

HPLC를 이용한 천연착색료인 치자황색소의 분석법 개발 및 시판 식품중 함유량조사

김희연 · 김소희 · 홍기형 · 이철원 · 김길생 · 하상철* · 조재선**
식품의약품안전청 식품첨가물평가부 천연첨가물과
* 대구미래대학 제과제과학과, ** 경희대학교 식품공학과

Development of Analysis Method of Gardenia Yellow as Natural Colorants and Content Survey in Commercial Foods by HPLC

Hee-Yun Kim, So-Hee Kim, Ki-Hyoung Hong, Chul-Won Lee, Kil-Saeng Kim,
Sang-Chul Ha* and Jae-Sun Jo**

Division of Natural Food Additives, Korea Food and Drug Administration

**Department of Confectionary Decoration, Taegu Future College*

***Department of Food Science and Technology, Kyung Hee University*

Abstract

A simple and practical method for the determination of gardenia yellow in foods was developed. In this method, analysis of gardenia yellow in food products has been carried out by the detection of crocetin and/or geniposide as indicator compounds. As a new analytical method for gardenia yellow, we adopted crocetin, which is produced from colored components of gardenia yellow by alkaline hydrolysis, as an indicator compound. The analysis of gardenia yellow was performed by reverse phase high performance liquid chromatography using a Capcell pak C₁₈ column at wave length 240 nm (geniposide) and 435 nm (crocetin). The recovery rates of geniposide and crocetin were found to be 93.4% and 87.8% for Dan Mu Ji, 90.2% and 85.9% for milk, 92.8% and 86.5% for snack, respectively. With this method, the range of crocetin and geniposide contents ($\mu\text{g/g}$) were as follows: ND~1.7 and ND~14.1 for Dan Mu Ji, ND~0.2 and ND~13.6 for milk, ND~1.6 and ND~0.9 for snack, respectively. The detection limits of crocetin and geniposide were 0.07 $\mu\text{g/g}$ and 0.05 $\mu\text{g/g}$, respectively.

Key words: gardenia yellow, crocetin, geniposide, high performance liquid chromatography

서 론

최근 WTO 무역협정 체결에 따라 수입 자유화 및 식품산업의 발달로 인하여 인스턴트 식품의 소비가 급증되고 있으며, 이에 따라 식품첨가물의 수도 급격히 증가되고 있는 실정이다. 현재 우리나라는 식품첨가물 공전⁽¹⁾에 식품첨가물 557품목이 수재되어 있으며, 이중 천연첨가물은 천연색소류 46품목, 효소류 29품목 및 기타 92품목 등 총 167품목이 지정 사용되어지고 있다.

한편 소비자들의 기호가 화학적 합성첨가물을 기피하고 천연첨가물을 선호하는 추세이며, 특히 천연첨가

물의 수요증가와 더불어 천연착색료의 사용도 증가하고 있는 추세이다.

사람이 식품을 선택하는 요인은 색, 향기, 맛과 영양가 등 실질적으로 많은 요소가 작용되어지나 그 중에서도 색상이 좌우하는 역할은 기대이상으로 크다. 식사는 눈의 즐거움이라고 말할 수 있다. 사람은 옛날부터 식탁을 꽃과 과일로 장식하여 식욕을 돋구었으며, 예를 들면 생선회를 보기 좋게 담기 위해서 참치의 붉은 색과 오징어의 흰색을 대비시켜 이에 적색의 보색인 녹색의 차조기의 잎과 해조류를 이용해서 마음을 편안하게 하는 등 요리의 채색에 대한 연구를 끊임없이 하여왔다. 색과 식욕과의 관계 등에 대한 연구⁽²⁾도 나와 있으며 일반적으로 볼 때 소비자들의 선호도가 높으며 식욕증진에 양호한 결과를 부여하는 색은 적, 홍, 황색이며 반대로 호감을 주지 않는 색은 황녹, 자

Corresponding author : Hee-yun Kim, Division of Natural Food Additives, Korea Food and Drug Administration, 5 Nokbun-dong, Eungpyung-Ku, Seoul 122-704, Korea

주 및 회색이다.

현재 세계 각국에서 사용되고 있는 천연유래 식품용 착색료의 거의 대부분은 복수의 색소성분의 혼합물로서, 천연착색료의 규격을 설정하기 위해서는 여기에 함유되고 있는 각각의 구성성분에 대하여 그의 구조 및 이들의 조성비를 명확히 알아야하며, 실제 사용된 식품 중에서의 변화 및 개개의 성분에 대하여도 조사할 필요가 있다. 동식물계에 있어서 밀감, 감, 인삼, 토마토, 붉은 연어, 난황 등에 함유된 황색, 등색 및 홍색을 나타내는 색소의 대부분은 carotenoid류에 속하고 β -carotene, β -apo-carotenal, β -apo-carotenoic acid ester, annatto에서 얻어지는 bixin, norbixin, 심황에서 얻어진 diketone 화합물에 속하는 curcumin, flavin계 색소로서 riboflavin(vitamin B₂), 치자의 과실 및 saffran 꽃의 주 두건조물에서 추출 정제된 crocin 등이 있다. 이들 중에서 심황의 색소성분 curcumin과 riboflavin을 제외한 나머지는 전부 carotenoid계⁽³⁾이다.

천연색소는 합성착색료에 비하여 색의 선명함이 부족하고 또한 원료물질에 기인한 맛과 향의 잔존 및 단일성분으로 얻을수 있는 것이 적기 때문에 분석과 품질관리가 어려운 단점에도 불구하고 합성착색료와는 달리 영양 혹은 약리작용의 병행효과를 얻을 수 있으며, 착색제품의 색소가 천연물과 같게 자연스러움을 얻을수 있고 또한 소비자들의 천연첨가물에 대한 안전성 신뢰 등으로 그 사용이 날로 증가추세에 있다.

그러나 최근 위화(adulteration) 목적으로 천연색소 사용이 사회문제화되고 있으며 식품산업에서 혼란을 초래하고 있다. 중국산 조기류에 황색색소를 도포하여 참조기로 위장 판매, 최근에는 젓갈류에 카라멜 색소를 첨가하여 사회 문제화되었다.

현재 천연색소는 식품첨가물공전에 사용기준을 설정하여 천연식품[식육류, 어패류(경육포함), 과실류, 채소류, 해조류, 두류 및 그 단순가공품(탈피, 절단 등)], 다류, 고추가루 및 실고추, 김치류, 고추장 및 식초에 사용하여서는 아니되는 것으로 규제되어 사용되고 있으나, 이들에 대한 식품중의 분석방법이 확립되어 있지 않아 가공식품의 사후품질관리 및 감시에 어려움이 있어 공정시험법의 개발이 절실히 요구되어지는 실정이다.

외국에서는 식품중 합성, 천연색소의 계통분석에 대한 연구⁽⁴⁻¹⁰⁾ 등이 활발히 진행되고 있으며 또한 치자황색소에 대한 연구논문⁽¹¹⁻¹⁷⁾ 등도 보고되어지고 있다. 그러나 현재 우리나라에서는 식품중 식품첨가물의 분석방법은 식품공전⁽⁸⁾에 합성첨가물인 보존료, 인공감미료, 산화방지제, 아황산 및 착색료시험법 등이 수재

되어 있으나 식품중 천연첨가물 분석방법은 전무한 상태이다. 다만 카페인에 관한 것⁽⁹⁾이 전부로서 그 연구가 매우 미미한 실정이다. 이에 따라 본 연구에서 천연착색료중 많이 사용되어지고 있는 치자황색소를 대상으로 식품중 분석방법에 관한 연구를 수행하였다.

치자황색소의 분석에 대해서는 색소성분(crocin 또는 crocetin)과 비색소성분(geniposide)을 확인하는 방법이 보고^(15,16)되고 있다. 또한 이러한 분석법을 이용한 식품중의 사용실태조사의 결과도 보고⁽¹⁵⁻¹⁷⁾되고 있으나 geniposide는 식품중에 존재하는 효소에 의하여 가수분해를 받아 아미노산류와 반응하여 청색물질로 변화하여 식품의 청변현상의 원인물질로 설명되고 있다. 따라서 이러한 청변현상을 회피하는 목적으로 현재에는 geniposide를 제거한 치자황색소제제가 사용되어진다고 한다^(16, 20). 또한 crocin은 알칼리 가수분해되어 gentibiose기가 유리되어 crocetin으로 전환되어진다.

본 실험에서는 치자황색소 추출물을 사용하여 TLC법, PDA/HPLC법을 이용하여 crocetin 및 geniposide의 최적조건을 검토 후 crocetin을 지표물질로 하는 HPLC법을 확립하였으며, 확립된 시험방법으로 단무지 60품목, 가공우유 20품목 및 스네 12품목 등 총 92품목의 치자황색소 성분의 함량을 분석한 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

조사연구기간은 1998년 1월부터 12월까지 수행하였으며, 조사대상 식품은 시중에서 유통되고 있는 단무지 60품목, 우유 20품목 및 스네 12품목 등 총 92품목을 시료로 하였다. 또한 표준품으로서 crocetin은 Sigma chemical Co., geniposide는 Wako Co. 및 시판 치자황색소 3개 제품(A, B 및 C社)을 사용하였으며, 시약 및 초자로서는 HPLC용 Acetonitrile은 Merck Co., BuOH, HCl, MeOH, NaOH 및 Dichloromethane은 특급으로서 Wako Co.제품을 사용하였으며, TLC plate F₂₅₄는 Merck Co.제품을 사용하였다.

표준용액의 조제

Crocetin 및 geniposide 표준품을 정확히 칭량하여 메틸알콜을 가하여 각각 5 ppm, 3 ppm이 되도록 조제하였다.

시험용액의 조제

시료를 수용성과 불용성으로 각각 분류하여 Fig.

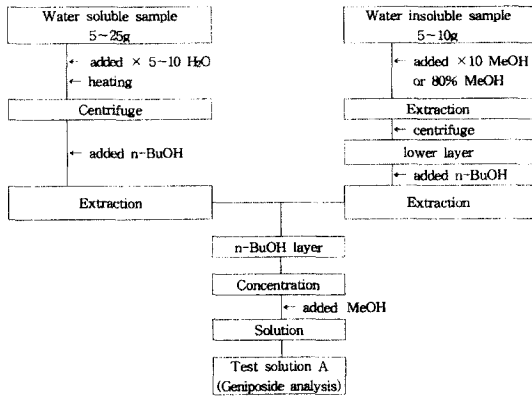


Fig. 1. Flow diagram of the sample preparation for analysis of geniposide in various foods.

1에 따라 n-부틸알콜을 사용하여 추출하였으며 추출액을 감압농축하여 색소추출물로 하였다. 색소추출물을 들로 나누어 한쪽은 0.45 μm membrane filter로 여과하여 geniposide 시험분석용으로 하였다. 한편 다른 쪽은 Fig. 2와 같이 색소추출물에 0.1N 수산화나트륨용액을 가해서 50°C의 수욕중에 30분간 방치하여 알칼리분해 후 dichloromethane 추출하였다. dichloromethane층을 감압농축하여 메틸알콜에 용해하여서 0.45 μm membrane filter로 여과한후 crocetin 시험분석용으로 하였다.

시험조작

상기 조작에 따라 얻어진 crocetin 및 geniposide 표

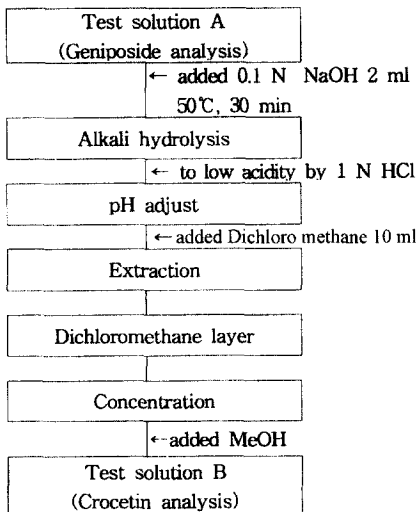


Fig. 2. Flow diagram of the sample preparation for analysis of crocetin in various foods.

준용액과 시험용액 20 μL씩을 각각 Table 1, Table 2 및 Table 3의 조작조건에 따라 PDA-HPLC 및 HPLC에 주입하여 시험을 행하였으며, PDA-HPLC에 의하여 최적 파장을 검토후 최종 HPLC에 의하여 crocetin 및 geniposide 분석방법을 확립하여 수행하였다.

결과 및 고찰

치자황색소 성분의 TLC 크로마토그램 패턴

치자색소는 꼭두서니과 치자(*Gardenia augusta* MERR. var. *grandiflora* HORT.)를 기원물질로 하여서 물 또는 에틸알콜로 추출하여 얻어진 치자황색소 및 Iridoid 배당체와 단백질 분해물과의 혼합물을 효소(β-glucosidase) 처리하여 얻어진 치자적색소 및 치자청색소

Table 1. The operating conditions for determination of gardenia yellow component by PDA-HPLC

Instrument	Waters Co. 2690 HPLC, 996 PDA detector
Column	Capcell Pak C ₁₈ UG80 (4.6 mmø × 250 mm, 5 μm)
Mobile phase	A: 100% Acetonitrile, B: 100% H ₂ O 15 min A → B, 5 min
Flow rate	1.0 ml/min
Column temp.	40°C
Injection vol.	20 μL

Table 2. The operating conditions for determination of geni-positve by HPLC

Instrument	Waters Co. M-510 solvent delivery system, M-486 tunable absorbance detector, M-746 data module
Column	Capcell Pak C18 UG80(4.6 mm ø × 250 mm, 5 μm)
Mobile phase	Acetonitrile : H ₂ O(15:85)
Flow rate	1.0 mL/min
Column temp.	30°C
Detector	UV 240 nm
Injection vol.	20 μL
Chart speed	0.5 cm/min

Table 3. The operating conditions for determination of crocetin by HPLC

Instrument	Waters Co. M-510 solvent delivery system, M-486 tunable absorbance detector, M-746 data module
Column	Capcell Pak C ₁₈ UG80 (4.6 mm ø × 250 mm, 5 μm)
Mobile phase	Acetonitrile : H ₂ O(50:50), 0.05% TFA(Trifluoroacetic acid)
Flow rate	1.0 ml/min
Column temp.	30°C
Detector	UV 435 nm
Injection vol.	20 μL
Chart speed	0.5 cm/min

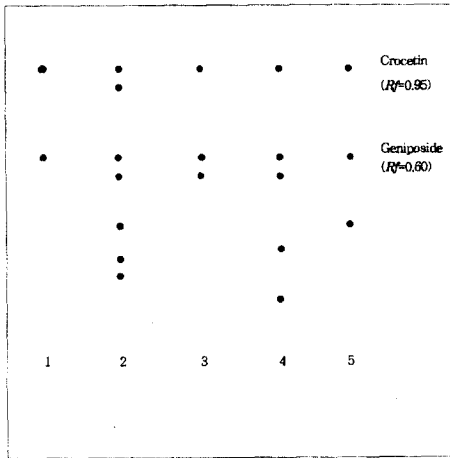


Fig. 3. TLC chromatogram of gardenia yellow component.

가 있다^(1,2). 치자황색소는 crocin과 crocetin 성분 이외에 nonacosane, β -citosterol, mannitol 및 여러 Iridoid 배당체가 함유되어 있다.

Iridoid 배당체는 치자의 잎 및 줄기에서는 gardenoside, geniposide의 2종을, 과실에서는 gardenoside, geniposide, shanzhiside, methyldeacetylasperulosidate, genipingentiobioside의 5종의 배당체가 보고⁽³⁾되어지고 있다. 따라서 치자원료로부터 직접 추출한 치자황색소는 여러 가지의 복합성분으로 이루어져 있기 때문에 여지크로마토그램 및 박층크로마토그램상에 복수의 반점이 나타나기도 하고 식품유래의 협잡물에 의한 tailing현상등으로 R_f (rate of flow, 이동률)치에 의한 판정이 곤란할 수가 있다.

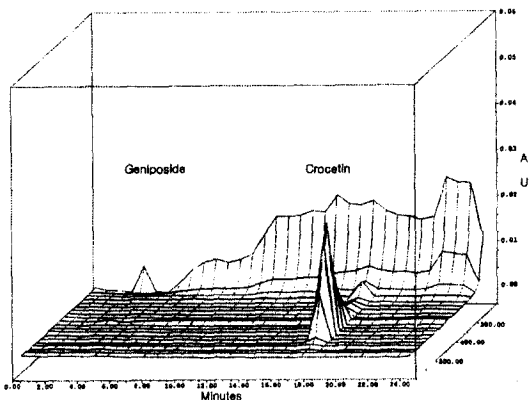


Fig. 4. 3D-PDA/HPLC chromatogram of mixed standard solutions (Crocetin and Geniposide).

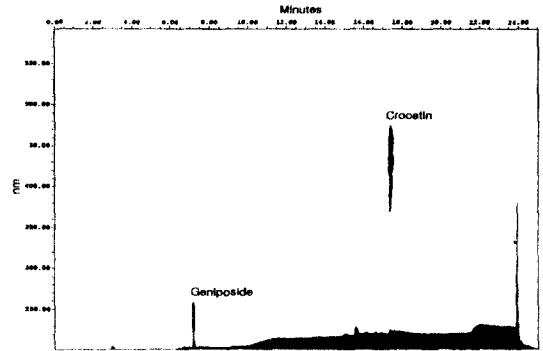


Fig. 5. 2D-PDA/HPLC chromatogram of mixed standard solutions (Crocetin and Geniposide).

Fig. 3은 crocetin 및 geniposide 표준품과 시판용 치자황색소제품, 단무지, 우유 및 스넥의 추출물을 박층크로마토그램으로 확인한 것으로서 crocetin $R_f=0.95$, geniposide는 $R_f=0.60$ 에서 반점이 나타났으며, 검출한계는 crocetin 및 geniposide 각각 400 ppm 수준이었다.

PDA-HPLC 에 의한 치자황색소 성분의 분석

Photodiode array detector(PDA)-HPLC에 의하여 치자황색소성분인 crocetin 및 geniposide의 최적파장을 검토하였다. Fig. 4 및 Fig. 5는 crocetin 및 geniposide 표준품의 3D, 2D-HPLC chromatogram을 각각 나타낸것으로서 geniposide는 220~255 nm, crocetin은 370~470 nm에서 확인되었다. Fig. 6은 Fig. 4 및 Fig. 5를 토대로 최적의 파장에서 선택된 chromatogram으로서 geniposide는 240 nm, crocetin은 430 nm에서의 피크이다.

HPLC 에 의한 치자황색소 성분의 분석

검량선 작성을 위해 crocetin 0.1~5 ppm, geniposide

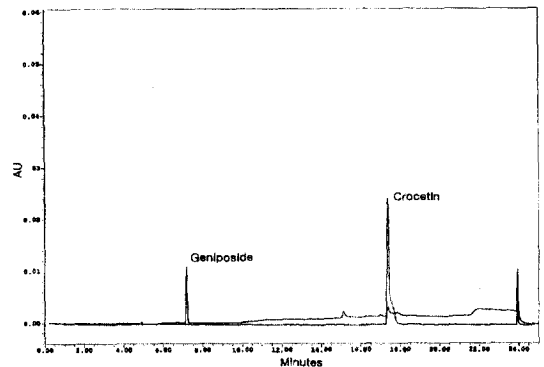


Fig. 6. PDA/HPLC chromatogram of mixed standard solutions (Crocetin and Geniposide).

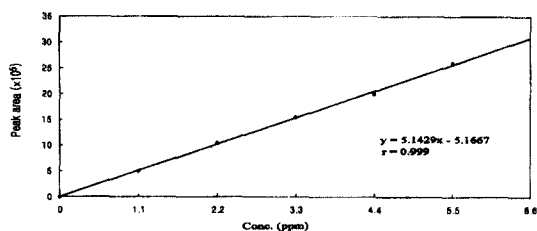


Fig. 7. Calibration curve of crocetin by HPLC.

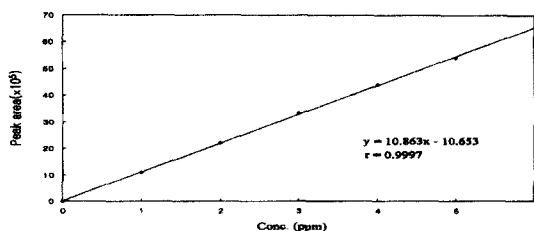


Fig. 8. Calibration curve of geniposide by HPLC

0.1~5.5 ppm 이 되도록 표준용액을 각각 조제하여 Table 2 및 Table 3의 조작조건에 따라 HPLC에 주입하여 얻어진 피크의 면적으로부터 검량선을 작성하였다. 그 결과는 Fig. 7 및 Fig. 8과 같으며, crocetin의 경우는 상관계수(r)=0.9997, 검출한계 0.07 µg/mL, geniposide의 경우는 상관계수(r)=0.9990, 검출한계 0.05 µg/mL로 매우 양호한 결과를 얻었다. Fig. 9는 Table 2 및 Table 3의 조작조건에 따라 얻어진 crocetin 및 geniposide 표준용액의 chromatogram으로서 분리능이 매우 양호함을 볼 수 있다. 또한 Fig. 10은 단무지 추출물의 가수분해 전과 가수분해 후의 geniposide의 chromatogram을 나타낸 것으로서 가수분해 후 geniposide가 분해되어 제거되었음을 보여주고 있다. 따라서 본 연구에서는 이를 이용하여 치자황색소 추출물을 가수분해하여 geniposide를 제거하고 crocin을 crocetin으로 하여 지표물질로 하는 분석방법을 확립하였다.

Table 4는 crocetin(5 ppm) 및 geniposide(3 ppm)의 표

Table 4. Reproducibility of standard solution for crocetin and geniposide by HPLC

Run	Crocetin	Geniposide
1	115580	2610830
2	115376	2603510
3	115825	2599480
Mean(3)	115594	2604607
RSD(%)	0.19	0.22

*RSD(Relative standard deviation, 상대표준편차)

Table 5. Recovery rates of geniposide added to the several foods by HPLC*

Sample	1	2	3	Mean(3)	RSD
Dan Mu Ji, salted radish	93.0	93.3	93.8	93.4	0.43
Milk	90.1	90.5	90.0	90.2	0.29
Snack	92.5	93.1	92.8	92.8	0.32

*Analyzed in crude extracts

Table 6. Recovery rates of crocetin added to the several foods by HPLC*

Sample	1	2	3	Mean(3)	RSD
Dan Mu Ji, salted radish	87.9	87.4	88.1	87.8	0.41
Milk	85.8	85.5	86.5	85.9	0.60
Snack	87.3	85.9	86.2	86.5	0.85

*Analyzed in hydrolyzates of crude extracts

Table 7. Comparison of color value and gardenia yellow components in commercial

	Color value (E _{1cm} ^{100%})	Contents(µg/g)	
		Crocetin ¹⁾	Geniposide ²⁾
Product A	123	461	1255
Product B	141	648	274
Product C	335	2834	2861
Product D	676	4007	107

¹⁾Analyzed in hydrolyzates of crude extracts

²⁾Analyzed in crude extracts

Table 8. Determination of gardenia yellow components in various foods

Sample	Sample No.	Contents(µg/g)	
		Crocetin ¹⁾	Geniposide ²⁾
Dan Mu Ji salted radish	60	ND ³⁾ × 38, 0.1 × 4	ND ³⁾ × 39, 1.5 × 2, 1.6
		0.2 × 3, 0.3 × 2, 0.4 × 2, 0.5 × 4, 0.6, 0.7 × 2, 0.8, 1.3, 1.5, 1.7	1.8 × 2, 1.9 × 3, 2.0 × 3, 2.1, 2.3 × 2, 2.4, 2.5, 2.6, 3.0, 13.8, 14.0, 14.1
Milk	20	ND × 10, 0.1 × 6, 0.2 × 4	ND × 10, 0.5, 0.6, 0.9, 1.0 × 2, 1.3 × 2, 1.8, 13.2, 13.6
Snack	12	ND × 10, 1.5, 1.6	ND × 10, 0.9 × 2

¹⁾Analyzed in hydrolyzates of crude extracts

²⁾Analyzed in crude extracts

ND³⁾ and nd⁴⁾ are less than 0.07 µg/g and 0.05 µg/g, respectively

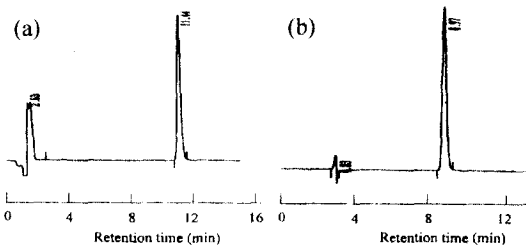


Fig. 9. The HPLC chromatogram of mixed standard solution.

(a) Crocetin, (b) Geniposide

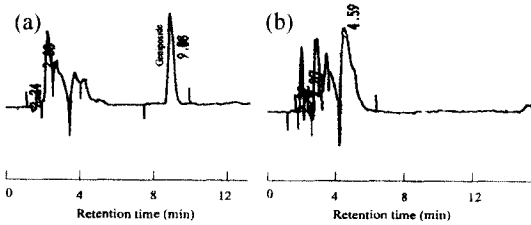


Fig. 10. The HPLC chromatograms of geniposide of Dan Mu Ji.

(a): Before hydrolysis, (b): After hydrolysis

준품에 대한 HPLC 재현성을 검토한 결과를 나타낸 것으로서 crocetin는 RSD(%)=0.19, geniposide는 RSD(%)=0.22로 매우 양호한 결과를 얻었다. Table 5 및 Table 6은 분석 대상시료에 대한 crocetin 및 geniposide의 회수율시험 결과로서 crocetin 경우 93.4%, 가공우유 90.2% 및 스넥 92.8%로 양호하였으며, geniposide 경우 단무지 87.8%, 가공우유 85.9% 및 스넥 86.5%로 다소 낮았으나 이는 외국의 문헌을 조사한 결과 일본의 평균 85%정도와는 비슷한 결과를 보였다.

Table 7은 시판 치자황색소 제품을 대상으로 색가와 치자황색소 성분에 대한 관계를 본 것으로서 crocetin은 색가에 유의적인 관계를 보여주나, geniposide는 색가와 유의적인 관계를 나타내지 않았다.

시중 유통되고 있는 단무지 60품목, 가공우유 20품목 및 스넥 12품목등 총 92품목을 대상으로 하여 확립된 시험방법인 HPLC방법에 의하여 치자황색소의 성분을 분석한 결과는 Table 8과 같았다. crocetin의 경우 단무지는 38품목 불검출, 22품목에서 0.1~1.7 $\mu\text{g/g}$ 이 검출, 우유는 10품목 불검출, 10품목에서 0.1~0.2 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었으며, 스넥은 10품목은 불검출, 2품목에서 1.5~1.6 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었다.

Geniposide의 경우 단무지는 39품목 불검출, 21품목에서 1.5~14.1 $\mu\text{g/g}$ 이 검출, 우유는 10품목 불검출, 10품목은 0.5~13.6 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었으며 스넥은 10품목

불검출, 2품목은 각각 0.9 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었다.

요 약

식품중 공정시험법이 확립되어 있지 않은 치자황색소를 우리실정에 적용 가능한 시험방법을 개발, 확립함과 동시에 확립된 시험방법을 토대로 시중에서 유통되고 있는 일부 가공식품에 대하여 분석한 결과는 다음과 같다. 치자황색소 분석은 crocetin과 geniposide를 지표물질로 하여 역상계 칼럼인 Capcell Pak C₁₈을 이용하여 HPLC분석을 수행하였으며, crocetin은 상관계수(r) = 0.9997, 재현성 RSD 0.19, 검출한계 0.07 $\mu\text{g/g}$, geniposide는 상관계수(r) = 0.9990, 재현성 RSD 0.22, 검출한계 0.05 $\mu\text{g/g}$ 으로 매우 양호하였으며, 또한 확립된 HPLC분석방법으로 시중에서 유통되고 있는 단무지 60품목, 가공우유 20품목 및 스넥 12품목등 총 92품목을 분석한 결과, crocetin의 경우 단무지는 회수율 87.8%, 38품목은 불검출, 22품목에서 0.1~1.7 $\mu\text{g/g}$ 이 검출, 우유는 회수율 85.9%, 10품목은 불검출, 10품목에서 0.1~0.2 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었으며, 스넥은 회수율 86.5%, 10품목은 불검출 2품목에서 1.5~1.6 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었다. Geniposide의 경우 단무지는 회수율 93.4%, 39품목은 불검출, 21품목에서 1.5~14.1 $\mu\text{g/g}$ 이 검출, 우유는 회수율 90.2%, 10품목은 불검출, 10품목은 0.5~13.6 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었으며, 스넥은 회수율 92.8%, 10품목은 불검출, 2품목은 각각 0.9 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었다. 이상의 시험결과로서 본 연구에서 확립된 시험방법은 식품중 치자황색소 분석 공정시험법으로 활용할 수 있으며, 또한 식품에 대한 사용기준 준수여부 확인 및 식품 품질관리에 크게 기여할 수 있을 것으로 기대된다.

문 헌

1. Korea Food and Drug Administration. Korean Food Additive Code, pp. 703-708 (1998)
2. Nakamura, M.K. Edible Natural Color, pp. 3-36. Kourin Press, Japan (1993)
3. Tanimura, A. Handbook of Natural Colorants, pp. 212-233. Kourin Press, Japan (1979)
4. Ito, Y., Tonogai, Y., Mitsuhashi, Y., Hamano, T., Matsuki, Y., Kato, T., Fujiwara, T., Ogawa, S., Toyoda, M. and Iwaide, M. Systematic determination of artificial and natural dyes in foods by a liquid-liquid partition method. Bunskei Kagaku 32: 47-54 (1983)
5. Ito, Y., Ogawa, S., Mine, T., Tajima, K., Ito, S., Nakaniishi, H., Ohara, K., Tonogai, Y. and Iwaide, M. Systematic determination of artificial and natural dyes in

- foods by a celite column chromatographic method. *Bunseki Kagaku* 32: 55-60 (1983)
6. Miyamoto, F., Saeki, M., Kamijo, M., Kanda, H., Nakaoka, T., Nishijima, M., Ito Y. and Takeshita, R. Systematic separation of artificial and natural dyes in foods and their qualitative determination by thin-layer chromatography. *Eisei Kagaku* 37: 542-551 (1991)
 7. Perdih, A. and Ekar, I. Detection and identification of natural water-soluble colouring matters in foods. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 163: 100-103 (1977)
 8. Lehmann, G., Collet, P., Hahn, H.G. and Ashworth, M. R.F. Rapid method for detection and identification of synthetic water-soluble coloring matters in foods and drugs. *Journal of the AOAC*. 53(6): 1182-1189 (1970)
 9. Ogiwara, T., Nozawa, T., Hirata, K., Amakawa, E., Oishi, M. and Seki, H. Detection of water-soluble natural dyes by a polyamide batch method. *J. Food Hyg. Soc. Jap.* 21(3): 207-213 (1980)
 10. Kanda, H., Warabi, Y., Sato, E., Yamashita, T. and Takeshita, R. Detection of some natural dyes by polyamide thin-layer chromatography. *Eisei Kagaku* 27(1): 50-55 (1981)
 11. Endo, T. and Taguchi, H. The constituents of gardenia *jasminoides* geniposide and genipin-gentiobioside. *Chem. Pharm. Bull.* 21(12): 2684-2688 (1973)
 12. Noda, N. and Yamada, S. Analysis of Natural Dye in Foods. Determination of natural yellow dye from the fruits of gardenia by detecting geniposide. *Eisei Kagaku* 29(1): 7-12 (1983)
 13. Yamauchi, K., Sakuragi, R., Kuwano, S. and Inouye, H. Biological and chemical assay of geniposide, a new laxative in the fruit of gardenia. *Planta Medica* 25: 219-225 (1974)
 14. Ichi, T., Higashimura, Y., Katayama, T., Koda, T. and Tada, M. Determination of a food colorant, gardenia yellow pigment, in processed foods with a high performance liquid chromatography/photodiode-array detector/mass spectrometer system. *J. Food Hyg. Soc. Jap.* 36(4): 482-489 (1995)
 15. Kobayashi, S., Sawabe, K., Ozawa, K. and Sato, K. Qualitative analysis of a natural food color gardenia yellow in foods. *Food San. Res.* 46(11): 73-82 (1996)
 16. Yamada, S., Oshima, H., Saito, I. and Hayatwa, J. Adoption of crocetin as an indicator compound for detection of gardenia yellow in food products. *J. Food Hyg. Soc. Jap.* 37(6): 372-377 (1996)
 17. Nishijima, M. Survey of natural dyes in commercial foods. *J. Food Hyg. Soc. Jap.* 33(5): 515-516 (1992)
 18. Korea Food and Drug Administration. Food Code, pp. 41-62 (1997)
 19. Kim, H.Y., Lee, Y.J., Kwak, I.S., Hong, K.H., Ha, S.C., Park, M.A. and Kim, K.S. Studies on the analytical method and contents of caffeine in foods. The Annual Report of KFDA 1: 93-101 (1996)
 20. Elve, J.H., Maing, I.Y. and Amundson, C.H. Color stability of betanin. *J. Food Sci.* 39: 334-337 (1974)
 21. Association of Japanese Food Additives. The note of food additives list except chemical synthetics, pp. 64-66 (1991)

(1999년 5월 29일 접수)