

참조기 천연색소의 분리 및 판별법에 관한 연구

김희연* · 흥기형 · 홍진환¹ · 김동술¹ · 한상배¹ · 이은주¹ · 이정성¹ · 강길진¹
정형욱¹ · 송경희¹ · 박혜경² · 박종석³ · 권용관⁴ · 장영미⁴ · 신일식⁵
이창국⁶ · 박희열⁷ · 하상철⁸ · 조재선⁹

식품의약품안전청 식품첨가물과, ¹식품의약품안전청 식품규격과, ²식품의약품안전청 영양과,
³식품의약품안전청 식품미생물과, ⁴식품의약품안전청 천연첨가물과, ⁵강릉대학교 해양생명공학부,
⁶한국해양수산개발원 해양수산기술센터, ⁷선박검사기술협회,
⁸대구미래대학 제과데코레이션과, ⁹경희대학교 식품공학과

Studies on the Separation and Discrimination of the Natural Yellow Pigment on Croaker

Hee-Yun Kim*, Ki-Hyung Hong, Jin-Hwan Hong¹, Dong-Sul Kim¹, Sang-Bae Han¹, Eun-ju Lee¹,
Jeung-Seung Lee¹, Kil-Jin Kang¹, Hyung-Wook Chung¹, Kyung-Hee Song¹, Hye-Kyung Park²,
Jong-Seok Park³, Yong-Kwan Kwon⁴, Young-Mi Jang⁴, Il-Shik Shin⁵, Chang-Kook Lee⁶,
Hee-Yul Park⁷, Sang-Chul Ha⁸ and Jae-Sun Jo⁹

¹Food Additives Division, Korean Food and Drug Administration,

¹Food Standard Division, Korean Food and Drug Administration,

²Nutrition Division, Korean Food and Drug Administration,

³Food Microbiology Division, Korean Food and Drug Administration,

⁴Natural Food Additives Division, Korean Food and Drug Administration,

⁵Faculty of Marine Bioscience and Technology, Kangnung National University,

⁶Maritime & Policy Research Division, Korea Maritime Institute,

⁷Korean Society of ship Inspection & Techonology,

⁸Department of Confectionery Decoration, Daegu Mirae College,

⁹Department of Food Science and Technology, Kyung Hee University

As a preliminary test for defining intact yellow croaker pigment, the pigment was analyzed by column chromatography and UV-vis spectrophotometry. All maximum absorbance wavelengths commonly showed three maximum absorbance ranges, similar to those of carotenoid, suggesting that the tested pigment may be carotenoid. We detected total six peak RT values in the chromatogram through PDA-HPLC under gradient mode (behavior A at 10% for initial 2 min and changed to behavior B for 60 min). Most pigments were detected at the peak with 3.27 RT value. Because seven peaks were detected under gradient mode and three under isocratic mode [methanol : methylene chloride (90 : 10, v/v)], gradient mode was determined to be more appropriate for quantitative analysis. By the comparison test of RT values among yellow pigment in croakers and reference pigments, such as zeaxanthine, β -cryptoxanthine, β -carotene, and astaxanthin, only β -cryptoxanthine was detected in the white croaker, whereas such pigment of yellow croaker having RT value of 31.02 was not detected. Therefore, RT value was found to be applicable for detecting adulterated croaker.

Key words: carotenoid, UV-vis spectrophotometry, PDA-HPLC

서 론

*Corresponding author : Hee-Yun Kim, Food Additives Division, Korean Food and Drug Administration, 5 Nokbun-dong Eunpyung-gu Seoul 122-704, Korea

Tel: 82-2-380-1686

Fax: 82-2-354-1399

E-mail: pmheekim@kfda.go.kr

조기(*Pseudosciaena manchurica*)는 민어과(*Sciaenidae*)의 바닷물고기로서 참조기(yellow croaker), 부세, 수조기(white croaker), 흑조기, 보구치 등으로 그 종류가 다양하다. 이들 중 참조기는 맛이 고소하고 담백하여 전통적으로 우리 나라

사람들이 매우 선호하는 생선으로 과거에는 공급량이 풍부하였으나, 현재는 참조기의 공급량이 현저히 줄어 수요량을 충족시키지 못해 최근에는 대부분이 중국, 홍콩, 말레이지아 및 베트남 등의 동남아 지역에서 수입에 의존하고 있다^(1,2). 이런 점을 이용하여 조기에 인위적으로 착색시킨 참조기의 모조품이 시장에서 유통되는 사례가 빈번해져서 소비자를 기만하고 상거래 질서를 문란하게 하며 더 나가서는 국내 수산업의 발전에 저해요인으로 작용하여 참조기와 그 모조품을 판별할 필요성이 제기되고 있다.

한편, 옛날에는 국내산 참조기류와 황색색소로 착색된 수입산 조기를 육안으로 쉽게 판별할 수 있었다. 국내산은 신선하여 참조기의 몸 빛깔이 회색을 띤 황금색이나, 수입산 조기류는 산지에서 소비자까지의 수송기간이 최소 2-3개월 걸리기 때문에 국내산에 비해 신선도가 상대적으로 떨어졌고, 색소의 안정도 및 종류가 한정되어 조기류의 위화기술이 한계가 있었기 때문에 쉽게 구분할 수 있었다. 그러나, 최근에는 천연색소에 대한 선호도가 급증하고 천연색소 종류^(3,4)도 다양화됨에 따라 민어과에 속하는 부세 등을 참조기류로 위장하기 위해서 조업 즉시 천연치자황색소 등이 첨가된 수용액에 침지하여 착색시키는 방법과 신선도를 위장할 목적인 식품첨가물, 성장촉진 호르몬제가 사용되는 등 위화(adulteration)방법⁽⁵⁻⁸⁾이 고도화되고 있는 실정으로 그 문제가 더욱 심화되고 있다. 그러나 천연색소 사용여부를 확인하기 위한 색소의 분석방법 및 관련된 연구⁽⁹⁻²⁶⁾도 미미한 실정이고, 또한 현행 식품공전⁽²⁷⁾중의 착색료 시험법에는 천연색소에 대해 시험방법이 설정되어 있지 않다. 따라서 이들의 진위를 가려주고 유통질서를 확립하기 위해서는 우선적으로 착색시킨 황색색소의 판별법 확립이 절실히 요구되어 본 연구에서는 이러한 문제점을 해결하기 위해 식품에 함유된 치자황색소의 분석법 확립과 더불어 천연적으로 함유된 황색색소와 인위적으로 첨가한 황색색소의 판별법을 연구하여 각 참조기류에 함유된 황색색소의 분석방법을 개발하고 조기류의 황색색소와 인위적으로 착색한 황색색소의 특성규명 등으로 국내산 조기의 위화(adulteration) 여부를 정확하고 손쉽게 할 수 있는 신속한 판별법을 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

실험재료

참조기, 부세 및 수조기 등 조기시료는 국립수산물검사소의 협조를 받아 어선에 승선하여 동지나해에서 15일 정도 ('99. 2. 12~'99. 2. 26) 조업하여 시료를 직접 구입하였으며, 목포 및 군산의 근해안강망 및 기선저인망에서 어획된 시료를 구입하여 실험에 사용하였다.

참조기 및 수조기의 색소분석에 사용된 표준품으로는 zeaxanthine(후나코시사), β -cryptoxanthine(Wako Chemical Co.), β -carotene(Sigma Co.), astaxanthin(Merck Co.), α -tocopherol (Merck Co.), β -tocopherol(Merck Co.), γ -tocopherol(Merck Co.), δ -tocopherol(Merck Co.)을 사용하였으며 crocetin은 Sigma Co. 제품을, 그 밖의 시약으로 메틸알콜, 아세톤, 석유에테르, n-헥산, KOH, n-부틸알콜, 수산화나트륨, 디클로로메탄, 벤젠, TFA(trifluoroacetic acid)는 Wako Chemical Co. 제품

을 사용하였으며, filter paper는 Whatman No. 4를, TLC plate는 Silicagel 60 F₂₅₄(20×20 cm, 0.3 mm, Merck Co.)제품을, column은 CapcellPak C18 UG80(4.6 mmφ×250 mm, 5 μm)을 사용하였다. 또한 색소 정제 및 분석에 사용한 기기로는 농축기(Heidolph VV2011/WB2001 evaporator), UV-VIS Spectrophotometry(Varian Cary 3C) 및 M-510 solvent delivery system, M-486 tunable absorbance detector, M-746 data module이 장착된 HPLC(Waters Co.)를 사용하였다.

참조기류 황색색소의 분리 및 정제

조기의 지느러미, 몸통의 표피(칼로 벗겨낼 부위를 오린 후 편셋을 이용하여 살점이 들어가지 않도록 벗겨낸다), 아가미부근과 머리부분의 표피 및 기타 육안으로 노란 부분을 채취한 후 비이카에 채취한 시료를 넣은 다음 시료가 완전히 잠길 정도로 아세톤을 첨가하여 때때로 유리막대로 저어주면서 색소를 추출하고 시료의 노란색이 제거될 때까지 반복추출하였다. 추출된 용액은 filter paper를 이용하여 잔류물을 제거한 후 농축기로 농축하였다. 추출 시료 중 수용성 성분을 제거하기 위해 농축한 아세톤 추출물을 petroleum ether와 물을 이용하여 지용성 성분을 petroleum ether^충으로 전이시킨 다음 아래의 물층이 맑아질 때까지 수세한 후 petroleum ether^충을 무수황산나트륨을 통과시켜 잔여수분을 제거한 후 다시 김압농축을 행하였다. 수세한 extract에 30% KOH (in MeOH)를 1 g 당 약 100 mL를 가하고 실온에서 3시간 방치한 다음 분액깔대기로 옮긴 후 petroleum ether와 다량의 물로서 분리 조작하여 petroleum ether^충으로 색소를 전이시키고 아래의 물층이 알칼리성을 띠지 않을 때까지 수세(리트머스 paper로 확인)한 후, petroleum ether^충만을 무수황산나트륨을 통과시켜 잔여수분을 제거한 다음 농축하여 헬륨으로 충진시킨 후 냉동보관하였다.

참조기류 색소성분의 분석

추출색소의 정성분석을 하기 위하여 TLC를 행하였다. Silicagel 60 F₂₅₄ plate을 이용하여 전개용매 A(acetone : n-hexane, 30 : 70), 전개용매 B(petroleum ether : acetone, 80 : 20) 및 전개용매 C(petroleum ether : acetone, 70 : 30)를 사용하였으며, 벤젠을 reference solution으로하여 200~900 nm의 흡광도를 조사하였다.

참조기에 인위적으로 첨가된 치자황색소의 분리 및 정제

치자황색소의 도포 및 치자황색소의 분리: 치자황색소를 물에 적당량 가하여 녹인 용액을 붓을 이용하여 참조기류의 표면에 골고루 도포한 후 자연 건조시켰다. 인위적으로 치자황색소가 도포된 참조기류의 표피에서 치자황색소를 추출하기 위해 시료어를 완전히 증류수에 잠기게 하고 상온에서 방치하여 치자황색소 성분이 증류수에 용해되게 하였다. 그 수용액에 n-butanol을 사용하여 추출하였으며 추출액을 김압농축하여 색소추출물로 하였다. 색소추출물에 0.1 N 수산화나트륨용액을 가하고 50°C의 수욕상에서 30분간 가열하여 알칼리 분해를 한 후 dichloromethane을 이용하여 다시 추출하였다. 이 추출액을 김압농축하고 메틸알콜에 용해시켜 membrane filter(0.45 μm)로 여과한 후 HPLC를 이용하여 crocetin

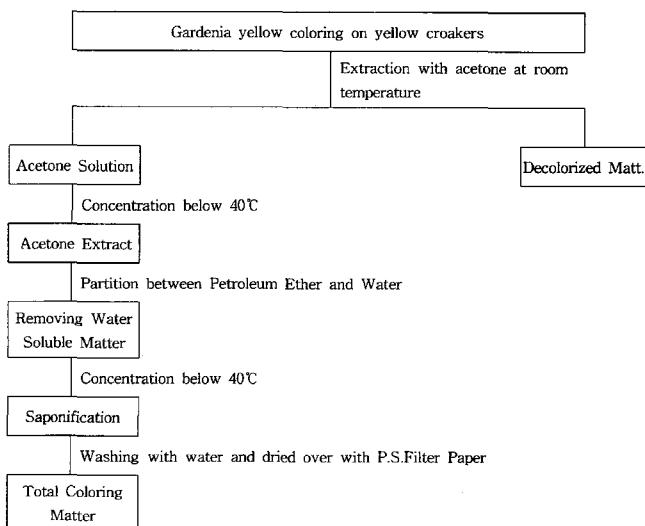


Fig. 1. Flow chart for the extraction of matter in yellow croaker.

을 지표물질로 하여 분석하였다.

추출된 치자황색소의 분석: 치자황색소의 표준용액을 조제하기 위하여 지표물질로 이용되는 crocetin을 메틸알콜로 5 ppm이 되도록 조제하여 CapcellPak C18 UG80 컬럼과 acetonitrile : H₂O(50 : 50), 0.05% TFA를 전개용매로 하여 flow rate는 1.0 mL/min, Column temp.는 30°C, Detector는 UV 435 nm의 분석조건에서 crocetin 표준용액 20 μL와 시험용액 20 μL를 주입하여 HPLC로 분석하였다.

참조기 추출색소의 확인

Fig. 1과 같은 방법에 의해 참조기류 색소의 추출 및 비누화과정을 거친 다음 검화된 추출색소를 MgO : celite 545를 흡착제로 하여 이동상은 petroleum ether → acetone → methanol 순으로 점차 극성을 증가시켜 컬럼크로마토그래피를 행하였다. 컬럼크로마토그래피를 행하여 모은 획분을 benzene을 reference solvent으로 하여 파장 600~300 nm에서 UV-Vis spectrophotometry를 행하였다.

PDA-HPLC를 이용한 참조기 추출색소의 분석

참조기 추출색소를 분석하기 위하여 Capcellpak C18 컬럼을 이용하여 0.5 mL/min의 유속으로 10 μL를 주입하여 230~700 nm의 범위에서 scanning을 행하였다. 이때 이동상은 이동상 A인 0.1 M 암모늄아세테이트 용액 : 메탄올(50 : 50 v/v)과 이동상 B인 메탄올 : 메틸렌클로라이드(90 : 10 v/v)으로 나누어 비교하면서 행하였다. 즉, 분석조건 1)에서는 A, B의 2가지 이동상을 이용하여 이동상 A와 이동상 B를 처음 2분간 10%의 이동상 A로 부터 시작하여 60분 동안 이동상 B로 점차 조성을 변화시켜 최종적으로 이동상 B가 되게 gradient mode로 하였고, 분석조건 2)에서는 이동상 B만을 이용하여 isocratic mode로서 분석하였다.

PDA-HPLC를 이용한 참조기와 수조기의 색소성분 비교

참조기와 수조기의 추출색소는 Fig. 1에 따라 껍질과 지느

러미를 박피한 것을 sample에 산화방지제(pyrogallol) 0.33%를 첨가한 acetone으로 추출하여 농축한 다음 식품공전 비타민A 시험법에 따라 검화하여 추출한 후, trichloroacetic acid로 단백질을 제거한 것을 시험용액으로 사용하였다. 참조기 및 수조기의 색소추출중 주성분에 대해 1차적으로 정성분석을 수행하기 위해 사용된 표준시약으로는 zeaxanthine, β-cryptoxanthine, β-carotene, astaxanthin, α,β,γ,δ-tocopherol을 사용하였다.

기기분석

Capcell pak MG 5S 컬럼을 이용하여 1.0 mL/min의 유속으로 20 μL를 주입하여 280 nm의 범위에서 scanning을 행하였다. 이때 이동상으로는 아래의 2가지 이동상을 사용하였다. 즉, A, B의 2가지 이동상을 이용하여 1) 이동상 A와 이동상 B를 1분간 25%의 이동상 A, 75%의 이동상 B로부터 시작하여 18분 후 100% 이동상 B로 40분 동안 점차 조성을 변화시켜 최종적으로 이동상 B가 되게 gradient mode로 하였고, 2) 이동상 B만을 이용하여 isocratic mode로서 분석하였다.

결과 및 고찰

참조기류의 황색색소 분리, 정제 및 확인

추출색소에 대하여 TLC 및 UV-vis spectrophotometry로 분석한 결과, TLC에서는 이동상 A, B 및 C 조건에서 band가 3~6개 가량 분리되었으며, UV-vis spectrophotometry 분석결과 481, 452, 426 nm에서 주요 peak가 나타났다. 이는 carotenoid계 색소의 일반적인 특성과 일치하였고 파장의 영역도 유사하였으며 보고된 문헌의 neurosporene과 유사한 것으로 생각되어진다. 또한 Fig. 2와 3에서 보는 바와 같이 335, 323 nm에서도 특징적인 peak가 나타남을 알 수 있었다.

참조기에 인위적으로 첨가된 치자황색소

참조기의 표피에 도포한 치자황색소의 추출물과 crocetin 표준용액을 상기의 HPLC조건으로 분석한 결과는 Fig. 4와 같았다. crocetin을 지표물질로 하여 인위적으로 첨가된 치자황색소의 분리는 정성적으로 매우 양호한 결과를 나타내었는데 crocetin 표준품의 머무름시간과 참조기에 도포하여 추출한 치자황색소의 머무름시간이 일치함을 알 수 있었다. 그러나 인위적으로 첨가된 치자황색소의 양을 정확히 파악할 수 없어 회수율 시험은 시행하지 못하였다.

참조기 추출색소의 확인 및 PDA-HPLC를 이용한 색소성분 분석

참조기 추출색소를 Fig. 1의 조건에 따라 추출한 후 컬럼크로마토그래피를 행하여 정제하고 UV-vis spectrophotometer로 최대 흡수파장을 검색한 결과는 Fig. 3과 같았다. 모든 획분의 최대 흡수파장은 480~420 nm 사이에 공통적으로 3개의 주요 흡수대역을 나타냈다. 이는 carotenoid의 일반적인 특성과 일치하였으며 파장의 대역도 유사하여 carotenoid계 색소로 추정되었다. 또한 획분 간에 파장의 대역이 큰 차이 없이 유사한 것은 구조가 비슷한 이성체이기 때문으로 추정된다. 또한 PDA-HPLC를 이용하여 이동상 A 조건으로 참조기 추

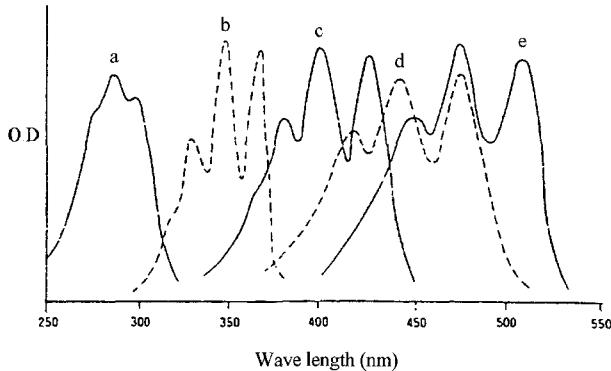


Fig. 2. Absorption band of carotenoids pigment.
a. phytoene b. phytofluene c. ζ -carotene d. neurosporene e. lycopene

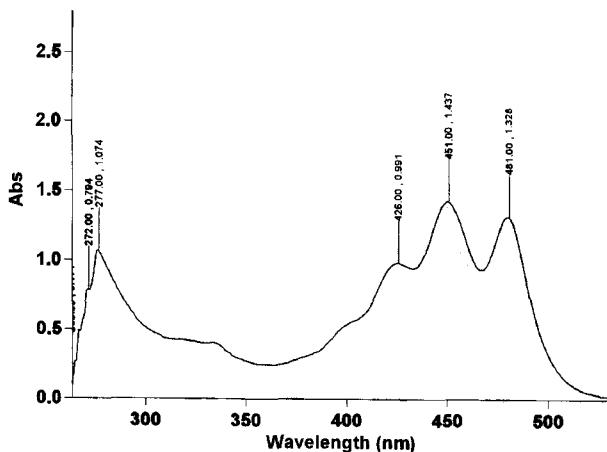
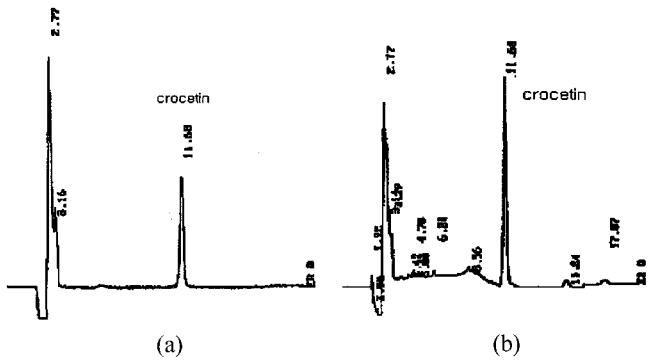


Fig. 3. UV-vis spectrochromatogram of extracted pigment (neurosporen) from yellow croakers.

출색소를 분석한 결과, Fig. 6~8에서 보는 바와 같이 추출색소는 각각 RT값이 27.54, 28.48, 29.40, 29.72, 30.06, 35.61에서 총 6개의 peak가 검출되었다. 이때의 검출파장은 약 380~490 nm 사이의 영역이었으며 RT 값이 30.06와 35.61 사이에 한 개의 peak가 보였으나 그 양이 너무 적어 peak로 인식되지 않았다. 그러나 이는 Fig. 5의 UV-vis spectrophotometry를 이용한 추출색소의 최대 흡광도 대역과 거의 일치하여 색소의 조성은 총 7개의 성분인 것으로 생각되며, 참조기 추출색소의 분석을 위한 최적 파장은 450 nm로 사료된다. 이동상 B 조건으로 PDA-HPLC를 이용하여 참조기 추출색소를 분석한 chromatogram은 Fig. 9~11과 같았다. Fig. 9~11에서 보는 바와 같이 추출색소는 각각 RT값이 3.27, 7.69, 20.92에서 총 3개의 peak가 검출되었고, 이때의 검출파장은 약 380~490 nm 사이의 영역으로서 이동상 A 조건과 일치하였다. 또한 RT값이 3.27의 peak에서 가장 많은 색소가 검출되었다. 그러나 이동상 A 조건에서 7개의 peak가 검출되었고 이동상 B 조건에서는 3개의 peak가 검출된 것으로 보아 정성적으로는 이동상 B 조건이 더 적합한 것으로 생각된다.

PDA-HPLC를 이용한 참조기와 수조기의 색소성분 비교

상기의 분석조건 1)로 PDA-HPLC를 이용하여 참조기와 수



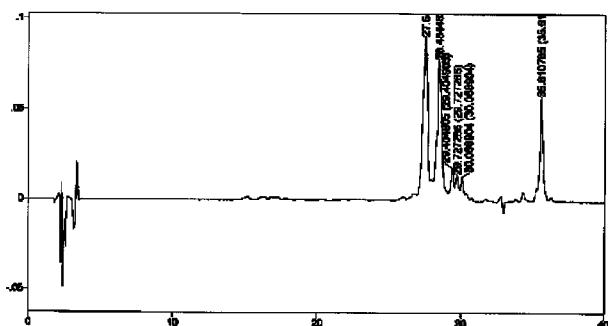


Fig. 6. PDA-HPLC chromatogram for extracted yellow pigment of yellow croaker (mobile phase A).

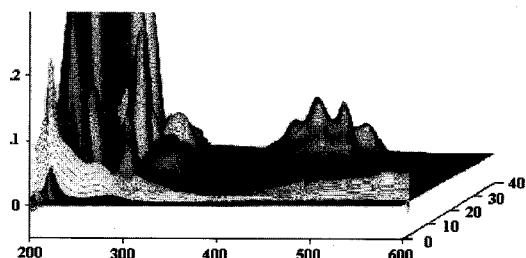


Fig. 7. PDA-HPLC 3D chromatogram of extracted yellow pigment of yellow croaker (mobile phase A).

로 사료된다. 이상의 결과를 토대로 수조기 및 참조기의 특정 성분들을 이용시 모조참조기의 판별에 대한 정밀진단법 개발에 이용가능할 것으로 사료된다.

10 10

참조기 추출색소를 컬럼크로마토그래피를 행하여 정제하고 UV-vis spectrophotometry를 행하여 최대 흡수파장을 검색하

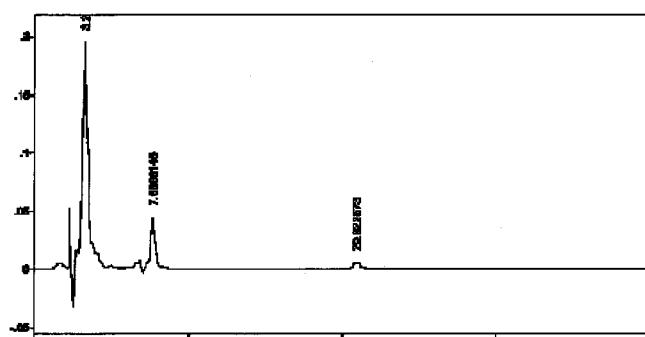


Fig. 9. PDA-HPLC chromatogram for extracted yellow pigment of yellow croaker (mobile phase 2).

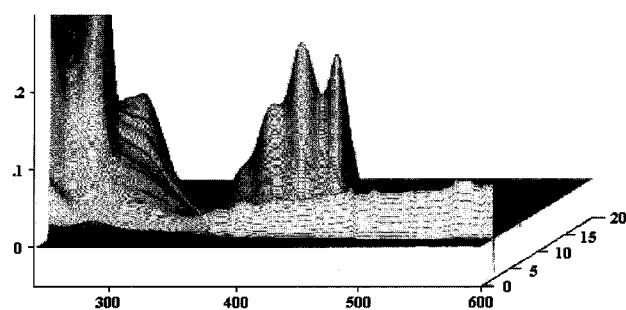


Fig. 10. PDA-HPLC 3D chromatogram for extracted yellow pigment of yellow croaker (mobile phase 2).

결과는 모든 흡분의 최대 흡수파장은 480 nm~420 nm 사이에 공통적으로 3개의 최대흡수대역을 나타냈다. 이는 carotenoid의 일반적인 특성과 일치하였으며 파장의 대역도 유사하여 carotenoid계 색소로 추정되었다. 또한 흡분 간에 파장의 대역이 큰 차이 없이 유사한 것은 구조가 비슷한 이성체이기 때문으로 추정된다. 이동상 A인 0.1 mol 암모늄아세테

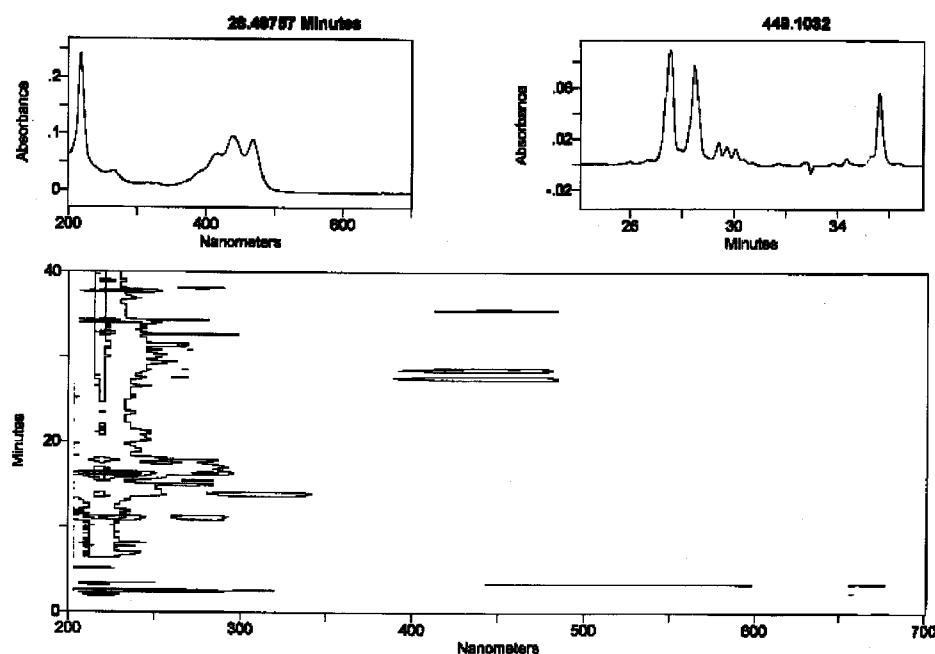


Fig. 8. PDA-HPLC 2D chromatogram for extracted yellow pigment of yellow croaker (mobile phase A).

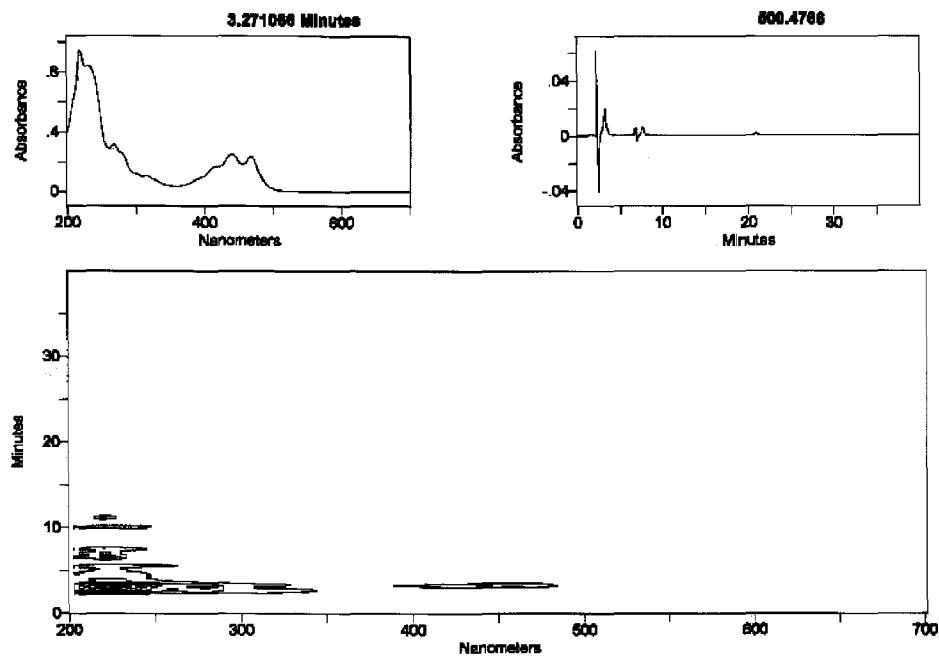


Fig. 11. PDA-HPLC 2D chromatogram for extracted yellow pigment of yellow croaker (mobile phase 2).

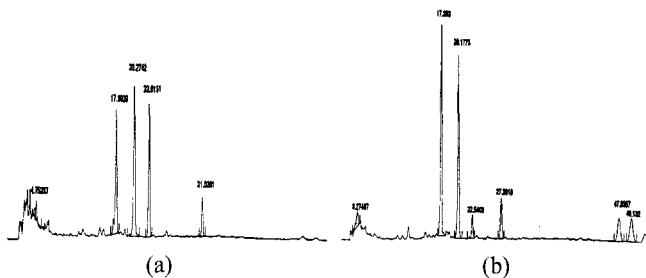


Fig. 12. HPLC-PDA chromatogram extracted yellow pigment of yellow croaker (a) and white croaker (b).

이트 용액 : 메탄올(50 : 50 v/v)과 이동상 B인 메탄올 : 메틸렌 클로라이드(90 : 10 v/v)를 이용하고 처음 2분간 10%의 이동상 A로부터 시작하여 60분 동안 이동상 B로 점차 조성을 변화시켜 최종적으로 이동상 B가 되게 gradient mode 조건으로 한 이동상에서 PDA-HPLC를 이용하여 참조기 추출색소를 분석한 chromatogram은 각각 RT값이 27.54, 28.48, 29.40, 29.72, 30.06, 35.61에서 총 6개의 peak가 검출되었다. 이때의 검출파장은 약 380~490 nm 사이의 파장이었으며, RT값이 30.06와 35.61 사이에 한 개의 peak가 보였으나 그 양이 너무 적어 peak로 인식되지 않았다. 그러나 이는 UV-vis spectrophotometry를 이용한 추출색소의 최대 흡광도 대역과 거의 일치하여 색소의 조성은 총 7개의 성분인 것으로 사료된다. 본 실험의 결과 참조기 추출색소의 분석을 위한 최적 파장은 450 nm인 것으로 사료된다. 이동상 B인 메탄올 : 메틸렌클로라이드(90 : 10 v/v)를 이용하여 isocratic mode로 한 이동상의 조건으로 PDA-HPLC를 이용하여 참조기 추출색소를 분석한 chromatogram은 각각 RT값이 3.27, 7.69, 20.92에서 총 3개의 peak가 검출되었고, 이때의 검출파장은 약 380~490 nm 사이의 파장으로서 gradient mode로 한 이동상

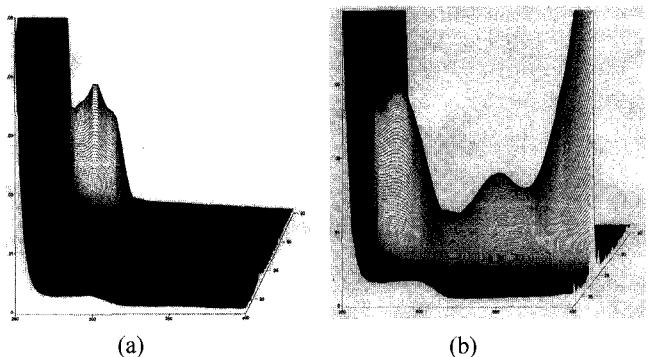


Fig. 13. PDA-HPLC 3D chromatogram of extracted yellow pigment of (a) yellow croaker and white croaker.

의 조건과 일치하였다. 또한 RT값이 3.27의 peak에서 가장 많은 색소가 검출되었다. 그러나 gradient mode로 한 이동상의 조건에서 7개의 peak가 검출되었고 isocratic mode로 한 이동상의 조건에서는 3개의 peak가 검출된 것으로 보아 정성적으로는 gradient mode로 한 이동상의 조건이 더 적합한 것으로 사료된다. 또한, PDA-HPLC를 이용한 참조기와 수조기의 색소성분을 비교한 결과, 수조기와 참조기에서 검출되는 peak중 각각의 3개의 peak는 유사한 RT값을 보였으나, 참조기 및 수조기의 각각 1개의 peak는 서로 다른 RT값을 보였으며 참조기 성분의 peak중 RT = 31.02는 수조기 성분에서는 발견되지 않아, 이 성분은 참조기 성분과 연관성이 클 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 1999년도 수산특정연구개발사업으로 수행된 결과의 일부로서 본 연구를 수행하도록 연구비를 지원하여 준

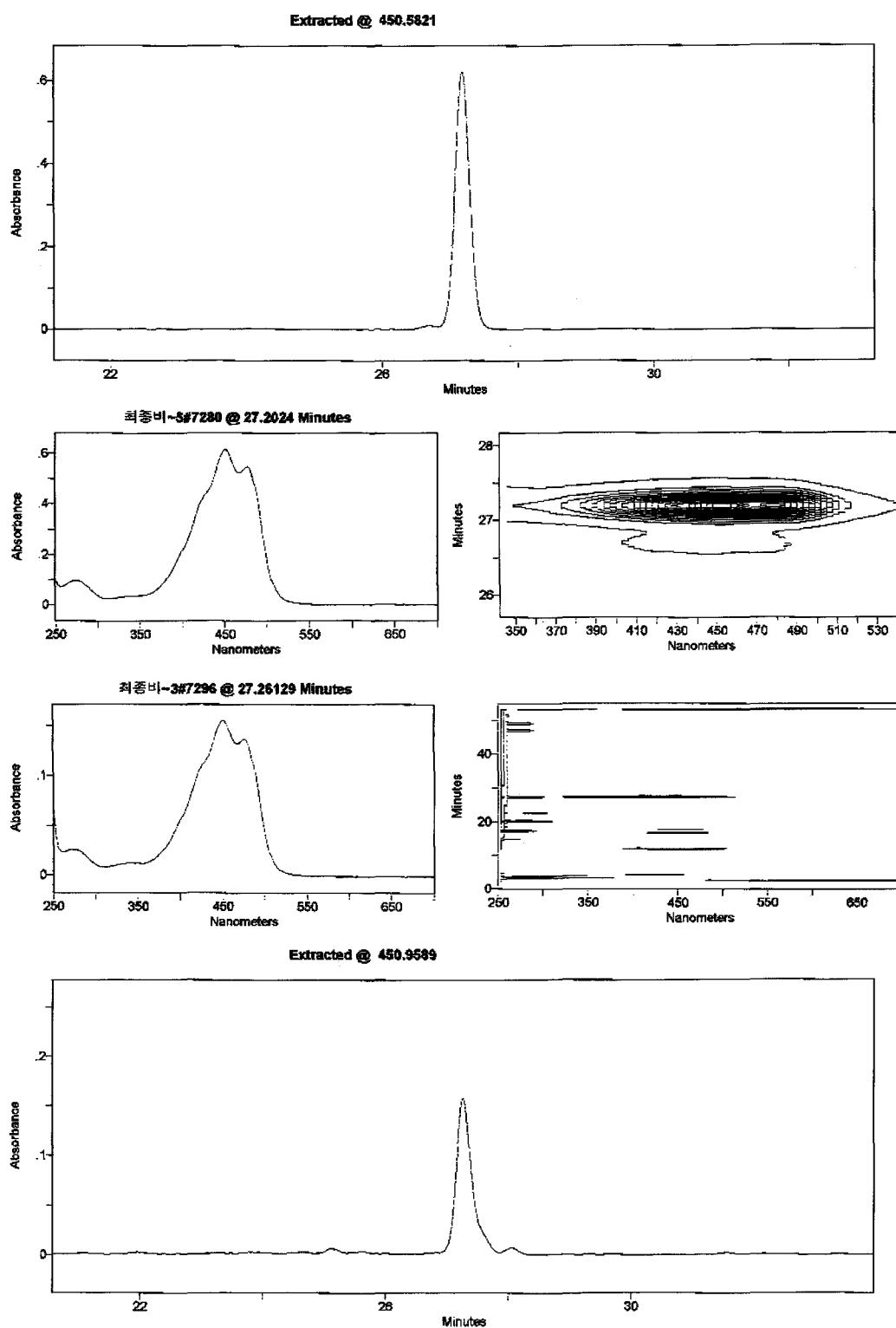


Fig. 14. PDA-HPLC spectrum and chromatogram (a) white croaker pigment and (b) β -cryptoxanthine.

해양수산부 관계자에게 감사드립니다.

문 헌

1. Agricultural & Forestry Statistical Yearbook. Ministry of Agriculture & Forestry. pp. 300-311, pp. 340-344 (1996)

2. Korea Customs Service. Korea Customs & Trade Institute. pp 181-195 (1995)
3. Nakamura, M.K. Edible Natural Color, pp. 3-36. Kourin Press Japan (1993)
4. Tanimura, A. Handbook of Natural Colorants, pp. 212-233 Kourin Press, Japan (1979)
5. Park, Y.H., Jang, D.S. and Kim, S.B. Fishery Processing Technol

- ogy. Hyungseol Publishing Co., Seoul (1995)
6. Anonymous. Handbook of Fishery Technology. Zhongguo Quigonghye Chubanshe, China (1999)
 7. Anonymous. Food Processing. Scientific and Technical Documents Publishing House, Beijing, China (1999)
 8. Anonymous. Handbook of Food Activities. Zhongguo Quigonghye Chubanshe, China (1996)
 9. 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. *Bunseki Kagaku* 32: 47-54 (1983)
 10. Ito, Y., Ogawa, S., Mine, T., Tajima, K., Ito, S., Nakanishi, H., Ohara, K., Tonogai, Y. and Iwaida, M. Systematic determination of artificial and natural dyes in foods by a celite chromatographic method. *Bunseki Kagaku* 32: 55-60 (1983)
 11. 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)
 12. Perdih, A. and Ekar, I. Detection and identification of natural water-soluble coloring matters in foods. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* 163: 100-103 (1977)
 13. 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 drufs. *J. A.O.A.C.* 53: 1182-1189 (1970)
 14. Ogiwara, T., Nosawa, T., Hirata, K., Amakawa, E., Oishi, M. and Seki, H. Detection of water-soluble natural dyes by a polyamide batch method. *Japanese J. Food Hyg. Soc.* 21: 207-213 (1980)
 15. Kanda, H., Warabi, Y., Sato, E., Yamashita, T. and Takeshita, R. Detedtion of some natural dyes by polyamide thin-layer chromatography. *Eisei Kagaku* 27: 50-55 (1981)
 16. Endo, T. and Taguchi, H. The constituents of garenia jaminoids geniposide and genipin-gentibioside. *Chem. Pharm. Bull.* 21: 2684-2688 (1973)
 17. 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: 7-12 (1983)
 18. 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)
 19. Ichi, T., Higashimura, Y., Karayama, T., Koda, T. and Tada, M. Determination of a food colorant, Gardenia yellow pigment, in processed oods with a high performance liquid chromatography/photodiode-array dtector/Mass spectrometer system. *Japanese J. Food Hyg. Soc.* 36: 482-489 (1995)
 20. Kobayashi, S., Sawabe, K., Ozawa, K. and Sato, K. Qualitative analysis of a natural food color gradenia yellow in foods. *Food San. Res.* 46: 73-82 (1996)
 21. Yamada, S., Oshima, H., Saito, I. and Hayatwa, J. Adoption of crocetin as an indicator compound for detection of gardenia yellow in food products. *Japanese J. Food Hyg. Soc.* 37: 372-377 (1996)
 22. Nishijima, M. Survey of natural dyes in commercial foods. *Japanese J. Food Hyg. Soc.* 33: 515-519 (1992)
 23. Korea Food and Drug Administration. Food Code. pp. 41-62 (1997)
 24. 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)
 25. Elve, J.H., Maing, I.Y. and Amundson, C.H. Color atability of betanin. *J. Food Sci.* 39: 334-337 (1974)
 26. Administration of Japanese Food Additives. The note of food additives list except chemical synthetics, pp. 64-66 (1991)
 27. Korea Food and Drug Administration. Korean Food Additive Code, pp. 703-708 (1998)

(2002년 5월 7일 접수; 2002년 9월 11일 채택)