

HPLC를 이용한 김치, 절임식품류중의 삭카린나트륨 및 솔빈산 분석

첨가물검사팀

이정미 · 유인실 · 김일영 · 김성단 · 정소영 · 한상운

Determination of Sodium saccharin and Sorbic acid in Kimchi and Pickles using High-Performance Liquid Chromatography

Food Additives Team

**Jeong-mi Lee, In-sil Yu, Il-young Kim, Sung-dan Kim, So-young Jung,
and Sang-un Han**

Abstract

This study was performed to determine the contents of sodium saccharin and sorbic acid in kimchi, pickled radish and other pickles in the market using reversed phase high performance liquid chromatography.

A mobile phase were pH4.0 adjusted 30% methanol (in TPA-OH) and 0.05M H₃PO₄ buffer solution (pH 6.8) : methanol (9:1). Column was μ -Bondapak C₁₈(4.6mm ϕ \times 25cm, 5 μ m) with a flow rate at 0.8 ml/min and detection at 210nm were used. Recovery range of sodium saccharin was 90.5 \pm 2.9% in kimchi and 97.5 \pm 4.0% in other pickles, sorbic acid was 89.7 \pm 2.2% in kinchi and 96.1 \pm 2.6%. other pickles. Sample preparation was simply and rapidly filtered through a 0.45 μ m membrane cartridge filter with only one procedure.

Contents of sodium saccharin were N.D~815.3mg/kg in pickled radish, N.D~551.1mg/kg in other pickles, N.D~159.4mg/kg in kimchi and not detected in pickled cucumber. Concentrations of sorbic acid were N.D~1029.8 mg/kg in pickled radish, 6.8mg/kg~1234.8mg/kg in other pickles, N.D~254.4mg/kg in pickled cucumber and not detected in kimchi. Sodium saccharin and sorbic acid were resolved in 6.8min. and 8.0min. respectively, in this condition.

Sorbic acid and sodium saccharin were able to identify with GC/MS.

Key words : kimchi, pickles, quality sodium saccharin, sorbic acid, HPLC

서론

Sodium saccharin은 1879년 미국에서 발견된 인공

감미료로 설탕의 200~700배의 단맛을 가지고 있는 가장 경제적이고 효과적인 다이어트식품이며 값싸게 소량으로 단맛을 낼 수 있는 재료로 오래 전부터 설탕의 대

제품목으로 사용되어 왔다.¹⁾ 하지만 방광암에 대한 발암성 논쟁으로 안전성에 의심을 받기 시작했고 그 후 방대한 동물실험과 역학조사 등 의 연구결과로 정상적인 사용농도와 방법에서는 인체에 무해하다는 결론을 내렸다.^{2,3)} 국내에서는 1945년 해방 전부터 사용하다가 1988년 sodium saccharin의 유해론이 대두되어 1992년 허용식품의 범위를 대폭 줄여 현재 식품첨가물 공전에 의하면 절임식품류(김치류포함), 음료(발효음료제외), 어육가공품, 특수영양식품(영양보충용식품, 환자용 등식품, 식사대용식품), 빵튀기 등에만 사용하도록 허용하고 있다. 식품공전 규격기준 중 김치, 절임식품류에는 sodium saccharin 규격기준이 설정되어 있지 않아 규제할 방법이 없었는데 정성시험법만 있었던 식품공전 시험법에 최근 정량분석법⁴⁾이 추가되어 sodium saccharin 함량분석이 가능하게 되어 검사가 더욱 설득력을 가짐이 사실이며 sodium saccharin 검사에 의한 신뢰성과 사용량 규제가 가능하게 되었다.

그 동안 sodium saccharin을 비롯한 인공감미료에 대한 많은 연구가 이루어졌는데 현재까지 보고된 sodium saccharin의 분석방법으로는 식품시료를 celite와 혼합하여 column으로 정제한 후 분석한 differential pulse polarographic method⁵⁾와 spectrophotometric method⁶⁾에 의해서 분석한 보고들이 있고 음료에 들어 있는 saccharin은 thin-layer chromatography로 먼저 분리한 후 spectrophotometer로 분석한 보고들이 있다.⁷⁾ 그런데 최근에는 GC 및 HPLC에 의한 분석이 많이 보고되고 있는데, GC⁸⁾에 의한 방법은 정확하고 특이적이고 감도가 좋지만 시료 전처리 및 유도체화의 시간이 많이 요구되는 반면 HPLC에 의한 방법은 최소한의 시료전처리로 감도도 매우 좋고 유도체화도 필요하지 않아 현재 많이 사용되고 있다. 몇몇 LC방법에서는 sodium saccharin, benzoic acid 및 sorbic acid의 동시분석방법도 보고되고 있다.⁹⁾

본 연구에서는 이동상 용매조건 및 정제방법 등의 분석조건을 조사하였고, 김치류와 절임식품류중의 sodium saccharin 과 sorbic acid의 함량을 분석하여 시중 유통식품에 대한 이들 절임식품류의 사용실태를 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 재 료

2000년 8월부터 2001년 8월까지 서울특별시내 유통된 단무지 28품목, 절임장아찌류 16품목, 오이피클 5품목, 김치류 34품목의 총 83품목을 대상으로 실험하였다.

2. 시 약

표준품으로 sodium saccharin, 과 sorbic acid는 Sigma 사의 제품(특급시약)을 사용하였고 이온 pair 시약으로 tetrapropylammonium bromide, 10% tetrapropylammonium hydroxide 수용액(Wako Chemical Co.)을, methanol 및 acetonitril은 HPLC용(J.T. Baker)을 사용하였다. 그 외 phosphoric acid, sodium phosphate dibasic, sodium phosphate monobasic, ammonium phosphate dibasic, ethyl-acetate, 무수 ether는 특급(Wako Chemical Co.)을 사용하였으며, 유도체화제로 N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide (BSTFA) (Wako Chemical Co.)를, 투석막으로 dialysis tubing cellulose membrane (Sigma Co. 분자량 12,000~14,000)을 사용하였다. 시료 정제에는 Millipore Millex-HV(Millipore Co.)를 사용하였다.

3. 기 기

HPLC는 Yong-Lin의 high performance liquid chromatographic system으로 펌프는 M930 solvent delivery pump, 검출기는 M720 absorbance detector, 시료주입기는 rheodyne injector, 분석은 Aurochrom-2.0 win system을 이용하였다.

GC/MS는 GC로 Agilent 6890 series GC system을, GC/MSD로 Agilent GC/MSD 5973을, 분석은 HP chemstation을 이용하였다.

4. 실험방법

1) 표준용액 및 시료용액의 조제

표준용액의 조제는 다음과 같이 하였다. 즉 sodium saccharin 표준액은 식품공전⁴⁾에 따라 sodium saccharin을 120℃에서 4시간 건조시킨 후 약100mg을 칭량하고 이동상 30% methanol (in 10% tetrapropylammonium hydroxide(TPA-OH) 수용액, pH4.0)에 녹여서 100ml로 하여 1mg/ml 농도의 stock solution으

로 만들고(1,000mg/L), sorbic acid의 표준품도 이동상에 녹여 1mg/ml농도의 stock solution으로 만들어서 검량선 작성에 이용하였다.

시료용액의 조제는 다음과 같이 하였다. 즉 시료한 포장단위를 그대로 믹서기에 갈아 균질화하여 10~20g을 취한 다음 투석용 튜브(분자량 12,000~14,000)에 넣고 투석 내액 약 20ml를 넣고 잘 혼합하여 밀봉한 후 미리 투석 외액 약 150ml를 넣은 500ml 메스실린더에 넣고 때때로 흔들어 주면서 실온에서 24~48시간 방치하여 투석한 다음 투석 외액을 가해 전량을 200ml로 한다. 이중 20ml를 취해 25ml 메스플라스크에 넣고 0.1M TPA-Br용액 2ml를 가한 다음 물을 가해 25ml로 하였다. 이를 0.45 μ m cartridge filter로 여과하여 그대로 HPLC에 injection하였다.

2) 이동상 및 투석액조제

용매조건을 달리하여 분석법을 검토하고자 하였는데 mobile phase 1은 30% methanol (in TPA-OH, pH4.0)로 공전에 있는 방법대로 메탄올:물(30:70)의 혼합액 약 900ml에 10% TPA-OH (tetrapropylammonium hydroxide) 20.3ml를 녹이고 인산으로 pH를 4.0으로 정확히 조정한 다음 메탄올:물(30:70)혼합액으로 1,000ml를 맞춰 전량으로 하여 여과 후 탈기하여 사용하였다.

Mobile phase 2는 0.05M H₃PO₄ buffer solution (pH 6.8) : methanol(9:1)로 0.1M Na₂HPO₄ 245ml와 0.1M NaH₂PO₄ 255ml를 1,000ml 용량플라스크에 넣은 후 pH를 6.8로 맞춘 후 methanol 100ml를 가하고 물을 넣어 전량을 1,000ml로 한 다음 여과, 탈기 한 후 사용하였다.

투석내액은 NaCl 100g 및 phosphoric acid 7ml를 물에 녹여 1,000ml로 하였다 투석외액은 phosphoric acid만 7ml를 물에 녹여 1,000ml로 하였다.

3) 검량선 작성 및 분석

Stock solution 1mg/ml (1,000mg/L)을 사용하여 sodium saccharin의 경우 10, 30, 60mg/L의 농도로 검량선을 작성하였고 sorbic acid의 경우 20, 40, 60mg/L의 농도로 검량선을 작성하였다.

분석조건은 Table 1과 같으며 pH4.0로 조절된 30% methanol (in TPA-OH) 용매조건에서는 83개 품목을 모두 정량분석하였고 0.05M H₃PO₄ buffer solution (pH 6.8) : methanol (9:1)의 조건에서는 sodium

Table 1. Analytical Condition of HPLC

Parameter	Condition
Column	μ -Bondapak C ₁₈ (4.6mm ϕ X 25cm, 5 μ m)
Detector	UV 210nm
Flow rate	0.8ml/min
Injection volume	20 μ l
Mobile phase	① 30% methanol (in TPA-OH) pH4.0 adjusted ② 0.05M H ₃ PO ₄ buffer solution (pH 6.8) : methanol(9:1)

saccharin 및 sorbic acid가 포장의 표시사항에 사용되었다고 표기된 단무지 및 절임 장아찌류에 대하여 정량 분석하였다.

4) 회수율 측정

제품 유형별로 단무지, 피클, 김치류 각각에 농도가 500mg/50ml(10,000mg/L)인 stock solution을 각각 1ml, 3ml, 5ml씩 가하여 최종농도가 40mg/L, 120mg/L, 200mg/L되도록 3단계의 농도로 시료에 가한 다음, 시료 전처리와 같은 방법으로 각각의 회수율을 구하였다. 단, 단무지는 sodium saccharin대신 스테비오사이드를 사용하여 sodium saccharin이 검출되지 않은 것을 사용하였고, 피클 및 김치류도 sodium saccharin이 검출되지 않았음을 확인하고 사용하였다.

5) GC/MS에 의한 정성확인

Sodium saccharin의 정성확인을 하기 위하여 노 등¹⁰⁾의 방법을 변형하여 투석된 시료용액을 250ml 분액여두에 100ml를 취하여 NaCl 10g, 10% HCl 5ml를 넣은

Table 2. Gas Chromatography with Mass Selective Detector (GC/MSD) analytical conditions.

Parameter	Condition
Instrument	Agilent GC/MSD 5973
Column	HP-5MS 5% phenyl methyl siloxane (0.25mmI.D \times 30m, 0.25 μ m film thickness)
MS quad	150 $^{\circ}$ C
MS source	230 $^{\circ}$ C
Electron energy	70eV
Ion mode	EI
Injector temperature	250 $^{\circ}$ C
Interface temperature	280 $^{\circ}$ C
Column temperature	140 $^{\circ}$ C(3min) \rightarrow 5 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 180 $^{\circ}$ C(3min) \rightarrow 20 $^{\circ}$ C/min \rightarrow 280 $^{\circ}$ C(4min)
Carrier gas (He)	1.0ml/min

후 ethylacetate 50ml를 넣고 20분간 진탕하고 2회 추출하였다. Ethylacetate층을 모아서 감압증발건고 하고 수분이 완전히 제거되면 ethanol 5ml에 녹여 이 중 2ml를 취하여 다시 완전히 건조시켜 acetonitrile 200 μ l로 녹인 후 N,O-bis(trimethyl silyl)trifluoroacetamide(BSTFA) 200 μ l를 넣고 80℃에서 30분간 유도체화 반응을 시켰다. 반응액을 실온으로 식힌 후 GC/MS에 1 μ 씩 injection 하였다.

Sorbic acid는 식품공전의 방법에 따라 투석된 시료 용액을 250ml 분액여두에 100ml 취하고 NaCl 10g, 10% HCl 5ml를 넣은 후 무수 ethyl ether 50ml로 2회 진탕 추출하였다. 추출된 ether를 감압건고 시킨 후 acetone 5ml에 녹여 injection 하였다. GC/MS의 분석 조건은 Table 2와 같다.

결과 및 고찰

1. 검량선 및 회수율

Sodium saccharin의 검량선은 Fig. 1에서 보는 바와 같이 회귀방정식 $Y=68.329X$ 이었고 r 값이 0.9973으로 원점을 통과하는 직선을 나타냈으며 sorbic acid도 회귀방정식 $Y=60.665X$ 이었고 r 값이 0.9955의 직선을 나타내었다.

Mobile phase 2에서 각 시료 유형별로 3가지 농도에서 sodium saccharin의 회수율을 측정하여 본 결과는 Table 3과 같다. 김치류에 stock solution 40mg/L를 가했을 때 41.7mg/L로 나타났고, 120mg/L 가했을 때 93.7mg/L, 200mg/L 가했을 때 163mg/L으로 나타나서 회수율은 각각 111.9%, 78.1%, 81.5%로서 평균

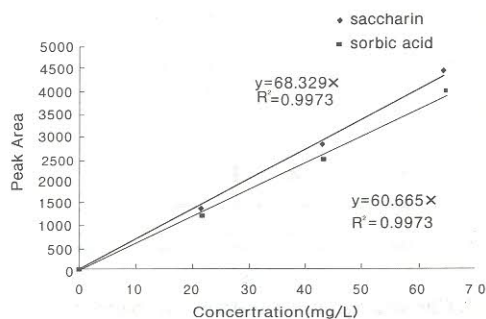


Fig. 1. Calibration curve of sodium saccharin and sorbic acid standard solution.

Table 3. Recovery data of sodium saccharin and sorbic acid in 3 types of foods.

Foods	sodium saccharin			sorbic acid		
	Added mg/L	Found mg/L	Rec. %	Added mg/L	Found mg/L	Rec. %
Kimchi-1	40	41.7	111.9 \pm 1.7	40	44.0	110.0 \pm 2.8
Kimchi-2	120	93.7	78.1 \pm 2.2	120	92.4	77.0 \pm 1.5
Kimchi-3	200	163.0	81.5 \pm 5.0	200	164.1	81.1 \pm 2.2
Mean \pm S.D.			90.5 \pm 2.9			89.7 \pm 2.2
Pickled radish-1	40	44.7	111.6 \pm 2.3	40	44.9	111.6 \pm 1.6
Pickled radish-2	120	100.1	83.4 \pm 4.1	120	113.4	94.5 \pm 1.5
Pickled radish-3	200	165.2	82.6 \pm 6.2	200	134.6	67.3 \pm 4.8
Mean \pm S.D.			92.5 \pm 4.1			91.3 \pm 2.6
Other Pickles-1	40	48.2	120.4 \pm 5.6	40	46.1	115.2 \pm 2.9
Other Pickles-2	120	106.6	88.9 \pm 3.8	120	107.4	89.5 \pm 1.4
Other Pickles-3	200	166.4	83.2 \pm 2.5	200	167.2	83.6 \pm 3.3
Mean \pm S.D.			97.5 \pm 4.0			96.1 \pm 2.5

90.5%이며 표준편차는 2.9이었다. 단무지는 40mg/L 가했을 때 44.7mg/L로 나타났고, 120mg/L 가했을 때 100.1mg/L, 200mg/L 가했을 때 165.2mg/L으로 나타나서 회수율은 각각 111.6%, 83.4%, 82.6%를 나타내어 평균 92.5%이며 표준편차는 4.1이었다. 피클류에서는 40mg/L 가했을 때 48.2mg/L, 120mg/L 가했을 때 106.6mg/L, 200mg/L 가했을 때 166.4mg/L으로 나타나서 회수율이 각각 120.4%, 88.9%, 83.2%를 나타내어 평균 97.5%이었고 표준편차는 4.0으로 나타내어 전체적으로 90.5 \pm 2.9%~97.5 \pm 4.0%로 대체로 양호한 회수율을 얻었다. 김치류의 회수율이 가장 작음을 알 수 있었는데 이는 투석 시 김치중의 발효성분이나 기타 여러 성분에 의한 방해의 결과가 아닌가 생각되었다.

Sorbic acid의 회수율도 Table 3과 같이 김치류에 stock solution 40mg/L 가했을 때 44.0mg/L로 나타났고, 120mg/L 가했을 때 92.4mg/L, 200mg/L 가했을 때 164.1mg/L으로 회수율이 각각 110.0%, 77.0%, 81.1%를 나타내어 평균 89.7%이며 표준편차는 2.2이었다. 단무지는 stock solution 40mg/L 가했을 때 44.9mg/L, 120mg/L 가했을 때 113.4mg/L, 200mg/L 가했을 때 134.6mg/L으로 나타났고 회수율이 각각 111.6%, 94.5%, 67.3%를 나타내어 평균 91.3%이며 표준편차는 2.6이었다. 피클류에서는 stock solution 40mg/L 가했을 때 46.1mg/L, 120mg/L 가했을 때 107.4mg/L, 200mg/L 가했을 때 167.2mg/L으로 나타났

고 회수율은 각각 115.2%, 89.5%, 83.6%를 나타내어 평균 96.1%이고 표준편차는 2.5로 나타내어 전체적으로 $89.7 \pm 2.2\% \sim 96.1 \pm 2.5\%$ 로 대체로 양호한 회수율을 얻었다.

그리고 mobile phase 2에서의 각 성분의 detection limit를 측정해 본 결과 sodium saccharin의 경우 $0.437 \mu\text{g/g}$ 이었고 sorbic acid는 $0.0417 \mu\text{g/g}$ 이었다.

2. 이동상별 sodium saccharin 및 sorbic acid의 분리능

각 용매조건에 따른 시료에서의 sodium saccharin 및 sorbic acid의 함량변화 및 분리도를 알아보기 위해 ① pH4.0로 조정된 30% methanol (in TPA-OH)(mobile phase 1) ② 0.05M H_3PO_4 완충액 (pH6.8) : methanol (9 : 1)용액(mobile phase 2)와 같이 2가지 용매조건으로 실험해본 결과 mobile phase 1조건에서 sodium saccharin standard 및 시료에 대한 chromatogram은 Fig. 2와 같이 방해성분 없이 완전히 분리 할 수 있었으며 retention time은 7.9

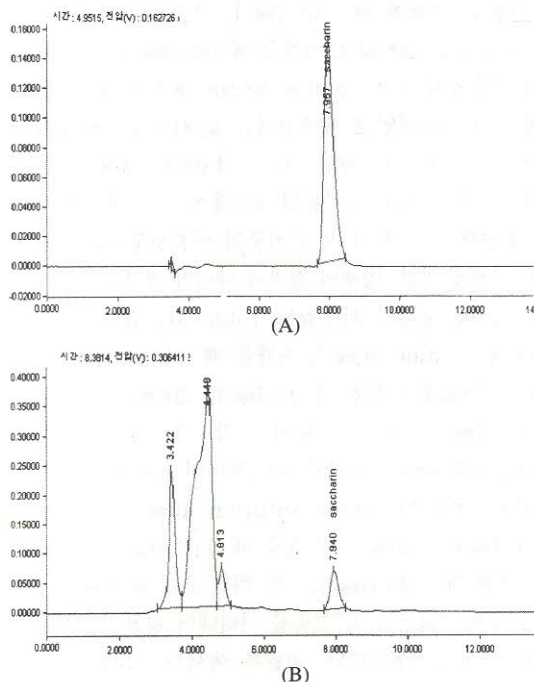


Fig. 2. Chromatogram of sodium saccharin in 30% methanol (in TPA-OH, pH4.0) (A) standard, (B) Sample

분이었고, mobile phase 2조건에서 분석한 결과는 Fig. 3과 같이 sorbic acid와 sodium saccharin이 각각 6.8분과 8.0분에서 분리가 잘 되었다. 공정서에 나와 있는 mobile phase 1 조건에서는 양호하고 빠르게 sodium saccharin이 분석되고 sodium saccharin의 양도 mobile phase 2 보다 많이 검출되었으나 sorbic acid와 동시정량이 불가능하였다. mobile phase 2 조건에서는 sorbic acid와 sodium saccharin의 분리정량이 가능하였지만 똑같은 검체에서 sodium saccharin의 양이 적게 검출되었다. 그 원인에 대해서는 좀더 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

정제방법도 Sep-pak C_{18} 등을 이용한 전처리법 보다 투석 후 바로 $0.45 \mu\text{m}$ cartridge filter로 여과하여 사용한 것이 sodium saccharin의 함량이 가장 높게 나타나 복잡한 전처리 없이 빠르게 정제 할 수 있음을 알 수 있었다.

또한 이 투석법에 의해 sorbic acid의 정량분석을 할

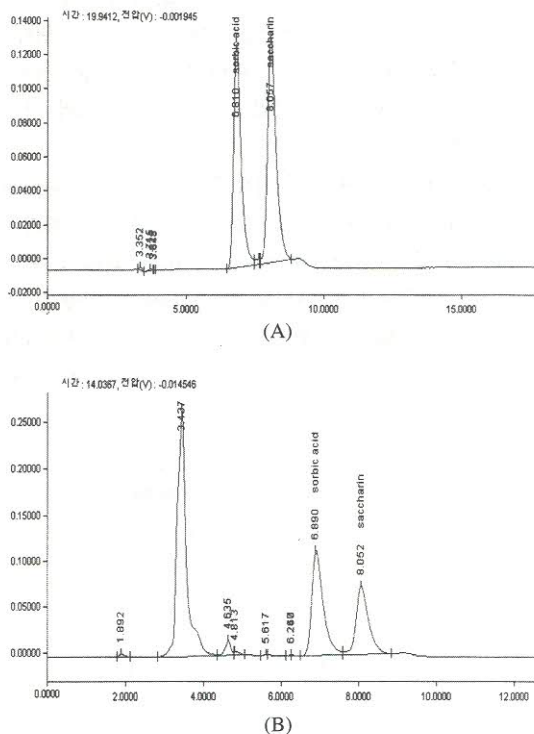


Fig. 3. Chromatogram of sodium saccharin and sorbic acid in 0.05M H_3PO_4 buffer solution (pH 6.8):methanol(9:1). (A) standard, (B) Sample

경우 전처리 방법으로 수증기증류를 할 필요가 없으며 앞으로 saccharin의 규격이 첨가될 경우 동시정량이 가능하다는 점에서 바람직한 방법이라 생각된다.

3. Sodium saccharin 및 sorbic acid의 잔존량

Table 4에서 보는 바와 같이 각 시료에서 sodium saccharin의 검출량은 최대 815.3mg/kg, 최소 N.D.로 검출되었다. 단무지(pickled radish) 28품목 중 26품목에서 sodium saccharin이 검출되었고 2품목에서는 검출되지 않았는데 이 검출되지 않은 시료는 sodium saccharin 대신 stevioside를 사용하였다. Sodium saccharin의 검출량은 N.D~815.3mg/kg으로 거의 고르게 400~600mg/kg의 분포를 보였고 평균값은 389.4mg/kg로 허용치 이하로 나타났다. 절임 장아찌류(other pickles)에서는 16품목 중 13품목에서 검출되었는데 검출량은 N.D~551.1mg/kg으로 나타났고 평균값은 171.1mg/kg로 나타났다. 오이 피클류에서는 한 건도 검출되지 않았고 김치류는 32품목 중 3품목이 검출되었는데 대량 생산 판매하는 제품에는 사용하지 않은 것으로 나타났지만 일부 재래시장에서 판매하는 것 중 깍두기 1건에서 159.4mg/kg의 농도의 sodium saccharin이 검출되었고 극소량이지만 김치 2건에서도 2.2mg/kg, 7.1mg/kg 정도의 양이 있는 것으로 나타났다.

각 시료에서의 평균 saccharin 함량을 비교해 보면 단무지의 saccharin의 함량이 다른 절임식품류에 비해서 2배 이상 많이 함유된 것을 알 수 있다.

단무지의 대부분이 saccharin을 사용했지만 그 중에는 stevioside를 사용한 시료도 있는데 이 stevioside는 현재 선진국에서는 사용이 기피되고 있지만 일본과 한국 등 일부나라에서 사용되고 있는 non-nutritive sweetener 이며 저칼로리 드링크류나 식품등에 사용되고 있

다¹¹⁾. 한국에서는 1984년에 처음으로 stevioside에 대한 규격기준이 마련된 이후로 별다른 제재 없이 사용되고 있다¹²⁾. 김 등¹¹⁾에 의하면 stevioside는 우리나라에서 주류에 대량으로 사용되고 있는 감미료로서 안전성에 대해 최근 문제가 제기되고 있다고 한다. Cyclamate나 saccharin의 경우처럼 발암성의 위험이 높게 나타나지는 않았지만 대표적인 신장독성과 그 대사물질인 steviol등이 돌연변이를 일으킬 수 있는 위험성을 갖고 있는 것으로 나타났다고 하였다. 또한 이 두 물질 이외 감미료 등 식품첨가물에 대하여 안전성을 입증할 수 있는 자료의 확보가 되기 전에는 그 사용을 엄격하게 규제해야 하며 기존의 국내 사용 식품첨가물에 대하여도 안전성 재평가를 실시해야 할 것이라고 한 주장은 필자의 의견과도 일치되는 점이라 하겠다.

절임식품류중 sorbic acid의 함량은 Table 5와 같다. 단무지(pickled radish)에서 28품목 중 26품목에서 검출됐으며 검출량은 N.D~1029.8mg/kg으로 기준을 초과하는 제품이 1품목 있었고 평균값은 472.5mg/kg로 허용치 이하로 나타났다. 절임 장아찌류(other pickles)에서는 16품목 모두에서 검출되어 검출량은 6.8mg/kg~1234.8mg/kg으로 역시 1품목이 기준초과를 나타냈고 평균값은 439.7mg/kg로 단무지와 비슷한 수치를 나타냈다. 김치류에서는 1품목도 검출되지 않아 바람직한 현상이라 생각된다. 수입식품을 포함한 오이 피클류(pickled cucumber)에서도 5품목 중 3품목에서 검출되었고 검출량은 N.D~254.4mg/kg이고 평균 107.6mg/kg로 다른 시료에 비해 적게 나타났는데 이는 식품유형이 식초절임으로 식품공전 규격기준이 낮게 설정되었기 때문인 것으로 보인다.

각 시료에서의 sorbic acid함량의 분포도를 비교해 보면 sorbic acid의 경우 단무지와 기타 절임식품류가 거의 비슷한 분포를 보이고 있지만 단무지에 조금 더 많이

Table 4. Contents of sodium saccharin in tested pickles.

Item	No. of samples	Contents(mg/kg)			No. of samples with detected
		Mean	Max.	Min.	
Pickled radish	28	389.4	815.3	N.D.	26
Other pickles	16	171.1	551.1	N.D.	13
Kimchi	34	56.2	159.4	N.D.	3
Pickled cucumber	5	N.D.	N.D.	N.D.	0

(N.D : Not Detected)

Table 5. Contents of sorbic acid in tested pickles.

Item	No. of samples	Contents(mg/kg)			No. of samples with detected
		Mean	Max.	Min.	
Pickled radish	28	472.5	1029.8	N.D.	26
Other pickles	16	439.7	1234.8	6.8	16
Kimchi	34	N.D.	N.D.	N.D.	0
Pickled cucumber	5	107.6	254.4	N.D.	3

(N.D : Not Detected)

함유되어 있는 것을 알 수 있다.

4. GC/MS에 의한 sodium saccharin 및 sorbic acid의 확인

HPLC에 의해서 정량실험을 거친 후 GC/MS에 의한 정성확인을 하여본 결과 Fig. 4, 5과 같은 chromatogram을 얻었다. Fig. 4와 같이 sorbic acid의 경우 8.8분에서 그 성분을 확인할 수 있었으며 전처리 방법은 식품공전의 보존료 분석시의 GC 전처리 방법에 의해 하였으며 GC/MS에서도 양호한 결과를 얻어 확인이 가능하였다. Fig. 5에서 보는 바와 같이 saccharin의 경우 9.5분에서 성분을 확인할 수 있었다. 노 등¹⁰⁾에 의하면 GC/MS에 의한 saccharin 정량분석 전처리 방법으로 1)methylation 2)acetylation 3)silylation의 세 가지 방법으로 시험해 보았다고 보고하고 있고 이 중 diazomethane에 의한 methylation은 amide form의 N-methylation과 enol form의 O-methylation이 경쟁적으로 생성되어 두 개의 생성물을 형성하므로 정량분석 방법으로는 적합한 유도체화 반응이 되지 못하였고

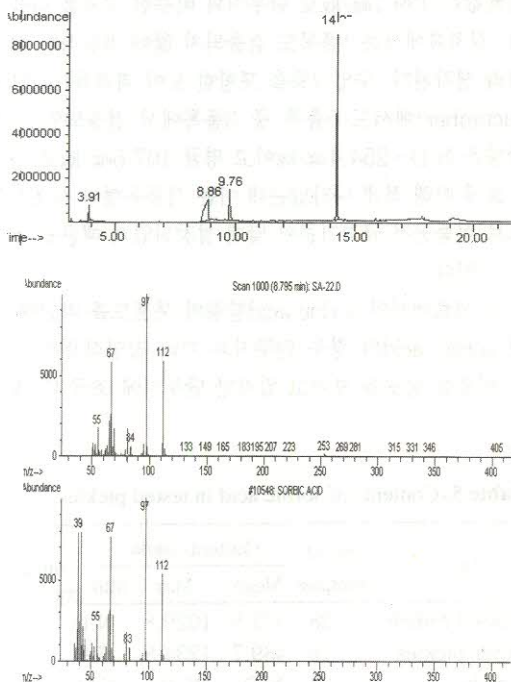


Fig. 4. Total ion Chromatogram and mass spectrum of sorbic acid in sample

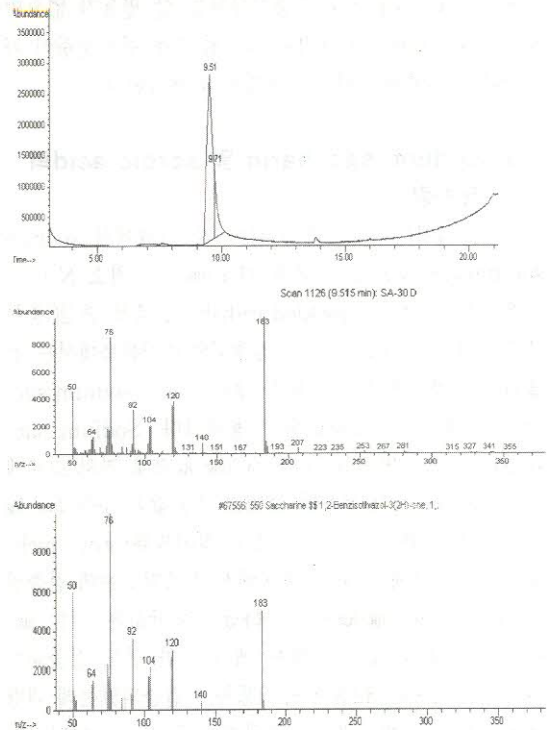


Fig. 5. Total ion Chromatogram and mass spectrum of sodium saccharin in sample

acetylation은 유도체화 반응이 전혀 일어나지 않았다고 하였다. 그래서 O-t-butyl dimethylsilylation의 방법으로 saccharin-O-TBDMS 유도체가 정량적으로 생성되었고 또 다른 방법으로는 치환기의 크기가 methyl group보다 크고 TBDMS group보다 작은 trimethylsilyl(TMS) group으로 치환시킬 수 있는 유도체화 시약으로 O-trimethylation 시켜 saccharin-O-TMS 유도체가 정량적으로 생성되어 정량이 가능하다고 보고하고 있는데 본 실험에서는 N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamide(BSTFA)를 이용하여 유도체화 생성을 해보았고 그 결과 유도체가 생성되어서 saccharin을 확인할 수 있었다. HPLC에 의한 정량방법이 전처리 과정이 쉽고 더 정확하고 회수율도 높아서 HPLC로 정량하였고 GC/MS로 확인할 수 있었다.

결론

시중 유통되고 있는 절임식품류 및 김치류 총 83건에

서의 sodium saccharin 및 sorbic acid의 사용실태를
알아보고 두성분 동시정량의 가능성을 알아보기 위해 실험하여 본 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 이동상 30% methanol (in TPA-OH, pH4.0)에
서는 sodium saccharin만 분석되 었고 0.05M
H₃PO₄ buffer solution (pH 6.8): methanol
(9:1)의 이동상에서는 sodium saccharin 및 sor-
bic acid의 동시분석이 가능하였으나 sodium sac-
charin의 함량이 전자의 이동상에서 보다 적게 나
왔다. Column 은 μ -Bondapak C₁₈(4.6mm ϕ × 25
cm, 5 μ m)을 사용하였고 flow rate는 0.8ml/min,
검출기는 UV 210nm에서 실험하였다.
2. 회수율은 sodium saccharin이 김치에서 90.5 \pm
2.9%, 다른 피클에서 97.5 \pm 4.0% 이었고 sorbic
acid 는 김치에서 89.7 \pm 2.2%, 다른 피클에서
96.1 \pm 2.5%로 양호 하게 나타났다.
3. Sodium saccharin의 함량은 단무지에서 최소
N.D~최대 815.3mg/kg, 절임장아찌류에서 N.D~
551.1mg/kg, 김치류에서 N.D~159.4mg/kg이 검출
되고 오이피클에서는 검출되지 않았다. Sorbic
acid의 함량은 단무지에서 N.D~1029.8mg/kg으
로 기준을 초과하는 제품이 1건 있었고, 절임장아
찌류에서는 6.8mg/kg~1234.8mg/kg 으로 역시 1
건이 기준초과이었고 단무지와 비슷한 함량을 나
타냈다. 김치류에서는 1건도 검출되지 않았고, 오
이 피클류에서는 N.D~254.4mg/kg로 나타났다.
4. 10분 이내에 두 성분이 검출되었으며 sodium
saccharin은 6.8분에서 분리되고 sorbic acid는
8.0분에서 방해성분 없이 양호하게 분리되었다.
5. GC/MS에 의한 정성확인 결과 sorbic acid는 공전
방법에 따른 GC 전처리방법에 의해 확인가능 하였
고, sodium saccharin은 N,O-bis(trimethylsi-
lyl)trifluoro-acetamide(BSTFA)를 이용하여 유
도체화로 시료중의 확인이 가능하였다.

참 고 문 헌

1. Oser, B. L. : Highlights in the history of sac-
charin toxicology. Food Chem. Toxicol., 23:
535 (1985)

2. Ellwein, L.B. and Cohen, S.M.: The health
risks of saccharin revisited. Crit.Rev. Toxicol.,
20: 311 (1990)
3. Shoeing, G.P., Goldenthal, E.I., Geil, R.G.,
Frith, C.H., Richter, W.R. and Carlbong,
F.W. : Evaluation of the dose response and in
utero exposure to saccharin in rat. Food.
Chem. Toxicol., 23: 475 (1985)
4. 식품의약품 안전청: 식품공전, p595 (2000)
5. Holak, W. and Krinitz, B.: Differential pulse
polarographic determination of saccharin in
foods. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 63: 163
(1980)
6. Ramappa, P.G. and Nayak, A.N. : Rapid
spectrophotometric determination of saccharin
in soft drinks and pharmaceuticals using
Azure B as reagents. Analyst., 109: 969
(1983)
7. The Nordic Committee on food Analysis,
Progress Report, Method No. 102 :
Detection of saccharin, cyclamate, and dulcine
in soft drinks. Z. Lebensm. Unters. Forsch.,
197: 453 (1984)
8. Larsson, B.K.: Gas-Liquid Chromatographic
Determination of Benzoic acid and Sorbic acid
in foods. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 66: 775
(1983)
9. Bui, L.V. and Cooper, C.: Reversed-phase
liquid chromatographic determina -tion of ben-
zoic acid and sorbic acids, J. Assoc. Off. Anal.
Chem., 70: 892(1987)
10. 노동석, 김승기, 이정애, 정현숙, 유보경, 박종세 :
GC/MS를 이용한 식품중 saccharin의 분석에 관한
연구. J. Fd. Hyg. Safety, 10(4): 239 (1995)
11. 김현익, 이병무 : 천연감미료 스테비오사이드 : 안전
한가?. J. Fd. Hys. Safety, 11(4): 323 (1996)
12. 보건사회부고시 제84-59호 (1984)
13. 박세미, 이서래 : 한국인의 삭카린 섭취량 산정.
Korean J. Food Sci. Technol., 24(6): 563
(1992)