

메틸테트라히드로엽산글루코사민

(6S)-5-Methyltetrahydrofolic Acid, Glucosamine Salt

분자식 : $C_{32}H_{51}N_9O_{16}$

분자량 : 817.80

이 명 : 5-MTHF-glucosamine

CAS No.: 1181972-37-1

합 량 이 품목을 정량할 때 글루코사민은 건조물로서 34~46%, (6S)-5-methyltetrahydrofolic acid는 건조물로서 54~59%를 함유한다.

성 상 이 품목은 옅은 황~갈색의 분말이다.

확인시험 이 품목은 적외부흡수스펙트럼측정법 나. (1)브롬화칼륨정 제법에 따라 시험할 때, 표준품과 동일한 스펙트럼을 나타낸다.

순도시험 (1) 비소 : 이 품목을 비소시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 2.6ppm 이하이어야 한다.

(2) 납 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마 발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 2.0ppm 이하이어야 한다.

(3) 수은 : 이 품목을 수은시험법에 따라 시험할 때, 그 양은 0.1ppm 이하이어야 한다.

(4) 카드뮴 : 이 품목 5.0g을 취하여 원자흡광광도법 또는 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험할 때, 그 양은 1.0ppm 이하이어야 한다.

(5) 붕소 : 이 품목 약 2g을 500mL 분해플라스크에 넣고 물 20mL 및 질산 30mL를 가하여 잘 섞은 다음 천천히 가열하여 식히고 황산 10mL를 가하여 다시 가열한다. 필요하면 질산 2~3mL씩을 추가하여 액이 무~옅은 황색이 될 때까지 가열한다. 식힌 다음 물 75mL 및 포

화수산암모늄용액 25mL를 가하여 황산의 흰 연기가 발생할 때까지 가열하고 식힌 다음 물로 50mL로 하여 시험용액으로 한다. 따로, 공시험용액에 대해서도 같은 조작을 하여 시험용액을 보정한다. 붕소 표준용액, 시험용액 및 공시험용액을 사용하여 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 유해성금속시험법 중 유도결합플라즈마발광광도법에 따라 시험하고 검체 중의 붕소의 양을 구할 때, 그 양은 10ppm 이하이어야 한다(다만, 수소화붕소나트륨을 사용하여 환원시킨 경우에 한한다).

(6) (6S)-5-Methyltetrahydrofolic acid : 이 품목 35mg을 정밀히 달아 증류수 90mL를 가하여 잘 흔들어 섞어 녹이고 20℃에서 1분간 초음파 추출한 후 증류수를 가하여 100mL로 한다. 그 중 5mL을 취하여 10mL 용량플라스크에 넣고 이동상을 가하여 10mL로 한 액을 0.45μm 필터로 여과하여 시험용액으로 한다. 따로 25mg의 (6R,S)-5-Methyltetrahydrofolic acid calcium salt를 증류수 90mL를 가하여 잘 흔들어 섞어 녹이고 20℃에서 1분간 초음파 추출한 후 증류수를 가하여 100mL로 한다. 그 중 5mL을 취하여 10mL 용량플라스크에 넣고 이동상을 가하여 10mL로 한 액을 0.45μm 필터로 여과하여 이를 표준용액으로 한다. 시험용액 및 표준용액을 다음의 조작 조건에 따라 액체크로마토그래피를 행하고, 다음 식에 따라 함량을 구할 때 (6S)-5-Methyltetrahydrofolic acid의 함량(%)은 99% 이상이어야 한다.

$$(6S)\text{-}5\text{-Methyltetrahydrofolic acid}(\%) = \frac{(6S)\text{-}5\text{-Methyltetrahydrofolic acid의 피크면적}}{(6S)\text{-}5\text{-Methyltetrahydrofolic acid 및 (6R)\text{-}5\text{-Methyltetrahydrofolic acid 피크면적의 합}} \times 100$$

조작조건

검출기 : 자외부흡수검출기(측정 파장 225nm)

컬 럼 : Chiral HSA(Chromtech, 4.0mm×100mm, 5μm) 또는 이와 동등한 것

칼럼온도 : 30°C

이동상 : 100mM NaH₂PO₄를 10% NaOH를 이용하여 pH 7.0으로 조정한다. 이액 940mL에 2-propanol 60mL을 혼합하여 이동상으로 한다.

유 속 : 0.7mL/min

(7) 세균수 : 이 품목은 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물시험법 중 세균수(일반세균수)에 따라 시험할 때, 1g당 100 이하이어야 한다.

(8) 대장균 : 이 품목은 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물시험법 중 대장균에 따라 시험할 때, 음성(-)이어야 한다.

(9) 진균수 : 이 품목은 「식품의 기준 및 규격」 일반시험법의 미생물시험법 중 진균수(효모 및 사상균수)에 따라 시험할 때, 제품 1g 당 100 이하이어야 한다.

수 분 이 품목의 수분은 수분정량법(칼-피셔법)에 따라 시험할 때,

그 양은 8.0% 이하이어야 한다.

정 량 법 (1) 글루코사민 : 이 품목 0.5g을 정밀히 달아 100mL 용량플라스크에 넣고 아세토니트릴 : 물 혼액(75:25) 50mL를 가하여 잘 흔들어 섞어 녹이고 같은 용매를 사용하여 전량을 100mL로 한다. 이 액을 0.45 μ m 필터로 여과하여 시험용액으로 한다. 따로 D-글루코사민 염산염 0.5g을 아세토니트릴 : 물 혼액(75:25) 50mL를 가하여 잘 흔들어 섞어 녹이고 같은 용매를 사용하여 전량을 100mL로 한다. 이 액을 0.45 μ m 필터로 여과하여 표준용액으로 한다. 시험용액 및 표준용액을 다음의 조작조건에 따라 액체크로마토그래피를 행하고, 다음 식에 따라 함량을 구한다.

$$\text{함량(\%)} = \frac{Ac \times Pstd \times T\% \times 100}{Astd \times Pc \times (100 - m)}$$

Ac : 시험용액의 피크면적

Pstd : 표준품의 중량(mg)

Astd : 표준용액의 피크면적

Pc : 검체의 중량(mg)

T% : 표준물질의 글루코사민 비율(%)

m : 수분함량(%)

조작조건

검출기 : UV 195nm

컬 럼 : Shodex Asahipak NH2P-50 4E(4.6mm \times 250mm, 5 μ m)

또는 이와 동등한 것

칼럼온도 : 35°C

이동상 : A : B = 75 : 25

이동상 : A액 : 아세토니트릴

B액 : 물

유 속 : 1.0mL/min

(2) (6S)-5-Methyltetrahydrofolic acid : 이 품목 70mg을 정밀히 달아 증류수 소량을 가하여 잘 흔들어 섞어 녹이고 전량을 100mL로 한 액을 0.45µm 필터로 여과하여 시험용액으로 한다. 따로 (6S)-5-Methyltetrahydrofolic acid calcium을 (6S)-5-Methyltetrahydrofolic acid로서 40mg에 해당되는 양을 취하여 100mL 용량플라스크에 소량의 증류수를 사용하여 녹이고 전량을 100mL로 한 액을 표준용액으로 한다. 시험용액 및 표준용액을 다음의 조작조건에 따라 액체크로마토그래피를 행하고, 다음 식에 따라 함량을 구한다.

$$\text{함량(\%)} = \frac{\text{Ac} \times \text{Pstd} \times \text{T\%} \times 100}{\text{Astd} \times \text{Pc} \times (100 - m)}$$

Ac : 시험용액의 피크면적

Pstd : 표준품의 중량(mg)

Astd : 표준용액의 피크면적

Pc : 검체의 중량(mg)

T% : 표준물질의 (6S)-5-Methyltetrahydrofolic acid 비율(%)

m : 수분함량(%)

조작조건

검출기 : UV 280nm

컬 럼 : Gemini phenomenex(4.6mm×250mm, 5μm) 또는 이와 동등한 것

칼럼온도 : 25°C

이동상 : A액 : KH_2PO_4 6.8g을 달아 증류수 350mL에 녹이고 20% KOH를 이용하여 pH 6.5으로 조정하여 증류수로 1000 mL로 한다.

B액 : KH_2PO_4 4.08g을 달아 증류수 650mL에 녹이고, 아세토니트릴 350mL를 혼합한다. 20% KOH를 이용하여 pH 8.0으로 조정한다.

시간(분)	A액(%)	B액(%)
0	100	0
15	60	40
17	30	70
22	30	70
31	100	0

유 속 : 1.0mL/min