



Research Article

# Analysis of B<sub>6</sub> (pyridoxine, pyridoxal, and pyridoxamine) and B<sub>12</sub> (cobalamins) vitamers in cooked chicken cuts for revision of the national food composition table

## 국가식품성분표 개정을 위한 국내 다빈도 섭취 계육 및 계육 조리 가공품의 B<sub>6</sub> 및 B<sub>12</sub> vitamers (pyridoxine, pyridoxal, pyridoxamine, cobalamins) 분석

Yu-Jeong Gwak, Jeong Kim, Jiyeon Chun\*

곽유정 · 김정 · 천지연\*

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

순천대학교 식품공학과

**Abstract** In this study, vitamers of vitamins B<sub>6</sub> (pyridoxine; PN, pyridoxal; PL, pyridoxamine; PM) and B<sub>12</sub> (cobalamins) in cooked or processed chicken (n=21) were analyzed and the analytical performance parameters were evaluated. The levels of B<sub>6</sub> and B<sub>12</sub> vitamers were significantly different in terms of the breeds, cooking method, and the parts of the chicken (p<0.05). *Ogo/gye* (boiled) (61.48 μg/100 g) and roasted chicken wings (131.94 μg/100 g) showed the highest levels of total vitamin B<sub>6</sub> (PN+PL+PM) among the four breeds of chicken and the cooked or processed chicken, respectively. For cyanocobalamin, Korean native chicken (0.40 μg/100 g) and chicken skewers (0.68 μg/100 g) showed the highest levels among the four breeds of chicken and the cooked or processed chicken, respectively. Analysis of B<sub>6</sub> vitamers using high performance liquid chromatography-fluorescence detector (HPLC-FLD) showed a coefficient of variation (CV) of 0.4-4.6% for repeatability and 4.2-5.9% for reproducibility, showing good precision. Likewise, vitamin B<sub>12</sub> analysis using immunoaffinity-HPLC-photodiode array detector (PDA) showed a CV of 5.7% for repeatability and 5.9% for reproducibility. Recoveries of B<sub>6</sub> and B<sub>12</sub> vitamers were 94.3-100.2%, showing good accuracy. Unlike many previous studies that evaluated PN only, this study provides a more accurate estimation of the total B<sub>6</sub> content of cooked or processed chicken, including the contents of PN, PL, and PM, which can be used to revise the Korean food composition table.

**Keywords** pyridoxine, pyridoxal, pyridoxamine, cobalamin, chicken



OPEN ACCESS

**Citation:** Gwak YJ, Kim J, Chun J. Analysis of B<sub>6</sub> (pyridoxine, pyridoxal, and pyridoxamine) and B<sub>12</sub> (cobalamins) vitamers in cooked chicken cuts for revision of the national food composition table. Korean J Food Preserv, 29(7), 1091-1104 (2022)

**Received:** September 28, 2022

**Revised:** November 01, 2022

**Accepted:** November 02, 2022

\*Corresponding author

Jiyeon Chun

Tel: +82-61-750-3258

E-mail: cjiyfall@scnu.ac.kr

Copyright © 2022 The Korean Society of Food Preservation. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://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.

## 1. 서론

비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub>은 비타민 B군에 속하는 수용성 비타민으로 체내에서 생합성되지 않거나 체내에서 필요로 하는 수준 이하의 양으로 합성되므로 식이를 통한 공급이 필수로 이루어져야 하는 필수 미량영양성분이다(Ball, 2005). 특히, 비타민 B<sub>6</sub>는 체내에서 100여 종의 아미노산 대사에 관여하는 조효소로서 주로 탈탄산효소, 아미노전이효소, 라세미화효소 등에 관여하며,

면역계 및 신경전달물질 합성, 스테로이드호르몬 작용을 조절하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 또한, 비타민 B<sub>6</sub>는 항피부병, 항빈혈인자로 분류되며, 결핍 시 피부염, 구내염, 구순염, 간질성 혼수, 설염, 우울증 등과 같은 증상을 나타내는 것으로 보고되어 있다(Ministry of Health and Welfare와 The Korean Nutrition Society, 2015). 비타민 B<sub>12</sub>가 결핍되는 경우 주로 빈혈 증세와 신경계통의 이상이 나타나며, 위염, 위궤양, 식욕부진, 변비 또는 설사 등 위장계통의 이상을 보이는 것으로 알려져 있다(Baik와 Russell, 1999; Houston 등, 1999). 비타민 B<sub>12</sub>는 동물성 식품에 주로 존재하기 때문에 채식주의자와 비타민 B<sub>12</sub> 흡수율이 낮은 위장절제 환자 및 노인들에게서 비타민 B<sub>12</sub> 결핍이 빈번히 발생하는 것으로 알려져 있다(Andrés 등, 2004; Herbert, 1994).

비타민 B<sub>6</sub>는 식품 중에 피리독신(pyridoxine), 피리독살(pyridoxal), 피리독사민(pyridoxamine) 그리고, 이들의 인산화된 형태로 존재한다(Cho, 2010; Youn, 2005)(Fig. 1). 피리독신은 대부분 식물성 식품에 포함되어 있는 반면, 피리독살과 피리독사민은 동물성 식품에 풍부한 형태이다. 피리독신은 비타민 B<sub>6</sub>의 가장 안정적인 형태인 것에 비해

피리독살과 피리독사민은 알칼리 조건에서는 열에 불안정하지만 산성 조건에서는 열에 안정하고 광선에 의해 빠른 속도로 분해되는 등 존재하는 화학 구조의 차이에 따라 안정성이 달라지는 것으로 알려져 있다(Choi, 2019). 한편, 비타민 B<sub>12</sub>는 코린-2-고리(corrin ring) 중앙에 코발트(cobalt) 이온을 함유하고 있는 코발라민류(cobalamins)를 총칭하는 수용성 비타민으로 비타민 중에서 가장 복잡한 구조를 가지고 있다(Scott, 1999)(Fig. 1). 식품 중에는 주로 하이드로코발라민(hydroxy cobalamin), 아데노아실코발라민(adenocyl cobalamin), 메틸코발라민(methyl cobalamin) 등 다양한 형태로 존재하며 이들은 빛에 불안정하기 때문에 안정성이 높은 합성 시아노코발라민(cyanocobalamin) 형태로 강화식품에 주로 첨가되고 있다(Kumar, 2010).

2020년 농촌진흥청에서 전국 20대 이상 69세 이하 성인 남녀 1,100명을 대상으로 실시한 ‘닭고기 소비 실태 및 인식조사’에 따르면 우리나라 국민들의 연간 계육 소비량이 약 16 kg에 이르고, 70%가 넘는 가정이 1주일에 한 번 이상 계육을 먹는 것으로 나타났다(Rural Development Administration, 2020). 닭고기는 한국인의 식단에서 삶거나 굽거나 튀기는 등 여러 방식으로 조리되어 섭취되는

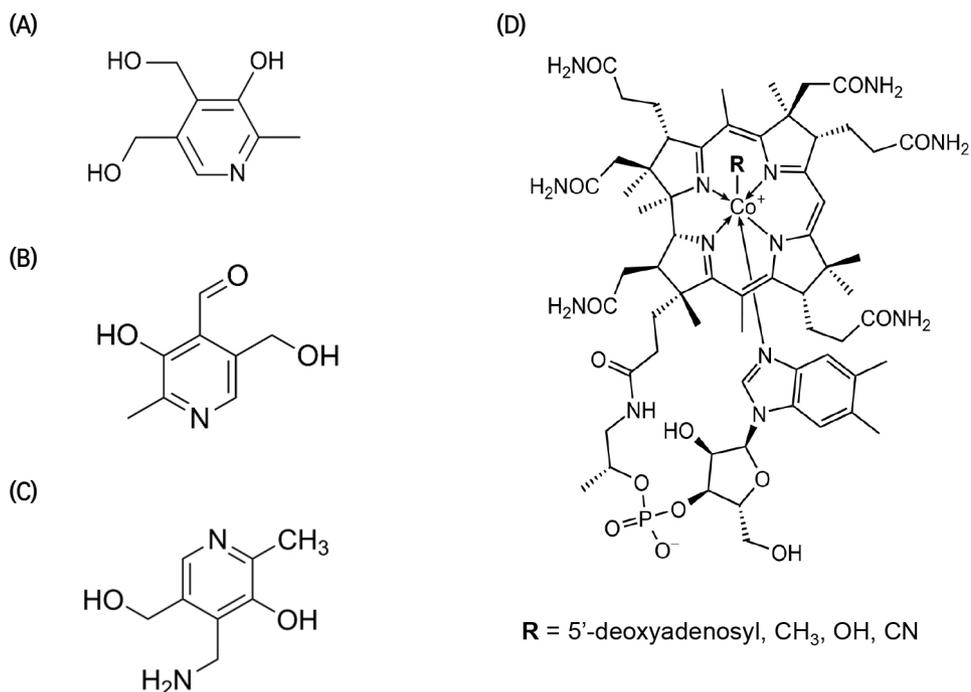


Fig. 1. Structures of pyridoxine (A), pyridoxal (B), pyridoxamine (C) and cyanocobalamin (D).

주요 육류로 그 소비량이 매년 상당 수준에 달하고 있으나, 미량 수준으로 존재하는 수용성 비타민류들에 대한 분석법의 한계로 인하여 이들에 대한 정보가 매우 부족한 실정이다. 특히 비타민 B군 중에서 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub>는 농진청과 식약처와 같은 국가기관에서 직접분석을 통해 구축하고 있는 미량비타민 데이터베이스 구축에서도 누락된 정보가 많아, 국민영양평가 및 보건정책 수립을 위해서는 이들 미량영양소에 대한 정보 구축이 시급한 실정이다. 비타민 B<sub>6</sub>는 식품 중 다양한 형태로 존재함에도 불구하고, 최근까지 피리독신 한 형태로만 분석되어 비타민 B<sub>6</sub> 함량으로 평가되어 왔기 때문에 식품류에 널리 분포되어 있는 비타민 B<sub>6</sub>인 피리독신, 피리독살 및 피리독사민을 모두 분석하는 분석법의 확립 및 검증을 통해 누락된 피리독살과 피리독사민 정보를 구축하고, 이들을 함유하는 식품류의 비타민 B<sub>6</sub> 수준을 정확하게 평가하는 것이 필요하다.

본 연구는 농촌진흥청에서 발간한 국가표준식품성분표 제9개정판(2017)까지 피리독신만이 직접 분석되어 데이터로 구축되어 왔으나, 피리독신, 피리독살, 피리독사민을 모두 직접분석에 포함하여 분석 및 검증하고, 더 나아가 미량비타민인 B<sub>12</sub>를 분석 및 검증함으로써 우리나라 국민의 다소비 식품군에 대한 제10개정판 국가표준식품성분표의 정확성과 활용성을 높이고자 수행되었다. 고속액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)를 이용한 피리독신, 피리독살 및 피리독사민에 대한 동시분석과 immunoaffinity-HPLC법을 이용한 비타민 B<sub>12</sub> 분석의 유효성을 검증하였으며, 농촌진흥청에서 선정한 다소비 계육 및 계육 조리가공품 중의 비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub> 함량을 분석하여 국민 식생활 맞춤형 고품질 국가표준식품성분 DB 구축을 위한 기초자료로 제공하고자 하였다. 또한, 국가표준식품성분표의 신뢰성 확보를 위해 비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub> 분석품질관리와 분석숙련도를 평가하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 실험 재료 및 시약

비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub> 분석을 위해 사용된 표준품 피리독신, 피리독살, 피리독사민 및 시아노코발라민은 Sigma-Aldrich사(St. Louis, MO, USA)의 제품을 구매하여 사용하였다. 표준

참고물질(standard reference material, SRM) SRM 3290(dry cat food)은 National Institute of Standards and Technology(NIST, Gaithersburg, MD, USA)에서, 인증참고물질(certified reference material, CRM) BCR-487(pig liver)는 European Commission(EC)의 Institute for Reference Materials and Measurement(IRMM, Geel, Belgium)에서 구매하여 사용하였다. 분석품질관리 시료는 시판 분유(Imperial Dream XO, Namyang, Seoul, Korea)를 구매하여 사용하였다. 이외 sodium cyanide, ammonium sulfate, sodium acetate trihydrate는 Wako사(Osaka, Japan)에서 구입하여 사용하였다. 이외 기타 시약 및 용매는 GR 및 HPLC 등급 이상을 사용하였다.

### 2.2. 시료

시료는 농촌진흥청에서 국민 식생활 맞춤형 고품질 국가표준식품성분 데이터베이스(database, DB) 구축을 위해 선정한 주요 섭취 계육 및 계육 조리가공품을 사용하였다. 시료는 삶은 시료 4종, 튀긴 시료 8종, 구운 시료 4종, 가공식품(ready to cook or eat) 5종으로, 네 가지 조리방법으로 조리된 총 21종의 시료를 농촌진흥청에서 제공받아 -70°C에서 저장하며 분석에 사용하였으며 시료 준비는 다음과 같다.

계육은 조리방법별로 삶기, 튀기기, 굽기, 가공식품(ready-to-cook or eat) 4가지 방법으로 조리되었다. 삶은 시료 4종(성계, 토종닭, 오골계, 영계-총 4가지 품종)은 생닭을 흐르는 물에 세척 후 시료 중량의 15배의 물을 넣고 40분간 가열하였다. 튀긴 시료(후라이드치킨, 후라이드치킨-간장)와 구운 시료(로스트치킨)는 각각 판매율이 가장 높은 프랜차이즈에서 구매한 후, 각 부위별(가슴살, 날개, 다리, 전체-총 4가지 부위)로 발골한 후 순살을 균질화하여 시료로 사용하였다. 가공식품의 경우 총 5종의 ready-to-cook 또는 ready-to-eat 제품(F닭가슴살 통조림, 닭가슴살 스테이크, 치킨너겟, 닭꼬치, 훈제 닭가슴살)을 구매하여 시료로 사용하였다. 가공식품의 경우, 제품에서 제시한 조리방법대로 조리하여 시료로 사용하였다. 닭꼬치는 후라이팬에 7-10분간 가열하였고, 치킨너겟은 콩기름에 약 3분간 튀겨서 조리하였으며, 닭가슴살 통조림, 닭가슴살 스테이크 및 훈제 닭가슴살은 별도의 조리 없이 그대로 균질화하여 시료로 사용하였다. 모든 시료는 균질화하여 -70°C에서

동결 보관하며 사용하였다.

### 2.3. 비타민 B<sub>6</sub> 분석(HPLC-FLD)

비타민 B<sub>6</sub> 추출은 Islam 등(2022)의 방법을 사용하였다. 시료 약 5 g을 50 mL 둥근 바닥 플라스크에 취하고 10 mM ammonium formate(0.1 % formic acid) 용액 20 mL를 가한 후, 초음파 추출기(Cole Parmer 8893, Chicago, IL, USA)를 이용하여 30분간 40°C에서 추출하였다. 추출 후 10분간 냉각하고 0°C에서 15분 동안 252 × g(gravity)로 원심분리(SUPRA-30K, Hanil Science Industrial Co., Ltd, Gimpo, Korea)하여 상등액을 50 mL-volumetric flask에 취하였다. 이후 잔사에 추출용액 20 mL를 가하여 위의 과정을 총 2회 반복하고, 10 mM ammonium formate(0.1 % formic acid)로 50 mL로 정용하였다. 이를 1.6 mL씩 microtube(Axygen Biosciences, Hangzhou, China)에 옮겨 원심분리(HM-150IV, Hanil Science Industrial Co.)한 뒤 0.45 μm membrane filter(cellulose acetate, Advantec<sup>®</sup>, DISMIC<sup>®</sup>-13CP, Osaka, Japan)로 여과하여 HPLC 분석시료로 사용하였다.

비타민 B<sub>6</sub>는 피리독사민, 피리독살 및 피리독신 총 3종을 형광 검출기(florescence detector, FLD, Agilent, Santa Clara, CA, USA)가 장착된 HPLC(1200 series, Agilent)를 사용하여 분리 및 정량 분석하였다. 검출파장은 excitation wavelength 290 nm와 emission wavelength 396 nm이었다. Column은 Imtakt Scherzo SW-C<sub>18</sub> (150×4.6 mm, 3 μm, Shiseido, Kyoto, Japan)를 사용하였으며, 이때 column oven 온도는 35°C였다. 피리독사민, 피리독살 및 피리독신 분리를 위한 이동상 조건은 이동상 A를 10 mM ammonium formate(0.1% formic acid)로 B를 methanol로 하여 gradient 조건으로 분석하였다. Gradient 조건은 초기 용리로 A 용매 100%로 시작하여 14분까지 B 용매 10%가 섞이도록 하여 A 용매:B 용매=90:10(v/v) 조성이 되도록 흘려주었으며, 본 조성을 20분까지 유지하였다. 이후, 21분까지 다시 A 용매 100%가 되도록 흘려주었으며, 30분까지 A 용매 100%를 유지하였다. 이때 injection volume은 20 μL였으며 flow rate는 0.7 mL/min이었다. 피리독사민, 피리독살 및 피리독신에 대한 정성 분석은 HPLC 크로마토그래피로 검출된 표준용

액의 피크(peak)와 시료 피크의 머무름 시간(retention time)을 비교하였으며, 피크 면적(peak area)을 표준용액의 면적과 비교하여 정량 분석하였다. 비타민 B<sub>6</sub> 함량은 피리독사민, 피리독살 및 피리독신 각각의 함량(mg/100 g)과 이들의 합으로 총함량을 계산하였다.

### 2.4. 비타민 B<sub>12</sub> 분석(immunoaffinty-HPLC/PDA)

비타민 B<sub>12</sub>(코발라민류) 추출은 Jang 등(2014)의 방법을 사용하였다. 시료 약 5.0 g을 칭량한 100 mL 삼각 플라스크에 0.2 M sodium acetate trihydrate buffer(pH 4.0, 1% sodium cyanide)를 50 mL 가한 뒤 플라스크 입구를 밀봉하여 10분간 초음파 처리 후 100°C 항온수조(WB-20M, Jeio Tech Co., Daejeon, Korea)에서 65분 동안 추출하면서 코발라민류를 시아노코발라민으로 전환시켰다. 추출액은 냉각 후 Whatman No.1(GE Healthcare, Amersham Place, UK)을 이용하여 여과하였다. 여과된 추출액은 immunoaffinity column(Easi-Extract Vitamin B<sub>12</sub>, R-Biopharm Rhone Ltd., Glasgow, UK)을 사용하여 시료의 비타민 B<sub>12</sub> 함량에 따라 3-12배로 농축하였다. 농축된 시료액은 0.45 μm membrane filter(cellulose acetate, Advantec<sup>®</sup>, DISMIC<sup>®</sup>-13CP)로 여과한 후 HPLC 분석시료로 사용하였다.

시아노코발라민의 분리 및 정량은 HPLC(1260 Infinity, Agilent)-photodiode array detector(PDA, Agilent)를 사용하여 분석하였다. Column은 C<sub>18</sub> ACE 3 AQ(3 mm × 150 mm, 3 μm, ACE, Aberdeen, Scotland, UK)를 사용하였으며, column oven 온도는 35°C, 검출파장은 361 nm였다. 시아노코발라민 분리를 위한 이동상 조건은 이동상 A를 water로, B를 acetonitrile로 하여 gradient 조건으로 분석하였다. Gradient 조건은 초기 용리로 A 용매 100%로 시작하여 11분까지 B 용매 15%가 섞이도록 하여 A 용매:B 용매=85:15(v/v) 조성이 되도록 흘려주었으며, 19분까지 A 용매:B 용매=75:25(v/v)가 되도록 B 용매 비율을 서서히 늘렸다. 이후, 20분까지 B 용매 비율을 다시 줄여 A 용매:B 용매=90:10(v/v) 조성이 되도록 흘려주었으며, 26분까지 초기 구성과 같이 A 용매 100%가 되도록 흘려주었으며, 40분까지 A 용매 100%를 유지하였다. 이때 injection volume은 100 μL로 하였으며 flow rate는 1.0

mL/min였다. HPLC 크로마토그래피로 검출된 표준용액의 시아노코발라민의 피크(peak)와 시료 피크의 머무름 시간을 비교하였으며, 피크 면적을 표준용액의 면적과 비교하여 정량 분석하였다. 비타민 B<sub>12</sub> 함량은  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 으로 표시된 시아노코발라민 함량으로 나타내었다. 또한, 200-600 nm 범위에서 얻어진 DAD spectrum을 겹쳤을 때 시아노코발라민 표준품과 흡광 패턴이 일치하는지 여부를 확인하였다.

### 2.5. 분석법 검증(method validation)

분석법 검증은 단일실험실(single laboratory)을 위한 AOAC 분석법 검증 가이드라인(AOAC, 2019)에 준하여 검증하였으며, 검량선의 직선성(linearity), 검출한계(limit of detection, LOD)와 정량한계(limit of quantification, LOQ), 정확성(accuracy), 정밀성(precision)에 대한 유효성을 검증하여 평가하였다.

직선성은 B<sub>6</sub>의 경우 피리독사민, 피리독살, 피리독신 표준물질을 각각 0.003, 0.006, 0.013, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 의 농도 수준으로, B<sub>12</sub>는 0.004, 0.01, 0.02, 0.04, 0.1, 0.2  $\mu\text{g}/\text{mL}$  농도 수준에서 각 농도별 3회 반복하여 HPLC로 분석하였다. 표준용액의 농도(x축)와 크로마토그램의 피크 면적(y축)으로 검량선을 작성하고, 검량선의 상관계수(R<sup>2</sup>)값을 계산하여 평가하였다.

검출한계와 정량한계는 비타민 B<sub>6</sub>(pyridoxamin, pyridoxal, pyridoxine)와 비타민 B<sub>12</sub>(cyanocobalamin)의 공시험 시료(blank) 크로마토그램의 signal-to-noise (S/N)의 평균값에 표준편차를 각각 3과 10으로 곱한 값을 더하여 산출하였다.

$$\text{LOD} = (\text{Standard deviation of analyte content} \times 3) + \text{mean}$$

$$\text{LOQ} = (\text{Standard deviation of analyte content} \times 10) + \text{mean}$$

정확성은 NIST에서 구입한 SRM 3290(dry cat food)과 EC사의 IRMM에서 구입한 BCR<sup>®</sup> 487(pig liver)을 분석하여 검증된 참고값과 분석 실측값을 비교하여 회수율(%)을 계산하여 평가하였다. 정밀성 검증은 분석품질관리

시료인 분유를 동일 분석일에 5회, 각각 3반복으로 분석하고 이를 일내 반복성(repeatability, intra-day, RSD<sub>I</sub>)으로 평가하였으며, 독립된 5일간의 분석일에 각 1회씩 3반복으로 분석한 총 5회 실험 결과 간의 재현성(reproducibility, inter-day, RSD<sub>R</sub>)을 계산하여 정밀성을 평가하였다.

### 2.6. 분석품질관리(analytical quality control)

시료를 분석하는 모든 기간 동안 분석품질관리 도표(quality control chart, QC chart)를 작성하여 분석 시스템을 평가 관리하였다. QC chart 작성을 위해 QC 시료인 infant formula를 각기 독립된 분석으로 얻어진 10회 이상의 분석값 중에서 상대표준편차가 5% 이내에 들어가는 분석값 10개를 선택하여, 평균값 및 표준편차값을 이용하여 관리 상한선 및 하한선(upper and lower control lines, UCL and LCL), 조치 상한선 및 하한선(upper and lower action lines, UAL and LAL)을 설정하고, 분석품질관리 도표의 지표로 사용하였으며 계산식은 다음과 같다.

$$\text{UCL and LCL} = \text{Mean of analyte content} \pm 2 \times \text{SD}$$

$$\text{UAL and LAL} = \text{Mean of analyte content} \pm 3 \times \text{SD}$$

where, SD = standard deviation

### 2.7. 분석숙련도 평가(analysis proficiency test)

분석숙련도는 실험실 외부의 객관적 평가 시스템에 참여하여 분석자의 숙련도를 평가하였다. 영국 환경식품농림부(Department for Environment Food and Rural Affairs, DEFRA)에서 주관하는 국제정도관리 분석능력시험 프로그램인 Food Analysis Performance Assessment Scheme(FAPAS) Proficiency Test(PT) 21124에 참가하여 비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub> 분석숙련도를 평가하였으며, 평가를 위해 제공받은 시료 vitamins in powdered baby food는 -70°C에서 보관하며 사용하였다. 비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub> 분석숙련도 평가는 전 세계적으로 FAPAS PT 21124에 참가한 실험실들의 분석 결과값들을 토대로 z-score를 계산하고  $\pm 2$  이내의 값들을 분석숙련도가 우수한 것으로 평가하였다.

### 2.8. 통계 분석

통계 분석은 SPSS 프로그램(Statistics Package for

the Social Science, ver. 22.0 for Window, SPSS Inc., Chicago, IL, USA)을 사용하여 평균과 표준편차를 산출하였다. 시료 간의 유의적인 차이 검증은 일원배치분산분석(one-way ANOVA)을 p<0.05 수준에서 실시하였다. 사후검정은 95%의 신뢰수준에서 Duncan's multiple range test를 실시하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub> 분석의 검출한계, 정량한계 및 직선성 검증

비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub> vitamers 분석법의 직선성, 검출한계 및 정량한계는 Table 1과 같다. 분석법의 직선성을 평가하기 위해 비타민 B<sub>6</sub>의 경우, 피리독신, 피리독살 및 피리독사민 각 표준품을 이용해 제조된 혼합표준용액을 농도별(0.003, 0.006, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 μg/mL)로 제조하여 HPLC-FLD로 분석하였으며, 비타민 B<sub>12</sub>의 경우, 시아노코발라민 표준품을 이용해 농도별(0.004, 0.01, 0.02, 0.04, 0.1, 0.2 μg/mL) 표준용액을 제조하여 HPLC-PDA로 분석하였다. 그 결과, 모든 직선성의 상관계수(R<sup>2</sup>)가 0.9999 이상으로 나타났다. 본 연구에서 사용된 분석법의 직선성이 매우 우수한 것을 확인하였다.

HPLC를 이용하여 분석한 비타민 B<sub>6</sub> 공시험 시료(blank)의 값을 통해 산출된 LOD는 각각 피리독신 0.008 μg/100 g, 피리독살 0.006 μg/100 g, 피리독사민 0.007 μg/100 g, LOQ는 피리독신 0.022 μg/100 g, 피리독살 0.015 μg/100 g, 피리독사민 0.018 μg/100 g을 나타냈다. Choi 등(2019)은 HPLC-FLD를 사용하여 피리독신을 분석하였으며, 이때의 LOD와 LOQ는 각각 0.0084 μg/100

g과 0.0311 μg/100 g이라고 보고하였다. UV detector를 사용하여 피리독신을 분석한 Kim 등(2015)의 LOD와 LOQ는 각각 19.0 μg/100 g과 63.3 μg/100 g이라 보고하였다. 앞서 연구들에 비해 본 연구에서 사용된 분석법의 LOQ는 약 1.4-2,877배 정도 낮은 것으로 나타나 계육 및 계육 조리 가공품 중 미량 함유되어 있는 피리독신, 피리독살 및 피리독사민을 낮은 함량 수준까지 검출 및 정량이 가능한 것으로 보여진다. 또한, 피리독살과 피리독사민에 대한 분석도 진행되어 좀 더 시료의 정확한 비타민 B<sub>6</sub> 함량을 알 수 있을 것으로 사료된다.

한편, 본 연구에서 immuoaffinity-HPLC-PDA를 사용한 비타민 B<sub>12</sub> 분석의 LOD는 0.005 μg/100 g, LOQ는 0.012 μg/100 g으로 나타났다. Immuoaffinity-HPLC-DAD로 분석한 Lee 등(2021)은 LOD는 0.0165 μg/100 g, LOQ는 0.0499 μg/100 g이라 보고하였는데, 이에 비하여 본 연구에서의 비타민 B<sub>12</sub> 분석법은 LOD와 LOQ가 약 2-3배 정도 낮은 함량 수준까지 검출 및 정량이 가능한 것으로 나타나, 식품 중에 대부분 미량으로 존재하는 코발라민류를 정량 분석하기에 유용할 것으로 사료된다.

#### 3.2. 비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub> 분석의 정확성과 정밀성 검증

본 연구에서 비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub> 분석의 정확성과 정밀성은 Table 2와 3에 나타내었다. 분석법의 정확성(accuracy)을 평가하기 위해 SRM 3290과 BCR-487을 분석하였으며, SRM 3290의 경우 피리독신과 피리독살, 피리독사민 분석값이 2,742.9 μg/100 g, 86.7 μg/100 g, 73.6 μg/100 g이고, BCR-487의 경우 시아노코발라민 분석값이 105.6 μg/100 g으로 구입처에서 제시한 참고값(reference value)에 대비한 회수율이 94.3-100.2% 범위로 나타났으며, 이

Table 1. LOD, LOQ and linearity for vitamin B<sub>6</sub> and B<sub>12</sub> analyses

Analytes	Analytical methods	Calibration curve <sup>1)</sup>	R <sup>2</sup>	LOD <sup>2)</sup> (μg/100 g)	LOQ <sup>3)</sup> (μg/100 g)	
Vitamin B <sub>6</sub>	Pyridoxine	HPLC-FLD	y=90.4607x-0.0559	0.9999	0.008±0.006	0.022±0.017
	Pyridoxal		y=73.3855x-0.0069	1.0000	0.007±0.002	0.015±0.006
	Pyridoxamine		y=77.9059x-0.0192	0.9999	0.007±0.003	0.018±0.007
Vitamin B <sub>12</sub>	Cyanocobalamin	Immunoaffinity-HPLC-PDA	y=2,007.7232x-0.3788	1.0000	0.005±0.004	0.012±0.011

<sup>1)</sup>y=ax+b: y and x indicate peak area (mAU) and concentration (μg/100 g), respectively.

<sup>2)</sup>Limit of detection.

<sup>3)</sup>Limit of quantification.

**Table 2.** Accuracy of vitamin B<sub>6</sub> and B<sub>12</sub> analyses

Samples	Analytes	Reference values <sup>3)</sup> ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )	Analytical values <sup>4)</sup> ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )	Recovery (%)
SRM 3290 <sup>1)</sup>	Pyridoxine	2,738.0 $\pm$ 24.0	2,742.9 $\pm$ 9.2	100.2 $\pm$ 0.3
	Pyridoxal	87.7 $\pm$ 2.5	86.7 $\pm$ 0.6	98.9 $\pm$ 0.7
	Pyridoxamine	73.7 $\pm$ 5.0	73.6 $\pm$ 1.3	99.9 $\pm$ 1.8
BCR-487 <sup>2)</sup>	Cyanocobalamin	112.0 $\pm$ 9.0	105.6 $\pm$ 4.7	94.3 $\pm$ 4.2

<sup>1)</sup>SRM, standard reference material; SRM 3290, dry cat food.

<sup>2)</sup>CRM, certified reference material; BCR-487, pig liver.

<sup>3)</sup>The true value for the contents of corresponding analytes in SRM provided by NIST.

<sup>4)</sup>The analytical value obtained in this study.

**Table 3.** Precision of vitamin B<sub>6</sub> and B<sub>12</sub> analyses

Analytes		Repeatability <sup>1)</sup>		Reproducibility <sup>2)</sup>	
		Mean $\pm$ SD <sup>3)</sup> ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )	CV <sup>4)</sup> (%)	Mean $\pm$ SD ( $\mu\text{g}/100\text{ g}$ )	CV (%)
Vitamin B <sub>6</sub>	Pyridoxine	605.929 $\pm$ 2.396	0.4	653.401 $\pm$ 32.541	5.0
	Pyridoxal	48.784 $\pm$ 1.223	2.5	52.380 $\pm$ 2.190	4.2
	Pyridoxamine	20.371 $\pm$ 0.936	4.6	16.034 $\pm$ 0.952	5.9
Vitamin B <sub>12</sub>	Cyanocobalamin	5.749 $\pm$ 0.327	5.7	5.560 $\pm$ 0.330	5.9

<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>Standard deviation.

<sup>4)</sup>Coefficient of variation, CV (%) = 100  $\times$  (SD / mean).

는 시료 중에 존재하는 분석 성분의 농도 수준에 따라 달라지는 회수율을 제시한 AOAC(2019) 수용범위를 충족시켜 본 연구에서 적용한 분석법의 정확성이 매우 우수한 것으로 나타났다.

분석법의 정밀성(precision)은 상업용 분유(infant formula)를 품질관리 시료로 사용하여 반복성(RSD<sub>r</sub>)과 재현성(RSD<sub>R</sub>)을 평가하여 확인하였는데, 피리독신과 피리독살, 피리독사민 분석에 대한 반복성에 대한 변동계수(coefficient of variation, CV)는 각각 0.4%와 2.5%, 4.6%, 그리고 변동성에 대한 변동계수는 각각 5.0%와 4.2%, 5.9%, 그리고 코발라민류 분석의 반복성과 재현성의 변동계수는 각각 5.7%와 5.9%로 나타났다. 이들의 수준은 AOAC(2019) 가이드라인에서 제시하는 RSD<sub>r</sub>과 RSD<sub>R</sub>의 CV(%) 수준이 시료 중에 존재하는 분석 성분의 농도가 1  $\mu\text{g}/\text{g}$  수준일 때 각각 8%와 16%의 이하로 제시된 기준을 충족하여 본 연구에서 적용한 분석법의 정밀성이 우수한 것으로 확인되었다.

### 3.3. 조리 및 가공 계육의 비타민 B<sub>6</sub> 함량

본 연구에서 검증된 분석법을 적용하여 계육의 가공·부위별 비타민 B<sub>6</sub>(피리독신, 피리독살 및 피리독사민) 함량을 3회 반복하여 분석한 결과는 Table 4와 같다. 총비타민 B<sub>6</sub> 함량은 구운치킨(날개)이 131.94  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 으로 가장 높았고, 치킨너겟이 15.05  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 으로 가장 낮은 것으로 나타났다. 전체적으로 총비타민 B<sub>6</sub> 함량은 굽기로 조리된 시료에서 높았고, 삶기의 조리된 시료에서 비교적 낮게 나타났다. 이는 수용성인 비타민 B<sub>6</sub>가 조리 중 물에 용출되어 손실이 일어날 수 있는 것으로 보인다. 또한, 간장치킨과 같이 조리 후 양념이 추가되는 시료들의 경우 비교적 높은 함량을 보였다. 국가표준식품성분표 제9개정판(2017)에 따르면 양조간장의 피리독신 함량이 40.00  $\mu\text{g}/100\text{ g}$ 으로 보고되어, 대두 발효식품인 간장의 주재료인 콩에 존재하는 비타민 B<sub>6</sub>로 인해 간장에도 일정 수준의 피리독신 함량이 존재하며, 이를 양념으로 사용하는 간장치킨에서도 비타민 B<sub>6</sub>로 추가적으로 검출될 수 있는 것으로 보여진다.

**Table 4.** Vitamin B<sub>6</sub> contents of cooked and processed chicken cuts

Samples (cooking method/parts)			Vitamin B <sub>6</sub> contents (μg/100 g)			
			Pyridoxine	Pyridoxal	Pyridoxamine	Total vitamin B <sub>6</sub>
Boiled	Broiler		3.78±0.20 <sup>a1)</sup>	14.64±0.97 <sup>c</sup>	42.45±0.85 <sup>a</sup>	60.87±2.02 <sup>a</sup>
	Fowl		0.16±0.01 <sup>d</sup>	0.50±0.00 <sup>d</sup>	30.74±0.09 <sup>c</sup>	40.39±0.10 <sup>b</sup>
	Korean native		1.49±0.08 <sup>b</sup>	19.59±0.58 <sup>b</sup>	38.33±0.44 <sup>b</sup>	59.41±1.10 <sup>a</sup>
	<i>Ogolgye</i>		0.81±0.00 <sup>c</sup>	22.04±1.27 <sup>a</sup>	38.63±0.86 <sup>b</sup>	61.48±0.41 <sup>a</sup>
Fried	With soy sauce	Breast	5.97±1.09 <sup>c</sup>	50.76±2.69 <sup>b</sup>	18.07±1.14 <sup>b</sup>	74.79±4.91 <sup>b</sup>
		Leg	8.35±0.14 <sup>b</sup>	55.85±0.75 <sup>b</sup>	13.78±0.95 <sup>c</sup>	77.98±1.56 <sup>b</sup>
		Wing	10.35±0.42 <sup>a</sup>	78.90±4.41 <sup>a</sup>	37.88±0.65 <sup>a</sup>	127.13±4.64 <sup>a</sup>
		Whole	5.92±0.09 <sup>c</sup>	49.79±1.34 <sup>b</sup>	15.97±0.29 <sup>bc</sup>	71.68±1.72 <sup>b</sup>
	Original	Breast	— <sup>2)NS3)</sup>	45.58±3.48 <sup>b</sup>	10.15±0.82 <sup>b</sup>	55.73±2.66 <sup>b</sup>
		Leg	— <sup>NS</sup>	38.66±1.47 <sup>c</sup>	8.09±0.41 <sup>b</sup>	46.76±1.06 <sup>c</sup>
		Wing	— <sup>NS</sup>	55.24±2.51 <sup>a</sup>	15.15±1.15 <sup>a</sup>	70.39±3.66 <sup>a</sup>
		Whole	— <sup>NS</sup>	39.49±1.43 <sup>bc</sup>	8.77±0.47 <sup>b</sup>	48.26±0.96 <sup>c</sup>
Roasted	Breast		1.63±0.11 <sup>a</sup>	65.78±0.89 <sup>b</sup>	14.33±0.29 <sup>c</sup>	81.74±0.50 <sup>b</sup>
	Leg		1.20±0.16 <sup>b</sup>	49.88±3.80 <sup>d</sup>	14.88±0.20 <sup>c</sup>	65.96±3.76 <sup>c</sup>
	Wing		1.54±0.19 <sup>ab</sup>	100.42±3.63 <sup>a</sup>	29.98±0.86 <sup>a</sup>	131.94±4.30 <sup>a</sup>
	Whole		1.35±0.07 <sup>ab</sup>	57.76±1.60 <sup>c</sup>	18.81±0.64 <sup>b</sup>	77.92±1.03 <sup>b</sup>
Processed	Canned chicken breast		3.42±0.17 <sup>c</sup>	— <sup>e</sup>	66.70±0.98 <sup>a</sup>	70.12±1.15 <sup>b</sup>
	Chicken breast steak		5.08±0.07 <sup>ab</sup>	32.78±1.05 <sup>b</sup>	27.82±1.94 <sup>c</sup>	65.68±2.92 <sup>c</sup>
	Chicken nuggets		3.74±0.12 <sup>bc</sup>	11.31±0.98 <sup>d</sup>	— <sup>e</sup>	15.05±1.11 <sup>e</sup>
	Chicken skewers		2.62±0.22 <sup>c</sup>	24.52±0.33 <sup>c</sup>	13.61±1.24 <sup>d</sup>	40.75±1.35 <sup>d</sup>
	Smoked chicken breast		6.08±1.18 <sup>a</sup>	36.51±0.99 <sup>a</sup>	36.81±0.98 <sup>b</sup>	79.39±1.17 <sup>a</sup>

<sup>1)</sup>Means with different superscript small letters in the same column for the same type cooking method are significantly different at p<0.05.

<sup>2)</sup>—, not detected.

<sup>3)</sup>NS, not significant.

한편, 닭의 종(성계, 토종닭, 오골계, 영계)에 따른 피리독신, 피리독살, 피리독사민 각각의 함량에는 유의적인 차이가 있는 것으로 나타났으나 이들의 총합으로 나타낸 총비타민 B<sub>6</sub> 함량에서 성계만 유의적으로 낮았고(p<0.05), 다른 세 종 간에는 유의적인 차이가 없는 것으로 나타났다. 같은 조리법으로 조리된 치킨의 비타민 B<sub>6</sub> 함량이 부위별로 유의적인 차이를 나타냈는데, 특히 날개 부위가 모든 조리법에서 총 비타민 B<sub>6</sub> 함량이 높은 것으로 나타났다.

Catak과 Caman(2020)은 HPLC-FLD를 사용하여 닭의 부위별(허벅지살, 가슴살, 날개)로 각각 팬굽기, 오븐굽기, 삶기, 튀기기 4가지 방식으로 조리된 닭의 피리독신, 피리

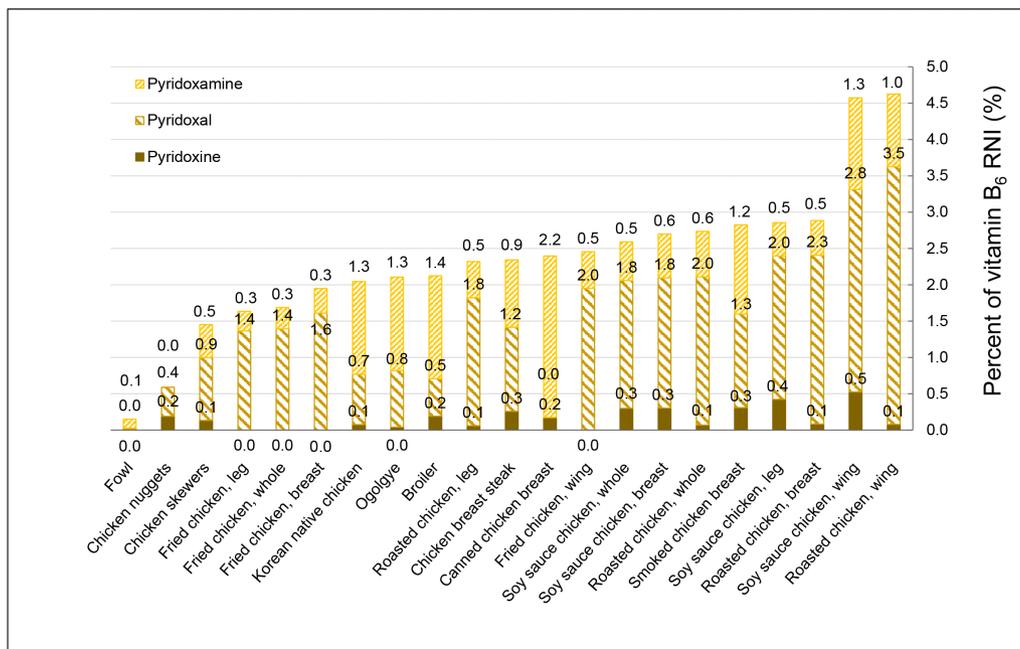
독살 및 피리독사민을 분석하여 보존율을 비교한 결과, 전체적으로 피리독신에서 검출되지 않거나 매우 낮은 비율로 검출되었으며, 피리독사민과 피리독살 함량이 상대적으로 높은 함량으로 검출되어 본 연구 결과와 유사한 경향을 나타내었다.

비타민 B<sub>6</sub> 활성을 보이는 피리독신, 피리독살, 피리독사민 및 이들 각각의 인산화 유도체들에 대한 인체 내에서의 흡수율은 다양한 것으로 보고되고 있는데(Gregory, 1959; Smith와 Grag, 2017; Wozenski 등, 1980; Yaman과 Mızrak, 2019), 이들 대부분은 간에서 pyridoxal 5' phosphate(PLP)로 전환되며, 4-pyridoxic acid(4-PA)로

이화되어 소변으로 배설되는 것으로 알려져 있다(Leklem, 1992). 현재 2020년 한국인 영양소 섭취기준에서 제시하고 있는 비타민 B<sub>6</sub>의 1일 권장섭취량은 pyridoxal 5' phosphate(PLP)를 지표로 하여 설정되었다(Ministry of Health and Welfare와 The Korean Nutrition Society, 2020). 지금까지 식품 중의 비타민 B<sub>6</sub> 함량 분석은 실질적으로 식품 중에 존재하는 다른 유도체 함량을 고려하지 않고 유도체 형태 중에서 피리독신 형태만을 분석해왔기 때문에 실제 비타민 B<sub>6</sub> 함량보다 낮은 수준으로 평가해 왔다고 할 수 있다. 특히, 피리독신은 대부분 식물성 식품에 포함되어 있으나, 동물성 식품에는 피리독살과 피리독사민이 풍부하게 존재하므로 계육과 같은 육류 식품류에 대해서는 피리독살과 피리독사민을 모두 분석하여 정확한 비타민 B<sub>6</sub> 함량 수준을 평가하는 것이 필요하다.

본 연구에서는 국내에서 다소비되는 계육 식품 21종 100 g 섭취를 통해 피리독신 외에 피리독살과 피리독사민을 포함한 B<sub>6</sub> vitamers 3종 함량이 현재 일일권장량 기준의 어느 정도를 충족시킬 수 있는지를 각각의 체내 흡수율을 고려하여 추산한 값을 Fig. 2에 제시하여 비교해 보았다. 많은 선행 연

구(Gregory, 1959; Smith와 Grag, 2017; Wozenski 등, 1980)에서 피리독신이 가장 bioaccessibility가 높고 다음으로 피리독살, 피리독사민 순으로 높은 경향을 보인다고 보고하고 있으며, 이는 식품별로 차이가 있을 수 있다고 알려져 있다. Fig. 2에 제시된 추산치는 최근에 보고된 Yaman과 Mızrak(2019)이 인체 소화시스템 모델을 이용하여 유아식의 피리독신, 피리독살 및 피리독사민의 bioaccessibility(%)가 위장의 pH가 1.5일 때 각각 76%, 53%와 50%였다고 보고한 결과를 기초하여 산출한 값으로, 본 연구에서 분석된 각각의 함량에 bioaccessibility를 고려한 후 이것이 RNI의 몇 %를 차지하는지를 나타낸 수치이다. Fig. 2에서 나타나듯이 계육 식품의 경우 피리독살과 피리독사민이 대부분 상당량 존재하고 있기 때문에 이들 유도체로 인한 비타민 B<sub>6</sub> 섭취가 이전 기준에 비하여 상당 부분 보정될 수 있을 것으로 보여진다. 특히, 총 비타민 B<sub>6</sub> 함량이 가장 높은 구운치킨 날개를 100 g 섭취하는 경우, 피리독신 성분만으로는 하루권장량의 0.1% 섭취 가능한 수준으로 평가되었다면, 3종 비타민 B<sub>6</sub> 함량을 고려할 때 일일권장량의 4.6% 수준까지 섭취할 수 있는 것으로 평가되어 영양섭취 수준이 이전



**Fig. 2.** The estimated percent B<sub>6</sub> vitamers (PN, PL and PM) of the Dietary Reference Intakes for Koreans based on the intake of 100 g chicken dishes and bioaccessibility. The bioaccessibility of PN, PL, and PM was 76%, 53% and 50% at pH 1.5, respectively (Yaman and Mızrak, 2019). The Dietary Reference Intakes for Koreans Recommended Nutrient Intake (RNI) for vitamin B<sub>6</sub>: 1,500 μg/day (Ministry of Health and Welfare and The Korean Nutrition Society, 2020).

보다 큰 차이를 나타내는 것을 확인할 수 있다. 이와 같이 B<sub>6</sub> 유도체를 모두 고려한 섭취량 산출이 필요할 것으로 사료되나, 아직까지 B<sub>6</sub> vitamers의 각기 다른 체내 흡수율과 식품군에 따른 차이에 대해서는 명확한 기준이 적용되기 어려워, 이에 대한 기준 설정을 위해서는 보다 많은 연구자료의 확보가 필요할 것으로 사료된다.

### 3.4. 조리 및 가공 계육의 비타민 B<sub>12</sub> 함량

본 연구에서 검증된 분석법을 적용하여 조리 및 가공 계육의 부위별 비타민 B<sub>12</sub>(시아노코발라민) 함량을 3회 반복하여 분석한 결과는 Table 5와 같다. Cyanocobalamin의 형태로 전환된 cobalamin류의 함량은 닭꼬치가 0.68 µg/100

g으로 가장 높았고, 닭 통조림이 0.08 µg/100 g으로 가장 낮은 것으로 나타났다. 전반적으로 굵기로 조리된 닭 시료에서 비교적 높은 비타민 B<sub>12</sub> 함량을 보였다. 또한, 간장치킨과 같이 조리 후 양념이 추가되는 시료의 경우 비타민 B<sub>12</sub> 함량이 비교적 높게 나타났는데, 국내 지역별 전통 대두 발효식품의 비타민 B<sub>12</sub>를 연구한 Park 등(2022)에 의하면 대두 발효식품인 간장에 비타민 B<sub>12</sub> 함량이 0.02- 0.80 µg/100 g의 범위를 나타냈다고 보고하여 간장과 같은 소스를 통해 비타민 B<sub>12</sub> 함량이 추가될 수 있을 것으로 보여진다.

닭의 종(성계, 토종닭, 오골계, 영계)에 따른 비타민 B<sub>12</sub> 함량에서 유의적인 차이(p<0.05)는 없는 것으로 나타났다.

Table 5. Vitamin B<sub>12</sub> contents of cooked and processed chicken cuts

Chicken samples			Vitamin B <sub>12</sub> content (µg/100 g)	
			Cyanocobalamin (µg/100 g)	RNI <sup>2)</sup> (%)
Boiled	Broiler		0.31±0.01 <sup>a1)</sup>	12.9
	Fowl		0.35±0.02 <sup>a</sup>	14.4
	Korean native		0.40±0.13 <sup>a</sup>	16.7
	<i>Ogolgye</i>		0.28±0.00 <sup>a</sup>	11.8
Fried	With soy sauce	Breast	0.24±0.02 <sup>d</sup>	9.8
		Leg	0.44±0.03 <sup>a</sup>	18.4
		Wing	0.39±0.01 <sup>b</sup>	16.2
		Whole	0.31±0.00 <sup>c</sup>	12.7
	Original	Breast	0.11±0.00 <sup>d</sup>	4.6
		Leg	0.31±0.00 <sup>b</sup>	12.8
		Wing	0.35±0.00 <sup>a</sup>	14.4
		Whole	0.18±0.00 <sup>c</sup>	7.7
Roasted	Breast		0.25±0.01 <sup>b</sup>	10.6
	Leg		0.42±0.01 <sup>a</sup>	17.7
	Wing		0.39±0.02 <sup>a</sup>	16.1
	Whole		0.29±0.02 <sup>b</sup>	11.9
Processed	Canned chicken breast		0.08±0.00 <sup>b</sup>	3.4
	Chicken breast steak		0.12±0.00 <sup>b</sup>	4.8
	Chicken nuggets		0.21±0.02 <sup>b</sup>	8.9
	Chicken skewers		0.68±0.14 <sup>a</sup>	28.3
	Smoked chicken breast		0.23±0.00 <sup>b</sup>	9.7

<sup>1)</sup>Means with different superscript small letters in the same column for the same type cooking method are significantly different at p<0.05.

<sup>2)</sup>RNI, recommended nutrient intake, for vitamin B<sub>12</sub>, it is 2.4 µg/day.

같은 조리법으로 조리된 치킨의 경우, 비타민 B<sub>12</sub> 함량이 부위별로 유의적인 차이(p<0.05)를 나타냈는데, 간장치킨과 로스트치킨에서는 다리 부위가 비타민 B<sub>12</sub> 함량이 높았고, 후라이드치킨에서는 날개 부위가 가장 높게 나타났으나, 다리 부위 또한 가슴 부위와 통치킨에 비하면 비교적 높은 함량을 나타냈다.

치킨 100 g을 섭취 시 섭취되는 비타민 B<sub>12</sub> 함량 수준을 한국 성인 남성 기준 하루 권장섭취량을 기준으로 % 환산한 값을 Table 5에 제시하였다. 치킨 가슴살 통조림이 가장 낮은 비타민 B<sub>12</sub> 함량을 보여 이를 100 g 섭취 시 일일 권장량의 3.4%에 해당되는 비타민 B<sub>12</sub>를 섭취할 수 있는 것으로 나타났으며, 치킨 부위와 조리법에 따라 최대 28.3% 수준(chicken skewers)까지 비타민 B<sub>12</sub> 섭취가 가능한 것으로 나타났다.

### 3.5. 분석품질관리

비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub> 분석의 품질관리는 피리독신과 피리독살 및 피리독사민, 시아노코발라민 네 성분을 분석할 수 있는 조제분유를 품질관리 시료로 분석하여 QC chart를 작성한 결과는 Fig. 3과 같다. QC chart는 평균을 기준으로 관리 상한선 및 하한선, 조치 상한선 및 하한선을 설정하였고, 시료 분석과 함께 분석된 품질관리 시료의 비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub> 함량이 조치선 범위에서 벗어나는 경우 분석 시스템과 HPLC를 점검 후 재분석을 진행하였으며, 시료의 경우 관리선 내의 조건으로 분석된 시료 분석값은 결과로 사용하였다.

시료가 분석된 전 기간 동안 모든 비타민 B<sub>12</sub> 분석값은 QC chart의 관리선 범위 내에 들어오는 것이 확인되었으며, 비타민 B<sub>6</sub>는 관리 상하한선을 3회 벗어났으나 조치 상하한선을 넘지 않아 분석 시스템을 점검 후 재분석하여 결과값으로 사용하였다. 이는 본 연구에서 얻어진 모든 시료의 피리독신, 피리독살, 피리독사민, 코발라민류에 대한 분석값이 신뢰도 있는 데이터베이스로 활용될 수 있음을 보여준다고 하겠다.

### 3.6. 분석속련도 평가

분석속련도 평가를 위해 국제속련도시험 PT-21124에 참여한 결과는 Table 6과 같다. 평가성분은 비타민 B<sub>6</sub>의 경우, 여러 형태 중 선행적으로 분석법이 개발되어 있는 피

리독신 한 성분만으로 평가되었으며, 비타민 B<sub>12</sub>의 경우 시아노코발라민으로 평가되었다. 본 연구에서 분석한 피리독신의 z-score는 0.1, 시아노코발라민 분석의 z-score값은 -1.0으로 나타났다. z-Score는 국제적으로 속련도시험에 참여하는 여러 실험실들이 동일 시료를 분석하여 제출한 측정값이 평균에서 벗어난 정도를 표준편차를 단위로 평가하게 되며, 일반적으로 ±2 이내의 범위에 들어오는 경우 국제적으로 우수한 분석속련도를 보유하고 있는 것으로 평가된다. 본 연구의 분석법을 적용하여 평가된 FAPAS 시험 결과에서 비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub> 분석의 z-score값이 모두 ±2 이내 범위에 들어 분석자의 속련도가 우수하며 분석법 검증체가 국제적인 수준으로 우수한 수준임이 확인되었다.

## 4. 요약

본 연구는 국내 다섭취 육류인 계육의 비타민 B<sub>6</sub> (pyridoxine, pyridoxal, pyridoxamine)와 B<sub>12</sub>(cobalamins)의 함량을 분석하고 계육의 종류, 조리법 및 부위별로 비교하였다. 또한, 데이터의 신뢰성 확보를 위해 비타민 B<sub>6</sub> 분석에 사용된 액체크로마토그래피에 의한 HPLC-FLD법과 비타민 B<sub>12</sub> 분석에 사용된 immunoaffinity-HPLC-PDA법을 검증한 결과, LOD, LOQ, 직선성, 특이성, 정밀성 및 정확성 지표가 모두 국제 가이드라인에서 제시하고 있는 수용범위에 충족되어 분석법의 우수성을 확인할 수 있었다. 계육의 조리법 총 비타민 B<sub>6</sub>(PN+PL+PM)와 비타민 B<sub>12</sub>(cyanocobalamin) 함량 분석 결과, 각각 15.05-131.94 µg/100 g 및 0.08-0.68 µg/100 g 범위를 보였다. 총 비타민 B<sub>6</sub>는 구운치킨(날개)이 131.94 µg/100 g으로 가장 높았고, cyanocobalamin은 닭꼬치가 0.68 µg/100 g으로 가장 높았다. 조리법에 따라서는 비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub> 함량이 굵기의 조리법 및 양념 처리된 시료들에서 비교적 높게 나타났다. 또한, 총 비타민 B<sub>6</sub>의 경우 삶기의 조리법에서 비교적 낮은 함량을 보여 수용성 비타민 B<sub>6</sub>가 조리수로 손실될 수 있음을 확인되었다. 다음으로 부위별 계육의 비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub> 분석 결과, 총 비타민 B<sub>6</sub>는 3종류의 치킨 시료 모두 날개 부위에서 가장 높은 함량을 나타냈고 cyanocobalamin의 함량은 후라이드 치킨-간장, 로스트 치킨은 부위 중 다리에서 가장 높고 후라이드 치킨은 날개에서 가장 높은 함량을 나타냈다. 전체적으로,

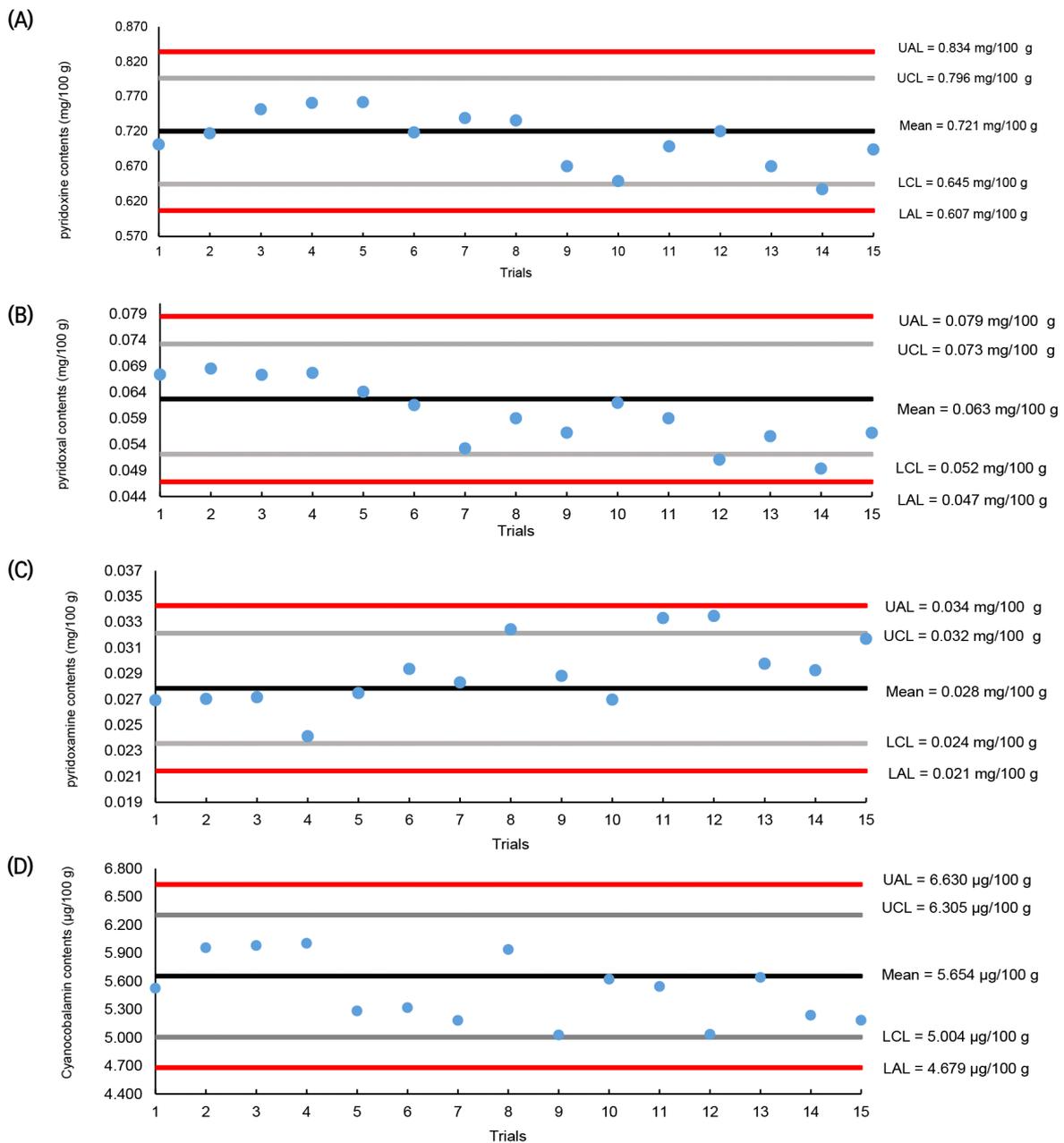


Fig. 3. Quality control charts of pyridoxine (A), pyridoxal (B), pyridoxamine (C) and cyanocobalamin (D) analyses.

Table 6. The z-scores of vitamin B<sub>6</sub> and B<sub>12</sub> analyses obtained in the proficiency test (FAPAS)

Sample	Analytes	Assigned value	Analytical value	z-Score
21124 <sup>1)</sup>	Vitamin B <sub>6</sub> (pyridoxine)	874 µg/100 g	887 µg/100 g	0.1
	Vitamin B <sub>12</sub> (cyanocobalamin)	0.847 µg/100 g	0.663 µg/100 g	-1.0

<sup>1)</sup>21124, vitamins in powdered baby food.

계육의 종류, 조리 및 가공법, 부위에 따라 유의적으로 수용성 비타민 B<sub>6</sub>와 B<sub>12</sub> 함량에 차이가 있음이 확인되었다 ( $p < 0.05$ ). 특히, 본 연구는 피리독신 한 성분만을 분석하여 비타민 B<sub>6</sub>로 표시했던 이전 연구와 달리 총 3종의 비타민 B<sub>6</sub> vitamers를 분석하고 이들의 합을 총 비타민 B<sub>6</sub> 함량으로 나타내어 식품 섭취를 통한 비타민 B<sub>6</sub> 섭취량을 보다 더 정확하게 평가할 수 있게 되었다는 것에 의미가 있다. 본 연구에서는 분석법 검증과 분석품질관리를 수행함으로써 분석의 신뢰성을 확보하였으며, 이를 통해 생산된 데이터는 농진청에서 발간하는 국가표준식품성분표 개정에 활용되어 보다 정확하고 효율적인 식이 평가 및 국민건강관리에 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

#### Acknowledgements

This study was funded in 2020-2022 (grant number PJ01453706) by the Korea Rural Development Administration.

#### Conflict of interests

The authors declare no potential conflicts of interest.

#### Author contributions

Methodology: Gwak YJ, Kim J. Formal analysis: Gwak YJ, Kim J. Validation: Gwak YJ. Writing - original draft: Gwak YJ. Writing - review & editing: Gwak YJ, Chun J.

#### Ethics approval

This article does not require IRB/IACUC approval because there are no human and animal participants.

#### ORCID

Yu-Jeong Gwak (First author)

<https://orcid.org/0000-0002-4194-9269>

Jeong Kim

<https://orcid.org/0000-0001-9558-3752>

Jiyeon Chun (Corresponding author)

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

## References

- Andres E, Loukili NH, Noel E, Kaltenbach G, Abdelgheni MB, Perrin AE, Nobelt-Dick M, Maloisel F, Schlienger JL, Blickle JF. Vitamin B<sub>12</sub> (cobalamin) deficiency in elderly patients. *CMAJ*, 171, 251-259 (2004)
- AOAC. AOAC Guideline for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals, Official Methods of Analysis (2016) 20th ed, AOAC International, Rockville, MD, USA, p 8-11 (2019)
- Baik HW, Russell RM. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency in the elderly. *Annu Rev Nutr*, 19, 357-377 (1999)
- Ball GFM. Vitamins in Foods-Analysis, Bioavailability and Stability. Taylor & Francis, London, UK, p 3 (2005)
- Catak J, Caman R. Pyridoxal, pyridoxamine, and pyridoxine cooking loss: Characterizing vitamin B<sub>6</sub> profiles of chicken meats before and after cooking. *J Food Process Preserv*, 44, e14798 (2020)
- Cho YO. Vitamin B<sub>6</sub> requirement: Indicators and factors affecting. *Korean J Nutr*, 43, 315-323 (2010)
- Choi HM. Nutrition. 5th ed. Gyomunsa, Paju, Gyeonggi, Korea, p 289-297 (2019)
- Choi SR, Song YE, Han HA, Lee SY, Shin SH, Park JJ. Vitamin B<sub>6</sub> content of vegetables and fruits cultivated in Korea. *Korean J Food Nutr*, 32, 745-752 (2019)
- Herbert V. Staging vitamin B<sub>12</sub> (cobalamin) status in vegetarians. *Am J Clin Nutr*, 59, 1213S-1222S (1994)
- Houston DK, Johnson MA, Nozza RJ, Gunter EW, Shea KJ, Cutler GM, Edmonds JT. Age-related hearing loss, vitamin B<sub>12</sub>, and folate in elderly women. *Am J Clin Nutr*, 69, 564-571 (1999)
- Islam MA, Park EY, Jeong BM, Gwak YJ, Kim J, Hong WH, Park SJ, Jung JY, Yoon NY, Kim YG, Chun JY. Validation of vitamin B<sub>5</sub> (pantothenic acid) and B<sub>6</sub> (pyridoxine, pyridoxal, and pyridoxamine) analyses in seafood. *J Food*

- Compos Anal, 109, 104518 (2022)
- Jang DE, Choung MG, Chun JY. Immunoaffinity-HPLC/DAD assay and validation for vitamin B<sub>12</sub> in snacks and cereals. *J Agric Life Sci*, 48, 351-364 (2014)
- Kim SH, Kim JH, Lee HJ, Oh JM, Lee SH, Bahn KN, Seo IW, Lee YJ, Lee JH, Kang TS. Simultaneous determination of water soluble vitamins B group in health functional foods etc. by HPLC. *J Fd Hyg Safety*, 30, 143-149 (2015)
- Kumar SS, Chouhan RS, Thakur MS. Trends in analysis of vitamin B<sub>12</sub>. *Anal Biochem*, 398, 139-149 (2010)
- Lee W, Lee YB, Huh MH, Choi JK. Determination of the chemical stability of cyanocobalamin in medical food by a validated immunoaffinity column-linked HPLC method. *J Food Qual*, 1-8 (2022)
- Leklem JE. Vitamin B<sub>6</sub>. Reservoirs, receptors, and red-cell reactions. *Ann N Y Acad Sci*, 669, 34-43 (1992)
- Margaret EG. The effect of heat on the vitamin B<sub>6</sub> of milk: I. Microbiological tests. *J Dairy Res*, 26, 203-214 (1959)
- Ministry of Health and Welfare (MOHW), The Korean Nutrition Society (KNS). Dietary Reference Intakes for Koreans. Ministry of Health and Welfare, Sejong, Korea, p 453-478 (2015)
- National Institute of Animal Science. Chicken consumption status and awareness survey. Available from: <https://www.nais.go.kr>. Accessed Dec. 10, 2020.
- Park YE, Gwak YJ, Kim J, Guan Y, Hong WH, Park SJ, Choi Y, Chun J. Regional variation of vitamin B<sub>12</sub> content in Korea traditional fermented soy food. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 51, 64-70 (2022)
- Rural Development Administration (RDA). National Standard Nutrient Database. 9th ed. Rural Development Administration, Jeonju, Korea (2017)
- Scott JM. Folate and vitamin B<sub>12</sub>. *Proc Nutr Soc*, 58, 441-448 (1999)
- Smith LD, Grag U. Disorders of Vitamins and Cofactors-Biomarkers in Inborn Errors of Metabolism, Elsevier, Amsterdam, Nederland, 361-397 (2017)
- Wozenski JR, Leklem JE, Miller LT. The metabolism of small dose of vitamin B-6 in Men 1-3. *J Nutr*, 110, p 275-285 (1980)
- Yaman M, Mızrak OF. Determination and evaluation of *in vitro* bioaccessibility of the pyridoxal, pyridoxine, and pyridoxamine forms of vitamin B<sub>6</sub> in cereal-based baby foods. *Food Chem*, 298, 125042 (2019)
- Youn HS. New nutritional concepts of vitamins and minerals. *Korean J Pediatr*, 48, 1295-1309 (2005)