

카라멜색소

Caramel Color

INS No.: 150a(I), 150b(II),
150c(III),
150d(IV)

이 명: (I) Plain caramel; Caustic caramel
(II) Caustic sulfite caramel
(III) Ammonia caramel
(IV) Sulfite ammonia caramel

CAS No.: 8028-89-5

정의 이 품목에는 카라멜색소 I, 카라멜색소 II, 카라멜색소 III, 카라멜색소 IV가 있다. 각각의 정의는 다음과 같다.

카라멜색소 I : 식용 탄수화물인 전분가수분해물, 당밀 또는 당류를 열처리하거나 또는 암모니아화합물과 아황산화합물을 제거한 산 또는 알칼리를 가해주고 열처리하여 얻어지는 것으로서 아황산화합물 및 암모늄화합물을 사용하지 않은 것이다.

카라멜색소 II : 식용 탄수화물인 전분가수분해물, 당밀 또는 당류에 아황산화합물을 가해주고, 암모늄화합물을 제거한 산 또는 알칼리를 가해주거나 가해주지 않고 열처리하여 얻어지는 것으로서 암모늄화합물을 사용하지 않은 것이다.

카라멜색소 III : 식용 탄수화물인 전분가수분해물, 당밀 또는 당류에 암모늄화합물을 가해주고, 아황산화합물을 제거한 산 또는 알칼리를 가해주거나 가해주지 않고 열처리하여 얻어지는 것으로서 아황산화합물을 사용하지 않은 것이다.

카라멜색소 IV : 식용 탄수화물인 전분가수분해물, 당밀 또는 당류에

아황산화합물과 암모늄화합물을 가해주고, 산 또는 알칼리를 가해주거나 가해주지 않고 열처리하여 얻어지는 것이다.

성 상 이 품목은 암갈~흑색의 분말, 덩어리, 페이스트 또는 액체로 냄새가 없거나 또는 약간 특이한 냄새가 있고, 맛은 없거나 약간 특이한 맛이 있다.

확인시험 (1) 이 품목의 수용액(1→100)은 옅은 갈~흑갈색을 나타낸다.

(2) 미리 측정된 흡광도가 약 0.5가 되도록 이 품목을 달아 0.025N 염산을 가하여 100mL로 하고 필요하면 원심분리를 하여 상등액을 A액으로 한다. A액 20mL을 취한 다음 디에틸아미노에틸셀룰로스 음이온교환수지(DEAE cellulose) 0.2g을 가하여 잘 흔들어 섞은 후 원심분리하고 상등액을 취하여 B액으로 한다. A액 및 B액은 0.025N 염산을 대조액으로 하여 액층길이 1cm, 파장 560nm에서 흡광도 A_A 및 A_B 를 측정할 때, $(A_A - A_B)/A_A$ 의 값은, 카라멜색소 I은 0.75 이하, 카라멜색소 II 및 카라멜색소 IV는 0.5 이상, 카라멜색소 III는 0.5 이하이어야 한다.

(3) (카라멜색소 I, 카라멜색소 III의 경우에만 적용한다) 이 품목 0.2~0.3g을 달아 0.025N 염산을 가하여 100mL로 하고 필요하면 원심분리를 하여 상등액을 C액으로 한다. C액 40mL을 취한 다음 인산화셀룰로스 양이온교환수지(phosphoryl cellulose) 2.0g을 가하여 잘 흔들어 섞은 후 원심분리하고 상등액을 취하여 D액으로 한다. C액 및 D액은 0.025N 염산을 대조액으로 하여 액층길이 1cm, 파장 560nm에서 흡광도 A_C 및

A_D 를 측정할 때 $(A_C - A_D)/A_C$ 의 값은, 카라멜색소 I은 0.5 이하, 카라멜색소 III은 0.5 이상이어야 한다.

(4) (카라멜색소 II, 카라멜색소 IV의 경우에만 적용한다) 이 품목 0.1g을 달아 물을 가하여 100mL로 하고 필요하면 원심분리를 하여 상등액을 A액으로 한다. A액 5mL을 정확히 취한 다음 물을 가하여 100mL로 하고 B액으로 한다. A액은 물을 대조액으로 하여 액층길이 1cm, 파장 560nm에서 흡광도 A_A 를, 또는 B액은 물을 대조액으로 하여 액층길이 1cm, 파장 280nm에서 흡광도 A_B 를 각각 측정할 때, $A_B \times 20/A_A$ 값은, 카라멜색소 II는 50 이상, 카라멜색소 IV는 50 이하이어야 한다.

순도시험 (1) 비소 : 이 품목을 비소시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.3ppm 이하이어야 한다.

(2) 납 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 2.0ppm 이하이어야 한다.

(3) 카드뮴 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.0ppm 이하이어야 한다.

(4) 수은 : 이 품목을 수은시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 0.1ppm 이하이어야 한다.

(5) 색가 : 이 품목 100mg을 정밀히 달아 물을 가하여 100mL로 한 것을 시험용액으로 한다. 필요하면 원심분리하여 그 상등액을 사용한다. 물을 대조액으로 하여 액층 1cm, 파장 610nm에서 시험용액의 흡광도 A 를 측정하여 다음 계산식에 따라 고형분으로 환산하여 색가를 구할 때,

그 양은 0.01~0.6 이어야한다.

$$\text{색가} = \frac{A_{610} \times 100}{\text{고형분함량(\%)}}$$

※ 고형분함량

① 검체가 액체인 경우 : 칭량병에 정제석영사 30g과 유리봉을 넣고 50mmHg 감압하에서 60℃로 항량이 될 때까지 건조한 다음 검체 1.5~2.0g을 정밀히 달아 앞의 칭량병에 넣고 잘 섞은 후 항량이 될 때까지 건조하고 다음 계산식에 따라 고형분 함량(%)을 구한다. 다만, 정제석영사(fine quartzsand)는 No. 40의 체는 통과되나, No. 60의 체는 통과되지 않는 크기의 석영사에 염산을 가하여 분해시킨 후 산성을 나타내지 않을 때까지 씻어주고 건조시킨 다음 강열한 것을 사용한다.

$$\frac{(\text{건조 후 석영사와 검체의 무게(g)} - \text{석영사 무게}) \times 100}{\text{검체의 채취량(g)}}$$

② 검체가 분말 또는 과립인 경우 : 강열감량시험법에 따라 시험하고 50mmHg 감압하에서 60℃로 항량이 될 때까지 건조한 후 다음 계산식에 따라 고형분 함량(%)을 구한다.

$$\frac{(\text{건조 후 자제도가니와 검체의 무게(g)} - \text{자제도가니 무게(g)})}{(\text{건조 전 자제도가니와 검체의 무게(g)} - \text{자제도가니 무게(g)})} \times 100$$

※ 색가 0.1인 제품 기준 불순물 계산

각 성분규격에 따라 시험하여 구한 각 불순물(총질소, 총황, 암모니아

성질소, 이산화황, 4-메틸이미다졸, 2-아세틸-4-테트라히드록시부틸이미다졸)은 고형분으로 환산한 Cs를 구하고 다시 색가 0.1인 제품을 기준으로 하기 위해 다음 계산식에 따라 각 불순물의 양을 구한다.

$$\frac{Cs \times 0.1}{\text{색가}}$$

$$Cs : \frac{\text{각 불순물의 양} \times 100}{\text{고형분함량(\%)}}$$

(6) 총질소 : 이 품목을 질소정량법에 따라 시험할 때, 그 양은 3.3% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

(7) 총황 : 산화마그네슘 1~3g 또는 초산마그네슘 6.4~19.2g, 설탕 1g 및 질산 50mL을 증발접시에 취한 다음 이 품목 5~10g을 정밀히 달아 가해 주고 수욕상에서 페이스트상이 될 때까지 농축한다. 회화로에 증발접시를 넣고 서서히 가열(525℃이하)하여 이산화질소 연기가 발생되지 않을 때까지 가열하고, 증발접시를 식힌 후 이에 염산(1→2.5)을 가해 용해하고, 중화시킨 후 다시 5mL을 더 가해주고, 여과한 다음 끓을 때까지 가열한다. 이어서 10% 염화바륨용액 5mL을 한 방울씩 떨어뜨리면서 가해주고, 100mL가 될 때까지 농축한 다음 하룻밤 방치한다. 이를 여과지(5C 또는 이와 동등한 것)를 이용하여 여과하고, 여지 및 잔류물을 미리 무게를 달아 둔 도가니에 넣고 항량이 될 때까지 강열하여 황산바륨으로서 무게를 측정한다. 다음 계산식에 따라 총황의 양을 구할 때, 그 양은 3.5% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함). 따로 공시험을 행한다.

$$\text{총황(\%)} = \frac{\text{황산바륨의 양(g)} \times 0.1374}{\text{검체의 채취량(g)}} \times 100$$

(8) 암모니아성질소(카라멜색소 III, 카라멜색소 IV의 경우에만 적용한다) : 0.1N 황산 25mL을 500mL 포집용플라스크에 넣고 킬달증류장치를 연결하여 냉각관 끝이 포집용플라스크의 황산에 잠기게 한다. 따로, 이 품목 약 2g을 정밀히 달아 800mL 킬달분해플라스크에 넣고 산화마그네슘 2g, 물 200mL 및 비등석을 가해준 분해플라스크를 잘 흔들어 내용물을 혼합한 후 빠르게 증류장치에 접속한다. 분해플라스크를 액이 비등할 때까지 가열하고 포집용플라스크에 유출액 약 100mL을 받고 냉각관의 끝은 물 2~3mL로 씻어 이를 합해 주고 메틸레드시액 4~5방울을 가하고 0.1N 수산화나트륨용액으로 적정하여 이의 소비량을 S라 한다. 별도의 공시험을 하여 이의 소비량을 B로 한다. 다음 계산식에 따라 계산할 때, 그 양은 0.6% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

$$\text{암모니아성질소의 함량(\%)} = \frac{(B - S) \times 0.0014 \times 100}{\text{검체의 채취량(g)}}$$

(9) 이산화황 (카라멜색소 II, 카라멜색소 IV의 경우에만 적용한다) : 다음 그림의 장치를 사용한다.

A : 호스연결부

B : 분액깔때기(100 mL 또는 그 이상 용량)

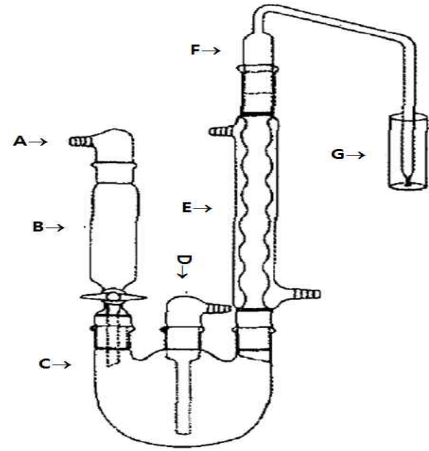
C : 둥근바닥플라스크

D : 가스 주입관

E : 아린냉각관(300)

F : 가스 유도관(Bubbler)

G : 플라스크(안지름 25, 깊이 150)



플라스크(C)에 물 400 mL을 넣고 분액깔때기 (B)코크를 잠그고 4 N 염산용액 90 mL을 넣어둔다. 냉각기(E)에 물을 공급한 다음, 가스주입관(D)을 통하여 질소가스를 0.21 L/min속도로 통과시키고, 이때 플라스크(G)에 3% 과산화수소용액 30 mL을 넣는다.

15분 후 분액깔때기(B)를 떼고 검체 25 ~ 50 g을 취해 분쇄기나 균질기에 넣고 5% 에탄올용액 100 mL을 넣어 혼합하여 플라스크(C)에 넣은 다음 분액깔때기(B)를 부착한 후 코크를 열어 수 mL가 남을 때까지 플라스크(C)에 주입한다.

1시간 45분 동안 가열한 후, 플라스크(G)를 떼고 (F)끝을 소량의 3% 과산화수소용액으로 씻어 플라스크에 넣고 마이크로뷰렛을 써서 0.01 N 수산화나트륨용액으로 20초간 지속하는 황색이 될 때까지 적정하여 아래의 공식에 따라 이산화황의 양을 산출한다(다만, 10 mg/kg 미만은 불검출로 한다).

앞의 시험방법에 따라 시험하고, 얻어진 수산화나트륨의 소비량으로부터 다음 계산식에 따라 이산화황의 양을 구할 때, 그 양은 0.2%

이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

$$\text{이산화황(mg/kg)} = \frac{320 \times V \times f}{S}$$

V : 0.01 N 수산화나트륨용액의 소비량(mL)

f : 0.01 N 수산화나트륨용액의 역가

S : 검체의 채취량(g)

(0.01 N 수산화나트륨액 1 mL=320 µg SO₂)

시약 및 시액

메틸레드시약 : 메틸레드 250 mg을 에탄올에 녹여 전량을 100 mL로 한다.

3% 과산화수소용액 : 30% 과산화수소 10 mL에 증류수를 넣어 전량을 100 mL로 하고 메틸레드시액 3방울을 넣은 후 0.01 N 수산화나트륨용액을 넣어 옅은 황색이 되도록 한다(쓸 때에 만든다).

(10) 4-메틸이미다졸(카라멜색소 III, 카라멜색소 IV의 경우에만 적용한다) : 이 품목 10g을 취하여 150mL 폴리프로필렌 비이커에 넣고 3N 수산화나트륨용액 5mL을 가해주고 균일하게 혼합하여 pH 12 이상으로 한다. 비이커에 크로마토그래피용 규조토(Johns-Manville Celite 545 또는 이와 동등한 것) 20g을 넣어 내용물이 반건조의 혼합물이 될 때까지 혼합하고 이를 유리섬유를 바닥에 막은 내경 약 2cm의 크로마토그래피용 유리관(테프론제 콕크 포함)에 넣어 내용물이 약 25cm의 높이가 되도록 충전한다. 초산에틸로 이전 시료 비이커를 세정하면서 초산에틸을 유리관에 흘려준다. 용매가 유리관의 바닥에 도달할 때, 콕크를 잠그고 5

분간 방치한다. 코르크를 열어 유리관에 초산에틸을 주입하고 유출액의 총량이 약 200mL가 될 때까지 유출액을 모은다. 유출액에 내부표준용액 1mL을 정확하게 가해준 후 플라스크에 옮겨주고 초산에틸을 35℃이하에서 농축한다. 잔류물에 아세톤을 가하여 녹이고 정확히 5mL로 한 액을 시험용액으로 한다. 따로, 4-메틸이미다졸을 0.02g, 0.06g, 0.1g, 0.2g을 각각 정밀하게 달고 이에 내부표준용액 20mL씩 정확하게 가해주고 아세톤을 가하여 100mL씩으로 한 액을 각 표준용액으로 한다. 다만, 내부표준용액은 2-메틸이미다졸 0.05g에 초산에틸을 가하여 정확히 50mL로 한 액을 사용한다. 시험용액 및 각 표준용액을 5 μ L씩 취하여 다음의 조작조건으로 기체크로마토그래피를 행하고 각 표준용액의 피크면적을 측정하여 검량선을 작성한다. 시험용액의 피크면적을 측정하고 검량선을 이용하여 그 양을 구할 때, 250mg/kg 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

조작조건

검출기 : 수소염이온화검출기(FID)

칼럼 : HP-FFAP(25m \times 320 μ m \times 0.25 μ m) 또는 이와 동등한 것

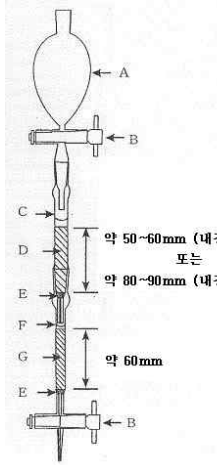
칼럼 온도 : 150℃에서 2분간 유지한 후 분당 10℃의 비율로 200℃까지 승온시킨다.

주입구온도 : 200℃

검출기온도 : 250℃

캐리어가스 : 질소 또는 헬륨

(11) 2-아세틸-4-테트라히드록시부틸이미다졸(카라멜색소 III의 경우에
만 적용한다) : 장치는 다음 그림의 장치를 사용한다.



- A : 분액여두 (100mL)
- B : 테프론제 콕크
- C : 유리칼럼 내경 12.5mm, 길이 150mm (접속부분 포함) 또는 내경 10mm, 길이 200mm (접속부분 포함)
- D : 약산성양이온 교환수지 (미립)
- E : 슝
- F : 유리칼럼 내경 10mm, 길이 175mm (접속부분 포함)
- G : 강산성양이온 교환수지 (미립)

이 품목 0.20~0.25g을 정밀히 달아 물 3mL을 가해 녹인 액을 칼럼 C와 칼럼 F의 조합칼럼의 윗쪽칼럼인 C에 옮겨주고 물 약 100mL로 세정한다. 이어서 칼럼 C를 분리하고 분액여두 A를 아랫쪽칼럼인 F에 접속한 다음 칼럼 F를 0.5N 염산으로 용출한다. 최초의 용출액 10mL는 버리고 그 이후의 용출액 35mL을 모아 40℃, 15mmHg에서 건조상태가 될 때까지 농축한다. 이 시럽상의 잔류물을 카르보닐기를 제거한 메탄올 250μL로 용해시키고 2,4-디니트로페닐히드라진염산염시액 250μL를 가해주고, 이 반응혼합물은 마개가 있는 유리병에 옮겨주고 실온에서 5시간 보관한 다음 시험용액으로 한다. 따로 2,4-디니트로페닐히드라진 0.5g에 염산 1mL을 가하여 교반시킨 후 에탄올 10mL을 가해주고 수욕상에서 용액이 될 때까지 가열하고, 뜨거운 용액에 2-아세틸-4-테트라히드록시부틸이미다졸(THI) 0.1g을 가해준다. 수 분 내에 2-아세틸-4-테트라히드

록시부틸이미다졸-2,4-디니트로페닐히드라존(THI-DNPH)의 결정화가 시작되어 실온이 될 때까지 냉각하여 결정화가 완전하게 되면 소량의 에탄올을 가하여 현탁시킨 후 여과분리한다. 결정화된 THI-DNPH는 에탄올 5mL당 염산 1방울을 넣은 에탄올로 재결정화하여 정제하고, 정제한 결정은 다시 소량의 에탄올을 가하여 현탁시킨 후 여과분리하여 데시케이터 중에서 건조한다. 이를 약 0.01g을 정밀히 달아 카르보닐기를 제거한 메탄올을 가하여 100mL로 하고, 다시 이액을 카르보닐기를 제거한 메탄올로 희석하여 표준용액(각 액 1mL는 0, 20, 40, 60, 80, 100 μ g 함유)을 조제한다. 시험용액 및 각 표준용액을 5 μ L씩 취하여 다음의 조작조건으로 액체 크로마토그래피를 행하고 각 표준용액의 피크면적을 측정하여 검량선을 작성한다. 시험용액의 피크면적을 측정하고 검량선을 이용하여 그 양을 구할 때, 25mg/kg 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함). 다만, THI-DNPH 100 μ g/mL은 THI 47.58 μ g/mL에 상당한다.

조작조건

검출기 : UV 385nm
칼럼 : Capcell pak C₁₈(5 μ m, 4.6 mm \times 250mm) 또는 이와 동등한 것
칼럼온도 : 상온
이동상 : 메탄올 : 0.1M 인산(H₃PO₄) (50 : 50)
유속 : 1.0mL/min

시액

2,4-디니트로페닐히드라진염산염시액 : 100mL의 삼각플라스크에 염산 10mL을 넣고 이에 2,4-디니트로페닐히드라진

(2,4-dinitrophenylhydrazine) 5g을 가해주고 유리염기(적색)가 염산염(황색)으로 변환할 때까지 조용히 흔들며 섞고 에탄올 100mL을 가해주고 수욕상에서 가열용해한다. 방냉하고 실온에서 결정화된 후 여과하여 염산염을 제거하고, 에테르로 세정한다. 실온에서 건조시킨 후 데시케이터 중에서 보관하고, 이를 2,4-디니트로페닐히드라진염산염시약(2,4-dinitrophenyl hydrazine hydrochloride)으로 한다. 보관 중에 염산염이 서서히 유리염기로 변환하나, 유리염기는 1,2-디메톡시에탄(1,2-dimethoxyethane)으로 세정에 의해 제거할 수 있다. 5% 메탄올을 함유한 1,2-디메톡시에탄 15mL에 2,4-디니트로페닐히드라진염산염시약 0.5g을 가하여 녹여주고 냉장고에서 보관한다.

카르보닐기를 제거한 메탄올 : 메탄올 500mL에 지라드시약 P(Girard P reagent) 5g과 염산 0.2mL을 가해주고 환류냉각기를 부착한 다음 2시간 증류한 액을 유리병에 밀봉하여 보관한다.

<식약처 고시 제2021-94호, 2021.11.19.> [시행일 2023.1.1.]

카라멜색소

Caramel Color

INS No.: 150a(I), 150b(II),
150c(III),
150d(IV)

이 명: (I) Plain caramel; Caustic caramel
(II) Caustic sulfite caramel
~~(III) Ammonia caramel~~
(IV) Sulfite ammonia caramel

CAS No.: 8028-89-5

~~정 의 이 품목에는 카라멜색소 I, 카라멜색소 II, 카라멜색소 III, 카라멜색소 IV가 있다. 각각의 정의는 다음과 같다.~~

~~카라멜색소 I : 식용 탄수화물인 전분기수분해물, 당밀 또는 당류를 열처리하거나 또는 암모니아화합물과 아황산화합물을 제거한 산 또는 알칼리를 가해주고 열처리하여 얻어지는 것으로서 아황산화합물 및 암모늄화합물을 사용하지 않은 것이다.~~

~~카라멜색소 II : 식용 탄수화물인 전분기수분해물, 당밀 또는 당류에 아황산화합물을 가해주고, 암모늄화합물을 제거한 산 또는 알칼리를 가해주거나 가해주지 않고 열처리하여 얻어지는 것으로서 암모늄화합물을 사용하지 않은 것이다.~~

~~카라멜색소 III : 식용 탄수화물인 전분기수분해물, 당밀 또는 당류에 암모늄화합물을 가해주고, 아황산화합물을 제거한 산 또는 알칼리를 가해주거나 가해주지 않고 열처리하여 얻어지는 것으로서 아황산화합물을 사용하지 않은 것이다.~~

~~카라멜색소 IV : 식용 탄수화물인 전분기수분해물, 당밀 또는 당류에 아황산화합물과 암모늄화합물을 가해주고, 산 또는 알칼리를 가해주거나 가해주지 않고 열처리하여 얻어지는 것이다.~~

~~성상 이 품목은 암갈~흑색의 분말, 덩어리, 페이스트 또는 액체로 냄새가 없거나 또는 약간 특이한 냄새가 있고, 맛은 없거나 약간 특이한 맛이 있다.~~

~~확인시험 (1) 이 품목의 수용액(1→100)은 옅은 갈~흑갈색을 나타낸다.~~

~~(2) 미리 측정된 흡광도가 약 0.5가 되도록 이 품목을 달아 0.025N 염산을 가하여 100mL로 하고 필요하면 원심분리를 하여 상등액을 A액으로 한다. A액 20mL을 취한 다음 디에틸아미노에틸셀룰로스 음이온교환수지(DEAE cellulose) 0.2g을 가하여 잘 흔들어 섞은 후 원심분리하고 상등액을 취하여 B액으로 한다. A액 및 B액은 0.025N 염산을 대조액으로 하여 액층길이 1cm, 파장 560nm에서 흡광도 A_A 및 A_B 를 측정할 때, $(A_A - A_B)/A_A$ 의 값은, 카라멜색소 I은 0.75 이하, 카라멜색소 II 및 카라멜색소 IV는 0.5 이상, 카라멜색소 III는 0.5 이하이어야 한다.~~

~~(3) (카라멜색소 I, 카라멜색소 III의 경우에만 적용한다) 이 품목 0.2~0.3g을 달아 0.025N 염산을 가하여 100mL로 하고 필요하면 원심분리를 하여 상등액을 C액으로 한다. C액 40mL을 취한 다음 인산화셀룰로스 양이온교환수지(phosphoryl cellulose) 2.0g을 가하여 잘 흔들어 섞은 후 원심분리하고 상등액을 취하여 D액으로 한다. C액 및 D액은 0.025N 염산을 대조액으로 하여 액층길이 1cm, 파장 560nm에서 흡광도 A_C 및 A_D 를 측정할 때 $(A_C - A_D)/A_C$ 의 값은, 카라멜색소 I은 0.5 이하, 카라멜색소 III은 0.5 이상이어야 한다.~~

~~(4) (카라멜색소 II, 카라멜색소 IV의 경우에만 적용한다) 이 품목 0.1g을 달아 물을 가하여 100mL로 하고 필요하면 원심분리를 하여 상등액을 A액으로 한다. A액 5mL을 정확히 취한 다음 물을 가하여 100mL로 하고 B액으로 한다. A액은 물을 대조액으로 하여 액층길이 1cm, 파장 560nm에서 흡광도 A_A 를, 또는 B액은 물을 대조액으로 하여 액층길이 1cm, 파장 280nm에서 흡광도 A_B 를 각각 측정할 때, $A_B \times 20/A_A$ 값은, 카라멜색소 II는 50 이상, 카라멜색소 IV는 50 이하이어야 한다.~~

~~순도시험 (1) 비소 : 이 품목을 비소시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.3ppm 이하이어야 한다.~~

~~(2) 납 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 2.0ppm 이하이어야 한다.~~

~~(3) 카드뮴 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.0ppm 이하이어야 한다.~~

~~(4) 수은 : 이 품목을 수은시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 0.1ppm 이하이어야 한다.~~

~~(5) 색가 : 이 품목 100mg을 정밀히 달아 물을 가하여 100mL로 한 것을 시험용액으로 한다. 필요하면 원심분리하여 그 상등액을 사용한다. 물을 대조액으로 하여 액층 1cm, 파장 610nm에서 시험용액의 흡광도 A 를 측정하여 다음 계산식에 따라 고형분으로 환산하여 색가를 구할 때, 그 양은 0.01~0.6 이어야한다.~~

$$\text{색가} = \frac{A_{610} \times 100}{\text{고형분함량(\%)}}$$

※ ~~고형분함량~~

① ~~검체가 액체인 경우 : 칭량병에 정제석영사 30g과 유리봉을 넣고 50mmHg 감압하에서 60℃로 항량이 될 때까지 건조한 다음 검체 1.5~2.0g을 정밀히 달아 앞의 칭량병에 넣고 잘 섞은 후 항량이 될 때까지 건조하고 다음 계산식에 따라 고형분 함량(%)을 구한다. 다만, 정제석영사(fine quartzsand)는 No. 40의 체는 통과되나, No. 60의 체는 통과되지 않는 크기의 석영사에 염산을 가하여 분해시킨 후 산성을 나타내지 않을 때까지 씻어주고 건조시킨 다음 강열한 것을 사용한다.~~

$$\frac{(\text{건조 후 석영사와 검체의 무게(g)} - \text{석영사 무게}) \times 100}{\text{검체의 채취량(g)}}$$

② ~~검체가 분말 또는 과립인 경우 : 강열감량시험법에 따라 시험하고 50mmHg 감압하에서 60℃로 항량이 될 때까지 건조한 후 다음 계산식에 따라 고형분 함량(%)을 구한다.~~

$$\frac{(\text{건조 후 자제도가니와 검체의 무게(g)} - \text{자제도가니 무게(g)})}{(\text{건조 전 자제도가니와 검체의 무게(g)} - \text{자제도가니 무게(g)})} \times 100$$

※ ~~색가 0.1인 제품 기준 불순물 계산~~

~~각 성분규격에 따라 시험하여 구한 각 불순물(총질소, 총황, 암모니아성질소, 아산화황, 4-메틸아미타졸, 2-아세틸-4-테트라히드록사부탈~~

~~어미티졸)은 고품분으로 환산한 Cs를 구하고 다시 색가 0.1인 제품을 기준으로 하기 위해 다음 계산식에 따라 각 불순물의 양을 구한다.~~

$$\frac{Cs \times 0.1}{\text{색가}}$$

$$Cs : \frac{\text{각 불순물의 양} \times 100}{\text{고형분함량(\%)}}$$

~~(6) 총질소 : 이 품목을 질소정량법에 따라 시험할 때, 그 양은 3.3% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).~~

~~(7) 총황 : 산화마크네슘 1~3g 또는 초산마크네슘 6.4~19.2g, 설탕 1g 및 질산 50mL을 증발접시에 취한 다음 이 품목 5~10g을 정밀히 달아 가해 주고 수욕상에서 페이스트상이 될 때까지 농축한다. 회화로에 증발접시를 넣고 서서히 가열(525℃이하)하여 이산화질소 연기가 발생되지 않을 때까지 가열하고, 증발접시를 식힌 후 이에 염산(1→2.5)을 가해 용해하고, 중화시킨 후 다시 5mL을 더 가해주고, 여과한 다음 끓을 때까지 가열한다. 이어서 10% 염화바륨용액 5mL을 한 방울씩 떨어뜨리면서 가해주고, 100mL가 될 때까지 농축한 다음 하룻밤 방치한다. 이를 여과지(5C 또는 이와 동등한 것)를 이용하여 여과하고, 여과 및 잔류물을 떠러 무게를 달아 둔 도가니에 넣고 항량이 될 때까지 강열하여 황산바륨으로서 무게를 측정한다. 다음 계산식에 따라 총황의 양을 구할 때, 그 양은 3.5% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함). 따로 공시험을 행한다.~~

$$\text{총황(\%)} = \frac{\text{황산바륨의 양(g)} \times 0.1374}{\text{검체의 채취량(g)}} \times 100$$

~~(8) 암모니아성질소(카라멜색소 III, 카라멜색소 IV의 경우에만 적용한다) : 0.1N 황산 25mL을 500mL 포집용플라스크에 넣고 킬달증류장치를 연결하여 냉각관 끝이 포집용플라스크의 황산에 잠기게 한다. 따로, 이 품목 약 2g을 정밀히 달아 800mL 킬달분해플라스크에 넣고 산화마크네슘 2g, 물 200mL 및 비등석을 가해진 분해플라스크를 잘 흔들어 내용물을 혼합한 후 빠르게 증류장치에 접속한다. 분해플라스크를 액이 비등할 때까지 가열하고 포집용플라스크에 유출액 약 100mL을 받고 냉각관의 끝은 물 2~3mL로 씻어 이를 합해 주고 메틸레드시액 4~5방울을 가하고 0.1N 수산화나트륨용액으로 적정하여 이의 소비량을 S라 한다. 별도의 공시험을 하여 이의 소비량을 B로 한다. 다음 계산식에 따라 계산할 때, 그 양은 0.6% 이하이어야 한다(색기 0.1인 제품을 기준으로 함).~~

$$\text{암모니아성질소의 함량(\%)} = \frac{(B - S) \times 0.0014 \times 100}{\text{검체의 채취량(g)}}$$

~~(9) 아산화황 (카라멜색소 II, 카라멜색소 IV의 경우에만 적용한다) : 다음 그림의 장치를 사용한다.~~

A : 호스연결부

B : 분액깔때기(100 mL 또는 그 이상 용량)

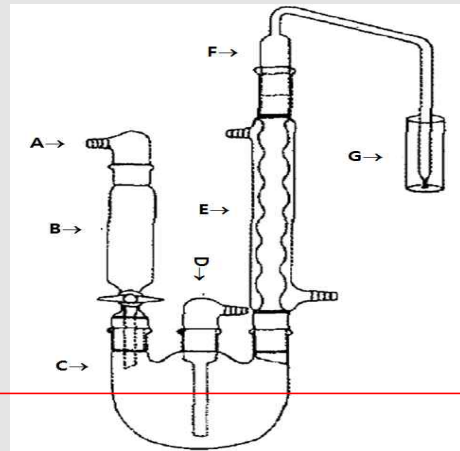
C : 둥근바닥플라스크

D : 가스 주입관

E : 아린냉각관(300)

F : 가스 유도관(Bubbler)

G : 플라스크(안지름 25, 깊이 150)



~~플라스크(C)에 물 400 mL을 넣고 분액깔때기 (B)코크를 잠크고 4 N 염산용액 90 mL을 넣어둔다. 냉각기(E)에 물을 공급한 다음, 카스주입관(D)을 통하여 질소가스를 0.21 L/min속도로 통과시키고, 이 때 플라스크(G)에 3% 과산화수소용액 30 mL을 넣는다.~~

~~15분 후 분액깔때기(B)를 떼고 검체 25 ~ 50 g을 취해 분쇄기나 균질기에 넣고 5% 에탄올용액 100 mL을 넣어 혼합하여 플라스크(C)에 넣은 다음 분액깔때기(B)를 부착한 후 코크를 열어 수 mL 카 남을 때까지 플라스크(C)에 주입한다.~~

~~1시간 45분 동안 가열한 후, 플라스크(G)를 떼고 (F)끝을 소량의 3% 과산화수소용액으로 씻어 플라스크에 넣고 마이크로뷰렛을 써서 0.01 N 수산화나트륨용액으로 20초간 지속하는 황색이 될 때까지 적정하여 아래의 공식에 따라 이산화황의 양을 산출한다(다만, 10 mg/kg 미만은 불검출로 한다).~~

~~앞의 시험방법에 따라 시험하고, 얻어진 수산화나트륨의 소비량의~~

~~로부터 다음 계산식에 따라 이산화황의 양을 구할 때, 그 양은 0.2% 이하이어야 한다(색기 0.1인 제품을 기준으로 함).~~

$$\text{이산화황(mg/kg)} = \frac{320 \times V \times f}{S}$$

~~V : 0.01 N 수산화나트륨용액의 소비량(mL)~~

~~f : 0.01 N 수산화나트륨용액의 역가~~

~~S : 검체의 채취량(g)~~

~~(0.01 N 수산화나트륨액 1 mL = 320 µg SO₂)~~

~~시약 및 시액~~

~~메틸레드시약 : 메틸레드 250 mg을 에탄올에 녹여 전량을 100 mL로 한다.~~

~~3% 과산화수소용액 : 30% 과산화수소 10 mL에 증류수를 넣어 전량을 100 mL로 하고 메틸레드시액 3방울을 넣은 후 0.01 N 수산화나트륨용액을 넣어 옅은 황색이 되도록 한다(쓸 때에 만든다).~~

~~(10) 4-메틸어미타졸(카라멜색소 III, 카라멜색소 IV의 경우에만 적용한다) : 이 품목 10g을 취하여 150mL 폴리프로필렌 바이커에 넣고 3N 수산화나트륨용액 5mL을 가해주고 균일하게 혼합하여 pH 12 이상으로 한다. 바이커에 크로마토그래피용 구조토(Johns-Manville Celite 545 또는 이와 동등한 것) 20g을 넣어 내용물이 반건조의 혼합물이 될 때까지 혼합하고 이를 유리섬유를 바닥에 막은 내경 약 2cm의 크로마토그래피용 유리관(태프론제 코크 포함)에 넣어 내용물이 약 25cm의 높이~~

~~카 되도록 충전한다. 초산에틸로 이전 시료 바이커를 세정하면서 초산에틸을 유리관에 흘려준다. 용매가 유리관의 바닥에 도달할 때, 콧크를 잠크고 5분간 방치한다. 콧크를 열어 유리관에 초산에틸을 주입하고 유출액의 총량이 약 200mL가 될 때까지 유출액을 모은다. 유출액에 내부표준용액 1mL을 정확하게 가해준 후 플라스크에 옮겨주고 초산에틸을 35°C이하에서 농축한다. 잔류물에 아세톤을 가하여 녹이고 정확히 5mL로 한 액을 시험용액으로 한다. 따로, 4 메틸아미다졸을 0.02g, 0.06g, 0.1g, 0.2g을 각각 정밀하게 달고 이에 내부표준용액 20mL씩 정확하게 가해주고 아세톤을 가하여 100mL씩으로 한 액을 각 표준용액으로 한다. 다만, 내부표준용액은 2 메틸아미다졸 0.05g에 초산에틸을 가하여 정확히 50mL로 한 액을 사용한다. 시험용액 및 각 표준용액을 5 μ L씩 취하여 다음의 조작조건으로 기체크로마토그래피를 행하고 각 표준용액의 피크면적을 측정하여 검량선을 작성한다. 시험용액의 피크면적을 측정하고 검량선을 이용하여 크 양을 구할 때, 250mg/kg 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).~~

~~조작조건~~

~~검출기 : 수소염이온화검출기(FID)~~

~~칼럼 : HP-FFAP(25m \times 320 μ m \times 0.25 μ m) 또는 이와 동등한 것~~

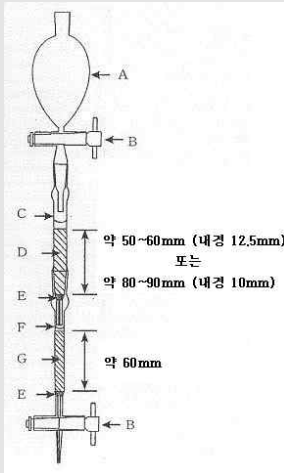
~~칼럼온도 : 150°C에서 2분간 유지한 후 분당 10°C의 비율로 200°C까지 승온시킨다.~~

~~주입구온도 : 200°C~~

~~검출기온도 : 250°C~~

~~캐리어가스 : 질소 또는 헬륨~~

~~(11) 2-아세틸-4-테트라히드록시부틸아미다졸(카라멜색소 III의 경우에만 적용한다) : 장치는 다음 그림의 장치를 사용한다.~~



- A : 분액여두 (100mL)
- B : 테프론제 콕크
- C : 유리칼럼 내경 12.5mm, 길이 150mm (접속부분 포함) 또는 내경 10mm, 길이 200mm (접속부분 포함)
- D : 약산성양이온 교환수지 (미립)
- E : 슝
- F : 유리칼럼 내경 10mm, 길이 175mm (접속부분 포함)
- G : 강산성양이온 교환수지 (미립)

~~이 품목 0.20~0.25g을 정밀히 달아 물 3mL을 가해 녹인 액을 칼럼 C와 칼럼 F의 조합칼럼의 윗쪽칼럼인 C에 옮겨주고 물 약 100mL로 세정한다. 이어서 칼럼 C를 분리하고 분액여두 A를 아랫쪽칼럼인 F에 접속한 다음 칼럼 F를 0.5N 염산으로 용출한다. 최초의 용출액 10mL는 버리고 그 이후의 용출액 35mL을 모아 40°C, 15mmHg에서 건조상태가 될 때까지 농축한다. 이 시럽상의 잔류물을 카르보닐기를 제거한 메탄올 250μL로 용해시키고 2,4-디니트로페닐하이드라진염산염사액 250μL를 가해주고, 이 반응혼합물은 마개가 있는 유리병에 옮겨주고 실온에서 5시간 보관한 다음 시험용액으로 한다. 따로 2,4-디니트로페닐하이드라진 0.5g에 염산 1mL을 가하여 교반시킨 후 메탄올 10mL을 가해주고 수욕상에서 용액이~~

~~될 때까지 가열하고, 뜨거운 용액에 2 아세틸 4 테트라하이드록시부
탈아미다졸(THH) 0.1g을 가해준다. 수 분 내에 2 아세틸 4 테트라
하이드록시부탈아미다졸 2,4-디니트로페닐하이드라존(THH-DNPH)의
결정화가 시작되어 실온이 될 때까지 냉각하여 결정화가 완전하게
되면 소량의 에탄올을 가하여 현탁시킨 후 여과분리한다. 결정화된
THH-DNPH는 에탄올 5mL당 염산 1방울을 넣은 에탄올로 재결정
화하여 정제하고, 정제한 결정은 다시 소량의 에탄올을 가하여 현
탁시킨 후 여과분리하여 데사케아터 중에서 건조한다. 이를 약
0.01g을 정밀히 달아 카르보닐기를 제거한 메탄올을 가하여
100mL로 하고, 다시 이액을 카르보닐기를 제거한 메탄올로 희석하
여 표준용액(각 액 1mL는 0, 20, 40, 60, 80, 100 μ g 함유)을 조제한
다. 시험용액 및 각 표준용액을 5 μ L씩 취하여 다음의 조작조건으
로 액체크로마토그래피를 행하고 각 표준용액의 피크면적을 측정
하여 검량선을 작성한다. 시험용액의 피크면적을 측정하고 검량선
을 이용하여 그 양을 구할 때, 25mg/kg 이하이어야 한다(색가 0.1
인 제품을 기준으로 함). 다만, THH-DNPH 100 μ g/mL은 THH
47.58 μ g/mL에 상당한다.~~

~~조작조건~~

검출기	: UV 385nm
칼럼	: Capcell pak C ₁₈ (5 μ m, 4.6 mm \times 250mm) 또는 이와 동등한 것
칼럼온도	: 상온
이동상	: 메탄올 : 0.1M 인산(H ₃ PO ₄) (50 : 50)
유속	: 1.0mL/min

~~시액~~

~~2,4-디니트로페닐하이드라진염산염시액 : 100mL의 삼각플라스틱에 염산 10mL을 넣고 이에 2,4-디니트로페닐하이드라진 (2,4-dinitrophenylhydrazine) 5g을 가해주고 유리염기(적색)가 염산염(황색)으로 변환할 때까지 조용히 흔들어 섞고 에탄올 100mL을 가해주고 수욕상에서 가열용해한다. 방냉하고 실온에서 결정화된 후 여과하여 염산염을 제거하고, 에테르로 세정한다. 실온에서 건조시킨 후 데시케이터 중에서 보관하고, 이를 2,4-디니트로페닐하이드라진염산염시액(2,4-dinitrophenyl hydrazine hydrochloride)으로 한다. 보관 중에 염산염이 서서히 유리염기로 변환하나, 유리염기는 1,2-디메톡시에탄(1,2-dimethoxyethane)으로 세정에 의해 제거할 수 있다. 5% 메탄올을 함유한 1,2-디메톡시에탄 15mL에 2,4-디니트로페닐하이드라진염산염시액 0.5g을 가하여 녹여주고 냉장고에서 보관한다.~~

~~카르보닐기를 제거한 메탄올 : 메탄올 500mL에 자라드시약 P(Girard P reagent) 5g과 염산 0.2mL을 가해주고 환류냉각기를 부착한 다음 2시간 증류한 액을 유리병에 밀봉하여 보관한다.~~

카라멜색소I

Caramel I

INS No.: 150a

이 명: Plain caramel; Caustic caramel

CAS No.: 8028-89-5

정 의 이 품목은 식용 탄수화물인 전분가수분해물, 당밀 또는 당류를 열처리하거나 또는 암모니아화합물과 아황산화합물을 제거한 산 또는 알칼리를 가해주고 열처리하여 얻어지는 것으로서 아황산화합물 및 암모늄화합물을 사용하지 않은 것이다.

성 상 이 품목은 암갈~흑색의 분말, 덩어리, 페이스트 또는 액체로 냄새가 없거나 또는 약간 특이한 냄새가 있고, 맛은 없거나 약간 특이한 맛이 있다.

확인시험

- (1) 이 품목의 수용액(1→100)은 옅은 갈~흑갈색을 나타낸다.
- (2) 미리 측정된 흡광도가 약 0.5가 되도록 이 품목을 달아 0.025N 염산을 가하여 100mL로 하고 필요하면 원심분리를 하여 상등액을 A액으로 한다. A액 20mL을 취한 다음 디에틸아미노에틸셀룰로스 음이온교환수지(DEAE cellulose) 0.2g을 가하여 잘 흔들어 섞은 후 원심분리하고 상등액을 취하여 B액으로 한다. A액 및 B액은 0.025N 염산을 대조액으로 하여 액층길이 1cm, 파장 560nm에서 흡광도 A_A 및 A_B 를 측정할 때, $(A_A - A_B)/A_A$ 의 값은 0.75 이하이어야 한다.
- (3) 이 품목 0.2~0.3g을 달아 0.025N 염산을 가하여 100mL로 하고 필요하면 원심분리를 하여 상등액을 C액으로 한다. C액 40mL

을 취한 다음 인산화셀룰로스 양이온교환수지(phosphoryl cellulose) 2.0g을 가하여 잘 흔들어 섞은 후 원심분리하고 상등액을 취하여 D액으로 한다. C액 및 D액은 0.025N 염산을 대조액으로 하여 액층길이 1cm, 파장 560nm에서 흡광도 A_C 및 A_D 를 측정할 때 $(A_C - A_D)/A_C$ 의 값은 0.5 이하이어야 한다.

순도시험

- (1) 비소 : 이 품목을 비소시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.3ppm 이하이어야 한다.
- (2) 납 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 2.0ppm 이하이어야 한다.
- (3) 카드뮴 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.0ppm 이하이어야 한다.
- (4) 수은 : 이 품목을 수은시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 0.1ppm 이하이어야 한다.
- (5) 색가 : 이 품목 100mg을 정밀히 달아 물을 가하여 100mL로 한 것을 시험용액으로 한다. 필요하면 원심분리하여 그 상등액을 사용한다. 물을 대조액으로 하여 액층 1cm, 파장 610nm에서 시험용액의 흡광도 A 를 측정하여 다음 계산식에 따라 고형분으로 환산하여 색가를 구할 때, 그 양은 0.01~0.6 이어야한다.

$$\text{색가} = \frac{A_{610} \times 100}{\text{고형분함량(\%)}}$$

※ 고형분함량

- ① 검체가 액체인 경우 : 칭량병에 정제석영사 30g과 유리봉을 넣고 50mmHg 감압하에서 60℃로 항량이 될 때까지 건조한 다음 검체 1.5~2.0g을 정밀히 달아 앞의 칭량병에 넣고 잘 섞은 후 항량이 될 때까지 건조하고 다음 계산식에 따라 고형분 함량(%)을 구한다. 다만, 정제석영사(fine quartzsand)는 No. 40의 체는 통과되나, No. 60의 체는 통과되지 않는 크기의 석영사에 염산을 가하여 분해시킨 후 산성을 나타내지 않을 때까지 씻어주고 건조시킨 다음 강열한 것을 사용한다.

$$\frac{(\text{건조 후 석영사와 검체의 무게(g)} - \text{석영사 무게}) \times 100}{\text{검체의 채취량(g)}}$$

- ② 검체가 분말 또는 과립인 경우 : 강열감량시험법에 따라 시험하고 50mmHg 감압하에서 60℃로 항량이 될 때까지 건조한 후 다음 계산식에 따라 고형분 함량(%)을 구한다.

$$\frac{(\text{건조 후 자제도가니와 검체의 무게(g)} - \text{자제도가니 무게(g)})}{(\text{건조 전 자제도가니와 검체의 무게(g)} - \text{자제도가니 무게(g)})} \times 100$$

※ 색가 0.1인 제품 기준 불순물 계산

각 성분규격에 따라 시험하여 구한 각 불순물(총질소, 총황,

암모니아성질소, 이산화황, 4-메틸이미다졸, 2-아세틸-4-테트라히드록시부틸이미다졸)은 고품분으로 환산한 Cs를 구하고 다시 색가 0.1인 제품을 기준으로 하기 위해 다음 계산식에 따라 각 불순물의 양을 구한다.

$$\frac{Cs \times 0.1}{\text{색가}}$$

$$Cs : \frac{\text{각 불순물의 양} \times 100}{\text{고형분함량(\%)}}$$

(6) 총질소 : 이 품목을 질소정량법에 따라 시험할 때, 그 양은 3.3% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

(7) 총황 : 산화마그네슘 1~3g 또는 초산마그네슘 6.4~19.2g, 설탕 1g 및 질산 50mL을 증발접시에 취한 다음 이 품목 5~10g을 정밀히 달아 가해 주고 수욕상에서 페이스트상이 될 때까지 농축한다. 회화로에 증발접시를 넣고 서서히 가열(525℃ 이하)하여 이산화질소 연기가 발생되지 않을 때까지 가열하고, 증발접시를 식힌 후 이에 염산(1→2.5)을 가해 용해하고, 중화시킨 후 다시 5mL을 더 가해주고, 여과한 다음 끓을 때까지 가열한다. 이어서 10% 염화바륨용액 5mL을 한 방울씩 떨어뜨리면서 가해주고, 100mL가 될 때까지 농축한 다음 하룻밤 방치한다. 이를 여과지(5C 또는 이와 동등한 것)를 이용하여 여과하고, 여지 및 잔류물을 미리 무게를 달아 둔 도가니에 넣고 항량이 될 때까지 강열하여

황산바륨으로서 무게를 측정한다. 다음 계산식에 따라 총황의 양을 구할 때, 그 양은 3.5% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함). 따로 공시험을 행한다.

$$\text{총황(\%)} = \frac{\text{황산바륨의 양(g)} \times 0.1374}{\text{검체의 채취량(g)}} \times 100$$

카라멜색소II

Caramel II

INS No.: 150b

이 명: Caustic sulfite caramel

CAS No.: 8028-89-5

정의 이 품목은 식용 탄수화물인 전분가수분해물, 당밀 또는 당류에 아황산화합물을 가해주고, 암모늄화합물을 제거한 산 또는 알칼리를 가해주거나 가해주지 않고 열처리하여 얻어지는 것으로서 암모늄화합물을 사용하지 않은 것이다.

성상 이 품목은 암갈~흑색의 분말, 덩어리, 페이스트 또는 액체로 냄새가 없거나 또는 약간 특이한 냄새가 있고, 맛은 없거나 약간 특이한 맛이 있다.

확인시험

- (1) 이 품목의 수용액(1→100)은 옅은 갈~흑갈색을 나타낸다.
- (2) 「카라멜색소I」의 확인시험 (2)에 따라 시험할 때, $(A_A - A_B)/A_A$

의 값은 0.5 이상이어야 한다.

- (3) 이 품목 0.1g을 달아 물을 가하여 100mL로 하고 필요하면 원심분리를 하여 상등액을 A액으로 한다. A액 5mL을 정확히 취한 다음 물을 가하여 100mL로 하고 B액으로 한다. A액은 물을 대조액으로 하여 액층길이 1cm, 파장 560nm에서 흡광도 A_A 를, 또는 B액은 물을 대조액으로 하여 액층길이 1cm, 파장 280nm에서 흡광도 A_B 를 각각 측정할 때, $A_B \times 20/A_A$ 값은 50 이상이어야 한다.

순도시험

- (1) 비소 : 이 품목을 비소시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.3ppm 이하이어야 한다.
- (2) 납 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 2.0ppm 이하이어야 한다.
- (3) 카드뮴 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.0ppm 이하이어야 한다.
- (4) 수은 : 이 품목을 수은시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 0.1ppm 이하이어야 한다.
- (5) 색가 : 「카라멜색소I」의 순도시험 (5)에 따라 시험할 때, 그 양은 0.01~0.6 이어야한다.

(6) 총질소 : 이 품목을 질소정량법에 따라 시험할 때, 그 양은 3.3% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

(7) 총황 : 「카라멜색소I」의 순도시험 (7)에 따라 시험할 때, 그 양은 3.5% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

(8) 이산화황 : 다음 그림의 장치를 사용한다.

A : 호스연결부

B : 분액깔때기(100 mL 또는 그 이상 용량)

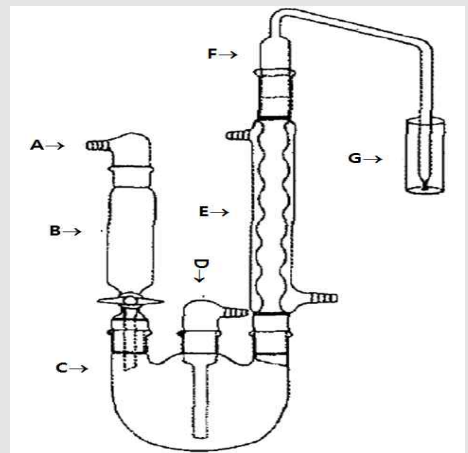
C : 둥근바닥플라스크

D : 가스 주입관

E : 아린냉각관(300)

F : 가스 유도관(Bubbler)

G : 플라스크(안지름 25, 깊이 150)



플라스크(C)에 물 400 mL을 넣고 분액깔때기 (B)코크를 잠그고 4 N 염산용액 90 mL을 넣어둔다. 냉각기(E)에 물을 공급한 다음, 가스주입관(D)을 통하여 질소가스를 0.21 L/min 속도로 통과시키고, 이 때 플라스크(G)에 3% 과산화수소용액 30 mL을 넣는다.

15분 후 분액깔때기(B)를 떼고 검체 25 ~ 50g을 취해 분쇄기나 균질기에 넣고 5% 에탄올용액 100 mL을 넣어 혼합하여 플라스크(C)에 넣은 다음 분액깔때기(B)를 부착한 후 코크를 열어 수 mL가 남을 때까지 플라스크(C)에 주입한다.

1시간 45분 동안 가열한 후, 플라스크(G)를 떼고 (F)끝을 소량의

3% 과산화수소용액으로 씻어 플라스크에 넣고 마이크로뷰렛을 써서 0.01 N 수산화나트륨용액으로 20초간 지속하는 황색이 될 때까지 적정하여 아래의 공식에 따라 이산화황의 양을 산출한다(다만, 10 mg/kg 미만은 불검출로 한다).

앞의 시험방법에 따라 시험하고, 얻어진 수산화나트륨의 소비량으로부터 다음 계산식에 따라 이산화황의 양을 구할 때, 그 양은 0.2% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

$$\text{이산화황(mg/kg)} = \frac{320 \times V \times f}{S}$$

V : 0.01 N 수산화나트륨용액의 소비량(mL)

f : 0.01 N 수산화나트륨용액의 역가

S : 검체의 채취량(g)

(0.01 N 수산화나트륨액 1 mL=320 μ g SO₂)

시약 및 시액

메틸레드시약 : 메틸레드 250 mg을 에탄올에 녹여 전량을 100 mL로 한다.

3% 과산화수소용액 : 30% 과산화수소 10 mL에 증류수를 넣어 전량을 100 mL로 하고 메틸레드시액 3방울을 넣은 후 0.01 N 수산화나트륨용액을 넣어 엷은 황색이 되도록 한다(쓸 때에 만든다).

카라멜색소III

Caramel III

이 명: Ammonia caramel

INS No.: 150c

CAS No.: 8028-89-5

정 의 이 품목은 식용 탄수화물인 전분가수분해물, 당밀 또는 당류에 암모늄화합물을 가해주고, 아황산화합물을 제거한 산 또는 알칼리를 가해주거나 가해주지 않고 열처리하여 얻어지는 것으로서 아황산화합물을 사용하지 않은 것이다.

성 상 이 품목은 암갈~흑색의 분말, 덩어리, 페이스트 또는 액체로 냄새가 없거나 또는 약간 특이한 냄새가 있고, 맛은 없거나 약간 특이한 맛이 있다.

확인시험

- (1) 이 품목의 수용액(1→100)은 옅은 갈~흑갈색을 나타낸다.
- (2) 「카라멜색소I」의 확인시험 (2)에 따라 시험할 때, $(A_A - A_B)/A_A$ 의 값은 0.5 이하이어야 한다.
- (3) 「카라멜색소I」의 확인시험 (3)에 따라 시험할 때, $(A_C - A_D)/A_C$ 의 값은 0.5 이상이어야 한다.

순도시험

- (1) 비소 : 이 품목을 비소시험법에 따라 시험할 때, 그 양은

1.3ppm 이하이어야 한다.

(2) 납 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 2.0ppm 이하이어야 한다.

(3) 카드뮴 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.0ppm 이하이어야 한다.

(4) 수은 : 이 품목을 수은시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 0.1ppm 이하이어야 한다.

(5) 색가 : 「카라멜색소I」의 순도시험 (5)에 따라 시험할 때, 그 양은 0.01~0.6 이어야한다.

(6) 총질소 : 이 품목을 질소정량법에 따라 시험할 때, 그 양은 3.3% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

(7) 총황 : 「카라멜색소I」의 순도시험 (7)에 따라 시험할 때, 그 양은 3.5% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

(8) 암모니아성질소 : 0.1N 황산 25mL을 500mL 포집용플라스크에 넣고 킬달증류장치를 연결하여 냉각관 끝이 포집용플라스크의 황산에 잠기게 한다. 따로, 이 품목 약 2g을 정밀히 달아 800mL 킬달분해플라스크에 넣고 산화마그네슘 2g, 물 200mL 및 비등석을 가해진 분해플라스크를 잘 흔들어 내용물을 혼합한 후 빠르게 증류장치에 접속한다. 분해플라스크를 액이 비등할

때까지 가열하고 포집용플라스크에 유출액 약 100mL을 받고 냉각관의 끝은 물 2~3mL로 씻어 이를 합해 주고 메틸레드시액 4~5방울을 가하고 0.1N 수산화나트륨용액으로 적정하여 이의 소비량을 S라 한다. 별도의 공시험을 하여 이의 소비량을 B로 한다. 다음 계산식에 따라 계산할 때, 그 양은 0.6% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

$$\text{암모니아성질소의 함량(\%)} = \frac{(B - S) \times 0.0014 \times 100}{\text{검체의 채취량(g)}}$$

- (9) 4-메틸이미다졸 : 이 품목 10g을 취하여 150mL 폴리프로필렌 비이커에 넣고 3N 수산화나트륨용액 5mL을 가해주고 균일하게 혼합하여 pH 12 이상으로 한다. 비이커에 크로마토그래피용 규조토(Johns-Manville Celite 545 또는 이와 동등한 것) 20g을 넣어 내용물이 반건조의 혼합물이 될 때까지 혼합하고 이를 유리섬유를 바닥에 막은 내경 약 2cm의 크로마토그래피용 유리관(테프론제 콕크 포함)에 넣어 내용물이 약 25cm의 높이가 되도록 충전한다. 초산에틸로 이전 시료 비이커를 세정하면서 초산에틸을 유리관에 흘려준다. 용매가 유리관의 바닥에 도달할 때, 콕크를 잠그고 5분간 방치한다. 콕크를 열어 유리관에 초산에틸을 주입하고 유출액의 총량이 약 200mL가 될 때까지 유출액을 모은다. 유출액에 내부표준용액 1mL을 정확하게 가해준 후 플라스크에 옮겨주고 초산에틸을 35°C 이하에서 농축한다. 잔류물

에 아세톤을 가하여 녹이고 정확히 5mL로 한 액을 시험용액으로 한다. 따로, 4-메틸이미다졸을 0.02g, 0.06g, 0.1g, 0.2g을 각각 정밀하게 달고 이에 내부표준용액 20mL씩 정확하게 가해 주고 아세톤을 가하여 100mL씩으로 한 액을 각 표준용액으로 한다. 다만, 내부표준용액은 2-메틸이미다졸 0.05g에 초산에틸을 가하여 정확히 50mL로 한 액을 사용한다. 시험용액 및 각 표준용액을 5 μ L씩 취하여 다음의 조작조건으로 기체크로마토그래피를 행하고 각 표준용액의 피크면적을 측정하여 검량선을 작성한다. 시험용액의 피크면적을 측정하고 검량선을 이용하여 그 양을 구할 때, 250mg/kg 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

조작조건

검출기 : 수소염이온화검출기(FID)

칼럼 : HP-FFAP(25m \times 320 μ m \times 0.25 μ m) 또는 이와 동등한 것

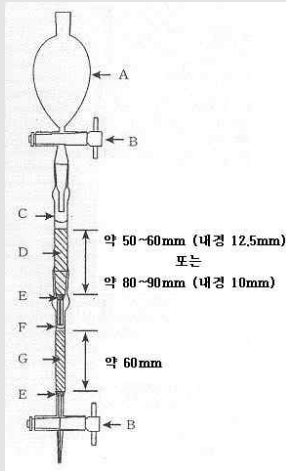
칼럼온도 : 150 $^{\circ}$ C에서 2분간 유지한 후 분당 10 $^{\circ}$ C의 비율로 200 $^{\circ}$ C까지 승온시킨다.

주입구온도 : 200 $^{\circ}$ C

검출기온도 : 250 $^{\circ}$ C

캐리어가스 : 질소 또는 헬륨

(10) 2-아세틸-4-테트라히드록시부틸이미다졸 : 다음 그림의 장치를 사용한다.



- A : 분액여두 (100mL)
- B : 테프론제 콕크
- C : 유리칼럼 내경 12.5mm, 길이 150mm (접속부분 포함) 또는 내경 10mm, 길이 200mm (접속부분 포함)
- D : 약산성양이온 교환수지 (미립)
- E : 슝
- F : 유리칼럼 내경 10mm, 길이 175mm (접속부분 포함)
- G : 강산성양이온 교환수지 (미립)

이 품목 0.20~0.25g을 정밀히 달아 물 3mL을 가해 녹인 액을 칼럼 C와 칼럼 F의 조합칼럼의 윗쪽칼럼인 C에 옮겨주고 물 약 100mL로 세정한다. 이어서 칼럼 C를 분리하고 분액여두 A를 아래쪽 칼럼인 F에 접속한 다음 칼럼 F를 0.5N 염산으로 용출한다. 최초의 용출액 10mL는 버리고 그 이후의 용출액 35mL을 모아 40℃, 15mmHg에서 건조상태가 될 때까지 농축한다. 이 시럽상의 잔류물을 카르보닐기를 제거한 메탄올 250 μ L로 용해시키고 2,4-디니트로페닐히드라진염산염시액 250 μ L를 가해주고, 이 반응혼합물은 마개가 있는 유리병에 옮겨주고 실온에서 5시간 보관한 다음 시험용액으로 한다. 따로 2,4-디니트로페닐히드라진 0.5g에 염산 1mL을 가하여 교반시킨 후 에탄올 10mL을 가해주고 수욕상에서 용액이 될 때까지 가열하고, 뜨거운 용액에 2-아세틸-4-테트라히드록시부틸이미다졸(THI) 0.1g을 가해준다. 수 분 내에 2-아세틸-4-테트라히드록시부틸이미다졸-2,4-디니트로페닐히드라존(THI-DNPH)의 결정화가 시작되어 실온이 될 때까지 냉각하여

결정화가 완전하게 되면 소량의 에탄올을 가하여 현탁시킨 후 여과분리한다. 결정화된 THI-DNPH는 에탄올 5mL당 염산 1방울을 넣은 에탄올로 재결정화하여 정제하고, 정제한 결정은 다시 소량의 에탄올을 가하여 현탁시킨 후 여과분리하여 데시케이터 중에서 건조한다. 이를 약 0.01g을 정밀히 달아 카르보닐기를 제거한 메탄올을 가하여 100mL로 하고, 다시 이액을 카르보닐기를 제거한 메탄올로 희석하여 표준용액(각 액 1mL는 0, 20, 40, 60, 80, 100 μ g 함유)을 조제한다. 시험용액 및 각 표준용액을 5 μ L씩 취하여 다음의 조작조건으로 액체크로마토그래피를 행하고 각 표준용액의 피크면적을 측정하여 검량선을 작성한다. 시험용액의 피크면적을 측정하고 검량선을 이용하여 그 양을 구할 때, 25mg/kg 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함). 다만, THI-DNPH 100 μ g/mL은 THI 47.58 μ g/mL에 상당한다.

조작조건

검출기 : UV 385nm
칼럼 : Capcell pak C₁₈(5 μ m, 4.6 mm \times 250mm) 또는 이와 동등한 것
칼럼온도 : 상온
이동상 : 메탄올 : 0.1M 인산(H₃PO₄) (50 : 50)
유속 : 1.0mL/min

시액

2,4-디니트로페닐히드라진염산염시액 : 100mL의 삼각플라스크에 염산 10mL을 넣고 이에 2,4-디니트로페닐히드라진(2,4-dinitrophenyl hydrazine) 5g을 가해주고 유리염기(적색)가 염산염(황색)으로 변환할 때까지 조용히 흔들어 섞고 에탄올 100mL을 가해주고 수욕상에서 가열용해한다. 방냉하고 실온에서 결정화된 후 여과하여 염산염을 제거하고, 에테르로 세정한다. 실온에서 건조시킨 후 데시케이터 중에서 보관하고, 이를 2,4-디니트로페닐히드라진염산염시액(2,4-dinitrophenyl hydrazine hydrochloride)으로 한다. 보관 중에 염산염이 서서히 유리염기로 변환하나, 유리염기는 1,2-디메톡시에탄(1,2-dimethoxyethane)으로 세정에 의해 제거할 수 있다. 5% 메탄올을 함유한 1,2-디메톡시에탄 15mL에 2,4-디니트로페닐히드라진염산염시액 0.5g을 가하여 녹여주고 냉장고에서 보관한다.

카르보닐기를 제거한 메탄올 : 메탄올 500mL에 지라드시약 P(Girard P reagent) 5g과 염산 0.2mL을 가해주고 환류냉각기를 부착한 다음 2시간 증류한 액을 유리병에 밀봉하여 보관한다.

카라멜색소IV

Caramel IV

INS No.: 150d

이 명: Sulfite ammonia caramel

CAS No.: 8028-89-5

정 의 이 품목은 식용 탄수화물인 전분가수분해물, 당밀 또는 당류에 아황산화합물과 암모늄화합물을 가해주고, 산 또는 알칼리를 가해주거나 가해주지 않고 열처리하여 얻어지는 것이다.

성 상 이 품목은 암갈~흑색의 분말, 덩어리, 페이스트 또는 액체로 냄새가 없거나 또는 약간 특이한 냄새가 있고, 맛은 없거나 약간 특이한 맛이 있다.

확인시험

- (1) 이 품목의 수용액(1→100)은 옅은 갈~흑갈색을 나타낸다.
- (2) 「카라멜색소I」의 확인시험 (2)에 따라 시험할 때, $(A_A - A_B)/A_A$ 의 값은 0.5 이상이어야 한다.
- (3) 「카라멜색소II」의 확인시험 (3)에 따라 시험할 때, $A_B \times 20/A_A$ 값은 50 이하이어야 한다.

순도시험

- (1) 비소 : 이 품목을 비소시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.3ppm 이하이어야 한다.
- (2) 납 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 2.0ppm 이하이어야 한다.
- (3) 카드뮴 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합

플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.0ppm 이하이어야 한다.

(4) 수은 : 이 품목을 수은시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 0.1ppm 이하이어야 한다.

(5) 색가 : 「카라멜색소I」의 순도시험 (5)에 따라 시험할 때, 그 양은 0.01~0.6 이어야한다.

(6) 총질소 : 이 품목을 질소정량법에 따라 시험할 때, 그 양은 3.3% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

(7) 총황 : 「카라멜색소I」의 순도시험 (7)에 따라 시험할 때, 그 양은 3.5% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

(8) 암모니아성질소 : 「카라멜색소III」의 순도시험 (8)에 따라 시험할 때, 그 양은 0.6% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

(9) 이산화황 : 「카라멜색소II」의 순도시험 (8)에 따라 시험할 때, 그 양은 0.2% 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

(10) 4-메틸이미다졸 : 「카라멜색소III」의 순도시험 (9)에 따라 시험할 때, 그 양은 250mg/kg 이하이어야 한다(색가 0.1인 제품을 기준으로 함).

