

## 기호음료 성분의 아질산염 소거작용

도정룡\* · 김선봉 · 박영호 · 박영범 · 김동수\*

부산수산대학교 식품공학과, \*한국식품개발연구원

### The Nitrite-scavenging Effects by the Component of Traditional Tea Materials

Jeong-Ryong Do\*, Seon-Bong Kim, Yeung-Ho Park, Yeung-Beom Park and Dong-Soo Kim\*

Department of Food Science and Technology, National Fisheries University of Pusan

\*Korea Food Research Institute, San 46-1 Baekhyun-Dong, Bundang-Ku, Sungnam, Kyeonggi-do, 463-420, Korea

#### Abstract

The present study was conducted to investigate nitrite-scavenging ability of the components of traditional tea materials in Korea. The nitrite-scavenging ability was appeared in all the samples examined. Ethanol soluble fractions obtained from water soluble fractions of *Cassia torae* semen, *Perilla* semen, *Acatopanacis cortex* and *Zingiberis rhizoma* exhibited higher the nitrite-scavenging effect than ethanol precipitate fractions. While opposite results were obtained from those of *Zizyphi fructus*, *Chaenomelis fructus* and *Schizandrae fructus* in the nitrite-scavenging effect.

Key words: nitrite-scavenging ability, water soluble fraction, ethanol soluble fraction, traditional tea materials

#### 서 론

수산물이나 식육제품 등에 첨가되고 있는 아질산염은 *Clostridium botulinum*의 생육 및 독소의 생성을 억제할 뿐만 아니라<sup>(1)</sup> 육색소인 myoglobin과 작용함으로써 nitrosyl hemochrome을 생성하여 발색을 양호하게 하며<sup>(2)</sup> 아울러 육제품의 독특한 풍미를 증가시키고, 지방의 산패를 억제함으로써 저장중 산패취 발생을 지연시키는 것으로 알려져 식품의 가공 및 저장에 널리 이용되고 있다.

그런데, 아질산염은 그 자체가 독성을 나타내어 일정 농도 이상 섭취하게 되면 혈액중의 헤모글로빈이 산화되어 메트헤모글로빈을 형성하여 메트헤모글로빈증 등 각종 중독을 일으키는 것으로 알려져 있다<sup>(3)</sup>. 또한 단백질 식품이나 의약품 및 잔류 농약 등에 존재하는 2급 및 3급아민 등의 아민류와 반응하여 니트로사민을 생성하는 것으로 보고되고 있는데<sup>(4)</sup>, 이들 니트로사민은 동물 실험결과 대부분이 발암성을 나타내는 물질로 밝혀짐으로써 주목을 끌게 되었다.

그리고 니트로사민의 전구물질인 아질산염과 아민이 식품내의 상재 성분으로 널리 존재하고 있으므로 이들을 함유하고 있는 음식을 동시에 섭취했을 때, 위내에서

니트로사민이 생성될 가능성이 매우 높다. 이와 관련하여 니트로사민의 생성을 억제하기 위하여 많은 연구가 진행되었는데, Mirvish 등<sup>(5)</sup>에 의해 ascorbic acid의 니트로사민 생성억제능이 최초로 밝혀진 이래, 여러 연구자들에 의하여 ascorbic acid의 니트로사민의 생성 억제능이 보고되었다<sup>(6,7)</sup>. 또한, 식품성분 상호간의 반응 생성물에 의한 억제효과도 밝혀져 Kato 등<sup>(8)</sup>에 의해 Maillard 반응 생성물인 melanoidin도 니트로사민 생성 억제효과가 있는 것으로 알려졌으며, Cooney와 Ross<sup>(9)</sup>는 케놀화합물의 니트로화 반응에 미치는 영향에 대하여 발표하였는데 phenol, guaiacol, 그리고 resorcinol은 니트로소화반응을 강력하게 억제한다고 보고하였다. 그리고, 천연물에 의한 아질산염 소거작용에 대한 연구는 해조 추출물<sup>(10)</sup> 및 야채 추출물<sup>(11)</sup>에 관한 보고가 있으며, Normington 등<sup>(12)</sup>은 중국오얏에서 분리한 3-hydroxy-2-pyrone이 아질산염을 분해함으로써 니트로소화 반응을 억제한다고 보고하였다. 본 연구에서는 기호음료 소재로 이용되고 있거나 앞으로 이용할 가능성이 있는 여러가지 재료를 대상으로 여러가지 획분으로 분획하여 아질산염 소거작용을 조사하였다.

#### 재료 및 방법

##### 실험재료

본 실험에 사용한 시료 가운데 결명자, 대추, 들깨는 부산에 소재한 대연시장에서 구입하였으며, 모과, 생강,

Corresponding author: Jeong-Ryong Do, Korea Food Research Institute, San 46-1 Baekhyun-Dong, Bundang-Ku, Sungnam, Kyeonggi-do 463-420, Korea

**Table 1. List of samples**

Common name	Korean name	Scientific name	Effective part
Cassiae torae semen	Gyeolmyeongja	<i>Cassia tora</i> L.	Seed
Perilla semen	Deulggae	<i>Perilla frutescens</i> Brit	〃
Schizandrae fructus	Omija	<i>Schizandra chinensis</i> Baillon	〃
Zizyphi fructus	Daechu	<i>Zizyphus sativa</i> Gaertner	Fruit
Chaenomeles fructus	Mogwa	<i>Chaenomeles sinensis</i> Koehne	〃
Acanthopanax cortex	Ogalpi	<i>Acanthopanax sessiliflorum</i>	Cortex
Zingiberis rhizoma	Saenggang	<i>Zingiber officinale</i> Rosc	〃

오갈피, 오미자는 한약 재료상에서 구입하여 실험에 사용하였으며, 이들을 정리하여 Table 1에 나타내었다.

본 실험에 주로 사용한 시약은 NaNO<sub>2</sub>(Shinyo pure Chemicals Co.), sulfanilic acid(Hayashi pure chemical Industries), 1-naphthylamine(Merck)을 사용하였다.

**실험방법**

시료의 조제 : 결명자, 들깨, 대추, 모과, 오미자, 오갈피, 생강은 분쇄한 분말 10g에 증류수 200 ml를 넣고 60℃에서 진탕시키면서 12시간 추출하였다. 이 추출물을 8,000 rpm에서 20분간 원심분리(Hitachi 20PR-5)하고 동양여지 No.2를 사용하여 감압여과함으로써 수용성 획분을 얻었다. 여기에 3배량의 에탄올을 첨가하여 1시간 이상 방치한 후 10,000 rpm에서 20분간 원심분리하여 에탄올 가용성 획분과 에탄올 침전 획분으로 나누었다. 에탄올 침전 획분은 100℃에서 건조하여 시료로 하였으며, 수용성 획분과 에탄올 가용성 획분은 진공동결 건조하여 시료로 하였다.

**아질산염 소거작용**

시료의 아질산염 소거작용은 김 등<sup>(10)</sup>의 방법에 따랐다. 즉 1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액 1 ml에 소정 농도의 시료를 첨가하고 여기에 0.1 N HCl(pH 1.2)과 0.2 M 구연산 완충액(pH 3.0, 4.2 그리고 6.0)을 사용하여, 반응 용액의 pH를 각각 1.2, 3.0, 4.2 및 6.0으로 조정하여 반응용액의 부피를 10 ml로 하였다. 이렇게 한 다음 37℃에서 1시간 동안 반응시켜서 얻은 반응용액을 각각 1 ml씩 취하고 여기에 2% 초산 용액 5 ml를 첨가한 다음, Griess 시약(30% Acetic acid로 각각 조제한 1% sulfanilic acid와 1% naphthylamine을 1 : 1비로 혼합한 것, 사용직전 조제) 0.4 ml를 가하여 잘 혼합시킨 다음 실온에서 15분간 방치시킨 후 분광광도계(Shimadzu-140-20)를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하고 아래식에 의하여 아질산염 소거율을 구하였다.

$$N(\%) = \left(1 - \frac{A-C}{B}\right) \times 100$$

N : 아질산염 소거율

A : 1 mM NaNO<sub>2</sub> 용액에 시료를 첨가하여 1시간 방

**Table 2. Yields of water-soluble extracts obtained from favorite beverage materials**

Samples	Yield, %
Cassiae torae semen, <i>Cassia tora</i> L.	19.6
Perilla semen <i>Perilla frutescens</i> Brit	9.9
Zizyphi fructus <i>Zizyphus sativa</i> Gaertner	61.2
Chaenomeles fructus <i>Chaenomeles sinensis</i> Koehne	37.7
Schizandrae fructus, <i>Schizandra chinensis</i> Baillon	47.6
Acanthopanax cortex, <i>Acanthopanax sessiliflorum</i> seeman	15.2
Zingiberis rhizoma <i>Zingiber officinale</i> Rosc	12.5

치시킨 후의 흡광도

B : NaNO<sub>2</sub> 용액의 흡광도

C : 시료자체의 흡광도

**전자공여작용**

최 등<sup>(13)</sup>의 방법으로 전자공여작용을 측정하였다. 즉, 전자공여작용은 각 시료 0.2 ml에 4×10<sup>-4</sup> M DPPH 용액(99.9% ethanol에 용해) 0.8 ml씩을 가한 후 vortex mixer로 10초간 진탕하여 10분 후 분광광도계를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하였다. 전자공여효과는 시료 첨가구와 첨가하지 않은 경우의 흡광도를 측정하고 아래식에 의하여 전자공여작용을 측정하였다. 즉

$$EDA(\%) = \left(1 - \frac{\text{시료 첨가시의 흡광도}}{\text{공 시험의 흡광도}}\right) \times 100$$

**결과 및 고찰**

기호음료의 원료가 되고 있는 결명자, 들깨, 대추, 모과, 오미자, 오갈피, 생강의 아질산염 소거율을 조사하였다. Table 2는 시료로 사용한 기호음료 원료의 수용성 획분의 수율을 나타내고 있다. 수율이 큰 순서를 보면, 대추>오미자>모과>결명자>오갈피>생강>들깨로 나타났다. 이들 7종류의 수용성 성분을 75%의 에탄올에서 침전하는 성분과 용해하는 성분을 나누어 아질산염 소거작용을 조사해 본 결과는 Table 3에 나타내었다. 에탄올 침전획분의 아질산염 소거율은 대추>모과>오미자>오갈피>생강>들깨>결명자의 순으로 나타났으며,

**Table 3. Nitrite-scavenging effect of each fraction obtained from favorite beverage materials**

Samples	Nitrite-scavenging ratio, %		
	Water-solubles	Ethanol-solubles	Ethanol-precipitates
Cassiae torae semen, <i>Cassia tora</i> L.	52.5	67.9	21.5
Perilla semen <i>Perilla frutescens</i> Brit	71.3	74.0	24.5
Zizyphi fructus <i>Zizyphus sativa</i> Gaertner	74.0	80.5	97.1
Chaenomelis fructus <i>Chaenomeles sinensis</i> Koehne	54.0	23.3	55.9
Schizandrae fructus, <i>Schizandra chinensis</i> Baillon	59.1	43.3	55.9
Acanthopanax cortex, <i>Acanthopanax sessiliflorum</i> seeman	92.1	98.0	46.0
Zingiberis rhizoma <i>Zingiber officinale</i> Rosc	71.7	52.3	43.8

\*Nitrite was incubated with each extracts (10 mg) at 37°C for 1 hr under pH 1.2

**Table 4. Nitrite-scavenging effects of ethanol-precipitate fraction obtained from Zizyphi fructus**

pH	Nitrite-scavenging ratio, %		
	2 mg	5 mg	10 mg
1.2	30.2	48.8	97.1
4.2	10.6	11.0	12.8
6.0	5.8	7.0	9.3

**Table 5. Nitrite-scavenging effects of ethanol-soluble fraction obtained from Acanthopanax cortex**

pH	Nitrite-scavenging ratio, %		
	2 mg	5 mg	10 mg
1.2	38.9	61.6	98.0
4.2	7.2	9.1	9.8
6.0	6.1	7.3	8.7

에탄올 가용성 획분의 아질산염 소거율은 오갈피>대추>들깨>결명자>생강>오미자>모과의 순으로 나타났다. 그리고, 대추, 모과, 오미자는 에탄올 침전 획분이 에탄올 가용성 획분보다 아질산염 소거율이 높았고, 결명자, 들깨, 생강, 오갈피는 에탄올 가용성 획분이 에탄올 침전 획분보다 아질산염 소거율이 높은 것으로 나타났다.

에탄올 침전획분 가운데 아질산염 소거율이 가장 높게 나타난 대추의 에탄올 침전획분을 사용하여 아질산염 소거작용을 각각 다른 농도, pH에서 아질산염 소거율을 측정된 결과 농도가 높을수록 아질산염 소거율이 높게 나타났다(Table 4). Ascorbic acid, cysteine, hydroquinone 및 nicotinamide adenine dinucleotide와 같은 환원성 물질을 아질산염과 산성조건하에서 반응시키면 아질산염의 일부는 이들 물질에 의해 nitric oxide(NO)로 전환된다고 보고하고 있으며, 이때의 반응속도는 수소이온 농도에 관해서는 1.5차로 비례하여 진행된다는 Fox와 Ackerman<sup>(14)</sup>의 보고와 경향이 일치한다. 그리고 에탄올 가용성 획분 가운데 아질산염 소거율이 가장 높게 나타난 오갈피의 에탄올 가용성 획분의 아질산염 소거작용을 조사하여 Table 5에 나타내었는 바, 대추의 에탄올 침전획분과 동일한 경향을 나타내었다.

Kato 등<sup>(15)</sup>은 갈변반응 생성물인 melanoidin의 아질산염 소거효과를 밝히고 있는데, 기호음료 원료에서 추출한 수용성 성분과 수용성 성분에서 분획한 에탄올 가용성 획분과 에탄올 침전 획분의 갈변도는 Table 6에 나타나 있는 바, 이들 중에 존재하는 갈색 성분과 건조시킬 때 일어난 갈변 정도를 나타내고 있다. 수용성 성분과 에탄올 가용성 성분의 갈변도는 결명자가 가장 높게

나타났고, 에탄올 침전획분에서는 대추가 가장 높게 나타나 아질산염 소거율과는 경향이 일치하지 않는 것을 볼 때 갈변반응 생성물에 의한 영향은 크지 않은 것으로 생각된다. 그리고 이들 기호음료 원료에서 추출한 각 획분의 280 nm에서의 흡광도를 조사하여 Table 7에 나타내었는데, 모과가 가장 낮은 9.0에서, 오갈피는 67.5로 상당히 높은데, 이 결과를 통하여 오갈피의 수용성 성분 가운데는 방향족 화합물의 함량이 상당히 많은 것을 알 수 있다. 일반적으로 에탄올 침전 획분보다 에탄올 가용성 획분의 흡광도가 높은 것을 볼 때 방향족 화합물이 에탄올 가용성 획분에 주로 존재한다는 것을 알 수 있었다.

환원성 물질을 아질산염과 산성조건하에서 반응시키면, 이때의 반응속도는 환원성 물질에 의해서는 0.5차로 비례하여 진행된다고 보고되어 있는데<sup>(14)</sup> 본 실험에 사용한 시료 추출물 중에 함유되어 있는 환원성 물질의 관여도 클 것으로 생각되어 전자공여작용을 조사해 본 결과(Table 8), 기호음료 소재에서 추출한 획분은 모두가 전자공여작용을 나타내었으며, 특히 낮은 농도에서도 전자공여작용이 뛰어난 오갈피의 경우에는 아질산염 소거작용 또한 뛰어났다.

## 요 약

전통기호음료성분의 기능특성을 조사하기 위한 연구의 일환으로 결명자, 들깨, 대추, 모과, 오미자, 오갈피 및 생강 추출물을 여러가지 획분으로 분획하여 아질산염 소거작용을 조사한 결과, 본 실험에 사용한 시료는 모두

**Table 6. The browning intensities of each fraction obtained from favorite beverage materials**

Samples	Absorbance at 420 nm*		
	Water-solubles	Ethanol-solubles	Ethanol-precipitates
Cassiae torae semen, <i>Cassia tora</i> L.	8.1	8.8	5.6
Perilla semen <i>Perilla frutescens</i> Brit	3.1	0.4	3.5
Zizyphi fructus <i>Zizyphus sativa</i> Gaertner	4.7	2.7	6.8
Chaenomeles fructus <i>Chaenomeles sinensis</i> Koehne	0.7	0.2	0.5
Acantopanacis cortex, <i>Acanthopanax sessiliflorum</i> seeman	3.2	0.5	1.6
Schizandrae fructus, <i>Schizandra chinensis</i> Baillon	2.8	1.6	3.8
Zingiberis rhizoma <i>Zingiber officinale</i> Rosc	1.4	1.2	1.5

\*The concentration of sample prepared was adjusted one percent

**Table 7. The UV absorbance of each fraction obtained from favorite beverage materials**

Samples	Absorbance at 280 nm*		
	Water-solubles	Ethanol-solubles	Ethanol-precipitates
Cassiae torae semen, <i>Cassia tora</i> L.	42.5	64.0	16.6
Perilla semen <i>Perilla frutescens</i> Brit	24.3	26.0	18.0
Zizyphi fructus <i>Zizyphus sativa</i> Gaertner	29.5	27.8	38.0
Chaenomeles fructus <i>Chaenomeles sinensis</i> Koehne	9.0	4.5	5.8
Acantopanacis cortex, <i>Acanthopanax sessiliflorum</i> seeman	67.5	16.0	12.0
Schizandrae fructus, <i>Schizandra chinensis</i> Baillon	33.5	26.0	20.0
Zingiberis rhizoma <i>Zingiber officinale</i> Rosc	15.5	17.0	7.0

\*The concentration of sample prepared was adjusted one percent

**Table 8. Electron donating abilities of each fraction obtained from favorite beverage materials**

Samples	Electron donating ability, %		
	Water-solubles	Ethanol-solubles	Ethanol-precipitates
Cassiae torae semen	29.7	33.7	12.1
Perilla semen	62.6	53.5	11.9
Zizyphi fructus	38.9	29.1	45.0
Chaenomeles fructus	55.4	23.3	57.5
Schizandrae fructus	37.6	25.6	27.3
Acantopanacis cortex	69.4	65.7	32.9
Zingiberis rhizoma	45.6	31.4	8.8

\*The concentration of sample prepared was adjusted 100 ppm

아질산염 소거작용이 있었으며, 수용성 획분을 에탄올 가용성 획분과 에탄올 침전획분으로 분획하였을 때, 결명자, 들깨, 오갈피, 생강의 경우에는 에탄올 가용성 획분이 에탄올 침전획분보다 아질산염 소거작용이 뛰어나며 대추, 모과, 오미자의 경우에는 그 반대의 경향을 나타내었다. 시료 추출물 중에 함유되어 있는 환원성 물질의 관여도 클 것으로 생각되어 전자공여작용을 조사해 본 결과, 기호음료 원료에서 추출한 수용성 획분의 전자공여 작용은 오갈피>들깨>모과>생강>대추>오미자>결명자의 순으로 나타났으며, 에탄올 침전획분과 에탄올 가용성 획분의 전자공여효과도 아질산염 소거효과

와 경향이 일치하였다.

## 문헌

1. Pivnick, H., Rubin, L.J., Barnett, H.W., Nordin, H.R., Ferguson, P.A. and Perrin, H.: Effect of sodium nitrite and temperature on toxinogenesis by *Clostridium botulinum* in perishable cooked meats vacuum-packed in air-impermeable plastic pouches. *Food Technology*, 21, 100(1967)
2. Fox, J.B.: The chemistry of meat pigments. *J. Agric. Food Chem.*, 14, 207(1966)
3. Peter, F.S.: The toxicology of nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *J. Sci. Food Agric.*, 26, 1761(1975)
4. Crosby, N.T. and R. Sawyer: N-nitrosamines: A review of chemical and biological properties and their estimation in foodstuffs. "Advances in food research" (C.O. Chichstered.), Academic press, 21, 1(1976)
5. Mirvish, S.S.: Kinetics of dimethylamine nitrosation in relation to nitrosamine carcinogenesis. *J. Nat. Cancer Inst.*, 44, 633(1970)
6. Archer, M.C. and Weisman, M.: Reaction of nitrite with ascorbate and its relation to nitrosamine formation. *J. Nat. Cancer Inst.*, 54(5), 1203(1975)
7. 河端俊治, 赤築秀憲, 石橋 亨: N-ニトロソジメチルアミン生成に對する L-アスコルビン酸の添加效果. *日本誌*, 40(12), 1251(1974)
8. Kato, H., Lee, I.E., Chuyen, N.V., Kim, S.B. and Hayase, F.: Inhibitory of nitrosamine of formation by non-dialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.*, 51(1), 1333

- (1987)
9. Cooney, R.V. and Ross, P.D.: N-nitrosation and N-nitration of morpholine by nitrogen dioxide in aqueous solution: Effects of vanillin and related phenols. *J. Agric. Food Chem.*, **35**, 789(1987)
  10. 김선봉, 안방원, 염동민, 이동호, 박영호, 김동수 : 천연 식품성분에 의한 발암성 니트로사민생성인자 분해작용, 2. 해조추출물의 아질산염 분해작용. 한국수산화회지, **20**(5), 469(1987)
  11. 김동수, 안방원, 염동민, 이동호, 김선봉, 박영호 : 천연 식품성분에 의한 발암성 니트로사민생성인자 분해작용, 1. 야채추출물의 아질산염 분해작용. 한국수산화회지, **20**(5), 463(1987)
  12. Norminton, K.W., Baker, I., Molina, M., Wishnok, J.S., Tannenbaum, S.R. and Puju, S.: Characterization of a nitrite scavenger 3-hydroxy-2-pyranone, from chinese wild plum juice. *J. Agric. Food Chem.*, **34**, 215 (1986)
  13. 최진호, 오성기 : 고려인삼의 노화억제작용에 관한 연구. 한국식품과학회지, **17**(6), 506(1985)
  14. Fox, J.B. and Ackerman, S.A.: Formation of nitric oxide myoglobin: mechanisms of the reaction with various reductants. *J. Food Sci.*, **33**, 364(1968)
  15. Kato, H., Lee, I.E., Chuyen, N.V., Kim, S.B. and Hayase, F.: Inhibitory of nitrosamine of formation by non-dialyzable melanoidins. *Agric. Biol. Chem.*, **51**(5), 1333 (1987)

---

(1993년 8월 6일 접수)