

조제분유중 수용성 비타민의 동시분리 정량분석에 관한 연구

박성원*, 박지용, 이득신, 손성완, 이승원, 조남인
국립수의과학검역원 축산물검사부

비타민은 동물과 식물의 대사에 중요한 역할을 하며, 특히 영·유아의 건강과 정상적인 성장에 필수적인 요소이기 때문에 식품 중 그 함량이 중요시 되어왔다. 특히 조제분유의 경우 가공 공정상의 열처리에 의한 비타민의 손실을 보상하기 위해서 비타민이 첨가되며, 축산물의 가공기준 및 성분규격에도 최종 생산품에서의 비타민 함량이 규정되어 있다. 따라서 각 조제분유가 이 규격에 부합되는지를 결정하거나, Good Manufacturing Practice(GMP)를 위한 공정제어, 품질관리를 위해서 비타민을 정량 하는 분석방법이 필요하게 되었다.

비타민은 분광광도법과 미생물학적 방법 등에 의해 검사되어 왔으나, 이 방법들은 복잡한 시료 matrix에 부적합하고 많은 시간이 소요되며 결과의 재현성이 떨어지는 단점이 있어 점차로 보다 신속하고 재현성 있는 방법인 HPLC법으로 전환되고 있는 실정이다. 그러나 현재 공인 분석법으로 사용되고 있는 HPLC법은 일부 비타민의 개별 정량법으로 제한되어 있다. 따라서 이 연구는 HPLC를 이용하여 조제분유 중 수용성 비타민의 신속 간편하고, 재현성 있는 동시 정량법을 개발 확립함으로써 조제분유 중 비타민 검사법의 정확성 및 신뢰도 제고와 표준화 유도를 목적으로 수행되었다.

조제분유에서 ascorbic acid, nicotinamide, thiamin, riboflavin, pyridoxine을 정량하기 위해서 이온쌍 크로마토그래피와 역상 C₁₈컬럼이 사용되었다. 5mM heptanesulfonic acid, 1% acetic acid 수용액인 이동상 A와 60% methanol을 이동상 B로 하여 시료주입 후 3분간은 이동상 A만을, 이 후 25분까지는 점차적으로 이동상 B의 비율을 100% 까지 변화시키면서 1ml/min 유속을 유지하였다. UV 검출기를 사용하여 270nm와 290nm 에서 검출하였고, 시료 전처리는 단백질 침전을 위한 산성화 후에 원침한 후 상층액을 여과하여 사용하였다.

상기 조건으로 분석하였을 때 ascorbic acid, nicotinamide, thiamin, riboflavin, pyridoxine의 표준정량 곡선은 각각 2.5-25 μ g/ml, 0.375-3.75 μ g/ml, 0.2-2.0 μ g/ml, 0.33-3.3 μ g/ml, 0.2-2.0 μ g/ml 농도의 범위에서 직선성(R²=0.996 이상)을 가졌으며, 회수율은 85.0 \pm 3.4에서 118.6 \pm 5.6(%평균치 \pm 표준편차)을 나타내었다. 검출한계는 0.2 μ g/ml-2.5 μ g/ml였고 정량한계는 2.0 μ g/g-25 μ g/g였다. 따라서 개발된 HPLC법은 기존의 미생물학적방법이나 분광광도법 보다 신속하고 간단하며, 정확성 또한 높아서 조제 분유중 비타민검사법의 표준화 유도에도 크게 기여할 것으로 사료된다.