KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 28, No. 2, pp. 311~315 (1996)

아스파탐의 열안정성에 미치는 온도와 pH의 영향

김우정 · 정남용
세종대학교 식품공학과

Effect of Temperature and pH on Thermal Stability of Aspartame

Woo Jung Kim and Nam Yong Chung
Department of Food Science, Sejong University

Abstract

Thermal stability of aspartame was investigated as affected by the temperature and pH during heating. The thermal stability study of aspartame heated at 60-100°C showed that aspartame was degraded more rapidly as the heating temperature increased. Activation energy for thermal degradation was 20.77 kcal/mol. The thermal degradation products, a diketopiperazine (DKP) and α-aspartylphenylalanine (α-AP), were rapidly increased while the aspartame concentration decreased. The pH change of aspartame solution was rapidly decreased during initial three hours of heating and more significant at high temperature. In the pH range of 3-7, aspartame was the most unstable at pH 7 and stable at pH 4. The thermal degradation rate contants were 0.827 at pH 7, 0.286 at pH 6, 0.072 at pH 5 and 0.045 at pH 4 during initial heating at 100°C.

Key words: aspartame, thermal stability, temperature, pH

서 론

아스파탐의 높은 단맛이 소화기계 호르몬인 gastrin의 합성 중에 우연히 발견된 이후 약 16년에 걸친 광범위한 안정성 평가를 거쳐 안정한 식품첨가물로 각종 식품에 이용되고 있으며[1,2] 저칼로리 식이식품에 관한 관심이 높아짐에 따라 아스파탐에 관한 많은 연구가 이루어지고 있다. 아스파탐의 안정성은 온도 뿐만 아니라 수분활성도, pH, buffer type, buffer 농도에 영향을 받으며[3,4] 고온에서 가열하면 분해되어 diketopiperazine (DKP)과 aspartylphenylalanine (α-AP)이 생성됨이 밝혀졌다[2,5,6]. Tsoubel과 Labuza[7]는 70~100°C의 온도범위와 0.01 M~0.1 M의 buffer 농도 그리고 pH 6~7에서 유제품음료를 가열한 결과 pH와 온도가 증가함에 따라 아스파탐의 손실량이 증가한다고 하였다. pH는 아스파탐의 안정성에 중요한 인자로 Prudel 등[8]과 Stamp 등[9]은 pH 3~5에서 비교적 안정하며 그 이상이나 이하에서는 안정성이 감소한다고 하였고 Holmer[3]는 pH 6~7에서 80°C로 가열하면 거의 전부 분해된다고 하였다. Tsoubeli와 Labuza[4]는 아스파탐의 안정성은 산성식품에서보다 유제품음료와 같은 중성의 pH를 갖는 식품에서의 손실이 더 크다고 하였다. 또한 다른 당류와 혼합할 때에는 안정성이 증가하여 아스파탐을 xylitol과 혼합하였을 때 실온에서 3주간, 120°C에서 45분간 안정하여 이들 혼합물이 살균 또는 조리식품에의 사용 가능하다는 연구결과[10] 등이 있으나 가열온도와 식품의 pH 범위에 속하는 3~7의 다범위에 걸친 pH 변화에 따른 속도론적 열안정성에 관한 연구를 포괄적으로 발표한 바는 미흡하다.

따라서 본 연구에서는 온도 및 pH를 달리하면서 가열 중 아스파탐의 분해정도를 분석하여 가열온도와 pH가 아스파탐의 분해에 미치는 영향을 속도론적으로 조사하고자 하였다.

Corresponding author: Woo-Jung Kim, Department of Food Science, Sejong University, Kunja-dong, Kwangjin-ku, Seoul 133-747, Korea

재료 및 방법

실험 재료

본 실험에서 사용된 아스파탐 (L-aspartic-L-phenylalanine methyl ester, aspartame)은 (주)미원에서 순도 99.9%인 것을 공급받아 사용하였으며 HPLC에 사용된 용매는 HPLC용 시약을 그리고 그 밖에 실험

에 사용된 시약은 1급 시약을 사용하였다.

온도와 pH의 영향

아스파탐을 가열하는 동안 온도와 pH가 아스파탐의 분해에 어떤 영향을 주는지 조사하기 위하여 온도는 60°~100°C의 범위로 하였고, pH는 0.05 M의 citrate와 phosphate 완충액으로 3~7의 범위로 조절하였으며 가열은 10시간 하였다. 가열 방법은 아스파탐 1.0% 수용액을 냉각관이 장치된 삼각 플라스크에 넣고 온도별로 항온수조기에서 가열하였고 시간별 가열한 시료는 흐르는 수돗물로 급히 냉각시켰다. 경시별로 취한 시료는 아스파탐과 분해물질인 diketopiperazine (DKP) 및 α-aspatylphenyl alanine (α-AP)을 측정하기 위하여 -20°C에서 냉동보관하였다.

pH 측정

반응 중 변화하는 아스파탐 용액의 pH는 pH meter (Model DP-215, Digital pH/Ion meter)를 사용하여 20°C에서 측정하였다.

아스파탐과 열분해물의 측정

아스파탐과 DKP 및 α-AP의 측정은 일정량의 시료를 취하여 HPLC (Water Associates, U.S.A)로 측정하였다. 각 온도와 pH별 아스파탐 용액은 0.45 μm membrane filter로 여과한 후 20 μl를 주입하여 분석하였다. 사용한 column은 μ-Bondapak C_{18} column, 이동상 용매로는 0.05 M Na_2HPO_4: acetonitrile=80 : 20 (v/v), flow rate는 0.6 ml/min하여 UV detector (254 nm)로 검출하였다. APM, DKP, α-AP 표준시약은 Sigma제였으며 이들을 혼합, 용해시켜 표준물질로 사용하였고 측정된 retention time으로 각 분석물질을 확인하였다.

결과 및 고찰

온도의 영향

아스파탐의 분해에 가열온도의 영향을 조사하기 위하여 1% 아스파탐 용액을 60~100°C로 유지한 항온수조기에서 가열시키면서 가열 중 각 온도별로 아스파탐의 농도를 측정하여 가열시간에 따른 아스파탐의 분해를 log [APM]으로 표시한 한 결과 전반적으로 60°C에서 100°C로 높아지면서 아스파탐의 분해가 현저히 빨라짐을 알 수 있었다(Fig. 1). 각 온도에서 3시간 가열하였을 때의 아스파탐의 분해 정도는 1.0%를 100으로 하였을 때 60°C에서는 4.0%, 80°C에서는 8.2%, 100°C에서는 15.7%로, 가열온도가 20°C 씩 상승할 때 약 2배 정도 더 빨리 분해되었다. 가열온도에 따른 아스파탐의 잔존량은 10시간 가열하였을 때 60°C에서는 가열전 농도의 95%로 큰 변화가 없었으나 100°C에서는 54%로 되어 약 반으로 감소 되었다. 아스파탐의 분해는 1차 반응(first order reaction)으로 진행[4]되며, 따라서 가열중 아스파탐의 열분해 속도상수 (thermal degradation rate constant)를 log (% APM) =-kt+c (t=가열시간)의 식에서 기울기([(log % APM)/t])로 계산한 결과는 Table 1과 같다. 60°C에서는 0.001, 80°C에서는 0.0035, 100°C에서는 0.0284으로 열분해 속도상수의 증가폭이 온도가 높아지면서 더욱 높아졌다. 이때의 상관관계(r)는 0.957 이상의 높은 값을 보였다.

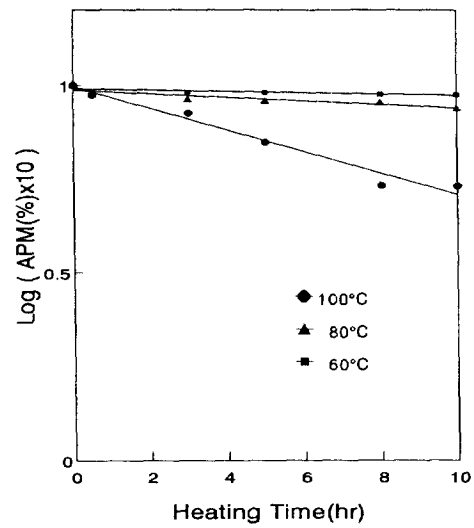

Fig. 1. Changes in aspartame concentration during heating at 60~100°C

Table 1. Thermal degradation rate constants of aspartame at 60°, 80° and 100°C

Heating temperature (°C)	k (s^{-1})	r
60	0.0010	0.983
80	0.0035	0.957
100	0.0284	0.981

아스파탐의 열분해 속도상수와 가열온도와의 관계간에서 Arrhenius 방정식에 의하여 활성화 에너지를 계산한 값은 20.77 kcal/mol 이었다(Fig. 2). 이는 Tsoubeli와 Labuza[4]가 2 mM 아스파탐 용액을 70~100°C의 온도와 pH 6~7 (0.01~0.1 M 인산 완충액)에서 가열하였을 때 활성화 에너지가 14~20 kcal/mol이라 하여 유사한 값을 보였으며 동일조건의 용액을 50~100°C로 가열하였을 때 활성화 에너지가 16.7 kcal/mol이라고 발표

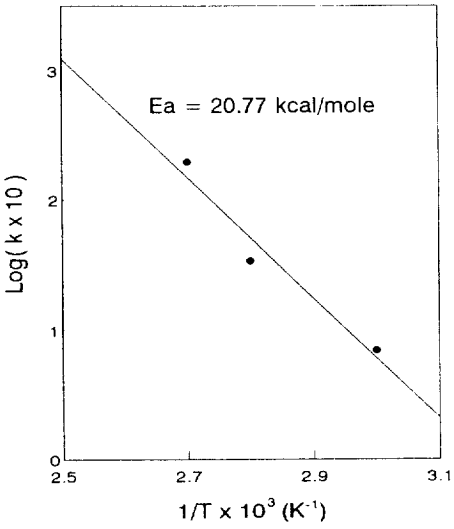

Fig. 2. Arrhenius plot for the thermal degradation of aspartame

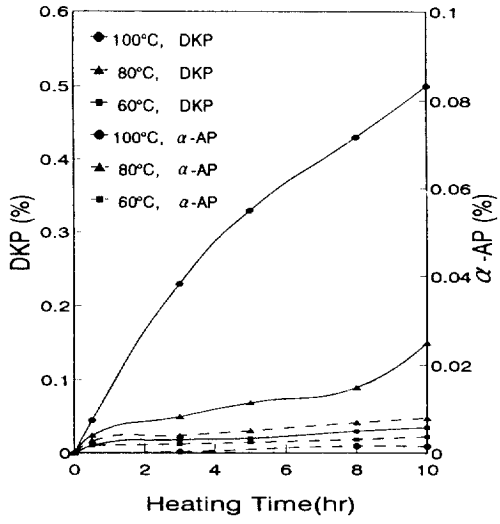

Fig. 4. Changes in concentrations of DKP and α-AP during heating at 60~100°C (——: DKP, ----: α-AP)

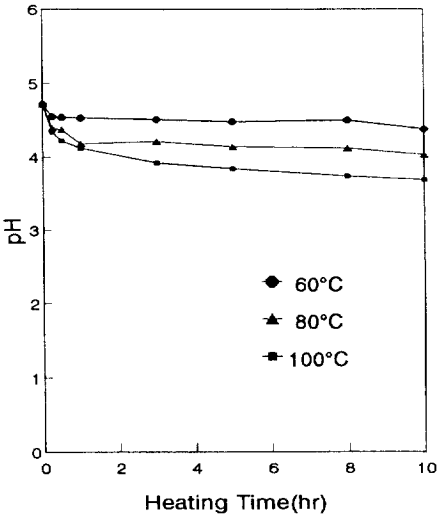

Fig. 3. Changes in pH of aspartame solutions during heating at 60~100°C

한 Stamp[9]의 결과보다 다소 높은 값을 보였다. Bell과 Labuza[11]는 수분활성도를 0.68로 하고 pH 3이었을 때 활성화 에너지는 23.5±1.6 kcal/mole이며, pH 7에서는 16.5±1.3 kcal/mole이라 하였다. Ozol[12]도 아스파탐 분해의 활성화 에너지는 pH 3~7의 범위에서 10.3~17.9 kcal/mole이라 하여 본 실험과 다소의 차이를 보였는데 이는 실험할 때 수분활성도 및 pH 등 실험조건의 차이에 의한 결과로 사료된다.

아스파탐 용액을 온도별로 가열하였을 때 pH의 변화를 나타낸 결과(Fig. 3) 60°C에서는 초기 pH 4.80에서 3시간 가열시 pH가 4.51로 감소되었으며 80°C에서는 4.21로, 100°C에서는 3.92로 온도증가에 따라 pH의 감소폭이 큼을 보였으며 그 후의 가열시간에서는 pH의 변화가 각 가열온도 처리구에서 완만하게 나타났다.

각 가열 온도(60~100°C)에서 아스파탐 용액을 가열할 때 생성되는 아스파탐 분해 물질은 DKP와 α-AP로서[2,5,6] 그 농도의 증가는 Fig. 4와 같다. 전반적으로 가열 시간이 경과할수록 그리고 가열온도가 높을수록 분해산물의 생성이 증가하는 것을 볼 수 있었으며 아스파탐의 분해 결과 DKP가 α-AP보다 60°C에서는 5~10배, 80°C는 8~19배, 100°C에서 150~333배 더 많이 생성됨을 보여 주었다. 아스파탐은 분해 중 cyclization에 의해 DKP로 생성되고 다시 α-AP로 가수분해되어 2개의 아미노산으로 분해된다고 한다. 또한 온도가 높아질수록 아스파탐의 가수분해와 cyclization이 더 빨라지며 이로서 굽거나 튀기는 식품에의 첨가는 한계가 있다는 결과[3]를 비추어 볼 때 DKP의 생성량이 더 많았던 본 실험의 결과와 유사한 경향을 보였다.

pH 영향

아스파탐의 분해에 미치는 pH의 영향을 보기 위하여 1% 아스파탐 용액의 pH를 3~7로 조정한 후, 온도 영향 실험에서 다른 온도에 비하여 분해속도가 빠르게 나타났던 100°C에서 가열하면서 용액중 아스파탐의 농도변화 및 열분해물질인 DKP를 측정한 결과는

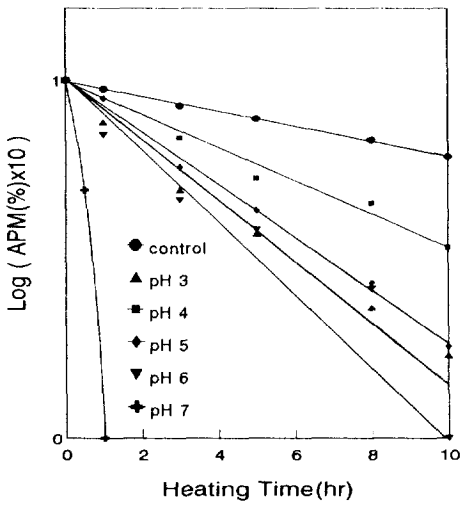

Fig. 5. Effect of pH on logarithmic value of aspartame thermal decrease and heating time at 100°C

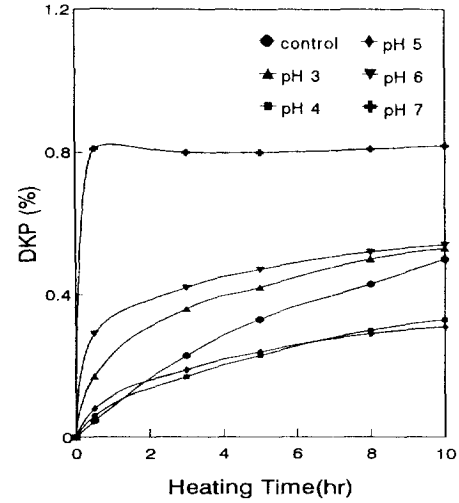

Fig. 6. Changes in DKP concentration as affected by pH during heating at 100°C

Table 2. Effects of pH on thermal degradation rate constants of aspartame during heating at 100°C

pH	k (s^{-1})	r
3	0.073	0.999
4	0.045	0.990
5	0.072	0.999
6	0.286	0.77
7[1)]	0.827	0.83
control	0.081	0.97

[1)]The rate constant at pH 7 was calulated for the initial one hour heating

Table 3. Effects of pH on formation of α-aspartylphenylalanine (α-AP, %) during heating at 100°C

Heating time (hr)	pH				
	3	4	5	6	7
0.5	0.0002	0.0007	0.0009	0.0008	0.0009
3	0.0002	0.0003	0.0012	0.0008	0.0009
5	0.0002	0.0004	0.0012	0.0012	0.0006
8	0.0004	0.0008	0.0012	0.0015	0.0008
10	0.0005	0.0009	0.0015	0.0017	0.0009

Fig. 5 및 6과 같다. 아스파탐의 분해는 pH 6~7에서 가장 빠르게 일어났으며 이 때 아스파탐의 분해를 log [APM]으로 표시하였을 때 pH 7에서는 가열 1시간 후 거의 분해되어 잔류량이 0.0042%, 이 때의 열분해 속도상수 k값은 0.827로 매우 빠른 속도로 가열 초기에 분해되었음을 알 수 있었다(Fig. 5). 10시간 가열하였을 때 pH별로 아스파탐의 잔류량을 비교하여 보면 pH 3에서 0.17%, pH 4에서 0.34%, pH 5는 0.18%, pH 6에서는 0.1%, pH 7에서는 0.0018%였다. pH 4에서는 비교적 안정함을 보여 동일한 산성 pH 범위에 속하는 pH 3에서보다 약 2.0배, pH 5에서는 1.9배의 안정성을 나타냈으며 따라서 pH 별 안정성은 pH 4> pH 5>pH 3>pH 6>pH 7의 순서로 떨어짐을 나타냈다. 대조구 및 pH별 시료의 아스파탐의 열분해 속도상수와 상관관계는 Table 2와 같다. 아스파탐의 분해속도의 경향이 가장 민감하였던 pH 7에서의 분해속도 상수값은 0.827로 다른 pH구의 값인 0.045~0.286보다 현저히 높은것으로 나타났으며 열에 의한 분해가 매우 빠름을 보여 주었다.

이러한 결과는 중성 pH의 범위에서 아스파탐이 불안정함을 보여주는 것이며 온도, 완충액 농도, 시간뿐 아니라 pH가 아스파탐의 안정성에 대한 중요한 인자로 작용한다는 보고[4,7]와 중성의 pH값을 갖는 유제품에서 아스파탐의 안정성이 문제가 된다는 다른 연구[4,11] 결과와 일치하고 있다. 또한 본 실험에서의 결과는 pH 7, 100°C에서 가열초기에 거의 아스파탐이 분해되었다는 Tsoubeli와 Labuza[4]의 결과와 유사하였다.

가열 중 아스파탐으로부터 분해되어 나오는 DKP를 측정한 결과 온도영향의 결과와 같이 아스파탐의 분해증가와 분해산물의 생성이 비례적임을 보여주고 있다(Fig. 6). DKP의 생성은 pH 7에서 다른 pH구에 비해 초기에 매우 빨리 생성되었고, pH 3~4의 경우는 대조구보다 다소 생성이 억제되는 것으로 나타났다. α-AP는 pH에 따라 일정한 경향을 볼 수 없었는데 이는 전반적으로 그 생성량이 0.0002~0.0017% 정도로 극히 소량 생성되었기 때문으로 생각된다(Table 3).

요 약

아스파탐을 가열할 때 온도 및 pH가 아스파탐의 열안정성에 미치는 영향을 조사하였다. 아스파탐 용액을 60~100°C로 가열하였을 때 가열온도가 높아질수록 아스파탐의 분해속도가 빨라졌으며 이 때의 활성화 에너지는 20.77 Kcal/mole이었다. 또한 열분해물질인 DKP와 α-AP는 아스파탐의 열분해와 함께 생성속도가 증가하였으며, 분해산물 중 DKP량이 α-AP보다 현저하게 많이 생성되었다. 가열 중 pH의 변화는 60~80°C에서는 10시간 가열동안 비교적 완만하게 감소하였고 100°C에서는 초기 pH 4.52에서 3.92로 감소하였다가 그 후 다시 완만하게 감소하였다. 1% 아스파탐 용액을 pH 3~7의 범위로 조절하여 100°C에서 가열하였을 때 pH 3.0~4.5의 산성범위에서 안정하였고 pH 7에서 불안정하였으며, 초기 1시간 가열 후 pH 7에서의 열분해 속도상수는 0.83으로 다른 pH의 열분해 속도상수의 값인 0.045~0.286에 비해 큰 차이를 보였다. 따라서 아스파탐은 pH 7과 고온에서 매우 불안정함을 보여 주었다.

감사의 글

본 연구는 1994년도 세종대학교 대양학술 연구비에 의하여 연구한 결과로 심심한 사의를 표합니다.

문 헌

1. 湯川利秀 : アスハ°ルテ-ム, 化學工業, **36**, 43 (1985)
2. Vetsch, W.: Aspartame : Technical consideration and practical use. *Food Chem.*, **16**, 245 (1985)
3. Homler, B.E.: Properties and stability of aspartame. *Food Technol.*, **38**, 50 (1984)
4. Tsoubeli, M.N. and Labuza, T.P.: Influence of dairy proteins of aspartame stability in the pH 6-7 range. *J. Food Sci.*, **57**, 36 (1991)
5. Furda, I., Nalixia, P.D., Keler, M.G. and Vernieri, P.J.: Decomposition products of S-aspartyl-L-phenylalanine methyl ester and their identification by gas-chromatography, *J. Agr. Food Chem.*, **23**, 340 (1975)
6. *Encyclopedia of Food science, Food Technology and Nutrition*. Academic Press. p.283 (1993)
7. Tsoubeli, M.N. and Labuza, T.P.: Accelerated kinetic study of aspartame degradation in the neutral pH range. *J. Food Sci.*, **56**, 1671 (1991)
8. Prudel, M., Davidcova, E ., Davidek, J. and Kminek, M.: Kinetic decomposition of aspartame hydrochloride (UASL) in aquous solutions. *J. Food Sci.*, **51**, 1393 (1986)
9. Stamp, J.A.: Kinetics and analysis of aspartame deposition mechanisms in aqueous solutions using multiresponse methods. Ph.D. thesis, Univ. of Minnesota, St. Paul, MN (1990)
10. Redlinger, P.A.: Quality of perceived sweetness of selected bulk and intense sweetness in model systems as determined by physical and sensory measurements. *Dissertation Abstracts International*, B. **47**, 451 (1986)
11. Bell, L.N. and Labuza, T.P.: Aspartame degradation kinetecs as affected by pH in intermediate and low moisture food systems. *J. Food Sci.*, **56**, 17 (1991)
12. Ozol, T.: Stability of aspartame in artificial syrups. *Acta Pharm. Turc.*, **28**, 125 (1987)

(1995년 12월 15일 접수)