J Korean Soc Food Sci Nutr
46(3), 358~367(2017)

한국식품영양과학회지
https://doi.org/10.3746/jkfn.2017.46.3.358

HPLC 및 GC를 이용한 건강기능식품 원료 중 보존료 함유량 조사

김정복 · 김명철 · 송성완 · 신재욱
한국식품산업협회 부설 한국식품과학연구원

Determination of Preservatives in Raw Materials of Functional Foods by HPLC-PDA and GC-FID

Jung-Bok Kim, Myung-Chul Kim, Sung-Woan Song, and Jae-Wook Shin
Korea Advanced Food Research Institute

ABSTRACT Preservatives, as food additives, are occasionally intrinsic to natural raw materials or sometimes generated during the fermentation process as reported in many research articles. Preservative compounds in raw food materials may persist in the final food product, which is not supposed to include such preservative compounds. In this study, we validated an analytical method for preservative compounds in raw materials of functional foods. Quantification of benzoic acid and sorbic acid was determined using HPLC-PDA analysis after distillation, whereas propionic acid was quantified with GC-FID. A significant set of validation data (accuracy, precision, linearity, recovery, etc) was acquired. A total of 212 samples were collected for analysis of naturally occurred preservatives, and preservatives were detected in 85 samples. Most of the detected samples showed less 10 mg/kg of preservatives. The results of this study provide fundamental data on naturally occurring preservatives in raw materials of functional foods. Moreover, building up a database of naturally occurring preservatives could solve problems in the current scientific data.

Key words: food additive, method validation, HPLC-PDA, GC-FID

서 론

식품 등의 보존 효과를 높이기 위해 사용되고 있는 보존료는 총 5품목 18종 등으로 식품공전 및 식품첨가물공전 상에 지정되어 있으며, 식품별 사용 기준에 따라 관리되고 있다(1). 각각의 보존료는 식품에 따라 사용기준이 설정되어 있어 식품별 잔류허용량이 설정되어 있으며, 사용기준이 설정되어 있지 않은 식품의 경우 식품의 규격상 검출되어서는 안 되고, 검출된 경우 기준규격 위반으로 판매, 유통, 진열 등이 금지되고 있다. 그러나 많은 연구에서 소르빈산(sorbic acid), 안식향산(benzoic acid), 프로피온산(propionic acid) 등이 다양한 천연 원료에 함유되어 있으며, 원료 등의 발효 과정에서도 생성된다는 보고가 있다. 이러한 원료를 사용하여 가공한 가공식품에서도 이행(carry over)되어 잔존하는 경우가 발생한다.

안식향산은 세계 여러 나라에서 사용되는 보존료로서 식품에서 항미생물 작용으로 가공식품 등의 저장성을 높이는 것으로 보고되었다(2). 소르빈산의 경우 pH 6.5 이상에서 항미생물 활성이 더 증가하고 곰팡이와 효모들이 aliphatic 사슬결합에서 unsaturated 이중결합을 대사할 수 없게 작용하여 곰팡이와 효모생육을 저지시키는 작용 기작을 가진다고 보고되었다(2). 프로피온산의 경우 일부 발효식품에서 자연적으로 형성된다고 보고되었다(3).

우리나라 현행 식품위생법에 의하면 보존료 사용이 허용되지 않은 식품 등에서 보존료가 검출되는 경우 원료로부터 이행된 범위 안에서 이행을 인정하고 있으며, 이 경우 사용된 원재료에서의 보존료의 농도 및 배합비율을 근거로 최종 제품에서의 보존료 허용량을 결정할 수 있다(4).

국내에서 보고된 천연 유래 보존료 연구에서는 안식향산과 프로피온산을 조사하였고, 그 대상 물질은 발효식품의 유기산 분석, 식품원료의 휘발성 향기성분 및 이화학 분석에 대해서만 보고되었다(1). 기존 연구에 따르면 재래식 발효방법으로 제조된 된장, 간장, 고추장 등의 발효식품 중에 프로피온산을 분석하였으며(5), 인삼과 프로폴리스 추출물을 주원료로 사용하는 건강기능식품의 생리활성 성분에서 안식향산과 프로피온산이 검출되었다고 보고되었다(6-9).

또한, 다류와 향신료로 사용되는 39종을 대상으로 안식향산과 소르빈산의 함량 조사(2), 국내산뿐 아니라 중국, 호주, 브라질산의 프로폴리스 추출물 중 안식향산을 분석한 연구가 보고되었다(10). 재래식 간장의 발효기간에 따른 함량 변화(11), 재래식 고추장의 숙성 중 프로피온산의 함량 변화

Received 11 August 2016; Accepted 30 August 2016
Corresponding author: Jae-Wook Shin, Research and Development Division, Korea Advanced Food Research Institute, Seoul 06707, Korea
E-mail: freeset@kfia.or.kr, Phone: +82-2-3470-8285

(12), 요구르트 제조 시 프로피온산의 생성 등이 보고되었다(13).

건강기능식품의 기능성 원료는 동물·식물·미생물 기원의 원재료를 그대로 가공한 것과 그 추출물·정제물, 정제물의 합성물 및 복합물이 모두 포함되는 매우 광범위한 범위를 가진다. 특히 발효 과정을 통해 제조되는 원료나 천연물 유래의 기능성 원료는 안식향산, 프로피온산 등이 천연으로 존재할 가능성이 매우 크므로 천연 유래 여부 판단 근거 자료는 시급한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 국내 유통 중인 건강기능식품 원료 중 천연 유래 보존료의 검출 가능성이 있는 원료를 선정·수집하여 천연 유래 보존료(안식향산, 소르빈산, 프로피온산)를 분석하고 유효성 검증을 위해 매트릭스별 method validation을 실시한 후 이를 적용하여 수집된 시료의 함유량을 조사하였다.

재료 및 방법

시약 및 초자

시료의 분석을 위하여 사용한 안식향산, 소르빈산, 프로피온산과 프로피온산 분석 시 사용되는 내부표준물질인 crotonic acid는 순도 99% 이상의 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA) 제품을 사용하였으며, 시료의 전처리 시 사용되는 주석산, 수산화나트륨, 인산은 Junsei Chemical Co.(Tokyo, Japan) 제품을 사용하였다. 아세톤, 디에틸에테르, 아세토니트릴 등은 J.T Baker사(Phillipsburg, NJ, USA) 제품을 사용하였으며, LC 분석용 이동상에 이용된 TBA-OH 시약은 Alfa Aesar사(Lancashire, UK) 제품을 사용하였다. 그 외의 시약은 모두 특급을 사용하였다. 또한, 시험법의 회수율 검증을 위하여 한국표준과학연구원의 안식향산 인증표준물질인 차음료(KRISS CRM No. 108-06-001, 안식향산=116.2 mg/kg)를 구매하여 사용하였다.

분석대상 시료

본 연구를 위해 건강기능식품공전에 수록(14)되어 있는 기능성 원료 중 천연 유래가 될 수 있는 시료 선정을 위해 시료 선정 원칙을 수립하고 세워진 선정 원칙에 따라 시료를 구분하여, 그중 확보 가능한 시료를 수집하였다. 수집한 시료는 건강기능식품 기능성 원료 중 고시형 35품목 122건, 개별인정형 31품목 48건이었으며 부원료는 14품목 42건으로 총 212건이었다.

표준용액의 조제

소르빈산, 안식향산 표준품 0.1 g을 정밀히 달아 메탄올에 녹여 100 mL씩으로 한 액을 각 표준원액으로 하고 각 표준원액을 취하여 0.3~100 mg/L가 되도록 희석한 액을 표준용액으로 하였다. 프로피온산의 경우 0.1 g을 정밀히 달아 아세톤에 녹여 100 mL 녹이고, 내부표준물질인 crotonic acid 0.1 g을 정밀히 달아 물에 녹이고 100 mL로 한 액을 내부표준물질용액으로 하였다. 표준원액을 취하여 5~100 mg/L가 되도록 희석하며 내부표준물질이 100 μg/mL가 되도록 표준용액을 조제하였다.

시료 전처리

수집한 시료의 소르빈산, 안식향산과 프로피온산의 함량 분석을 위한 시료 전처리(15)는 시료 일정량을 수증기 증류용 킬달플라스트에 정밀히 취하여 15% 주석산 용액 10 mL, 염화나트륨 약 80 g, 증류수 약 100 mL를 가한 후 필요한 경우 실리콘 수지 약간을 가한 다음 수증기 증류장치에 연결하고 증류액을 받는 수기에는 미리 1% NaOH 용액 20 mL를 가한 후 증류액을 받는 수기 끝부분이 1% NaOH 용액 20 mL에 잠기도록 하여 증류를 하였으며, 유액은 10 mL/min의 속도로 최종 유액이 500 mL가 되도록 증류를 하였다. 증류액을 0.45 μm membrane filter로 여과하여 소르빈산과 안식향산의 시험용액으로 하였다. 프로피온산 분석용 시험용액의 조제를 위해 따로 증류액 100 mL를 분액여두에 취하여 NaCl 10 g 및 인산 1 mL와 내부표준물질 1 mL를 가한 후 진탕하여 혼합하고 디에틸에테르 50 mL를 이용하여 2회 추출한 다음 디에틸에테르 층을 무수황산나트륨을 통과시켜 수분을 제거하고 40°C의 rotary vacuum evaporator(BUCHI Labortechnik AG, Flawil, Switzerland)를 이용하여 증발 건고한 후 아세톤을 이용하여 10 mL로 한 것을 프로피온산 분석용 시험용액으로 하였다.

보존료 분석조건

시료 중의 소르빈산 및 안식향산의 분석(15)을 위하여 PDA 검출기가 장착된 HPLC(Shiseido Nanospace SI 2 HPLC System, Shiseido, Tokyo, Japan)를 이용하였으며, 칼럼은 Capcellpak MF C8(4.6 mm×150 mm, 5 μm)을 이용하였다. 이동상은 A용액의 경우 0.025% TBA-OH(0.1% 인산), B용액의 경우 아세토니트릴을 사용하여 23분간 농도구배를 실시하였으며, 검출파장은 217 nm로 200~600 nm를 scan 하였다. 주입량은 10 μL로 하였으며, 칼럼의 온도는 40°C, 유속은 1.0 mL/min으로 하였다(Table 1).

또한, 프로피온산 분석은 FID가 장착된 GC(HP-6890, Agilent Co., Palo Alto, CA, USA)를 이용하였다. 칼럼은 HP-FFAP(30.0 m×320 μm×0.25 μm, Agilent Co.)를 사용하였으며, 오븐 온도는 최초 100°C로부터 10°C/min으로 150°C까지 승온한 후 5분간 유지하고 다시 20°C/min으로 승온하여 230°C까지 승온하였다. 주입구 온도는 220°C, 검출기 온도는 230°C였으며, 유속은 1.0 mL/min, 캐리어 가스는 질소를 이용하여 분석을 실시하였다(Table 2).

Method validation

본 연구에서는 건강기능식품 원료 천연 유래 보존료(소르빈산, 안식향산 및 프로피온산)의 함량 분석을 위하여 대표

Table 1. Instrumental conditions of sorbic acid and benzoic acid

Column	Capcellpak MF C8 (4.6 mm×150 mm, 5 μm)
Detector	PDA (217 nm, scan 200～600 nm)
Mobile phase	A: 0.025% TBA-OH (0.1% phosphoric acid) B: Acetonitrile

<Gradient condition>

Time (min.)	A (%)	B (%)
0.0	75	25
2.5	75	25
7.0	65	35
12.0	60	40
15.0	70	30

Flow rate	1.0 mL/min
Injection volume	10 μL
Column temp.	40°C

적인 식품 유형 시료 매트릭스 3가지(액상, 분말, 오일)를 선정하여 각각의 매트릭스별 method validation을 실시하였다.

Validation 항목으로는 직선성, 정밀성, 정확도, inter-day, intra-day 그리고 회수율을 측정하여 건강기능식품원료 중 천연 유래 보존료 함량 분석의 유효성과 신뢰성을 확보하였다.

결과 및 고찰

보존료 크로마토그램

식품공전에서 제시한 시료 전처리 방법과 분석조건(15)을 적용하여 HPLC-PDA로 sorbic acid, benzoic acid를 분석한 결과 217 nm(PDA scan range 200~600 nm) 파장에서 retention time이 4.9분, 6.4분에서 검출되었고, GC-FID를 이용하여 propionic acid를 분석한 결과 propionic acid는 5.2분, crotonic acid(IS)는 7.5분으로 확인되었다(Fig. 1, 2)

직선성, 검출한계 및 정량한계

직선성 결과 액상과 분말 시료 중 검량농도의 범위는 소르빈산, 안식향산 각각 0.3~100 μg/mL, 프로피온산의 경우 5~100 μg/mL 범위로 분석하였으며 직선성 결과 R^2=0.99 이상의 결과를 확인하였다. 액상과 분말시료 중 검출한계와 정량한계는 0.05~1.30 μg/mL, 0.15~3.80 μg/mL, 오일의 경우 검출한계와 정량한계는 0.03~1.22 μg/mL, 0.10~3.54 μg/mL로 확인되었다(Table 3).

정밀도 및 정확도

정확도 산출을 위해 3가지 식품 유형 액상, 분말, 오일 상에서 검량선 내의 서로 다른 농도 3개(0.5, 1.0, 5.0 μg/mL, n=3)를 선정하여 일내 시험(intra-day)을 측정한 결과 정밀도는 0.5~6.6%, 정확도는 84.0~107.6%로 확인되었으며, 프로피온산의 경우 검량선 내의 서로 다른 농도 3개(5, 20, 100 μg/mL, n=3)에 대한 결과는 정밀도는 0.5~6.8%, 정확도는 96.4~123.9%로 확인되었다(Table 4). 또한, 일간 시험(inter-day) 분석 결과 정밀도는 0.1~5.3%, 정확도는 86.5~107.6%로 확인되었으며, 프로피온산의 경우 검량선 내의 서로 다른 농도 3개(5, 20, 100 μg/mL, n=3)에 대한 결과는 정밀도는 0.7~9.2%, 정확도는 94.8~123.4%로 확인되었다(Table 5).

회수율

3가지 보존료의 회수율 측정을 위해 검량선 내의 농도 2가지를 선택하여 소르빈산 및 안식향산이 함유되어 있지

Table 2. Instrumental condition of propionic acid

Column	HP-INNOWAX polyethylene glycol (30.0 m×320 μm×0.25 μm)
Oven temp.	100°C → 10°C/min → 150°C (5 min) → 20°C/min → 230°C (run time: 14 min)
Injector temp.	220°C
Split ratio	10:1
Detector temp.	230°C
Flow rate and carrier gas	1.0 mL/min, N_2

Table 3. Result of linearity, LOD, and LOQ

Sample type	Analytes	Range (μg/mL)	(R^2)	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)
Liquid	Sorbic acid	0.3～100	0.9994	0.07	0.21
	Benzoic acid	0.3～100	0.9975	0.10	0.30
	Propionic acid	5～100	0.9978	1.30	3.80
Powder	Sorbic acid	0.3～100	0.9993	0.08	0.25
	Benzoic acid	0.3～100	0.9964	0.05	0.15
	Propionic acid	5～100	0.9998	0.20	0.72
Oil	Sorbic acid	0.3～100	0.9996	0.05	0.15
	Benzoic acid	0.3～100	0.9985	0.03	0.10
	Propionic acid	5～100	0.9981	1.22	3.54

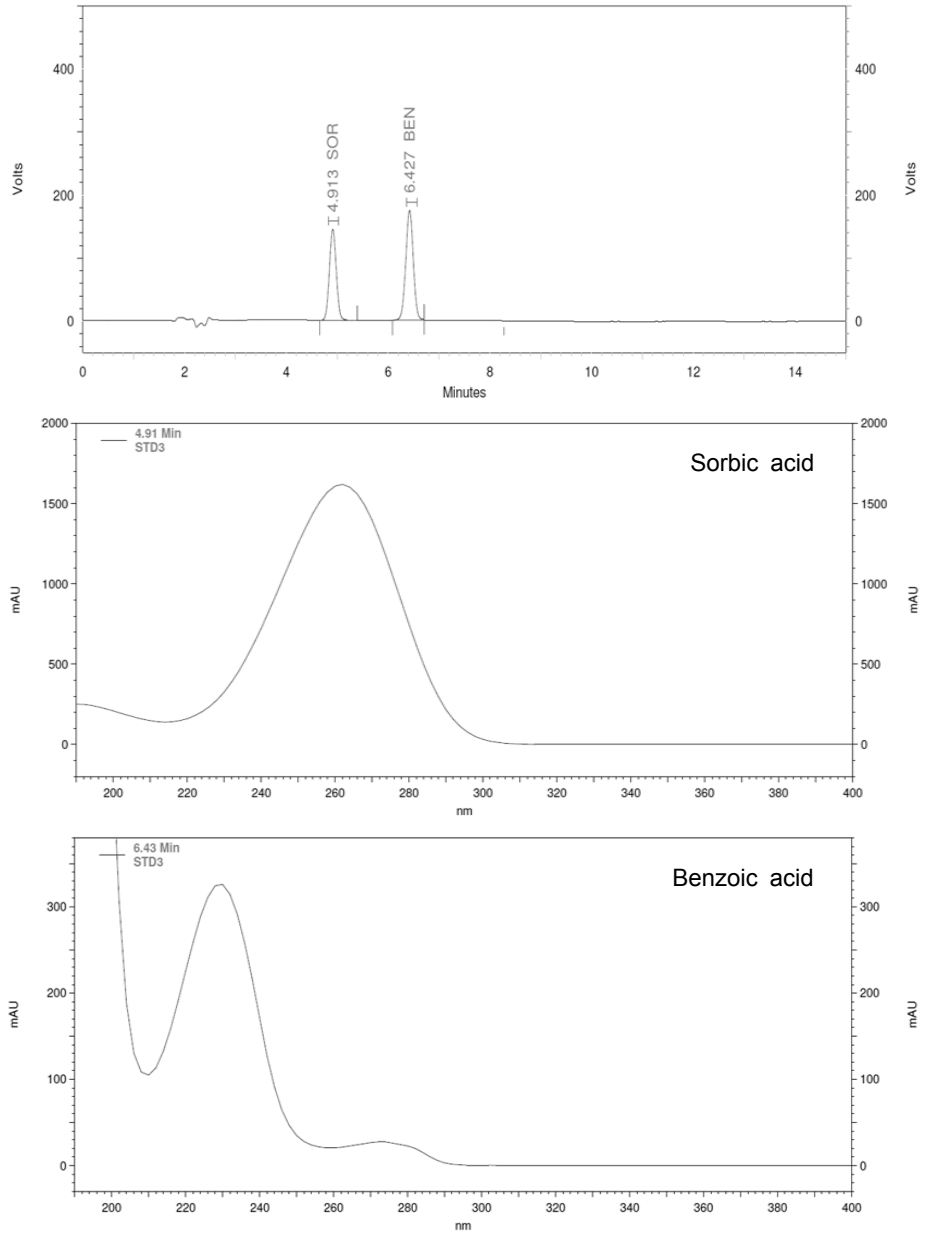

Fig. 1. Chromatogram and spectrum of sorbic acid and benzoic acid with HPLC-PDA

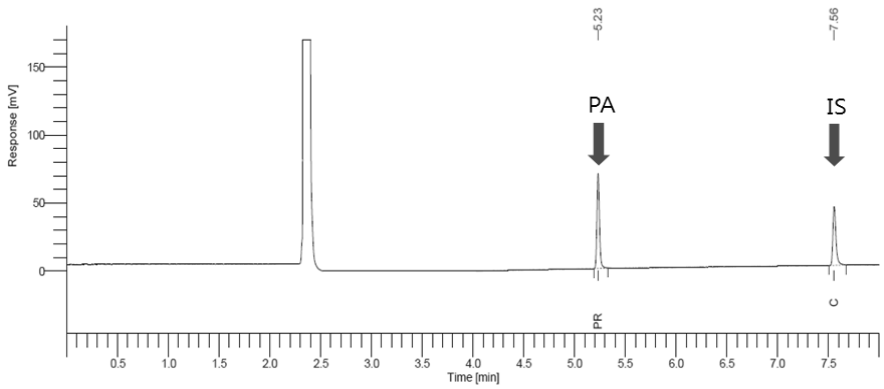

Fig. 2. Chromatogram of propionic acid standard with GC-FID.

Table 4. Accuracy and precision of intra-day

Sample type	Analytes	Precision, accuracy	Conc. (μg/mL, n=3, intra-day)		
			0.5	1.0	5.0
Liquid	Sorbic acid	Precision (%)	4.2	1.6	1.0
		Accuracy (%)	89.5	107.6	95.1
	Benzoic acid	Precision (%)	6.6	1.4	1.0
		Accuracy (%)	90.9	106.7	99.8
Powder	Sorbic acid	Precision (%)	6.0	1.2	1.0
		Accuracy (%)	102.0	103.8	99.9
	Benzoic acid	Precision (%)	2.2	2.0	0.5
		Accuracy (%)	93.9	100.5	100.0
Oil	Sorbic acid	Precision (%)	3.9	1.6	0.8
		Accuracy (%)	84.0	102.8	100.0
	Benzoic acid	Precision (%)	2.0	2.0	0.9
		Accuracy (%)	94.8	102.6	100.0

Sample type	Analytes	Precision, accuracy	Conc. (μg/mL, n=3, intra-day)		
			5	20	100
Liquid	Propionic acid	Precision (%)	2.5	1.3	0.5
		Accuracy (%)	120.6	96.8	101.5
Powder	Propionic acid	Precision (%)	2.7	1.3	0.9
		Accuracy (%)	107.0	99.9	100.5
Oil	Propionic acid	Precision (%)	6.8	3.3	3.2
		Accuracy (%)	123.9	96.4	101.4

Table 5. Accuracy and precision of inter-day

Sample type	Analytes	Precision, accuracy	Conc. (μg/mL, n=3, inter-day)		
			0.5	1.0	5.0
Liquid	Sorbic acid	Precision (%)	4.2	1.6	1.0
		Accuracy (%)	89.5	107.6	95.1
	Benzoic acid	Precision (%)	2.90	2.13	0.1
		Accuracy (%)	86.5	106.8	100.0
Powder	Sorbic acid	Precision (%)	5.3	2.9	0.9
		Accuracy (%)	89.6	105.2	100.0
	Benzoic acid	Precision (%)	4.1	1.6	0.5
		Accuracy (%)	92.7	103.6	100.0
oil	Sorbic acid	Precision (%)	3.7	2.99	0.1
		Accuracy (%)	88.5	105.8	100.0
	Benzoic acid	Precision (%)	1.9	1.9	0.9
		Accuracy (%)	94.7	102.5	99.9

Sample type	Analytes	Precision, accuracy	Conc. (μg/mL, n=3, inter-day)		
			5	20	100
Liquid	Propionic acid	Precision (%)	2.1	0.7	2.3
		Accuracy (%)	123.4	96.7	101.8
Powder	Propionic acid	Precision (%)	2.6	1.2	0.8
		Accuracy (%)	107.0	99.9	100.4
Oil	Propionic acid	Precision (%)	6.8	7.2	9.2
		Accuracy (%)	117.3	94.8	100.1

않은 액체, 분말, 오일 제형의 시료에 표준물질을 첨가하고 이를 3회 반복 분석하여 평균값으로 회수율을 산출하였다.

액체 시료의 경우 2가지 농도에서 소르빈산 97.0~97.6%, 안식향산 97.5~98.6%, 프로피온산 88.7~92.4%의 높은 회수율을 보였다. 분말 시료의 경우 2가지 농도에서 소르빈산 94.8~95.2%, 안식향산 95.5~97.5%, 프로피온산 90.2~91.8%의 높은 회수율을 보였다. 오일 시료의 경우 2가지 농도에서 소르빈산 96.3~98.1%, 안식향산 94.8~98.9%,

Table 6. Results of recovery

Sample type	Analytes	Fortified conc. (μg/mL)	Recovery± RSD (%)
Liquid	Sorbic acid	21.5 → 20 82.4 → 80	97.6±4.0 97.0±2.6
	Benzoic acid	20.7 81.1	97.5±5.6 98.6±2.2
	Propionic acid	20.9 80.6	88.7±1.9 92.4±3.5
Powder	Sorbic acid	21.5 82.4	95.2±5.1 94.8±4.8
	Benzoic acid	20.7 81.1	97.5±5.6 95.5±4.8
	Propionic acid	20.9 80.6	90.2±1.5 91.8±0.8
Oil	Sorbic acid	21.5 82.4	96.3±2.3 98.1±1.6
	Benzoic acid	20.7 81.1	94.8±3.9 98.9±1.5
	Propionic acid	20.9 80.6	90.2±0.6 93.4±0.8

프로피온산 90.2~93.4%의 높은 회수율을 보였다. 또한, 인증표준물질을 이용한 회수율 시험에서도 98.3%의 회수율을 보였다(Table 6).

정성분석 결과

본 연구에서는 식품공전에서 제시한 시료 전처리 방법(15)을 적용하여 3가지 보존료인 sorbic acid, benzoic acid 및 propionic acid을 LC-MS/MS와 GC-MS를 이용하여 정성 분석하였다. 개발된 정성 분석법을 이용하여 추가적인 정성을 확인하였다. Sorbic acid과 benzoic acid의 LC-MS/MS 분석 조건은 아래와 같다. 분석 장비는 HPLC(Shiseido Nanospace SI 2 HPLC System, Shiseido, Tokyo, Japan), API 5000(AB Sciex Co., Framingham, MA, USA)을 사용하였고, sorbic acid의 경우 HPLC 조건은 이동상 A가 10 mM ammonium acetate를 포함한 10% acetonitrile, B는 10 mM ammonium acetate을 포함한 90% acetonitrile을 사용하여 gradient를 사용 분석하였다. 분석 칼럼은 C18 (2.0×150 mm, 5 μm) 주입량이 5 μL이고, 칼럼 온도는 40°C, 유량은 0.2 mL/min으로 분석하였다. MRM 조건은

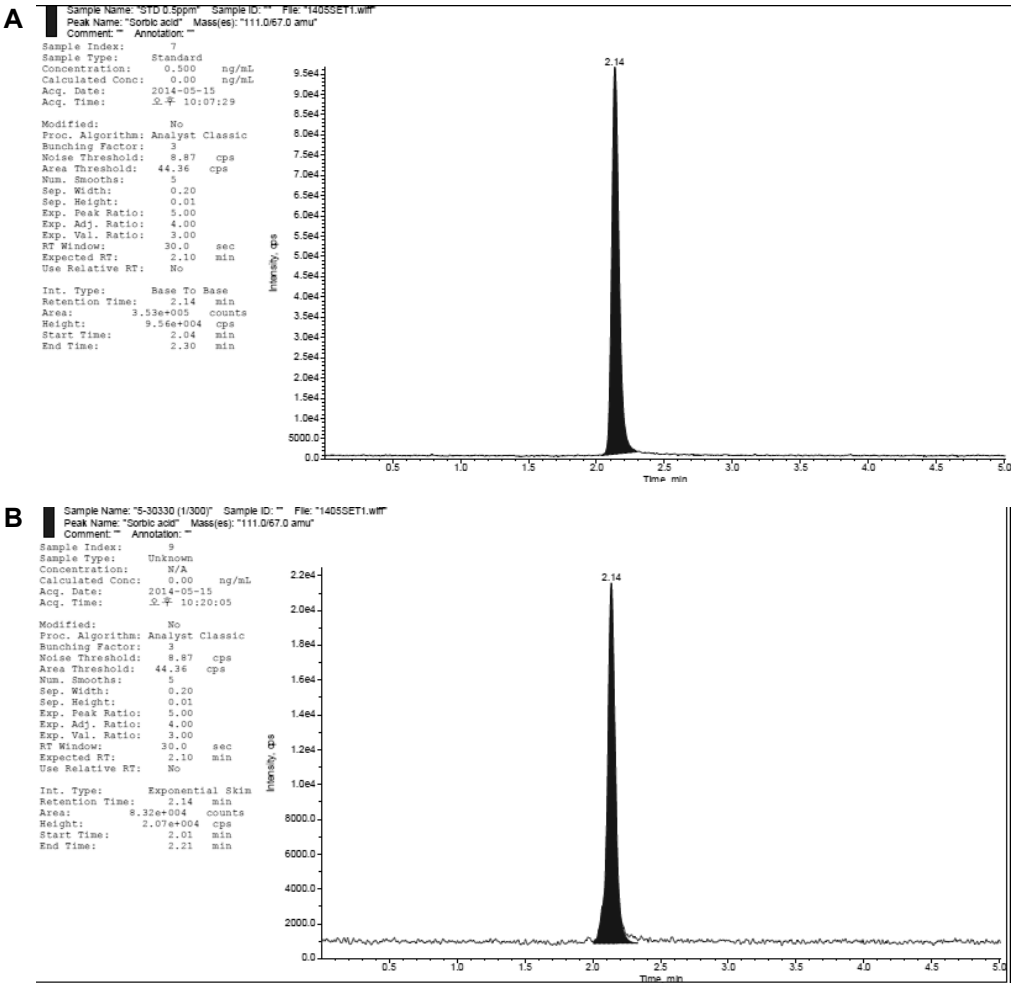

Fig. 3. Chromatograms and mass spectrum of sorbic acid with LC-MS/MS. (A) STD 0.5 μg/mL, (B) sample.

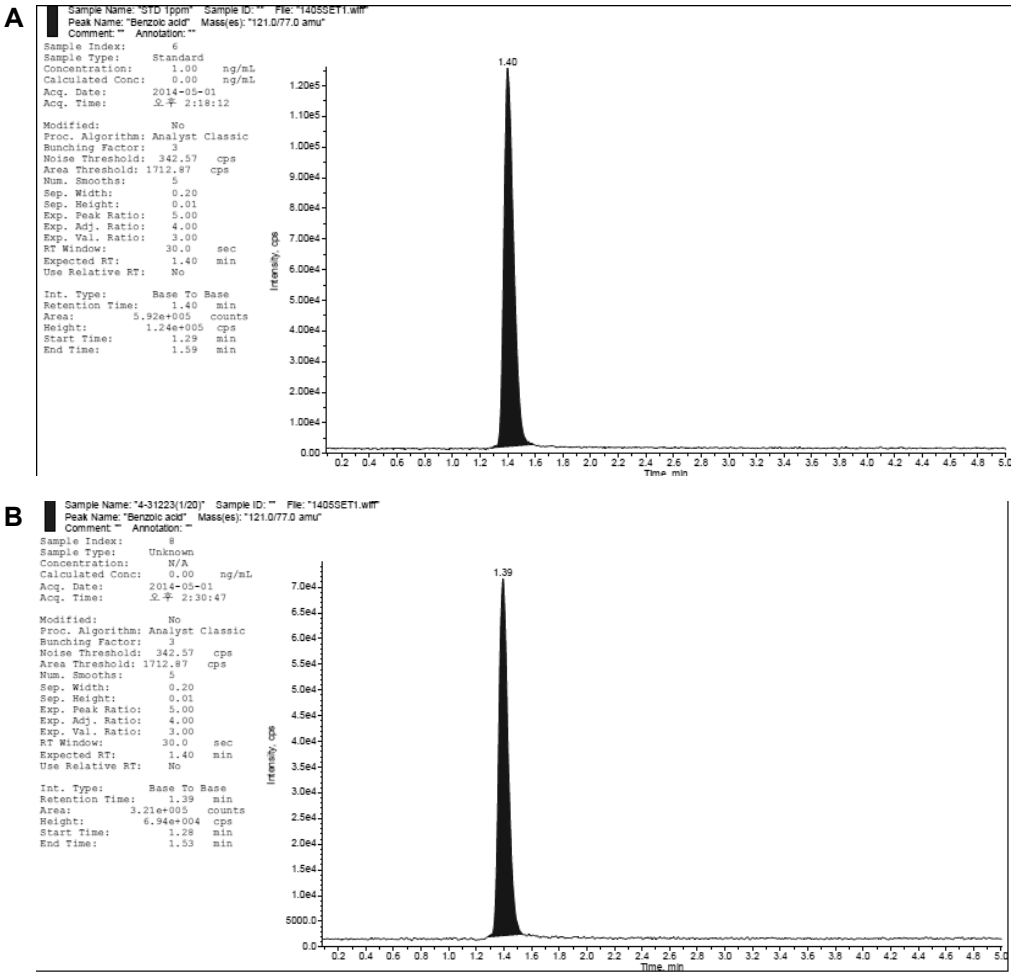

Fig. 4. Chromatograms and mass spectrum of benzoic acid with LC-MS/MS. (A) STD 1.0 μg/mL, (B) sample.

ESI mode(negative ion)에서 sorbic acid의 precursor ion (m/z)이 111.0, fragment ion(m/z)은 67, DP(40), CE(12), CXP(11), EP(10)를 이용하여 분석하였다(Fig. 3).

Benzoic acid는 precursor ion(m/z)이 121, fragment ion(m/z)은 77이고, DP(50), CE(16), CXP(13), EP(10)를 이용하여 분석하였다(Fig. 4).

또한, propionic acid의 경우 GC-MS를 이용하여 추가적인 정성 분석을 하였다. 분석에 사용된 GC-MS는 Agilent 5973 MSD(Agilent Co.)가 장착된 HP6890을 이용하였다. 분석에 이용된 칼럼은 HP-Innowax(30 m×0.32 mm×0.25 μm)를 사용하였으며, 주입구 온도는 220 °C, 오븐은 50°C에서 2분간 유지 후 분당 5°C로 100°C까지 승온하고 2분간 유지하였다. Carrier gas는 수소를 이용하여 1.0 mL/mim으로 하였다. 프로피온산 정성을 위한 정성 및 정량 이온은 m/z=45, 57, 74를 선정하여 분석하였다(Fig. 5).

국내 유통식품 중 천연 유래 보존료 함량 조사 결과

본 연구를 위해 수집된 시료는 총 80품목으로 구분하여 시료를 수집하였고 총 시료 수집건수는 212건이다. 이중 건강기능식품 기능성 원료 중 고시형 35품목에 해당하는 시료는 122건, 개별인정형 31품목에 해당하는 시료는 48건이었으며 부원료 14품목에 해당하는 시료는 42건으로 수집하여 함유량 조사를 실시하였다(Fig. 6).

수집된 시료를 3가지 형태 고시형, 개별인정형, 부원료로 각각 분류하여 sorbic acid, benzoic acid 및 propionic acid의 분석 결과 고시형 건강기능식품 기능성 원료 분석 결과 122건 중 sorbic acid는 6건 검출 범위가 1.57~341.51 mg/kg, benzoic acid는 31건 검출 범위가 0.34~786.64 mg/kg, propionic acid는 26건이 검출되었으며 그 범위는 1.55~169.50 mg/kg으로 검출되었다. 개별인정형 건강기능식품 기능성 원료의 경우 총 48건 중 sorbic acid는 불검출, benzoic acid는 14건 검출 범위가 1.17~121.44 mg/kg, propionic acid는 14건 검출 범위가 3.56~108.58 mg/kg으로 검출되었다. 부원료의 경우 총 42건 중 sorbic acid는 1건 검출(4.00 mg/kg), benzoic acid는 15건 검출 범위가 0.60~41.02 mg/kg, propionic acid는 7건 검출 범위가 1.58~173.23 mg/kg으로 분석 결과 확인되었다(Table 7).

수집한 시료의 검출률을 확인한 결과 80품목 212건의 시

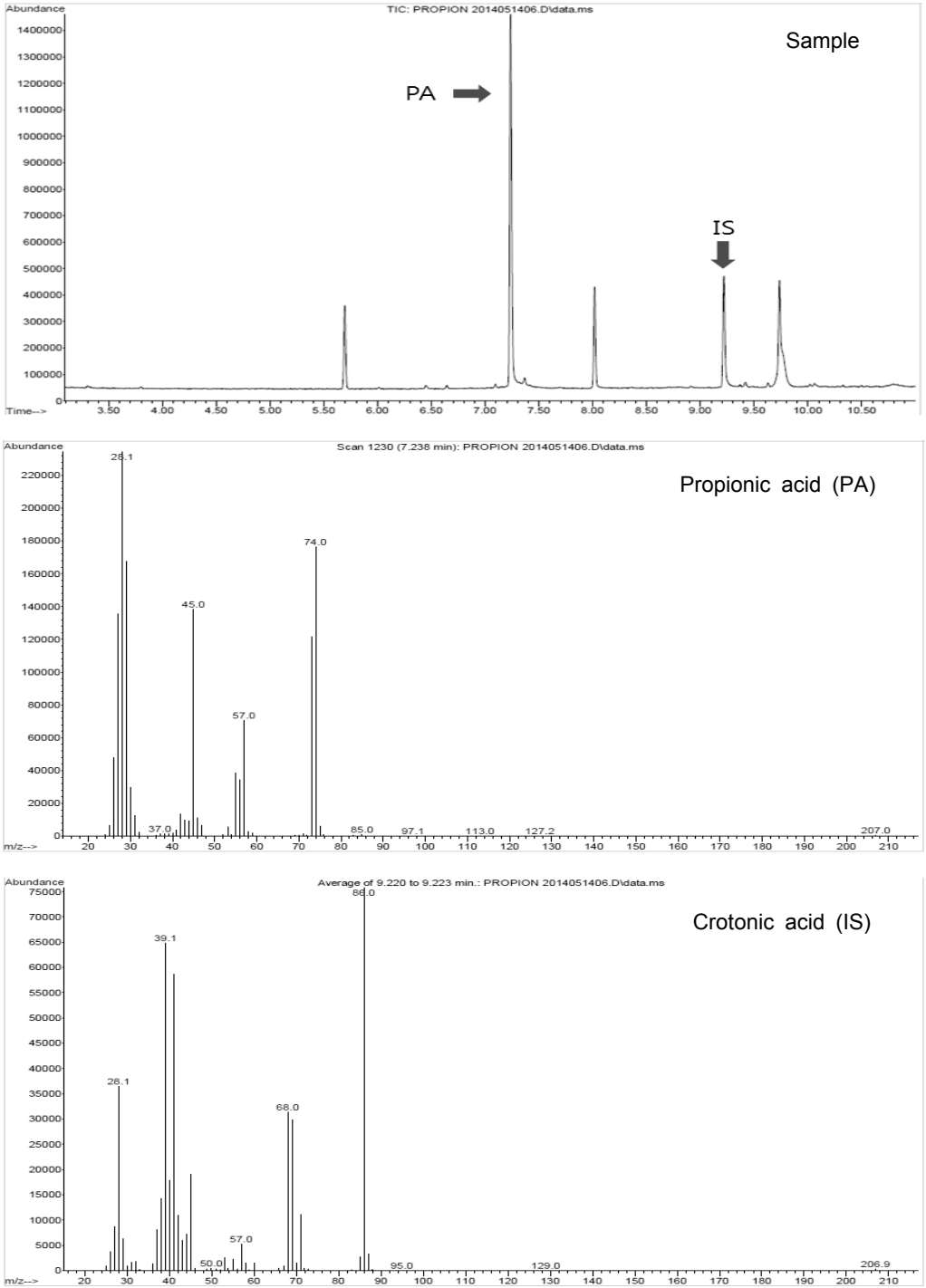

Fig. 5. Chromatograms and mass spectrum of propionic acid with GC/MS. PA: propionic acid, IS: crotonic acid.

료에 대하여 소르빈산, 안식향산, 프로피온산을 분석한 결과 총 48품목 85건의 시료에서 보존료 성분이 검출되어 전체 보존료 성분의 검출률은 40.1%였으며. 26건의 시료에서는 두 가지 이상의 보존료 성분이 검출되었다.

그중 소르빈산은 212건의 시료 중 7건의 시료에서 검출되어 3.3%의 검출률을 보였으며, 검출 범위는 1.57(아라비아검)~341.51(알로에베라겔 농축분말) mg/kg, 평균검출량 59.61 mg/kg이었다. 안식향산의 경우 212건의 시료 중 60건에서 검출되어 28.3%의 검출률을 보였고, 검출 범위는 0.34(밀크씨슬)~786.64(알로에베라겔농축분말) mg/kg, 평균검출량 51.49 mg/kg이었다. 프로피온산의 경우 212건 중 47건에서 검출되어 22.2%의 검출률을 보였으며, 검출 범위는 1.55(루테인OS20%)~173.23(감초 추출분말) mg/kg, 평균검출량 33.20 mg/kg으로 나타나 검출량의 범위가

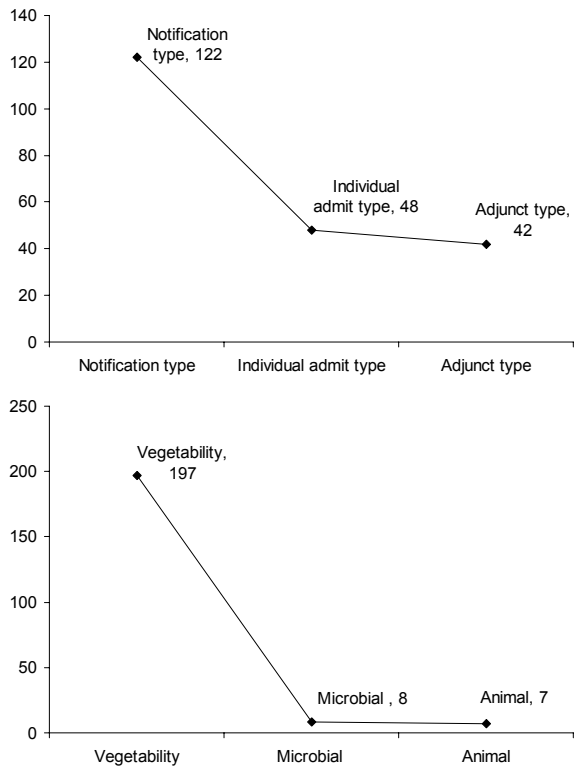

Fig. 6. Classification of sample and origin samples.

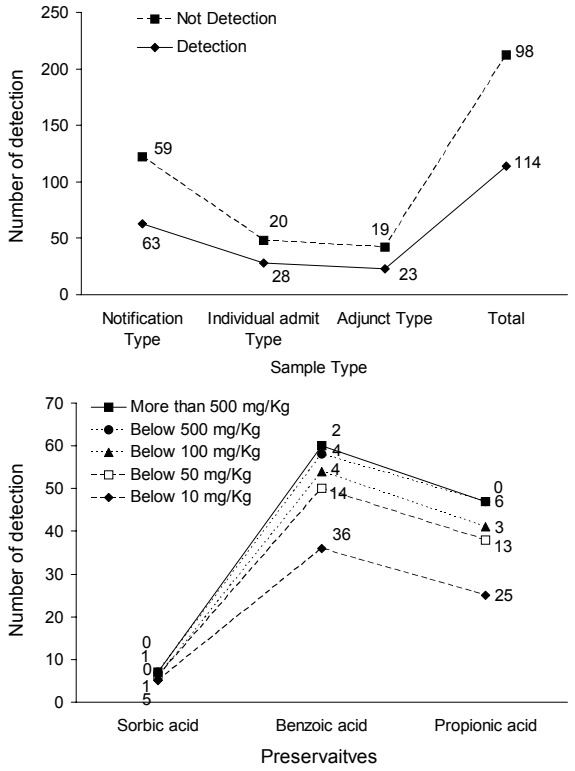

Fig. 7. Results of preservative in samples.

매우 큰 것으로 나타났다(Table 7).

검출량의 분포를 보면 소르빈산의 경우 전체 검출 건수 7건 중 10 mg/kg 이하로 검출된 시료는 5건, 50 mg/kg 이하와 500 mg/kg 이하로 검출된 시료가 각각 1건으로 나타나 주로 10 mg/kg의 소량이 검출되는 것으로 보인다. 안식향산의 경우 전체 검출 건수 60건 중 10 mg/kg 이하로 검출된 시료는 36건, 50 mg/kg 이하가 14건, 100 mg/kg 이하 및 500 mg/kg 이하가 각각 4건, 500 mg/kg 이상이 2건으로 나타나 주로 50 mg/kg 이하 농도로 검출되는 것으로 나타났다(Fig. 7). 그중 591.42 mg/kg이 검출된 크랜베리 식이섬유의 경우 1,300 mg/kg까지 검출되는 것으로 보고되고 있다(16). 또한, 766.71 mg/kg이 검출된 프로폴리스추출 분말의 경우 최대 1,383.3 mg/kg까지 검출되는 것으로 보고되고 있다(10). 프로피온산의 경우 검출된 47건의 시료 중 10 mg/kg 이하가 25건, 50 mg/kg 이하가 13건으로 나타나 주로 50 mg/kg 이하의 검출량을 보였으며, 100 mg/kg 이하가 3건, 500 mg/kg 이하로 검출된 시료는 6건이었다(Fig. 7).

요 약

본 연구에서는 다양한 건강기능식품의 기능성 원료 및 부원

Table 7. Results of preservatives in samples

	Sorbic acid (detection/total sample)	Benzoic acid (detection/total sample)	Propionic acid (detection/total sample)
Notification type (35 item/122 number)	6/122 (conc. of detection: 1.57～341.51 mg/kg)	31/122 (conc. of detection: 0.34～786.64 mg/kg)	26/122 (conc. of detection: 1.55～169.50 mg/kg)
Individual admit type (31 item/48 number)	0/48 –	14/48 (conc. of detection: 1.17～121.44 mg/kg)	14/48 (conc. of detection: 3.56～108.58 mg/kg)
Adjunct type (14 item /42 number)	1/42 (conc. of detection: 4.00 mg/kg)	15/42 (conc. of detection: 0.60～41.02 mg/kg)	7/42 (conc. of detection: 1.58～173.23 mg/kg)
Total	7/212 (3.3%) (conc. of detection: 1.57～341.51 mg/kg)	60/212 (28.3%) (conc. of detection: 0.34～786.64 mg/kg)	47/212 (22.2%) (conc. of detection: 1.55～173.23 mg/kg)

료에 대하여 천연 유래의 보존료(소르빈산, 안식향산, 프로피온산)의 문헌상의 함유량을 조사하며, 국내 유통 건강기능식품 원료 중 천연 유래 보존료의 검출 가능성이 있는 원료를 선정하고 수집하여 천연 유래 보존료의 함유량 조사를 시행하고자 하였다. 식품공전상의 보존료 시험법의 건강기능식품의 기능성 원료에 대한 유효성을 검증하기 위해 액체, 분말, 유지시료를 선정하여 이에 대한 직선성, 정확성, 정밀성, 회수율, 검출한계 및 정량한계에 대한 시험법 검증을 실시하였다. 3가지 유형에 대하여 직선성은 0.99 이상의 높은 직선성을 보였으며, 정밀성은 일간과 일내에서 0.5~9.2%, 정확성은 84.0~123.9%의 정확성을 보였다. 회수율은 각각의 보존료에서 88.7~98.9%를 나타냈고, 검출한계는 0.03~1.30 mg/kg, 정량한계는 0.10~3.80 mg/kg으로 산출되었다. 시료는 총 80품목 212건을 수집하여 분석을 하였다. 그 결과 48품목 85건의 시료에서 보존료 성분이 검출되었다. 전체 보존료 성분의 검출률은 40.1%였으며, 26건의 시료에서 중복의 보존료 성분이 검출되었다. 소르빈산은 7건의 시료에서 검출되었으며, 안식향산은 60건, 프로피온산은 47건에서 검출되어 안식향산이 가장 높은 검출률을 보였다. 검출된 보존료 성분의 함량 분포는 소르빈산의 경우 10 mg/kg 이하가 5건, 50 mg/kg 이하가 1건, 500 mg/kg 이하가 1건 검출되었으며, 안식향산의 경우 10 mg/kg 이하가 36건, 50 mg/kg 이하가 14건, 100 mg/kg 이하 및 500 mg/kg 이하가 각각 4건이었으며, 500 mg/kg 이상 검출된 경우도 2건이었다. 프로피온산의 경우 10 mg/kg 이하가 25건, 50 mg/kg 이하가 13건, 100 mg/kg 이하가 3건, 500 mg/kg 이하가 6건이 검출되어 시료에서 검출된 보존료의 함량은 10 mg/kg 이하가 다수를 차지하고 있었다. 본 연구 결과를 통하여 건강기능식품의 기능성 원료에 대한 천연 유래 보존료의 DB를 마련하고, 향후 건강기능식품 중 보존료의 천연 유래 여부 판단 시 근거 자료로 활용이 가능할 것이며, 국가간의 교역 시 보존료 사용기준 위반 등으로 인한 무역마찰에 대한 기초자료로 활용이 가능할 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2013년도 식품의약품안전처의 연구개발비(13162 식품안031)로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Park ER, Lee SK, Hwang HS, Mun CS, Gwak IS, Kim OH, Lee KH. 2008. Monitoring of natural preservative levels in food products. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 37: 1640-1646.
2. Kim MC, Park HK, Hong JH, Lee DY, Park JS, Park EJ, Kim JW, Song KH, Shin DW, Mok JM, Lee JY, Song IS. 1999. Studies on the naturally occurring benzoic acids in food. Part (Ⅰ)－Naturally occurring benzoic acid and sorbic acid in serveral plants used as teas or spices－. *Korean J Food Sci Technol* 31: 1144-1152.
3. Lee HJ, Ahn HJ, Kang CS, Choi JC, Choi HJ, Lee KG, Kim JI, Kim HY. 2010. Naturally occurring propionic acid in foods marketed in South Korea. *Food Control* 21: 217-220.
4. KFDA. 2015. *Korean Food Standards Codex*. Ministry of Food and Drug Safety, Osong, Korea. p 22.
5. Oh KS, Kang KJ, Lee JH, Lee KB, Kim JH, Park DH, Ko KH, Lee MH, Ahn SM. 1998. Quantitative analysis of organic acids on traditional fermented foods and separation of antioxidative compounds in persimmon vinegars. *The Annual Report of KFDA* 2: 140-153.
6. Lee HJ, Bae YI, Jung CH, Sim KH. 2005. Biological activities of various solvent extracts from propolis. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 34: 1-7.
7. Jung CH, Bae YI, Lee HJ, Sim KH. 2003. Chemical components of propolis and its ethanolic extracts. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 32: 501-505.
8. Kim CT, Kim CJ, Cho YJ, Choi AJ, Shin WS. 2002. Characteristics of propolis extracts from ethanol extraction. *Korean J Food Sci Technol* 34: 941-946.
9. Lee JW, Do JH, Lee SK, Yang JW. 2000. Determination of total phenolic compounds from Korean red ginseng, and their extraction conditions. *J Ginseng Res* 24: 64-67.
10. Lee SW, Kim HJ, Hwangbo S. 2001. Studies on the chemical characteristics of Korean propolis. *Korean J Food Sci Ani Resour* 21: 383-388.
11. Kim JK, Kim CS. 1980. The taste components of ordinary Korean soy sauce. *J Korean Agric Chem Soc* 23: 89-105.
12. Choi JY, Lee TS, Park SO, Noh BS. 1997. Changes of volatile flavor compounds in traditional *kochujang* during fermentation. *Korean J Food Sci Technol* 29: 745-751.
13. Lee IS, Paek KY. 2003. Preparation and quality characteristics of yogurt added with cultured ginseng. *Korean J Food Sci Technol* 35: 235-241.
14. KFDA. 2015. *Health Functional Food Code*. Ministry of Food and Drug Safety, Osong, Korea. p 7-14.
15. KFDA. 2015. *Korean Food Standards Codex*. Ministry of Food and Drug Safety, Osong, Korea. p 401-407.
16. Wibbertmann A, Kielhorn J, Koennecker G. 2005. Benzoic acid and sodium benzoate. Concise International Chemical Assessment Document 26. p 11.