

## 식품 중 감초추출물 및 에리스리톨 분석법에 관한 연구

이달수<sup>†</sup> · 장영미 · 홍기형 · 박성관 · 권용관 · 박재석 · 박성국 · 장선영 · 김병설 · 황혜신 · 한윤정 · 김은정 · 원혜진 · 김명철  
식품의약품안전청 영양기능식품본부 식품첨가물팀

### Studies on the Determination Method of Natural Sweeteners in Foods - Licorice Extract and Erythritol

Tal-Soo Lee<sup>†</sup>, Young-Mi Jang, Ki-Hyoung Hong, Sung-Kwan Park, Yong-Kwan Kwon, Jae-Seok Park, Sung-Kuk Park, Sun-Young Jang, Byung-Sub Kim, Hye-Shin Hwang, Youn-Jeong Han, Eun-Jung Kim, Hye-Jin Won, and Myung-Chul Kim

Food Additives Team, Nutrition & Functional Food Headquarters, Korea Food & Drug Administration, Seoul 122-704, Korea

(Received November 1, 2005; Accepted November 30, 2005)

**ABSTRACT** – Licorice Extract and Erythritol, food additives used in Korea, are widely used in foods as sweetener. Its application for use in food is regulated by the standard and specification for food additives but official analytical method for determination of these sweetener in food has not been established. Accordingly, we have been carried out to set up analytical method of the glycyrrhizic acid in several foods by the way of thin layer chromatography and high performance liquid chromatography. glycyrrhizic acid is qualitative analysis technique consists of clean-up with a sep-pak C<sub>18</sub> cartridge, separation of the sweeteners by Silica gel 60 F254 TLC plate using 1-butanol:4N ammonia solution:ethanol (50:20:10) as mobile solvent. Also, the quantitative analysis for glycyrrhizic acid, was performed using Capcell pak C<sub>18</sub> column at wavelength 254nm and DW:Acetonitrile (62:38 (pH2.5)) as mobile phase. and we have been carried out to set up analytical method of the erythritol in several foods by the way of high performance liquid chromatography. erythritol is qualitative analysis technique consists of clean-up with a DW and hexane. The quantitative analysis for erythritol, was performed using Asahipak NH2P-50 column, RI and DW:Acetonitrile (25:75) as mobile phase. The glycyrrhizic acid results determined as glycyrrhizic acid in 105 items were as follows; N.D~48.7ppm for 18 items in soy sauce, N.D~5.3ppm for 12 items in sauce, N.D~988.93ppm for 15 items in health food, N.D~180.7ppm for 26 items in beverages, N.D~2.6ppm for 8 items in alcoholic beverages respectively and ND for 63 items in the others. The erythritol results determined as erythritol in 52 items were as follows; N.D~155.6ppm for 13 items in gum, N.D~398.1ppm for 12 items in health foods respectively and ND for 45 items in the others.

**Key words:** licorice extract, glycyrrhizic acid, erythritol

현재 우리나라에서 천연첨가물로 지정되어있는 감초추출물의 경우 콩과 감초 (*Glycyrrhiza glabra* L., *Glycyrrhiza uralensis* FISCH.) 또는 그 밖의 동속 식물의 뿌리 및 근경을 물로 추출하고 이를 정제하여 얻어진다. 주성분으로서 글리실리진산(CHO = 822.24)이며, 배당체 형태인 이 감미성분은 뿌리와 줄기에 약 6~14% 함유되어있으며 배당체로서 aglycone 부분인 18-β-glycyrrhetic acid의 3번 탄소에 D-glycuronyl-β-1, 2-D-glycuronic acid가 결합된 구조이다. 글

리실리진산은 설탕의 약 50배의 감미를 가지고 있어 주로 간장, 장류, 소스류 등에 주로사용되어 왔다.<sup>9,10)</sup>

에리스리톨은 효모인 *Moniliella pollinis* 또는 *Trichosporonoides megachilensis*에서 얻어진 발효액을 여과, 정제, 결정화 등을 거쳐 건조하여 얻어진다. 에리스리톨은 당알콜류 중 하나로서 설탕의 80%에 해당하는 감미도를 가지고 있으며 청량감과 더불어 후미가 없고 산뜻한 맛을 내며 용해 시 다른 당알콜에 비하여 높은 흡열성을 갖고 있는 저칼로리 감미료이다(Fig. 1).

우리나라에서 식품첨가물로서 지정 고시되어 있는 감초추

<sup>†</sup> Author to whom correspondence should be addressed.

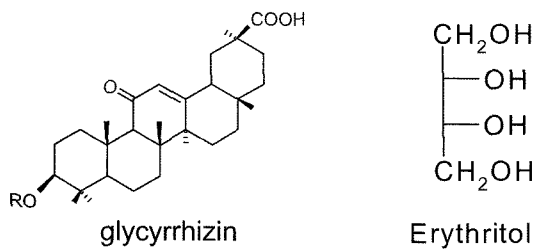


Fig. 1 The structure of glycyrrhizic acid and erythritol.

출물 및 에리스리톨은 장류, 건강기능식품, 과자류, 음료류, 주류 등의 다양한 식품 제조 시에 사용되고 있으나, 식품 중 이들 첨가물의 함유량 분석을 위한 분석방법이 확립되어 있지 않아 사후 품질관리 및 식품첨가물 식이섭취량 조사 시 어려움이 있는 실정이다. 박층크로마토그래피(TLC), 이온크로마토그래피(IC), 가스크로마토그래피(GC)를 이용한 일부 분석법<sup>[1]</sup>이 일부 알려져 있으나 실제로 다양한 식품 중의 이들 성분에 대한 함유량 분석방법은 확립되어 있지 않다. 따라서, 본 연구에서는 본 연구에서는 신속한 정성분석을 위한 감초추출물 TLC 분석방법과 정량분석을 위한 HPLC 분석방법을 확립하였다. 또한, 에리스리톨은 HPLC를 이용한 식품 중 분석방법을 확립하고 이를 적용하여 국내유통식품의 함유량을 조사함으로써 그 사용실태를 파악하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 시약 및 재료

연구기간 - 2004년 1월~ 11월

조사대상식품 및 지역 - 서울, 부산, 울산, 대전, 대구, 광주, 전주, 청주, 목포, 속초, 강릉 등 11개 도시에서 구매한 장류 18품목(간장, 고추장, 된장), 소스류 12품목, 과자류 51품목(과자, 사탕, 껌 등), 건강기능식품 27품목(특수영양식품 등), 음료류 38품목(혼합음료 등), 절임류 3품목, 주류 8품목 총 7종 157품목.

시약 - 감초추출물의 표준품으로서 글리실리진산(Glycyrrhizic acid) 및 에리스리톨(meso-Erythritol)은 Wako사 제품을 사용하였고 HPLC 분석을 위한 각종 용매로서 아세토니트릴은 Merck사 제품으로서 HPLC grade를 사용하였다. 또한, 메틸알콜, 헥산 등 기타 시약은 모두 특급시약을 사용하였다.

### 사용기기

- 1) HPLC system I (Gilson. Co)  
Gilson 306 pump, Gilson 141 UV detector, Gilson 234 auto injector
- 2) HPLC system II (Waters. Co)

- Waters 510 pump, Waters 410 RI detector, Waters 746 integrator
- 3) Rotary vacuum evaporator(Eyela)
- 4) Centrifuge(Hitachi)
- 5) SMT multi dispenser

## 실험방법

### TLC 및 HPLC 표준용액의 조제

① 표준품인 글리실리진산 (Glycyrrhizic acid)을 0.1 g씩 정밀히 달아 메틸알콜을 가하여 1,000 ppm이 되도록 하여 TLC 정성분석 및 HPLC 정량분석을 위한 표준용액을 조제하였다.

② 표준품인 에리스리톨 (meso-Erythritol)을 1 g씩 정밀히 달아 증류수를 가하여 10,000 ppm이 되도록 하여 HPLC 정량분석을 위한 표준용액을 조제하였다.

### 시험용액의 조제

#### ① 감초추출물의 TLC 및 HPLC 시험용액

식품유형별로 구매한 조사대상식품 중 액상제품(소주, 리큐르, 과일주, 간장, 음료, 사탕, 건강기능식품 등)은 시료에 따라 10~30ml씩 취하여 메틸알콜 및 물을 각각 10ml, 10ml씩 흘려 활성화시킨 Sep-pak C<sub>18</sub> 카트리지에 흘려주었다. 그 외 분말형태, 반고형상 또는 고형상 제품(고추장, 된장, 혼합장, 소스류, 과자, 우영, 건강기능식품 등)은 시료 약 10 g을 취한 후 물에 녹여 100 ml로 한 액을 10~30 ml씩 취하거나, 필요한 경우 균질기로 균질화시킨 다음 원심분리(4,000 rpm)하여 상층액을 여지(Whatman No 2)로 여과한 후 100 ml로 하였다. 이 액을 10~20 ml씩 취해 Sep-pak C<sub>18</sub> 카트리지에 흘린 후 10% 메틸알콜용액 10 ml를 주입하여 세정한 다음 메틸알콜 8 ml로 Sep-pak C<sub>18</sub> 카트리지에 흡착된 감미성분을 용출시켰다. 이 액을 다시 완전히 감압 농축하여 4 ml로 한 액을 0.45 µl 실린지 필터로 여과한 후 HPLC 시험용액으로 하였다. 다만, 소주, 과일주와 같이 성분 중 에틸알콜이 함유된 제품의 경우는 에틸알콜을 감압농축기로 충분히 제거시킨 후 상기조건에 따라 시험용액으로 조제하였다(Fig. 2).

#### ② 에리스리톨 HPLC 시험용액

에리스리톨 시험용액의 경우 식품유형별로 구매한 조사대상식품 중 액상제품(음료, 건강기능식품 등)은 5 ml를 취하여 30% 에틸알콜을 가한 다음 50 ml로 한 액을 10~30 ml씩 취하여 사용하였다. 분말형태, 반고형상 또는 고형상 제품(껌, 사탕, 건강기능식품 등)은 시료 5 g을 취한 후 30% 에틸알콜에 녹여 50 ml로 한 액을 10~20 ml씩 취하거나, 시료 약 5 g을 취한 다음 30% 에틸알콜에 녹여 50 ml로 한 액을 필요하면 균질기로 균질화시킨 다음 원심분리(4,000

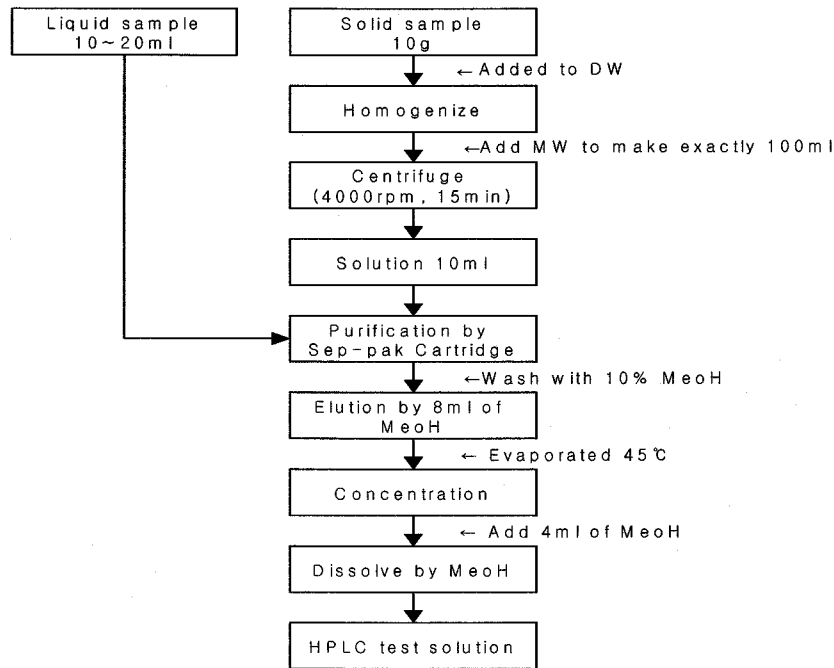


Fig. 2. Flow diagram of test solution preparation for analysis of glycyrrhizic acid in various foods.

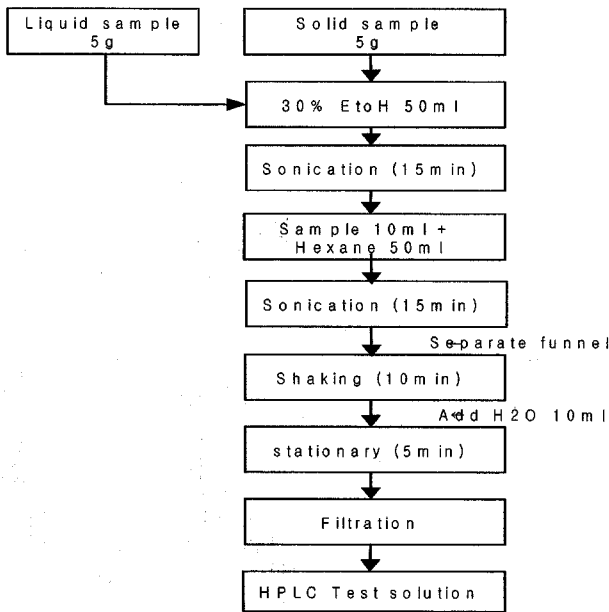


Fig. 3. Flow diagram of test solution preparation for analysis of erythritol in various foods.

rpm)하여 상층액을 여지(Whatman No 2)로 여과한 후 50 ml로 한 액을 10~20 ml씩 취하였다. 상기 시험용액 조제 방법에 따라 조제한 시험용액을 헥산 50 ml와 함께 충분히 초음파진탕기로 녹인 후 분획여두에 옮겨 담았다. 이 옮겨 담은 액을 충분히 진탕 추출한 후 물 10 ml를 가한 후 다

시 진탕 추출하였다. 이 분획여두를 5분정도 정치시킨 후 그 하층액을 받아 0.45 µl 실린지 필터로 여과한 후 에리트리톨 시험용액으로 사용하였다.

**TLC에 의한 감초추출물 정성분석조건 검토** - 상기 조건에 대해 적합한 TLC 실리카겔판을 선정하기 위하여 Silica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck, Co. Germany) 및 Silica gel GF (analtech Co., USA) 등 2종에 대하여 비교·검토하였으며 전개용매 조건은 野間佐和子 등의 방법<sup>13)</sup> (1992)에서 사용한

Table 1. The operating condition for determination of glycyrrhizic acid determined by HPLC.

Column	Capcellpak C <sub>18</sub> UG120 (4.6 mm id*250 mm)
Detector	Gilson UV (254 nm)
Flow rate	1ml/min
Injection vol.	20µl
Column temp.	40°C
Mobile phase	H <sub>2</sub> O/CH <sub>2</sub> CN = 62/38(pH 2.5)

Table 2. The operating condition for determination of erythritol determined by HPLC.

Column	Shodex Asahipak NH2P-50 4E(4.6 mm id*250 mm)
Detector	Waters RI
Flow rate	0.6 ml/min
Injection vol.	20 µl
Column temp.	30°C
Mobile phase	H <sub>2</sub> O/CH <sub>2</sub> CN = 25/75

용매 조성을 참고로 하여 비교·검토하였다. 따라서, 상기 실리카겔판에서 1-부틸알콜 : 4N암모니아용액 : 에틸알콜의 용매조성을 각각 60:20:10, 50:20:20, 50:20:10로 하여 분리능 및 Rf(retention factor)값을 비교하였으며 발색시약은 5% 황산 및 5% 황산알콜을 사용하여 130°C의 고온 조건하에서 발색 정도를 비교하였다.

**HPLC에 의한 감초추출물 및 에리스리톨의 정량분석조건 검토**

HPLC를 이용한 감초추출물 및 에리스리톨의 함량을 파악하고자 감초추출물과 에리스리톨 표준품 및 시험용액에 대한 HPLC 칼럼, 이동상, UV 파장, RI 및 Sep-pak C<sub>18</sub> 카트리지가 따른 최적의 조건을 검토하였다. 특히, 감초추출물과 에리스리톨의 이동상 조건 중 아세토니트릴과 물의 비율에 따른 표준물질의 최적 Rt(Retention time)값을 선정하기 위하여 각각의 용매 비율을 달리하여 검토하였다. 그 결과 최적의 분석조건은 Table 1 및 Table 2와 같으며 각각의 조작조건에 따라 HPLC에 각각 20 µl씩 주입하여 식품 중 감초추출물 및 에리스리톨에 대한 각각의 HPLC 정량분석을 수행하였다.

**결과 및 고찰**

**감초추출물**

**시험용액 조제** - 조사대상 식품 중 식품유형별로 액상인 제품과 그 외 균질화 및 원심분리를 필요로 하는 제품인 분말형태, 반고형상, 고형상 제품으로 나누어 시료의 전처리를 수행하였다. 이 중 소주나 과일주와 같이 제품 중 에틸알콜이 함유되어 있는 경우 Sep-pak C<sub>18</sub> 카트리지를 이용한 정제시 알콜에 의한 주요 감미성분의 흡착이 방해되는 것을 막기 위해 먼저 감압농축을 통해 에틸알콜을 제거한 후 시료로 사용하였다. 또한, 이렇게 얻어진 시료들에 대해 Sep-pak C<sub>18</sub> 카트리지를 이용한 수세 및 용출 등 정제시 사용한 메틸알콜의 최적농도에 대해 농도별로 검토하였다. 카트리지의 수세시는 10, 20, 30% 메틸알콜을 사용하고, 용출시는 100, 80, 60, 40% 메틸알콜을 각각 사용하였다. 이때 가장 최적의 조건은 카트리지를 10%로 수세하고 100% 메틸알콜로 용출하는 것이 가장 바람직함을 알 수 있었다(Fig 4). 또한 Sep-pak C 카트리지에 시료주입 후 수세까지 한 다음 용출시 메틸알콜의 양을 4ml, 6ml, 8ml로 각각 비교 검토한 결과 큰 차이는 보이지 않았으나, Fig. 5와같이 8ml로 용출한 것이 가장 좋은 회수율을 보였다.

**TLC에 의한 정성분석** -상기 조건 중 TLC판인 Silica gel 60 F254 및 Silica gel GF에 대하여 비교 검토한 결과

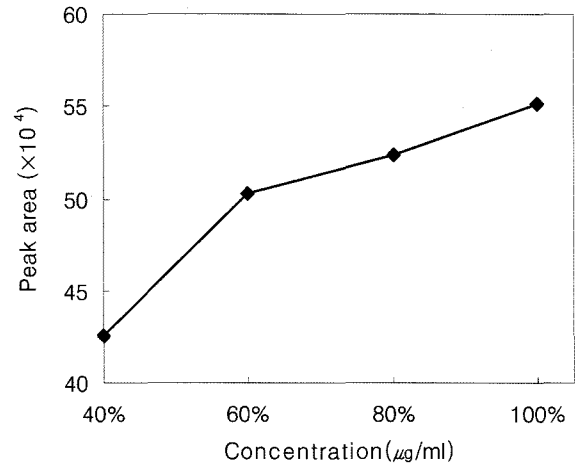


Fig. 4. Comparison of solvent concentration for elution

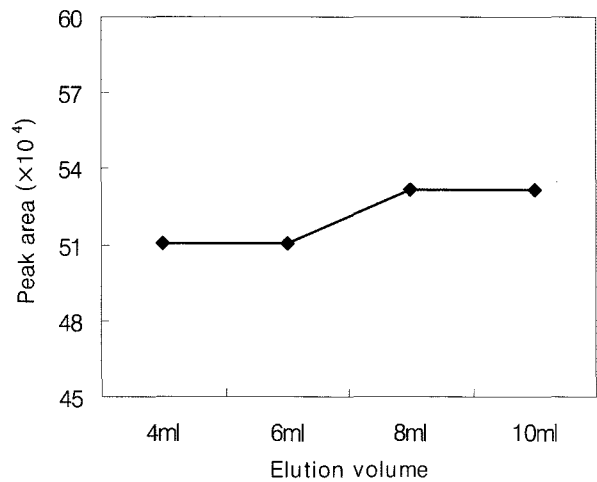
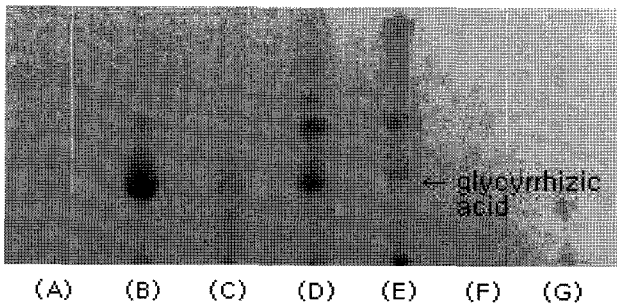


Fig. 5. Comparison for elution volume of Solvent

글리실리진산 성분들의 선명도, 분리도 및 전개정도는 Silica gel 60 F<sub>254</sub>이 더 적합하여 이를 정성분석을 위한 TLC판으로 선정하였다. 또한, 전개용매 조건은 1-부틸알콜 : 4N암모니아용액 : 에틸알콜의 용매조성을 각각 60:20:10, 50:20:20, 50:20:10로 달리하여 검토한 결과, 부틸알콜 : 4N암모니아용액 : 에틸알콜의 조성비가 60:20:10인 경우 시료성분들의 분리가 이루어지지 않고 시료성분이 발색이 제대로 이루어지지 않았다. 50:20:20의 경우도 시료성분들의 분리가 이루어지지 않아 성분별에 따른 Rf값을 비교할 수 없었다. 그러나 부틸알콜 : 4N암모니아용액 : 에틸알콜의 조성비가 50:20:10의 경우 50:20:20에 비해 시료성분의 전개 정도는 차이가 있었으며, 글리실리진산이 뚜렷히 분리되어 분리능이 우수한 용매 조성비임을 알 수 있었다.

또한, 이들의 발색시약으로 사용한 5% 황산 및 5% 황산



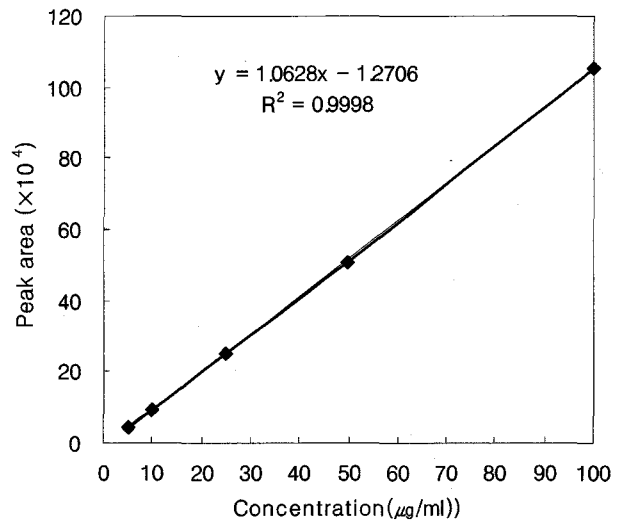
**Fig. 6.** TLC chromatogram of glycyrrhizic acid and glycyrrhizic acid product and standard (A) glycyrrhizic acid standard, (B) glycyrrhizic acid product, (C) soy sauce, (D) health food, (E) beverage, (F) alcoholic drink, (G) sauce.

알콜에 대한 130°C에서의 발색능을 비교한 결과 5% 황산이 발색이 더욱 뚜렷하게 나타났다. 상기 조건하에서 글리실리진산의 표준품, 감초추출물 생산품 시중 유통 중인 간장, 건강기능식품, 음료, 주류, 소스류 중 한 품목씩 선정하여 TLC 분석을 수행한 결과 Fig. 6과 같은 결과를 얻을 수 있었다. 그림 중 (a), (b)가 글리실리진산으로서 Rf값이 확연히 구분되었으며 감초추출물 생산품의 경우도 확연히 구분됨을 알 수 있었다. 시중 제품 중 구매한 제품 중에는 글리실리진산이 검출되었으며 글리실리진산 성분이 분리되었다. 간장, 건강기능식품류, 음료에는 글리실리진산 표준품과 동일한 패턴의 밴드를 나타낸 것으로 보아 글리실리진산이 검출됨을 알 수 있었다.

**HPLC 검량선 및 재현성 검토** - 검량선 작성을 위해 글리실리진산의 농도가 5, 10, 25, 50, 100 ppm이 되도록 각각 조제하여 Table 1의 조작조건에 따라 HPLC에 주입하여 얻어진 피크면적으로부터 검량선을 작성하였다. 그 결과 Fig. 7과 같이 글리실리진산의 상관계수( $R^2$ )는 0.9998로서 양호한 결과를 얻었다. Table. 7은 글리실리진산 표준품에 대한 HPLC 재현성을 검토한 결과를 나타낸 것으로서 글리시리진산의 RSD(%)는 0.57로 양호한 결과를 얻었다.

**글리실리진산의 HPLC분석** - 최적의 칼럼 선정은 XTerraRP-18(4.6×250 mm, 5 μm) 및 Capcellpak C<sub>18</sub> (4.6 mm×250 mm, 5 μm)을 대상으로 용매에 따른 분석시간 및 분리능에 따라 검토하였으며, 이 때 후자의 칼럼이 더 적합하였다. 이에 대한 이동상 용매조성으로서 아세트니트릴, 물을 조성비를 달리하면서 비교하였다. 특히 아세트니트릴과 물의 조성비인 40:60(pH 2.5)에 대한 검토를 한 결과, 예상과 달리 글리실리진산 피크가 7~8분대에 얻어짐으로서 불순물 또는 용매피크가 나오는 Rt값과 가까워 실제로 시료에 적용하기는 어려운 용매조성이었다.

또 다른 조건으로 6.67% 초산과 물을 사용하여 60:40을



**Fig. 7.** Calibration curve of glycyrrhizic acid

검토한 결과 9분대에 얻어짐으로서 만족스럽지 못했다. 오히려 물의 조성비를 높여 분석결과를 비교·검토한 결과 38:62(pH 2.5)의 분리능이 더 우수하였다. 여기에서 이동상 결정된 후 pH의 영향을 살펴보기 위해 인산으로 각각 pH 2.5, 3.0, 3.5로 변화시켜 감초추출물의 좀더 적합한 분리능을 찾아본 결과 Fig. 8과 같이 pH 2.5로 낮추어 줄 경우 피크의 폭이 좁아지면서 적당한 시간대에 나타나 분리능이 더욱 우수하였다(Table 4).

따라서, 시료 중 감미성분에 대한 분리능을 좀 더 세밀히 검토한 결과 아세트니트릴 : 물의 비가 38:62(pH 2.5)인 용매조성이 Table. 3 및 Fig. 8과 같이 Rt값은 10분대로서 식품 중 다른 방해물질에 의한 영향을 받지 않았다.

**회수율** - 분석대상 시료에 각각 10 ppm이 되도록 글리실리진산을 첨가한 후 Fig. 2 및 Table 1의 조건에 따라 3회 반복 실험한 결과이다. 주류, 장류, 간장, 음료류, 과자류의 회수율은 Table 5에서와 같이 양호하였으나 건강기능식품, 소스류에서는 회수율이 다른 식품에 비해 다소 낮은 것을

**Table 3.** Comparison of retention time by mobile phase

Mobile phase	RT
CH <sub>2</sub> CN/H <sub>2</sub> O = 40/60(pH 2.5)	7.62
CH <sub>2</sub> CN/H <sub>2</sub> O = 38/62(pH 2.5)	10.88
6.67%Acetic acid/HO = 60/40	9.27

**Table 4.** Comparison of retention time by pH of mobile phase

pH	RT
CH <sub>2</sub> CN/H <sub>2</sub> O = 38/62(pH 2.5)	10.88
CH <sub>2</sub> CN/H <sub>2</sub> O = 38/62(pH 3.0)	12.96

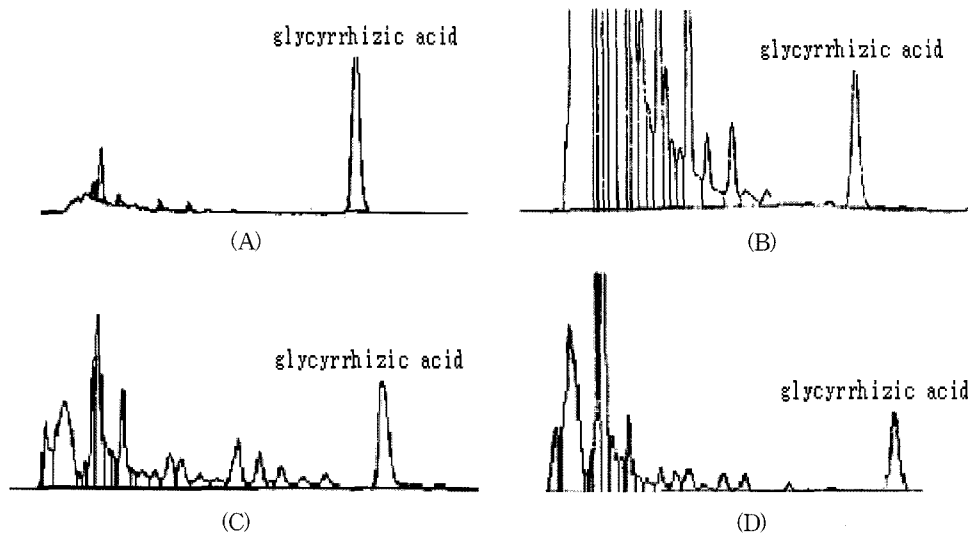


Fig. 8. Chromatogram of glycyrrhizic acid standard (A), (B) soy sauce (C) health food, and (D) beverage by HPLC.

Table 5. Recovery rates of glycyrrhizic acid added to the several foods by HPLC

Sample	1	2	3	Mean
Soy sauce	96.5	94.6	92.5	94.5
Soy paste	98.9	97.5	97.9	98.2
Sauce	83.0	85.0	83.7	83.9
Confectionary	99.1	95.8	100.3	98.4
Health food	83.8	84.1	81.7	83.2
Beverages	95.5	95.2	100.3	97.0
Alcoholic drink	102.1	97.1	98.1	99.1

알 수 있었다.

**식품중의 총 글리실리진산의 분석** - 조사대상식품인 국내 유통 가공식품 중 서울, 부산 등 11개 도시에서 구매한 국내 유통 가공식품 중 장류, 과자류, 음료류 등 총 7종 105 품목에 대하여 글리시리진의 함량을 확립된 분석방법으로 정량분석한 결과, Table. 6과 같이 장류 18품목, 소스류 12품목, 건강식품류 15품목, 음료류 26품목 주류 8품목, 과자류 23품목, 절임류 3품목 등 총 7종 105품목 중 각각 ND~48.7 ppm, ND~5.3 ppm, ND~988.9 ppm, ND~180.7 ppm, ND~2.6 ppm의 글리실리진산이 검출되었으며, 나머지 품목은 모두 불검출이었다.

**에리스리톨**

**시험용액 조제** - 조사대상 식품 중 식품유형별로 액상인 제품과 그 외 균질화 및 원심분리를 필요로하는 제품인 분말형태, 반고형상, 고형상 제품으로 나누어 시료의 전처리를 수행하였다. 액상인 제품인 경우 약 5 ml을 취해 30% 에틸알콜에 녹여 50 ml로 한 액을 10 ml 씩 취하였다. 분말형태,

Table 6. Determination of glycyrrhizic acid components in food by HPLC

Sample	Contents(µg/g)
Soy sauce	N.D~48.7
Sauce	N.D~5.3
Health food	N.D~988.9
Beverages	N.D~180.7

반고형상, 고형상 제품의 경우 약 5g을 취해 30% 에틸알콜 50 ml로 가한 액을 균질화 시킨 다음 원심분리(4000 rpm, 15분)를 하여 그 상등액을 여지(Watman No. 2)로 여과한 후 10 ml씩 취하였다. 상기 시험용액 조제방법에 따라 조제한 시험용액을 핵산 50 ml와 함께 충분히 초음파진탕기로 녹인 후 분획여두에 옮겨 담았다. 이 옮겨 담은 액을 충분히 진탕추출한 후 물을 10 ml 가한 후 다시 진탕추출 하였다. 이때 핵산과 시료를 50:10의 비율보다 50:20의 비율로 정제했을 시 가장 좋은 회수율을 보여 물을 10 ml 더 가하여 50:20의 비율로 정제하였다. 분획여두를 약 5분간 정치시킨 후 그 하층액을 받아 0.45 µl 실린지 필터로 여과한 후 에리스리톨 시험용액으로 사용하였다. 시험용액을 조제하는 또 다른 방법으로 식품유형별로 시료를 전처리하여 Sep-pak Silica 카트리지에 주입하여 용출하는 방법이 있으나 수차례 검토 결과 만족스럽지 못한 회수율 및 분리결과를 얻어 분획여두를 사용하는 방법을 택하였다.

**HPLC 검량선 및 재현성 검토** - 검량선 작성을 위해 에리스리톨의 농도가 500, 1000, 5000, 10000, 50000ppm이 되도록 각각 조제하여 위의 조작조건에 따라 HPLC에 주입하여 얻어진 피크면적으로부터 검량선을 작성하였다. 그 결

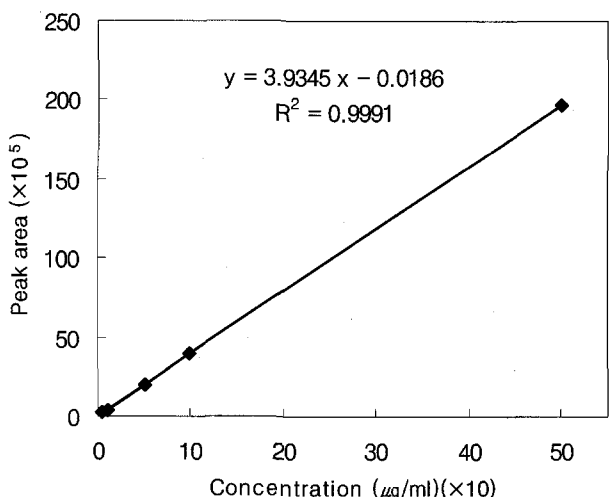


Fig. 9. Calibration curve of erythritol standard

과 Fig. 9와 같이 에리스리톨의 상관계수( $R^2$ )는 0.9991 이상으로서 양호한 결과를 얻었다. Table 7은 에리스리톨 표준품에 대한 HPLC 재현성을 검토한 결과를 나타낸 것으로서 에리스리톨의 RSD(%)는 0.40으로 양호한 결과를 얻었다.

**에리스리톨의 HPLC 분석** - 칼럼은 선정은 Shodex Asahipak NH2P-504E(4.6×250 mm, 5 μm) 및 μBondapak NH2(3.9 mm × 300 mm, 5 μm)을 대상으로 용매에 따른 분석시간 및 분리능에 따라 검토하였을때 전자의 칼럼이 더 적합하였다. 이에 대한 이동상 용매조성으로서 Table. 8에서와 같이 아세토니트릴, 물을 조성비를 달리하면서 비교하였다. 특히, 아세토니트릴과 물의 조성비인 75:25에 대한 검토를 한 결과, Fig. 10와 같이 식품 중 다른 물질의 방해받지 않으면서 만족스런 피크를 얻을 수 있었다.

**회수율** - 분석대상 시료에 각각 10000ppm이 되도록 에리

Table 7. Reproducibility of standard solution of glycyrrhizic acid & erythritol determined by HPLC

run	glycyrrhizic acid	erythritol
1	97409	3933330
2	95850	3972630
3	93355	3953867
Mean	95018	3953276

\* R.S.D. (Relative standard deviation, 상대표준편차)

Table 8. Comparison of retention time by mobile phase

Mobile phase	Retention Time
CH <sub>2</sub> CN/H <sub>2</sub> O = 65/35	6.86
CH <sub>2</sub> CN/H <sub>2</sub> O = 70/30	7.96
CH <sub>2</sub> CN/H <sub>2</sub> O = 75/25	9.34

스리톨을 첨가한 Fig. 2 및 Table 2의 조건에 따라 3회 반복 실험한 결과이다. 껌류, 캔디류, 음료류, 건강식품류의 회수율은 Table 9에서와 같이 양호하였다.

**식품 중의 에리스리톨 분석** - 조사대상식품인 국내유통 가공식품 중 서울, 부산 등 11개 도시에서 구매한 국내 유통 가공식품 중 껌류, 캔디류, 음료류, 건강식품류 등 총 4종 52품목에 대하여 에리스리톨의 함량을 확립된 분석방법으로

Table 9. Recovery rates of erythritol added to the several foods by HPLC

Sample	1	2	3	Mean
Gum	92.2	95.7	96.5	94.8
Candy	91.5	96.2	97.9	95.2
Beverage	94.0	98.7	96.0	96.2
Health food	92.5	98.7	96.4	95.8

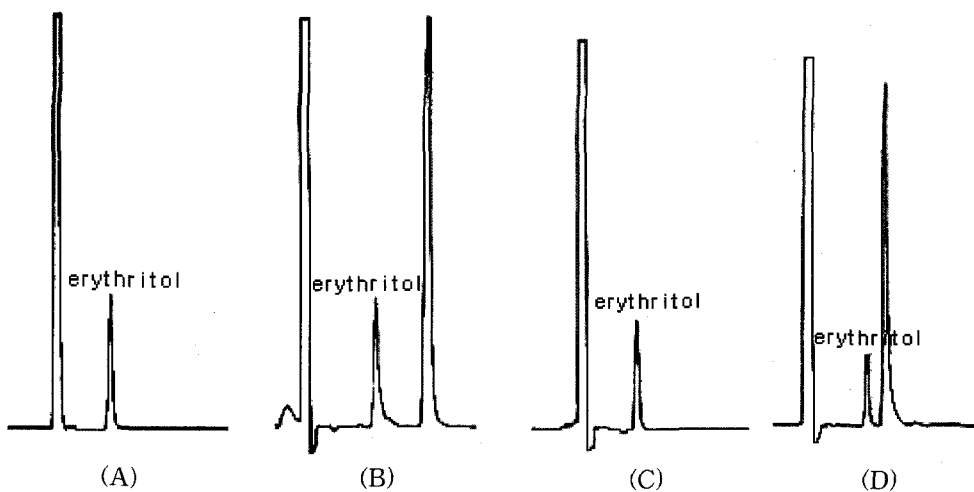


Fig. 10. Chromatogram of erythritol standard (A), (B) health food, (C) health food, and (D) gum by HPLC.

**Table 10. Determination of erythritol components in food by HPLC**

Sample	Contents( $\mu\text{g/g}$ )
Gum	N.D~155.62
Health food	N.D~398.14

정량분석한 결과 Table. 10와 같이, 껌류 13품목, 캔디류 15 품목, 음료류 12품목, 건강식품류 12품목 등 총 4종 52품목 중 껌류 및 건강기능식품에서 각각 ND~155.62 ppm, ND~398.14 ppm의 에리스리톨이 검출되었으며, 나머지 품목은 모두 불검출이었다.

### 국문요약

현재 우리나라에서 허용된 식품첨가물인 감초추출물 및 에리스리톨의 경우 천연감미료로서 식품의 제조·가공시 다양하게 사용되고 있으나 유통식품 중 식품 중 이들 첨가물의 함유여부 및 함유량을 파악할 수 있는 분석방법이 확립되어 있지 않은 실정이다. 따라서, 본 연구에서는 식품 중 감초추출물 및 에리스리톨의 분석방법을 확립하고, 이를 적용하여 국내유통식품 중 감초추출물 및 에리스리톨의 사용실태를 파악하고자 하였다. 식품 중 감초추출물 및 에리스리톨의 분석방법에 대한 최근 국내외 문헌 및 연구논문 등 기초 자료를 참고로 감초추출물 TLC 및 HPLC 분석방법과 에리스리톨 HPLC 분석방법을 비교·검토하였다. 그 결과 감초추출물은 실리카겔 TLC판을 이용하였으며 TLC 최적용매조건은 부틸알콜 : 4N 암모니아용액 : 에틸알콜 (50:20:10)이었다. HPLC 분석은 글리실리진산 (glycyrrhizic acid)을 표준물질로 하여 역상계 컬럼인 Capcell pak C<sub>18</sub> UG120을 사용하였으며 이동상, UV파장, 컬럼온도는 각각 아세토니트릴 : 물 (38:62), 254 nm 및 40°C이었다. 에리스리톨의 HPLC 분석은 에리스리톨(meso-erythritol)을 표준물질로 하여 역상계 컬럼인 Shodex Asahipak NH2P-50 4E 및 RI 검출기를 사용하였으며 이동상, 컬럼온도는 각각 아세토니트릴 : 물 (75:25), 30°C이었다. 글리실리진산은 서울, 부산 등 11개 도시에서 구매한 국내 유통 가공식품 중 장류 18품목, 소스류 12품목, 건강기능식품류 15품목, 음료류 26품목, 주류 8품목, 과자류 23품목, 절임류 3품목 등 총 7종 105품목을 대상품목으로 하였으며 이 중 장류, 소스류, 건강기능식품, 음료류, 주류에서 각각 ND~48.7 ppm, ND~5.3 ppm, ND~988.9 ppm, ND~180.7 ppm, ND~2.6 ppm의 글리실리진산이 검출되었고, 나머지 품목은 모두 불검출이었다. 에리스리톨의 경우 껌류 13품목, 캔디류 15품목, 음료류 12품목, 건강기능식품류 12품목 등 총 4종 52품목을 대상품목으로 하였으며, 껌류 및 건강기능식품에서 각각 ND~155.62 ppm, ND~398.14 ppm의 에리스리톨이 검출되었으며, 나머지 품목은 모두 불검출이었다. 본 연구결과는 식품 중 천연감미료인 감초추출물 및 에리스리톨의 분석방법 확립함으로써 국내유통식품의 감초추출물 및 에리스리톨 사용실태파악 및 사후 식품의 품질관리에 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

### 참고문헌

- Akinobu Matsunaga, Mikiya Ohto, Atsushi Yamamoto, Yukio Saito and Masao Makino, Determination of Sodium Saccharin and Glycyrrhizin in Food by High Performance Liquid Chromatography, 食衛誌. Vol.27, No. 4 (1986).
- Isao Kitagawa, Licorice root. A natural sweetener and an important ingredient in Chinese medicine, Pure Appl. chem., Vol. 74, No. 7, 1189~1198 (2002).
- Esra Ibanoglu and Senol Ibanoglu, Foaming behaviour of liquorice (Glycyrrhiza glabra) extract, Food chemistry 70, 333~336 (2000).
- Yue Jiang, Hai-Tao Lu, and Feng chen, Preparative purification of glycyrrhizin extracted from the root of liquorice using high-speed counter-current chromatography, Journal of chromatographyA, 181~184 (2004).
- Nam Ho paik, Man Ki Park, Jeong Hill Park, Chung Sun Kim and Jung Jin Suh, HPLC에 의한 glycyrrhizin 및 glycyrrhetinic acid의 定量, 약학회지 제25권 제1호 1~7 (1981).
- Tatsuji Shindou, Yoshiyuki Sasaki, Hiromichi Miki, Toru Eguchi, Kiyokazu Hagiwara and Tomio ichkawa, Determination of Erythritol in Fermented Foods by High performance Liquid Chromatography, 食衛誌. Vol.29, No. 6 (1988).
- Shuko Nojiri, Noburo Taguchi, Mistuo Oishi and Sukeji Suzuki, Determination of sugar alcohols in confectioneries by high-performance liquid chromatography after nitrobenzoylation, Journal of Chromatography A, 893 195~200 (2000).
- Takeshi Tsunesada, Atsuhiko Takehara, Kazuta Mitsuishi and Toshihide Ihara, Analysis of oligosaccharide and sugar alcohol by pyrolysis GC/MS, Bunseki kagaku, Vol.49, No.6 437~442



- (2000).
9. Jin Hui Lee, Seong Jo Seo and Dong Ho Seo, Extraction and purification of Glycyrrhizin from *Glycyrrhiza uralensis*, 서울産業大學校 論文集 第49 247~251 (1999).
  10. Myung, s.w., Min,h.k., Kim, m.s., Kim, y.l., Park, s.s., Cho, j.h., Lee, j.c., Cho, h.w., and kim, t.j., Estimation of impurities from commercially available Glycyrrhizin Standards by the HPLC/ESI-MS, Analytical science & technology, Vol. 13, No. 4 (2000).
  11. Atsushi Y., Hidenori O., Akinobu M., Kyoko A., Kazuichi H., Masayuki N., Selective determination of D-sorbitol and D-mannitol in foodstuffs by ion chromatography with polarized photometric detection, Journal of chromatography A, 305~309 (1998).
  12. Nam Soo Han, John F. Robyt, Separation and detection of sugars and alditols on thin layer chromatograms, Carbohydrate Research 313, 135~137 (1998).
  13. 食品中 食品添加物分析法 解説書, 野間佐和子, 講談社, 344~353 (1992).