博士學位論文

김치의 (항)돌연변이원성과 유산균에 의한 아질산염 소거

濟州大學校 大學院

食品工學科

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

吳 昌 璟

1997年 6月

김치의 (항)돌연변이원성과 유산균에 의한 아질산염 소거

指導敎授 金 洙 賢

吳 昌 璟

이 論文을 工學博士學位 論文으로 提出함

1997年 6月

吳昌璟의 工學博士學位 論文을 認准함

審査委員長	宋 大 鎭	
委 員	成 洛 珠	
委 員	高 容 九	
委 員	高 榮 煥	
委 員	金 洙 賢	

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

濟州大學校 大學院

1997年 6月

Antimutagenic and Mutagenic Activity of Kimchi and Depletion of Nitrite by Lactic Acid Bacteria

Chang-Kyung Oh

(Supervised by Professor Soo-Hyun Kim)

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
DOCTOR OF ENGINEERING

DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE AND ENGINEERING
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

JUNE 1997

목 차

Summary ····· 1

Ⅰ. 서 론 ····· 3

Ⅱ. 연구사 ····· 8

1. 김치 숙성에 관여하는 미생물 ····· 8

2. 아질산염에 의한 노출 ····· 11

3. 미생물에 의한 아질산염 소모 ····· 14

4. 유산균에 의한 발암물질 억제 ····· 16

5. 김치와 관련한 *N*-nitrosamine 연구 ····· 18

6. 김치 재료와 관련된 발암과 항암 ····· 21

Ⅲ. 재료 및 방법 ····· 28

1. 유산균에 의한 아질산염의 소거 ····· 28

1) 유산균 분리용 재료 ····· 28

2) 김치로부터 유산균의 분리 ····· 28

(1) 유산균의 분리 ····· 28

(2) 균주의 동정 ····· 29

(3) KCTC 균주 ····· 29

(4) CTFM 균주 ····· 30

3) 유산균에 의한 아질산염의 소거 ····· 30

4) 아질산염의 정량 ····· 31

(1) 시 약 ····· 31

(2) 실험방법 ····· 31

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2. 김치 숙성 중 *N*-Nitrosamine의 변화 ····· 32
1) 김치 시료의 조제 ····· 32
2) *N*-Nitrosamine 분석 ····· 32
3. 김치와 김치 재료의 돌연변이원성 ····· 34
1) 추출 시료 ····· 34
2) 시료의 추출 ····· 34
3) 시험용 시료와 양성 돌연변이원 ····· 35
4) 지표균주 ····· 35
(1) *Salmonella typhimurium* TA100 ····· 35
(2) *S. typhimurium*의 streptomycin 의존성 SD510 ····· 35
5) 사용 배지 ····· 36
(1) Oxoid(OX) 액체배지 ····· 36
(2) OX 한천배지 ····· 36
(3) OX-SM20 액체배지 ····· 36
(4) OX-SM20 한천배지 ····· 36
(5) Vogel-Bonner E배지(50X) ····· 36
(6) Minimal glucose(MG) 한천배지 ····· 36
(7) Top-agar ····· 37
(8) 0.5mM histidine/biotin 용액 ····· 37
6) Conformation(CF) test ····· 37
(1) TA100 ····· 37
(2) SD510 ····· 37
7) 김치 재료 추출물의 돌연변이원성 ····· 38
(1) Spot test ····· 38
① TA100 ····· 38

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

② SD510 ····· 39
(2) Plate test ····· 39
① TA100 ····· 39
② SD510 ····· 39
8) 양성 변이원 물질의 돌연변이원성 ····· 40
(1) Spot test ····· 40
(2) Plate test ····· 40
9) 김치와 재료 추출물의 (항)돌연변이원성 ····· 41

Ⅳ. 결과 및 고찰 ····· 43
1. 김치 분리 유산균의 동정 ····· 43
2. 김치 분리 유산균에 의한 아질산염의 소거 ····· 43
1) LAB와 KCTC 균주에 의한 아질산염의 소거 ····· 43
(1) 5℃와 10℃에서 아질산염의 소거 ····· 47
(2) 15~30℃에서 아질산염의 소거 ····· 48
(3) 배지 자체에 의한 아질산염의 소거 ····· 53
(4) 온도별에 따른 아질산염의 소거 ····· 56
2) 유산균종에 따른 아질산염의 소거 ····· 56
(1) 온도에 따른 아질산염의 소거 ····· 57
① 15℃에서 아질산염의 소거 ····· 57
② 20℃에서 아질산염의 소거 ····· 59
③ 25℃에서 아질산염의 소거 ····· 61
④ 30℃에서 아질산염의 소거 ····· 62
(2) 농도에 따른 아질산염의 소거 ····· 64
(3) 아질산염 소거와 배지의 pH 및 온도의 관계 ····· 66

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

3) 유산균에 의한 아질산염 소거 고찰 ····· 70
4. 김치 숙성 중 *N*-Nitrosamine의 변화 ····· 74
1) pH와 염도의 변화 ····· 74
2) *N*-Nitrosamine의 변화 ····· 74
(1) *N*-Nitrosamine의 유래 ····· 74
(2) *N*-Nitrosamine의 변화 ····· 78
3) 김치에서 Nitrosamine의 고찰 ····· 81
5. 김치와 재료 추출물의 (항)돌연변이원성 ····· 84
1) 추출 수율 ····· 84
2) 살균방법에 따른 돌연변이원성 ····· 84
3) 추출용매에 따른 돌연변이원성 ····· 87
4) 추출물 농도에 따른 돌연변이원성 ····· 88
5) 물과 에탄올 추출물의 (항)돌연변이원성 ····· 90
6) (항)돌연변이원성 고찰 ····· 94

Ⅳ. 요 약 ····· 97

참고문헌 ····· 99

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Summary

Depletion of nitrite during incubation of lactic acid bacteria isolated from Kimchi into Lactobacilli MRS broth at various temperatures, changes in nitrosamines during Kimchi fermentation, and antimutagenic and mutagenic activities against distilled water and ethyl alcohol extracts from Kimchi and its ingredients in *Salmonella typhimurium* TA100 and streptomycin-dependent SD510 from *S. typhimurium* TA98 were investigated.

1. Twenty species of lactic acid bacteria were isolated from Kimchi - six species were identified as *Lactobacillus sake*, and 14 species as *Leuconostoc mesenteroides*.

2. Depletion of nitrite was less than 40% at incubation temperature of 10℃ or lower, while increased remarkably at higher temperatures. Incubation time with the similar effect of depletion was reduced as temperature increased. Percentage of 77.7~91.7 was depleted after 3 days of incubation at 25℃, and 82.8~94.0% was after 2 days of incubation at 30 and 36℃. LAB-D showed the highest effect of depletion at 15℃ or higher. Other lactic acid bacteria except LAB-D was similar to KCTC strains in depletion effect, and the tendency of depletion decreased at lower temperature.

3. Depletion of nitrite increased in the order of *L. plantarum*, *L. sake* and *L. mesenteroides* at all temperatures tested, and increased as the increase of temperature. Specially, *L. plantarum* depleted almost all of nitrite during incubation at all temperatures tested. Even high concentration(600 and 900㎍/㎖) of nitrite was depleted at 2 days of incubation by *L. plantarum* CTFM103.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

4. Thirteen nitrosamines were detected during Kimchi fermentation, but *N*-nitrosodimethylamine and *N*-nitrosodiethylamine were not. Most of these nitrosamines were originated from chinese cabbage and some of from fermented anchovy sauce. The content of nitrosamines decreased remarkably at the initial stage of fermentation, but increased slightly at the final stage.

5. Autoclave-sterilization were increased mutagenicities by distilled water extracts from Chinese cabbage Kimchi and garlic in SD510 as comparing to filter-sterilization, while were increased mutagenicities by both solvent extracts from fermented shrimp and anchovy sauces but were decreased mutagenicities by ethyl alcohol extracts except from those fermented sauces in TA100.

6. The extracts from Chinese cabbage Kimchi, garlic and fermented shrimp and anchovy sauce showed mutagenicities in plate test using TA100 and SD510. The extracts from distilled water had higher mutagenicities than those from ethyl alcohol. Specially, all of the extracts from fermented shrimp and anchovy sauce showed high mutagenic activity as compared to the extracts from other ingredients

7. In SD510, 4NQO-induced mutations was inhibited by the extracts from garlic and red-pepper, promoted by those from Kimchi and fermented fish sauces, but were not affected by those from Chinese cabbage and ginger. In TA100, all of the extracts except from red-pepper promoted 4NQO-induced mutations. The extracts from Chinese cabbage showed high promotion effects. Distilled water extracts were higher than ethyl alcohol extracts in the promotion effect on 4NQO-induced mutations.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅰ. 서 론

김치는 우리 식탁에서 널리 애용되고 있는 전통발효식품의 하나로서 최근에는 그 맛과 영양적 특성으로 인하여 세계적인 식품으로 각광받고 있다. 김치는 주재료인 배추, 무 등 신선한 야채를 소금에 절이고 각종의 향신료를 첨가한 후 일정 기간동안 발효하여 제조된다. 이 과정에서 생성되는 유기산의 신선미, 야채 특유의 조직감, 각종 향신료에 의한 풍미가 조화를 이루어 김치 특유의 맛을 나타낸다. 또한 발효에 관여하는 유산균에 의한 정장작용은 물론 식이성 섬유질, 비타민, 무기질 등의 우수한 공급원이며, 미생물의 계속적인 대사작용으로 인하여 살아 숨쉬는 합리적인 식품이라 할 수 있다(임, 1993).

김치는 채소나 향신료의 표면에 서식하는 유산균에 의한 자연발효에 의하여 숙성되기 때문에 제조되는 김치 재료의 종류나 계절에 따라 여러 종류의 김치가 만들어질 수 있다(안, 1990a). 이때 다양한 미생물들이 연속적으로 작용하여 발효가 진행되며, 이 과정에서 발효 관련 미생물의 구성도 변화된다(한, 1991; 박 등, 1990). 발효는 식물 원료물질을 탈독소화 하는 수단으로 이용될 수 있기 때문에 결국 영양가가 향상된 제품이 만들어지는 것이다 (Beuchat, 1995).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

김치의 숙성에 관여하는 주요 발효균은 유산균들이며 그들의 작용도 각각 다르고, 초기에 번식하는 호기성균들도 어느 정도 김치의 숙성에 관여한다. 김치의 주발효균은 *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*, *L. plantarum*, *Pediococcus cerevisiae*, *Streptococcus faecalis* 등의 혐기성 세균들이지만, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobcterium*, *Achromobacter*속의 호기성 세균들과 *Saccharomyces cerevisiae* 등의 여러 효모들이 발견되고

있다(조, 1991). 이러한 유산균은 일반적으로 토착 발효식품과 관련된 가공시에 단일균 또는 다른 세균이나 효모, 곰팡이들과 연합하여 수반되어지며(Nout와 Ramboults, 1992), 이들 균들이 작용하게 되면 재료가 분해되고 향미 성분이 달라지게 되며, 기타 여러 성분들이 생성된다(조, 1991).

김치발효의 주요 균주인 유산균은 종양복귀체로서의 작용(Esser 등, 1983; Yasutake 등, 1984), 미확인 면역반응의 유도, 세균 세포벽 성분의 항종양 활성(Sasaki 등, 1985), 항균성, 항동맥경화성, 항암 특성(Friend와 Shahani, 1984) 등이 있는 것으로 알려져 있다. 일예로서 유산균 발효우유들은 항돌연변이와 항종양 활성(Fernandes와 Shahani, 1990; Gilliland, 1990; Goldin, 1989; National Dairy Council, 1990)을 갖는 것으로 알려지고 있다. 또한 장관에서 돌연변이원과 발암물질의 형성에 관한 정보에 기초하여 여러 연구자들(Ayebo 등, 1981; Bogdanov 등, 1975, 1978; Esser 등, 1983)은 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*로 만들어진 yogurt가 항종양 활성을 지닌다고 하였다. 또한 latobacilli가 여러 식사 인자와 암과의 상호관계와 인간의 영양과 건강에 중요하다는 사실이 입증(Shahani와 Chandan, 1979)되면서 유산균은 식사, 영양 및 암과의 관계를 다루는 여러 연구들의 주제가 되고 있다(Brown, 1983; Correa, 1981; Wynder 등, 1981).

한편 김치의 주원료인 채소에는 다량의 질산염이 함유(National Academy Sciences, 1981; National Research Council, 1982)되어 있다. 식사를 통해 질산염을 섭취하게 되면 위장관에 존재하는 미생물의 작용에 의하여 이로부터 아질산염이 생성된다(Tannenbaum과 Young, 1980). 아질산염은 적당한 조건에서 니트로화 반응을 일으켜 그 중의 일부가 강력한 발암물질인 니트로소 화합물을 생성할 수 있으며(Mirvish, 1970; O'Neill 등, 1991), 청색증(methemoglobinemia)과 빈혈성 저산소증(anemic hypoxia)을 유발시킬 수

있고(Lippsmeyer 등, 1990), 또한 그 자체로도 염기치환성 돌연변이를 유도하는 직접 작용물질(direct mutagen)로 알려지고 있다(Balimandawa 등, 1994; O'Neill 등, 1991).

이러한 질산염과 아질산염은 여러 국가에서 육류 절임에 사용되고 있고, 미국의 경우 1990년대 초부터 농림성에서 그 사용량이 규제되고 있다. 현재는 아질산염만이 육류 절임에 사용되고 있고 아질산나트륨으로서 최대 156 ppm까지 첨가하도록 허용하고 있으나 실제로는 120ppm 이하의 낮은 양이 사용되고 있다(Cassens, 1995). 특히 육가공식품의 색소고정, 식감증진, *Clostridium botulinum*의 생육억제 등을 위하여 식품첨가물로 많이 사용되고 있다(Bosch 등, 1995; White, 1975). 이와 같이 미생물학적으로 기본이 되는 식품 유래 질병면에서 육류의 안전성을 보증하기 위해서는 충분한 수준으로 남아 있어야 하지만 잔류 아질산염은 절임 육류에서 분석적으로 검출될 수 있을 정도의 양이기 때문에 육류 절임에 사용되는 양을 최소화시키는 것이 바람직하다.

최근 들어 아질산염의 미생물 저해에 관한 관심이 증가하고 있는데, 가공육의 저장 중 아질산염이 감소된다는 것은 잘 알려져 있다. 육류에서 화학반응에 의하여 아질산염이 감소됨을 지적하는 연구 많이 있으나, 첨가된 아질산염이 소실되는 기구를 충분히 설명하지는 못하였다(Kolari와 Aunan, 1972; Nordin, 1969; Olsman과 Krol, 1972; Rose와 Peterson, 1953). 현재 세균 활성에 기인한 아질산염의 소거가 제기되고 있지만 명확하게 밝히지는 못하는 실정이다. Sofos 등(1979)은 많은 고찰들은 육류에서 일부의 아질산염이 세균의 작용에 의하여 소실되는 것을 무시하는 경향이 있다고 하였으며, Fournaud 등(1964)과 Fournaud와 Mocquot(1966)는 일부의 유산균이 nitrite reductase 효소계를 함유하고 있기 때문에 혐기조건에서 아질산염을

환원시킬 가능성을 제시하였다.

김치는 그의 제조 과정에서 필수적으로 젓갈류의 첨가가 요구되고 있는데(안, 1990b), 젓갈류는 dimethylamine(DMA), trimethylamine(TMA) 등의 아민류가 다량 함유되어 있다(차와 이, 1985; 변 등, 1976). 김치의 주재료인 야채류에는 다량의 질산염이 함유되어 있고(Gangolli 등, 1994; National Academy Science, 1981), 질산염은 발효 과정에서 미생물의 작용에 의하여 아질산염으로 전환된다(Calmels 등, 1987; Leach 등, 1987; Muller 등, 1984). 일반적으로 아민류는 pH 3~4에서 아질산염과 반응하여 nitrosamine을 생성되는데(Mirvish, 1970), 김치는 발효, 숙성 중에 pH가 4.0이하로 떨어지게 되므로(김 등, 1984b), *N*-nitrosamine이 생성될 가능성이 높다. 한편 배추에는 살충제로 사용되는 농약들이 잔류할 가능성이 높고 실제로 여러 종류의 농약들 및 대사물질들이 발견되고 있으며(Ames 등, 1990), 니트로화 전구물질들이 확인(Wakabayashi 등, 1985b, 1986, 1987)되고 있으며, 또한 농약에서는 여러 종류의 nitrosamine들이 발견되고 있다(Hathaway, 1989; Oliver, 1981; Probat, 1981; Richard 등, 1982; Wigfield와 Lanouette, 1985; Zweig 등, 1980).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

김치는 다양한 종류의 향신료가 첨가되어 독특한 맛과 향 특성을 가지게 되는데, 이들 향신료들은 돌연변이 활성이 없거나 미약한 것으로 알려져 왔었으나(Buchanan 등, 1981; Damhoeri 등, 1981; Marcus와 Lichtenstein, 1982), 최근 *S. typhimurium* TA98의 streptomycin 의존성 변이주를 이용하여 열대 아시아지역 향신료들은 연구한 결과 돌연변이원성을 갖는 것으로 밝혀지고 있어서(Damhoeri 등, 1981; Shashikanth와 Hosono, 1986, 1987; Thyagaraja와 Hosono, 1993), 향신료들이 식품 내에서 돌연변이원을 생성시키거나 오염시키는 물질로 새로이 인식되고 있다. Shashikanth와 Hosono

(1986)도 *S. typhimurium* TA98의 streptomycin 의존성 SD510 균주를 사용하여 열대 향신료들의 dose-response 돌연변이를 검정한 결과 13종의 향신료 중 7종의 향신료에서 돌연변이 활성이 관찰된다 하였다. 특히 정향과 생강은 모든 SD510 균주에 대하여 높은 세포독성 효과가 있었고, 아위, 계피 및 겨자는 약한 돌연변이 활성을 나타낸다 하였다. 그러나 향신료 추출물은 여러 종류의 화합물들이 혼합된 형태로 존재하고 이들의 작용기구가 알려져 있지 않기 때문에 돌연변이원성의 작용 기구는 아직 밝혀지지 않은 상태이다(Thyagaraja와 Hosono, 1993).

따라서 본 연구에서는 첫째로 유산균에 의하여 아질산염을 효과적으로 소거시킬 수 있는 방안을 모색하기 위하여 우리 식탁에서 널리 애용되고 있는 전통발효식품의 하나인 김치에서 유용 유산균을 분리·동정하고, 여러 온도 조건에서 유산균에 의하여 아질산염이 소거되는 정도를 측정하였다. 둘째로 김치의 제조, 숙성 중에 *N*-nitrosamine 생성과 오염 출처를 밝히고, 셋째로 김치와 그의 재료 추출물의 위생학적인 안전성을 검토하기 위하여 김치와 그의 재료인 배추, 고춧가루, 생강, 마늘, 새우젓, 멸치젓을 물과 에탄올로 추출하여 이들 추출물의 돌연변이원성과 이들에 의하여 4NQO에 의해 유도되는 돌연변이원성의 저해 효과를 검정하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

II. 연 구 사

1. 김치 숙성에 관여하는 미생물

김치를 담그면 각종 재료에 들어 있던 호기성 미생물들의 작용으로 김치 국물 중의 산소가 제거되어 내염성 유산균들이 성장하기에 알맞게 된다. 이에 뒤이어 유산이 생성되면 호기성균들이 사멸하게 되며, 이들 유산균들도 어느 정도 성장하고 나면 자신이 생성한 산에 의해서 사멸된다. 이렇게 되면 시어지며, 결국 효모나 곰팡이 등이 자라서 변색되고 물러져서 군등내 등을 생성하게 된다. 김치나 sauerkraut와 같은 자연발효식품은 유산균속이 동시에 존재하는 서식처로서 미시적이며, 일단 유산발효가 진행되면 열에너지가 외부 대기와는 교환되지 않는 폐쇄적인 소생태계(closed microecosystem)가 된다(한, 1991; Hurst와 Collins-Thompson, 1979).

김치의 미생물 군집의 발달은 편의상 김치 담금 직후부터 그람음성균과 양성균이 혼합하여 증식되다가 없어지는 초기단계(initial stage), 유산균으로 구성되어 있는 그람양성균 군집만이 증식하는 발전단계(development stage; 발효단계, fermentative stage), 효모와 부패세균들의 증식이 시작되는 후기단계(terminal stage)로 구분될 수 있다. 초기단계에는 *Aeromonas, Erwinia, Plesiomonas, Xenohabdus* 등의 그람음성균과 *Bacillus*속의 그람양성균들이 검출되고, 김치의 주된 발효기간에 해당하는 발전단계에는 유산균만이 검출되며, 후기단계에는 *Hansenula, Brettanomyces, Torulopsis, Rhodotorula, Pichia*속의 효모들이 검출된다(박 등, 1990). 주발효단계인 발전단계의 경우 발효초기에는 *L. mesenteroides*가 많이 번식하고, 이는 이상발효종(hetero-fermentative)으로 유산, 초산 등의 유기산과 에탄올, CO_2 등을 발생시키며 혐기조건을 만든다. *Streptococcus*는 발효 초기에 성장하고 *Pediococcus*는

제주대학교 중앙도서관

중기에 활발하다. *L. plantarum*은 초기부터 꾸준히 증가하는데 이 균은 정상발효종(homofermentative)으로 유산을 대량 생산하며 발효말기까지 왕성하게 성장하여 산패시에 최고치에 달한다(조, 1991; 김과 전, 1966). 이들 유산균들은 유산을 비롯한 유기산, 과산화수소, nicin 등의 항생물질을 분비하여 다른 균의 번식을 억제한다(박 등, 1983; Sharpe, 1979).

김치숙성에 관여하는 미생물에 관한 연구는 많은 진전이 있었다. 진(1939)은 여름 김치와 겨울 김치 국물에 존재하는 호기성 그람양성균을 분리하여 그 특성을 조사한 바 있고, 권(1955)은 여름 및 겨울철 김치국물에서 10종의 세균을 분리하였으며 여름철 김치는 초기에 균수가 2×10^5/g, 숙성된 것은 5×10^5/g이었으며, 이 균들은 여러 종류의 당을 자화하여 산을 생성한다 하였다. 김과 황(1959)은 김치의 미생물학적 연구 중에 혐기성 세균을 분리하여 염분 2.43%의 통김치에는 균수가 78×10^6/g이었고, *L. mesenteroides*, *S. faecalis*, *L. plantarum*, *L. brevis* 등을 동정하였다. 계속된 연구에서 황 등(1960)은 통김치와 동치미에서 약 50주의 호기성 세균을 분리하여 동정한 결과 *Achromobacter*, *Flavobacterium*, *Pseudomonas* 속들이었으며, 김 등(1960)은 *Pseudomonas* sp.와 *P. pseudomallei*가 비타민 B_{12}를 생성한다 하였다. 그 후 김과 전(1966)은 김치 발효 중 세균의 동적 변화를 고찰하여 호기성균은 10일까지 증가하다가 그 후 50일까지 감소하였지만, 그 이후에는 다시 급격히 증가하였으며, 혐기성균은 50일까지 증가하고 그 이후에는 약간 감소된다 하였다. 분리된 세균의 동태를 살펴본 결과 *L. mesenteroids*가 초기에 많이 번식하여 유산과 CO_2를 많이 생성함으로써 국물을 산성으로 만들고, 이어서 혐기상태가 됨으로서 호기성균의 생육을 억제하는 것으로 추정하였다. 그리고 당이 소모된 이후 섬유소나 펙틴질 등이 일부 소모되어 발효 중기까지 생존하고, 또한 *L. plantarum*이 번식하며 후기에는 *L. brevis*

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

가 번식한다 하였다. 민과 권(1984)은 숙성온도와 식염농도에 따른 미생물의 소장을 연구하여 총균수는 발효초기에 급격히 증가하고 그 이후 산도가 증가함에 따라 서서히 감소된다 하였다. 그러나 조(1991)는 5℃에서 식염농도를 7%로 할 때는 급격한 증가없이 100일까지 서서히 증가하였으며, 30℃의 고온에서 식염농도를 2.25%로 하면 하루만에 총균수가 1×10^9에 도달하였고 20℃의 같은 식염농도에서 숙성시킬 경우에는 3일만에 $4.0\times10^7\sim1.0\times10^8$, 14℃에서는 6일만에 $7.0\sim8.0\times10^8$에 도달한다 하였다. 균주별로는 *L. mesenteroids*가 완숙기에 최대치를 나타내었으며, 온도별로는 30℃에서는 1일, 20℃에서는 3일, 14℃에서는 6일, 5℃에서는 27일에 최고에 달하였고, *L. brevis*는 김치 과숙시기인 *L. mesenteroids*가 감소할 무렵에 나타나며, *L. plantarum*은 5℃의 저온에서는 나타나지 않았으나, 14℃ 이상에서는 *L. brevis*가 감소할 무렵에 나타난다 하였다. 효모도 김치숙성에 관여하고 알코올을 생성하여 향미를 부여하지도 하지만 산막효모는 김치의 외관을 손상시킨다 하였다. 노(1980)는 배추김치를 담가 김치 국물로부터 *Brettannomyces claussenii* 등 8속의 효모를 분리하였고, 최(1978)는 김치, 깍두기 및 동치미를 1~8℃에서 숙성시키면 담금 직후 효모 수가 김치, 깍두기, 동치미에서 각각 1.4×10^2, 1.2×10^2, 0.8×10^2으로부터 40~50일까지 서서히 증가하고, 그 이후에는 급격히 증가하여 120일 후에는 각각 4.5×10^5, 3.6×10^4 및 2.6×10^3에 달하였으며, 또한 원료 자체에도 10^3 수준의 효모가 존재한다 하였다. 박 등(1990)은 김치발효는 여러 미생물들의 연속적인 작용에 의하여 진행되며, 발효가 진행되는 동안 환경변화에 따라 미생물 종이 변화한다 하였고, 염도를 2.5%로 하여 김치를 담가 5~25℃에서 숙성시키면 발효초기에는 그람음성균과 내생포자를 생성하는 그람양성균이 출현하지만 곧바로 사멸하고, 다음 단계로 *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*속 등의

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

김치발효에 관여하는 균들이 출현한다 하였다. 그리고 숙성 온도가 높을수록 다양한 미생물이 출현하였으며, 산패단계에서는 5℃와 15℃의 저온의 경우 *Hansenula silvicola*와 *Brettanomyces curstersianus*가 나타난다 하였다.

2. 아질산염에 의한 노출

질산염과 아질산염은 여러 국가에서 육류 절임에 사용되고 있는 보존료로서, 미국의 경우 1990년대 초부터 농림성(U.S. Department of Agriculture, USDA)에 의해 사용이 규제되고 있다. 현재는 아질산염만이 육류 절임에 일반적으로 사용되고 있으며 아질산나트륨으로서 최대 156ppm을 첨가하도록 하고 있으며, 실제로 120ppm 이하의 낮은 양이 사용되고 있다. 잔류 아질산염은 첨가되어지는 것보다는 상당히 낮은 양이기는 하지만 절임 육류에서 분석적으로 검출될 수 있는 정도의 양이다. 아질산염은 절임 육류에서 소비자에 의해 잘 인식되어 있는 특정적인 색, 향, 조직감 등을 부여해 줌은 물론 식품 유래 병원균에 대하여 아주 중요한 인자인 미생물학적 보존 효과, 즉 *Clostridium botulinum*에 대해 특이한 보호 효과를 제공한다는 면에서 아주 중요하게 생각되고 있다(Cassens, 1995). 한편, 아질산염은 조심스럽게 사용되고 있는 반응성 화학 물질로서 혈관 확장을 위해 아질산나트륨의 구강 요법 투약(0.03~0.12g)이 사용되고 있으나 치사량은 1g으로 확립되어 있다(National Academy Sciences, 1973). 적당한 조건하에서 아질산염은 니트로화 반응을 일으켜 그 중의 일부가 특이하고 강력한 발암 물질인 nitroso 화합물을 생성할 가능성이 높다(Mirvish, 1970). 그러므로 육류 절임에 사용되는 아질산염의 양을 최소화시키는 것이 당연히 시급하다. 그러나 미생물학적으로 기본이 되는 식품 유래 질병 면에서 육류의 안전성을 보증하기 위해서는 충분한 수준으로 남아 있어야 한다는 이중성을 지니고 있다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

한편 아질산염의 인간에 대한 주요 노출원은 일반적으로 식품, 특히 채소류와 가공육류로서, 이들 식품에서 섭취된 질산염으로부터 생체 내에서 생성되기 때문에(Calmels 등, 1987; Leach 등, 1987; Tannenbaum과 Young, 1980), 현재의 주요 관심사는 비료의 사용과 이에 뒤이은 음료수와 어떤 녹색 채소류나 근채류에 대한 인간의 노출에 초점이 맞춰지고 있다(Cassens, 1995). 또한 환경에서 질소 화합물에 대한 노출도 관심거리가 되고 있다. Hill(1991)은 여러 전문가들로부터 제공된 여러 논문들을 고찰한 결과 음료수에는 아질산염이 상당히 다양하게 존재하였고, 어떤 경우에는 관심을 끌 정도로 높다 하였다. Walters(1980)는 인간에 대한 아질산염 노출 기원을 논의하여 추정되는 일일 총 아질산염 섭취량은 아질산 이온으로 12.15㎎이라 하였다. 이것은 식품에 존재하는 0.02, 식품에 첨가되는 1.20, 채소에 질산염으로부터 오는 10.0, 물에 아질산염으로부터 오는 0.06, 위에서 내인적으로 생성되는 0.33㎎을 압도하는 양이라 하였다.

한편 여러 국가기관들은 $kgNO_3/\ell$로 표현하는 질산염의 표준을 설정하였는데, 1977년 미국환경보호국(US Environmental Protection Agency; EPA)은 최대 $45kgNO_3/\ell$로, 캐나다의 건강복지국(Health and Welfare Canada)은 1978년 최대 허용량을 $45kgNO_3/\ell$로, 1980년 인간의 소비를 위한 물의 품질에 관한 EEC 지침은 $25kgNO_3/\ell$의 지도 수준과 $50kgNO_3/\ell$의 최대 허용량을 설정하였다(Cassens, 1995). National Academy Science(1981)의 보고서에서는 과일의 질산염 함량은 일반적으로 낮은 반면, 채소의 질산염 함량은 상당히 다양하며 아주 높을 수도 있다 하였다. 예를 들어, 질산염 함량(㎎/㎏ fresh weight로서)은 beet에 2600, celery에 1500 및 상추에 1700이라 하였다. 그러나 인체 내에서 미생물 전환과 환원계는 이러한 문제를 더욱 복잡하게 한다(Cassens, 1995).

Cornee 등(1992)은 프랑스 식료품에서 질산염, 아질산염, NDMA의 농도에 대한 추정치를 발표하여 하루 1인당 평균 1일 질산염 섭취량은 121㎎으로서 채소에서 85%, 저장 및 절임 육류에서 5%, 곡류 제품에서 5%라 하였으며, 하루 1인당 평균 아질산염 섭취량은 1.88㎎으로 채소에서 43%, 절임 육류에서 28%, 곡류에서 16%로 나타났다고 하였다. Knight 등(1987)은 영국인에 대한 조사 결과로부터 식품으로부터의 평균 섭취량은 질산염이 약 95㎎, 아질산염이 1.4㎎이었음을 발견하였다. 음료수에 의한 섭취는 일일 섭취량에 약 13.5㎎의 여분의 질산염이 추가될 수 있으며 지역적 편차가 큼을 을 발견하였다. Ellen 등(1990)은 네덜란드에서 100명의 성인 지원자에 대하여 24시간 식사 중복 부분을 사용하여 질산염의 일일 평균 섭취량이 52㎎으로서 일일 섭취허용량(Acceptable Daily Intake; ADI)의 약 25%이었음을 확인하였는데, 16개의 식사만이 측정이 가능한 정도의 아질산염을 함유하였으며, 가장 높은 일일 섭취량은 아질산염 0.7㎎으로서 ADI의 10% 이하라 하였다. 한편 FAO/WHO에 의하여 발표된 ADI는 60㎏의 성인에 대하여 8㎎ NO_2/60㎏이다(Schuddeboom, 1993). Gangolli 등(1994)은 인간 식사에서 만날 수 있는 질산염, 아질산염 및 *N*-nitroso 화합물에 대한 위험 접근법을 발표하였는데, 채소류는 평균 일일 인간 식사 섭취량의 85% 이상을 제공하는 주요 질산염 기원을 구성하고 있었으며 식사에 존재하는 아질산염과 *N*-nitroso 화합물은 아주 적은 양으로도 체중 적재량에 기여함은 물론, 이들 생물학적으로 반응성인 화합물들은 세균과 포유동물 대사에 의한 질산염으로부터 기원된다 하였다. 또한 내인성 합성은 질산염의 체중 적재량에 중요하게 기여한다 하였다. 그러나 현재 건전한 농업 실행을 유지하면서 성장시킨 채소에서 우연히 만나게 되는 평균 질산염 수준을 넘는 것을 극적으로 감소시킬 수 있는 방안을 권장할 수 있는 과학적 증거들이 확인되고 있지

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

못한 실정이다.

3. 미생물에 의한 아질산염 소거

가공육 저장 중 아질산염이 감소된다는 것을 잘 알려진 사실이다(Kolari와 Aunan, 1972; Nordin, 1969; Olsman과 Krol, 1972; Rose와 Peterson, 1953). 이러한 감소를 설명하기 위하여 여러 연구자들은 육류에서 아질산염의 화학반응을 연구하였으나, 첨가된 아질산염이 감소된 전부를 설명할 수는 없었다. 세균 활성에 기인한 아질산염의 감소가 제안되었지만(Smith와 Palumbo, 1981; Speck, 1979; Woolford 등, 1976) 일부의 연구에서만 이러한 감소에 대하여 시험되었다(Tanaka 등, 1985). Youalt(1954)와 Yamanaka 등(1961)은 식품에서 아질산염을 감소시킬 수 있는 여러 세균들을 보고하였다. Fournaud 등(1964)과 Fournaud와 Mocquot(1966)는 어떤 유제품의 유산균들은 혐기조건에서 아질산염을 NO_2, 질산 또는 질소 gas로 환원시킬 수 있고, 또한 *L. lactis*의 nitrite reductase 활성의 최적 pH와 온도는 pH 6.2와 20℃라 하였다. 일부 연구자들은 육류에 아질산염을 첨가하는 경우 일부는 myoglobin과 반응하여 nitrosomyoglobin이나 nitrosylhemochrome을 생성하고, 일부는 세포 내 단백질과 결합되며, 일부는 질소 등의 gas성 물질로 환원될 수 있다 하였고(Emi-miwa 등, 1976; Fujimaki 등, 1975; Nordin, 1969; Sebranek 등, 1973), Ingram(1975)은 육제품에서 lactobacilli가 이러한 능력을 발휘한다고 하였으며, Nordin(1969)과 Sebranek 등(1978)은 아질산염이 이들 생성물로 전환되는 속도는 산성 pH에서 증가한다고 하였다. Collins-Thompsons과 Rodriguez-Lopez(1981)는 bologna 소시지에서 분리된 배양균을 접종한 bologna pack에서 아질산염이 감소됨을 발견하여 bologna 소시지에서 아질산염 감소의 30%는 유산균 작용에 의한 것이라 하였다. Dodds

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

와 Collins-Thompson(1984)은 유산균은 육류에서 아질산염의 소거에 상당히 기여하였으며, 이들은 세균에 의하여 유산이 생성되는 것에 기인하여 아질산염의 화학적 소거가 증가한 것이라 하였고, 또한 많은 유산균들이 아질산염 수준을 낮출 수 있는 효소를 소유한다고 하였다. Speck(1979)은 육제품에서 아질산염과 nitrosamine을 최소 수준으로 하기 위하여 lactobacilli를 사용할 것을 제안하였다. 또한 베이컨에 관한 연구를 인용하면서 starter culture로 사용된 유산균들은 아질산염 수준을 상당한 정도로 감소시켰고, 아질산염에 매우 저항하여 1,000ppm의 아질산염이 존재하는 액체배지에도 성장할 수 있음을 보였다. 또한 Pfeil과 Liepe(1973)는 micrococci에 의하여 소시지에서 잔류 아질산염 수준을 감소시킬 수 있었다고 제시하였다.

한편 Harada와 Yamada(1978)는 비독성 미생물인 *Rhizopus oryzae*, *Str. cremoris*와 *Saccharomyces rouxii*를 이용하여 NDMA를 분해시킬 수 있음을 보여, 식품에서 형성되는 nitrosamines의 제거에 미생물적 분해에 용용시킬 수 있음을 제시하였다. 계속된 연구에서 Harada와 Yamada(1979)는 이들 미생물에 의하여 nitrosodipropylamine(NDPA)가 다른 nitrosamine들에 비해 더욱 빠르게 분해되었으며, 특히 nitrosamine 함유 배지에서 예비배양을 한 것이 nitrosamine 비함유 배지로부터 얻어진 현탁액에 비하여 빠르게 분해된다 하였다. NDMA나 NDPA를 함유하는 배지에서 성장시킨 *Rhizopus oryzae*의 세포 유리 추출물도 이들 nitrosamine의 분해에 활성적이었는데, 0.1*m*M의 농도로 pH 8.0으로 조절된 배지를 30℃에서 2일과 3일 배양한 것에서 특히 높은 저해효과를 나타내어 이들 저해가 유도효소에 의해 이루어짐을 시사하였다. Ray(1992)는 유산 발효식품에서 세균의 대사에 의하여 유기산, 알코올류, 케톤류, 알데하이드류, bacteriocin류 및 기타 저분자량의 항균성 대사물질들이 생성된다 하였다. Ray와 Sardine(1992)은 유산균에 의한

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

유기산의 생성을 연구하여 *Leuconostoc*속은 pH 4.8에서 0.6%의 유산을 생성하고, *Lactobacillus*속은 pH 3.5에서 1.5%의 유산을 생성한다 하였다. 이러한 관계로 하여 현재 김치제조시 주발효유산균(*L. mesenteroides*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *P. cerevisiae*)을 starter로 이용하여 발효를 촉진하고 품질을 향상시키는 연구가 이루어지고 있다(최 등, 1989).

4. 유산균에 의한 발암물질 억제

유산균은 1958년 포도주 산패의 원인을 연구하는 과정에서 Pasteur에 의하여 처음 발견된 이래 각종 전통발효식품(Carr, 1975)뿐만 아니라, 최근에는 기능성식품(福山, 1985), 장내에서의 우수한 약리작용을 이용한 의약품 개발(Pulusani와 Rao, 1983), 유산균 발효산물을 이용한 의약품 개발(한 등, 1984), 새로운 화장품 개발(이, 1991) 등 여러 산업분야에서 그 이용성이 확대되고 있다. 또한 발효유에 존재하는 유산균은 질병치료, 항종양 및 항암특성을 소유하고 있고(Fernandes 등, 1987; Gilliland, 1990; National Dairy Council, 1990), 이들은 발효유 형태나 생세포 조제물 형태로 사용되고 있다. 또한 Lactobacilli 이외에 *Bifidobacterium bifidum*(Kimura 등, 1980), *Corynebacterium paruvm*(Cantrell과 Wheat, 1979), *Propionibacterium acnes*(Kamisango 등, 1982) 등의 세균들도 암세포를 억제하는데 상당히 효과적인 것으로 알려지고 있다. 유산균의 항암 특성은 전구 발암물질의 제거, 전구 암유발 효소의 변화 및 종양 형성의 억제에 의해 이루어지고 있으며(Fernandes와 Shahani, 1990), 실험동물에서 일부 종양에 관한 보고들은 발효유의 항종양 특성에 상당한 관심을 불러 일으켰다(Reddy 등, 1973, 1983). 이러한 사실에 기초하여 lactobacilli와 streptococci 및 요구르트에 존재하는 발효균의 세포벽으로부터 분리된 항종양 성분의 분획화에 관한 연구들이 이

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

루어졌다(Esser 등, 1983; Kato 등, 1981; Reddy 등, 1973). 여러 연구자들(Ayebo 등, 1981; Bogdanov 등, 1975, 1978; Esser 등, 1983)은 장관에서 돌연변이원과 발암물질의 형성에 관한 정보에 기초하여 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*로 만들어진 yogurt가 항종양 활성을 지닌다고 지적하였다. 이들은 항돌연변이 및 발암물질을 불활성화하는 물질들이 세포 내에서 생성됨은 물론 유산균의 세포벽 분획은 어떤 세포벽 성분의 면역 잠재 활성에 기인하여 종양 성장을 저해할 수 있음을 시사하는 것이다.

Hosono 등(1986a)은 *Escherichia coli* B/r WP2 $trp^{-}hcr^{-}$ 균주를 사용하여 *L. bulgaricus* IFO3533, *S. lactis* IFO12546와 *S. faecalis* IFO12964로 발효된 우유의 4NQO와 개의 배설물의 물 추출물에 대한 항돌연변이 특성을 연구하여 이들 유산균으로 발효된 우유가 높은 항돌연변이 효과를 나타내었고, 이러한 효과를 나타내는 물질은 이들 유산균의 세포 성분이거나 대사산물이라 추정하였다. 뒤이어 Hosono 등(1987b)은 AF2, 4NQO와 개와 고양이 배설물 추출물에 대한 *S. faecalis* IFO12965 세포벽 제조물의 항돌연변이 활성에 superoxide dismutase 등의 세포 내 효소들이 수반되어지는 것으로 추론(Gregory와 Fridovich, 1973)하였다. 발효유에서 통상적으로 발견되어지는 vitamin C와 E(Khudoley 등, 1981), 지방산(Negishi와 Hayatsu, 1984)은 항돌연변이 활성을 지니고 있고, lactobacilli(Esser 등, 1983; Kato 등, 1981)와 streptococci(Reddy 등, 1973)의 세포벽 분획은 항종양 활성을 지니는 것으로 알려지고 있다. 이러한 사실은 *S. faecalis*가 인간의 장에서 통상적으로 발견되고 있는 가장 우세한 streptococci 중의 하나이기 때문에(Mitsuoka, 1981) 인간 장에서 *S. faecalis*의 역할에 대해 밝히는 앞으로의 과제라 하겠다. Hosono 등(1986c)은 *in vitro*에서 *S. typhimurium*의 streptomycin 의존성 균주를 사용하여 *L. bulgaricus*와 *S. thermophilus*로 발효된 우유의 항돌

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

연변이 특성을 연구한 결과, 유산균과 돌연변이원을 섞은 혼합물에서 배양 시간이 길어짐에 따라 항돌연변이 활성이 증가하였으나, 55℃에서 10분 이상 유지시켰을 때 열에 민감하여 항돌연변이 활성을 나타내지 않음을 확인하여 유산균에 존재하는 돌연변이 억제물질이 단백질이라 추정하였다. 또한 Hosono 등(1990b)은 인도네시아의 전통적인 발효유인 dadih로부터 분리한 유산균이 어떤 다른 장내세균과 비교하여 3-amino-1,4-dimethyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole(Trp-P-1)과 3-amino-1-methyl-5*H*-pyrido[4,3-*b*]indole(Trp-P-2) 등의 아미노산 열분해산물과의 높은 결합능을 지니고 있음을 보고하였고, 뒤이어 Hosono 등(1990a)은 지표세균으로 *S. typhimurium* TA98의 streptomycin 의존성 SD510 균주를 사용하여 어떤 휘발성 nitrosamine의 돌연변이 활성을 저해할 수 있음을 보였다.

5. 김치와 관련한 *N*-Nitrosamine의 연구

여러 식품에서 발견되고 있는 nitrosamine은 강력한 발암물질로서 Magee와 Barnes(1956)가 NDMA를 사료에 혼합시켜 쥐에 장기간 투여하여 간세포에 암이 발생하였다는 보고 이래로, 여러 연구자들에 의해 이에 대한 독성학적 연구가 이루어졌다(Craddock과 Magee, 1966, 1967; Hashimoto 등, 1976; Wainwright 등, 1982). 식품에서 nitrosamine이 생성될 가능성에 대한 연구는 1960년대 초 노르웨이에서 가축 사료인 청어박 어분에 들어 있는 dimethylamine(DMA)과 보존료로 첨가된 아질산나트륨의 반응으로 생성된 NDMA가 밍크와 여러 반추동물에 있어서 간질환을 일으키는 원인물질임이 밝혀지면서부터 시작되었다(Ender 등, 1964). *N*-Nitrosamine은 아질산염과 아민의 결합으로 형성된다. NDMA를 비롯한 dialkylnitrosamine은 강력한 발암물질(Ames 등, 1973; Swann과 Magee, 1968)로서 이들은 혼합기능 산

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

화효소계(mixed function oxidase system, MFO)에 의존되는 cytochrome P-450의 α-hydroxylase의 작용에 의해 대사적으로 활성화되어 독성, 암유발성 및 돌연변이유발성 중간물질인 alkonium 이온으로 전환된 후 암을 일으키게 된다(Ariyoshi 등, 1982; Czygan 등, 1973; Guttenplan, 1984). NDMA는 어류 가공품(Ishibashi 등, 1984), 육제품(Hotchkiss 등, 1985; Sen 등, 1987), 포도주와 맥주(Havery 등, 1984; Hotchkiss 등, 1981; Mangino와 Scanlan, 1985; Sen 등, 1982a), 건조우유와 기타 여러 건조식품(Havery와 Fazio, 1985; Sen과 Seaman, 1981; Sen 등, 1982b), 담배와 담배연기(Brunnemann 등, 1985; Bhide 등, 1981), 화장품(Vorha와 Harrington, 1981), 의약품(Carstegnaro 등, 1981), 자동차 배기가스(Scanlan, 1983) 등에서도 발견되고 있다. 또한 식품에서 nitroso 화합물의 전구물질로는 제1급 아민(치즈, 피클 및 야채류에서 methylamine, 육류와 치즈에서 tryptamine과 tyramine), 제2급 아민(어류에서 dimethylamine 그리고 여러 식품에서 pyrrolidine), 아미노산, 방향족 아민(치즈에서 methylaniline), guadine 육류에서 creatinine), 요소(과실류와 야채류에서 citrulline) 등을 들 수 있다(Bailey와 Williams, 1993).

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

김치와 관련된 재료에서 *N*-nitrosamine 생성에 관한 연구로는 전구물질인 질산염, 아질산염에 대한 보고(최, 1991; 김 등, 1984; 문 등, 1973; 박과 전, 1993; 양과 권, 1982)들이 있은 후, 젓갈류를 대상으로 한 연구(Kim 등, 1985, 김 등, 1990; 김, 1995; 김 등, 1996; 이 등, 1982; 변 등, 1976; 성 등, 1982), 김치 숙성 중 *N*-nitrosamine 생성에 관한 연구(김, 1982; 김 등, 1984, 1994b; Kim 등, 1985; Park, 1996; Park과 Cheigh, 1992, 박과 최, 1994) 등 김치 관련 식품에서 *N*-nitrosamine 생성에 관한 많은 연구들이 있었으나 이들이 다른 물질들과 상호 작용하는 기구나 소멸 기구에 대하여

구체적으로 연구된 사례는 없으며 단순히 배추에 존재하는 질산염이 어류에 다량으로 존재하는 아민류와 상호 작용하여 *N*-nitrosamine이 생성될 것이라는 추정을 하고 있을 뿐이며 이들 기구를 밝혀내지는 못하고 있다. 따라서 이들 *N*-nitrosamine이 생성과 소멸에 대하여 밝히는 것이 앞으로의 과제라 할 수 있겠다. 기타 국내에서 김치 이외의 다른 식품에서의 *N*-nitrosamine에 관한 연구로는 김과 오(1993)의 고등어 염장 중 nitrosamine에 관한 연구, Oh 등(1996)의 ion-chromatography에 의한 어류의 질산 및 아질산염 함량, 성(1986) 및 성과 양(1984)의 굴비 가공 중 *N*-nitrosamine에 관한 연구, 성 등(1988)의 한국 재래식 간장의 니트로소 화합물에 관한 연구, Sung 등(1991)의 한국 간장 숙성 중 *N*-nitrosamine의 생성에 대한 질산염, 아스코르빈산 및 질산염 환원균의 영향에 대한 연구, Kim과 Hotchkiss(1994)의 건조 오징어를 시료로 한 비휘발성 nitrosoamide의 분석법에 관한 연구, 어류 및 육류 가열방법에 따른 *N*-nitrosamine 함량에 관한 연구(김과 오, 1995; 김 등, 1995) 등이 있었으나, 국내에서 이루어지고 있는 연구들은 김치류, 수산 건조품, 발효식품 등에 한정되어 있고, 또한 분석방법의 복잡성과 안전성의 문제 및 산업보호 차원으로 인해 이 분야에 대한 연구가 미비하여 한국 고유의 식품에 대하여 보다 깊이 있는 연구가 절실한 실정이다.

한편 김치 주원료인 배추에는 질산염이 많이 함유되어 있기 때문에 발효과정 중에 질산염이 아질산염으로 전환될 가능성이 있다(박과 최, 1994). 이러한 아질산염이 젓갈 등에서 유래되는 2급 아민과 반응하여 nitrosamine을 생성할 수 있어서 발암물질이 생성될 우려가 있고, 또한 이전의 연구에서 Kim 등(1985)은 멸치젓과 새우젓을 첨가한 김치에서 NDMA가 검출되었다 하였으며, Park과 Cheigh(1992)도 김치에서 미량의 NDMA가 검출된다 하였

제주대학교중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

다. 그리고 김치 재료 중에서의 아질산염 함량은 매우 낮은 것으로 보고되고 있다. 즉 배추에서는 불검출~0.56ppm, 마늘과 고춧가루에서는 검출되지 않으며, 생강에서는 불검출~0.42ppm, 그리고 젓갈류에서 22.5~41.0 ppm 범위(최, 1991; 김 등, 1984, 이 등, 1982; Park과 Cheigh, 1992)로 아질산염이 검출되는 것으로 보고되고 있다.

6. 김치 재료와 관련한 발암과 항암

현재 특정 암의 원인인자를 입증하는 정확한 역학적 자료는 없으나 이에 대한 연구는 관련 가설이나 위험 인자들을 많이 제공하고 있다. 한국, 일본, 중국의 어떤 지역에서 위암에 대한 역학적 위험인자는 염지 배소(**焙燒**)어류에서 올 수 있고, 한국과 중국에서 식도암에 대한 위험인자는 알콜, 담배, 김치류" 및 vitamin A 결핍에서 올 수 있다(Doll과 Peto, 1981; Tanaka 등, 1991).

화학물질의 암유발성은 돌연변이원성으로 나타내고 있는데, 발암물질과 돌연변이유발 물질간의 관계에 대한 연구들로부터 돌연변이를 유발하는 물질의 약 83%가 발암물질로 알려지고 있고(Ames, 1979; Ames와 McCann, 1981; Maron과 Ames, 1983; McCann과 Ames 등, 1975; McCann 등, 1975), 이들 돌연변이원들은 체세포 돌연변이를 통해 암을 유발시키는 것으로 추정되고 있다(Ames 등, 1975). 돌연변이원의 발암능을 검정하는 방법에는 *S. typhimurium*의 histidine autotroph를 이용한 Ames 등(1973)의 방법, *E. coli*의 tryptophan autotroph를 이용한 Green과 Muriel(1976)의 방법, *Bacillus subtilis*의 rec assay를 이용한 Kada 등(1972)의 방법이 있고, 기타 곰팡이류, 식물, 곤충을 이용한 방법들이 있다. 그러나 *S. typhimurium*을 이용한 Ames의 방법은 다른 이들 방법들이 검정할 수 있는 검정범위를 고루 갖추고 있

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

고, 짧은 시간 내에 많은 시료를 동시에 시행할 수 있는 비교적 간단한 방법으로 알려지고 있어서 화학물질의 돌연변이원성 검정에 널리 이용되고 있다(Ames 등, 1975; Committee 17 Appointed Council EMS, 1975; Rinkus와 Regator, 1979).

한편 Ames 분석은 특정의 histidine 의존성 *S. typhimurium* 균주에서 화학물질의 영향하에 있는 역돌연변이를 측정하기 때문에 histidine을 함유한 시료의 분석에는 불편한 점이 많다. 이러한 불편을 극복하기 위하여 Kada 등(1983)은 *S. typhimurium* TA98과 TA100 균주에 *N*-methyl-*N'*-nitro-*N*-nitrosoguanidine(MNNG)을 처리하여 streptomycin 의존성(SM^d) 균주를 분리하였고, 뒤이어 Hosono 등(1986b)은 streptomycin 함유 배지에서 돌연변이체의 자연적 유도를 통해 *S. typhimurium* TA98과 TA100으로부터 streptomycin 의존성 SD510과 SD3 균주를 분리하였다. 이들 균주는 아주 낮은 background를 나타내고 2-(2-furyl)-3-(5-nitro-2-furyl)acryaminde (AF2)와 4-nitroquinoline-*N*-oxide(4NQO) 등의 돌연변이원에 대하여 민감한 감응을 보였고 우유와 육제품 등과 같이 histidine을 함유하는 시료에서 돌연변이원의 검출에 이용될 수 있다고 하였다. 또한 이들 균주는 Ames 등(1973)의 *Salmonella*/microsome 돌연변이 유발성 시험보다 더욱 단순하고 효과적이었으며, 이들 균주는 biotin과 histidine 요구성과 ampicillin에 저항성을 모두 소유하여 모균인 *S. typhimurium* 균주들의 특성을 소유하였다.

한편 많은 식품에서 변이원성 성질을 나타내는 여러 화합물들이 확인되고 있고, 이들 변이원들은 여러 소화기관에서 식사와 암발생률간의 관계에서 주요 역할을 하고 있다(Doll과 Peto, 1981). 많은 역학연구들은 암 위험 감소와 녹황색 채소의 섭취 증가간의 어떤 관련성을 보여주고 있다(Greenwald 등, 1990; Wattenberg, 1992; Hocman, 1989). 십자화과 채소인 컬리플라워,

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

배추, 양배추, 브로콜리 등에서 발견되고 있는 isothiocyanates나 tryptophan으로부터 유도되는 indole-3-carbinol 등의 indole 유도체들은 실험적인 암유발 연구에서 화학 발암물질들에 대한 보호 효과를 주는 것으로 알려지고 있으며(Chung 등, 1992, 1993; Pereira와 Khoury, 1991; Wattenberg와 Loub, 1978), 특히 배추와 양배추는 위암을 예방하는 채소로 알려져 있다(Kada 등, 1986). Tryptophan에서 유도된 황 함유 phytoalexin류는 강한 항미생물 작용이 있는 것으로 알려지고 있으며(Rouxel 등, 1991), 중국 배추에서는 aglycon으로 동정되고 있는 isothiocayanate glucosinolate류를 함유하는 것으로 알려지고 있다(Daxenbichler 등, 1979). 그러나 배추에서는 많은 종류의 천연 살충제와 그의 대사물질들이 확인되고 있다(Ames 등, 1990). 이들은 곤충류와 미생물들의 침해에 대한 방어역할, 감각 수용특성(Pariza, 1992)을 갖도록 하는 역할을 하지만, 어떤 경우에는 독성 및 암유발성을 나타낸다(Ames 등, 1990). Wakabayashi 등(1985a)은 일본의 절임배추에 대한 연구에서 신선한 배추와 염장배추의 물 추출물은 변이원성이 없었으나 NO_2를 처리하면 변이원성을 나타낸다 하였다. 계속된 연구에서 TA100 균주에서 염장 배추보다는 신선한 배추의 물 추출물이 변이원성이 높게 나타났으며 여기에서 3개의 indole 화합물이 변이원을 니트로화시킬 수 있는 전구물질임을 동정하였으며(Wakabayashi 등, 1985b). 현재 이들 화합물은 indole-3-acetonitrile, 4-methoxyindole-3-acetonitrile과 4-methoxyindole-3-carboxyaldehyde임이 확인되었고(Wakabayashi 등, 1985c), 이 중에서 indole-3-acetonitrile이 니트로화된 변이원은 1-nitroso-indole-3-acetonitrile로 확인되었다(Wakabayashi 등, 1985c, 1986, 1987).

고추는 전세계적으로 사용되고 있으며 아시아, 인도, 열대 아메리카 및 남중국 등의 어떤 토착식품으로 제공되고 있다(Fisher, 1992). 고추에서 매운

맛을 내는 화합물은 capsaicinoid류로 알려진 페놀성 amide류(Suzuki와 Iwai, 1984)로서 최면요법후 신경통(posthypnotic neuralgia), 유방절제후 통증(postmastectomy pain syndrome)피부병, 고통이 따르는 당뇨 신장장애(diabetic neuropathy), 마른버짐(psorisis)과 외음전정증(vulvar vestibulitis) 등의 치료제로 이용되고 있다. 칠레고추의 경우 변이원성이 없다는 보고(Buchanan 등, 1981)가 있는 반면, 변이원성이 있었다는 상반된 보고도 있다(Nagabhusan과 Bhide, 1985). Namiki 등(1984)은 아질산염으로 처리한 고추에서는 변이원성이 있었으나 자체로는 변이원성이 없었다고 하였으며, Osawa 등(1981)도 고추와 아질산염이 반응하여 돌연변이원을 형성할 수 있다 하였다. Toth 등(1984)은 capsaicin은 Ames 분석에서 낮은 정도로 변이원성을 나타내었고, 1%까지 섭취시킨 생쥐의 식이 지방에서는 낮은 선암(adenocarcinoma)증세를 보인다고 하였으나, Muralidhara와 Narasimhamurthyl(1988)는 serum morphology assay와 dominant-lethal test를 이용한 연구에서 비변이원성임을 밝힌 바도 있다.

마늘은 간의 microsome 효소계의 활성화에 관여하여 간접 돌연변이 물질을 최종 돌연변이원으로 전환되는 것을 방지하거나 간 내에서 glutathione *S*-transferase와 SH 함유 화합물들을 증가시킴으로서 최종 돌연변이 물질을 비독성 화합물로 전환시키는데 기여하는 것으로 추정되고 있다(김, 1991). 마늘에 존재하는 dially thiosulfinate는 비타민 B_1과 동일한 생리 작용을 지니며 체내에서 흡수가 빠르고 장내 thiaminase의 작용을 받지 않기 때문에 thiamin의 체내 이용을 높여 준다(Fujiwara 등, 1955). 박 등(1991)은 마늘의 항돌연변이 물질은 지용성 물질로 추정하였으며, 김(1991)은 이 물질을 잠정적으로 methyl linolate로 동정되었다. Linoleic acid는 항돌연변이 및 항암 작용이 있는 것으로 알려지고 있는데(Hayatsu 등, 1981; Siegel 등,

1987), 박 등(1991)은 마늘의 항암 작용이 allicin을 비롯한 함황 화합물과 linoleic acid계 물질 등에 의해 나타나는 것으로 추정하였다. Yoshida 등(1984)은 신선한 마늘 주스와 마늘의 알코올 추출물들을 *in vivo*와 *in vitro*에서 시험한 결과 미생물 시험계(Ames test)에서 돌연변이원성이 관찰되지 않는다 하였고, Takemura와 Shimizu(1978) 및 Kada 등(1978b)은 생쥐에 대한 micronucleus test와 Chinese hamster embryo에서의 CHE test에서는 돌연변이유발 효과는 관찰되지 않았고 세포독성만이 관찰된다 하였으며, 마늘의 열분해 산물만을 가지고 시험한 Ames test(Takemura와 Shimizu, 1978; Kada 등, 1978a)와 *Drosophila* test(Abraham과 Kesavan, 1983)에서는 양성결과를 얻었다는 보고도 있다. 그러나 현재 마늘 자체의 발암 및 보발암 잠재성에 관한 문헌들은 찾아 볼 수 없다. Koch와 Jäger(1988)에 의하면 마늘과 마늘 제조물에서 적당량의 셀레늄이 발견되어 생물학적 활성을 갖는 미량원소의 충분한 공급물로 이용될 수 있다고 하였다. Kim 등(1991)과 박 등(1991)은 *Salmonella* assay를 이용하여 여러 돌연변이원들에 대한 마늘 추출물의 돌연변이 및 암세포의 성장 저해 효과를 관찰하여 메탄올 추출물로부터 온 chloroform 분획이 수용성 추출물보다 강한 저해 활성을 나타내었으며, 이 분획에서 항돌연변이 활성이 높은 methyl linolate를 함유하는 8개의 화합물을 분리하였다. 한편 Hwang 등(1990)과 손과 황(1990)은 여러 암세포 배양과 sarcoma-180을 이용한 실험에서 마늘의 석유 에테르 추출물과 알코올 추출물이 항암 효과가 있다고 하였으며, 박 등(1991)은 마늘의 메탄올 추출물의 아플라톡신 B_1과 MNNG에 대한 항돌연변이 효과를 나타내었고 농도를 증가시킴에 따라 아플라톡신 B_1에 대한 돌연변이 유발 억제 효과가 높았으며 또한 비극성 분획인 클로로포름 분획에서 더 큰 돌연변이 유발 저해 효과를 관찰하였다.

제주대학교 중앙도서관

한편 향신료들은 식품과 청량음료에 풍미와 향을 첨가하여 향기와 맛을 개선시키기 위하여 흔히 사용되고 있는데, Przybyla(1986)에 의한 영양과 건강에 관한 보고에 따르면 소금, 설탕 및 지방에 의해 일단 제공된 향을 대체시켜 주기 때문에 향신료의 사용을 증가시키고 있다. 최근의 독성학적 연구에 의하면 열대 국가에서 생산된 향신료들은 변이원성을 유발시키는 것으로 알려지고 있다(Shashikanth와 Hosono, 1986; 1987). 향신료의 돌연변이원성에 관한 연구로는 육두구, 생강, 후추, 고수, 큐민, 울금과 아위, 및 기타 계피, 정향, 겨자, 심황 등에 대한 연구들이 있다(Buchanan 등, 1981; Shashikanth와 Hosono, 1986; Thyagaraja와 Hosono, 1993).

유산균에 의한 변이원성의 저해와 변이원들간의 관계에 대한 연구는 이들 간의 상호관계를 알 수 있고 또한 영양과 기타 성상을 밝히는데 도움이 될 것이다. 그러나 이들 연구의 대부분은 낙농 기원의 유산균에 한정되어 수행되어 왔다(Fernandes 등, 1987; Gilliland, 1990; National Dairy Council, 1990). 그러나 김치를 비롯한 발효식품 등의 비낙농 기원의 유산균의 이로운 성질에 관한 정보들은 아직 부족한 실정이다. 최근 남부 인도의 천연적으로 발효시킨 전통 발효박 제품인 "Idly"로부터 유산균이 분리·동정(Thygaraja 등, 1991)은 물론 발효 중에 이들 유산균의 변화에 대한 연구(Thygaraja 등, 1992) 및 이들 유산균에 의한 항변이원성(Thyagaraja와 Hosono, 1993)에 대한 연구가 수행되어 비낙농 발효 제품에서 유산균에 의한 질병 치료 및 기타 이로운 특성에 대한 연구가 이루어지고 있다. 이들은 양념으로 이용되고 있는 향신료 중의 변이원들과 육류 관련 제품의 가열 중에 생성되는 아미노산 열분해 산물들 및 *Aspergillus* 곰팡이 대사에 의해 생성되는 aflatoxin들은 유산균에 의한 항변이원 활성을 측정하기 위한 좋은 대상이 된다 하였다. 이들의 연구 결과에 의하면(Thyagaraja와 Hosono,

1993) 비낙농 기원의 유산균은 시험된 거의 모든 변이원들에 대한 항변이원 활성을 나타내었으며 같은 유산균에서조차도 여러 다른 변이원에 대한 저해 정도에는 상당한 차이를 보였다고 하였다는데, 이것은 여러 변이원들의 작용 기구는 물론 유산균의 특징이 서로 다르다는 사실로부터 추정이 가능하다 하였다. 그러나 향신료 추출물은 여러 화합물의 혼합체이고 이 혼합물에 존재하는 화합물들이 알려져 있지 않기 때문에 변이원성에서의 작용 기구는 불분명한 상태라 하였다. 한편, 이전의 연구에서의 결과들은 여러 향신료들이 *Salmonella*/mammalian microsome 변이원성 분석을 이용한 *in vitro* 변이원성을 시험한 결과 어떠한 향신료도 광범위의 농도 범위에서 변이원성을 나타내지 않았으나(Buchanan 등, 1981), *S. typhimurium*의 streptomycin 의존성 균주를 이용한 분석에서는 향신료들이 변이원성을 유발시키는 것으로 확인되고 있다(Hosono 등, 1987a; Shashikanth와 Hosono, 1986, 1987; Thyagaraja와 Hosono, 1993). 결국 비낙농 기원의 유산균은 많은 환경성 변이원에 대한 항변이원 활성을 보이고 있기 때문에 앞으로 항변이원성과 항변이원성의 기구를 연구함에 있어서 변이원의 운명에 관한 연구가 뒷받침되어야 할 것으로 생각된다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅲ. 재료 및 방법

1. 유산균에 의한 아질산염의 소거

1) 유산균 분리용 재료

유산균 분리용 김치는 1996년 6월과 11월에 제조 후 3일과 5일이 경과된 것을 제주시 보성시장에서 구입하였으며, 이들은 구입하는 즉시 실험 재료로 사용하였다.

2) 김치로부터 유산균의 분리

(1) 유산균의 분리

김치로부터 유산균의 분리는 Hosono 등(1989)의 방법에 따라 Lactobacilli MRS(Difco Lab, USA) 한천배지를 사용하여 Fig. 1과 같이 실시하였다.

분리한 균주는 계수가 가능한 평판배지에서 무작위로 colony를 선택하여

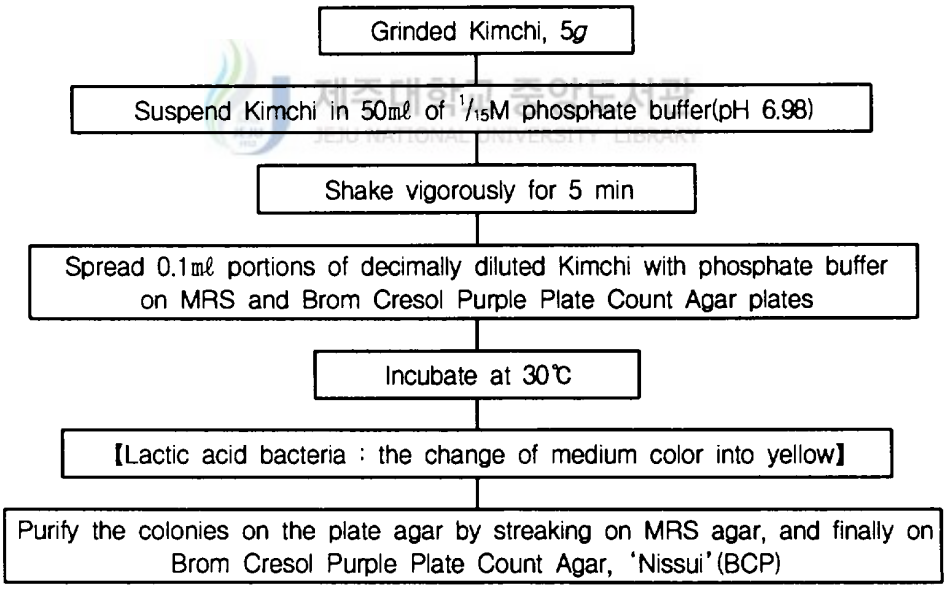


Fig. 1. Flow sheet for isolation of lactic acid bacteria from Kimchi.

Brom Cresol Purple(BCP; Difco Lab, USA) 한천배지에 배양한 후 배지의 색을 노란색으로 변화시키는 colony만을 선발하였다. 이들은 다시 MRS 한천배지에서 여러 번 계대배양하여 순화시켰으며, 최종적으로 BCP 한천배지에서 배양하여 시험용 균주로 사용하였다. 이들 분리된 균주의 일부는 단기 보존을 위하여 Lactobacilli MRS 사면배지에 도말하여 30℃에서 24시간 배양한 후 5℃ 냉장고에서 보관하였고, 일부는 장기 보존을 위하여 Lactobacilli MRS 액체배지에서 24시간 배양(30℃)한 후 9% skim milk를 5 ㎖ 첨가한 후 -80℃ 심온동결기에서 보존하였다.

(2) 균주의 동정

김치 분리 유산균의 동정은 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Sneath 등, 1986)와 Laboratory Method in Food and Dairy Microbiology (Harrigan과 McCance, 1976)에 따라 분류학적 특성을 확인하였다. 유산균의 동정에 사용된 기본 배지는 Lactobacilli MRS 액체배지로써 멸균하기 직전에 pH 6.5±0.1로 조정하여 사용하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(3) KCTC 균주

KCTC 균주는 김치에서 분리된 균은 아니지만, 김치에서 흔히 발견되고 있는 균들(박 등, 1990; 소와 김, 1995a,b)로서, 분류학적 특성이 잘 알려져 있는 *Streptococcus faecalis* KCTC 2011, *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099, *Leuconostoc mesenteroides* KCTC 3100, *Lactobacillus pentosus* KCTC 3120 및 *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3164를 한국과학기술원 유전자센터 균주은행(Korea Collection Technologists Center, KCTC)으로부터 분양 받아 김치 분리 유산균에 대한 비교용 균주로 사용되었다.

(4) CTFM 균주

CTFM 균주는 대구 효성가톨릭대학교 식품공학과 식품미생물 연구실(Food Microbiology Lab, Department of Food Science and Technology, Catholic University of Tague-Hyosung)에서 김치로부터 분리한 유산균으로서, 예비실험을 통해 아질산염 소거 활성이 높은 *Lactobacillus plantarum* CTFM 0101, *L. plantarum* CTFM 0102, *L. plantarum* CTFM 0103, *L. plantarum* CTFM 0104를 분양 받아 사용하였다.

3) 유산균에 의한 아질산염의 소거

유산균에 의한 아질산염 소거는 Dodds와 Collins-Thompson(1984)의 방법에 따라 Fig. 2와 같이 실시하였다. 아질산염은 최종 농도가 150 또는 250㎍/㎖가 되도록 첨가하였고, 여기에 18시간 배양한 배양액을 100㎕ 접종하여 5~36℃에서 0~10일 동안 배양하면서 아질산염이 소거되는 정도를 측정하였다. 양성대조구는 배지에 아질산염만을 첨가하였으며, 음성대조구는 균주 대신 멸균 증류수만을 가하였다. 모든 실험용 용기는 121℃에서 30분 동안 멸균하였으며, Lactobacilli MRS 배지는 고압멸균 전에 500㎖ 단위로 1*N* HCl을 사용하여 pH 6.5로 조정하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

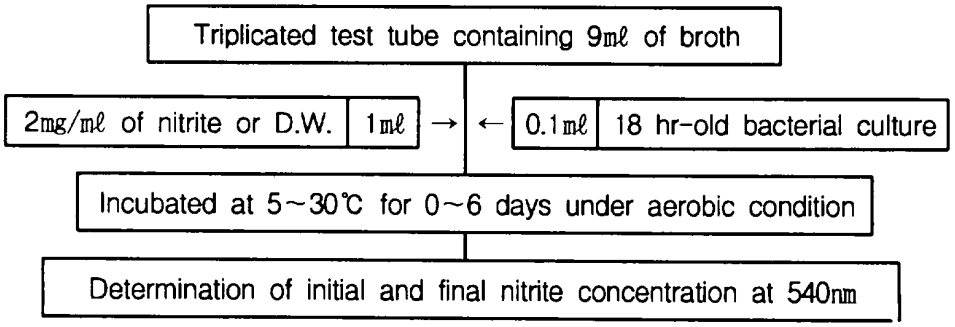


Fig. 2. Flow sheet for depletion of nitrite in broth culture.

4) 아질산염의 정량

(1) 시 약

아질산염의 정량에 사용된 시약의 제조 방법은 다음과 같다.

Reagent		Procedure
Color development solution	I	Dissolve, by heating on a water bath, 2g of sulfanilamide ($NH_2C_6SO_2NH_2$) in 800㎖ of cold water, filter, if necessary, and add 100㎖ while stirring, dilute to 1,000㎖ with D.W.
	II	Dissolve 0.1g of *N*-1-naphthylethylene diamine dihydrochloride($C_{10}H_7NHCH_2CH_2NH_2 \cdot 2HCl$) in water, dilute to 100㎖ with D.W.
	III	Dilute 445㎖ of hydrochloric acid to 1,000㎖ with water
Store the color development solutions in well-stoppered brown bottles. Kept in a refrigerator for not longer than 1 week.		

(2) 실험방법

아질산염은 Ito 등(1979)의 방법에 따라 Fig. 3과 같이 비색 정량하였다.

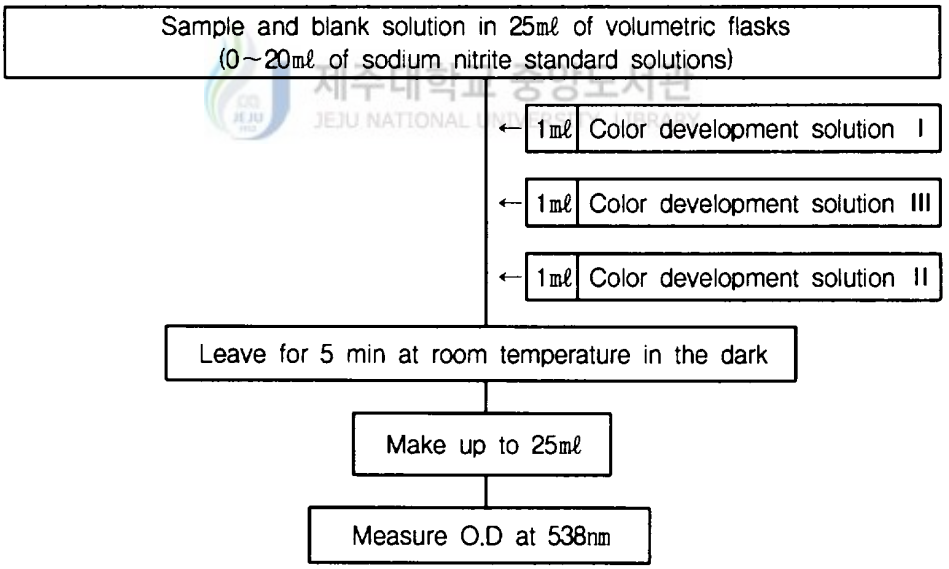


Fig. 3. Procedure for determination of nitrite.

이때 아질산염의 농도와 O.D에 대한 검량선은 Fig. 4와 같다.

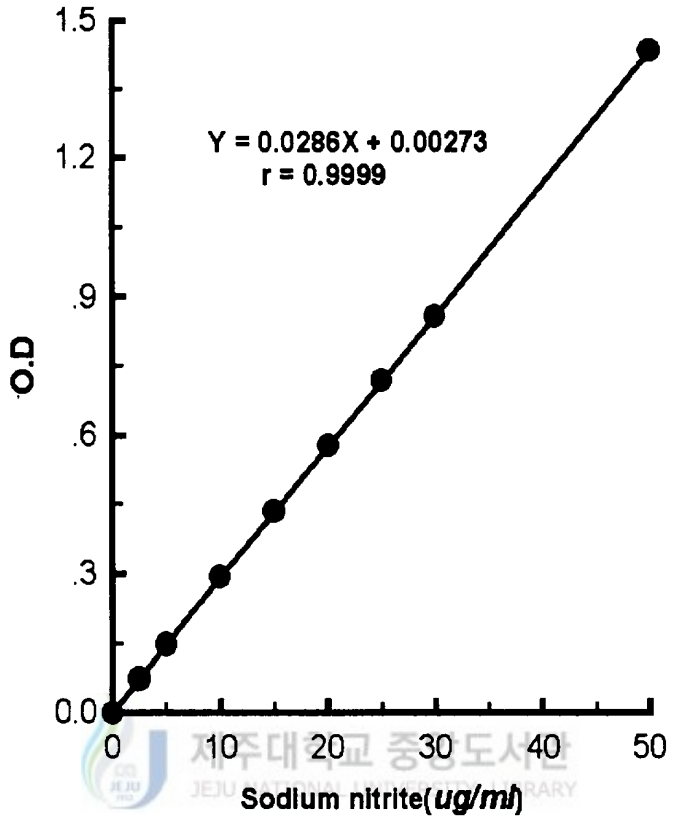


Fig. 4. Calibration curve for determination of sodium nitrite.

2. 김치 숙성 중 *N*-Nitrosamine의 변화

1) 김치의 제조

김치의 재료는 미국 뉴욕주 Syracuse시에 소재하고 있는 한인 상점에서 구입하여 Cornell대학교 식품공학과에서 절임 배추와 김치를 제조하였으며, 적당한 양으로 나누어 병입한 후 5℃ 냉장고에 저장하면서 숙성 중 *N*-nitrosamine의 생성 여부를 분석하였다. 김치를 제조하기 위한 혼합 비율은

Table 1과 같다.

Table 1. Mixed ratio of materials for Kimchi preparation(g)

Materials	Without sauce	With sauce
Chinese cabbage	500	500
Red pepper powder	10	10
Garlic	10	10
Ginger	10	10
Anchovy sauce(㎖)	—	50
3% Salt solution	50	—

2) *N*-Nitrosamine 분석

김치 재료 중 *N*-nitrosamine은 혼합 마쇄한 시료 2.5~5.0g을 취하여 Hotchkiss 등(1980)의 방법에 따라 Fig. 5와 같이 수증기 증류법으로 추출한 후 gas chromatography-thermal energy analyzer(GC-TEA)를 이용하여 Table 2와 같은 조건으로 정량하였다.

Table 2. GC-TEA condition for analysis of *N*-nitrosamine

Instrument	GC : Hewlett-Packard Model 5890A
	TEA : Thermal Electron Crop., Model 543
Column	2m×2㎜ i.d. glass column
Packing material	3% OV-351 on 80~100 Chromosorb WHP
Carrier gas and flow rate	He, 25㎖/min
Oven Temperature	80~200℃ at 8℃/min
Injection temperature	180℃
Pyrolizer temperature	550℃
Interface temperature	200℃
Cold trap temperature	-160℃
Ozone pressure	0.85 torr
Analyzer pressure	1.10 torr
Chart speed	0.5 ㎝/min

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Put a small dab of anti-foam inside each of 3-neck flask
↓
Blend sample(or mince sample with scissors)
↓
Mix 200㎕ of 2.5M sodium azide with 25g sample and place in 3-neck flask
↓
Add 25㎖ of 20% ammonium sulfate solution, pH 1~1.5
↓
Add 1㎖ spiking solution
↓
Collect 125㎖ distillate in a 250㎖ erlenmeyer on ice(This takes ca. 150㎖)
↓
Add 40g sodium chloride to distillate
↓
Extract distillate with 40㎖ of dichloromethane(three times)
↓
Boil off the extract at a rate of ca. 1~1.5㎖/min
↓
Concentrate the extract to 1.0㎖ or 0.5㎖, under a "gentle" stream of nitrogen
↓
Transfer to a crimp-top vial and store in freezer

Fig. 5. Procedure for determination of nitrosamine.

3. 김치와 재료 추출물의 돌연변이원성

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

1) 추출 시료

김치 재료 추출물의 (항)돌연변이원성을 검정하기 위하여 김치, 배추, 마늘, 생강, 고춧가루, 멸치젓, 새우젓을 1995년 11월 제주시 보성시장에서 상온에 저장된 것을 구입하여 추출용 시료로 사용하였으며, 모든 시료는 구입 즉시 5℃ 냉장고에 보관하였다.

2) 시료의 추출

김치 시료의 추출은 김 등(1994b)의 방법에 따라 고춧가루를 제외한 모든

김치 재료들은 믹서(NSF, model 909 series A, Hamilton Beach/Proctor-Selex, Inc., USA)로 완전 분쇄한 후, 그리고 고춧가루는 그대로 증류수와 에탄올(99.9%, Hayman Ltd., USA)을 사용하여 추출하였다. 즉, 수직으로 환류냉각관을 부착시킨 2구 환저플라스크에 고춧가루는 25g, 김치와 기타 재료는 각각 50g을 넣고 증류수 또는 에탄올을 500㎖ 가한 후, 증류수의 경우 40℃에서 20시간, 에탄올의 경우 40℃에서 4시간 동안 추출하여 얻은 액을 4겹 가제로 여과한 후 Toyo No. 5C(Toyo Ltd., Japan)로 감압여과하였다. 이것을 재차 GF/C(Whatman glass microfibre filter, USA)로 여과한 다음 40℃에서 회전 진공증발농축기(Büch Co., Switzerland)로 완전 건고 농축하고 증류수를 가하여 100㎖로 정용하였다.

3) 시험용 시료와 양성 돌연변이원

본 연구에 사용된 김치 재료 추출물은 0.22㎛ membrane filter(Millipore Co., USA)로 여과하거나 autoclave로 멸균한 후 시험용 시료로 하였다. 양성 돌연변이원물질은 4-nitroquinoline-*N*-oxide(4NQO; Sigma Co., USA)로서 dimethyl sulfoxide(DMSO; Sigma Co., USA)에 녹여 0.22㎛ membrance filter로 여과한 후 사용하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

4) 지표균주

본 연구를 수행하기 위하여 2종류의 지표균주를 사용하였다.

(1) ***Salmonella typhimurium* TA100** : California 대학의 B.N. Ames 박사로부터 제공받은 *S. typhimurium* TA100 균주로서, 돌연변이원성은 histidine 요구형에서 비요구형으로 변환되는 것으로서 돌연변이원성 유무를 판정하였다.

(2) *S. typhimurium*의 streptomycin 의존성 SD510 : 일본 信州대학교의 Hosono 교수로부터 제공받은 *S. typhimurium* TA98의 streptomycin 의존성 SD510 균주로서, 20㎍/㎖의 streptomycin(Sigma Co., USA)이 함유된 Oxoid nutrient broth No. 2(OX-SM20)(Unipath Ltd., England) 배지에서 순화시켜 OX와 OX-SM20 한천배지의 colony 수가 10^{-3} 이상의 차이가 있고, 또한 균주는 자연복귀 확률이 10^{-3} 이하의 것이 streptomycin 의존성을 유지하는 것을 선발하였다. 돌연변이원성은 streptomycin 의존성에서 비의존성으로 변환되는 것으로 판정하였다.

5) 사용배지

(1) Oxoid(OX) 액체배지 : pH 7.0으로 조정한 2.5% nutrient broth를 고압멸균기(121℃, 20분)에서 멸균하였다. 이 배지를 기초로 하여 OX-SM20 액체배지를 조제하였다.

(2) OX 한천배지 : pH 7.0으로 조정한 액치배지에 한천 1.5%를 첨가하여 고압멸균하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(3) OX-SM20 액체배지 : 고압멸균한 액체배지에 멸균된 streptomycin 20㎍/㎖를 첨가하였다.

(4) OX-SM20 한천배지 : 고압멸균한 액체배지를 petri-dish에 붓기 직전에 멸균된 streptomycin 20㎍/㎖를 가하였다. 이 배지는 SD510의 conformation test와 이를 지표균주로 하는 돌연변이원성 시험에 사용하였다.

(5) Vogel-Bonner E배지(50X) : $MgSO_4$ 10g, citric acid(1수화물) 100g, K_2HPO_4 500g, $(NH_4)_2NaPO_4 \cdot 4H_2O$ 175g을 증류수 670㎖에 용해하여 1ℓ로 한 후 고압멸균하였다.

(6) Minimal glucose(MG) 한천배지 : 930㎖ 증류수에 15g의 한천을 용해

하여 고압멸균한 후 멸균된 50X 20㎖, 40% glucose 용액 50㎖를 무균적으로 가하였다. 완전히 혼합한 후 petri-dish에 30㎖를 분주하였다. 이 배지는 TA100의 conformation test와 이를 지표균주로 하는 돌연변이원성 시험에 사용하였다.

(7) Top-agar : 증류수 100㎖에 한천 0.6g, NaCl 0.5g을 용해한 후 고압멸균하여 TA100과 SD510을 지표균주로 하는 돌연변이원성 시험에 사용하였다.

(8) 0.5mM histidine/biotin 용액 : 증류수 100㎖에 *D*-biotin 12.2㎎, *L*-histidine 7.8㎎을 용해한 후 고압멸균하여 TA100을 지표균주로 하는 돌연변이원성 시험에 사용하였다.

6) Conformation(CF) test

CF test는 지표균주들의 성질과 *S. typhimurium* TA100에서의 histidine 요구성에 관한 유전자의 소실 여부, 및 SD510에서의 streptomycin 의존성에 관한 유전자의 소실 여부를 확인하기 위하여 행하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(1) TA100 : 4개의 MG 한천배지 중 하나에는 0.1M histidine과 0.5*m*M biotin 용액 0.1㎖씩, 두 개의 plate에는 histidine과 biotin 용액을 0.1㎖, bitotin 용액 0.1㎖을 도말한 것, 나머지 하나에는 아무 것도 도말하지 않은 plate를 사용하였다. 각각의 plate에 미리 OX 액체배지에서 약 10시간 전에 배양한 배양액을 백금이를 사용하여 도말하였다. 이들을 37℃에서 48시간 배양한 후 histidine을 첨가한 plate에는 colony가 형성되고, histidine을 비첨가 plate에는 colony가 형성되지 않는지를 확인한 후 실험에 이용하였다.

(2) SD510 : 16시간 전에 SD510 균주를 OX-SM20 액체배지에서 배양한 배양액을 균수가 10^2~10^7이 되도록 증류수로 희석시킨 후, OX 한천배지에

10^2~10^5배 희석액을, OX-SM20 한천배지에 10^4~10^7배 희석액을 각각 도말하여 36℃에서 48시간 배양하였다. 배양 후 각 plate의 colony 수를 측정하여 회석율에 따라 OX 한천배지와 OX-SM20 한천배지에서의 colony 수가 10^{-3} 이상의 차이가 있고, 또한 자연복귀 확률이 10^{-3} 이하의 것이 streptomycin 의존성을 유지하는지를 확인하여 실험에 이용하였다.

7) 김치 재료 추출물의 돌연변이원성

(1) Spot test

① TA100 : OX 액체배지에서 10시간 전후로 전배양시킨 TA100을 MG 한천배지에 100㎕ 도말한 후, 배지의 중앙에 멸균된 8㎜ paper disc를 올려 놓았다. 여기에 시료추출물 40㎕를 접종하여 36℃에서 48시간 배양한 후 revertant colony 수를 측정하였다(Fig 6).

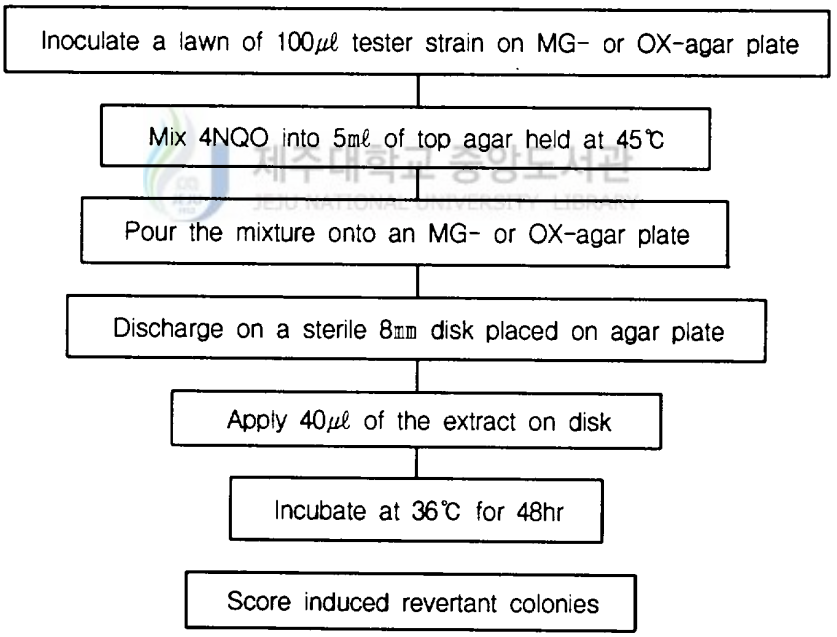


Fig 6. Flow sheet for mutagenic activity of Kimchi and its ingredients by spot test with TA100 and SD510 strain.

② SD510 : OX 액체배지에서 16시간 전후로 전배양시킨 SD510을 OX 한천배지에 100㎕ 도말한 후 배지의 중앙에 멸균된 8㎜ paper disc를 올려 놓았다. 여기에 시료추출물을 40㎕ 접종하여 36℃에서 48시간 배양한 후 revertant colony 수를 측정하였다(Fig. 6).

(2) Plate test

① TA100 : 시료 추출물 100㎕와 10시간 전후 배양시킨 TA100을 100㎕를 넣어 가볍게 교반한 후 MG 한천배지에 도말하고 37℃에서 48시간 배양하여 revertant colony 수를 측정하였다. 한편 양성대조구로는 4NQO를, 음성대조구로는 멸균 증류수와 DMSO를 사용하였다(Fig. 7).

② SD510 : 시료추출물 100㎕와 16시간 전후 배양시킨 SD510 균주 100㎕를 넣어 가볍게 교반한 후 OX 한천배지에 도말하고 36℃에서 48시간 배양한 후 revertant colony 수를 측정하였다. 한편 양성대조구로는 4NQO를, 음성대조구로는 멸균 증류수와 DMSO를 사용하였다(Fig. 7).

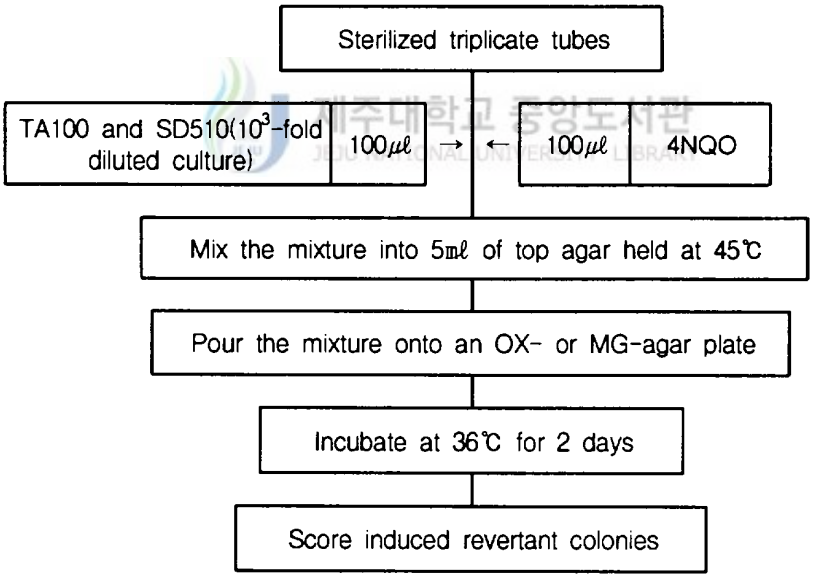


Fig. 7. Flow sheet for mutagenic activity of Kimchi and its ingredients by plate test with SD510 and TA100 strain.

8) 양성 변이원 물질의 돌연변이원성

(1) Spot test에 의한 4NQO의 돌연변이원성

돌연변이원은 농도에 따른 revertant colony 수가 다르기 때문에 최대 저지환을 형성시키기 직전의 돌연변이원의 양, 즉 최적농도를 결정하는 것이 중요하다. 따라서 TA100과 SD510을 사용하여 spot test로 4NQO에 의해 유도되는 돌연변이원성의 최적농도를 결정하였다(Picture 1과 2).

(2) 평판법에 의한 4NQO의 dose-response

표준 돌연변이원으로 사용된 4NQO는 spot test에 의하여 대략적인 활성농도를 얻었으며, 이 농도를 근거로 하여 0~10㎍/plate 범위에서 dose-response 곡선을 작성하였다.

9) 김치와 재료 추출물의 (항)돌연변이원성

김치 재료 추출물이 4NQO에 의해 유도되는 돌연변이원성의 억제 여부를 확인하기 위하여 spot test(Fig. 8)와 평판법(Fig. 9)을 사용하여 TA100과 SD510에서 (항)돌연변이원성을 검정하였다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

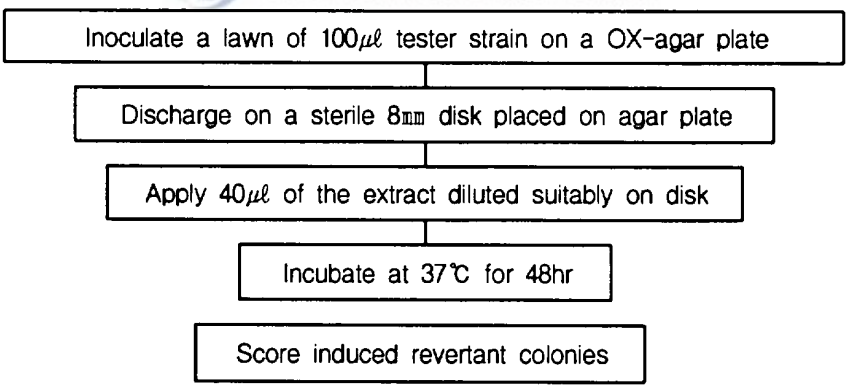
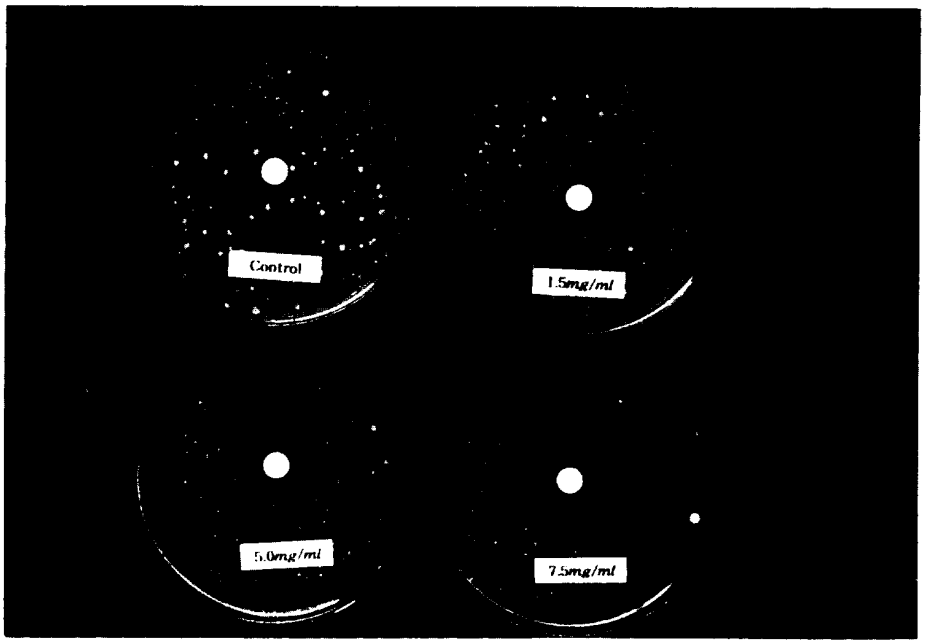
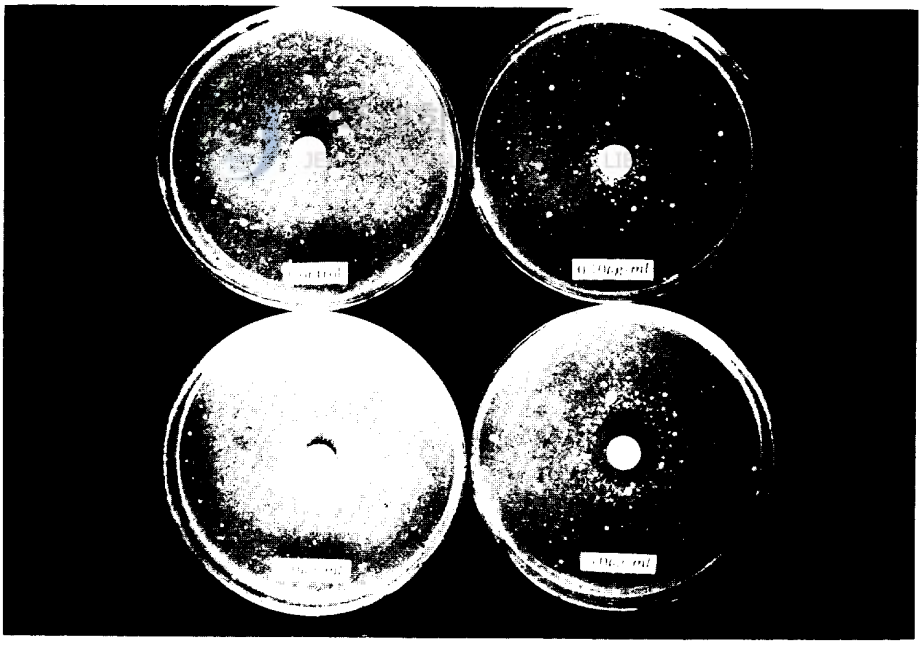


Fig. 8. Flow sheet for antimutagenic activity of Kimchi and its ingredients by spot test with TA100 and SD510 strain.



Picture 1. Spot test for 4NQO in TA100.



Picture 2. Spot test for 4NQO in SD510.

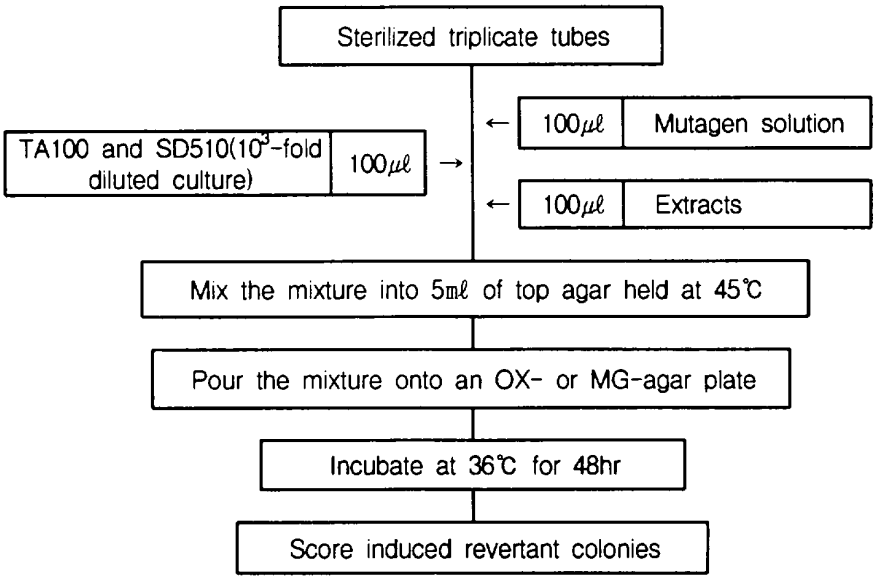


Fig. 9. Flow sheet for antimutagenic activity of Kimchi and its ingredients by plate test with SD510 and TA100 strain.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅳ. 결과 및 고찰

1. 김치 분리 유산균의 동정

김치 분리 유산균의 분리학적 특성을 Bergey's Manual of Systematic Bacteriology(Sneath 등, 1986)와 Laboratory Method in Food and Dairy Microbiology(Harrigan과 McCance, 1976)에 따라 확인한 결과는 Tables 3~5와 같다. 여름 배추김치(pH 5.0±0.3)에서 분리한 4균주는 모두 *Leuconostoc mesenteroides*로 동정되었다(Table 3). 겨울 배추김치(pH 4.8±0.2)에서 분리한 16균주 중 6균주는 *Lactobacillus sake*(Table 4), 10균주는 *L. mesenteroides*(Table 5)로 동정되었다. 이들 2속 20종의 유산균과 대구 효성가톨릭대학교에서 분리한 4종의 *Lactobacillus plantarum* CTFM 균주들을 아질산염의 소거능을 측정하기 위한 균종으로 사용하였다.

2. 김치 분리 유산균에 의한 아질산염의 소거

1) LAB와 KCTC 균주에 의한 아질산염의 소거

제주대학교 중앙도서관

김치 분리 유산균이 아질산염 소거에 미치는 영향과 이에 따른 온도의 영향을 검토하기 위하여 Lactobacilli MRS broth를 사용하여 여러 온도 조건에서 김치로부터 분리한 4종의 *Leuconostoc mesenteroides*에 의하여 아질산염(150㎍/㎖)이 소거하는 효과를 측정하였다. 또한 한국과학기술원 유전자센터 균주은행(Korean Collection Technologists Center; KCTC)으로부터 분양 받은 5종의 KCTC 균주들은 이들 김치 분리 유산균에 대한 비교용으로 사용되었다. KCTC 균주들은 김치에서 분리된 유산균들이 아니지만, 여러 연구자들에 의하여 김치에서 흔히 발견되고 있는 균들(박 등, 1990; 소와 김, 1995a,b)과 같은 종으로서 분류학적 특성이 이미 잘 알려져 있기 때문

에, 이들 김치 분리 유산균에 대한 비교용 균주로 사용하였다.

Table 3. Characteristics of lactic acid bacteria isolated from Kimchi

Item \ Strain	J-A	J-B	J-C	J-D
Fermentative type	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero
Cell shape	cocci	cocci	cocci	cocci
Dextran formation	+	+	+	+
Growth in 3.0% NaCl	+	+	+	+
Growth at pH 4.8	−	−	−	−
Growth at pH 6.5	+	+	+	+
Growth in 10% ethanol	−	−	−	−
Growth at 15℃	+	+	+	+
Growth at 37℃	+	+	+	+
Fermentation of				
Arabinose	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+
Mannitol	−	+	+	−
Mannose	+	+	+	+
Raffinose	+	+	+	+
Ribose	+	+	+	+
Salicin	−	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+
Identity	*Leuconostoc mesenteroides*			

+, growth; −, no growth.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 4. Characteristics of lactic acid bacteria isolated from Kimchi

Item \ Strain	K-1	K-6	K-8	K-10	K-11	K-12
Fermentative type	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo	Homo
Cell shape	rod	rod	rod	rod	rod	rod
NH_3 from arginine	−	−	−	−	−	−
Lactic acid isomer(s)	DL	DL	DL	DL	DL	DL
Growth at 15℃	+	+	+	+	+	+
Growth at 37℃	+	+	+	+	+	+
Fermentation of						
Amygdalin	+	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	+	+	+	+
Cellobiose	$+_w$	+	+	+	+	+
Esculin	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	+
Galactose	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+
Gluconate	+	+	+	+	+	+
Lactose	+	+	+	+	+	+
Maltose	$+_w$	+	+	+	+	+
Mannitol	−	−	−	−	−	−
Mannose	+	+	+	+	+	+
Melibiose	+	+	+	+	+	+
Raffinose	−	−	−	−	−	−
Rhamnose	−	−	−	−	−	−
Ribose	+	+	+	+	+	+
Salicin	+	+	+	+	+	+
Sorbitol	−	−	−	−	−	−
Sucrose	+	+	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+	+	+
Xylose	−	−	−	−	−	−
Identity	*Lactobacillus sake*					

+, growth; −, no growth; $+_w$, weak growth.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Table 5. Characteristics of lactic acid bacteria isolated from Kimchi

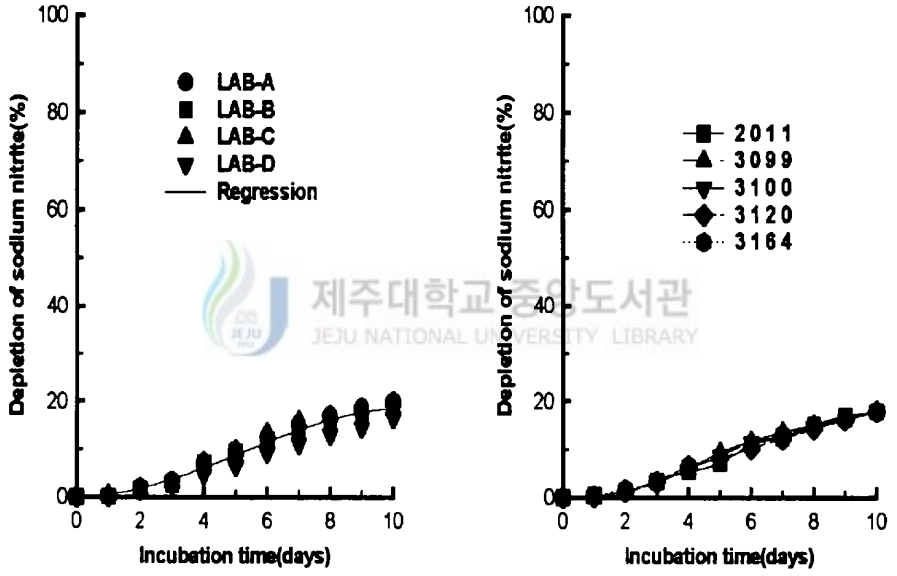
Item \ Strain	K-2	K-3	K-4	K-5	K-7	K-9	K-13	K-14	K-15	K-16
Fermentative type	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero	Hetero
Cell shape	cocci	cocci	cocci	cocci	cocci	cocci	cocci	cocci	cocci	cocci
Dextran formation	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth in 3.0% NaCl	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth at pH 4.8	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Growth at pH 6.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth in 10% ethanol	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
Growth at 15℃	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth at 37℃	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fermentation of										
Arabinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Fructose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Galàctose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mannitol	−	+	+	+	+	+	+	+	−	+
Mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Raffinose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ribose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Salicin	−	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Trehalose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Identity	*Leuconostoc mesenteroides*									

+, growth; −, no growth.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(1) 5℃와 10℃에서 아질산염의 소거

김치 분리 유산균인 *L. mesenteroides* LAB과 KCTC 균주들에 의하여 5℃와 10℃에서 배양 기간에 따라 150㎍/㎖의 아질산염을 소거하는 정도를 측정한 결과는 Fig. 10, 11과 같다. 5℃와 10℃에서 *L. mesenteroides* LAB와 KCTC에 의한 아질산염이 소거는 배양 기간이 길어짐에 따라 증가하였으나, 소거되는 정도는 5℃에서 10일 경과시 20%와 18% 전후, 10℃에서 9일 경과시 32.3~35.2%로서 아주 낮아 아질산염 소거능이 매우 취약한 것으로 생각되었다. 이로부터 10℃ 이하의 저온에서는 이들 균의 성장이 느리고,



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Fig. 10. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from Kimchi and KCTC strains during incubation at 5℃.
LAB-A, B, C and D : *Luconostoc mesenteroides* isolated from Kimchi; 2011 : *Streptococcus faecalis* KCTC 2011; 3099 : *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099; 3100 : *Leuconostoc mesenteroides* KCTC 3100; 3120 : *Lactobacillus pentosus* KCTC 3120; 3164 : *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3164; Nitrite concentration : 150㎍/㎖ of broth.

또한 아질산염을 소거할 수 있는 효소가 활성화되는 최적 온도 조건이 충족되지 못하였기 때문에 상대적으로 소거능이 약했던 것으로 추정된다.

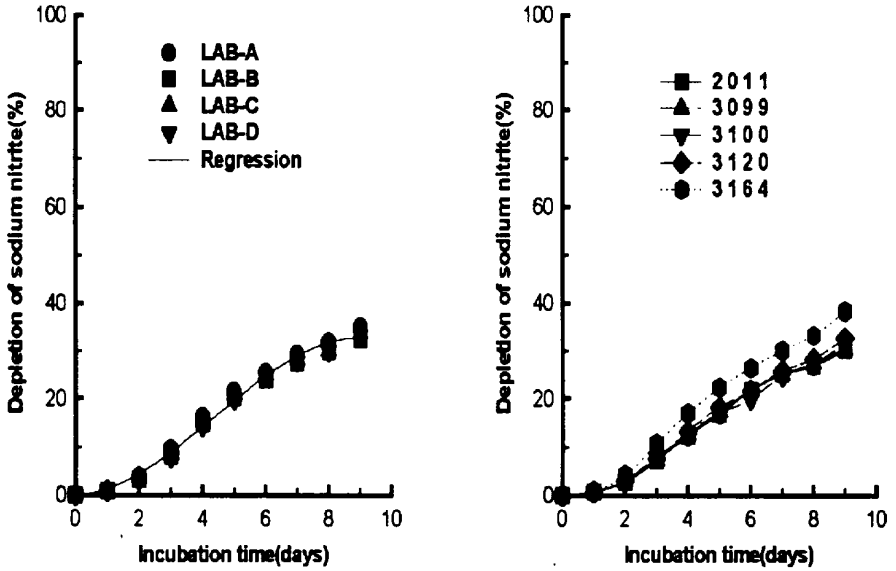


Fig. 11. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from Kimchi and KCTC strains during incubation at 10℃.
LAB-A, B, C and D : *Luconostoc mesenteroides* isolated from Kimchi; 2011 : *Streptococcus faecalis* KCTC 2011; 3099 : *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099; 3100 : *Leuconostoc mesenteroides* KCTC 3100; 3120 : *Lactobacillus pentosus* KCTC 3120; 3164 : *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3164; Nitrite concentration : 150㎍/㎖ of broth.

(2) 15℃~36℃에서 아질산염의 소거

L. mesenteroides LAB과 KCTC 균주들에 의하여 15~36℃에서 배양 기간에 따라 아질산염이 소모되는 정도를 측정한 결과는 Figs. 12~16과 같다. 15℃ 이상에서는 10℃ 이하에서와는 달리 배양 기간에 따라 아질산염 소거능이 급격히 증가하여 15℃에서는 배양 7일 후에 82.6~92.5%, 20℃에서는

배양 6일 후에 84.0~94.6%, 25℃에서는 배양 3일 경과시에 77.7~91.7%, 30℃에서는 배양 2일 경과시에 82.8~94.0%, 36℃에서는 2일 경과시 87.1~94.0%이었다. 특히 LAB-D는 배양 전반에 걸쳐 아질산염을 가장 많이 소거하여 15, 20, 25, 30, 36℃에서 각각 배양 8일, 6일, 3일, 2일, 2일만에 90% 이상을 소거하였다. LAB-D 이외의 김치 분리 유산균들은 25℃ 이상에서는 KCTC 균주들에 비하여 높거나 비슷한 수준을 유지하였으며, 특히 LAB과 같은 균종인 *L. mesenteroides* KCTC3100이 비하여 소거능이 높았다. 그러나 저온으로 갈수록 KCTC 균주들에 비하여 그 효과가 점차 낮아졌다. 이

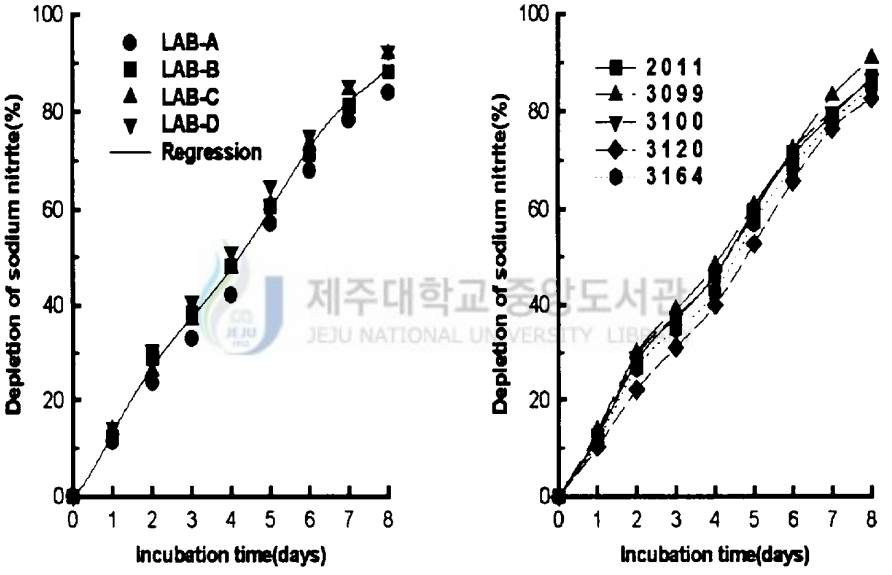


Fig. 12. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from Kimchi and KCTC strains during incubation at 15℃.
LAB-A, B, C and D : *Luconostoc mesenteroides* isolated from Kimchi; 2011 : *Streptococcus faecalis* KCTC 2011; 3099 : *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099; 3100 : *Leuconostoc mesenteroides* KCTC 3100; 3120 : *Lactobacillus pentosus* KCTC 3120; 3164 : *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3164; Nitrite concentration : 150㎍/㎖ of broth.

러한 결과는 동일 재료에서 분리된 동일 균종, 또는 분리원에 따라 아질산염을 소모하는 정도가 서로 다를 수 있음을 보여주는 것으로써, 앞으로 이들에 의하여 아질산염이 소모되는 기전에 대한 연구가 필요하리라 생각된다. 특이하게 *L. plantarum* KCTC3099는 15~25℃에서는 LAB-D와 거의 비슷한 수준을 유지하여 높은 소거능을 나타내었으나, 고온(30℃와 36℃)에서는 시험된 균주 중 가장 낮은 효과를 나타내었다. 이들 결과로부터 김치 분리 유산균은 15℃ 이상, 특히 고온(30℃와 36℃)에서 배양 초기(2일)에 대부분의 아질산염을 소거시켜 유산균에 의한 아질산염의 소거는 온도에 따른

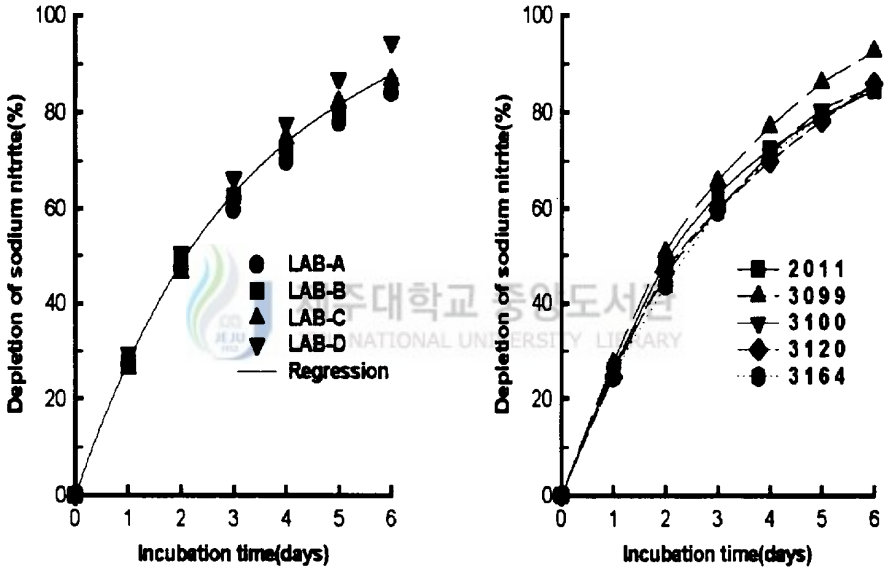


Fig. 13. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from Kimchi and KCTC strains during incubation at 20℃.
LAB-A, B, C and D : *Luconostoc mesenteroides* isolated from Kimchi; 2011 : *Streptococcus faecalis* KCTC 2011; 3099 : *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099; 3100 : *Leuconostoc mesenteroides* KCTC 3100; 3120 : *Lactobacillus pentosus* KCTC 3120; 3164 : *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3164; Nitrite concentration : 150㎍/㎖ of broth.

영향을 크게 받는 것으로 생각된다. 또한 배양 온도가 높아짐에 따라 소거될 수 있는 기간이 짧아지고 있고, 30℃와 36℃에서 비슷한 수준으로 효과를 나타내는 것으로 보아 아질산염 소거의 최적 온도가 30~36℃인 것으로 생각된다. 그리고 15℃ 이상에서 김치 출처인 LAB과 김치 출처가 아닌 균주인 KCTC에 의한 아질산염 소거능간의 차이는 10.6~19.0%로서 그다지 큰 차이를 보이지 않고 있기 때문에, 김치에서 분리된 유산균은 물론 유제품이 아닌 식품에서 분리된 유산균이 아질산염을 소거하는 효과도 클 것으로 생각된다. 따라서 이들 유산균은 채소류 또는 저장식품에서 발생할 가능

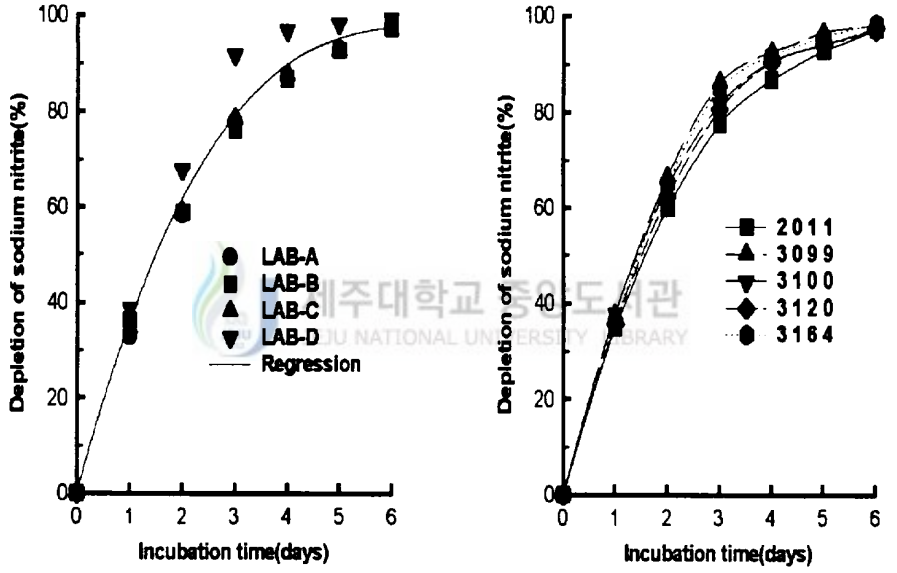


Fig. 14. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from Kimchi and KCTC strains during incubation at 25℃.
LAB-A, B, C and D : *Luconostoc mesenteroides* isolated from Kimchi; 2011 : *Streptococcus faecalis* KCTC 2011; 3099 : *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099; 3100 : *Leuconostoc mesenteroides* KCTC 3100; 3120 : *Lactobacillus pentosus* KCTC 3120; 3164 : *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3164; Nitrite concentration : 150㎍/㎖ of broth.

성이 높은 아질산염의 제거용으로 개발, 이용하는 방안을 연구하는 것이 매우 바람직하다고 생각된다. 그러나 30℃ 이상의 하절기에는 김치 등 침채류가 쉽게 변패하는 경향이 있기 때문에 이 온도에서의 활용에는 많은 복합적인 연구 검토가 수반되어야 할 것으로 생각된다. 한편 박과 최(1994)는 김치 발효 초기에 아질산염이 증가하다가 5일 경과 후에는 급격히 감소되었다 하였는데, 이들의 결과와 본 연구 결과(Figs. 12~16)를 함께 고찰해 볼 때 이는 김치 숙성 중에 성장하는 유산균들에 의하여 아질산염이 소모되기 때문인 것으로 판단된다.

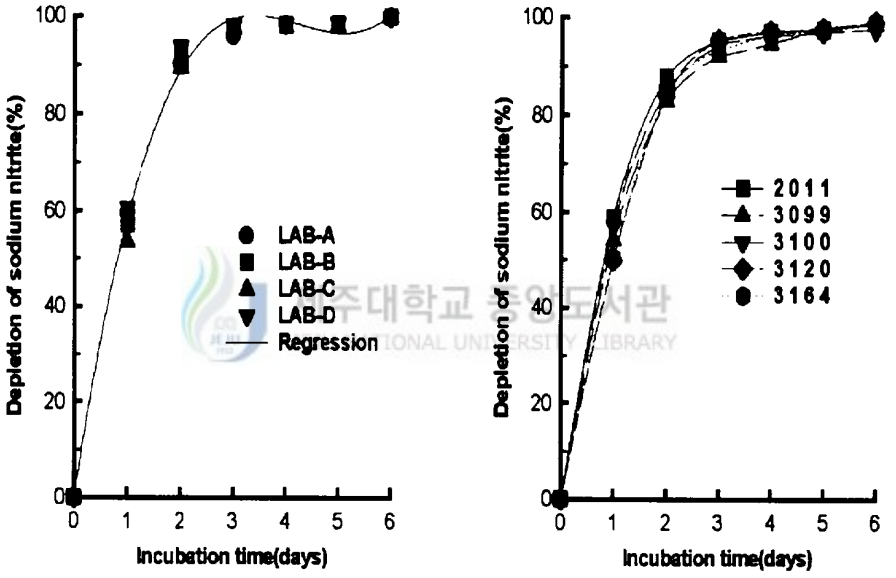


Fig. 15. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from Kimchi and KCTC strains during incubation at 30℃.
LAB-A, B, C and D : *Luconostoc mesenteroides* isolated from Kimchi; 2011 : *Streptococcus faecalis* KCTC 2011; 3099 : *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099; 3100 : *Leuconostoc mesenteroides* KCTC 3100; 3120 : *Lactobacillus pentosus* KCTC 3120; 3164 : *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3164; Nitrite concentration : 150㎍/㎖ of broth.

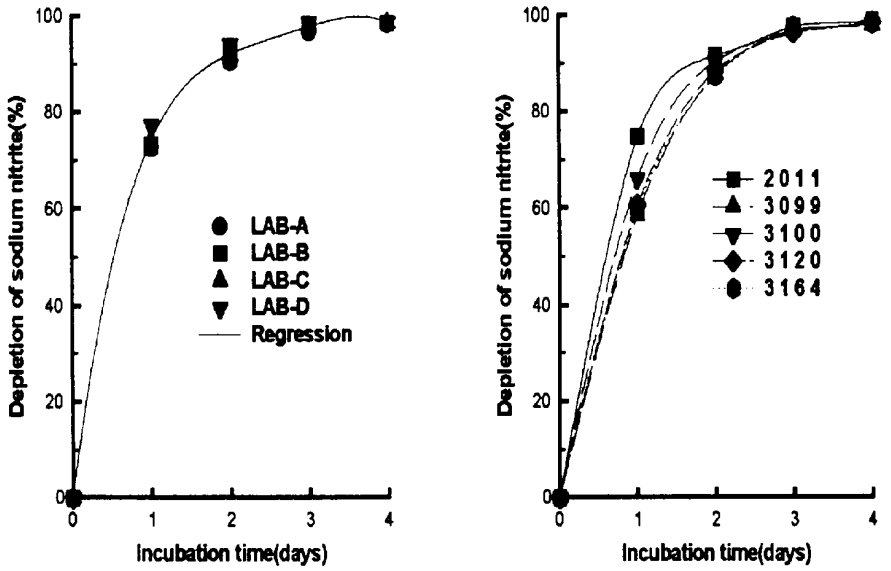


Fig. 16. Depletion of nitrite by lactic acid bacteria isolated from Kimchi and KCTC strains during incubation at 36℃.
LAB-A, B, C and D : *Luconostoc mesenteroides* isolated from Kimchi; 2011 : *Streptococcus faecalis* KCTC 2011; 3099 : *Lactobacillus plantarum* KCTC 3099; 3100 : *Leuconostoc mesenteroides* KCTC 3100; 3120 : *Lactobacillus pentosus* KCTC 3120; 3164 : *Lactobacillus acidophilus* KCTC 3164.Nitrite concentration : 150㎍/㎖ of broth.

(3) 배지 자체에 의한 아질산염의 소거

아질산염은 용액 중에서 불안정하고, 아미노산과 공존하는 경우 불안정하여 파괴될 가능성(예, van Slyke 반응)이 우려된다. 따라서 유산균 이외에 배지 자체나 배양 온도 등의 영향에 의하여 아질산염이 소모되는지 여부를 검토하기 위하여 아질산염의 최종농도가 150㎎/㎖가 되도록 Lactobacilli MRS 액체배지에서 첨가하여 배양 온도와 배양 기간에 따라 아질산염의 소모되는 정도를 측정한 결과는 Fig. 17과 같다. 5℃와 10℃에서는 배지 자체

에 의하여 아질산염이 거의 소모되지 않아 배지 자체에 의한 영향이 없었다. 15~25℃에서는 배양 기간이 길어짐에 따라 소모되는 정도가 증가하였으나, 배양 6일에 5.2~14.6%로서 균주에 의한 소거율 72.0~98.0%(Figs. 12~14)에 비하여 낮은 양으로서 배지 자체에 의한 소모가 균주들에 의한 아질산염의 소거에 거의 영향이 없었다. 30℃와 36℃에서는 배양 6일에 약 22

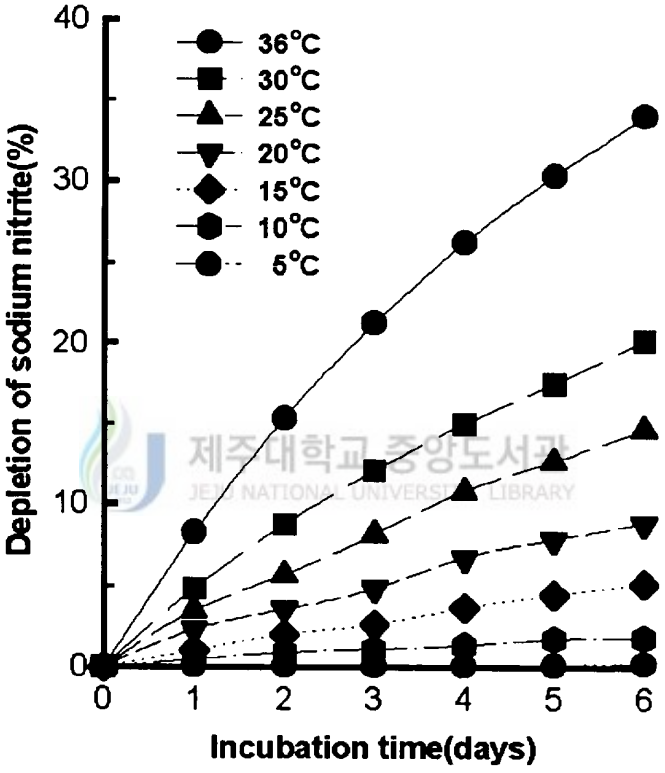


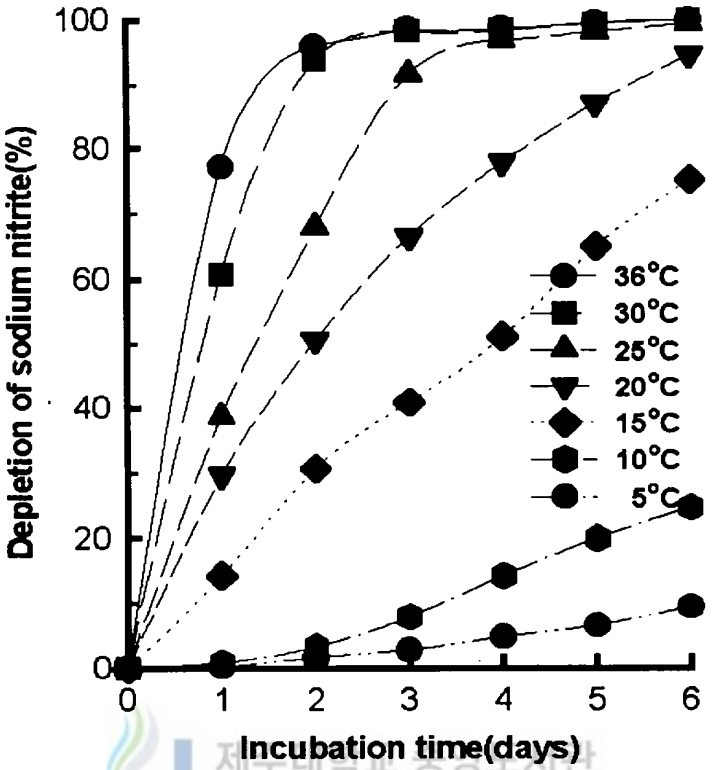
Fig. 17. Depletion of sodium nitrite during incubation on the Lactobacilli MRS broth without lactic acid bacteria at different temperatures.
Nitrite concentration : 150㎍/㎖ of broth.

% 이상,(Fig. 15), 36℃에서는 배양 1~2일만에 대부분이 소거(Fig 16)되기 때문에, 30℃에서 배양 3일에 12.1%와 36℃에서 배양 2일에 15.3%로서 균주에 의한 아질산염의 소거에는 영향이 거의 없었던 것으로 판단되었다. 그러나 온도의 증가와 배양 기간이 길어짐에 따라 배지 자체에 의한 아질산염의 소모가 기하 큰 폭으로 증가하고 있기 때문에, 식품에서 고온, 장기간 아질산염을 소거하는 경우에는 자연적인 감소에 대한 영향을 확인할 필요가 있을 것으로 생각된다. 한편 Dodds와 Collins-Thompson(1984)은 200ppm의 아질산염이 존재하는 APT broth에 30℃에서 24시간 동안 배양한 경우 균을 접종하지 않고 배양한 배지에서 18%의 아질산염이 소모되어 배지 자체에 의하여 아질산염이 소모된다고 하였는데, 본 연구에서는 이들의 결과보다 낮은 정도로 소모되어서 배지 자체에 의한 영향이 이들보다 적었던 것으로 생각되었다. 이러한 차이는 이들의 사용한 배지와 실험 조건이 다르기 때문인 것으로 판단된다.

(4) 온도별에 따른 아질산염의 소거

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

L. mesenteroides LAB-D에 의하여 배양 기간에 따라 온도별로 아질산염이 소거되는 정도를 비교한 결과는 Fig. 18과 같다. LAB-D는 5℃와 10℃에서는 30% 미만으로 아질산염 소거 활성이 낮았으나, 15℃에서 배양 7일에 85.4%, 20℃에서 5일에 87.0%, 25℃에서 3일에 91.7%, 30℃에서 2일에 94.0% 이상, 36℃에서는 1일에 96.3% 이상이 소거되어, 온도가 상승됨에 따라 소거능이 증가하였다. LAB-D 이외의 나머지 김치 분리 유산균들도 이와 비슷한 경향을 보였다. 이로부터 유산균에 의한 아질산염의 소거는 온도에 의한 영향이 큰 것으로 판단된다.



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Fig. 18. Depletion of nitrite by LAB-D strain isolated from Kimchi during incubation at a different temperatures.
Nitrite concentration : 150㎍/㎖ of broth.

2) 유산균종에 따른 아질산염의 소거

아질산염이 균종에 따라 소거되는 영향을 살펴보기 위하여, 김치에서 분리한 6종의 *L. sake*, 10종의 *L. mesenteroides*와 대구 효성가톨릭대학교 식품공학과로부터 분양 받은 4종의 *L. plantarum* CTFM 계열 균주에 의하여 15~30℃에서 250㎍/㎖의 아질산염이 소모되는 정도를 측정하였다. CTFM

균주는 김치로부터 분리한 균으로서, 예비실험을 통해 아질산염 소거능이 우수한 것을 선택하였다. 전술된 결과에서 살펴보았듯이 *L. mesenteroides*가 150㎍/㎖의 아질산염을 소거하는 능력이 매우 우수하였기 때문에(Figs. 10~16), 고농도일 때의 영향을 확인하기 위하여 250㎍/㎖의 농도로 설정하였다. 한편 5℃와 10℃에서는 아질산염을 소모시키는 정도가 낮았고, 30℃와 36℃는 비슷하였기 때문에, 5, 10, 36℃를 제외한 나머지 온도 영역에서 아질산염 소모능을 검토하였다. 본 연구실에서 분리된 균주는 편이상 Food Engineering, BioChemistry의 머리 글자를 사용하여 *L. sake* FEBC 0101~FEBC 0106, *L. mesenteroides* FEBC 0201~0210으로 나타내었다.

(1) 온도에 따른 아질산염의 소거

① 15℃에서 아질산염의 소거

김치 분리 유산균(FEBC와 CTFM 계열 균주)에 의하여 15℃에서 성장하는 동안 배양 기간에 따라 250㎍/㎖의 아질산염을 소거하는 정도를 측정한 결과는 Fig. 19와 같다. 15℃에서 김치 분리 유산균에 의하여 아질산염을 소거하는 경우 배양 초기에는 *Lactobacillus*속 균주들은 *Leuconostoc*속에 비하여 아질산염에 적응하는 능력이 떨어져서 장기간의 적응 기간, 즉 유도기간을 필요로 하였으며, 동일 균속이라도 *L. plantarum*(2일)이 *L. sake*(1일)보다 장기간을 요하였다. 이러한 유도 기간의 필요에 따라 배양 1일에는 *L. mesenteroides*, *L. sake*, *L. plantarum*, 2일에는 *L. sake*, *L. mesenteroides*, *L. plantarum*, 3일에는 *L. sake*(46.1~51.5%), *L. plantarum*(34.8~47.6%), *L. mesenteroides*(27.4~35.4%) 순서로 아질산염을 많이 소거하였다. 배양 4일에는 *L. plantarum*(61.8~73.9%)과 *L. sake*(62.1~71.1%)가 비슷한 수준을 유지하였으나, 5일부터는 *L. plantarum*(82.7~92.3 %)이 *L. sake*

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

(70.8~76.5%)보다 높게 소거하여 이러한 경향이 말기까지 이어졌다. 반면 *L. mesenteroides*는 *Lactobacillus*속 균주들에 비하여 상대적으로 아질산염 소거능이 낮았으나, 배양 기간이 경과됨에 따라 아질산염을 활성적으로 소

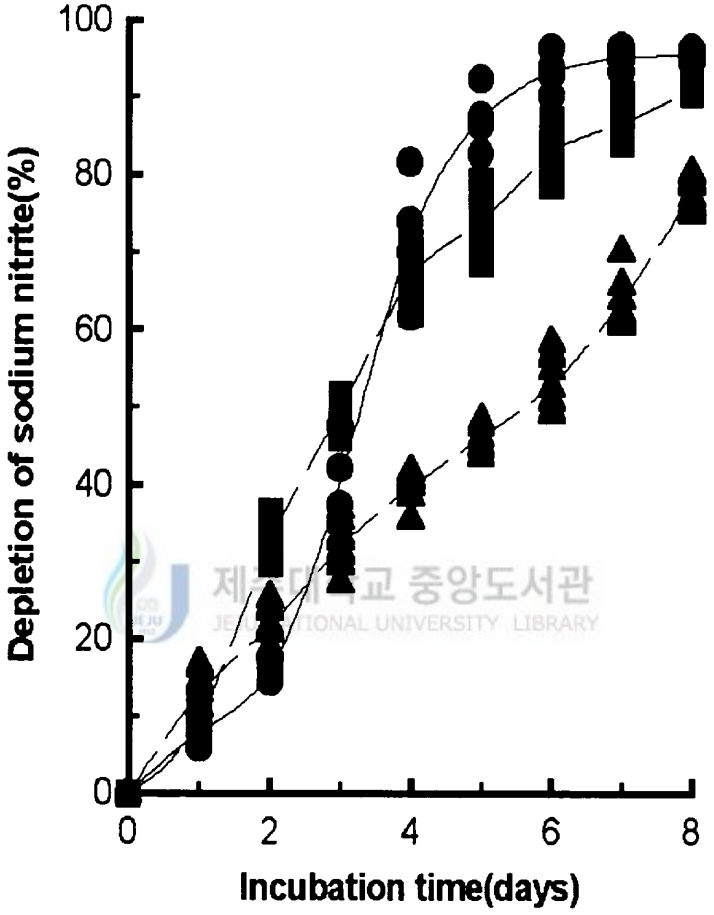


Fig. 19. Depletion of sodium nitrite by lactic acid bacteria isolated from Kimchi during incubation at 15℃.
●, *Lactobacillus plantarum* CTFM groups; ■, *Lactobacillus sake* FEBC groups; ▲, *Leuconostoc mesenteroides* FEBC groups.
Nitrite concentration : 250㎍/㎖ of broth.

거하여 배양 4, 6, 8일에 약 40, 50, 80%이었다. 이들 결과로부터 15℃에서 아질산염을 소거하는 경우 배양 초기에는 *Lactobacillus*속이 *Leuconostoc*속에 비하여 아질산염에 대한 적응 능력이 떨어져서 *L. plantarum*은 1일, *L. sake*는 2일의 적응 기간을 필요로 하였으며, 유도 기간을 거친 이후에 아질산염을 활성적으로 소거시킨 반면, *L. mesenteroides*는 유도 기간이 필요하지 않았으나, *Lactobacillus*속에 비하여 아질산염 소거 체계가 취약하였다.

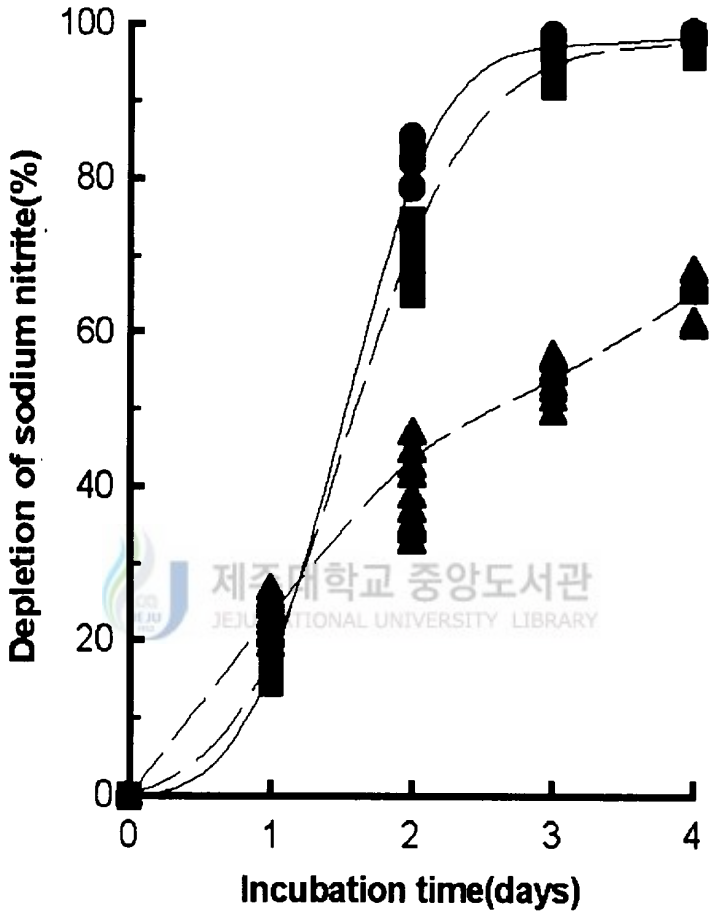
한편 *L. mesenteroides*와 *L. sake*는 저온에 저장된 김치의 숙성에 관여하는 미생물이며, *L. plantarum*은 저온에서는 거의 발견되지 않고 상온에서 김치의 숙성에 주로 관여하는 미생물이기 때문에(한, 1991; 박 등, 1990), *L. plantarum*이 아질산염에 적응하는 기간이 길어진 것으로 판단된다. 또한 김치 숙성 과정의 주 발효단계에서 *L. mesenteroides*는 발효 초기에 발견되는 유산균이고, *L. sake*는 발효 초·중기, *L. plantarum*은 말기에 관여하는 균이기 때문에(조, 1991, 김과 전, 1966), *L. mesenteroides*가 아질산염을 소거하는 능력이 다소 떨어진다 하더라도 이 균주에 뒤이어 나타나는 *Lactobacillus*속 균종들은 물론, 김치 숙성에 관여하는 기타 다양한 유산균들의 상호작용에 의하여 대부분의 아질산염이 소거될 수 있으리라 판단된다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

② 20℃에서 아질산염의 소거

FEBC와 CTFM 계열 균주들에 의하여 20℃에서 배양하는 동안 아질산염이 소거되는 정도를 측정한 결과는 Fig. 20과 같다. 20℃에서 배양하는 경우 15℃와 마찬가지로 *Lactobacillus*속 균주들은 아질산염에 적응하는 기간을 필요로 하였다. *L. plantarum*은 15℃에서 20℃로 온도가 상승됨으로써 적응 기간이 짧아져서 1일의 유도 기간이 필요하였고, *L. sake*는 15℃와 같은 1일의 유도 기간이 필요하였다. 이로 인하여 배양 1일에는 *Lactobacillus*속

균주들이 *L. mesenteroides*에 비하여 아질산염 소거능이 낮았으나, 배양 2일부터는 활성적으로 아질산염을 소거하였다. *L. plantarum*과 *L. sake*는 배양 2일에는 비슷한 수준이었으나, 3일부터는 *L. plantarum*(74.3~85.2%)이



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Fig. 20. Depletion of sodium nitrite by lactic acid bacteria isolated from Kimchi during incubation at 20℃.
●, *Lactobacillus plantarum* CTFM groups; ■, *Lactobacillus sake* FEBC groups; ▲, *Leuconostoc mesenteroides* FEBC groups.
Nitrite concentration : 250㎍/㎖ of broth.

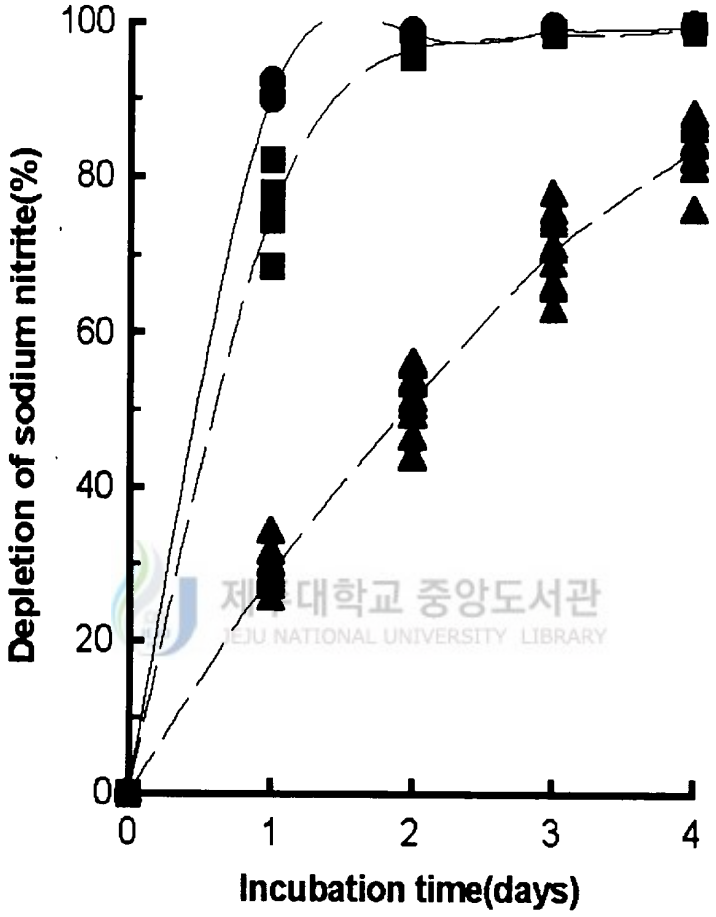
L. sake(64.9~82.9%)에 비하여 약간 높은 분포를 나타내었고, 이러한 경향이 말기까지 계속되었다. 반면 *L. mesenteroides*는 *Lactobacillus*속 균주들에 비하여 아질산염을 소거하는 체계가 취약하여 2일 경과시 약 20%, 4일 경과시 약 65%를 소거하였다. 그러나 실험에 사용된 아질산염의 농도가 비교적 높은 250㎍/㎖으로서 미국 농림성에서 최대 156ppm을 첨가하도록 허용하고 있고, 실제로 120ppm 이하의 낮은 양이 사용되고 있으며(Cassens, 1995), 추정되는 일일 총 아질산염 섭취량이 아질산 이온으로서 12.15㎎/㎏으로 알려지고 있기 때문에(Walters, 1980), 250㎍/㎖의 아질산염을 65% 소거시키는 것은 적은 양이 아니며, 매우 실용적일 것으로 생각된다. 따라서 *Lactobacillus*속은 물론 *Leuconostoc*속 균주와 기타 김치에 존재하는 다양한 유산균(조, 1991; 박 등, 1990)들에 의하여 아질산염이 소거되는 효과가 클 것으로 판단되었다.

③ 25℃에서 아질산염의 소거

FEBC와 CTFM 계열 균주들에 의하여 25℃에서 배양하는 동안 아질산염이 소거되는 정도를 측정한 결과는 Fig. 21과 같다. 25℃에서는 20℃ 이하에서와는 달리 *Lactobacillus*속 균주들은 유도 기간을 필요로 함이 없이 배양 초기부터 매우 활성적이어서 *L. plantarum*은 배양 1일에 90% 이상, *L. sake*는 1일에 68.5~82.2%, 2일에 95%의 아질산염을 소거하였다. 반면 *L. mesenteroides*는 *Lactobacillus*속 균주들에 비하여 활성적이지 못하여 배양 3일에 62.6~77.6%, 4일에 75.4~87.8%를 소거하였다. 이것으로 보아 *L. mesenteroides*는 25℃에서 *Lactobacillus*속 균종들에 비하여 상대적으로 아질산염의 소거 활성이 낮았지만, 배양 4일만에 75% 이상을 나타내는 것으로 보아 아질산염을 소거하는 효과가 높은 것으로 판단되었다.

④ 30℃에서 아질산염의 소거

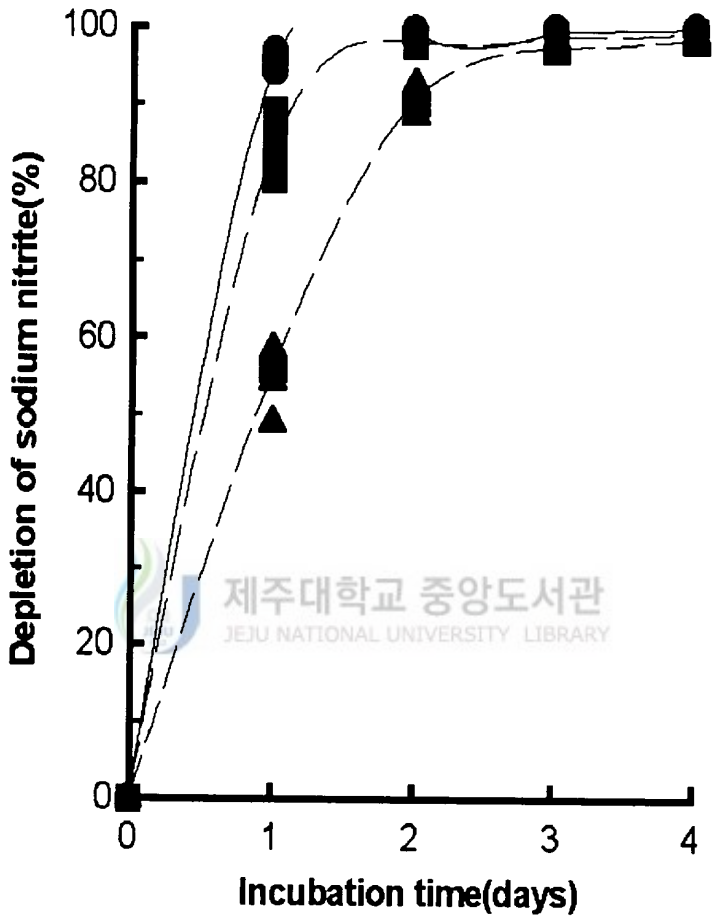
FEBC와 CTFM 계열 균주들에 의하여 30℃에서 배양하는 동안에 아질산염이 소거되는 정도를 측정한 결과는 Fig. 22와 같다. 30℃에서의 아질산염



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Fig. 21. Depletion of sodium nitrite by lactic acid bacteria isolated from Kimchi during incubation at 25℃.
●, *Lactobacillus plantarum* CTFM groups; ■, *Lactobacillus sake* FEBC groups; ▲, *Leuconostoc mesenteroides* FEBC groups.
Nitrite concentration : 250㎍/㎖ of broth.

의 소거는 *L. plantarum*이 배양 1일 경과시 94.2~96.8%, *L. sake*가 80.2~89.1%로 매우 높았다. 반면 *L. mesenteroides*는 48.9~57.9%로 낮았으나, 2일 경과시에 90% 전후로써, 30℃에서는 모든 균주들이 매우 활성적으로 아



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Fig. 22. Depletion of sodium nitrite by lactic acid bacteria isolated from Kimchi during incubation at 30℃.
●, *Lactobacillus plantarum* CTFM groups; ■, *Lactobacillus sake* FEBC groups; ▲, *Leuconostoc mesenteroides* FEBC groups.
Nitrite concentration : 250㎍/㎖ of broth.

질산염을 소거시켰다. 이들 결과로부터 30℃에서는 모든 유산균들이 균종에 따른 정도의 차이는 있으나, 아질산염 소거 활성이 높음을 알 수 있었다.

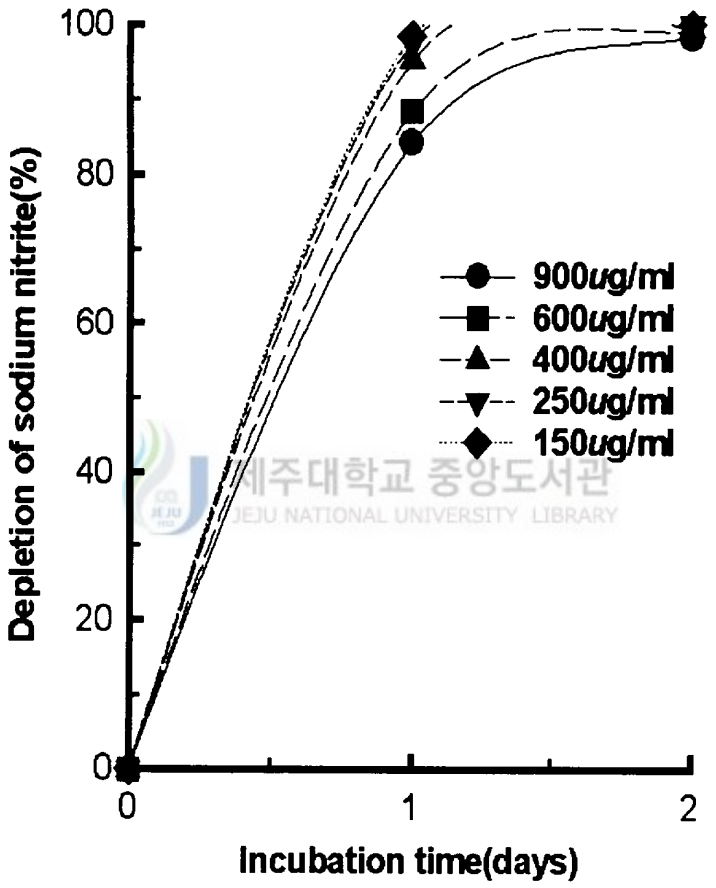
이상의 결과로부터 *L. plantarum*, *L. sake*, *L. mesenteroides*는 균종과 온도별에 따른 차이는 있었으나 아질산염 소모능이 우수하였으며, 식품위생학적인 면으로 볼 때 이들 유산균은 채소류 발효, 저장 중에 질산염(Cassens, 1995; National Academy Science, 1981)으로부터 생성될 수 있는 아질산염(Tannenbaum과 Young, 1980)을 효과적으로 제거시킬 수 있기 때문에, 침채류에서의 아질산염에 대한 위험성을 감소시킬 것으로 생각된다. 그리고 아질산염 소거능이 우수한 균주들에 대한 이용성을 확대하기 위하여 앞으로 이들을 산업적으로 응용하는 방안을 강구하는 것이 필요하리라 생각된다. 그러나 30℃ 이상의 고온에서 침채류를 발효, 숙성시킬 경우에는 부패균의 번식될 우려가 있어서, 이에 대한 검토가 선행되어져야 할 것으로 생각된다.

(2) 농도에 따른 아질산염의 소거

김치 분리 유산균에 의하여 고농도의 아질산염을 소거하는 능력을 검토하기 위하여 *L. plantarum* CTFM 0103에 의하여 30℃에서 150~900㎍/㎖의 아질산염을 소거하는 능력을 검토한 결과는 Fig. 23과 같다. *L. plantarum*에 의한 아질산염 소거는 배양 1일 경과시에 150, 250, 400, 600, 900㎍/㎖에 대하여 각각 98.5, 97.5, 95.1, 88.4, 84.2%로서 아질산염의 농도에 관계없이 높았으며, 600과 900㎍/㎖의 고농도에서도 배양 2일 경과시에 98% 이상으로 대부분의 아질산염을 소거하였다. 이러한 결과로 볼 때 *Lactobacillus*속 균주, 특히 *L. plantarum*은 고농도의 아질산염을 효과적으로 소거할 수 있는 균주라 판단되며, 아질산염이 잔류할 가능성이 높은 식품, 특히 침채류나 육가공품 등에 응용하는 방안을 검토하는 것이 필요하리라 생각된다. 한편 *L.*

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

*plantarum*은 그 자체로 돌연변이원성을 나타내는 물질이고(Balimandawa 등, 1994), 청색증과 빈혈성 저산소증을 유발시킴은 물론(Lippsmeyer 등, 1990), 강력한 발암물질인 nitrosamine의 직접적인 전구물질(Mirvish, 1970)인 아질산염이 고농도로 존재하는 경우에도 높은 정도로 소거시킬 수 있기 때문에, 식품위생학적인 면에서 김치 분리 유산균은 물론, 유제품이나 기타



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Fig. 23. Depletion by *Lactobacillus plantarum* CTFM0103 strain during incubation at 30℃ at different concentrations of sodium nitrite.

식품에서 분리된 유산균들의 역할이 클 것으로 생각된다. 한편 Speck(1979)은 베이컨에 관한 연구를 인용하면서 starter culture로 사용된 유산균들이 아질산염 수준을 상당히 감소시켰고, 아질산염에 매우 저항하여 1,000ppm의 아질산염이 존재하는 액체배지에도 성장할 수 있음을 보인 바 있고, 육제품에서 아질산염과 nitrosamine을 최소 수준으로 유지하기 위하여 lactobacilli를 사용할 것을 제안하였다.

(3) 아질산염 소거, 배지의 pH 및 성장 온도의 관계

김치 분리 유산균에 의하여 아질산염이 소거되는 경우 배지의 pH와 성장 온도의 영향을 살펴보기 위하여 *L. plantarum*, *L. sake*, *L. mesenteroides*에 대하여 성장 온도, 배지의 pH, 아질산염 소거의 관계를 Figs. 24~26에 각각 나타내었다. 모든 김치 분리 유산균들은 성장 온도가 높을수록, 배양 기간이 길어질수록 배지의 pH가 낮아졌으며, pH의 감소에 따라 아질산염이 감소되었다. 한편 15℃와 20℃에서는 시험된 모든 균주에서 아질산염의 감소와 그 때의 배지의 pH간에는 직선적인 관계를 나타내지 않은 반면, 25℃ 이상의 온도에서는 거의 직선적인 관계를 나타내었다. 이는 배지의 pH와 아질산염의 감소간에는 서로 연관성이 있어서 유산균의 성장과 더불어 유산이 생성되고, 이에 따른 배지의 pH의 감소가 어느 정도 아질산염 소거에 관여하지만, 20℃ 이하에서는 아질산염의 감소와 배지의 pH 감소가 직선적인 관계를 나타내지 않는 것으로 보아 pH 보다는 온도의 영향이 더 큰 것으로 판단되었다. Fournaud 등(1964)과 Fournaud와 Mocquot(1966)는 유산균에 의한 아질산염의 감소는 pH와 온도 의존성으로 최적 pH와 온도는 각각 pH 6.5와 20℃라 하였는데, 본 연구에서도 아질산염의 감소는 pH에 의존하여 pH의 감소에 따라 소거량이 증가하였으나, 최적 pH와 온도가 pH 6.5와 20℃라는

제주대학교 중앙도서관

것과는 일치하지 않았다. Dodds와 Collins-Thompson(1984)은 아질산염을 소거할 수 있는 분리균은 *L. acidophilus*, *L. lactis*, *L. viridescens*, *L. plantarum*, 등의 *Lactobacillus*속이라 하였는데, 본 연구에서는 *Lactobacillus* 속은 물론 *L. mesenteroides*도 높은 정도로 아질산염을 소거시켰다. 한편 여러 연구자들(Olsman과 Krol, 1972; Smith와 Palumbo, 1981)은 육류에서

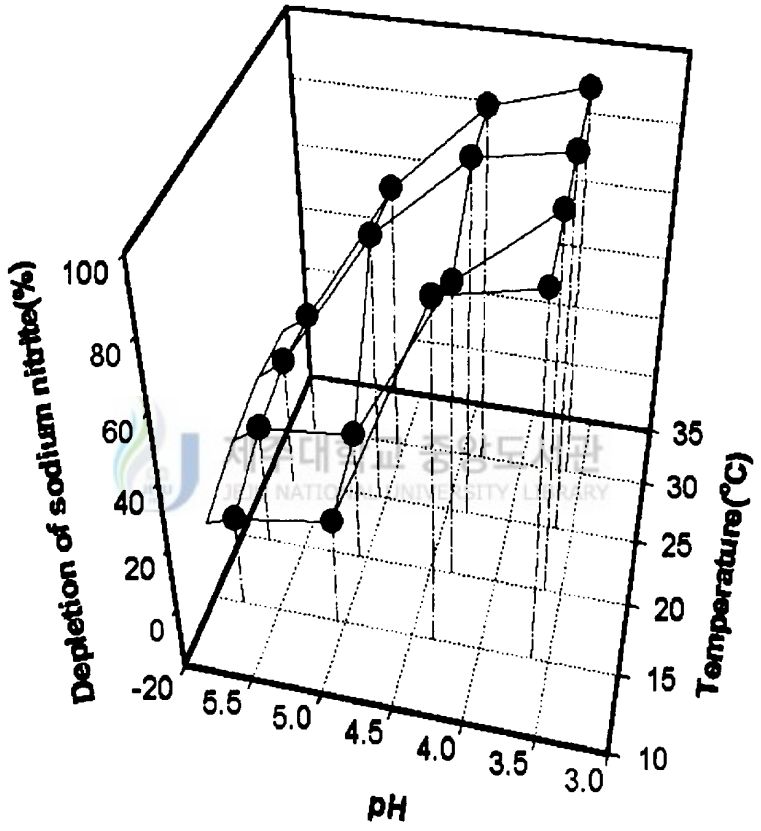


Fig. 24. Depletion of sodium nitrite and pH changes by *Lactobacillus plantarum* CTFM during growth into Lactobacilli MRS broth at different temperatures.
Nitrite concentration : 250㎍/㎖ of broth.

아질산염의 고갈은 pH 의존성이라 하였으며, Nordin(1969)은 pH가 0.86 단위만큼 감소됨에 따라 아질산염 소거가 두 배로 된다고 하여, 유산균에 의한 아질산염 소거가 유산 생성과 이에 뒤이은 pH 감소와 관련되어 있음을 시사하였다. 이에 비추어 볼 때 본 연구에서도 유산 생성에 따른 pH 감소가 아질산염 소거에 어느 정도 관여한 것으로 판단되었다. Dodds와 Collins-

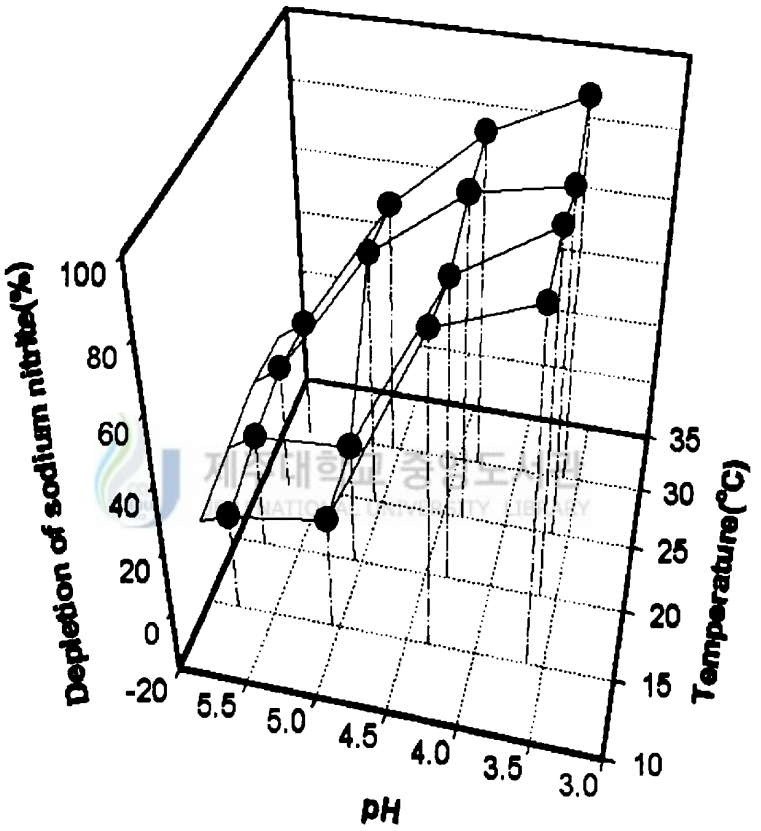


Fig. 25. Depletion of sodium nitrite and pH changes by *Lactobacillus sake* FEBC during growth into Lactobacilli MRS broth at different temperatures.
Nitrite concentration : 250㎍/㎖ of broth.

Thompson(1984)은 ATP broth에 아질산염의 최종 농도가 200ppm 되도록 첨가하고 육류 및 starter culture 유래의 유산균을 첨가하여 30℃에서 24시간 동안 배양한 결과 대부분의 유산균은 최종 pH와 아질산염 감소가 각각 4.5 이하, 61.4~90.9%이었으나, bologna 소시지로부터 온 *L. plantarum*은 6.0, 89.8~92.7%이었음을 보임으로써, 육류나 starter culture 유래 유산균들

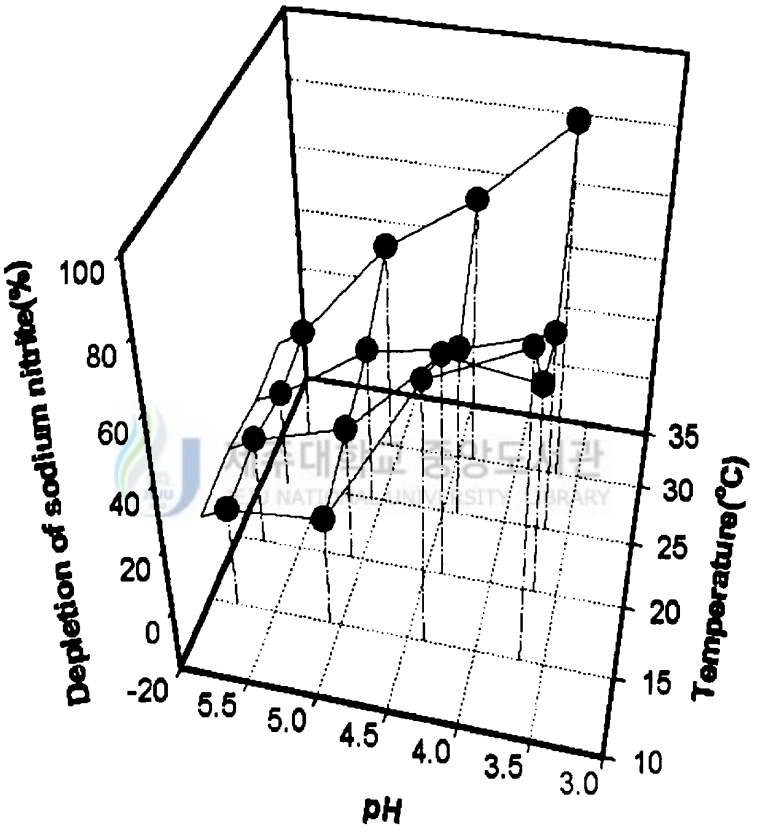


Fig. 26. Depletion of sodium nitrite and pH changes by *Luconostoc mesenteroides* FEBC during growth into Lactobacilli MRS broth at different temperatures.
Nitrite concentration : 250㎍/㎖ of broth.

은 최종 pH에 관계없이 아질산염을 소거시킬 수 있으며, 유산균에 의해 생성된 유산이 아질산염 소거에 영향을 주는 유일한 인자가 아님을 지적하였다. 그러나 본 연구에서 25℃에서 24시간 동안 배양했을 때 *L. plantarum*, *L. sake*, *L. mesenteroides*에서 pH와 아질산염 소거율이 pH 3.78과 90.8%, pH 3.86과 75.5%, pH 4.05와 28.6%를, 30℃에서는 pH 3.66과 95.5%, pH 3.70과 84.7%, pH 3.81과 55.8%로써, 모든 김치 분리 유산균에서 pH 4.5 이하를 나타내어 이들의 결과와 일치하였다. 한편 Ray와 Sandine(1992)은 *Leuconostoc*속은 pH 4.8에서 0.6%, *Lactobacillus*속은 pH 3.5에서 1.5%의 유산을 생성한다 하였다.

3) 유산균에 의한 아질산염 소거 고찰

Collins-Thompson과 Rodriguez-Lopez(1981)는 bologna 소시지로부터 분리된 유산균과 100㎍/㎖의 농도로 아질산염을 ATP broth에 첨가하여 5℃와 15℃의 혐기조건하에서 6일 동안 배양한 후 유산균에 의한 아질산염의 소거정도를 측정한 결과 *L. mesenteroides*, *L. plantarum*, *L. viridescens*는 아질산염을 환원시키는 nitrite reductase 효소계를 소유한 반면, *L. brevis*와 유산균이 아닌 *Brochothrix thermosphacta*는 유산균을 접종하지 않은 대조구와 유사한 수준을 나타내었고, 이들은 nitrite reductase를 소유하지 않았으며, 아질산염을 소거시키는 능력은 *L. mesenteroides, L. plantarum, L. viridescens, L. brevis* 순서라 하였다. 그러나 본 연구에서는 *L. plantarum*, *L. sake*, *L. mesenteroides* 순서로 아질산염 소거능이 높았다. 이는 본 연구의 경우 이들과 실험 조건과 다르고, 유산균 분리원과 실험에 사용된 배지가 달랐기 때문인 것으로 생각되었다.

Dodds와 Collins-Thompson(1984)은 17개의 가공육 제품에서 분리한 유산

균을 200ppm의 아질산염이 존재하는 APT broth에서 혐기적으로 24시간 동안 30℃에서 성장시켜 아질산염의 소거 정도를 확인한 결과 24시간 동안에 균을 접종하지 않은 대조구에서 18%를 소거하는 반면, 분리균에 의해 아질산염이 61.4~92.7%까지 소거하였으며, 22℃에서 24시간 배양한 경우 균을 접종하지 않은 대조구에서는 아질산염 소거가 관찰되지 않았고 고압멸균한 세포에서는 8%가 소거되었으나, *L. lactis*, *L. acidophilus*, *L. viridescens*는 100ppm의 아질산염을 모두 소거한 반면, *L. plantarum*은 10~69%로서 분리된 육제품에 따라 큰 차이를 보인다고 하였다. 이러한 결과는 균의 분리원에 따라 아질산염을 소거하는 정도가 서로 다르고, 동일 균속이라도 균종에 따라 달라질 수 있음을 시사하는 것으로써, 본 연구에서도 이들의 연구결과와 관련하여 *L. plantarum*과 *L. sake*간에 아질산염을 소거하는 정도가 다른 것으로 생각되었다. 그리고 정상발효종인 시험된 모든 온도 조건에서 *Lactoacillus*속 균주들이 높은 아질산염 소거능을 보여 이들의 결과와 일치하고 있으나, 이상발효종인 *L. mesenteroides*도 아질산염 소거능이 높았다. 이러한 아질산염의 급격한 감소는 이들이 자체적으로 gas성 질소 화합물로 전환(Awort 등, 1978)되는 것에 기인하기보다는, 아질산염 소거 미생물, 특히 유산균에 의하여 아질산염이 소거(Dodds와 Collins-Thompson, 1984)되기 때문인 것으로 생각된다.

Fournaud 등(1964)과 Fournaud와 Mocquot(1966)는 유산균에 의한 아질산염의 감소는 pH와 온도 의존성으로 최적 pH와 온도는 pH 6.5와 20℃이고, *L. leichmannii*와 *L. buchneri* 등의 유산균은 혐기조건하에서 아질산염을 환원시키는 nitrite reductase 효소계를 소유하여 빠른 속도로 아질산염을 NO_2, 질산, 질소 가스 등으로 환원시킬 수 있으며, 아질산염의 감소는 혐기조건하에서만 관찰된다 하였다. 그러나 본 연구에서는 *Lactobacillus*속 균주

들은 15℃ 이상의 온도에서 90% 이상, *L. mesenteroides*도 20℃ 이상의 온도에서 60% 이상으로서 온도의 상승에 따라 아질산염이 소거되는 정도가 증가하여(Figs. 12~26) 최적 온도가 20℃라는 이들의 결과와는 일치하지 않았지만, 아질산염을 활성적으로 소거할 수 있는 효소 체계를 소유하는 것으로 판단되었다. 여러 연구자들(Emi-miwa 등, 1976; Fujimaki 등, 1975; Nordin, 1969; Sebranek 등, 1973)은 육류에 아질산염을 첨가하는 경우 일부는 myoglobin과 반응하여 nitrosomyoglobin이나 nitrosylhemochrome을 생성하고, 일부는 세포 내 단백질과 결합되며, 일부는 질소 등의 gas성 물질로 환원될 수 있다고 하였다. 한편 Hosono 등(1986c)은 발효우유 시료를 55℃ 이상의 온도에서 가열하였을 때 그들의 항돌연변이 효과가 소실됨을 발견하여, 유산균에 의한 항돌연변이 인자를 열에 불안정한 단백질로 추정하였다.

한편 육류에서의 아질산염의 고갈은 pH 의존성으로서(Olsman과 Krol, 1972; Smith와 Palumbo, 1981; Speck, 1979), pH가 0.86 단위만큼 감소됨에 따라 아질산염 소거가 두 배로 될 수 있고(Nordin, 1969), 아질산염이 질소 등의 gas성 물질로 전환되는 속도는 산성 pH에서 증가되며(Nordin, 1969; Sebranek 등, 1978), *Leuconostoc*속은 pH 4.8에서 0.6%, *Lactobacillus*속은 pH 3.5에서 1.5%의 유산을 생성(Ray와 Sandine, 1992)할 수 있기 때문에, 유산 생성에 따른 pH 감소가 아질산염 소거에 어느 정도 관여하고 있음을 알 수 있는 데, 본 연구의 경우 고온에서는 pH의 감소와 아질산염의 소거가 직선적인 관계를 나타내어 유산균의 성장에 따른 유산 생성과 이에 뒤이은 pH의 감소가 부분적으로 아질산염의 소거에 기여하였음을 알 수 있었다.

또한 Dodds와 Collins-Thompson(1984)은 ATP broth에 아질산염의 최종 농도가 200ppm 되도록 첨가하고 육류와 starter culture로부터 온 각각의 유산균을 첨가하여 30℃에서 24시간 배양한 후 남아있는 아질산염의 농도와

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

최종 pH를 측정한 결과, 대부분의 유산균은 최종 pH와 아질산염 감소가 4.5와 61.4~90.9%이었으나, bologna 소시지에서 분리된 *L. plantarum*은 최종 6.0과 89.8~92.7%임을 보임으로써, 육류나 starter culture로부터 온 유산균들은 최종 pH에 무관하게 아질산염을 소거시킬 수 있음을 확인하여, 유산균에 의해 생성된 유산이 아질산염 소거에 영향을 주는 유일한 인자가 아님을 지적하였다.

한편 Ray(1992)는 유산 발효식품에서 세균의 대사에 의해 유기산, 알코올류, 케톤류, 알데하이드류, bacteriocin류 및 기타 적은 분자량의 항균성 대사물질들이 생성된다 하였는데, 본 연구에서도 배양이 진행됨에 따라 유산균이 성장하여 이러한 대사물질들이 다량으로 생성되기 때문에 아질산염을 파괴 내지 불활성화시키는 요인으로 작용했을 가능성도 있었을 것으로 생각된다. Harada와 Yamada(1979)는 세포에 대한 투과성의 차이에 따라 미생물 종에 따라 nitrosamine을 소거하는 능력이 다양하게 나타난다고 하였는데, 본 연구에서 *L. plantarum*과 *L. sake* 등의 균속과 *L. mesenteroides*간의 아질산염 소거 정도의 차이, 동일 속의 균종이라도 김치 분리 유산균과 김치 기원이 아닌 유산균간의 차이는 각 균종에 대한 아질산염의 투과 정도가 각기 다르기 때문인 것으로 추정할 수 있었다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

4. 김치 숙성 중 *N*-Nitrosamine의 변화

1) pH와 염도의 변화

김치 숙성 중에 pH와 염도의 변화는 Table 6과 같다. pH는 발효 초기부터 13일까지 젓갈 첨가 시험구나 무첨가 시험구 모두 거의 일정한 수준을 유지하여 발효가 거의 이루어지지 않았다. 그러나 발효 27일 경과시에는 젓갈 무첨가 대조구에서의 감소 폭이 별로 크지 않은 반면, 젓갈 첨가구에서는 pH 4.3으로서 발효가 많이 진행되었음을 알 수 있었다. 염도는 젓갈 무첨가구와 첨가구간의 차이는 있었으나 모든 김치 시료에서 3일에서 9일까지 거의 변화없이 일정하였다.

Table 6. Changes in pH and salinity during Kimchi fermentation

		Fermentation days								
		0	1	3	5	7	9	11	13	27
pH	Without sauce	6.3	6.5	6.2	6.4	6.2	6.2	6.1	6.1	5.0
	With sauce	6.3	6.5	6.5	6.3	6.3	6.2	6.2	6.1	4.3
Salinity (%)	Without sauce	–	–	5.0	–	–	5.6	–	–	–
	With sauce	–	–	6.1	–	–	6.4	–	–	–

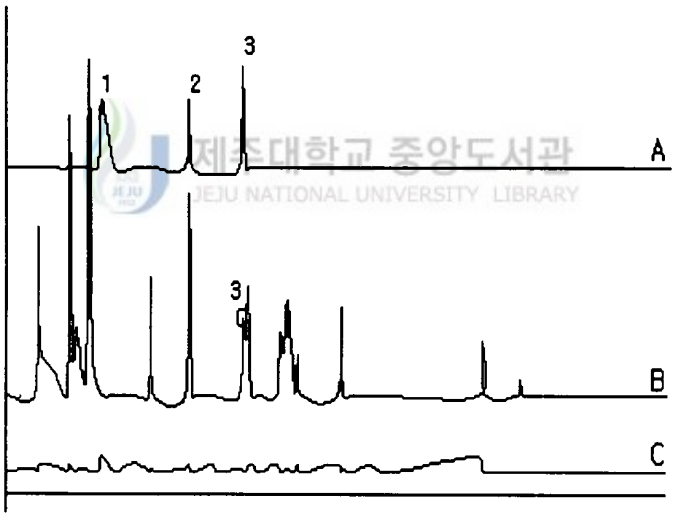
제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2) *N*-Nitrosamine의 변화

(1) *N*-Nitrosamine의 유래

본 연구에서 실험한 시료는 발효 전반에 걸쳐 여러 식품에서 흔히 검출되고 있는 것으로 보고되고 있는 NDMA와 NDEA 등의 nitrosamine(김, 1982; 김 등, 1984b, 1994b; Park과 Cheigh, 1992; 박과 최, 1994)은 전혀 검출되지 않았으나, nitrosamine으로 추정되는 13종류의 미확인 peak들이 검출되었다

(Fig. 27B). 이들이 nitrosamine인지를 확인하기 위하여 GC-TEA의 chromatogram에서 nitrosamine으로 추정되는 추출액에 대하여 3.5시간 동안 UV를 조사하여 시료 분석시와 동일한 조건으로 GC-TEA에 주입하여 peak 소실 유무를 확인한 결과, 대부분의 peak가 소실(Fig. 27C)됨으로써, 이들을 nitrosamine으로 추정되었다. 또한 김치의 제조일부터 다량의 nitrosamine이 검출(Fig. 29B)되었기 때문에, 이들이 추출 과정 중의 생성이나 외부 오염 여부를 확인하기 위하여 추출 시료에 morphorine을 첨가하여 천연 식품에서는 거의 발견되지 않는 nitrosomorphorine(NMOR)의 생성 여부를 확인한 결과, NMOR이 검출되지 않았다(Fig. 28C). 그리고 sulfaminc acid를 첨가하여 니트로화 반응을 정지시킨 후 nitrosamine을 추출하여 확인한 결과, 김치 추출 시료의 chromatogram과 잘 일치(Fig. 28D)함으로써, 추출과정 중에 니트로화 반응이나 외부 오염이 없었음이 확인되었다.



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Fig. 27. GC-TEA chromatograms for standard nitrosamines(A), Kimchi sample(B), and Kimchi sample irradiated by UV light for 3.5hr(C).

1. NDMA, 2. NDPA, 3. NDiBA(Internal standard).

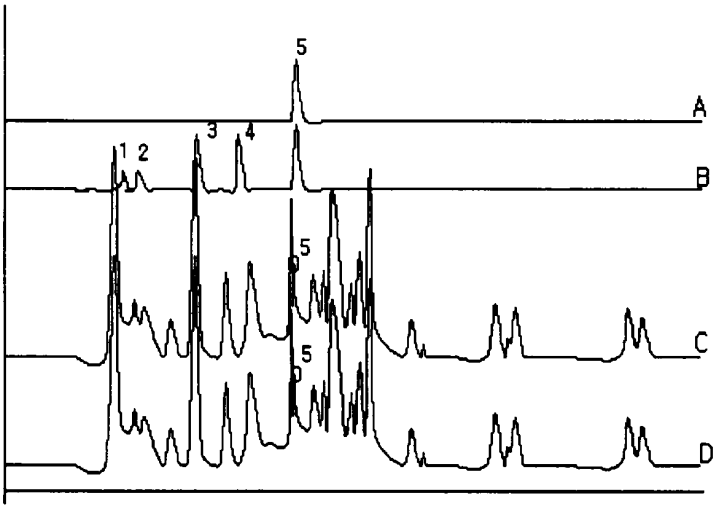


Fig. 28. GC-TEA chromatograms for internal standard(A), standard nitrosamines(B), Kimchi sample added with morpholine(C), and Kimchi quenched by sulfaminc acid(D).

1, NDMA; 2, NDEA; 3, NDPA; 4, NMOR; 5, NDiBA(Internal standard).

김치 발효 초기부터 다량의 nitrosamine이 검출되었기 때문에 이들의 출처를 추적하기 위하여 김치의 주된 재료인 배추와 멸치 젓갈에 대하여 nitrosamine을 분석한 결과, 젓갈에는 nitrosamine의 종류가 소수이고 그 함량도 적었으나(Fig. 29B), 배추에서는 여러 종류의 nitrosamine이 검출되었고 양적으로도 비교적 높은 편이었다(Fig. 29C와 30). 이로부터 김치 발효 초기에 다량으로 검출된 nitrosamine은 주로 김치 원료로 사용된 배추와 일부 젓갈에서 유래된 것으로 판단되었다. 배추에는 재배시에 살충제로 사용되는 농약들이 잔류할 가능성이 높고, 여러 종류의 농약과 대사물질들이 발견(Ames 등, 1990; Pariza, 1992)되고 있으며, 배추에 니트로화 전구물질인 indole-3-acetonitrile, 4-methoxyindole-3-acetonitrile, 4-methoxyindole-3-carboxyaldehyde이 존재하고, indole-3-acetonitrile이 니트로화 변이원인 1-nitrosoindole-3-acetonitrile이 확인(Wakabayashi 등, 1985b,c, 1986, 1987)되

제주대학교 중앙도서관

고 있다. 여러 농약에서 NDMA, NDEA, NDPA, nitrosocarbamate, nitroso-

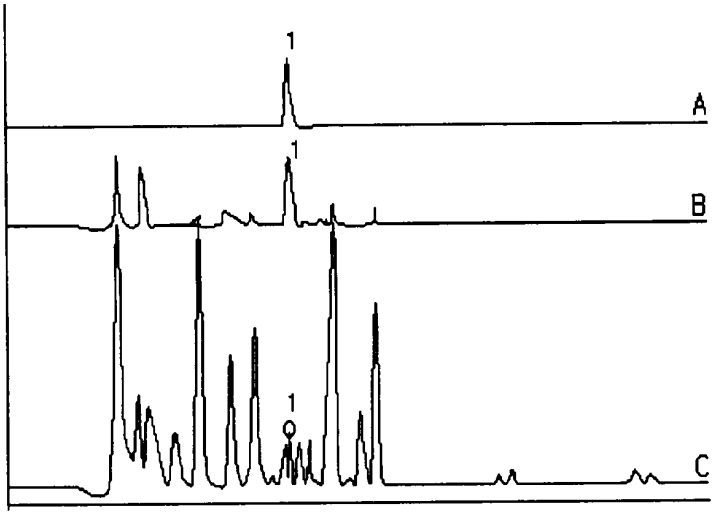


Fig. 29. GC-TEA chromatograms of internal standard(A), fermented anchovy sauce(B) and Chinese cabbage(C).
1, internal standard(NDiBA).

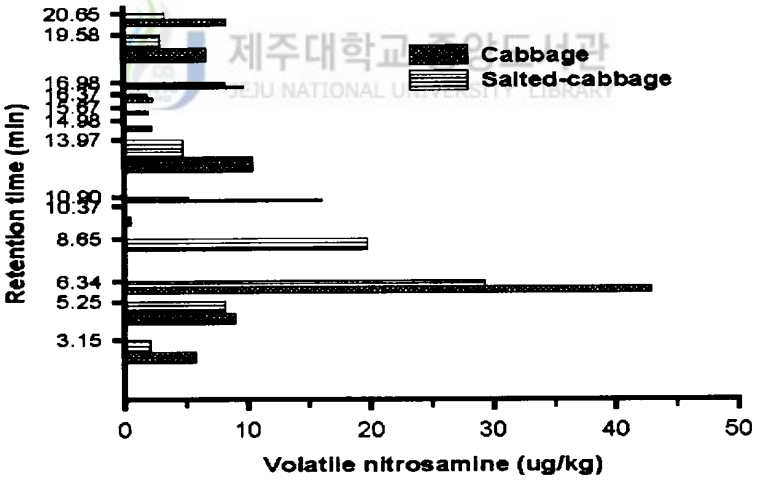


Fig. 30. Distribution of nitrosamines with retention time in cabbage and salted cabbage.

diethanolamine 등 여러 종류의 nitrosamine(Hathaway, 1989; Oliver, 1981; Probat, 1981; Richard 등, 1982; Wigfield와 Lanouette, 1985; Zweig 등, 1980)이 발견되고 있다. 이렇게 배추에서 여러 종류의 nitrosamine이 검출된 것은 재배 과정 중에 살포되었던 농약이나 그 대사물질들이 잔류하였거나 또는 운반, 저장 중에 외부 오염이 있었던 것으로 생각되었다.

(2) *N*-Nitrosamine의 변화

김치 숙성 중 nitrosamine의 함량 변화는 Fig. 31과 같다. 숙성 중에 대부분의 nitrosamine은 수 ㎍/kg 수준으로 검출되었으며, 모든 nitrosamine들은 발효 초기에 다량으로 검출되었으나, 발효 하루만에 급격히 감소하는 경향을 보였다. 젓갈 무첨가 대조구의 경우 retention time(RT) 20.65분에 나타난 nitrosamine 이외에는 모두 발효 13일까지 계속 감소하다가 발효 27일에 약간 증가하였다. 젓갈 첨가 김치 시료의 경우는 대조구와는 달리 미량으로 검출되고 있는 것을 제외하고는 대부분의 nitrosamine들이 발효 1일을 정점으로 5일까지 급격히 증가하다가 그 이후 다시 9일까지 감소하였으며, 발효 9일부터 완만히 증가하여 불규칙한 증감 현상을 보였다. 특히 RT 6.34와 8.65에서 검출된 nitrosamine은 다른 것들에 비하여 발효 초기에 멸치젓 첨가구와 무첨가구 모두에서 높은 함량을 나타내었다. 이와는 별개로 대조구에서는 이 두 종류의 nitrosamine 이외에 RT 10.37에서 검출된 nitrosamine이 높은 함량으로 검출된 반면, 김치 시료구에서는 RT 10.90에서 검출된 nitrosamine 함량이 높게 나타난 것은 매우 특이한 결과였다. 이는 배추에 존재하고 있던 RT 10.37의 nitrosamine이 김치 담금에 의하여 소실됨과 동시에 새로운 RT 10.90의 nitrosamine을 생성한 것과 밀접한 관계가 있는 것으로 추정되나, 이들간의 상호 전환 관계에 대해서는 연구가 앞으로의 과제

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

라 하겠다. 이처럼 발효 초기에 불규칙한 증감 현상이 나타난 것은 배추에 잔류하고 있는 nitrosamine들이 배추 등의 재료에 존재하고 있는 비타민 C, β-carotene, 페놀화합물 및 함황 화합물질 등(Hwang 등, 1990; 박과 최, 1994; 박 등, 1991; Suzuki와 Iwai, 1984)에 의하여 파괴되는 것으로 생각되며, 발효 1일 이후 급격히 증가하는 이유는 발효 초기에 성장한 *Bacillus*속 등의 세균(조, 1991; 박 등, 1990)에 의해 김치 제조시에 첨가된 젓갈류에 존재하는 아민류(김, 1982; 김 등, 1984b)와 배추에 존재하는 질산염 또는 아질산염과의 반응을 촉진(Calmels 등, 1987; Collins-Thompson 등, 1972; Leach 등, 1987)함으로써 nitrosamine이 생성(Calmels 등, 1984)된 것으로 생각된다. 이후에 다시 감소하는 것은 호기성 세균의 성장으로 인하여 산소

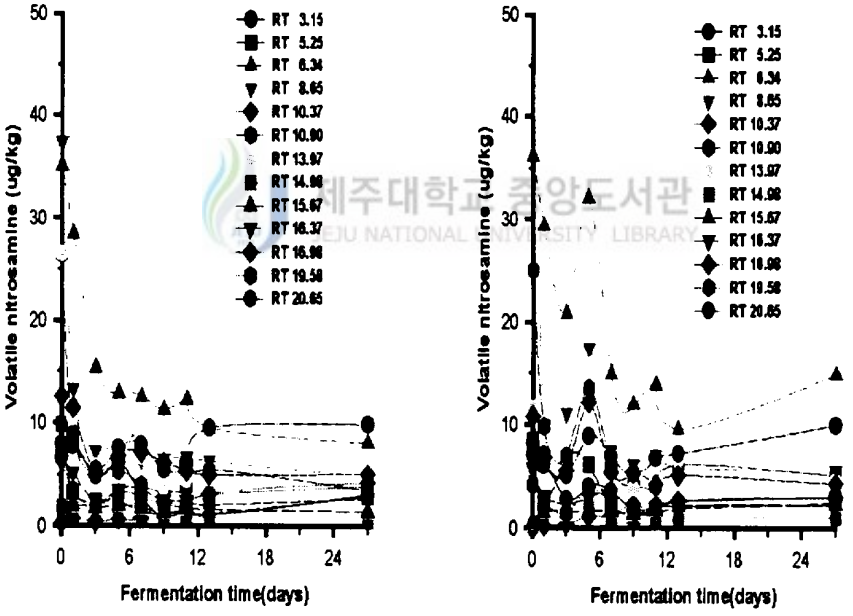


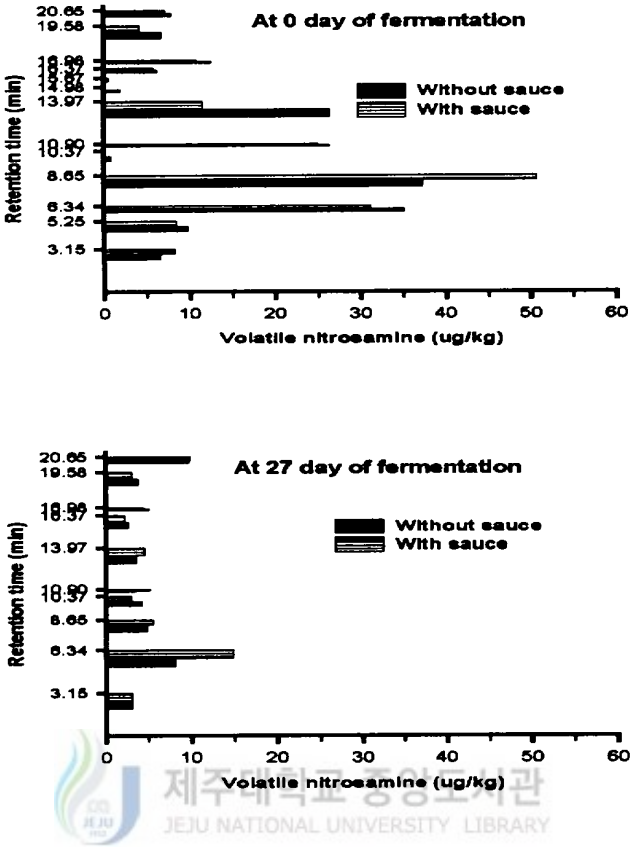
Fig. 31. Changes in nitrosamines during Kimchi fermentation.
Left : without sauce; right : with sauce.

가 제거되어 내염성 유산균들이 생육(조, 1991; 박 등, 1990)하여 이들 유산균에 의해 nitrosamine이 부분적으로 파괴되기 때문(Hosono 등, 1990b)인 것으로 생각된다. 한편 Morotomi와 Matai(1986)는 장내미생물과 *L. casei*는 발암물질인 hetrocyclic amine을 흡수할 수 있기 때문에 nitrosamine의 생성 억제와 관련이 있다고 하였고, Shahani(1983)는 몇 종류의 lactobacilli가 발암성 nitrosamine을 분해할 수 있다고 하였으며, Hosono 등(1990b)도 유산균들이 nitrosamine에 의해 유도되는 돌연변이원성을 저해할 수 있다고 하였다. 이러한 결과들과 관련하여 숙성 중기에 nitrosamine 함량이 감소한 것으로 생각된다. 이후 다시 일부 nitrosamine이 발효 13일부터 27일까지 완만하게 증가하는 것은 발효의 진전에 따라 유산이 생성되어(조, 1991) 니트로화 반응에 적합한 pH로 됨은(Mirvish, 1970) 물론, 발효 말기에 이르러 부패균들이 성장하기 시작하는 시기이기 때문에(조, 1991, 박 등, 1990), 이들 부패균들에 의하여 nitrosamine이 생성된 것으로 생각된다.

김치 발효 중 발효 초와 발효 최종일의 nitrosamine 함량을 Fig. 32와 같다. 발효 초기에는 RT 8.65를 제외한 나머지 RT에서 검출되고 있는 모든 nitrosamine들이 젓갈 무첨가 대조구에서 함량이 높았으나, 발효 말기에는 몇몇 RT에서 발견되는 것들을 제외하고는 대부분 젓갈 첨가 시료구에서 함량이 높아지는 현상을 보였다. 이는 배추에 잔류하고 있던 nitrosamine이 미생물학적 요인이나 기타 다른 요인들에 의하여 발효 중에 거의 대부분이 소거되고, 발효 말기에 접어들면서 pH가 산성화됨에 따라 nitrosamine이 생성될 수 있는 적당한 조건이 됨으로써 nitrosamine이 새로이 생성된 것으로 판단되었다. 그러나 김치에서 발견되고 있는 NDMA나 NDEA(김 등, 1994b; Park, 1996)는 전혀 검출되지 않았으나, 같은 종류의 nitrosamine들이 계속해서 검출되는 것으로 보아 배추에 잔류하고 있던 농약이나 이들의 대사물

제주대학교 중앙도서관

질들에 의한 것이 주된 생성 경로라고 추정된다.



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Fig. 32. Changes in nitrosamines at the initial and the final days during Kimchi fermentation.

3) 김치에서 Nitrosamine 고찰

김치는 그 제조과정에서 필수적으로 젓갈류의 첨가가 요구되고 있는데(안, 1990b), 김치의 주재료인 야채류에는 질산염 함량이 높기 때문에(Gangolli 등, 1994; National Academy Science, 1981) 발효과정에서 질산염에 의해 아질산염이 생성되며, 젓갈류에는 DMA와 TMA 등의 아민류가 다량으로 존재한다(변 등, 1976; 차와 이, 1985). 아민류는 pH 3~4에서 아질산염과 반응

하여 *N*-nitrosamine을 생성할 수 있다(Mirvish, 1970). 또한 김치는 발효, 숙성 중에 pH 4 이하로 떨어지게 되므로(김 등, 1984b), *N*-nitrosamine이 생성되기 좋은 조건이 되어 이들이 생성될 가능성이 높다. 그러나 본 연구에는 김치류에서에 의하여 낮은 농도로 검출되고 있는 NDMA나 NDEA 등(김, 1982; 김 등, 1984b, 1994b; 박과 최, 1992, 1994, 1996)은 전혀 검출되지 않았으나, 다른 종류의 nitrosamine들이 검출되었으며, 이들은 배추나 젓갈류, 특히 배추에서 유래된 것임을 확인하였다.

배추는 재배시 살충제로 사용되는 농약들이 잔류할 가능성이 높고, 실제로 여러 종류의 농약들과 대사물질들(Ames 등, 1990; Pariza, 1992)이 발견되고 있다. 또한 배추에는 indole-3-acetonitrile, 4-methoxyindole-3-acetonitrile, 4-methoxyindole-3-carboxyaldehyde 등의 니트로화 대사물질이 존재하고, indole-3-acetonitrile의 니트로화 물질은 1-nitrosoindole-3-acetonitrile(Wakabayashi 등, 1985b,c, 1986, 1987)로 알려지고 있다. 그리고 농약에서 NDMA, NDEA, NDPA, nitrosocarbamate, nitrosodiethanolamine 및 기타 여러 종류의 nitrosamine들이 발견되고 있다(Hathaway, 1989; Oliver, 1981; Probat, 1981; Richard 등, 1982; Wigfield와 Lanouette, 1985; Zweig 등, 1980). 따라서 배추에서 여러 종류의 nitrosamine이 검출된 것은 재배과정 중에 살포되었던 농약이나 그 대사물질들이 잔류하였거나 또는 운반, 저장 중에 외부 오염이 있었기 때문인 것으로 생각되었다. 김치는 원료 생산지와 숙성 등의 차이, 질소비료의 사용량, 일조량의 과부족, 제초제와 살충제 사용 여부 등에 따라 질산염의 축적량이 다르고(Woff와 Wassermann, 1972), 또한 같은 식물이라도 식물 개체에 따라 질산염 함량이 다르기 때문에(Neurath 등, 1977; Woff와 Wassermann, 1972) 이전의 연구 결과(1994b)와는 달리 여러 종류의 nitrosamine이 검출된 것으로 판단되었다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Morotomi와 Matai(1986)는 장내미생물과 *L. casei*가 hetrocyclic amine을 흡수할 수 있다고 하였고, Shahani(1983)는 일부 lactobacilli가 nitrosamine을 분해할 수 있다고 하였으며, Hosono 등(1990a)은 유산균이 nitrosamine에 의해 유도되는 돌연변이원성을 저해할 수 있다고 하였는데, 이들의 보고로 볼 때 유산균은 nitrosamine 생성 억제와 관련이 있는 것으로 판단된다. 이들과 관련하여 본 연구에서 김치 숙성 중기에 nitrosamine 함량이 감소하였던 것으로 생각된다.

한편 김치 관련 식품에서 *N*-nitrosamine 생성에 관한 많은 연구들이 있었으나(김, 1982, 1995, 김 등, 1984b, 1990, 1994b; 김과 오, 1993; Kim 등, 1985; 성 등, 1982; Sung 등, 1991), 이들이 다른 물질들과 상호 작용 기구나 소멸 기구에 대한 구체적으로 연구 사례는 없으며, 단순히 배추에 존재하는 질산염과 어류에 존재하는 아민류와 상호 작용하여 *N*-nitrosamine이 생성될 것이라 추정하고 있을 뿐이며, 그 기구를 밝혀내지는 못하고 있다. 따라서 앞으로의 이러한 환경적 요인과 nitrosamine류의 생성과 소멸에 대하여 보다 종합적이고 체계적인 연구가 이루어져야 할 것으로 생각된다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

5. 김치와 재료 추출물의 (항)돌연변이원성

1) 추출 수율

김치와 김치 재료를 증류수(물)와 에탄올로 추출하여 추출물의 고형분 함량과 추출수율을 측정한 결과는 Table 7에 나타내었다. 추출수율은 물 추출물이 에탄올 추출물보다 높았다. 물 추출물의 경우 고추와 생강을 제외한 모든 시료에서 추출수율이 10% 이상이었으며, 새우젓, 멸치젓, 김치, 배추, 고추, 생강 순서로 추출수율이 높았다. 에탄올 추출물의 경우 김치, 배추, 멸치젓, 새우젓, 고추, 생강, 마늘 순서로 추출수율이 높았으며, 특히 마늘을 에탄올로 추출할 경우 추출수율이 아주 낮게 나타났는데, 이는 마늘에 존재하는 펙틴 성분이 에탄올에 의해 결합·응고하였기 때문으로 추정된다.

Table 7. Soluble solids and extraction yields of water and ethanol extracts from ingredients of Kimchi[1]

Material[2]	Soluble solid(㎎/㎖)		Extraction yield(%)	
	Water	Ethanol	Water	Ethanol
Chinese cabbage Kimchi	7.9	6.6	11.94	9.89
Chinese cabbage	2.1	1.8	11.14	9.71
Red pepper powder	9.9	5.2	5.04	2.64
Ginger	2.3	1.2	3.20	1.63
Garlic	24.5	1.6	13.14	0.88
Fermented shrimp sauce	26.1	6.1	15.61	3.44
Fermented anchovy sauce	26.8	14.0	13.83	6.99

[1] Mean of triplicate experiments.
[2] Fifty gram of materials except red pepper powder(25g) were used for extraction.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

2) 살균방법에 따른 돌연변이원성

살균 방법이 시료의 돌연변이 활성에 미치는 영향을 살펴보기 위하여 김치와 김치 재료의 활성성분을 물과 에탄올로 추출한 다음 이를 0.45㎛

membrane filter로 여과하거나 autoclave에서 고압증기멸균을 하여 *S. typhimurium* TA98로부터 온 streptomycin 의존성 SD510의 10^2배 희석액과 *S. typhimurium* TA100을 지표균주로 하여 spot test를 한 결과는 Table 8과 9에 나타내었다. SD510에서는 김치, 마늘, 새우젓, 멸치젓의 물과 에탄올 추출물에서 돌연변이원성이 인정되었으며, 전반적으로 가압살균한 시료가 여과한 것보다 돌연변이원성이 높았다(Table 8). 특히 마늘은 가압살균한 물추출물에서 돌연변이원성이 높게 나타났는데, 이는 가압살균으로 인한 열분해 산물들의 생성되는 것(Mizuno 등, 1987; Ohara, 1988)에 기인한 것으로 추정되었다. 따라서 식품에 마늘 등의 향신료를 첨가한 후 고온에서 장시간 가열하는 것은 바람직하지 못하여 시료에 좋지 않은 영향을 주는 것으로 판단되었다.

Table 8. Mutagenicity against membrane filter- and autoclave-sterilized extracts[1] from Kimchi and its ingredients with distilled water and ethyl alcohol in spot test using SD510 strains[2]

Material	Revertants per plate			
	Distilled water		Ethyl alcohol	
	Filter	Autoclave	Filter	Autoclave
Positive control[3]	591			
Chinese cabbage Kimchi	35	116	62	76
Chinese cabbage	0	9	0	0
Red pepper powder	0	0	0	0
Ginger	0	0	0	0
Garlic	34	103	52	71
Fermented shrimp sauce	52	60	50	80
Fermented anchovy sauce	56	99	54	93

Spontaneous revertants(negative control) are subtracted.
Negative control : 50㎕ of distilled water onto 10㎜ paper disc.
[1] Extracted for 20hrs by Distilled water and 3hrs by ethyl alcohol at 40℃.
[2] SD510 added 100㎕ of 10^2-fold diluted strains.
[3] Positive control : 50㎕ of 4NQO(1.0㎍/㎖) onto 10㎜ paper disc.

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

반면 TA100에서는 물 추출물의 경우 여과한 김치, 마늘, 새우젓, 멸치젓 추출물에 대해서만 돌연변이원성이 인정되었으며, 에탄올 추출물에서는 멸치젓 추출물을 제외하고는 돌연변이원성이 인정되지 않았다. 그러나 가압살균한 김치와 김치 재료 추출물에서는 새우젓과 멸치젓 추출물을 제외한 모든 시료에서 돌연변이 활성이 인정되지 않았으며 또한 여과한 멸치젓에 비하여 낮은 돌연변이원성을 나타내었다. 특히 멸치젓 추출물은 여과나 가압살균에 관계없이 돌연변이원성이 높게 나타내었다(Table 9). 이것으로 보아 가압살균의 경우 TA100에서 돌연변이성을 유도할 수 있는 물질들이 열에 의해 파괴되는 것으로 생각되었다.

Table 9. Mutagenicity against membarene filter- and autoclave-sterilized extracts[1] from Kimchi and its ingredients with distilled water and ethyl alcohol in spot test using TA100 strains

Material	Revertants per plate			
	Distilled water		Ethyl alcohol	
	Filter	Autoclave	Filter	Autoclave
Positive control[2]	376			
Chinese cabbage Kimchi	70	16	16	0
Chinese cabbage	13	4	3	0
Red pepper powder	25	5	0	0
Ginger	12	0	4	0
Garlic	69	40	43	31
Fermented shrimp sauce	65	48	75	60
Fermented anchovy sauce	148	96	185	85

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Spontaneous revertants(negative control) are subtracted.
Negative control : 50㎕ of distilled water onto 10㎜ paper disc.
[1] Extracted for 20hrs by Distilled water and 3hrs by ethyl alcohol at 40℃.
[2] Positive control : 50㎕ of 4NQO(1.0㎍/㎖) onto 10㎜ paper disc.

3) 추출용매에 따른 돌연변이원성

SD510 균주의 10^2배 희석액과 TA100 균주를 지표균주로 하여 평판법에 의하여 김치와 김치 재료 추출물에 대한 돌연변이원성을 검색한 결과는 Table 10과 같다. 김치와 김치 재료 추출물은 SD510과 TA100에서 김치, 마늘, 새우젓, 멸치젓의 물과 에탄올 추출물에 대한 돌연변이원성이 인정되었으나, 배추, 고춧가루, 생강 추출물은 인정되지 않았으며, 대체적으로 물 추출물이 에탄올 추출물에 비하여 돌연변이원성이 높았다. 물 추출물이 에탄올 추출물에 비해 돌연변이원성이 높은 것은 수용성 성분들이 돌연변이의 유발에 더 많이 기여하기 때문이라고 판단되었다. 그러나 특이하게 마늘 추출물에서 돌연변이원성이 나타나고 있는데, 이전의 연구에서 마늘의 지용성

Table 10. Mutagenicity against extracts[1] from Kimchi and ingredients with distilled water and ethyl alcohol in plate test using SD510[2] and TA100 strains

Material	revertants per plate			
	SD510		TA100	
	D.W	EOH	D.W	EOH
Positive control[3]	567		284	
Chinese cabbage Kimchi	129	122	127	61
Chinese cabbage	60	25	8	0
Red pepper powder	47	19	44	0
Ginger	70	4	6	6
Garlic	175	150	113	46
Fermented shrimp sauce	266	153	209	95
Fermented anchovy sauce	251	226	172	123

Spontaneous revertants(negative control) are subtracted.
Negative control added 100㎕ of distilled water per plate.
[1] Extracted for 20hrs by Distilled water and 3hrs by ethyl alcohol at 40℃.
[2] SD510 added 100㎕ of 10^2-fold diluted strains.
[3] Positive control added 100㎕ of 4NQO(1㎍/㎖) per plate.

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

성분이 돌연변이 억제작용(Kim 등, 1991; 박 등, 1991)과 종양세포 성장억제 작용(Dipaolo와 Carruthers, 1960; Weisberger와 Pensky, 1958; 손과 황, 1990)이 있다는 보고와는 다른 결과로서, 재배나 수송, 저장 과정 중에 오염이 있었던 것으로 생각되었다. 특히 새우젓과 멸치젓 추출물은 SD510과 TA100에서 모두 높은 돌연변이원성을 나타내어 이들은 비교적 강한 돌연변이 유발물질을 함유하고 있는 것으로 판단된다. Kim 등(1985)과 Kim과 Hotchiss(1994)는 새우젓, 멸치젓 첨가 김치에서 NDMA가 생성된다 하였는데, 본 연구에서도 젓갈류에서 이와 같은 물질이 생성되기 때문에 돌연변이원성이 높게 나타나는 것으로 생각되었다.

4) 추출물 농도에 따른 돌연변이원성

평판법에 의해 SD510 균주의 10^2배 희석액과 TA100 균주에서 김치와 김치 추출물의 여과한 물과 에탄올 추출물의 양의 증감에 따른 돌연변이원성은 Table 11에 나타내었다. 김치 추출물은 SD510에서는 100㎕ 투여시에 돌연변이원성이 가장 높았으나 TA100에서는 추출물의 양을 증가시킴에 따라 돌연변이원성이 증가하였다. 마늘 추출물은 SD510에서는 투여량을 증가시킴에 따라 revertants의 수가 증가한 반면, TA100에서는 100㎕ 투여할 때를 기점으로 하여 돌연변이원성이 감소하였다. 모든 추출물은 검정균주에 관계없이 추출물의 양을 증가시킴에 따라 돌연변이원성이 증가하였고 저농도에서는 돌연변이원성이 미약하였다. 이들 결과로부터 시료를 농축하여 고농도에서의 돌연변이원성을 검토하는 것이 필요하리라 생각된다. 전반적으로 TA100보다 SD510을 사용하는 경우에 돌연변이원성이 높게 나타났다. SD510을 사용하는 경우 김치와 새우젓은 에탄올 추출물에 비하여 물 추출물에서, 마늘과 멸치젓은 물 추출물에 비해 에탄올 추출물에서 상대적으로

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

돌연변이원성이 높았다. 반면 TA100에서는 시험된 모든 재료의 물 추출물에서 돌연변이원성이 인정되었으나 에탄올 추출물에서는 멸치젓 추출물을 제외하고는 돌연변이원성을 인정할 정도의 활성을 나타내지는 않았다. 특히 새우젓과 멸치젓 추출물은 다른 추출물에 비하여 돌연변이원성이 높게 나타

Table 11. Mutagenicity against extracts[1] from Kimchi and ingredients with distilled water and ethyl alcohol in plate test using SD510[2] and TA100 strains

Material	Amount added (μℓ/plate)	Revertants per plate			
		SD510		TA100	
		D.W	EOH	D.W	EOH
Positive control[3]		629		392	
Chinese cabbage Kimchi	50	90	—	49	—
	100	129	90	102	58
	150	231	43	73	—
Garlic	50	121	126	46	—
	100	158	163	99	21
	150	168	230	41	34
	200	179	—	—	—
Fermented shrimp sauce	25	89	—	30	—
	50	141	123	94	—
	100	252	148	182	34
	150	306	169	189	55
Fermented anchovy sauce	25	119	—	47	—
	50	165	152	104	—
	100	242	235	198	161
	150	291	459	252	237

Spontaneous revertants(negative control) are subtracted.
Negative control added 100μℓ of distilled water per plate.
[1] Extracted for 20hrs by Distilled water and 3hrs by ethyl alcohol at 40℃.
[2] SD510 added 100μℓ of 10^2-fold diluted strains.
[3] Positive control added 100μℓ of 4NQO(1μg/mℓ) per plate.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

나고 있어서 수산발효식품을 원료로 하는 식품에 대한 식품위생학적 검토가 이루어져야 할 것으로 생각되었다. 물 추출물과 에탄올 추출물을 비교해 볼 때 SD510에서 마늘의 경우를 제외하고는 SD510이나 TA100에서 에탄올 추출물에 비해 물 추출물들이 좀 더 높은 돌연변이원성을 나타내는 것으로 보아 김치 재료들에 의한 돌연변이 활성은 주로 수용성 물질들에 의한 것으로 판단되었다. 그리고 김치의 물 및 에탄올 추출물의 돌연변이원성은 마늘과 젓갈로부터 유래되는 것으로 판단되었으며, 이들은 강한 돌연변이 유발물질을 함유하는 것으로 생각되었다.

5) 물과 에탄올 추출물의 (항)돌연변이원성

김치와 그 재료 추출물들이 4NQO에 의해 유도되는 돌연변이원성을 억제 또는 촉진하는지 여부를 검토하기 위하여 4NQO에 의해 유도되는 돌연변이원성을 검정한 dose-response 곡선을 Fig. 33과 같다. 4NQO에 의해 유도되는 돌연변이원성은 TA100보다 SD510에서 높았고, 최고 돌연변이원성은 TA100과 SD510에서 각각 plate당 2.5㎍과 5.0㎍이었으나, 이 농도 이상에서는 4NQO의 균주에 대한 세포독성으로 인하여 돌연변이원성이 감소하였다. 따라서 본 연구에서는 실험상의 편이를 위하여 colony 수가 200~500 사이에 있는 농도인 plate당 1㎍를 선정하였으며, 이 농도에서 SD510과 TA100 균주를 사용하여 김치 재료 추출물이 4NQO에 의해 유도되는 돌연변이원성의 억제 또는 촉진 효과를 검정하였다.

김치 재료의 물 및 에탄올 추출물이 4NQO에 의해 유도되는 돌연변이원성의 억제 또는 촉진 여부를 확인하기 위하여 SD510과 TA100 균주를 사용하여 1㎍/plate의 4NQO에 의해 유도되는 돌연변이원성을 검정한 결과는 Table 12와 같다.

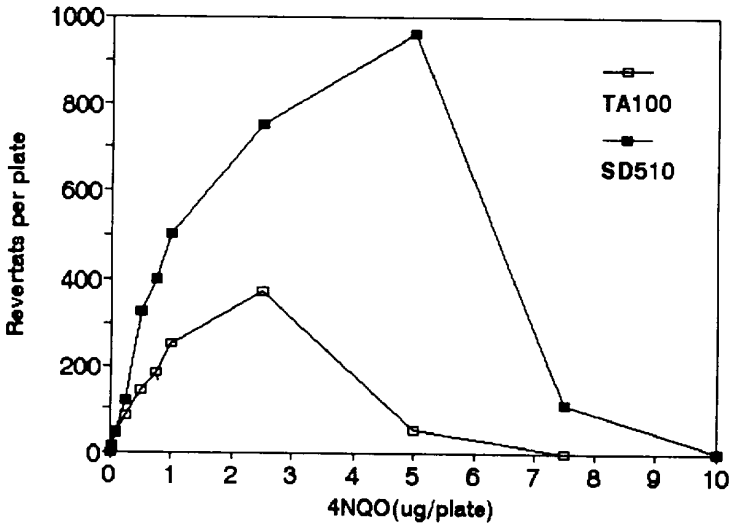


Fig. 33. Dose-response for 4NQO in SD510 and TA100 strains.

SD510에서 4NQO에 의해 유도되는 돌연변이원성은 김치와 젓갈류 추출물에 의해 크게 증가하였으나 배추와 생강 추출물에서는 (항)돌연변이원성이 확인되지 않았고, 고춧가루와 마늘 추출물은 억제하였다. 특이하게 마늘 추출물은 자체로는 돌연변이원성을 나타내기도 하고(Tables 8~11), 4NQO에 의해 유도되는 돌연변이원성을 억제하기도 하는 특이한 현상을 보였다. 그리고 SD510에서의 돌연변이원성 촉진 효과는 물 추출물이 에탄올 추출물에 비해 약간 높았고, 새우젓, 멸치젓, 김치 순서로 높았으며, 억제 효과는 고춧가루, 마늘 순서로 높았다. 반면 TA100에서는 고춧가루 추출물을 제외한 모든 재료 추출물들은 돌연변이원성을 촉진하여 김치, 배추, 새우젓, 멸치젓 추출물은 촉진 효과가 높았다. 특히 SD510에서는 돌연변이원성촉진 효과가 없었던 배추 추출물에서 높은 촉진 효과를, 그리고 마늘 추출물에서도 약한 촉진 효과를 나타낸 것은 특이한 현상이었다. 이러한 촉진 효과가 4NQO나

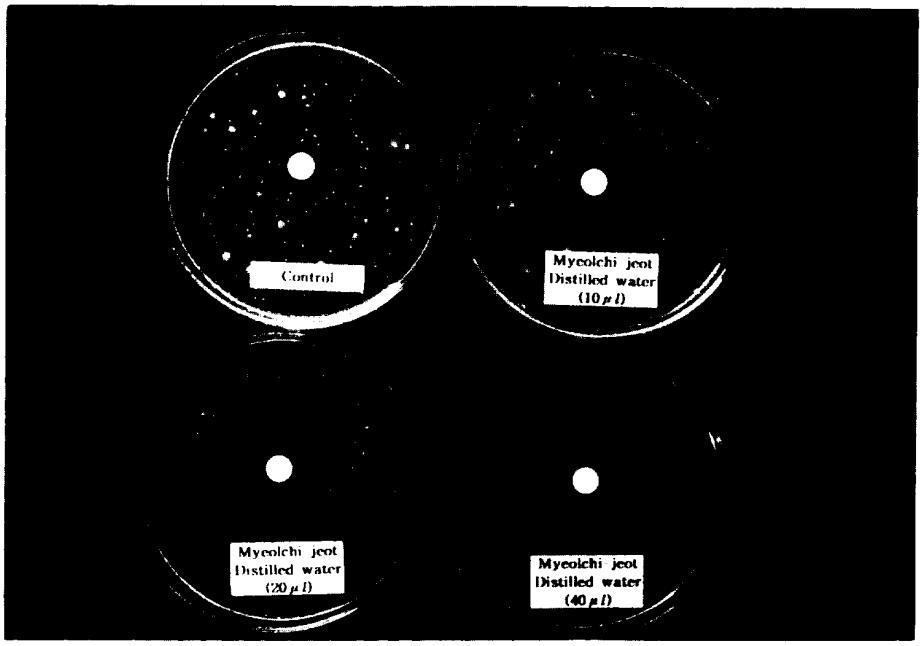
열분해 산물에 의해 유도되는 돌연변이원에만 국한되는 것인지에 대해서는 더 많은 연구가 필요하리라 생각된다. 전반적으로 물 추출물은 에탄올 추출물에 비하여 4NQO에 의해 유도되는 돌연변이원성을 더 높게 촉진하는 것으로 보아 이들 추출물에 의해 돌연변이원성은 촉진하는 물질은 수용성 성분이라 판단되었다. 그러나 본 연구에 사용된 시료는 동일 추출물 양으로 비교된 것이 아니라, 같은 양의 추출 시료(50g)에서 추출된 추출물에 대한 비교로서, 이들간의 (항)돌연변이원성이 높고 낮음을 서로 비교한다는 것은 무리인 듯하다.

Table 12. Effect for 4NQO-induced mutations of extracts[1] from Kimchi and its ingredients with distilled water and ethyl alcohol in plate test using SD510[2] and TA100 strains

Material	Revertants per plate			
	SD510		TA100	
	D.W	EOH	D.W	EOH
Positive control	543		394	
Chinese cabbage Kimchi	802(+47.7)	736(+35.5)	754(+91.4)	770(+95.4)
Chinese cabbage	466(−14.2)	560(+3.1)	557(+41.4)	682(+73.1)
Red pepper powder	158(−70.9)	152(−72.0)	457(+16.0)	406(+3.1)
Ginger	597(+10.0)	519(−4.4)	525(+33.3)	487(+23.6)
Garlic	319(−41.3)	222(−59.1)	516(+31.0)	496(+25.9)
Fermented shrimp sauce	1017(+87.3)	624(+14.9)	564(+43.2)	562(+42.6)
Fermented anchovy sauce	793(+46.0)	582(+7.2)	595(+51.0)	573(+45.4)

Spontaneous revertants(negative control) are subtracted.
Negative control : distilled water; Positive control : 4NQO(1㎍/㎖).
+, acceleration; −, inhibition.
[1] Extracted for 20hrs by Distilled water and 3hrs by ethyl alcohol at 40℃.
[2] SD510 added 100㎕ of 10^3-fold diluted strains.

제주대학교 중앙도서관



Picture 3. Spot test for distilled water extracts from fermented anchovy sauce in TA100.

Picture 4. Spot test for Chinese cabbage Kimchi in SD510.

6) 김치 재료 추출물의 (항)돌연변이원성 고찰

십자화과 채소인 컬리플라워, 배추, 양배추, 브로콜리 등에서 발견되고 있는, isothiocyanates나 tryptophan으로부터 유도되는, indole-3-carbinol 등의 indole 유도체들은 실험적인 암유발 연구에서 화학 발암물질들에 대한 보호 효과를 준다(Chung 등, 1992, 1993; Pereira와 Khoury, 1991; Wattenberg와 Loub, 1978). 그러나 많은 종류의 천연 살충제와 그의 대사물질들이 배추에서 확인되고 있다(Ames 등, 1990). 이들은 곤충류와 미생물들의 침해에 대한 방어 역할을 하고 감각 수용 특성(Pariza, 1992)을 지니지만, 어떤 경우에는 독성 및 암유발성이 있는 것으로 알려지고 있다(Ames 등, 1990). Wakabayashi 등(1985a)은 일본의 절임 배추에 대한 연구에서 신선한 배추와 염장 배추의 물 추출물은 변이원성이 없었으나 NO_2를 처리하면 변이원성을 나타내었다고 하였는데, TA100 균주에서 염장 배추보다는 신선한 배추의 물 추출물이 변이원성이 높게 나타났으며, 3개의 indole 화합물이 변이원을 니트로화시킬 수 있는 전구물질임을 동정하였다. 이들 화합물은 indole-3-acetonitrile, 4-methoxyindole-3-acetonitrile과 4-methoxyindole-3-carboxyaldehyde임이 확인되었고(Wakabayashi 등, 1985b), 이 중에서 indole-3-acetonitrile이 니트로화된 변이원은 1-nitrosoindole-3-acetonitrile로 확인되었다(Wakabayashi 등, 1985b, 1986, 1987). 그리고 농약에서 nitrosocarbamate, nitrosodiethanolamine 및 기타 여러 종류의 nitrosamine (Hathaway, 1989; Oliver, 1981; Richard 등, 1982; Probat, 1981; Wigfield와 Lanouette, 1985; Zweig 등, 1980)이 발견되고 있다.

Yoshida 등(1984)은 신선한 마늘 주스와 마늘의 알코올 추출물을 *in vivo*와 *in vitro*에서 시험한 결과 Ames test에서 돌연변이원성이 관찰되지 않는다 하였고, Takemura와 Shimizu(1978)와 Kada 등(1978b)은 생쥐에 대한

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

micronucleus test와 Chinese hamster embryo에서의 CHE test에서는 돌연변이유발 효과는 관찰되지 않았으나 세포독성만이 관찰된다 하였다. 마늘의 열분해 산물만을 가지고 시험한 Ames test(Takemura와 Shimizu, 1978; Kada 등, 1978a)와 *Drosophila* test(Abraham과 Kesavan, 1983)에서는 양성 결과를 얻었다는 보고도 있다. 마늘의 발암 및 보발암 잠재성에 관한 자료들은 문헌에서 발견되고 있지 않다. Koch와 Jäger(1988)에 의하면 마늘과 마늘 제조물에서 적당량의 셀레늄이 발견되어 생물학적 활성을 갖는 미량원소의 충분한 공급물로 이용될 수 있다고 하였다. 김 등(1991)과 박 등(1991)은 *Salmonella* 분석을 이용하여 여러 돌연변이원들에 대한 마늘 추출물의 돌연변이 및 암세포의 성장 저해효과를 관찰하여 메탄올 추출물로부터 온 클로로포름 분획이 수용성 추출물보다 강한 저해 활성을 나타내었으며 이 분획에서 항돌연변이 활성이 높은 methyl linolate를 함유하는 8개의 화합물을 분리하였다. 한편 Hwang 등(1990)과 손과 황(1990)은 여러 암세포 배양과 sarcoma-180을 이용한 실험에서 마늘의 석유에테르 추출물과 알코올 추출물이 항암 효과가 있다고 하였으며 박 등(1991)은 마늘의 메탄올 추출물의 아플라톡신 B_1과 MNNG에 대한 항돌연변이 효과를 나타내었고 농도를 증가시킴에 따라 아플라톡신 B_1에 대한 돌연변이 유발 억제 효과가 높았으며 또한 비극성 분획인 클로로포름 분획에서 더 큰 돌연변이 유발 저해 효과를 관찰하였다. 마늘의 dially thiosulfinate는 비타민 B_1과 동일한 생리 작용을 지니며 체내에서 흡수가 빠르고 장내 thiaminase의 작용을 받지 않기 때문에 thiamin의 체내 이용을 높여 준다(Fujiwara 등, 1955). 마늘은 간의 microsome 효소계의 활성화에 관여하여 간접 돌연변이 물질을 최종 돌연변이원으로 전환되는 것을 방지하거나 간 내에서 glutathione *S*-transferase와 SH 함유 화합물들을 증가시킴으로서 최종 돌연변이 물질을 비독성 화합물

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

로 전환시키는데 기여하는 것으로 추정되고 있다(김, 1991). 마늘의 항돌연변이 물질은 지용성 물질로 추정되고 있다(박 등, 1991). 이 물질은 잠정적으로 methyl linolate로 동정되었다(김, 1991). 한편 linoleic acid는 항돌연변이 및 항암 작용이 있는 것으로 알려지고 있고(Hayatsu 등, 1981; Siegel 등, 1987), 또한 마늘의 항암 작용은 allicin을 비롯한 함황 화합물과 linoleic acid계 물질 등에 의해 나타나는 것으로 추정되고 있다(박 등, 1991).

칠레고추의 경우 변이원성이 없다는 보고(Buchanan 등, 1981)가 있는 반면, 변이원성이 있다는 보고도 있다(Nagabhusan과 Bhide, 1985). Namiki 등(1984)은 아질산염으로 처리한 고추에서는 변이원성이 있었으나 자체로는 변이원성이 없었다고 보고하였다. Toth 등(1984)은 capsaicin은 Ames assay에서 낮은 정도로 변이원성을 나타내었으며, 1%까지 섭취시킨 생쥐의 식이지방에서는 낮은 선암(adenocarcinoma) 증세를 보인다 하였고, Muralidhara와 Narasimhamurthyl(1988)은 serum morphology assay와 dominant-lethal test를 이용하여 비변이원성임을 밝힌 바 있다.

박과 최(1994)는 김치의 주원료인 배추에는 질산염이 많이 함유되어 있기 때문에 발효과정 중에 질산염이 아질산염으로 전환될 가능성이 있으며, 이 아질산염이 젓갈 등에서 유래되는 2급 아민과 반응하여 nitrosamine을 생성할 수 있어서 발암물질이 생성될 우려가 있다 하였으며, 이전의 연구에서 김(1982) 및 김 등(1984b, 1985)은 멸치젓과 새우젓을 첨가한 김치에서 NDMA가 검출된다 하였다. 그리고 김치 재료 중에서의 아질산염 함량은 매우 낮은 것으로 보고되고 있는데, 배추에서는 불검출~0.56ppm, 마늘과 고춧가루에서는 검출되지 않으며, 생강에서는 불검출~0.42ppm, 그리고 젓갈류에서 22.5~41.0ppm 범위(최, 1991; 김 등, 1984b, 이 등, 1982; Park과 Cheigh, 1992)로 보고되고 있다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅳ. 요 약

김치 분리 유산균을 여러 온도조건에서 배양하는 중에 Lactobacilli MRS 액체배지에서 아질산염의 소모, 김치 숙성 중 nitrosamine의 함량 변화, *Salmonella typhimurium* TA100과 *S. typhumurium* TA98의 streyptomycin 의존성 SD510을 사용하여 김치와 김치 재료로부터 온 증류수와 에탄올 추출물의 (항)돌연변이원성을 연구하였다.

1. 김치에서 20종의 유산균을 분리하여 생리적 특성을 확인한 결과, 6종은 *Lactobacillus sake*, 14종은 *Leuconostoc mesenteroides*로 동정되었다.

2. 150㎍/㎖의 아질산염 소거 효과는 10℃에서는 40% 미만으로 낮은 반면, 고온에서는 상당히 높았다. 배양 온도의 증가에 따라 단기간에 비슷한 소거 효과를 나타내었다. 즉, 25℃에서는 배양 3일 후에 77~91.7%, 30과 35℃에서는 배양 2일에 82.8~94.0%이었다. 특히 LAB-D는 15℃ 이상에서 아질산염 소모 효과가 가장 높았다. LAB-D를 제외한 다른 김치 분리 유산균은 KCTC 균주들과 비슷한 효과를 나타내었나, 저온으로 갈수록 KCTC 균주들에 비하여 낮아지는 경향을 보였다.

3. 250㎍/㎖의 아질산염에 대한 소거 효과는 시험된 모든 온도 영역에서 *L. plantarum*, *L. sake*, *L. mesenteroides* 순서로 높았고, 고온으로 갈수록 높았다. 특히 *L. plantarum* 균주들은 각 온도에서 배양 초기에 아질산염을 대부분 소거하였다. 30℃에서 *L. plantarum* CTFM0103은 고농도의 아질산염에 대해서도 효과적으로 소거하여, 하루 내지 이틀만에 대부분의 아질산염을 소거시켰다.

4. 김치 발효 중 13종의 미확인 nitrosamine이 검출되었으나, 식품에서 흔히 발견되는 NDMA나 NDEA은 검출되지 않았다. 이들은 주로 배추에서,

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

일부 멸치 젓갈에서 유래되었다. 김치 발효 초기에는 모든 nitrosamine들이 감소되었으며, 발효 말기에는 일부 nitrosamine이 미량 증가되었다.

5. 살균 방법이 시료의 돌연변이원성에 미치는 영향을 검토하기 위하여 spot test에 의하여 항돌연변이원성을 검정한 결과, SD510에서는 고압증기 멸균을 한 경우가 여과한 경우보다 높았으며, 특히 김치와 마늘의 증류수 추출물은 고압살균으로 인한 영향이 컸다. 반면, TA100에서는 고압살균을 하는 경우 에탄올 추출물의 돌연변이원성을 감소시키는 영향이 있었으나, 새우젓과 멸치젓 추출물은 돌연변이원성을 촉진시켰다.

6. 김치 재료에 의해 유도되는 돌연변이원성은 김치, 마늘, 새우젓 및 멸치젓의 증류수와 에탄올 추출물에서 돌연변이원성이 인정되었으며, 증류수 추출물이 에탄올 추출물에 비하여 돌연변이원성이 높았다. 특히 수산발효식품인 새우젓과 멸치젓 추출물은 다른 것과 비하여 높았다.

7. 김치 재료 추출물이 4NQO에 대한 (항)돌연변이원성을 시험한 결과, SD510에서 고춧가루와 마늘 추출물이 억제 효과가 높았으나, 새우젓, 멸치젓, 김치 추출물은 촉진시켰으며, 배추와 생강 추출물은 저해나 촉진 효과가 없었다. 반면, TA100에서는 고춧가루 추출물을 제외한 모든 시료가 돌연변이원성을 촉진하였으며, 특히 배추 추출물에서 높게 촉진하였다. 전반적으로 증류수 추출물이 에탄올 추출물에 비해 높은 돌연변이원성이 나타내는 것으로 보아 김치 재료 추출물에의 돌연변이원성을 촉진하는 물질은 수용성 성분으로 추정되었다.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

참 고 문 헌

Abraham, S.K. and P.C. Kesavan, 1983. An analysis of genotoxicity of spices in Drosophila. *Mutat. Res.*, **108**, 373~383.

Ames, B.N., 1979. Identifying environmental chemical causing mutation and cancer. *Science*, **204**(11), 587~593.

Ames, B.N., F.D. Lee and W.E. Durston, 1973. An Improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. *Mutat. Res.*, **70**(3), 782~786.

Ames, B.N. and J. McCann, 1981. Validation of the *Salmonella* test : A reply to Rinkus and Legator. *Cancer Res.*, **41**, 4192~4196.

Ames, B.N., J. McCann and E, Yamasaki, 1975. Methods for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian-microsome mutagenicity test. *Mutat. Res*, **31**, 347~364

Ames, B.N., M. Profet and L.S. Gold, 1990. Dietary pesticides(99.99%). *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **87**, 7777~7781.

Ariyoshi, T., J. Kai, S. Mitarai, T. Nakashima and M. Washizaki, 1982. Effect of acute treatment with dimethylnitrosamine on the contents of cytochromes and on the activities of γ-aminolevulinic acid synthetase, heme oxygenase and drug-metabolizing enzymes in the liver of rats. *J. Food Hyg. Soc., Japan*, **23**(5), 377~383.

안승춘, 1990a, 김치의 과학기술. 제4장 김치의 종류. 한국식품개발원, 기술신서 제2집, pp. 73~104.

안승춘, 1990b. 김치의 과학기술. 제5장 김치를 이용한 여러 가지 요리. 한국

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

식품개발원, 기술신서 제2집, pp. 105~126.

Awort, O.C., P.E. Brecht, and P.L. Mintti, 1978. Nitrate and nitrite levels in fresh spinach as influenced by postharvest temperatures. *J. Ameri. Soc. Hort. Sci.*, **103(3)**, 417~419.

Ayebo, A.D., K.M. Shahani and R. Dam, 1981. Antitumor component(s) of yogurt : Fractionation. *J. Dairy Sci.*, **64**, 2318~2323.

Bailey, G.S. and D.E. Williams, 1993. Potential mechanisms for food related carcinogens and anticarcinogens. *Food Technol.*, **47**(1), 105~118.

Balimandawa, M., C. de Meester and A. Leonard, 1994. The mutagenicity of nitrite in the *Salmonella*/microsome test system. *Mutat. Res.*, **321**, 7~11.

Beuchat, L.R., 1995. Application of biotechnology to indigenous fermented foods. *Food Technol.*, **49**(1), 97~99.

Bhide, S.V., A.I. Partap, N.M. Shivapurkar, A.T. Sipahimalani, and M.S. Chadha, 1981. Detection of nitrosamines in a commonly used chewing tobacco. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, **19**, 481~483.

Bogdanov, I.G., P.G. Dalev, A.I Gurevich, M.N. Kolosov, V.P. Malkova, L.A. Plemyannikova and I.B. Sorokina, 1975. Antitumor glycopeptides from *Lactobacillus bulgaricus* cell wall. *FEBS Lett.*, **57**, 259~264.

Bogdanov, I.G., V.T. Velichkov and A.I. Gurevich, 1978. Antitumor action of glycopeptides from the cell wall of *Lactobacillus bulgaricus*. *Bull. Exptl. Biol. Med.*, **37**, 49~57.

Bosch N., M.G. Mata, M.J. Penuela and T.R. Galan, 1995. Determination of nitrite levels in refrigerated and frozen spinach by ion chromatography. *J. Chromatog. A.* **706**, 221~228.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Brown, R.R., 1983. The role of the diet in cancer causation. *Food Technol.*, **37**, 49~57.

Brunnemann, K.D., L. Gonoble and D. Hoffmann, 1985. *N*-nitrosamines in chewing tobacco : An international comparison. *J. Agric. Food Chem.*, **33** (6), 1178~1181.

Buchanan, R.L., S. Goldstein and J.D. Budroe, 1981. Examination of chili pepper and nutmeg oleoresines using the *Salmonella*/mammalian microsome mutagenicity assay. *J. Food Protect.*, **47**, 330~333.

Calmels, S., H. Oshima and Bartsch, 1984. Nitrosamine formation by denitrifying and non-denitrifying bacteria: Implication of nitrite reductase and nitrate reductase in nitrosation catalysis. *J. Gen. Microbiol.*, **134**(1), 221~226.

Calmels, S., H. Oshima, M. Crespi, H. Leclerc, C. Cattoen and H. Bartsch, 1987. *N*-Nitrosamine formation by microorganisms isolated from human gastric juice and urine : Biochemical studies on bacteria-catalysed nitrosation. *In*: *Relevance of N-Nitroso compounds to Human Cancer*, B. Bartsch, I. O'Neill, R. Schulte-Hermann(eds.), International Agency for Research on Cancer, IARC Scientific Publications, **No 84**, pp. 391~395.

Cantrell, J.L., and R.W. Wheat, 1979. Antitumor activity and lymphoreticular simulation properties of fractions isolated from *Corynibacterium paruvm*. *Cancer Res.*, **39**, 3554~3563.

Carr, J.G., 1975. *Lactic Acid Bacteria in Beverages and Foods*. Academic Press, New York.

Cassens, R.G., 1995. Use of sodium nitrite in cured meats today. *Food*

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Technol., **59**(7), 72～80.

Castegnaro, M., B. Pignatelli and E.A. Walker, 1981. Analysis of volatile *N*-nitrosamines in commercial drugs. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, **19**, 489～491.

차용준, 이응호, 1985. 저식염수산발효식품의 가공에 과한 연구. 6. 저식염 멸치젓 및 조기젓의 정미성분. 한국수산학회지, **18**(4), 325～332.

조재선, 1991. 김치숙성중 미생물의 동태와 성분변화. 한국식문화학회지, **6**(4), 479～501.

최국지, 1978. 김치로부터 분리된 효모에 관한 연구. 한국미생물학회지, **16**(1), 1～10.

최신양, 이신호, 구영조, 신동화, 1989. Starter를 이용한 속성 발효 김치의 제조. 산업미생물학회지, **17**(4), 403～406.

최선미, 1991. 김치발효중 Nitrite와 Nitrite 함량변화와 *N*-nitrosodimethylamine 생성. 부산대학교 석사학위논문.

Chung, F.L., M.A. Morse and K.I. Eklind, 1992. New potential chemo-preventive agents for lung carcinogenesis of tobacco-specific nitrosamine. *Cancer Res.*, **52**, 2719s～2722s.

Chung, F.L., M.A. Morse, K.I. Eklind and Y. Xu, 1993. New potential chemopreventive agents of azoxymethane induced foci of aberrant crypts in rat colon. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **686**, 186～201.

Collins-Thompson, D.L. and G. Rodriguez-Lopez, 1981. Deletion of sodium nitrite by lactic acid bacteria isolated from vacuum-packed bologna. *J. Food Protect.*, **44**(8), 593～595.

Collins-Thompson, D.L., N.P. Sen, B. Aris and L. Schwinghamer, 1972. Non-enzymatic *in vitro* formation of nitrosamines by bacteria isolated from

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

meat products. *Can. J. Mocrobiol.*, **18**(12), 1968～1971.

Committee 17 Appointed by Council Environmental Mutagen Society, 1975. Environmental mutagenic hazards. *Science*, **187**, 503～514.

Cornee, J., D. Velema, M. Guyader and P. Berthezene, 1992. An estimate of nitrate, nitrite, and N-nitrosodimethylamine concentrations in French food products or food groups. *Sci. des Aliments*, **12**, 155～162.

Correa, P., 1981. Nutrition and Cancer: Epidemiologic correlations. *In*: *Nutrition and Cancer*, G.R.. Newell and N.M. Ellison(eds), Raven Press, New York, pp. 1～10.

Craddock, V.M. and P.N. Magee, 1966. Analysis of bases of rat-liver nucleic acids after adminstration of the carcinogen dimethylamine. *Biochem. J.*, **100**, 724～732.

Craddock, V.M. and P.N. Magee, 1967. Effect of adminstration of the carcinogen dimethylamine on urinary 7-methylguanine. *Biochem. J.*, **104**, 435～440.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Czygan, P., H. Greim, A.J. Garro, F. Huttererm F. Schaffner, H. Hopper, O. Rosenthal and D.Y. Cooper, 1973. Microsomal metabolism of dimethyl-nitrosamine and cytochrome P-450 dependency of its activation to a mutagen.. *Cancer Res.*, **33**, 2983～2986.

Damhoeri, A., A. Hosono, T. Itoh and A. Matsuyama, 1981. Proceedings of the IPB-JICA, *International Symposium of Agricultural Products, Processing and Technology*, F. Fatdias, A. Matsuyama, K. Abdulla(eds.), Goya Teknic Bogor, pp. 137～151.

Daxenbichler, M.E., C.H. Van Etten and P.H. Williams, 1979. Glucosinolates

and derived products in cruciferous vegetables, analysis of 14 varieties of Chinese cabbage. *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 34~38.

Dipaolo, J.A. and C. Carruther, 1960. The effect of allicin from garlic on tumor growth. *Cancer Res.*, **20**(5), 431~434.

Dodds, K.L. and D.L. Collins-Thompson, 1984. Incidence of nitrite-depleting lactic acid bacteria in cured meats and in meat starter cultures. *J. Food Protect.*, **47**(1), 7~10.

Doll, R. and R. Peto, 1981. The causes of cancer, qualitative estimates of avoidable risk of cancer in the United States today. *J. Natl. Cancer Inst.*, **66**, 1191~1308.

Ellen, G., E. Egmond, J.W. Van Loon, E.T. Sahertian and K. Tolsma, 1990. Dietary intakes of some essential and nonessential trace elements, nitrate, nitrite and N-nitrosamine, by Dutch adults: Estimated via a 24-hour duplicate portion study. *Food Add. Contam.*, **7**(2), 207~221.

Emi-miwa, M., A. Othani and M. Fujmaki, 1976. Comparison of the fate of nitrite added to whole meat, meat fractions and model systems. *Agric. Biol. Chem.*, **40**, 1387~1392.

Ender, F., G.N. Harve, A. Helgebostad, N. Koppang, R. Madson and L. Ceh, 1964. Isolation and identification of a hepatotoxic factor in herring meal produced from sodium nitrite preserved herring. *Die Naturwissenschaften*, **24**, 637~638.

Esser, P., C. Lund and J. Clemmmensen, 1983. Antileukemic effect in mice from fermentation products of *Lactobacillus bulgaricus*. *Milchwissenschaft*, **38**, 257~260.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Fernandes C.F. and K.M. Shahani, 1990. Anticarcinogenic and immunoligical properties of dietary lactobacilli. *J. Food Protect.*, **53**(8), 704~710.

Fernandes, C.F., K.M. Shahani and M.A. Amer, 1987. Therapeutic role of dietary lactobacilli and lactobacilli fermented dairy products. *FEMS Microbiol. Rev.*, **46**, 343~356.

Fisher, C., 1992. Phenolic compounds in spices. *In*: *Phenolic Compounds in Food and Their Effects on Health 1, Analysis, Occurrence, and Chemistry*, C.H. Ho, C.Y. Lee, M.T. Huang(eds.), ACS Symposium Series 506, Washington, D.C., pp. 118~129.

Fournaud, J. and G. Mocquot, 1966. Etude de la reduction de l'ion nitrite par certain lactobacilli. *C. R. Acad. Sci. Paris*, **262**, 230~232.

Fournaud, J., P. Raibaud and G. Moequot, 1964. Etude de la reduction des nitrites pas une sourche de *Lactobacillus lactis* mise en evidence de ce metabolisme chez d'autres bacteries du genre *Lactobacillus*. *Ann. Inst. Pasteur de Lille*, **15**, 213~224.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Friend, B.A. and M. Shahani, 1984. Antitumor properties of lactobacilli and dairy products fermented by lactobacilli. *J. Food Protect.*, **47**(9), 717~723.

Fujimaki, M., M. Emi-miwa and A. Okatani, 1975. Fate of nitrite in meat-curing model systems composed of myoglobin, nitrite and ascorbate. *Agric. Biol. Chem.*, **39**, 371~377.

Fujiwara, M., M. Yoshimura and S. Tsuno, 1955. Allithiamine, a newly found derivatives vitamin B. III. On the allicin homologues in the plants of the allium species. *J. Biochem.*, **42**, 591~593.

福山忠男, 1985. 健康食品便覽, 食品と科學社, 日本, pp. 91~114.

Gangolli, S.D., P.A. van den Brandt, V.J. Feron, C. Janzowsky, J.H. Koeman, G.J.A. Speijers, B. Spiegelhalder, R. Walker and J.H. Wishnok, 1994. Nitrate, nitrite and *N*-nitroso compounds. *Eroup. J. Pharmacol.*, **292**, 1~13.

Gilliland, S.E., 1990. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.*, **87**, 175~188.

Goldin, B.R., 1989. Lactic acid bacteria: Implications for health. *In*: *Les Laits Ferments: Actualite de la Recherche*, John Libbey Eurotex, Paris, France, pp. 95~104.

Green, M.H.L. and W.J. Muriel, 1976. Mutagen testing using Trp^+ reversion in *Escherichia coli*. *Mutat. Res*, **38**, 3~32.

Greenwald, P., D.W. Nixon, W.F. Malone, G.J. Kelloff, H.R. Stern and K.M. Witkin, 1990. Concepts of cancer chemoprevention. *Cancer*, **65**, 1483~1490.

Gregory E.M. and I. Fridovich, 1973. Induction of superoxide dismutase by molecular oxygen. *J. Bacteriol.*, **114**(2), 543~548.

Guttenplan, J.B., 1984. Effects of pH and structure on the mutagenic activity of *N*-nitroso compounds. *In*: *N-Nitroso Compounds*, T.K. Rao W. Lijinsky, J.L. Epler(eds.), Plenum Press, New York and London, **Vol. 1**, 59~90.

한홍의, 1991. 김치의 유산균 상태. 미생물과 산업, **17**(3), 68~75.

한인규, 이상철, 이진희, 이금기, 이정치, 1984. 생균제제의 성장촉진 효과에 관한 연구 Ⅰ. 브로일러에 대한 *Lactoacillus sporogens*의 성장촉진 효과와 분변 및 장내 세균총의 변화에 미치는 영향. 한국축산학회지, **26**(2),

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

150~157.

Harada, K. and K. Yamada, 1978. A preliminary study on the microbiological breakdown of dimethylnitrosamine. *J. Shimonoseki Univ. Fish.*, **26**, 293~298.

Harada, K. and K. Yamada, 1979. Microbial degradation of nitrosamines. I. Inducible breakdown of nitrosamines. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, **45**(7), 925~928.

Harrigan, W.F. and M.E. McCance, 1976. *Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology*, New York, Academic Press.

Hashimoto, S., T. Yokokura Y. Kawai and M. Matsui, 1976. Dimethylnitrosamine formation in the gastro-intestinal tract of rats. *Fd. Cosmet. Toxicol.*, **14**, 553~556.

Hathaway, J.S., 1989. An environmentist's perspective on the magnitude of the health risk from pesticide residues in food. *Fd. Drug Cosmatic Law J.*, **44**, 659~669.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Havery, D.C. and T. Fazio, 1985. Human exposure to nitrosamines from foods. *Food Technol.*, **39**(1), 80~83.

Havery, D.C., G.A. Perfetti and T. Fazio, 1984. Rapid column method for determination of *N*-nitrosodimethylamine in malt. *J. AOAC*, **67**(1), 20~21.

Hayatsu, H., S. Arimoto, K. Togawa and M. Makita, 1981. Inhibitory effect of the ether extract of human feces in activities of mutagens : inhibition by oleic and linoleic acids. *Mutat. Res.*, **81**, 287~293.

Hill, M., 1991. *Nitrates and Nitrites in Food and Water*, Ellis Horwood, London, England & New York.

Hocman, G., 1989. Prevention of cancer: Vegetables and plants. *Comp. Biochem. Physiol.*, **93**(B), 201~212.

Hosono, A., T. Kashina and T. Kata, 1986a. Antimutagenic properties of lactic acid bacteria-cultured milk on chemical and fecal mutagens. *J. Dairy Sci.*, **69**, 2237~2242.

Hosono, A., E. Omote, Y. Izawa, F. Tokita and T. Kada, 1986b. Isolation of spontaneous induced-streptomycin dependent mutants of *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 strains and desmutagenicity tests *in vitro* of cultured milk. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, **19**, 161~163.

Hosono, A., S. Sagae and F. Tokita, 1986c. Desmutagenic effect of cultured milk on chemically induced mutagenesis in *Escherichia coli* B/r WP2 $trp^{-}her^{-}$. *Milchwissenschaft*, **41**, 142~145.

Hosono, A., H. Suzuki and H. Otani, 1987a. Mutagenicities of selected spices and desmutagenic compounds in regard to spice-induced mutagenicity. *Japan. J. Zootech. Sci.*, **58**(5), 413~420.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Hosono, A., R. Wardojo and H. Otani, 1989. Microbial flora in 'Dadih', a traditional fermented milk in Indonesia. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, **22**, 20~24.

Hosono, A., R. Wardojo and H. Otani, 1990a. Inhibitory effects of lactic acid bacteria from fermented milk on the mutagenicities of volatile nitrosamines. *Agric. Biol. Chem.*, **54**, 1639~1643.

Hosono, A., R. Wardojo and H. Otani, 1990b. Binding of amino acid pyrolyzates by lactic acid bacteria isolated from 'Dadih'. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, **23**, 149~153.

Hosono, A., A. Yoshimura and H. Otani, 1987b. Antimutagenic activity of cellular component of *Streptococcus faecalis* IFO 12965. *Netherlands Milk and Dairy J.*, **41**, 239~245.

Hotchkiss, J.H., J.F. Barbour and R.A. Scanlan, 1980. Analysis of malted barley for *N*-nitrosodimethylamine. *J. Agric. Food Chem.*, **28**(3), 678~681.

Hotchkiss, J.H., D.C. Havery and T. Fazio, 1981. Rapid method for estimation of *N*-nitrosodimethylamine in malt beverage. *J. AOAC*, **64**(4), 929~932.

Hotchkiss, J.H., A.J. Vecchio and H.D. Ross, 1985. *N*-nitrosamine formation in fried-out bacon fat : Evidence for nitrosation by lipid-bound nitrite. *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 5~8.

Hurst, A and D.L. Collins-Thompson, 1979. Food as a bacterial habitat. *In*: *Advances in Microbial Ecology*, M. Alexander(ed), Plenum Press, New York, USA, pp. 79~134.

황규찬, 정윤수, 김호식, 1960. 김치의 미생물학적 연구(제2보). 호기성 세균의 분리와 동정. 과휘연보, **5**(1), 51~55.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Hwang, W.I., S.D. Lee, H.S. Son, N.G. Baik and R.H Ji, 1990. Effect of fresh garlic extract on the tumor cell growth and immunopotentiating activity. *J. Korean Soc. Food Nutri.*, **19**(5), 494~508.

Ingram, M.(1975). The lactic acid bacteria - A board view. *In*: *Lactic Acid Bacteria in Beverages and Food*. J.G. Carr, C.V. Cutting, G.C. Whiting (eds.), Academic Press, London, UK, pp. 1~13.

Ishibashi, T., T. Kawabata and M. Matsui, 1984. Nitrosation of some asymetric tertiary and quarternary ammonium compounds with nitrite or nitrogen dioxide gas. *Bull. Japan. Soc. Sci.*, **50**(8), 1425~1429.

Ito, Y., M. Yodoshi, J.I. Tanaka and M. Iwaida, 1979. Comparison of two methods and improvements for calorimetric determination of nitrite in cod roe. *J. Food Protect.*, **42**, 715~718.

진우현, 1939. 조선청물의 세균학적 연구. 鮮滿醫界, pp. 92~99.

Kada, T., K. Aoki and T. Sugimura, 1983. Isolation of streptomycin-dependent strains from *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100 and Their use mutagenicity tests. *Environ. Mutagenesis*, **5**, 9~15.

Kada, T., T. Inoue, K. Morita and M. Namiki, 1986. Dietary desmutagens. *In*: *Genetic Toxicology of the Diet*, I. Knudsn(ed.), Alan T. Liss Inc., New York, p. 245.

Kada, T., K. Morita and T. Inoue, 1978a. Anti-mutagenic action of vegetable factor(s) on the mutagenic principles of tryptophan pyrolysates. *Mutat. Res.*, **53**, 351~353.

Kada, T., Y. Sadaie and M. Hara, 1978b. Analysis of mutagen-antimutagen reaction in food and food additives by the res-assay and reversion-assay procedures. *Mutat. Res.*, **53**, 206~207.

Kada, T., K. Tutikawa and Y. Sadaie, 1972. *In vitro* and mediated rec-assay procedures for screening chemical mutagens and phloxime, a mutagenic red dye detected. *Mutat. Res.*, **16**, 165~174.

Kamisango, K., I. Saiki, Y. Tanio, H. Okumura, Y. Arakai, I. Sekikawa, I. Azuma and Y. Yamamura, 1982. Structures and biological activities of *Listeria monocytogenes* and *Propionibacterium acnes*. *J. Biochem.*, **92**, 23~33.

Kato, I., S. Kobayashi, T. Yokokura and M. Mutai, 1981. Antitumor activity of

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Lactobacillus casei in mice. *Japan. J. Cancer Res.(GANN)*, **72**, 517~523.

Khudoley, V., C. Malaveille and H. Baptsch, 1981. Mutagenicity studies in *Salmonella typhimurium* on some carcinogenic *N*-nitrosamines *in vitro* and in the host-mediated assay in rats. *Cancer Res.*, **41**, 3205~3210.

·김장양, 천석조, 박영호, 1984a. 과실, 채소류의 질산염 및 아질산염의 함량, 부산수산대학 연구보고, **24**, 129~137.

김정균, 1995. 멸치 및 멸치젓 숙성중 아질산염과 아스코빈산이 *N*-nitrosamine 생성에 미치는 영향. 경상대학교 대학원 박사학위청구논문.

김호식, 전재근, 1966. 김치발효중의 세균의 동적 변화에 관한 연구. 원자력 논문집, **6**, 112~118.

김호식, 황규찬, 1959. 김치의 미생물학적 연구(제1보). 혐기성세균의 분리와 동정. 과연휘보, **4**(1), 56~63.

김호식, 황규찬, 이계호, 1960. 김치류와 해태에서 분리된 *Pseudomonas* sp. 의 비타민 B_{12} 생산능에 관하여. 과휘연보, **5**, 65~67.

김소희, 1991. 김치 성분의 보돌연변이 유발 및 항돌연변이 효과. 부산대학교 박사학위논문.

Kim, S.H., J.O. Kim, S.H. Lee, K.Y. Park and H.Y. Chung, 1991. Antimutagenic compounds identified from the chloroform fraction of garlic (*Allium sativum*). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **20**, 253~259.

김수현, 1982. 김치 숙성중 *N*-nitrosamine의 생성요인에 관한 연구. 부산수산대학 박사학위청구논문.

Kim, S.H. and J.H. Hotchkiss, 1994. Nonvolatile *N*-nitrosamides in dried squid: Analysis by high-performance liquid chromatography-photolysis-chemiluminescence. *In*: *Nitrosamines and Related N-Nitroso Compounds*,

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

R.N. Loeppky, C.J. Michejda(eds.), ACS Symposium Series 553, American Chemical Society, Washington, pp. 355~357.

김수현, 현재석, 오창경, 오명철, 박제석, 강순배, 1994b. 멸치젓 첨가 김치 숙성 중 제2급, 제3급 아민 및 제4급 암모늄 화합물의 함량 변화와 *N*-nitrosamine의 변화. 한국영양식량학회지, **23**(4), 704~710.

김수현, 강순배, 이응호, 1990. 자리젓중 *N*-nitrosamine에 관한 연구. 한국영양식량학회지, **19**(1), 65~72.

김수현, 이응호, 河端俊治, 石橋亭, 松居正己, 1984b. 김치숙성 중 *N*-nitrosamine의 생성요인에 관한 연구, 한국영양식량학회지, **13**, 291~306.

김수현, 임상빈, 고영환, 오창경, 오명철, 박제석, 1994a. 추출 용매에 따른 톳 추출물의 수율 및 항균성 검정. 학국수산학회지, **27**(5), 462~468.

김수현, 오창경, 1993. 고등어 염장중 *N*-nitrosodimethylamine 생성 및 그 전구물질들의 변화. 제주대학교 논문집, **36**, 309~320.

김수현, 오명철, 1995. 배소 어류의 *N*-nitrosamine 함량. 제주대학교 산업기술연구소 논문집, **6**, 15~20.

김수현, 오명철, 오창경, 1995. 육류 배소 방법에 따른 *N*-nitrosamine 함량에 관한 연구. 제주대학교 산업기술연구소 논문집, **6**, 21~26.

김성수, 오창경, 오명철, 송대진, 김수현, 1996. 오징어젓 숙성 중 *N*-nitrosamine 생성에 관한 연구. 제주대학교 산업기술연구소 논문집, **7**(1), 13~21.

Kim, S.H., J.S. Wishnok and S.R Tannenbaum, 1985. Formation of *N*-nitrosodimethylamine in Korean seafood sauce, *J. Agric. Food Chem.*, **33**, 17~19.

Kimura, N.T., S. Taniguchi, K. Aoki and T. Baba, 1980. Selective localization

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

and growth of *Bifidobacterium bifidum* in mouse tumors following intravenous administration. *Cancer Res.*, **40**, 2061~2068.

Knight, K.M., D. Forman, S.A. Al-Dabaagh and R. Doll, 1987. Estimation of dietary intake of nitrate and nitrite in Great Britain. *Food Chem. Toxicol.*, **5**, 227~285.

Koch, H.P. and W. Jäger, 1988. Selen im Knoblauch und in Knoblauch-präparaten. *Dtsch Apoth. Stg.*, **128**, 993~995.

Kolari, O.E. and W.J: Aunan, 1972, The residual levels of nitrite in cured meat products. *Proc. 18th Symp. European Meat Research Workers*, Guelph, Ontario.

권숙표, 1955. 김치의 세균학적 연구. (제1보) 분리한 균에 대하여. 중앙화학연구소보고, **4**, 42~46.

Leach, S.A., A.R. Cook, B.C. Challis, M.J. Hill and M.H. Thompson, 1987. Bacterially mediated *N*-nitrosation reactions and endogenous formation of *N*-nitroso compounds. *In: N-Nitroso compounds to Human Cancer*, B. Bartsch, I. O'Neill, R. Schulte-Hermann(eds.), IARC Scientific Publications, International Agency for Research on Cancer, **No 84**, pp. 396~403.

이정치, 1991. 유산균 이용의 최근 동향. 미생물과 산업, **17**(3), 35~40.

이응호, 김세권, 전중근, 정숙현, 차용준, 김수현, 김경삼, 1982. 시판 젓갈류와 채소류중의 질산염 및 아질산염 함량, 한국수산학회지, **15**, 147~153.

임득렬, 1993. 국내 김치산업 현황. 김치제조기술교육. 한국식품개발연구원, pp. 43~58.

Lippsmeyer, B.C., M.L. Tracy and G. Möller, 1990. Ion-exchange liquid chromatographic determination of nitrate and nitrite in biological fluids. *J.*

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

AOAC, **73**(3), 457~462.

Magee, P.N. and J.M. Barnes, 1956. The production of malignant primary hepatic tumors in the rat by feeding dimethylnitrosamine. *Br. J. Cancer*, **10**, 114~122.

Mangino, M.M. and R.A. Scanlan, 1985. Nitrosation of the alkaloids hordenines and gramidine potential precursors of *N*-nitrosodimethylamine in barley malt. *J. Agric. Food Chem.*, **33**(4), 699~705.

Marcus, C. and P. Lichtenstein, 1982. Interaction of naturally occurring food plant components with insecticides and pentabarbital in rats and mice. *J. Agric. Food Chem.*, 30, 563~568.

Maron, D.M. and B.N. Ames, 1983. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat. Res.*, **113**, 173~215.

McCann, J. and B.N. Ames, 1975. Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome system : Assay of 300 chemicals : Discussion. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **73**, 950~954.

McCann, J. E. Choi, E. Yamasaki and B.N. Ames, 1975. Detection of carcinogens as mutagens in the *Salmonella*/microsome test: Assay of 300 chemicals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **72**, 5135~5139.

민태익, 권태완, 1984. 김치 발효에 미치는 온도 및 식염 농도의 영향. 한국식품과학회지, **16**(4), 443~450.

Mirvish, S.S., 1970. Kinetics of dimethylamine nitrosation in reaction to nitrosamine carcinogenesis. *J. Natl. Cancer Inst.*, **44**, 633~639.

Mitsuoka, T., 1981. Interstinal flora and cancer. *Second Annual National Symposium for Lactic Acid Bacteria and Health*, Korea, pp. 1938~1949.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Mizuno, M., A. Ohara, G. Danno, K. Kanazawa and M. Natake, 1987. Mutagens formed from butylated hydroxyanisole treated with nitrite under acidic conditions. *Mutat. Res.*, **176**(2), 179~184.

문범수, 김복성, 이재관, 우상규, 1973. 식품중의 Nitrosamine에 관한 연구(제 1보). 1. 식품 중의 질산염 및 아질산염의 함량. 국립보건연구원보, **10**, 277~283.

Morotomi, M. and M. Matai, 1986. *In vitro* binding of potent mutagenic pyrolyzates to intestinal bacteria. *J. Natl. Cancer Inst.*, **77**, 195~201.

Muller, R.L., H.J. Greim, H. Ruppin and W. Domschke, 1984. Nitrate and nitrite-forming-bacteria in the healthy stomach. *Micro. Theraphy*, **14**, 299~232.

Muralidhara, K. and K., Narasimhamurthyl, 1988. Non-mutagenicity of capsaicin in Albino mouse, *Food Chem. Toxicol.*, **26**(11/12), 955~958.

Nagabhusan, M. and S.V. Bhide, 1985. Mutagenicity of chili extract and capsaicin in short term tests. *Environ. Mutagen.*, **7**, 881~883.

Namiki, K., M. Yamanaka, T. Osawa and M. Namiki, 1984. Mutagen formation by nitrite-spice reactions. *J. Agric. Food Chem.*, **32**, 948~952.

National Academy Science, 1973. *Toxicants Occurring Naturally in Foods*. Second edition, Food and Nutrition Board, National Academy Sciences, National Academy Press, Washington, D.C., 624pp.

National Academy Science, 1981. *The Health Effects of Nitrate, Nitrite, and N-Nitroso Compounds*. National Academy Sciences, National Academy Press, Washington, D.C., Chapter 9, pp. 56~57.

National Dairy Council, 1990. Yogurt - its nutritional and health benefits. *Dairy*

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Counc. Digest, **61**(2), 7~11.

National Research Council, 1982. Naturally Occurring Carcinogens *In*: *Diet, Nutrition and Cancer*. National Academy Press, Washington, D.C., pp. 252~258.

Negishi, T. and H. Hayatsu, 1984. Inhibitory effect of saturated fatty acids on the mutagenicity of *N*-nitrosodimethylamine. *Mutat. Res.*, **135**, 87~96.

Neurath, G.B., M. Dunger, F.G. Pien, D. Ambrosius and O. Schreius, 1977. Primary and secondary amines in the human environmental, *Fd. Cosmat. Toxicol.*, .**15**, 275~282.

노완섭, 1980. 한국산 침채류의 발효숙성에 관여하는 효모에 관한 연구. 동국대 박사학위논문.

Nordin, H.R., 1969. The depletion of added sodium nitrite in ham. *Can Inst. Food Sci. Technol. J.*, **2**, 79~85.

Nout, M.J.R. and F.M. Romboults, 1992. Fermentative preservation of plant foods. *J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl.*, **73**, 136S~147S.

Oh, M.C., C.K. Oh and S.H. Kim, 1996. Rapid analytical method of nitrite and nitrate in fish by ion chromatography. *J. Food Sci. Nutr.*, **1**(1), 1~5.

Ohara, A., M. Mizuno, G. Danno, K. Kanazawa, T. Yoshioka and M. Natake, 1988. Mutagen formed tryptophan related with sodium nitrite in acidic solution. *Mutat. Res.*, **206**(1), 65~17.

Oliver, J.E., 1981. Pesticide-derived nitrosamines : Occurrence and environmental fate. *In*: *N-Nitroso Compounds*, R.A. Scanlan, S.R. Tannenbaum (eds), American Chemical Society, Washington, D.C., p. 349.

Olsman, W.J. and B. Krol, 1972. Depletion of nitrite in heated meat products

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

during storage. Proc. *18th Symp.*, European Meat Research Workers, Guelph, Ontario.

O'Neill, I.K., J. Chen and H. Bartsch, 1991. Relevance to human cancer of *N*-nitroso compounds, tobacco and mycotoxins. International Agency for Research on Cancer, *IARC Scientific Publications*, Lyon, **No. 105**, p. 614.

Osawa, T., H. Ishibashi, M. Namiki, M. Yamanaka, K. Namiki, 1981. Formation of mutagens by pepper-nitrite reaction. *Cancer Res.*, **91**, 291~295.

Pariza, M.W., 1992. Foods of new biotechnology *vs* traditional products: Microbiological aspects. *Food Technol.*, **46**(3), 971~973.

Park, K.Y., 1996. Antimutagenic and anticancer functions of Kimchi. *Kimchi Research Institute*, Pusan National Unversity, **2**, 71~98.

박현근, 임종락, 한홍의, 1990. 각 온도에서 김치발효 중 미생물의 천이과정. 인하대학교 기초과학연구소 논문집, **11**, 161~169.

Park, K.Y. and H.S. Cheigh, 1992. Kimchi and nitrosamines. *J. Korean Soc. Food Nutri.*, **21**(1), 109~116.

박건영, 최홍식, 1994. 김치의 항돌연변이 및 항암성. 제1회 김치의 과학, 심포지움 발표 논문집, 한국식품과학회, pp. 205~225.

박건영, 전영수, 1993. 김치 발효중 질산염, 아질산염 및 니트로소아민 생성에 관한 연구. 한국식문화연구원 논총, 제4집, 미원문화재단, pp. 332~352.

박건영, 김소희, 서명자, 정해영, 1991. 마늘의 돌연변이 억제 및 HT-29 결장암 세포의 성장 저해 효과. 한국식품과학회지, **23**(3), 370~374.

박연희, 권정주, 조도현, 김수일, 1983. 김치에서 분리한 젖산균의 미생물

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

생육 저해. 한국농화학회지, **26**(1), 35～40.

박연희, 송현주, 1991. 김치에서 분리한 *Lactobacillus plantarum* Lp2의 항균 작용. 미생물학회지, **19**(6), 637～643.

Pereira, M.A. and M.D. Khoury, 1991. Prevention by anticarcinogenic protective enzymes from broccoli. *Cancer Letters*, **61**, 27～33.

Pfeil, E. and H.U. Liepe 1973. The influence of the nitrate reductase system on the residual nitrite content in dry sausage and its dependency on external conditions. *Fleischwirtsschaft*, **53**, 1745～1747.

Probat, G.W., 1981. Reduction in nitrosamine impurities in pesticide formulations. *In*: *N-Nitroso Compounds*, R.A. Scanlan, S.R. Tannenbaum (eds), American Chemical Society, Washington, D.C., p. 363.

Przybyla, A.E., 1986. American's passion for spices. *Food Eng.*, **58**, 70～71, 74, 76～77.

Pulusani, S.R. and D.R. Rao, 1983. Whole body, liver and plasma cholesterol levels in rats fed *thermobacillus*, *bulgaricus* and *acidophilus* milks. *J. Food Sci.*, **48**, 280～281.

변재형, 정보영, 황금소, 1976. 멸치젓갈 숙성중의 dimethylamine의 생성, 한국수산학회지, **9**(4), 223～231.

Ray, B., 1992. The need for food biopreservation. *In*: *Food Biopreservatives of Microbial Origin*, B. Ray, M. Daeschel(eds.), CRC Press, London and Tokyo, pp. 1～23.

Ray, B. and W.E. Sandine 1992. Acetic, Propionic, and lactic acids of starter culture bacteria as biopreservatives. *In*: *Food Biopreservatives of Microbial Origan*, B. Ray, M. Daeschel(eds.), CRC Press, London and Tokyo, pp.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

103~123.

Reddy, G.V., B.A. Friend, K.M. Shahani and R.E. Farmer, 1983. Antitumor activity of yogurt components. *J. Food Proctet.*, **46**, 8~11.

Reddy, G.V., K.M. Shahani and M.R. Banerjiee, 1973. Inhibitory effect of yogurt on Ehrlich ascites tumor-cell proliferation. *J. Natl. Cancer Inst.*, **50**, 815~817.

Rickard, R.W., G. Walter-Echola, L.J. Lawrence and H.W. Dorough, 1982. Importance of pH in assessing the potential for nitrosocarbamate formation in the stomach. *Pesticide Biochem. Physiol.*, **18**, 325~333.

Rinkus, S.J. and M.S. Legator, 1979. Chemical characterization of 465 knowor suspected carcinogens and their correction with mutagenic activity in the *Salmonella typhimurium* system. *Cancer Res.*, **39**, 3289~3318.

Rose, D. and R. Peterson, 1953. Non-bacterial reduction of nitrite in pork. *Food Technol.*, **7**, 369~372.

Rouxel, T., A. Kollmann, L. Boulidard and R. Mithen, 1991. Abiotic elicitation of indole phytoalexins and from resistance to *Leptoshaeria maculans* within Brassica. *Planta*, **184**, 271~278.

Sasaki, S., K. Kodama, K. Uchida and H. Yoshino, 1985. Antitumor activity of *Aspergilus* cell walls. *Agric. Biol. Chem.*, **49**(4), 1219~1221.

Scanlan, R.A., 1983. Formation and occurrence of nitrosamines in food. *Cancer Res.*, **43**, 2435s~2440s.

Schuddeboom, L.J., 1993. *Nitrates and Nitrites in Foodstuffs*. Council of Europe Press, Belgium.

Sebranek, J.G., R.G. Cassens, M.L. Greaser, W.G. Hoekstra and H.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Sugiyama, 1978. Separation of water-soluble reaction products of nitrite in cured meat. *J. Food Sci.*, **43**, 638~640.

Sebranek, J.G., R.G. Cassens, M.L. Greaser, W.G. Hotchkiss and W.C. Winder, 1973. ^{15}N tracer studies of nitrite added to a communited meat product. *J. Food. Sci.*, **38**, 1220~1223.

Sen, N.P., P.A. Baddoo and S.W. Seaman, 1987. Volatile nitrosamine in cured meats packaged in elastic rubber netting. *J. Agric. Food Chem.*, **35**(3), 346~350.

Sen, N.P. and S. Seaman, 1981. Volatile *N*-nitrosamines in dried foods. *J. AOAC*, **64**(5), 1238~1242.

Sen, N.P., S. Seaman and M. Bickis, 1982a. Gas-liquid chromatographic-thermal energy analyzer determination of *N*-nitrosodimethylamine in beer. *J. AOAC*, **65**(3), 720~729.

Sen, N.P., S. Seaman and W. Tessier, 1982b. A rapid and sensitive method for the determination of non-volatile *N*-nitroso compounds in foods and human urine : Recent data concerning volatile *N*-nitrosamines in dried foods and malt-based beverages. *International Agency for Research on Cancer*, IARC of Scientific Publications, Lyon, **No. 41**, 185~197.

Shahani, K.M., 1983. Anticaricinigenic effects of lactic acid bacteria. *3th International Symposium for Lactic acid Bacteria and Health*, Korea, pp. 3~20.

Shahani, K.M. and R.C. Chandan, 1979. Nutritional and healthful aspects of cultured and culture-containing dairy foods. *J. Dairy Sci.*, **62**, 1685~1694.

Sharpe, M.E., 1979. Lactic acid bacteria in the dairy industry. *J. Soc. Dairy*

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Technol., **32**, 9~17.

Shashikanth, K.N. and A. Hosono, 1986. *In vitro* mutagenicity of tropical spices to streptomycin dependent strains of *Salmonella typhimurium*. *Agric. Food Chem.*, **50**(11), 2947~2948.

Shashikanth, K.N. and A. Hosono, 1987. Screening of streptomycin dependent strains of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* for *in vitro* detection of spice induced mutagenicity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, **20**, 91~94.

Siegel, I., T.L. Liu, E. Yaghoubzadeh, T.S. Keskey and N. Gleicher, 1987. Cytotoxic effects of free fatty acids on ascites tumor cells. *J. Natl. Cancer Inst.*, **78**, 271~277.

Smith, J.L. and A. Palumbo, 1981. Microorganisms as food additives. *J. Food Protect.*, **44**, 936.

Sneath, P.H.A., N.S. Mair and M.E. Sharpe, 1986. *Bergey's Manual of Systematic Microbiology*, Vol 2, Willams and Wilkins, Baltimore.

소명환, 김영배, 1995a. 김치에서 분리한 저온성 젖산균의 동정. 한국식품과학회지, **27**(4), 495~505.

소명환, 김영배, 1995b. 김치에서 분리한 저온성 젖산균의 배양특성. 한국식품과학회지, **27**(4), 506~515.

Sofos, J.N., F.F. Busta and C.E. Allen, 1979. Botulism control by nitrite and sorbate and cured meats: A review. *J. Food Protect.*, **42**, 739~770.

손홍수, 황우익, 1990. 마늘 지용성 성분의 암세포 증식 억제 효과 연구. 한국영양학회지, **23**, 135~147.

Speck, M.L., 1979. Reduction of nitrate and nitrite in food by lactic acid

제주대학교 중앙도서관 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

bacteria. *1st Biennial Marshall International Cheese Conference*, Madison, Wisconsin.

성낙주, 1986. 굴비가공중 *N*-nitrosamine의 생성에 관한 연구. 고려대학교 대학원 박사학위청구논문.

성낙주, 황외자, 이응호, 1988. 한국 재래식 간장의 니트로소 화합물에 관한 연구. 한국영양식량학회지, **17**(2), 125～135.

Sung, N.J., K.A. Kalusner and J.H. Hotchkiss, 1991. Influence of nitrate, ascorbic acid and nitrate reductase of microorganisms on *N*-nitrosamine formation during Korean-style soysauce fermentation. *Food Add. Contam.*, **8**(3), 291～298.

성낙주, 양한철, 1984. 굴비 가공중의 *N*-nitrosamine에 관한 연구. 1. 굴비의 가공 및 저장중 질산염, 아질산염 및 아민류의 변화, 한국수산학회지, **17**(4), 344～252

성낙주, 양한철, 이주희, 1982. 굴비가공중 *N*-nitrosamine에 관한 연구. 제1보. 시판 젓갈 중의 *N*-nitrosamine. 경상대학교 논문집, **21**(2), 145～150.

Suzuki, T. and K. Iwai, 1984. *The Alkaloids*, A. Brossi(ed.), Academic Press, New York, NY, **Vol. 23**, p. 227.

Swann, P.F. and P.N. Magee, 1968. Nitrosamine-induced carcinogenesis: The alkylation of nucleic acids of the rat by *N*-methyl-*N*-nitrosourea, dimethylnitrosamine, dimethyl sulphate and methyl methaesulphonate. *Biochem. J.*, **110**, 39～47.

Tanaka, K., T. Hirohata, S. Koga, K. Sugimachi, T. Tanematsu, F. Ohryohji, Nawata, H. Ishibashi, Y. Maeda, H. Kiyokawa, K. Tokunaga, Y. Irita, S. Takeshita, Y. Arase and N. Nishino, 1991. Hepatitis C and hepatitis B in

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

the etiology of hepacellular carcinoma in the Japanese population. *Cancer Res.*, **51**, 2842~2847.

Tanaka, N., L. Meske, M.P. Doyle, E. Traisman, D.W. Thayer and R.W. Johnston, 1985. Plant trials of bacon made with lactic acid bacteria, sucrose and lowered sodium nitrite. *J. Food Protect.*, **48**(8), 679~686.

Takemura, N. and H. Shimizu, 1978. Mutagenicity of pyrolysis products of alliin and vitamin B. *Mutat. Res.*, **54**, 255~256.

Tannenbaum, S.R. and V.R. Young, 1980. Endogenous nitrite formation in man. *J. Environ. Phatol. Toxicol.*, **3**, 357~368.

Thyagaraja, T. and A. Hosono, 1993. Antimutagenicity of lactic acid bacteria from "Idly" against food-related mutagens. *J. Food Protect.*, **56**(12), 1061~1066.

Thyagaraja, N.H., H. Otani and A. Hosono, 1991. Microflora in "Idly", a traditional fermented cereal pulse product from India. *Lebensm. Wiss. Technol.*, **24**, 504~507.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Thyagaraja, N.H., H. Otani and A. Hosono, 1992. Studies on microbiological changes during the fermentation of "Idly". *Lebensm. Wiss. Technol.*, **25**, 77~79.

Toth, B., E., Rogan and B. Walker, 1984. Tumorigenicity and mutagenicity studies with capsaicin of hot peppers. *Anticancer Res.*, **4**, 117~121.

Vorha, S.K. and G.W. Harrington, 1981. Chromatography of *N*-nitrosamines including determination of *N*-nitrosodimethylamine in cosmetic products. *Fd. Cosmat. Toxicol.*, **19**, 485~491.

Wainwright, T., P.T. Slack and D.E. Long, 1982. *N*-Nitrosodimethylamine

precursors in malt. *In*: *N-Nitroso compounds. Occurrence and Biological Effects*, H. Bartsch, I.K. O'Neil, M. Castegnari, M. Okada(eds.), IARC, IARC Scientific Publications, Lyon, **No. 41**, pp. 41～49.

Wakabayashi, K., M. Nagao, T.H. Chung, M. Yin, I. Karai, M. Ochiai, T. Tahira, and T. Sugimura, 1985a. Appearance of direct-acting mutagenicity of various foodstuffs produced in Japanese and Southeast Asia on nitrite treatment. *Mutat. Res.*, **158**, 119～124.

Wakabayashi, K., M. Nagao, T. Tahira, H. Sahito, M. Katayama, M. Marumo and T., Sugimura, 1985b. 1-Nitrosoindole-3-acetonitrile, a mutagen produced by nitrite treatment of indole-3-acetonitrile. *Proc. Japan Acad.*, **61**(B), 190～192.

Wakabayashi, K., M. Nagao, T. Tahira, Z. Yamaizumi and T. Sugimura, 1985c. A mutagen precursor in Chinese cabbage, indole-3-acetonitrile, which becomes mutagenic on nitrite treatment. *Mutat. Res.*, **143**, 17～21.

Wakabayashi, K., M. Nagao, T. Tahira, Z. Yamaizum, M. Katayama, M. Marumo and T. Sugimura, 1986. 4-Methoxyindole derivatives as nitrosable precursors of mutagens in Chinese cabbage *Mutagenesis*, **1**(6), 423～426.

Wakabayashi, K., M. Yano, M. Nagao and T. Sugimura, 1987. Presence of nitrosable mutagen precursors in heated foods(Meeting Abstract). *Mutat. Res.*, **182**(6), 383.

Walters, C.L., 1980. The exposure of humans to nitrite. *Oncology*, **37**, 289～290.

Wattenberg, L.W., 1992. Inhibition of carcinogenesis by minor dietary

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

constituents. *Cancer Res.*, **52**, 2085s~2091s.

Wattenberg, L.W. and W.D. Loub, 1978. Inhibition of polycyclic aromatic hydrocarbon induced neoplasia by naturally occurring indoles. *Cancer Res.*, **38**, 1410~1413.

Weisenberger, A.S. and J. Pensky, 1958. Tumor inhibition by a sulfhydryl-blocking agent related to an active principle of garlic(*Allium sativum*). *Cancer Res.*, **18**, 1301~1308.

White J.W., 1975. Relative significance of dietary sources of nitrate and nitrite. *J. Agric. Food Chem.*, **23**, 202~203.

Wigfield, Y.Y. and M. Lanouette, 1985. Liquid Chromatographic and gas chromatographic determination of *N*-nitrosodiethanolamine in 2,4-D diethanolamine pesticede. *J. AOAC*, **68**(6), 1142~1148.

Wolf, I.A. and A.E. Wassermann, 1972. Nitrates, nitrites, and nitrosamines. *Science*, **177**, 15~19.

Woodford, G. R.G. Cassens, M.L. Greaser and J.G. Sebrank, 1976. The fate of nitrite: Reaction with protein. *J. Food Sci.*, **41**, 585~588.

Wynder, E.L., G.D. McCoy, B.S. Reddy, L. Cohen, P. Hill, N.E. Spingarm and J.H. Weisber, 1981. Nutrition and metabolic epidermiology of cancers of the oral cavity, esophagus, colon, breast, prostate and stomach. *In*: *Nutrition and Cancer Treatment*, G.R. Newell, N.M. Ellison(eds.), Raven Press, New York, pp. 11~48.

Yamanaka, T., A. Ota and K. Okunuky, 1961. A nitrite reducing system reconstructed with purified cytochrome components of *Pseudomonas auroginosa*. *Biochim. Biophys. Acta*, **53**, 294~308.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

양희전, 권용주, 1982. 각종 김치재료와 김치 숙성중 질산염 및 아질산염에 관한 연구. 전북대학교 농대논문집, **13**, 111~120.

Yasutake, N., I. Kato, M. Ohwaki, T. Yokokura and M. Matai, 1984. Host-mediated antitumor activity of *Lactobacillus casei* in mice. *Japan. J. Cancer Res.(GANN)*, **75**, 72~80.

Yoshida, S., Y. Hirao and S. Nakagawa, 1984. Mutagenicity and cytotoxicity tests of garlic. *J. Toxicol. Sci.*, **9**, 77~86.

Youalt, J.B., 1954. Denitrification of nitrite by spices of *Achromobactor. BF. MIRA. Res. Rep.*, No. 189.

Zweig, G., S. Selim, R. Hummel, A. Mittelman, D.P. Wright, C. Law and E. Regelman, 1980. Analytical survey of *N*-nitroso contaminants in pesticides products. *In: 6th Meeting on Analysis and Fromation of N-Nitroso Compounds*, International Agency for Research on Cancer, IARC Publications, Butapest, Hungari, **Vol 31**, pp. 555~562.

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

謝 辭

오늘이 있기까지 사랑으로 이끌어 주시고 정성으로 지도해 주신 김수현 교수님께 머리 숙여 감사 드리며, 쉼 없는 학문에의 정진을 다짐합니다. 세심한 관심으로 지도해 주신 송대진 교수님, 김재하 교수님, 하진환 교수님, 고영환, 임상빈 교수님께 감사드립니다.

바쁘신 와중에도 이 논문을 상세히 검토해 주시고 지도해 주신 경상대학교 성낙주 교수님, 보건환경연구원 고용구 원장님께 깊이 감사드립니다.

깊고 넓은 배려로써 미생물의 동정에 대한 지도와 배움을 주신 효성가톨릭대학교 이신호 교수님께 감사드립니다. 미생물 동정에 물심 양면으로 도움을 주신 효성카톨릭대학교 식품공학과 미생물실험실의 임용숙, 최우정, 조옥희 선생님, 석사과정 및 학부생들에게 감사드립니다.

본 연구를 위하여 도움을 준 오명철 선생과 식품생화학실험실 석사과정 및 학부생들, 그리고 식품공학과 대학원 선·후배 여러분께 고마움을 표합니다.

기대를 버리지 않으시고 늘 지켜 봐 주신 아버님, 어머님, 여러 형님과 누님께 그리고 막내동생에게 감사드립니다.

끝으로 오늘이 있기까지 뒷바라지에 마음 고생하면서 믿음으로 지켜봐 준 유라와 충현이 엄마에게 이 자그만한 결실을 드립니다.

1997년 6월 13일

吳 昌 璟 拜

제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY