J. Fd Hyg. Safety
Vol. 26, No. 1, pp. 16~24 (2011)

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

HPLC를 이용한 식품 중 당알코올 8종 동시분석

임호수[1] · 박성관[1] · 곽인신[1] · 김형일[1] · 성준현[1] · 최정윤[2] · 김소희[1]*

[1]식품의약품안전청 식품의약품안전평가원 첨가물포장과
[2]한국식품공업협회 부설 식품연구소

Simultaneous Determination of Eight Sugar Alcohols in Foodstuffs by High Performance Liquid Chromatography

Ho-Soo Lim[1], Sung-Kwan Park[1], In-shin Kwak[1], Hyung-Il Kim[1], Jun-Hyun Sung[1], Jung-Yoon Choi[2], and So-Hee Kim[1]*

[1]*Food Additives and Packages Division, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, Korea*
[2]*Korea Food Research Institute, Korea Foods Industry Association, Seoul 1002-6, Korea*
(Received November 5, 2010/Revised January 10, 2011/Accepted February 8, 2011)

ABSTRACT - A method was established for the simultaneous determinatioin of sugar alcohols, erythritol, xylitol, sorbitol, inositol, mannitol, maltitiol, lactitol and isomalt by High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The sugar alcohols were converted into strong ultraviolet (UV)-absorbing derivatives with p-nitrobenzoyl chloride (PNBC). HPLC was performed on Imtakt Unison US-C_{18} column, using acetonitrile : water (77:23) as a mobile phase and UV detection (260 nm). The calibration curves for all sugar alcohols tested were linear in the 10~200 mg/L range. The average recoveries of the sugar alcohols from three confectioneries spiked at 100 ppm of eight sugar alcohol standards ranged from 81.2 to 123.1% with relative standard deviations ranging fromo 0.2 to 4.9%. The limits of detection (LODs) were 0.5~8 μg/L and the limits of quantification (LOQs) were 2~17 μg/L. Reproducibility of 8 sugar alcohols was 0.28~1.97 %RSD. The results of the analysis of confectioneries showed that 89 samples of 130 were detected and the sugar alcohols content of samples investigated varied between 0.4 and 693.7 g/kg. A method for the simultaneous determination of eight sugar alcohols will be used as basic data for control of sugar alcohols in confectioneries, and qualilty control in food manufacturing.

Key words : Sugar alcohols, HPLC, p-Nitrobenzoyl chloride

현재 식품첨가물공전에 수재된 595품목 중 당알코올류는 에리스리톨, 자일리톨, D-소르비톨, 만니톨, D-말티톨, 이노시톨, 락티톨, 이소말트 등이 있으며, 감미료, 습윤제, 안정제, 증점제 등의 다양한 목적으로 과자류, 음료, 껌, 다이어트식품 등의 가공식품에 널리 사용되고 있다. 이들 당알코올류는 JECFA (FAO/WHO합동 식품첨가물 전문가위원회)에서 ADI(일일섭취허용량)을 'Not specified'로 설정하였으며, 미국, 유럽연합, 일본 등 외국에서도 널리 사용되고 있다[1-4].

당알코올은 현행 「식품등의 표시기준」 제6조 (표시사항의 적용특례) (아)항에 당알코올을 주원료로한 제품에 대하여는 해당 당알코올의 종류 및 함량을 표시하여야 하고, "과량 섭취시 설사를 일으킬 수 있습니다" 등의 표시를 하도록 규정되어 있다[5]. 당알코올은 다양한 목적으로 사용되고 있음에도 불구하고 지나치게 섭취할 경우 설사 유발 가능성이 있음으로 제품의 품질유지 측면뿐 아니라 안전성 확보를 위해 식품중 당알코올 분석법 마련이 필요하다.

당알코올류는 당류와 전분류를 환원시킨 것으로 친수성, 환원형의 케톤기 또는 알데히드기가 알콜기로 환원되어 모든 산소가 수산화기 형태로 존재하여 카르보닐기 (-CHO, >CO)이 없는 분자 구조를 갖고 있다. 즉, 고리구조가 선형구조로 바뀌게 되고 이에 따라 감미도, 감미질 등 물리화학적인 성질뿐 아니라 생리학적 성질도 바뀌게 된다[6] (Fig. 1).

당알코올을 분석하는 방법으로 자외선분광흡광기, 음이온교환크로마토그래프, 가스크로마토그래프, 가스크로마토

*Correspondence to: So-Hee Kim, Food Additives & Packages Division, Food Safety Evaluation Department, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation, Korea Food and Drug Administration, Seoul 122-704, Korea
Tel: 82-2-380-1696~8 Fax: 82-2-358-0525
E-mail: mrsksh@korea.kr

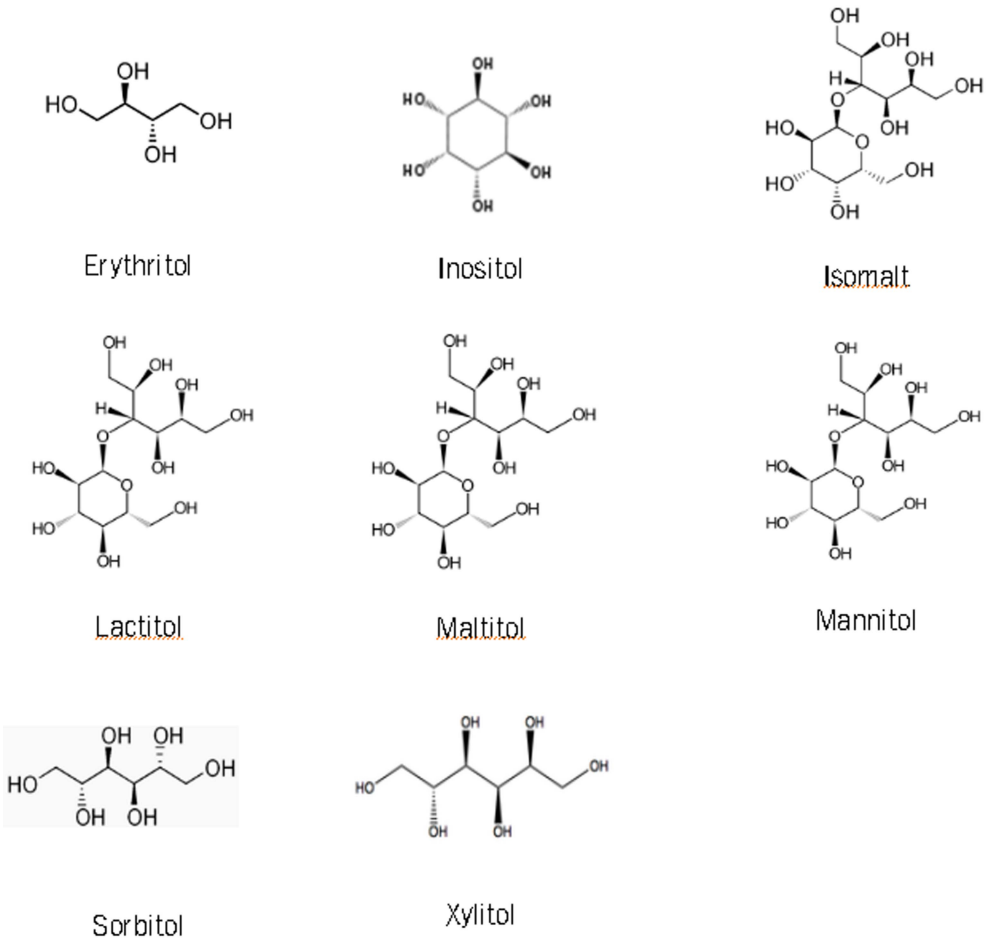

Fig. 1. Chemical structures of eight sugar alcohols.

그래프-질량분석기, 고속액체크로마토그래프, 이온크로마토그래프 등을 이용한 분석방법들이 보고되고 있다[7-16]. 식품 중 당알코올 분석 논문에서 기기분석법을 비교하여 보면 자외선분광흡광기는 용매 사용량이 적고 조작이 간편하고 단시간에 분석가능하나 미량인 경우 확인이 곤란하고 동시 분석인 경우 정량이 곤란한 문제점이 있다. 음이온교환크로마토그래프는 유도체화 없이 당알코올 분석이 가능하나 회수율이 다소 낮았고 검출한계가 25 ppm으로 높았으며 기기 범용성이 낮다는 단점이 있다. 또한, 가스크로마토그래프나 가스크로마토그래프-질량분석기는 식품중 당알코올 분석 시 범용적으로 사용가능하나 살구 중에서만 당알코올 2~3종을 동시 분석하였으며, 재현성이 평균 RSD = 3.8%이었고, 과실류에서 약 80%의 정량성을 보이며, 방해물질이 많고 명확한 피크 분리가 어려운 단점이 있다. 반면 HPLC는 전처리 과정이 다소 복잡하긴 하나 UV 260 nm에서 동시분석이 가능하고, 타 분석법에 비해 방해물질이 적고, 범용적으로 사용할 수 있다는 장점이 있다.

따라서 본 연구는 HPLC를 이용하여 이노시톨, 자일리톨, D-소리비톨 등 국내에 허용된 당알코올 8종에 대한 동시분석법의 확립하고, 확립된 분석법을 이용하여 국내 유통 가공식품 중 당알코올 함유량을 조사하고 하였다.

재료 및 방법

시약 및 재료

당알콜 표준품으로는 meso-Erythritol, xylitol, D-sorbitol, myo-Inositol, D-mannitol, Maltitol는 Sigma사(St. Louis, MO, USA)로부터, Lactitol monohydrate, 1-O-α-D-Glucopyranosyl-D-mannitol Dihydrate는 Wako사 (Osaka, Japan)로부터 구입하였으며, 표준용액은 에탄올 (Merk, Whitehous staion, NJ, USA)과 물 (HPLC-grade, Waters, USA)을 사용하여 제조하였다.

HPLC 이동상으로 acetonitrile (HPLC grade, Merck & Co., Inc. Whitehouse station, NJ, USA) 을 사용하였으며, 시료 전처리용 시약으로는 Pyridine, 4-Nitrobenzoyl chloride는 Sigma사 (St. Louis, MO, USA)로부터, Chloroform, Hexane, Ethylacetate, Methanol, Ethanol은 Merck사 (Whitehous staion, NJ, USA) 등을 사용하였다.

본 연구에 사용한 껌 등 당알코올 시료 130건은 서울, 경기, 경남 등 9개 시도지역의 대형마트, 편의점 등에서 구입하였다.

당알코올 분석을 위한 HPLC 분석 조건

식품중 당알코올 분석을 위해 사용된 HPLC 장비는 Agilent 1200 series (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA)를 사용하였다. 껌, 과자 등 가공식품 중 당알코올 분석을 위한 HPLC 분석조건은 다음과 같다. 컬럼은 Imtakt Unison US-C18 (Agilent Technologies, 4.6 × 250 mm, 5 μm)을 사용하였으며, 검출기는 UV detector의 일종인 DAD (Diodearray detector)이었고, 검출파장은 260 nm이었다. 컬럼 온도는 40°C이었으며, 샘플의 주입량은 10 μL이었다. 각 표준물질의 분리를 위해 유속은 1.0 mL/min으로 설정하였으며 이동상 A는 아세토니트릴을 사용하였고 이동상 B는 정제된 물이었으며 일정 용매 조건을 사용하였다. 일정 용매 조건에서 이동상 용매 (A:B = 77:23)로 흘려주었으며 컬럼의 재평형을 위해서는 20분간 흘려주었다.

시료중의 당알코올 농도는 시료를 일정량 취하고 전처리하여 시험용액을 제조 후, 고속액체크로마토그래프에 주입·분석하여 표준용액의 성분과 머무름 시간이 일치하는 피크의 면적값을 해당표준물질의 검량선에 대입하여 농도를 구한 다음, 아래의 식에 대입하여 산출하였다.

$$\text{시료 중 당알코올 함량(mg/kg)} = \frac{\text{시험액중 농도(mg/L)} \times \text{최종 액량(mL)}}{\text{시료량(g)}}$$

시료 전처리

시료 약 1 g을 정밀히 달아 30%에탄올 50 mL을 첨가하여 10분간 진탕하여 추출하였다. 이 추출액을 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 얻은 상등액을 30%에탄올로 희석하여 50 mL로 한 액을 시험용액으로 하였다. 이 액 1 mL을 취하여 감압농축한 후 5 mL p-nitrobenzoyl chloride (PNBC)을 가한 다음 50°C에서 90분간 반응시켰다. 반응을 중지시키기 위해 메탄올 5~6방울을 떨어뜨린 후 질소농축한 다음 5 mL 클로로포름으로 녹였다. 이 액을 n-헥산으로 활성화시킨 Sep-pak 카트리지에 통과시킨 후 10% 초산에틸/헥산을 흘려보낸 다음 25 mL 10% 초산에틸/헥산 용액으로 용출시켰다. 용출액을 질소농축한 후 10 mL 아세토니트릴을 가한 다음 0.45 μm 멤브레인필터로 여과하여 액체크로마토그래피에 주입하였다.

표준용액의 조제

당알코올 8종의 각 표준품 50 mg을 50 mL 용량플라스크에 정밀히 취하여 30% 에탄올을 첨가하여 정용한 것을 표준원액이라 한다(1,000 ppm). 표준원액을 30% 에탄올로 희석하여 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100, 200 mg/L로 제조하여 검량선 작성용 표준용액으로 하였다.

분석법 유효성 검증

최종적으로 확립한 분석법을 ICH Guide line Q2B에서 제시하는 방법[17]을 근거로 하여 직선성(linearity), 회수율, 검출한계(LOD) 및 정량한계(LOQ), 재현성(Reproducibility) 등으로 유효성 검증을 실시하였다. 회수율은 음료, 과자 또는 소스 시료에 당알코올 8종의 혼합표준용액을 최종농도 100 ppm 되도록 첨가하고 검토한 전처리 방법을 이용하여 시료의 회수율을 시험하였다.

결과 및 고찰

추출 조건 검토

당알코올의 용해도는 상온에서 에탄올 농도에 영향을 받는다. 에탄올 농도가 증가됨에 따라 당알코올의 용해도가 감소된다. 에탄올 농도별 당알코올 회수율을 검토한 결과, Fig. 2에서와 같이 30%~50% 에탄올에서 회수율이 가장 좋았다. 50% 에탄올에서는 30% 에탄올보다 약간 회수율이 떨어지는 경향이 보여 식품으로부터 당알코올 추출하는데 용매를 30% 에탄올로 결정하였다. 이러한 단계는 식품에 존재하는 -OH가 많은 화합물로부터의 간섭을 제거하는데 도움을 준다.

당알코올은 발색단이 없는 구조로 되어있다. 이러한 이유로 UV 검출기로 직접 검출이 안되나 당알코올을 phenyl isocyanate[18], benzoate[19], 2,4-dinitrobenzoate[20]와 같은 발색물질로 유도체화시키게 되면 비교적 값이 싼 UV 검출기를 사용할 수 있다. PNBC는 당알코올을 빠르고 정량적으로 유도체화시키는 물질로 알려져있다[21].

PNBC에 의해 생성된 당알코올의 유도체는 Fig. 3에서와 같이 반응온도와 시간에 영향을 받았다. 50°C에서 일반적으로 60분 이내에 반응이 완결되었으며, 90분까지 유지되는 경향을 보였다. 에리스리톨 유도체는 60°C에서 90분 가

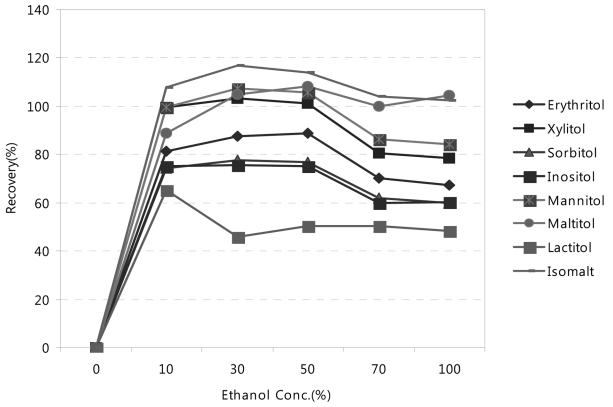

Fig. 2. Plots of recovery on ethanol concent (%). HPLC conditions as in Table 1.

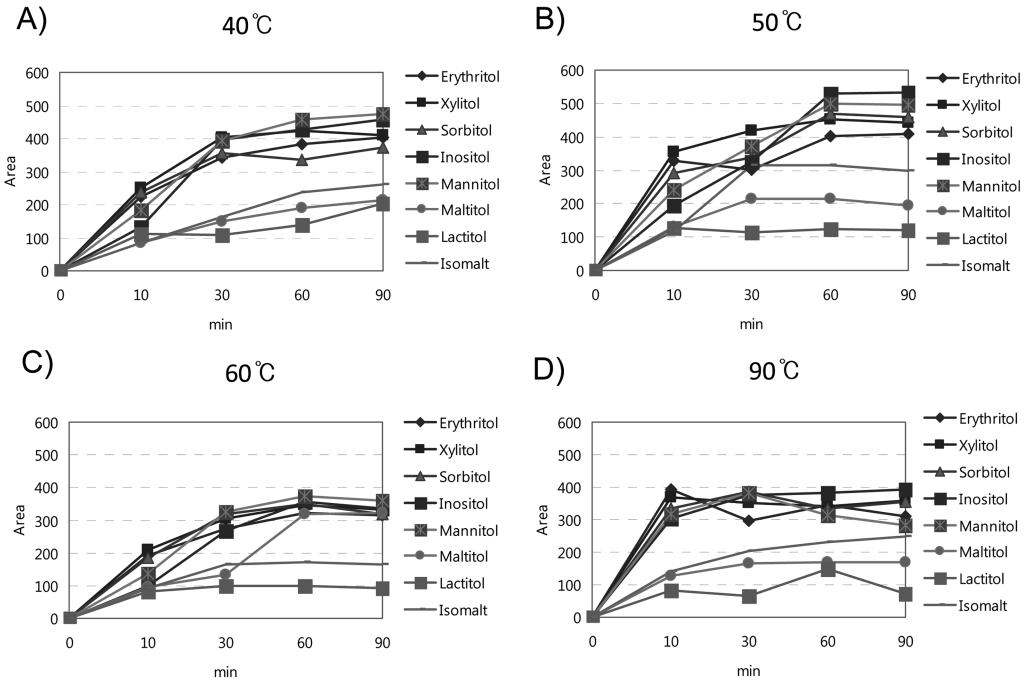

Fig. 3. Time course of nitrobenzoylation. Standards of sugar alcohols were derivatized for various times at 40, 50, 60, 90°C and then subjected to HPLC analysis.

열한 후 점차 파괴되었고, 90°C에서도 60분 이후 점차 파괴되었다. 따라서 시료를 50°C에서 90분간 반응시켰다. PNBC에 의해 생성된 당알코올의 유도체는 에리스리톨이나 자일리톨 유도체의 경우 60°C이상에서 점차 파괴된다고 보고된 바 있다[22]. 그러나 50°C에서는 1시간 동안 안정성을 보였다. 40°C, 50°C, 60°C, 90°C에서 적당한 반응조건을 찾은 결과, 40°C에서는 여러 시간동안에 반응이 완결되지 않았으며, 60°C 이상의 온도에서는 점차 파괴되는 것이 관찰되었으며, 당알코올을 유도체화시키는데 50°C에서 약 60분이 걸렸으며, 이 온도에서 90분 동안 안정하였다(Fig. 3). 이러한 결과는 이전의 Nojiri 등[22]의 연구결과와 유사한 경향을 보였다. 식품유형이 다양하고 추출시 많은 성분이 추출되어 간섭할 수 있음으로 충분한 반응시간을 주기 위해 50°C에서 90분간 반응시켰다.

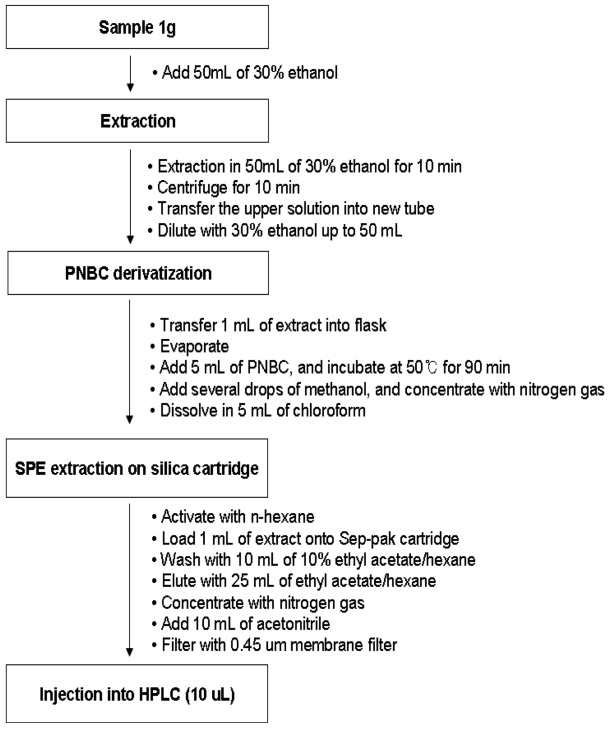

Fig. 4. Schematic diagram of the sample preparation for analysis of sugar alcohols in foodstuffs.

또한, 과량의 시액을 제거하는데 silica Sep-pak을 적용하는 것이 필수적이라고 보고된 바 있다[23]. 그러나, 이들 유도체들은 세척용액(10% 초산에틸/헥산)에서 불용성이기 때문에 재현성이 좋지 않았다. 그러므로, 2 mL 클로로포름으로 유도체를 녹이고 silica Sep-pak에 적용함으로서 전에 보고된 방법을 개선하였다(data not shown). 이상의 조건들을 검토하여 식품중 당알코올 분석을 위한 시료 전처리 조건을 확립하였다(Fig. 4).

분석 조건 검토

분리 컬럼을 결정하기 위해 당알코올류는 극성이 있는 물질이나 역상계 컬럼인 C_{18} 컬럼을 검토한 결과, 분리능, 피크의 대칭성 등의 분리성능 면에서 문제가 없었으며, 실제분석에는 Imtakt Unison US-C18 (5 μm, 4.6 × 250 mm) 컬럼을 사용하였다.

이동상으로 완충용액 등의 사용 없이도 머무름시간

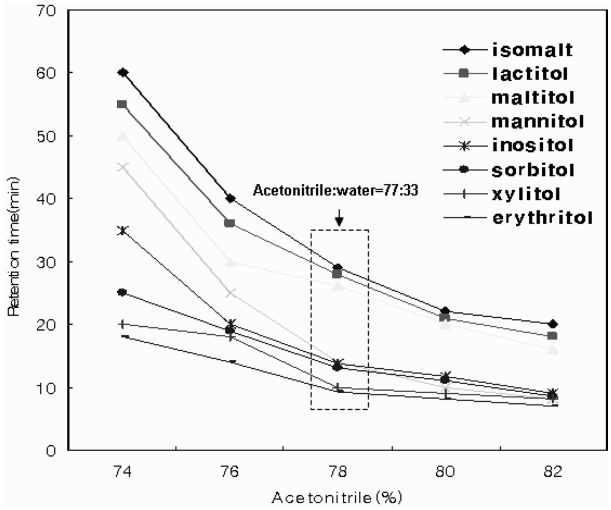

Fig. 5. Plots of retention time on C_{18} column vs. acetonitrile content (%). HPLC conditions as in Table 1.

(Retention time) 등에 재현성에 문제가 없었으며, 기본 용리액으로는 물을, 용리가 늦은 불순물 등의 컬럼 오염물질을 제거하기 위하여 아세토니트릴로 일정구배조건으로 하였다. 당알코올은 PNBC 유도체로 전환시킴으로서 쉽고 빠르게 분석될 수 있다. 이동상이 메탄올-물일 경우 일부 당알코올이 분리가 되지 않는다고 보고[23]된 바 있어 이동상을 아세토니트릴-물로 사용하였다. 이동상을 아세토니트릴-물로 사용하고 아세토니트릴 농도를 감소시키면서 8종 당알콜의 피크를 조사한 결과, 아세토니트릴 농도 감소에 따라 머무름 시간이 늘어나 분리능이 개선되는 것을 확인하였다 (Fig. 5). 분리능이 가장 좋은 이동상을 아세토니트릴-물(77:23)로 하여 8종 당알코올을 동시분석 하였을 경우 크로마토그램은 Fig. 6과 같다. Fig. 6에서와 같이 당알코올 개별표준물질의 최대흡수파장은 260 nm이었으며, 당알콜 개별표준

Table 1. HPLC parameters for the simultaneous determination of sugar alcohols

Parameters	Conditions
Column	Imtakt Unison US-C18 (5 μm, 4.6 × 250 mm)
Mobile phase	A : B = 77 : 23 A : Acetonitrile B : Distilled water
Run time	40min
Flow rate	1 mL/min
Detector	UV 260 nm
Injection volume	10 μL
Column temp.	40°C

용액과 8종 혼합표준용액의 머무름 시간 및 PDA 스펙트럼을 비교한 결과, 에리스리톨 9.2분, 자일리톨 10.1분, 소르비톨 12.8분, 이노시톨 13.4분, 만니톨 13.9분, 말티톨 27.2분, 락티톨 28.1분, 이소말트 28.9분대 분리됨을 확인하였다.

위 이동상 조건에서 측정한 당알코올의 흡수스팩트럼은 260 nm에서 최대흡수봉우리를 나타내어 260 nm를 주분석파장으로 하여 정량분석을 실시하였다. 확립된 HPLC 분석조건은 다음 Table 1과 같다.

분석법의 유효성 검토

직선성(linearity)은 분석의 정확도 및 범위와 관련이 있는 것으로 기기분석 시 측정농도와 반응값의 상관성을 측정하는 것으로 표준물질의 농도와 기기 반응값 (면적)의 상관성을 확인하기 위하여 당알코올류 10, 20, 50, 100, 200 mg/L의 범위가 되도록 하여 HPLC로 분석하였다. 그 결과 erythritol: $y = 2.202x-6.854$ ($r^2 = 0.996$), inositol: $y = 2.78x - 9.562$ ($r^2 = 0.993$), isomalt: $y = 1.615x - 12.900$ ($r^2 = 0.992$), maltitol: $y = 1.194x - 14.837$ ($r^2 = 0.992$), mannitol: $y = 2.419x - 6.651$ ($r^2 =$

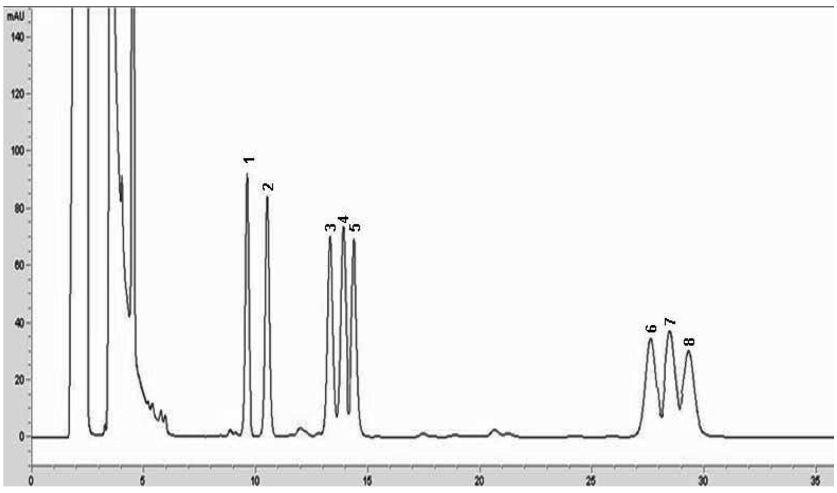

Fig. 6. Liquid chromatographic separation of p-nitrobenzoates of mixed sugar alcohols standards. Peak: 1 = Erythritol, 2 = xylitol, 3 = sorbitol, 4 = inositol, 5 = mannitol, 6 = maltitol, 7 = lactitol, 8 = isomalt. HPLC conditions as in Table 1.

0.998), lactitol: $y = 1.186x - 12.861$ ($r^2 = 0.990$), sorbitol: $y = 3.148x + 12.431$ ($r^2 = 0.993$), xylitol: $y = 2.176x + 0.433$ ($r^2 = 0.999$)을 나타내었다. 8종 당알코올의 검정식의 변동계수는 모두 $r^2 = 0.99$ 이상을 나타냄으로써 양호한 정량성을 나타내었다. 이는 erythritol, xylitol, mannitol, maltitol의 농도가 10~250 μg/mL 범위에서 직선성 상관계수 (r^2)이 0.999이었다고 보고한 Nojiri 등의 연구결과와 유사하였다.

분석을 위하여 설정된 전처리 조건의 확인을 위하여 시료에 표준물질을 혼합하여 최종농도가 100 ppm이 되도록 spike한 후 동일한 방법으로 시료를 전처리하여 HPLC 분석결과, 고형에서는 약 81.2~97.0%, 반고형은 95.6~113.9%, 액상은 94.4~116.3%의 회수율을 나타내었다(Table 2). 이는 Nojiri 등[24]이 보고한 것과 같이 식품의 유형에 따라 회수율이 차이가 났으며 액상 (음료)보다 고형 (과자류), 반고형 (소스류) 시료가 식품의 matrix에 의한 영향으로 다소 낮은 경향을 보였다.

반복실험간에 정밀성을 확인하기 위하여 당알코올의 표준용액(100 mg/L)을 10회 제조하여 각각의 농도를 측정하였다. 당알코올의 일정농도 표준용액을 10회 반복 측정하여 피크 면적 및 머무름 시간을 비교하여 정밀성을 확인하였다. 당알코올 8종의 피크 면적의 상대표준편차(%RSD)가 각각 0.62, 1.25, 1.25, 1.6, 2.89, 1.76, 2.39, 2.26으로 측정되었으며, 이들의 평균 상대표준편차(%RSD)는 1.8%이었으며, 머무름 시간도 2% 이내로 양호한 재현성을 나타내었다.

크로마토그래피에서 검출한계(limit of detection, LOD)란 base-line의 잡음으로부터 3배 이상인 농도로 정의하고 있으며, 검출한계를 설정하기 위한 방법은 이론적인 계산치를 통한 방법도 있지만 실제의 농도로 확인하는 것이 더욱 정확하므로 검출한계로 예상되는 농도를 분석하였다.

확립된 분석조건으로 표준품을 분석하여, S/N비(signal to noise ratio)를 3으로 하여 당알코올의 검출한계를 측정한 결과는 Table 3과 같으며, 0.5-8 mg/L를 나타내었다. 또한, 정량한계(limit of quantification, LOQ)는 base-line의 노이즈로부터 10배 이상인 농도로 정의하고 있으며, 측정한 결과 와 같이 S/N비를 10으로 하였을 때 2-17 mg/L에서 정량이 가능하다고 판단되었다. Cadenza C_{18} column과 C_{18} 카트리지를 사용하여 Inositol, mannitol, sorbitol의 신뢰할 수 있는 정량범위를 분석한 결과 0.025~5, 0.01~5, 0.01~5 mg/L이라고 보고한 Miyagi 등의 연구결과와 비교하면 mannitol의 정량한계는 10 mg/mL로 높았으나 Inositol 및 sorbitol은 각각 2.0 mg/L, 5.0 mg/L로 정량한계가 유사한 수준이었다. 이는 본 연구에서 사용한 HPLC기기가 보고된 문헌과 다르기 때문에 차이가 나는 것으로 판단된다.

Table 2. Recoveries for the simultaneous determination of sugar alcohols

Sugar alcohols	Recovery(n = 3)		
	Beverage	Sauce	Snack
Erythritol	96.26 ± 0.88	95.77 ± 3.66	85.44 ± 2.63
xylitol	97.07 ± 2.74	97.46 ± 2.63	89.01 ± 1.49
sorbitol	95.40 ± 3.65	97.33 ± 1.07	94.46 ± 4.86
inositol	116.28 ± 2.72	113.87 ± 1.95	96.99 ± 0.23
mannitol	96.49 ± 3.34	97.59 ± 1.66	96.83 ± 3.45
maltitol	96.63 ± 2.65	95.04 ± 1.02	81.21 ± 1.60
lactitol	123.11 ± 2.46	105.52 ± 4.56	87.21 ± 3.42
isomalt	94.42 ± 3.71	95.63 ± 1.60	82.36 ± 3.69

Table 3. Limit of detection (LOD) and limit of quantification (LOQ) for the simultaneous determination of sugar alcohols

Sugar alcohols	LOD(mg/L)	LOQ(mg/L)
	Conc.(μg/mL)(n = 3)	
Erythritol	3.0	5.0
Xylitol	1.3	3.5
Sorbitol	3.0	5.0
Inositol	0.5	2.0
Mannitol	2.5	10.0
Maltitol	6.0	10.0
Lactitol	8.0	17.0
Isomalt	3.0	10.0

국내 유통 식품 중 당알코올 함량 분석

당알코올은 현행 「식품등의 표시기준」 제6조(표시사항의 적용특례) (아)항에 당알코올을 주원료로 한 제품에 대하여는 해당 당알코올의 종류 및 함량을 표시하여야 하고, “과량섭취시 설사를 일으킬 수 있습니다” 등의 표시를 하도록 규정되어 있다. 따라서, 시료는 제품의 원재료명 및 함량 표시사항을 확인하여 분석법의 적용가능여부를 확인하기 위해 당알코올이 함유된 식품을 주로 구입하였다.

확립된 식품중 당알코올 분석법으로 국내 유통 중인 추잉껌, 과자, 혼합음료 등 130개 가공식품에 대하여 당알코올 함량을 분석한 결과는 Table 4에 나타나 있다. 확립된 식품중 당알코올 분석법을 이용하여 국내 유통식품에 대한 함유량 조사를 실시한 결과, 총 130건 중 당알콜이 표시되어 있는 89건의 식품에서 0.4~693.7 g/kg의 범위로 다양하게 검출되었다. 에리스리톨, 자일리톨, 소르비톨, 이노시톨, 만니톨, 말티톨, 락티톨 및 이소말트의 검출율은 각각 약 3%, 27%, 47%, 1.5%, 1%, 7.7%, 1%, 5.4%로 소르비톨과 자일리톨이 주로 사용되고 있었으며, 당알콜이 표시되어 있지 않은 식품에서는 상기 당알콜8종이 검출되지 않았다. 이노시톨 및 만니톨은 사용 빈도가 낮아 시료 구입건수가 낮았으며, 락티톨의 경우는 사용한 식품을 찾기 어려워 건강기능식품 1건만을 구입할 수 있었다. 또한, 검출된 시료 중에 병용 사용되는 제품은 1종이 74건으로 대부분을 차지

Table 4. Analysis of sugar alcohols in various confectioneries

Type of processed foods	Group	Total sample	Deteced sample	Contents(g/kg)							
				Erythritol	Xylitol	Sorbitol	Inositol	Mannitol	Maltitol	Lactitol	Isomalt
Snacks	1	26	10	111.7[1)]	124.4-132.4	1.5-266.0			82.7-693.7		17.4-55.4
	2	11	9		4.7-672.2	0.7-104.5			92.5		473.9
	3	15	11			0.4-33.8			117.8		
Beverages	1	7	5	55.0	3.8-7.2		4.1		7.8		
	2	3	1	3.0							
	3	2	2		14.9-225.0						
Fish foods	1	1	1			6.8					
	2	1	1			0.6					
	3	1	1			1.6					
	4	2	2			3.1-9.3					
Meat foods	1	6	6			4.3-38.5					
Dried fish or meat foods	1	10	10			0.1-126.4					
Bakery products or tteoks	1	9	4			1.2-19.0					
Chocolates	1	14	4			1.3-14.4					
Functional foods	1	9	9	40.6	1.3-366.3	9.3		34.9	96.2		44.3
	2	5	5			164.1-381.2	5.8		3.8	85.7	25.0
Seasoned foods	1	3	3			16.8-139.6					
	2	1	1			14.9					
	3	1	1			9.2					
Alcohols	1	1	1		57.7						
Other foods	1	1	1			3.9					
	2	1	1			10.0					

[1)] Each value is expressed as means(n = 3).

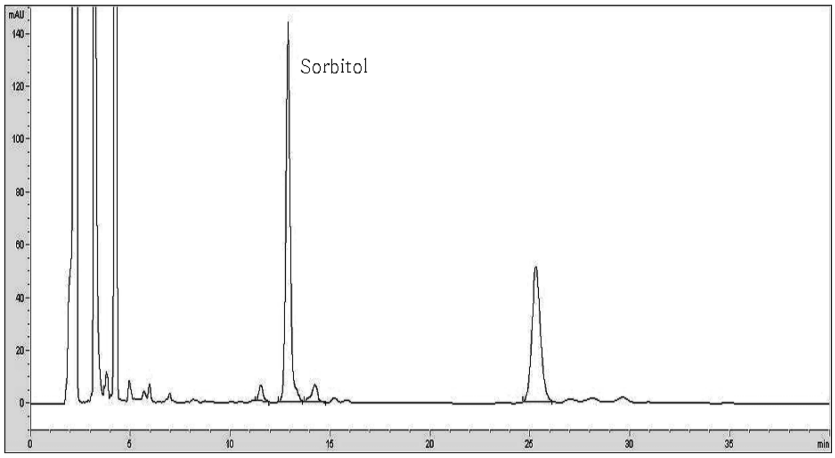

Fig. 7. Liquid chromatogram of sorbitol detected in a beverage.

하였으며, 2종이 10건, 3종이 2건, 4종이 3건이었다.

Fig. 7은 음료 중 소르비톨이 검출된 크로마토그램 예를 보여준다. 식품중 당알콜 함유량 조사시 당알코올 표준물질의 최대흡수파장은 260 nm로서 시험용액 중 동일한 머무름 시간대의 당알콜과 PDA (Photodiode array) 스펙트럼이 일치함을 확인하여 동정하였다.

당알코올 검출 농도를 보면 대체로 많은 양이 검출되었으며, 검출범위는 자일리톨은 최고 약 670 g/kg이었고, 소르비톨은 약 380 g/kg까지 검출되었다. 당알코올 종류에 따라 검출농도가 다양하게 나타났으며, 당알코올이 사용된 시료 위주로 구입하여 검출율이 높았다.

감사의 글

본 연구는 2009년도 식품의약품안전청에서 시행한 연구개발사업 (09081영기안084)에 의해 수행된 결과로 연구비 지원에 감사드립니다.

요 약

본 연구에서는 고속액체크로마토그래프를 이용하여 당알콜 즉, 에리스리톨, 자일리톨, 소르비톨, 이노시톨, 만니톨, 말티톨, 락티톨, 이소말트의 동시분석법을 확립하였다. 당알콜은 p-nitrobenzoyl chloride (PNBC)을 사용하여 자외선을 강하게 흡수하는 유도체로 전환되었다. HPLC는 이동상으로는 아세토니트릴 : 물(77:23), UV 검출(260 nm) 및 Imtakt Unison US-C_{18} 컬럼을 이용하여 수행되었다. 모든 당알콜의 표준곡선은 10~200 mg/L 범위에서 직선성을 보였다. 당알콜 8종을 100 ppm이 되도록 spiking한 3가지 유형의 가공식품에 대해 당알콜의 평균 회수율은 81.2~123.1%(상대표준편자 0.2~4.9%)이었다. 검출한계 (LOD)는 0.5~8 μg/L이었으며, 정량한계는(LOQ)는 2~17 μg/L이었다. 당알콜의 재현성은 0.28~1.97 %RSD이었다. 국내유통 가공식품 중 당알콜 분석결과 총 130건 중 89건이 검출되었으며, 검출범위는 0.4~693.7 g/kg이었다. 본 연구를 통하여 확립된 식품 중 당알코올 동시분석법은 가공식품에 대한 당알코올의 사전·사후관리 및 식품 제조시 품질관리를 위한 기초자료로 활용될 것으로 본다.

참고문헌

1. Korea Food and Drug Administration: Food Additives Code. Korean Foods Industry Association, Seoul, Korea. pp. 233-234 (2009).
2. United States Food and Drug Administration: 21CFR. (http://www.access- data.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr).
3. Japan Ministry of Health, Labour and Welfare: Japan's Specifications and Standards for Food Additives. 8th Ed. Ministry of Health, Labour and Welfare, Tokyo, pp. 1-674 (2007).
4. United Kingdom Food Standard Agency: Current EU approved additives and their E Numbers. (http://www.food.gov.uk/safereating/chemsafe/ukadditivesbranch/enumberlist).
5. Korea Food and Drug Administration: 「Labelling Standard of Food」 Seoul, Korea (2010).
6. Bartolozzi, F., Bertazza, G., Bassi, D. and Cristoferi, G.: Simultaneous determination soluble sugars and organic acids as their trimethylsilyl derivatives in apricot fruits by gas-liquid chromatography. *J. Chromatogr.* A., **758**, 99-107 (1997).
7. Katonaa, Z.F., Sassb, P. and Molna´r-Perla, I.: Simultaneous determination of sugars, sugar alcohols, acids and amino acids in apricots by gas chromatography mass spectrometry, *J. Chromatogr.* A., **847**, 91-102 (1999).
8. Adams, M.A., Chen, Z.L., Landman, P. and Colmer, T.D.: Simultaneous Determination by Capillary Gas Chromatography of Organic Acids, Sugars, and Sugar Alcohols in Plant Tissue Extracts as Their Trimethylsilyl Derivatives. *Anal. Biochem.*, **266**, 77-84 (1999).
9. Hong, J.S. and Kim, T.Y.: Sugars & Free - Sugar alcohols in

Pleurotus ostreatus, Lentinus edods & Agaricus bisporus. Korean *J. Food Sci. Technol*., **20**, 459-462 (1988).
10. Medeiros, P.M. and Simoneit, B.R.T.: Analysis of sugars in environmental samples by gas chromatographymass spectrometry. *J. Chromatogr*. A., **1141**, 271-278 (2007).
11. Hanko1, V.P. and Rohrer, J.S.: Determination of Carbohydrates, Sugar Alcohols, and Glycols in Cell Cultures and Fermentation Broths Using High-Performance Anion-Exchange Chromatography with Pulsed Amperometric Detection. *Anal. Biochem*., **283**, 192-199 (2000).
12. Penn, S.G., Hu, H., Brown, P.H. and Lebrilla, C.B.: Direct Analysis of Sugar Alcohol Borate Complexes in Plant Extracts by Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Fourier Transform Mass Spectrometry. *Anal. Chem*., **69**, 2471-2477 (1997).
13. Liao, J.C., Rountree, M., Good, R., Hook, J. and Punko, C.: Determination of D-sorbitol in human erythrocytes by an improved enzymatic method with fluorometric detection. *Clin. Chem*., **34**, 2327-2330 (1988).
14. Yada, T., Tabucih, Y., Fujii, M., Koh, T., Tobimatsu, Y., Hamasaki, N., Sekiguchi, Y., Kato, Y., Nakamura, M., Semma, M., Nisihima, M. and Ito, Y.: Determination of xylitol, D-sorbitol and D-mannitol in food by anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. Japanese *J. Toxicol. Environ. Health,* **42**, 417-421 (1996).
15. Corradini, C., Canali, G., Cogliandro, E. and Nicoletti, I.: Separation of alditols of interest in food products by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *J. Chromatogr*. A., **791**, 343-349 (1997).
16. Lu, W. and Cassidy, R.M. Pulsed amperometric detection of carbohydrates separated by capillary electrophoresis. *Anal. Chem*., **65**, 2878-2881 (1993).
17. ICH (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use): ICH Topic Q2 (R1). Validation of analytical procedures: Text and methodology. European Medicines Agency, CPMP/ICH/381/9591995).
18. Björkqvist, B.: Separation and determination of phenyl isocyanate-derivatized carbohydrates and sugar alcohols by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J. Chromatogr*. A., **218**, 65-71 (1981).
19. Higgins, W.J.: A high-performance liquid chromatographic analysis of the benzoate esters of sapogenins isolated from Agaves. *J. Chromatogr*. A., **121**, 3290-2334 (1976).
20. Deyl, Z., MikSik, I., Tagliaro, F. and Tesaiova, E.: Advanced Chromatographic and Electromigration Methods in Biosciences. In Chaper 4 Selected Derivatization Reactions. Academic Press Inc., *Amsterdam, Netherlands*, **60**, 19-46 (1998).
21. Nachtmann, F. and Budna, K.W. Sensitive determination of derivatized carbohydrates by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr*. A., **136**, 279-287 (1977).
22. Nojiri, S., Taguchi, N., Oishi, M. and Suzuki, S.: Determination of sugar alcohols in confectioneries by high-performance liquid chromatography after nitrobenzoylation. *J. Chromatogr*. A., **893**, 195-200 (2000).
23. Miyagi, M., Yokoyama, H. and Hibi, T.: Sugar microanalysis by HPLC with benzoylation: Improvement via introduction of a C-8 cartridge and a high efficiency ODS column. *J. Chromatogr*. B., **854**, 286-290 (2007).
24. Nojiri, S., Saito, K., Taguchi, N., Oishi, M. and Maki, T.: Liquid chromatographic determination of sugar alcohols in beverages and foods after nitrobenzoylation., *J. AOAC Int.*, **82**, 134-40 (1999).