

海産類중의 第 2 級 아민分布에 關한 研究

경희대학교 · 서울보건 전문학교

金光湖* · 吳英福**

= Abstract =

Studies on Distribution of Secondary Amines in Raw Marine Fishes

Kwang Ho Kim* and Young Bok Oh**

The materials carcinogenic agent, nitrosoamine, is distributed in food circumstances, and is formed when both nitrite and secondary amine are present. Nitrites are added to fishes as a color fixative or preservative and secondary amines exist in fishes. In order to find the distribution and contents of secondary amines, analysis of 19 kinds of fish was conducted.

The results showed that, significant differences were not observed in the quantity of secondary amines in 19 kinds of fish by district. The highest value was 20.29 ppm in *Theragra chalcogramma* and the lowest was 0.022 ppm in *Ostrea denselamellosa*. Six fishes below 1 ppm were *Nibea imbricata*, *Misgurnus mizolepis*, *Astroconger myriaster*, *Evynnis Japonica*, *Ostrea denselamellosa* and *Solen gouldi*. Dimethyl amine only was identified and diethylamine or diphenylamine was not detected in all kinds of 19 fishes.

I. 緒 論

1954년에 이미 nitrosoamine은 發癌物質임을 Magee 등¹⁾이 確證報告한 바 있고 1975년 Norway에서 魚粉을 먹은 家畜이 集團의으로 死亡한 일이 있으며²⁾ 그 原因이 魚粉의 成分인 secondary amine과 防腐劑로 添加된 亞窒酸鹽으로부터 生成된 nitrosoamine으로 밝혀졌다.

이때부터 nitrosoamine의 研究는 活發하여졌으며 Marquardt 등³⁾은 獨逸産 小麥粉中에서 diethylnitrosoamine을 檢出하였고, Thewlis⁴⁾은 英國産 小麥粉中에서 nitrosoamine을 確證하였다.

한편 Lyndersen⁵⁾은 魚類 加工品에서 dimethyl-nitrosoamine을 檢出하여 報告하였고 Möhler⁶⁾은 食肉 및 cheese에서 nitrosoamine을 確證하였으며 Millar⁷⁾은 담배煙氣中에서 nitrosoamine을 確證하여 告報한 바

있다.

Magee 등⁸⁾은 動物實驗에서 肝癌을 誘發하는데 成功한 바 C¹⁴-dimethylnitrosoamine을 쥐의 腹腔內에 注射하면 肝의 RNA를 加水分解하여 鹽基性成分이 生成되어 이 成分이 7-methylguanine-C¹⁴임을 確證하였다. 亞窒酸鹽은 普通 獸肉 및 魚肉等に 人爲的으로 添加되어 發色劑 및 防腐劑로 옛부터 使用되어 왔다. 그 뿐 아니라 自然界 特히 植物界에 널리 分布되어 있는 窒酸鹽이 還元되어 亞窒酸鹽으로 存在할 可能性이 크다⁹⁾.

따라서 亞窒酸鹽이 含有되어 있는 食品과 Secondary amine을 含有하는 食品을 同時에 攝即할 境遇 胃內에서 nitrosoamine이 生成될 可能性이 있다. 이러한 點을 考慮하여 Sander¹⁰⁾ (1967年)는 diphenylamine과 亞窒酸鹽을 Sen¹¹⁾은 diethylamine과 亞窒酸鹽을 動物에 經口投與하여 diphenylnitrosoamine과 diethyl-

* Kyung Hee University

** Seoul Health Junior College

nitrosoamine 을 各各 檢出하므로서 nitrosoamine 이 生成됨을 報告하였다.

이와같은 事實은 食品中 secondary amine 의 存在가 食品衛生上 重大한 意味를 주게 된다. 더우기 谷村¹²⁾ 은 食品을 加工할 때 熱處理로 因하여 secondary amine 이 增加한다는 事實을 報告하므로서 더욱 問題視되고 있는 것이다. 이런 觀點에서 食品中에 存在하는 secondary amine 의 含有量을 測定하고 그 危害度를 檢討하며 나아가서 이를 減少시키기 爲한 研究가 進行되어야 하겠으나 우리나라에 있어서는 現在까지 食品에 含有되어 있는 secondary amine 에 關한 研究報告는 별로 없기에 著者는 韓國產 食品을 中心으로 우선 secondary amine 의 含有量을 調査하기 위하여 本實驗에 着手한 바 몇가지 知見을 얻었기에 報告한다.

II. 實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

本實驗의 試料는 서울에서 市販되는 19種 魚介類를 擇하였다.

採即方法은 서울 市內 4個 魚市場을 擇하여 1個 市場에서 19種의 新鮮한 魚介類를 無作爲 採取하였으며 同種을 3個씩 採取하여 3회에 걸쳐 反復實驗하였다.

實驗에 使用된 部位는 骨·內臟을 除外한 可食部에 限하였다.

2. 分析方法

Secondary amine 의 抽出: 現在까지 알려진 抽出方

法으로 宮原法¹³⁾, Shewan 法¹⁴⁾, 谷村法¹⁵⁾, Schwartz 法¹⁶⁾, Thomasow 法¹⁷⁾, Weurman 法¹⁸⁾ 등이 있으나 長時間 所要되고 回收率은 80% 以下이다. 1971년 谷村等¹⁹⁾이 發表한 抽出法은 時間도 短時間 걸리며 回收率도 98% 以上이므로 이 方法을 擇하였다.

즉 Fig. 1과 같이 N-HCl:Ethanol (1:1) 混液으로 抽出하여 水蒸氣 氣溜한 溜液을 檢液으로 하였다.

Secondary amine 의 含量測定: 機器法으로 gas chromatography²¹⁾ 및 螢光法²²⁾이 있고 比色法으로 Cu-dithiocarbamate 法²³⁾, 1-fluoro-2,4-dinitrobenzene 法²⁴⁾ brom cresol green 法²⁵⁾, methyl orange 法²⁶⁾ 宇野法²⁷⁾ 등이 있으나 再現性이 不良하고 長時間을 要하므로 河端²⁰⁾이 改良한 Dyer 法으로 secondary amine 量을 測定하였다. 즉 alkali 性에서 CS₂-CHCl₃ 混液으로 secondary amine 을 抽出하여 Cu-reagent*로 發色시켜 吸光度(435mμ)를 測定하여 그 含有量을 求하였다(Chart 2).

檢量線: Dimethylamine HCl 을 蒸溜水로 稀釋하여 dimethyl amine 으로 1~7 ppm 의 濃度에서 吸光度를 測定하여 plot 하였다(Fig. 1).

Secondary amine 의 同定: Secondary amine 의 抽出液을 TLC 로 展開시킬 때 NH₄Cl 等の 妨害物質로 因하여 그 確認이 困難하므로 secondary amine 을 60% KNO₂ 로 nitroso 化하여 nitrosoamine 으로 만들어 確認하였다.

展開溶媒: n-Hexane: Ether: Dichloro methane (4:3:2) 混液으로 하고 silicagel G 薄層을 使用하여 展開한

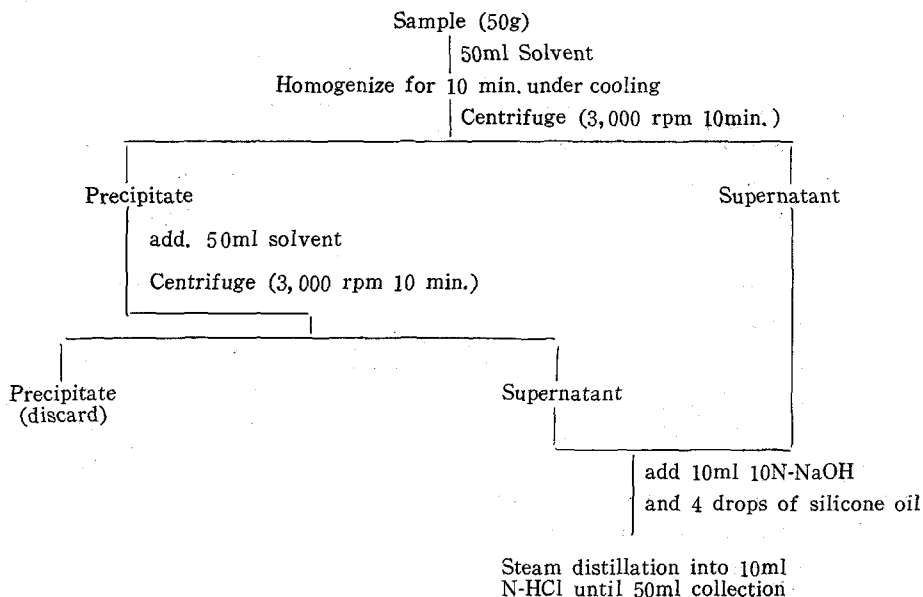


Chart 1. Extraction of secondary amines from food

Sample 5ml
 | add. CS₂-CHCl₃(5:95) 10ml and 40%
 | NaOH:28% NH₄OH (1:1) 0.2ml
 Shake for 2 min.
 | add Cu-reagent* (1ml)
 Shake for several sec.
 | add 30% HAc (1ml)
 Shake for several sec.
 |
 CHCl₃ layer
 | add Na₂SO₄ (0.4g)
 Read O. D. at 435m μ .

Chart 2. Dyer's method for dimethylamine determination as improved by Kawabata

다음 30% acetic acid를 噴霧하여 나타나는 斑點에 依해 同定하였다.

* Cu-reagent: 20% 구연산용액과 28% ammonia水를 3:2의 比率로 섞은 混液 50ml에 CuSO₄·5H₂O 0.4g을 溶解한다.

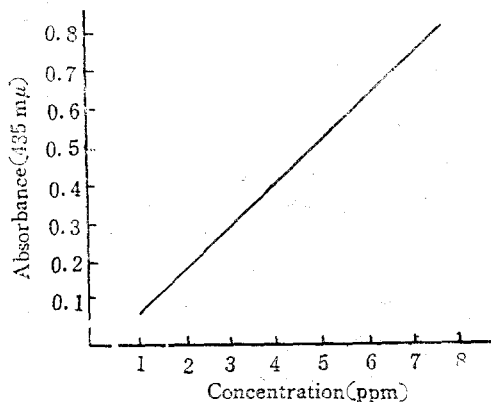


Fig. 1. Calibration curve of dimethylamine.

結果 및 考察

市販介類 19種의 實驗結果는 Table 1과 같다.

本實驗에서 採取한 試料 19種의 secondary amine의 含有量이 市場別로 2~3倍의 差異를 나타내는 것은 민어·명태·고등어·방어·맛조개 等 5種이 대개 大同

Table 1. Contents of secondary amine in various fishes

Sample	Secondary amine (ppm)				Mean	* Nitrosoamine (ppm)
	A	B	C	D		
Nibea imbricata (민어)	0.91	0.84	0.42	0.38	0.64	0.007
Theragra chalcogramma (명태)	31.35	20.27	13.56	15.38	20.29	0.223
Pseudosciaena manchuria(참조기)	2.03	2.42	1.25	1.44	1.79	0.020
Scomber japonicus (고등어)	1.35	1.56	0.57	0.84	1.08	0.012
Trichiurus haumela (갈치)	1.90	1.82	1.22	1.72	1.67	0.018
Seriola quinqueradiata (부리시)	1.27	1.92	1.02	0.72	1.23	0.014
Doryteuthis bleekeri (오징어)	7.82	5.62	4.15	5.41	5.75	0.063
Hippoglossoides aúbius (홍가자미)	2.04	1.88	1.08	1.45	1.61	0.018
Misgurnusi mizolepis (미꾸라지)	0.31	0.34	0.32	0.30	0.32	0.004
Stromateoides argenteus (병어)	1.53	1.62	1.04	0.92	1.23	0.001
Astroconger myriaster (붕장어)	0.61	0.44	0.68	0.53	0.57	0.009
Raja kenogei (홍어)	1.41	1.04	1.01	1.28	1.19	0.013
Evynnis japonica (불돔)	0.76	0.50	0.58	0.60	0.61	0.007
Clupea pallasii (청어)	1.34	1.18	1.48	1.08	1.27	0.01
Arctoscopus japonicus (도부묵)	1.64	1.66	1.48	1.24	1.51	0.017
Pleurogrammus azonus (일연수어)	2.40	1.92	1.78	1.57	1.92	0.021
Penaeus japonicus (사자구)	1.88	2.11	1.97	1.88	1.96	0.022
Ostrea denselamellosa (토굴)	0.28	0.24	0.20	0.17	0.22	0.002
Solen Gouldi (맛조개)	0.18	0.20	0.36	0.19	0.23	0.003

A~D; Sampling places

* Content of dimethylnitrosoamine calculated by Tanimura's result.

小異하였다.

또한 魚種間的 差異로는 명태와 오징어가 物異하게 높고 나머지 17種은 거의 無視할 程度로 낮은 數値를 보였다.

가장 높은 것은 명태로서 그 含有量이 平均 20.29 ppm으로 나타났고, 가장 적은 것으로는 토굴이며 그 含有量이 平均 0.22ppm이다. 민어·적돔·붕장어·미꾸라지·맛조개·토굴의 6種의 魚介類에서는 그 含有量이 1ppm 以下の 極微量이었다.

이들 16種의 魚介類에 含有되어 있는 secondary amine의 種類를 確認하기 爲하여 TLC로 分離한 結果 모두 dimethyl amine 단이 確認되었으며 diphenylamine이나 diethylamine은 確認 檢出되지 않았다.

따라서 secondary amine의 含量은 dimethylamine의 量으로 간주된다.

谷村²⁸⁾의 報告에 따르면 家兔生體에서 dimethylamine이 dimethylnitrosoamine으로 轉換하는 最大 生成率이 1.1%라고 報告하였다.

이 生成率에 따라 dimethylnitrosoamine이 本實驗 19種의 魚介類에 含有된 dimethylamine으로부터 生成되는 推定量은 Table I과 같다.

Erracini²⁹⁾에 의하면 dimethylnitrosoamine을 2~3 ppm 含有한 飼料로 飼育한 動物에서 發癌現象을 보았다. 이에 따르면 本實驗에서 使用된 試料中の secondary amine 量은 0.002ppm에서 0.223ppm에 不過하다. 그러나 谷村¹²⁾의 報告는 이들 魚介類를 加熱處理時에 secondary amine의 量이 2배 以上으로 增加한다는 事實로 보아 그 檢出量이 많은 명태 오징어에 對하여 앞으로 더욱 檢討하여 報告코져 한다.

III. 結 論

1) 市販魚介類 19種에 對하여 secondary amine의 含有量을 測定하였다.

2) Secondary amine의 含有量은 市場別 分布에는 大差가 없었다.

3) 市販魚介類 19種中 secondary amine의 含有量이 가장 높은 것은 명태로서 20.29ppm이고 가장 낮은 것은 토굴로서 0.22ppm이다.

4) 민어·적돔·붕장어·미꾸라지·맛조개·토굴의 6種 魚介類에서는 그 含有量이 1ppm 以下の 極微量이었다.

5) 16種의 魚介類가 含有하는 secondary amine은 모두 dimethylamine임을 確認하였다.

參 考 文 獻

1) J. M. Barnes and P. N. Magee: *Brit. J.*

Ind. Med. 11, 167 (1954)

2) F. Ender et al.: *Naturwiss. enschzften* 51, 637 (1960)
3) P. Marquardt: *Arzneimittel-Forsch.* 16, 778 (1966)
4) B. H. Thewlis: *Food Cosmet. Toxicol.* 5, 333 (1967)
5) D. L. Lydersen: *Z. Anal. Chem.* 230, 277 (1967)
6) K. Möhler: *Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch.* 135, 313 (1968)
7) J. D. Millar: *Nati. Cancer Inst. Monogr.* 28, 181 (1967)
8) P. N. Magee: *Brit. J. Cancer* 10, 114 (1956)
9) M. J. H. Keybets et al.: *Food Cosmet. Toxicol.* 6, 341 (1965)
10) J. Sander: *Hoppe-seyler's Z. physiol. chem.* 161, 349 (1968)
11) N. P. Sen: *Food Cosmet. Toxicol.* 7, 301 (1966)
12) 伊藤 et al.: *食品衛生學雜誌* 12, 404 (1971)
13) 宮原昭二郎: *日本化學雜誌* 81, 172 (1960)
14) J. M. Shewan: *Ann. Rept. Food Invest. Bd (Gt. Britain)* 75 (1937)
15) 谷村顯雄: *食品衛生學雜誌* 12, 192 (1971)
16) G. Schwartz et al.: *Milchwissenschaft. Forsch* 21, 323 (1937)
17) J. Thomasow: *Milchwissenschaft* 2, 350 (1947)
18) Weurman et al.: *J. Food Sci.* 26, 239 (1961)
19) 伊藤·谷村: *食品衛生學雜誌* 12, 185 (1971)
20) *ibid* 12, 400 (1971)
21) S. B. Dave: *J. Chromatog. Sci.* 1, (1969)
22) 田村: *蛋白質核酸酵素* 12, 731 (1967)
23) G. R. Umbreit: *Anal. Chem.* 33, 1572 (1961)
24) F. C. McIntire: *Anal. Chem.* 25, 1757 (1953)
25) A. J. M. Lun et al.: *Anal. Chem.* 31, 1655 (1959)
26) R. M. Silverstein: *Anal. Chem.* 35, 154 (1963)
27) 宇野豊三: *日本分析化學* 15, 958 (1966)
28) 谷村顯雄: *食品衛生學雜誌* 12, 170 (1971)
29) B. Terracini: *Brit. J. Cancer* 21, 559 (1967)