

식품첨가물의 분석에 관한 연구 - (I) 아질산근 정량법에 관한 검토

천석조·임영희·송인상·노정배
한국식품공업협회 식품연구소

Studies on Analysis of Food Additives- (I) Studies on the Determination of Nitrite in Foods

Seok-Jo Cheon, Young-Hee Lim, In-Sang Song and Jung-Bae Ro
Food Research Institute, Korea Foods Industry Ass., Seoul 137-070, Korea

ABSTRACT-This study was carried out to discuss a colorimetric method for the determination of nitrite in meat products issued by the Ministry of Health and Social Affairs of Korea (1985).

- 1) The recovery rates of nitrite of test solution extracted in the room temperature were higher than those obtained by the heating extraction.
- 2) In the room temperature, samples prepared with the slice were more effective than the blending method and the distilled water as extracting solvent for nitrite was more effective than the phosphate buffer solution.
- 3) The extracting time showed that thirty minutes were enough to extract nitrite and the diazotizing-coupling reagents, 30% of sulfanilamide and N-1-naphthylethylenediamine were better than others.
- 4) The nitrite in a test solution greatly decreased when the solution was distilled. In this case, the test solution should be used as a control.
- 5) Ten minutes were enough to couple nitrite.

Keywords □ Food additive, Nitrite, Diazotization-coupling method, Sulfanilamide, N-1-naphthylethylenediamine

아질산염은 채소 및 과실류¹⁻⁵⁾, 음료수, 타액 등 그의 분포가 다양하며 햄, 소시지, 젓갈류 등에 발색제 및 미생물 생육억제제로도 이용될 뿐만 아니라 혈관확장제로도 이용하고 있다.

그런데 아질산염은 methemoglobin 血症에 관련되는 물질, 과실, 채소류 통조림에서 관내면의 錫을 異常溶出시키는 촉진인자⁶⁻¹⁰⁾ 또는 발암성의 nitrosamine을 생성하는 전구물질로서 식품위생학적인 면에서 많은 관심을 끌고 있는 성분이다.

이러한 관점에서 많은 나라에서는 국민보건을 이유로 현행 법규를 개정하거나 용도에 따라 대체

가능한 식품첨가물을 강구하고 있는 실정이다. 각국의 식품첨가제로서의 허용량은 식품이나 나라에 따라서 다르나 대체로 10~200 ppm이다.

우리나라에서는 아질산근으로 식육 또는 경육을 주원료로 한 햄, 소시지, 베이컨, 기타 유사제품에 0.07g/kg 이하, 어육소시지 및 어육햄에서는 0.05g/kg 이하의 사용기준을 설정하고 있어 이들을 규제하고 관리하기 위한 분석방법의 재검토와 확립이 절실한 실정이라 할 수 있다.

따라서 본 연구에서는 현행 보건사회부 고시 제 86-5호 식품 등의 규격 및 기준에 근거한 실험방법의 검토와 개선을 위한 연구의 일환으로 현행 아질산근 분석방법상의 개선점을 얻고자 시판의 식육 제품 및 젓갈류(알젓)를 사용하여 아질산근의 정

Received for publication 13 May, 1988
Reprint request; Dr. S.J. Cheon at the above address

량법에 대하여 검토하였으므로 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시료—본 실험에 사용한 햄, 소시지는 1986년 10월 25일에서 12월 5일사이에서 부산시 남구 대연동소재 슈퍼마켓에서 구입하였으며 3종류의 젓갈류(알젓)는 1986년 11월 27일 부산시 충무동소재 오양수산(株)에서 제조한 젓갈류를 구입하였다. 생 돈육은 1986년 10월 30일 부산시 남구 대연동소재 소매 식육점에서 구입하여 실험에 사용하였다.

방법—아질산근의 정량방법에 대한 제반 검토는 보건사회부 고시 제 86-5호 식품 등의 규격 및 기준의 방법¹⁾에 따라 행하였다.

결과 및 고찰

최대 흡수파장의 검토—시료 5g을 취하여 식품 등의 규격 및 기준에 근거한 실험방법에 따라 시험용액을 조제하고 제단백제로 사용하고 있는 HgCl₂의 첨가유무 및 표준용액의 최대 흡수파장을 검토하여 Fig. 1에 나타내었다. 그림에서 보는 바와 같이 HgCl₂를 첨가한 시험용액, 첨가하지 않은 용액 및 아질산염의 표준용액의 최대 흡광도는 540 nm에서 최대치를 나타내었다.

온침 및 냉침에 따른 회수율—종래의 방법에는 80°C에서 2시간 침출(이하 온침이라고 함)하는 조작에 대해 검토하고자 생 돈육을 잘게 썰어 조제(slice)한 시료 및 blender로 5분간 균질화시켜 조

Table 1. Recovery rate of nitrite nitrogen of test solution extracted with and without heating at 80°C (sample treatment; slice) (%)

		15	30	60	120 (min)
Heating	added HgCl ₂	99.07	101.86	104.02	92.88
	not added HgCl ₂	77.40	78.95	91.33	100.62
Not heating	added HgCl ₂	106.19	114.55	102.48	114.86
	not added HgCl ₂	85.14	115.26	88.85	102.17

Table 2. Recovery rate of nitrite nitrogen of test solution extracted with and without heating at 80°C (sample treatment; blending) (%)

		15	30	60	120(min)
Heating	added HgCl ₂	64.52	64.90	72.00	74.84
	not added HgCl ₂	70.97	74.84	69.94	78.97
Not heating	added HgCl ₂	82.19	82.58	80.90	85.03
	not added HgCl ₂	65.81	74.84	67.10	76.77

제 (blenol)한 시료에 아질산 표준용액(20 µg NO₂-N)을 첨가하여 회수율을 나타낸 것이 Table 1~2이다. 또한 냉침(실온에서 추출 이하 냉침이라고 함), 온침 및 아질산 표준용액의 흡수 스펙트럼은 Fig. 2와 같다. Table 1에서와 같이 검체 처리 방법에 따라 점체를 세절한 경우, 온침 및 HgCl₂를 첨가한 시료에서는 침출시간 1시간으로 하였을 때 회수율이 최대이었으며 제단백제인 HgCl₂의 무첨가에서는 2시간에서 회수율이 최고에 달하였다. 또한 냉침한 경우에는 HgCl₂를 첨

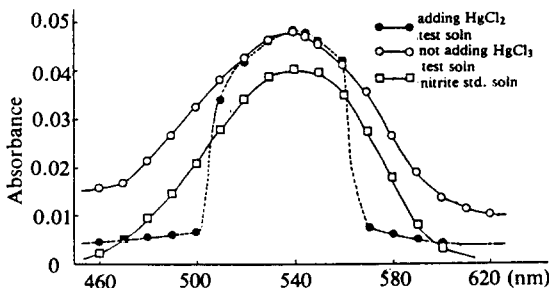


Fig. 1. Absorbance spectra of nitrite standard solution and test solution with and without adding HgCl₂.

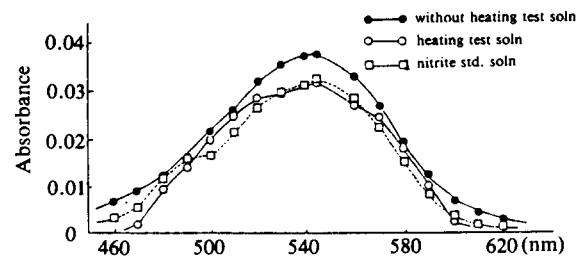


Fig. 2. Absorbance spectra of test solution extracted with and without heating at 80°C for 2 hrs. Test solution was added HgCl₂.

가하였을 때 침출시간 30분 및 2시간에서 최대 회수율을 나타내었고 첨가하지 않았을 때는 침출시간 30분에서 가장 높은 회수율을 나타내었다.

한편 시료를 균질화한 방법의 경우 온침에서는 HgCl₂ 첨가유무에 관계없이 모두 최대의 회수율이 침출시간 2시간으로 각각 74.8% 및 78.97%를 나타내었다. 냉침한 경우에서도 역시 침출 2시간에서 최대 회수율을 나타내었지만 냉침·세절하여 HgCl₂를 첨가하지 않고 30분간 침출시킨 회수율보다 낮았다.

따라서 검체처리방법은 세절하는 것이 좋은 것으로 나타났으며 제단백제로 HgCl₂를 사용하고 있는 현행 분석방법은 중금속의 사용후 폐기문제가 심각한 실정이므로 본 실험에서 확인된 냉침에 의한 HgCl₂의 무첨가방법이 좋은 개선책이 될 것으로 생각된다. 또한 침출시간을 종래의 2시간에서 30분으로 줄일 수 있었으며 침출온도도 80°C에서 실온으로 내리므로써 간편하고 신속을 꾀할 수 있었다.

침출용매—냉침시 용매로서 증류수와 인산염 완충용액 (pH 7.0)을 사용하여 최대 흡수파장영역과 두 용매간의 추출성을 비교한 것이 Fig. 3이다. 냉침한 경우에서는 증류수로 추출하는 방법이 인산염 완충용액을 사용한 방법보다 흡광도가 높게 나타났으며 실험중 시험용액의 혼탁도도 완충용액을 사용한 것이 심하게 나타났다.

착색 또는 혼탁한 시험용액의 가열 증류문제—종래의 분석방법에서는 시험용액이 착색 또는 혼탁되었을 때 황산 산성하에서 증류하여 아질산근을 NaOH 용액중에 포집하도록 되어 있다. 이들 가열 증류문제가 아질산근을 회수하는데 미치는 영향을 알아보고자 HgCl₂를 첨가하지 않은 시험용

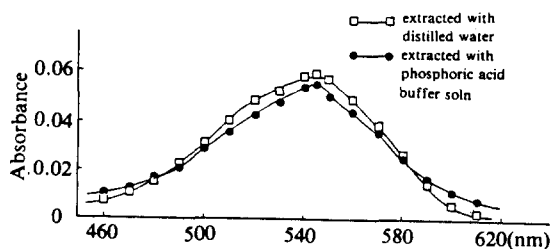


Fig. 3. Absorbance spectra of test solution extracted with distilled water and phosphoric acid buffer solution.

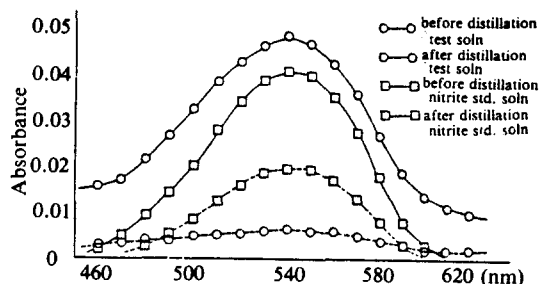


Fig. 4. Absorbance spectra of test solution and nitrite standard solution before and after distillation. Test solution was stirred for 30 min without adding HgCl₂.

액 및 아질산 표준용액의 가열 증류전후에 대하여 비교 검토하였는데 그 결과는 Fig. 4와 같다.

Fig. 4에서와 같이 시험용액에서의 회수율은 현저하게 감소하였으며 아질산염 표준용액의 경우도 회수율이 크게 감소하였지만 시험용액만큼은 두드러지게 나타나지 않았다.

한편, 검체를 30분간 냉침하여 추출한 시험용액에 HgCl₂ 첨가유무 및 처리방법에 따라 가열 증류전후에 대한 아질산의 회수율은 Table 3에 나타내었다.

검체를 잘게 썬 slice법에서는 HgCl₂를 첨가한 시험용액 및 첨가하지 않은 시험용액에서의 회수율은 높았지만 증류를 하였을 때는 각각 15.33% 및 14.44%로 급격히 감소하였다. 또한 균질화 방법에서는 증류전에도 회수율이 낮았지만 증류후에는 2.22%로 감소하였다. 이들의 결과에서도 검체 처리방법이 세절로 한 경우가 회수율이 좋은 것을 알 수 있었다. 또한 HgCl₂의 첨가유무에 대해서는 회수율에 큰 차이가 없으므로 사용할 필요가 없

Table 3. Recovery rate of nitrite nitrogen of test solution extracted without heating for 30 minutes

		(%)	
		slice	blending
before distillation	added HgCl ₂	107.78	90.00
	not added HgCl ₂	107.11	70.89
after distillation	added HgCl ₂	15.33	2.22
	not added HgCl ₂	14.44	2.22

* Sample was treated with slice and blending, respectively.

Table 4. Effect of color developing degree of different acidifying reagent and stability of azo dye.

Time (hrs)	Absorbance (540 nm)			
	None	1N-HCl	0.1M CH ₃ COOH	0.1M H ₃ PO ₄
0	0.540	1.190	0.960	1.130
1	0.550	1.200	0.990	1.120
7	0.545	1.180	0.980	1.115
15	0.540	1.170	0.970	1.100

는 것으로 생각되며 증류물에는 대조액을 물로 사용하지 않고 시험용액을 사용하여 공시험으로서 보정해주어야 할 것이다.

Diazo화 반응에 있어서 산성화제의 검토—Diazo화 반응에서 pH의 영향을 조사하기 위하여 1 N-HCl, 0.1 M-CH₃COOH 및 0.1 M-H₃PO₄의 산성화제에 대한 분석결과는 Table 4와 같다. 산성화제를 첨가하지 않은 대조구에서의 흡광도가 가장 낮았으며 종래의 방법에서 사용하고 있는 1 N-HCl이 가장 발색이 양호하였다. 그 다음으로는 0.1 M-H₃PO₄ 및 0.1 M-CH₃COOH의 순서이었다. 또한 정색의 안정도도 1 N-HCl을 사용한 것이 가장 양호하였다.

Diazo화 및 Coupling제의 비교—일반적으로 사용

Table 5. Comparison to the color developing degree of different diazotizing reagents and the coupling reagents

1	2	3	4	5	6
1.322	1.418	1.332	0.902	1.116	1.425
Diazotizing reagent		Coupling reagent			
1. sulfanilamide		N-1-naphthylethylenediamine			
2. sulfanilamide		N-1-naphthylethylenediamine			
3. sulfanilamide		(solvent; CH ₃ COOH)			
4. sulfanilic acid		N-1-naphthylethylenediamine			
(solvent; CH ₃ COOH)		α-naphthylamine			
5. sulfanilic acid		(solvent; CH ₃ COOH)			
(solvent; CH ₃ COOH)		α-naphthylamine			
6. sulfanilamide		(solvent; CH ₃ COOH)			
(solvent; CH ₃ COOH)		N-1-naphthylethylenediamine			



Fig. 5. Absorbance spectra of azo dye formed from the diazo-coupling reagent dissolved 30% acetic acid solution.

Diazotizing reagent: sulfanilamide

Coupling reagent: N-1-naphthylethylenediamine

되고 있는 diazo화 및 coupling제를 검토하기 위하여 종래의 방법에 따라 diazo화 및 coupling 반응을 행하여 그의 흡광도를 Table 5에 나타내었다.

검토된 diazo화 및 coupling제 중에서 각각 30% 초산용액으로 만든 sulfanilamide와 N-1-naphthylethylenediamine이 가장 좋은 결과를 나타내었다. 또한 이들의 최대 흡수파장은 540 nm이었다 (Fig. 5).

Diazo화 시간 및 발색안정도—이 diazo화 및 coupling제로 diazo화 시간을 검토하기 위하여 3분, 15분, 30분으로 하여 검토한 결과는 Table 6과 같고 발색안정도는 Table 7과 같다. 즉, diazo화 시간 3분, 15분, 30분에서 각각 1.480, 1.480, 1.486의 흡광도를 나타내어 큰 차이를 나타내지 않았으므로 diazo화의 시간은 3분으로도 충분하였다. 또한 발색의 안정도는 발색후 2시간까지는 거의 변화가 없어 안정하였다.

Table 6. Effect on the color development to the diazotizing time

Amount of Diazotizing NO ₂ -N(g)	time(min)	Absorbance (540nm)					Mean
		1	2	3	4	5	
3	0	1.460	1.465	1.462	1.455	1.460	
	3	1.480	1.479	1.482	1.480	1.480	
	15	1.480	1.478	1.480	1.483	1.480	
	30	1.485	1.490	1.485	1.490	1.486	

Diazotizing reagent: sulfanilamide

Coupling reagent: N-1-naphthylethylenediamine

Table 7. Stability of color development to the various diazoting time

min	0	2	3	7	14(hrs)
0	1.358	1.390	1.385	1.350	1.100
3	1.400	1.395	1.390	1.375	1.123
15	1.389	1.385	1.375	1.318	1.040
30	1.410	1.400	1.390	1.335	1.142

*Diazoting reagent; sulfanilamide
Coupling reagent; N-1-naphthylethylenediamine

Coupling 시간의 검토—종래의 방법으로는 coupling 시간이 20분으로 되어 있는데 이들 coupling 제를 사용하여 반응시간을 검토한 것이 Table 8이다. Coupling 시간이 5분인 경우에는 흡광도가 가장 낮았지만 10분, 15분 및 20분의 발색시간에

Table 8. Effect on color development to the coupling reaction time

Amount of NO ₂ -N(g)	Coupling time (min)	Absorbance (540nm)				Mean
3	5	1.390	1.385	1.385	1.388	1.387
	10	1.400	1.405	1.405	1.403	1.403
	15	1.400	1.400	1.395	1.405	1.400
	20	1.405	1.408	1.400	1.405	1.405

*Diazoting reagent; sulfanilamide
Coupling reagent; N-1-naphthylethylenediamine

서는 큰 차이를 나타내지 않았다. 따라서 종래의 반응시간을 10분으로 할 수 있는 점을 알 수 있다.

국문 요약

현행 보건사회부 고시 제 86-5호 식품 등의 규격 및 기준에 근거한 아질산근의 정량법에 대하여 검토한 결과는 다음과 같다.

1. 온침 및 냉침에 의한 침출방법에서 아질산근의 회수율은 종래의 온침법에 비하여 냉침법이 높았다.
2. 냉침한 경우 검체를 세절한 것이 균질화한 것보다 회수율이 좋았으며 지질함량이 높은 알것류를 제외하고는 계단백제를 처리하지 않아도 거의 동일한 회수율을 나타내었다.
3. 침출시간은 30분 및 2시간에서 가장 높은 회수율을 나타내었으며 HgCl₂를 첨가하지 않은 시험용액은 침출시간 30분에서 최대 회수율을 나타내었다.
4. 침출용매로서는 냉침의 경우 물이 중성 완충용액보다 좋았으며 완충용액에서는 혼탁현상이 나타났다.
5. 시험용액이 착색 또는 혼탁되었을 때 증류조작을 하면 아질산근이 소실되어 회수율이 크게 저하하므로 시험용액으로 보정할 필요가 있다.
6. Diazo화 반응에서 산성화제는 검토된 것중에서 현행의 1N-HCl이 가장 좋은 결과를 나타내었다.
7. Diazo화 및 coupling에는 각각 30% 초산용액으로 만든 sulfanilamide와 N-1-naphthylethylenediamine이 검토된 것중에서 가장 양호하였다.
8. Coupling 시간은 종래의 20분에서 10분으로 단축시킬 수 있었다.

참고문헌

1. Hata, A. and Ogata K.: Nitrate and nitrite contents in pickles of some vegetables. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **26**(1), 6(1979).
2. Hata, A. and Ogata K.: Studies on nitrate in horticultural products. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **23**(3), 132 (1976).
3. Hata, A.: Studies on nitrate and nitrite in horticultural products. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, **26**(9), 403 (1979).
4. Hata, A. and Ogata K.: Changes of nitrate and nitrite contents during storage and cooking of potato tubers. *J. of Japan. Soc. of Food and Nutrition*, **24**(6), 345 (1971).
5. 김장량, 천석조, 박영호: 과실, 채소류의 질산염 및 아질산염 함량, 부산수산대학 연구보고, **24**(1), 129(1984).
6. Suzuki, K. and Osakabe I.: Studies on internal corrosion of tinplate cans-I. *J. Tokyo Univ.*

- Fish.*, **53**(1), 49 (1967)
7. Suzuki, K. and Osakabe I.: Studies on internal corrosion of tinfoil cans-III. *J. Tokyo Univ. Fish.*, **54**(1) 43 (1967).
 8. Horio, T., Iwamoto Y. and Komura S.: Studies on internal corrosion of cans-IV. *J. of Japan. Soc. of Food and Nutrition*, **9**(2), 133 (1968).
 9. 梅田眞男：罐詰用水について. 1. 主として用水中の硝酸根の問題にふれて. *ニューフードインダストリー*, **8**(6), 42 (1966).
 10. 梅田眞男：罐詰用水について. 2. 錫の毒性について. *ニューフードインダストリー*, **8**(7), 46 (1966).
 11. 한국식품공업협회편: 식품 등의 규격 및 기준, 63-64 (1986).