

해산물의 Vitamin B₁₂ 함량 측정

이화여자대학교 의과대학

박 혜 경 · 성 낙 응

=Abstract=

Vitamin B₁₂ Contents in Sea Products

Hae Kyung Park, M.D., N. E. Sung, M.D.

College of Medicine, Ewha Woman's University,
Seoul, Korea

The content of Vitamin B₁₂ in various sea products common in Korea were evaluated by microbiological assay method using *Lactobacilli leichmannii*.

The results and discussion are presented.

서 론

Vitamin B₁₂는 Gorge Minot와 William Murphy가 악성빈혈환자에게 다량의 간을 먹임으로써 치유됨을 발견한 후 1948년에 Folker와 Smith에 의해 각각 독립적으로 분리되고 결정화되었고, 1956년 Dorothy Hodgkin에 의해 삼차원 구조가 밝혀졌다. 화학적 조성식은 C₆₃H₈₈C₆N₁₄P로 중심부에 cobalt원자를 가진 변형된 propyrin ring이며 하나의 nucleotide와 연결되어 있다.

Vitamin B₁₂는 환원과 isomerization 등의 다양한 대사과정에 관여하며 혈액형성에 필수 불가결하고 neuronal integrity에 중요하다고 알려졌고 동물에서 증식을 조장하는 인자로서 알려졌다¹⁾²⁾.

이 Vitamin은 인체의 장기에서 합성되지 않음으로 음식으로서 공급되어야 한다³⁾. 식품중에서 Vitamin B₁₂의 함량이 높은 것은 육류, 우유, 계란, 낙농제품 등이 포함된 동물단백이라는 것이 알려졌다⁴⁾, 아직도 우리가 흔히 섭취하는 어패류를 포함한 해산물에 대한 함량 측정에 대한 보고는 거의 없는 형편이다.

*Lactobacilli leichmannii*는 비병원성 균종으로써 Vitamin B₁₂가 증식에 꼭 필요한 영양소라는 것이 알려져 있다. 이 균을 이용한 Vitamin B₁₂ 측정은 R.L.

Davis등에 의하여 시도되어 그 객관성이 인정된바 있다⁵⁾. 이에 저자들은 우리나라에 흔한 여러가지 해산물내의 Vitamin B₁₂ 함량을 위의 *Lactobacilli leichmannii*를 이용한 미생물학적 방법으로 측정하여 그 결과를 보고 하는 바이다.

재료 및 방법

1) 측정 재료

① 균주 및 균액제조

어류와 패류 및 기타 해산물의 *Lactobacilli leichmannii*를 이용한 Vitamin B₁₂ 함량 측정을 위해서 사용한 균주는 국립보건원에서 분양받은 *Lactobacilli leichmannii*(ATCC 7830)이었다.

균액 제조는 Vitamin B₁₂ assay medium(Difco)에 5ml *L. leichmannii*를 37°C 부탕기에서 20시간 호기성 배양한 후 3000rpm에 30분간 원심침전하여 상층액을 버리고 얻은 침사에 멸균 생리식염수를 첨가하여 5ml가 되게 한다. 다시 3000rpm에 30분간 원심침전하고 침사에 멸균 생리 식염수를 첨가하여 5ml가 되게 한후 1000rpm에 10분간 원심침전하여 상층액 0.05 ml를 사용하였다.

② 측정대상

한국내 시장에서 흔히 구할 수 있는 종류로써 1978

년 1월에서 2월 사이에 신선시장에서 매대된 도합 28가지의 해산물을 대상으로 측정하였다.

2) 측정방법

위에서 밝힌 해산물의 근육 5g을 깨끗이 취하여 mess cylinder에 넣고 demineralized 증류수를 넣어서 50ml가 되게 하였다.

이것을 Virtis 45(Grinder New York)Homogenizer에서 완전히 분쇄한후에 diastase 500mg 및 trypsin 20mg를 넣어서 37°C 부탄기에서 24시간 방치하여 탄수화물 및 단백질을 소화시켰다.

이것을 여과한후 다시 단백질을 응고시키기 위하여 100°C에서 30분간 가열 처리하고 식힌후 탈색시킬 목적으로 active carbon 500mg을 넣고 혼합하여 다시 여과하였다. 이 여과액을 121°C에서 5분 멸균회석하여 사용하였다.

멸균된 Vitamin B₁₂ assay medium 5ml가 들어있는 3개의 시험관에 앞서와 같이 얻어진 어류 패류 기타 해산물의 여과액을 측정하기에 용이하게 (5, 10, 30, 50, 100배) 희석하여 이것의 1ml를 넣고, 멸균 식염수로 씻은 *L. leichmannii* 0.05ml균액을 각각 무균적으로 넣고 37°C 부탄기에서 20시간 호기성 배양하였다.

이것을 꺼내서 잘 혼합한 후 3ml를 취하여 spectrophotometer(Buch and Lomb 20) λ=530에서 3개의 시험관의 혼탁도를 측정하여 standard curve와 비교하였다.

이때 측정에 기준이 되는 standard curve는 Vitamin B₁₂ assay medium 5ml가 든 5개의 시험관에 Vitamin B₁₂주사액(U.S.A. Rorisol 50)을 희석하여

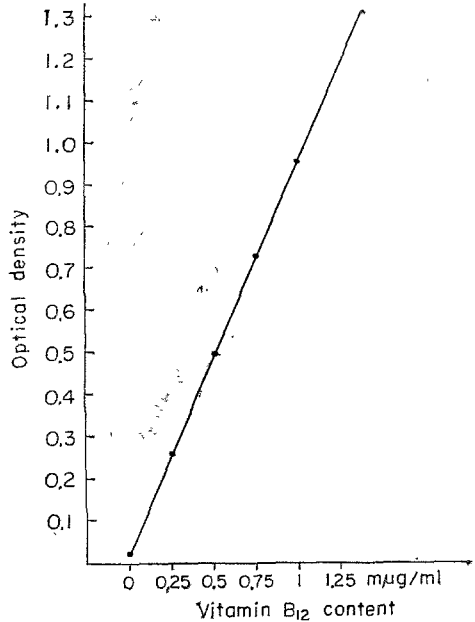


Fig. 1. Standard curve of spectrophotometry Vitamin B₁₂ contents using *Lactobacilli leichmannii*.

5µg/ml 짜리 0.05ml, 0.1ml, 0.15ml, 0.2ml, 0.25ml씩을 넣고 1개의 시험관에는 Vitamin을 넣지 않았다.

위와같이 조제한 *L. leichmannii* 균액 0.05ml씩을 6개의 시험관에 넣고 37°C 부탄기에서 20시간 호기성

Table 1. Contents of Vitamine B₁₂ in fishes

Name of fishes		Contents(µg/100g)
아	지	(Horse-mackerel=Trachurus japonicus) 325.0
등	태	(Alaska pollock, frozen=Theragra chalcogramma) 312.5
도	루	복 (Sand fish=Arctoscopus japonicus) 225.0
청	어	(Herring=Clupea pallasii) 162.5
고	등	어 (Mackerel=Scomber japonicus) 75.0
삼	치	(Spanish mackerel=Sawara nipponiae) 75.0
병	어	(Pompret=Stromateoides argenteus) 75.0
조	기	(Yellowtail runner=Pseudosciaena manchuria) 62.5
꽁	치	(Snipe-fish=Collabis saira(Brevoost)) 62.5
민	어	(Croaker=Nibea imbricata) 50.0
칼	치	(Hairtail=Trichiurus) 50.0
홍	어	(Thornback stingray=Raia keniel) 37.5
가	제	미 (Flounder(sole)=Pleuronectidae) 25.0
도	미	(Snapper=Sparidae) 25.0
대	구	(Codfish) 25.0

Table 2. Contents of Vitamine B₁₂ in shells and other sea foods

Name of sea foods		Contents(mug/100g)
홍합	(Arkshell=Mytilus)	3000.0
개비조개	(Redshell=Anadaragranosa bisenensis)	2850.0
바지락	(Shortnecked cram=Venerupis semidecussata)	937.5
모시조개	(Cord-shell=)	25.0
게	(Crab=Potamons spp.)	900.0
전복	(Abalone=Haliolis giganteadiscus)	725.0
해삼	(Sea cucumber=Stichopudidae)	250.0
참오징어	(Cuttle fish=Sepia esculenta Hoyle)	125.0
새우	(Shrimp=Penaeus orientalis)	125.0
물오징어	(Cuttle fish, fresh=Sepiella maidroni)	125.0
낙지	(Octopus=Octopus rariabilis)	75.0
새우(大)	(Lobster=)	62.5
굴	(Oyster=Crassostrea gigas)	50.0

배양하였다.

여기에 멸균 증류수를 1ml, 0.95ml, 0.9ml, 0.85ml, 0.8ml 0.75ml씩을 넣어서 잘 혼합하여 volum을 일정히 한후 이것의 3ml을 취하여 spectrophotometer에서 λ=530에서 읽어서 5회의 평균치를 취하여 standard curve로 하였다(도표 1참조).

결 과

생선류에서 Vitamin B₁₂의 함량은 생선의 근육 100g에 대해서 아지가 325mμg으로 가장 많이 함유되어 있고, 동태 312.5mμg, 도루묵 225mμg, 청어 162.5mμg으로 비교적 많이 함유되어 있었다.

다음으로 고등어, 참치, 병어는 각각 75mμg, 조기, 광치는 각각 62.5mμg이 함유되어 있고, 민어, 칼치는 각각 50mμg, 홍어는 37.5mμg이 함유되어 있었다.

가재미, 도미 '대구는 각기 25mμg이 함유되어 있었다.

조개류 및 기타 해산물은 생선의 근육에서 보다 현저히 Vitamin B₁₂ 함량이 많았다. 그중에서도 홍합 100g에서 3000mμg의 Vitamin B₁₂가 함유되어 있어서 해산물중 가장 높은 함량을 보여 주었다.

개비조개도 홍합 다음으로 2850mμg, 바지락 937.5mμg으로 많이 함유되어 있었다. 게 900mμg, 전복 725mμg, 해삼 250mμg으로 많이 함유되어 있는 해산물이다.

참오징어, 물오징어, 증등도 크기의 새우에는 각각 125mμg이 함유되어 있고, 낙지 75mμg, 큰새우에는 62.5mμg, 굴에는 50mμg이 함유되어 있었다.

주로 단단한 껍질을 가진 해산물 주로 조개류, 게,

전복등에서 Vitamin B₁₂가 많이 함유되어 있었다(표 1 및 2참조).

고 안

Lactobacili leichmanii는 metachromatic granule을 가진 운동성이 없고 둥근꼴을 가진 간균으로 집락이 거칠고 색소를 나타내지 않는 균으로 호모, 꼭붙, 엇기름 등에서 분리된다.

보통 24~48시간 배양하며 본 실험에서는 예비실험에서 확인하고 20시간 호기성 배양하여 사용하였다. 최적온도는 35°~40°C이며 45°C에서는 발육하나 15°C 이하에서는 발육하지 못한다.

영양소로 calcium pantothenate, niacin, folic acid, Vitamin B₁₂가 필요한 배양이 까다로운 균이며 Vitamin B₁₂의 함량이 높은 곳에서 현저히 잘 자라기에 측정법에서 L. leichmannii가 이용된다⁵⁾.

다른 Lactobacilli와는 생화학적으로 구분이 되는데 homofermentatively glucose를 분해하여 D-lactic acid를 만들며, maltose, sucrose, trehalose, cellobiose, amygdalin, dextran, Salicin 등을 분해하여 산을 형성하지만 lactose, arabinose, raffinose 등은 분해하지 못한다.

형질학적으로 group이 알려져 있지 않고, 항원성은 모르며 세포벽은 glycerol teichoic acid를 카겼고 peptidoglyca L-lysin-D-aspartate type이다⁶⁾⁷⁾.

Cobalamin의 흡수를 위해서 특수한 transport system이 있다. Stomach에서는 glycoprotein인 intrinsic factor가 분비되는데 이것은 장관내에서 cobalamin과 결합한다. 이 복합체는 ileum에 위치하는 specific receptor에 결합된다. 이것은 releasing

factor에 의해 해리되어 ileal membrane을 통과하여 blood stream으로 이동된다⁸⁾.

C.A. Hall(1962)등은 신체 전체의 Vitamin B₁₂를 3~4mg으로 가정시 매일 배설되는 총량은 0.6~3μg이며 소변으로 0.2~1.5μg, 대변으로 0.2~0.5μg이 배설된다고 하였으며⁹⁾ Vitamin B₁₂는 소변, 대변등으로 배설되기에 평형을 유지하기 위해서는 적당량의 음식에 대한 공급이 요구된다.

The Food and Nutritional Board of National research council에서 추천하는 Vitamin B₁₂양이 성인에서 3μg/day이며, 연령에 따른 섭취량의 차이가 있으며 매일 최소 요구량은 2.5μg이다¹⁰⁾. 또한 임신과 수유시 4μg이 섭취되어야 한다.

Vitamin B₁₂의 결핍시에 pericious anemia, neurological lesion(sprue), nutritional amblyopia 등이 온다¹¹⁾.

악성빈혈은 intrinsic factor의 결핍으로 cobalamin의 흡수가 장애된 것이며 환자에게 다량의 간 cobalamin의 source를 투여함으로 치료된다. 가장 확실한 치료는 한달 간격으로 cobalamin를 근육주사하는 것이다.

비교적 혈청내의 Vitamin B₁₂를 측정할 다수의 문헌이 있는데 S.A. Tauber(1957)등은 젊은 성인에서 보다 노인에서 혈청내의 Vitamin B₁₂의 level이 낮다고 하였다¹⁰⁾. 또 순수한 채식주의자에서도 Vitamin B₁₂가 결핍되기 쉽고 혈청내의 함량이 적다고 하였다¹¹⁾.

A.A. Lear(1954)등은 정상인의 혈청내의 B₁₂함량은 532mμg/ml인데 대하여 악성 빈혈환자에서는 39mμg/ml이고, megaloblastic 빈혈환자에서는 307mμg/ml였다고 보고하였다¹²⁾,

W.R. Pitney(1953)등은 재발되는 악성빈혈환자에서 혈청내의 Vitamin B₁₂의 농도의 측정이 진단학적으로 의의가 있는데 이 경우는 정상인 86~460mμg/ml인데 비해 악성빈혈시는 20mμg/ml이하 이었다고 하였다¹²⁾.

Vitamin B₁₂의 결핍은 음식물의 섭취에서 오는 수가 많은데 음식물의 조리 과정과도 관계가 있다고 생각되어 D.K. Banerjee(1953)등은 Indian의 식품에서 생것과 끓인후의 Vitamin B₁₂함량의 비교 분석을 하였고 끓인 경우 상당량의 Vitamin의 손실이 온다고 보고 하였다. 또 대부분의 생것의 생선에 약간의 Vitamin B₁₂가 함유되어 있다고 하였는데 이 결과는 본 실험에서와 일치하나 아쉽게도 생선의 종류가 다르기에 비교 검토는 할 수 없었다¹³⁾.

한국식품의 Vitamin B₁₂측정은 Euglena를 이용한 방법으로 측정할 것이 있으나 그것은 어류와 그 어류에 의한 것같이 풍부하다고 보고될바 있어 그 결과

는 본 실험과 일치하였다.

결 론

우리나라에 흔한 해산물중의 Vitamin B₁₂의 함량을 L. leichmannii 방법에 의하여 측정함과 아지, 동태, 도루묵, 청어 등에 많이 함유되어 있었다.

패류에 있어서는 홍합, 개비조개, 바지락 등에 현저히 많은 함량이었고, 기타 게, 전복, 해삼 등에도 비교적 높은 함량을 지니고 있었다.

참 고 문 헌

- 1) S.H. Kamath: Clinical Biochemistry for Medical Technologists, Little Brown and Company.
- 2) W.H. Sebrell Jr., Robert S. Harris.: The Vitamins, Academic Press, 1968.
- 3) G.W. Thorn., R.D. Adams., E. Braunwald., K.J. Isselbacher., R.G. Petersdorf: Harrison's Principles of Internal Medicine 8th Ed., McGraw-Hill Kogakusha.
- 4) James, M. Orten, Otto W. Neuhaus.: Human biochemistry 9th Ed., The C.V. Mosby Company, 1975.
- 5) Robert, L. Davis, Bacon F. Chow : Some Applications of Rapid uptake of Vitamin B₁₂ by Resting Lactobacilli leichmannii organism, Science, 115 : 352, 1952.
- 6) R.E. Buchanan, N.E. Gibbons : Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th Ed., The Willian Wilkins Company, 1974.
- 7) Graham, S. Wilson, Ashley Miles: Topley and Wilson's Principles of Bacteriology Virology and Immunity, 6th Ed., Edward, Arnold, 1975.
- 8) Lubert Stryer: Biochemistry, W.H. Freeman and company 444-448, 1974.
- 9) Charles, A. Hall: Long Term Plasma and Total Body C⁵⁷B₁₂ Turnover, Blood, 20 : 801-802, 1962.
- 10) S.A. Tauber., R.S. Goodhart., J. M. Hsu., N. Blumberg., J. Kassab., and B.F. Chow: Vitamin B₁₂ deficiency in the aged, Geriatrics, 12 : 368, 1957.

- 11) Arnold, A. Lear., John, W. Harris., William, B. Castle, and Eleanor, M. Fleming: The Serum Vitamin B₁₂ Concentration in Pernicious anemia, J. Lab. Clin. Med., 44 : 715—722, 1954.
- 12) W.R. Pitney, M.F. Beard: Serum Vitamin B₁₂ concentration in pernicious anemia, J. Lab and Clin. Med., 42 : 928—929, 1953.
- 13) D.K. Banerjee, J.B. Chatterjea: Vitamin B₁₂ concent of some articles of Indian diets and Effect of cooking on it, Brit. J. Nutr. 17 : 385—389, 1953.
- 14) 이기녕 · 이근백 · 이춘녕 · 전현오 : 한국 식품의 바타민 B₁₂성 물질함량, 서울대학교 논문집, 62—66.
-