

미크로파시료분해-분자형광광도법에 의한 어린이식료품속의 비타민 B₂정량

최선애, 김동일, 림복남

비타민 B₂은 인체의 정상대사와 건강을 유지하기 위한 필수물질로서 어린이들의 성장에서 매우 중요한 작용을 한다. 몸안에서 비타민 B₂이 결핍되면 성장발육이 멎으며 점막에 염증이 생길수 있다. 그러므로 식료품에서 비타민 B₂의 량을 정확히 분석하는것은 어린이들의 건강을 보호증진시키는데서 매우 중요하다.

비타민 B₂의 분석방법에는 분광광도법, 형광광도법, 액체크로마토그래프법 등[1-4]이 있는데 농마, 단백질을 비롯하여 여러가지 영양성분들과 생리활성물질이 많은 애기젓가루와 같은 어린이식료품속의 비타민 B₂를 분석하려면 조작이 복잡하고 분석시간이 길며 방해성분의 영향을 받게 받는 결함이 있다.

미크로파시료분해는 시료분해과정에 오염이 적고 분석성분의 손실이 없으며 가열속도가 빠르므로 시료분해시간이 수~수십min정도이며 용매량도 적고 공백감도도 낮은것으로 하여 시료전처리에 광범히 리용되고있다.

우리는 미크로파시료분해-분자형광광도법으로 애기젓가루를 비롯한 어린이식료품속의 비타민 B₂를 정량하기 위한 연구를 하였다.

실험 방법

장치로는 분자형광광도계(《RF-5000》), 미크로파시료분해장치(《MD6C-6H》), 원심분리기(《Allgra X-12 Centrifuge》)를, 시약으로는 100 μ g/mL 비타민 B₂표준용액, 0.1mol/L HCl용액, 1mol/L NaOH용액, 4% KMnO₄용액, 빙초산, 3% H₂O₂용액을 리용하였다.

시료 1g을 미크로파시료분해장치에서 0.1mol/L HCl용액으로 분해한 다음 원심분리 및 리과하여 단백질을 등 부유물을 제거하여 시료용액을 제조하였다. 다음 10mL들이 눈금플라스크에 일정한 량의 비타민 B₂표준용액 또는 시료용액을 넣고 여기에 빙초산 1mL, KMnO₄용액 0.5mL를 넣고 흔들어주었다. 2min후 H₂O₂용액 0.5mL를 넣고 흔들어 용액의 색이 탈색되게 한 다음 눈금까지 증류수를 채우고 러기파장 440nm, 형광파장 540nm에서 형광세기를 측정하여 비타민 B₂를 정량하였다.

실험결과 및 해석

비타민 B₂의 러기 및 형광스펙트르 비타민 B₂의 러기 및 형광스펙트르는 그림 1과 같다.

그림 1에서 보는바와 같이 비타민 B₂의 러기파장은 440nm이며 형광극대파장은 540nm이다.

pH의 영향 비타민 B₂의 형광세기에 미치는 pH의 영향은 그림 2와 같다.

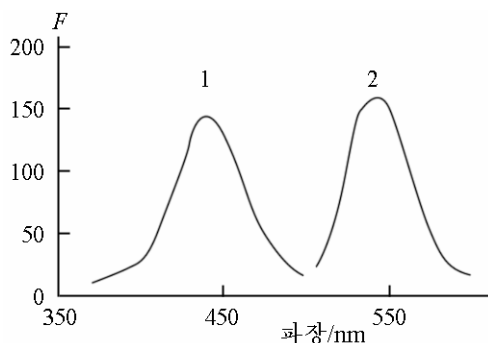


그림 1. 비타민 B₂의 러기(1) 및 형광(2)스펙트르
비타민 B₂의 농도 2 μ g/mL

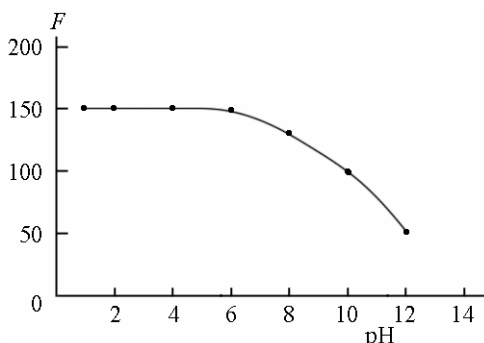


그림 2. 비타민 B₂의 형광세기에 미치는 pH의 영향
비타민 B₂의 농도 2 μ g/mL

그림 2에서 보는바와 같이 비타민 B₂의 형광세기는 pH가 1~6일 때에는 거의 변하지 않지만 8이상에서 감소하기 시작하여 12에서는 완전히 약해진다. 이것은 비타민 B₂이 pH 8 이상에서는 파괴되기때문이다. 따라서 pH를 8이하로 설정하였다.

초산과 과망간산칼리움의 영향 방해성분들을 산화제거하기 위하여 리용한 빙초산과 과망간산칼리움의 영향은 그림 3과 같다.

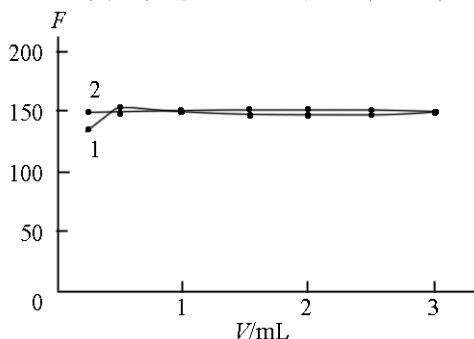


그림 3. 빙초산(1)과 과망간산칼리움(2)의 영향
비타민 B₂의 농도 2 μ g/mL

그림 3에서 보는바와 같이 빙초산과 4% 과망간산칼리움용액을 3mL 넣어도 비타민 B₂의 형광세기는 거의 변하지 않는다.

안정성검토 산성매질에서 비타민 B₂의 안정성을 검토한데 의하면 직사광선이 없는 조건에서 24h 동안 방치하여도 비타민 B₂의 형광세기는 거의 일정하였다.

방해성분의 영향 2 μ g/mL의 비타민 B₂을 정량할 때 $\pm 5\%$ 의 상대오차를 주는 방해성분들의 최대허용량은 표 1과 같다.

표 1. 방해성분들의 최대허용량

방해성분	비타민 B ₁	비타민 B ₃	비타민 B ₆	비타민 B ₁₂	비타민 C	Na ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Zn ²⁺
최대허용량/(mg·mL ⁻¹)	50	3 000	40	2 000	30	50	70	60	80

표 1에서 보는바와 같이 논문에서 제기한 방법으로 비타민 B₂을 정량할 때 방해성분들이 영향을 거의 미치지 않는다는것을 알수 있다.

검량선작성 비타민 B₂의 농도 0~10 μ g에서 검량선을 작성하였다.(그림 4)

2 μ g/mL의 비타민 B₂을 5번 정량할 때 변동결수는 3.8%이며 검출아래한계는 0.001 μ g/mL이다.

대상물분석 합리적인 마이크로파시료분해조건(표 2)에서 어린이식품속의 비타민 B₂을 분자형광광

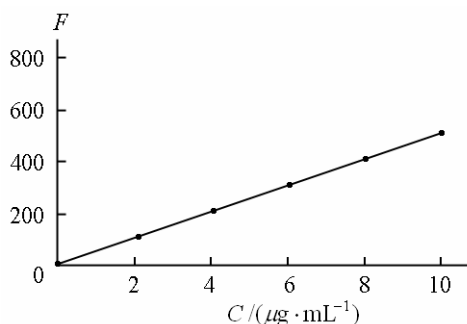


그림 4. 검량선

도법과 고속액체크로마토그래프법으로 정량한 결과는 표 3과 같다.

표 2. 미크로파시료분해조건

시료량/g	산의 량/mL	단계	온도/°C	유지시간/min	회수율/%
1.0	5	1	80	3	99.99
		2	120	5	
		3	180	4	

표 3. 어린이식료품속의 비타민 B₂의 정량결과($\cdot 10^{-2}$ mg/g)

시료구분	분자형광광도법				고속액체크로마토그래프법			
	회수	비타민 B ₂ 량	표준편차	변동계수/%	회수	비타민 B ₂ 량	표준편차	변동계수/%
애기젓가루	5	0.542	0.013	2.41	5	0.502	0.020	4.02
흰쌀앙가루	5	0.435	0.019	2.73	5	0.446	0.016	3.61
영양앙가루	5	0.481	0.013	2.67	5	0.476	0.019	4.07
콩우유가루	5	0.480	0.012	2.52	5	0.478	0.017	3.50

표 3에서 보는바와 같이 분자형광광도법으로 어린이식료품속의 비타민 B₂을 변동계수 3% 이하로 정량할수 있으며 고속액체크로마토그래프법보다 변동계수가 작다는것을 알수 있다.

맺 는 말

미크로파시료분해－분자형광광도법으로 어린이식료품속의 비타민 B₂을 정량하였다. 염산으로 분해한 시료를 과망간산칼리움과 초산으로 방해성분들을 제거한 다음 러기파장 440nm, 형광파장 540nm에서 형광세기를 측정하면 비타민 B₂을 3%이하의 정밀도로 정량할수 있다.

참 고 문 헌

- [1] C. Zhi et al.; Anal. Chim. Acta, **569**, 169, 2006.
- [2] 王学艳 等; 中国医药工业杂志, **38**, 5, 378, 2007.
- [3] 张志清 等; 食品科学, **31**, 14, 212, 2010.
- [4] 蒋梭树 等; 食品科学, **29**, 12, 635, 2008.

주체106(2017)년 5월 5일 원고접수

Determination of Vitamin B₂ in Infant Food by the Microwave Digestion-Molecular Fluorometry

Choe Son Ae, Kim Tong Il and Rim Pok Nam

We determined the vitamin B₂ in infant food below 3% of coefficient of variation by the microwave digestion-molecular fluorometry.

Key words: vitamin B₂, molecular fluorometry