

식품의약품안전처 공고 제2021-253호

건강기능식품의 기준 및 규격 일부개정고시(안)

행정예고

2021. 6. 10.

식품의약품안전처

식품의약품안전처 공고 제2021-253호

「건강기능식품의 기준 및 규격」 (식품의약품안전처고시 제2021-25호, 2021.3.25.)을 일부 개정함에 있어 국민에게 미리 알려 의견을 수렴하고자 그 취지, 개정 이유 및 주요 내용을 「행정절차법」 제46조에 따라 다음과 같이 공고합니다.

2021년 6월 10일

식품의약품안전처장

「건강기능식품의 기준 및 규격」 일부개정고시(안) 행정예고

1. 개정 이유

비타민 K의 제조 원료로 비타민 K₂ 추가 및 관련 시험법을 신설하고, 판토텐산 시험법 개정, 카테킨 및 카페인 동시분석법을 신설하고자 함

2. 주요 내용

가. 비타민 K의 원료 추가(안 제 3. 1. 1-5)

- 1) 비타민 K₂를 비타민 K의 원료로 사용할 수 있도록 개정 요구
- 2) 영양성분 중 비타민 K의 원료로 비타민 K₂를 추가하고자 함
- 3) 비타민 K 제조 시 사용할 수 있는 원료 확대

나. 개별성분별 시험법 개정(안 제 4. 3. 3-5, 3-9, 3-79)

- 1) 시료채취량, 분석조건 개선 등 시험법 개정 필요
- 2) 비타민 K₁ 시험법 단일화, 비타민 K₂ 시험법 신설, 판토텐산 시험법 개선, 카테킨 및 카페인 동시분석법을 신설하고자 함
- 3) 시험법 개정으로 효율적이고 정확한 분석 가능

3. 의견 제출

「건강기능식품의 기준 및 규격」 일부개정고시(안)에 대하여 의견이 있는 단체 또는 개인은 2021년 8월 10일까지 다음 사항을 기재한 의견서를 식품의약품안전처장(우편번호 : 28159, 주소 : 충청북도 청주시 흥덕구 오송읍 오송생명2로 187 오송보건의료행정타운 식품의약품안전처, 참조 : 식품기준과, (전화) 043-719-2439, (팩스) 043-719-2400)에게 제출하여 주시기 바랍니다.

가. 예고사항에 대한 항목별 의견(찬·반 여부와 그 이유)

나. 성명(단체의 경우 단체명과 그 대표자의 성명), 주소 및 전화번호

다. 기타 참고사항

식품의약품안전처 고시 제2021- 호

「건강기능식품에 관한 법률」 제14조 및 제15조에 따른 「건강기능식품의 기준 및 규격」(식품의약품안전처 고시 제2021-25호, 2021.3.25.)을 다음과 같이 개정 고시합니다.

2021년 월 일
식품의약품안전처장

건강기능식품의 기준 및 규격 일부개정고시(안)

건강기능식품의 기준 및 규격 일부를 다음과 같이 개정한다.

제 3, 1, 1-5, 1), (1) 중 (나)를 (다)로 하고 (나)를 다음과 같이 신설한다.

(나) 비타민 K₂(Menaquinone-7, MK-7)

제 4, 3, 3-5, 3-5-1 비타민 K₁(제1법)을 삭제한다.

제 4, 3, 3-5, 3-5-2, 1. 중 “역상컬럼”을 “역상칼럼”으로, “포스트컬럼”을 “포스트칼럼”으로 한다.

제 4, 3, 3-5, 3-5-2, 2, “2.1.4 증류플라스크(250 mL)”을 “2.1.4 갈색부피플

라스크(50 mL, 100mL)”로, “2.1.5 분액깔때기(500 mL)”를 “2.1.5 원심분리관”으로, “2.1.6 감압농축기”를 “2.1.6 원심분리기”로, “2.1.7 정제컬럼(1.0 cm ID × 30 cm, 유리컬럼)”을 “2.1.7 질소농축기”로, “2.1.8 시험관(200 × 24 mm ID)”를 “2.1.8 항온수조진탕기”로 각각 한다.

제 4, 3, 3-5, 3-5-2, 2, “2.2.3 컬럼”을 “2.2.3 칼럼”으로 하고, 2.2.3.1 중 “분석컬럼”을 “분석칼럼”으로, “컬럼”을 “칼럼”으로 각각 하며, 2.2.3.2 중 “포스트 컬럼”을 “포스트 칼럼”으로, “컬럼관”을 “칼럼관”으로, “컬럼”을 “칼럼”으로, “※ 포스트 컬럼”을 “※ 포스트 칼럼”으로 각각 한다.

제 4, 3, 3-5, 3-5-2, 5, 5.1, 표 1 중 “컬럼온도”를 “칼럼온도”로 한다.

제 4, 3, 3-5, 3-5-3을 다음과 같이 신설한다.

3-5-3 비타민 K₂(제3법)

1. 시험방법의 요약

본 시험법은 테트라하이드로푸란과 에탄올로 비타민 K₂(menaquinone-7, MK-7)를 추출하여 역상칼럼으로 분리하고 자외부흡광광도검출기를 이용하여 정량하는 방법이다.

2. 장비와 재료

2.1 실험실 장비 및 소모품

2.1.1 부피플라스크(25 mL 및 50 mL)

2.1.2 용매용 일회용 실린지

2.1.3 여과용 멤브레인 필터

2.2 분석장비

2.2.1 고속액체크로마토그래프

2.2.2 자외부흡광도검출기(UV Detector)

2.2.3 칼럼오븐

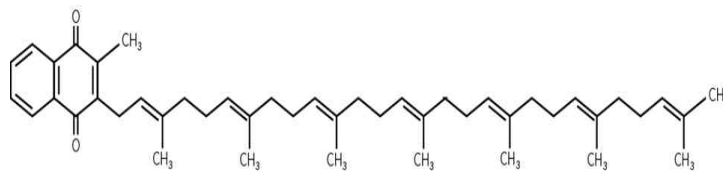
2.2.4 옥타데실실릴화한 칼럼(안지름 4.6 mm, 길이 150 mm, 충전입자 크기 3 μm) 또는 이와 동등한 것

3. 표준물질 및 일반시약

3.1 표준물질

3.1.1 Vitamin K₂ ((all-E) - 2-(3, 7, 11, 15, 19, 23, 27-Heptamethyl-2, 6, 10, 14, 18, 22, 26-octacosaeptaenyl)-3-methyl-1, 4-naphthalenedion, Menaquinone-7(MK-7))

분자식 : C₄₆H₆₄O₂, 분자량 : 649, CAS No. : 2124-57-4



3.2 일반시약

3.2.1 에탄올(Ethanol, HPLC grade)

3.2.2 테트라하이드로퓨란(Tetrahydrofuran)

3.2.3 물(Water, HPLC grade)

4. 시험과정

4.1 표준용액의 조제

4.1.1 비타민 K₂(MK-7) 표준물질 50 mg을 정밀하게 취하여 50 mL 갈색부피플라스크에 넣는다.

4.1.2 테트라하이드로퓨란 1 mL을 첨가하고 에탄올로 50 mL 정용한다.

4.1.3 에탄올로 적당량 희석하여 표준용액으로 사용한다.

4.2 시험용액의 조제

4.2.1 시료 300 mg을 정밀하게 취하여 25 mL 갈색부피플라스크에 넣는다.

4.2.2 테트라하이드로퓨란 1 mL을 첨가하고 에탄올로 25 mL 정용한다.

4.2.3 위 용액을 에탄올을 이용하여 적당량 희석한 후 0.45 μm 멤브레인 필터로 여과한 것을 시험용액으로 한다.

5. 분석 및 계산

5.1 기기분석

표 1. 고속액체크로마토그래프 조건(예)

항목	조건
주입량	10 μ L
검출기 파장	268 nm
칼럼 온도	30 $^{\circ}$ C
이동상	에탄올: 물 (97: 3)
유속	0.6 mL/분

5.2 계산

$$5.2.1 \text{ 비타민 K}_2(\text{MK-7})(\text{mg/g}) = C \times (a \times b) / S \times 1/1,000$$

C : 시험용액 중 비타민 K₂의 농도(μ g/mL)

a : 시험용액의 전량(mL)

b : 희석배수

S : 시료 채취량(g)

1/1,000 : 단위 환산 계수

제 4, 3, 3-9, 3-9-2, 1. 중 “20 mM 인산완충용액”을 “20 mM 인산이수소 칼륨용액”으로, “컬럼”을 “칼럼”으로 각각 한다.

제 4, 3, 3-9, 3-9-2, 2, 2.2.4 중 “충전제 Octadecyl silica”를 “충전입자크기 5 μ m”로 한다.

제 4, 3, 3-9, 3-9-2, 2, 2.3 분석장비의 준비 “이동상인 2개의 용매가 사용

되는데 A용액(20 mM 인산칼륨용액(pH 2.1)), B용액(20 mM 인산칼륨용액 : 아세토니트릴(80 : 20))으로 A : B 용액의 비율을 94 : 6의 비율로 분당 120 μ L씩 충분한 시간동안 흘려 칼럼과 기기를 안정화시킨다.”를 “이동상 A용액(20 mM 인산이수소칼륨용액(pH 2.1):아세토니트릴(99.5 : 0.5, v/v)으로 분당 120 μ L씩 충분한 시간동안 흘려 칼럼과 기기를 안정화시킨다.”로 한다.

제 4, 3, 3-9, 3-9-2, 3, 3.1, 3.1.1 “D-Pantothenic acid(Calcium D-pantothenate; Vitamin B₅)”를 “D-Pantothenic acid(Calcium D-pantothenate; D-pantothenic acid hemicalcium salt; Vitamin B₅)”한다.

제 4, 3, 3-9, 3-9-2, 3, 3.2, 3.2.2 “인산칼륨(Monopotassium phosphate)”를 “인산이수소칼륨(Potassium dihydrogen phosphate)”로 한다.

제 4, 3, 3-9, 3-9-2, 3, 3.2, “3.2.4 아세토니트릴(Acetonitrile)”을 신설한다.

제 4, 3, 3-9, 3-9-2, 4, 4.1 “시약 제조”를 “시약 조제”로 하고, 4.1.1 “인산칼륨용액”을 “인산이수소칼륨용액”으로 하며, 4.1.1 중 “인산칼륨”을 “인산이수소칼륨”으로 각각 한다.

제 4, 3, 3-9, 3-9-2, 4, 4.2 중 “제조”를 “조제”로, 4.3 중 “제조”를 “조제”

로 각각 한다.

제 4, 3, 3-9, 3-9-2, 4, 4.3, 4.3.1 “시료 적당량을 취하여 마쇄기를 이용하여 잘게 부순 후 적당량을 취한다”를 “판토텐산으로서 1~5 mg이 함유되도록 적당량의 시료를 칭량한다”로, 4.3.2 중 “인산칼륨”을 “인산이수소칼륨”으로, 4.3.3 중 “추출 한다”를 “추출한다”로, 4.3.4 중 “인산칼륨”을 “인산이수소칼륨”으로, 4.3.5 중 “3000”을 “3,000”으로 각각 한다.

제 4, 3, 3-9, 3-9-2, 5, 5.1, 표 1을 다음과 같이 한다.

표 1. 고속액체크로마토그래프 조건(예)

항목	조건
주입량	10 μ L
칼럼온도	35 $^{\circ}$ C
이동상	A : 20 mM 인산이수소칼륨용액 : ACN (99.5 : 0.5, v/v) B : 20 mM 인산이수소칼륨용액 : ACN (80 : 20, v/v)
검출기 파장	200 nm
유량	120 μ L/분

제 4, 3, 3-9, 3-9-2, 5, 5.1, 표 2를 다음과 같이 한다.

표 2. 이동상 조건

시간(분)	이동상 (%)	
	A 용액	B 용액
0	100	0
37	100	0
37.1	0	100
47	0	100
47.1	100	0
70	100	0

제 4, 3, 3-9, 3-9-2, 5, 5.2를 다음과 같이 한다.

5.2 계산

5.2.1 판토텐산(mg/g)

$$= C \times (a \times b) / S \times 1/1,000 \times 219.23/238.27$$

C: 시험용액 중 판토텐산의 농도($\mu\text{g/mL}$)

a: 시험용액의 전량(mL)

b: 희석배수

S: 시료 채취량(g)

1/1,000: 단위 환산 계수

219.23 : 판토텐산의 분자량

238.27 : 판토텐산 칼슘의 분자량

제 4. 3. 3-79 카테킨 및 카페인 동시분석법을 다음과 같이 신설한다.

3-79 카테킨 및 카페인 동시분석법

1. 시험방법의 요약

본 시험법은 시료 중 카테킨 및 카페인을 액체크로마토그래프/자외부흡광광도검출기를 이용하여 분석하는 방법으로 최대 흡수파장인 275 nm에서 정량분석 한다.

2. 장비와 재료

2.1 실험실 장비 및 소모품

2.1.1 부피플라스크(10 mL 및 100 mL)

2.1.2 용매용 일회용 실린지

2.1.3 여과용 멤브레인 필터

2.2 분석장비

2.2.1 고속액체크로마토그래프

2.2.2 자외부흡광광도검출기(UV Detector)

2.2.3 칼럼오븐

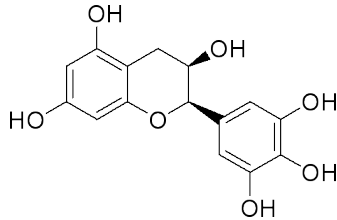
2.2.4 YMC-triart C₁₈(안지름 4.6 mm, 길이 250 mm, 충전입자크기 5 μm) 칼럼 또는 이와 동등한 것

3. 표준물질 및 일반시약

3.1 표준물질

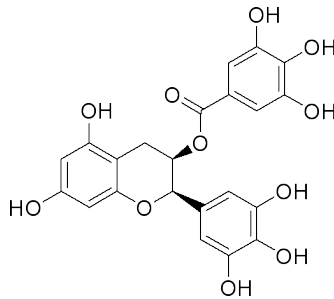
3.1.1 에피갈로카테킨((-)-epigallocatechin, EGC)

분자식 : $C_{15}H_{14}O_7$, 분자량 : 306.27, CAS No. : 970-74-1



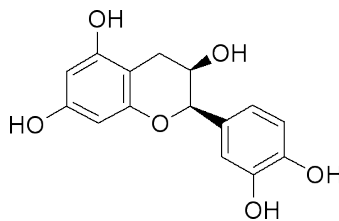
3.1.2 에피갈로카테킨갈레이트((-)-epigallocatechin-gallate, EGCG)

분자식 : $C_{22}H_{18}O_{11}$, 분자량 : 458.37, CAS No. : 989-51-5



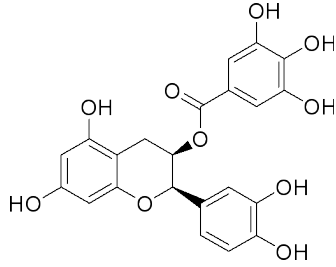
3.1.3 에피카테킨((-)-epicatechin, EC)

분자식 : $C_{15}H_{14}O_6$, 분자량 : 290.27, CAS No. : 490-46-0



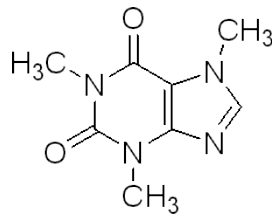
3.1.4 에피카테킨갈레이트((-)-epicatechin-gallate, ECG)

분자식 : $C_{22}H_{18}O_{10}$, 분자량 : 442.37, CAS No. : 1257-08-5



3.1.5 카페인(Caffeine, 1,3,7-trimethyl-1H-purine-2,6(3H,7H)-dione, 1,3,7 -trimethylxanthine, trimethylxanthine, theine, methyltheobromine)

분자식 : $C_8H_{10}N_4O_2$, 분자량 : 194.19, CAS No. : 58-08-2



3.2 일반시약

3.2.1 메탄올(Methanol)

3.2.2 아세토니트릴(Acetonitrile, HPLC grade)

3.2.3 인산(Phosphoric acid)

3.2.4 인산이수소칼륨(Potassium phosphate monobasic)

4. 시험과정

4.1 희석용매 조제

4.1.1 20 mM 인산이수소칼륨 용액 : 인산이수소칼륨 2.7 g을 증류수에 녹이고 전량을 1 L가 되게 한다.

4.1.2 20 mM 인산이수소칼륨 용액 700 mL에 메탄올 약 250 mL를 가한 후 인산으로 pH 2.1이 되도록 조정하고 메탄올을 가하여 1 L가 되게 한다.

4.2 표준용액의 조제

4.2.1 표준물질(EGC, EGCG, EC, ECG)과 카페인을 각각 50 mg씩 50 mL 부피플라스크에 넣는다.

4.2.2 메탄올을 표선까지 채운다.

4.2.3 희석용매로 적당량 희석하여 표준용액으로 사용한다(표준용액은 사용 시 조제한다).

※ 단, 사용칼럼에 따라 표준물질의 용출 순서가 바뀔 수 있으므로, 분석 전에 각각의 표준물질의 머무름시간을 확인하고 표준용액은 사용 시 조제한다.

4.3 시험용액의 조제

4.3.1 에피갈로카테킨(EGC), 에피갈로카테킨갈레이트(EGCG), 에피카테킨(EC) 및 에피카테킨갈레이트(ECG)의 합으로서 5~10 mg이 함유되도록 적당량의 시료를 100 mL 부피플라스크에 달아 희석용매를 가하여 20분간 초음파 추출을 행한다.

4.3.2 실온까지 식힌 후 희석용매로 표선까지 채운 다음, 0.45 μ m 멤브레인필터로 여과한다. 되도록 시험용액은 조제 후 즉시 기기분석한다.

5. 분석 및 계산

5.1 기기분석

표 1. 고속액체크로마토그래프 조건(예)

항목	조건
주입량	10 μ L
검출기 파장	275 nm
칼럼 온도	30 $^{\circ}$ C
이동상 유속	A : 0.1% 인산용액, B : 0.1% 인산을 함유한 아세트니트릴 1.0 mL/분

표 2. 이동상 조건(예)

시간(분)	A용액(%)	B용액(%)
0	90	10
5	90	10
10	87	13
20	85	15
25	70	30
30	70	30
31	90	10
40	90	10

5.2 계산

$$5.2.1 \text{ 카테킨 함량(mg/g)} = \text{EGC(mg/g)} + \text{EGCG(mg/g)} + \text{EC(mg/g)} + \text{ECG(mg/g)}$$

$$\text{개별카테킨(mg/g)} = C \times (a \times b) / S \times 1/1,000$$

C : 시험용액 중 개별카테킨의 농도($\mu\text{g}/\text{mL}$)

a : 시험용액의 전량(mL)

b : 희석배수

S : 시료 채취량(g)

1/1,000 : 단위 환산 계수

$$5.2.2 \text{ 카페인}(\text{mg}/\text{g}) = C \times (a \times b) / S \times 1/1,000$$

C : 시험용액 중 카페인의 농도($\mu\text{g}/\text{mL}$)

a : 시험용액의 전량(mL)

b : 희석배수

S : 시료 채취량(g)

1/1,000 : 단위 환산 계수

부 칙<제2021- 호, 2021. . .>

제1조(시행일) 이 고시는 고시한 날부터 시행한다.

제2조(적용례) 이 고시는 이 고시 시행 이후 최초로 제조·가공 또는 수입 (선적일을 기준으로 한다. 이하 같다)한 건강기능식품(원료를 포함한다. 이하 같다)부터 적용한다.

제3조(경과조치) ① 이 고시 시행 당시 검사가 접수되어 진행 중인 사항에 대하여는 종전의 규정에 따른다.

② 이 고시 시행 당시 종전의 규정에 따라 제조·가공·수입한 건강기능식품은 그 유통기한까지 판매할 수 있다.

신 · 구조문대비표

현 행	개 정 안
제 1. ~ 2. (생 략)	제 1. ~ 2. (현행과 같음)
제 3. 개별 기준 및 규격	제 3. 개별 기준 및 규격
1. (생 략)	1. (현행과 같음)
1-1 ~ 1-4 (생 략)	1-1 ~ 1-4 (현행과 같음)
1-5 비타민 K	1-5 비타민 K
1) (생 략)	1) (현행과 같음)
(1) 원료	(1) (현행과 같음)
(가) 비타민 K ₁ (Phylloquinone, Phytonadione)	(가) (현행과 같음)
<신 설>	(나) <u>비타민 K₂(Menaquinone-7, MK-7)</u>
(나) <u>식품원료를 사용하여 비 타민 K를 보충할 수 있도 록 제조·가공한 것</u>	(다) (현행 (나)와 같음)
3) ~ 4) (생 략)	3) ~ 4) (현행과 같음)
1-6 ~ 1-28 (생 략)	1-6 ~ 1-28 (현행과 같음)
2. (생 략)	2. (현행과 같음)
2-1 ~ 2-68 (생 략)	2-1 ~ 2-68 (현행과 같음)
제 4. 건강기능식품 시험법	제 4. 건강기능식품 시험법
1. ~ 2. (생 략)	1. ~ 2. (현행과 같음)

<p>3. (생 략)</p> <p>3-1 ~ 3-4 (생 략)</p> <p>3-5 비타민 K</p> <p><u>3-5-1 비타민 K₁(제1법)</u></p> <p>3-5-2 비타민 K₁(제2법)</p> <p>1. (생 략)</p> <p>-----</p> <p>-----</p> <p>---<u>역상컬럼</u>-----</p> <p><u>포스트 컬럼</u>-----</p> <p>-----</p>	<p>3. (현행과 같음)</p> <p>3-1 ~ 3-4 (현행과 같음)</p> <p>3-5 비타민 K</p> <p><삭 제></p> <p>3-5-2 비타민 K₁(제2법)</p> <p>1. (현행과 같음)</p> <p>-----</p> <p>-----</p> <p>---<u>역상컬럼</u>-----</p> <p><u>포스트 컬럼</u>-----</p> <p>-----</p>
<p>2. (생 략)</p> <p>2.1 (생 략)</p> <p>2.1.1 ~ 2.1.3 (생 략)</p> <p><u>2.1.4 증류플라스크(250 mL)</u></p> <p><u>2.1.5 분액깔때기(500 mL)</u></p> <p><u>2.1.6 감압농축기</u></p> <p><u>2.1.7 정제컬럼(1.0 cm ID × 30 cm,</u> <u>유리 컬럼)</u></p> <p><u>2.1.8 시험관(200 × 24 mm ID)</u></p>	<p>2. (현행과 같음)</p> <p>2.1 (현행과 같음)</p> <p>2.1.1 ~ 2.1.3 (현행과 같음)</p> <p><u>2.1.4 갈색부피플라스크(50 mL, 100 mL)</u></p> <p><u>2.1.5 원심분리관</u></p> <p><u>2.1.6 원심분리기</u></p> <p><u>2.1.7 질소농축기</u></p> <p><u>2.1.8 항온수조진탕기</u></p>

2.2 (생략)

2.2.1 ~ 2.2.2 (생략)

2.2.3 컬럼

2.2.3.1 분석컬럼 : -----

--컬럼-----

2.2.3.2 포스트 컬럼 : -----

-----컬럼관-----

----컬럼-----

※ 포스트 컬럼-----

2.3 (생략)

-----컬럼-----

3. ~ 4. (생략)

5. (생략)

5.1 (생략)

2.2 (현행과 같음)

2.2.1 ~ 2.2.2 (현행과 같음)

2.2.3 칼럼

2.2.3.1 분석칼럼 : -----

--칼럼-----

2.2.3.2 포스트 칼럼 : -----

-----칼럼관-----

----칼럼-----

※ 포스트 칼럼-----

2.3 (현행과 같음)

-----칼럼-----

3. ~ 4. (현행과 같음)

5. (현행과 같음)

5.1 (현행과 같음)

표 1. 고속액체크로마토그래프 조건(예)

항목	조건
주입량	10 μ L
컬럼온도	30 $^{\circ}$ C
이동상	Methanol : Dichloromethane (900 : 100)에 ZnCl ₂ 1.37 g, CH ₃ COONa 0.41 g, Glacial acetic acid 0.3 g / Methanol 5 mL을 합하여 이동상으로 함
검출기	여기과장 243 nm, 측정과장
과장	430 nm
유량	0.8 mL/분

5.2 (생 략)

<신 설>

표 1. 고속액체크로마토그래프 조건(예)

항목	조건
-----	-----
컬럼온도	-----
-----	-----
-----	-----
-----	-----
-----	-----
-----	-----
-----	-----
-----	-----

5.2 (현행과 같음)

3-5-3 비타민 K₂(제3법)

1. 시험방법의 요약

본 시험법은 테트라하이드로푸란 과 에탄올로 비타민 K₂(menaquinone-7, MK-7)를 추출하여 역상칼럼으로 분리하고 자외흡광광도검출기를 이용하여 정량하는 방법이다.

2. 장비와 재료

2.1 실험실 장비 및 소모품

2.1.1 부피플라스크(25 mL 및

50 mL)

2.1.2 용매용 일회용 실린지

2.1.3 여과용 멤브레인 필터

2.2 분석장비

2.2.1 고속액체크로마토그래프

2.2.2 자외부흡광광도검출기(UV
Detector)

2.2.3 칼럼오븐

2.2.4 옥타데실실릴화한 칼럼(안
지름 4.6 mm, 길이 150
mm, 충전입자크기 3 μm)
또는 이와 동등한 것

3. 표준물질 및 일반시약

3.1 표준물질

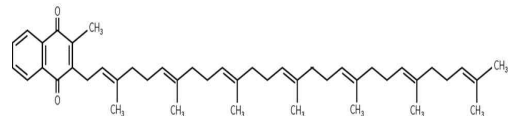
3.1.1 Vitamin K₂ ((all-E) -
2-(3, 7, 11, 15, 19, 23,
27-Heptamethyl-2, 6, 10,
14, 18, 22,
26-octacosahptaenyl)-3 -
m e t h y l -

1,4-naphthalenedion,

Menaquinone-7(MK-7))

분자식 : C₄₆H₆₄O₂, 분자량 :

649, CAS No. : 2124-57-4



3.2 일반시약

3.2.1 에탄올(Ethanol, HPLC grade)

3.2.2 테트라하이드로퓨란(Tetrahydrofuran)

3.2.3 물(Water, HPLC grade)

4. 시험과정

4.1 표준용액의 조제

4.1.1 비타민 K2(MK-7) 표준물

질 50 mg을 정밀하게 취하
여 50 mL 갈색부피플라스크
에 넣는다.

4.1.2 테트라하이드로퓨란 1 mL

을 첨가하고 에탄올로 50
mL 정용한다.

4.1.3 에탄올로 적당량 희석하여
표준용액으로 사용한다.

4.2 시험용액의 조제

4.2.1 시료 300 mg을 정밀하게
취하여 25 mL 갈색부피플라
스크에 넣는다.

4.2.2 테트라하이드로퓨란 1 mL
을 첨가하고 에탄올로 25
mL 정용한다.

4.2.3 위 용액을 에탄올을
이용하여 적당량 희석한
후 0.45 μ m 멤브레인
필터로 여과한 것을
시험용액으로 한다.

5. 분석 및 계산

5.1 기기분석

표 1. 고속액체크로마토그래프 조건(예)

<u>항목</u>	<u>조건</u>
주입량	10 μ L
검출기 파장	268 nm
칼럼 온도	30 $^{\circ}$ C
이동상	에탄올: 물 (97: 3)
유속	0.6 mL/분

3-9-2 (생 략)

1. (생 략)

본 시험법은 시료 중 존재하는 판토텐산을 20 mM 인산완충용액으로 추출하여 옥타데실 실릴화한 컬럼으로 판토텐산을 분리하는 방법으로 자외부흡광광도검출기를 이용하여 판토텐산의 최대 흡수 파장인 200 nm에서 검출하여 정량한다.

5.2 계산

5.2.1 비타민 K₂(MK-7)(mg/g)

$$= C \times (a \times b) / S \times 1 / 1,000$$

C : 시험용액 중 비타민

K₂의 농도(μg/mL)

a : 시험용액의 전량(mL)

b : 희석배수

S : 시료 채취량(g)

1/1,000 : 단위 환산 계수

3-9-2 (현행과 같음)

1. (현행과 같음)

 ---20 mM 인산이수소칼륨용액---
 -----칼럼-----

 -----.

2. (생 략)

2.1 ~ 2.2 (생 략)

2.2.1~2.2.3 (생 략)

2.2.4 옥타데실실릴화한 칼럼

(안지름 1.5 mm, 길이 250

mm, 충전제 Octadecyl

silica) 또는 이와 동등한 것

2.3 (생 략)

이동상인 2개의 용매가 사용

되는데 A용액(20 mM 인산

칼륨용액(pH 2.1)), B용액 (20

mM 인산칼륨용액 : 아세토

니트릴(80 : 20))으로 A : B

용액의 비율을 94 : 6의 비율

로 분당 120 µL씩 충분한

시간동안 흘려 칼럼과 기기를

안정화시킨다.

3. (생 략)

3.1 (생 략)

3.1.1 D-Pantothenic acid(Calcium

2. (현행과 같음)

2.1 ~ 2.2 (현행과 같음)

2.2.1~2.2.3 (현행과 같음)

2.2.4 -----

-----,

충전입자크기 5 µm-----

2.3 (현행과 같음)

이동상 A용액(20 mM

인산이수소칼륨용액(pH 2.1):

아세토니트릴(99.5 : 0.5, v/v)

으로 분당 120 µL씩 충분한

시간동안 흘려 칼럼과 기기를

안정화시킨다.

3. (현행과 같음)

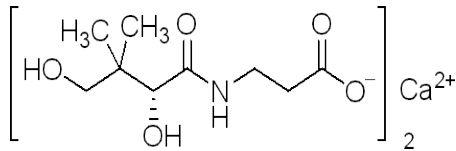
3.1 (현행과 같음)

3.1.1 D-Pantothenic acid(Calcium

D-pantothenate; Vitamin B₅)

분자식: HOCH₂(CH₂)₂CH(OH)CONHCH₂CH₂CO₂1/2Ca

분자량 : 238.27, CAS No. : 137-08-6



3.2 (생 약)

3.2.1 (생 약)

3.2.2 인산칼륨(Monopotassium phosphate)

3.2.3 (생 약)

<신 설>

4. (생 약)

4.1 시약 제조

4.1.1 20 mM 인산칼륨용액

인산칼륨 2.7 g을

증류수에 녹이고 인산으로

pH 2.1로 조절한 후 전량을

1 L가 되게 한다.

D - p a n t o t h e n a t e ;

D-pantothenic acid

hemicalcium salt; Vitamin B₅)

3.2 (현행과 같음)

3.2.1 (현행과 같음)

3.2.2 인산이수소칼륨(Potassium dihydrogen phosphate)

3.2.3 (현행과 같음)

3.2.4 아세토니트릴(Acetonitrile)

4. (현행과 같음)

4.1 시약 조제

4.1.1 -- 인산이수소칼륨용액

인산이수소칼륨-----

4.2 표준용액 제조

4.2.1 ~ 4.2.2 (생 략)

4.3 시험용액 제조

4.3.1 시료 적당량을 취하여
마쇄기를 이용하여 잘게
부순 후 적당량을 취한다.

4.3.2 50 mL 부피플라스크에
넣고 20mM 인산칼륨용액
을 넣는다.

4.3.3 30분 동안 초음파 추출 한다.

4.3.4 20 mM 인산칼륨용액을
넣어 표선까지 맞춘다.

4.3.5 3000 rpm에서 원심분리
를 하여 상등액을 취해 0.45
µm 멤브레인 필터로 여과
한 것을 시험용액으로 한다.

5. (생 략)

5.1 (생 략)

4.2 ----- 조제

4.2.1 ~ 4.2.2 (현행과 같음)

4.3 ----- 조제

4.3.1 판토텐산으로서 1 ~ 5 mg이
함유되도록 적당량의 시료를
칭량한다.

4.3.2 -----
20 mM 인산이수소칼륨-----
-----.

4.3.3 ----- 추출 한다.

4.3.4 20 mM 인산이수소칼륨-----
-----.

4.3.5 3,000 -----
-----.

5. (현행과 같음)

5.1 (현행과 같음)

표 1. 고속액체크로마토그래프 조건(예)

항목	조건
주입량	10 µL
칼럼온도	35°C
이동상	A : 20 mM 인산칼륨용액 B : 20 mM인산칼륨 : ACN (80 : 20)
검출기	200 nm
과장	
유량	120 µL/분

표 2. 이동상 조건

시간(분)	이 동 상 (%)	
	A 용액	B 용액
0	96	4
37	96	4
37.1	0	100
47	0	100
47.1	96	4
60	96	4

5.2 (생 략)

5.2.1 계산식

$$\frac{\text{판토텐산}}{(\text{mg}/100 \text{ g})} = S \times \frac{a \times b}{\text{시료 채취량(g)}} \times \frac{100}{1000}$$

S : 시험용액 중의 판토텐산의 농도(µg/mL)

a : 시험용액의 전량(mL)

b : 시험용액의 희석배수

표 1. 고속액체크로마토그래프 조건(예)

항목	조건
--	-----
--	-----
--	A 20 mM 인산이수소칼륨용액: ACN (95: 05 v/v) B 20 mM 인산이수소칼륨용액: ACN (80: 20 v/v)
--	-----
--	-----

표 2. 이동상 조건

시간(분)	이 동 상 (%)	
	A 용액	B 용액
--	100	0
--	100	0
--	--	--
--	--	--
--	100	0
70	100	0

5.2 (현행과 같음)

5.2.1 판토텐산(mg/g)

$$= \frac{C \times (a \times b)/S \times 1/1,000 \times 219.23/238.27}{}$$

C: 시험용액 중 판토텐산의 농도(µg/mL)

a: 시험용액의 전량(mL)

b: 희석배수

<신 설>

S: 시료 채취량(g)

1/1,000: 단위 환산 계수

219.23 : 판토텐산의 분자량

238.27 : 판토텐산 칼슘의
분자량

3-79 카테킨 및 카페인 동시분석법

1. 시험방법의 요약

본 시험법은 시료 중 카테킨 및
카페인을 액체크로마토그래프/
자외부흡광광도검출기를 이용하여
분석하는 방법으로 최대 흡수파장
인 275 nm에서 정량분석 한다.

2. 장비와 재료

2.1 실험실 장비 및 소모품

2.1.1 부피플라스크(10 mL 및
100 mL)

2.1.2 용매용 일회용 실린지

2.1.3 여과용 멤브레인 필터

2.2 분석장비

2.2.1 고속액체크로마토그래프

2.2.2 자외부흡광광도검출기(UV
Detector)

2.2.3 칼럼오븐

2.2.4 YMC-triart C₁₈(안지름
4.6 mm, 길이 250 mm,
충전입자크기 5 μm) 컬럼
또는 이와 동등한 것

3. 표준물질 및 일반시약

3.1 표준물질

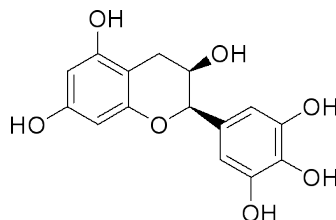
3.1.1 에피갈로카테킨

((-)-epigallocatechin, EGC)

분자식 : C₁₅H₁₄O₇, 분자량

: 306.27, CAS No. :

970-74-1

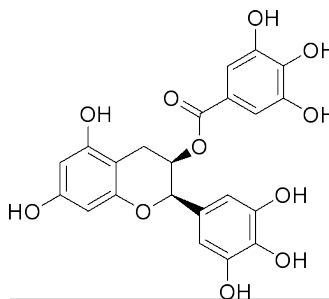


3.1.2 에피갈로카테킨갈레이트

((-)-epigallocatechin

- gallate, EGCG)

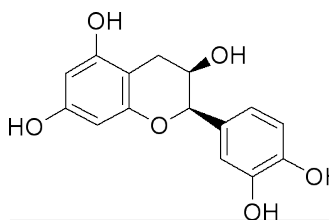
분자식 : C₂₂H₁₈O₁₁, 분자량
: 458.37, CAS No. :
989-51-5



3.1.3 에피카테킨

((-)-epicatechin, EC)

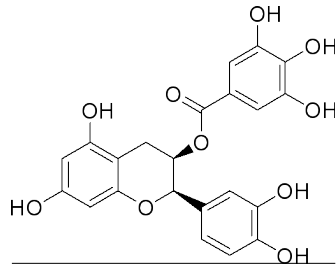
분자식 : C₁₅H₁₄O₆, 분자량
: 290.27, CAS No. :
490-46-0



3.1.4 에피카테킨갈레이트

((-)-epicatechin -gallate, ECG)

분자식 : C₂₂H₁₈O₁₀, 분자량
: 442.37, CAS No. :
1257-08-5

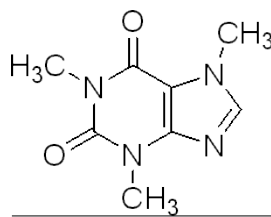


3.1.5 카페인(Caffeine, 1,3,7-trimethyl-1H-purine-2,6(3H,7H)-dione, 1,3,7-trimethylxanthine, trimethylxanthine, theine, methyltheobromine)

분자식 : C₈H₁₀N₄O₂, 분자량

: 194.19, CAS No. :

58-08-2



3.2 일반시약

3.2.1 메탄올(Methanol)

3.2.2 아세토니트릴(Acetonitrile, HPLC grade)

3.2.3 인산(Phosphoric acid)

3.2.4 인산이수소칼륨(Potassium phosphate monobasic)

4. 시험과정

4.1 희석용매 조제

4.1.1 20 mM 인산이수소칼륨 용액 :

인산이수소칼륨 2.7 g을
증류수에 녹이고 전량을 1 L가
되게 한다.

4.1.2 20 mM 인산이수소칼륨

용액 700 mL에 메탄올 약
250 mL를 가한 후
인산으로 pH 2.1이 되도록
조정하고 메탄올을 가하여
1 L가 되게 한다.

4.2 표준용액의 조제

4.2.1 표준물질(EGC, EGCG,
EC, ECG)과 카페인을 각각

50 mg씩 50 mL

부피플라스크에 넣는다.

4.2.2 메탄올을 표선까지

채운다.

4.2.3 희석용매로 적당량 희석하여

표준용액으로 사용한다

(표준용액은 사용 시 조제한다)

※ 단 사용칼럼에 따라

표준물질의 용출 순서가 바뀔 수

있으므로, 분석 전에 각각의

표준물질의 머무름시간을 확인하고

표준용액은 사용 시 조제한다.

4.3 시험용액의 조제

4.3.1 에피갈로카테킨(EGC),

에피갈로카테킨갈레이트(EG

CG), 에피카테킨(EC) 및

에피카테킨갈레이트(ECG)의

합으로서 5~10 mg이 함유되도록

적당량의 시료를 100 mL

부피플라스크에 달아

희석용매를 가하여 20분간

초음파 추출을 행한다.

4.3.2 실온까지 식힌 후 희석용매로

표선까지 채운 다음, 0.45 μm

멤브레인필터로 여과한다.

되도록 시험용액은 조제 후

즉시 기기분석한다.

5. 분석 및 계산

5.1 기기분석

표 1. 고속액체크로마토그래프 조건(예)

<u>항목</u>	<u>조건</u>
<u>주입량</u>	10 μL
<u>검출기 파장</u>	275 nm
<u>칼럼 온도</u>	30℃
<u>이동상</u>	A : 0.1% 인산용액, B : 0.1% 인산을 함유한 아세토니트릴
<u>유속</u>	1.0 mL/분

표 2. 이동상 조건(예)

<u>시간(분)</u>	<u>A용액(%)</u>	<u>B용액(%)</u>
<u>0</u>	<u>90</u>	<u>10</u>
<u>5</u>	<u>90</u>	<u>10</u>
<u>10</u>	<u>87</u>	<u>13</u>
<u>20</u>	<u>85</u>	<u>15</u>
<u>25</u>	<u>70</u>	<u>30</u>
<u>30</u>	<u>70</u>	<u>30</u>
<u>31</u>	<u>90</u>	<u>10</u>
<u>40</u>	<u>90</u>	<u>10</u>

5.2 계산

5.2.1 카테킨 함량(mg/g) =

EGC(mg/g)+EGCG(mg/g)

+EC(mg/g)+ECG(mg/g)

개별카테킨(mg/g) = C ×

(a×b)/S × 1/1,000

C : 시험용액 중 개별

카테킨의 농도(μg/mL)

a : 시험용액의 전량(mL)

b : 희석배수

S : 시료 채취량(g)

1/1,000 : 단위 환산 계수

5.2.2 카페인(mg/g) = C ×

$$\frac{(a \times b)}{S} \times 1/1,000$$

C : 시험용액 중 카페인의
농도($\mu\text{g/mL}$)

a : 시험용액의 전량(mL)

b : 희석배수

S : 시료 채취량(g)

1/1,000 : 단위 환산 계수