

HPLC/MS/MS를 이용한 음료류 중 인공감미료 동시분석에 관한 연구

이성봉* · 용금찬 · 황선일 · 김영수 · 정유정 · 서미영 · 이창희 · 성진희 · 윤미혜
경기도보건환경연구원 식품분석팀

A Study on the Analysis of Five Artificial Sweeteners in Beverages by HPLC/MS/MS

Seong-Bong Lee*, Kum-Chan Yong, Sun-Il Hwang, Young-Su Kim, You-Jung Jung,
Mi-Young Seo, Chang-Hee Lee, Jin-Hee Sung, and Mi-Hye Yoon

Food Analysis Team, Gyeonggi-do Institute of Health and Environment

(Received July 4, 2014/Revised August 15, 2014/Accepted October 8, 2014)

ABSTRACT - A method for analysis of five artificial sweeteners (sodium saccharin, aspartame, acesulfame-K, sucralose, cyclamate) in beverage samples was developed using high-performance liquid chromatography/triple quadrupole mass spectrometry (HPLC/MS/MS). The method uses a single-step dilution for sample preparation. Separation was achieved on a C₁₈ column (2.1 × 150 mm, 3.5 μm) with A- 2% methanol (1 mM ammonium acetate), B-95% methanol (1 mM ammonium acetate) as mobile phase with gradient mode. The quantitation of target compounds was performed by external calibration in selected reaction monitoring (SRM) mode. The coefficient of determination of calibration curve for sodium saccharin, aspartame, acesulfame-K, sucralose and cyclamate were 0.9957, 0.9991, 0.9943, 0.9982 and 0.9948, respectively. The limits of detection (LODs) and limits of quantitation (LOQs) were in the range of 0.001~0.022 mg/L and 0.004~0.073 mg/L, respectively. Recoveries for beverage samples were in the range of 92.76~113.50% with RSD < 10.91%. The method has applied to the determination of the five sweeteners in 102 beverage samples. Three artificial sweeteners-aspartame, acesulfame-K, sucralose were detected from 42 samples. Sodium saccharin and cyclamate were not detected in all samples.

Key words : HPLC/MS/MS, artificial sweeteners, beverages

식품산업의 발달과 함께 다양한 가공식품이 개발되고 있으며, 식품첨가물의 종류와 소비량 또한 증가하고 있다. 식품첨가물인 인공감미료는 단맛에 대한 욕구를 충족시켜 주면서 열량을 제공하지 않는다. 당뇨, 비만, 체중조절 및 치아 우식증 등 건강문제에 대한 인식의 증가와 원가 절감의 장점도 있어 설탕의 대체감미료로 식품 및 의약품산업 등에서 폭넓게 사용된다¹⁻³).

인공감미료는 2종 이상을 혼합하여 사용할 수 있으며 대표적인 예는 삭카린나트륨과 싸이클라메이트(1:10)의 조합이다⁴. 단독으로 사용 시 발생하는 특유의 쓴맛, 뒷맛 (aftertaste) 등의 단점을 보완해주고 단맛을 상승시켜주기 때문에 음료류를 비롯한 가공식품에 적용하기 위한 연구

가 다양하게 이루어지고 있다⁵⁻⁹).

화학적으로 합성되는 인공감미료는 삭카린나트륨, 아스파탐, 수크랄로스, 아세설팜칼륨, 싸이클라메이트 등이 있다. FAO/WHO 합동식품첨가물전문가위원회(Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA)는 첨가물에 대한 독성시험을 통해 일일섭취허용량(Acceptable Daily Intake, ADI, mg/kg · bw)을 설정하고 있다. ADI는 특정 물질을 매일 섭취하여도 건강상 유해한 영향이 나타나지 않는 양으로 삭카린나트륨은 0-5 mg/kg · bw, 아스파탐은 0-40 mg/kg · bw, 아세설팜칼륨, 수크랄로스는 0-15 mg/kg · bw, 싸이클라메이트는 0-11 mg/kg · bw로 설정되어 있다¹⁰. 일본을 비롯한 스웨덴, 포르투갈, 덴마크, 이탈리아, 독일 등 세계 여러 나라에서 인공감미료 섭취에 대한 안전성 확보를 위해 자국민을 대상으로 섭취량을 파악하여 ADI와 비교, 평가를 실시하고 있다¹¹⁻¹⁶. 우리나라에서도 인공감미료 섭취량 조사 및 분석법에 관한 연구가 수행되고 있다^{3,17-20}.

*Correspondence to: Seong-Bong Lee, Gyeonggi-do Institute of Health and Environment, 95, Pajangcheon-ro, Jangam-gu, Suwon-si, Gyeonggi-do 440-290, Korea
Tel: 82-31-250-2573
E-mail: redev0070@gg.go.kr

인공감미료의 섭취량을 파악하기 위해서는 식품 중 함량을 조사하는 것이 매우 중요하다. 인공감미료는 고강도 감미료로 식품제조에는 소량만이 첨가되므로 고감도의 분석법이 필요하다²¹⁾. 식품 중 인공감미료 분석은 high performance liquid chromatography (HPLC), ion chromatography (IC), capillary electrophoresis (CE), Gas chromatography (GC) 등의 분석법이 보고되고 있다^{1,2,19-26)}. HPLC는 다양한 컬럼과 검출시스템을 사용할 수 있어 서로 상이한 물리화학적 특성에 대한 호환성과 높은 민감도, 응용성 때문에 보편적으로 사용된다. CE, IC는 우수한 분리능과 저렴한 운용비용의 장점이 있지만 CE는 robustness, IC는 보편성에 대한 한계가 있다. GC의 경우 유도체화 과정이 필요하여 시간이 많이 소비되고 여러 단계의 절차가 필요해서 효율성이 떨어진다⁴⁾.

HPLC는 다양한 검출기를 사용할 수 있는데 삭카린나트륨, 아스파탐, 아세설팜칼륨은 ultraviolet (UV) detector를 이용한 분석이 가능하고 동시분석에 대한 연구가 보고되어 있다^{23-24,27)}. 수크랄로스, 싸이클라메이트는 일반적인 UV/visible의 가용범위 내에서 흡수가 어렵기 때문에 UV detector를 이용한 방법은 민감도와 특이성이 떨어진다²⁵⁾. 싸이클라메이트, 수크랄로스의 경우 유도체화²²⁾, refractive index (RI) detector¹⁹⁾를 이용한 방법이 보고되고 있다.

인공감미료는 다양한 혼합사용이 가능하기 때문에 한 번에 여러 가지 감미료를 분석할 수 있는 분석법이 필요하다. 최근 evaporative light scattering detector (ELSD)²⁵⁾, mass spectrometry (MS)²⁰⁻²¹⁾를 이용하여 삭카린나트륨, 아스파탐, 아세설팜칼륨과 함께 싸이클라메이트, 수크랄로스 등을 한번에 분석할 수 있는 동시분석법이 보고되고 있다.

본 연구에서는 HPLC/MS/MS를 이용하여 음료류 중 인공감미료 (아세설팜칼륨, 삭카린나트륨, 싸이클라메이트, 수크랄로스 및 아스파탐)의 함유현황을 파악하기 위해 간단한 전처리 과정의 동시분석법을 확립하고 시중 유통 중인 음료류를 대상으로 그 함유실태를 조사하였다.

재료 및 방법

시료 및 시약

시료는 경기도내 대형 할인마트 및 일반 슈퍼마켓에서 유통 중인 음료류 102건 (과채주스 6건, 과채음료 26건, 탄산음료 29건, 혼합음료 35건, 홍삼음료 6건)을 수집하여 시료로 하였다. 인공감미료 표준품 sodium saccharin (SAC), aspartame (ASP), sucralose (SCL)은 Sigma사 (St. Louis, MO, USA), acesulfame K (ACS-K), sodium cyclamate (CYC)는 Wako사 (Osaka, Japan) 제품을 사용하였으며, 이동상 제조를 위한 methanol, ammonium acetate는 Wako사(Osaka, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 물은 Thermo Scientific사(Dubuque, Iowa, USA)의 초순수 제조장치

(Barnstead Nanopure)를 이용하여 3차 증류수(> 18.2 MΩ/cm resistivity)를 사용하였다.

표준용액 조제

표준용액은 삭카린나트륨 등 5가지 인공감미료 표준품을 1 mM ammonium acetate 용액에 녹여 1000 mg/L 농도로 되도록 하여 표준원액을 제조한 후, 각각의 표준원액을 1 mM ammonium acetate 용액으로 혼합 및 희석하여 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 mg/L가 되도록 하여 검량선 작성용 표준용액으로 사용하였다.

시료 전처리

시료 전처리는 시료 약 1 g을 50 mL volumetric flask에 취하고 1 mM ammonium acetate 용액을 가해 잘 혼합한 다음 정용하여 0.2 μm 필터로 여과한 액을 시험용액으로 하였다. 고형물이 있는 경우 초음파 추출 및 원심분리 후 상등액을 취해 0.2 μm 필터로 여과한 액을 시험용액으로 하였다. 탄산가스가 있는 경우에는 10분간 초음파 처리하여 탄산가스를 제거하고 고형물이 있는 경우에는 혼합기로 균질화한 후 약 1 g을 취하여 전처리를 수행하였다.

분석 장비 및 이동상 조건

분석장비는 Shiseido사(Tokyo, Japan)의 SP LC (5100 Autosampler NASCA, 3301 Dual pump MS1, 3014 Oven)와 ThermoScientific사(San Jose, CA, USA)의 triple quadrupole mass spectrometry TSQ Quantum Ultra를 사용하였으며 컬럼, 이동상의 농도구배 조건 등은 Table 1에 나타냈다.

Table 1. Analytical conditions of HPLC system

Parameter	Condition		
Column	Xterra MS C18 (2.1 × 150 mm, 3.5 μm)		
Oven	40°C		
Mobile Phase	A: 2% methanol (1 mM ammonium acetate)		
	B: 95% methanol (1 mM ammonium acetate)		
Flow rate	200 μL/min		
Injection	5 μL		
Gradient condition	Time (min)	A (%)	B (%)
	0.0	100	0
	2.0	100	0
	4.0	90	10
	6.0	70	30
	8.0	40	60
	11.0	20	80
	15.0	20	80
	15.1	100	0
	20.0	100	0

결과 및 고찰

HPLC/MS/MS 분석 조건 검토

인공감미료 분석 조건을 검토하기 위해 표준용액(1 mg/L)을 개별적으로 질량분석기에 직접 주입하여 electrospray ionization (ESI) positive & negative mode에서의 이온화 조건을 비교하였다. 삭카린나트륨, 아세실팜칼륨, 싸이클라메이트는 negative mode, 수크랄로스, 아스파탐은 positive mode에서 좋은 감도를 나타내었다. 김²⁰⁾ 등, Loos²⁸⁾ 등의 연구결과에서는 수크랄로스를 negative mode, Ferrer²⁾ 등은 positive mode에서 이온화하였다. 수크랄로스의 경우 negative mode에서는 다양한 fragment ion이 발생하지 않기 때문에²⁾ 본 연구에서는 수크랄로스의 fragment ion 정보를 다양하게 검토할 수 있고 감도가 좋은 positive ion mode로 이온화하였다. 각 인공감미료를 selected reaction monitoring (SRM) 방식으로 정량 분석하기 위한 product ion을 선정하기 위하여 collision energy (CE)를 검토한 결과는 Table 2와 같다. 감도가 좋은 product ion을 quantitation ion으로 정량 분석하였으며 나머지 이온은 confirmation ion으로 정성 확인하였다. MS/MS parameter 조건은 FIA (flow injection analysis) 방식으로 최적화하였다. 즉 이동상을 유속 200 μ L/min의 조건으로 흘려주고 인공감미료 표준용액 (1 mg/L)을 소량씩 질량분석기에 주입하면서 각 parameter의 변화에 따른 반응 강도를 확인하여 최적의 조건을 검토하였으며 Table 3에 나타내었다. 이동상을 결정하기 위하여 메탄올과 아세토니트릴을 비교한 결과 메탄올 사용 시 더 좋은 감도를 나타내었다. Huang²⁹⁾ 등의 연구결과를 보면 싸이클라메이트는 C₈, C₁₈ 등의 역상계 컬럼 사용 시 머무름(retention)이 극히 어려우며 100% 물을 용매로 사용

Table 2. SRM parameters for five sweeteners

Sweetner	Parent ion (m/z)	Product ion (m/z)	CE (V)
ACS-K	161.87	81.99 ^{a)}	16
		77.93 ^{b)}	42
SAC	181.88	105.94	21
		42.04	29
CYC	177.96	79.95	36
		95.96	26
SCL	418.87	238.93	20
		221.00	22
ASP	295.00	180.06	13
		120.01	26

^{a)}Quantitation ion, ^{b)}Confirm ion

Table 3. Analytical conditions of MS/MS parameters

Parameter	Condition
Ion source	ESI
Ion polarity	Positive & Negative
Spray voltage	4000 V
Vaporizer temp.	200°C
Sheath gas pressure	40
Auxiliary gas pressure	10
Ion transfer capillary temp.	330
Scan type	SRM
Q1 peak width	0.7 Da
Q3 peak width	0.7 Da
Collision gas pressure	Ar at 1.5 m Torr

하여도 retention time이 대략 3분으로 이러한 결과는 -CN, -NH₂ 컬럼에서도 동일하다. 본 연구의 용매 검토 과정에서도 싸이클라메이트, 아세실팜칼륨, 삭카린나트륨이 주입 후 컬럼에서 머무름 없이 용리되었다. 수크랄로스 분석시

Table 4. Accuracy and precision of quality control samples

Sweetner	Concentration (mg/L)	Intra-day (n = 6)			Inter-day (n = 3)		
		Mean (mg/L)	Recovery (%)	RSD (%)	Mean (mg/L)	Recovery (%)	RSD (%)
ACS-K	10.07	10.18	101.14	3.39	10.12	100.57	6.64
	50.33	49.79	98.93	1.16	51.30	101.94	6.86
	251.62	253.00	100.55	1.87	267.15	106.17	5.46
SAC	10.03	10.36	103.25	3.94	10.85	108.14	3.59
	50.18	49.04	97.74	1.50	46.54	92.76	7.33
	250.88	251.82	100.37	1.78	244.82	97.58	5.23
CYC	10.39	10.33	99.42	1.41	10.80	103.91	2.75
	51.94	49.19	94.71	1.89	51.95	100.02	3.13
	259.71	260.35	100.25	0.35	272.60	104.97	4.09
SCL	10.48	11.24	107.16	4.94	11.80	112.56	10.91
	52.43	52.68	100.49	1.79	51.23	97.70	0.68
	262.15	261.04	99.58	0.69	266.68	101.73	1.69
ASP	9.98	10.19	102.17	0.50	10.19	102.13	0.48
	49.88	50.75	101.74	1.42	52.52	105.29	5.72
	249.41	249.12	99.89	0.81	283.07	113.50	0.93

Table 5. Linearity, LOD and LOQ of five sweeteners

Sweetner	Linear equation	r ²	LOD (mg/L)	LOQ (mg/L)
ACS-K	Y = 687913x - 110621	0.9943	0.008	0.026
SAC	Y = 181572x - 29049	0.9957	0.014	0.047
CYC	Y = 1427996x - 278737	0.9948	0.003	0.010
SCL	Y = 255604x + 9009	0.9982	0.022	0.073
ASP	Y = 20173603x + 1335455	0.9991	0.001	0.004

noise가 발생하여 이를 제거하고 싸이클라메이트, 아세실팜칼륨, 삭카린나트륨의 머무름과 분리도 향상을 위해 첨가제로 acetic acid, formic acid, ammonium acetate, ammonium formate에 대해 검토하였다. noise 제거와 머무름, 분리도, 감도를 고려하여 ammonium acetate를 선택하였다. 순차적으로 농도를 변화시키면서 적정 농도를 확인한 결과 1 mM이 가장 적합한 것으로 판단되어 1 mM ammonium acetate를 첨가한 물과 메탄올을 이동상으로 설정하고 농도구배 조건을 설정하였다.

유효성 검증

인공감미료 5종의 표준용액을 0.1~5.0 mg/L 농도로 조제 후 LC/MS/MS로 분석하여 검량선을 작성한 결과 Table 5와 같이 각 검량선의 결정계수(r²)는 0.9943 이상으로 좋은 직선성을 나타내었다. 정확도 및 정밀도는 인공감미료가 함유되어 있지 않은 혼합음료 시료에 표준물질을 녹여 각 표준물질의 농도가 10 mg/L, 50 mg/L, 250 mg/L이 되도록 한 시료를 이용하였다. 동일한 날에 6회 반복 분석하여 일내 정밀도(intra-day precision) 및 회수율(Recovery)을 확인하였고 3일간 반복 분석하여 일간 정밀도(inter-day precision) 및 회수율을 확인하였다(Table 4). 회수율은 삭카린나트륨 92.76~108.14%, 아스파탐 99.89~113.50%, 아세실팜칼륨 98.93~106.17%, 수크랄로스 97.70~112.56%, 싸이클라메이트 94.71~104.97%, 일내 정밀도는 4.94% 이하, 일간 정밀도는 10.91% 이하로 양호한 결과를 확인하였다. 검출한계(limit of detection, LOD)는 signal/noise (S/N)비 3 이상, 정량한계(limit of quantitation, LOQ)는 S/N비 10 이상 되는 농도로 단계적으로 희석한 표준용액을 6회 반복 분석하여 얻은 검량선의 기울기(S)와 y-절편의 표준편차(σ)를 이용하여 아래 식으로 검출한계, 정량한계 값을 구하였다.

$$\text{LOD} = 3 \times \sigma/S$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \sigma/S$$

검출한계, 정량한계는 Table 5와 같으며 정량한계 유사 농도의 크로마토그램을 Fig. 1에 나타내었다.

시료 분석결과

확립된 분석법이 음료류 중 인공감미료의 동시분석에 적합하다고 판단되어 시중 유통 중인 음료류 102건 (과채주

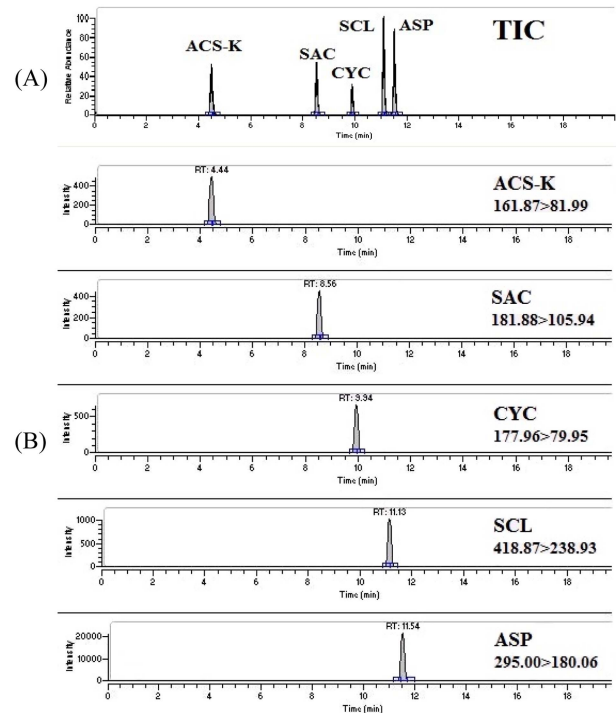


Fig. 1. SRM chromatogram of five sweeteners. (A) TIC - ACS-K: 0.15 mg/L, SAC: 0.75 mg/L, CYC: 0.1 mg/L, SCL: 0.35 mg/L, ASP: 0.005 mg/L, (B) SRM-ACS-K: 0.02 mg/L, SAC: 0.05 mg/L, CYC: 0.01 mg/L, SCL: 0.05 mg/L, ASP: 0.005 mg/L.

스 6건, 과채음료 26건, 탄산음료 29건, 혼합음료 35건, 홍삼음료 6건)을 대상으로 조사한 결과는 Table 6, 7과 같다.

과채주스, 홍삼음료에서는 분석대상 감미료가 검출되지 않았고 과채음료, 탄산음료, 혼합음료에서 아스파탐, 아세실팜칼륨, 수크랄로스가 검출되었다. 아스파탐은 5건, 아세실팜칼륨은 19건, 수크랄로스는 28건 검출되었다. 한³⁾, 김¹⁷⁾ 등의 연구결과와 같이 삭카린나트륨과 국내에서 사용이 금지된 싸이클라메이트는 검출되지 않았다. 식품 등의 표시기준³⁰⁾은 식품을 제조·가공 시 직접 사용·첨가하는 합성감미료의 경우 그 명칭과 용도를 함께 표시하도록 규정하고 있다. 특히, 아스파탐의 대사물질 중 하나인 페닐알라닌 섭취에 주의해야 하는 페닐케톤뇨증 (Phenylketonuria, PKU) 환자를 위해 아스파탐을 첨가 사용한 제품에 대하여는 “페닐알라닌 함유”라는 내용을 표시하도록 하고 있다. 검출된 시료 42건에 사용된 인공감미료는 표시사항과

Table 6. The number of detected samples in beverages

Food type	No. of samples	No. of detected samples	ACS-K	SCL	ASP	ACS-K & SCL	ASP & ACS-K	SCL & ASP
Fruit/Vegetable Juice	6	-	-	-	-	-	-	-
Fruit/Vegetable Beverage	26	8	-	6	-	2	-	-
Carbonated Beverage	29	13	-	3	1	5	3	1
Mixed Beverage	35	21	-	12	-	9	-	-
Red Gingseng Beverage	6	-	-	-	-	-	-	-
Total	102	42	-	21	1	16	3	1

SAC, CYC : not detected

Table 7. Analytical results of three sweeteners detected in beverages

Food type	No. of samples	No. of detected samples	ACS-K	No. of detected samples	SCL	No. of detected samples	ASP
Fruit/Vegetable Beverage	26	2	33.4 ^{a)} (26.6~40.3) ^{b)}	8	45.9 (25.5~80.0)	-	-
Carbonated Beverage	29	8	75.1 (31.1~135.0)	9	101.5 (12.6~195.2)	5	268.0 (32.9~470.0)
Mixed Beverage	35	9	33.8 (9.6~53.9)	21	50.6 (12.3~120.0)	-	-
Total		19	51.1 (9.6~135.0)	38	61.7 (12.3~195.2)	5	268.0 (32.9~470.0)

SAC, CYA : not detected, ^{a)} Mean (mg/kg), ^{b)} Range (mg/kg)

일치하였다. 음료류에 대한 사용기준은 삭카린나트륨 0.2 g/kg (발효음료류, 인삼·홍삼음료류 제외), 아세설팜칼륨 0.50 g/kg, 수크랄로스 0.40 g/kg이며 아스파탐은 제한받지 아니한다³¹⁾. 각 인공감미료의 검출농도는 아스파탐 32.9~470.0 mg/kg, 아세설팜칼륨 9.6~135.0 mg/kg, 수크랄로스 12.3~195.2 mg/kg으로 사용기준을 초과한 시료는 없었다. 인공감미료가 검출된 시료 42건 중 수크랄로스 38건, 아세설팜칼륨 19건, 아스파탐 5건으로 수크랄로스가 가장 많은 검출빈도를 나타내었다. 한³⁾ 등의 연구 결과에서는 인공감미료가 검출된 시료 모두에서 아스파탐이 검출되었다고 보고되었다. 본 연구결과와 비교해보면 아스파탐의 사용은 감소된 반면 수크랄로스의 사용 비율이 높아지고 있는 것으로 판단된다. 검출된 시료 중 인공감미료가 2종씩 사용된 시료가 20건으로 혼합사용의 비율이 높게 나타났다. 아세설팜칼륨과 수크랄로스의 조합이 16건으로 가장 많았으며 아스파탐과 아세설팜칼륨의 혼합사용 3건은 탄산음료에만 사용되었다. 수크랄로스 또는 아스파탐이 단독으로 사용된 경우에도 본 연구에서 제외된 효소처리 스테비아 또는 스테비올배당체 등의 사용을 고려하면 음료 중 2종 이상의 감미료를 혼합사용하는 비율은 상승할 것으로 판단된다. 아스파탐은 42건 중 5건으로 검출율은 낮지만 최고 농도 470.0 mg/kg으로 아세설팜칼륨과 수크랄로스에 비해 높은 농도로 검출되었다. 이는 음료에 대한 사용제한이 없기 때문인 것으로 판단된다.

요 약

본 연구는 식품산업에서 큰 비중을 차지하고 있는 음료류에 대한 인공감미료 (삭카린나트륨, 아스파탐, 아세설팜칼륨, 수크랄로스, 싸이클라메이트)의 함유현황 파악을 위한 동시분석법을 확립하였다. 회석 및 여과의 간편하고 효율적인 전처리 후 HPLC/MS/MS를 이용하여 5종 인공감미료 동시분석 조건을 검토하였다. 컬럼은 C₁₈(2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm), 이동상은 2% methanol (1 mM ammonium acetate)과 95% methanol (1 mM ammonium acetate)을 사용하여 농도구배 조건으로 각 성분을 분리하였으며 ESI/SRM 방식으로 정량 분석하였다. 0.1~5.0 mg/L의 농도범위에서 각 인공감미료 검량선은 1에 가까운 높은 직선성을 나타냈다. 검출한계, 정량한계는 각각 0.001~0.022 mg/L, 0.004~0.073 mg/L로 저농도의 감미료 분석이 가능함을 확인하였다. 회수율은 92.76~113.50%, 정밀도는 10.91% 이하로 양호하였다. 이상의 결과로 본 분석법은 음료 중 인공감미료 분석에 적합하다고 판단되었다. 확립된 분석법으로 시중 유통 중인 음료 102건 분석한 결과 42건에서 아스파탐, 아세설팜칼륨, 수크랄로스가 검출되었으며 삭카린나트륨과 싸이클라메이트는 검출되지 않았다. 검출된 인공감미료는 표시사항과 일치하였으며 사용대상과 사용량의 기준에 적합하였다.

참고문헌

- Zhu, Y., Guo, Y., Ye, M., and James F. S.: Separation and simultaneous determination of four artificial sweeteners in food and beverages by ion chromatography. *J. chromatogr. A*, **1085**, 143-146 (2005).
- Ferrer, I., and Thurman, E. M.: Analysis of sucralose and other sweeteners in water and beverage samples by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry. *J. chromatogr. A*, **1217**, 4127-4134 (2010).
- 한윤정, 김준현, 박승영, 오재호, 장영미, 김미혜: 어린 이기호식품의 인공감미료 함량 모니터링, 한국식품 위생안전성학회지, **25**, 185-191 (2010).
- Zyglis, A., Wasik, A. and Namiesnik, J.: Analytical methodologies for determination of artificial sweeteners in foodstuffs. *Trends Ana. Chem.*, **28**, 1082-1102 (2009).
- 최선영, 장은경, 황인경: 청량음료용 고강도 감미료의 혼용 비율에 따른 관능적 특성 및 저장기간 산정, 한국조리과학회지, **21**, 235-242 (2005).
- 김현, 이혜성, 신진영, 김광옥: Sucralose와 acesulfame-K를 첨가한 커피 음료의 관능적 특성 및 소비자 기호도, 한국식품과학회지, **39**, 527-533 (2007).
- Fukuda, M., Terata, T., Tsuda, K., Sugawara, M., Kitatani, N. and Seino, Y.: Aspartame-acesulfame K-containing low-energy erythritol Sweetener markedly suppresses postprandial hyperglycemia in mild and borderline diabetics. *Food Sci. Technol. Res.*, **16**, 457-466 (2010).
- Lin, S.D. and Lee, C.C.: Qualities of chiffon cake prepared with indigestible dextrin and sucralose as replacement for sucrose. *Cereal Chem.*, **82**, 405-413 (2005).
- Arora, S., Shendurse, A.M., Sharma, V., Wadhwa, B.K. and Singh, A.K.: Assessment of stability of binary sweetener blend (aspartame x acesulfame K) during storage in whey lemon beverage. *J. Food Sci. Technol.*, **50**, 770-776 (2013).
- IPCS INCHEM: Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA)-Monographs and Evaluations. Available from: <http://www.inchem.org/pages/jecfa.html>. (2014).
- Ishiwata, H., Nishijima, M. and Fukasawa, Y.: Estimation of inorganic food additive (nitrite, nitrate and sulfur dioxide), antioxidant (BHA and BHT), processing agent (propylene glycol) and sweetener (sodium saccharin) concentrations in foods and their daily intake based on official inspection results in Japan in fiscal year 1998. *J. Food Hyg. Soc. Japan*, **44**, 132-143 (2002).
- Ilbäck, N.G., Alzin, M., Jahrl, S., Enghardt-Barbieri, H. and Busk, L.: Estimated intake of the artificial sweeteners acesulfame-K, aspartame, cyclamate and saccharin in a group of Swedish diabetics. *Food Addit. Contam.*, **20**, 99-114 (2003).
- Lino, C.M., Costa, I.M., Pena, A., Ferreira, R. and Cardoso, S.M.: Estimated intake of the sweeteners, acesulfame-K and aspartame, from soft drinks, soft drinks based on mineral waters and nectars for a group of Portuguese teenage students. *Food Addit. Contam.*, **25**, 1291-1296 (2008).
- Leth, T., Fabricius, N. and Fagt, S.: Estimated intake of intense sweeteners from non-alcoholic beverages in Denmark. *Food Addit. Contam.*, **24**, 227-235 (2007).
- Leclercq, C., Berardi, D., Sorbillo, M.R. and Lambe, J.: Intake of saccharin, aspartame, acesulfame K and cyclamate in Italian teenagers: present levels and projections. *Food Addit. Contam.*, **16**, 99-109 (1999).
- Arcella, D., LeDonne, C. and Piccinelli, R.: Dietary estimated intake of intense sweeteners by Italian teenagers. Present levels and projections from the INRAN-RM-2001 food survey. *Food chem. toxicol.*, **42**, 677-685 (2004).
- 김희연, 윤혜정, 홍기형, 최장덕, 박성관, 박희옥, 진명식, 최우정, 박선영, 이경주, 이철원: 식품 중 사카린나트륨, 아세설팜칼륨의 섭취량에 관한 연구, 한국식품과학회지, **36**, 804-811 (2004).
- 김희연, 윤혜정, 홍기형, 최장덕, 박성관, 최우정, 장영미, 이달수, 하상철, 송옥자, 문동철, 신일식: 식품 중 아스파탐과 수크랄로스의 섭취량에 관한 연구, 한국식품영양과학회지, **35**, 690-697 (2006).
- 김희연, 윤혜정, 홍기형, 이창희, 박성관, 최장덕, 최우정, 박선영, 김지혜, 이철원: 식품 중 인공감미료의 분석법에 관한 연구, 한국식품과학회지, **36**, 14-18 (2004).
- 김일영, 두옥주, 이성득, 박영혜, 김미선, 배청호, 채영주: HPLC-MS/MS를 이용한 어린이 기호식품중의 감미료 분석, 한국식품위생안전성학회지, **25**, 118-121 (2010).
- Yang, D.J. and Chen, B.: Simultaneous determination of non-nutritive sweeteners in foods by HPLC/ESI-MS. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 3022-3027 (2009).
- Yu, S., Zhu, B., Lv, F., Li, S. and Huang, W.: Rapid analysis of cyclamate in foods and beverages by gas chromatography-electron capture detector (GC-ECD). *Food chem.*, **134**, 2424-429 (2012).
- Zhao, Y.G., Cai, M.Q., Chen, X.H., Pan, S.D., Yao, S.S. and Jin, M.C.: Analysis of nine food additives in wine by dispersive solid-phase extraction and reversed-phase high performance liquid chromatography. *Food Res. Int.*, **52**, 350-358 (2013).
- Croitoru, M.D., Fulop, I., Ajtay, K., Balogh, C. and Dogaru, M.T.: Direct HPLC-UV determination of cyclamate, saccharine and aspartame from soft drinks. *A. Alim.*, **40**, 459-465 (2011).
- Wasik, A., McCourt, J. and Buchgraber, M.: Simultaneous determination of nine intense sweeteners in foodstuffs by high performance liquid chromatography and evaporative light scattering detection-Development and single-laboratory validation. *J. chromatogr. A*, **1157**, 187-196 (2007).
- Horie, M., Ishikawa, F., Oishi, M., Shindo, T., Yasui, A. and Ito, K.: Rapid determination of cyclamate in foods by solid-phase extraction and capillary electrophoresis. *J. chromatogr. A*, **1154**, 423-428 (2007).
- Chen, Q.C. and Wang, J.: Simultaneous determination of artificial sweeteners, preservatives, caffeine, theobromine and theophylline in food and pharmaceutical preparations by ion chromatography. *J. chromatogr. A*, **937**, 57-64 (2001).
- Loos, R., Gawlik, B.M., Boettcher, K., Locoro, G., Contini, S. and Bidoglio, G.: Sucralose screening in European surface waters using a solid-phase extraction-liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry method. *J. chro-*

- matogr. A*, **1216**, 1126-1131 (2009).
29. Huang, Z., Ma, J., Chen, B., Zhang, Y. and Yao, S.: Determination of cyclamate in foods by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta*, **555**, 233-237 (2006).
30. 식품의약품안전처: 식품등의 표시기준, 식품의약품안전처 고시 제2014-19호 (2014).
31. 식품의약품안전처: 식품첨가물공전, available from <http://www.mfds.go.kr/fa/index.do>. (2014).