ISSN(Print) : 1738-7248, ISSN(Online) : 2287-7428
Korean J. Food Preserv.
24(7), 983-991 (2017)
https://doi.org/10.11002/kjfp.2017.24.7.983

사단법인 한국식품저장유통학회
The Korean Society of Food Preservation

Analysis of vitamin B_{12} in fresh cuts of Korean pork for update of national standard food composition table

Geum-Ju Mun[1], Wonju Song[1], Sun-Hye Park[1], Beom-Gyun Jeong[1], Gil-Rak Jung[1,2], Kap Seong Choi[1], Jin-Hyoung Kim[3], Youngmin Choi[4], Jiyeon Chun[1]*

[1]*Department of Food Science and Technology, Sunchon National University, Sunchon 57922, Korea*
[2]*Agricultural Technology Center, Tongyeong 53021, Korea*
[3]*Animal Products Utilization Division, National Institute of Animal Science, RDA, Wanju 54875, Korea*
[4]*Functional Food and Nutrition Division, National Institute of Agricultural Science, RDA, Wanju 54875, Korea*

국가표준식품성분표 개정을 위한 국내산 돈육의 부위별 비타민 B_{12} 함량 분석

문금주[1] · 송원주[1] · 박선혜[1] · 정범균[1] · 정길락[1,2] · 최갑성[1] · 김진형[3] · 최용민[4] · 천지연[1]*

[1]순천대학교 식품공학과, [2]통영 농업기술센터 농업기술과,
[3]농촌진흥청 국립농업과학원 기능성식품과, [4]농촌진흥청 국립축산과학원 축산물이용과

Abstract

This study was performed to update the National Standard Food Composition Table (NSFCT) published by Korea Rural Development Administration, especially focusing on vitamin B_{12} for Korean pork. Total 7 primal and 22 retail fresh cuts of Korean pork were analyzed for vitamin B_{12} and the applied immunoaffinity-HPLC was validated. Vitamin B_{12} assay by immunoaffinity-HPLC obtained recoveries over 95% and coefficient variations of precision below about 10%, which met the limits required for validation acceptance. Limits of detection and quantification of immunoaffinity-HPLC were 0.01 and 0.03 μg/100 g, respectively. Quality control chart showed that analysis performance was excellent during the entire of study. Vitamin B_{12} contents of pork cuts significantly varied depending the types of primal and its retail cuts ($p<0.05$). Belly, Boston butt, rib cuts showed relatively high vitamin B_{12} contents compared to other primal cuts. Vitamin B_{12} content of pork retail cuts were also significantly different within the same primal cuts ($p<0.05$). Among 22 retail cuts, the highest vitamin B_{12} was observed in *Tosisal* in belly primal part (0.98 μg/100 g) while both *Aldeungsimsal* in loin and *Hongdukkaesal* in hide leg were the lowest by 0.33 μg/100 g. This study provides reliable vitamin B_{12} data for the Korean pork fresh cuts through standard sampling, method validation and analytical quality control, which would be used for update of Korean NSFCT.

Key words : vitamin B_{12}, Korean pork, method validation, food composition table

서 론

Vitamin B_{12}는 코발라민(cobalamin)이라고 불리며 수용성 vitamin 중 가장 복잡한 구조를 가지고 있다. 코발라민류는 네 개의 pyrrole ring이 환 구조를 이루고 있는 corrin ring 구조를 이루고 있으며 ring 중심에 코발트(Co)와 연결되어 있는 구조를 가지고 있다. 코발트는 각 pyroll ring의 N 잔기와 5, 6-dimethyl-benzimidazole와 연결되어 있으며, 남은 하나의 잔기에 결합되어 있는 화학구조물에 따라 cyanocobalamin, hydroxyl cobalamin, methyl cobalamin, 그리고 5-deoxyademosyl cobalamin 형태로 존재한다. 이 중 5-deoxyademosyl cobalamin, hydroxyl-cobalamin, methyl-cobalamin은 자연 식품에 존재하지만, cyanocobalamin은 합성된 형태로 안정성이 높아 vitamin B_{12} 강화식품 등에

*Corresponding author. E-mail : cjyfall@sunchon.ac.kr
Phone : 82-61-750-3258, Fax : 82-62-750-3258
Received 17 November 2017; Revised 20 November 2017; Accepted 20 November 2017.
Copyright ⓒ The Korean Society of Food Preservation. All rights reserved.

존재하는 것으로 알려져 있다(1). Vitamin B_{12}의 일일 섭취 필요량은 2.4 μg/day로 매우 소량이지만, vitamin B_{12}는 인체 내에서 여러 세포의 DNA합성과 조절에 관여하는 중요한 인자로, 결핍 시 거대아구성 빈혈과 신경계 이상, 위염, 위궤양 등 위장계통의 이상 증상을 초래하는 것으로 알려져 있다(2,3). 또한, 최근 낙상, 이동성 제한, 우울증, 사망률 증가 및 이환율과 관련이 있는 sarcopenia와 dynapenia가 vitamin B_{12} 결핍과 관계가 있다는 연구가 보고되어 식이를 통한 vitamin B_{12}섭취의 중요성이 부각되고 있다(4). Vitamin B_{12}는 식품을 통해 섭취된 후 위에서 단백질과 분리되어 위에 존재하는 내인자(intrinsic factor)와 결합하여 복합체를 형성한 다음 회장에서 흡수된다(5). 따라서, 위산분비가 적어지는 노인이나 위장 절제 수술 후의 환자들에게 vitamin B_{12} 결핍이 빈번히 발생하는 것으로 보고되어 있으며, vitamin B_{12}가 주로 동물성 식품에 존재하기 때문에 동물성 식품 섭취를 제한하는 식이나 채식을 하는 사람들에게도 이러한 vitamin B_{12} 부족이 나타날 수 있다(6,7).

국내에서 육류 소비는 지속적으로 증가하는 추세로, 2013년 기준 연간 1인당 육류 소비량이 약 42.7 kg에 달하고 있는데, 이 중 돼지고기가 20.9 kg으로 약 49%를 차지하여 가장 많이 소비되는 육류이다(8). 돼지고기는 한국인의 밥상에 자주 오르는 대표 육류임에도 불구하고 돼지고기 부위에 따른 vitamin B_{12} 함량에 대한 신뢰성 있는 데이터베이스는 거의 전무하여 국민 영양평가를 위한 기초자료로 미국이나 일본의 데이터베이스가 이용되는 실정으로 한국인의 국민건강을 위한 영양평가 및 정책 수립을 위해서는 국내산 돈육에 대한 신뢰도 높은 vitamin B_{12} database 구축이 시급하다.

따라서, 본 연구는 농촌진흥청(rural development administration, RDA)에서 발간하고 있는 국가표준식품성분표(national standard composition table)를 개정하기 위하여 vitamin B_{12} 함량 분석에 적용할 immunoaffinity-HPLC법의 적합성을 검증하고 이를 이용하여 국내산 돈육의 22개 세부 부위별 vitamin B_{12} 함량을 분석하였다. 또한, 분석이 진행되는 동안 분석품질관리를 실시하여 전 분석 과정이 신뢰도 있게 진행되는지를 평가하여 국가표준식품성분표 개정을 위한 데이터의 신뢰성을 확보하여 국민영양수준 평가 및 영양정책 수립에 기여하고자 한다.

재료 및 방법

시 약

Vitamin B_{12} 표준품(cyanocobalamin, purity 96.0-102.0%)은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, sodium acetate trihydrate와 acetic acid는 Wako사(Osaka, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 분석에 사용된 용매는 모두 특급 및 HPLC급을 사용하였다. 분석법 검증에 사용된 표준참고물질(standard reference material, SRM)은 SRM® 1546a(meat homogenate)은 NIST(National Institute of Standard and Technology, Gaithersburg MD, USA)에서 구입하였으며, BCR® 487(pig liver)은 EC(European Commission)사의 IRMM(Institute for Reference Materials and Measurement, Geel, Belgium)에서 구입하였다. 내부 분석품질관리에 사용된 in-house control 시료는 시판되는 분유(Imperial dream XO world class 3step, Namyang, Seoul, Korea)를 구매하여 소포장하여 냉장 보관하며 사용하였다.

시료 준비

국립축산과학원(National Institute of Animal Science, Wanju, Korea)에서 동일한 조건으로 사육된 1등급과 2등급의 6개월령 삼원교잡종인 국내산 돈육 5두(1등급 3두, 2등급 2두)를 2016년 7월 18일 도축하여 농림부 고시(제 2007-82호) '식육의 부위별·등급별 및 종류별 구분 방법'에 따라 22개의 부위로 세분화하였고 양이 많은 부위(안심살, 앞사태살, 꾸리살, 홍두깨살, 뒷사태살, 보섭살, 갈비살, 도가니살, 설깃살, 목심살, 앞다리살, 볼깃살, 알등심살, 삼겹살)는 1등급 돈육 3두를 부위별로 정형한 다음 각각 균질화한 후 밀폐용기에 포장하였으며, 양이 비교적 적은 부위(부채살, 주걱살, 오돌삼겹, 갈매기살, 등갈비, 등심덧살, 항정살, 토시살)는 돈육 5두의 동일 부위를 모아 한꺼번에 균질화한 뒤 약 50 g 용량의 밀폐용기에 소포장한 후 -70℃에서 동결하였다. 동결된 시료는 얼음팩과 함께 분석실로 배송되어 -70℃에서 보관하며 분석에 사용하였다.

Vitamin B_{12} 추출 및 immunoaffinity clean-up

뚜껑이 있는 플라스크에 균질화된 시료(약 5 g, 분말의 경우 1-2 g)를 칭량하여 0.2 M sodium acetate trihydrate buffer(pH 4.0) 49.5 mL와 1% sodium cyanide 0.5 mL을 가한 후 초음파기(Cole-Parmer 8893, Chicago, IL, USA)를 이용하여 10분간 초음파 처리한 뒤 100℃ 항온수조(WB-20M, Jeio Tech Co., Daejeon, Korea)에서 1시간 추출하였다. 추출된 시료는 실온으로 냉각한 후 Whatman No.1(GE Healthcare, Amersham Place, UK)을 이용하여 여과하였다. Immunoaffinity column(Easi-Extract vitamin B_{12}, r-Biopharm, Glasgow, UK)은 실온에서 30분 방치한 후 column의 완충용액을 제거하고 증류수 3 mL을 주입하여 column을 활성화시켰다. 여과된 시료 추출액의 vitamin B_{12} 농도 수준에 따라 3 mL씩 3회까지 column에 주입하여 추출액 중의 cyanocobalamin을 column에 흡착시킨 뒤 다시 증류수 3 mL씩 세 번을 주입하면서 불순물을 세척하였다. 주사기를 이용하여 공기(총 40 mL)를 column 안으로 주입하면서 column 내 수분을 제거한 다음 methanol 3 mL을 column에 주입하여 흡착된 cyanocobalamin을 methanol로 용출시켜 시험관에 수집하였

다. 메탄올 추출액은 질소농축기(EYELAMG-2200, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 질소 가스 하에 휘발시킨 후 증류수 0.5 mL을 가하여 cyanocobalamin을 재용해시켰다. 준비된 시험액은 0.45 μm membrane filter (cellulose acetate, Adventec®, DISMIC®-13CP, Osaka, Japan)로 여과하여 갈색 vial에 담은 뒤 HPLC로 분석하였다.

HPLC/DAD 분석

Vitamin B_{12} 표준용액은 cyanocobalamin 표준품 10 mg을 물 10 mL에 용해시켜 1 mg/mL 농도의 stock solution으로 제조한 다음 -18℃의 냉암소에 보관하며 분석 시 0.025-10 μg/mL의 범위가 되도록 희석하여 사용하였다. 시료 중 vitamin B_{12}는 HPLC Agilent 1260 infinity(Agilent, Santa Clara, CA, USA) 시스템을 이용하여 column은 C_{18} ACE 3 AQ(3 mm×150 mm, ACE, Scotland, UK)를 사용하여 Table 1과 같은 이동상 구배 조건에서 분석하였다. 이 때 이동상 flow rate은 0.25 mL/min, column oven 온도는 35℃, 시료 주입량은 100 μL였다. 분리 용출되는 cyanocobalamin은 361 nm에서 검출하였으며 peak purity 확인을 위해 200-600 nm 구간에서 나타나는 흡광도를 수집하였다.

Table 1. Gradient condition of mobile phases for vitamin B12 analysis

Time (min)	Water (%)	Acetonitrile (%)
0	100	0
11	85	15
19	75	25
20	90	10
26	100	0
35	100	0

분석법 검증(method validation)

Immunoaffinity-HPLC를 이용한 비타민 B_{12} 분석법 검증은 AOAC(9)와 ICH(10)의 실험실 분석법 검증 가이드라인에 준하여 검증하였다. 특이성(specificity)은 표준용액인 cyanocobalamin과 참고물질 SRM® 1546a의 vitamin B_{12}를 분석하고 분석 시 DAD 검출기(1260 infinity, Agilent)를 이용하여 200-600 nm의 범위에서 흡광패턴을 측정하고 HPLC 크로마토그램에서 확인된 표준품과 시료의 vitamin B_{12} 피크 DAD spectrum을 비교하여 peak purity를 확인하였다. 직선성(linearity)은 표준용액인 cyanocobalain을 시료의 vitamin B_{12} 농도 수준을 포함하는 총 5개 농도 범위(0.0195, 0.0391, 0.0781, 0.156, 0.313 μg/mL)에서 분석되는 HPLC peak의 면적과 농도와의 관계를 조사하여 직선적 상관성을 조사하였다. 검출한계(limit of detection, LOD)와 정량한계(limit of quantification, LOQ)는 blank 시험액을 동일조건의 HPLC로 분석하여 크로마토그램의 signal-to-noise(S/N)의 평균값에 표준편차를 각각 3.3과 10을 곱한 값을 더하여 LOD와 LOQ를 구하였다. 정확성은 표준참고물질 SRM® 1546a과 BCR-487의 vitamin B_{12} 함량을 분석하고 시료를 구입한 NIST와 EC에서 제시하는 인증치와의 일치하는 정도를 계산하여 회수율(%)로 나타내었다. 정밀성은 in-house control 시료(commercial infant formula, Absolute, Maeil, Seoul, Korea)를 하루에 독립적으로 5회 duplicate로 반복 실험하여 repeatability(intra-day precision, RSDr)를 평가하였으며, duplicate로 하루에 한번씩 5일 동안 총 5회 실험하여 reproducibility(inter-day precision, RSDR)를 계산하여 정밀성을 평가하였다.

분석품질관리(analytical quality control)

분석품질관리는 AOAC guideline(11)에 준하여 시료를 분석하는 전 기간 동안 수행되었다, In-house control sample(commercial infant formula)의 vitamin B_{12} 함량을 10회 이상 분석하여 relative standard deviation(RSD)가 5% 미만은 분석값으로 QC chart의 평균값을 기준값으로 설정하고, 관리 상한선 및 하한선(upper and lower control lines, UCL and LCL)과 조치 상한선 및 하한선(upper and lower action line, UAL and LAL)을 아래의 식과 같이 계산하여 관리선을 설정하고 시료를 분석할 때마다 QC 시료를 분석하여 QC chart에 표시하며 분석품질을 관리하였다.

UCL and LCL=mean vitamin B_{12} content±2×SD
UAL and LAL=mean vitamin B_{12} content±3×SD

통계처리

통계는 SPSS(Statistics package for the social science, ver. 22.0 for window, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)프로그램을 이용하였으며 평균, 표준편차를 구하고 이들의 유의적 차이를 Ducan's multiple range test를 이용하여 유의성을 검정하였다. 또한 지표들간의 상관성은 Pearson corelation을 $p<0.05$과 0.01 수준에서 분석하고 이들의 correlation coefficient(r)를 비교하였다.

결과 및 고찰

Immunoaffinity-HPLC 분석법 검증

Vitamin B_{12} 표준품(cyanocobalamin)과 시료(SRM® 1546a)를 HPLC로 분석한 크로마토그램은 Fig. 1과 같다. 두 시료의 크로마토그램에서 확인된 cyanocobalamin peak의 retention time은 30.4분으로 서로 일치하였으며 cyanocobalamin peak의 200-600 nm 범위에서 수집된 DAD spectrum이 상호 일치하고 peak의 순도가 99% 이상으로 높게 나타나 HPLC 법의 specificity가 높음을 알 수 있었다

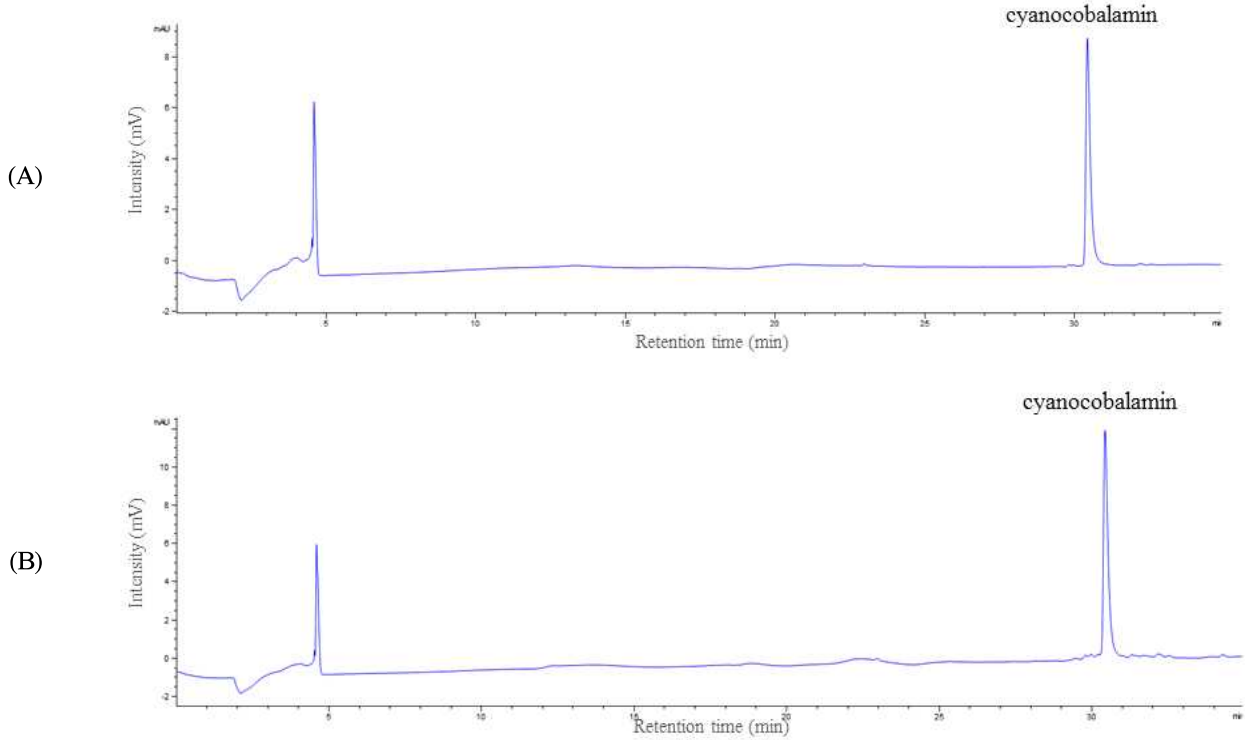

Fig. 1. HPLC chromatograms of cyanocobalamin standard (A) and sample (B).

(retention time 4.6분에서 발견되는 peak는 용매 용출 peak 임). 분석법의 직선성(linearity)은 검체의 비교적 낮은 수준의 vitamin B_{12} 농도 범위에서의 측정값에 대한 직선적 비례 관계를 나타내는지의 여부를 확인한 것으로 표준용액인 cyanocobalamin을 0.0195, 0.0391, 0.0781, 0.156, 0.313, 0.616 μg/mL의 농도로 제조된 표준용액을 각각 3회씩 분석한 평균값을 이용하여 검량선을 작성한 결과 Table 2와 같이 y=2006.5x-22.033 (R^2=0.9996)의 상관식을 얻어 직선성이 우수함을 알 수 있었다. 한편, blank test에서 signal-to-noise 비율의 각각 3배와 10배를 고려하여 얻어진 검출한계와 정량한계는 각각 0.01 μg/100 g와 0.03 μg/100 g으로 돈육의 vitamin B_{12}를 정량하기에 충분한 한계값을 보임을 확인할 수 있었다(Table 2).

Immunoaffinity-HPLC를 이용한 vitamin B_{12} 분석의 정확성(accuracy)은 분석하고자 하는 목적 성분인 cyanocobalamin의 함량 수준이 약 200배 차이를 보이는 두 종류의 참고물질을 분석하여 회수율을 비교하였으며 그 결과는 Table 3과 같다. 참고물질 BCR® 487(pig liver)과 SRM® 1546a(infant formaula)의 제시된 각각의 인증값 112.00±9.00 μg/100 g와 0.55±0.16 μg/100 g과 비교하여 immunoaffinity-HPLC법으로 얻어진 실험값으로 얻어진 회수율은 각각 99.6%와 95.0%를 얻었다. 분석법의 정밀성(precision) 검증을 위해 in-house sample(시판 infant formula)를 inter-day와 intra-day에 각각 분석하여 CV(%)값을 계산한 결과는 Table 4와 같이 각각 10.5%와 8.5%였다. 분석법의 정확성과 정밀성은 분석하고자하는 시료에서 목적 성분의 농도 수준에 따라 달라지게 되므로 이에 따라 적합한 가이드라인을 적용하여 수용성 여부를 결정하게 된다(10-12). AOAC에서 사용하고 있는 표준 가이드라인에 따르면 정확성의 경우 농도 수준이

Table 2. Limits of detection and quantification, and linearity of immunoaffinity-HPLC/DAD assay for vitamin B_{12}

Parameters	Vitamin B_{12} (μg/100 g)
Calibration curve equation (y=Ax+B)	y=2009x-22.033
Correlation coefficient (R^2)	0.9996
LOD	0.01
LOQ	0.03

Table 3. Accuracy of immunoaffinity-HPLC/DAD assay for vitamin B_{12}

Sample	Vitamin B_{12} content (μg/100 g)		Recovery[3] (%)
	Reference value[1]	Analysis value[2]	
BCR® 487	112.00±9.00	111.51±11.51	99.6
SRM® 1546a	0.55±0.16	0.52±0.09	95.0

[1]Reference value indicates the vitamin B_{12} contents of BCR® 487 and SRM® 1546a provided by EC and NIST, respectively, as the certificate value.
[2]Analysis value indicates the vitamin B_{12} contents obtained by immunoaffinity-HPLC/DAD assay for vitamin B_{12} in this study.
[3]Recovery (%) was calculated by 100 (analytical value/reference value).

1.1%는 95-105%, 100 ppm은 90-107%, 100 ppb-10 ppb의 경우 회수율 80-110%, 10 ppb의 경우 60-115%를 기대 회수율로 제시하고 있다(11). 본 연구에서 사용된 참고물질의 vitamin B_{12} 농도 수준에 해당되는 기대 회수율은 BCR® 487의 경우 95-105%, SRM® 1546a의 경우 각각 80-110%와 60-115%의 수용 수준에 비하여 본 연구에서 더 높은 회수율을 얻어 immunoaffinity- HPLC 분석법의 정확성이 우수함을 확인할 수 있었다. 또한, 정밀성에서도 in-house sample의 vitamin B_{12} 농도 수준에 대한 해당되는 AOAC의 repeatability와 reproducibility 수용 기준은 약 15%로 본 연구에서 얻은 정밀성 CV값은 이보다 낮아 분석법의 정밀성이 우수함을 확인할 수 있었다.

Table 4. Precision of immunoaffinity-HPLC/DAD assay for vitamin B_{12}

Sample	Vitamin B_{12} content (μg/100 g)		
	Parameters	Repeatability[1)]	Reproducibility[2)]
Infant formula (QC sample)	Mean±SD	5.57±0.48	5.36±0.52
	CV (%)[3)]	8.60	9.69

[1)]Repeatability refers to the results of 5 independent determinations carried out in a sample by analyzing 5 replicates of the same sample in the same day.
[2)]Reproducibility refers to the results of 5 independent determinations carried out in a sample by analyzing 5 replicates of the sample at different assay days.
[3)]Coefficient of variation (%)=100 (SD/mean).

분석품질관리

분석품질관리는 검증된 분석법을 이용하여 지속적으로 분석을 수행하는 동안 검증된 방법대로 수행이 되는지를 관리하는 과정으로 분석 실험 시 변화 가능성이 있는 다양한 실험 조건들에 의해 변화되는 분석 결과 값의 변동을 관리할 수 있다. 특히, 국가표준식품성분표를 위한 데이터의 생산 및 검증은 중장기적으로 지속되는 분석으로 정확성과 재현성 있는 데이터를 생산해야 하므로 이러한 분석품질관리를 수행하는 것이 필수 요건이다. 분석품질관리는 일반적으로 in-house sample을 선정하여 시료 분석 시에 함께 동일 조건으로 분석한 결과를 관리선과 조치선이 설정된 분석품질관리도표(quality control chart)를 이용하여 분석품질이 관리선 범위 안에서 지속적으로 관리되는지의 여부를 모니터링하게 된다(9). 분석품질관리도표 작성을 위해 시판 분유를 10회 이상 분석하여 CV가 5% 미만인 10개의 결과로부터 평균값 5.08 μg/100 g을 기준값으로 설정하였으며 여기에 ±2×표준편차와 ±3×표준편차를 계산하여 각각 4.26-6.25 μg/100 g 범위를 관리 한계선(UCL과 LCL)으로, 3.76-6.74 μg/100 g을 조치 한계선(UAL과 LAL)으로 설정하여 분석품질을 관리에 사용하였으며 본 연구에서 수거된 시료를 분석하는 모든 실험마다 품질관리 시료를 동시에 동일한 조건으로 분석한 결과를 모니터링한 결과 모든 분석값이 관리 한계선 안에 있음을 확인할 수 있었다(Fig. 2). 이는 본 연구에서 수행된 돈육의 vitamin B_{12} 분석이 진행된 모든 기간 동안 정확성과 재현성이 확보된 조건하에서 수행되었음을 나타내는 것으로써 돈육의 vitamin B_{12} 분석값의 신뢰성이 우수하고 이를 국가표준식품성분표에 활용될 수 있음을 나타내는 것으로 판단된다.

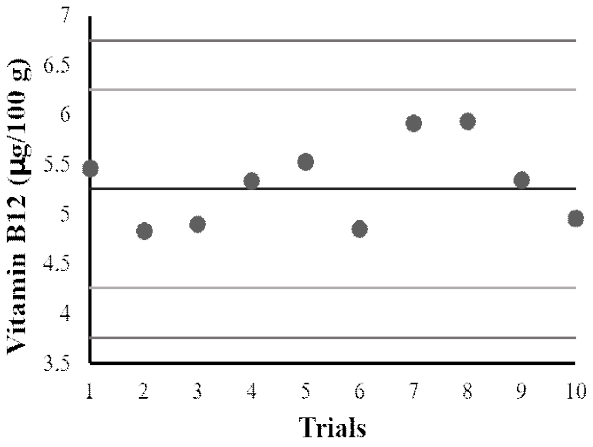

Fig. 2. A quality control chart of immunoaffinity-HPLC/DAD assay for vitamin B_{12}.
UCL and LCL=mean±2×SD, UAL and LAL=mean±3×SD.

국내산 돈육의 부위별 vitamin B_{12} 함량

돈육은 먼저 큰 주요 부위(primal cut) 7개-안심(tenderloin), 등심(loin), 목심(Boston butt), 앞다리(foreleg), 뒷다리(hind leg), 삼겹살(belly), 갈비(rib)로 나눈 뒤 세부 부위(retail cut) 22개(안심살, 등심덧살, 알등심살, 목심살, 부채살, 앞사태살, 앞다리살, 꾸리살, 항정살, 주걱살, 보섭살, 볼깃살, 도가니살, 설깃살, 뒷사태살, 홍두깨살, 토시살, 갈매기살, 삼겹살, 오돌삼겹, 등갈비, 갈비)로 분류하여 vitamin B_{12}를 분석한 결과는 Table 5와 같다. 돈육의 vitamin B_{12} 함량은 0.33-0.98 μg/100 g의 범위를 나타내어 부위에 따라 약 3배의 차이를 보였는데 7개 primal cuts에서 삼겹살 부위가 0.69 μg/100 g로 가장 높은 평균 vitamin B_{12} 함량을 나타낸 반면, 뒷다리 부위가 0.42 μg/100 g로 가장 낮은 평균값을 나타내었다. 또한, 같은 primal cut이라도 세부 부위에 따라 vitamin B_{12}의 함량이 유의적으로 차이를 나타냈다. 삼겹살 primal cut의 세부 부위인 토시살은 0.98 μg/100 g으로 전체 22개 retail cuts에서 가장 높은 함량을 보인 반면, 같은 primal cut에 속하는 등갈비의 경우 0.38 μg/100 g으로 낮게 나타나 삼겹살 부위 내에서도 약 2.6배의 유의적인 차이를 보였다. 반면, 앞다리 primal cut의 세부 부위 중에서는 부채살이 0.65 μg/100 g으로 가장 높은 함량을 보였고, 나머지 5부위에서는 0.36-0.47 μg/100 g의 범위 안에서 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 총 22개 세부 부위에서 가장 높은 vitamin B_{12} 함량을 보인 부위는 삼겹살의 토시살(0.98 μg/100 g)이었고 가장 낮은 함량은 보인 부위는 뒷다리의 홍두깨살과 등심의 앞알등심(0.33 μg/100 g)으로 약 3배

정도의 vitamin B_{12} 함량 차이를 나타내었다.

Table 5에 제시된 USDA(12)에서 분석한 돈육의 vitamin B_{12} 함량 정보와 상응하는 국산 돈육의 vitamin B_{12} 함량과 비교해 볼 때, 갈비와 안심 부위에서는 국산 돈육이 더 높았으나 다른 부위에서는 다소 낮은 것으로 나타났다. 특히 미국 돈육의 belly와 Boston butt 부위가 각각 0.84 μg/100 g와 0.91 μg/100 g로 다른 부위에 비해 높은 함량을 보였는데 이는 국내산 돈육의 삼겹살과 목심에 상응하는 부위로 본 연구에서도 다른 primal cut에 비하여 높은 vitamin B_{12} 함량을 나타내었다. 반면, 국내산 돈육에서 가장 낮은 vitamin B_{12}함량을 보인 뒷다리와 상응하는 미국 돈육의 hind leg 부위는 0.71 μg/100 g로 다른 부위에 비해 비교적 높은 vitamin B_{12} 함량을 나타냈다. 한편, 호주 3개주로부터 샘플링한 돈육의 영양소를 분석한 Greemfield 등(13)은 다른 수용성 vitamin들은 살코기에서 더 높은 함량을 보인 반면, vitamin B_{12}는 예외로 살코기보다 지방이 많은 조직에서 더 많이 검출되었고 그 범위가 0.88-1.11 μg/100 g에 이른다고 보고하였는데, 특히 loin chop(등심) 부위에서 살코기 부위의 vitamin B_{12}는 0.20 μg/100 g인데 반하여 지방 조직에서는 1.06 μg/100 g의 함량이 검출되어 큰 차이를 나타냄을 보여주었다. 본 연구를 위해 국립축산과학원에서 제공한 돈육 부위별 일반성분 함량은 Table 6과 같으며 이들 함량과 본 연구에서 분석한 vitamin B_{12} 함량과의 상관성을 분석한 결과(Table 7), 지방함량이 높은 돈육 부위가 vitamin B_{12} 함량이 높았다는 Greemfield 등(13)의 보고와는 달리 단백질 함량과 vitamin B_{12} 함량에서는 음의 상관성을 보이며 유의적인 차이를 나타낸 반면($p<0.05$), 지방 함량과는 통계적으로는 유의적 상관성이 없는 것으로 나타났다. 이러한 통계 결과는 국내산 돈육 부위의 세부 부위들에 따른 영양성분들의 variation이 크기 때문인 것으로 보여지는데, 실제 분석된 돈육 부위 중에서 지방함량이 10% 이상인 부위(목심살, 항정살, 삼겹살, 갈매기살, 갈비)의 vitamin B_{12} 함량의 경우 0.42-0.87 μg/100 g의 범위로 다른 부위에 비하여 평균 이상의 수준을 나타내고 있는 것을 볼 때, vitamin

Table 5. Vitamin B_{12} contents in fresh cuts of Korean pork

Korean primal pork cuts (US equivalent name)	Korean customer retail cuts	Vitamin B_{12} (μg/100 g)	% of RNI[1)]	Mean vitamin B_{12} for primal cuts (μg/100 g)	Reference value[2)] (vitamin B_{12}, μg/100 g)
Samgyeopsal (belly)	*Tosisal*	0.98±0.16[a3)]	40.6	0.69±0.23	0.84 (belly)
	Galmaegisal	0.87±0.09[a]	36.2		
	Samgyeopsal	0.62±0.14[b]	25.9		
	Odolsamgyeop	0.61±0.02[b]	25.6		
	Deunggalbi	0.38±0.00[c]	15.9		
Moksim (Boston butt)	*Moksimsal*	0.64±0.16	26.6	0.64±0.00	0.91 (shoulder blade, bone-in)
Galbi (rib)	*Galbisal*	0.64±0.16	26.8	0.64±0.00	0.52 (loin, center rib, bone-in)
Ansim (tenderloin)	*Ansimsal*	0.61±0.10	25.2	0.61±0.00	0.52 (loin, tenderloin, boneless)
Apdari (foreleg)	*Buchaesal*	0.65±0.02[a]	27.0	0.47±0.10	0.55 (shoulder, arm picnic, separable lean only)
	Apsataesal	0.47±0.11[b]	19.6		
	Apdarisal	0.45±0.10[b]	18.9		
	Kkurisal	0.45±0.10[b]	18.8		
	Hangjeongsal	0.42±0.01[b]	17.6		
	Jugeoksal	0.36±0.08[b]	15.1		
Dungsim (loin)	*Deungsimdeotsal*	0.62±0.10[a]	25.9	0.47±0.21	0.56 (loin, sirloin, bone-in) 0.53 (loin, toploin, boneless) 0.53 (loin, centerloin, bone-in)
	Aldeungsimsal	0.33±0.09[b]	13.7		
Dwitdari (hind leg)	*Boseopsal*	0.50±0.04[a]	20.9	0.42±0.07	0.71 (leg/ham, whole, separable lean only)
	Bolgitsal	0.48±0.07[ab]	19.9		
	Doganisal	0.43±0.09[abc]	17.8		
	Seolgitsal	0.41±0.10[abc]	17.2		
	Dwitsataesal	0.35±0.08[bc]	14.6		
	Hongdukkaesal	0.33±0.05[c]	13.7		

[1)]RNI, recommended nutrient intake.
[2)]Source of reference values: USDA nutrient database (12).
[3)]Means with different superscript small letters in the same column for the same primal cut are significantly different at $p<0.05$.

Table 6. Approximate composition of Korean pork cuts[1)]

Korean primal pork cuts (US equivalent name)	Korean customer retail cuts	Water (g/100 g)	Protein (g/100 g)	Fat (g/100 g)	Ash (g/100 g)
Samgyeopsal (belly)	*Tosisal*	71.76±0.09[a2)]	20.45±0.07[a]	5.82±0.01[d]	1.03±0.05[a]
	Galmaegisal	66.30±0.24[b]	17.92±0.08[b]	12.16±0.11[c]	0.95±0.02[b]
	Samgyeopsal	59.23±1.43[c]	17.09±0.60[c]	25.99±4.32[a]	0.82±0.03[c]
	Odolsamgyeop	58.35±1.51[c]	17.12±0.41[c]	17.71±0.09[b]	0.94±0.05[b]
	Deunggalbi	60.19±0.97[c]	17.88±0.22[b]	17.19±0.05[b]	0.95±0.03[b]
Moksim (Boston butt)	*Moksimsal*	66.37±1.37	17.87±0.80	13.99±0.33	0.95±0.04
Galbi (rib)	*Galbisal*	66.20±1.15	18.70±0.41	13.59±1.42	0.92±0.03
Ansim (tenderloin)	*Ansimsal*	73.97±0.72	21.18±0.38	4.16±0.30	1.13±0.03
Apdari (foreleg)	*Buchaesal*	71.58±0.48[c]	20.09±0.03[a]	6.65±0.05[c]	0.97±0.03[c]
	Apsataesal	73.53±0.51[a]	20.82±0.12[a]	4.68±0.68[e]	1.01±0.02[abc]
	Apdarisal	71.43±0.32[c]	20.56±0.84[a]	7.92±0.28[b]	0.99±0.02[bc]
	Kkurisal	73.10±0.26[ab]	18.84±0.21[b]	5.91±0.52[d]	1.06±0.03[a]
	Hangjeongsal	57.62±1.19[d]	17.98±0.45[c]	16.67±0.04[a]	0.86±0.05[d]
	Jugeoksal	72.28±0.18[bc]	20.49±0.21[a]	6.13±0.06[cd]	1.04±0.01[ab]
Dungsim (loin)	*Deungsimdeotsal*	62.40±1.10[b]	17.51±0.53[b]	11.94±0.03[b]	0.95±0.04[b]
	Aldeungsimsal	70.87±0.87[a]	22.90±1.08[a]	5.13±0.28[a]	1.09±0.05[a]
Dwitdari (hind leg)	*Boseopsal*	71.80±0.10	21.13±0.59	5.14±0.37	1.07±0.02[a]
	Bolgitsal	73.07±0.45	20.79±0.36	4.81±0.52	1.08±0.01[a]
	Doganisal	72.50±1.50	21.29±0.77	4.23±0.19	1.08±0.03[a]
	Seolgitsal	72.47±0.80	20.90±1.62	5.39±0.06	1.06±0.02[a]
	Dwitsataesal	72.97±1.02	20.51±0.93	5.11±1.27	0.98±0.03[b]
	Hongdukkaesal	73.27±1.40	20.03±0.24	5.44±1.16	1.05±0.00[a]

[1)]Approximate composition data of Korean pork cuts was provided from National Institute of Agricultural Science, RDA, Korea.
[2)]Means with different superscript small letters in the same column for the same primal cut are significantly different at $p<0.05$.

Table 7. Pearson corelation coefficients for approximate composition and vitamin B12 content of Korean pork cuts

	Vitamin B_{12}	Water	Protein	Fat	Ash
Vitamin B_{12}	1				
Water	-0.155	1			
Protein	-0.288[*1)]	0.787[**]	1		
Fat	0.192	-0.918[**]	-0.819[**]	1	
Ash	-0.222	0.781[**]	0.776[**]	-0.852[**]	1

[1)]*$p<0.05$, **$p<0.01$.

B_{12}가 수용성이지만 지방함량이 높은 부위에서 그 수준이 비교적 높게 존재하는 것으로 판단된다.

본 연구 결과에서 가장 높은 vitamin B_{12} 함량을 보인 삼겹살과 목살 부위는 도체 중량에서 약 30%의 생산량을 보이지만, 직접적으로 소비에서는 돈육 부위 중에서 약 90% 이상을 차지하고 있어 한국 식단에서 이들 부위의 섭취량이 상당히 높은 것으로 보고되어 있다(14). 삼겹살과 목살의 경우 1인분 기준으로 제공되는 100 g을 섭취 시 한끼 식사로 vitamin B_{12}에 대한 성인 1일 권장요구량인 2.4 μg/100 g의 약 26-28%를 충족할 수 있으며 토시살의 경우 최대 40%까지 충족이 가능하여 국내산 돈육이 vitamin B_{12} 섭취를 위한 우수한 급원이 될 수 있을 것으로 보여진다.

육류는 가축의 종, 사육환경, 운동 뿐 만 아니라 근육의 위치에 따라 영양학적인 차이를 나타낼 수 있으며, 특히 가축의 사료는 육류의 영양성분에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다(15-19). 그러나 본 연구에서는 한국의 국가표준식품성분표 개정을 위해 국산 돈육을 대표할 수 있는 시료를 샘플링하고 이들의 정확한 vitamin B_{12} 함량 수준을 분석하기 위해 분석법 검증과 분석품질관리를 수행하였다. 본 연구에서 생산된 데이터는 국민영양건강을 평가하고 정책을 수립하는 기초 자료로 활용될 수 있을 것이라 판단된다.

요 약

본 연구는 국민 영양평가 및 정책 수립에 근간이 되는

국가표준식품성분표 개정을 위해 농촌진흥청과 국립축산과학원이 공동으로 국산 돈육의 대표 시료를 선정하고 부위별로 신뢰성이 확보된 vitamin B_{12} 함량 데이터 구축을 위해 분석법 검증과 분석품질관리를 수행한 연구이다. Immunoaffinity-HPLC 분석법을 특이성, 직선성, 검출한계 및 정량한계, 정확성, 정밀성 등의 분석수행특성 지표를 이용하여 평가한 결과 모든 항목에서 AOAC 가이드라인 수용기준에 충족되는 것을 확인하였다. 또한 모든 시료 분석 시 in-house QC sample을 분석한 결과 QC chart의 관리한계선 안에 포함이 되어 본 연구 기간 동안 수행된 모든 시료 분석이 관리하에 정확성과 정밀성을 나타내는 분석값임을 확인할 수 있었다. 총 7개 primal cut과 이들로부터 세분화된 22개 retail cut의 vitamin B_{12} 함량 분석 결과 주요 부위(평균 0.42-0.69 μg/100 g) 뿐 만 아니라 같은 부위 안에서도 세부 부위에 따라 vitamin B_{12} 함량에서 차이가 나타났다. 특히, 삼겹살과 목심 부위에서 vitamin B_{12} 함량이 높게 나타났으며 세부 부위에서는 삼겹살 부위의 토시살이 0.98 μg/100 g로 최고값을 보였고, 등심 부위의 알등심살과 뒷다리 부위의 홍두깨살이 0.33 μg/100 g으로 가장 낮은 수준을 나타냈다. Vitamin B_{12} 함량은 돈육의 부위별 단백질 함량과는 유의적인 차이를 보였으나 지방 및 수분 함량과는 유의적인 차이를 보이지 않았다. 본 연구에서 생산된 국내산 돈육의 부위별 vitamin B_{12} 함량 데이터는 분석법 검증과 분석품질관리를 통하여 신뢰성이 확보된 데이터로 국가표준식품성분표 개정에 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

본 연구는 2016년도 농촌진흥청 공동연구사업(과제번호: PJ010838062016)의 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

References

1. Martens JH, Barg H, Warren MJ, Jahn D (2002) Microbial production of vitamin B_{12}. Appl Microbiol Biotechnol, 58, 275-285
2. Lachner C, Steinle NI, Regenold WT (2012) The neuropsychiatry of vitamin B_{12} deficiency in elderly patients. J Neuropsychiatry Clin Neurosci, 24, 5-15
3. Green R, Datta Mitra A (2017) Megaloblastic Anemias: Nutritional and Other Causes. Med Clin North Am, 101, 297-317
4. Bulut EA, Soysal P, Aydin AE, Dokuzlar O, Kocyigit SE, Isik AT (2017) Vitamin B_{12} deficiency might be related to sarcopenia in older adults. Exp Gerontol, 95, 136-140
5. Ball GF (1998) Bioavailability and analysis of vitamins in foods. Chapman &Hall, London, UK, p 497-515
6. The Korean Nutriton Society (2010) Dietary Reference Intakes for Koreans. 1st ed, The Korean Nutriton Society, Seoul, Korea, p 5
7. NIH (2016) Vitamin B_{12} fact sheet for consumers. National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA, p 1-3
8. National Institute of Animal Science (2017) Livestock Statistics 30. National Inst Anim Sci, Seoul, Korea, p 9
9. Horwitz W (2002) AOAC guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. AOAC International, Gaithersburg, MD, USA, p 1219
10. ICH (2005) Validation of analytical procedures: text and methodology. In International Conference on Harmonization, Geneva, Switzerland, p 11-12
11. AOAC international (2011) Standard Format and Guidance for AOAC Standard Method Performance Requirement (SMPR) Documents. 12.1st ed, AOAC international, Rockville, MD, USA
12. Buege DR, Williams JR, Snyder C, Boillot K, Lofgren P, Thompson L, Luna A, Douglass LW (2009) USDA nutrient data set for fresh pork (from SR), Release 2.0[1]. U.S. Department of Agriculture, Beltsville, MD, USA, p 7-18
13. Greenfield H, Arcot J, Barnes JA, Cunningham J, Adorno P, Stobaus T, Tume RK, Beilken SL, Muller WJ (2009) Nutrient composition of Australian retail pork cuts 2005/2006. Food Chem, 117, 721-730
14. Kang HS, Seo KS, Kim KT, Nam KC (2011) Comparison of pork quality characteristics of different parts from domesticated pig species. Korean J Food Sci Anim Resour, 31, 921-927
15. Beermann DH, Fishell VK, Roneker K, Boyd RD, Armbruster G, Souza L (1990) Dose-response relationships between porcine somatotropin, muscle composition, muscle fiber characteristics and pork quality. J Anim Sci, 68, 2690-2697
16. Ryu YC, Choi YM, Lee SH, Shin HG, Choe JH, Kim JM, Hong KC, Kim BC (2008) Comparing the histochemical characteristics and meat quality traits of different pig breeds. Meat Sci, 80, 363-369
17. Hur SJ, Park GB, Joo ST (2007) Biological activities of conjugated linoleic acid (CLA) and effects of CLA on animal products. Livestock Sci, 110, 221-229

18. Wimmers K, Ngu N, Jennen D, Tesfaye D, Murani E, Schellander K, Ponsuksili S (2008) Relationship between myosin heavy chain isoform expression and muscling in several diverse pig breeds. J Anim Sci, 86, 795-803
19. Decker EA, Park YH (2010) Healthier meat products as functional foods. Meat Sci, 86, 49-55