

## Research Article



Received: Oct 20, 2020

Revised: Jan 22, 2021

Accepted: Feb 4, 2021

### Correspondence to

Jiyeon Chun

Department of Food Science and Technology,  
Suncheon National University, 255 Jungang-ro,  
Suncheon 57922, Korea.

Tel: +82-61-750-3258

E-mail: cjyfall@scnu.ac.kr

© 2021 The Korean Nutrition Society

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.


### ORCID iDs

Eun-Young Park 

<https://orcid.org/0000-0003-0226-6278>

Bomi Jeong 

<https://orcid.org/0000-0002-0698-5467>

Jiyeon Chun 

<https://orcid.org/0000-0002-0093-0203>

### Funding

This research was supported by a grant (17162MFDS082) from Ministry of Food and Drug Safety in 2017–2019.

### Conflict of Interest

There are no financial or other issues that might lead to conflict of interest.

# 한국인 상용 수산물 식단의 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub> 함량

박은영 , 정보미 , 천지연 

순천대학교 식품공학과

## Contents of vitamin B<sub>9</sub> (folate) and B<sub>12</sub> (cobalamins) in commonly consumed seafood menus in Korea

Eun-Young Park , Bomi Jeong , and Jiyeon Chun 

Department of Food Science and Technology, Suncheon National University, Suncheon 57922, Korea

### ABSTRACT

**Purpose:** A total of 39 seafood menus were prepared according to the Korean standard recipe, and analyzed for vitamin B<sub>9</sub> (folate) and B<sub>12</sub> (cobalamins) contents, using validated analytical methods. The menus included *Guk/Tang/Jjigae* (boiled or stewed dishes, n = 10), *Bokkeum* (stir-fried dishes, n = 10), *Jjim/Jjorim* (braised or steamed dishes, n = 7), *Gui* (baked or grilled dishes, n = 7), *Twigim* (deep-fried dishes, n = 2) and *Muchim* (dried or blanched-seasoned dishes, n = 3).

**Methods:** The contents of vitamin B<sub>9</sub> and B<sub>12</sub> in all food samples were determined by the trienzyme extraction-*Lactobacillus casei* and immunoaffinity-high-performance liquid chromatography/photodiode array detection methods. Analytical quality control was performed in order to assure reliability of the analysis.

**Results:** Accuracy (97.4–100.6% recoveries) and precision (< 6% relative standard deviations for repeatability and reproducibility) of vitamin B<sub>9</sub> and B<sub>12</sub> analyses were determined to be excellent. The vitamin B<sub>9</sub> and B<sub>12</sub> contents of the 39 seafood menus evaluated, varied in the range of 1.83–523.08 µg/100 g and 0.11–38.30 µg/100 g, respectively, depending on the ingredients and cooking methods. The vitamin B<sub>9</sub> content was highest in *Jomi-gim* (523.08 µg/100 g), followed by *Geonsaeu-bokkeum* (128.34 µg/100 g) and *Janmyeolchi-bokkeum* (121.53 µg/100 g). Vitamin B<sub>12</sub> was detected in all seafood menus, with highest level obtained in *Kkomack-jjim* (41.58 µg/100 g). The seaweed dish was found to have high levels of both vitamin B<sub>9</sub> and B<sub>12</sub>. All assays were performed under strict quality control.

**Conclusion:** *Guk* and *Tang* menus, which contain a large amount of water, were relatively lower in the vitamin B<sub>9</sub> and B<sub>12</sub> contents than the other menus. *Bokkeum* menus containing various vegetables were high in the vitamin B<sub>9</sub> content, but the vitamin B<sub>12</sub> content was dependent on the type of seafood used in the menu.

**Keywords:** vitamin B<sub>9</sub>, vitamin B<sub>12</sub>, seafood, database, quality control

## 서론

비타민은 섭취해야 하는 필수영양소로 용해도에 따라 지용성과 수용성으로 분류되는데 특히 수용성 비타민은 섭취 후 인체에 저장되지 않고 소변으로 배출되기 때문에 식단이나 보조제를 통해 권장량을 매일 섭취해야 한다 [1]. 수용성 비타민 중 하나인 비타민 B<sub>12</sub> (cobalamins)는 미생물에 의해 합성된 코발트를 포함하고 있는 tetrapyrrole 복합체이며, 체내에서 methylcobalamin 및 adenosyl cobalamin으로 전환되어 활성을 가진다고 알려져 있다 [2-4]. 체내에 흡수된 비타민 B<sub>12</sub>는 methylmalonyl-coenzyme A (CoA)에서 succinyl-CoA로의 전환반응에 조효소로 작용하며, purine 대사, 미엘린 합성 및 적혈구 생성에 관여하는 것으로 알려져 있다 [5,6]. 또한, 비타민 B<sub>12</sub>는 비타민 B<sub>9</sub> (folate)과 함께 호모시스테인으로부터 메티오닌의 합성되는 과정에 필요한 영양소로 상호 밀접한 관계가 있는 비타민으로 알려져 있다. 비타민 B<sub>12</sub>가 결핍되면 호모시스테인으로부터 메티오닌의 합성과정이 저해되어 체내의 methyl-tetrahydrofolate가 다른 형태로 전환되지 못하고 축적되기 때문에 비타민 B<sub>9</sub> 대사를 억제하는 결과를 초래하게 된다. 세포 내에 비타민 B<sub>9</sub>이 충분량 존재한다 하더라도 DNA 합성과 세포분열이 저해되어 거대적아구성 빈혈, 위장장애, 허약감, 피로 등의 증세가 나타날 수 있는 이유가 바로 이 때문이다 [7]. 특히 임산부의 경우 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub>를 충분히 섭취하는 것이 모체의 조혈작용을 활발하게 하고, 태아의 신경계 기능 장애 예방 및 태아 성장을 원활하게 하는데 매우 중요하다 [5]. 따라서, 식이에 대한 영양평가를 위해서는 식품 중의 비타민 B<sub>9</sub> 함량과 함께 비타민 B<sub>12</sub>의 수준을 평가하는 것이 바람직하다.

비타민 B<sub>9</sub>은 식품 자원 중 동식물성 자원에 널리 분포되어 있는 반면 비타민 B<sub>12</sub>는 주로 동물성 자원과 일부 해조류와 버섯류에 국한되어 존재한다. 우리나라는 지리적 특성으로 인해 동해, 서해, 남해에서 다양한 수산 자원이 어획되며 사계절이 뚜렷한 환경으로 어류, 해조류 등 제철에 맞는 수산물을 이용한 조리 메뉴가 발달되어 왔다. 수산물은 생것, 볶음, 구이, 무침, 찜, 탕 등의 다양한 방법으로 조리 섭취되고 있으며, 통조림, 어육가공품, 건어포류 등 여러 형태로도 가공되어 식단에 이용되고 있다 [8]. 수산자원은 동물성 단백질의 주요 공급원으로 서고혈압, 당뇨, 비만 등의 예방과 치료에 효과적인 성분을 가지고 있다고 알려져 있고 특히, 어패류와 해조류와 같은 수산물은 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub>가 모두 풍부하게 존재한다고 알려져 있다. 현재 국내에서 이용되는 수산물의 영양성분에 관한 정보는 조리하지 않은 원재료에 관한 자료가 대부분이며 다양한 형태로 조리 및 가공된 수산식품에 대한 데이터베이스는 매우 제한적이다. 따라서, 수산자원 섭취에 따른 영양평가를 위해서는 국내 수산자원을 활용한 한국 조리 식품 중의 비타민 함량에 대한 데이터베이스 구축이 필요하다.

본 연구는 한국인이 주로 상용하는 수산물을 이용한 다소비 메뉴 39종을 선정하고, 이를 기준레시피로 조리한 후 이들에 대한 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub> 함량을 분석하였다. 또한, 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub> 함량 분석에 사용된 분석법을 검증하고 시료 분석 전 기간 동안 분석품질관리를 수행하여 국가 식품영양성분 데이터베이스 자료 구축으로의 활용을 위한 신뢰도를 확보하고자 하였다.

## 연구방법

### 시약

비타민 B<sub>9</sub> 표준품 folic acid (purity 98.9%), 비타민 B<sub>12</sub> 표준품 cyanocobalamin (purity 100.0%), protease,  $\alpha$ -amylase는 Sigma-Aldrich사 (St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, sodium acetate trihydrate와 아세트산 (acetic acid)은 Wako사 (Osaka, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 비타민 B<sub>9</sub> 분석에 사용된 *Lactobacillus casei* subsp. *Rhannosus* (ATCC 7469)는 American Type Culture Collection (ATCC; Manassas, VA, USA)에서 구입, 냉동보관하여 사용하였으며, 배양배지로 사용된 folic acid casei medium, lactobacili agar AOAC, lactobacili broth AOAC는 Difco사 (Beckton-Dickinson, Sparks, MD, USA)에서 구입, 냉장보관하여 사용하였다. Folate conjugase (chicken pancreas)는 Pel-Freeze Biologicals (Rogers, AR, USA)에서 구입하여 사용하였다. 증류수는 순수 제조기 (Aqua Max™-Ultra; Young Lin Instrument Co., Anyang, Korea)로 정제된 물을 사용하였으며, 비타민 B<sub>12</sub> 분석에 사용된 물은 J.T.Baker (Center Valley, PA, USA)에서 구입하여 사용하였다. 분석법 검증에 사용된 표준참고물질 (standard reference material, SRM) SRM 1849a (infant/adult nutritional formula)는 미국 국립표준기술연구소 (National Institute of Standards and Technology, NIST; Gaithersburg, MD, USA)로부터 구입하여 사용하였으며, 기타 사용된 시약과 용매는 high-performance liquid chromatography (HPLC)급 및 GR등급 이상을 사용하였다.

### 시료준비

본 연구는 식품의약품안전처 국가식품영양성분 데이터베이스 확충 사업의 일환으로 한국인의 식습관과 섭취량을 고려하여 선정된 다소비 수산 식품에 대한 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub>의 데이터베이스 구축을 목적으로 수행되었다. 한국인이 주로 섭취하는 다소비 수산물 메뉴 39종을 기준레시피를 이용하여 조리한 후 균질화한 다음 -70°C에서 동결시켰다 (숙명여자대학교, 서울). 동결된 시료는 드라이아이스로 포장하여 분석실험실 (순천대학교, 순천, 전남)로 배송되어 분석 전까지 -70°C에서 보관하였다.

### 비타민 B<sub>9</sub> 추출 (trienzyme extraction)

균질화하여 냉동 보관된 시료를 실온에서 해동시킨 후 250 mL 광구 삼각플라스크에 1 g씩 칭량하였다. 지방 함량이 높은 시료는 지방을 hexane으로 제거한 다음 추출하였다. 시료를 칭량한 삼각플라스크에 20 mL sodium phosphate buffer (pH 7.8)와 30 mL 증류수를 차례로 첨가한 후 15분간 100°C 항온수조 (WB-20M; Jeio Tech, Daejeon, Korea)에서 열탕 처리하였다. 시료 플라스크를 실온으로 냉각시킨 후 1 mL protease (2 mg/mL)와 10 mL sodium phosphate buffer (pH 7.8)를 가하여 3시간 동안 37°C 진탕 배양기에서 반응시켰다. 10분간 100°C에서 열탕처리하여 protease를 불활성화시킨 후 실온으로 냉각하여 1 mL  $\alpha$ -amylase (20 mg/mL)와 0.5 mL toluene을 가한 다음 2시간 동안 37°C 진탕 배양기에서 처리하였다. 마지막으로 4 mL folate conjugase solution (5 mg/mL in sodium phosphate buffer, pH 7.8)을 가한 후 37°C 진탕 배양기에서 최대 16시간 반응 다음 5분간 열탕 처리하여 효소 불활성화시켰다. 시료 반응액은 HCl용액을 이용하여 pH 4.5로 조정한다음 100 mL로 정용하고 잘 혼합한 후 추출용액을 여과지 (Whatman No.1; GE Healthcare, Amersham, UK)로 여과하여 *L. casei* assay용 추출액으로 사용하였다.

### 비타민 B<sub>9</sub> 정량 분석 (*L. casei* 생육도 측정법)

시료 추출액의 비타민 B<sub>9</sub> 정량은 *L. casei*가 비타민 B<sub>9</sub>의 농도에 따라 성장하는 생육도를 micro-

plate reader를 이용하여 측정하였다. 고체 배지에 생육된 *L. casei*는 분석 당일 비타민 B<sub>9</sub> 결핍배지 (folic acid casei medium:Lactobacilli broth = 1:1, v/v)에 접종한 후 37°C에서 약 6시간 배양하여 사용하였다. 비타민 B<sub>9</sub>의 microbiological assay에 사용된 분석 배지는 folic acid casei medium 10 mL을 기준으로 *L. casei* 50 µL와 ascorbic acid (0.1 g/mL) 100 µL를 혼합하여 제조하였다. 이후 96-well plate에 시료 추출액 (150 µL)을 넣고 단계 희석한 다음 시료 추출액이 있는 각각의 well에 150 µL 분석 배지를 가한 후 37°C에서 18–20시간 동안 배양하였다. *L. casei* 생육도는 microplate reader (Biotek Instruments, Winooski, VT, USA)를 이용하여 흡광도 595 nm에서 측정하였다. 비타민 B<sub>9</sub> 함량은 *L. casei* 생육도를 비타민 B<sub>9</sub> 표준용액에 대한 미생물 성장 반응곡선 (검량선)으로 계산하였다. 검량선은 microplate reader 기기의 Gen5 데이터 분석 소프트웨어 (version 2.04; Biotek Instruments)를 사용하였으며 비타민 B<sub>9</sub> 함량은 µg/100 g으로 계산하여 나타내었다. 효소 공시험 (blank)과 분석품질관리도 같은 방법으로 시료와 함께 분석하였다.

### 비타민 B<sub>12</sub> 추출 및 정제

비타민 B<sub>12</sub> 추출은 Jang 등 [9]의 방법을 따라 250 mL 유리시험관에 균질화된 시료 5 g을 칭량한 후 0.2 M sodium acetate trihydrate buffer (pH 4.0) 49.5 mL과 1% sodium cyanide 0.5 mL를 가한 후 10분간 초음파 (Cole-Parmer 8893; Cole-Parmer, Chicago, IL, USA) 처리하였다. 100°C 항온수조에서 1시간 추출하였으며 추출된 시료는 실온으로 냉각한 후 buffer를 가하여 50 mL로 정용한 다음 Whatman No.1으로 여과하여 사용하였다. 냉장 보관되어 있는 immunoaffinity column (Easi-Extract Vitamin B<sub>12</sub>; r-Biopharm, Glasgow, UK)을 30분간 실온에서 방치한 다음 column 내에 충전된 완충용액을 제거하고 3 mL water를 주입하여 column을 활성화시켰다. 여과된 시료 추출액을 비타민 B<sub>12</sub> 농도에 따라 3 mL씩 4회까지 주입하여 추출액 중의 비타민 B<sub>12</sub>를 column에 흡착시킨 후 3 mL water를 3회 주입함으로써 불순물을 세척하였다. 세척주사기로 air (40 mL)를 주입하여 column 내 수분을 제거한 후 메탄올 3 mL를 column에 주입하여 흡착된 비타민 B<sub>12</sub>를 용해시켜 시험관에 수집하였다. 메탄올 추출액은 질소농축기 (EYELAMG-2200; Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan)를 이용하여 모두 휘발시킨 다음 0.5 mL water를 가하여 재용해시켰다. 재용해된 시험용액은 0.45 µm membrane filter (cellulose acetate, DISMIC®-13CP; Advantec®, Osaka, Japan)로 여과하여 갈색병에 담은 뒤 HPLC의 분석 시료로 사용하였다.

### 비타민 B<sub>12</sub> 정량 분석 (HPLC-photodiode array detection [PDA])

비타민 B<sub>12</sub> 표준용액은 표준품 cyanocobalamin을 1 mg/mL의 농도로 stock solution을 제조하고 냉장보관하여 사용하였으며, 시료의 비타민 B<sub>12</sub> 농도 수준에 따라 working solution으로 희석하여 HPLC 시스템 (1260 infinity; Agilent, Santa Clara, CA, USA)으로 분석하였다. 분석에 사용된 컬럼은 C<sub>18</sub> ACE 3 AQ (3 mm×150 mm; ACE, Aberdeen, UK)이며, photodiode array detector (Agilent)를 사용하여 361 nm에서 비타민 B<sub>12</sub>를 검출하였다. 이동상은 water를 이동상 (A), acetonitrile를 이동상 (B)로 사용하였다. 성분 분리를 위한 이동상 변화 (gradient) 조건은 초기에 이동상 (A) 100%로 시작하여 11분 동안 이동상 (A) 85%, 11–19분 동안 이동상 (A) 75%, 19–20분 이동상 (A) 90%, 20–26분 이동상 (A) 100%가 되도록 하였으며 이후 26–35분 동안 유지시켰다. 이때 이동상 유량은 0.25 mL/min, 컬럼 오븐 온도는 35°C, 주입량은 100 µL였다.

### 분석법 유효성 검증

Vitamin-Association of Official Analytical Chemists (AOAC) 가이드라인 [10]에 따라 비타민 B<sub>9</sub> 및 B<sub>12</sub> 분석법 검증을 진행하였다. HPLC로 분석한 비타민 B<sub>12</sub>의 특이성 (specificity)은 표준

용액 피크와 표준참고물질인 SRM 1849a 추출액 피크의 머무름 시간 (retention time)과 PDA 스펙트럼 (200–600 nm)을 상호 비교하였다. 정확성 (accuracy)은 표준참고물질 SRM 1849a (infant/adult nutritional formula)를 분석하여 NIST에서 제시한 인증값과 분석으로 얻어진 측정값을 비교하여 회수율 (%)로 계산하였다. 또한 4종의 수산물 시료의 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub> 농도 수준의 100%에 해당되는 표준물질을 첨가한 후 분석하여 회수율 (%)을 계산하였다. 정밀성 (precision)은 품질관리 (quality control [QC]) 시료로 이용되는 commercial folic acid fortified flour (상업용 비타민 B<sub>9</sub> 강화 밀가루, premium hard wheat flour, sun peaks 206; Rogers Foods LTD., Armstrong, Canada)와 commercial infant formula (영아용 분유, Premium with mom; Pasteur, Seoul, Korea)를 추출부터 분석까지 하루에 독립적으로 5회 분석하여 반복성 (repeatability, inter-day precision)을 계산하였으며, 5일간 하루에 한 번씩 3반복으로 분석한 결과를 재현성 (reproducibility, intra-day precision)으로 계산하여 검증하였다.

*L. casei*의 생육도를 이용한 비타민 B<sub>9</sub> 분석법은 다항관계식의 상관지수 (correlation coefficient)를 분석하였으며, 분석성분의 농도에 따른 분석법의 정량적 반응의 상관성은 HPLC 기기분석을 이용한 비타민 B<sub>12</sub> 분석의 직선성 (linearity)을 조사하였다 즉, 비타민 B<sub>9</sub>의 농도에 따른 미생물의 생육 특성은 표준용액 folic acid 농도에 따른 *L. casei* 성장도와와의 관계를 분석하였으며, 표준용액인 cyanocobalamin을 원하는 농도로 제조하여 HPLC로 측정된 크로마토그램 피크의 면적과 농도와의 직선성을 분석하였다. 비타민 B<sub>9</sub>의 검출한계와 정량한계는 표준용액을 단계별로 희석하여 계산 가능한 최소 optical density값 평균에 표준편차를 각각 3.3과 10으로 곱한 값을 더하여 구하였으며, 비타민 B<sub>12</sub>의 검출한계 (limit of detection [LOD])와 정량한계 (limit of quantification [LOQ])는 공시험 시료 크로마토그램의 signal-to-noise의 평균값에 표준편차를 각각 3.3과 10으로 곱한 값을 더하여 산출하였다.

### 분석 품질관리 (QC)

비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub>의 분석품질관리는 AOAC 가이드라인 [10]을 참고하여 수행하였다. 모든 시료의 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub> 함량 분석 시 QC 시료를 함께 분석하여 품질관리도표 (QC chart)에 작성하였다. QC chart의 초기 기준선은 상대표준편차가 5% 이내인 최소 10개의 데이터를 사용하여 평균값을 기준값으로 설정하였다. 연구가 진행된 전 기간 동안의 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub>에 대한 분석품질을 관리하였다. 관리상한선 및 관리하한선 (upper control line [UCL] and lower control line [LCL]), 그리고 조치상한선 및 하한선 (upper action line [UAL] and lower action line [LAL])은 다음과 같이 설정하여 분석품질관리에 적용하였다.

$$\text{UCL and LCL} = \text{평균} \pm (2 \times \text{표준편차})$$

$$\text{UAL and LAL} = \text{평균} \pm (3 \times \text{표준편차})$$

## 결과

### 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub> 분석법의 유효성 검증

본 연구에서 trienzyme extraction-*L. casei*를 이용한 비타민 B<sub>9</sub> 분석과 immunoaffinity column을 이용한 비타민 B<sub>12</sub> 분석의 정확성 검증을 위해 표준참고물질을 분석한 결과는 Table 1과 같다. Trienzyme extraction-*L. casei* 분석법으로 분석한 SRM 1849a의 비타민 B<sub>9</sub> 함량은 220.3 ± 1.0



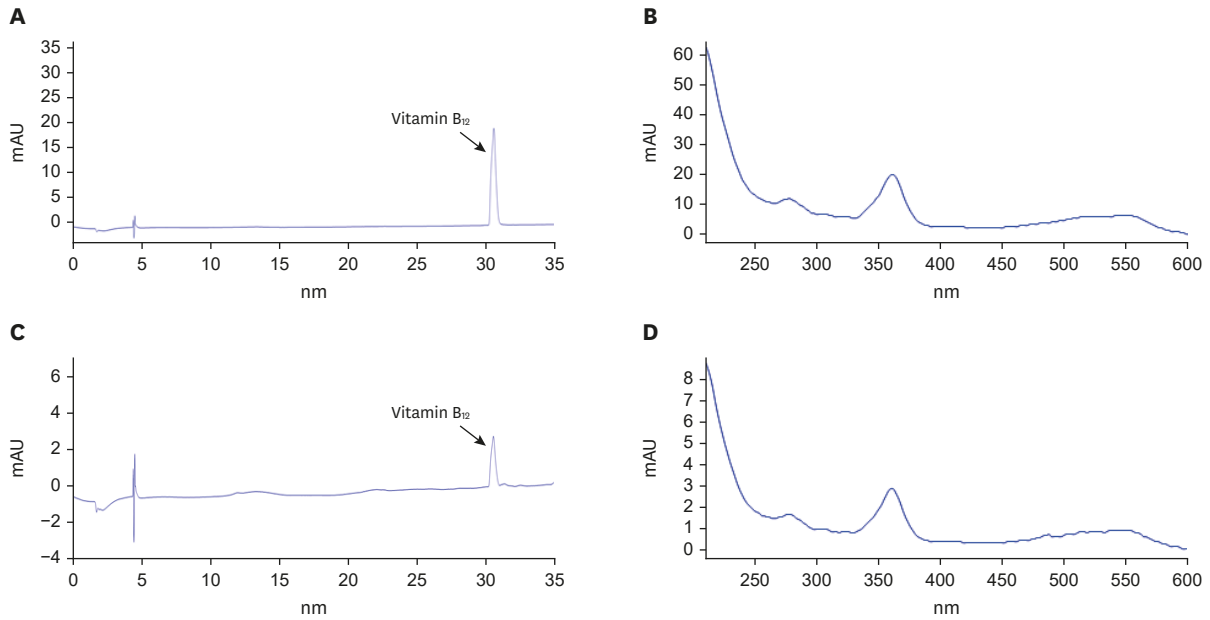


Fig. 1. HPLC chromatograms and PDA spectrums at 200–600 nm of cyanocobalamin (vitamin B<sub>12</sub>) in standard (A, B) and SRM 1849a sample (C, D). HPLC, high-performance liquid chromatography; PDA, photodiode array detection; SRM, standard reference material.

μg/100 g였으며 이는 SRM 1849a 인증값 (229.3 ± 3.2 μg/100 g)과 비교 시 회수율 97.4%였다. Immunoaffinity-HPLC/PDA법을 이용한 비타민 B<sub>12</sub> 분석조건인 HPLC 크로마토그램에서 비타민 B<sub>12</sub> 표준용액과 표준참고물질 피크의 머무름 시간이 약 30.5분대로 모두 일치하였으며, PDA 스펙트럼 (200–600 nm)을 비교한 결과 전 범위에서 흡광패턴이 거의 일치하여 분석 특이성을 확인할 수 있었다 (Fig. 1). SRM 1849a의 비타민 B<sub>12</sub> 함량은 4.84 ± 0.06 μg/100 g였으며 이는 SRM 1849a 인증값 (4.82 ± 0.85 μg/100 g)과 비교 시 회수율 100.6%임을 확인하였다. 한편, 수산자원 매트릭스로부터 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub> 회수율을 조사한 결과 (Table 2), 비타민 B<sub>9</sub>의 경우 청어 87.3% ± 2.2%, 새우 109.2% ± 3.6%, 미역 105.5% ± 3.3%, 비타민 B<sub>12</sub>의 경우 청어 97.9% ± 1.6%, 꽃게 104.8% ± 7.2%, 미역 103.5% ± 3.5%를 얻어 다양한 수산자원의 매트릭스로부터 모두 높은 회수율을 얻을 수 있음을 확인하였다.

Table 1. Accuracy of vitamin B<sub>9</sub> and B<sub>12</sub> analyses from standard reference material

Analytes	SRM	Reference value <sup>2)</sup> (μg/100 g)	Analytical value <sup>3)</sup> (μg/100 g)	Recovery (%)
Vitamin B <sub>9</sub>	SRM 1849a <sup>1)</sup>	229.3 ± 3.2	220.3 ± 1.0	97.4
Vitamin B <sub>12</sub>	SRM 1849a <sup>1)</sup>	4.82 ± 0.85	4.84 ± 0.06	100.6

Values are presented as mean ± SD.

SRM, standard reference material.

<sup>1)</sup>Infant/adult nutritional formula. <sup>2)</sup>The true value for the contents of corresponding analytes in SRM provided by National Institute of Standards and Technology. <sup>3)</sup>The analytical value obtained in this study.

Table 2. Recovery of vitamin B<sub>9</sub> and B<sub>12</sub> analyses from seafood

Samples	Vitamin B <sub>9</sub> (%)	Vitamin B <sub>12</sub> (%)
Pacific herring	87.3 ± 2.2	97.9 ± 1.6
Razor mud shrimp (Vitamin B <sub>9</sub> )/Gazami crab (Vitamin B <sub>12</sub> )	109.2 ± 3.6	104.8 ± 7.2
Seersucker	105.5 ± 3.3	103.5 ± 3.5

Values are presented as mean ± SD.

**Table 3.** Precision of vitamin B<sub>9</sub> and B<sub>12</sub> analyses

Analytes (µg/100 g)	Repeatability <sup>1)</sup>			Reproducibility <sup>2)</sup>		
	Mean	SD	CV (%) <sup>3)</sup>	Mean	SD	CV (%)
Vitamin B <sub>9</sub>	183.60	0.83	0.50	192.72	5.78	3.00
Vitamin B <sub>12</sub>	6.05	0.30	4.90	5.93	0.33	5.60

CV, coefficient of variation; QC, quality control.

<sup>1)</sup>Repeatability refers to the results of independent 5 determination in triplicates obtained by analyzing a QC sample five times on the same day. <sup>2)</sup>Reproducibility refers to the results of independent 5 determinations in triplicates obtained by analyzing a QC sample five times on different days (once a day). <sup>3)</sup>CV (%) = 100 × (SD/mean).

**Table 4.** Regression model and limits of detection and quantification for vitamin B<sub>9</sub> and vitamin B<sub>12</sub> analyses

Analytes	Regression equation <sup>1)</sup>	Correlation coefficient (R <sup>2</sup> )	LOD (µg/100 g)	LOQ (µg/100 g)
Vitamin B <sub>9</sub>	$y = -0.987/(1 + (X/0.0527)^{1.06}) + 1.22$	1.0000	0.562	1.057
Vitamin B <sub>12</sub>	$y = 2065.1 \times -5.638$	0.9996	0.005	0.014

LOD, limit of detection; LOQ, limit of quantification.

<sup>1)</sup>y and x of the regression equations for vitamin B<sub>12</sub> indicate peak area (mAU) of HPLC chromatograms and the concentration of corresponding analytes (µg/mL), respectively. The letter y and x of the regression equation for vitamin B<sub>9</sub> indicate ultraviolet absorbance value at 595 nm and the concentration of folate (µg/mL), respectively.

분석의 정밀성 검증을 위한 반복성 (repeatability)과 재현성 (reproducibility)의 결과는 **Table 3**과 같다. 비타민 B<sub>9</sub>의 반복성과 재현성의 변동계수는 각각 0.5%와 3.0%를 보였고, 비타민 B<sub>12</sub>의 반복성과 재현성의 변동계수 (coefficient of variation)는 각각 4.9%와 5.6%를 보였다.

비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub> 성분 농도에 대한 검출 반응 상관성, LOD 및 LOQ는 **Table 4**와 같다. 비타민 B<sub>9</sub> 분석법의 비타민 B<sub>9</sub> 농도에 대한 *L. casei*의 성장 반응의 상관성을 분석한 결과 다항회귀식  $y = -0.987/(1 + (X/0.0527)^{1.06}) + 1.22$ 의 값을 얻었으며 높은 상관계수 R<sup>2</sup> = 1.0000의 값을 얻어 농도에 대한 반응도가 매우 우수함을 확인할 수 있었다. 비타민 B<sub>12</sub>의 표준용액인 cyanocobalamin을 각각의 농도로 제조하여 HPLC로 분석한 결과를 검량선으로 나타내어  $y = 2,065.1 \times -5.638$ 의 값을 얻었으며 R<sup>2</sup> = 0.9996으로 높은 상관계수 값을 얻어 우수함을 확인할 수 있었다. *L. casei*를 이용한 비타민 B<sub>9</sub>의 분석 검출한계와 정량한계는 각각 0.562와 1.057 µg/100 g의 값을 나타내었으며, HPLC-PDA detector를 이용하여 분석한 비타민 B<sub>12</sub>의 검출한계와 정량한계는 각각 0.005와 0.014 µg/100 g을 나타내었다.

### 분석 품질관리

본 연구에서 총 39종의 시료에 대한 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub>를 분석하는 전 기간 동안 검증된 분석법의 수행이 관리되어 진행되었는지를 조사하기 위하여 분석품질관리도표를 작성하였다. 분석품질관리는 시료를 분석할 때마다 품질관리 시료를 함께 분석하여 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub> 각각의 QC chart에 모니터링하였으며 그 결과는 **Fig. 2**와 같다. 비타민 B<sub>9</sub>은 평균값 188.16 µg/100 g을 기준으로 설정하였으며 관리선 175.79–200.53 µg/100 g 범위와 조치선 169.60–206.72 µg/100 g 범위 안에서 분석값을 관리하였다. 비타민 B<sub>12</sub>는 평균값 5.99 µg/100 g을 기준으로 설정하였으며 관리선 5.38–6.59 µg/100 g 범위와 조치선 5.08–6.90 µg/100 g 범위 안에서 분석값을 관리하였다. 본 연구가 수행되는 기간 동안 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub>의 QC 시료의 분석값을 검토한 결과 모든 값이 관리 상·하한선 범위에 들어가는 것을 확인하여 시료 분석 데이터의 신뢰도를 보여 주는 것으로 판단된다.

### 한국인 상용수산물 메뉴의 비타민 B<sub>9</sub> 함량

한국인이 주로 섭취하는 수산물로 조리된 메뉴 총 39종의 비타민 B<sub>9</sub> 함량을 분석한 결과는 **Table 5**와 같다. 메뉴는 수산물을 이용하여 주로 물을 가하여 장시간 끓이는 조리법을 사용하

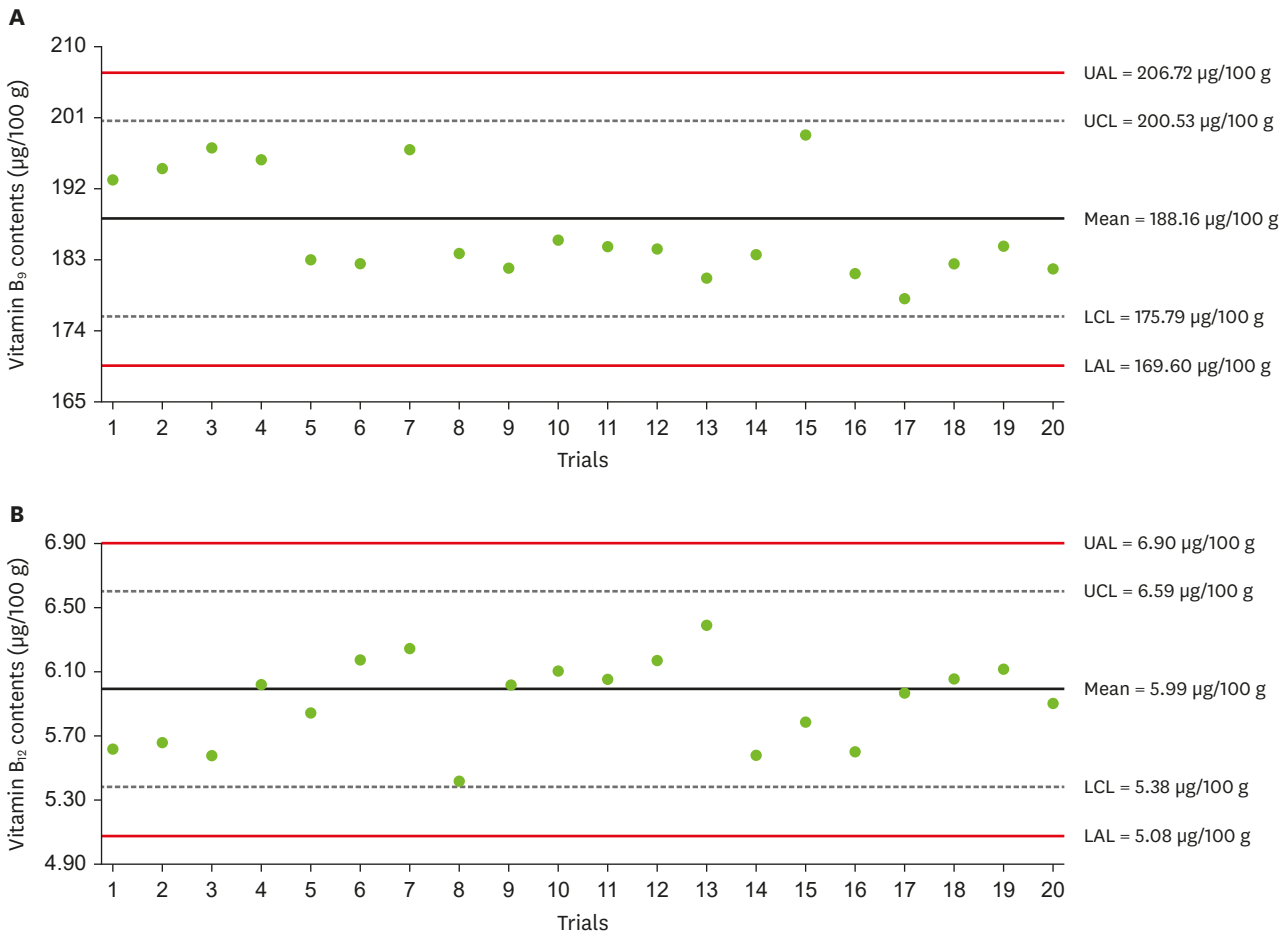


Fig. 2. Quality control charts of trienzyme extraction-L. casei assay for vitamin B<sub>9</sub> (A) and immunoaffinity-HPLC/PDA assay for vitamin B<sub>12</sub> (B) in commercial wheat flour. HPLC, high-performance liquid chromatography; PDA, photodiode array detection; UAL, upper action line; UCL, upper control line; LCL, lower control line; LAL, lower action line.

는 국·탕·찌개류 (*Guk, Tang & Jjigae*, boiled or stewed dishes), 해산물을 소량의 기름을 가하고 다양한 야채와 함께 고온에서 조리하는 볶음류 (*Bokkeum*, stir fried dishes), 스팀이나 양념액을 가하여 간이 배어들도록 조리하는 찜·조림류 (*Jjim & Jorim*, braised or steamed dishes), 조미된 재료를 열기 직접 재료에 닿도록 조리하는 구이류 (*Gui*, baked or grilled dishes), 고온의 기름에 튀기는 튀김류 (*Twigim*, deep-fried dishes), 건조된 재료나 생재료를 블랜칭 처리한 후 양념과 혼합하는 무침류 (*Muchim*, dried/blanched-seasoned dishes)로 구분하고 각 그룹 내에서 비타민 B<sub>9</sub> 함량이 높은 순서대로 배열하여 나타내었다.

메뉴 총 39종의 비타민 B<sub>9</sub> 함량의 분포는 1.83–523.08 µg/100 g으로 재료와 조리법의 특성에 따라 상당히 넓은 범위를 나타내었다. 다른 조리법에 비하여 많은 양의 물을 사용하게 되는 국·탕·찌개류 (n = 10)가 다른 시료군에 비하여 비교적 낮은 수준의 비타민 B<sub>9</sub> 함량을 보여 1.83 µg/100 g (참치김치찌개)–14.69 µg/100 g (북엇국)의 비타민 B<sub>9</sub> 범위를 나타냈다. 가장 높은 비타민 B<sub>9</sub> 함량을 보인 김구이 (523.08 µg/100 g) 메뉴를 제외하고는 볶음류가 8.08–128.34 µg/100 g의 범위로 비교적 다른 메뉴군에 비하여 비타민 B<sub>9</sub> 함량이 비교적 높고 넓은 범위를 나타냈다. 한편, 구이류 (n = 7)에서는 김구이를 제외하고는 삼치구이가 가장 높은 25.11 µg/100 g의



**Table 5.** Vitamin B<sub>9</sub> contents of seafood menus consumed in Korea

Menu (cooking method)	Sample name: Roman (English) <sup>1)</sup>	Main ingredients	Vitamin B <sub>9</sub> content (µg/100 g)
Guk, Tang & Jjigae (boiled or stewed dishes; n = 10)	Bugeot-guk (dried pollack soup)	Dried pollack, radish, tofu, egg	14.69 ± 0.21
	Haemul-tang (spicy seafood stew)	Red crab, octopus, squid, shrimp, short-necked clam	13.84 ± 0.38
	Al-tang (spicy fish roe stew)	Fish roe, radish, water dropwort, bean sprouts	12.38 ± 1.94
	Dongtae-jjigae (frozen pollack stew)	Frozen pollack, radish, tofu	8.34 ± 0.31
	Daegu-tang (spicy codfish soup)	Cod, radish, bean sprouts	8.08 ± 0.09
	Chueo-tang (loach soup)	Loach, dried radish greens	7.26 ± 0.51
	Eomuk-guk (fish cake soup)	Fish cake, radish, crown daisy	5.54 ± 0.07
	Ojingeo-guk (squid soup)	Squid, radish, chives	3.12 ± 0.06
	Miyeok-guk (sea mustard soup)	Dried sea mustard, anchovy, dried kelp	2.20 ± 0.04
	Chamchi-kimchi-jjigae (tuna-kimchi stew)	Kimchi, canned tuna, tofu	1.83 ± 0.06
Bokkeum (stir fried dishes; n = 10)	Geonsaeu-bokkeum (stir-fried dried-shrimp)	Dried shrimp	128.34 ± 2.97
	Janmyeolchi-bokkeum (stir-fried small-anchovy)	Small-anchovy	121.53 ± 3.69
	Myeolchi-bokkeum (stir-fried anchovy)	Medium-anchovy	71.40 ± 3.91
	Myeolchi-manueuljong-bokkeum (stir-fried anchovy with garlic scape)	Medium-anchovy, garlic scape	64.22 ± 0.04
	Myeolchi-bokkeum, nuts (stir-fried anchovy with nut)	Medium anchovy, almond, peanut, pumpkin seed	63.78 ± 0.15
	Myeolchi-kkwarigochu-bokkeum (stir-fried anchovy with twisted sweet pepper)	Medium anchovy, twisted sweet pepper, soy sauce	31.74 ± 0.17
	Ojingeo-bokkeum (stir-fried squid)	Squid, onion, carrot	18.12 ± 0.26
	Eomuk-chaeso-bokkeum (stir-fried fish cake with green pepper)	Fish cake, onion, carrot, green pepper	11.40 ± 0.50
	Chamchi-kimchi-bokkeum (stir-fried tuna with kimchi)	Kimchi, canned tuna, tofu	9.77 ± 0.34
	Mioyeokjulgi-bokkeum (stir-fried sea mustard stem)	Sea mustard stem, onion	8.08 ± 0.22
Jjim & Jorim (braised or steamed dishes; n = 7)	Kkomak-jjim (braised cockle)	Cockle, soy sauce, red pepper powder	41.58 ± 1.12
	Yangmiri-jorim (braised lance fish)	Lance-fish, radish	28.46 ± 1.44
	Haemul-kongnamul-jjim (braised seafood with soybean sprout)	Soybean sprout, squid, mussel, shrimp, clam, gastropod	18.90 ± 0.30
	Kodari-jjim (braised pollack(semi-dried))	Semi-dried pollack, onion, large green onion	16.45 ± 0.14
	Byeongeo-jorim (braised silver pomfret)	Silver pomfret, beef	12.49 ± 0.19
	Eomuk-jorim (stir-fried fish cake)	Fish cake, onion	10.00 ± 0.97
	Gaori-jjim (braised ray)	Ray, red pepper	5.98 ± 0.19
Gui (baked or grilled dishes; n = 7)	Jomi-gim (seasoned and grilled laver)	Laver	523.08 ± 3.67
	Samchi-gui (grilled Spanish mackerel)	Spanish mackerel	25.11 ± 0.50
	Jangeo-yangnyeom-gui (seasoned & grilled eel)	Eel, red pepper paste	20.09 ± 0.73
	Kijogae-gui (grilled fan mussel)	Fan mussel, onion	12.18 ± 0.08
	Saeu-gui (grilled shrimp)	Shrimp	11.92 ± 0.42
	Jwipo-gui (grilled dried-filefish)	Dried filefish fillet	8.75 ± 0.02
	Godeungeo-gui (grilled mackerel)	Mackerel	6.89 ± 0.16
Twigim (deep-fried dishes; n = 2)	Saeu-twigim (fried shrimp)	Shrimp, bread crumbs, flour, egg	35.34 ± 2.34
	Ojingeo-twigim (fried squid)	Squid, wheat flour	4.17 ± 0.26
Muchim (seasoned dishes; n = 3)	Bugeochae-muchim (seasoned dried-pollack)	Dried pollack, green pepper, red pepper	43.21 ± 1.00
	Nakji-doraji-muchim (seasoned small-octopus)	Small octopus, balloon flower, cucumber	7.83 ± 0.21
	Miyeok-cho-muchim (seaweed with vinegar dressing)	Seaweed, cucumber, vinegar	6.98 ± 0.23

Values are presented as mean ± SD.

<sup>1)</sup>Samples were sorted in the order of the vitamin B<sub>9</sub> contents from high to low within the same dish group.

비타민 B<sub>9</sub> 함량을 보였으며 다음으로 장어구이 (20.09 µg/100 g), 키조개 구이 (12.18 µg/100 g), 새우구이 (11.92 µg/100 g) 등의 순으로 높게 나타나 수산 자원에 따른 차이를 볼 수 있었으며 구이와 같은 고온 열처리에서도 상당량의 비타민 B<sub>9</sub>이 잔존하는 것을 확인할 수 있었다. 한편, 조리법에 따른 유사 메뉴의 비타민 B<sub>9</sub> 함량을 비교해 보면, 오징어가 주재료인 경우, 오징어볶음 18.12 µg/100 g > 오징어 튀김 4.17 µg/100 g > 오징어국 3.12 µg/100 g의 순으로 비타민 B<sub>9</sub> 함량이 높게 나타났으며, 참치와 김치가 주재료인 경우, 참치김치볶음 9.77 µg/100 g > 참치김치찌개 1.83 µg/100 g, 북어 메뉴의 경우, 북어채무침 43.21 µg/100 g > 북어국 14.69 µg/100 g의 순으로 높게 나타났다.

**Table 6.** Vitamin B<sub>12</sub> contents of seafood menus consumed in Korea

Menu (cooking method)	Sample name: Roman (English) <sup>1)</sup>	Main ingredients	Vitamin B <sub>12</sub> content (µg/100 g)
Guk, Tang & Jjigae (boiled or stewed dishes; n = 10)	Al-tang (spicy fish roe stew)	Fish roe, radish, water dropwort, bean sprouts	4.32 ± 0.05
	Dongtae-jjigae (frozen pollack stew)	Frozen pollack, radish, tofu	1.17 ± 0.16
	Haemul-tang (spicy seafood stew)	Red crab, octopus, squid, shrimp, short-necked clam	0.75 ± 0.02
	Daegu-tang (spicy codfish soup)	Cod, radish, bean sprouts	0.60 ± 0.01
	Chueo-tang (loach soup)	Loach, dried radish greens	0.53 ± 0.05
	Chamchi-kimchi-jjigae (tuna-kimchi stew)	Kimchi, canned tuna, tofu	0.50 ± 0.02
	Bugeot-guk (dried pollack soup)	Dried pollack, radish, tofu, egg	0.17 ± 0.01
	Miyeok-guk (sea mustard soup)	Dried sea mustard, anchovy, dried kelp	0.12 ± 0.01
	Eomuk-guk (fish cake soup)	Fish cake, radish, crown daisy	0.11 ± 0.01
	Ojingeo-guk (squid soup)	Squid, radish, chives	0.11 ± 0.01
Bokkeum (stir fried dishes; n = 10)	Myeolchi-maneuljong-bokkeum (stir-fried anchovy with garlic scape)	Medium anchovy, garlic scape	18.99 ± 0.14
	Myeolchi-bokkeum, nuts (stir-fried anchovy with nut)	Medium anchovy, almond, peanut, pumpkin seed	12.25 ± 0.31
	Myeolchi-bokkeum (stir-fried anchovy)	Medium anchovy	10.94 ± 0.32
	Myeolchi-kkwarigochu-bokkeum (stir-fried anchovy with twisted sweet pepper)	Medium anchovy, twisted sweet pepper, soy sauce	9.15 ± 0.45
	Geonsaeu-bokkeum (stir-fried dried-shrimp)	Dried shrimp	6.19 ± 0.21
	Janmyeolchi-bokkeum (stir-fried small-anchovy)	Small-anchovy	4.77 ± 0.20
	Ojingeo-bokkeum (stir-fried squid)	Squid, onion, carrot	1.41 ± 0.07
	Chamchi-kimchi-bokkeum (stir-fried tuna with kimchi)	Kimchi, canned tuna, tofu	0.79 ± 0.01
	Eomuk-chaeso-bokkeum (stir-fried fish cake with green pepper)	Fish cake, onion, carrot, green pepper	0.60 ± 0.11
	Mioyeokjulgi-bokkeum (stir-fried sea mustard stem)	Sea mustard stem, onion	0.13 ± 0.01
Jjim & Jorim (braised or steamed dishes; n = 7)	Kkomak-jjim (braised cockle)	Cockle, soy sauce, red pepper powder	38.30 ± 2.08
	Yangmiri-jorim (braised lance fish)	Lance-fish, radish	5.97 ± 0.41
	Byeongeo-jorim (braised silver pomfret)	Silver pomfret, beef	1.99 ± 0.28
	Kodari-jjim (braised pollack(semi-dried))	Semi-dried pollack, onion, large green onion	1.46 ± 0.05
	Haemul-kongnamul-jjim (braised seafood with soybean sprout)	Soybean sprout, squid, mussel, shrimp, clam, gastropod	1.23 ± 0.02
	Gaori-jjim (braised ray)	Ray, red pepper	1.14 ± 0.09
	Eomuk-jorim (stir-fried fish cake)	Fish cake, onion	0.47 ± 0.07
Gui (baked or grilled dishes; n = 7)	Jomi-gim (seasoned and grilled laver)	Laver	29.79 ± 1.69
	Kijogae-gui (grilled fan mussel)	Fan mussel, onion	14.80 ± 0.84
	Godeungeo-gui (grilled mackerel)	Mackerel	12.33 ± 0.89
	Samchi-gui (grilled Spanish mackerel)	Spanish mackerel	4.30 ± 0.14
	Jangeo-yangnyeom-gui (seasoned & grilled eel)	Dried filefish fillet	3.49 ± 0.01
	Saeu-gui (grilled shrimp)	Eel, red pepper paste	3.38 ± 0.11
		Shrimp	1.50 ± 0.06
Twigim (deep-fried dishes; n = 2)	Ojingeo-twigim (fried squid)	Squid, wheat flour	1.60 ± 0.12
	Saeu-twigim (fried shirimp)	Shrimp, bread crumbs, flour, egg	1.20 ± 0.08
Muchim (seasoned dishes; n = 3)	Bugeochae-muchim (seasoned dried-pollack)	Dried pollack, green pepper, red pepper	2.15 ± 0.08
	Nakji-doraji-muchim (seasoned small-octopus)	Small octopus, balloon flower, cucumber	1.12 ± 0.11
	Miyeok-cho-muchim (seaweed with vinegar dressing)	Seaweed, cucumber, vinegar	0.34 ± 0.02

Values are presented as mean ± SD.

<sup>1)</sup>Samples were sorted in the order of the vitamin B<sub>12</sub> contents from high to low within the same dish group.

### 한국인 상용수산물 메뉴의 비타민 B<sub>12</sub> 함량

수산물 메뉴 총 39종 메뉴를 국·탕·찌개류, 볶음류, 찜·조림류, 구이류, 튀김류 및 무침류로 구분하고 각 그룹 내에서 비타민 B<sub>12</sub> 함량이 높은 순서대로 배열하여 나타낸 결과는 **Table 6** 과 같다. 본 연구에서 분석한 39종 수산물 메뉴에서 모두 비타민 B<sub>12</sub>가 검출되었으며 그 함량은 0.11–38.30 µg/100 g의 범위를 나타냈다. 물을 많이 사용하는 국·탕·찌개류의 비타민 B<sub>12</sub> 함량은 0.11–4.32 µg/100 g의 범위를 나타내어 볶음류 0.13–18.99 µg/100 g, 찜·조림류 0.47–38.30 µg/100 g, 구이류 1.50–29.79 µg/100 g의 범위에 비하여 비교적 낮은 수준의 비타민 B<sub>12</sub> 함량을 나타냈다. 비타민 B<sub>9</sub> 함량에서 잔멸치볶음이 중멸치볶음보다 훨씬 높았던 것과 달리, 볶음류 중에서 중멸치볶음이 가장 높은 비타민 B<sub>12</sub> 함량 (18.99 µg/100 g)을 보였으며 이에 비하여 잔

멸치볶음은 훨씬 낮은 4.77 µg/100 g을 나타내었다. 전체 메뉴 중에서 가장 높은 비타민 B<sub>12</sub> 함량을 보인 메뉴는 꼬막찜이 38.30 µg/100 g을 나타내었다.

한편, 유사 재료의 조리법에 따른 비타민 B<sub>12</sub> 함량을 비교해 보면, 오징어가 주재료인 경우, 오징어 튀김 1.60 µg/100 g > 오징어볶음 1.41 µg/100 g > 오징어국 0.11 µg/100 g의 순으로 비타민 B<sub>12</sub> 함량이 높게 나타났으며, 참치와 김치가 주재료인 경우, 참치김치볶음 0.79 µg/100 g > 참치김치찌개 0.50 µg/100 g, 북어 메뉴의 경우, 북어채무침 2.15 µg/100 g > 북엇국 0.17 µg/100 g의 순으로 높게 나타났다.

## 고찰

본 연구에서 적용한 trienzyme extraction-*L. casei*를 이용한 비타민 B<sub>9</sub> 분석과 immunoaffinity column을 이용한 비타민 B<sub>12</sub> 분석의 정확성은 표준참고물질 (SRM 1849a)과 수산자원 시료로부터 얻은 회수율이 AOAC 가이드라인 [10]에서 제시한 분석성분의 농도가 1 µg/g 수준일 때 수용할 수 있는 회수율 75-120%로 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub> 모두 수용범위 수준을 충족하고 있어 수산자원으로의 적용에서 정확성이 우수한 편으로 판단된다. 분석의 정밀성 검증을 위한 반복성과 재현성은 AOAC 가이드라인에서 제시한 분석성분의 농도 1 µg/g 기준으로 RSD<sub>r</sub>와 RSD<sub>R</sub> 각각 8%, 16%의 이하값으로 분석법의 정밀성이 우수함을 확인할 수 있었다. 한편, HPLC를 이용하여 비타민 B<sub>9</sub>을 분석한 Breithaupt [11]은 LOD는 4 µg/100 g, LOQ는 6 µg/100 g이라고 보고하였는데 본 연구에서의 미생물을 이용한 분석법 (LOD: 0.562 µg/100 g, LOQ: 1.057 µg/100 g)은 이러한 HPLC 기기분석법에 비하여 정량 감도가 높으므로 식품 중 미량으로 존재하는 비타민 B<sub>9</sub> 정량에도 적용 가능한 것으로 보여진다. 또한, Campos-Giménez 등 [12]이 보고한 비타민 B<sub>12</sub> 분석의 LOD 0.10 µg/100 g과 LOQ 0.30 µg/100 g 보다 낮은 수준 (LOD: 0.005 µg/100 g, LOQ: 0.014 µg/100 g)으로 식품 중 미량으로 존재하는 비타민 B<sub>12</sub>를 정량하기에 충분한 감도를 보이는 것으로 보여진다.

본 연구에서 한국인이 주로 섭취하는 수산물로 조리된 메뉴 총 39종의 비타민 B<sub>9</sub> 함량을 분석한 결과 국·탕·찌개류 중에서 가장 높은 비타민 B<sub>9</sub> 함량을 보인 북어국의 경우 주재료는 북어포, 무, 두부, 계란, 파 등으로 이 중에서 주재료인 북어포의 비타민 B<sub>9</sub> 함량은 약 17 µg/100 g 수준 [13]인데 반하여, 조선무 (생것)는 약 33 µg/100 g [14]으로 수산물에 비하여 비교적 비타민 B<sub>9</sub> 함량이 높아 국과 같이 물을 다량 사용하는 메뉴에서도 재료와 조리수 중에 유출된 비타민 B<sub>9</sub>을 상당량 섭취할 수 있을 것으로 보인다. 또한, 볶음류의 경우 비교적 다른 메뉴군에 비하여 비타민 B<sub>9</sub> 함량이 높은 범위 (8.08-128.34 µg/100 g)를 나타내었는데 이는 수산물 이외에 비타민 B<sub>9</sub>을 함유하고 있는 다양한 채소류를 함께 조리하여 사용하기 때문인 것으로 보여진다. 농촌진흥청 국가표준식품성분표 [15]에 의하면 잔멸치와 중멸치의 비타민 B<sub>9</sub> 함량은 각각 102 µg/100 g과 10 µg/100 g으로 잔멸치가 중멸치에 비하여 상당히 높은 비타민 B<sub>9</sub> 함량을 나타내는 것을 볼 수 있는데 본 연구에서도 중멸치볶음 (31.74-71.40 µg/100 g) 보다 잔멸치볶음 (121.53 µg/100 g)의 비타민 B<sub>9</sub> 함량이 높게 나타나 수산 자원의 크기 및 특성에 따라 비타민 B<sub>9</sub> 함량이 차이가 클 것으로 보인다. 멸치는 칼슘의 대명사로 알려져있는 반찬류이나 칼슘과 같은 무기질 외에도 비타민 B<sub>9</sub> 섭취에도 상당히 도움을 줄 수 있는 메뉴로 판단된다. 특히 잔멸치볶음의 경우 100 g 섭취 시 한국인 성인의 비타민 B<sub>9</sub> 일일권장량 (recommended nutrient intake)인 400 µg DFE [16] 수준의 약 30%까지도 섭취가 가능할 것으로 보이거나 잔멸치볶음은

주로 반찬류로 소량 섭취하는 특성을 갖기 때문에 실질적인 비타민 B<sub>9</sub> 섭취량은 이보다 낮은 수준이 될 가능성이 높다. 한국인의 상용 수산물 식단은 동물성과 식물성 재료를 다양하게 사용하는 특성으로 인하여 재료 자체의 비타민 B<sub>9</sub> 함량이 비교적 우수할 뿐 아니라, 비타민 B<sub>9</sub> 이 비교적 열에 강한 특성을 가지고 있기 때문에 장시간의 열처리로 조리되는 메뉴에서도 상당량 잔존하여 전반적으로 비타민 B<sub>9</sub> 섭취에 우수한 메뉴로 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

한편, 수산물 식단의 비타민 B<sub>12</sub> 함량의 경우 주로 동물성 식품의 내장이나 근육에 축적되는데 [17] 꼬막찜의 경우 꼬막의 내장을 제거하지 않고 함께 이용되기 때문에 가장 높은 함량을 나타낸 것으로 보인다. 반면에, 다양한 채소와 함께 조리하는 볶음류의 경우 비타민 B<sub>12</sub>가 대부분의 식물성 자원에는 존재하지 않기 때문에 높은 비타민 B<sub>12</sub> 함량이 관찰되지 않았다. 이러한 부재료의 효과보다는 전반적으로 수산물 자체의 비타민 B<sub>12</sub> 함량이 높은 꼬막, 멸치, 키조개, 고등어 등의 자원을 이용한 꼬막찜, 멸치볶음, 키조개구이, 고등어구이 메뉴에서 비타민 B<sub>12</sub> 함량 수준이 높게 나타나는 것으로 확인되었다. 비타민 B<sub>12</sub>는 해조류와 버섯류를 제외한 식물성 자원에서는 발견되지 않고 주로 동물성 자원에만 존재하는데 해조류의 경우 공생하는 박테리아에 의해 비타민 B<sub>12</sub>가 합성되어 해조류에 축적되는 것으로 알려져 있다 [18]. 본 연구에서 분석한 김과 미역 메뉴에서 모두 비타민 B<sub>12</sub>가 검출되었으며, 특히 비타민 B<sub>9</sub>에서 가장 높은 함량을 보였던 조미김의 경우 꼬막찜 다음으로 비타민 B<sub>12</sub> 함량 (29.79 µg/100 g)이 높게 나타났다. 이러한 해조류 메뉴는 채식주의자들과 같이 동물성 식단을 기피하는 사람들이 섭취하기 어려운 비타민 B<sub>12</sub>를 섭취할 수 있는 좋은 급원식품이 될 수 있을 것으로 판단된다. 전체적으로 수산자원을 이용한 메뉴의 경우 비타민 B<sub>12</sub>의 일일 권장섭취량인 성인 2.4 µg [16]의 상당 수준을 충족할 수 있는 좋은 급원이 될 수 있다. 전반적으로 국이나 탕과 같이 물을 많이 사용하는 조리법보다는 야채류와 같이 볶는 볶음 메뉴가 비타민 B<sub>9</sub>과 비타민 B<sub>12</sub> 섭취에 바람직할 것이다.

## 요약

본 연구는 한국인이 주로 상용하는 수산물을 이용한 다소비 메뉴 39종을 선정하고, 이를 기준 레시피로 조리한 후 이들에 대한 비타민 B<sub>9</sub> (엽산)과 B<sub>12</sub> (코발라민류) 함량을 분석하였다. 국가식품영양성분 데이터베이스 자료로 활용하기 위한 데이터의 신뢰도 확보를 위해 비타민 B<sub>9</sub> (trienzyme-*L. casei*법)과 B<sub>12</sub> (immunoaffinity-HPLC/PDA) 분석법의 유효성을 검증하였으며 분석 품질관리를 수행하였다. 각 성분 분석법의 정확성, 정밀성, 특이성, 상관성, 검출한계 및 정량 한계를 분석한 결과 모두 AOAC 가이드라인 수용 기준에 충족되는 결과를 얻었으며, 분석품질 관리도표를 전 분석 기간 동안 작성하여 확보된 분석 데이터의 신뢰도를 확보하였다. 상용 수산물 메뉴의 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub> 함량을 분석한 결과 각각 1.83–523.08 µg/100 g과 0.11–38.30 µg/100 g의 범위로 사용된 재료와 조리법의 특성에 따라 다양하게 나타났다. 비타민 B<sub>9</sub> 함량은 구이류의 김구이 (523.08 µg/100 g)가 가장 높은 함량을 보였으며, 볶음류에서 건새우볶음 (128.34 µg/100 g)과 잔멸치볶음 (121.53 µg/100 g)이 높은 함량을 나타내었다. 비타민 B<sub>12</sub> 함량은 찜·조림류의 꼬막찜 (38.30 µg/100 g)이 가장 높은 함량을 보였으며, 구이류의 김구이 (29.79 µg/100 g)와 볶음류의 멸치마늘중볶음 (18.99 µg/100 g)으로 높은 함량을 나타내었다. 유사 재료의 조리법에 따른 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub> 함량을 비교하면 비타민 B<sub>9</sub>의 경우 물 사용량이 많은 국·탕·찌개류는 다른 시료군 (볶음, 찜, 조림, 구이, 튀김 및 무침)에 비하여 비교적 낮은 함량을 나타내어 수산물과 다양한 채소류를 함께 볶는 볶음 메뉴가 비타민 B<sub>9</sub> 섭취에 도움을 줄 것으로 보인다. 비타

민 B<sub>12</sub>의 경우 식물성 식품에는 발견되지 않고 주로 동물성 식품에만 존재하는데 본 연구 결과 김 및 미역과 같은 해조류 메뉴는 채식주의자들에게 비타민 B<sub>12</sub>의 좋은 급원메뉴가 될 수 있을 것으로 보여진다. 본 연구는 분석법 검증 및 품질관리를 통하여 분석 신뢰도를 확보하였으며 이와 함께 제공된 한국 상용수산물 메뉴의 비타민 B<sub>9</sub>과 B<sub>12</sub> 함량데이터는 한국인의 보건영양 정책 수립을 위한 국가식품영양성분 데이터베이스 자료로 활용될 수 있을 것으로 사료된다.

## REFERENCES

- Bellows L, Moore R. Water-soluble vitamins: B-complex and vitamin C. Fact sheet No. 9.312. Fort Collins (CO): Colorado State University; 2012.
- Edelmann M, Chamlagain B, Santin M, Kariluoto S, Piironen V. Stability of added and in situ-produced vitamin B12 in breadmaking. *Food Chem* 2016; 204: 21-28.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
- Luo X, Chen B, Ding L, Tang F, Yao S. HPLC-ESI-MS analysis of vitamin B12 in food products and in multivitamins-multimineral tablets. *Anal Chim Acta* 2006; 562(2): 185-189.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
- Scott JM. Folate and vitamin B12. *Proc Nutr Soc* 1999; 58(2): 441-448.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
- Lee GJ, Jang HM, Ahn HS. A change of serum folate and vitamin B<sub>12</sub> concentrations of maternal and umbilical cord blood during pregnancy. *Korean J Community Nutr* 2005; 10(5): 615-622.
- Schellack G, Harirari P, Schellack N. B-complex vitamin deficiency and supplementation. *S Afr Pharm J* 2015; 82(4): 28-32.
- Min H, Kim M. A critical evaluation of the correlation between biomarkers of folate and vitamin B12 in nutritional homocysteinemia. *Korean J Nutr* 2009; 42(5): 423-433.  
[CROSSREF](#)
- Gwak HJ, We GJ, Cho JI, Na HJ. Seafood and fungi. *Safe Food* 2012; 7(3): 30-36.
- Jang DE, Choung MG, Chun JY. Immunoaffinity-HPLC/DAD assay and validation for vitamin B12 in snacks and cereals. *J Agric Life Sci* 2014; 48(6): 351-364.  
[CROSSREF](#)
- Association of Official Analytical Chemists. AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals. Gaithersburg (MD): Association of Official Analytical Chemists, 2002.
- Breithaupt DE. Determination of folic acid by ion-pair RP-HPLC in vitamin-fortified fruit juices after solid-phase extraction. *Food Chem* 2001; 74(4): 521-525.  
[CROSSREF](#)
- Campos-Giménez E, Fontannaz P, Trisconi MJ, Kilinc T, Gimenez C, Andrieux P. Determination of vitamin B12 in food products by liquid chromatography/UV detection with immunoaffinity extraction: single-laboratory validation. *J AOAC Int* 2008; 91(4): 786-793.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
- Park SJ, Jeong BG, Jung JE, Kim HY, Jung GR, Hwang EJ, et al. Validation of trienzyme extraction-microplate assay for folate in Korean ancestral rite food. *J Korean Soc Food Sci Nutr* 2015; 44(5): 716-724.  
[CROSSREF](#)
- Ministry of Food and Drug Safety (KR). National Standard Nutrient Database [Internet]. Cheongju: MFDS; 2020 [cited 2020 Oct 13]. Available from: <http://asq.kr/LnjxVLhosYWwUM>.
- Rural Development Administration (KR). National Standard Nutrient Database. 9th ed. Jeonju: RDA; 2017.
- The Korean Nutrition Society. Dietary Reference Intakes for Koreans. Seoul: The Korean Nutrition Society; 2015.
- Petrus AK, Fairchild TJ, Doyle RP. Traveling the vitamin B12 pathway: oral delivery of protein and peptide drugs. *Angew Chem Int Ed Engl* 2009; 48(6): 1022-1028.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)
- Takenaka S, Takubo K, Watanabe F, Tanno T, Tsuyama S, Nanano Y, et al. Occurrence of coenzyme forms of vitamin B<sub>12</sub> in a cultured purple laver (*Porphyra yezoensis*). *Biosci Biotechnol Biochem* 2003; 67(11): 2480-2482.  
[PUBMED](#) | [CROSSREF](#)