

HPLC를 이용한 지용성 비타민의 고속 동시 분석

High Speed and Simultaneous Analysis for Fat-Soluble Vitamins

사용자 활용 포인트

- ◆ 지용성 비타민의 동시 분석이 가능하다.
- ◆ 이동상으로 메탄올만 사용함으로써 단순화하여 분석 준비 시간을 줄여준다.
- ◆ 포토다이오드 어레이(PDA) 검출기를 사용하면 단일 분석으로 모든 파장의 크로마토그램을 얻을 수 있다.

■ 서론

비타민은 체내에서 전혀 또는 충분한 양으로 합성할 수 없기 때문에 음식을 통해 섭취해야 하는 영양소이다. 비타민은 크게 수용성 또는 지용성 비타민으로 분류되며, 지용성 비타민으로 비타민 A, D, E, K가 포함된다. 지용성 비타민은 종종 순상 크로마토그래피를 이용하여 분석하며 비타민 유형마다 다른 분석 조건으로 분석한다.

이 뉴스레터에서는 역상 크로마토그래피를 이용하여 비타민 A, D, E를 동시에 분석하는 방법을 소개한다.

■ 표준용액의 분석

비타민 A, D, E 을 테트라하이드로퓨란(THF)에 녹인 후 메탄올과 테트라하이드로퓨란의 혼합용액(97:3)으로 희석하여 준비하였다. 그림 1은 비타민 A, D, E (50 IU, 100 IU, 0.1 mg/mL) 표준용액의 크로마토그램이며, 분석 조건은 표 1에 정리하였다. 분석 컬럼은 C18 컬럼을 사용하였고, 이동상은 메탄올을 사용하였다. PDA 검출기는 통합 HPLC 시스템에 내장된 검출기를 이용하였다. PDA 검출기를 사용하면, 분석 시점에 지정된 파장 범위 내에서 분석 후 모든 파장의 크로마토그램을 얻을 수 있다. 이 뉴스레터에서는 각 성분의 최대 흡수 파장을 검출 파장으로 채택하였고, 이러한 조건에서 시스템 부하 압력은 약 40 MPa 였다.

표 1. 분석 조건

System	LC-2060C 3D
Column	Shim-pack™ GIST-HP C18*1 (150 mm x 3.0 mm I.D., 2 μm)
Flow rate	0.7 mL/min
Mobile phase	Methanol
Flow rate	0.5 mL/min
Column temp.	40 °C
Injection volume	4 μL
Vial	SHIMADZU LabTotal™ for LC 1.5 mL, Glass*2
Detector (PDA)	264 nm (Vitamin D), 280 nm (Vitamin E), 325 nm (Vitamin A)

*1 P/N: 227-30002-05 *2 P/N: 227-34001-01

■ 반복성

표 2는 비타민 A, D, E 표준용액(10 IU, 20 IU, 0.02 mg/mL)을 6회 반복 분석하여 머무름 시간과 피크 면적의 반복성(%RSD)을 나타낸 것이다. 머무름 시간과 피크 면적의 반복성은 모든 성분에 대해 0.7 % 미만이었다.

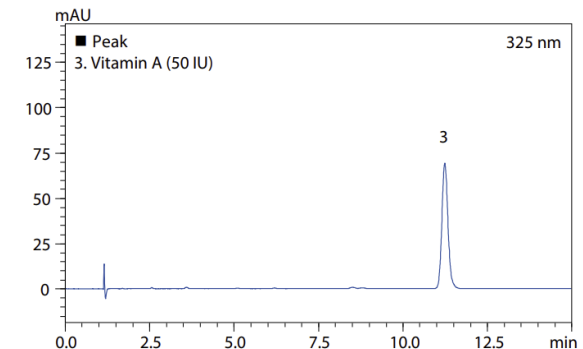
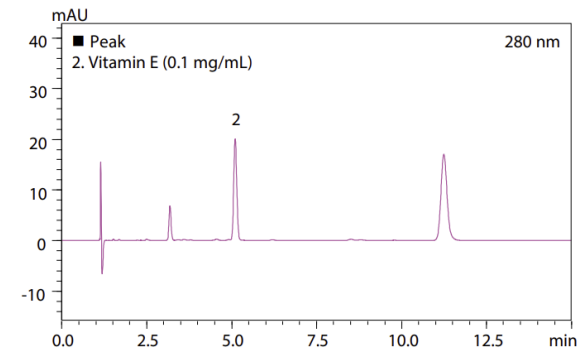
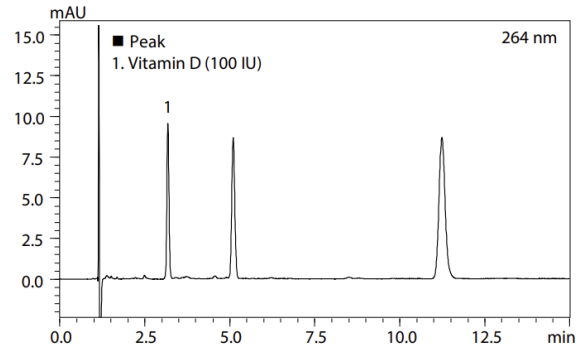


그림 1. 표준용액의 크로마토그램

표 2. 6번 반복 분석의 반복성 결과 (%RSD)

Compound	Retention time	Peak area
Vitamin A	0.02	0.68
Vitamin D	0.04	0.49
Vitamin E	0.03	0.32

■ 검정곡선

지용성 비타민 3 성분에 대한 검정곡선의 결정 계수 (r^2)는 0.9999 이상이었다. 그림 2에 검정곡선을 나타내었으며, 표 3은 검정곡선의 농도 범위와 대상 성분에 대한 결정 계수를 정리하였다.

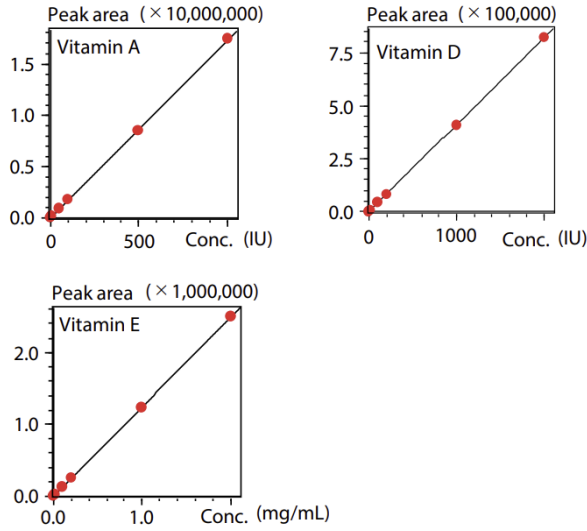


그림 2. 검정곡선

표 3. 검정곡선의 농도 범위 및 결정 계수 (r^2)

Compound	Conc. range	r^2
Vitamin A	1-1000 IU	0.9999
Vitamin D	2-2000 IU	0.9999
Vitamin E	0.002-2 mg/mL	0.9999

■ 비타민이 포함된 시료 분석

시료 0.25 g 을 10 mL 부피플라스크에 넣고, 소량의 테트라하이드로퓨란으로 녹인 후, 메탄올/테트라하이드로퓨란 (97:3) 희석 용액으로 희석하여 10 mL 가 되도록 하였다. HPLC 분석 전에 이 용액을 희석 용액으로 10 배 희석하여 분석하였다.

시료의 크로마토그램을 그림 3에 나타내었으며, 비타민 A, D, E는 시료에서 분리 및 검출되었다.

■ 결론

통합 HPLC 시스템과 간단한 분석 조건으로 지용성 비타민(A, D, E)을 동시에 분석할 수 있다. 통합 HPLC에 내장된 PDA 검출기를 사용하면 각 화합물의 최적 파장에서 피크를 검출할 수 있기 때문에 편리하다. 여러 종류 비타민의 동시 분석은 분석 프로세스의 효율성을 향상시킬 수 있다.

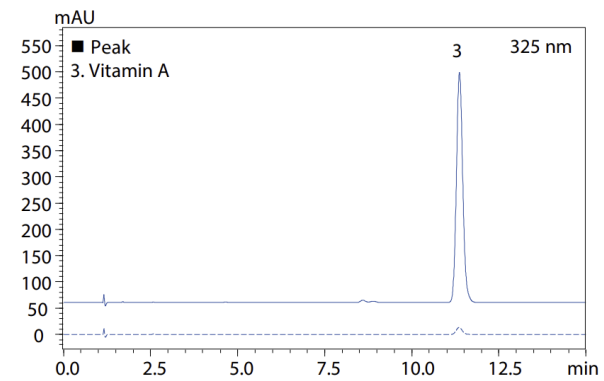
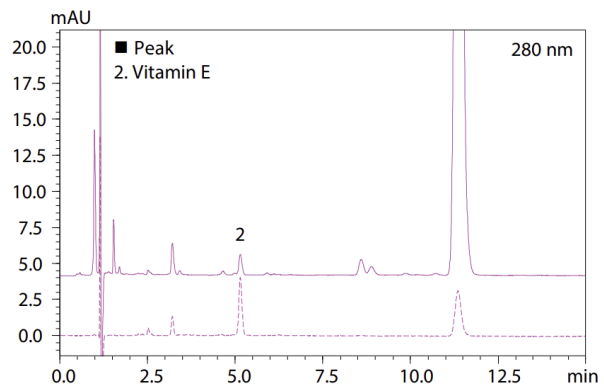
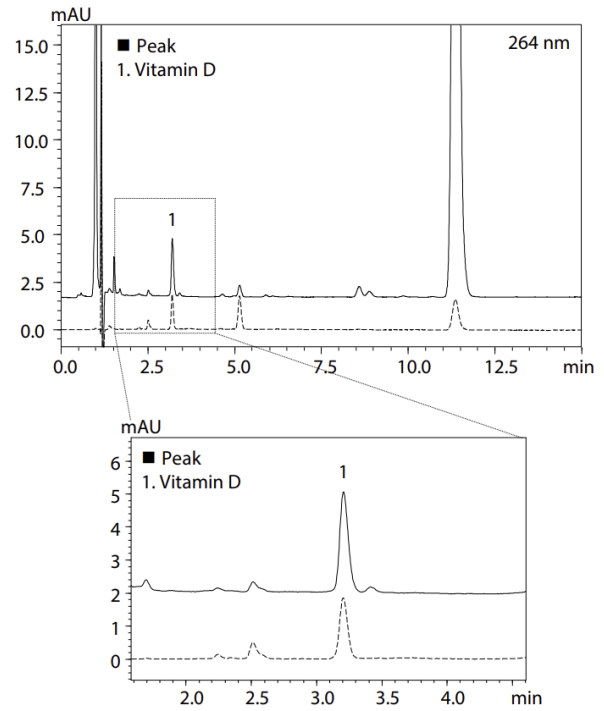


그림 3. 시료의 크로마토그램 (실선: 시료, 점선: 표준용액)

Shim-pack and SHIMADZU LabTotal are trademarks of Shimadzu Corporation or its affiliated companies in Japan and/or other countries.

01-00413-K



Shimadzu Corporation
www.shimadzu.com/an/
 Shimadzu Scientific Korea
www.shimadzu.co.kr

For Research Use Only, Not for use in diagnostic procedures. Not available in the USA, Canada, and China. This publication may contain references to products that are not available in your country. Please contact us to check the availability of these products in your country.

The content of this publication shall not be reproduced, altered or sold for any commercial purpose without the written approval of Shimadzu. Company names, products/service names and logos used in this publication are trademarks and trade names of Shimadzu Corporation, its subsidiaries or its affiliates, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®". Third-party trademarks and trade names may be used in this publication to refer to either the entities or their products/services, whether or not they are used with trademark symbol "TM" or "®". Shimadzu disclaims any proprietary interest in trademarks and trade names other than its own.

The information contained herein is provided to you "as is" without warranty of any kind including without limitation warranties as to its accuracy or completeness. Shimadzu does not assume any responsibility or liability for any damage, whether direct or indirect, relating to the use of this publication. This publication is based upon the information available to Shimadzu on or before the date of publication, and subject to change without notice.

Copyright © 2022 SHIMADZU group. All rights reserved.