

# 식품첨가물 기준규격 관리

## Management on Standards and Specifications for Food Additives

권용관\* · 최장덕 · 김민식 · 임호수 · 장선영 · 김문숙 · 문귀임 · 홍기형 · 홍진환 · 김명철

Yong Kwan Kwon\*, Jang Duck Choi, Min Shik Kim, Ho Soo Lim, Sun Young Chang,

Moon Sook Kim, Gui Im Moon, Ki Hyoung Hong, Jin Hwan Hong, Mounng Chul Kim

식품의약품안전청 영양기능식품본부 식품첨가물팀

Food Additives Team, Nutrition & Functional Food Headquarters

Korea Food & Drug Administration

### 서론

급속한 경제성장과 과학기술의 발달에 따른 다양한 식품의 개발을 위해 상품 가치의 향상, 기호성 증대 등의 목적으로 식품첨가물의 사용이 증가하고 있다(1, 2). 또한, 식품첨가물은 각국의 식품산업의 특성, 문화적 요인 및 관리규정에 따라 각기 지정되어 관리되고 있으나, WTO 무역개방체제에 따라 식품산업도 국제화됨에 따라 CODEX 규격은 더 이상의 권고규격이 아닌 강제규격으로 자리 잡고 있는 추세이어서 그 위상이 날로 증대되고 있다. 2006년 12월 현재 우리나라에 허용되어 있는 식품첨가물은 화학적합성품 418품목, 천연첨가물 200품목 등 총 618품목(4-6)으로 미국, 일본 및 EU 등에 비해 식품첨가물의 수가 적은 편이고 사용기준도 엄격한 편이다. 따라서 국제규격과의 차이로 인한 신제품 개발 억제 및 불필요한 통상마찰을 야기시킬 우려가 있으므로 다양한 형태의 식품개발, 기능성식품의 육성, 소비자의 안전성 확보 및 식품첨가물 기준규격의 국제화·과학화를 위해 지속적인 식품첨가물 제·개정 작업이 절실히 요구되고 있다(7-9).

따라서 식품첨가물 섭취로부터 국민건강의 확보 및 소비자들의 불안감 해소와 더불어 식품교역의 증대에 따른 무역마찰의 방지 및 국제무역환경에 능동적인 대처를 위해 본 연구를 수행하였다.

### 결과

#### 1. 다양한 식품개발을 위한 신규품목 지정

우리나라 식품첨가물의 기준규격 확대화를 위해 Food Chemicals Codex (FCC), EU 규정집 및 Codex 등의 자료를 근거로 제외국의 기준·규격대비를 통한 체계적 자료 조사를 하였다. 미국, 일본, EU 및 Codex에서 사용이 허용된 식품첨가물 중 우리나라 미지정 식품첨가물과 한시적 기준규격으로 기 인정된 품목을 검토대상 품목으로 선정하였다(3, 10-20). 검토결과, 한시적 기준규격으로 기 인정된 품목을 중심으로 독성평가 등 안전성 평가자료를 검토하여 탄나아제, 폴리감마글루탐산, 알파갈락토시다아제, 베타글리코시다아제 및 글루타민아제 등 5품목에 대한 규격 기준 대비표 및 기준규격(안)을 마련하였다(Table 1~5).

\*Corresponding author: Yong Kwan Kwon

Researcher of Food Additives Team, Nutrition & Functional Food Headquarters, Korea Food & Drug Administration, 194 Tongilro, Eunpyeong-gu, Seoul, 122-704, Republic of Korea

Tel: 82-2-380-1687

Fax: 82-2-354-1399

E-mail: ykkwon@ufda.go.kr

Table 1. 탄나아제의 규격 기준 대비표

	일 본	규 격 (안)
함 량	탄나아제로서 표시역가의 90~130% 함유	탄나아제로서 표시역가의 90~130% 함유
순도시험		
(1) 비소	4 ppm 이하	4 ppm 이하
(2) 중금속	40 ppm 이하	40 ppm 이하
(3) 납	10 ppm 이하	10 ppm 이하
(4) 대장균군	30/g 이하	30/g 이하
(5) 살모넬라	음 성(-)	음 성(-)
정량법	흡광광도법	흡광광도법

탄나아제의 성분규격 시험은 탄나아제 표준품을 사용하여 비소, 중금속 및 납을 대상으로 행한 결과, 각각 4 ppm 이하, 40 ppm 이하 그리고 10 ppm 이하로 성분규격에 모두 적합하였으며, 대장균군 및 살모넬라 등 미생물시험의 경우에도 제품 1 g당 30 이하 및 음성(-)으로 성분규격에 모두 적합하였다. 또한, 정량시험(역가)은 최종 회석액 1 ml가 1 Tananse unit를 함유하도록 검체 일정량을 취하여 즉시 저온(5±3°)상태의 50 mM 구연산 완충액 (pH 5.5)을 가하여 시험용액을 조제한 다음 탄닌산을 기질용액으로 하여 흡광광도법에 따라 정량했을 때 탄나아제의 역가는 기준규격에 적합하였다.

폴리감마글루탐산은 박층크로마토그래피와 적외부흡수스

Table 2. 폴리감마글루탐산의 규격 기준 대비표

	일 본	규 격 (안)
함 량	폴리감마글루탐산으로서 95% 이상	폴리감마글루탐산으로서 95% 이상
성 상	백색의 분말	백색의 분말
확인시험		
1) 크로마토그램 확인	적 합	적 합
2) 적외부흡수스펙트럼 확인	적 합	적 합
순도시험		
(1) 비 소	4 ppm 이하	4 ppm 이하
(2) 중금속	20 ppm 이하	20 ppm 이하
건조감량	4% 이하	4% 이하
강열잔류물	1.0% 이하	1.0% 이하
정량법	아미노산분석법	아미노산분석법

Table 3. 알파갈락토시다아제의 규격 기준 대비표

	일 본	규 격 (안)
함 량	알파갈락토시다아제로서 표시역가의 90~130% 함유	알파갈락토시다아제로서 표시역가의 90~130% 함유
성 상	백~옅은 황색의 분말	백~옅은 황색의 분말
순도시험		
(1) 비소	4 ppm 이하	4 ppm 이하
(2) 중금속	40 ppm 이하	40 ppm 이하
(3) 납	10 ppm 이하	10 ppm 이하
(4) 대장균군	30/g 이하	30/g 이하
(5) 살모넬라	음성(-)	음성(-)
정량법	흡광광도법	흡광광도법

Table 4. 베타글리코시다아제의 규격 기준 대비표

	일 본	규 격 (안)
함 량	베타글리코시다아제로서 표시역가의 90~130% 함유	베타글리코시다아제로서 표시역가의 90~130% 함유
성 상	백~옅은 황색의 분말	백~옅은 황색의 분말
순도시험		
(1) 비소	4 ppm 이하	4 ppm 이하
(2) 중금속	40 ppm 이하	40 ppm 이하
(3) 납	10 ppm 이하	10 ppm 이하
(4) 대장균군	30/g 이하	30/g 이하
(5) 살모넬라	음성(-)	음성(-)
정량법	흡광광도법	흡광광도법

Table 5. 글루타민아제의 규격 기준 대비표

	일본	규격 (안)
함 량	글루타민아제로서 표시역가의 90~130% 함유	글루타민아제로서 표시역가의 90~130% 함유
성 상	백~엷은 황갈색의 분말	백~엷은 황갈색의 분말
순도시험		
(1)비 소	4 ppm 이하	4 ppm 이하
(2)중금속	40 ppm 이하	40 ppm 이하
(3)납	10 ppm 이하	10 ppm 이하
(4)대장균군	30/g 이하	30/g 이하
(5)살모넬라	음 성(-)	음 성(-)
정량법	흡광광도법	흡광광도법

펙트럼측정법중의 브롬칼륨정제법에 의해 확인시험을 수행하였고, 건조감량시험, 강열잔류물시험 및 아미노산분석기를 이용하여 정량시험을 수행한 결과 기준규격에 적합하였다.

$\alpha$ -갈락토시다아제는 비소, 중금속 및 납 시험 등 순도시험 결과, 각각 4 ppm 이하, 40 ppm 이하 및 10 ppm 이하로 성분규격에 적합하였으며, 대장균군 및 살모넬라 등 미생물시험의 경우도 성분규격에 적합하였다. 정량시험(역가)은 분광광도법을 이용하여 정량시험을 수행한 결과 기준규격에 적합하였다.  $\beta$ -글리코시다아제는 비소, 중금속 및 납 시험을 한 결과 각각 4 ppm 이하, 40 ppm 이하 및 10 ppm 이하로 성분규격에 적합하였으며, 대장균군 및 살모넬라 등 미생물시험의 경우 식품공전, 일반시험법의 미생물시험법 중 대장균군 및 살모넬라균 시험법에 따라 시험했을 때, 제품 1 g당 30 이하 및 음성(-)으로 성분규격에 적합하였다. 정량시험 (역가) 결과도 기준규격에 적합을 알 수 있었다.

글루타민아제는 엷은 황갈색의 분말로 비소, 중금속, 납 및 미생물 시험 등 순도시험 결과 모두 규격기준에 적합하였고, 정량시험 (역가) 결과 글루타민아제로서 표시역가의 125%를 함유하여 적합하였다.

## 2. 식품첨가물 위생관리 확보를 위한 기준규격 개정

### 1) 염기성알루미늄탄산나트륨 1 품목의 지정취소

알루미늄관련 위해성 논란으로 식품안전에 대한 국민의

불신과 불안이 증가함에 따라 식품 중 알루미늄 저감화 방안의 일환으로 식품첨가물 중 알루미늄 함량비율이 가장 높은 (18.8 %) 품목인 염기성알루미늄탄산나트륨을 지정 취소하였다.

### 2) 글루콘산칼슘 등 40 품목의 사용기준 개정

특수영양식품, 식사대용식품, 및 환자용 등 식품의 기준규격이 특수용도식품, 체중조절용 조제식품 및 시리얼류, 특수의료용도 등 식품으로 개정(식약청고시 제2005-48호, 2005. 8. 22)되고, 마아가린류는 식용유지에 포함됨에 따라 용어를 통일하기 위하여 글루콘산칼슘 등 35품목의 사용기준을 개정하였다. L-시스테인염산염 등 3 품목은 국제적 조화를 위하여 미국 및 Codex 등의 사용기준을 수용하여 개정하였다. 또한, 국내와는 달리 북미 및 유럽 등 비만으로 인한 사회적 문제가 심각한 지역에서는 저칼로리 감미료인 아세설팜칼륨, 수크랄로스, 아스파탐 등을 사용한 저칼로리 커피 음료제품이 활발히 출시되고 있으며, 조제커피는 우리나라에서만 생산되는 독특한 제품으로 커피믹스의 저 열량제품 개발의 다양화를 위하여 아세설팜칼륨과 수크랄로스의 사용기준을 개정하였다.

### 3) 황산칼슘 등 6 품목의 성분규격 개정

황산칼슘, 탈크의 경우 제조방법 등에 따라 다양한 성상의 제품이 개발됨에 따라 미국 및 Codex 등 국제적 조화를 위하여 성상을 개정하고, L-글루타민산나트륨제제의 정량법을 미국 FCC에 준하여 간편하고 신속한 분석방법인 아미노산분석기를 이용한 분석방법으로 개정하는 등 식품첨가물 6 품목의 성분규격을 개정하였다.

## 3. 식품첨가물 영문공전에 미반영된 신규지정 품목 등 업데이트

국내의 식품관련 업계 및 국민들의 어려움을 해소하고 수출입 업무 등에 도움을 주고자 「영문 식품첨가물공전」을 발간하여 식품관련 업계 및 각 지방식품의약품안전청 및 각 시도보건환경연구원 등 식품위생검사기관에 배포하고, 또한, 국민들이 이에 대한 내용을 쉽게 알 수 있도록 영문 식품첨가물공전을 식약청 홈페이지의 「식품첨가물 데이터베이스」에 수재하여 민원인 편의를 도모하고 있다. 다만, 매년 2차례에 걸쳐 식품첨가물 기준규격 제·개정이 이루어지고 있어 개정된 식품첨가물 기준·규격의 내용을

신속·정확하게 파악할 수 있도록 지속적으로 보완이 필요함에 따라 영문화작업이 이루어지지 않은 *d-α*-토코페릴 아세테이트 등 6품목에 대해 영문화작업을 수행하였다.

#### 4. Codex 활동을 통한 아국의 이익 반영

##### 1) 즉석면의 식품첨가물 관련 의견제출

국내에서의 식품첨가물관리는 식품첨가물공전의 기준에 근거하고 있다. 그러나 점차적으로 다양한 식품의 발달과 함께 외국으로부터 유입되는 식품이 많아짐에 따라 소비자의 불안감은 증대 및 국민건강의 확보가 어려워지고 있으며, 또한 국가 상호간 법적기준의 차이로 인해 통상마찰소지도 점차 증가하는 추세이다. 2002년 9월 제 13차 아시아지역 조정위원회에서 발의된 즉석면 (Instant Noodle) 규격에 대해 제 37차 CCFAC(식품첨가물및오염물질분과위원회)회의에서 국제적으로 논란이 진행 중인 즉석면(Instant Noodle)에 대해 국내 업계의 의견수렴 및 실태조사를 통해 Codex에 건의(안)이 2005년도 작성된 바 있다. 이를 토대로 2006년 4월 제 38차 CCFAC에 참석하여 아국의 의견을 제출, 피력하여 작성된 합의안을 제 29차 총회에 8단계로 상정하였다. 다만, 즉석면 규격 중면에 대한 식품첨가물 목록 중 감미료는 삭제하였으나, 타르색소 등의 식품첨가물에 대해서는 아국에서 평가를 요청한 상태이고 JECFA에서 평가예정이므로, 향후 타르색소에 대한 섭취량 자료 및 위해평가 자료 등의 사전준비가 요망된다.

##### 2) CCNFSDU(영양 및 특수용도식품 분과위원회)의 영양강화제관련 내용검토 및 의견 제출

즉석면 이외에 식품별 분과위원회에서 논의되고 있는 주요 식품 및 첨가물 목록으로는 2001년 독일에서 영유아용 특수용도식품에 대한 영양 강화제의 권고 목록안이 있다. 영유아용 특수용도식품에 대한 영양 강화제의 권고 목록안은 1979년에 제정된 규격에서 무기질염 및 비타민류의 사용범위를 확대하자는 회원국의 의견이 있어 시작된 것으로 제 24차 회의에서 동 규격에 무기질염 및 비타민 복합체의 범위로 채택하기 위한 “기준(criteria)”에 대한 논의가 있었고, 이에 따라 9가지의 기준이 설정되었다. 따라서 Cr(III), Se 등의 신규수재 검토물질에 대해서는 식품첨가물공전 일반사용기준(영유아용 식품)과 개별품목

으로 수용 여부 등 비교검토 작업을 수행하였다.

##### 3) CCPFV(가공과채류분과위원회)의 고추장 규격화 및 발효 농제품 중 식품첨가물 내용 검토 및 의견 제출

2004년 9월 제 14차 아시아지역 조정위원회(CCASIA)에서 발의된 고추장 규격화가 추진 중이며, 현재 3/4단계에 있다. 2005년 일본에서 우리측에서 제안한 첨가물에 대한 내용을 검토하였다. 그 예로 paprika oleoresin은 국제적으로도 많이 사용되는 첨가물이므로 고추장에 착색료로 “paprika oleoresin”을 10 g/kg 수준에서 허용을 요구함에 따라 향후 다양한 방안이 검토되어야 할 것으로 사료된다.

#### 고 찰

본 연구에서는 제외국에서는 식품첨가물로 지정되어 있으나 국내에서는 지정되어 있지 않은 품목과 사용이 허용되었더라도 규격과 기준이 상이한 품목에 대한 체계적 조사와 실제 분석 등을 통해 국내 실정에 적합한 규격기준제·개정(안)을 제시함으로써 체계적이고 과학적인 근거를 마련하여 국제기준과의 조화 및 국내·외의 요구에 부응하고자 하였다. 따라서 우리나라 식품첨가물공전에는 등재되어 있지 않으면서 제 외국, 특히 일본에서는 허용되어 있고 사용되어지는 첨가물을 우선 대상으로 선정하였으며, 또한 건강기능식품공전에 기재된 성분 중 첨가물은 식품첨가물과 통합적으로 관리하기 위해 비타민, 무기질 등은 건강기능식품의 기능성원료이며 동시에 식품첨가물로 사용되고 있으므로 동일한 원칙으로 관리될 필요가 있어 현재 건강기능식품공전에 기재된 영양성분 중 식품첨가물공전 미등재 품목을 조사하였다. 건강기능식품공전에 미등재 품목을 조사한 결과, 아스코르빈산칼륨(potassium L-ascorbate), 초산마그네슘(magnesium acetate), 몰리브덴산암모늄(ammonium molybdate), 아실렌산나트륨(sodium selenite), 염화아연(zinc chloride), 초산아연(zinc acetate), 탄산아연(basic zinc carbonate), 요오드나트륨(sodium iodide), 염화크롬(chromic chloride) 등 총 9품목이 미지정되어 있으나, 상기의 첨가물은 제외국의 경우에도 안전성 평가가 이루어져 있지 않거나 식품첨가물로 분류되어 있지 않은 품목이어서 신규지정 품목

에는 제외하였다. 따라서, 우리나라 식품산업 발달 및 지정 필요성을 고려하여 신규지정 우선순위 5 품목에 대해 사용용도, 식품의 사용량, 제외국의 사용현황, 독성평가 자료 등을 검토한 다음, 제 외국 기준규격과의 비교 검토를 통해 기준규격(안)을 마련하였다. 또한, 식품첨가물 섭취로부터 국민건강의 확보 및 소비자들의 불안감 해소와 더불어 식품교역의 증대에 따른 무역마찰의 방지 및 국제무역환경에 능동적인 대처를 위해서 기준규격 개정작업을 수행하였다. 기준규격 개정에 대한 주요 내용은 다음과 같다.

- 염기성알루미늄탄산나트륨 1 품목의 지정취소
  - 식품 중 알루미늄 검출의 주요 원인이 알루미늄 함유 식품첨가물의 사용에 의한 것으로 판단됨에 따라 식품 중 알루미늄 저감화 방안의 일환으로 식품첨가물 중 알루미늄 함량비율이 가장 높은 (18.8 %) 품목인 염기성알루미늄탄산나트륨을 지정 취소함
- 글루콘산칼슘 등 40 품목의 사용기준 개정
  - 글루콘산칼슘 등 35 품목  
특수영양식품, 식사 대용식품, 및 환자용 등 식품의 기준규격이 특수용도식품, 체중조절용 조제식품 및 시리얼류, 특수의료용도 등 식품으로 개정됨에 따라 용어 통일
  - L-시스테인염산염 등 3 품목  
미국 및 Codex 등의 사용기준 수용
  - 아세살팜칼륨 등 2 품목의 사용기준 개정  
조제커피는 우리나라에서만 생산되는 독특한 제품으로 커피믹스의 저열량제품 개발의 다양화를 위하여 사용기준을 개정
- 황산칼슘 등 6 품목의 성분규격 개정
  - 황산칼슘 및 탈크 등 2 품목의 경우 다양한 성상의 제품 개발에 따라 성상 개정
  - 미리스트산, 올레인산 및 카프락산 등 3 품목은 지구 수정
  - L-글루타민산나트륨제제의 정량법을 미국 FCC에 준하여 간편하고 신속한 분석방법인 아미노산분석기를 이용한 분석방법으로 개정

## 요 약

식품에 사용되는 식품첨가물의 지정 확대화 및 국제적

조화를 위한 사업으로 한시적 기준규격으로 기 인정된 효소제인 탄니아제, 알파갈락토시다아제, 베타글리코시다아제, 글루타미나아제와 증점안정제의 용도로 사용되는 폴리감마글루탐산 등 총 5 품목에 대하여 기준·규격을 신설하였으며, 식품 중 알루미늄 저감화 방안 마련의 일환으로 화학적합성품 중 염기성알루미늄탄산나트륨 1 품목을 지정취소하고, 글루콘산칼슘 등 40 품목의 사용기준을 개정하였으며, 황산칼슘 등 6 품목의 성분규격을 개정하였다. 또한, 식품첨가물로 인한 통상무역 마찰을 해소하고 식품첨가물 수출입관련 중사자의 편의를 도모하고자 식품첨가물 영문공전에 미 반영된 품목에 대해 영문화작업을 수행하였으며, 식품첨가물의 국제기준과 조화를 위해 CCFAC (식품첨가물및오염물질분과회의) 및 CCCPL (곡류및두류분과위원회)에서 논의중인 즉석면(instant noodle) 등의 식품첨가물 국제기준 작성 및 제안을 위한 작업을 수행하고 아국의 최종안을 만들어 Codex 회의에 즉석면 식품첨가물 목록을 총회에 8단계로 상정하였으며, 즉석면 식품첨가물 목록에서 감미료(아세살팜칼륨, 알리타임 등)삭제 및 타르색소(Tartrazine, Sunset Yellow FCF, amaranth, Fast Green FCF, curcumin, carmines) 최대허용기준 설정에 대한 아국의 의견을 반영하였으며, CCNFSDU(영양 및 특수용도식품 분과위원회)의 영양강화제와 관련하여 식품첨가물에 관한 내용검토 및 의견 제출, CCASIA(아시아지역 조정위원회)에서 논의 중인 고추장 및 발효 콩제품의 식품 첨가물 내용을 검토하여 아국의 검토의견을 반영하였다.

## 참고문헌

1. Food Additives Code I, II, 2005.
2. Food Additives Code, Korea Food & Drug Administration 2002, 2003.
3. Lee CW. Harmonization of international standard for food additives use levels. Korea Food & Drug Administration 2001.
4. Lee MK. Harmonization of Korean food additives with Codex.. Korea Food & Drug Administration 2004.
5. Analysis of Food Additives in Food, II Japan Food Hygiene Association 2000.
6. Song JC. Park HJ. Food Additives Jisung Press, 1998.
7. Song JC. Yang HK. Food Additives Semoon Press, 1992.
8. Ahn JS. Jo HK. Food Additives, 1992.
9. Ji SG. New Food Additives - Theory and Practice. Food Journal, 2000.
10. Micheal Irene Ash, Handbook of Food Additives, 1996.

11. JECFA, Summary of evaluations performed by the Joint FAO/WHO Expert Committee of Food Additives, 1996.
12. JECFA, Compendium of Food Additives specifications volume 1, 1992.
13. JECFA, Compendium of Food Additives specifications volume 2, 1992.
14. JECFA, Compendium of Food Additives specifications addendum 1-8.
15. JECFA, Guide to specifications, 5 Rev.2, 1991.
16. Committee on the Food Chemistry Codex, Food Chemicals Codex, fourth edition, 1996.
17. Committee on the Food Chemistry Codex, Food Chemicals Codex, fourth edition, first supplement.
18. Committee on the Food Chemistry Codex, Food Chemicals Codex, fourth edition, second supplement.
19. Codex Committee on Food Additives and Contaminants. Report of the 36th Session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants, 2004.
20. Committee on the Food Chemistry Codex, Food Chemicals Codex, Fourth Edition, second supplement.
21. AOAC, 16th Edition, AOAC International, Arlington, Virginia.
22. Official Journal of the European Communities, 1999.
23. U.S. Government printing office, Code of Federal regulations, 1996.
24. R. Nandakumar, M.P Nandarkumar, B. Mattiasson. Quantification of nisin in flow-injection immunoassay systems, *Biosensors & Bioelectronics*, 15: 241-247 (1999).
25. Jeong-In Lee, Hu-Jang Lee, and Yong-Wook Lee. Inhibitory Effect of Nisin against Sainst Staphylococcus aureus and Escherchia coli O157:H7, *Korea Journal of Public Health J. Korean Public Health Assoc.*, 2: 64-72 (2001).
26. Amelia Delgado, Dulce Brito, Pedro Feveriro, Rogerio Tenreiro. Cidalia Peres, Bioactivity quantification of crude bacteriocin solutions, *Journal of Microbiological Methods*, 62: 121-124 (2005).
27. Nikolaos A.botsoglou, Alexandros Govaris, Evropi N. Botsoglou, Sophia H. Grigoropoulou, and Geore Papageorgiou. Antioxidant Activity of Dietary Oregano Essential Oil and  $\alpha$ -Tocopherl Acetate Supplementation in Long-Term Frozen Stored Turkey Meat, *J. Agric. Food Chem.*, 51: 2930-2936 (2003).
28. M. Gonzalez, E. Ballesteros, M. Gallego, M. Valcarcel. Continuous-flow determination of natural and synthetic antioxidants in foods by gas chromatography, *analytica Chimica Acta*, 359: 47-55 (1998).
29. Pavlos F. Chatzimichalakis, Victoria F. Samanidou, Ioannis N. Papadoyannis. Development of a validated liquid chromatography method for the simultaneous determination of eight fat-soluble vitamins in biological fluids after solid-phase extraction, *Journal of Chromatography B*, 805: 289-296 (2004).
30. Esma Tutem, Resat Apak, Esma Gunayd, Kevser Sozgen. Spectrophotometric determination of vitamin E ( $\alpha$ -tocopherol) using copper(II)-neocuproine reagent, *Talanta*, 44: 249-255 (1997).
31. E. Ballesteros, M. Gallego, M. Valcarcel. Gas chromatographic determination of cholesterol and tocopherols in edible oils and fats with automatic removal of interfering triglycerides, *Journal of Chromatography A*, 719: 221-227(1996).
32. M.C. Herrero-Barbudo, F. Granado-Lorencio, I. Blanco-Navarro, B. Olmedilla-Alonso. Retinol,  $\alpha$ - and  $\gamma$ -tocopherol and carotenoids in natural and vitamin A- and E-fortified dairy products commercialized in Spain, *International Dairy Journal*, 15: 521-526 (2005).