

魚肉中の riboflavin 含量의 測定

宋 永玉·趙得文*·卞在亨

釜山水産大學 食品營養學科, *東萊女子專門大學 食品營養科
(1987년 3월 24일 수리)

Determination of Riboflavin Content in Fishes

Yeong-Ok SONG, Deuk-Moon CHO*, and Jae-Hyeung PYEUN

Department of Nutrition and Food Science, National Fisheries University of Pusan
Pusan, 608 Korea

*Department of Food and Nutrition, Tong-Nae Womens Junior College
Pusan, 607-04 Korea

(Received March 24, 1987)

A slightly modified method of Rashid and Potts(1980) to determine riboflavin in milk in which lead acetate was used as a precipitant was employed in the present study to test applicability to determine that of fish as well.

The lead acetate method was found to be sensitive, simple, inexpensive and rapid compared to the modified A. O. A. C. method by Gordon *et al.*(1979). But higher riboflavin values were obtained in this study than those reported so far.

The riboflavin contents of 9 white fleshed fishes were in the range of 0.29~0.48 mg per 100 g fresh sample.

Linear regression equation $Y=129.70X+0.71$ ($R=0.9993$) was obtained for the calculation of riboflavin content in the white fleshed fish. Where Y is the concentration of riboflavin in the final solution to be checked its OD at fluorometer and X is the dial reading of fluorometer.

The stability of riboflavin as the freshness changes during icing storage(at 0°C) was studied with file fish. During the initial stage of storage, the riboflavin content was found to be increased by 14%, but the difference was not statistically significant ($p>0.05$).

K-value and VBN-value were increased along with storage time, but proximate composition was not changed significantly during entire storage of 18 days.

緒 論

Riboflavin의 定量方法에는 微生物에 의하는 方法, 動物實驗에 의하는 方法, 比色 分析法, polarograph 法, 螢光比色法, 그리고 高速液體크로마토그래프法 등이 報告되어 있다. 이들 分析方法 중 螢光比色法은 그 方法의 特異性 및 다른 實驗方法에 비해 阻害 要素가 적고 簡便, 迅速한 點 등의 長點으로 가장 効率的인 方法인 것으로 알려지고 있다(Rashid and potts, 1980).

AOAC 法은 현재까지 螢光比色法の 대표적인 方法

으로 가장 널리 採用되고 있는 方法이나 몇 가지 問題點이 指摘되고 있다. 즉, riboflavin 抽出中の 鹽酸 加水分解過程은 組織 中에 結合되어 있는 flavin mononucleotide (FMN) 나 flavin adenin dinucleotide (FAD) 를 完全히 分離시켜 遊離의 riboflavin 으로 전환시켜주지 못하는 것 같다는 Gordon 등(1979)의 報告가 있으며, 螢光妨害物質의 除去過程에 사용되는 過망간酸칼륨과 過酸化水素는 riboflavin을 파괴 시킨다는 報告가 있다(Woodrow 등, 1969; Rashid와 Potts, 1980).

Rashid 와 Potts (1980)는 牛乳中の riboflavin 含量을 迅速·正確하게 測定하기 위해 酢酸鉛을 加하여

蛋白質을除去한 다음, 螢光光度計로써 分析 測定하는 方法을 推薦하였다.

本 實驗에서는 이 方法이 魚肉中の riboflavin 測定에도 適用될 수 있는지의 興否를 檢討하기 위하여 試圖하였으며, 鮮度變化에 따른 影響도 併行하여 分析 比較하였다.

材料 및 方法

1. 材 料

本 實驗에 使用한 試料魚는 1984年 10月 23日부터 1984年 12月 14日 사이에 釜山市 民樂洞 魚市場 및 南川洞 魚市場에서 살아있는 狀態로 購入하였다(Table 1).

魚種別 各 試料는 크기에 따라 2~6 마리씩 選定하여 即殺한 다음, 背部普通肉을 切取하고 部位別로 成分組成에 差異가 없도록 混合하여 막자사발로써 均質하게 磨碎하여 分析用試料로 하였다.

鮮度變化段階에 따른 riboflavin의 含量變化에 관한 實驗은 말귀치(*Novodon modestus*)를 크기에 따라 大(體長, 23~26 cm; 體重, 212~280 g), 中(體長, 20~22 cm; 體重, 140~197 g), 小(體長, 15~18 cm; 體重, 85~131 g)로 區分하여 背部普通肉을 切取하고, 各 體位別 成分組成이 一定하도록 注意깊게 配分한 各 群을 2重 비닐包裝하였다.

包裝된 試料는 0°C로 調整한 氷水에 浸漬하여 두고 日程間隔別로 取하여 잘 磨碎한 後에 一般成分組成, 化學的 鮮度指標 및 鮮度變化段階別 riboflavin의 分析用 試料로 하였다.

2. 實驗方法

1) 一般成分: 水分, 粗蛋白質, 粗脂肪 및 灰分은

常法에 따라 定量하였다.

2) 鮮度變化: 揮發性鹽基窒素는 微量擴散法(日本 厚生省, 1960)으로, K-값은 Kobayashi와 Uchiyama (1970)의 方法으로 各各 測定하였다.

3) 酢酸鉛法(Lead acetate method): Rashid와 Potts (1980)의 方法에 따라 測定하였다. 곧, 磨碎한 肉 1g을 取하여 20 ml의 蒸溜水를 加하고, Ultra Turrax型 組織磨碎器(Janke & Kunkel & Co, KGIKA-Werk, TP18/10 S7)를 使用하여 1分間 均質化하였다. 이어 90% 에틸알코올 4 ml를 加하여 잘 섞은 다음, 2 ml의 酸化된 10% 酢酸鉛(pH 3.4)을 加하고 遠心分離(10,000×g, 15分)하였다.

그리고 遠心分離된 上層液을 取하여 一次 filter No 110-812(No 405), 二次 filter No 110-817 (No 8)을 써서 螢光比色計(filter fluorometer, Turner製, Model 111)로써 試料液의 螢光度를 測定하고 別途로 測定 作製(2(4) 參照)한 檢量曲線에 對照하여 riboflavin의 濃度を 求하였다.

4) 檢量曲線의 作成: 試料中の riboflavin의 含量을 求하기 위한 檢量曲線은 다음의 方法에 따라 濃度別標準 riboflavin (E. Merck製)으로 測定 作成하였다. 곧, 0.1~1 μg/ml 濃度の 標準 riboflavin 溶液 1 ml에 魚肉 磨碎試料 1g을 加하고 蒸溜水로써 20 ml로 定容한 다음, Ultra Turrax型 組織磨碎器로써 均質化하였다. 그리고 均質화된 試料의 螢光強度의 測定은 前述 酢酸鉛法에 따랐다.

測定된 標準 riboflavin의 各 濃度別 螢光強度는 魚肉試料에 대하여 測定한 螢光強度를 何 값을 標準 riboflavin에 의한 螢光強度로 하였다.

5) 酢酸鉛法과 改良 AOAC法에 의한 測定值의 相關關係: 酢酸鉛法에 의하여 測定作成된 檢量曲線은 그 信賴度를 檢討하기 위하여 改良 AOAC法(Gordon等, 1979)으로 測定한 標準 riboflavin 濃度 螢

Table 1. Illustration of samples used

Specimen		Body length (cm)	Body weight (g)	Date obtained
Rainbow fish	<i>Halichoeres poecilopterus</i>	21-23	96-155	Nov., 9. '84
Sand flounder	<i>Limanda punctatissima</i>	20-23	142-187	Oct., 23. '84
Blue eye perch	<i>Priacanthus macracanthus</i>	18-22	89-141	Nov., 8. '84
White ray	<i>Urolophus aurantiacus</i>	24-30	196-250	Nov., 14. '84
File fish	<i>Novodon modestus</i>	15-26	85-280	Dec., 12. '84
Rungh scad	<i>Trachurus japonicus</i>	16-19	34-50	Nov., 8. '84
Rudder fish	<i>Girella punctata</i>	20-25	121-255	Nov., 9. '84
Sea eel	<i>Astroconger myriaster</i>	37-45	326-410	Nov., 10. '84
Rock trout	<i>Agrammus agrammus</i>	19-22	91-126	Nov., 10. '84

光強度 關係 그래프를 作圖하여 各 相關關係式으로 比較 檢討하였다.

結果 및 考察

1. 酢酸鉛法에 의한 riboflavin 濃도와 螢光強度와의 關係式

riboflavin 標準溶液을 濃度別로 試料溶液에 첨가하여 酢酸鉛法과 改良 AOAC法으로 分析한 結果는 Fig. 1에서와 같이 直線式이었다. 이들 直線方程式은 酢酸鉛法으로 分析하였을 때 鰻가자미가 $y = 142.65x + 0.46 (R = 0.997)$, 흰가오리가 $y = 139.75x - 0.62 (R = 0.995)$, 그리고 쥐치가 $y = 136.23x - 0.55 (R = 0.998)$ 이며, 개량 AOAC法으로 分析하였을 때는 각각 $y = 5153x - 0.10 (R = 0.995)$, $y = 52.62x + 0.21 (R = 0.998)$ 및 $y = 39.60x + 0.04 (R = 0.999)$ 였다.

酢酸鉛法에 의하여 求해진 魚肉의 檢量曲線과 試料中の riboflavin 濃도에 따른 螢光強度值가 일정한 比率로 나타난 結果(Fig. 1)로 미루어 이 두방법이 함께 魚肉中에 含有되어 있는 riboflavin의 測定에 適用될 뿐 아니라 특히 前記의 方法이 後記의 것보다 높은 값을 보였다. 그러므로 魚肉中の riboflavin 含量測定은 實驗方法上 酢酸鉛法이 개량 AOAC法보다 精밀도가 높다고 생각된다.

이상의 結果로 미루어 酢酸鉛法이 개량 AOAC法보다 感도가 높고 實驗方法이 간단하여 실험중 야기될 수 있는 誤差와 時間을 줄일 수 있었으므로 이후의 實驗은 酢酸鉛法으로 行하였다.

2. 白色肉魚類 肉中の riboflavin 含量과 螢光強度에 따른 回歸方程式

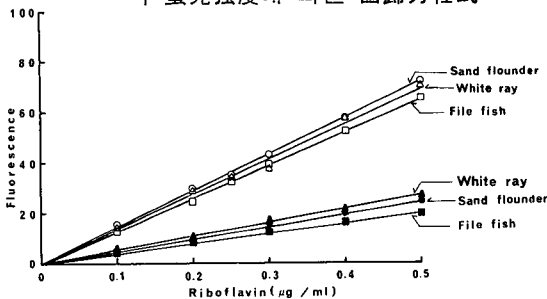


Fig. 1. Comparison of two chemical methods for determination of riboflavin contents in fishes.

○, △, □; by lead acetate method.
●, ▲, ■; by modified AOAC method.

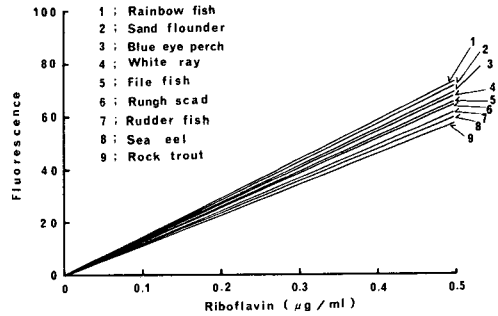


Fig. 2. Linearity of responses for determination of riboflavin content in the ordinary muscle of various kinds of fish.

白色肉魚類의 riboflavin 定量에서 檢量曲線으로 使用할 수 있는 直線回歸方程式을 求하기 위하여 魚種에 따라 9種을 分析하고 檢量曲線을 求하여 Fig. 2에 나타내었다. 이들 곡선은 $y = 108.40x + 4.19$ 에서 $y = 143.84x - 0.15$ 사이에 分布하며 相關계수는 0.987에서 0.997사이에 있었다.

Fig. 3에 제시된 直線回歸方程式 $y = 129.70x - 0.71$ 은 riboflavin 濃度別에 따른 9魚種의 螢光強度測定值를 平均한 중간값들로부터 기울기, 절편, 相關계수와 標準偏差를 각각 求하였다. 또 相關계수는 0.9993으로 相關성이 높았다.

魚肉中の riboflavin 含量을 各 魚種別 檢量曲線에 準하여 計算한 값과 Fig. 3에서 제시한 式에 의하여 算出된 값을 比較하여 Table 2에 나타내었는바, 直

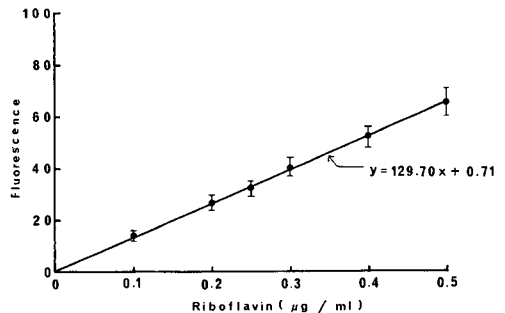


Fig. 3. Linear regression equation obtained from 9 standard curves shown in Fig. 2.

Regression equation was found to be $y = 129.70x + 0.71$, where x is the concentration of riboflavin and y is the intensity of fluorescence.

Correlation coefficient was found to be $R = 0.9993$.

Table 2. Comparison of the riboflavin contents in ordinary muscle of fishes calculated by the standard curve and the linear regression equation

Fishes	Riboflavin contents (mg/100 g wet sample)	
	Standard curve	Regression equation
Rainbow fish	0.32	0.33±0.04
Sand flounder	0.33	0.35±0.06
Blue eye perch	0.41	0.44±0.05
White ray	0.36	0.36±0.05
File fish	0.44	0.44±0.05
Rungh scad	0.48	0.49±0.06
Rudder fish	0.41	0.45±0.05
Sea eel	0.29	0.24±0.03
Rock trout	0.31	0.33±0.04

線回歸方程式 $y = 129.70x + 0.71$ 을 白色肉魚類의 riboflavin 測定에 使用할 수 있다고 생각된다. 그리고 魚肉中의 riboflavin 含量的 試料 100 g 당 0.29~0.48 mg 정도로 分布하는 것은 현재까지 報告된 값 (森 等; 1956, 香川; 1978, Gordon 等; 1979, 농촌진흥청·농촌영양개선연구원; 1981) 보다도 다소 높은 경향이였다. 이러한 경향은 牛肉과 粉乳로 檢定하여도 同一하게 나타났다.

이는 Rashid 와 Potts(1980)가 報告한 것과 유사한 결과로 牛乳중의 riboflavin 含量을 酢酸鉛法으로 測定하였을 때 AOAC 法에 의한 測定値보다 다소 높았다고 報告하였고, 그 이유로는 AOAC 法중 不純物除去過程에 使用된 $KMnO_4$ 와 H_2O_2 에 의하여 試料中의 riboflavin 이 다소 파괴되었기 때문으로 추측하였다. 또한 Woodrow 등(1969)은 riboflavin 標準溶液에 $KMnO_4$ 와 H_2O_2 를 加하여 實驗한 結果, 約 15%의 螢光強度가 감소되었다고 報告하였다. 따라서 本實驗에서 얻어진 結果는 다음 몇가지 이유로 추측할 수 있겠다. 첫째, 試料中의 riboflavin 抽出過程에서

Ultra Turrax 를 使用하여 60 초간 均質化시킴으로써 魚肉組織을 파괴하여 조직중에 結合되어 있는 FMN 이나 FAD 등이 완전히 分離되어 유리형의 riboflavin 으로 전환된 것으로 추측된다. 즉 Leichter 등(1979)은 채소류에서 葉산을 抽出할 때 Brinkman Polytron 을 使用하여 10~15초간 均質化하여 細胞組織을 완전히 파괴시켜 葉산의 추출을 도울 수 있었다고 하였으며, Gordon 등(1979)은 riboflavin 標準物質을 魚貝類에 첨가하여 그 회수율을 검토한 結果, 鹽酸加水分解法으로 riboflavin 을 抽出하였을 때 組織中의 FMN 이나 FAD 가 완전 유리형의 riboflavin 으로 전환되지 않은 것 같다고 지적하였다. 둘째, 酢酸鉛을 使用하여 螢光妨害物質을 沈澱시키고 濾過하여 除去함으로써 $KMnO_4$ 나 H_2O_2 등에 의하여 riboflavin 이 파괴될 수 있는 要因을 줄였다. 셋째, 魚類의 個體差異, 漁獲時期 및 漁獲場所 등에 다른 차이로 추측되어진다 (東 等, 1959).

3. 氷藏中の 鮮度變化和 riboflavin 含量的 變化

氷藏中 말쥐치의 鮮度變化和 一般成分에 대한 分析結果는 Table 3 과 같다. 一般成分은 18 일간의 氷藏中 거의 變化가 없었으며, K 값과 揮發性鹽基窒素 값은 氷藏期間의 經過에 따라 增加하였고 특히 揮發性鹽基窒素 값은 氷藏 15 日頃에 腐敗初期에 到達하였다.

Fig. 4 에서는 말쥐치肉 氷藏中の 鮮度變화에 따른 riboflavin 의 含量變화를 나타내었다. riboflavin 含量은 生試料에 비해 氷藏 3 日일때 約 14% 增加하였으나 T test 로 統計處理하였을 때의 유의차는 무시할 정도였고($p > 0.05$), 氷藏 18 日間의 含量變化는 거의 없었다.

Gordon 等(1979)은 21種의 魚貝類를 6 개월간 0°C

Table 3. The changes of the chemical indices of freshness and proximate composition of file fish during storage at 0°C

Storage time (days)	0	3	6	9	12	15	18
Chemical indices of freshness:							
K-Value (%)	6.41	19.18	28.26	34.87	50.56	68.12	77.25
TVB-N (mg/100 g)	7.50	12.68	16.38	18.25	20.21	27.17	42.15
Proximate composition (%):							
Moisture	78.26	78.73	78.36	77.88	77.90	78.80	78.39
Crude Protein	17.99	18.48	18.60	18.61	18.89	18.48	18.79
Crude Fat	1.36	1.03	0.85	1.03	1.06	1.06	1.04
Ash	1.54	1.61	1.64	1.51	1.51	1.52	1.54

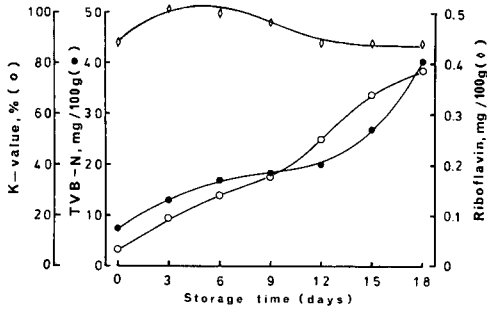


Fig. 4. Stability of riboflavin respected to the change of freshness in file fish during storage at 0°C.

에서 氷藏하여 thiamin, riboflavin, niacin 등의 비타민 B群은 測定한 結果, 生試料에와 含量差異가 거의 없었음을 報告하면서 이들 비타민 B群은 低溫貯藏中에는 安定하다고 하였다. 그런데 凍結貯藏中에는 비타민이 대체로 安定하지만, 凍結·解凍은 반복하는 變遷條件에서는 비타민의 파괴가 급격하게 일어난다고 하였다(Cain, 1937).

要 約

酢酸鉛法이 魚肉中の riboflavin 含量測定에 適用可能한지를 檢討하기 위하여 riboflavin 含量과 螢光強度의 相關性을 檢量曲線으로 比較檢討하였으며, 그 回歸式을 구하였다.

1. 酢酸鉛法은 개량 AOAC 法에 비하여 精確도가 높고 實驗方法이 간단 신속하므로 실험상의 誤差를 줄일수 있어 魚肉中の riboflavin 含量測定에 適用할수 있는 方法인 것으로 判斷된다.

2. 白色肉魚類의 riboflavin 含量을 酢酸鉛法으로 測定하였을 때 riboflavin 含量과 螢光強度와의 상관식은 $y=129.70x+0.71$ 이었다.

3. 9種의 白色肉魚類의 riboflavin 含量은 生試料 100g 中 0.29~0.48 mg 이었다.

4. 말퀴치肉을 18日間 氷藏한 結果, riboflavin 의 含量變化는 微微하였다.

文 獻

1. Birnbaum, N.R., J.R. Hicks, M.H. Tabacchi, and P.E. Brecht. 1981. Evaluation of evacuated packages as an alteranative to blanching

for frozen spinach. J. Food Sci., 44, 404-406.
 2. Cain, R.F. 1937. Water-soluble vitamins. Changes during processing and storage of fruit and vegetables. Food Techology 21, 60-69.
 3. Chen, T.S. and S. Saad. 1981. Folic acid in Egyptian vegetables. The effect of drying method and storage on the folacin content of mulukhiyah (*Corchorus olitorius*). Ecology of food and Nitrition 10, 249-255.
 4. Gordon, D.T., G.L. Roberts and D.M. Heintz. 1979. Thiamin, Riboflavin, and Niacin content and stability in Pacific coast seafoods. J. Agric. Food Chem. 27, 483-490.
 5. 東 秀雄·村山 繁雄·築瀨 正明·田部井 菊子. 1959. 魚貝類の葉酸含量. 日水誌 24(9), 776-780.
 6. 日本厚生省. 1960. 食品衛生檢査指針 I. pp. 30-32, 東京, 日本.
 7. Kahn, L.N. and G.E. Livingston. 1970. Effect of heating methods on thiaminc reaction in fresh or frozen prepared foods. J. Food Sci., 35, 349-351.
 8. Kobayashi, H. and H. Uchiyama. 1970. Simple and rapid method for estimating the freshness of fish. Bull. Tokai Reg. Res. Lab. 6(1), 21-26.
 9. 香川 綾. 1978. 食品成分表. pp.22-54, 東京, 日本.
 10. Leichter, J., A.F. Landymore and C.L. Krumdieck. 1979. Folate conjugase activity in fresh vegetables and its effect on the determination of free folate content. The American J. of Clinical Nutrition 32, 92-95.
 11. 森高 次郎·橋本 芳郎·小俣 靖. 1955. 魚肉のビタミンB群含量. 日水誌 21(21), 1233-1240.
 12. 농촌진흥청·농촌영양개선연수원. 1981. 식품분 석표. pp.42-63.
 13. Rashid, I, and D. Potts. 198. Riboflavin Determination in Milk. J. Food Sci. 45, 744-745.
 14. Woodrow, I.L., K.M. Torrie and G.A. Henderson. 1969. A rapid method for the determination of riboflavin in dried milk products. Inst. Can. Technol. Aliment. 2(3), 120-123.