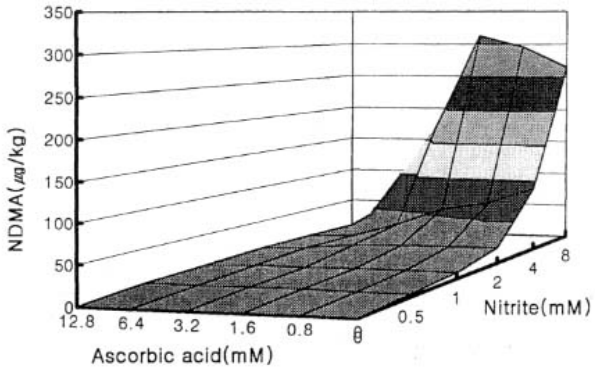

Fig. 4. Effect of ascorbic acid and nitrite concentration on NDMA formation in Gulbi digestates.

반응과정에서 니트로소화를 촉진시키는 물질과 억제시키는 물질이 공존하여 평형상태에 도달하였기 때문이라 하였다. 즉 *in vivo*계에서는 *in vitro*보다 니트로소화 반응에 관여하는 요인이 더 많다는 것을 암시하고 있다.

굴비의 소화 시 ascorbic acid가 NDMA 생성에 미치는 영향

조리용 굴비시료 10 g에 nitrite(0~8 mM)와 ascorbic acid를 농도별(0, 0.8, 1.6, 3.2, 6.4 및 12.8 mM)로 첨가한 인공소화물에서 ascorbic acid가 NA 생성에 미치는 영향을 실험한 결과는 Fig. 4와 같다. 저농도의 nitrite(0.5~1 mM) 존재하에서는 ascorbic acid의 억제작용을 보이지 않았으나, nitrite를 2 mM이상 첨가한 결과 NDMA 생성을 약 49.0% 억제시켰다. Nitrite 4 mM을 함유한 굴비에 ascorbic acid를 0~12.8 mM 첨가하여 인공소화 시킨 결과 88.6%, 동시료에 8 mM의 nitrite를 첨가한 인공소화물에서는 96.4%의 높은 억제효과를 나타내었다. 또한 ascorbic acid를 첨가하지 않은 굴비시료에 nitrite농도를 0.5 mM에서 8 mM로 증가시켜 인공소화시킨 결과 NDMA 생성은 80.1배의 증가를 보인 반면, ascorbic acid농도를 점차로 증가시킴에 따라 NDMA 생성은 급격하게 감소되어 12.8 mM의 ascorbic acid를 첨가한 인공소화물에서는 불과 1.6배의 증가에 불과하였다. 즉 ascorbic acid의 효과는 thiocyanate의 작용과는 달리 저농도의 nitrite보다 nitrite농도가 높아질수록 그 효력이 크며, 또한 ascorbic acid의 농도가 증가될수록 NDMA 생성억제 효과도 월등히 증가된다는 것을 알 수 있었다.

2.8 mM의 thiocyanate를 함유한 굴비시료에 ascorbic acid를 농도별(0~12.8 mM)로 첨가하여 인공소화시킨 결과 NDMA 생성에 미치는 영향은 Table 3과 같다. thiocyanate의 함량과 비슷한 농도로 첨가된 시료군(3.2 mM)에서 NDMA 생성이 3.7 μg/kg으로 가장 높게 나타났다. Thiocyanate와 ascorbic acid가 공존할 경우 ascorbic acid의 농도가 증가되더라도 NDMA 생성에는 큰 억제효과를 보이지 않았다. Table 4는 고농도의 nitrite(100 mM)를 함유한 굴비시료에 ascorbic acid(0~320 mM)를 가하여 인공소화 시킬 때 NDMA 생성에 미치는 영향을 분석한 것이다. ascorbic acid농도를 증가시킬수록 NDMA 생성은 두드러지게 감소되었다. 특히 ascorbic acid를 20 mM 첨가할 경우 무첨가구에 비해 약 32%정도 NDMA 생성을 감소시켰으나, 80 mM 첨가한 결과 무려 98%이상의 억제효과를 보였다. 그러나 320 mM의 ascorbic acid를 첨가하여도 NDMA 생성을 완전히 억제시키지는 못하였다. 이는 Kim 등[28]의 ascorbic acid를 첨가하지 않은 새우소스의 NDMA 함량이 1,300 μg/kg이었는데 ascorbic acid를 아질산염에 대하여 2~3배 첨가한 결과 NDMA가 124~130 μg/kg으로 정량되었다고 한 보고와 유사하며, 1,500 ppm의 sodium nitrite가 함유된 frankfurters에 5,500 ppm의 sodium ascorbate를 첨가시켜도 NDMA 생성은 완전히 배제할 수 없었다는 보고[29]와도 유사한 결과였다. Mirvish 등[9]은 *in vitro*에서 nitrous acid와 oxytetracycline, morphline, piperazine, N-methylaniline, methylurea 및 DMA를 반응시킬 때 ascorbic acid를 혼합한 결과 N-nitroso화합물의 생성을 차단시켰고 아질산염과 ascorbic acid 비를 2:1로 하여 morpholine과 piperazine을 니트로소화 시킨 결과 98%이상 억제시켰다고 보고하였다.

Table 3. Effect of ascorbic acid concentration on NDMA formation in Gulbi digestate* at low level of thiocyanate concentration(2.8mM)

Ascorbic acid(mM)	NDMA(mg/kg)
0	2.7
0.8	2.2
1.6	1.8
3.2	3.7
6.4	2.6
12.8	1.7

*10 g Gulbi sample in each digestate

Table 4. Effect of ascorbic acid concentration on NDMA formation at high level of nitrite concentration(100mM) in Gulbi digestate*

Ascorbic acid(mM)	NDMA(mg/kg)
0	142.8
20	97.2
40	45.9
80	2.7
160	0.4
320	0.1

*10 g Gulbi sample in each digestate

또 아질산과 aminopyrine과의 반응에서도 NA의 생성억제제로서 효과적이라고 하였으며,[30] Fan과 Tannenbaum[24]은 아질산염에 대해 ascorbic acid를 2배 이상 가할 경우 morpholine으로부터 NMOR의 생성을 완벽하게 차단시켰으나 그 비가 2배 이하일때는 부분적으로만 억제된다고 보고하였다. 성 등[31]은 70일간 숙성된 간장에 300 μg/kg의 ascorbic acid를 첨가시켜 상온에서 80시간 배양한 후 NDMA를 정량한 결과 대조구에 비해 약 63.8%의 억제를 보였으며, Kyrtopoulos[32]는 산소 존재시에 nitrite와 ascorbic acid의 반응에서 생성된 nitrogen oxide는 amine을 니트로소화 시키는 강력한 인자로 간주되는 nitrogen trioxide나 nitrogen tetraoxide로 쉽게 산화되어졌다고 보고하였으며, 호기적 조건에서 니트로소화에 대한 ascorbic acid의 저해효과는 낮았는데, 이는 배양 중 시료의 용기로부터 공기가 완전히 배제되지 못했기 때문이라 하였다.[25] Fiddler 등[29]은 반응용액 중 ascorbic acid농도가 0.2 mM일 때 반응액중의 nitrite함량에 아무런 영향을 주지 않았으나, 4 mM의 acorbic acid가 첨가된 경우에는 약 44%정도로 nitrite농도를 감소시킨다고 하여 니트로소화 억제기구는 ascorbic acid가 반응계 중에서 nitrite를 소거시키기 때문이라고 하여 본 실험결과와 잘 일치하였다.

in vitro 실험에서 반응혼합물에 ascorbic acid를 첨가시킨 결과 ascorbic acid가 산화되어 dehydroascorbate를 생성하는 비율과 비례하여 아질산염의 농도가 급격히 감소되는 경향을 보였는데, 이것은 ascorbic acid가 아민과 반응하거나 N-nitroso화합물을 분해시키는 것이 아니고[33] 니트로화 시약과 급속히 반응하기 때문이라 생각된다.

감사의 말

본 연구는 1997년 한국학술진흥재단의 공모과제 연구비에 의하여 수행되었기에 이에 감사드립니다.

국문요약

우리나라 고유의 염건품인 굴비를 섭취하였을 때 체내에서 생성되는 NA를 예측하기 위해서 인공타액과 위액을 혼합하여 37℃에서 2시간동안 배양한 굴비의 인공소화물로부터 NA를 분석하였고, 동시에 nitrite, thiocyanate 및 ascorbic acid가 공존할 경우 NA생성에 미치는 영향을 실험하였다. 굴비시료에 인공타액과 위액을 가하여 소화시킨 인공소화물에서는 N-nitrosodimethylamine(NDMA)이 전혀 검출되지 않았으나, nitrite농도를 증가시킬수록 이에 비례하여 NDMA의 생성은 증가하였다. 굴비시료에 thiocyanate를 농도별(0~6.4 mM)로 첨가하여 인공소화 시킨 결과 nitrite첨가량에 비례하여 NDMA 생성이 증가되었으나, 고농도의 nitrite(100 mM)를 함유한 시료에 thiocyanate를 8 mM이상 첨가한 경우에는 뚜렷한 촉매효과를 나타내지 않았다. 반면에 10 g의 굴비시료에 ascorbic acid를 농도별로 첨가한 인공 소화물에서 NDMA 생성억제를 실험한 결과 nitrite농도가 0.5 및 1 mM인 경우에는 NDMA의 생성을 억제시키지 못하였으나 nitrite와 ascorbic acid의 농도가 높아짐에 따라 비례적으로 NDMA 생성억제도 뛰어났다.

참고문헌

1. Castell, C.H., Smith, B. and Neal, W.: Production of dimethylamine in mucle of several species of Gadoid fish during frozen storage, especially in relation to presence of dark muscle. *J. Fishery Res. Board. Canada,* **28**, 1 (1971).
2. Maga, J.A.: Simple phenol and phenolic compounds in food flavor. CRC Crit. *Rev. Food Sci.* Nutr., **18**, 323
3. Scanlan, R.A., Lohsen, S.M., Bills, D.D. and Libbey, L.B.: Formation of dimethylnitrosamine from dimethylamine and trimethylamine at elevated temperatures. J. *Agric. Food Chem.*, **22,** 149 (1974).
4. Fox, J.B.: The chemistry of meat pigment. *J. Agric. Food Chem.*, **14**, 207 (1966).
5. Jhonston, M.A., H. Pivnick and J.M. Samson.: Inhibition of Clostridium botulinum by sodium nitrite in a bacteriological medium and in meat. *J. Can. Inst. Food Tech.*, **2**, 52 (1969).
6. Boyland, E. and Walker, S.A.: Effect of thiocyanate on nitrosation of amines. Nature, **248**, 601 (1974).
7. Semka, T.J. and Jacobson, E.D.: Gastrointestinal Physiology-the essential 2nd ed., 8 (1983).
8. Luepker, R.V., Pechacek, T.E., Murray, D.M., Johnso, C.A., Hund, F. and Jacobs, D.R.: Saliva thiocyanate : A chemical indicator of cigarette smoking in adolescents. *Am. J. Publ. Hlth.*, **71**, 1320 (1981).
9. Mirvish, S.S., Wallcave, L., Eagen, M. and Shubik, P. : Ascorbate-nitrite reaction: Possible means of blocking the formation of cacinogenic N-nitroso compounds. *Science*, **177**, 65 (1972).

10. Fiddler, W., Piotrowski, E.G., Pensabean, J.W., Doerr, R.C. and Wassermann, A.E.: Effect of sodium nitrite concentration on N-nitrosodimethylamine formation in frankfurters. *J. Food Sci.*, **37**, 668 (1972).
11. Dahn, H., Loewe, L. and Bunton, C.A.: ber die oxydation von ascorbins ure durch salpetrige s ure. Teil. 6. bersicht und Diskussion der Ergebnesse. *Helv. Chim. Acta*, **43**, 320 (1960).
12. Sung, N.J., K.A. Klausner and J.H. Hotchkiss:. Influence of nitrate, ascorbic acid and nitate reductase microorganisms on N-nitrosamine formation during Korean-style soysauce fermentation. *Food Additives and contaminants*, **8**, 291 (1991).
13. Stephany, R.W. and P.L. Schuller: The intake of nitrate, nitrite and volatile N-nitrosamines and the occurrence of volatile N-nitrosamines in human urine and veal calves. *IARC Sci. Publ.*, **19**, 443-460 (1978).
14. Tannenbaum, S.R., A.J. Sinskey, M. Weisman and W. Bishop: Nitrite in human saliva: Its possibile relationship to nitrosamine formation. *J. Nat. cancer. Inst.*, **53**, 79-84 (1974).
15. Tannenbaum, S.R., Weisman, M. and Fett, D.: The effect of nitrite intake on nitrite formation in human saliva. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, **14**, 549 (1976).
16. Walters, C.L. and P.L.R. Smith: The effect of water-borne nitrate on salivary nitrite. *Food Chem. Toxicol.*, **19**, 297-302 (1981).
17. Walters, C.L., Dyke, C.S., Saxby, M.J. and Walker, R. : Nitrosation of food amines under stomach conditions. In: Walker, E.A., Griciute, L. and Bogovski, P. (eds.), Environment N-nitroso compounds analysis and formation, pp. 181-193, *IARC Sci. Publ.*, **14**. (1976).
18. Harada, M., Ishiwata, H., Nakamura, Y., Tanimura, A. and Ishidate, M.: Studies on in vivo formation of nitroso compounds (I). Changes of nitrite and nitrate concentrations in human saliva after ingestion of salted Chinese cabbage. *J. Food Hyg. Soc.*, **16**, 11 (1975).
19. Eisenbrand, G., M. Habs, D. Schmahl and R. Preussmann: Carcinogenicity of N-nitroso-3-hydroxy-pyrrolidine and dose-response study with N-nitrosopiperidine in rats. *IARC Sci. Publ.*, **31**, 657-666 (1980).
20. Groenen, P.J., M.W. de Cock-Bethbeder, J. Bouwman and J.H. Dhont: Formation of N-nitrosamines and N-nitrosamino acids from food products and nitrite under simulated gastric condition. In: Walkers, E.A., Griciute, L., Castegnaro, M. and Borzsonyi, M. (eds.), N-nitroso compounds: Analysis, formation and occurrence, *IARC Sci. Publ.*, **31**, 215-227 (1980).
21. Sen, N.P., Tessier, L., Seaman, W, and Baddoo, P.A.: Volatile and nonvolatile nitrosamines in fish and the effect of deliberate nitrosation under simulated gastric conditions. *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 264 (1985).
22. Yamada T., M. Yamamoto and A. Tanimura.: *J. Food Hyg. Soc. Japan.* **15**, 201 (1974).
23. Boyland, E. and Walker, S.A.: Effect of thiocyanate on nitrosation of amines. *Nature*, **248**, 601 (1974).
24. Fan, T.Y. and Tannenbaum, S.R.: Factors influencing the rate of formation of nitrosomorpholine from morpholine and nitrite: acceleration by thiocyanate and other ions. *J. Agric. Food Chem.*, **21**, 237 (1973).
25. Kim, Y.K. Tannenbaum, S.R. and Wishnok, J.S.: Effect of ascorbic acid on the nitrosation of dialkylamines. In: Seib, P. A. and Tolbert, B. M.(eds.), Ascorbic acid: chemistry, metabolism and uses. *Advance in chemistry Series*, **200**, 571 (1981).
26. Yamamoto, M., T. Yamada and A. Tanimura: Studies on the formation of nitrosamines. (V). The effects of citrate, tartrate and thiocyanate on the rates of nitrosation. *J. Food Hyg. Soc. Japan.*, **17**, 363-368 (1976).
27. Schultz, D.S., Deen, W.M., Karel, S.F., Wagner, D.A. and Tannenbaum, S.R.: Pharmacokinetics of nitrate in humans: role of gastrointestinal absorption and metabolism. *Carcinogene*, **6**, 847 (1985).
28. Kim, S.H., Wishnok, J.S. and Tannenbaum, S.R.: Formation of N-nitrosodimethylamine in korean seafood sauce. *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 17 (1985).
29. Fiddler, W., Pensabene, J.W., Piotrowski, E.G., Doerr, R.C. and Wasserman, A.E.: Use of sodium ascorbate or erythorbate to inhibit formation of N-nitrosodimethylamine in frankfurters. *J. Food Sci.*, **38**, 1084 (1973).
30. Mirvish, S.S., Gold, B., Eagan, M. and Arnold, D.: Kinetics of the nitrosation of aminopyrine to give dimethylnitrosamine. *Z. Krebsforsch*, **82**, 259 (1974).
31. 성낙주, 황외자, 이응호: 한국 재래식 간장의 니트로소화합물에 관한 연구. 한국식품영양학회지, **7**, 125 (1988).
32. Kyrtopoulos, S.A.: Ascorbic acid and formation of N-nitroso compounds: Possible role of ascorbic acid in cancer prevention. *Am. J. Clin. Nutr.*, **45**, 1344 (1987).
33. Basu, T.K., Weiser, T. and Dempster, J.F.: An in vitro effect of ascorbate on the spontaneous reduction of sodium nitrite concentration in a reaction mixture. Int. *J. Vit. Nutr. Res.*, **54**, 233 (1984).