

국내 유통 주류의 인공감미료 모니터링

식품의약품부 첨가물검사팀

이현경 · 조성자 · 장민수 · 김지영 · 차재훈 · 이성득 · 오영희

Estimation of the Presence of Artificial Sweeteners in Liquors Distributed in Domestic Market

Food Additives Team

**Hyun-kyung Lee, Sung-ja Cho, Min-su Chang, Ji-young Kim,
Jae-hun Cha, Sung-deuk Lee and Young-hee Oh**

Abstract

The contents of artificial sweeteners were analyzed in 120 items that included 6 kinds of alcoholic liquors(wine, n=36; beer, n=37; soju, n=9; yakju, n=9; takju, n=16 and other alcoholic beverages(n=13)). Optimized conditions for high-performance liquid chromatography(HPLC) analysis of artificial sweeteners AK, AS and SC were as follows; the column used was C18(1.7 μ m \times 2.1 mm \times 100 mm), the mobile phase was 0.01 M KH_2PO_4 : acetonitrile(8.5 : 1.5, pH 3.5) containing 0.005 M tetra propylammonium hydroxide, and the measurement wavelength was 210 nm. Limit of detection(LOD) (mg/kg) was measured as 0.13, 0.16, and 0.12 for AK, AS and SC, respectively. Limit of quality(LOQ)(mg/kg) for these was 0.39, 0.48 and 0.36, respectively. The optimized conditions of the artificial sweeteners were determined to be 87.0~100.1% for AK, AS, and SC. Quantitative determination of artificial sweetener contents showed that 18 samples of alcoholic beverages contained an average of 37.78 mg/kg of acesulfame potassium and 33.91 mg/kg of aspartame. In two cases, the content was 33.51 mg/kg. In the case of takju, 9 out of 16 samples(56.3%) contained artificial sweeteners, acesulfame-K, aspartame, and saccharin. Artificial sweeteners were also detected 6 out of 13 other alcoholic beverages. These results suggest that the difference in the used of artificial sweeteners is based on the characteristics of alcoholic beverages.

Key words : liquor, artificial sweeteners

서론

감미료는 제조 방식에 따라 자연감미료와 인공 감미료로 구분된다. 자연감미료는 다시 사용되는 원료의 특성에 따라 탄수화물 감미료와 비탄수화물 감미료로 분류된다(그림 1). 탄수화물 감미료는 포도당, 과당 등을 포함하는 단당류와 설탕과 엿당 등을 포함하는 다당류 및 올리고당류가 있다. 소비톨, 마니톨 등의 당알코올류도 역시 당질계 탄수화물 감미료에 포함되어 있다. 비탄수화물 감미료는 배당체 형태의 스테비올 글리코사이드와 글리시리진, 단백질 형태의 타우마틴, 모넨린 등의 자연감미료와 사카린나트륨(sodium saccharin, SC), 아스파탐(aspartame, AS), 아세설팜칼륨(acesulfame potassium, AK) 등의 합성 감미료를 포함하고 있다(그림 2)(1).

『단맛』은 식욕 및 식품의 기호도 좌우하는 매우 중요한 요인이다. 설탕으로 대표되는 당류는 충치, 비만, 당뇨병 등의 원인이 될 수 있어 최근 WHO(World Health Organization)는 당류 소비를 1일 50g 미만으로 줄이도록 권고하고 있다(2). 최근 대체제로서 저칼로리 고감도 감미료인 인공감미료의 소비량이 증가하고 있다. 이들 인공 감미료는 가공식품의 생산비가 설탕에 비해 적게 들며 식품의 고유한 밀도나 점도를 바꾸지 않고 사용 목적에 따라 단맛을 일정하게 유지시켜 주는 장점을 갖고 있으며 저칼로리로 다이어트 등 기능

성 식품에 폭넓게 사용되고 있다.

현재 우리나라에서 식품첨가물로 허용된 인공감미료는 사카린나트륨, 아스파탐 및 아세설팜칼륨 등이 있으며 현행 식품첨가물공전에서는 품목별 사용 기준을 엄격히 규제하고 있다(3, 4).

아스파탐은 아미노산 분해산물로 열량은 1g당 4kcal로 설탕의 200배 정도의 단맛을 나타내어 저열량 식품 생산에 사용된다. 열과 pH에 영향을 많이 받아(5) baking 식품에 부적합하고 다이어트용 음료나 씹어 먹는 비타민, 껌 등의 식품에 주로 이용되며 당뇨병 환자의 설탕 대체 감미료로도 사용된다. 상온에서 pH 4.3에 가장 안정하며 반감기는 300일 정도이지만 pH 7에서는 반감기가 수 일로 줄어들 수 있다. 최근에는 사용의 폭이 넓

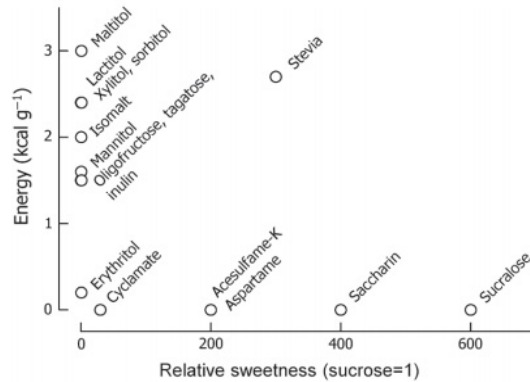


Fig. 1. Calorie content and relative sweetness (sucrose = 1).

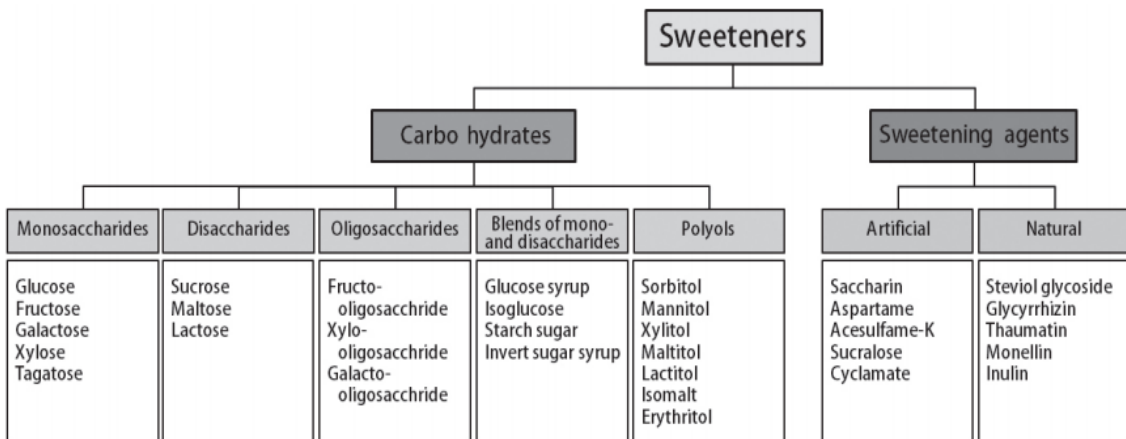


Fig. 2. Classification of Sweeteners.

고 당도도 더 높은 수크랄로스의 이용도가 증가하면서 사용량이 줄어드는 추세이다(6).

아세설팜칼륨은 줄여서 아세설팜-K로도 부른다. 아세설팜칼륨의 단맛은 설탕의 180~200배, 사카린의 1/2, 수크랄로스의 1/4이고 아스파탐과는 거의 같다. 주로 다른 감미료와 혼합 사용되고 있으며 열에 안정하고 장기보존 식품에 적합하다. 사용량은 건과류, 팥 등 양금류를 비롯하여 모든 식품에 사용할 수 있다(7).

사카린은 가장 오래된 인공감미료로서 설탕의 300배 정도의 단맛을 가지고 있으며 다이어트 식품이나 당뇨병환자의 설탕 대체 감미료로 사용되어져 왔다. 발암가능성 문제가 야기되어 안전성에 논란이 제기되어 왔고 이후 여러 가지 연구 결과 발암물질에서 제외 되었으며 현재 그 사용이 김치·절임식품, 발효음료를 제외한 음료, 어육가공품, 영양보충용식품, 환자용식품, 식사대용 식품, 빵튀기로 제한되었다(8).

한편 식품 중 인공감미료를 분석하는 방법으로 GC/MS, 이온크로마토그래피 및 고속액체크로마토그래피 등의 분석법이 보고되고 있다. 그러나 GC/MS의 경우에는 시료를 유도체화 시켜야 하는 번거로운 전 처리방법을 요구하고, 이온크로마토그래피는(9) 기기의 보편성이 떨어져서 일선 식품위생검사기관에서의 활용도가 낮은 단점이 있다. 또한 고속액체크로마토그래피를 사용하여 인공감미료를 분석한 연구(10~12)들을 보면, 시료 전처리 방법으로 투석법을 이용하고 동시분석이 아닌 감미료 각각의 개별분석법이 많아 분석시간이나 간편성에서 효율성이 떨어진다. 따라서 다른 분석기기에 비해 활용도가 높은 고속액체크로마토그래피를 이용하여 다양한 시료에 적용할 수 있는 전처리 방법 및 분석조건 등을 확립하여 활용할 수 있는 인공감미료 분석법 개발이 필요하다. 본 연구에서는 우리나라에서 허용되어 있는 3종의 인공감미료에 대해 간편성, 회수율 및 분리능이 우수한 정성 및 정량법을 확립하여 시험법으로 활용하고 시중에 판매되는 주류 중에 첨가된 인공감미료의 실태를 알아보고 함량을 조사하여 보고함으로써 소비자의 알권리를 충족시켜 제품선택의 기회를 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재료

인공감미료 사카린(SA), 아스파탐(AS), 아세설팜-칼륨(AK)에 함량 모니터링을 위해 시중에 유통되는 주류 중 과실주 36품목, 맥주 37품목, 기타주류 13품목, 소주 9품목, 탁주 16품목, 약주 9품목 총 6종 120품목을 수집하여 시료로 하였다.

2. 시약

아스파탐, 아세설팜-칼륨 및 사카린 인공감미료 표준품은 Dr. Ehrenstorfer(Germany)의 제품을 사용하였다. 이동상 조제용 아세트나이트릴은 Merck사의 HPLC용을 사용하였고 인산이수소포타슘(potassium dihydrogen phosphate)은 Sigma(USA)의 제품을, 10% 수산화 테트라프로필암모늄(tetrapropylammonium hydroxide) 용액(TPA-OH)은 Wako Co.(Japan)의 제품을 사용하였다.

3. 장비

HPLC는 Waters H-Class(USA) DAD 검출기를 사용하였다.

4. 표준용액의 조제

AP, AK 및 SA은 1,000 mg/L로 표준원액을 만들고 0, 5, 10, 20, 50 mg/L가 되도록 물로 희석하여 혼합 표준용액을 만들어 사용하였다.

5. 회수율 검토

인공감미료가 함유되어 있지 않은 시료에 각각의 인공감미료를 최종농도 50 ppm이 되게 첨가하고 검토한 전처리 방법을 이용하여 각 시료의 회수율 시험을 하였다.

결과 및 고찰

1. 시료의 전처리

시료는 70°C의 수욕상에서 15분간 가온하여 알코올을 증발시키고 이산화탄소가 있는 경우 10분

간 초음파(Branson ultrasonics Co., USA) 처리하여 이산화탄소를 제거하고 0.2 μm membrane filter로 여과한 후 분석에 사용하였다.

2. HPLC의 분석조건 검토

최적의 인공감미료 측정과장을 결정하기 위하여 인공감미료 각각의 최대 흡수과장을 측정한 결과 아스파탐 192.6 nm, 아세실팜-칼륨 226.5 nm 및 사카린 200.8 nm으로 나타났다. 이를 기준하여 190~220 nm의 범위에서 검출한계, 방해물질의 검출 여부 등을 고려하여 최적 검출과장을 검토한 결과 모든 성분의 분리 및 검출한계가 양호한 210 nm로 선정하였다. Moriyasu 등 (11)도 AP, AK 및 SA 분석 시 210 nm가 적절하였다고 하였다. 인공감미료의 동시분석을 위한 이동상을 결정하기 위하여 먼저 물, 메탄올 및 아세트나이트릴의 단일 또는 혼합액을 비교하여 분리능, 검출시간, 피크의 모양 등을 검토한 결과, 물과 메탄올의 혼합액을 이용한 경우 인공감미료의 분리에 장시간이 소요되므로 물과 아세트나이트릴의 혼합액을 사용하였으며, 물과 아세트나이트릴의 혼합비율을 9:1~8:2의 범위로 비교하였을 때 8.5:1.5에서 모든 대상 인공감미료의 분리가 양호하였다.

완충용액인 인산칼륨의 농도는 Prodoliet 등 (13)의 아세실팜칼륨 분석에 대한 연구보고를 인용하여 0.005 M 농도로 결정하였다. pH에 따른 인공감미료의 분리를 pH에 따른 변화가 없으나

아스파탐은 pH가 증가할수록 용출시간이 증가하였으며 pH 4.0~4.5에서는 아스파탐과 아세실팜칼륨의 분리가 곤란하였으므로 pH는 모든 성분의 분리가 양호한 3.5로 설정하였다. 이온쌍 시약으로는 Kobayashi 등 (14)의 연구보고를 참조하여 tetrapropylammonium hydroxide(이하 TPA-OH)로 결정하였으며 농도에 의한 Rt값과 상호분리를 비교하였을 때는 농도가 높을수록 Rt값이 높아져 0.01 M이 가장 적합한 것으로 판단되었다.

인공감미료의 동시분석을 위하여 위의 조건을 고려하여 HPLC의 최적 분석조건을 검토하였고, AP, AK 및 SA는 자외선 검출기(UV)를 이용하여 표 1과 같이 동시분석을 수행하였다.

이상의 결과를 종합하여 최적의 인공감미료 분석법을 결정하였으며 결정된 분석조건에서 얻어진 인공감미료 표준용액의 HPLC 크로마토그램을 그림 4에 나타내었다.

Table 1. HPLC operating conditions for AK, SC and AS

Column	ACQUITY UPLC [®] BEH C18 1.7 μm × 2.1 × 100 mm
Mobile phase	0.005 M KH ₂ PO ₄ : CH ₃ CN = 8.5:1.5 (0.01 M TPA-OH, pH 3.5)
Detector	UV 210 nm
Flow rate	0.45 mL/min
Injection volume	1 μL

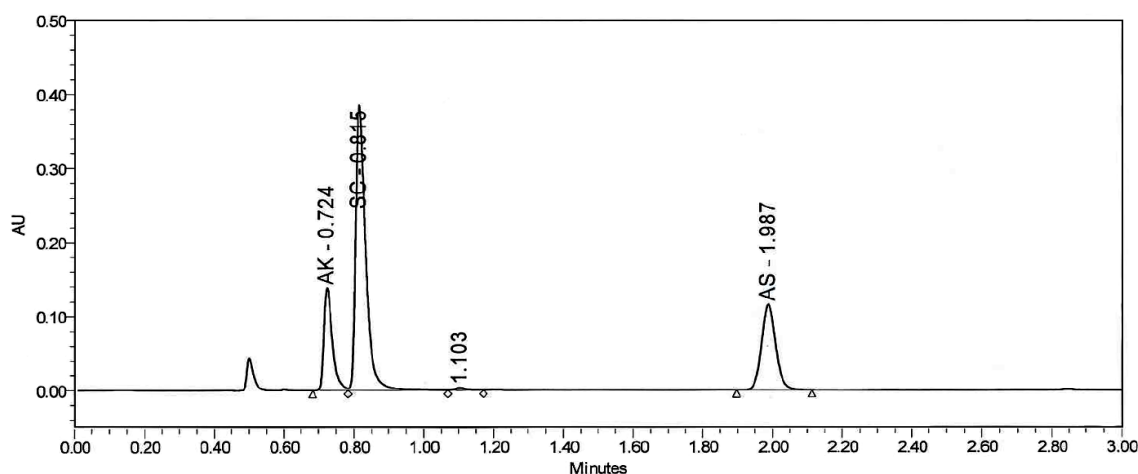


Fig. 4. HPLC chromatogram of AK, SC and AS.

3. LOD, LOQ 및 회수율 검토

검출한계와 검출한계는 아래 식에 의해 구하였고 결과는 표 2와 같았다.

$$\text{검출한계(LOD)} = 3.3 \times \frac{SD}{S}$$

(SD : 표준편차 S : 기울기)

$$\text{정량한계(LOQ)} = 3 \times \text{LOD}$$

Table 2. LOD and LOQ of Sweetener

	LOD (mg/kg)	LOQ (mg/kg)
Acesulfame potassium	0.13	0.39
Saccharin	0.12	0.36
Aspartame	0.16	0.48

인공감미료가 검출되지 않은 대상 시료에 AK, SC 및 AS를 첨가한 후 회수율 실험을 3회 반복한 결과는 표 3과 같았다. 다만 인공감미료 중 아스파탐은 다른 인공감미료에 비해 회수율이 다소 낮았는데 그 이유는 중성에서는 안정하나 산성에서는 약간 불안정하며 열과 광선 등에 약하기 때문으로 생각된다(14). 또한 전분질 원료와 고지(koji), 식물성 원료 등을 발효시킨 술덧을 혼탁하게 제성한 탁주의 경우 재료에서 유래된 물질의 간섭으로 비교적 회수율이 낮은 것으로 생각된다.

4. 주류 중 인공감미료 정량

총 6종 120품목의 주류의 인공감미료 함량을 구한 결과는 표 4와 같다. 식품첨가물공전에 아세설팜-칼륨 사용기준은 기타식품 0.35 g/kg 이하, 사카린나트륨의 사용기준은 탁주, 소주, 과실주에 대

Table 3. Recovery rates of 3 artificial sweetener to the liquors by HPLC

Sample	Recovery(%) ± Standard deviation		
	AK	SC	AS
Yakju(n = 9)	99.4 ± 0.05	97.5 ± 0.03	97.0 ± 0.12
Takju(n = 16)	90.6 ± 0.04	96.4 ± 0.21	87.0 ± 0.07
Others(n = 95)	98.8 ± 0.06	100.1 ± 0.11	96.1 ± 0.01

* AK : Acesulfame potassium, SC : Saccharin, AS : Aspartame

Table 4. The content of 3 artificial sweeteners in various liquors determined by HPLC

Sample	No. of sample	AK		SC		AS	
		No. of detected sample	Mean ± SD (mg/kg)	No. of detected sample	Mean ± SD (mg/kg)	No. of detected sample	Mean ± SD (mg/kg)
Wine	36	-	ND ¹⁾	-	ND	-	ND
Beer	37	-	ND	-	ND	-	ND
Soju	13	-	ND	-	ND	-	ND
Takju	9	3	30.3 ± 4.3	2	33.5 ± 1.6	7	42.7 ± 29.0
Yakju	16	-	ND	-	ND	3	18.3 ± 9.3
Others	9	5	42.3 ± 18.0	-	ND	5	30.9 ± 15.6

* AK : Acesulfame potassium, SC : Saccharin, AS : Aspartame, ND : Not detected

하여 0.08 g/kg 이하이며, 아스파탐은 기타식품의 경우 제한을 따로 하고 있지 않다. 본 연구에 사용된 검체 중 인공감미료가 검출된 대상 품목은 모두 국내 관리 기준 이내 이었다.

요 약

본 연구는 인공감미료의 사용 확대에 따른 실태 파악을 통해 현행 사용기준의 안전 준수에 대한 안전성을 확보하는 연구의 기초자료로서 우리나라에서 식품첨가물로 허용되어 있는 인공감미료인 아세설팜칼륨, 아스파탐 및 사카린에 대한 식품 중 분석법을 최적화 하였다. 주류의 특성상 투석이나 정제 과정이 없어 보다 간편하고 짧은 시간에 효율적으로 시료를 전처리할 수 있었다. 고속액체크로마토그래프(HPLC)의 최적분석조건을 검토한 결과, 아세설팜칼륨, 아스파탐 및 사카린의 분석에 컬럼은 C18(1.7 μ m \times 2.1 \times 100 mm), 이동상은 0.005 M 수산화 테트라프로필암모늄이 함유된 0.01 M 인산이수소포타슘 : 아세트나이트릴 (8.5 : 1.5, pH 3.5), 측정파장은 210 nm로 설정하였다. 검출한계(LOD, mg/kg)는 아세설팜칼륨, 아스파탐 및 사카린 각각 0.13, 0.16, 0.12으로 측정되었으며, 정량한계(LOQ, mg/kg)은 0.39, 0.48, 0.36이었다. 이와 같이 결정된 인공감미료의 최적분석조건은 회수율을 측정한 결과 아세설팜칼륨, 아스파탐 및 사카린에서 87.0~100.1%의 양호한 결과를 얻었다. 인공감미료 3종의 회수율 값 중 탁주에서의 값이 낮은 것은 정제과정이 없는 탁주의 특성상 간섭의 영향인 것으로 보이며, 아스파탐이 다른 인공감미료보다 비교적 낮은 회수율을 보이는 이유는 빛과 열에 약한 화학적 특성으로 인한 것으로 보인다.

시중에서 유통되고 있는 주류 중 과실주, 맥주, 기타주류, 소주, 탁주, 약주 6종 120품목을 대상으로 인공감미료 3종을 모니터링 한 결과 탁주 9건, 약주 3건, 기타주류 6건 총 18건(15%)에서 아세설팜칼륨, 아스파탐 및 사카린이 검출되었으나 그 함량은 모두 첨가물공전의 사용관리기준에 적합하였다.

시중에 유통되고 있는 주류 중 인공감미료가 검출된 18건에 대하여 HPLC로 인공감미료 함량을 정량한 결과 아세설팜칼륨은 8건 평균 37.78 mg/kg, 아스파탐은 15건 평균 33.91 mg/kg 및 사카린은 2건 33.51 mg/kg이었다. 이 중 7건의 시료에서 아세설팜칼륨과 아스파탐이 함께 첨가되어 있었으며, 사카린은 단독으로 사용되었다.

탁주의 경우 16건 중 9건(56.3%)에서 인공감미료가 검출되었으며, 아세설팜칼륨, 아스파탐 및 사카린이 모두 검출되었다. 일반적인 탁주 제조자들은 발효가 끝난 원주에 물을 첨가하여 희석하므로 맛이 상대적으로 가벼워져서 아스파탐 등의 감미료나 구연산 등의 유기산을 첨가하는 '제성' 작업을 해야만 하는 문제점을 가져왔다. 탁주 맛의 차이는 바로 이 제성 비율에 있다고 해도 과언이 아닐 만큼 완성된 탁주에 어떤 첨가물을 첨가하느냐가 절대적으로 탁주의 맛을 좌우한다(15). 기타주류 또한 13건 중 6건(49.2%)에서 인공감미료가 검출되었으며 2건을 제외한 모든 시료에서 아세설팜칼륨과 아스파탐을 함께 사용된 것을 확인하였다. 이 또한 특별한 발효과정이 없는 기타주류의 특성상 소비자의 선택을 받기 위해 맛을 내기 위한 방법으로 인공감미료 사용을 선택한 것으로 보인다.

참고문헌

1. 김양희, 김성보, 김수진, 박승원 : 저칼로리 저감미도 대체감미료 시장 및 동향. 식품과학과 산업, 49(3):17~28, 2016.
2. Fitch, C and Keim, KS : Academy of Nutrition and Dietetics. Position of the academy of nutrition and dietetics : use of nutritive and nonnutritive sweeteners. J Acad Nutr Diet, 112:739~58, 2012.
3. Korea Food and Drug Administration. Korean Food Additives Code, KFDA, Seoul, Korea, 2018.
4. Korea Food and Drug Administration. Korean Food Code, KFDA, Seoul, Korea,

- 2018.
5. 이용현, 백승걸 : 대체감미료의 개발동향과 주류산업. 한국주류산업협회, p.56~69, 1994.
 6. Ryu, D, Kim, DB, Lee, KH, Son, DS and Surh, J : Influences of sugar substitutes on the physicochemical and sensory properties and hardness of Baksulgi during storage. Korean Journal of Food Science and Technology, 44(5):568~576, 2012.
 7. 한태철, 서일, 임혜진, 기민지 : 고감미도 감미료(High Intensity Sweeteners)를 이용한 당류저감화. 식품과학과 산업, 49(3):29~39, 2016.
 8. 김정원, 백형희 : 삭카린의 안전성과 각국의 관리 현황. 한국식품과학회지, 43(6):659~674, 2011.
 9. KITADA, Y, TAMASE, K, SASAKI, M, NISHIKAWA, Y and TANIGAWA, K : Determination of saccharin, benzoic acid and p-hydroxybenzoate esters in soy sauce by high speed liquid chromatography. Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi), 21(6):480~484, 1980.
 10. MatSunaga, A, Yamamoto, A and Makino, M : The Simultaneous determination of Saccharin, SOrbate, benZOate, and five p-hydrOxyben-Zoate esters in liquid foods by isocratic high-performance liquid chromatography. Toyama-ken Eisei Kenkyusho Nempo, 8:77~81, 1984.
 11. Moriyasu, T, Nakazato, M, Kobayashi, C, Kikuchi, Y, Hayano, K and Tamura, Y : Determination of acesulfame K, saccharin and aspartame in various foods by HPLC. Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi), 37(2):91~96_1, 1996.
 12. Sjoberg, AM and Alanko, TA : Liquid chromatographic determination of saccharin in beverages and sweets : NMKL Collaborative Study. Journal-Association of Official Analytical Chemists, 70(1):58~60, 1987.
 13. Prodolliet J, Bruelhart M : Determination of acesulfame K in foods. J. AOAC Int. 76:268~274, 1993.
 14. Kobayashi C, Nakazato M, Ushiyama H, Kawai Y, Tateishi Y and Yasuda K : Simultaneous determination of five sweeteners in foods by HPLC. J. Fd. Hyg. Soc. Japan. 40:166~171, 1999.
 15. 손홍석 : 탁주 제조방법의 비밀, 식품산업과 영양, 18(1):43~44, 2013.