

TLC, HPLC를 이용한 식품 중 비트레드 함량조사

이달수[†] · 장영미 · 홍기형 · 박성관 · 박성국 · 권용관 · 박재석 · 장선영 · 황혜신 ·
김은정 · 한윤정 · 김병섭 · 원혜진 · 김명철
식품의약품안전청 영양기능식품본부 식품첨가물팀

Survey of Beet Red Contents in Foods using TLC, HPLC

Tal Soo Lee[†], Young Mi Jang, Ki Hyoung Hong, Sung Kwan Park, Sung Kug Park,
Yong Kwan Kwon, Jae Seok Park, Sun Young Chang, Hye Shin Hwang, Eun Jeong Kim,
Youn Jeong Han, Byung Sub Kim, Hye Jin Won, and Myung Chul Kim

Food Additives Team, Nutrition & Functional Food Headquarters, Korea Food and Drug Administration

(Received October 29, 2005; Accepted November 30, 2005)

ABSTRACT – This study was performed for development of new analytical method of beet red in foods. In this study, analysis of beet red in foods has been carried out by detection of betanine and isobetanine, the main color component of beet red as indicator compounds. The qualitative analysis technique consisted of clean-up of the colors with a C₁₈ cartridge, separation of the colors by cellulose TLC plate using acetone:3-methyl-1-butanol:distilled water (7:7:6) as a solvent system. Also, the quantitative analysis was performed using X-terra RP at wavelength 538 nm and 0.1% phosphoric acid : methanol (90:10) as a solvent. The quantitative results of beet red were as follows : 900.22~27701.60 µg/g for 60 item in nutrient supplement food, 21.95~713.40 µg/g for 30 items and N.D. for 18 items in candy, and 155.85~505.37 µg/g for 12 items in ice creams, 43.52~64.75 µg/g for 18 items and N.D. for 54 item in sauce, N.D. for 12 items in retort food.

Key words: beet red, betanine, isobetanine, C₁₈ cartridge

우리나라는 고대로부터 여러 종류의 식물에서 각종 색소를 생산하여 식용 및 의류염색용으로 사용하여 왔으나, 근대에 이르러 합성색소가 광범위하게 사용되면서 전통색소의 맥이 거의 끊어지게 되었다. 따라서 천연색소에 대한 체계적이고 과학적인 연구가 거의 전무한 것이 현재의 실정이다. 그러나 최근 들어 합성색소는 인체에 대한 독성과 발암성을 갖는 문제점으로 인해 점차 사용이 제한되고 있고 소비자들의 질적인 면의 추구로 인해 천연색소의 수요가 세계적으로 증가하고 있는 추세이다.^{1,3)}

명아주과 비트 (*Beta vulgaris* L.)의 뿌리는 빨간색소의 주요 공급원이며 진한 빨간색과 자주색을 띠는 베타시아닌 (betacyanin)과 노란색을 띠는 베타잔틴 (Betaxanthin)을 함유하고 있다. 비트의 뿌리를 물 또는 에탄올로 추출한 베타시아닌을 비트레드라 하고, 주성분은 베타인계의 베타닌 (Betanine, C₂₄H₂₆O₁₃N₂=550.48)과 이소베타닌 (Isobetanine)이다. 비트레드색소의 주요성분인 베타닌은 Fig. 1에서와 같이 링구조에 질소와 글리코시드잔기를 포함하며, 선명한 적

색색소로 pH에 의한 색조변화가 적고, 특히 pH4~7에서 안정하지만 pH9이상이면 황변하는 특징이 있다.⁴⁾

또한, 베타시아닌은 FDA에서 승인한 색소첨가제로서 식품공업에서 중요하게 쓰이고 있다. 이를 추출하여 얻은 비트레드 색소는 짧은 저장수명 (Shelf life)을 가지는 색소제품에서 이상적으로 사용되며 빛, 산소, 높은 습도를 차단하여 포장하거나 건조제품형태로 이용되고 있다. 더구나, 간암의 전위나 발현을 하지 않는 실험적 증거들이 있기 때문에 천연색소로서 소시지, 요거트, 아이스크림, 사베트, 케이크믹스, 고기대용품, 케이크 설탕장식, 그리고 많은 다른 제품들의 색소로 추천되고 있다.^{2,4)}

우리나라에서는 비트레드를 포함한 허용된 천연색소류 49종 모두 사용기준이 설정되어 있으나 일부색소에 대해서는 식품 중 분석방법이 확립되어 있지 않은 실정이다. 이에 가공식품에 광범위하게 사용되어지는 색소를 식품위생상의 관점에서 보았을 때 사후 품질관리에 어려움이 있어 현재 일 반분석에 응용할 수 있는 천연색소의 분석방법 개발이 절실히 요구되고 있어 우리 청에서는 식품 중 천연색소에 대한 분석방법을 지속적으로 개발하고 있다.

[†] Author to whom correspondence should be addressed.

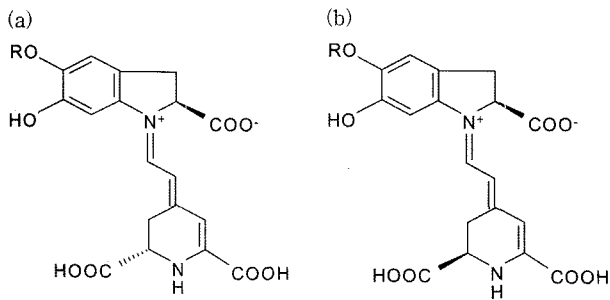


Fig. 1. Chemical structure of betanine (a), isobetanine (b); R = Glc.

따라서, 본 연구에서는 천연색소인 비트레드의 식품 중 분석방법을 확립하고자 하였으며, 확립된 분석방법을 적용하여 국내 유통식품 중 비트레드의 사용실태를 조사하고 실제로 사용하고 있거나 사용가능성이 있는 영양보충용식품, 아이스크림, 소스류, 캔디류, 레토르트식품 등을 대상으로 함유량을 조사하여 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

시약 및 재료

시료 - 국내유통식품 중 비트레드색소 사용실태를 조사한 결과 식품 중 비트레드색소를 실제로 사용하고 있거나 사용가능성이 있는 영양보충용식품 60품목, 아이스크림 12품목, 소스류 72품목, 캔디류 48품목, 레토르트식품 12품목 등 총 5종 204품목을 대상으로 서울, 부산, 대구, 대전, 광주, 전주, 청주, 강릉, 속초에서 각각 구입하여 시료로 사용하였다.

표준품 - 비트레드색소를 (주)엠에스씨에서 제공받아 LC-

Mass로 비트레드의 주성분인 베타닌과 이소베타닌을 확인한 후 이를 표준품으로 사용하였다.

시약 - 염산, 인산은 Wako Co. 제품을, 메탄올, n-헥산은 Merck Co. 제품을, Tetrabutylammonium bromide (TBA-Br)는 Junsei Co. 제품을, TLC 박층판은 셀룰로오스 (10×10cm, HPTLC plates, Merck)를, C18 카트리지가칼럼은 Sep-pak plus (Waters)를 사용하였다.

기기

High Performance Liquid Chromatography

- Pump : Waters 510
- Detector : UV 538 nm
- Autosampler : Waters 717 plus
- Column : Xterra RP (4.6×250 mm, 5 μm)

High Performance Thin Layer Chromatography (Camag)

- HPTLC Cellulose plate (10×10 cm)

Rotary Vacuum Evaporator (Eyela NE)

Centrifuge (Hitachi)

실험방법

TLC에 의한 정성분석 조건검토 - 시판되고 있는 비트레드색소를 정확히 칭량하여 각각 물, 5% 탄산나트륨:10% 염산용액:메탄올 (1:1:1) 및 0.1% 인산:메탄올 (90:10)용액에 녹여 10,000 ppm이 되도록 조제한 액을 표준용액으로서, 아세톤, 3-페틸-1-부탄올, 에틸메틸케톤, 황산나트륨, 초산에틸, 물, 염산, 옥살산, 메탄설폰산을 전개용매로서 검토하였다. 박층판의 하단 1.5 cm의 위치에 TLC용 시험용액 및 색소표

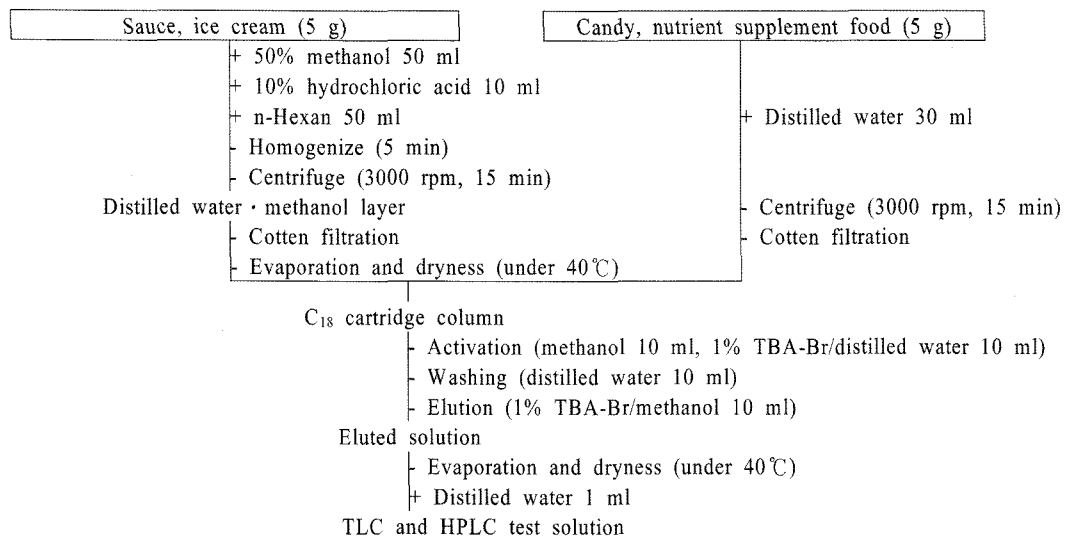


Fig. 2. Flow diagram of sample preparation for analysis of beet red in various foods.

준용액을 HPTLC로 직경 4 mm가 되도록 질소가스를 이용하여 점적한 다음 전개 후 얻어진 점의 위치와 색을 자연광 하에서 육안으로 관찰하여 시험용액과 색소표준용액의 R_F치를 비교하거나, 이를 HPTLC 스캐너를 이용하여 비트레드임을 확인하였다.

정량분석용 표준용액의 조제 - 이동상 (0.1% 인산:메탄올=90:10)에 TBA-Br농도가 1%가 되도록 조제한 후 비트레드 색소 0.1 g을 녹여 10,000 ppm이 되도록 한다.

시험용액의 조제

① 추출

소스류 및 아이스크림 등의 시료는 5 g을 취하여 Fig. 1과 같이 50% 메탄올 50 ml, 10% 염산용액 10 ml, n-헥산 50 ml를 가하여 5분간 균질화한 다음 색소를 추출한 후 3,000 rpm에서 15분간 원심분리하였다. 물·메탄올층을 분취하여 이것을 색소추출액으로 하였고, 캔디류 및 영양보충용식품은 5 g을 물 30 ml에 녹여 색소추출액으로 하였다.

② 정제

소스류 및 아이스크림의 색소추출액은 먼전여과하여 40°C 이하에서 메탄올을 증발시킨 잔류물을, 캔디류 및 영양보충용식품의 색소추출액은 별도의 조작 없이 메탄올 10 ml, 1% TBA-Br/물 10 ml를 넣고 활성화시킨 C18카트리지가칼럼에 유속 3 ml/min로 주입한다. 착색된 C18카트리지가칼럼을 물 10 ml로 세정한 후 1% TBA-Br/메탄올용액 5 ml를 이용하여 색소를 용출하였다. 이때 칼럼에 착색된 층이 남아있지 않도록 주의한다. 다시 용출액을 40°C 이하에서 감압농축 시킨 후 잔류물에 물 1 ml를 가해 용해한 다음 0.45 μm 실린지필터로 여과하여 TLC와 HPLC용 시험용액으로 하였다. 시험용액의 조제과정은 Fig. 2와 같다.

시험조작 - 상기의 조작에 따라 얻어진 비트레드의 표준용액과 시험용액 각각 10 μl씩을 Table 1의 조작조건에 따라 HPLC에 주입하여 분석을 수행하였다.

Table 1. Analytical conditions of HPLC for beet red

HPLC condition	
Column	X-terra RP (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)
Mobile phase	0.1% phosphoric acid:methanol=90:10
UV Wavelength	538 nm
Flow rate	1.5 min/mL
Injection vol.	10 μl

결과 및 고찰

비트레드의 주성분인 베타닌과 이소베타닌의 확인

시판되고 있는 비트레드의 주성분인 베타닌 (Betanine, C₂₄H₂₆O₁₃N₂=550.48)과 이소베타닌 (Isobetanine)을 확인하기

위해 LC-Mass를 이용하여 분석한 결과 여러 참고문헌^{7,10,11}에서 보고한 결과와 동일한 패턴구조를 나타냈으며, Fig. 3에서와 같이 베타닌과 이소베타닌이 각각 10분, 26분에서 분리 검출되고 분자량은 551.3으로 비트레드 성분임을 확인할 수 있었다.

식품 중 색소성분의 추출조건 검토 결과

식품 중 비트레드에 대한 추출수율을 검토하기 위해 영양보충용식품, 캔디류, 소스, 레토르트식품, 아이스크림 등을 대상으로 하여 각각 물, 메탄올, 에탄올, 아세토니트릴, 클로로포름 및 50% 메탄올:10% 염산용액:n-헥산의 혼합용액 등의 용매별에 대한 색소의 추출수율을 검토하였다. 비트레드의 성질은 알코올 및 유기용매 상에 잘 용해되지 않고 물에 가장 잘 녹기 때문에 물에서 가장 잘 추출됨을 확인할

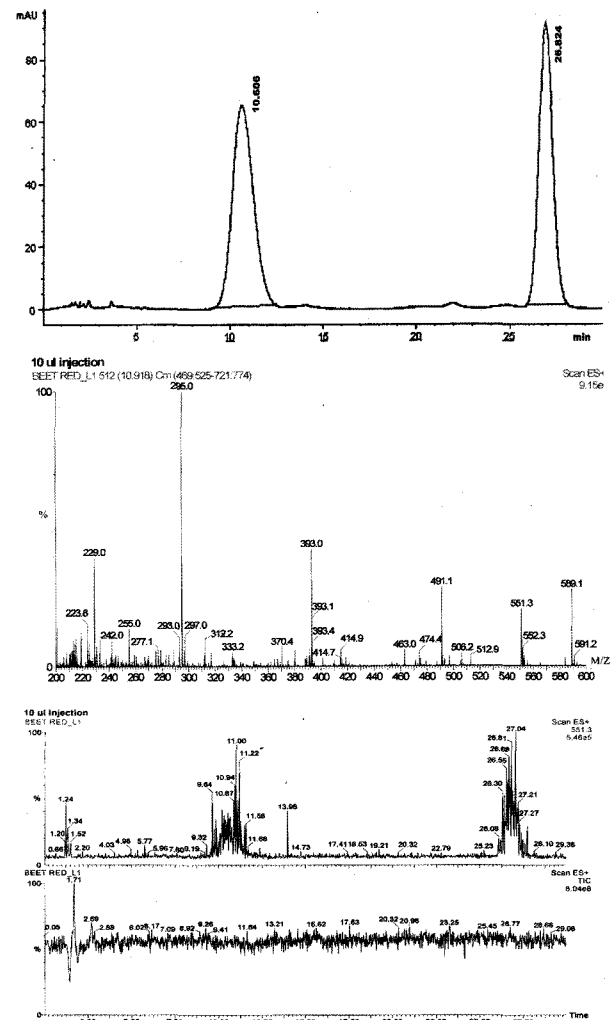


Fig. 3. Mass spectrum of beet red standard.

수 있었다. 이는 분말 및 정제 (Tablet)상태의 영양보충용식품 및 캔디류에서 잘 적용되나 소스류 및 레토르트식품 등의 단백질과 지방이 많은 제품은 물로 추출하는 데 한계가 있으므로 이를 잘 조절할 수 있는 용매인 메탄올, 염산용액, n-헥산의 비율을 조절하여 추출을 행하여 적합한 결과를 나타내었다. 따라서, 본 연구에서는 여러 가지 용매의 조합에 의한 색소의 추출수율을 조사한 결과, 비트레드의 정성·정량분석용 시험용액의 추출과정에서 소스, 레토르트식품 및 아이스크림에서는 50% 메탄올:10% 염산용액:n-헥산 (50:10:50)을 이용하고, 영양보충용식품, 캔디류는 물을 가한 추출방법을 사용하여 양호한 결과를 얻을 수 있었다.

색소성분의 정제조건 검토결과

C₁₈ 카트리지칼럼의 Plus sep-pak 및 Sep-pak Vac (3cc)를 비교해 본 결과 Plus sep-pak이 색소흡착이 잘되고 완벽히 용출되었으므로 Plus sep-pak C₁₈을 선택하여 정제조건을 검토하였다. 보통 역상카트리지칼럼의 활성화는 메탄올과 물로 하고 용출은 메탄올로 하는 것이 일반적인 방법이나, 비트레드 사용제품은 다른 색소를 혼용하기도 하기 때문에 처리 시 비트레드 성분과 검출시간이 비슷한 물질로부터 순수한 비트레드 성분만을 분리하기 위해 Ion-pairing시약을 사용한 정제방법을 검토하였다. 비트레드는 산성상태에서 안정하게 칼럼에 잘 흡착하기 때문에 색소추출액에 10% 염산용액을 2~3방울 넣은 다음에 투과하고, 산성물질에 일반적으로 사용하는 Ion-pairing 시약인 Tetrabutylammonium bromide (TBA-Br)를 0.1%, 0.5%, 1%로 각각 비율을 달리하여 색소흡착, 용출 및 분리도를 비교하였다. 0.1%, 0.5% TBA-Br용액으로 활성화하고 0.1%, 0.5% TBA-Br 메탄올용액으로 용출하였을 때 흡착과 분리는 잘 일어나나 용출이 완벽히 되지 않아 회수율이 떨어졌으며, TBA-Br을 1% 첨가하였을 때는 색소흡착, 용출 및 분리가 완전히 일어났다. 한편, 50% 메탄올:10% 염산용액:n-헥산 (50:10:50)의 용매로 추출한 액은 메탄올이 완전히 제거하지 않은 상태에서 색소추출액을 투과하면 색소흡착이 잘 되지 않으므로 감압건고 시 메탄올 성분을 완전히 제거해야 한다. 그리고 색소추출액의 고형잔여물은 여과하여 사용하는데, 이 때 여과지 여과와 먼전여과를 검토해 본 결과 여과지를 사용한 경우는 색소가 쉽게 흡착되고 금방 막혀버려 먼전여과와 회수율 비교 시 20% 이상의 차이가 났으며 여과시간도 먼전여과의 경우가 훨씬 빨랐다.

따라서, 비트레드색소추출액의 고형잔여물을 먼전여과하고 메탄올과 1% TBA-Br용액 10 ml로 각각 활성화한 C₁₈ 카트리지칼럼에 투과한 후, 물 10 ml로 세정하고 1% TBA-Br/메탄올용액 10 ml로 완전히 용출하고 감압건고 (40°C 이

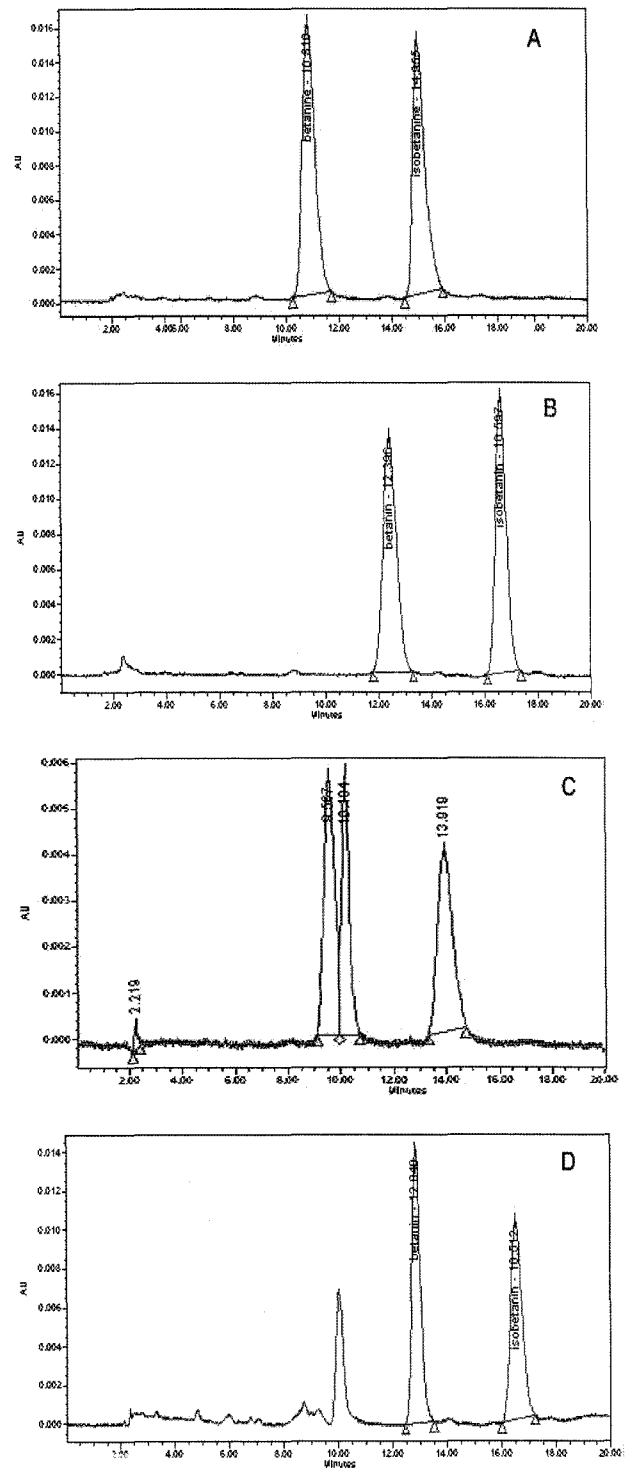


Fig. 4. Chromatogram of standard of beet red and extract from nutrient supplement food by influence of ion-pairing reagent: A. beet red standard in water, B. beet red standard in 1% TBA-Br/mobile phase, C. nutrient supplement food unused ion-pairing reagent, D. nutrient supplement food used ion-pairing reagent.

하)하여 물 1 ml 에 용해하여 0.45 μm 실린지 필터로 여과한 액을 시험용액으로 하였다. Fig. 4에는 Ion-pairing 시약을 이용한 최적정제방법을 통해 분리된 비트레드와 검체의 크로마토그램 결과를 나타내었다.

TLC 크로마토그램 및 TLC에 의한 정성분석 조건검토 결과

비트레드의 TLC에 의한 정성분석을 위해서 박층판으로는 순상계의 셀룰로오스 HPTLC, 실리카겔 HPTLC 및 역상계의 RP-18 HPTLC 등을 각각 이용하고, 전개용매는 아세톤, 3-메틸-1-부탄올, 에틸메틸케톤, 황산나트륨용액, 초산에틸, 물, 염산, 옥살산용액, 메탄설폰산 등의 여러 용매조건과 비교검토하여 전개시간의 단축과 분리능의 개선실험을 수행하였다. 또한, 비트레드 표준용액도 이동상, 물, 탄산나트륨용액 등의 여러 용매에 용해하여 실험하였다.

물과 5% 탄산나트륨용액:10% 염산용액:메탄올 (1:1:1)에 녹인 비트레드는 전개 시 도넛모양으로 퍼지면서 끌림이 생겼다. 따라서, 전개시 안정한 상태를 보인 용매인 이동상에 비트레드 0.1 g을 가하여 10,000 ppm으로 한 비트레드 표준용액을 박층판에 점적하였다. 또한, 역상계 박층판인 RP-18F254S를 사용하고 에틸메틸케톤:메탄올:5% 황산나트륨 (1:1:1)의 경우는 빠른 전개가 이루어지나 Rf가 1정도로 나타났다. 셀룰로오스 HPTLC를 이용하고 전개용매는 아세톤:3-메틸-1-부탄올:물을 이용한 결과는 RP-18F254S보다 전개시간은 길지만 반점이 선명하게 분리가 잘 일어났다. 물의 양을 늘릴수록 Rf 치가 증가했으나 물의 비율이 너무 많이 증가하면 전개가 잘 이루어지지 않았다. 따라서, 전개용매의 함유조성을 변화시켜 최적 분석조건을 검토한 결과 아세톤

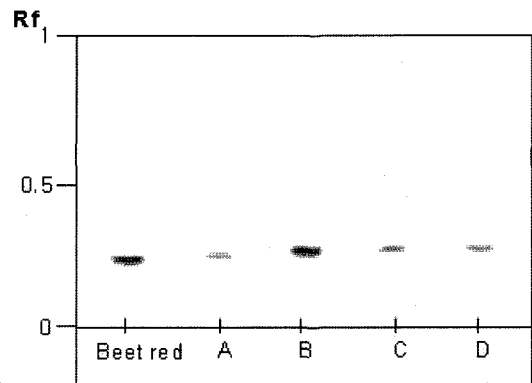


Fig. 5. TLC chromatogram of standard solution of beet red in several samples: A. nutrient supplement food (powder), B. nutrient supplement food (tablet), C. candy, D. ice cream.

:3-메틸-1-부탄올:물 (7:7:6)의 TLC에 의한 정성분석의 용매 조건으로 선택하였다. 다양한 식품 중의 비트레드를 분리하여 나타낸 크로마토그램은 Fig. 5에서와 같이 5 cm~10 cm의 짧은 전개거리에서 충분히 분리가 가능하였다. 또한 이를 HPTLC 스캐너로 측정된 결과 Fig. 6에서 보는바와 같이 최대흡수파장이 538 nm이고 Rf가 일치하여 정확한 정성분석이 가능하였다.

HPLC 분석조건 검토 결과

칼럼은 분석시간의 단축과 분리능 향상을 위해 지금까지 색소 분석에 많이 사용한 Capcell Pak C₁₈ 보다 Table 1에 나타낸 바와 같이 비트레드색소 분리와 특히, 넓은 pH안정성 범위로 분석개발이 양호한 Xterra RP (4.6 mm×250

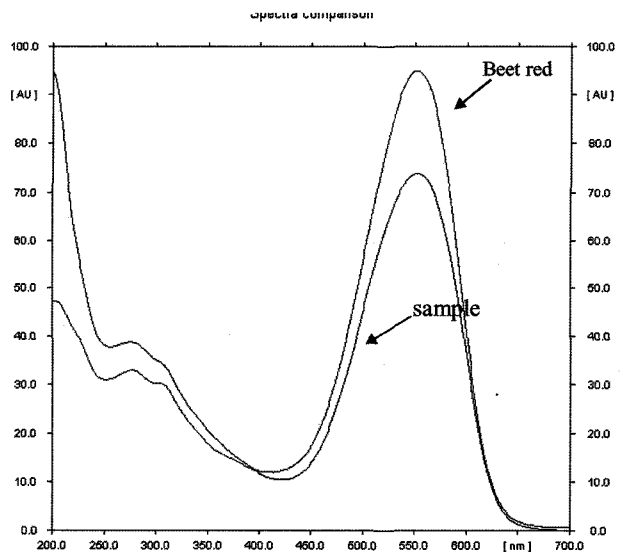
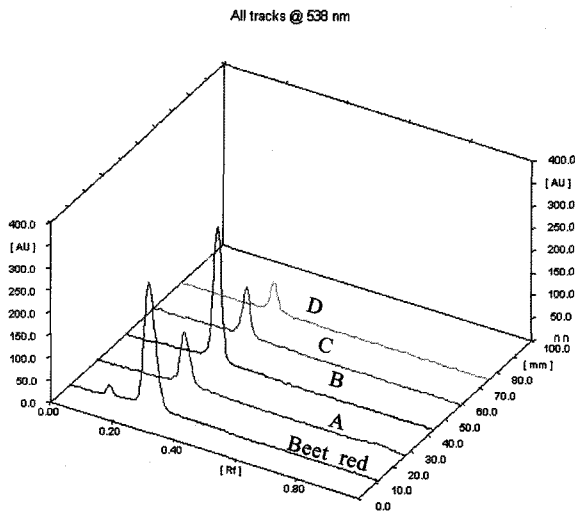


Fig. 6. Visible absorption spectra of beet red and samples measured by TLC Scanner.

mm, 5 μm)칼럼을 선택하여 본 실험에 사용하였다. 이동상으로는 시료의 급격한 pH변화를 막기 위해 완충용액을 검토하였다. 구연산, 초산, 과염소산은 2분 이내의 빠른 용출 시간과 분리능이 현저하게 떨어졌지만 인산의 경우는 베타닌과 이소베타닌의 피크의 분리가 확실히 나타나 인산을 첨가한 완충용액과 메탄올로 용출시간을 조절하였다. 용출시간 (Retention time)은 메탄올의 혼합비율과 인산의 농도에 따라 분리능이 다르기 때문에 이들 조건의 혼합비율을 변화시켜 색소의 용출시간과 분리능을 비교하였다. 베타닌과 이소베타닌의 용출시간이 1~2분사이면 검체처리 시 문제 될 소지가 있어, 4분정도로 분리되어 용출되도록 조절하였다. 그 결과, Fig. 7에서 보는 바와 같이 0.1% 인산:메탄올 (90:10)의 최

적분석조건을 확립하였다.

HPLC에 의한 비트레드의 분석

검량선 및 재현성 검토 - 검량선 작성을 위해 비트레드를 100~2,500 ppm이 되도록 조제하여 Table 1의 조작조건에 따라 HPLC에 주입하여 얻어진 피크면적으로부터 검량선을 작성하였다. 그 결과 Fig. 8에 나타낸 바와 같이 상관계수 (R^2)=1.0000의 양호한 결과를 얻었다. Table 2는 비트레드에 대한 HPLC 재현성을 검토한 결과를 나타낸 것으로서 비트레드의 RSD (%)=0.25로 매우 양호한 결과를 얻었다.

회수율 검토 - Table 3은 분석대상 시료에 대한 비트레드의 회수율시험 결과로서 분석대상 시료에 각각 10,000 μg/g 이 되도록 비트레드색소를 첨가한 후 3회 반복 실험한 결과이다. Table 3에서 보는 바와 같이 과자 94.84%, 음료

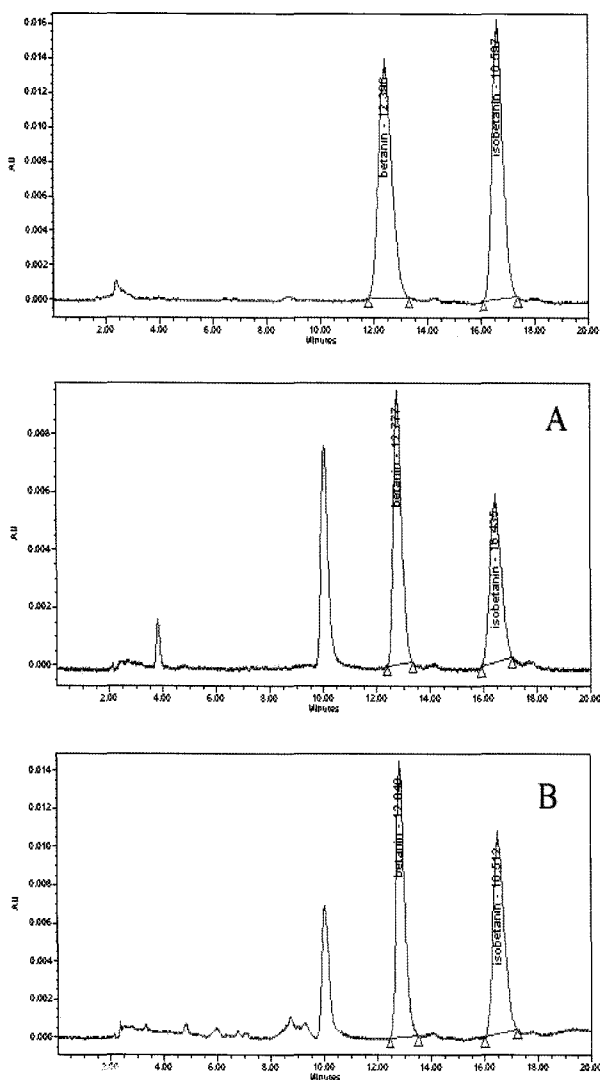


Fig. 7. Typical chromatograms of standard of beet red, chromatograms of extract from nutrient supplement food and candy (A, B).

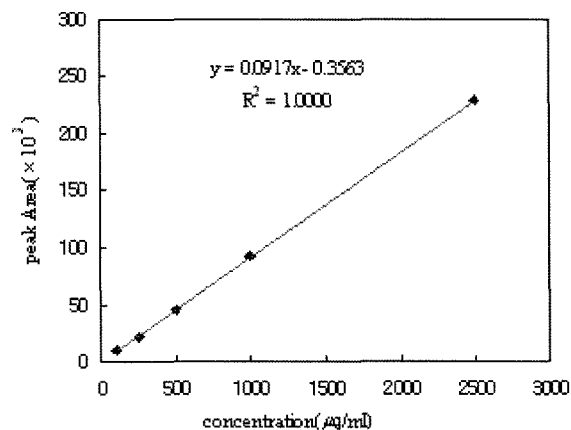


Fig. 8. Calibration curve of beet red.

Table 2. Reproducibility of standard solution for beet red determined by HPLC

Run	Beet red
1	1010892
2	1010897
3	1015258
Mean (3)	1012349
RSD (%)	0.25

* R.S.D. (Relative standard deviation, 상대표준편차)

Table 3. Recovery rates of beet red added to the several foods determined by HPLC

Samples	1	2	3	Mean	RSD
Cookie	95.19	94.61	94.73	94.84	0.32
Beverage	87.48	87.61	87.35	87.48	0.15
Ice cream	90.33	90.79	89.62	90.25	0.65
Candy	86.73	86.92	87.36	87.01	0.37

Table 4. Quantitative analysis data of beet red in commercial samples

Samples	No. of sample	No. of N.D.	No. of detected	Amounts of detected ($\mu\text{g/g}$)
Nutrient supplement food	60	0	60	900.22~27,701.60
Candy	48	18	30	21.95~713.40
Ice cream	12	0	12	155.85~505.37
Sauce	72	54	18	43.52~64.75
Retort food	12	12	0	0
Total	204	84	120	21.95~27,701.60

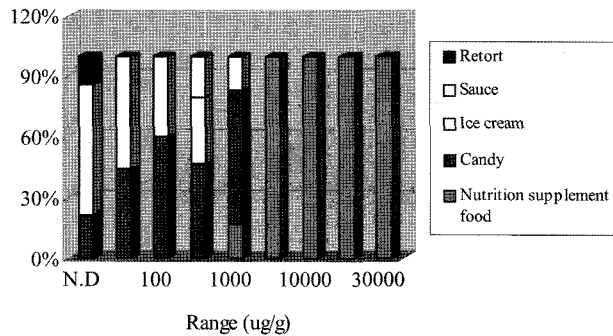


Fig. 9. Range of beet red amounts detected in commercial samples.

87.48%, 아이스크림 90.25%, 사탕 87.01%로 모두 양호한 결과를 얻었다.

식품 중의 비트레드 분석결과

조사대상식품인 국내유통 가공식품 중 영양보충용식품, 아이스크림, 소스류, 캔디류, 레토르트식품 등 총 5종 204품목에 함유된 비트레드의 함유량을 확립된 분석방법으로 시험하였다. 그 결과 영양보충용식품 60품목에서 900.22~27,701.60 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었으며, 캔디류는 48품목 중 30품목에서 21.95~713.40 $\mu\text{g/g}$ 이 검출, 나머지 18품목에서는 불검출이었으며, 아이스크림은 12품목에서 155.85~505.37 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었고, 소스류는 72품목 중 18품목에서 43.52~64.75 $\mu\text{g/g}$ 이 검출, 나머지 54품목에서는 검출되지 않았고, 레토르트식품은 12품목에서 모두 검출되지 않았다.

결 론

본 연구에서는 식품 중 비트레드색소의 시험방법을 비트레드임을 확인한 제품을 사용하여 HPTLC (High Performance Thin Layer Chromatography)와 HPLC (High Performance Liquid Chromatography)로 신속하고 재현성이 높은 비트레드의 시험방법을 확립하였다. 확립된 최적 분석방법을 적용

하여 국내유통식품 중 영양보충용식품 60품목, 아이스크림 12품목, 소스류 72품목, 캔디류 48품목, 레토르트식품 12품목 등 총 5종 204품목을 대상으로 비트레드의 함유량을 시험한 후 다음과 같은 결과를 얻었다.

가. 시료의 추출방법은 소스류, 레토르트식품 및 아이스크림에서는 50% 메탄올:10% 염산용액:m-헥산 (50 :10:50)을 이용하고, 영양보충용식품, 캔디류는 물을 가한 추출방법을 사용하여 양호한 결과를 얻을 수 있었다. 색소의 정제는 C18 카트리지가칼럼에 Ion-pairing시약을 사용한 정제방법일 때 가장 양호한 결과를 얻었다.

나. TLC에 의한 비트레드의 정성분석에는 박층판은 셀룰로오스 HPTLC에 전개용매는 아세톤:3-메틸-1-부탄올:물을 사용하여 전개했을 때 색소의 분리가 가장 양호하였다.

다. HPLC에 의한 비트레드의 정량분석조건은 역상계 칼럼인 X-terra RP (4.5 mm \times 250 mm, 5 μm)을 이용하고 이동상으로는 0.1% 인산:메탄올 (90:10), 파장조건은 UV 538 nm, 온도는 40 $^{\circ}\text{C}$ 로 설정하였다.

라. 분석대상 시료에 대한 비트레드의 회수율은 과자 94.84%, 음료 87.48%, 아이스크림 90.25%, 사탕 87.01%로 모두 양호한 결과를 얻었다.

마. 조사대상식품인 국내유통 가공식품 중 영양보충용식품, 아이스크림, 소스류, 캔디류, 레토르트식품 등 총 5종 204품목에 함유된 비트레드의 함유량을 확립된 분석방법으로 분석한 결과, 영양보충용식품 60품목에서 900.22~27,701.60 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었으며, 캔디류는 48품목 중 30품목에서 21.95~713.40 $\mu\text{g/g}$ 이 검출, 나머지 18품목에서는 불검출이었으며, 아이스크림은 12품목에서 155.85~505.37 $\mu\text{g/g}$ 이 검출되었고, 소스류는 72품목 중 18품목에서 43.52~64.75 $\mu\text{g/g}$ 이 검출, 나머지 54품목에서 검출되지 않았으며, 레토르트식품은 12품목에서 모두 검출되지 않았다.

이상의 결과로 본 시험방법은 시판되고 있는 국내 및 수입식품 중의 비트레드의 정성 및 정량분석에 유용한 방법으로 사료된다.

국문요약

비트레드는 ‘천연식품, 다류, 고춧가루 또는 실고추, 김치류, 고추장 및 식초’에 사용 금지토록 현행 식품첨가물공전에 사용기준이 규정되어 있으나, 식품 중 비트레드의 분석방법이 확립되어 있지 않은 실정이다. 따라서 국내유통 중인 식품 중 비트레드의 함유량을 조사하여 추후 식품 중 비트레드의 사용기준 준수여부 확인시 시험방법으로 사용하고자 식품 중 비트레드 분석법을 확립하였다. 본 연구는 LC-Mass로 비트레드의 주성분임을 확인한 베타닌(Betanine)과 이소베타닌(Isobetanine)을 사용하여 HPTLC (High Performance Thin Layer Chromatography)와 HPLC (High Performance Liquid Chromatography)로 신속하고 재현성이 높은 비트레드의 정성·정량시험방법을 확립하였다. 이 때 정성분석조건은 셀룰로오스 박층판에, 아세톤:3-메틸-1-부탄올:물 (7:7:6)의 전개용매를 이용하고, 정량분석은 역상계인 X-terra RP (4.6 mm×250 mm, 5 μm)칼럼에 이동상, 온도 및 파장조건으로 각각 0.1% 인산:메탄올 (90:10), 40°C 및 538 nm의 조건이었을 때 가장 양호한 분석결과를 얻었다. 확립된 분석방법을 적용하여 시중에 유통되고 있는 식품 중 비트레드 사용실태를 확인하거나 사용가능성이 있는 영양보충용식품, 아이스크림, 소스류, 캔디류, 레토르트식품 등 총 5종 204품목에 함유된 비트레드의 함유량을 조사하였다. 그 결과, 영양보충용식품은 60품목에서 900.22~27,701.60 μg/g이 검출되었으며, 캔디류는 48품목 중 30품목에서 21.95~713.40 μg/g이 검출, 나머지 18품목에서는 검출되지 않았다. 아이스크림에서는 12품목에서 155.85~505.37 μg/g이 검출되었고, 소스류는 72품목 중 18품목에서 43.52~64.75 μg/g이 검출, 나머지 54품목에서 검출되지 않았고 레토르트식품은 12품목에서 모두 검출되지 않았다.

참고문헌

- Saito, K. and Miyakawa, K.I.: Sono-oscillatory mobilization of bound precarothamine from flower florets of dyer's saffron. *Food Chem.*, **54**, 269-271 (1995)
- Kim, S.H., Kim, S.H., Lee, J.N., An, S.W., Kim, K.S., Hwang B. and Lee, H.Y.: Optimization of betacyanin production by red beet (*Beta vulgaris* L.) hairy root cultures. *Kor. J. Appl. microbiol. Biotechnol.*, **26**(5), 435-441 (1998)
- Park, M.S. and Hong, I.K.: Analysis of color difference by mixed solvent composition in natural dyes extraction process. *J. Korean Ind. Eng. Chem.* **13**(8), 844-851 (2002)
- Macdougall, D.B.: Colour in food. CRC Press, New York, pp. 155-315 (2002)
- Gabriel, J.L.: Natural food colorants. Marcel Dekker Inc., New York, pp. 11-30 (2000)
- Methods of Analysis in Health Science, pp. 348-365 (2000)
- 藤井正義, 清水孝重, 中村幹雄, 新版天然色素, pp. 157-161, 坪城13年
- Florian, C.S. and Reinhold, C.: Structural Investigations on betacyanin pigments by LC NMR and 2D NMR spectroscopy. *Trends in Food Sci. & Technol.*, **15**, 19-38 (2004)
- Wybraniec, S. and Mizrahi, Y.: Influence of perfluorinated carboxylic acid on ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatographic separation of betacyanins and 17-decarboxy-betacyanins. *J. Chromatogr. A*, **1029**, 97-101 (2004)
- Stuppner, H. and Egger, R.L.: Application of capillary zone electrophoresis to the analysis of betalains from *Beta vulgaris*. *J. Chromatogr. A*, **735**, 409-413 (1996)
- Fernandez-Lopez, J.A. and Almela, L.: Application of high-performance liquid chromatography to the characterization of the betalain pigment in prickly pear fruits. *J. Chromatogr. A*, **913**, 415-420 (2001)
- Naoko, K., Jurgen, S., Manfred, N., Victor, W. and Willibald S.: Betalains from *Christmas cactus*. *Phytochem.*, **54**, 419-426 (2000)
- Kent, R.V. and Rovert, G.S.: Separation and quantification of red beet betacyanins and betaxanthins by high-performance liquid chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, **26**(4), 812-816 (1978)
- Florian, K., Florian, C.S. and Reinhold C.: Identification of betalains from petioles of differently colored swiss chard by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 2975-2981 (2004)
- Florian, C.S., Andreas, S. and Renihold, C.: Identification of betalains from yellow beet (*Beta vulgaris* L.) and cactus pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] by high-performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 2302-2307 (2002)
- Trezzini, G.F. and Zryd, J.P.: Characterization of some natural and semi-synthetic betaxanthins. *Phytochem.*, **30**(6), 1901-1903 (1991)
- Escribano, J. and Pedreno, M.A.: Characterization of the antiradical activity of betalains from *Beta vulgaris* L. roots. *Phytochem. Anal.*, **9**, 124-127 (1998)

18. Kuyala, T.S. and Loponen, J.M.: Phenolic and betacyanins in red beetroot(*Beta vulgaris*)root: distribution and effect of cold storage on the content of total phenolics and three individual compounds. *J. Agric. Food Chem.*, **48**, 5338-5342 (2000)
19. Cai, Y., Sun, M., Schliemann, W. and Coke, H.: Chemical stability and colorant properties of betaxanthin pigment from *Celosia argentea*. *J. Agric. Food Chem.*, **49**, 4429-4435 (2001)