pISSN 1229-1153 *J. Fd Hyg. Safety*
Vol. 27, No. 1, pp. 42~49 (2012)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

SD랫드에서 식용색소 적색2호의 4주간 경구투여에 따른 반복독성시험에 관한 연구

유진곤 · 정지윤*
공주대학교 특수동물학과

Studies on the Repeated Toxicity Test of Food Red No.2 for 4 Weeks Oral Administration in SD Rat

Jin-Gon Yoo and Ji-Youn Jung*
Department of Companion and Laboratory Animal Science, Kongju National University, Yesan 340-702, Korea
(Received January 10, 2012/Revised February 17, 2012/Accepted March 12, 2012)

ABSTRACT - This study was carried out to investigate the toxicity of food Red No.2 in the Sprague-Dawley (SD) female rat for 4 weeks. SD rats were orally administered for 28 days, with dosage of 500, 1,000, 2,000 mg/kg/day. Animals treated with food Red No.2 did not cause any death and show any clinical signs. They did not show any significant changes of body weight, feed uptake and water consumption. There were not significantly different from the control group in urinalysis, hematological, serum biochemical value and histopathological examination. In conclusion, 4 weeks of the repetitive oral medication of food Red No.2 has resulted no alteration of toxicity according to the test materials in the group of female rats with injection of 2,000 mg/kg. Therefore, food Red No.2 was not indicated to have any toxic effect in the SD rats, when it was orally administered below the dosage 2,000 mg/kg/day for 4 weeks.

Key words: Red No.2, SD rat, Toxicity

서 론

현대사회는 식생활의 발전으로 제조 및 가공 산업이 발달해 왔고 이에 따라 자연스럽게 각종 가공식품과 인스턴트식품도 함께 발전해 왔다. 그에 따라 무수히 많은 식품 가공업체들이 생겨났으며 이들은 연구 및 개발을 통해서 식품의 맛, 향, 식품보존, 영양향상, 외형적 모습 등이 더 좋은 가공식품들을 만들게 되었다. 그러면서 자연스럽게 식품에 가공목적으로 각종 식품첨가물들의 소비도 증가하게 되었다.

이에 각종 식품에서 다양한 방법으로 사용되고 있는 식품첨가물의 섭취가 불가피하게 되었으며 우리도 모르는 사이 우리는 매일 각종 식품첨가물을 섭취하고 있다. 식품첨가물로는 주로 합성감미료, 합성착색료, 합성보존료, 산화방지제, 발색제, 향미증진제등이 있다. 착색료의 경우는 합성착색료와 천연착색료로 분류되며 천연착색료는 식물성색소로써 chlorophyll, carotenoid, antoxanthin, anthocyanin, flavonoid 등과 동물성색소 hemoglobin, myoglobin 등이 있다. 과거에는 자연계에 있는 식물에서 추출한 색소를 식품착색에 이용하였으나 천연색소는 추출하기가 힘들고 색의 종류가 다양하지 못할 뿐만 아니라 가격이 비싸고 공급도 불충분하며, 가공이나 유통 과정 중 색의 변색, 탈색을 일으키는 단점들이 있다. 따라서 최근에는 사용에 제한성이 많은 천연색소 보다는 화학적 안정성이 우수하고 저렴한 가격으로 충분한 공급이 가능한 합성 색소가 널리 사용되고 있다[1]. 합성착색료의 식용타르색소에 경우에는 석탄 타르 중에 함유된 벤젠이나 나프탈렌으로부터 합성되는 것으로 본래 섬유류의 착색을 위하여 개발된 것으로 알려져 있으며 우리나라에서 식품의 착색제로써 사용할 수 있는 화합물로 총 9종류(녹색3호, 적색2호, 적색3호, 적색102호, 적색40호, 청색1호, 청색2호, 황색4호, 황색5호)가 있다. 구조적으로 적색2호, 황색4호, 황색5호, 적색40호, 적색102호는 아조계 색소에 속하며 적색3호는 크산틴계, 녹색3호와 청색1호는 트리페닐메탄계 청색2호는 인디고이트계에 속한다. 이들은 모두 산성 수용성이고 유기용매에는 거의 녹지 않으며 식품에는 안정하지만 산화제, 환원제 등에 변색, 퇴색이 될 수 있다[2]. 합성 착색료의 허용 현황은 codex 14종[3], 일본 14종[4], EU 15종[5], 미국 9종[6] 등으로 국가마다 허용종류와 사용기준이 다르

*Correspondence to: Ji-Youn Jung, Department of Companion and Laboratory Animal Science, Kongju National University, Yesan, Korea
Tel: 82-41-330-1526, Fax: 82-41-330-1529
E-mail: wangza@kongju.ac.kr

며, 대상 식품만을 규제하는 우리나라와는 달리 사용가능 식품 및 최대 사용량을 규제하는 추세이다.

타르색소는 식품의 제조가공시 시각적 효과를 위하여 사용되는 합성착색료로서 우리나라에서는 현재 식용색소적색2호 등 9종이 허용되어 있다. 허용된 9종은 국제기구인 JECFA(FAO/WHO 합동식품첨가물전문가위원회)에서 안전성평가, ADI(일일섭취허용량)가 설정되어 있어 CODEX (국제식품규격위원회) 등 제외국에서 사용되고 있다[2].

식용색소적색2호는 화학식 C20 H11 O10 N2 S3 Na3. 모노아조(monoazo)계 색소로서 흡수성이 강하고 물, 글리세린 등에는 녹으나 에테르, 에탄올, 프로필렌글리콜 등의 알코올류에는 녹기 어렵고 유지에는 전혀 녹지 않는다. 식용 적색 색소 중 내광성은 가장 약하나 내열성, 내광성, 내염성이 우수하다.

또한 시트르산, 타타르산류 등에는 안정하나 알칼리에서는 불안정하여 어두운 붉은색으로 변한다. 산화환원작용에 불안정하여 발효식품에 부적당하며 염착력도 약하다. 구리이온이나 철이온 등의 금속이온 존재 시 산화에 의해 쉽게 퇴색되며 색이 흐려지는 등의 환원작용을 나타내는데 통조림 식품이나 비타민 C 첨가 음료 등에 식용색소 적색 2호를 첨가 시 퇴색 및 변색이 나타난다.

FAO·WHO전문위원회의 1일허용섭취량(ADI)은 0.0~5.0 mg/kg 이하이다. 마우스에 경구투여 시 LD50은 10.0 g/kg 이상 이고 랫드에 복강 및 정맥 투여 시 LD50은 1.0 g/kg 이상이다. 미국에서는 발암물질 가능성으로 1970년대부터 사용이 전면 금지되고 있다. 과자, 청량음료, 빙과 등 여러 가지 식품에 단독 또는 다른 식용색소와 배합해서 사용된다.

식용색소 적색 2호는 산화환원작용에 불안정하기 때문에 통조림 제품이나 비타민 C 첨가 음료 등에 착색료로 사용되는 것은 부적합하며 구리이온이나 철이온과 같은 금속이온이 존재하는 경우 산화에 의해 쉽게 퇴색하므로 주의해야 한다. 흡습성이 강하므로 밀폐용기에 보존한다[20].

주로 사용된 제품들은 빙과류(스크류바, 죠스바), 음료류(써니텐 포도맛, 탑씨 포도맛), 사탕류(과일맛캔디 딸기맛, 사과맛, 포도맛), 껌류(자일리톨333)에 사용 되었다[8]. 하지만 적색2호의 경우 미국 등 일부 국가는 안전성이 확보되지 않았다는 이유로 사용하지 않고 있으며, 이를 근거로 소비자단체, 언론 및 국회 등에서 지속적으로 안전성 문제를 제기하고 있는 실정이다[9].

식약청에서는 2007년 4.9~13(5일간) 전국 초등학교 104개교 주변의 문방구 등에서 어린이의 동심을 유발하는 알록달록한 색상의 과자류 등에 적색2호의 사용실태를 조사한 결과, 사탕류는 497제품 중 31제품, 초콜릿류는 108제품 중 2제품, 껌 103제품 중 15제품, 건과류 176제품 중 8제품에서 적색2호가 사용되고 있는 것으로 조사되었으며, 이는 식품 선택능력이 떨어지는 어린이들이 즐겨먹는 사탕 등이 포함된 과자류 등 어린이 기호식품에 적색2호를 사용금지토록 하는 제도개선이 필요한 것으로 나타났다[10]. 하지만 일부 불량업체들은 현재까지도 식용색소 적색2호를 무분별하게 사용하고 있기 때문에 이들 식품첨가물이 체내에 흡수되었을 때 어떠한 유해 작용을 일으키는지 검증해야 할 것 이며 우리 어린이들의 건강을 위해 식용색소 적색2호 사용량 설정 시 과학적 근거와 독성 평가의 기초자료로 활용하고자 한다.

재료 및 방법

시험물질의 조제

시약은 일본 동경화학공업사의 식용색소 적색 제2호(R2 Amaranth) 제품을 사용하였으며 부형제는 중외제약의 주사용수를 사용하였다. 보관온도는 실온(15~25°C)이었다. 시험물질의 조제는 주 1회 시험물질을 전자저울로 칭량하여 각각의 유리 제조병에 넣고, 부형제를 일부 넣어 교반기로 교반한 후, 부형제를 가하여 규정 농도로 조제하였다.

시험동물

시험동물은 ORIENTBIO INC., Korea 에서 구입한 암컷 4 주령의 랫드(Sprague-Dawley (Crl:CD(SD)), SPF)를 사용하였다. Sprague-Dawley 랫드는 의약품 및 안전성평가에 널리 사용되고 있으며 비교할 기초자료가 풍부하여 선택하였다. 입수시 4주령 랫드의 외관검사를 실시하고 전자저울로 체중을 측정한 후 6~7일간 순화기간을 두어 매일 1회 일반증상 관찰을 실시하였다. 입수 시 랫드의 꼬리에 적색 유성펜으로 개체 표시를 하였으며 군 분리 시에는 청색 유성펜으로 개체 표시를 하였다. 군 분리는 체중 및 일반증상에 이상이 없는 동물 중에서 선별하여 암컷 각 4군, 즉, 대조군, 저용량군, 중간용량군, 고용량군으로 각각 5마리씩 군 분리 하였다. 사육 상자는 260W × 350D × 210H mm 의 스테인리스 철망 사육 상자를 사용하였으며 온도는 19.0~25.0°C로 유지 하였다. 습도는 30~70%를 유지하였으며 명암주기는 매일 오전 7시부터 오후7시까지 조명 시간을 나누어 주었고 조도는 150~300 Lux를 유지하였다.

투여 및 투여용량

시험물질의 일일섭취허용량(ADI)은 kg당 0.5 mg(성인 60 kg 기준 시 섭취 한도는 30 mg/kg)이다. 물질의 투여용량은 사람과 동물의 차이를 고려하였고 미지의 물질에 투여 가능한 최대한의 용량이 2,000 mg/kg 이므로 고용량군의 일일섭취허용치는 사람의 약 67배를 적용한 2,000 mg/kg으로 설정하였다. 그에 따라 1,000 mg/kg은 중간용량군으로, 500 mg/kg는 저용량군으로 설정하고 대조군은 주사용수를 투여하였다. 경구투여는 경구투여용 존데를 부착한 일회용 주사기를 이용하여 2011년 6월 16일~2011년 7월

12일까지 매일 같은 시간 위 내로 강제 투여하였다.

일반증상 관찰 및 체중 측정

일반증상 관찰은 모든 동물에 대하여 1일 1회 일반증상을 관찰하고 1일 2회 사망동물의 유무를 확인하였다. 또한 체중 측정은 모든 동물에 대하여, 투여개시일(투여전), 투여개시 후 주 1회, 부검일에 체중을 측정했다. 단, 부검일의 체중은 절식을 실시하였으므로 체중평가에서 제외하였다.

사료 및 사료섭취량 측정

사료는 Harla Laboratories, Inc., U.S.A를 사용하였으며 급이 방법은 급이기에 고형사료를 넣어 자유섭취 시켰다. 투여개시전의 사료섭취량은 군 분리일부터 투여 개시일까지 1일간 섭취량을 측정하고 투여 3주까지는 7일간 섭취량을 투여 4주째에는 6일간 섭취량을 측정하여 1일 평균 섭취량을 산출하였다.

뇨검사

모든 동물에 대하여 투여 4주에 뇨검사를 실시하고 신선뇨(배설 후 약 3시간이내의 뇨)를 수거하여 뇨 화학 분석기로 pH, 단백(protein), 당(glucose), 케톤체(ketone body), 빌리루빈(bilirubin), 잠혈(occult blood)을 검사하며 신선뇨 채취 중에는 투여 및 사료급여를 실시하지 않고 음수만 자유섭취 시켰다.

혈액학적 검사

모든 동물에 대하여 부검 전 약 18시간이상 절식을 시킨 후, 부검일에 isoflurane으로 마취하여 배대동맥으로부터 혈액을 채취하였다. 혈액학적 검사는 채취한 혈액 약 1 ml을 EDTA가 함유 된 tube에 넣은 후 혈구 분석기로 적혈구수(RBC), 혈색소량(HGB), 헤마토크리트치(HCT), 평균적 혈구용적(MCV), 평균적 혈구 헤모글로빈량(MCH) 평균적 헤모글로빈농도(MCHC), 혈소판수(PLT), 백혈구수(WBC)를 측정하였다.

혈액생화학적 검사

혈액생화학적 검사는 배대동맥에서 채취한 혈액중 혈액학적 검사용 혈액을 제외한 나머지 혈액을 원심분리한 후 혈장을 채취해 혈액생화학분석기로 알라닌(ALT), 아스파테이트(AST), 알카라인포스파타제(ALP), 혈액요소질소(BUN), 크레아티닌(Crea), 총 빌리루빈(T-Bili), 총단백(TP), 알부민(Alb), 콜레스테롤(T-Chol), 트리글리세라이드(TG), 혈당(Glu)을 측정하였다.

장기중량 측정 및 병리 검사

모든 동물에 대하여 심장(Heart), 간(Liver), 폐(Lung), 비장(Spleen), 신장(Kidney), 부신(Adrenal), 흉선(Thymus), 기관(Trachea(기도, 식도, 갑상선포함)), 난소(Ovary), 자궁(Uterus)을 적출하고 각각의 장기에 대해 무게를 측정하고 포르말린 고정을 실시하고 조직 절편 작업과 슬라이드제작을 하고 염색을 실시하였다.

통계 처리

실험에서 얻어진 체중, 사료섭취량, 뇨량, 혈액학적 검사, 혈액생화학적 검사, 장기중량 결과는 SAS (version 9.2, SAS Institute Inc., U.S.A.)를 사용하여 검정하였다. 투여기간 및 시험군의 측정치에 대해서, Bartlett test를 실시하여 등분산성을 검정하였다(유의수준: 0.05). 등분산인 경우, One-way analysis of variance (ANOVA)를 실시하여 유의성(유의수준: 0.05)이 관찰되면 Dunnett's t-test의 다중검정을 실시하였다(유의수준: 양측 0.05 및 0.01). 등분산이 기각되면 Kruskal-Wallis test를 실시하여 유의성을 확인하였다(유의수준: 양측 0.05 및 0.01).

결과 및 고찰

체중변화

식용색소 적색 2호의 투여에 따른 랫드의 체중과 체중증가량의 차이를 나타내었다(Fig. 1).

투여 전 군분리 결과 체중은 대조군 112.6 ± 5.4 g, 저용량군 113.8 ± 5.9 g, 중간용량군 116.1 ± 5.2 g 그리고 고용량군 119.1 ± 4.3 g으로 크게 차이 나지 않았다. 마지막 주인 4주차 체중은 대조군 245.8 ± 24.1 g, 저용량군 241.8 ± 7.3 g, 중간용량군 243.9 ± 27.6 g, 고용량군 242.5 ± 27.6 g으로 군에 따른 체중 증가량이 크게 차이나지 않고 거의 유사한 증가량을 보임을 알 수 있었다(Fig. 1). 이 결과로 미루어 볼 때 대조군과 식용색소 적색2호를 투여한 시험군 간의 체중차이는 거의 없는 것으로 사료되며 장기 독성 시험에서는 각 시험군의 체중 증가량이 변화 할 수는 있으나 4

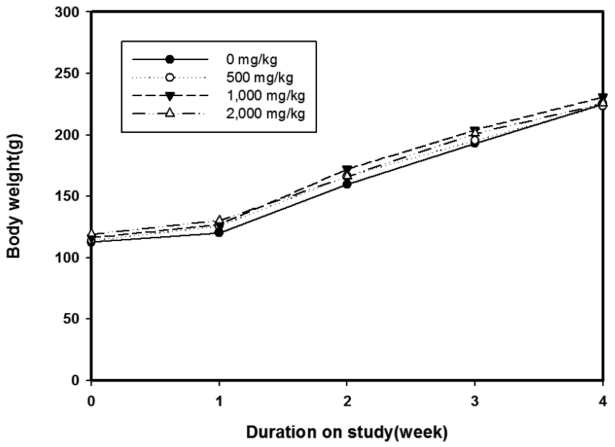

Fig. 1. Body weights of female SD rats orally treated with Food Red-No.2 for 4 weeks.

주 경구투여 독성시험에서는 체중의 큰 변화량을 찾지는 못함을 알 수 있었다.

또한 일일 섭취허용량(ADI)의 약 67배를 먹인 랫드에서 대조군과 비슷한 체중 증가량을 보였으므로 허용량 이하를 섭취할 경우에는 체중에는 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

사료섭취량 측정

각 시험군의 사료 섭취량은 Fig. 2와 같다.

대조군의 4주간 평균 사료 섭취량이 20.7 ± 2.4 g 으로 저용량 21.9 ± 2.1 g과 중간용량 21.0 ± 2.9 g, 고용량 21.6 ± 1.8 g과 거의 유사한 섭취량을 보였으며 사료 섭취량의 증가 현상은 Fig. 2와 같이 대조군과 시험물질 투여군들이 거의 비슷한 사료 섭취 증가량을 보였다. 또한 통계 검정 시에도 대조군과 비교 시 유의성 있는 사료 섭취량 변화는 관찰되지 않았다. 이 결과로 미루어 볼 때 대조군과 식용색소 적색 2호를 투여한 시험군의 사료 섭취량 차이는 거의 없으므로 식용색소 적색 2호는 사료의 섭취량에 영향을 주지 못하는 것으로 사료된다. 또한 13주 이상의 장기 독성 시험에서는 각 시험군의 사료 섭취량이 변화 할 수는 있으나 4주 경구투여 독성시험에서는 사료섭취량의 큰 변화량을 찾지는 못하였다.

일반증상관찰

일반증상 관찰은 4주간 모든 동물에 대하여 1일 1회 투여 후 일반증상을 관찰하고 1일 2회 사망동물의 유무를 확인하였다. 관찰기간 동안, 대조군 및 시험물질 투여군에서 사망례는 관찰되지 않았다. 또한, 투여 0일차에는 대조군 및 시험군에서 별다른 이상이 발견되지 않았지만 첫 투여를 한 다음날 오전 약물 혼입변(Compound-colored stool)이 대조군을 제외한 시험군에서 모두 나타났으며 이후 26일간 시험군에서 동일한 변 증상이 지속적으로 관찰 되었다.

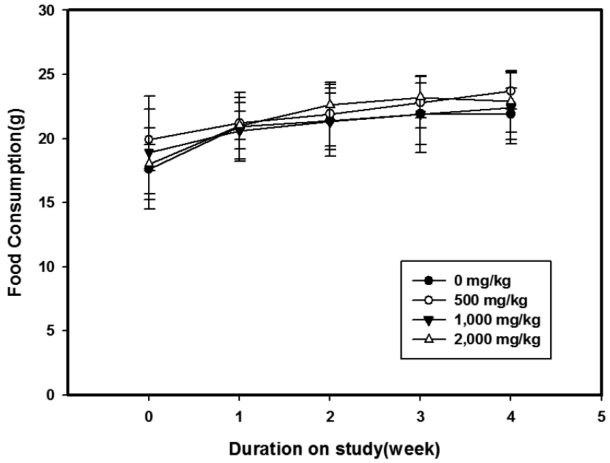

Fig. 2. Food consumption of female SD rats orally treated with Food Red-No.2 for 4 weeks.

대조군의 변의 형태는 딱딱한 타원형태가 관찰되지만 시험군의 변은 약간 시험물질이 포함된 점성이 있는 변이 관찰되며 변으로 배출된 시험물질과 뇨와 물이 반응하여 적색을 띄는 것을 관찰하였다. 그러나 투여 용량에 따른 변의 차이는 관찰되지 않았다. 이 결과로 미루어 볼 때 고용량의 시험물질을 섭취하여도 일정 농도만 흡수되고 흡수되지 못한 나머지 용량은 변을 통해 체외로 배출된다는 사실을 알 수 있었다.

뇨분석

투여 4주에 모든 동물에 대하여 뇨 검사를 실시하였다. 뇨는 알루미늄 뇨판을 이용해 배설 후 3시간 이내의 신선뇨를 채취하여 검사하였다.

뇨 검사 항목은 색깔, 투명도, pH, 단백(protein), 당(glucose), 케톤체(ketone body), 빌리루빈(bilirubin), 잠혈(occult blood)의 8항목으로서, 색깔은 대조군과 시험군에서 대부분 pale yellow색을 나타내었으며, 5마리만이 yellow색을 나타내었다. 투명도 또한 대부분이 clear 하였고, 2군에서 2마리, 3군에서 2마리, 4군에서 1마리가 mild turbidity를 나타내었으며, 4군에서 1마리가 turbidity를 나타내었다. pH는 대조군에서는 7~9의 수치를 나타내었으나 시험군에서는 6~9의 수치를 나타내었다. 단백 부분에서는 대조군은 없거나 25 mg/dL을 나타낸 반면 시험군에서는 없거나 25, 75 mg/dL를 보였다. 당에서는 대조군과 시험군 모두 Normal로 관찰되었고, 케톤체 또한 3군의 1마리가 5 mg/dL의 수치를 보인것을 제외하고는 전부 관찰되지 않았다. 빌리루빈은 대조군은 전부 관찰되지 않았지만 2군에서는 3마리, 3군에서는 4마리, 4군에서는 3마리가 1 mg/dL로 관찰되었고, 4군에서 한 마리가 3 mg/dL로 관찰되었다. 잠혈은 대조군 1마리가 10 Ery/μL로 관찰된것을 제외하고는 대조군 4마리, 시험군 모두가 관찰되지 않았다.

뇨검사 결과 모든 시험군에서 시험물질 투여로 인한 변화로 판단되는 소견은 관찰되지 않았으며 SAS (version 9.2, SAS Institute Inc., U.S.A.)를 사용하여 검정한 결과도 유의성이 나타나지 않았다.

이 결과로 미루어 볼 때 식용색소 적색 2호가 일정 농도 체내에 흡수되어 일련의 대사과정을 거쳐 변으로 배출되는 반면 뇨를 통해서는 식용색소 적색2호가 배출되지 않는다는 것을 알 수 있었다.

혈액학적 검사

모든 동물에 대하여 부검일에 isoflurane으로 마취하여 배대동맥으로부터 약 10 ml의 혈액을 채취하여 혈액학적 검사를 실시하였다. 채취한 혈액으로 적혈구수(RBC), 혈색소량(HGB), 헤마토크리트치(HCT), 평균적 혈구용적(MCV), 평균적 혈구 헤모글로빈량(MCH), 평균적 헤모글로빈농도(MCHC), 혈소판수(PLT), 백혈구수(WBC)를 측정

Table 1. Hematological values of female SD rats orally treated with Food Red-No.2 for 4 weeks

Group/ Dose(mg/kg)		RBC ($\times 10^6$ cells/μL)	HGB (g/dL)	HCT(%)	RBC Indices			PLT ($\times 10^3$ cells/μL)	WBC ($\times 10^3$ cells/μL)
					MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)		
0	Mean	6.79	13.6	39.8	58.7	20.0	34.1	1,566	5.64
	S.D.	0.49	0.4	1.3	2.4	0.8	0.2	305	1.26
	N	5	5	5	5	5	5	5	5
500	Mean	6.88	13.7	40.7	59.3	20.0	33.8	1,369	4.67
	S.D.	0.34	0.2	1.2	1.7	0.8	0.5	175	1.17
	N	5	5	5	5	5	5	5	5
1,000	Mean	6.85	13.9	41.2	60.2	20.3	33.8	1,522	5.95
	S.D.	0.24	0.7	2.0	1.5	0.4	0.4	165	1.37
	N	5	5	5	5	5	5	5	5
2,000	Mean	6.79	13.7	40.1	59.2	20.2	34.1	1,588	3.60
	S.D.	0.30	0.6	1.4	1.2	0.5	0.7	169	1.41
	N	5	5	5	5	5	5	5	5

Table 2. Serum biochemical values of female SD rats orally treated with Food Red-No.2 for 4 weeks

Group/ Dose(mg/kg)		ALT (U/L)	AST (U/L)	ALP (U/L)	BUN (mg/dL)	Crea (mg/dL)	T-Bil (mg/dL)	TP (g/dL)	Alb (g/dL)	A/G ratio	T-Chol (mg/dL)	TG (mg/dL)	Glu (mg/dL)
0	Mean	22.0	167.9	383.6	11.6	0.46	0.05	5.6	2.5	0.81	80	20	106
	S.D.	3.3	15.9	114.6	1.9	0.05	0.02	0.2	0.1	0.06	11	6	8
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
500	Mean	21.3	141.4	374.7	10.6	0.43	0.04	5.7	2.5	0.79	75	12	95
	S.D.	2.1	23.6	95.3	0.3	0.04	0.01	0.2	0.1	0.06	6	3	7
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1,000	Mean	18.9	106.9	350.9	12.4	0.43	0.05	5.8	2.6	0.80	75	15	98
	S.D.	2.2	14.6	96.6	1.8	0.04	0.01	0.1	0.1	0.05	11	6	8
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2,000	Mean	17.6	90.4	348.2	11.9	0.41	0.04	5.6	2.6	0.84	74	14	100
	S.D.	2.8	21.7	67.6	1.4	0.01	0.01	0.3	0.2	0.04	13	5	9
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

하였다. 대조군과 시험군의 평균값과 표준편차로 결과를 비교한 결과 시험물질에 의한 영향으로 판단되는 결과는 없었다(Table 1). 또한 SAS (version 9.2, SAS Institute Inc., U.S.A.)를 사용하여 검정한 결과도 유의성이 나타나지 않았다.

혈액 생화학적 검사 결과

배대동맥 혈액으로부터 분리한 혈장에서 혈액생화학분석기를 통해 실시한 여러 혈액 생화학적 지표인 알라닌 아미노기전이효소(ALT), 아스파테이트 아미노기전이효소(AST), 알칼라인 포스타타아제(ALP), 혈액요소질소(BUN), 크레아티닌(Crea), 총빌리루빈(T-Bili), 총단백(TP), 알부민(Alb), 총콜레스테롤(T-Chol), 트리글리세라이드(TG), 혈당(Glu)의 양을 측정한 결과, 대조군과 식용색소 적색 2호를 투여한 모든 군의 동물에서 정상 범위를 나타내었다(Table 2). 아미노기전이효소(ALT), 아스파테이트 아미노기전이효소(AST), 알칼라인 포스타타아제(ALP)가 용량에 따라 감소하는 경향을 보였으나 이는 정상범위내의 감소로써 통계학적 유의성이 나타나지 않아 투여물질에 의한 영향은 아닌 것으로 생각된다.

장기 중량 및 병리 검사 결과

시험기간 중 사망한 동물이 없었으므로 4주 투여 후 부검을 실시한 결과, 모든 동물의 장기 즉, 심장(Heart), 간(Liver), 폐(Lung), 비장(Spleen), 신장(Kidney), 부신(Adrenal), 흉선(Thymus), 기관(Trachea), 난소(Ovary), 자궁(Uterus)에

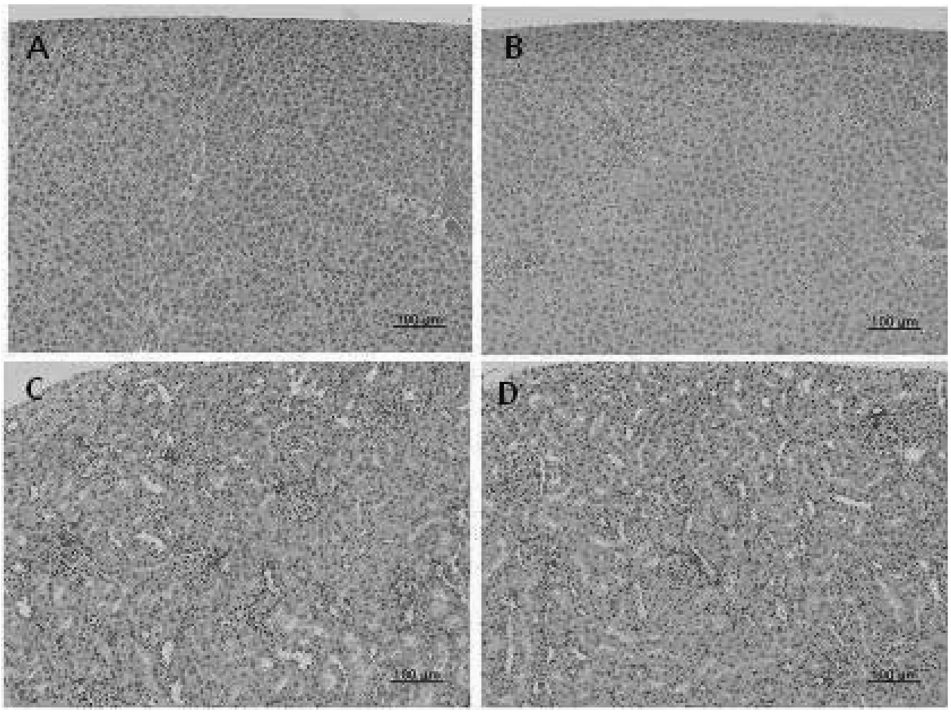

Fig. 3. Histological observation of female SD rats orally treated with Food Red-No.2 for 4 weeks. (A) Liver of 0 mg/kg group. (B) Liver of 2,000 mg/kg Red-No.2 group. (C) Kidney of 0 mg/kg group. (D) Kidney of 2,000 mg/kg Red-No.2 group.

서 유의성 있는 변화는 나타나지 않았다. 부검 시 식용색소 적색 2호를 투여한 군에서는 위와 장이 시험물질 색으로 착색되어 있는 것을 관찰 할 수 있었으나, 슬라이드 판독 결과 병리 조직학적 소견에서는 시험물질의 투여로 인해 발생되었다고 생각되는 장기나 조직의 변화는 관찰되지 않았다(Fig. 3). 한편, 모든 장기의 절대 장기중량(absolute organ weight)과 상대 장기중량(relative organ weight)을 비교한 결과(Table 3, 4) 대조군과 시험물질 투여군 모두에서 변화가 없는 것으로 나타났다.

요 약

우리나라에서 식품위생법이 처음 공표된 1962년에는 허용된 식용색소가 19종이었으나 독성 또는 안전성의 이유로 약 40년이 경과된 현재에는 9종이 허용 되고 있다[11]. 또한 각국의 합성 착색료의 관리실태를 알아보면 미국은 착색료를 CFR (code of federal regulation)에서 별도 관리하고 있고, 유럽연합은 지침(european parliament and council directive 94/36/EC)으로 관리하고 있으며, 각 지침에는 사

Table 3. Absolute organ weights of female SD rats orally treated with Food Red-No.2 for 4 weeks

Dose(mg/kg)		Heart	Liver	Kidney	Thymus	Ovary	Lung	Spleen	Adrenal	Uterus	Trachea
0	Mean(mg)	879	7,178	1,779	599	100	1,240	544	66	495	1,526
	S.D.	139	962	233	104	18	183	100	4	128	198
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
500	Mean(mg)	866	6,807	1,887	411	102	1,252	521	69	555	1,609
	S.D	91	222	80	219	14	80	59	6	330	104
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1,000	Mean(mg)	918	6,772	1,812	603	83	1,243	509	75	492	1,638
	S.D	100	938	244	190	12	136	71	3	132	129
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2,000	Mean(mg)	893	6,786	1,966	597	94	1,188	502	68	573	1,485
	S.D	86	884	188	189	6	117	112	7	239	138
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

Table 4. Relative organ weights of female SD rats orally treated with Food Red-No.2 for 4 weeks

Dose(mg/kg)		Heart	Liver	Kidney	Thymus	Ovary	Lung	Spleen	Adrenal	Uterus	Trachea
0	Mean(mg)	314	2,566	636	214	36	444	196	24	178	548
	S.D.	62	416	90	40	11	65	42	5	54	101
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
500	Mean(mg)	298	2,348	654	168	34	434	178	22	196	556
	S.D	46	153	39	29	5	29	24	4	126	32
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
1,000	Mean(mg)	324	2,402	644	216	30	440	180	30	174	578
	S.D	43	384	102	72	7	57	29	0	51	54
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
2,000	Mean(mg)	314	2,406	694	212	32	418	180	24	202	526
	S.D	36	361	67	71	4	47	41	5	88	58
	N	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

용가능한 첨가물의 목록과 번호 및 사용기준 등이 목록화 되어 있다[12]. 일본은 착색료로 사용을 허용하고 있는 품목의 경우 후생성 고시를 통해 관리하고 있다. 우리나라는 별도로 식품 첨가물 공전(2007)에서 9종의 산성 수용성이고 유기용매에는 거의 녹지 않는 타르색소 (녹색 제3호, 청색 제1호, 청색 제2호, 적색 제2호, 적색 제3호, 적색 제40호, 적색 제 102호, 황색 제4호 황색 제5호) 및 물에 잘 녹지 않도록 만든 알루미늄 레이크 (적색 제3호, 적색 제102호 제외) 7 종의 사용을 허용하고 있다[7].

현재 논란이 되고 있는 식용 타르색소의 동물실험에서 발암성이 발견된 이유로 미국 및 여러 국가들에서 사용이 금지된 식용색소 적색 제3호, 적색 제40호, 황색 제4호 및 청색 제1호가 있다. 뿐만 아니라 타르색소에 노출에 의해 황색 4호 + 청색1호의 병용 조합 경우 해마 신경세포의 흥분 독성에 대한 감수성에 영향을 준다는 보고가 있다[13].

국내외에서 금지하는 타르색소와 그 이유는 적색1호는 간 장애, 간 종양 적색4호는 부신 위축, 방광염 적색5호는 간, 비장 장애 등색1호는 신장의 출혈, 비장 비대 등색2호는 간장, 심장 장애 황색2호는 빈혈, 복수증, 간장장애, 발암성 녹색1호는 장기간 섭취시 만성 독성유발 녹색2호는 종양 유발 자색1호는 종양유발 황색1호는 장관 궤양 신장장애를 일으키는 이유로 금지하고 있다[13].

1950년 미국에서 발생한 인공색소 오렌지1호(FD&C orange NO.1)의 과용에 의한 어린이 집단 중독 사건을 계기로 타르색소의 독성에 대한 재 검토가 시작되어 우리나라를 비롯한 여러 나라에서 계속적으로 연구되고 있다[14,15]. 그 결과 식용색소 적색2호는 1976년 미국에서 발암성이 있다는 이유로 식품에의 사용이 금지되었고 적색3호의 경우도 미국식품의약품안전청(FDA)에서 발암성 판정을 받은 바 있으며 FAO/WHO에서 권장하는 일일허용섭취량[16]도 각 색소마다 차이가 있다. 우리나라에서의 식용색소 적색2호의 일일허용섭취량은 0~0.5 mg/kg/day로 적용하며 미국에서 사용 금지된 적색2호는 우리나라의 경우 어린이들이 좋아하는 식품 등에 빈번하게 사용되고 있음은 물론 타르색소를 다량 첨가하고도 명칭과 용도를 제대로 표시하지 않은 제품이 많아 소비자에게 식품 선택 시 정확한 정보를 제공하지 못하고 있었다. 따라서 어린이 선호 식품뿐만 아니라 항상 섭취하는 식품은 타르색소의 안전성을 파악하고 사용색소와 더불어 사용량을 규제하는 것이 바람직하며 홍보, 교육, 감시, 표시기준 관리 등으로 다각적인 관리가 이루어져야 할 것으로 사료 된다[17]. 천연색소는 양도 적고 가격도 비싼데 비해 석유의 타르에서 합성된 타르색소는 안전성도 높다고 알려졌고, 가격이 저렴하기 때문에 구매 효과나 섭취의욕을 높이기 위해 타르색소가 사용된다. 식용색소 적색2호는 식품의 색상을 아름답게 하여 제품의 가치를 높이기 위한 수단으로 가공 단계에서 다양하게 사용되고 있다[18]. 따라서 식품 중에 첨가된 식용색소 적색2호에 대한 정확한 안전성과 독성을 알아보기 위하여 이 실험을 연구하게 되었으며 이에 본 연구에서는 시중에서 유통되는 사탕, 청량음료, 빙과, 껌 등[19]에 주로 첨가된 식용 색소 적색2호를 SD 랫드를 이용해서 식용색소 적색2호를 지속적으로 다량 섭취하였을 때 SD 랫드에 미치는 영향을 연구함으로써 우리 몸에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

가공식품을 많이 먹는 우리 어린이와 비슷한 4 주령의 랫드를 임상 적용 용량의 최대 67배를 4주간 꾸준히 경구투여 하였다. 그 결과 4주간 대조군과 시험군 간의 체중차이는 나타나지 않았으며, 사료섭취량도 별다른 점이 없었다. 투여 후 1일부터 변 증상이 관찰되었는데 이는 시험물질의 영향으로 점액성이 있는 적색변을 배설 하였으며 물이나 뇨가 묻게 되면 적색변과 반응하여 색이 변하게 되는 것을 알 수 있었다. 뇨검사 결과는 별다른 이상소견이 발견되지 않았으며 뇨에서는 시험물질이 흡수, 배설되지 않는다는 것을 알 수 있었다. 혈액학적 검사에서도 별다른

소견이 나타나지 않았으며 혈액생화학적 검사에서는 간 수치를 나타내는 ALT가 22.0 U/L, 21.3 U/L, 18.9 U/L, 17.6 U/L으로 대조군에서 저용량군, 중간용량군, 고용량군으로 갈수록 수치가 낮아지는 것을 알 수 있었으며 AST도 167.9 U/L, 141.4 U/L, 106.9 U/L, 90.4 U/L으로 대조군에서 저용량군, 중간용량군, 고용량군으로 갈수록 수치가 낮아지는 것을 볼 수 있었다. ALP도 383.6 U/L, 374.7 U/L, 350.9 U/L, 348.2 U/L으로 대조군에서 저용량군, 중간용량군, 고용량군으로 갈수록 수치가 낮아지는 것을 볼 수 있었다. 이 결과로 미루어 볼 때 4주간 반복투여를 통해서는 육안적으로나 수치상으로 별다른 소견이 나타나지 않았지만 아직 면역력이 약한 우리 어린이들이 주로 생활하는 학교나 학원주변에서 무분별하게 판매되고 있는 껌, 빙과류, 청량음료, 캔디류, 초콜릿류 등의 기호식품들을 다량 오래 섭취하게 된다면 큰 문제를 일으킬 수도 있을 것으로 사료되며 성인들도 장기간 다량 복용 시에는 식용색소 적색2호가 간에 손상을 입힐 것으로 사료된다.

장기 중량 및 병리 검사를 통해서는 4주간 사육된 랫드를 해부하여 얻은 각각의 장기 무게를 측정하고 육안적 검사와 병리검사를 실시한 결과 먼저 육안적으로 위와 장에서 시험물질로 인해 내부가 착색이 된 것을 알 수 있었다. 하지만 각각의 장기 중량을 측정한 결과도 대조군과 시험군간의 무게 차이는 별다른 차이를 발견하지 못하였다.

모든 결과를 종합해 볼 때 4주간 임상 적용 용량의 67배를 투여한 결과는 별다른 이상을 발견하지 못하였고 ALT, AST 수치가 점점 낮아지는 이러한 변화는 독성학적으로 의미 있다고 판단하기는 어렵다. 그러나 이러한 일부 변화에 대한 정확한 독성 규명과 식용색소 적색 2호의 안전성에 대한 확립을 위하여 향후 보완적인 장기독성 실험이나 발암성 시험이 진행되어야 할 것이며 정부 차원에서는 기호식품에 잠재적 독성을 가지고 있는 타르색소를 무분별하게 사용하는 기업에 대해 강력한 단속 및 규제를 해야 할 것이다.

기업들도 이러한 타르색소 대신 천연색소를 쓰도록 노력해야 할 것이며 또한 식품색소는 한 가지 타르색소의 사용보다는 한 가지 이상의 색소가 복합적으로 사용되고 있으므로, 현재 우리나라의 타르색소 기준을 개선하여 최대 사용 허용량에 대한 기준을 설정하는 것이 보다 적합한 것으로 판단되어진다.

참고문헌

1. 식품의약품안전청: KFDA. food additives code (2007).
2. 식품 의약품 안전청: 어린이가 즐겨먹는 식품에 적색2호 사용금지 조치, 타르색소의 ADI (2010).
3. IPCS Food and Agriculture Organization: FAO. Summary of Evaluations preformed by the joint FAO/WHO expert committee food additives (JECFA) (1999).
4. JMHW. The japanese standards for food additives 7th ed. Ministry of Health and Welfare, Tokyo Japan (1999).
5. Nutriscan. Options for the routine collection of data on usage level of food additives in the european union. Nutriscan ltd., Dub-lin, Ireland (1994).
6. NARA. Code of federal regulation. national archives and records administration, washington DC, USA (1996).
7. Kim, HY., Nam, HS., Jung, YH., Lee, JH., and Ha, SC.: Tar Colors in Foods Distributed Throughout the Gyeong-In Region - Monitoring Favorite Food Items of Children Near Elementary Schools. *Koren J. Food Sci. Technol.,* **40**, 243-250 (2008).
8. 식품 의약품 안전청: 식품 중 식용타르색소 안전한 수준 10년 식용타르색소 섭취 안전성 평가 결과 (2011).
9. 식품 의약품 안전청: 학교 주변 어린이 기호 식품에 사용되는 적색2호 사용실태 (2009).
10. 식품 의약품 안전청: 어린이가 즐겨먹는 식품에 적색2호 사용금지 조치 (2007).
11. Yoon, MH., Kim, KJ., Kim CY., Hwang, SI., Moon, SK., Jeong, EJ., and Kim, JK.: Evaluation of Tar Dyes Used in Commercial Foods. *J. Fd Hyg. Safety.,* **15**, 108-113 (2000).
12. Korea Institution of Food Sanitation: Study on the application of chemically synthetic food additives in foods. Ministry of Health and Welfare. (1997).
13. 식품 의약품 안전청: 식품 중 타르계 색소의 사용 실태 조사 (2005)
14. Konishi, H: 培養細胞を用いた Xanthene系 色素の 光毒性 研究, 信州醫誌 (1981).
15. Ha, KW., Jung HK., Oh HY., Heo, OS., Sohn SJ., Han, ES., Jung, SC., Han, SY., Choi, SJ., and Cho, YH.: Mutagenicity studies of food and cosmetic dyes(1), *Kor. J. Food Hygiene.*, **8**, 171-179 (1993).
16. KMHW. Report on 2001 national health and nutrition survey. Ministry of Health & Welfare. Nutrition survey, Seoul Korea (2002).
17. 식품 의약품 안전청: 식품의약품 안전청 고시 제 2007-74호 식품 첨가물의 기준 및 규격 중 개정 (2007).
18. Yoon, MH., Kim, KJ., Kim, JY., Hwang, SI., Moon, SK., Jeong, EJ., and Kim, JK.: Evaluation of tar dyes used in commercial foods. 1, *J. Fd Hyg. Safety.,* **15,** 108-113 (2000).
19. Lee, SY.: 식용타르색소 *Safe Food.,* **4**, 76-78 (2009).
20. 두산백과 두피디아: 식용색소적색 제2호 (2010).