

## 초고성능액체크로마토그래프법에 의한 얼음과자에서 단맛감들의 정량

리혁철, 김광호

위대한 령도자 김정일동지께서는 다음과 같이 교시하시였다.

《나라의 과학기술을 세계적수준에 올려세우자면 발전된 과학기술을 받아들이는것과 함께 새로운 과학기술분야를 개척하고 그 성과를 인민경제에 적극 받아들여야 합니다.》  
(《김정일선집》 증보판 제11권 138~139페이지)

아스파르탐과 아세솔팜, 시클라마트와 같은 단맛감들은 사탕보다 수십~수백배나 달며 적은 양으로도 맛을 돋우고 비만과 당뇨병의 예방, 이삭기방지 등과 같은 작용을 하는것으로 하여 껌, 얼음과자, 과일즙, 단묵과 같은 식료품들과 의약품들에도 널리 리용되고있다.[1]

최근에 이 단맛감들에 대한 빠르고 감도높은 분석방법으로서 고성능액체크로마토그래프법[3, 4], 고성능액체크로마토그래프-질량분석법[5, 6], 초고성능액체크로마토그래프-질량분석법[7]들이 개발되였다.

우리는 ACQUITY UPLC<sup>®</sup> HSS T3(1.8 $\mu$ m, 2.1mm $\times$ 150mm)탑에서 단맛감들의 초고성능액체크로마토그래프분리특성을 고찰한데 기초하여 초고성능액체크로마토그래프법으로 얼음과자속에 들어있는 단맛감들을 정량하기 위한 연구를 하였다.

### 실 험 방 법

장치 및 기구로는 초고성능액체크로마토그래프(《ACQUITY<sup>™</sup> UPLC》), 빛2극소자배렬검출기(《ACQUITY<sup>™</sup> UPLC PDA》), pH미터(《PHS-3C》), 눈금플라스크(50mL)를, 시약으로는 암모니아수(분석순), 아스파르탐표준용액(200 $\mu$ g/mL), 아세솔팜표준용액(200 $\mu$ g/mL), 시클라마트표준용액(1 000 $\mu$ g/mL), 초순수를 리용하였다.

혼합표준용액의 준비 아스파르탐, 아세솔팜, 시클라마트표준용액들을 초순수로 희석하여 농도가 각각 40, 40, 200 $\mu$ g/mL 되게 매개 성분들에 대한 표준용액들과 혼합표준용액을 준비하였다. 검량선작성을 위하여 표준용액들을 초순수로 희석하는 방법으로 농도가 0.5, 1, 2, 5, 10, 15, 25, 40 $\mu$ g/mL인 아스파르탐, 아세솔팜, 시클라마트표준용액들을 준비하였다.

시료전처리 시료 5g을 0.01g의 정확도로 취하여 50mL 눈금플라스크에 넣고 암모니아수로 pH를 7.0이 되게 맞추고 증류수로 눈금까지 희석한 다음 0.45 $\mu$ m여과기로 여과한다. 이 여과액을 초순수로 희석(5배)하여 주입하였다.

초고성능액체크로마토그래프측정조건 성분들의 분리는 ACQUITY UPLC<sup>®</sup> HSS T3(1.7 $\mu$ m, 2.1mm $\times$ 150mm)탑에서 0.1% 개미산(이동상 A)과 아세토니트릴(이동상 B)을 이동상으로 리용하여 진행하였다. 이동상류속은 0.2mL/min이고 탑온도는 30 $^{\circ}$ C, 시료주입량은 10 $\mu$ L, 빛2극소자배렬검출기의 검출파장은 260nm이다.

## 실험결과 및 고찰

구배용출조건의 최적화 역상액체크로마토그래프법에서 이동상조성의 변화에 따르는 성분의 유지인자변화는 다음과 같이 모형화할 수 있다.[2]

$$\lg k = \lg k_w - S\varphi \quad (1)$$

여기서  $k$ 는 성분의 유지인자이고  $k_w$ 는  $\varphi=0$ 일 때의 유지인자이며  $\varphi$ 는 이동상조성에서 아세토니트릴의 함량이고  $S$ 는 성분과 역상액체크로마토그래프체에 대한 상수이다. 이때 구배용출과정에 성분의 유지시간과 유지인자는 다음과 같이 표현할 수 있다.

$$t_R = (t_0/b)\lg(2.3k_0b+1) + t_0 \quad (2)$$

$$k = (t_R - t_0)/t_0 = \lg(2.3k_0b+1)/b \quad (3)$$

식 (2), (3)에서  $t_R$ 는 성분의 유지시간이고  $t_0$ 은 무효유지시간이며  $k_0$ 은 구배용출의 시작점에서의 이동상조성으로 단일용출을 진행하였을 때 얻어지는 성분의 유지인자이고  $b$ 는 다음의 식으로 표현할 수 있는 구배경사와 관련한 결수이다.

$$b = t_0\Delta\varphi S/t_g \quad (4)$$

여기서  $\Delta\varphi = \varphi_1 - \varphi_2$ 로서 아세토니트릴함량의 변화량이며  $t_g$ 는 구배용출시간이다.

식 (1)에서 상수  $S$ 는 아세토니트릴의 함량이 각각 50, 70%인 경우에 단맛감들의 유지인자를 측정하여 결정하였으며 이것에 기초하여  $k_w(\varphi=0)$ 와  $k_0(\varphi=0.1)$ 값들을 계산하였다.(표 1) 이때 아스파르탐표준용액( $40\mu\text{g/mL}$ ), 아세솔팜표준용액( $40\mu\text{g/mL}$ ), 시클라마트표준용액( $200\mu\text{g/mL}$ )을 각각 리용하였다.

표 1. ACQUITY UPLC® HSS T3탑에서 아스파르탐, 아세솔팜, 시클라마트의  $S$ ,  $k_w$ 와  $k_0$ 값( $n=3$ )

성분	$k_1(\varphi=0.7)$	$k_2(\varphi=0.5)$	$S$	$k_w(\varphi=0)$	$k_0(\varphi=0.1)$
아스파르탐	0.29	0.58	1.543	3.44	2.41
아세솔팜	0.44	0.65	0.863	1.76	1.44
시클라마트	0.28	0.57	1.505	3.23	2.28

식 (3), (4)에서 보는바와 같이  $t_g$ 를 일정하게 할 때  $\Delta\varphi$ 를 변화시켜  $b$ 를 조종할 수 있으며  $k$ 값도 예측할 수 있다. 구배용출의 첫 시작점에서의 아세토니트릴의 함량을 10%( $\varphi_1=0.1$ )로 하고 구배용출시간을 15min으로 할 때 마지막이동상조성에서 아세토니트릴의 함량( $\varphi_2$ )에 따르는 성분들의  $b$ 값과  $k$ 값변화를 계산한 결과는 표 2와 같다.

표 2. ACQUITY UPLC® HSS T3탑에서 아세토니트릴의 함량에 따르는 아스파르탐, 아세솔팜, 시클라마트의  $b$ 값과  $k$ 값변화

성분	$\varphi_2=0.9$		$\varphi_2=0.8$		$\varphi_2=0.7$	
	$b$	$k$	$b$	$k$	$b$	$k$
아스파르탐	-0.080	3.19	-0.070	3.05	-0.060	2.93
아세솔팜	-0.045	1.56	-0.039	1.54	-0.033	1.53
시클라마트	-0.078	2.94	-0.068	2.83	-0.059	2.73

표 2에서 보는바와 같이 계산된 아세솔팜의  $k$ 값은 다른 성분들의  $k$ 값보다 큰 차이를 가지지만(완전히 분리) 아스파르탐과 시클라마트의  $k$ 값들은 크게 차이 나지 않는다. 아스파르탐과 시클라마트의  $k$ 값들사이의 비(용량비)를 계산한 결과  $\varphi_2=0.9$ 일 때가 가장 컸으며 따라서 이것을 최적조건으로 하였다. 최적화된 구배용출조건은 표 3과 같다.

표 3. 최적화된 구배용출조건

시간/min	흐름속도/(mL·min <sup>-1</sup> )	이동상 A/%	이동상 B/%
0	0.2	90	10
15	0.2	10	90

표 3의 구배용출조건에서 측정한 혼합표준용액의 초고성능액체크로마토그램은 그림 1과 같다. 그림 1에서 보는바와 같이 아스파르탐, 아세숄람, 시클라마트의 유지시간은 각각 3.32, 4.41, 4.95min이다.

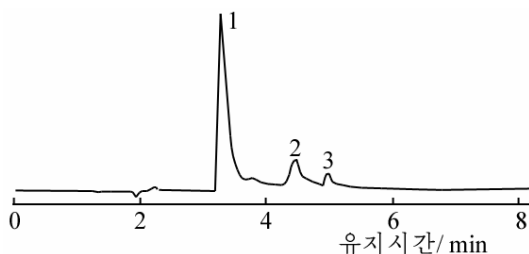


그림 1. 혼합표준용액의 초고성능액체크로마토그램  
1-아세숄람, 2-시클라마트, 3-아스파르탐

검량선 세가지 단맛감정량을 위한 검량선들의 회귀방정식과 선형구간 및 검출한계는 표 4와 같다.

표 4. 세가지 단맛감정량을 위한 회귀방정식과 선형구간 및 검출한계

성분	선형구간/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )	회귀방정식	$R^2$	검출한계/( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ )
아스파르탐	40	$y=10.983x-5.021$	0.995 4	0.26
아세숄람	0.540	$y=307.18x-113.48$	0.996 4	0.10
시클라마트	140	$y=8.6387x-7.101$	0.998 8	0.34

대상물분석 세가지 종류의 얼음과자(시료 1, 2, 3)를 대상으로 시료전처리를 진행하고 표준첨가법으로 정량하였다. 초고성능액체크로마토그래프로 얻은 시료의 크로마토그램은 그림 2와 같다.

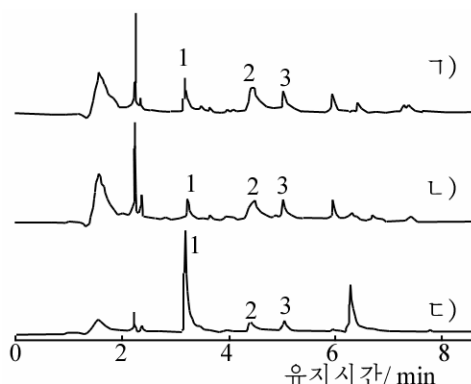


그림 2. 시료의 크로마토그램  
1-아세숄람, 2-시클라마트, 3-아스파르탐  
ㄱ) 시료 1, ㄴ) 시료 2, ㄷ) 시료 3

정량결과는 표 5와 같다. 표 5에서 보는바와 같이 성분들의 회수율은 95.6~110.2% 이고 상대표준편차는 1.1~4.4%이다.

표 5. 대상물분석결과( $n=5$ )

시료	성분	함량 $/(mg \cdot g^{-1})$	첨가량 $/(μg \cdot mL^{-1})$	찾은량 $/(μg \cdot mL^{-1})$	회수율 $/\%$	상대표준편차 $/\%$
시료 1	아스파르탐	15.8	5.00	5.18	103.6	3.2
	아세숄팜	1.2	5.00	4.94	98.8	3.5
	시클라마트	63.4	5.00	5.49	109.8	2.1
시료 2	아스파르탐	16.8	5.00	5.04	100.8	2.4
	아세숄팜	0.8	5.00	4.78	95.6	4.4
	시클라마트	55.6	5.00	5.51	110.2	1.8
시료 3	아스파르탐	17.7	5.00	5.43	108.6	2.6
	아세숄팜	2.1	5.00	4.98	99.6	3.7
	시클라마트	88.1	5.00	5.07	101.4	1.1

## 맺 는 말

초고성능액체크로마토그래프법으로 얼음과자에서 아스파르탐과 아세숄팜, 시클라마트를 동시정량하기 위한 연구를 하였다. 분리는 ACQUITY UPLC<sup>®</sup> HSS T3( $1.7μm$ ,  $2.1mm \times 150mm$ ) 탭에서  $0.2mL/min$ 의 류속으로  $0.1\%$  개미산수용액과 아세토니트릴을 이동상으로 리용하여 진행하였다. 검출한계는 아스파르탐, 아세숄팜, 시클라마트에 대하여 각각  $0.26$ ,  $0.10$ ,  $0.34μg/mL$ , 상대표준편차는  $4.4\%$ 이하, 회수율은  $95.6 \sim 110.2\%$ 이다.

## 참 고 문 헌

- [1] A. C. Sylvetsky et al.; *Physiol. Behav.*, **164**, 446, 2016.
- [2] T. Puzyn et al.; *Recent Advances in QSAR Studies*, Springer, 237~241, 2010.
- [3] M. A. Cantarelli et al.; *F. Chem.*, **115**, 1128, 2009.
- [4] P. Jain et al.; *Inter. J. Dar. Tech.*, **66**, 119, 2013.
- [5] J. P. Sun et al.; *Chin. Chem. Let.*, **25**, 1259, 2014.
- [6] N. H. Tran et al.; *Biores. Tech.*, **161**, 40, 2014.
- [7] R. M. Baena-Nogueras et al.; *Mar. Pol. Bul.*, **135**, 607, 2018.

주체110(2021)년 4월 5일 원고접수

## Determination of Sweetening Agents in Ice-Lolly by Ultra Performance Liquid Chromatography

*Ri Hyok Chol, Kim Kwang Ho*

We studied on the simultaneous determination of aspartame, acesulfame and cyclamate in ice-lolly by ultra performance liquid chromatography. The separation was performed on ACQUITY UPLC<sup>®</sup> HSS T3 column( $1.7μm$ ,  $2.1mm \times 150mm$ ) at a flow rate of  $0.2mL/min$ , and  $0.1\%$  formic acid-acetonitrile was used as mobile phase. The limits of detection was  $0.26μg/mL$  for aspartame,  $0.10μg/mL$  for acesulfame and  $0.34μg/mL$  for cyclamate. The relative standard deviation was within  $4.4\%$  and the recovery ranged from  $95.6$  to  $110.2\%$ .

Keywords: UPLC, aspartame, acesulfame, cyclamate