

食品中の 第二級 amine에 관한 研究(I)*

—魚肉中の Dimethylamine의 含量—

金 章 亮 **

STUDIES ON SECONDARY AMINE IN FOODS (I)*

Contents of Dimethylamine in Fish Muscle

Chang Yang KIM**

Contents of dimethylamine (DMA) in fresh fish muscle were analyzed by gaschromatography. DMA contents were in *Pseudosciaena manchuria* 10.367mg%, in *Theragra chalcogramma* 19.133mg%, in *Sardinops melanosticta* 22.833mg%, and in *Scomber japonicus* 26.300mg% respectively. Individual amines could not be separated with such a low content.

서 론

미생물, 효소 및 비효소반응에 의해 어육에서 Dimethylamine이 Mono 및 Trimethylamine등과 함께 생성되며 아민 함량은 물고기종류나, 연령, 취급 및 저장조건에 따라 다르다고 Gruger(1972)는 보고한바 있다. 아질산염은 보통 수육 및 어육등에 인위적으로 첨가되어 방색제 및 방부제로 널리 사용되고 있으며, 자연계 특히 식물체에 널리 분포되어 있는 질산염이 환원되어 아질산염으로 존재할 가능성이 많다고 한다(Singer, et al., 1976). 따라서 2급 아민만으로는 인체에 독성을 나타내지 않지만 아질산염이 함유되어있는 식품과 2급아민을 함유하는 식품을 동시에 섭취할경우 위내에서 발암물질인 Nitrosoamine이 생성될 가능성이 있으므로 대단한 관심을 갖고 이에 대한 연구가 활발히 진행중에 있다. 본실험에서 저장(Tokunaka, 1970), 가공품(Singer, et al., 1976)중의 2급아민 생성원인 또는 식염을 첨가하여 숙성시키면서 발효숙성중의 증가량을 조사할

려고 한것이 아니고 양육후 소비자에 이르는 유통과정중 2급아민의 생성량을 알기위하여 분석에 필요한 기초실험을 1977. 4. 2부터 1978. 4. 10까지 실시하였다. 2급아민을 정량하는 방법은 현재까지 비색법(Dyer 1945; Umbreit, 1961; Silverstein, 1963; 宇野 등, 1966; Kawabada et al., 1973)과 가스크로마토그래프법(Corcia, et al., 1974; Dunn, et al., 1976; Hoshika, 1976)의 2가지 방법이 널리 이용되고 있으므로 본실험에서는 가스크로마토그래프법으로 2급아민류를 분리정량 할려고 하였으나 유통과정중 어육으로부터 생긴 2급아민의 총 함량이 극미량이어서 2급아민류의 분리는 어려웠다.

그러나 몇 가지 어류란 재료로 선정하여 어육중에 존재하는 Dimethylamine의 함량을 보다 정확히 분석하였다.

실 험

1. 실험재료

* 本研究은 1977年度 文敎部 學術研究 助成費로 이루어졌음.

** 釜山水産大學 食品工學科 Dept. of Food Sci. and Technol., National Fisheries University of Busan.

본실험의 재료는 부산 총무동 어시장에서 멸택, 참조기, 정어리, 고등어를 구입한 뒤 4°C냉장고에 하루동안 보관하였다가 사용했다. 사용된 부위는 뼈, 지느러미, 내장 및 머리부분을 제외한 순진 어육이었다.

2. 재료의 조제

Kawabada, et al. (1973)의 방법에 의하며 재료를 조제하였다. 즉, 잘 마쇄한 어육 30g을 정확히 달아서, pH 7.4인 인산완충용액 150 ml을 가하고 비-커내에서 씻었다. 잘 교반하여 15분간 방치한후 20% TCA 20 ml을 가하여 혼합했다. 15분간 방치한후, 원심분리기(2500 r. p. m)로 15분간 원심분리한 여액을 다시 동양여지 NO. 5A를 사용하여 증류플라스크중에 여과하였다. 증류플라스크중에 NaCl 30g, 50%KOH 10 ml를 가하여 감압증류했다. 증류조건은 항온수조온도 45°C, 감압도 30~40 mmHg이 하로서 45분간 하였다. 유출물은 0.5N HCl 20 ml중에 포집되었다. 포집한 추출액은 감압에 의해서 2 ml까지 농축하여 사용하였다.

3. Dimethylamine의 가스크로마토그래프 분석

농축물의 희분 3 μl를 가스크로마토그래프에 주입하였고, 이때 가스크로마토그래프의 분석기기조건은 Table 1과 같이 하였으며, 각시료의 retention time은 Dimethylamine표준 물질의 그것과 비교검토하여 만치록법(稱垣, 1969)으로 정량하였다.

Table 1. Analytical condition of gaschromatography of dimethylamine in fish protein

Column: 6'×1/4" (o. d.) glass with 80/100 mesh Chromosorb 103(Johns-Manville)
Temp: 120°C
Detector: FID
Instrument: Varian 2,700
Carrier gas: N ₂ (at 30 ml/min),
Fuel gas: H ₂ (at 30 ml/min), air(at 30 ml/min)
Detector Temp: 250°C
Injection Temp: 220°C
Electrometer attenuation: 128×10 ⁻¹¹ A and 256×10 ⁻¹¹ A(AFS)using a 1 mV recorder

결과 및 고찰

어육에서 생성된 휘발성 저급아민의 정량은 가스

크로마토그래프법으로 많이 이용(Gruger, 1972; Andre, et al., 1973;河端 등, 1974)되고 있다. 특히 생체중에서 생성된 2급아민의 함량은 극미량어에서 가스크로마토그래피의 분해능이 상당히 우수한 충전제를 잘 선택해야한다. 현재까지 저급아민을 분리하는데 가장 좋다고 보고(Kawamura, et al., 1971a; Kawamura, et al., 1971b; Gruger, 1972; 河端 등, 1974)된 충전제, 80/100mesh의 Chromosorb 103 (Johns-Manville), PEG 6,000: KOH(10:10%)+60/80 mesh Chromosorb. W (wako) 및 PEG 20M(10%)+60/80 mesh, Chromosorb W(wako)를 본 실험에서 사용하였던바 가장좋은 분해능을 가진것은 Andre, et al. (1973)이 사용한 충전제였으며 Table 1과 같은 분석조건을 얻었다. 1977. 4. 2~1977. 4. 10동안에 위의 충전제로 필요할 때마다 시장에서 명태, 참조기, 고등어 및 정어리를 구입하여 재료로 사용하였던바, 어떤경우에는 2급아민이 확인되지 않는 경우도 있었으며, 가장많이 확인될 때는 참조기와 명태는 Fig. 1과 같고, 정어리와 고등어는 Table 1과 같은 조건에서 정량 할 수 있었다. Sato, et al. (1963)은 부패한 물고기는 2급아민이 존재하지 않는

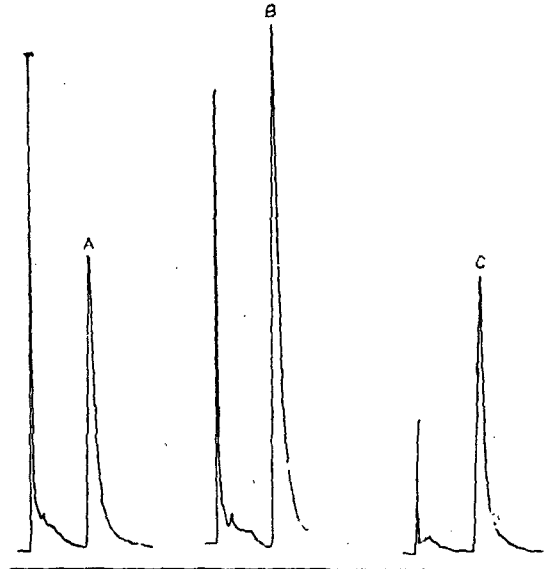


Fig. 1. Gas chromatogram of dimethylamine (DMA) isolated from fish protein peaks are. (A) *Pseudosciaena manchuria*. (B) *Theragra chalcogramma*. (C) Standard DMA (3μl), Chromosorb 103 column run isothermally 120°C, at 128×10⁻¹¹A(AFS).

다고 보고 했으며, Castell, *et al.* (1971)은 가자미류(flounder)의 fillet, 북양가자미류(halibut), 베도라치속어류(wolffish) 및 놀래기류(redfish)에서는 발견되지 않는다고 보고한바도 있다. 본실험에서 Fig. 1은 1978. 2. 10제료를 구입하여 Chromosorb 103 (80/100mesh)으로 분석한것이다.

국내에서는 비색법으로 어류중에 존재하는 2급아민을 Kim(1973)과 Moon, *et al.* (1974)이 정량한바 있다. Kim(1973)의 실험에 의하면 2급아민의 평균 함량이 참조기 0.020ppm, 명태 0.223ppm, 고등어 0.012ppm이었다. 본실험은 Kim(1973)의 실험재료 구입방법과 유사하였으며 평균치는 *Pseudosciaena manchurica* (참조기), 10.367mg% (0.010ppm); *Theragra chalcogramma*(명태), 19.133mg% (0.019ppm); *Sardinops melanosticta*(정어리), 22.833mg% (0.023ppm); *Scomber japonicus*(고등어), 26.300mg% (0.026ppm)이었다. 반면에, Moon, *et al.* (1974)은 Kim(1973)의 재료구입 방법과 유사하였는데도 그 평균치는 상당히 차이가 있었다. Moon, *et al.* (1974)의 실험에서 참조기의 머리부분과 몸체부분은 4.56ppm과 1.49ppm, 명태의 머리부분과 몸체부분은 10.58ppm과 15.02ppm, 고등어의 머리부분과 몸체부분은 1.81ppm과 3.27ppm이었다. 최근 일본농화학회(1978)가 어류의 DMA함량을 보고한바 있다. 즉, 어류중에 존재하는 DMA의 정류법에 의한 정량은 國崎(1976)의 MgO증류법과 종래의 NaOH 증류법으로 대별할 수 있으며, 國崎의 새로운 증류법(MgO 증류법)에 의한 DMA의 분석치가 정어리와 대구에서 각각 2.0~4.5ppm과 22.5~90.0ppm이었는데 반하여 종래의 구법(NaOH증류법)에 의한 분석치가 각각 15.7~21.0ppm과 34.5~99.6ppm이었다. 이와같이 어육에서 생성된 2급아민 분석치가 엄청나게 차이가 나는것은 2급아민 추출과정에서 사용된 방법여하에 따라 2급아민의 손실이 상당히 다르게 조사될 수 있으며, 새로운 방법에 비하여 종래의 구법에서 2급아민 함량이 과다하게 보고되어 왔음을 지적할 수 있다. 본실험에서 2급아민류와 같이 높은 휘발성을 가지는 화합물의 함량을 정량하려고 할때 미량이라도 손실이 생길 수 있는 경우는 다음과 같다(Gruger, 1972). 재료중의 아민을 추출, 농축하는 과정에서 아민의 손실이 예상되며 어육으로부터 아민의 분리는 화합물에 따른 염기도, 산성수용액에서 용매를 증발시키는 과정, 양이온을 형성하는 아민의 농리 및 용매내에서 아민의 용해도 때문에 손실이 예상된다. 또한 가스크로마토그래피법으로 측정

할때 충전제내의 수분및 KOH의 영향(Sze, *et al.*, 1963)을 피할 수 없어서 상당량의 손실이 수반되므로 정량할때 Gruger(1972)는 수용매대신에 Methyl-octanoate를 쓴바 있다. 본 실험에서 어류중에 존재하는 2급아민의 함량이 매우 적은량이므로 2급아민을 분리하는 것은 불가능했다. 만약에 Pyeun, *et al.* (1976)이 보고한것처럼 멀치젯갈 속성증 Trimethylamine oxide가 현저히 감소해가는 반면에 Dimethylamine의 생성이 최대로 증가하는 속성기간중에 2급아민류를 분석한다면 본실험과 유사한 조건에서 GC-MS분광광도계 (Singer, *et al.*, 1976)로 가능할것 같다.

요 약

일상생활중 시장에서 손쉽게 구입하여 요리하기 적절까지의 유통과정중, 어류의 단백질에서 미생물작용 또는 효소반응등에 의하여 생성된 2급아민은 가스 크로마토그래피법으로 정량한것을 요약하면 다음과 같다.

Pseudosciaena manchuria(참조기), 10.367mg%; *Theragra chalcogramma*(명태), 19.133mg%; *Sardinops melanosticta*(정어리), 22.833mg%; *Scomber japonicus*(고등어), 26.300mg%였다.

이상의 데이터는 1978. 2. 10 부산 흥무어시장에서 재료를 구입하여 어육중에 존재하는 총 2급아민을 분석한 평균치이며, 이함량으로는 2급아민류를 분리할 수 없었다.

아민분석에 수고를 많이 해 주신 한국과학기술연구소 분석실의 김택재연구원님, 부산세관의 최원형 박사님과 부산공전의 방백원교수님께 감사를 표합니다.

문 헌

- Andre, I. E. and A. R. Mosier(1973): Precolumn inlet system for the gas chromatographic analysis of trace quantities of sort-chain aliphatic amines. *Anal. Chem.* 45(11), 1971-1973.
- Castell, C. H., B. Smith and W. Neal(1971): *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 28, 1.
- Corcio, A. D. and R. Samper: (1974): *Gas*

- chromatographic determination at the parts-per million level of aliphatic amines in aqueous solution. *Anal. Chem.* 46(8), 977-981
- Dunn, S. R., M. L. Simenhoff and L. G. Wes-son(1976): Gas chromatographic determination of free mono-, di-, and trimethylamines in biological fluids. *Anal. Chem.* 48(1), 41-44.
- Dyer, W. J. (1945): Amines in fish muscle. 1. Colorimetric determination of trimethylamine as the picrate salt.
2. Development of TMA & other amines. *J. Fish Res. Bd. Can.* 6(5), 351-357.
- Gruger, E. H. (1972): Chromatographic analyses of volatile amines in marine fish. *J. Agric. Food Chem.* 20(4), 781-785.
- Hoshika, Y. (1976): Gas Chromatographic separation of lower aliphatic amine. *Anal. Chem.* 48(12), 1716-1717.
- 稻垣長典(1969): '栄養学 実験' 家政学实验シ리즈/2 68-69, 産業圖書.
- 日本農化学会(1978): 魚のジメチルアミンと野菜の亜硝酸. *日本農化学会誌* 第52巻, 79-81.
- 河端俊治・石橋亨(1974): 第2級 アミンの検出と定量. *水産生物化学, 食品学实验書* 306-314, 恒星社.
- Kawabada, T., T. Ishibashi and M. Nakamura (1973): Studies on secondary amines in foods (I). Modified Cu-dithiocarbonate colorimetric method for the determination of secondary amines. *J. Food Hyg. Soc. Japan* 14(1), 31-36.
- Kawamura, T., K. Sakai, F. Miyazawa, H. Wade, Y. Ito and A. Tanimure (1971a): Studies on nitrosoamines in foods(IV). Distribution of secondary amines in foods I. *Food Hyg. Soc. Japan* 12(3), 192-197.
- _____, (1971b): Studies in foods (V). Distribution of secondary amines in foods (2). *J. Food Hyg. Soc. Japan* 12(5), 394-398.
- Kim, K. H. (1973): Studies on nitrosoamines in foods(I). Distribution of secondary amines in raw marine fishes. *Bull. K. H. Pharma. Sci.* 1, 31-35.
- Moon, B. S., B. S. Kim and S. K. Woo(1974): Studies on nitrosoamine in foods (II). Contents of nitrate, nitrite and dimethylamine in various foods. *Rep. NIH, Korea* 11, 181-189.
- Pyeun, J. H., B. Y. Jeong and K. S. Hwang (1976): Formation of dimethylamines in the course of anchovy fermentation with salt. *Bull. Korean Fish. Soc.* 9(4), 223-231.
- Sato, Y., K. Ito and F. Matsumoto (1963): *J. Fac. Fish. Anim. Husb. Hiroshima Univ.* 5(1), 193.
- Singer, G. M. and W. Lijinsky (1976): Naturally occurring nitrosatable compounds(I). Secondary amines in foodstuffs. *J. Agric. Food Chem.* 24(3), 550-555.
- Silverstein, R. M. (1963): Spectrophotometric determination of primary, secondary and tertiary fatty amines in aqueous solution. *Anal. Chem.* 35(6), 154-157.
- Sze, Y. L., M. L. Borke and D. M. Ottenstein (1963): Separation of lower aliphatic amines by gas chromatography. *Anal. Chem.* 35, 240-242.
- Tokunaka, T(1970): Trimethylamine oxide and its decomposition in the bloody muscle of fish (II). Formation of DMA and TMA during storage. *Bull. Japan Soc. Sci. Fish.* 36(5), 510-515.
- Umbreit, G. R. (1961): Spectrophotometric determination of secondary amines. *Anal. Chem.* 33(11), 1572-1573.
- 宇野豊三・山本正康(1966): 二級アミンの比色定量法 *Japan Analyst* 15, 958-961.