

有害性 食品着色料의 螢光檢査

濾紙吸着을 이용한 螢光分析法的 확립

李 美 淳

(德成女子大學 食品營養學科)

(1981년 3월 6일 수리)

Fluorescence Analysis of Harmful Food Colors

Establishment of Fluorescence Assay Method by the Use
of Filter Paper Adsorption

Mie-Soon Lee

Department of Food and Nutrition, Duksung Women's College, Seoul 132

(Received March 6, 1981)

Abstract

A rapid and simple method for detecting colors was attempted on the basis of absorption and emission spectra of reflected light at 45° angle from color-adsorbed filter paper illuminated by ultraviolet light through interference filter. Absorption spectra of prepared samples revealed more characteristic patterns than emission spectra. Detection of colors was readily accomplished by the investigation of wave length range, distribution pattern, the number of absorption bands and the degree of quenching.

序 論

食品의 色은 食品의 質의 特性을 좌우하는 중요한 요인의 하나이므로 食品工業의 發達과 더불어 食品의 天然色을 補完 또는 美化하기 위하여 人工着色料가 널리 이용되어 오고있다. 오늘날 法的 規制하에 食品添加를 위하여 허용되고 있는 合成 着色料는 대부분이 타르系 色素이다⁽¹⁾.

타르色素은 원래 捺染이 목적이며 제조도중에 不純物이 함유될 가능성이 많고 모두 有毒하므로 허용된 食用色素라도 사용에 주의하여야 한다. 이러한 이유로 허용 타르色素은 나라마다 그 종류에 차이가 많으며 과거에 허용되었던 品目중에도 毒性이 크다고 判明되어 사용금지된 종류가 상당수 있다⁽¹⁾.

허용된 法定色素 이외에, 色이 보다 선명하고 가격

이 저렴할뿐만 아니라 사용이 간단하며 손쉽게 구할수 있는 有害性 工業用色素가 일부 비양심적인 무허가 食品제조업자들에 의하여 구분별하게 사용되어 종종 사회의 汚의를 일으키고 있다.

食品의 鑑別 또는 食品방부제의 檢査를 위한 새로운 螢光分析 方法的 확립에 관하여는 前報⁽²⁻⁴⁾에서 이미 보고된바 있다. 보편적으로 행해지는 螢光分析⁽⁵⁻⁷⁾과는 다르게, 長波長側 및 短波長側 領域의 UVSL-25 mineralight를 照射하였을때 流動 과라핀에 懸濁된 粉末狀의 食品 또는 방부제 自體의 吸收 및 發光 스펙트럼을 對照 比較하여 본 결과 그 패턴이 매우 특징적이었다.

本 研究에서는 食品에 함유될 우려가 있는 有害性 工業用 色素와 허용된 食用 타르色素중 赤色系統 1~2種 色을 대상으로 하여 보다 조작성이 간편한 螢光分析 方法을 試圖하여 보았다. 色素의 水溶液을 吸着시켜 乾

燥한 濾紙에 紫外線을 照射시키다음 45° 反射角에서 發光 및 消光의 세기를 측정하여 色素를 鑑別하는 方法이다.

궁극적으로 本 研究의 목적은 위의 方法이 着色料의 分析 및 純度판정에 有效수단이 될수있는지 여부와 따라서 有害性 着色料를 檢査하는 方法이 될수 있는지를 조사하려는 것이다. 이러한 方法은 처음 試圖된것으로 有效한 方法임이 판명된다면 分析의 간편성 때문에 앞으로 色素뿐만 아니라 많은 物質에 대한 檢出과 分析에 이용될 수 있을것으로 생각된다.

材料 및 方法

勵起光源으로서 200 Watt 水銀燈(Oriel Corporation, USA)을 사용하였다. 이 燈의 發光 스펙트럼은 紫外線 領域에서 많은 線 스펙트럼을 가지고 있다. 許容動作電壓은 50~65 VDC이지만 本 實驗에서는 50 V로 하였다. 燈에서 50cm거리의 1cm²당 放射 에너지는 特定波長에 따라 다른데 本 實驗에서는 3130 Å과 3650 Å 干涉필터(Oriel Corporation, USA)를 사용하였으므로 이 領域에서의 單位面積當 放射 에너지는 1.8~5.5 micro watts/cm²범위였다.

干涉필터를 사용한 목적은 3130 Å과 3650 Å의 紫外線에 대한 螢光 및 消光상태를 조사하기 위해서였다. 干涉필터의 특성을 보면 半值幅이 약 100 Å정도이고 透過 에너지는 약 15% 정도로서 光에너지가 透過후 상당히 약해졌음을 알수있다. 이 에너지도 monochromator의 slit와 光學系에서 다시 吸收되므로 出力 反射 에너지는 더욱 약해졌으리라는 것을 짐작할 수 있다.

濾紙는 그 자체가 약간의 螢光이 있는데 本 實驗에서는 均質의 크로마토그래피 分析用 Toyo filter paper No.51(Toyo Roshi Kaisha, Ltd., Japan)을 크기가 2.6 cm×16.7 cm되게 리본狀으로 절단하여 사용하였다. 준비된 濾紙는 一定한 농도의 色素 水溶液을 완전히 吸着시키다음 乾燥시켜 窒쇠로 제작한 삼각형 sample holder에 끼우고 紫外線을 照射하였다.

試料로 사용한 着色料는 食用色素赤色 제 2號 및 3號(보라향료 및 남염상사 제품)과 工業用色素인 congo red (C.I. 22120, Direct red 28; 이화산업 및 금아화학제품)였다.

色素를 吸着한 濾紙에서 45° 角度에서 檢出한 빛은 0.25 meter Ebert Monochromator (Model 82-410; Jarrell-Ash Division of Fisher Scientific Co., USA)를 거친다음 光電子倍增管(RCA 5819; 光電面分光感度曲線은 S11)에 의하여 電氣信號로 변환시켰다. 이것을 增幅한 다음 記錄計(Model EPR-3T; 日本 東亞電

波)에 記錄시켰다.

結果 및 考察

먼저 着色되지 않은 濾紙에 3130 Å과 3650 Å의 紫外線을 照射하였을때 종이면에서 45° 反射角의 波長特性은 Fig. 1과 같다. 그중 3130 Å의 干涉필터에 의한 波長特性을 보면 3300 Å, 3700 Å, 4160 Å, 6300 Å, 6700 Å, 7300 Å에서 피크값을 가진 發光이 있음을 볼수있으며 3650 Å의 干涉필터를 통한것 3700 Å과 7240 Å에서 강한 輝線 스펙트럼이 나타난다. 이것을 약 100배 增幅해서 보면 이 사이에 4개의 發光帶가 있음을 알수 있다.

本 實驗은 Fig. 1에서 나타난 Toyo filter paper No.51의 螢光 에너지에 相當量 試料의 螢光 에너지가 加算되는 패턴과 濾紙가 가진 본래의 螢光이 色素의 존재에 의해서 消失되는 패턴을 찾아내므로써 着色料를 檢出하는 方法을 모색하려는 것이다.

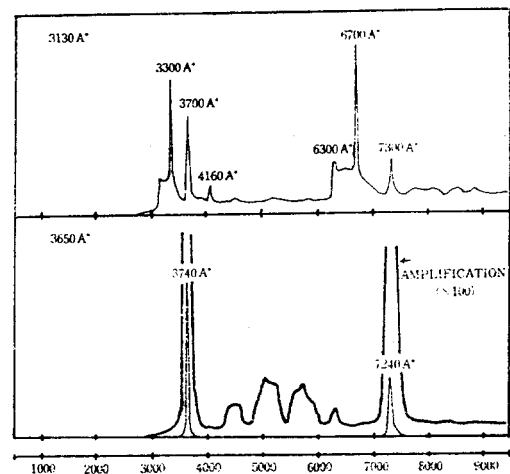


Fig. 1. Typical reflected light of Toyo No. 51 filter paper through 3130 Å interference filter (upper) and 3650 Å interference filter (lower)

일반적인 螢光分析⁽⁵⁻⁷⁾은 無螢光 내지 弱螢光性 物質을 發螢光性 誘導體로 變換시켜서 分析하는 것이거나 또는 有機化合物의 螢光이 제 3 物質의 존재에 의해서 消失되는것을 이용한 螢光消失分析이다.

그러나 本 實驗에서 試圖하는 方法의 특징은 濾紙 자체가 내는 螢光을 표준으로 하여, 色素를 吸着, 乾燥시킨 濾紙에 特定波長의 紫外線을 照射하였을때 여기서 나오는 反射光, 散亂光, 螢光의 스펙트럼을 조사하므로써 제 3 物質의 添加나 또는 發螢光誘導體로 試料

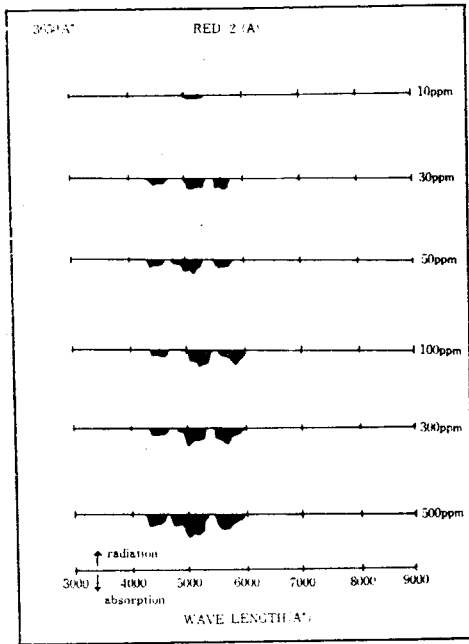


Fig. 2(a). Absorption and radiation spectra of food color red 2 of Bolak Perfumery Co., Ltd. at the illumination of 200 watt mercury lamp through 3650 Å interference filter

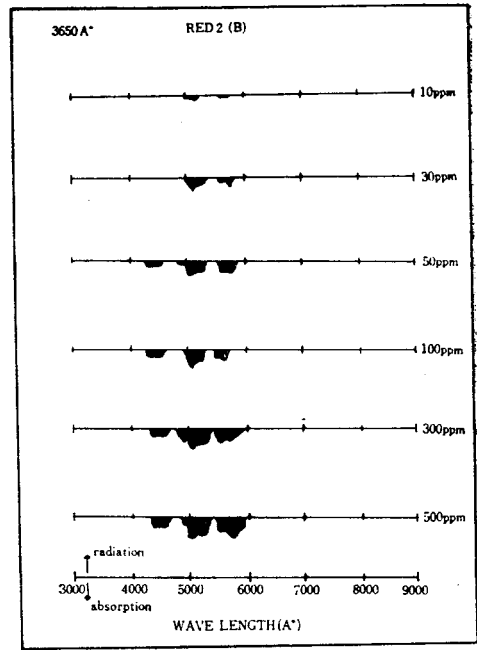


Fig. 2(b). Absorption and radiation spectra of food color red 2 of Nam-Yung Colors Co. at the illumination of 200 watt mercury lamp through 3650 Å interference filter

들 변화시키는 일이 없이 동시에 두가지 分析法이 적용되는 것이라고 볼수있다.

앞으로 나오는 그림들은 모두 Fig. 1에서 나타난 濾紙로부터 나오는 螢光에 겹쳐지는 色素의 螢光분과 消失되는 빛의 量을 빼내어 그린 것이다. 그러므로 단독으로 존재할때의 色素가 내는 螢光이나 빛의 吸收와는 다른 것이다.

Fig. 2~4는 전술한 바에 따라 처리한 色素의 發光 및 吸收상태중 3650 Å의 干涉濾紙를 통과한 紫外線을 照射하였을 때의 波長特性을 보여준다.

食用色素 赤色 제 2號(A)의 경우 發光帶는 없으며 4200~6000 Å 領域에서 吸收帶를 가지는 것을 볼수있다. 이 領域내에서 농도가 10 ppm인 경우에는 5000~5250 Å 領域에서 하나의 미약한 吸收帶가 나타나는 것을 볼수있는데 30 ppm의 경우엔 吸收帶가 3개 나타난다. 그밖에 50~500 ppm범위에서는 4200~6000 Å 領域에 걸쳐 3개의 吸收帶를 가지는데 농도에 비례하여 吸收의 정도가 커짐을 볼수있다(Fig. 2(a)).

제조회사가 다른 食用色素 赤色 제 2號(B)의 경우(Fig. 2(b)), 이 제품도 역시 微少한 차이는 있으나 Fig. 2(a)와 비슷한 패턴과 吸收의 크기를 보여줌을

알수있다.

Fig. 3은 食用色素 赤色 제 3號의 波長特性을 보여준다. 이 경우에도 역시 色素 제조회사에 따라 약간의 차이는 있으나 동일 패턴을 가짐을 알수있다. 이 色素의 경우 10 ppm 농도에서는 4400~5800 Å 領域에 3개의 吸收帶가 나타나는데 농도가 높아짐에 따라 長波長側 吸收帶만이 길어지며 또한 吸收의 정도도 커짐을 알수있다.

Fig. 4에 의하면 工業用 色素인 congo red의 경우는 10~100 ppm범위에서 4250~5800 Å 사이에 3개의 吸收帶를 가지지만 300~500 ppm 범위의 농도에서는 4250~6300 Å 領域에서 4개의 吸收帶가 나타남을 볼수있다. 이 경우에도 역시 色素의 농도가 증가함에 따라 비례적으로 吸收의 정도가 커진다.

동일한 농도에서 吸收의 정도는 工業用 色素가 비교적 큰 것으로 나타났으며 300 ppm, 500 ppm에서는 短波長側의 3개 吸收帶가 연결된 모양을 가짐을 알수있다.

Fig. 5~7은 3130 Å의 干涉濾紙를 통한 紫外線을 照射하였을 때의 波長特性을 보여준다. 이 그림들을 보면 기본적으로 다같이 3200~3400 Å과 6200~6700 Å의 두 領域에서 吸收帶가 나타나는데 농도가 높아짐에 따

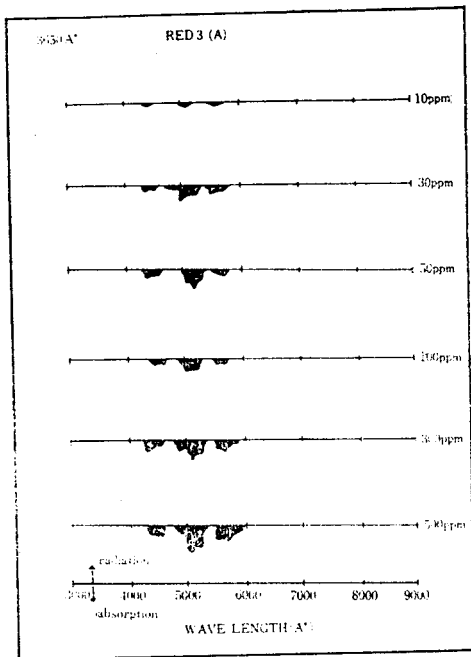


Fig. 3(a). Absorption and radiation spectra of food color red 3 of Bolak Perfumery Co., Ltd. at the illumination of 200 watt mercury lamp through 3650 Å interference filter

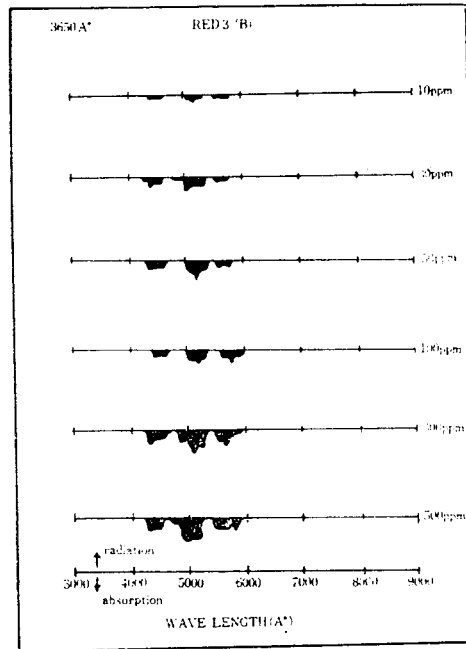


Fig. 3(b). Absorption and radiation spectra of food color red 3 of Nam-Yung Colors Co. at the illumination of 200 watt mercury lamp through 3650 Å interference filter

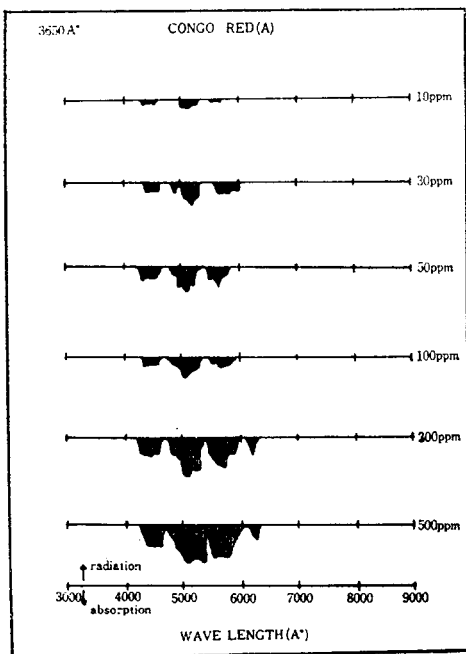


Fig. 4(a). Absorption and radiation spectra of commercial dye congo red of Rifa Industrial Co., Ltd. at the illumination of 200 watt mercury lamp through 3650 Å interference filter

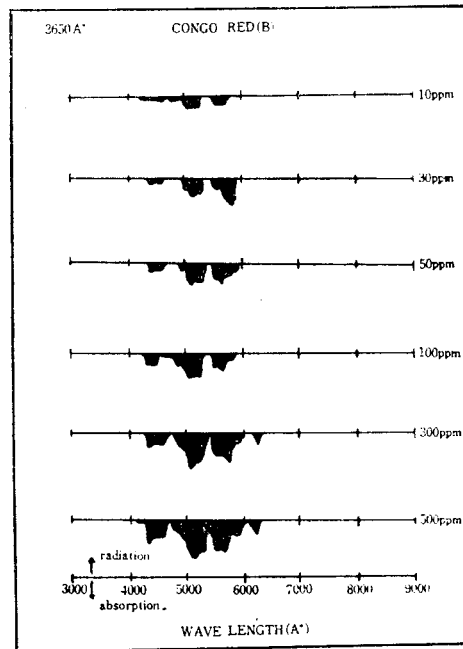


Fig. 4(b). Absorption and radiation spectra of commercial dye congo red of Rifa Industrial Co., Ltd. at the illumination of 200 watt mercury lamp through 3650 Å interference filter

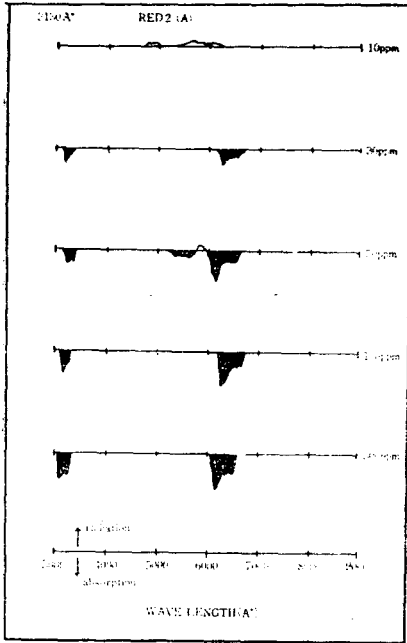


Fig. 5(a): Absorption and radiation spectra of food color red 2 of Bolak Perfumery Co., Ltd. at the illumination of 200 watt mercury lamp through 3130 Å interference filter

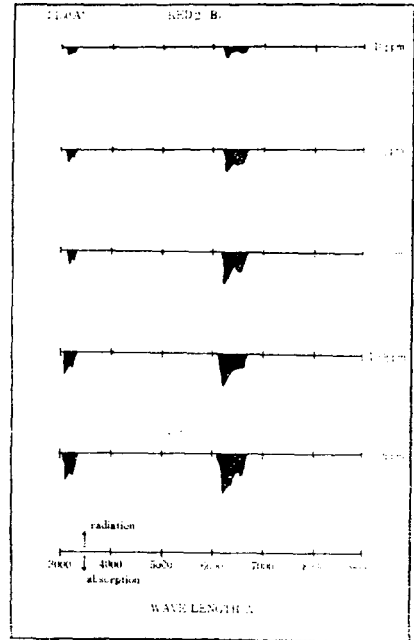


Fig. 5(b). Absorption and radiation spectra of food color red 2 of Nam-Yung Colors Co. at the illumination of 200 watt mercury lamp through 3130 Å interference filter

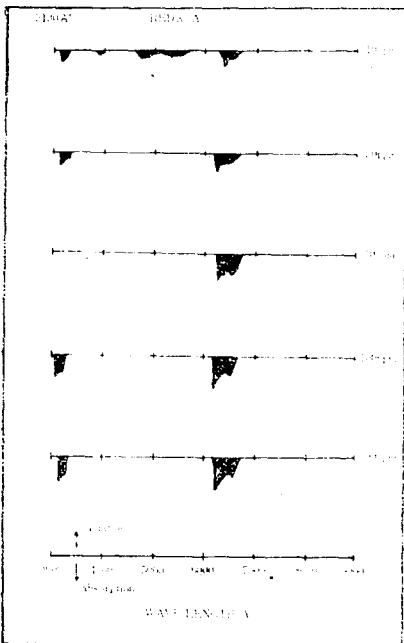


Fig. 6(a). Absorption and radiation spectra of food color red 3 of Bolak Perfumery Co., Ltd. at the illumination of 200 watt mercury lamp through 3130 Å interference filter

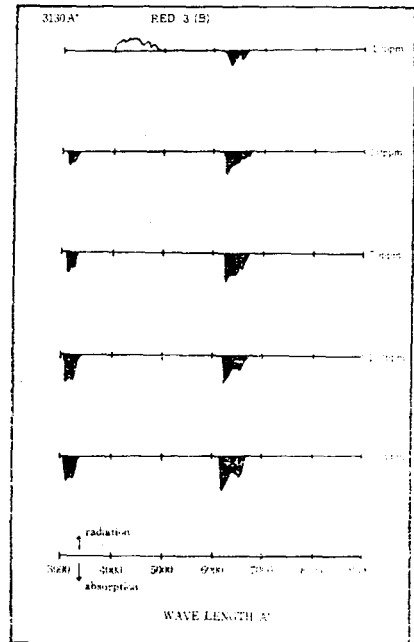


Fig. 6(b). Absorption and radiation spectra of food color red 3 of Nam-Yung Colors Co. at the illumination of 200 watt mercury lamp through 3130 Å interference filter

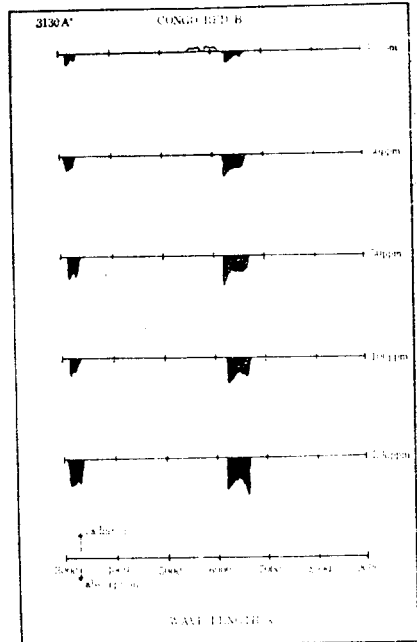
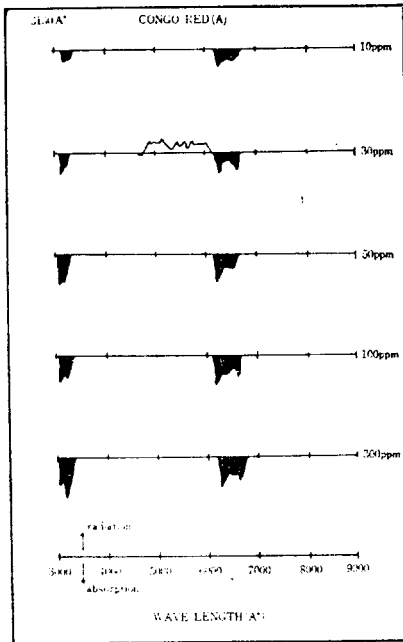


Fig. 7(a). Absorption and radiation spectra of commercial dye congo red of Rifa Industrial Co., Ltd. at the illumination of 200 watt mercury lamp through 3130 Å interference filter

Fig. 7(b). Absorption and radiation spectra of commercial dye congo red of Kuma Chemical Co., Ltd. at the illumination of 200 watt mercury lamp through 3130 Å interference filter

라 역시 吸收의 정도가 커짐을 볼수있다.

그러나 食用色素 赤色 제 2號(A)는 예외적으로 10 ppm 농도의 경우 4700~6200 Å 領域에서 미약하지만 發光帶가 3개 나타난다. 그리고 50 ppm에서는 5200~5700 Å 領域에 미약한 吸收가 있으며 5700~5800 Å의 좁은 領域에서 미약한 發光을 볼수있다(Fig. 5(a)).

食用色素 赤色 제 3號(A)(Fig. 6(a))는 10 ppm 농도의 경우에 4000~4800 Å 領域에서 미약한 發光이 있으며 食用色素 赤色 제 3號(B)(Fig. 6(b))의 경우는 3800 Å 근방과 4600~5600 Å 領域에서 미약한 吸收帶를 가짐을 알수있다. 즉 10 ppm의 농도의 경우는 각각 미약한 發光 또는 消光현상이 있음을 알 수 있으며 이로 미루어 비록 같은 종류의 色素라도 희박한 농도에서는 제조회사에 따라 發光 및 吸收 스펙트럼에 뚜렷한 차이가 있음을 엿볼 수 있다.

Congo red는 제조회사에 따라 30 ppm 농도의 경우 4600~6200 Å의 領域에서 한개의 發光帶를 가지거나 (Fig. 7(a)), 10 ppm의 농도에서 5600 Å 근방에 2개의 미약한 發光帶를 가짐을 볼수있다(Fig. 7(b)).

그러나 일반적으로 3130 Å의 干涉필터를 사용하는 경우엔 色素의 종류나 농도에 관계없이 동일한 위치에서

비슷한 吸收帶를 볼 수 있는 관계로 3130 Å의 紫外線 照射時 色素의 종류나 농도를 판별하는 것이 매우어렵다는 것을 알수있다. 따라서 色素鑑別을 위하여는 비교적 波長이 긴 紫外線을 照射하는것이 分析에 도움이 된다는 推定을 할수있다.

앞에서도 기술한 바와 같이 本實驗은 조사하려는 色素용액을 濾紙에 吸着시켜서 紫外線 照射時 濾紙 자체가 내는 螢光에 겹쳐지는 色素에 의한 螢光과 色素에 의한 消光의 波長 및 세기의 정도를 측정하므로써 色素分析을 하는 것이다. 本 研究에서는 濾紙의 螢光에 대한 제 3物質로서의 色素의 消光효과를 아울러 고려하였다.

結 論

以上の 實驗結果를 종합해 보면 色素의 경우 發光보다는 吸收帶의 波長領域, 分布狀態 및 個數와 消光정도를 조사하므로써 종류의 鑑別이 가능하다는 결론이 나온다. 그리고 일반적으로 螢光色素가 아닌 色素의 경우에는 螢光이 거의 없으며 농도가 희박할 때에는 照射하는 紫外線의 波長이 짧으면 미약한 發光을 볼 수

있지만 色素鑑別에는 별로 도움이 되지 않는 것으로 생각된다.

本 實驗에서 光源으로 사용한 3650 Å의 發光 및 消光 分析實驗에서는 有效한 波長임이 밝혀졌다. 또한 濾紙를 着色하여 試料로 사용하는 分析操作의 간편성과 時間의 經濟性 때문에 이 方法이 有用한 分析수단이 될수있다는 結論을 얻었다.

要 約

· 色素를 吸着시킨 濾紙를 試料로 干涉필터를 통한 紫多線을 照射한 경우에 45° 反射角에서 發光 및 消光의 세가를 측정하여 신속하고 간편하게 色素를 鑑別할 수 있는 方法을 試圖하였다. 發光 스펙트럼 보다는 吸收 스펙트럼이 보다 특징적인 패턴을 나타냈다. 吸收帶의 波長領域, 分布狀態 및 個數와 消光정도를 조사하므로써 着色料 종류가 용이하게 判別되었다.

謝 意

本研究는 1979年度 產學協同財團 學術研究費의 支援에 의하였다. 色素수집에 도움을 주신 삼성염색공예사

한광수 선생님과 本 研究의 機器分析, 데이터 處理 및 原稿作成에 지대한 도움을 주신 漢陽大學校 物理學科의 金義薰博士님께 깊은 감사를 드립니다.

文 獻

1. Moon, B. S. : *Food Additives*, Soohaksa, Seoul (1978)
2. Lee, M. S. : *Korean J. Food Sci. Technol.*, 10, 16 (1978)
3. Lee, M. S. : *Res. Bull. Duksung Women's Collge*, 7, 267 (1978)
4. Lee, M. S. : *Korean J. Food Sci. Technol.*, 11, 166 (1979)
5. Udenfriend, S. : *Fluorescence Assay in Biology and Medicine*, Academic Press, London (1962)
6. Yagi, K., Yoshida, J. and Tabata, T. : *Fluorescence*, (In Japanese), Nankod, Japan (1958)
7. Tamura, Z., Tabata, T. and Yasuda, K. : *Fluorescence Analysis*(Japanese), Godanshya Scientific, Japan (1974)