역상 HPLC-자외선 및 형광검출기를 이용한 국내 수산자원의 비타민 B₁, B₂ 및 B₃ 분석 및 검증

정보미¹ · 박수진¹ · 박예은¹ · 광유정¹ · 김 정¹ · 윤나영² · 김연계² · 천지연¹

¹순천대학교 식품공학과

²국립수산물연구원 식품위생가공과

Validation of Vitamin B₁, B₂, and B₃ Analyses of Seafood Consumed in Korea by Reverse-Phase HPLC Coupled with DAD and FLD

Bomi Jeong¹, Su-Jin Park¹, Ye-Eun Park¹, Yu-Jeong Gwak¹, Jeong Kim¹,
Na-Young Yoon², Yeon-Kye Kim², and Jiyeon Chun¹

¹Department of Food Science and Technology, Suncheon National University

²Food Safety and Processing Research Division, National Institute of Fisheries Science

ABSTRACT This study was performed to validate simultaneous analyses using reverse phase-high performance liquid chromatography (HPLC) with diode-array detection for vitamin B₁ (thiamin) and B₃ (nicotinic acid and nicotinamide) and HPLC-fluorescence detection for vitamin B₂ (flavin adenine dinucleotide (FAD), riboflavin 5'-monophosphate (FMN), and riboflavin) in seafood. The validated methods were applied for the analysis of B₁₋₃ vitamers in 20 kinds of seafood (4 fish, 3 crustaceans, 3 sea algae, 3 cephalopods, 4 shellfish, and 3 others). The quantification limits (mg/100 g) of the vitamin analyses were 0.0010 mg/100 g for thiamin, 0.0007~0.0021 mg/100 g for FAD, FMN, and riboflavin, and 0.00001~0.00014 mg/100 g for nicotinic acid and nicotinamide, with the lowest for riboflavin. Recovery of thiamin, riboflavin, nicotinic acid, and nicotinamide from standard reference materials 1849a and 3290 was 98.5~105.8%, whereas it showed a wide range of 79.9~120.1% for B₁₋₃ vitamers from seafood. Specifically, FMN was found to give the lowest (from mussel) and the highest (from Pacific herring) recoveries, which were acceptable as per official guidelines. Analyses of B₁₋₃ vitamers showed coefficient variations of 3.1~5.4% for repeatability and 4.2~8.0% for reproducibility, showing good precision. Total vitamin B₁, B₂, and B₃ content (mg/100 g) of 20 types of seafood were 0.00~0.84, 0.05~0.47, and 0.00~11.96, respectively. Nicotinic acid was detected in most types of seafood, whereas nicotinamide was found in only four. B₂ vitamers were observed in all seafood. The z-scores of proficiency tests for vitamin B₁₋₃ analyses were within ± 2 , indicating excellent proficiency. This study provides reliable analysis data on B₁, B₂, and B₃ vitamers of seafood, which would be used to update the national nutrient food composition table.

Key words: fishery resource, water-soluble vitamin, thiamin, riboflavin, nicotinic acid

서 론

우리나라는 삼면이 바다로 둘러싸여 있어 계절별로 변화되는 다양한 수산자원의 연중 공급이 가능하므로 예로부터 수산자원은 한국인의 식단을 차지하고 있는 주요 식자원으로 이용되고 있다. 수산자원은 키틴, 타우린과 같은 기능성 성분과 필수아미노산, 고도의 불포화지방산 및 비타민 등

풍부한 영양소를 함유하고 있어 영양적 가치가 높은 것으로 평가되고 있다(Kris-Etherton 등, 2002).

전 세계적으로 건강에 대한 관심이 증대됨에 따라 3대 주요 영양소 외에 미네랄, 비타민과 같은 미량영양소의 인체 내 기능이 주목받기 시작하였다. 비타민은 매우 적은 양으로 체내의 정상적인 대사과정에 관여하는 필수 유기화합물군으로 체내에서 합성되지 않기 때문에 식이나 보충제를 통한

Received 2 September 2021; Revised 13 October 2021; Accepted 1 December 2021

Corresponding author: Jiyeon Chun, Department of Food Science and Technology, Suncheon National University, 255, Jungang-ro, Suncheon-si, Jeonnam 57922, Korea, E-mail: cjyfall@scnu.ac.kr

Author information: Bomi Jeong (Researcher), Su-Jin Park (Researcher), Ye-Eun Park (Graduate student), Yu-Jeong Gwak (Graduate student), Jeong Kim (Graduate student), Jiyeon Chun (Professor)

Copyright © 2021 by The Korean Society of Food Science and Nutrition. All rights Reserved.

This is Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

공급이 필수적으로 이루어져야 한다. 이들 중 수용성 비타민은 주로 coenzyme 전구체 역할을 통해 인체 성장과 발달, 면역체계 활성화 및 유지 등 체내 정상적인 대사과정을 유지하는 데 기여한다. 수용성 비타민 중 하나인 비타민 B₁은 티아민(thiamin)으로도 불리며, 탄수화물 대사에 직접적으로 관여할 뿐 아니라 탄수화물, 단백질 및 지질의 대사적 연결(metabolic link)에도 관여한다. 또한, 에너지 대사와 신경 전달 물질 합성에 관여하기 때문에 티아민의 결핍은 식욕부진과 무감각 등 정신적 증세와 신경계와 심혈관계 질환인 각기병이 나타날 수 있다(Yoon, 2005; Zemleni 등, 2007). 비타민 B₂ 활성을 나타내는 리보플라빈(riboflavin)은 생물학적으로 활성 형태인 flavin adenine dinucleotide(FAD), flavin mononucleotide(FMN)와 함께 다양한 산화와 환원 반응에 참여한다(Powers, 2003). 특히, 리보플라빈은 탄수화물, 아미노산 및 지방의 산화에 관여하는 등 체내 에너지 합성에 매우 중요한 역할을 하므로 리보플라빈의 결핍은 매우 광범위하게 나타날 수 있다(Powers, 2003; Mosegaard 등, 2020). 비타민 B₃는 일반적으로 나이아신(niacin)으로 불리며 니코틴산(nicotinic acid)과 니코틴아미드(nicotinamide) 생리활성을 나타내는 화합물을 총칭한다. 나이아신의 조효소 형태인 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD)와 니코틴아미드 아데닌 디뉴클레오티드 인산(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADP)은 체내에서 산화와 환원 반응에 관여하고 에너지 대사에 있어 중요한 역할을 담당한다(Zemleni 등, 2007). 나이아신의 대표적인 결핍증인 펠라그라(pellagra)는 현대사회에서 흔히 발생하지 않으나, 트립토판 대사 장애 또는 만성 알코올중후군을 가진 사람에서 나이아신이 결핍되기 쉽다. 반면 질병 치료를 목적으로 니코틴산을 과량 복용하거나 영양강화식품 및 보충제를 통한 nicotinamide의 과잉 섭취는 구토, 위장장애 또는 당내성 손상 등의 부작용이 발병할 수 있다(Zemleni 등, 2007; Miller 등, 2019). 이와 같이 미량 영양성분이라 하더라도 체내 섭취량에 따라 인체 내 주요 대사작용에 미치는 영향이 크므로 식품 중 이들 비타민의 함량 수준을 파악하여 식품을 통해 섭취하는 수준을 평가하는 것은 국민건강정책 수립의 선결 요건이라 하겠다.

국내 수산자원의 영양성분에 관한 연구는 일부 특정 지역의 품종에 국한되어 단편적으로 수행되어 왔으며, 무기질 또는 비타민과 같은 미량영양소에 관한 데이터베이스는 매우 제한적이거나 노후화된 상태이고 상당수 데이터의 부재는 국외 데이터를 인용하고 있다. 최근 농진청과 식약처에서 우리나라 국민들이 소비하고 있는 농산물, 축산물, 임산물, 가공 및 외식 식품 등 다양한 식품자원에 대하여 미량비타민 성분 종류를 확대한 데이터베이스를 구축하고 있는바 이와 함께 활용될 수 있도록 수산자원의 비타민 성분 데이터베이스 구축이 요구되고 있다. 국가식품영양성분 데이터베이스는 우리나라민의 질병 관리, 식량자원 개발 연구, 임상 연구,

식품개발 및 식이요법 등 영양 및 식습관 관리를 위한 기초 자료로 활용되기 때문에(Lee 등, 2018) 그 데이터의 신뢰성 확보가 무엇보다 중요하므로, 이를 생산할 수 있는 분석법의 검증과 분석품질관리를 통한 수산자원의 미량성분 데이터베이스 구축이 요구된다.

본 연구에서는 국내 수산자원 6개 분류군 중에서 총 20종을 선정하여 수용성 비타민 B₁, B₂ 및 B₃의 활성을 나타내는 총 6종의 성분을 분리 정량하였다. 분석수행지표(특이성, 직선성, 민감성, 정확성, 정밀성) 평가를 통한 비타민 분석법에 대한 검증과 시료 분석에 대한 품질관리를 수행하여 수산자원에 대한 비타민 성분 데이터의 신뢰성을 확보하고자 하였다.

재료 및 방법

시약

비타민 B₁의 표준품은 thiamine hydrochloride(T4625, purity≥99%), 비타민 B₂는 riboflavin(47861, purity≥98%), riboflavin 5'-monophosphate sodium salt hydrate(F8399, purity≥95%) 및 flavin adenine dinucleotide disodium salt hydrate(F6625, purity≥95%), 비타민 B₃는 nicotinic acid(N4126, purity≥98%) 및 nicotinamide(N3376, purity≥98%)는 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구매하여 사용하였다. 또한 분석 시 사용된 시약은 GR 등급 및 HPLC 등급 이상을 구입하여 사용하였다. 분석법의 정확성 검증을 위해 사용된 표준참고물질(standard reference materials, SRM) 1849a(infant formula)와 3290(dry cat food)은 National Institute of Standards and Technology(NIST, Gaithersburg, MD, USA)에서 구입하여 사용하였다. 정밀성 검증을 위해 사용된 분석품질관리(quality control, QC) 시료는 시판되고 있는 영아용 분유(infant formula, Premium with mom, Pasteur, Seoul, Korea)를 사용하였다.

시료 준비

수산자원은 국립수산물과학원(National Fisheries Research and Development Institute, Busan, Korea)에서 국내 표준 수산물성분표에 따라 총 6군(어류, 갑각류, 해조류, 두족류, 패류 및 기타류)으로 분류하여 각 분류군에 따라 matrix effect를 최소화하기 위해 선행 연구를 바탕으로 수용성 비타민 함량을 고려하여 선정하였다. 선정된 수산자원 20종의 구입정보는 Table 1과 같으며, 어류 4종으로 덕대(*Pampus argenteus*), 청어(*Clupea pallasii*), 눈볼대(*Doederleinia berycoides*) 및 참다랑어(*Thunnus orientalis*), 갑각류 3종으로 대롱수염새우(*Solenocera melanthera*), 갯가재(*Oratosquilla oratoria*) 및 꽃게(*Portunus trituberculatus*), 해조류 3종으로 모자반(*Sargassum fulvellum*), 툇(*Hizikia fusiforme*) 및 쇠미역(*Costaria costata*), 두족류 3종으로

Table 1. Acquired region and purchase date of fishery resources in Korea

Classification (n=20)	Common name	Scientific name	Acquired region	Purchase date (year/month)
Fish (n=4)	Pacific herring	<i>Clupea pallasii</i>	Pohang	19/06
	Korean pomfret	<i>Pampus argenteus</i>	Jindo	19/05
	Blackthroat seaperch	<i>Doederleinia berycoides</i>	Jejudo	19/12
	Pacific bluefin tuna	<i>Thunnus orientalis</i>	Yeosu	19/03
Crustacean (n=3)	Razor mud shrimp	<i>Solenocera melantho</i>	Busan	19/06
	Japanese squillid mantis shrimp	<i>Oratosquilla oratoria</i>	Taeon	19/03
	Gazami crab	<i>Portunus trituberculatus</i>	Busan	19/06
Seaweed (n=3)	Gulf weed	<i>Sargassum fulvellum</i>	Wando	19/02
	Seaweed fusiforme	<i>Hizikia fusiforme</i>	Wando, Yeosu, Sacheon	19/03
	Seersucker	<i>Costaria costata</i>	Wando	19/02
Cephalopod (n=3)	Schoolmaster gonate squid	<i>Berryteuthismagister</i>	Donghae	19/04
	Common squid	<i>Todarodes pacificus</i>	Busan	19/06
	Common octopus	<i>Octopus vulgaris</i>		19/06
Shellfish (n=4)	Ark shell	<i>Scapharca broughtonii</i>		19/06
	Mussel	<i>Mytilus coruscus</i>	Geojeodo	19/06
	Spiny top shell	<i>Turbo cornutus</i>		19/06
	Blue mussel	<i>Mytilus edulis</i>		19/06
Others (n=3)	Common sea squirt	<i>Halocynthia roretzi</i>	Busan	19/06
	Warty sea squirt	<i>Styela clava</i>		19/06
	Black sea cucumber	<i>Stichopus japonicus</i>		19/06

갈고리흰오징어(*Berryteuthis magister*), 살오징어(*Todarodes pacificus*) 및 문어(*Octopus vulgaris*), 패류 4종으로 피조개(*Scapharca broughtonii*), 홍합(*Mytilus coruscus*), 참소라(*Turbo cornutus*) 및 진주담치(*Mytilus edulis*), 그리고 기타 수산물 3종으로 멧게(*Halocynthia roretzi*), 미더덕(*Styela clava*) 및 해삼(*Stichopus japonicus*)이 선정되었다. 국립수산물과학원에서 가식부와 비가식부를 분리하고 가식 부위를 균질화한 다음 소포장 후 ice pack을 동봉하여 분석실로 배송하였다. 배송된 시료는 -70 °C 냉동고에 보관하며 분석에 사용하였다.

분석법 검증

AOAC(2002) 분석법 검증 가이드라인에 준하여 단일실험실(single laboratory) 분석법 검증은 다음과 같은 방법으로 실시하였다. 특이성(specificity)은 표준용액과 수산자원의 비타민 B₁ 및 B₃ peak의 purity를 확인하고 UV 200~700 nm 범위에서 수집한 spectrum을 비교하였다. 비타민 B₂의 경우 표준용액과 시료 HPLC chromatogram의 peak 검출 시간을 비교 검증하였다. 직선성(linearity)은 비타민 B₁과 B₃의 표준용액을 6.250, 3.125, 1.563, 0.781, 0.391, 0.195, 0.098 µg/mL 수준으로 희석하였으며, 비타민 B₂는 0.993, 0.497, 0.248, 0.124, 0.062, 0.031, 0.015 µg/mL의 농도 수준으로 단계 희석하여 정량분석을 위한 검량선을 작성하였다. 분석법에 대한 비타민 B₁, B₂와 B₃의 민감도(sensitivity)는 공시험액(blank)을 분석하여 얻어진 HPLC chromatogram의 signal-to-noise(S/N)의 평균과 표준편

차값을 구하여 계산하였다. 검출한계(limit of detection, LOD)는 평균값에 표준편차 값의 3배를 더하였으며, 정량한계(limit of quantification, LOQ)는 평균값에 표준편차 값의 10배를 더하여 산출하였다. 정확성 검증은 SRM 시료의 분석값을 NIST에서 제시하는 참값과 비교하여 회수율(%)로 나타내었으며, 정밀성 검증은 QC 시료를 하루에 5회 3 반복으로 분석한 반복성(repeatability, RSD_r)과 5일 동안 1회씩 3 반복 분석한 재현성(reproducibility, RSD_R)을 평가하였다.

분석품질관리

시료 20종을 분석하는 총 기간에 내부 및 외부 수준의 분석품질관리를 수행하였다. 내부 분석품질관리는 AOAC(2002) 가이드라인에서 제시한 분석품질 관리도표(quality control(QC) chart)를 작성하여 관리하였다. QC 시료를 최소 10회 이상 분석하여 상대표준편차가 5% 이내에 속하는 분석값 10개를 선정한 뒤 평균값과 표준편차 값을 산출하였다. QC chart는 평균값을 기준으로 관리 상하한선(upper and lower control line, UCL and LCL) 및 조치 상하한선(upper and lower action line, UAL and LAL)을 설정하였으며, 관리 및 조치를 위한 계산식은 다음과 같다.

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

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

외부 수준으로 이루어진 분석품질관리는 영국 환경식품

농림부(Department for Environment, Food and Rural Affairs, DEFRA, London, UK)에서 주관하는 국제정도관리 분석능력시험(Food Analysis Performance Assessment Scheme, FAPAS) PT 21118에 참여하였다. 비타민 B₁, B₂와 B₃를 분석한 총 26, 25 및 21개 국제적인 실험실의 분석결과와 비교하여 z-score를 산출하여 평가하였다.

비타민 B₁ 및 B₃ 분석

시료 중 비타민 B₁과 B₃ 추출은 Kim 등(2014)에 따라 진행하였다. 시료 0.5~5.0 g을 취하여 5 mM sodium 1-hexanesulfonate buffer 25 mL를 첨가한 후 40°C 조건에서 30분간 초음파 추출하였다. 이 추출액을 실온에서 10분간 방치한 후 여과지(Whatman No.1, Whatman, Little Chalfont, Buckinghamshire, UK)로 여과한 다음 여과액을 일부 취하여 10분간 15,000 rpm으로 원심분리하였다. 다음으로 상층부를 취하여 0.45 µm syringe filter로 여과한 후 HPLC(Agilent, Santa Clara, CA, USA)로 분석하였다.

분석에 사용된 컬럼은 YMC-PAK ODS AM(4.6×250 mm, 5 µm, YMC, Kyoto, Japan)이며, 검출기는 photodiode array detector(PDA, Agilent, Santa Clara, CA, USA)를 사용하여 270 nm 파장에서 검출하였다. 이동상으로 5 mM sodium 1-hexanesulfonate buffer(이동상 A)와 100% methanol(이동상 B)을 사용하였으며, 20 µL의 시료를 주입한 뒤 0.8 mL/min의 속도로 용출시켰다. 이동상 gradient 조건은 0~8분까지 이동상 A를 100%로 유지한 후 20분까지 이동상 A를 75%까지 서서히 감소시켰다. 이후 30분까지 이동상 A를 55%로 감소시킨 후 31분에 이동상 A가 100%가 되도록 빠르게 증가시켰으며 50분까지 유지했다.

비타민 B₂ 분석

균질화된 시료 2.0~5.0 g을 추출유리관에 취한 후 증류수 50 mL를 첨가하여 혼합하였다. 추출유리관 상부를 질소 가스로 치환시킨 후 냉각관을 연결하여 80°C shaking water bath(HB0205SW, Hanbaek Scientific Co., Bucheon, Korea)에서 30분간 환류 추출하였다. 이후 냉각시킨 뒤 여과지(Whatman No.1)로 여과한 다음 일부 여과액을 취하여 15,000 rpm에서 10분간 원심분리하였다. 분리된 상층액을 0.45 µm membrane filter로 여과하여 분석에 사용하였다.

비타민 B₂ 분석은 HPLC(LC-20AD, Shimadzu, Kyoto, Japan)를 사용하였으며 검출기는 동일사의 형광검출기(fluorescence detector, FLD)를 이용하여 Ex_λ=445 nm, Em_λ=530 nm 조건에서 분석하였다. 분석 시 사용된 컬럼은 YMC-PAK PRO RS C₁₈(4.6×250 mm, 5 µm, YMC)이며, 시료 20 µL를 주입하여 분당 0.8 mL의 속도로 용출시켰다. 이동상은 10 mM NaH₂PO₄(pH 5.5)와 methanol을 3:1의 비율로 조성하여 등용매용리 조건으로 분석하였다.

결과 및 고찰

분석법 검증

본 연구에서 분석한 비타민 B₁, B₂ 및 B₃ 활성을 나타내는 총 6종 성분 분석에 관한 유효성 검증은 AOAC(2002) 가이드라인에서 제시한 특이성, 직선성, 민감성, 정확성 및 정밀성 지표를 분석하여 평가하였다. 특이성은 비타민 B₁(thiamin)과 B₃(nicotinic acid와 nicotinamide)의 표준용액과 분석 시료의 retention time을 비교하고 200~700 nm에서 검출한 peak의 spectrum을 over-lapping 하여 확인하였

Fig. 1. HPLC chromatograms of vitamin B₁ and B₃ standard (A) and ark shell sample (B). Vitamin B₁, thiamin; vitamin B₃, nicotinic acid and nicotinamide.

Fig. 2. PDA spectra of thiamin (A), nicotinic acid (B), and nicotinamide (C) at 200~700 nm.

다(Fig. 1, 2). 표준용액 및 수산자원시료의 분석 결과, 비타민 B₁의 retention time은 31.0분으로 일치한 것으로 나타났으며, 비타민 B₃ 중 nicotinic acid는 6.8분, nicotinamide는 13.9분에 검출되는 것을 확인하였다. 또한, 세 가지 표준용액과 각 분석 시료 간 PDA 200~700 nm 범위에서의 흡광 패턴이 상호 일치하여 HPLC-PDA 분석의 특이성이 우수함을 확인할 수 있었다. 비타민 B₂의 경우 표준용액과 분석 시료의 retention time은 각각 FAD 8.0~9.0분, FMN 15.0~16.0분, riboflavin은 31.0~32.0분 부근에서 나타나는 것을 확인하였다(Fig. 3).

비타민 B₁, B₂ 및 B₃ 성분 6종의 정량분석을 위해 각 표준용액을 단계적으로 희석하여 7개 농도에 대해 검량선을 작성한 결과, 모든 성분에서 $R^2=0.9989\sim1.0000$ 으로 높은 상관관계수 값을 보여 우수한 직선성을 보임을 확인할 수 있었다(Table 2). 비타민의 검출과 정량이 어느 수준까지 가능한지를 평가할 수 있는 분석의 민감성은 Table 2와 같다. PDA 검출기로 분석한 thiamin의 LOD와 LOQ는 각각 0.0005

mg/100 g과 0.0010 mg/100 g이었으며, nicotinic acid와 nicotinamide의 LOD는 각각 0.0003 mg/100 g과 0.0008 mg/100 g, LOQ는 각각 0.0007 mg/100 g과 0.0021 mg/100 g으로 검출되었다. 이는 Kim과 Kim(2020)이 HPLC/PDA를 이용하여 분석한 thiamin, nicotinic acid 및 nicotinamide의 LOD(각각 0.0037, 0.0029, 0.0043 mg/100 g)와 LOQ(각각 0.0052, 0.0063, 0.0091 mg/100 g)보다 더 낮은 수준으로 본 연구 분석법의 민감성이 더 우수함을 확인할 수 있었다. 또한, 본 연구에서 FLD를 이용하여 검출한 비타민 B₂ 성분인 FAD, FMN 및 riboflavin의 LOD는 각각 0.00005, 0.00002, 0.00001 mg/100 g, LOQ는 각각 0.00014, 0.00006, 0.00001 mg/100 g으로 나타났는데, 이는 Kim 등(2017)이 HPLC/FLD 분석법으로 분석한 FAD, FMN, riboflavin의 LOD(각각 0.010, 0.003, 0.002 mg/100 g)와 LOQ(각각 0.030, 0.009, 0.006 mg/100 g)보다 더 낮은 것으로 나타나 본 연구에서 적용한 분석법이 수산 자원에 미량 수준으로 존재하는 비타민 B₁, B₂ 및 B₃ 함량을

Fig. 3. HPLC chromatograms of vitamin B₂ standards (A) and ark shell sample (B). FAD, flavin adenine dinucleotide; FMN, riboflavin 5'-monophosphate.

Table 2. Linearity and limits of detection and quantification for vitamin B₁, B₂, and B₃ analyses

Analytes		Regression equation ¹⁾ (y=ax+b)	Correlation coefficient (R ²)	LOD ²⁾ (mg/100 g)	LOQ ³⁾ (mg/100 g)
Vitamin B ₁	Thiamin	y=33.624x-1.7529	0.9997	0.0005	0.0010
Vitamin B ₂	FAD ⁴⁾	y=428,821x-5939	0.9989	0.00005	0.00014
	FMN ⁵⁾	y=428,821x-5939	0.9995	0.00002	0.00006
	Riboflavin	y=5,225,021x-30,573	0.9997	0.00001	0.00001
Vitamin B ₃	Nicotinic acid	y=38.635x-0.7786	1.0000	0.0003	0.0007
	Nicotinamide	y=36.439x-1.1929	1.0000	0.0008	0.0021

¹⁾y and x of the regression equations for vitamin B₁, B₂, and B₃ indicate peak area (mAU) of HPLC chromatograms and the concentration of corresponding analytes (mg/mL), respectively.

²⁾Limit of detection. ³⁾Limit of quantification. ⁴⁾Flavin adenine dinucleotide. ⁵⁾Flavin mononucleotide.

분석하는 데 적합함을 확인할 수 있었다.

식품 분석 시 동일한 분석법을 사용하더라도 시료의 농도에 따라 영향을 받을 수 있기 때문에 이를 고려하여 AOAC (2002) 가이드라인에서는 농도에 따른 정확성 및 정밀성 수용범위를 제시하고 있다. 정확성은 분석하고자 하는 성분의 시료 중 농도 수준이 1 mg/100 g일 때 회수율 80~115%를 수용범위로 제시하고 있으며, 정밀성의 경우 성분 농도 수준이 1 µg/g일 때 반복 분석값의 변동계수(coefficient of variation, CV) 수준이 8~16%, 시료 농도 수준이 1 mg/100 g일 때 CV 6~11% 이하를 정밀성이 우수한 수용범위로 제

시하고 있다. 정확성 검증을 위해 비타민 B₁ 및 B₃는 SRM 3290, 비타민 B₂는 SRM 1849a를 분석하여 NIST에서 제시하는 참값과 비교한 결과는 Table 3과 같다. Thiamin, riboflavin, nicotinic acid 및 nicotinamide 회수율을 분석한 결과 각각 105.8±4.4%, 101.3±1.4%, 98.5±0.6%, 100.1±0.4%를 얻어 모두 AOAC(2002) 가이드라인 수용범위에 충족한 것으로 나타나 분석법의 정확도가 우수함을 확인할 수 있었다. 정밀성 검증을 위해 품질관리 시료를 반복적으로 분석하여 반복성과 재현성을 평가한 결과는 Table 4와 같다. Thiamin의 반복성 CV는 5.4%를 얻었으며, 비타민 B₂

Table 3. Accuracy of vitamin B₁, B₂, and B₃ analyses

Analytes (mg/100 g)		Sample ¹⁾	Reference value ²⁾	Analytical value ³⁾	Recovery (%)
Vitamin B ₁	Thiamin	SRM 3290	2.65±0.30	2.64±0.16	105.8±4.4
Vitamin B ₂	Riboflavin	SRM 1849a	2.037±0.052	2.062±0.029	101.3±1.4
Vitamin B ₃	Nicotinic acid	SRM 3290	18.10±0.31	17.83±0.10	98.5±0.6
	Nicotinamide	SRM 3290	2.799±0.022	2.802±0.011	100.1±0.4

¹⁾SRM, standard reference material; SRM 1849a, infant/adult nutritional formula; SRM 3290, dry cat food.

²⁾The reference value for the content of vitamin B₁, B₂, and B₃ in SRM provided by NIST; NIST provides riboflavin only for reference value of vitamin B₂ in SRM 1849a.

³⁾The analytical value obtained in this study.

Table 4. Precision of vitamin B₁, B₂, and B₃ analyses

Analytes (mg/100 g)		Repeatability ¹⁾		Reproducibility ²⁾	
		Mean±SD ³⁾	CV ⁴⁾ (%)	Mean±SD	CV (%)
Vitamin B ₁	Thiamin	0.92±0.05	5.4	1.06±0.08	8.0
Vitamin B ₂ ⁵⁾	FAD	0.13±0.00	0.8	0.13±0.02	15.4
	FMN	0.12±0.00	3.0	0.13±0.01	5.1
	Riboflavin	1.64±0.06	3.6	1.63±0.07	4.2
	Total	1.80±0.06	3.5	1.78±0.08	4.2
Vitamin B ₃	Nicotinic acid	2.43±0.15	6.0	2.73±0.04	1.5
	Nicotinamide	4.71±0.19	4.1	4.93±0.22	4.4
	Total ⁶⁾	7.66±0.24	3.1	7.07±0.42	5.9

¹⁾Repeatability refers to the results of independent 5 determination in triplicates obtained by analyzing a QC sample five times on the same day.

²⁾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).

³⁾Standard deviation.

⁴⁾Coefficient of variation (%) = 100 × (SD/mean).

⁵⁾FAD, flavin adenine dinucleotide; FMN, flavin mononucleotide; Total = (FAD × 0.4537) + (FMN × 0.7869) + riboflavin.

⁶⁾Total = nicotinic acid + nicotinamide.

(FAD, FMN 및 riboflavin)는 0.8~3.6%, 비타민 B₃(nicotinic acid와 nicotinamide)는 4.1~6.0%를 나타냈다. 6종 수용성 비타민 성분의 재현성 CV는 가장 낮은 nicotinic acid 1.5%에서 가장 높은 FAD 15.4%의 비교적 넓은 범위를 나타냈으나 모두 AOAC(2002) 가이드라인에서 제시하는 정밀성 수용범위에 충족하는 것으로 확인되어 분석법의 반복성과 재현성이 우수하여 수용 가능한 범위 안에서 신뢰도 있는 분석 데이터를 생산할 수 있음을 확인할 수 있었다.

분석품질관리

시료를 분석하는 일정 기간 분석에 영향을 미칠 수 있는 다양한 변수로부터 생산되는 분석 데이터의 신뢰성을 확보하기 위해 QC chart를 작성하여 분석의 품질을 관리하였다. 수산물 20종에 대한 비타민 B₁, B₂ 및 B₃의 분석은 약 4개월간 지속하였으며, 검체 시료를 분석할 때마다 품질관리 시료를 함께 분석하여 관리도표를 작성한 결과는 Fig. 4와 같다. 비타민 B₁, B₂ 및 B₃의 평균값인 0.97, 1.78, 7.37 mg/100 g을 기준으로 관리 상하한선(0.79~1.16, 1.63~1.93 및

6.48~8.26 mg/100 g)과 조치 상하한선(0.70~1.25, 1.56~2.01 및 6.03~8.70 mg/100 g)을 설정하였으며, 분석이 진행되는 기간에 분석 데이터의 품질관리를 진행하였다. 모든 QC 분석값은 관리 상하한선 범위 이내에 들어가는 것을 확인하였으며, 이는 본 연구에서 제공하는 분석 데이터가 일정한 분석조건에서 진행되었음을 알 수 있었다.

외부 분석품질관리는 영국 환경식품농림부에서 주관하는 국제정도관리능력시험 FAPAS에 참가하여 평가하였다. FAPAS 시험은 국내의 분석기관에서 제시한 분석값을 바탕으로 z -score ± 2 이내 범위에 충족해야 하는 분석속련도 평가 프로그램이다. 국제적으로 통용될 수 있는 데이터 생산을 위해 FAPAS PT-21118에 참가하여 분석속련도를 평가한 결과는 Fig. 5와 같다. 전 세계에서 참여한 분석기관 중 z -score가 ± 2 범위 내에 충족하지 못하는 실험실은 비타민 B₁의 경우 5개, 비타민 B₃의 경우 7개 실험실이었으며, 비타민 B₂의 경우 모두 z -score가 ± 2 범위 내의 분석값을 얻은 것으로 확인되었다. 분석속련도 평가에 참여한 결과 z -score가 비타민 B₁(0.508 mg/100 g)은 1.2, 비타민 B₂ 분석

Fig. 4. Quality control charts of vitamin B₁ (A), B₂ (B), and B₃ (C) analyses. Upper and lower control lines (UCL and LCL) = $\text{mean} \pm 2 \times \text{SD}$, upper and lower action lines (UAL and LAL) = $\text{mean} \pm 3 \times \text{SD}$; SD, standard deviation.

Fig. 5. z-scores of vitamin B₁ (A), B₂ (B), and B₃ (C) analyses by international laboratories participated in a FAPAS proficiency test 21118. The laboratory number 27 was given to the present study.

(1.370 mg/100 g)은 -1.9, 비타민 B₃ 분석(15.107 mg/100 g)은 -1.1의 값을 얻어 모든 성분의 분석에서 국제 수준의 분석숙련도를 가지고 있음을 확인할 수 있었다.

수산물의 비타민 B₁, B₂ 및 B₃ 분석

국내 수산자원 20종의 비타민 B₁, B₂ 및 B₃ 함량을 분석한 결과는 Table 5, 6과 같다. 비타민 B₁ 함량은 어류 0.03~0.24 mg/100 g, 갑각류 0.00~0.38 mg/100 g, 해조류 0.00~0.02 mg/100 g, 두족류 0.00~0.04 mg/100 g, 패류 0.02~0.84 mg/100 g 및 기타류 0.03~0.35 mg/100 g으로 다양

한 분포를 보였으며, 그중 피조개(0.84 mg/100 g), 갯가재(0.38 mg/100 g), 미더덕(0.35 mg/100 g)에서 높은 비타민 B₁ 함량을 나타내었다. 본 연구에서 분석한 일부 갑각류(대롱수염새우, 꽃게), 해조류(모자반, 톳) 및 두족류(문어)에서 비타민 B₁는 검출되지 않았으나, 국가식품영양성분표(RDA, 2017)에 따르면 대롱수염새우(0.02 mg/100 g), 꽃게(0.04 mg/100 g), 톳(0.01 mg/100 g), 문어(0.03 mg/100 g)는 비타민 B₁이 함유되어 있는 것으로 보고된 바 있다. Park 등 (2014)은 4개 지역에서 시판되는 건조 김의 비타민 B₁과 B₃ 함량을 분석한 결과 7.87~9.79 mg/100 g과 15.58~19.15

Table 5. The contents of vitamin B₁ and B₃ in fishery resources in Korea

Classification (n=20)	Common name	Scientific name	Water soluble vitamin content (mg/100 g)			
			Vitamin B ₁	Vitamin B ₃		
			Thiamin	Nicotinic acid	Nicotinamide	Total ¹⁾
Fish (n=4)	Pacific herring	<i>Clupea pallasii</i>	0.04±0.00	2.44±0.11	— ²⁾	2.44±0.11
	Korean pomfret	<i>Pampus argenteus</i>	0.17±0.00	2.17±0.06	1.93±0.06	4.10±0.09
	Blackthroat seaperch	<i>Doederleinia berycoides</i>	0.03±0.00	0.09±0.00	2.96±0.04	3.05±0.04
	Pacific bluefin tuna	<i>Thunnus orientalis</i>	0.24±0.00	—	8.28±0.26	8.28±0.26
Crustacean (n=3)	Razor mud shrimp	<i>Solenocera melantho</i>	—	0.77±0.04	—	0.77±0.04
	Japanese squillid mantis shrimp	<i>Oratosquilla oratoria</i>	0.38±0.01	2.35±0.05	—	2.35±0.05
	Gazami crab	<i>Portunus trituberculatus</i>	—	1.28±0.04	—	1.28±0.04
Seaweed (n=3)	Gulf weed	<i>Sargassum fulvellum</i>	—	4.50±0.15	—	4.50±0.15
	Seaweed fusiforme	<i>Hizikia fusiforme</i>	—	0.52±0.02	—	0.52±0.02
	Seersucker	<i>Costaria costata</i>	0.02±0.00	0.95±0.01	—	0.95±0.01
Cephalopod (n=3)	Schoolmaster gonate squid	<i>Berryteuthis magister</i>	0.04±0.00	3.28±0.03	—	3.28±0.03
	Common squid	<i>Todarodes pacificus</i>	0.02±0.00	9.28±0.10	—	9.28±0.10
	Common octopus	<i>Octopus vulgaris</i>	—	7.95±0.34	—	7.95±0.34
Shellfish (n=4)	Ark shell	<i>Scapharca broughtonii</i>	0.84±0.01	1.43±0.06	4.99±0.05	6.42±0.09
	Mussel	<i>Mytilus coruscus</i>	0.03±0.00	—	—	—
	Spiny top shell	<i>Turbo cornutus</i>	0.02±0.00	0.79±0.02	—	0.79±0.02
	Blue mussel	<i>Mytilus edulis</i>	0.02±0.00	2.26±0.08	—	2.26±0.08
Others (n=3)	Common sea squirt	<i>Halocynthia roretzi</i>	0.04±0.01	11.96±0.60	—	11.96±0.60
	Warty sea squirt	<i>Styela clava</i>	0.35±0.01	6.15±0.04	—	6.15±0.04
	Black sea cucumber	<i>Stichopus japonicus</i>	0.03±0.00	5.99±0.07	—	5.99±0.07

¹⁾Nicotinic acid + nicotinamide.²⁾Not detected.**Table 6.** The contents of vitamin B₂ in fishery resources in Korea

Classification (n=20)	Common name	Scientific name	Vitamin B ₂ content (mg/100 g)			
			FAD ¹⁾	FMN ²⁾	Riboflavin	Total ³⁾
Fish (n=4)	Pacific herring	<i>Clupea pallasii</i>	0.34±0.00	0.04±0.00	0.06±0.01	0.24±0.01
	Korean pomfret	<i>Pampus argenteus</i>	0.05±0.00	0.02±0.00	0.03±0.00	0.06±0.00
	Blackthroat seaperch	<i>Doederleinia berycoides</i>	0.15±0.01	0.02±0.00	0.02±0.00	0.11±0.01
	Pacific bluefin tuna	<i>Thunnus orientalis</i>	0.06±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00	0.06±0.00
Crustacean (n=3)	Razor mud shrimp	<i>Solenocera melanthero</i>	0.06±0.00	0.02±0.00	0.01±0.00	0.05±0.00
	Japanese squillid mantis shrimp	<i>Oratosquilla oratoria</i>	0.13±0.01	0.04±0.00	0.08±0.00	0.17±0.01
	Gazami crab	<i>Portunus trituberculatus</i>	0.09±0.00	0.06±0.00	0.18±0.01	0.27±0.01
Seaweed (n=3)	Gulf weed	<i>Sargassum fulvellum</i>	0.13±0.01	0.03±0.00	0.03±0.00	0.10±0.01
	Seaweed fusiforme	<i>Hizikia fusiforme</i>	0.10±0.00	0.02±0.00	0.01±0.00	0.07±0.00
	Seersucker	<i>Costaria costata</i>	0.07±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00	0.07±0.00
Cephalopod (n=3)	Schoolmaster gonate squid	<i>Berryteuthis magister</i>	0.05±0.00	0.02±0.00	0.03±0.00	0.06±0.00
	Common squid	<i>Todarodes pacificus</i>	0.04±0.00	0.02±0.00	0.02±0.00	0.06±0.00
	Common octopus	<i>Octopus vulgaris</i>	0.06±0.00	0.03±0.00	0.04±0.00	0.08±0.00
Shellfish (n=4)	Ark shell	<i>Scapharca broughtonii</i>	0.11±0.01	0.21±0.00	0.05±0.00	0.27±0.00
	Mussel	<i>Mytilus coruscus</i>	0.76±0.04	0.07±0.00	0.06±0.00	0.47±0.03
	Spiny top shell	<i>Turbo cornutus</i>	0.17±0.01	0.04±0.00	0.07±0.00	0.17±0.01
	Blue mussel	<i>Mytilus edulis</i>	0.35±0.01	0.05±0.00	0.07±0.01	0.27±0.01
Others (n=3)	Common sea squirt	<i>Halocynthia roretzi</i>	0.24±0.01	0.03±0.00	0.07±0.01	0.20±0.01
	Warty sea squirt	<i>Styela clava</i>	0.08±0.01	0.02±0.00	0.05±0.00	0.11±0.01
	Black sea cucumber	<i>Stichopus japonicus</i>	0.04±0.00	0.03±0.00	0.03±0.00	0.07±0.00

¹⁾Flavin adenine dinucleotide.²⁾Flavin mononucleotide.³⁾(FAD×0.4537) + (FMN×0.7869) + riboflavin.

mg/100 g으로 유의한 차이가 있다고 보고하였다. 이러한 차이들은 수산자원의 종의 차이뿐만 아니라 생육환경에 따라 수용성 미량비타민의 함량에 차이를 나타낼 수 있는 것으로 사료된다.

수산자원에 대한 비타민 B₂ 함량은 어류 0.06~0.24 mg/100 g, 갑각류 0.05~0.27 mg/100 g, 해조류 0.07~0.10 mg/100 g, 두족류 0.06~0.08 mg/100 g, 패류 0.17~0.47 mg/100 g, 기타류 0.07~0.20 mg/100 g의 분포를 나타내었다(Table 6). 다른 분류군에 비해 패류에서 비교적 높은 비타민 B₂ 함량을 나타내었는데 이 중에서 홍합이 0.47 mg/100 g으로 가장 높은 함량을 보였다. Kang 등(2000)은 참치 부위 중 혈합육(0.309 mg/100 g)에서 비타민 B₂의 함량이 가장 높다고 보고한 바 있다. 혈합육은 암적색의 근육을 뜻하며 미오글로빈의 함량이 높은 것으로 알려져 있다. 본 연구에서 분석한 참다랑어의 경우 흰 살 부위가 더 많이 포함되어 혈합육이 적어 비교적 낮은 비타민 B₂의 함량을 나타낸 것으로 보인다. 그 외 붉은 살이 없는 두족류(0.06~0.08 mg/100 g)와 해조류(0.07~0.10 mg/100 g), 덕대(0.06 mg/100 g)와 대롱수염새우(0.05 mg/100 g)에서 비교적 낮은 비타민 B₂ 함량을 나타내었다.

한편, 수산자원 20종의 비타민 B₃ 함량은 0.00~11.96 mg/100 g의 범위였으며, nicotinic acid의 경우 0.00~11.96 mg/100 g, nicotinamide의 경우 0.00~8.28 mg/100 g의 수준을 나타내었다(Table 5). 이들 중 멍게(11.96 mg/100 g), 살오징어(9.28 mg/100 g), 참다랑어(8.28 mg/100 g)에서 비교적 높은 함량을 보였으나 홍합에서는 비타민 B₃가 검출되지 않았다. 국가별 홍합에 대한 비타민 B₃ 함량 수준

을 살펴보면, 우리나라 국가식품영양성분표(RDA, 2017)에서는 2.5 mg/100 g, 미국 농무부(USDA, 2019)는 1.60 mg/100 g, 그리고 일본 문무성(MEXT, 2015)은 1.4 mg/100 g으로 보고하고 있어 차이를 나타내고 있는데, 이는 국가별 지리적 차이로 인해 이용되는 수산자원의 종의 차이, 계절적 차이 등에 따른 것으로 보인다. 전반적으로 국내 수산자원 20종의 비타민 B₁, B₂ 및 B₃ 성분 6종을 분석한 결과 분류군과 종의 특성에 따라 다양한 수준을 나타냈으며, 이에 대한 지역별, 계절별 차이를 위해서는 보다 다양한 수산자원에 대한 분석이 필요할 것으로 사료된다.

수산물 분류군별 비타민 B₁, B₂ 및 B₃ 회수율 평가

수산자원 6개 분류군의 matrix 특성에 따른 수용성 비타민 분석에 대한 회수율(recovery)을 평가하였다. 분류군별 1종의 비타민 B₁, B₂ 및 B₃ 농도 수준의 100%가 되도록 분석하고자 하는 성분의 표준용액을 가하여 분석을 수행하고 이들의 회수율을 비교한 결과는 Table 7, 8과 같다. HPLC-PDA 분석법으로 수산자원 6종에서 thiamin을 분석한 회수율은 84.8~102.4% 범위를 나타냈으며, nicotinic acid는 81.8~105.5%, nicotinamide는 102.3~106.3% 범위를 나타내어 시료의 종류마다 다소 차이가 있었으나 모두 85% 이상의 높은 회수율을 보이는 것으로 확인되었다(Table 7). 이는 시료 중에 존재하는 thiamin 수준이 낮은 수준이기 때문에 이에 대하여 신뢰성을 얻을 수 있는 수용 가능한 수준을 충족하는 수준이다(AOAC, 2002). Barna와 Dworschak (1994)는 HPLC법과 미생물학적 방법을 이용하여 적색육류의 비타민 B₁의 회수율을 측정한 결과 각각 85%와 94%

Table 7. Recovery of vitamin B₁ and B₃ from fishery resources by HPLC-PDA

Classification	Common name	Recovery (%)		
		Vitamin B ₁	Vitamin B ₃	
		Thiamin	Nicotinic acid	Nicotinamide
Fish	Blackthroat seaperch	84.8±2.3	94.4±6.1	106.3±1.4
Crustacean	Japanese squillid mantis shrimp	100.5±7.5	105.0±2.0	— ¹⁾
Seaweed	Seersucker	96.6±4.9	101.3±4.3	—
Cephalopod	Schoolmaster gonate squid	89.0±8.5	103.5±3.0	—
Shellfish	Ark shell	102.4±2.4	81.8±1.6	102.3±9.8
Others	Warty sea squirt	95.3±11.2	105.5±1.8	—

¹⁾Not detected.

Table 8. Recovery of vitamin B₂ from fishery resources by HPLC-FLD

Classification	Common name	Recovery (%)		
		FAD ¹⁾	FMN ²⁾	Riboflavin
Fish	Pacific herring	91.6±13.5	120.1±6.7	118.8±10.3
Crustacean	Gazami crab	92.0±8.3	93.9±3.6	103.8±20.2
Seaweed	Gulfweed	93.3±10.6	104.8±12.0	113.0±16.5
Cephalopod	Common octopus	84.4±1.3	100.4±1.5	81.4±1.9
Shellfish	Mussel	106.6±6.1	79.9±5.0	80.1±3.5
Others	Common sea squid	97.1±6.6	83.7±3.2	112.3±4.5

¹⁾Flavin adenine dinucleotide.

²⁾Flavin mononucleotide.

를 나타냈다고 보고하였는데, 이는 백색 근육을 가진 어류의 결과와 유사한 수준으로 보인다. HPLC-FLD를 이용하여 검출한 FAD, FMN 및 riboflavin의 회수율은 각각 84.4~106.6%, 79.9~120.1% 및 80.1~118.8%를 나타내었다 (Table 8). AOAC(2002) 가이드라인은 분석 성분의 농도가 1 µg/g 수준일 때 회수율 75~120%, 10 µg/g 수준일 때 회수율 80~115%로 시료 농도 수준에 따라 회수율의 수용범위를 다르게 제시하고 있는데, 본 연구에서 수산자원 6종에 대한 수용성 비타민 6종의 회수율이 모두 AOAC 수용범위 내에 포함되는 것으로 확인되었다. 따라서 본 연구에 사용된 HPLC-PDA 및 HPLC-FLD 분석법은 수산자원 중 비타민 B₁, B₂ 및 B₃ 활성을 나타내는 6종 성분 thiamin, FAD, FMN, riboflavin, nicotinic acid 및 nicotinamide을 신뢰도 있는 수준으로 정량하기에 적합한 분석법으로 향후 국가영양성분 데이터베이스를 구축하는 데 적용할 수 있을 것으로 사료된다.

요 약

본 연구는 국내 수산자원에 대하여 HPLC-PDA와 HPLC-FLD 분석법을 이용한 수용성 비타민 B₁, B₂ 및 B₃ 활성을 나타내는 thiamin, FAD, FMN, riboflavin, nicotinic acid 및 nicotinamide 6종 분석에 대한 분석법 검증과 분석품질 관리를 수행하고, 검증된 분석법을 적용하여 수산자원 20종에 대한 신뢰도가 확보된 비타민 B₁, B₂ 및 B₃ 데이터베이스를 구축하고자 수행되었다. 수산자원의 수용성 비타민 분석법 검증은 분석수행지표(특이성, 직선성, 민감성, 정확성 및 정밀성)를 이용하여 평가하였다. 비타민 B₁과 B₃의 표준용액과 수산자원 시료를 분석 비교한 결과 PDA spectrum과 HPLC retention time이 모두 일치하여 분석의 특이성을 확인하였다. 비타민 B₁, B₂ 및 B₃ 모든 성분에서 넓은 범위에서의 분석 직선성($R^2=0.9989\sim1.0000$)이 확인되었다. 비타민 B₁(thiamin)의 LOQ는 0.0010 mg/100 g을 보였으며, 비타민 B₂(FAD, FMN, riboflavin)의 LOQ는 각각 0.00014, 0.00006, 0.00001 mg/100 g을 나타내었다. 또한, 비타민 B₃(nicotinic acid와 nicotinamide)의 LOQ는 각각 0.0008과 0.0021 mg/100 g을 나타내어 수산자원의 낮은 수준으로 존재하는 수용성 비타민을 정량 가능한 것으로 확인되었다. 표준참고물질 SRM을 이용한 회수율 측정 결과 98.5~105.8%로 높은 수준을 보였으며, 비타민 B₁의 반복성과 재현성은 각각 5.4%와 8.0%, 비타민 B₂는 각각 3.5%와 4.2%, 비타민 B₃는 각각 3.1%와 5.9%를 나타내어 분석법의 정확성과 정밀성의 우수함이 확인되었다. 수산자원 20종의 비타민 B₁, B₂ 및 B₃ 함량은 각각 0.00~0.84, 0.05~0.47 및 0.00~11.96 mg/100 g의 범위를 나타냈으며, 수산자원 6군으로부터의 thiamin, nicotinic acid, nicotinamide, FAD, FMN 및 riboflavin 6종 분석 회수율은 79.9~120.1%의 범위를 나타냈는데, 이는 AOAC 가이드라인에서 제시하는 수

용범위 수준을 충족하는 것으로 확인되었다. 내부 분석품질 관리도표와 외부 분석 숙련도 시험 결과를 통해 우수한 숙련도와 분석품질이 분석 전 기간 관리하에 진행되었음이 확인되어 분석 데이터의 신뢰성이 우수함을 확인할 수 있었다. 따라서 본 연구에서 분석한 수산자원 20종의 비타민 B₁, B₂ 및 B₃ 분석 데이터는 국내 수산자원 데이터베이스 구축을 위한 자료로 활용될 수 있을 것으로 판단되며, HPLC/PDA를 이용한 비타민 B₁과 B₃ 동시분석법과 HPLC/FLD를 이용한 비타민 B₂ 분석법은 향후 국내 다양한 수산자원 분석에 확대 적용하여 국가영양성분 데이터베이스 구축에 기여할 수 있을 것으로 사료된다.

감사의 글

이 논문은 2021년도 국립수산물과학원 수산시험연구사업(R2021061)의 지원으로 수행된 연구입니다.

REFERENCES

- AOAC. AOAC guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. Association of Official Analytical Chemists, Gaithersburg, MD, USA. 2002. p 2, 12-13, 22, 25-26.
- Barna É, Dworschak E. Determination of thiamine (vitamin B₁) and riboflavin (vitamin B₂) in meat and liver by high-performance liquid chromatography. J Chromatogr A. 1994. 668: 359-363.
- Kang CH, Jung HY, Lee DH, Park JK, Ha JU, Lee SC, et al. Analysis of chemical compounds on tuna processing by products. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2000. 29:981-986.
- Kim GP, Hwang YS, Choung MG. Analysis of water soluble vitamin B₁, B₂, and B₃ contents in Korean traditional holiday foods. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2017. 46:944-951.
- Kim GP, Lee J, Ahn KG, Hwang YS, Choi Y, Chun JY, et al. Differential responses of B vitamins in black soybean seeds. Food Chem. 2014. 153:101-108.
- Kim N, Kim Y. Water-soluble vitamins contents in seafood-based dishes. Korean J Food Nutr. 2020. 33:390-398.
- Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. Circulation. 2002. 106:2747-2757.
- Lee HS, Chang MJ, Kim HY, Shim JS, Lee JS, Kim KN. Survey on utilization and demand for national food composition database. J Nutr Health. 2018. 51:186-198.
- MEXT. Standard Tables of Food Composition in Japan. 7th ed. Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology, Tokyo, Japan. 2015. p 120-151.
- Miller KL, Trifan G, Testai FD. Neurology of nutritional deficiencies. Curr Neurol Neurosci Rep. 2019. 19:101. <https://doi.org/10.1007/s11910-019-1011-2>
- Mosegaard S, Dipace G, Bross P, Carlsen J, Gregersen N, Olsen RKJ. Riboflavin deficiency – implications for general human health and inborn errors of metabolism. Int J Mol Sci. 2020. 21:3847. <https://doi.org/10.3390/ijms21113847>
- Park WM, Kang DS, Bae TJ. Studies on organic acid, vitamin and free sugar contents of commercial dried lavers (*Porphyra yezoensis*) cultivated in Korea. J Korean Soc Food Sci Nutr. 2014. 43:172-177.

- Powers HJ. Riboflavin (vitamin B₂) and health. *Am J Clin Nutr*. 2003. 77:1352-1360.
- RDA (Rural Development Administration). National Standard Nutrient Database. 9th ed. Jeonju, Korea. 2017. p 370-373.
- USDA (United States Department of Agriculture). Food Data Central. 2019 [cited 2021 Sep 02]. Available from: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/>
- Youn HS. New nutritional concepts of vitamins and minerals. *Korean J Pediatrics*. 2005. 12:1295-1309.
- Zempleni J, Rucker RB, McCormick DB, Suttie JW. Handbook of vitamins. 4th ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA. 2007. p 192-223, 253-282.