



국내 다소비 식품의 biotin 함량 모니터링

권지현¹ · 천원영¹ · 이상훈² · 최용민² · 김영화^{1,*}

¹경성대학교 식품응용공학부, ²농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부

Monitoring of Biotin Content in Frequently Consumed Foods in Korea

Jihyun Kwon¹, Wonyoung Cheon¹, Sang-Hoon Lee², Youngmin Choi², Younghwa Kim^{1,*}

¹School of Food Biotechnology and Nutrition, Kyungsoong University

²Department Agrofood Resources, National Institute of Agricultural Sciences, Rural Development Administration

Abstract

In this study, biotin (vitamin B7) contents of frequently consumed foods in Korea were determined by using immunoaffinity column in conjunction with high-performance liquid chromatography (HPLC). The biotin contents of 24 foods of plant origin and 27 foods of animal origin were selected. The highest biotin contents in frequently consumed foods of plant origin were found in red beans (Huinguseul; 11.475 µg/100 g). On the other hand, biotin was not detected in any varieties of sorghum. For frequently consumed foods of animal origin, salted pollack roe (7.486 µg/100 g) showed the highest biotin content. However, beef and fish contained less biotin. All biotin analyses were conducted under analytical quality control. The limits of detection and limits of quantification of biotin were 0.007 and 0.023 µg/100 g, respectively, and the accuracy/recovery percentage was 95.35-105.02%. The precision values were 4.041% (repeatability) and 3.835% (reproducibility). Taken together, our data provide reliable data on the biotin contents of frequently consumed foods in Korea.

Key Words : Biotin, frequently consumed foods, immunoaffinity column, high-performance liquid chromatography

1. 서 론

비타민 B₇으로 불리는 biotin (hexahydro-2-oxo-1-H-thieno [3,4-d-] imidazole-4-pentanoic acid)은 수용성 비타민 중 하나이다. Biotin은 살아 있는 모든 생명체의 세포에서 발견되며(Livaniou et al. 2000), 탄수화물, 지방 및 아미노산 대사에 중요한 것으로 알려져 있다(Lin et al. 2017). 또한 biotin은 대부분의 식품에 함유되어 있으며, 채소 및 과일에서 유리형(free form)으로 존재하는 경우가 많다. 반면, 동물성 식품과 일부 곡류에서 biotin은 단백질과 결합한 형태(bound form)로 상당량 존재한다(Gill et al. 2018). 계란의 난백에는 avidin이라는 단백질이 존재하며, 이는 biotin과 결합하여 침전을 일으키기 때문에 장기간 날계란을 섭취한 경우에는 biotin 결핍이 야기될 수 있다(Joseph & Devi 2018). 최근 연구에 의하면 biotin은 케라틴과 같은 단백질의 구조 강화에 기여함으로써 피부 및 두피 건강 유지에 중요한 것으로 알려져 있다(Yomota & Ohnishi 2007). 뿐만 아니라 biotin은 체중감량, 혈당 저하, 피로회복 등의 효과로 인해 영양보

충제로도 각광받고 있다(Luong et al. 2019). 따라서, 현대 사회에서 biotin은 그 영양적인 기능뿐만 아니라 생리활성 기능도 점차 강조되고 있으며, 이로 인해 식품에 함유된 biotin에 대한 관심은 날로 증가하고 있는 추세이다.

대부분의 식품에 함유된 biotin의 함량은 매우 낮은 편이며, 동물성 식품에서 biotin은 단백질과 강하게 복합체를 이루고 있기 때문에 biotin의 함량을 정확히 분석하는 것은 어려우며, 앞으로 더욱 연구가 필요한 실정이다(Holler et al. 2006). 현재 우리나라에서 섭취하는 식품에 대한 biotin의 함량에 관한 연구는 매우 부족하다. 뿐만 아니라, 전 세계적으로 미국 농무성의 영양소 데이터베이스나 일본 문부과학성의 식품 성분 데이터베이스에서 갖춘 biotin 함량 정보는 제한적이며, 우리나라에서 섭취되는 식품의 biotin 함량에 관한 정보 또한 미비한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 우리나라에서 섭취되는 다소비 식품을 대상으로 biotin의 함량을 알아보고, 아울러 biotin 분석에 사용된 분석법의 검증을 통해 신뢰성이 확보된 데이터를 얻고자 하였다.

*Corresponding author: Younghwa Kim, School of Food Biotechnology and Nutrition, Kyungsoong University, 309 Suyeong-ro, Nam-gu, Busan, Korea
Tel: 82-51-663-4652 Fax: 82-51-622-4986 E-mail: younghwakim@ks.ac.kr

II. 연구 내용 및 방법

1. 재료 및 시약

Biotin 표준품, sodium dihydrogen phosphate monohydrate 과 disodium hydrogen phosphate hepta-hydrate은 Sigma-Aldrich Inc. (St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. Methanol은 Burdick & Jackson사(Muskegon, MI, USA)에서 구매하여 실험에 사용하였으며, 이동상에 사용되는 *o*-phosphoric acid는 Merck사(Darmstadt, Germany)에서 구매하여 실험에 사용하였다. Acetonitrile은 Thermo Fisher Scientific (Portsmouth, NH, USA)에서 구입하여 실험에 사용하였다. 표준참고물질(SRM, standard reference materials)은 미국 국립 표준 기술소(National institute of standards and technology, NIST)에서 구입하여 사용하였다. 내부 분석 품질관리에 사용한 quality control (QC) 시료는 시중에 판매하는 분유(commercial infant formula, Imperial dream XO, Namyang, Seoul, Korea)를 구입하여 사용하였다.

본 연구에서 사용된 시료는 2013년에서 2015년에 수행된 국민건강영양조사 결과를 바탕으로 우리나라에서 많이 소비되는 식품을 총화다단추출법에 적용하여 선정되었다(Kim et al. 2020). 2018년과 2019년에 수집된 시료는 액체 질소로 냉동한 후 균질기(Robot Coupe Blixer, Robot Coupe USA, Jackson, MS, USA)로 마쇄하여 균질화하였으며, 이를 농촌진흥청으로부터 제공받아 -20°C 에서 냉동 보관하며 사용하였다.

2. 시료의 biotin의 추출 및 전처리

Biotin 분석을 위한 방법으로는 Association of official analytical chemists (AOAC 2016)의 방법을 변형하여 실시하였다. 농촌진흥청으로부터 제공받은 시료 5 g을 conical tube에 칭량한 후 25 mL의 추출용매(0.15 M sodium phosphate buffer, pH 7.0)를 가하여 121°C 에서 25분 동안 autoclave를 실시하였다. 그 후 상온에서 방랭하였고, 0.15 M sodium phosphate buffer를 이용하여 총 부피가 50 mL가 되게 하였다. Biotin 추출액은 3500 rpm에서 15분간 원심분리한 후 whatman No. 2 여과지(GE Healthcare, Amersham Place, UK)를 이용하여 여과하였고, immunoaffinity column (Easi-Extract biotin, r-Biopharm, Glasgow, UK)을 이용하여 biotin을 농축하였고, 이를 HPLC/UVD 분석에 사용하였다.

3. Biotin의 HPLC 분석

Biotin 분석은 5000 Hitachi Chromaster serise(Hitachi, Tokyo, Japan)를 이용했으며, 분석용 컬럼은 C_{18} column ($150 \times 4.6 \text{ mm} \times 2.6 \mu\text{m}$, Phenomenex, Torrance, CA, USA)을 사용하였다. 컬럼 오븐의 온도는 25°C 를 유지하였으며, biotin의 검출은 UV detector를 사용하여 200 nm에서 검출하였다. 이동상은 0.1% phosphoric acid (용매A), 100%

acetonitrile (용매B) 및 80% acetonitrile (용매C)을 사용하여 gradient elution 방식으로 분석하였다. 분석 조건은 0분 90% A용매: 10% B용매, 18분 90% A용매: 10% B용매, 21분 100% C용매, 26.5분 100% C용매, 29분 90% A용매: 10% B용매, 32분 90% A용매: 10% B용매로 조절하였고, 유속은 0.6 mL/min으로 하였다.

4. Biotin 분석법 검증

본 연구에서 사용된 biotin 분석법은 AOAC 분석법 검증 가이드라인(2016)에 따라 수행되었다. 분석법 검증은 특이성, 직선성, 정확성, 정밀성, 검출한계(LOD, limits of detection)와 정량한계(LOQ, limits of quantification)를 평가하였다. 표준곡선의 직선성은 표준용액을 7가지 농도로 제조하여 평가하였으며, 정확성은 표준참고물질을 분석하여 NIST에서 제공한 인증값과 비교하여 회수율(%)을 구하였다. 정밀성 검증은 QC 시료를 사용하여 1일 5회 분석하여 반복성(repeatability)을 평가하였으며, 5일 동안 1회씩 분석하여 재현성(reproducibility)을 평가하였다. LOD와 LOQ는 biotin 표준품의 peak로부터 얻어지는 signal-to-noise (S/N)의 평균값과 표준편차를 이용하여 구했다.

5. Biotin 분석의 내부 분석품질관리

Biotin 분석에 대한 내부 분석품질관리를 위하여 AOAC guideline (2016)에 따라 QC chart를 작성하였다. QC chart는 조제분유를 10회 이상 분석하여 biotin 함량을 확립한 후 관리 상·하한선(upper and lower control line, UCL and LCL)과 조치 상·하한선(upper and lower action line, UAL and LAL)을 설정하여 작성하였다. 또한 매년 시료를 분석하면서 내부 분석품질관리 물질인 조제분유도 함께 분석하여 그 결과값을 QC chart에 기록하였다.

$$\text{UCL} \cdot \text{LCL} = \text{mean of analyte content} \pm 2\text{standard deviation}$$

$$\text{UAL} \cdot \text{LAL} = \text{mean of analyte content} \pm 3\text{standard deviation}$$

6. 통계처리

본 연구 결과의 통계 분석은 SAS 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 프로그램을 사용하였으며, 일원배치분산분석(ANOVA)과 Duncan's multiple range test를 실시하여 $p < 0.05$ 수준에서 시료 간의 유의성을 검정하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 식물성 식품의 biotin 함량 모니터링

국내에서 다소비되는 식물성 식품의 biotin 함량은 <Table 1>에 나타내었다. 과일 및 채소류에서는 건조 호박($8.379 \pm 0.149 \mu\text{g}/100 \text{ g}$)이 가장 높은 biotin 함량을 나타냈고, 삶은 호박($0.254 \pm 0.003 \mu\text{g}/100 \text{ g}$)이 가장 낮은 함량을 보여주었다.

본 연구진이 수행한 이전 연구(Kwon et al. 2019)에 따르면 굴과 포도, 아스파라거스, 비트, 바질과 같은 과일류 및 채소류의 biotin 함량은 품종 및 조리 방법에 따라 차이가 있으며, 대체적으로 낮은 함량(0-2.672 µg/100 g)을 나타냈었다. 본 연구에서 분석한 건조된 호박의 biotin 함량이 높게 나타난 것은 건조에 의한 수분 증발로 단위 중량당 biotin의 함량이 높게 나타난 것으로 보이며, 이는 이전 연구(Kwon et al. 2019)의 건조된 옥수수에서 biotin 함량이 높게 나타난 것과 유사하다. 두류와 곡류에서는 흰귀슬 팥이 11.475±0.076 µg/100 g으로 가장 높은 biotin 함량을 나타냈으며, 동안메기장(5.447±0.326 µg/100 g), 황미찰 기장(5.443±0.118 µg/100 g), 삼다메 기장(5.192±0.036 µg/100 g) 순으로 높게 나타났다. 반면, 수수와 검정팥 삶은 것에서는 biotin이 검출되지 않았다. 이전 연구에 따르면(Watanabe et al. 2014) 피의 biotin 함량은 3.6 µg/100 g으로 보고하였으며, 팥은 1.4 µg/100 g를 함유하고 있는 것으로 보고하여 본 연구와 유사하였다. 따라서 팥과 기장과 같은 일부 곡류는 biotin의 급원 식품으로써 가치가 있을 것으로 판단된다. Biotin의 1일 충분

섭취량은 30 µg/day로 흰귀슬 팥을 섭취하였을 때 약 38.3%를 충족시킬 수 있으며, 건조 호박은 27.9%인 것으로 나타났다. 그러나 식품 원재료에 함유된 수용성 비타민은 조리 과정을 거치게 되면서 잔존율이 낮아지므로(Hwang et al. 2014), 실제 섭취되는 biotin은 본 연구에서 보고하는 함량보다 적을 것으로 예측되며, 후속 연구가 필요한 것으로 생각된다. 따라서 충분한 biotin의 공급을 위해서는 다른 식품과 함께 섭취해야 할 것으로 판단된다.

2. 동물성 식품의 biotin 함량 모니터링

본 연구에서 알아본 동물성 식품에 함유된 biotin의 함량은 <Table 2>에 나타내었다. 소고기의 부위별 biotin 함량은 0.146-0.243 µg/100 g이었다. 소고기 부위별로 biotin 함량은 등심, 우둔, 앞다리 순으로 높았으나 부위별 유의적인 차이는 나타나지 않았다. Watanabe et al.(2014)의 연구에 따르면 일본산 소고기의 biotin 함량은 1.4 µg/100 g으로 보고하고 있으며, 다른 연구에서 돼지고기의 biotin 함량은 1.9 µg/100 g (Kim & Oh 2011)으로 나타나 있다. 이처럼 육류는 biotin의 좋은 급원 식품이 아니며, 본 연구 결과에서도 소고기의 biotin 함량은 1일 충분 섭취량 대비 1% 이하의 낮은 수준으로 나타났다. 또한 최근 식생활의 변화로 우리나라에서 육류에 대한 소비는 날로 증가하고 있기에, biotin의 충분한 섭취를 위해서는 biotin 급원 식품을 포함한 식단을 구성해야 할 것으로 생각된다. 본 연구에서 사용된 모든 젓갈류에서는 biotin이 검출되었으며, 명란젓(7.486±0.021 µg/100 g)이 가장 높았고, 다음으로 까나리 액젓(4.991±0.248 µg/100 g), 창란젓(2.057±0.102 µg/100 g) 순으로 높았다. 게살, 오징어, 고등어, 꽁치, 북어, 연어 등의 biotin 함량은 0.049-1.046 µg/100 g으로 대체적으로 낮은 수준을 나타내었다. 그리고 고등어 통조림, 꽁치 통조림, 연어 통조림에서는 biotin이 검출되지 않았다. 이는 통조림 제조 공정에 따른 biotin의 손실이 야기된 것으로 생각된다. Kim & Oh(2011)의 연구에 따르면 명태와 같은 과(family) 생선인 대구의 biotin 함량은 2.3 µg/100 g으로 보고하고 있다. 따라서 본 연구에서 알아본 명란젓의 biotin 함량이 높은 것은 원재료에 포함된 biotin으로부터 기인한 것으로 생각된다. 또한 젓갈은 저장기간 동안 자가분해효소 및 미생물의 발효 작용에 의해 단백질과 지방의 분해가 일어나 독특한 풍미와 맛을 갖게 된다(Hwang & Kim 2001). 따라서 젓갈류(0.597-7.486 µg/100 g)에서 생선류(0-1.046 µg/100 g)보다 비교적 높은 biotin 함량을 나타낸 것은 식품 중 단백질과 결합해 있던 biotin의 유리에 의한 것으로 보여진다. 뿐만 아니라 생선류의 biotin 함량은 대체적으로 낮은 수준(Kim & Oh 2011)으로 본 연구 결과는 이전 연구 결과와 유사하였다. 본 연구에서 분석한 젓갈류의 biotin 함량은 비교적 생선류보다 높은 함량을 보여주었으나, 젓갈류의 biotin 함량에 관한 정보가 매우 제한적이기에 추가 연구가 필요한 것으로 생각된다. 이와 같이 육류 및 생선과 같

<Table 1> Contents of biotin in foods from plant origin

Food group	Sample	Description	Biotin (µg/100 g)
Fruits and vegetables	Mandarin	Cheonhyehyang, Setoka, flesh	0.440±0.032 ^d
		Heungjinjosaeng, flesh	0.348±0.027 ^{de}
	Plum	Plum	2.905±0.037 ^b
		Raw	0.405±0.007 ^d
	Pumpkin	Boiled	0.254±0.003 ^e
		Steaming	0.688±0.005 ^c
Dried		8.379±0.149 ^a	
Legumes and grains	Foxtail millet	Daname, raw	5.447±0.326 ^b
		Samdamac, raw	5.192±0.036 ^{bc}
		Chohwangmac, raw	4.615±0.418 ^{cd}
		Hwangmichal, raw	5.443±0.118 ^b
		Samdachal, raw	4.972±0.639 ^{bcd}
Legumes and grains	Proso millet	Hallachal, raw	1.417±0.115 ^f
		Hwangsilchal, raw	2.772±0.075 ^e
	Red bean	Ibaekchal, raw	3.171±0.178 ^e
		Bulgeunpat, raw	1.340±0.048 ^f
		Bulgeunpat, boiled	0.545±0.048 ^g
	Sorghum	Geomjeongpat, raw	0.201±0.003 ^g
		Geomjeongpat, boiled	ND ¹⁾
		Huinguseul, raw	11.475±0.076 ^a
Sorghum	Huinnarae, raw	4.539±0.015 ^d	
	Donganme, raw	ND	
Sorghum	Nampungchal, raw	ND	
	Sodamchal, raw	ND	

¹⁾ND: not detected

^{a-g}Mean with different letters in the same column under food group are significantly different by Duncan's multiple range test at p<0.05.

<Table 2> Contents of biotin in foods from animal origin

Food group	Sample	Description	Biotin (µg/100 g)
Beef	Korea beef	Butt, Rump	0.233±0.031 ^a
		Brisket/Plate	0.221±0.073 ^a
		Fore shank	0.225±0.047 ^a
		Rib	0.221±0.019 ^a
		Shank/Shin	0.223±0.033 ^a
		Sirloin	0.243±0.062 ^a
		Tenderloin	0.146±0.079 ^a
		Topside	0.197±0.098 ^a
Seafoods	Fermented seafoods	Salt fermented anchovy sauce	0.855±0.037 ^b
		Salt fermented sand lance sauce	4.991±0.248 ^b
		Salted clam	1.486±0.113 ^d
		Salted pollack roe	7.486±0.021 ^a
		Salted shrimp	0.597±0.010 ^h
	Fishes	Salted viscera	2.057±0.102 ^c
		Squid, salted	1.283±0.094 ^e
		Crabmeat, raw	0.118±0.003 ^k
		Crabmeat, blanched	0.100±0.000 ^k
		Squid, domestic	0.114±0.002 ^k
Fishes	Fishes	Squid, imported	0.049±0.003 ^k
		Mackerel, solid, canned	0.165±0.000 ^{jk}
		Mackerel, whole, canned	ND ^{l)}
		Pacific saury, whole, canned	ND
		Pacific saury, solid, canned	ND
		Pollock, dried	0.459±0.028 ^{hi}
		Salmon, solid, canned	0.316±0.010 ^{ij}
		Salmon, whole, canned	ND
Smoked salmon, raw	1.046±0.011 ^f		

^{l)}ND: not detected
^{a-k}Mean with different letters in the same column under food group are significantly different by Duncan's multiple range test at p<0.05.

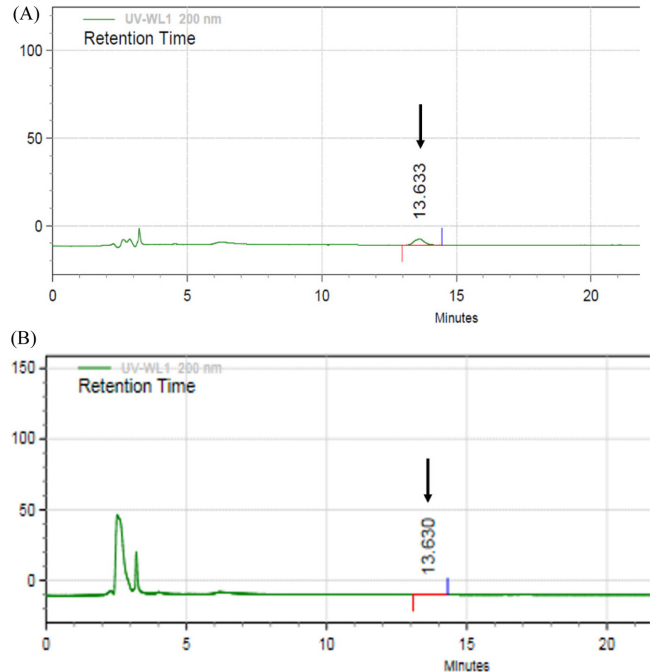
은 동물성 식품에는 biotin 함량이 대체적으로 낮은 수준이므로 충분한 biotin의 섭취를 위해서는 식단의 구성에 유의해야 할 것으로 판단된다.

3. Biotin 분석법 검증 및 내부 분석품질관리

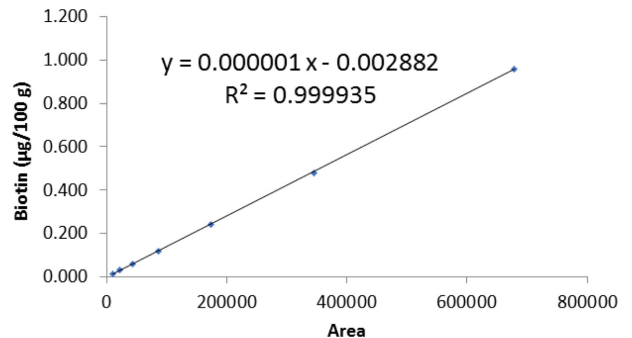
본 연구에서 사용한 biotin 분석의 LOD와 LOQ는 각각 0.007 µg/100 g과 0.023 µg/100 g로 나타났다<Table 3>. 일반적으로 LOD와 LOQ는 신호잡음비(signal-to-noise)로 구하며, 이는 baseline에 대한 noise와 검출되는 peak의 비를 이용한 방법으로 수치가 낮을수록 해당 물질이 해당 분석법 조건에서 민감하게 검출되는 것을 의미한다(Kergaravat et al. 2012). Shin et al.(2016)의 연구에 따르면 HPLC MS/MS를 사용한 biotin 분석에서의 LOD와 LOQ를 각각 0.1 ng/mL와 0.31 ng/mL로 보고하였다. 따라서 본 연구에 사용된 biotin의

<Table 3> Limit of detection and quantitation of biotin analyze using immunoaffinity-HPLC method

Limit of detection (µg/100 g)	Limit of quantitation (µg/100 g)
0.007	0.023



<Figure 1> HPLC chromatogram of biotin standard (A) and SRM 1845a (B).



<Figure 2> Biotin standard curve.

분석법은 HPLC MS/MS를 사용한 분석법에 비하여 더욱 우수하게 biotin을 검출할 수 있는 것으로 판단된다.

본 연구에서는 biotin 분석법을 검증하기 위해 표준곡선, 검출한계 및 정량한계, 회수율을 구하였다. Biotin의 특이성은 biotin의 표준물질과 SRM 1845a에서 얻은 크로마토그램을 비교하여 다른 물질의 간섭없이 단일 peak가 분리되는 것을 확인하였다<Figure 1>.

Biotin 표준물질과 시료에서 각각 13.633분 및 13.630분에서 peak가 확인되었다. 또한 표준곡선의 상관계수(R²)는 0.9999 이상이였으며, 직선성이 우수함을 확인할 수 있었다<Figure 2>.

<Table 4> Accuracy of immunoaffinity-HPLC assay for biotin contents analysis

Sample	Biotin content (mg/kg)		Accuracy (%)
	Reference value ¹⁾	Analysis value ²⁾	
SRM 1845a (whole egg powder)	0.75±0.31	0.75±0.00	100.47

¹⁾Reference value is the true value provided by NIST.
²⁾Analysis value is the experimental value obtained by immunoaffinity-HPLC assay for biotin.

Biotin 분석의 정확성 검증을 위하여 표준인증물질인 SRM 1845a (whole egg powder)를 사용하였으며, 분석값은 0.75±0.00 mg/kg으로 100.47%의 우수한 회수율을 보여주었다. AOAC 가이드라인(2016)에서는 시료의 농도가 µg/100 g 수준일 경우 수용 가능한 분석법의 회수율을 70-125%로 제시하고 있다<Table 4>.

또한 본 연구에서는 시판 조제 분유를 활용하여 spike 테스트를 실시하였으며, 회수율은 95.354-105.02%의 범위를 나타내었다. Shin et al.(2016)의 연구에 따르면 spike test를 실시하였을 때 99-104%의 회수율을 나타냈으며, Kim et al. (2003)의 연구에는 biotin의 평균 회수율을 89.10-109.00%로 보고하였다. 이와 같이 본 연구에서 사용한 biotin 분석법은 기존 연구와 비교하였을 때 AOAC가이드라인(2016)에서 제시하는 기준을 충족하는 것으로 나타났다<Table 5>.

본 연구에서는 biotin 분석에 대한 내부 품질관리를 위하

<Table 6> Precision for biotin contents for infant/adult nutritional formula

Parameters	Precision	
	Repeatability ¹⁾	Reproducibility ²⁾
Mean (µg/100 g)	35.514	35.109
In house quality control SD	1.435	1.347
RSD%	4.041	3.835

¹⁾Repeatability refers to the results of 5 independent determinations carried out on a sample by analyzing 5 replicates of the sample on the same day.

²⁾Reproducibility refers to the results of 5 independent determinations carried out on a sample by analyzing 5 replicates of the sample at different periods of time.

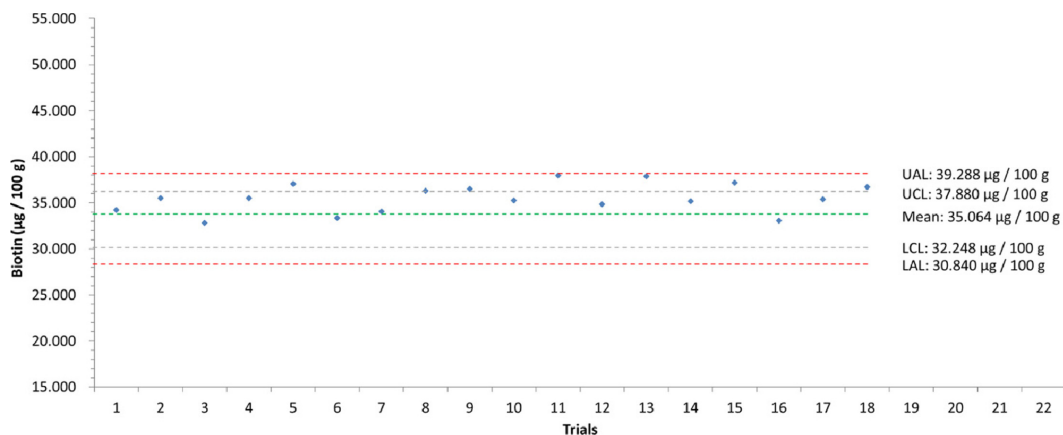
여 조제 분유에 함유된 biotin을 10회 이상 반복 분석한 후 관리 상·하한선(UCL 및 LCL)과 조치 상·하한선(UAL 및 LAL)을 설정하여 QC chart를 작성하였다<Figure 3>. 평균 분석값은 35.064 µg/100 g으로 설정하였으며, 관리 상·하한선은 각각 37.880, 32.248 µg/100 g이었고 조치 상·하한선은 각각 39.288, 30.840 µg/100 g으로 설정하여 관리하였다. 시판 조제 분유는 시료를 분석할 때 마다 함께 분석하였고, 분석 결과는 모두 관리 상·하한선에 포함되었다. 이와 같은 내부 분석품질관리를 통해 biotin 분석값에 대한 신뢰성을 확보할 수 있었다.

또한 본 연구에서는 biotin 분석법의 정밀성을 평가하기 위해 조제분유를 이용하여 반복성과 재현성을 평가하였다.

<Table 5> Spike test recovery of immunoaffinity-HPLC assay for biotin

Sample	Spike biotin content (µg/g)	Observed biotin content (µg/g) ¹⁾	Recovery (mean±SD)	RSD%
In house quality control	0.125	0.131±0.005	105.02±4.033	3.840
	0.250	0.238±0.002	95.354±0.905	0.949
	0.500	0.482±0.017	96.403±3.463	3.593

¹⁾Observed biotin content was the value obtained by subtracting the biotin content of the in-house quality control sample.



<Figure 3> The quality control chart of immunoaffinity column/HPLC analysis for biotin. Upper and lower control lines (UCL and LCL)=mean±2SD, upper and lower action lines (UAL, LAL)=mean±3SD.

Biotin 분석에 대한 반복성과 재현성의 RSD%는 각각 4.041%와 3.835%였다. AOAC가이드라인(2016)에서는 정밀성이 확보된 RSD%의 수용 범위를 1 µg/100 g 수준에서 반복성의 경우 8%, 재현성의 경우 16%로 제시하고 있다. 본 연구의 반복성과 재현성의 결과는 모두 AOAC에서 제시하는 수준보다 낮은 값이었고, 본 분석법의 정밀성은 매우 우수한 것으로 판단되었다<Table 6>.

IV. 요약 및 결론

Biotin은 모든 생명체의 세포에 존재하며 탄수화물, 지방, 및 아미노산 대사에 중요하고 다양한 생리활성이 있는 것으로 보고되어 있다. 본 연구에서는 immunoaffinity column을 이용하여 우리나라에서 다소비되는 식품 51종에 함유된 biotin 함량을 알아보았다. 다소비 식품의 biotin의 함량을 분석한 결과 식물성 식품군에서는 건조 호박(8.379±0.149 µg/100 g)과 흰구슬 팥(11.475±0.076 µg/100 g)의 biotin 함량이 높게 나타났다. 흰구슬 팥의 biotin 함량은 1일 충분 섭취량 대비 약 38.3%로 나타났으며, biotin의 충분한 섭취를 위해서는 다른 식품군과 함께 섭취해야 할 것으로 생각된다. 소고기의 부위별 biotin 함량은 0.146-0.243 µg/100 g이었으며, 부위에 따른 biotin 함량의 차이는 유의적이지 않은 것으로 나타났다. 소고기의 biotin 함량은 1일 충분 섭취량 대비 1% 이하였다. 또한 수산물에서 가장 높은 biotin 함량을 나타낸 것은 명란젓(7.486±0.021 µg/100 g)이었으며, 1일 충분 섭취량의 24.6%였다. 본 연구 결과 충분한 biotin의 섭취를 위해서는 육류와 수산물 식품보다는 곡류 및 두류의 섭취가 유리하며, 여러 식품과 어울려 함께 섭취해야 할 것으로 판단된다. 본 연구에서 사용된 biotin 분석법의 특이성, 직선성, 정확성, 정밀성, LOD 및 LOQ는 모든 지표가 분석법 검증 가이드라인에 부합하였다. 또한 내부 분석품질관리를 통해 biotin 분석 결과의 신뢰성을 확보할 수 있었다. 본 연구에서는 우리나라에서 다소비되는 식품의 biotin 함량에 관한 정보를 제공하며, 이는 국가표준식품성분표 및 국가영양정책 수립에 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 글

이 논문은 2019년도 농촌진흥청 연구사업(세부과제번호: PJ013398042019)의 지원에 의하여 연구되었고, 일부 2020년도 Brain Busan 21 플러스 사업에 의하여 지원되었으며, 이에 감사드립니다.

저자정보

권지현(경성대학교 식품생명공학과 대학원, 석사, 0000-0003-0459-6676)

천원영(경성대학교 식품생명공학과 대학원, 석사, 0000-

0002-5578-3693)

이상훈(국립농업과학원, 농업연구사, 0000-0003-4190-3356)

최용민(국립농업과학원, 농업연구사, 0000-0002-8633-4671)

김영화(경성대학교 식품응용공학부, 교수, 0000-0003-4186-887X)

Conflict of Interest

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

References

- AOAC. AOAC guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. Association of Official Agricultural Chemists International, Gaithersburg, MD, USA. 2016
- Gill BD, Saldo S, Wood JE, Indyk HE. 2018. A rapid method for the determination of biotin and folic acid in liquid milk, milk powders, infant formula, and milk-based nutritional products by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J AOAC Int.* 101(5):1578-1583
- Holler U, Wachter F, Wehrli C, Fizet C. 2006. Quantification of biotin in feed, food, tablets, and premixes using HPLC-MS/MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 831(1-2):8-16
- Hwang IG, Byun JY, Kim KM, Jung MN, Yoo SM. 2014. Vitamin C quantification of Korea sweet potatoes by cultivar and cooking method. *J Korean Soc Food Sci Nutr.* 43(6):955-961
- Hwang JH, Kim JM. 2001. Physicochemical properties of commercial salt-fermented shrimp. *J Korea Soc Food Sci Nutr.* 30(4):760-763
- Joseph G, Devi R. 2018. Determination of total biotin by liquid chromatography coupled with immunoaffinity column cleanup extraction: multilaboratory testing, Final Action 2016.02. *J AOAC Int.* 101(3):831-842
- Kergaravat SV, Gomez GA, Fabiano SN, Laube Chavez TI, Pividori MI, Hernandez SR. 2012. Biotin determination in food supplements by an electrochemical magneto biosensor. *Talanta.* 97:484-490
- Kim DS, Lee YJ, Jeong DY, Lee DY, Ahn MK. 2003. Determination of biotin by HPLC. *Anal Sci Technol.* 16:499-503
- Kim JH, Hwang HW, Cho YJ, Park JW. 2020. A study on collecting representative food samples for the 10th Korean standard foods composition table. *The Korean Journal of Applied Statistics.* 33(2):215-228
- Kim JY, Oh CH. 2011. Analysis of biotin in Korean representative foods and dietary intake assessment for

- Korean. Food Sci Biotechnol. 20(4):1043-1049
- Kwon JH, Lee SH, Choi Y, Kim Y. 2019. Biotin analysis in selected agricultural foods consumed in Korea. *J Korea Soc Food Sci Nutr.* 48(12):1366-1372
- Lin Q, Ding Y, Poh F, Zhang C, Pan SJ, Schimpf KJ. 2017. Determination of biotin in infant, pediatric, and adult nutritional products by high-performance liquid chromatography and fluorescence detection: single-laboratory validation, First Action 2016.11. *J AOAC Int.* 100(1):145-151
- Livaniou E, Costopoulou D, Vassiliadou I, Leondiadis L, Nyalala JO, Ithakissios DS, Evangelatos GP. 2000. Analytical techniques for determining biotin. *J Chromatogr A.* 881(1-2):331-343
- Luong JHT, Male KB, Glennon JD. 2019. Biotin interference in immunoassays based on biotin-strept (avidin) chemistry: An emerging threat. *Biotechnol Adv.* 37(5):634-641
- Shin YW, Lee HJ, Ham HS, Shin SC, Kang YJ, Hwang KM, Kwon YK, Seo IW, Oh JM, Koo YE. 2016. Establishment of biotin analysis by LC-MS/MS method in infant milk formulas. *J Food Hyg Saf.* 31(5):327-334
- Watanabe T, Kioka M, Fukushima A, Morimoto M, Sawamura H. 2014. Biotin content table of select foods and biotin intake in Japanese. *Int J Anal Bio Sci.* 2(4):109-125
- Yomota C, Ohnishi Y. 2007. Determination of biotin following derivatization with 2-nitrophenylhydrazine by high-performance liquid chromatography with on-line UV detection and electrospray-ionization mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 1142(2): 231-235

Received June 9, 2020; revised June 18, 2020; accepted June 22, 2020