Check for updates

생 약 학 회 지
Kor. J. Pharmacogn. 57(3) : 182 ~ 193 (2026)
https://doi.org/10.22889/KJP.2026.57.3.182

HPLC-PDA를 이용한 한약재 중 적색 및 황색 계열 타르색소 10종 동시분석법 검증

송수빈[1] · 김진철[1] · 이성미[1] · 황인영[1] · 김종환[1] · 김규헌[2] · 황진희[3] · 김지연[1]*
[1]식품의약품안전평가원 의료제품연구부 생약연구과,
[2]의료제품연구부 의약품연구과, [3]독성평가연구부 독성연구과

Validation of a Simultaneous Determination of 10 Red and Yellow Synthetic Dyes Using HPLC-PDA in Herbal Medicines

Soobin Song[1], Jinchul Kim[1], Seong Mi Lee[1], InYeong Hwang[1], Jonghwan Kim[1], Kyu-Heon Kim[2], Jinhee Hwang[3], and Jiyeon Kim[1]*
[1]Herbal Medicine Research Division, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Chungcheongbuk-do 28159, Korea
[2]Drug Research Division, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Chungcheongbuk-do 28159, Korea
[3]Toxicological Research Division, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Chungcheongbuk-do 28159, Korea

Abstract – The adulteration of herbal medicines with synthetic colorants to enhance marketability has been reported, and concerns regarding such practices persist. Although previous validation by our organization was limited to fruit matrices—thereby failing to represent the chemically diverse and complex matrices of various medicinal plant parts—this study successfully addressed this limitation by extending the application of the HPLC-PDA method to 10 red and yellow synthetic dyes across eight herbal matrices, including roots, stems, fruits, and resins. The target dyes were extracted via dual ultrasonication using 70% aqueous methanol containing 100 mM ammonium acetate and separated by gradient elution. The method demonstrated reliable performance with high linearity ($R^2 \geq 0.997$), and the results met the AOAC validation criteria, with recoveries ranging from 75% to 120% and precision (RSD) within 11%. Following external validation to confirm the procedure's reliability, the method was applied to 166 commercial samples, and the target dyes were not detected in any of the analyzed samples. Ultimately, this method has been officially adopted into the General Tests section of the Korean Pharmacopoeia (KP), providing a comprehensive scientific framework for the standardized quality control and safety management of herbal medicines.

Keywords – Herbal medicine, HPLC-PDA, Korean pharmacopoeia, Monitoring, Synthetic dyes, Validation

한약재(생약)는 질병의 치료뿐만 아니라 건강 증진 등 다양한 분야에서 광범위하게 사용되므로, 유통 과정 전반에 걸친 철저한 품질 및 안전성 확보가 필수적이다.[1)] 합성색소는 제품의 외관을 향상하고 생산 단가가 저렴하여 식품, 건강기능식품, 의약품 등에 자주 사용되고 있으며 한약재의 상품성을 높일 목적으로 불법적으로 착색하는 행위가 발생할 우려가 있다.[2,3)] 특히 타르색소는 석유계 원료에서 유래한 합성 유기색소로 착색력이 매우 강해 식품이나 의약품 분야에서 널리 사용되고 있으며, 국내의 경우 식품의약품안전처 고시 「의약품등의 타르색소 지정과 기준 및 시험방법」에 따라 의약품 및 의약외품에 사용할 수 있는 타르색소의 종류와 기준, 시험방법을 제도적으로 규정하여 엄격히 관리하고 있다.

그러나 합성색소가 허용 대상 및 사용 기준을 위반하여 사용되거나, 인체 사용이 금지된 색소가 한약재에 혼입될 경우 심각한 안전성 문제가 야기될 수 있다. 유럽식품안전청(EFSA)은 타르색소인 황색 4호(Tartrazine)에 대하여 일부 인구 집단에서 불내성(intolerance) 반응을 유발할 수 있음을 지적한

*교신저자(E-mail) : smile75@korea.kr
(Tel) : +82-43-719-4801

바 있으며,[4] 유럽연합(EU)은 황색 4호 및 황색 5호(Sunset Yellow), 아조루빈(Azorubine), 적색 102호(New Coccine) 등 특정 합성색소가 함유된 식품에 대해 어린이의 활동 및 주의력에 부정적인 영향을 미칠 수 있다는 경고 문구 표시를 의무화하고 있다.[5] 또한 오라민 O(Auramine O)는 국제암연구소(IARC)에 의해 인체 발암 가능 물질(Group 2B)로 분류되어 있으며,[6] 적색 3호(Erythrosin B) 또한 호르몬 작용을 교란시켜 갑상샘 종양의 발생 빈도를 높인다는 연구가 있다.[7] 따라서 이러한 위해 물질이 한약재에 혼입되면 환자의 건강에 직접적인 악영향을 미칠 수 있으므로 철저한 관리가 요구된다.

한약재는 품목별로 기원 식물과 함유 성분(기질, matrix)이 매우 다양하여 육안 관찰만으로는 불법 착색 여부를 명확히 식별하기 어렵고, 오용될 수 있는 합성색소의 종류가 광범위하여 표준화된 기기분석법에 기반한 과학적 검증이 필수적이다.[8] 해외에서도 한약재의 불법 착색 사례가 지속적으로 보고되고 있으며, 이에 따라 본 기관에서도 선행 연구를 통해 황색 4호, 오라민 O, 적색 102호, 메타닐 옐로우(Metanil Yellow), 등색 205호(Orange II), 애시드 레드 73(Acid Red 73) 등 중국에서 한약재에 사용 이력이 있는 타르색소를 대상으로 HPLC 기반의 분석법을 활용하여 오염도를 조사한 바 있다.[9,10,11] 그러나 기존 선행 연구는 과실류 품목에 대해서만 분석법 검증이 완료되어 뿌리, 줄기, 잎 등 다른 약용 부위에 대한 분석법 검증과 실제 유통 단계에서의 혼입 실태 연구가 시급하다.

이에 본 연구에서는 HPLC 기반의 합성색소 분석법을 바탕으로 근경류, 목재, 수지류 등 약용 부위에 대한 한약재 중 적색 및 황색 계열 타르색소 10종 동시분석법을 검증하고 적용성이 확인된 품목의 유통품을 실태 조사하여 국내 한약재 안전관리를 위한 과학적 근거를 마련하고자 한다.

재료 및 방법

실험재료 – 실험에 사용된 한약재들은 외국 타르색소 검출 이력과 전문가 의견을 바탕으로 대황(뿌리, 뿌리줄기), 위령선(뿌리, 뿌리줄기), 소목(심재), 숙지황(뿌리), 구기자(열매), 복분자(열매), 몰약(수지류), 유향(수지류) 8품목을 선정하였고 품목별로 10건 이상씩 구매하여 오염도 조사에 사용하였다.

표준물질 – 분석 대상 적색 및 황색 계열 타르색소 10종의 정보는 다음과 같으며, 표준물질의 구조 및 UV/VIS spectrum을 Fig. 1과 Fig. 2에 나타내었다. (1) Tartrazine (CAS No. 1934-21-0, Sigma-Aldrich, purity ≥ 99%), (2) Auramine O (CAS No. 2465-27-2, Sigma-Aldrich, purity ≥ 99%), (3) Metanil Yellow (CAS No. 587-98-4, Sigma-Aldrich, purity ≥ 98%), (4) Amaranth (CAS No. 915-67-3, Sigma-Aldrich, purity ≥ 98%), (5) New Coccine (CAS No. 2611-82-7, Sigma-Aldrich, purity

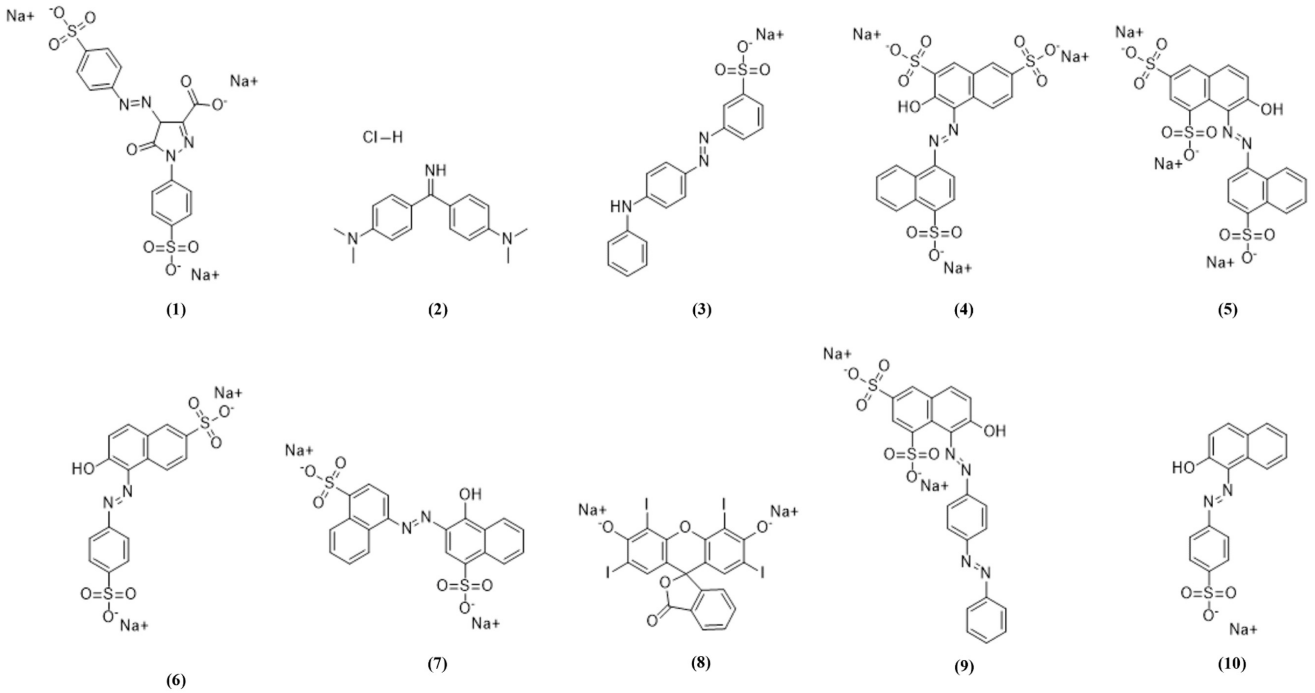


Fig. 1. Chemical structures of the red-yellow synthetic dyes: (1) Tartrazine, (2) Auramine O, (3) Metanil Yellow, (4) Amaranth, (5) New Coccine, (6) Sunset Yellow, (7) Azorubine, (8) Erythrosin B, (9) Acid Red 73, (10) Orange II.

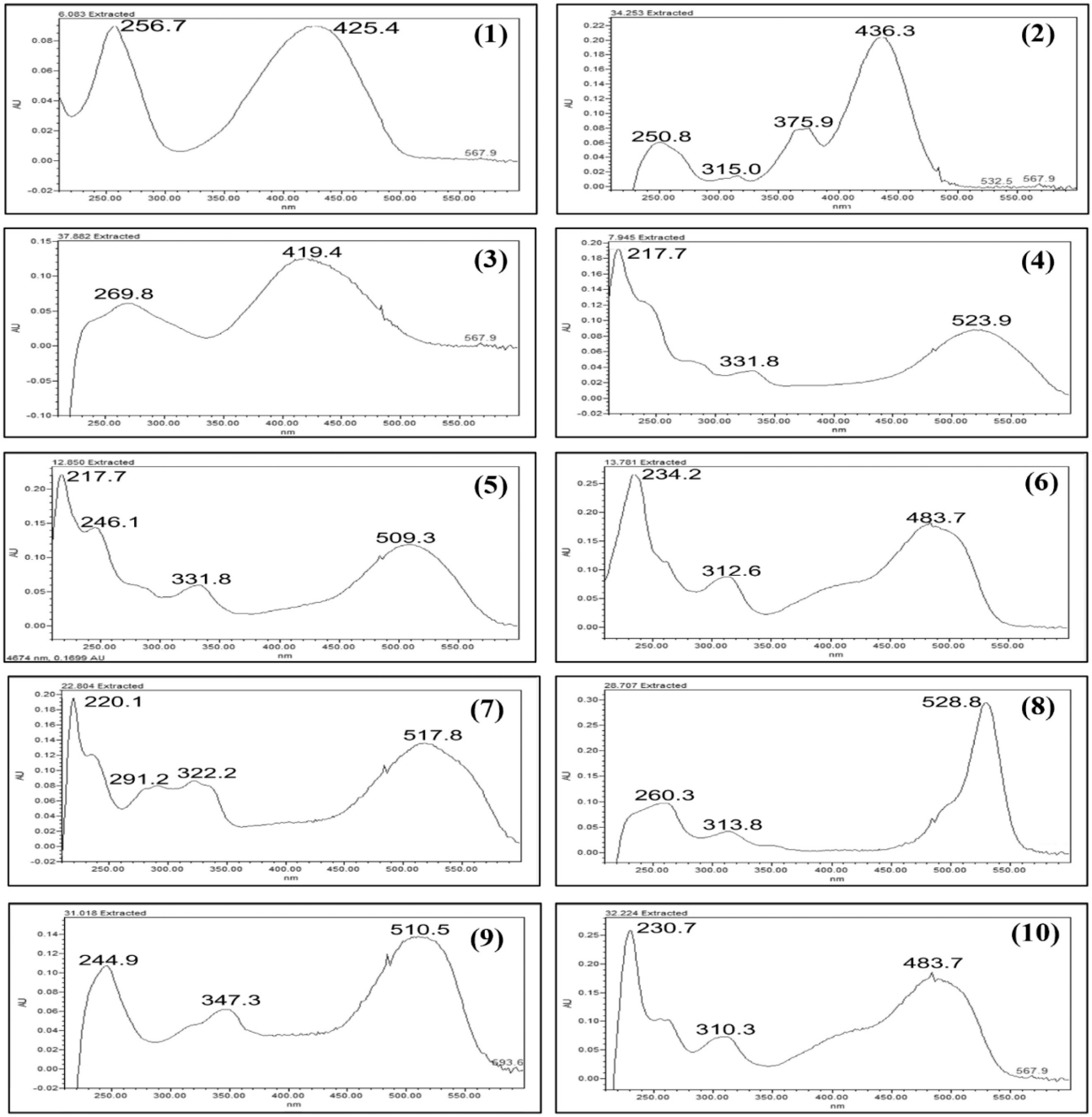


Fig. 2. UV/VIS spectra of the red-yellow synthetic dyes: (1) Tartrazine, (2) Auramine O, (3) Metanil Yellow, (4) Amaranth, (5) New Coccine, (6) Sunset Yellow, (7) Azorubine, (8) Erythrosin B, (9) Acid Red 73, (10) Orange II.

≥ 99%), (6) Sunset Yellow (CAS No. 2783-94-0, Sigma-Aldrich, purity ≥ 95%), (7) Azorubine (CAS No. 3567-69-9, Sigma-Aldrich, purity ≥ 98%), (8) Erythrosin B (CAS No. 16423-68-0, Sigma-Aldrich, purity ≥ 98%), (9) Acid Red 73 (CAS No. 5413-75-2, Sigma-Aldrich, purity ≥ 97%), (10) Orange II (CAS No. 633-96-5, Sigma-Aldrich, purity ≥ 98%)

시약 – HPLC 분석을 위해 acetonitrile (gradient grade for liquid chromatography, 4 L, Merck, Germany), ethyl acetate (gradient grade for liquid chromatography, 4 L, Merck, Germany), methanol (gradient grade for liquid chromatography, 4 L, Merck, Germany), ammonium acetate (Sigma-Aldrich, Germany)를 사용하였다.

표준액 조제 – 색소표준품 10종을 25.0 mg씩 정밀하게 달아 10 mL 정량플라스크에 각각 넣은 후, 각 색소의 용해도에 따라 황색 4호, 적색 102호, 적색 2호, 황색 5호, 아조루빈, 애시드 레드 73, 등색 205호 색소는 70% 메탄올 용매를, 오라민 O, 메타닐 옐로우, 적색 3호 색소는 100% 메탄올 용매를 사용하여 단일 색소표준원액(2,500 μg/mL)을 조제하였다. 단일 색소표준원액을 각각 동일량을 취해 혼합하여 10종 혼합색소 표준용액(250 μg/mL)으로 조제하였다. 혼합색소 표준용액은 직사광선이 닿지 않는 4℃ 이하에서 냉장 보관 시 1개월 이상 안정하였다. 검량선 작성을 위해 혼합색소 표준원액을 70% 메탄올로 희석하여 1, 5, 10, 20, 40 μg/mL 농도의 표준용액으로 조제하였다.

시험액 조제 – 검체 2.0 g을 정밀하게 달아 100 mM 아세트산암모늄이 포함된 70% 메탄올 20 mL를 넣고 30분 초음파 추출한 후, 원심분리(4000 × *g*, 10분)하여 상층액 1을 취한다. 남은 침전물에 100 mM 아세트산암모늄이 포함된 70% 메탄올 20 mL를 첨가하여 30분 초음파 추출한 다음, 원심분리하여 상층액 2를 취한다. 상층액 1과 2를 합하여 최종 부피 40 mL가 되도록 100 mM 아세트산암모늄이 포함된 70% 메탄올을 첨가하여 정용한다. 이 용액을 0.45 μm의 PTFE 시린지 필터를 이용하여 여과 후 HPLC 분석용 검액으로 사용하였다. 시험액 분석 결과 분석 대상 색소의 함량이 검량선의 범위를 벗어나는 경우, 100 mM 아세트산암모늄이 포함된 70% 메탄올을 이용해 검액을 희석하여 분석하였다. 시료 중 대상 색소의 함량(μg/g)은 HPLC 분석을 통해 얻은 피크 면적값을 검량선에 대입하여 얻은 색소의 농도(μg/mL)에 총 추출용매 최종 부피와 희석 배수를 곱한 뒤, 시료의 채취량으로 나누어 환산하였다.

분석조건 – 한약재 중 적색 및 황색 계열 타르색소 10종 동시 분석법은 Photodiode Array Detector (PDA)가 장착된 HPLC (ARC, Waters, co.)를 통해 분석되었다(Table I). 분석칼럼은 UG120 Column C18 (4.6 mm × 250 mm, 5 μm)을 사용하였고, 이동상은 0.05 M ammonium acetate (A)와 acetonitrile (B)를 사용하여 1.0 mL/min의 유량으로 컬럼 온도는 30℃를 유지하였다. 검출파장은 분석물질별로 428 및 500 nm로 하였으며 gradient condition으로 시료 10 μL를 주입하여 분석하였다.

분석법 검증 – 분석법의 유효성 검증(method validation)은 의약품 등 시험방법 밸리데이션 가이드라인[12]과 AOAC Official Methods of Analysis 가이드라인[13]을 근거로 하여 특이성(specificity), 직선성(linearity), 정확성(accuracy) 및 정밀성(precision)을 조사하고 검출한계(limit of detection, LOD)와 정량한계(limit of quantification, LOQ)를 평가하여 분석법을 검증하였다.

a) 특이성(specificity) – 적색 및 황색 계열 타르색소 10종 성분을 선택적으로 정확하게 측정할 수 있는 능력으로 혼합표준용액과 시험용액을 HPLC로 분석하여 크로마토그램상의 머무름 시간(retention time)과 PDA spectrum을 비교하였다.

b) 직선성(linearity) – 타르색소 분석법의 시험방법이 일정한 범위 내에 있는 농도에 대해 직선적인 측정값을 얻어낼 수 있는 능력으로 표준용액을 1.0~40.0 μg/mL 농도 범위 내에서 5개 농도로 제조하고 HPLC 분석 후 검출성분의 피크 면적과 표준용액 농도 간의 검량선을 작성하여 상관계수(correlation coefficient, R^2)를 확인하였다.

c) 정확성(accuracy) – 분석물질의 이론값과 분석법에 의해 얻은 측정값의 근접한 정도를 확인하는 방법으로, 농도를 알고 있는 시험용액에 표준용액을 저농도, 중농도, 고농도로 첨가하여 HPLC로 농도별 3회 반복 분석하였다. 시험용액에 첨가된 표준용액의 이론값과 실측값에 대한 회수율(recovery,

Table I. HPLC conditions for the analysis of the red-yellow synthetic dyes

Instrument	HPLC		
Detector	PDA (Photodiode Array Detector)		
Column	SHISEIDO C18 UG120 (250 mm × 4.6 mm i.d., 5 μm)		
Mobile phase	Time (min.)	0.05 M ammonium acetate	Acetonitrile
	0	95	5
	40	55	45
	45	55	45
	46	0	100
	50	0	100
Flow rate	1.0 mL/min		
Column temp.	30 ℃		
Injection vol.	10 μL		
Detection λ	428 nm	Tartrazine, Auramine O, Metanil yellow	
	500 nm	Amaranth, New Coccine, Sunset yellow, Azorubine, Erythrosin B, Acid Red 73, Orange II	

%)을 구하여 기준에 적합한지 확인하였다.

d) 정밀성(precision) – 균일한 검체로부터 여러 번 채취하여 얻은 검체를 정해진 조건에 따라 측정하였을 때 각각의 측정값들 사이의 분산정도를 말하는 것으로, 일정 농도로 조제한 시험용액에 대해 HPLC로 반복 측정하여 반복성(repeatability)을 확인하였고 서로 다른 실험실에서 하나의 동일한 검체로부터 얻은 측정값들 사이의 근접성인 실험실간 정밀성(reproducibility)을 통해 재현성을 확인하였다.

정확성 및 정밀성은 표준물질을 기질에 첨가하는 방법(standard spiking)을 이용하였다. 색소가 함유되지 않은 한약재에 정량범위 내의 표준액을 가하여 최종농도가 색소별로 5, 10, 25 μg/mL가 되도록 첨가하고, '표준액 조제' 방법에 따라 표준시료를 조제하였다. 기질 2 g을 '시험액 조제' 방법에 따라 조제하여 대조액으로 사용하였다. 이를 농도별로 각각 3개씩 준비하여 서로 다른 세 날짜에 측정하고 각각의 측정 결과로부터 회수율을 계산하였다.

e) 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ) – 검출한계는 검체 중에 존재하는 분석대상물질의 검출 가능한 최소량을 말하며 정량한계는 적절한 정밀성과 정확성을 가진 정량값으로 표현할 수 있는 검체 중 분석대상물질의 최소량을 말한다. 직선성의 검증을 통해 얻은 검량선의 기울기와 표준편차를 통해 검출한계 및 정량한계를 구하였으며, 각 성분에 대한 검출한계와 정량한계는 표준용액의 크로마토그램을 사용하였고 직선성 검증으로 구한 검량선의 기울기(slope)와 y절편의 표준편차(standard deviation)를 통해 산출하였다. 정량한계 $10 \times \sigma / s$ (σ: 표준편차, s: 검량선의 기울기), 검출한계 $3.3 \times \sigma / s$ 식을 이용하여 확인하였다.

오염도 조사 – 유통품을 품목당 10건 이상 총 166건(대황 23건, 소목 20건, 숙지황 29건, 위령선 21건, 구기자 30건, 몰약 13건, 복분자 19건, 유향 11건)을 수집하여 한약재의 타르색소 사용 여부를 조사하였다.

실험실간 교차검증 – 시험방법을 표준화할 필요가 있을 경우에는 교차검증을 통한 재현성의 평가가 필요하며, 따라서 본 연구에서 확립된 HPLC 분석법의 신뢰성을 확인하기 위해 외부기관과의 분석법 교차검증을 수행하였다.

결과 및 고찰

특이성 검증 – 특이성 검증은 표준용액과 전처리한 시료에서의 분리도 및 머무름 시간을 확인하기 위해 표준용액과 시료 전처리를 동일한 방법으로 처리한 한약재 추출물의 크로마토그램을 비교하였다. 대황, 소목, 숙지황, 위령선, 구기자, 몰약, 복분자, 유향 8품목 중에서 적색 및 황색 계열 타르색소 10종의 크로마토그램을 비교한 결과 다른 물질 간섭 없이 타르색소 10종이 분리된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 3~4). 표준용액과 전처리 용액에서 분석 대상 성분 10종의 머

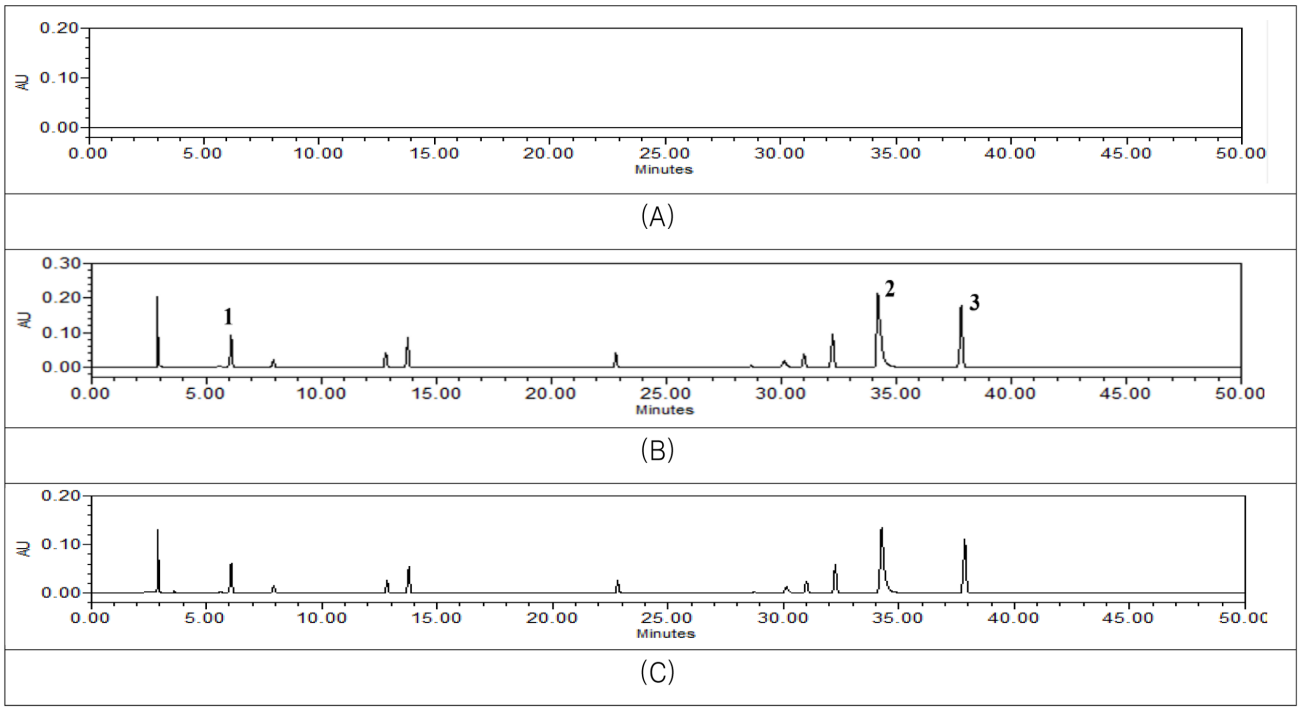


Fig. 3. HPLC chromatograms of Lycii Fructus demonstrating method specificity (428 nm): (A) Blank sample solution, (B) Standard solution, (C) Blank sample solution added with standard solutions.

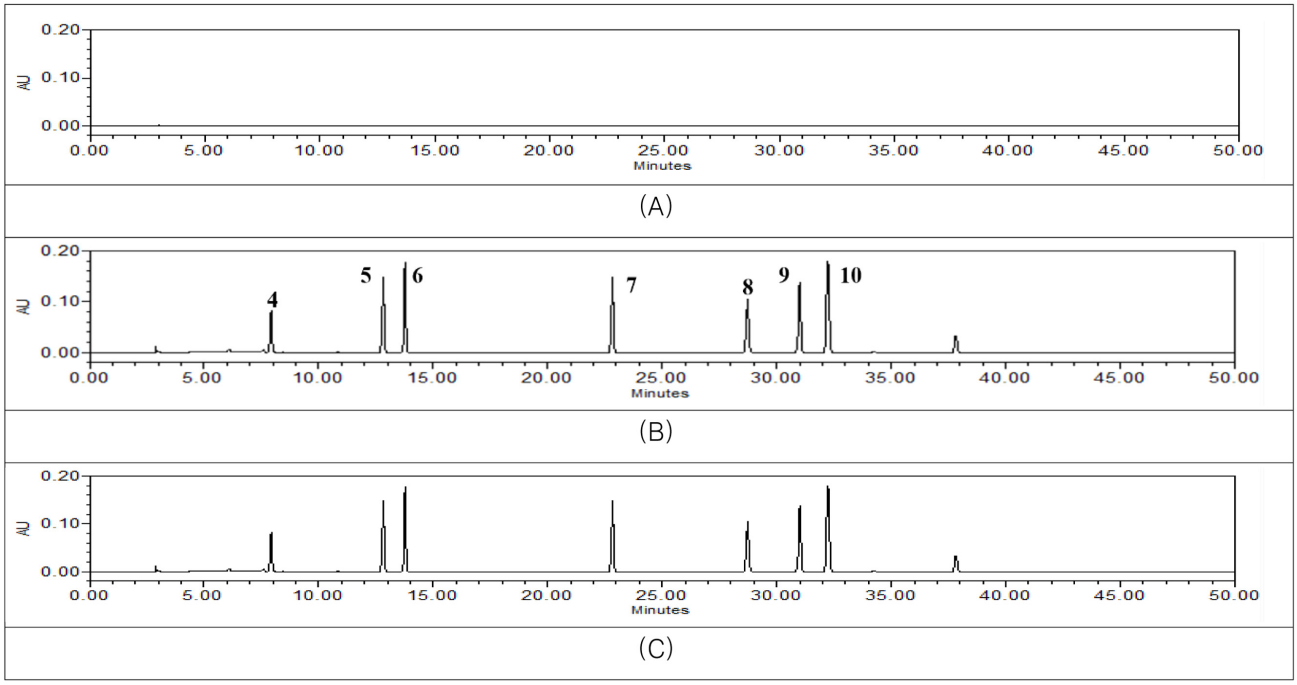


Fig. 4. HPLC chromatograms of Lycii Fructus demonstrating method specificity (500 nm): (A) Blank sample solution, (B) Standard solution, (C) Blank sample solution added with standard solutions.

Table II. The linearity, correlation coefficient (R^2), limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of the red-yellow synthetic dyes

No.	Analytes	Retention time	Molecular formula (s)	R^2	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)
1	Tartrazine	6.1	$C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$	0.9997	0.02	0.07
2	Auramine O	34.4	$C_{17}H_{21}N_3 \cdot HCl$	0.9997	0.11	0.35
3	Metanil Yellow	37.7	$C_{18}H_{14}N_3NaO_3S$	0.9999	0.08	0.23
4	Amaranth	7.9	$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$	0.9997	0.03	0.10
5	New Coccine	12.8	$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$	0.9999	0.03	0.10
6	Sunset Yellow	13.7	$C_{16}H_{10}N_2Na_2O_7S_2$	0.9999	0.05	0.17
7	Azorubine	22.7	$C_{20}H_{12}N_2Na_2O_7S_2$	0.9999	0.06	0.17
8	Erythrosin B	28.6	$C_{20}H_6I_4Na_2O_5$	0.9999	0.05	0.17
9	Acid Red 73	30.8	$C_{22}H_{14}N_4Na_2O_7S_2$	0.9999	0.13	0.39
10	Orange II	32.1	$C_{16}H_{11}N_2NaO_4S$	0.9999	0.05	0.14

무름 시간은 (1) Tartrazine (6.1분), (4) Amaranth (7.9분), (5) New Coccine (12.8분), (6) Sunset Yellow (13.7분), (7) Azorubine (22.7분), (8) Erythrosin B (28.6분), (9) Acid Red 73 (30.8분), (10) Orange II (32.1분), (2) Auramine O (34.4분), (3) Metanil Yellow (37.7분) 순으로 나타났다. 표준용액의 피크 머무름 시간과 전처리 용액의 피크 머무름 시간과 UV/VIS spectrum이 일치하였다.

직선성, 검출한계 및 정량한계 – 적색 및 황색 계열 타르색소 10종의 표준품을 1~40 μg/mL 농도 범위내에서 5개 농도의 표준용액으로 제조하고 HPLC를 이용하여 3회 반복 분석하였으며, 10종 모두에 대한 검량선의 상관계수(R^2)는 0.99 이상으로 높은 직선성을 보였다. 대상 색소 10종의 검

출한계(LOD)는 0.02~0.13 μg/mL(시료 중 농도 0.4~2.6 μg/g) 범위에서 나타났고, 정량한계(LOQ)는 0.07~0.39 μg/mL(시료 중 농도 1.4~7.8 μg/g) 범위에서 나타났다(Table II).

정확성 및 정밀성 – 동시분석법의 정확성 및 정밀성을 확인하기 위해 회수율과 상대표준편차를 확인하였다. 뿌리 및 뿌리줄기(대황, 위령선, 숙지황), 심재(소목), 열매(구기자, 복분자), 수지류(몰약, 유향) 등 기질의 특성이 서로 다른 8개 한약재 품목에 대하여 분석을 진행한 결과, 기질의 간섭 없이 AOAC 가이드라인의 회수율 및 상대표준편차 기준을 만족하였다(Table III).

Table III. Intra-day and Inter-day accuracy and precision data of eight herbal medicines

Analytes	Spiked Level (μg/mL)	Rhei Radix et Rhizoma				Sappan Lignum				Rehmanniae Radix Preparata				Clematidis Radix			
		Intra-day		Inter-day		Intra-day		Inter-day		Intra-day		Inter-day		Intra-day		Inter-day	
		Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)
Tartrazine	5	114.46	1.73	117.64	3.06	113.24	0.84	117.3	3.54	113.21	1.12	119.51	5	110.33	0.66	118.63	6.09
	10	117.42	1.23	116.26	0.87	115.77	0.78	116.14	0.74	113.68	0.21	117.57	2.9	112.44	1.21	117.05	3.46
	25	109.5	2.07	110.81	1.21	113.64	0.17	114.87	1.19	112.58	0.43	116.73	3.1	109.6	1.86	116.08	4.94
Auramine O	5	84.87	0.48	82.22	2.98	83.84	0.29	79.57	6.8	85.36	0.67	81.4	5.77	83.99	0.49	82.50	4.57
	10	86.69	1.06	81.98	5.19	85.37	0.59	81.09	5.65	86.87	0.43	82.98	5.05	85.87	1.01	83.86	3.79
	25	83.23	2.52	81.93	1.44	87.12	0.4	84.75	2.44	88	0.29	86.78	1.3	86.85	1.50	87.52	1.67
Metanil Yellow	5	96.56	2.92	102.2	10.24	98.06	0.14	104.19	9.51	97.73	0.87	104.34	9.82	97.85	0.19	105.72	9.41
	10	100.15	0.8	101.36	6.48	98.41	0.45	101.62	6.99	97.36	0.28	101.49	7.35	97.79	3.93	102.89	6.83
	25	94.47	2.31	97.87	6.70	97.2	0.23	100.41	6.8	96.65	0.17	100.48	6.44	95.90	1.61	101.79	6.73
Amaranth	5	113.07	1.44	110.26	6.91	112.9	0.91	112.85	6.01	110.31	1.07	112.77	6.52	108.71	0.36	113.31	8.28
	10	115.95	1.09	110.65	9.17	114.7	0.75	111.71	7.51	110.4	0.51	111.18	7.78	110.36	1.22	112.22	8.78
	25	108.09	2.35	105.80	7.46	112.48	0.14	110.37	7.24	109.53	0.51	110.62	7.84	107.42	1.99	97.48	13.82
New Coccine	5	97.41	1.24	105.42	8.74	104.25	0.41	111.18	6.84	97.32	0.82	104.27	8.22	97.86	0.28	106.24	8.22
	10	100.87	2.341	103.21	4.49	101.25	0.51	105.15	4.49	97.23	0.23	101.63	5.51	98.32	0.89	103.81	5.39
	25	96.14	2.28	99.69	4.67	99.1	0.26	102.57	4.65	97.16	0.29	101.2	4.71	96.62	1.58	102.87	5.61
Sunset Yellow	5	118.44	0.59	111.36	9.53	102.41	0.35	103.41	4.61	95.6	0.98	101.1	6.16	94.54	0.39	101.69	6.63
	10	108.92	0.73	107.89	1.72	99.35	0.46	99.8	2.83	95.65	0.32	98.6	3.33	95.09	0.90	99.32	3.83
	25	96.85	2.26	98.8	2.16	96.43	0.21	97.94	2.49	94.7	0.2	97.54	2.81	93.35	1.55	98.34	4.39
Azorubine	5	100.94	1.1	107.2	8.19	98.6	0.14	105.4	8.79	98.04	0.86	105.43	9.14	96.55	0.25	105.70	9.30
	10	101.95	0.94	104.06	5.19	99.2	0.39	103.05	5.96	98.01	0.23	102.73	6.46	96.97	0.88	103.35	6.60
	25	95.89	2.34	99.97	5.65	98.15	0.23	101.92	5.68	97.52	0.14	101.85	5.51	95.35	1.58	102.36	6.64
Erythrosin B	5	99.62	0.72	100.75	4.42	100.16	0.16	101.46	3.95	99.03	0.61	101.09	4.69	98.85	0.32	102.20	4.08
	10	101.06	0.84	98.36	3.59	99.51	0.42	98.45	2.75	98.61	0.05	98.41	2.43	98.81	1.10	99.56	1.57
	25	95.2	2.34	94.83	2.21	98.37	0.32	97.34	2.53	98.05	0.2	97.51	1.73	96.94	1.62	98.65	1.60
Acid Red 73	5	98.42	0.76	100.45	5.24	98.66	0.22	102.13	5.84	98.61	0.72	102.52	6.13	97.75	0.42	103.10	5.92
	10	100.03	0.78	98.88	3.30	98.37	0.49	99.57	3.43	97.52	0.19	99.52	3.71	97.42	0.86	100.47	3.37
	25	94.09	2.28	95.66	2.94	96.81	0.24	98.29	3.21	96.41	0.19	98.47	2.96	95.33	1.53	99.43	3.75
Orange II	5	97.1	0.92	101.30	5.87	97.361	0.34	103.48	6.95	97.75	0.66	103.91	7.28	96.98	0.21	104.53	7.36
	10	99	0.77	99.57	3.15	97.94	0.55	100.88	4.11	97.25	0.12	101	4.54	96.83	0.97	101.76	4.65
	25	94.54	2.49	97.57	4.19	97.26	0.18	100.16	3.84	96.88	0.1	100.29	3.66	95.64	1.53	101.30	4.97

Table III. (Continued)

Analytes	Spiked level (μg/mL)	Lycii Fructus				Myrrha				Rubi Fructus				Olibanum			
		Intra-day		Inter-day		Intra-day		Inter-day		Intra-day		Inter-day		Intra-day		Inter-day	
		Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)
Tartrazine	5	111.81	0.86	107.06	5.09	106.48	0.75	104.43	3.85	104.28	2.02	103.29	1.1	104.54	0.85	104.16	0.55
	10	108.11	0.97	105.62	6.56	104.16	2.35	103.26	4.48	102.37	1.11	101.94	1.53	101.79	0.54	102.04	0.74
	25	103.5	1.93	95.3	8.25	104.26	0.89	95.61	8.95	100.62	0.4	95.24	8.72	101.21	0.73	96.33	9.93
Auramine O	5	93.56	1.43	88.67	4.8	86.49	0.33	82.19	4.54	80.65	1.57	77.12	4.14	80.43	1.01	76.64	4.55
	10	90.92	0.47	87.22	3.79	84.8	1.3	81.18	3.91	79.98	0.35	77.21	3.13	79.18	0.31	76.18	3.5
	25	89.39	1.32	85.81	4.44	84.09	0.68	79.99	4.49	81.2	0.57	77.65	3.98	80.7	0.46	76.85	4.44
Metanil Yellow	5	97.9	1.14	98.31	0.94	98.08	0.5	99.74	1.58	96.2	1.63	98.37	1.92	97.1	1.13	98.88	1.57
	10	97.69	0.27	98.07	2.12	98.73	1.23	99.52	1.45	96.72	0.97	97.73	1.95	97.08	0.43	98.22	1.94
	25	96.54	1.35	91.4	11.1	98.2	0.61	93.54	10.16	96.92	0.09	92.56	9.4	97.33	0.35	93.51	10.66
Amaranth	5	112.96	2.46	117.8	3.83	120.1	0.63	120.43	1.81	122.56	2.37	123.57	1.18	119.2	0.78	120.78	2.2
	10	108.91	2.89	116.25	5.53	119.04	3.51	119.33	2.47	121.51	1.37	121.34	0.53	117.57	0.52	118.52	1.52
	25	102.6	3.25	103.02	8.98	121.09	0.89	109.87	10.58	117.01	0.44	111.05	10.33	117.27	0.81	111.12	11.37
New Coccine	5	98.75	1.23	99.71	0.92	99.48	0.42	101.71	1.91	97.79	1.59	100.19	2.07	98.38	1.04	100.64	2.06
	10	98.75	0.38	100.3	2.18	100.03	1.28	101.99	1.84	98.19	1.06	100.22	2.23	98.27	0.42	100.56	2.38
	25	97.75	1.36	92.11	10.46	99.61	0.57	94.35	9.59	98.38	0.1	93.38	8.79	98.81	0.38	94.3	9.97
Sunset Yellow	5	94.44	1.21	95	1.74	94.92	0.5	96.63	2.15	93.39	1.7	95.24	1.92	94	1.16	95.6	1.58
	10	94.3	0.39	95.42	1.07	95.43	1.29	96.86	1.42	93.73	0.91	95.21	1.35	93.86	0.44	95.53	1.51
	25	93.36	1.35	87.5	11.78	95.03	0.59	89.55	10.92	94.02	0.09	88.64	10.22	94.31	0.38	89.48	11.35
Azorubine	5	99.92	1.12	100.22	0.77	99.56	0.44	101.11	1.75	99.86	1.7	100.81	0.84	99.73	1	99.89	0.89
	10	98.15	0.92	99.28	1.38	99.18	1.4	100.02	1.17	99.05	0.96	99.58	0.79	98.63	0.51	98.98	0.35
	25	96.19	1.49	89.98	10.43	97.98	0.92	91.95	9.86	98.28	0.07	91.59	9.55	98.37	0.41	91.87	11.19
Erythrosin B	5	100.22	1.14	101.54	1.71	100.71	0.56	102.86	1.99	100.33	1.6	102.19	1.75	101.03	0.99	102.48	1.46
	10	99.79	0.43	101.26	1.41	101.02	1.31	102.49	1.24	100.09	0.94	101.41	1.18	100.31	0.56	101.71	1.2
	25	98.41	1.34	92.68	10.87	100.15	0.55	94.67	9.95	99.85	0.13	94.16	9.44	100.17	0.37	95.01	10.64
Acid Red 73	5	100.96	1.26	100.79	1.11	101.47	0.67	102.52	1.09	99.6	1.63	101.09	1.32	100.31	1.07	101.53	1.04
	10	99.62	0.37	100.44	0.71	101	1.25	102.1	1.24	98.86	0.86	100.21	1.19	99.28	0.5	100.83	1.38
	25	97.66	1.33	88.94	13.66	99.5	0.54	91.04	12.81	98.21	0.07	90.11	12.08	98.73	0.3	91.07	12.97
Orange II	5	95.99	1.43	96.67	3.44	96.67	0.22	98.37	3.38	94.79	1.51	96.82	3.17	95.12	0.96	97.18	2.99
	10	96.56	0.57	96.81	0.23	97.79	1.21	98.29	1.1	95.45	0.82	96.41	0.94	95.25	0.83	96.64	1.32
	25	95.67	1.34	90.97	13.41	97.4	0.6	93.11	12.52	96.12	0.14	92.1	11.73	96.48	0.4	93.04	13.04

*SD Standard Deviation

교차검증 – 위의 검증 항목을 바탕으로 외부기관과 교차검증을 진행한 결과, 자체 분석 결과와 동등한 수준으로 AOAC 가이드라인을 만족하였다(Table IV~Table V). 이는 본 분석법이 우수하고 안정적인 재현성을 확보하였음을 나타낸다.

오염도 조사 – 적용성 검토를 통과한 품목에 대하여 수집한 유통품을 대상으로 개발한 분석법을 적용하여 조사하였

Table IV. Cross-validation results for the linearity, correlation coefficient (R^2), limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) of the red-yellow synthetic dyes

Analytes	Rhei Radix et Rhizoma			Sappan Lignum			Rehmanniae Radix Preparata			Clematidis Radix		
	R^2	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)	R^2	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)	R^2	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)	R^2	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)
Tartrazine	0.997	0.9	3	1.000	2.6	8.7	0.997	0.9	3.1	1.000	0.3	1.0
Auramine O	0.999	0.3	1	1.000	1.1	3.8	1.000	0.3	1.2	1.000	0.1	0.4
Metanil Yellow	0.999	0.4	1.4	1.000	1.2	4	1.000	0.5	1.6	1.000	0.1	0.5
Amaranth	0.998	0.6	1.9	1.000	2.1	6.9	0.998	0.5	1.8	0.999	0.3	0.9
New Coccine	0.998	0.3	1	1.000	1.2	4	1.000	0.3	1	1.000	0.2	0.5
Sunset Yellow	0.999	0.3	0.8	1.000	1.1	3.6	1.000	0.3	0.9	1.000	0.1	0.5
Azorubine	0.999	0.4	1.3	1.000	1.6	5.4	1.000	0.4	1.3	1.000	0.2	0.7
Erythrosin B	0.999	0.4	1.2	1.000	1.5	5.1	1.000	0.4	1.3	1.000	0.2	0.7
Acid Red 73	0.998	0.2	0.8	1.000	0.9	3.1	1.000	0.2	0.8	1.000	0.1	0.4
Orange II	0.999	0.3	0.9	1.000	1.1	3.6	1.000	0.3	0.9	1.000	0.1	0.5
Analytes	Lycii Fructus			Myrrha			Rubi Fructus			Olibanum		
	R^2	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)	R^2	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)	R^2	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)	R^2	LOD (μg/mL)	LOQ (μg/mL)
Tartrazine	0.998	0.4	1.2	1.000	0.8	2.3	1.000	0.6	1.8	0.997	0.5	1.4
Auramine O	1.000	0.3	0.7	0.999	0.7	1.9	0.999	0.3	0.9	1.000	0.4	1.3
Metanil Yellow	1.000	0.3	0.7	1.000	0.5	1.5	1.000	0.3	1	1.000	0.3	0.9
Amaranth	0.997	0.4	1.2	1.000	0.5	1.4	1.000	0.4	1.2	0.998	0.5	1.5
New Coccine	1.000	0.3	0.7	1.000	0.4	1.1	1.000	0.2	0.7	1.000	0.3	1.1
Sunset Yellow	1.000	0.2	0.6	1.000	0.3	0.9	1.000	0.1	0.5	1.000	0.3	0.9
Azorubine	1.000	0.3	1	1.000	0.5	1.5	1.000	0.3	0.9	1.000	0.5	1.5
Erythrosin B	1.000	0.3	0.9	1.000	0.5	1.5	1.000	0.3	0.9	1.000	0.5	1.5
Acid Red 73	1.000	0.2	0.6	1.000	0.3	0.9	1.000	0.1	0.5	1.000	0.3	0.9
Orange II	1.000	0.3	0.7	1.000	0.3	1	1.000	0.1	0.6	1.000	0.3	1.0

다. 조사 결과, 수집된 8품목 166건의 유통품에서 모든 색소가 검출한계(LOD) 미만으로 나타났다.

고찰 – 기존의 한약재 중 타르색소 동시분석법 연구는 주로 특정 과실류 등에 국한되어 적용 및 검증되었다. 본 연구는 기존 연구와 차별점을 두어 분석법을 과실류뿐 아니라 뿌리, 뿌리줄기, 심재, 수지류 등 기질이 다른 8개 품목의 약용부위로 확대하여 밸리데이션을 수행하였다. 8개 품목에서 가이드라인을 만족하여 다양한 약용부위에 적용할 수 있음을 확인하였다. 또한, 적용성이 확인된 품목을 바탕으로 총 166건의 유통 한약재에 대하여 모니터링을 진행하였으며, 모든 품목에서 타르색소가 검출되지 않음을 확인하였다. 이는 현재 국내에 유통되는 한약재들의 합성색소 불법 혼입과 관련된 안전관리가 양호하게 이루어지고 있음을 시사한다.

결 론

본 연구에서는 기존 과실류에 국한되었던 색소 분석법에 대하여 8개 품목의 다양한 약용부위(뿌리, 뿌리줄기, 심재, 수지류)로 확대 적용하여 유효성을 검증하였다. 그 결과, 다양한 약용부위와 기질을 가진 8품목 모두에서 가이드라인이 제시하는 조건(직선성 0.99 이상, 정확성 75~120%, 일내 정

Table V. Cross-validation results for intra-day and inter-day accuracy and precision data of eight herbal medicines

Analytes	Spiked level (μg/mL)	Rhei Radix et Rhizoma				Sappan Lignum				Rehmanniae Radix Preparata				Clematidis Radix			
		Intra-day		Inter-day		Intra-day		Inter-day		Intra-day		Inter-day		Intra-day		Inter-day	
		Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)
Tartrazine	5	104	4.2	106	2.4	113	1.0	115	1.5	103	1.9	103	2.0	102	1.4	102	0.7
	10	104	5.9	104	1.7	114	1.2	116	1.6	103	2.5	103	1.8	101	1.2	102	0.3
	25	105	4.6	107	7.9	114	1.2	116	2.2	106	4.5	103	3.1	102	0.9	103	2.1
Auramine O	5	93	1.5	92	1.3	104	0.4	103	0.6	113	0.2	106	5.3	95	0.7	95	0.5
	10	94	0.7	93	0.9	105	0.5	104	0.9	109	0.7	105	2.7	95	0.4	95	0.6
	25	86	0.7	89	5.2	105	1.0	106	0.9	106	0.7	105	1.2	100	0.5	99	0.5
Metanil Yellow	5	108	1.8	109	3.4	109	1.6	108	0.7	112	1.1	105	6.1	103	2.7	102	0.8
	10	108	0.8	110	1.6	110	1.3	109	0.9	109	1.4	105	3.4	102	1.0	102	0.3
	25	106	0.8	109	5.4	110	1.8	110	0.6	106	1.1	104	1.7	105	0.8	105	0.5
Amaranth	5	104	3.9	105	1.6	112	3.3	113	1.1	94	4.5	92	2.9	98	5.8	96	1.8
	10	105	4.9	104	2.2	113	1.6	116	1.9	98	2.5	96	1.2	98	2.0	98	1.2
	25	102	4.1	106	8.0	113	1.9	115	2.3	100	4.6	97	2.9	99	0.5	100	2.5
New Coccine	5	103	7.0	103	0.1	107	7.7	105	1.2	101	11.3	92	8.6	91	15.3	88	3.2
	10	106	3.4	104	1.5	110	4.2	108	1.1	103	5.5	98	4.5	96	4.8	95	0.7
	25	101	1.4	105	5.9	111	3.3	110	0.7	102	2.0	100	2.2	102	1.7	101	0.7
Sunset Yellow	5	109	1.6	109	0.3	109	1.2	107	1.4	110	0.9	103	6.3	103	1.8	102	0.8
	10	108	0.5	108	0.4	110	0.8	109	1.2	106	1.1	102	3.4	101	0.5	101	0.4
	25	104	0.7	108	5.3	111	1.1	111	0.9	105	0.8	103	1.7	105	0.5	104	0.5
Azorubine	5	105	3.6	104	0.8	106	4.7	105	1.2	101	4.3	93	7.4	96	7.8	93	2.6
	10	105	2.4	105	0.6	109	2.9	107	1.3	101	3.3	97	3.8	97	2.9	96	1.1
	25	103	1.3	107	5.6	109	3.2	109	0.7	100	2.1	98	2.0	102	1.5	101	1.0
Erythrosin B	5	103	2.9	103	0.5	104	2.1	106	1.4	104	0.7	97	6.4	93	2.7	92	0.9
	10	103	2.7	102	0.9	106	1.7	107	0.4	104	1.2	100	3.4	92	0.8	92	0.4
	25	96	1.4	99	5.1	108	2.1	108	0.8	101	0.8	99	1.7	98	0.8	98	0.6
Acid Red 73	5	117	3.8	112	5.3	106	5.2	105	0.8	105	4.7	97	7.2	97	8.4	95	2.3
	10	110	2.3	108	2.1	109	3.2	108	1.0	103	3.3	99	3.8	99	3.0	98	1.1
	25	103	1.7	106	4.8	109	3.2	109	0.7	103	2.0	100	2.0	105	1.5	103	1.4
Orange II	5	109	2.0	107	1.8	107	2.1	106	0.7	110	1.3	102	6.3	101	2.4	100	0.9
	10	108	1.0	107	1.0	108	1.4	107	0.8	106	1.4	102	3.5	100	1.0	100	0.4
	25	104	0.9	108	5.3	108	2.1	108	0.5	105	1.2	103	1.7	104	0.7	104	0.6

밀성 RSD 7.3% 이하, 일간 정밀성 RSD 11% 이하)을 만족하였다. 오염도 조사 결과, 수거한 8품목 166건의 한약재에서 적색 및 황색 계열 타르색소 10종이 검출되지 않았음을 확인하였다. 본 연구를 통해 검증 및 확립된 한약재 중 적색 및 황색 계열 타르색소 10종 분석법은 「대한민국약전」 일반시험법에 등재되었으며, 이를 통해 수입·유통 한약재의 품질관리에 활용될 것이다.

Table V. (Continued)

Analytes	Spiked level (μg/mL)	Lycii Fructus				Myrrha				Rubi Fructus				Olibanum			
		Intra-day		Inter-day		Intra-day		Inter-day		Intra-day		Inter-day		Intra-day		Inter-day	
		Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)	Recovery (%)	RSD (%)
Tartrazine	5	103	0.7	102	0.7	112	4.3	115	3.1	119	1.5	118	0.9	107	1.7	106	0.8
	10	100	2.0	104	6.5	83	1.4	83	1.1	92	0.7	91	3.1	104	1.4	104	1.3
	25	98	0.7	98	0.5	91	1.9	91	1.1	107	1.3	107	2.6	100	2.2	97	3.8
Auramine O	5	111	0.4	112	0.9	80	0.8	79	2.6	74	1.7	73	1.3	81	0.6	82	1.0
	10	100	0.4	101	4.4	102	0.4	100	3.5	91	1.7	90	1.5	88	0.4	89	1.0
	25	112	0.6	111	0.8	106	1.3	105	2.9	95	2.2	93	2.2	102	0.4	99	5.1
Metanil Yellow	5	107	0.6	107	0.3	92	3.1	92	1.6	97	2.2	97	0.9	106	0.6	108	1.6
	10	99	0.5	102	5.3	107	2.5	107	2.2	114	1.3	113	2.2	110	0.7	111	1.4
	25	104	0.4	105	0.6	113	2.7	113	1.8	117	1.7	116	2.7	115	0.3	112	5
Amaranth	5	99	2.5	98	1.2	93	8.4	97	4.0	100	4.2	101	1.1	105	1.3	105	0.1
	10	94	1.7	97	6.1	96	5.3	97	1.9	104	1.7	103	2.7	108	1.7	108	0.1
	25	97	1.0	97	0.2	102	2.9	102	1.2	111	1.1	111	2.5	108	1.2	104	4.6
New Coccine	5	88	7.6	88	0.3	90	18.8	96	6.2	101	9.2	103	2.0	99	2.4	100	1.4
	10	91	1.3	94	5.2	90	12.7	91	2.5	102	4.6	103	2.3	104	3.0	106	1.2
	25	93	0.8	94	0.8	100	5.7	100	1.9	111	3.1	111	2.6	108	0.4	105	5.0
Sunset Yellow	5	101	0.7	101	0.3	106	2.9	106	1.7	111	1.7	110	1.1	104	0.6	106	1.6
	10	99	0.5	102	5.3	96	1.8	96	2.1	104	0.8	103	2.3	107	0.8	109	1.5
	25	98	0.4	98	0.6	101	1.9	101	1.8	113	1.0	112	2.7	106	0.3	104	5.0
Azorubine	5	96	4.1	96	0.3	92	10.7	96	3.8	100	8.1	102	1.6	102	1.6	104	1.4
	10	93	1.1	96	5.3	94	9.0	94	2.4	105	3.9	105	2.2	105	2.8	106	1.2
	25	97	1.0	98	0.8	100	5.2	101	1.9	111	3.4	111	2.6	110	0.5	107	5.0
Erythrosin B	5	96	0.5	96	0.2	90	3.2	91	1.8	89	3.1	89	0.8	96	0.6	98	1.5
	10	89	0.4	92	5.3	96	2.2	96	2.2	96	2.0	96	2.1	98	0.4	100	1.3
	25	93	0.4	94	0.5	95	2.6	96	1.8	101	3.0	100	2.6	106	0.3	103	5.0
Acid Red 73	5	99	2.8	99	0.3	91	11.1	95	3.9	100	7.8	101	1.2	103	1.4	105	1.5
	10	95	0.8	98	5.2	93	8.9	94	2.3	105	4.0	105	2.1	106	2.5	107	1.3
	25	98	0.8	99	0.8	100	4.9	100	1.9	111	3.3	110	2.6	111	0.4	108	5.0
Orange II	5	106	0.9	106	0.3	90	3.5	91	1.7	94	3.0	94	0.8	106	0.7	108	1.5
	10	96	0.5	99	5.3	110	2.9	110	2.2	115	1.7	114	2.1	111	1.2	112	1.3
	25	103	0.5	104	0.6	110	2.7	111	1.8	114	1.9	113	2.7	114	0.3	111	5.0

사 사

이 논문은 식품의약품안전평가원의 재원으로 한약(생약) 품질제고를 위한 시험법 개발 및 개선연구(22201한약안143)의 지원과 한약(생약) 중 유해물질 품질관리 고도화 연구(25201한약안001)의 지원에 의하여 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

인용문헌

1. Xu, M., Huang, B., Gao, F., Zhai, C., Yang, Y., Li, L. and Shi, L. (2019) Assessment of adulterated traditional Chinese medicines in China: 2003-2017. *Front. Pharmacol.* **10**: 1446.
2. Xu, M., Dai, S., Wu, Z., Shi, X. and Qiao, Y. (2016) Rapid analysis of dyed safflowers by color objectification and pat-

tern recognition methods. *J. Tradit. Chin. Med. Sci.* **3**: 234-241.
3. Liu, P., Chen, B., Yuan, S., Yang, B., Yang, T., Shi, M. and Lyu, G. (2019) Determination of common dyes in dyed safflower by near infrared spectroscopy. *China J. Chin. Mater. Med.* **44**: 1537-1544.
4. EFSA. (2009) Scientific opinion on the re-evaluation of tartrazine (E 102). *EFSA Journal* **7**: 1331.
5. European Union. (2008) Regulation (EC) No 1333/2008 of the European parliament and of the council of 16 december 2008 on food additives. *Official Journal of the European Union L* **354**: 16-33.
6. IARC. (2010) Auramine and auramine production. *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans* **99**: 134-135.
7. Jennings, A. S., Schwartz, S. L., Balter, N. J., Gardner, D. and Witorsch, R. J. (1990) Effects of oral erythrosine (2',4',5',7'-tetraiodofluorescein) on the pituitary-thyroid axis in rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **103**: 549-556.
8. Osman, A. G., Raman, V., Haider, S., Ali, Z., Chittiboyina, A. G. and Khan, I. A. (2019) Overview of analytical tools for the identification of adulterants in commonly traded herbs and spices. *J. AOAC Int.* **102**: 376-385.
9. Ko, K.-Y., Choi, E.-Y., Jeong, S.-H., Paek, O.-J., Lee, C., Heo, H., Oh, S.-W., Lee, C., Kang, J. and Cho, S. (2021) Improved HPLC-UV method for determination of five synthetic dyes in *Typha orientalis*. *Analytical Science & Technology* **34**: 160–171.
10. Ko, K.-Y., Choi, E.-Y., Jeong, S.-H., Kim, S., Lee, C.-K., Lee, C. and Cho, S. (2021) Simple HPLC-PDA analysis to determine illegal synthetic dyes in herbal medicines. *Applied Sciences* **11**: 6641.
11. Zhai, H.-Y., Liu, Z.-P., Yu, X., Su, Z.-H. and Wen, F.-R. (2014) Simultaneous determination of five kinds of unallowable yellow industrial dyes in traditional Chinese medicine by HPLC. *Chem. Res. Appl.* **26**: 135.
12. Ministry of Food and Drug Safety (MFDS) (2015) *Guideline on Validation of Analytical Procedures*. Ministry of Food and Drug Safety, Osong.
13. AOAC International (2023) Appendix K: Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. *In Official Methods of Analysis of AOAC International (22nd ed.)*, AOAC International, Rockville.

(2026. 6. 2 접수; 2026. 6. 22 심사; 2026. 7. 27 게재확정)