

식품 중 식용타르색소의 시료별 전처리방법 확립 및 함량 분석

박성관 · 이달수 · 박승국^{1,*}

식품의약품안전청 식품첨가물과, ¹경희대학교 식품생명공학과

Method Development for the Sample Preparation and Quantitative Analysis of Synthetic Colors in Foods

Sung-Kwan Park, Tal-Su Lee, and Seung-Kook Park^{1,*}

Food Additives Division, Korea Food and Drug Administration

¹Department of Food Science and Biotechnology, Kyung Hee University

Method for sample preparation and quantitative analysis of 19 permitted and non-permitted synthetic colors in foods was developed based on reversed-phase ion-pairing high performance liquid chromatography. For color extraction of samples, deionized water was added, and pH was appropriately adjusted with 1% ammonia water. Any undissolved matters were extracted with 50% ethanol or 70% methanol. Lipid in snacks was first removed using n-hexane with centrifugation, water was added to extract colors, followed by clean-up and concentration using Sep-Pak C₁₈ cartridge. Recovery efficiencies at known concentrations of 19 standard food colors spiked into foods were in 90.3-97.9% range for soft drink, 79.2-101.9% for candy, 84.1-103.4% for jelly, 86.4-100.8% for chewing gum, 83.5-103.4% for ice cream, and 78.5-95.6% for snack.

Key words: synthetic food colors, sample preparation, ion-pairing HPLC

서 론

최근 식생활의 변화로 가공식품의 수요가 증가함에 따라 식품첨가물의 사용이 증가되고 있으며 이에 따라 첨가물의 섭취 시 안전성에 관한 관심도 높아지고 있는 추세이다. 착색료는 천연식품을 가공, 보존하는 과정에 발생할 수 있는 변색방지 및 식욕증진, 가치향상 등의 목적으로 사용되고 있으나(1,2) 불건전한 재료를 속이기 위한 위화목적으로 사용되거나 필요이상으로 남용하는 경우 등은 식품위생법에서 엄격히 사용을 규제 또는 금지하고 있다(3).

식용타르색소는 가공적성이 뛰어나서 착색료로 많이 이용되고 있다. 석탄타르 중에 함유된 벤젠고리(benzene ring)나 나프탈렌 고리(naphthalene ring)로부터 합성한 물질로서 현재 허용되고 있는 것은 모두 수용성의 산성타르색소에 속하며, 화학구조상으로 아조계(azo type), 잔텐계(xanthene type), 트리페닐메탄계(triphenylmethan type)와 인디고계(sulfonated indigo type)로 분류되고 있다(1,2). 일반적으로 식품에서 일반적인 색소의 사용량은 5-100 ppm 정도이며, 일부 색소는 유해성 논란이 있어 사용이 금지되기도 했으나 현재 식용색소로 사용이 허가된 것

들은 독성을 평가하여 안전하다고 입증된 것들이다. 우리나라에서는 식용색소 적색 2호, 적색 3호, 적색 40호, 적색 102호, 황색 4호, 황색 5호, 녹색 3호, 청색 1호, 청색 2호의 9종 및 그 알루미늄레이크 7종(적색 3호, 적색 102호 제외)이 식품에 사용할 수 있도록 식품첨가물공전에 허용되어 있으며, 또한 천연식품, 다류, 김치류, 면류, 단무지 등 다수의 식품에 사용을 금지하는 규정이 사용기준으로 설정되어 있다(3).

식품 중 식용타르색소의 분석법으로 식품공전에는 식품에 사용된 타르색소에 대하여 여지크로마토그래피 및 박층크로마토그래피에 의한 정성법만이 수록되어 있으나 이러한 방법들은 식품에 존재하는 공존물질들이 R_f 값을 변화시킬 수 있고, 이에 따라 분석대상식품과 순수한 표준색소간 차이에 의해 분석의 정밀도 및 정확도가 떨어질 수 있으며, 또한 정량을 할 수 없는 단점이 있다. HPLC를 이용한 타르색소 분석에 대한 연구보고들(1,4-12)도 있으나 시료로부터 색소를 추출하는 전처리 과정과 방해물질을 제거하기 위한 정제과정이 일부 대상식품 및 색소에 한정되어 다양한 식품에 적용하기 곤란하거나 추가적인 연구가 필요하며 낮은 회수율 등의 문제로 식품위생검사 기관 등에서 공정시험법으로 적용하기에는 미흡한 점이 있다. 따라서 타르색소의 사용기준 위반 여부를 확인하거나 수입식품 중의 불허용 타르색소를 정확하게 검출하고 정량적으로 분석이 가능한 분석법의 개발이 필요한 실정이다.

가공식품의 수출입에 따른 색소 사용량 규제에 대비하고 식이를 통한 타르색소의 섭취량 조사, 위해도 평가에 필요한 과학적 근거를 확보하기 위해 박 등(13,14)은 우리나라에서 식품

*Corresponding author: Seung-Kook Park, Department of Food Science and Biotechnology, Kyung Hee University, Yongin-Si, 449-701, Korea
Tel: 82-31-201-2655
Fax: 82-31-204-8116
E-mail: skpark@khu.ac.kr

에 사용이 허용된 8종(알루미늄레이크 포함 15종)의 타르색소를 대상으로 정성·정량 분석방법을 검토하였고 정확도 및 재현성이 높은 고속액체크로마토그래피(HPLC)를 선택하여 동시 분석법에 관한 연구를 수행한 바 있다. 본 연구에서는 우리나라에서 허용된 9종과 외국에서는 사용이 허용되어 있으나 우리나라에서는 허용되지 있지 않은 색소 및 수입식품중 검출사례가 있는 불허용색소 10종 등 총 19종의 타르색소를 대상으로 하여 식품 중의 시료전처리방법을 검토하여 확립하고 이온쌍 시약을 이용한 고속액체크로마토그래피 방법(13,14)을 이용하여 다양한 식품의 색소에 대한 재현성과 회수율 등을 확인함으로써 식품 중 타르색소의 함량을 효율적이고 신속하게 분석하고자 하였다. 또한 이를 토대로 우리나라에서 유통되고 있는 식용타르색소 표시사항과의 일치 여부도 조사하였다.

재료 및 방법

조사대상식품

시중에서 유통되고 있는 제품 중 청량음료, 사탕, 젤리, 휴잉껌, 아이스크림, 건과류 등 총 6종 120품목을 선정하여 분석대상으로 하였다.

시약

Methanol과 acetonitrile은 Merck사(Darmstadt, Germany)의 HPLC급을, tetrabutylammonium bromide(TBA-Br)는 Junsei Chemical사(Tokyo, Japan)의 제품을 사용하였고, 그 외 시약은 Wako사(Osaka, Japan)의 특급시약을 사용하였다. 실험에 사용한 색소들은 TCI사(Tokyo, Japan)의 제품으로 Table 1에 정리하였다. 정제용 카트리지는 Sep-Pak C₁₈(Waters, Milford, MA., USA)을 메탄올 10 mL 및 0.1% TBA-Br 수용액 10 mL를 사용하여 차례로 세정시킨 것을 사용하였다.

표준용액의 제조

적색계통(R2, R3, R40, R102, R104, R105, R106, Azo, R2G)과 황색계통(Y4, Y5, ORII, QY), 청색 녹색계통(B1, B2, G3, GS, PBV, BBN) 색소들 및 혼합색소 표준용액의 100 ppm 용액을 만든 후 이를 희석하여 0-50 µg/mL의 농도 범위에서 검량선을 구하였다.

HPLC 분석조건

분석에 사용한 HPLC는 Waters사(Milford, MA., USA)의 M510 solvent delivery system과 717 autosampler, 486 UV detector로 구성된 것으로서 분리용 컬럼은 Symmetry C₁₈(3.9 mm i.d.×150 mm, 5 µm, Waters, Milford, MA., USA)을 사용하였다. 이동상으로는 0.01 M TBA-Br을 함유한 0.025 M ammonium acetate와 acetonitrile, methanol을 65:25:10과 40:50:10으로 혼합한 두 가지 조성의 용매를 사용하여 gradient mode로 분석하였다. 이동상의 유속을 1.0 mL/min으로 하여 시료를 20 µL 주입하였으며 검출기의 파장과 이동상의 gradient 조건은 Table 2에 정리하였다.

시료 중 색소의 추출

청량음료와 사탕, 젤리, 휴잉껌의 색소는 증류수로 추출하였고, 아이스크림과 건과류는 헥산 또는 석유에테르를 사용하여

Table 1. Synthetic food colors used as standards for HPLC analysis

Permitted colors ¹⁾
Food Red No. 2 (Amaranth, R2)
Food Red No. 3 (Erythrosine, R3)
Food Red No. 40 (Allura Red, R40)
Food Red No. 102 (Ponceau 4R, R102)
Food Blue No. 1 (Brilliant Blue FCF, B1)
Food Blue No. 2 (Indigocarmine, B2)
Food Green No. 3 (Fast green FCF, G3)
Food Yellow No. 4 (Tartrazine, Y4)
Food Yellow No. 5 (Sunset Yellow FCF, Y5)
Non-permitted colors ²⁾
Food Red No. 104 (Phloxine, 104)
Food Red No. 105 (Rose Bengal, R105)
Food Red No. 106 (Acid Red, R106)
Orange II (ORII)
Azo Rubine (Azo)
Red 2G (R2G)
Brilliant Black BN (BBN)
Patent Blue V (PBV)
Green S (GS)
Quinoline Yellow (QY)

¹⁾Aluminum lake of permitted food colors except for Food Red No. 3 and 102 were also used.

²⁾PBV and QY are the products of Warner Jenkinson in Great Britain.

지방을 제거한 다음 메탄올, 에탄올, 이소프로판올, 암모니아수, NaOH 용액 등을 사용하여 추출효율을 비교하였다. 추출 후 원심분리하여 고형물을 제거하고 pH를 5-6으로 조정하여 Sep-Pak C₁₈으로 정제하였다(15). 식품으로부터 색소를 추출할때 추출 효율을 높이기 위하여 추출온도나 추출용매, 균질화 처리, 조음과 처리 등 여러 가지 방법들 중 가장 추출율이 높은 방법을 선택하였다.

시료의 정제

Sep-Pak C₁₈ 카트리지를 미리 메탄올과 물로 세정한 후 acetic acid와 1% 암모니아수 용액으로 Sep-Pak C₁₈ 카트리지를 통과시키는 색소추출액의 pH를 5-6으로 조정하고 0.1% TBA-Br을 가하여 Sep-Pak C₁₈에 색소를 보유시켰다. 물 10 mL로 세정한 다음 0.1% 염산-메탄올 10 mL와 1% 암모니아성 메탄올 약 2 mL로 용출하였다.

식품 중 타르색소의 회수율 검토

시판되고 있는 청량음료, 사탕, 휴잉껌, 건과류, 아이스크림, 젤리 중 색소를 함유하지 않는 것을 모델식품으로 선택하여 각 색소의 회수율을 조사하였다. 각 시료에 혼합색소 표준용액을 첨가하여 시료 중 함량이 10 µg/g이 되도록 한 후 시료별 전처리 방법을 이용하여 각 모델식품으로부터 색소를 추출한 다음 Sep-Pak C₁₈ 카트리지를 통과시켜 정제하였다. 용출액은 물 2 mL를 가한 다음 증발 농축하고 0.5% 암모니아수 1 mL로 수기를 세척하고 물을 가하여 정확히 10 mL로 한 후 HPLC를 사용하여 정량분석을 실시하고 회수율을 3회 반복 측정하였다.

Table 2. HPLC conditions for the analysis of 19 synthetic food colors

Color type	Operating conditions	
Yellow	Column	Symmetry C ₁₈ (3.9 mm i.d. × 150 mm, 5 μm)
	Eluent	A ¹⁾ : B ²⁾ = 100 : 0 → 0 : 100/8 min, curve #8, 0 : 100/15 min
	Detector wavelength	UV 420 nm
	Flow rate	1.0 mL/min
	Injection vol.	20 μL
Red	Column	Symmetry C ₁₈ (3.9 mm i.d. × 150 mm, 5 μm)
	Eluent	A : B = 75 : 25 → 0 : 100/8 min, curve #9, 0 : 100/18 min
	Detector wavelength	UV 520 nm
	Flow rate	1.0 mL/min
	Injection vol.	20 μL
Blue & Green	Column	Symmetry C ₁₈ (3.9 mm i.d. × 150 mm, 5 μm)
	Eluent	A : B = 100 : 0 → 40 : 60/7 min, curve #7, 40 : 60/15 min
	Detector wavelength	UV 620 nm
	Flow rate	1.0 mL/min
	Injection vol.	20 μL
Mixed	Column	Symmetry C ₁₈ (3.9 mm i.d. × 150 mm, 5 μm)
	Eluent	A : B = 100 : 0/2 min, 100 : 0 → 60 : 40/24 min, curve #6, 60 : 40 → 0 : 100/26 min, curve #6, 0 : 100/35 min
	Detector wavelength	UV 254 nm
	Flow rate	1.0 mL/min
	Injection vol.	20 μL

¹⁾A: 0.025 M ammonium acetate (containing 0.01 M TBA-Br):acetonitrile:methanol = 65 : 25 : 10.

²⁾B: 0.025 M ammonium acetate (containing 0.01 M TBA-Br):acetonitrile:methanol = 40 : 50 : 10.

결과 및 고찰

검량선 작성

색소표준용액을 0, 2, 5, 10, 20 및 50 μg/mL의 농도로 조제하고 그 20 μL를 HPLC에 주입하여 얻은 크로마토그램에서 검량선을 작성했을 때 모두 양호한 직선성($r = 0.9999$)을 나타내었다(Fig. 1). 동일 농도에서의 검출기에 대한 반응은 적색색소의 경우 R3와 R106이 다른 색소적색계통 색소들에 비하여 높았고, 황색색소의 경우는 Y4, QY, ORII, Y5의 순서로, 청색 및 녹색색소의 경우는 G3가 가장 높았고, BBN이 가장 낮았다. 또한 계통별 식용색소의 검출한계는 적색계통의 0.05 μg/g, 황색계통이 0.03 μg/g, 청색 및 녹색계통이 0.01 μg/g이었다.

시료 중의 색소용출과정

청량음료, 사탕, 젤리, 휴잉껌, 아이스크림류, 건과류 등 6종의 시료에 대한 색소의 용출을 다음과 같은 방법에 의하여 실시하였다. 청량음료와 사탕, 젤리류는 시료 약 5-10 μg을 취하여 물로 색소를 추출하였으며 이 때 물에 잘 녹는 시료의 경우에는 실온에서, 물에 잘 녹지 않는 시료는 50-60°C 수욕상에서 10-30분간 가온하며 교반, 용해시키거나 균질화 또는 초음파 처리하였다. 사탕과 젤리류는 잘게 부수어서 평량하였고 시료가 알코올을 함유한 경우에는 증발농축하여 알코올을 제거하였다. 원심분리(3,500 rpm, 15 min)하여 상정액을 취하고 물에 불완전하게 용해되는 경우는 침전물에 50-80% 에탄올을 가하고 교반하며 2-3시간 동안 실온에서 추출하였으며, 에탄올로도 추출이 불완전한 경우는 1 N 염산 10 mL를 사용하여 추출하였다. 휴잉껌은 시료를 약 5-10 g 취하여 청량음료나 사탕, 젤리류와 동일하게 추출하되 물 또는 1% 암모니아수로 추출하였다.

아이스크림류는 시료 약 5-10 g을 취하여 균질화한 후 물로 색소를 추출하였다. 교반하면서 실온에서 2-3시간 또는 50-60°C 수욕상에서 10-30분간 가온하여 시료를 용해시켰다. 물에 잘 용해되지 않을 경우에는 물과 에탄올의 1:1 혼합액 또는 1% 암모니아:50% 에탄올 용액으로 추출하였다. 원심분리하여 상정액을 취하고 침전물에 색소가 흡착된 경우는 1 N 염산 10 mL로 추출과정을 반복하였다.

건과류는 지방 함량이 높아서 물로 색소를 추출하기가 어렵고 시료에 재흡착이 일어날 수 있으므로(16) 추출용매를 달리하고 pH를 변화시켜서 추출조건을 검토하였다. 암모니아수와 수산화나트륨을 사용하여 pH를 알칼리성으로 조정하였고, 관련문헌을 참고로 에탄올, 메탄올, 이소프로판올 등을 물과 혼합하여 추출용매로 사용하였다(16-23). 수산화나트륨으로 pH를 조정했을 시 정제 후 일부색소가 변색되고 덩어리가 생기는 현상이 발생하여 알칼리 시약으로는 암모니아수를 선택하였다. 메탄올보다는 에탄올이 색소에 대해 더 안정적이라는 보고(24)와는 달리 본 실험에서는 메탄올이 추출용매로 가장 양호하였고 물과 메탄올의 혼합비율은 30 : 70-40 : 60이 가장 적당하였다. 또한 시료의 지방제거를 위해 클로로포름, 디에틸에테르, 석유에테르 및 헥산을 사용한 결과 클로로포름은 비중이 높아 시료가 상층의 물층에 존재하여 용매의 제거가 곤란하였으며, HPLC에 주입시 분리현상을 일으키기 때문에(25) 완전 건조 후 시료를 메탄올에 재용해시켜야 하는 등의 과정이 추가적으로 발생하였다. 디에틸에테르는 R3가 용매층으로 소량 이행되는 문제가 있어서, 지방제거가 양호하고 색소의 이행이 없는 석유에테르와 헥산 중에서 이용편리성면을 고려해 헥산을 선택하여 본 실험에 사용하였다. 따라서 시료 5-10 g을 취하고 균질화한 후 지방을 함유한 시료는 50 mL 헥산으로 2-3회 추출하

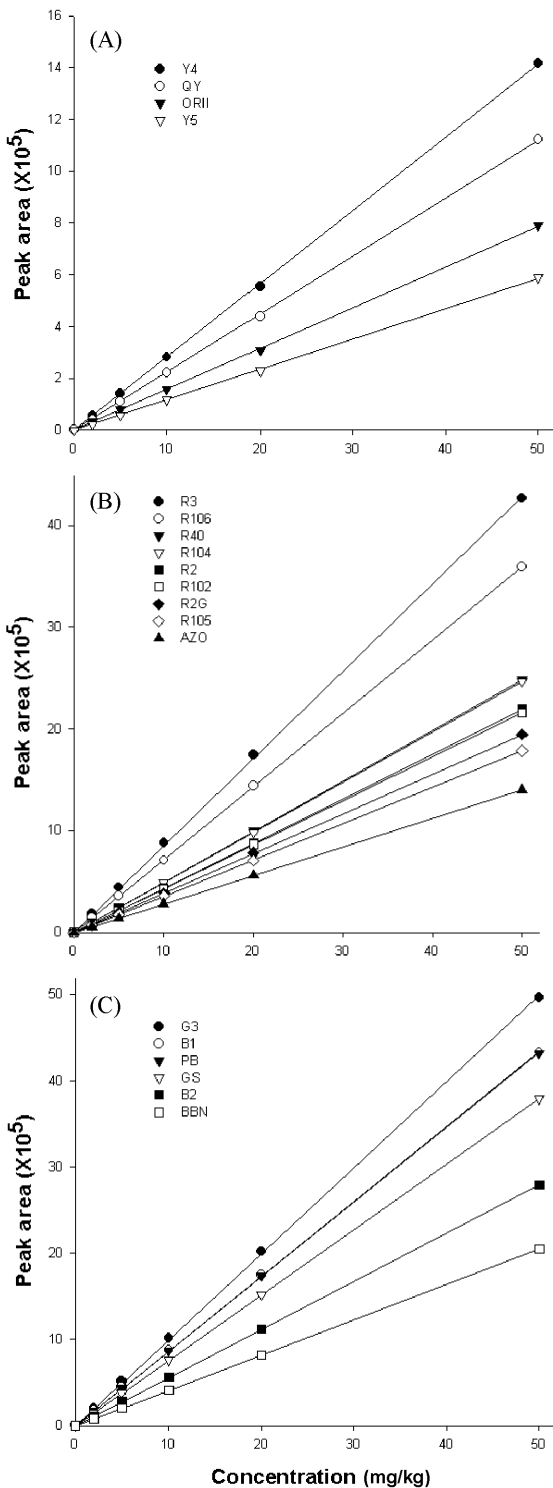


Fig. 1. Calibration curves for food colors by HPLC.
 A: Yellow color types, B: Red color types, C: Blue and green color types.

여 지방을 제거한 다음 물과 메탄올의 30:70 혼합액을 가하여 실온에서 2-3시간 또는 수욕상에서 10-30분간 가온하며 추출하였다. 원심분리 후 침전에 잔존하는 색소는 1N 염산 10mL를 가해 추출을 반복하였으며 추출액에 포함된 메탄올과 핵산은 증발농축하여 제거하였다.

추출된 색소들은 Sep-Pak C₁₈으로 정제하였다. 이 때 아이스

크림에 키산틴계 색소가 함유된 경우에는 pH를 11-12로 조정하여 Sep-Pak C₁₈ 카트리지를 통과시켰으며 추출된 색소들 중 R3는 산성용액 중에서 침전되므로 정제하여 증발농축한 후 증발농축 수기에 0.1N NaOH를 가해 R3를 용해하여 얻은 다음 HPLC용 시험용액으로 하였다.

Model 식품에서의 첨가 회수를 검토

식용타르색소를 함유하지 않은 청량음료, 캔디, 츄잉껌, 건과류, 아이스크림, 젤리 등 6종의 분석대상시료에 대해 각각 10 µg/g이 되도록 색소혼합액을 첨가한 후 회수율을 3회 반복 측정하였다. Table 3과 같이 회수율은 청량음료 90.3-97.9%, 사탕 79.2-101.9%, 젤리 84.1-103.4%, 츄잉껌 86.4-100.8%, 아이스크림 83.5-103.4%, 건과류 78.5-95.6%로 모두 양호한 결과를 얻었다. 건과류나 아이스크림은 다른 식품군에 비해 회수율이 낮았는데 Sep-Pak C₁₈ 카트리지로 정제하는 과정에서 색소의 보유와 용출이 양호하지 못했기 때문인 것으로 사료된다. 특히 키산틴계 색소인 R3는 단백질에 흡착되어 완전히 용출되지 않고, 산성조건하에서는 광선의 영향이 크다고 보고되었다(24,26). 또한 B2의 경우는 실온에서 암모니아 수용액에 30분간 방치했을 때 85%가 남아있고 100°C에서 5분 만에 거의 분해되는 등(27) 다른 색소에 비해 안정성이 떨어지므로 분석과정 중 온도나 pH 조절에 유의해서 본 실험에서는 전처리하여 바로 분석한 경우 높은 회수율을 얻을 수 있었다.

유통 식품 중의 식용색소 정량

시중에서 유통되고 있는 제품 중 청량음료, 사탕, 젤리, 츄잉껌, 아이스크림, 건과류의 총 6종 120품목을 분석 대상식품으로 본 실험에서 최적화되어 설정된 전처리 및 분석방법을 적용하여 계통별 또는 동시분석에 의해 색소의 함유량을 구한 결과는 Table 4-6과 같다. 우리나라에서 허용되지 않는 색소는 검출되지 않았고 대상제품의 표시사항과는 모두 일치하는 것으로 나타났다. 황색계통의 색소들 중 검출된 것은 Y5와 Y4 두 종류였었고 Y4는 젤리와 건과류, 그리고 사탕에서 많이 검출되었으며, Y5는 사탕과 건과류에서 많이 검출되었다(Table 4). 우리나라에서는 식품첨가물공전 중 식용타르색소의 사용기준에서 사용량 규제를 하고 있지는 않으나 EU(유럽연합)의 사용량 기준에 따르면 Y4와 Y5는 비알콜착향료음료와 과자류, 빙과류에 각각 100, 300, 150 mg/kg으로 최대허용량을 설정하였고 Codex(국제식품규격위원회)에서는 젤리에 200 mg/kg, 빙과류 및 아이스믹스에 100 mg/kg으로 최대허용량을 설정하고 있다(28). 본 실험에서 분석한 시료 중 젤리 시료의 한품목이 Y4가 270.21 µg/g으로 Codex의 기준과 비교할 때 최대허용량을 조금 초과하여 사용하였다. 적색계통의 색소들 중에서는 R2, R40 및 R3가 검출되었고 특히 R2와 R40은 6종류의 식품 모두에서 검출되었다. R3는 사탕과 젤리, 츄잉껌, 건과류에서만 검출되었다(Table 5). 적색계통 색소들에 대한 Codex의 사용량 기준에 따르면 R2와 R3는 젤리에는 200 mg/kg, 빙과류 및 아이스믹스에는 R2가 50, R3가 100 mg/kg으로 최대허용량을 규정하고 있다. 또한 EU에서는 R40의 경우 비알콜착향료음료에 100, 과자류에 300, 빙과류에 150, 스낵에 200 mg/kg으로 최대허용량을 설정해 놓고 있다(28). 6종류의 식품들 중 이들 EU 또는 CODEX의 기준을 초과하여 사용한 경우를 살펴보면 R40은 사탕에서 두개의 시료가 각각 143.92, 301.16 mg/kg으로 초과하였고 건과류에서도 한개의 시료가 357.85 mg/kg으로 EU의 최대허용량보다 조금 높았다. 또한 R2는 젤리시료 중 한개와 아이

Table 3. Recovery efficiencies (%) for 19 food colors spiked to the several foods followed by HPLC analysis

Food color	Sample	Recovery efficiencies (%) ¹⁾					
		Soft drink	Candy	Jelly	Chewing gum	Ice cream	Cereals
B2		95.3±0.93	79.2±0.68	103.4±1.64	99.1±0.51	91.4±1.81	79.2±0.21
QY		97.7±1.01	101.9±0.47	98.4±1.09	98.6±0.42	97.9±2.38	93.3±0.29
GS		97.2±0.93	96.6±1.10	93.1±1.65	93.5±0.38	83.5±3.63	80.4±1.60
Y5		97.2±1.01	93.2±2.30	97.1±0.76	97.7±0.41	99.5±1.57	93.8±0.42
Y4		96.7±0.79	100.3±1.75	101.2±1.01	95.1±0.62	96.3±5.33	83.0±0.32
R40		97.9±1.12	99.1±1.42	96.9±1.14	96.2±0.28	99.4±1.12	95.6±0.78
R2		96.5±0.95	100.4±1.52	96.7±1.11	97.0±0.36	98.0±1.99	86.3±0.52
G3		97.8±1.06	94.9±1.31	94.9±1.13	96.0±0.44	99.3±0.80	94.8±0.86
R2G		92.0±1.81	96.2±1.21	97.8±1.10	98.9±0.89	99.6±1.57	94.1±0.17
B1		96.1±1.49	98.4±1.60	100.8±2.32	100.8±0.65	103.4±1.28	95.6±0.45
R102		97.0±1.03	92.9±1.55	95.9±1.15	97.0±0.31	99.5±0.78	88.9±0.47
R106		97.0±0.95	99.7±1.53	96.3±1.13	97.3±0.52	100.4±0.90	95.6±0.48
Azo		96.5±1.54	95.9±1.10	92.3±2.11	91.2±0.16	98.9±1.66	93.9±1.90
BBN		97.6±0.96	90.8±0.78	97.9±1.20	98.8±0.57	94.0±2.08	78.5±0.69
PB		96.4±1.58	95.0±0.80	95.6±1.20	96.4±0.57	100.4±0.88	92.8±0.68
ORII		96.5±1.14	91.3±2.42	95.4±0.99	95.4±0.84	98.6±1.25	94.6±1.23
R3		95.1±2.03	95.9±1.89	97.5±1.32	98.2±0.63	97.1±1.36	90.5±0.51
R104		95.5±0.50	96.4±0.90	97.2±1.55	97.4±0.55	95.6±2.07	91.4±0.65
R105		90.3±1.82	91.7±2.11	84.1±0.43	86.4±0.17	85.0±2.55	87.7±0.77

¹⁾Mean ± standard deviation.

Table 4. Concentration of the yellow colors quantified in various foods by HPLC

Samples	No. of sample	Food color	Concentrations (mg/kg)	Mean (mg/kg)
Soft drink	20	Y5	N.D. ¹⁾ ×17, 2.04, 5.22, 37.67	14.98
		Y4	N.D.×11, 1.41, 1.68, 2.82, 4.14, 4.78, 5.84, 8.23, 23.61, 32.64	9.46
		QY and ORII	were not detected..	
Candy	20	Y5	N.D.×8, 2.08, 4.17, 6.34, 6.89, 9.05, 10.98, 17.48, 19.71, 31.10, 34.91, 69.65, 90.41	25.23
		Y4	N.D.×8, 4.56, 8.68, 9.40, 15.19, 17.41, 19.75, 21.66, 27.14, 44.18, 68.69, 70.76, 84.59	32.67
		QY and ORII	were not detected..	
Jelly	20	Y5	N.D.×10, 0.61, 0.90, 1.93, 1.93, 2.44, 13.53, 150.5, 22.33, 26.83, 41.89	12.74
		Y4	N.D.×3, 0.93, 1.27, 3.40, 5.17, 7.72, 10.25, 11.30, 14.35, 18.38, 22.43, 22.94, 23.33, 28.15, 38.45, 89.04, 154.19, 270.21	42.44
		QY and ORII	were not detected..	
Chewing gum	20	Y5	N.D.×19, 21.77	21.77
		Y4	N.D.×12, 1.39, 5.68, 6.45, 6.74, 8.38, 15.91, 16.32, 40.49	12.67
		QY and ORII	were not detected..	
Ice cream	20	Y5	N.D.×16, 0.57, 0.89, 7.95, 15.72	6.28
		Y4	N.D.×10, 0.96, 1.16, 2.83, 3.36, 4.76, 5.44, 8.30, 13.78, 14.49	5.91
		QY and ORII	were not detected..	
Cereal	20	Y5	N.D.×12, 1.12, 2.26, 2.43, 3.27, 4.16, 33.96, 80.70, 144.61	34.07
		Y4	N.D.×11, 2.05, 2.72, 6.67, 14.31, 17.18, 20.86, 125.80, 148.18, 157.25	55.00
		QY and ORII	were not detected..	

¹⁾N.D.: not detected.

스크림 시료 중 한개가 Codex의 최대허용량에 근접한 사용량을 보였다. R3는 이들 기준을 초과한 시료는 하나도 없었고 검출된 세가지 적색계통색소들 중 R40이 6가지 식품 종류 전체에서 가장 사용빈도와 사용량이 많았다. 청색 및 녹색 계통의 색소들 중에서 B1은 모두 검출되었고 B2는 건과류를 제외한 모든 식품에서, G3는 청량음료와 사탕, 아이스크림에서만 검출되었다

(Table 6). B1의 경우 특히 과자와 사탕에 많이 사용되었다. Codex에서는 빙과류 및 아이스믹스에 B1, B2 및 G3를 100 mg/kg까지 최대로 허용하고 있고 EU에서는 B1과 B2를 비알코올성 착향음료에 100, 과자류 300, 스낵에 200 mg/kg까지 최대로 허용하고 있는데(28) 본 실험에서 분석한 시료들 중에서 이들 사용기준을 초과한 시료는 없었다.

Table 5. Concentrations of red colors quantified in various foods by HPLC

Samples	No. of sample	Food color	Concentrations (mg/mg)	Mean (mg/mg)
Soft drink	20	R40	N.D. ¹⁾ 17, 0.81, 36.74, 46.26	27.94
		R2	N.D. 16, 1.35, 3.91, 18.72, 24.98	12.24
		R2G, R102, R106, Azo, R3, R104 and R105 were not detected.		
Candy	20	R40	N.D. × 5, 0.10, 0.82, 3.17, 8.80, 16.78, 24.77, 27.80, 27.92, 30.60, 32.61, 34.39, 63.80, 92.39, 143.92, 301.16	53.94
		R2	N.D. × 15, 4.35, 5.36, 6.08, 10.88, 12.98	7.93
		R3	N.D. × 17, 0.23, 0.47, 5.60	2.10
		R2G, R102, R106, Azo, R3, R104 and R105 were not detected.		
Jelly	20	R40	N.D. × 10, 0.36, 3.16, 7.06, 19.21, 20.92, 27.30, 32.45, 61.23, 66.38	22.84
		R2	N.D. × 13, 1.54, 3.21, 4.27, 5.82, 13.67, 19.49, 196.85	34.98
		R3	N.D. × 19, 8.55	8.55
		R2G, R102, R106, Azo, R3, R104 and R105 were not detected.		
Chewing gum	20	R40	N.D. × 16, 0.90, 2.72, 20.05, 64.87	22.14
		R2	N.D. × 16, 4.42, 7.51, 15.02, 21.28	12.06
		R3	N.D. × 14, 0.20, 0.24, 0.68, 1.81, 2.77, 4.43	1.69
		R2G, R102, R106, Azo, R3, R104 and R105 were not detected.		
Ice cream	20	R40	N.D. × 15, 1.58, 3.64, 7.54, 14.24, 51.27	15.66
		R2	N.D. × 13, 4.47, 6.17, 6.47, 17.21, 23.97, 26.79, 34.98	17.14
		R2G, R102, R106, Azo, R3, R104 and R105 were not detected.		
Cereal	20	R40	N.D. × 17, 1.47, 45.78, 357.85	135.04
		R2	N.D. × 18, 3.70, 10.75	7.22
		R3	N.D. × 17, 0.42, 0.53, 54.57	18.51
		R2G, R102, R106, Azo, R3, R104 and R105 were not detected.		

¹⁾N.D.: not detected.**Table 6. Concentrations of blue and green colors quantified in various foods by HPLC**

Samples	No. of sample	Food color	Concentrations (mg/mg)	Mean (mg/mg)
Soft drink	20	B2	N.D. ¹⁾ × 19, 0.78	0.78
		G3	N.D. × 19, 1.09	1.09
		B1	N.D. × 11, 0.18, 0.31, 0.50, 0.90, 1.11, 2.07, 2.21, 5.74, 7.61	2.29
		GS, BBN, and PB were not detected.		
Candy	20	B2	N.D. × 15, 0.07, 0.44, 0.83, 1.65, 20.95	4.79
		G3	N.D. × 19, 0.09	0.09
		B1	N.D. × 5, 0.18, 0.87, 0.92, 1.23, 1.30, 1.39, 1.54, 1.95, 2.57, 2.76, 4.28, 8.16, 11.36, 14.16, 36.66	5.96
		GS, BBN, and PB were not detected.		
Jelly	20	B2	N.D. × 19, 0.86	0.86
		B1	N.D. × 11, 0.05, 0.18, 1.12, 1.32, 2.31, 2.84, 3.88, 3.95, 7.43	2.56
		GS, BBN, and PB were not detected.		
Chewing gum	20	B2	N.D. × 19, 0.15	0.15
		B1	N.D. × 11, 0.08, 0.91, 1.00, 1.01, 1.43, 5.15, 8.04, 8.37, 8.74	3.86
		GS, BBN, and PB were not detected.		
Ice cream	20	B2	N.D. × 19, 0.63	0.63
		G3	N.D. × 18, 0.04, 0.21	0.12
		B1	N.D. × 14, 1.21, 1.37, 1.75, 2.36, 6.34, 8.43	3.58
		GS, BBN, and PB were not detected.		
Cereal	20	B1	N.D. × 15, 0.91, 1.15, 2.37, 19.90, 21.43	9.15
GS, BBN, and PB were not detected.				

¹⁾N.D.: not detected.

현재 우리나라 식품첨가물공전 중 식용색소의 사용기준은 대식식품만 정해져 있고 허용량은 규제하고 있지는 않으나 일일 허용섭취량(ADI: acceptable daily intake)이 설정되어 있고, Codex, EU 등에서는 대상식품과 함께 최대허용량을 규제하고 있으므로 차후 식품첨가물공전도 국제화 추세를 반영할 것으로 생각되며 이에 본 연구 결과가 적절히 활용될 수 있을 것으로 기대한다.

요 약

본 연구는 식품공전에 수록된 식품 중 타르색소의 분석방법을 개선, 보완하여 식품 검사기관에서 정확하고 원활한 검사를 수행할 수 있도록 기여하며 동시에 식이를 통한 식용타르색소의 섭취량 조사, 위해도 평가 및 사용량 규제시 공정시험법의 활용, 통상문제를 대비한 과학적 근거를 확보하는데 활용하고자 수행되었다. 우리나라에서 식품에 사용이 허용된 타르색소 9종과 불허용 타르색소 10종 등 총 19종에 대한 이온쌍 고속액체크로마토그래피를 적용하여 분석하였다. 시중에서 유통 중인 청량음료, 사탕, 젤리, 츄잉껌, 아이스크림 및 건과류 등 6종 120품목을 대상으로 각 식품별 식용타르색소의 추출조건과 회수율의 최적조건을 확립하였으며, 이를 토대로 식품 중 타르색소의 함량을 조사하였다. 청량음료와 사탕, 젤리류는 물에 희석하거나 용해시킨 후 pH를 5-6으로 조정하여 사용하였고 츄잉껌과 아이스크림류는 물과 혼합한 후 고형물을 제거하고 pH를 5-6으로 조정하였으나 아이스크림과 건과류의 경우 키산틴계 색소가 함유된 시료는 pH를 11-12로 조정하였을 때 효율적으로 추출할 수 있었다. 건과류는 헥산 또는 석유에테르로 지방질 성분을 용해하여 제거한 다음 추출하였다. 식품 종류별로 모델 식품에 첨가한 19종 타르색소의 회수율은 청량음료 90.3-97.9%로 가장 높았고, 그 외 식품에서는 모두 80%이상이었다. 시중에서 유통되고 있는 국내 및 수입식품 중 색소의 함량을 정량 한 결과, 식품별 색소의 평균 농도범위는 각각 청량음료 0.78-27.94 mg/kg, 사탕 0.94-53.94 mg/kg, 젤리 0.86-42.44 mg/kg, 츄잉껌 0.15-22.15 mg/kg, 아이스크림 0.12-39.17 mg/kg, 건과류 7.22-135.04 mg/kg의 범위이었고 검출된 색소는 표시사항과 일치하였다.

문 헌

1. Song CC, Tak HJ. Food Additives. Jisungsa, Seoul, Korea. pp. 198-208 (1998)
2. Mun BS. Food Additives. Suhaksa, Seoul, Korea. pp. 134-149 (1998)
3. Korea Food and Drug Administration. Food Additives Code. Seoul, Korea. pp. 179-209 (1998)
4. Kwon HS, Kim IB, Lee JO. Study on the determination of mixed color in foods (II). Report NIH 15: 445-448 (1981)
5. Kim KS, Kim BY, Shin KB, Kim IB, Yoo SY. Study on the determination of mixed coloured in foods (V). Report NIH 18: 393-398 (1981)
6. AOAC. Official Methods of Analysis of AOAC Intl. 16th ed. Association of Official Analytical Communities. Gaithersbrug, MD, USA (1995)
7. Lee JO, Yoon HJ, Lee CH, Park SK, Lee CW. A study for analytical method of synthetic color additives in foods (I). Annual Report KFDA 2: 107-115 (1998)
8. Huest HJ, Mckim JMA, Martin RA. Determination of tartrazine

- in food products by HPLC. J. Food Sci. 46: 419-420 (1981)
9. Lawrence JF, Lancaster FE, Conacher HBS. Separation and detection of synthetic food colors by ion-pair high performance liquid chromatography. J. Chromatogr. A 210: 168-173 (1981)
10. Puttemans ML, Dryon L, Massart DL. Isolation, identification, and determination of food dyes following ion-pair extraction. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 65: 735-745 (1982)
11. Chudy J, Crosby NT, Patel I. Separation of synthetic food dyes using high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr. A 154: 306-312 (1978)
12. Pharmaceutical Society of Japan. Standard Methods of Analysis for Hygienic Chemists. Ginin, Tokyo, Japan. pp. 512-547 (1995)
13. Park SK, Lee CH, Park JS, Yoon HJ, Kim SH, Hong Y, Lee JO, Lee CW. Simultaneous analytical techniques for determination of 8 synthetic food colors in foods by HPLC. Anal. Sci. Technol. 13: 378-384 (2000)
14. Park SK, Hong Y, Jung YH, Lee CH, Yoon HJ, Kim SH, Lee JO. Optimization of HPLC method and clean-up process for simultaneous and systematic analysis of synthetic color additives in foods. Korean J. Food Sci. Technol. 33: 33-39 (2001)
15. Ministry of Health, Labor and Welfare. Analytical Methods of Food Additives in Foods. Kangdamsa, Tokyo, Japan. pp 260-307 (1993)
16. Kuwano K, Mitamura T., Ion-pair high performance liquid chromatographic separation and determination of food coal-tar dyes. J. Food Hyg. Soc. Japan 27: 278-282 (1986)
17. Boley NP, Crosby NT, Johnson AE, Roper P, Somers L. Determination of synthetic colours in foods using high-performance liquid chromatography. Analyst 105: 589-599 (1980)
18. Japan Society of Food Sanitation. Determination of Food Additives in Foods. A Guide to Examination of Food Sanitation. Japan. pp. 135-177 (1989)
19. Kim JH, Kim BH, Kim GS, Oh SK, Han SU, Lee DH. Determination and separation of food tar dyes by HPLC. Report SIHE 29: 122-125 (1993)
20. Tonogai Y, Kingkate A, Halilamian C. Quantitative determination of colorants in dried shrimp and shrimp paste using ion-exchange extraction and high performance liquid chromatography. J. Food Prot. 46: 592-595 (1983)
21. Hann JT, Gilkison IS. Gradient liquid chromatographic method for the simultaneous determination of sweeteners, preservatives and colours in soft drinks. J. Chromatogr. A 395: 317-322 (1987)
22. Lau OW, Poon MMK, Mok SC, Wong FMY, Luk SF. Spectrophotometric determination single synthetic food colour in soft drinks using ion-pair formation and extraction. Int. J. Food Sci. Technol. 30: 793-798 (1995)
23. Oh SK, Park HH, Chung SY, Choi HY, Park SB. A study on food additives : For contents of tar dyes in ice creams. Report SIHE 13: 49-55 (1977)
24. Tsuji S, Shibata T, Okamoto, K, Takeda K, Fujiwara Y, Ito Y. Preparation of sample solution using pronase treatment for determination of food coal-tar dyes in foods. J. Food Hyg. Soc. Japan 36: 68-76 (1995)
25. Puttemans ML, Dryon L, Massart DL. Evaluation of thin layer, paper and high performance liquid chromatography for identification of dyes extracted as ion-pair with tri-n-octylamine. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 65: 730-736 (1982)
26. Kim JH, Kim BH, Oh YH, Kim GS, Cho TH, Oh SK, Han SU, Lee DH. Studies on the stability of food tar dyes. Report SIHE 30: 91-94 (1993)
27. Tsunoda K, Inoue N, Aoyama M, Hasebe A. Rapid analysis of the food colors in food stuffs using polyamide. J. Food Hyg. Soc. Jpn. 28: 473-479 (1987)
28. Korea Institution of Food Sanitation. Study on the application of chemically synthetic food additives in foods. Ministry of Health and Welfare. Korea. pp. 194-236 (1997)