

식품 중 알긴산나트륨의 분석법 개발

김희연* · 홍기형 · 최장덕 · 박성관 · 정시섭¹ · 최우정 · 안영순 ·
홍영표 · 송옥자⁴ · 문동철² · 이신호³ · 신일식⁴

식품의약품안전청, ¹(주)랩프런티어, ²충북대학교 약학대학,
³대구가톨릭대학교 식품·외식산업학부, ⁴강릉대학교 해양생명공학부

Development of Analytical Method for Sodium Alginate in Foods

Hee-Yun Kim*, Ki-Hyoung Hong, Jang-Duck Choi, Sung-Kwan Park, Si-Sub Jung¹, Woo-Jeong Choi,
Yeong-Sun Ahn, Yeong-Pyo Hong, Ok-Ja Song⁴, Dong-Chul Moon², Shin-Ho Lee³, and Il-Shik Shin⁴

Korea Food and Drug Administration

¹Labfrontier Co., Ltd.

²College of Pharmacy, Chungbuk National University

³Faculty of Food Industrials Technology, Catholic University of Daegu

⁴Faculty of Marine Bioscience & Technology, Kangnung National University

Abstract Method of analyzing sodium alginate in foods was developed using high performance liquid chromatography (HPLC). HPLC conditions for sodium alginate were: column, MCI GEL (8 mm i.d×300 mm); mobile phase, deionized water; detector, refractive index detection (sensitivity = 16). Separation of sodium alginate was achieved within 15 min. Sodium alginate showed good linear relationship at 0.1-2.0% range. Correlation coefficient of calibration curve for sodium alginate exceeded 0.999, and detection limit was 0.005%. Recovery rate of sodium alginate in wheat flour dough was 106.67%. This method was successfully applied to analyses of cereals, saccharides, and ice cream, etc. Sodium alginate was detected in chocolate, noodles, and kelp at 0-44.8% range.

Key words: sodium alginate, HPLC, foods

서 론

알긴산은 해조류인 김, 파래, 우뚝가사리, 미역, 다시마 등의 세포벽에 풍부하게 존재하는 친수성, 콜로이드성 및 음이온성 다당류의 일종으로서 미역의 경우에는 전체 중량 대비 약 40%를 차지하기도 한다. 알긴산은 가지 사슬이 없는 β-1,4 결합의 만우론산(β-D-mannuronic acid)과 글리우론산(α-L-gluronic acid)이 그 조성과 함량면에서 무작위로 결합되어 형성된 고분자이며 각 성분의 구성비율은 채취한 원료에 따라 달라진다(1-4). 알긴산염은 하나의 단위마다 하나의 카르복실기를 가지며 그 곳에 염을 형성하는데 2가 이온이나 착염을 형성하는 중심이온은 각각 다른 알긴산염 사슬의 카르복실기에 부착되며 이런 분자간 염의 연결은 열이나 용매 등의 물리화학적 조건에서 매우 안정하다(5,6).

알긴산은 식품첨가물로서 아이스크림, 잼, 마요네즈 등의 점성도를 증가시키고 부드러운 느낌을 주도록 하기 위하여 첨가된다(7-11). 또한 디저트 푸딩이나 젤을 만드는데도 사용되고 있다(7). 알긴산나트륨에 대해 세계 각국에서는 이 화합물에 대하여 기준

치를 규정하고 있으며, 국제식품규격위원회(CODEX), 미국, 일본 등에서도 식품첨가물 기준 규격을 개정하여 이들 화합물의 사용을 규제하고 있다. 국내에서는 알긴산나트륨을 유화제, 안정제 등의 용도로 식품제조공정에서 사용되고 있으며 점차 그 사용이 증가하는 추세이다.

현행 식품첨가물공전에 제시된 알긴산나트륨의 정량법은 전처리 과정이 복잡하고 분석시간이 많이 소요되는 무게분석법이다. 따라서 크로마토그래피 방법 등의 기기를 이용한 간편한 정량분석법의 연구가 요구되고 있는 실정이다. 한편, alginate를 분석하는 방법으로 시료를 methanolysis시켜 역상 HPLC로 그 함량을 측정하는 연구가 보고되어 있으나 침전시키고 건조시켜 균질화하여야 하는 것 등 그 전처리 방법이 다소 번거로운 단점이 있다(12).

본 연구는 국내·외적으로 대두되고 있는 알긴산나트륨에 대하여 보다 신속하고도 정확하며 표준화된 기기분석법을 확립하여 시중에 유통되고 있는 제품에 함유된 알긴산나트륨의 함량을 모니터링하고, 식품의 안전성을 확보하기 위한 공정시험법으로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료

본 연구에 사용된 실험용 검체는 서울, 경기도 수원 지역의 백화점 및 대형 할인점 등에서 유통되고 있는 117품목의 식품을 구입하여 사용하였다.

*Corresponding author: Hee Yun Kim, Testing and Analysis Team, Gyeongin Regional KFDA, 120 Juan-dong, Incheon 402-835, Republic of Korea
Tel: 82-32-450-3361
Fax: 82-32-442-4622
E-mail: pmheekim@kfda.go.kr
Received April 15, 2005; accepted November 19, 2005

표준용액의 조제

알긴산나트륨 표준품은 sigma사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였으며 표준품 약 10.0 g을 정확하게 칭량한 다음 100 mL 플라스크에 취하였다. 3차 증류수를 가하여 때때로 흔들어 주면서 80°C 수욕조상에서 용해시켜 농도가 10.0%가 되도록 조제하였다. 이 표준용액을 다시 3차 증류수로 희석하여 0.10-2.00 %의 농도가 되도록 조제하여 사용하였다.

시료전처리 방법

시료 10.0 g을 정확히 칭량하여 100 mL 플라스크에 넣고 3차 증류수를 가한 다음, 30분간 초음파 추출하였다. 이 추출액을 micro membrane filter(수용성, 0.45 µm, Whatman Co. Brentford, UK)로 여과한 뒤 HPLC-RI 분석의 시험용액으로 사용하였다.

분석기기

HPLC는 RI가 장착된 영린 시스템(Younglin Co., Anyang, Korea)을 사용하였으며, 분석용 column은 REZEX guard(50 × 7.80 mm, 8 µm; Phenomenex Co., USA)/MCI GEL(8 × 300 mm; Mitsubishi Chemical Co., Japan)을 선택하였다. 이동상으로는 3차 증류수(0.7 mL/min)를 사용하였다. 시료는 100 µL를 주입하였으며 오븐 온도는 75°C로 유지하였다.

결과 및 고찰

알긴산나트륨 분석을 위한 표준화된 분석법 확립

알긴산나트륨에 대하여 보다 간편한 기기분석방법을 확립하고자 세 가지 컬럼을 비교하여 실험한 결과, NH₂ 컬럼 및 carbohydrate 컬럼에서는 피크가 검출되지 않았다(Table 1). 이는 알긴산나트륨이 고분자의 특성을 가지고 있으므로 이러한 컬럼에서 분리가 되지 않는 것으로 사료된다. MCI GEL 컬럼은 일종의 GPC 컬럼으로서 고분자 및 당류분석 때 쓰이는 컬럼이다. Copolymer 형태의 알긴산나트륨은 일정한 분자량을 가지고 있지 않고 분자량 분포가 넓으므로 피크의 띠 넓힘 현상을 보였다(Fig. 1).

MCI GEL 컬럼을 사용하여 알긴산나트륨 표준용액을 각각 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0%의 농도로 3회 반복 실험하여 HPLC로 분석한 결과 검량선을 통한 상관계수(R²)는 0.9995였고 상대표준편차는 0.35%를 나타내었다(Fig. 2). 또한 International Union of Pure and Applied Chemistry(IUPAC)에서 제시한 방법(13)으로 검출한계를 조사한 결과, 알긴산 나트륨은 0.005%의 검출한계를 나타내었다.

회수율 실험은 밀가루 반죽에 표준시료를 첨가하여 30분간 방치한 후 3차 증류수로 초음파 추출하여 알긴산나트륨의 최종 농도가 0.50%가 되도록 하였다. 3번 반복 실험한 결과 평균 0.53%의 값을 나타냈으며 회수율은 106.67%의 결과를 보였다.

밀가루에 알긴산나트륨 표준물질을 첨가하여 회수율 실험을 한

결과 방해물질들이 같이 검출되는 것이 확인되었으나 이것은 검출기의 특성상 알긴산나트륨만을 선택적으로 검출하기가 어렵기 때문인 것으로 사료되며 확인되지 않는 물질들이 검출되었으나 알긴산나트륨과의 구분이 확인될 정도의 분리가 가능하였다(Fig. 3).

또한, 기존의 식품첨가물공전 알긴산나트륨의 정량법으로 회수율을 측정 한 결과 73.5%의 낮은 회수율을 보였으며 이 방법은 분석시간이 많이 소요되고 회수율이 낮기 때문에 정확한 결과를 얻기 어려울 것으로 판단된다.

선정 대상식품에서의 알긴산나트륨 함유량 조사

알긴산나트륨을 분석하기 위한 HPLC 조건 및 전처리 방법을 확립한 후 그 방법을 토대로 다양한 시료들을 분석하여 확립된 분석법의 실제 식품에 적용가능 여부를 검토하였다. 또한 다양한 식품중의 알긴산나트륨의 함유량을 조사하기 위하여 식품공전의 대분류 별로 최소한 한가지 품목 이상을 선정하여 총 117개 품목의 알긴산나트륨 함유량을 조사하였다. 알긴산나트륨이 함유되어 있을 것으로 예상되는 품목은 제조사 별로 다수의 시료를 선정하여 실험하였다. 모든 시료는 각 3번 반복 실험하여 평균값을 구하였으며 시료 20개 분석 후 표준물질의 면적을 확인하여 데

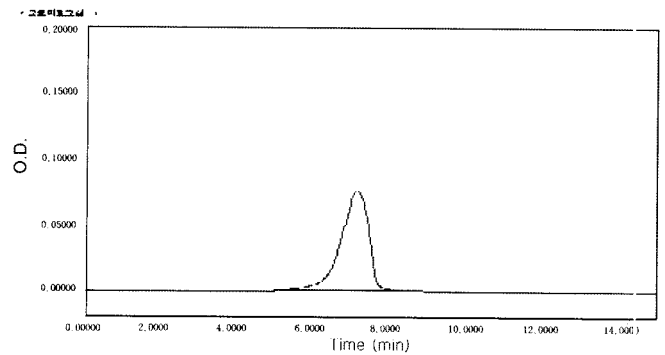


Fig. 1. Chromatogram of sodium alginate.

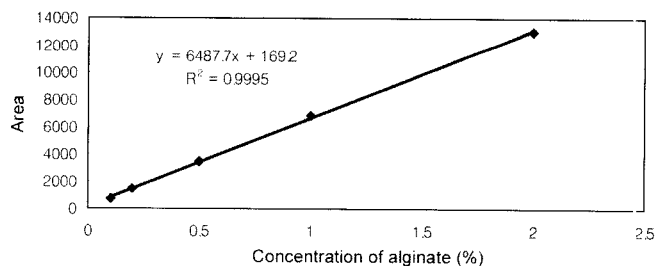


Fig. 2. Calibration curve of sodium alginate.

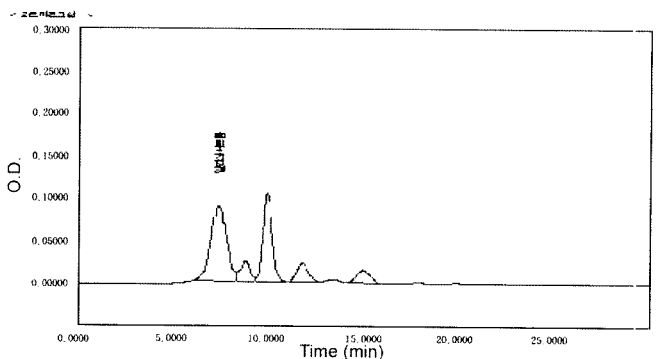


Fig. 3. Chromatogram of spiked sodium alginate in wheat flour.

Table 1. Column comparison experiment result for sodium alginate analysis

Column	Results
Shodex Asahipak NH ₂ (4.6 × 250 mm, 5 µm)	Alginate standard not detected
Waters Carbohydrate (4.6 × 250 mm)	Alginate standard not detected
REZEX guard (50 × 7.80 mm, 8 µm)/MCI GEL (8 × 300 mm)	Alginate standard detected

Table 2. The contents of sodium alginate in foods

Commodity	Sample	Alginate (%)
Cereals	Dumpling skin	nd ¹⁾
	Rice cake (Jeolpyon) 1	nd
	Red bean bread	nd
	Sesame red bean bread	nd
	Choco chip	17.30
	Choco chip 2	nd
	Candy 1	nd
	Candy 2	nd
	Japanese sweet jelly of red beans	nd
	Chocolate 1	nd
	Chocolate 2	nd
	Milk chocolate	nd
	Gum	nd
	Strawberry jam 1	nd
	Strawberry jam 2	nd
Saccharides	Starch syrup	nd
	Dextrin	nd
	Oligosaccharide	nd
Ice cream	Ice cream 1 (vanilla flavor)	nd
	Ice cream 2 (vanilla flavor)	nd
	Ice cream 3 (chocolate flavor)	nd
	Ice cream 4 (butter flavor)	nd
	Ice cream 5 (vanilla flavor)	nd
Dairy products	Milk 1 (strawberry flavor)	nd
	Milk 2	nd
	Milk 3 (chocolate flavor)	nd
	Yogurt (strawberry)	nd
	Butter	nd
	Cheese	nd
	Sliced cheese 1	nd
	Sliced cheese 2	nd
Powdered milk	nd	
Meat products	Frank sausage	nd
	Ham 1	nd
	Ham 2	nd
Fishery products	Processed fish product 1	nd
	Processed fish product 2	nd
Soybean curd and Jellies	Soybean curd 1	nd
	Soybean curd 2	nd
	Acorn jelly 1	nd
	Acorn jelly	21.00
Edible oils	Corn oil	nd
Noodles	Instant noodles	nd
	Naengmyeon	2.40
	Korean noodles	0.33
	Spaghetti	nd

¹⁾nd: not detected (<0.05%).

이터의 신뢰도를 높이고, 공시료를 사용하여 오염도 확인 및 바 탕선을 안정화시키고자 하였다.

확립된 기기분석방법을 이용하여 모니터링한 결과 대부분의 시

Table 2. continued

Commodity	Sample	Alginate (%)
Teas	Green tea 1 (tea bag)	nd
	Green tea 2 (tea bag)	nd
	Mugwort tea (tea bag)	nd
	Citron tea	nd
	Coffee (tea bag)	nd
Beverages	Beverage 1 (carrot)	nd
	Beverage 2 (mango)	nd
	Beverage 3 (mango)	nd
	Beverage4 (aloe)	nd
	Soybean milk	nd
Yogurt	nd	
Nutrient supplemental foods	Infant formula	nd
	Patient formula	nd
	Follow up formula	nd
	<i>Saengshik</i>	nd
Health supplemental foods	Royal jelly health food	nd
	Snapping turtle powder health food	nd
	Dried yeast health food	nd
	Spirullina health food	nd
	Glucosamine health food	nd
Chitosan health food	nd	
Seasoned products	Soy sauce 1	nd
	Soy sauce 2	nd
	Soybean paste	nd
	<i>Kochujang</i> 1	nd
	<i>Kochujang</i> 2	nd
	Chinese soy bean paste	nd
	<i>Chongkukjang</i>	nd
	Seasoned soybean paste	nd
	Vinegar	nd
	JJolmyeon sauce	nd
	Ketchup 1	nd
	Ketchup 2	nd
	Curry (powder)	nd
	Black pepper powder	nd
	Dressing	nd
Seasoned products	nd	
Ginseng products	Ginseng tea (granular type)	nd
	Red ginseng powder	nd
	Red ginseng tea (granular type)	nd
	Red ginseng beverage	nd

료에서 알긴산나트륨이 검출되지 않았다(Table 2). 알긴산나트륨 이 가장 많이 검출된 해초 다시마 조림(44.80%)의 경우 인위적 인 첨가물이 아닌 다시마 자체에서 추출된 것으로 사료되며 이 를 확인해 보고자 건조된 다시마와 미역을 구입하여 같은 방법 으로 전처리한 후 분석한 결과 각각 32.62%와 20.91%의 결과를 보였다. 그 외에 초코칩 7.30%, 냉면 2.40%, 가락국수 0.33%의 결과를 나타내었으며 이는 과자류나 면류의 식품첨가물로서 소 량 첨가된 것으로 보인다. 초코칩 쿠키의 경우에는 촉촉함과 부 드러움을 유지하기 위하여 알긴산나트륨이 첨가되었을 것으로 판 단된다. 본 연구에서 확립된 기기분석방법과 비교하기 위하여 기

Table 2. continued

Commodity	Sample	Alginate (%)
Kimchi and salted foods	Chinese cabbage Kimchi	nd
	Green onion Kimchi	nd
	Cucumber Kimchi	nd
	Soused roe of Alaska pollack	nd
	Salted and fermented intestine of Alaska pollack	nd
	Salted and fermented squid	nd
	Picked pepper	nd
	Hot chilli pepper	nd
	Cucumber Pickle	nd
	Hard-boiled seaweed-kalp	44.80
	Dried kalp	32.62
	Dried brown seaweed	20.91
	Raw rice wine	nd
	Alcoholic beverages	Liquors
Sake		nd
Beer		1.65
Fruit wine		nd
Soju		nd
Dried meat or fish products	Dried filefish	nd
	Squid	nd
	Dried and seasoned beef 1	nd
	Dried and seasoned beef 2	nd
Other foods	Mixed nuts	nd
	Banana chips	nd
	Laver	nd
	Cheese stick	nd
	Honey	nd
	Mayonnaise	nd
	Meat stock of Buckwheat vermicell	nd
	Popcorn (microwave range)	nd

존의 식품첨가물공전 알긴산나트륨의 정량법으로 모니터링한 결과, 다시마 조림 37.48%, 건조된 다시마 28.19%, 건조된 미역 15.75%, 초코칩 6.44%, 냉면 2.06 % 및 가락국수 0.28%의 결과를 보였으며 이는 낮은 회수율의 결과로부터 기인한 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 알긴산나트륨을 분석하기 위한 시료 전처리방법 및 HPLC 분석조건을 확립한 후, 이 방법을 토대로 다양한 시료들을 분석하여, 분석법의 적용가능 여부를 검토하고자 하였다. 이를 위해 전처리방법, 칼럼 및 HPLC 분석조건을 달리하여 시험하였고, MCI GEL 컬럼을 사용하여 알긴산나트륨 표준용액을 3회 반복 하여 HPLC로 분석한 결과, 표준편차는 14.33, 상대표준

편차는 0.35%를 나타냈다. 검량선을 통해 상관계수(R^2)가 0.9995임을 확인하였으며 검출한계는 0.005%의 결과를 보였다. 또한 밀가루 반죽에 표준시료를 첨가 후 회수율을 측정한 결과, 106.67%의 결과를 보였다. 이상의 조건으로 117개 품목에 대한 알긴산나트륨의 함량을 조사한 결과, 대부분의 시료에서 알긴산나트륨이 검출되지 않았으며 알긴산나트륨이 가장 많이 검출된 다시마 조림(44.80%)의 경우 인위적인 첨가물이 아닌 다시마 자체에서 추출된 것으로 사료되며, 이를 확인해 보고자 건조된 다시마와 건조된 미역을 구입하여 분석한 결과 각각 32.6%와 20.9%의 결과를 보였다. 그 외에 초코칩 7.30%, 냉면 2.40%, 가락국수 0.33%의 결과를 나타내었으며 이는 과자류나 면류의 식품첨가물로서 초코칩 쿠키의 경우에는 촉촉함과 부드러움을 유지하기 위하여 알긴산나트륨이 첨가되었을 것으로 판단된다.

문 헌

- Ci SX, Huynh TH, Louie LW, Yang A, Beals BJ, Ron N, Tsang WG, Soon SP, Desai NP. Molecular mass distribution of sodium alginate by high-performance size-exclusion chromatography. *J. Chromatogr. A.* 864: 199-210 (1999)
- Kato Y, Matsuda T, Hashimoto T. New gel permeation column for the separation of water soluble polymer. *J. Chromatogr. A.* 332: 39-46 (1985)
- Desille M, Allain N, Anger JP, Mahler S, Lognoné V, Mallédart Y, Clément B. Method for monitoring alginate released in biological fluids by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *J. Chromatogr. B.* 784: 265-274. (2003)
- Annisson G, Norman W, Cheatham H. Determination of the uronic acid composition of alginates by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 264: 137-143 (1983)
- Heyraud A, Morel CP, Girond S, Richard C, Kloareg B. HPLC analysis of saturated or unsaturated oligoguluronates and oligomannuronates. *Carbohydr. Res.* 291: 115-126 (1996)
- Mammarella EJ, Rubiolo AC. Crosslinking kinetics of cation-hydrocolloid gels. *Chem. Eng. J.* 94: 73-77 (2003)
- Yamamoto S, Saeki T, Inoshita T. Drying of gelled sugar solution-water diffusion behavior. *Chem. Eng. J.* 86: 179-184 (2002)
- Shi X, BeMiller JN. Effects of food gums on viscosities of starch suspension during pasting. *Carbohydr. Poly.* 50: 7-18 (2002)
- Minhas KS, Sidhu JS, Modahar GS, Singh AK. Flow behavior characteristics of ice cream mix made with buffalo milk and various stabilizers. *Plant Food Human Nutr.* 57: 25-40 (2002)
- Lin YE, Anantheswaran RC, Puri VM. Finite element analysis of microwave heating of solid foods. *J. Food Eng.* 25: 85-112 (1995)
- Edward WD, Skoryna SC, Paul TM. Studies on the inhibition of intestinal absorption of radioactive strontium. 3. the effect of administration of sodium alginate in food and in drinking water. *Can. Med. Assoc. J.* 91: 1006-1010 (1964)
- Quemener B, Marot C, Mouillet L, Riz V, Diris J. Quantitative analysis of hydrocolloids in food systems by methanolysis coupled to reverse HPLC. Part 2. pectins, alginates and xanthan. *Food Hydrocolloids* 14: 19-28 (2000)
- Anonymous. Nomenclature, symbols, units and their usage in spectrochemical analysis-II. data interpretation analytical chemistry division. *Spectrochim. Acta* 33B: 241-245 (1978)