

식품 중 과산화수소의 분석법에 관한 연구

이달수* · 이영자¹ · 박재석 · 권용관 · 황정연 · 이주연 · 이철원

식품의약품안전청 식품첨가물평가부 천연첨가물과, ¹부산지방식품의약품안전청 시험분석실

Studies on the Determination Method of Hydrogen Peroxide in Foods

Tal-Soo Lee*, Young-Ja Lee¹, Jae-Seok Park, Yong-Kwan Kwon, Jung-Yeon Hwang,
Ju-Yeun Lee and Chul-Won Lee

Division of Natural Food Additives, Department of Food Additives Evaluation,
Korea Food and Drug Administration

¹Analytical Lab., Busan Resional Food and Drug Administration

Micro-LC method for the quantitative determination of hydrogen peroxide in foods has been established. This method was carried out on cation-exchange resin gel column using distilled water as mobile phase with 50 mM sodium sulfate as electrolyte. The detection was performed with an electrochemical detector (ECD) at 0.6 voltage. Under this analytical condition, the recovery rates of hydrogen peroxide in tomato and lemon were 98.3 and 97.4%, respectively. Among 28 food types, hydrogen peroxide concentrations were 0.6, 0.5, 1.9, 0.9, 0.5, 0.6, 0.9, 0.8, and 0.4 ppm in banana, peach, orange, strawberry, pepper, onion, cucumber, burdock, and egg plant, respectively. Whereas none was detected in remaining 19 samples.

Key words: micro-LC, hydrogen peroxide, electrochemical detector

서 론

과산화수소는 살아있는 생물이나 식품 중에서 자연적으로 생성되기도 하는 것으로 알려져 있는^(1,2) 무색, 무취의 물질로서, 상온에서는 천천히 분해되나 pH 및 온도와 같은 주변 환경에 의해 영향을 받거나 중금속이나 카탈라아제와 같은 분해촉매인자의 영향을 받을 경우 빠른 속도로 분해되는 특성을 지니고 있는 반면에 강력한 산화성물질로서 매우 뛰어난 살균 및 표백효과를 지니고 있어 식품산업 등에 많이 사용되고 있다⁽³⁾. 현재 우리나라에서 식품첨가물로 허용되어 표백제의 용도로 사용되고 있는 과산화수소는 “최종식품의 완성 전에 분해하거나 또는 제거”하도록 사용기준이 설정되어 있으며⁽⁴⁾ 일본의 경우에도 우리나라와 동일하게 사용기준을 규정하고 있다⁽⁵⁾. 이와 같이 과산화수소는 식품의 제조·가공시에 인위적으로 첨가되어 사용되기도 하지만 식품 중에 천연으로 존재하는 경우도 있어 이에 존재하는 과산화수소의 함유량에 대한 조사연구가 필요한 실정이며 또한, 식품

중 과산화수소의 분석방법이 확립되어 있지 않고 이에 대한 연구결과도 미흡한 실정이다.

최근 일본에서는 식품 중 과산화수소의 함유량을 조사하기 위한 분석방법으로 요오드를 이용한 적정법⁽⁶⁻⁹⁾과 4-aminopyrene 및 phenol을 이용한 비색법⁽¹⁰⁻¹²⁾ 등의 분석방법을 개발하였으나 수산염제품, 면류 등 매우 한정된 가공식품에 대해서만 분석방법이 검토되었으며 특히, 산화환원적정원리를 이용한 요오드적정법의 경우에는 식품 중 존재하는 대표적인 산화환원물질인 아스코르빈산이나 폴리페놀성화합물 등의 영향을 받기 쉬우므로 이를 제거해야만 정확한 분석결과를 얻을 수 있으며⁽¹³⁾ 비색법의 경우는 시험방법이 복잡하고 장시간 소요되는 단점이 있다.

따라서, 본 연구에서는 식품 중 미량으로 존재하고 있는 과산화수소의 분석방법으로 과실류, 채소류 등을 대상식품으로 하여 전기화학검출기를 이용한 Micro LC 분석방법을 확립하고자 Takahashi 등⁽¹³⁾의 방법을 적용하여 동 품목들에 대한 과산화수소의 함유량 분석을 수행하였다.

재료 및 방법

실험재료

국내유통식품 가운데 곡류, 견과류, 서류, 과실류, 채소류, 어패류 및 해조류중에서 각각 참쌀, 호두, 감자, 레몬, 토마토, 게 및 미역에 대한 회수율 검토를 통한 식품 중 과산화

*Corresponding author : Tal-Soo Lee, Division of Natural Food Additives, Department of Food Additives Evaluation, Korea Food and Drug Administration, 5 Nokbun-Dong, Eunpyung-Gu, Seoul 122-704, Korea
Tel: 82-2-380-1691
Fax: 82-2-380-1625
E-mail: tslee@kfda.go.kr

수소의 분석방법을 검토하였으며 확립된 분석법을 이용하여 조사대상식품인 과실류 중 사과, 배, 바나나, 레몬, 수박, 복숭아, 오렌지, 딸기, 대추 9종, 채소류 중 당근, 시금치, 토마토, 쪽갓, 호박, 피망, 양파, 양배추, 오이, 무, 배추, 우엉, 마늘, 생강, 미나리, 옥수수, 가지, 콩나물, 브로콜리 19종 등 각 식품에 함유된 과산화수소의 함유량을 조사하였다. 실험에 사용한 시약중 표준품으로 사용한 30% 과산화수소(Merck Co., Germany)와 무수황산나트륨 및 EDTA(각각 Sigma chemical Co., USA)는 특급시약을 사용하였으며 분석기기는 Micro-LC(Shisheido Nanospace SI-1, Japan)를 사용하였다. 검출기는 전기화학검출기를 사용하였으며 여기에 사용한 셀은 외장형 셀(Eicom Co., Japan)을 사용하였다. 또한 시료 정제시 사용한 카트리지는 Sep-pak C₁₈(3 cc, Waters Co., USA)을, 불순물 여과용 필터는 cellulose nitrate filter(0.45 µm, Sartorius Co., Germany)를 사용하였다.

시료의 전처리

시료의 전처리는 각각의 시료를 30~40 g씩 정밀히 취한 후 여기에 4°C의 물 100 mL를 가하고 균질기로 2분간 균질화시킨 다음 여과지(Whatman No. 4)를 통과한 여액에 물을 가하여 200 mL로 하였다. 이 액을 다시 물로 5배 희석한 다음 Sep-pak C₁₈ 카트리지를 통과시킨 후 cellulose nitrate filter로 여과·정제한 액을 Micro-LC로 분석하기 위한 시험용액으로 하였다.

분석조건

Micro-LC 분석기기의 조건으로 칼럼은 양이온교환수지가 충전되어 있는 Shodex SUGAR Ionpak KS-801 칼럼(300 mm×8 mm ID, Japan)을 사용하였으며 이동상으로는 3차 증류수로서 유속은 분당 0.6 mL로 하였다. 이동상과 전해질의 사용 및 기기운동은 칼럼을 통과하여 나온 액에 일정한 농도의 무수황산나트륨 전해질용액을 소형혼합기를 이용하여 균일하게 섞어준 다음 이를 백금전극을 이용하는 전기화학검출기에 흘려주어 과산화수소의 농도를 측정하였으며 이 때 전기화학검출기에 사용하는 전해질용액의 농도와 백금전극에 흐르는 전압의 세기에 따른 분석조건의 차이점을 검토하였다. 전해질용액으로는 무수황산나트륨용액을 사용하였으며 이 용액을 농도별로 달리하여 10, 20, 50, 100 및 200 mM로 각각 만든 후 EDTA·2Na이 10 µM 되도록 혼합한 전해질용액을 분당 0.15 mL의 유속으로 흘려주면서 분석하였을 때 과산화수소 표준용액의 수율차이를 비교하였다. 또한 전기화학검출기에 들어 있는 백금전극에 흐르는 전압을 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 및 1.0 V로 각각 다르게 하여 과산화수소 수율차이를 비교하였다. 여기에 사용한 과산화수소 표준용액은 최종농도 5 ppm으로 조제하여 사용하였다.

회수율

국내 식품군별로 분류한 곡류, 견과류, 서류, 과실류, 채소류, 어패류 및 해조류 중 찹쌀, 호두, 감자, 레몬, 토마토, 게 및 미역을 각각 선정하여 Micro-LC 분석방법을 적용시켜 회수율을 검토하였다. 각각의 시료를 30~40 g씩 취한 후 여기에 4°C의 물 100 mL를 가하고 균질기로 2분간 균질화시킨

다음 여과지로 여과시킨 액에 물을 가하여 200 mL로 하였을 때 과산화수소의 농도가 5 ppm이 되도록 30% 과산화수소 표준액을 주입하였다. 이 액을 물로 5배 희석한 다음 Sep-pak C₁₈ 카트리지를 통과시킨 후 다시 cellulose nitrate filter(0.45 µm)을 통과시켜 정제한 액을 Micro-LC를 이용하여 상기 조건에서 분석하였다.

시간에 따른 과산화수소의 농도변화

분석대상식품 중 시간에 따른 과산화수소의 농도변화를 파악하고자 회수율이 가장 좋은 토마토를 표준시료로 하여 상기 시료전처리 조건에 따라 최종 농도가 5 ppm이 되도록 시료를 조제한 다음 이를 4°C 조건하에서 방치하면서 정확히 3시간마다 과산화수소의 농도변화를 Micro-LC로 분석하여 파악하였다.

식품별에 따른 천연유래 과산화수소의 함유량

회수율이 우수한 과실류 및 채소류 중에서 국내에 유통되고 있는 식품 총 28종을 대상으로 과산화수소의 함유량을 조사하였다.

결과 및 고찰

Micro-LC 분석조건

분석을 위해 사용한 검출기인 전기화학검출기에는 백금전극이 있어 이 곳을 통과하는 전해질용액인 무수황산나트륨의 농도와 전압의 세기에 따라 그 분석결과에 차이가 있으므로 무수황산나트륨용액의 농도를 각각 10, 20, 50, 100 및 200 mM로 달리한 조건하에서 실험을 수행한 결과 가장 적절한 농도는 50 mM이었다. 무수황산나트륨 용액의 농도가 50 mM보다 낮은 농도인 10 및 20 mM에서는 과산화수소의 검출한계가 낮고 100 및 200 mM의 높은 농도에서는 검출기에 S/N(signal/noise)비가 높아 식품 중 천연유래 과산화수소가 매우 미량일 경우에는 검출에는 한계가 있음을 알 수 있었다. 또한 전기화학검출기의 백금전극에 흐르는 전압의 세기를 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 및 1.0 V에서 각각 비교하였을 때 0.6 V가 가장 적절하였으며 0.6 V 이하의 전압에서는 검출한계가 0.6 V에 비하여 낮았으며 그 이상의 전압에서는 강력한 전압의 영향으로 오염물질이 전극표면에 달라 붙어 전극이 오염되어 연속적인 실험분석에 어려움을 주었으며 이는 Takahashi 등의 결과⁽¹³⁾와도 일치하였다. 이와 같이 적용한 분석방법은 Table 1과 같다.

회수율

회수율을 측정된 결과는 Table 2에서 보는 바와 같이 토마토가 98.3%로 가장 좋았으며 그 다음은 레몬으로 97.4%이었고 그 외 호두, 게, 찹쌀, 감자 및 미역은 각각 87.1, 59.0, 35.9, 36.0 및 34.1%로서 낮은 회수율을 나타내었다. 따라서 Micro-LC를 이용하여 전기화학검출기로 분석하는 시험방법은 다른 식품에 비하여 주로 수분이 많고 단백질 및 지방의 함량이 낮은 과실류 및 채소류와 같은 식품에 한하여 적용 가능함을 알 수 있었다.

Table 1. The operating condition for determination of hydrogen peroxide by micro-LC

Column	Shodex SUGAR Ionpak KS-801 (300 mm × 8 mm i.d.)
Mobile phase	DW
Flow	0.6 mL/min
Electrolyte	50 mM Na ₂ SO ₄ + 10 μM EDTA-Na (flow: 0.15 mL/min)
Detector	ECD (600 mV)

Table 2. The recovery rates of hydrogen peroxide added to the several foods by micro-LC method

Samples	Recovery (%)
Glutinous rice	35.9
Walnuts	87.1
Potato	36.0
Lemon	97.4
Tomato	98.3
Crab	59.0
Sea mustard	34.1

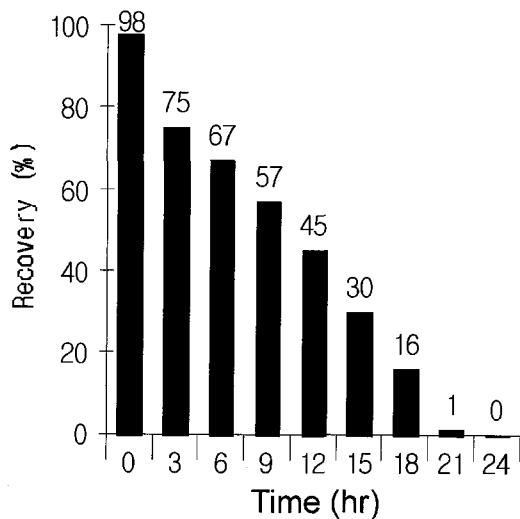


Fig. 1. Change of hydrogen peroxide concentration in tomato during analysis for 24 hr.

시간에 따른 과산화수소 농도변화량

회수율이 좋은 토마토를 대상으로 하여 시간에 따른 과산화수소의 함유량 변화율을 4°C 조건하에서 검토하였을 때 전처리 직후의 토마토중에 함유된 과산화수소의 회수율은 98.3%이었으며 3시간 경과 후에는 회수율이 75%로 상당히 감소하였다(Fig. 1). 또한 시간이 갈수록 그 농도는 점차적으로 낮아져 24시간 후에는 과산화수소가 완전히 소멸됨을 알 수 있었으며 이는 과산화수소가 아스코르빈산과 같은 물질의 영향 등 주변환경에 대해 구조적으로 상당히 불안정한 물질이므로 시료를 전처리한 후 신속히 분석을 수행해야 함을 알 수 있었다.

Table 3. Hydrogen peroxide contents in various foods determined by micro-LC method

	Name of Samples	ppm (Mean ± SD)
Fruits	Apple	ND
	Pear	ND
	Banana	0.6 ± 0.2
	Lemon	ND
	Water melon	ND
	Peach	0.5 ± 0.1
	Orange	1.9 ± 0.6
	Strawberry	0.9 ± 0.2
	Jujube	ND
	Vegetables	Carrot
Spinach		ND
Tomato		ND
Grown daisy		ND
Pumpkin		ND
Sweet pepper		0.5 ± 0.5
Onion		0.6 ± 0.2
Cabbage		ND
Cucumber		0.9 ± 0.2
Radish		ND
Korean cabbage		ND
Burdock		0.8 ± 0.2
Garlic		ND
Ginger		ND
Water Dropmart		ND
Corn		ND
Egg plant		0.4 ± 0.1
Soybean sprout		ND
Broccol	ND	

식품별에 따른 천연유래 과산화수소의 함유량

국내유통식품 중 과실류 및 채소류에서 선정된 식품에 대해 과산화수소를 분석한 결과는 Table 3과 같다. 과실류중 바나나, 복숭아, 오렌지 및 딸기에서는 각각 0.6, 0.5, 1.9 및 0.9 ppm이 검출되었고 그 외 사과, 배, 레몬, 수박 및 대추는 모두 불검출이었으며 채소류중 피망, 양파, 오이 우엉 및 가지는 각각 0.5, 0.6, 0.9, 0.8 및 0.4 ppm이었고 당근, 시금치, 토마토, 썩갯, 호박, 양배추, 무, 배추, 마늘, 생강, 미나리, 옥수수, 가지, 콩나물 및 브로콜리는 모두 불검출이었다. 이와 같이 본 실험을 통하여 식품 중 과실류 및 채소류에 대한 과산화수소의 분석은 가능함을 알 수 있었다.

요 약

신속하고 정확한 식품 중 과산화수소 분석방법을 확립하고자 물을 이동상으로 양이온수지칼럼에서 과산화수소를 분리한 후 전기화학검출기로 검출하는 Mico-LC법을 사용하였으며 여기에 사용한 전해질용액인 무수황산나트륨의 최적농도 및 검출기의 최적전압은 각각 50 mM, 0.6 V이었다. 본

Micro-LC 방법을 적용하여 국내 식품 중 토마토와 레몬에 대한 회수율을 검토한 결과 각각 98.3 및 97.4%이었으며, 국내유통식품 중 채소류 및 과일류 총 28종에 대하여 과산화수소를 분석한 결과, 과일류인 바나나, 복숭아, 오렌지 및 딸기에서 각각 0.6, 0.5, 1.9 및 0.9 ppm, 채소류인 피망, 양파, 오이, 우엉 및 가지에서 각각 0.5, 0.6, 0.9, 0.8 및 0.4 ppm이 검출되었으며 나머지 19종은 모두 불검출이었다.

문 헌

1. Coxon, D.T., Rigby, N.M., Chan, W.S., Lund, B.M. and George, S.M. The occurrence of hydrogen peroxide in edible oils; chemical and microbiological consequences. *J. Sci. Food Agric.* 40: 367-379 (1978)
2. Hamano, T., Mitsuhashi, Y. and Yamamoto, S. Determination of hydrogen peroxide in beverages by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. chromatogr.* 411: 423-429 (1987)
3. Branen A.L., Davidson P.M. and Salminen, S. *Food Additives* pp. 111-113. Marcel Dekker, New York, USA(1990)
4. KFDA. Korean Food Additive Code. Korea Food and Drug Administration, Seoul (2000)
5. The Japan's Specifications and Standards for Food Additives (seventh edition)
6. Standard methods of analysis for hygienic chemists-With commentary authorized by the Pharmaceutical Society of Japan-Pharmaceutical Society of Japan (1995)
7. Yamamoto, M. and Tanimura, A. Modification of the standard method for determination of hydrogen peroxide in foods. *J. Food Hyg. Soc. Jpn* 22: 60-63 (1981)
8. Tanada, M., Uchida, H. and Wada, Y. Studies on the determination of hydrogen peroxide in Japanese noodle. *J. Food Hyg. Soc. Jpn* 12: 413-416 (1971)
9. Ozawa, Y. and Tsumura, T. A Method for determination of hydrogen peroxide in foods Part 1 A. Modified micro-iodometric method for packed noodles. *Rept. Natl. Food Res. Inst.* 39: 43-47 (1982)
10. Tanada, M., Uchida, H. and Sawa, K. Studies on colorimetric determination of hydrogen peroxide in noodle. *J. Food Hyg. Soc. Jpn* 14: 431-436 (1973)
11. Ito, Y., Tonogai, Y., Suzuki, H., Ogawa, S., Yokoyama, T., Hashizume, T., Santo, H., Tanaka, K.-I., Nishigaki, K. and Iwaida, M. Improved 4-aminoantipyrine colorimetry for detection of residual hydrogen peroxide in noodles, fish pasta, dried fish and herring roe. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 64: 1448-1452 (1981)
12. Santo, H., Hashizume, T., and Yokoyama, T. Influence of oxidized fats on the microdetermination of residual hydrogen peroxide in foods by 4-aminoantipyrine colorimetry and the removal of such fats. *J. Food Hyg. Soc. Jpn* 23: 325-330 (1982)
13. Takahashi, A., Hashimoto, K., Kumazawa, S. and Nakayama, T. Determination of hydrogen peroxide by high-performance liquid chromatography with a cation-exchange resin gel, column and electrochemical detector. *J. Anal. Sci. Jpn* 13: 481-483 (1999)

(2002년 9월 23일 접수; 2002년 11월 26일 채택)