

미생물분석법을 이용하여 한국인이 즐겨 섭취하는 일부 해조류 및 어패류와 그 가공식품의 비타민 B₁₂ 함량 분석*

곽충실[§] · 박준희 · 조지현

서울대학교 노화고령사회연구소

Vitamin B₁₂ Content Using Modified Microbioassay in Some Korean Popular Seaweeds, Fish, Shellfish and Its Products*

Kwak, Chung Shil[§] · Park, June Hee · Cho, Ji Hyun

Institute on Aging, Seoul National University, Seoul 110-810, Korea

ABSTRACT

There is a limitation to estimate vitamin B₁₂ intake due to a lack of data on vitamin B₁₂ content in many Korean foods. In this study, vitamin B₁₂ content was determined in some seaweeds, fish, and shellfish and their product that are consumed in Korea using a modified microbioassay with *Lactobacillus delbrueckii* ATCC 7830. Dried laver and dried seasoned and toasted laver contained very high levels of vitamin B₁₂ (66.8 and 55.2–71.3 µg/100 g, respectively). Sea lettuce and seaweed fulvescene also contained high vitamin B₁₂ content of 5.47–9.41 and 6.46–7.20 µg/100 g, respectively, whereas sea mustard and sea tangle contained low levels of vitamin B₁₂; vitamin B₁₂ was not detected in seaweed fusiforme. Pacific saury, trout, sea-bass, or squid contained 12.01, 2.00, 0.49 and 2.33 µg vitamin B₁₂/100 g, respectively. Ochellatus octopus, and naked sand lance contained 0.72–1.43 and 3.68 µg vitamin B₁₂/100 g, respectively. Dried Alaska pollack contained 0.19–2.64 µg vitamin B₁₂/100 g. Shellfish such as little neck clam and small ark shellfish contained high levels of vitamin B₁₂ of 30.5–40.5 µg/100 g, and mussel and abalone contained 17.71 and 7.82 µg/100 g, respectively. Of unique Korean traditional fermented seafood products, salt-fermented products of squid (2.91 µg/100 g), clams (34.31 µg/100 g), Alaska pollack roe (9.98–12.02 µg/100 g), hairtail guts (4.58 µg/100 g) or small shrimp (0.58–1.55 µg/100 g), and fish sauce from anchovies (1.52–1.78 µg/100 mL), sand eel (0.22–0.24 µg/100 mL) or small shrimp (0.19–0.78 µg/100 mL) were analyzed. A few commercial brands of flying fish roe (0.73–1.73 µg/100 g), canned tuna (0.40 µg/100 g), and fried fish paste (0.25–0.69 µg/100 g) were also analyzed. In conclusion, vitamin B₁₂ content in these foods, chosen considering the Korean food culture, should contribute to improve the present vitamin B₁₂ food database. It may be helpful to estimate vitamin B₁₂ intake more correctly than before, and provide additional information for dietary education related to vitamin B₁₂ and meal management. (Korean J Nutr 2012; 45(1): 94 ~ 102)

KEY WORDS: vitamin B₁₂, seaweeds, seafood and its product, microbioassay.

서 론

비타민 B₁₂는 사람의 성장과 발달에 필수적인 영양소로서, 피롤링과 코발트를 함유하는 코리노이드 화합물이다.¹⁾ 인체에서

비타민 B₁₂의 가장 중요한 기능은 메티오닌 합성효소와 메틸말로닐-CoA 뮤테이스의 조효소로 작용하여 미엘린 수초의 합성과 유지, 그리고 지방과 탄수화물의 대사를 돕는 것이다.²⁾ 비타민 B₁₂ 결핍은 주로 노인들^{3,4)} 채식주의자 및 채식주의자 엄마로부터 태어난 아기들⁵⁻⁷⁾에서 특히 많이 나타나는 것으로 알려져 있다.

일반적으로 비타민 B₁₂가 결핍되면 주로 빈혈 증세와 신경계통의 이상이 나타나며, 위염, 위궤양, 식욕부진, 변비 또는 설사 등 위장계통의 이상을 보이는 것으로 알려져 왔는데,^{6,7)} 최근 들어 비타민 B₁₂ 영양상태가 노화관련 질병을 예방하고 신체적, 정신적 기능을 유지하는 것과 관련이 있다는 연구결과들이 다수

접수일: 2012년 1월 6일 / 수정일: 2012년 1월 26일

채택일: 2012년 2월 5일

*This research was supported by the National Research Foundation of Korea (NRF) Grant funded by the Korean Government (2010-0008081).

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail: kwakcs@snu.ac.kr

보고되면서 새롭게 관심의 대상이 되고 있다.^{3,8-16)}

비타민 B₁₂는 일부 박테리아에 의해서만 합성이 가능하며 먹이사슬을 통하여 상위 포식자의 생체 내에 축적이 되기 때문에 비타민 B₁₂는 동물성 식품에만 존재하고 식물성 식품에는 존재하지 않는 것으로 알려져 왔다.⁶⁾ 그러나, Liem 등¹⁷⁾이 대두발효식품의 하나인 템페에서 비타민 B₁₂가 존재한다는 것을 보고한 이후로 여러 연구자들에 의하여 식물성 발효식품^{2,18)} 및 김과 같은 해조류¹⁹⁻²¹⁾와 클로렐라²²⁾에도 비타민 B₁₂가 다량 존재한다는 보고가 있었다. 본 연구팀도 최근 한국의 된장, 청국장, 김치, 김, 파래, 미역 등에서 비타민 B₁₂ 함량을 측정하여 보고한 바 있다.²³⁾

지금까지 비타민 B₁₂와 관련된 국내연구는 매우 저조한 실정 이었는데, 최근 그 중요성을 인식하여 2005년도에는 비타민 B₁₂에 대한 1일 권장량이 설정되기에 이르렀다.²⁴⁾ 하지만 그 당시 식품영양가표에 비타민 B₁₂ 함량이 수록되어 있는 식품의 수가 매우 적었고 동물성 식품에만 국한되어 있었을 뿐 더러 그것도 미국의 자료와 동아시아 자료를 그대로 차용하였기 때문에 실제적으로 한국인을 대상으로 하는 연구에 적용하는 데에는 적잖은 제한점이 있었다. 그 후 2009년 한국영양학회에서는 기존의 식품영양가표를 기준으로 농촌생활연구소의 식품성분표 7차 개정판과 미국의 USDA 최신자료, 일본식품성분표 등의 분석 자료를 일부 추가하여 품목수가 획기적으로 늘어난 식품영양소함량 자료집이 발간되었다.²⁵⁾ 그러나, 국내의 분석자료가 아닌 외국의 자료를 추가하였기 때문에 여전히 한국인의 식문화적 특성이 충분히 반영되지 못하여 국내에서 널리 섭취되고 있는 식품 중의 상당수가 누락되어 있는 실정이다.

따라서, 본 연구에서는 국내에서 널리 섭취되고 있음에도 불구하고 비타민 B₁₂ 분석값이 없는 식품 또는 외국자료가 있기는 해도 국내자료의 축적이 시급히 필요하다고 판단되는 일부 해조류와 어패류 및 그 가공품, 그리고 한국의 가장 대표적인 식품인 김치를 담그는데 주로 사용하는 액젓을 대상으로 비타민 B₁₂ 함량을 측정하였다.

한편, 비타민 B₁₂ 함량을 분석하는 방법으로 비타민 B₁₂ 농도에 특이하게 의존적으로 성장하는 미생물을 이용한 분석법이 오랜 동안 세계적으로 공인되어 사용되어 왔는데, 박테리아는 사람이 활용하지 못하는 비타민 B₁₂ 일부 이용할 수 있기 때문에 미생물법을 통한 비타민 B₁₂ 함량 분석 시 실제보다 과대평가되는 약점이 지적되어 왔다.^{19,26-28)} 따라서, 본 연구에서는 최근 일본에서 사용되고 있는 분석방법을²⁹⁾ 이용하여 박테리아에서는 비타민 B₁₂로서의 활성을 나타내지만 사람에서는 이용되지 못하는 비타민 B₁₂의 양을 일부나마 보정함으로써 사람이 실제로 이용할 수 있는 비타민 B₁₂ 함량에 보다 가까운 값을 구하고자 하였다.

재료 및 방법

분석 대상 식품의 선정

1차적으로 식품영양소함량 자료집²⁵⁾에 비타민 B₁₂ 분석치가 없는 식품 중에 한국인이 즐겨 섭취하는 해조류와 어패류 및 그 가공품으로 메생이, 녹색파래, 건다시마, 톳, 양미리, 꼬막, 논우렁과 젓갈 (오징어젓, 조개젓, 명란젓, 갈치속젓, 새우젓), 액젓 (멸치액젓, 까나리액젓, 새우액젓), 날치알을 선정하였고, 그 외에 건김, 조미구이김, 건미역, 생미역, 콩치, 송어, 농어, 오징어, 주꾸미, 복어, 바지락, 모시조개, 홍합, 전복, 참치통조림, 어묵에 대한 분석값은 있었으나 외국자료였기 때문에 국내산 또는 국내에서 유통되는 제품으로 분석 확인할 필요가 있다고 판단하여 선정하였다.

재료 구입 및 전처리

본 실험에서 사용한 식품 샘플 중 브랜드가 없는 자연식품은 주로 서울의 가락동 농산물 시장에서 구입하였고, 브랜드가 있는 포장식품이나 가공식품은 시중 마트에서 구입하여 이용하였다. 해조류 중 메생이, 녹색 (가시)파래, 톳, 물미역과 물오징어, 양미리, 콩치는 가락동 농수산물 시장에서 생것으로 구입하였으며, 건미역, 건다시마, 조미김, 복어포, 바지락, 새꼬막, 모시조개, 홍합, 전복, 논우렁, 젓갈, 날치알, 참치통조림, 어묵, 액젓 등은 서울지역의 마트에서 구입하였고, 갈치속젓은 한정식 식당, 송어와 농어회는 일식 식당에서 수집하였다. 기본적으로 생식품의 가식부위를 취하여 분석하였으나 일부 식품은 최소한으로 단순 조리하였다. 콩치와 양미리는 가정용 가스렌지 그릴에서 구웠고, 주꾸미는 최소량의 끓은 물에 살짝 데쳤다. 김, 건미역, 건다시마 및 액체식품을 제외하고는 모두 3~4일간 동결 건조한 후 가정용 전기 분쇄기를 이용하여 분말로 만들어 냉동 보관하였다가 분석에 이용하였으며, 액체식품인 액젓은 건조하지 않고 그대로 이용하였다.

식품에서 총 비타민 B₁₂의 추출 및 미생물을 이용한 함량 분석

식품 시료로부터 총 비타민 B₁₂를 추출한 후 미생물을 이용하여 비타민 B₁₂ 농도를 측정하는 방법은 일본의 식품표준분석법 분석법²⁸⁾ 및 Watanabe 등²⁹⁾의 방법에 따라 시행하였다. 간단히 설명하면, 동결건조한 분말시료 2 g (액체는 5 mL)을 50 mL의 0.1 M acetate buffer (pH 4.5)에 넣고, 0.05% KCN 용액을 첨가한 후 어두운 곳에서 30분간 끓여 총 비타민 B₁₂를 cyanocobalamin의 형태로 추출하였다. 추출액을 실온으로 식힌 후 10% metaphosphoric acid 용액 0.6 mL를 가하고 증류수로 100 mL까지 맞춘 후 5,000 g에서 10분간 원심분리하였

다. 상층액 25 mL을 취하여 pH 6.0으로 맞추고 (추출물 A), 또 다른 상층액 25 mL은 pH를 11~12로 맞춘 후 30분간 끓였다 (추출물 B). 추출물 A와 B를 각각 증류수로 50 mL까지 채운 다음 5,000 g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 취한 다음 비타민 B₁₂ 분석용 기초배지 (Nissui, Tokyo, Japan)에 여러 농도로 첨가하여 자동멸균기 (Deltaclave 410, Delta Medical, Korea)를 이용하여 121°C에서 10분간 멸균시켰다가 식혔다. 여기에 미리 배양해 두었던 박테리아 *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* ATCC 7830을 일정량 접종한 후 37°C 배양기 (VS-1203 P3N, Vision, Korea) 안에서 16~20시간 배양한 후 배양액의 혼탁도를 600 nm에서 spectrophotometer (Ultraspec 2100 pro, Biochrom, UK)로 측정하였다. 표준시약으로는 cyanocobalamin (Sigma, St Louis, USA)을 사용하였다. 시료 추출물 대신 여러 농도의 표준시약 (cyanocobalamin)을 배지에 섞어 준 후 동일한 방법으로 박테리아를 접종하고 배양한 후 측정된 배양액의 혼탁도로부터 standard curve를 얻어 그 방정식으로부터 추출물 A와 추출물 B에 함유되어 있는 비타민 B₁₂의 농도를 계산하였다. 추출물 A에서 측정된 총 비타민 B₁₂ 양 (박테리아가 비타민 B₁₂로 활용할 수 있는 것)에서 추출물 B에서 측정된 알칼리 저항성 비타민 B₁₂ 양 (박테리아는 이용 가능하

나 사람은 비타민 B₁₂로 이용할 수 없는 것)을 빼 준 값을 시료의 비타민 B₁₂ 함량으로 하였다. 실험상의 오차를 줄이기 위하여 각 시료마다 3~6회 반복 실험을 하여 건조시료 100 g 당의 함량을 평균 \pm 표준오차로 표시하였으며, 원시료 100 g 당의 비타민 B₁₂ 함량은 건조시료 기준의 평균 함량과 건조수율로부터 환산하여 구하였다.

분석방법의 적정성 확인실험

비타민 B₁₂ 함량 분석은 코발라민에 절대적으로 의존적인 성장패턴을 보이는 박테리아를 이용하는 방법을 사용하는데 성장속도가 빠른 만큼 미세한 조건의 변화에도 결과는 민감하게 달라지는 경향이 있다. 그래서, 우선 본 연구에서 사용한 방법의 안정성과 민감성을 확인해 보기 위하여 비타민 B₁₂ 측정 시 표준시약으로 사용한 cyanocobalamin을 10, 1, 0.1 ng/mL 3가지 농도로 시료를 만들어 본 연구의 실험방법대로 측정하여 그 결과와 비교하였다.

결 과

분석방법의 적정성 확인

10, 1, 0.1 ng/mL의 비타민 B₁₂ 표준시약 용액을 본 연구의 실험방법대로 분석해 본 결과 평균 98~102%의 범위에서 비교적 좋은 일치성을 보였다 (Table 1).

분석 대상 식품의 비타민 B₁₂ 함량

해조류

김 (일반 건조김과 조미구이김), 파래, 메생이, 미역 (물미역과 건미역), 건다시마, 톳에서 비타민 B₁₂ 함량을 측정된 결과

Table 1. Test for the sensitivity and stability of the microbiological assay

Concentration of cyanocobalamin	Total (ng/mL)	Alkali-resistant (ng/mL)	Vitamin B ₁₂ ¹⁾ (ng/mL)
10 ng/mL	10.43 \pm 1.23	0.21 \pm 0.42	10.21 \pm 1.19
1 ng/mL	1.14 \pm 0.34	0.15 \pm 0.26	0.98 \pm 0.11
0.1 ng/mL	0.12 \pm 0.04	0.02 \pm 0.03	0.10 \pm 0.02

Values are represented by mean \pm SD of 5 repeats

1) Vitamin B₁₂ = Total vitamin B₁₂ - Alkali resistant

Table 2. Vitamin B₁₂ content in seaweeds

Food	Brand	Total (μ g/100 g dry wt)	Alkali-resistant (μ g/100 g dry wt)	Vitamin B ₁₂ ¹⁾	
				(μ g/100 g dry wt) ¹⁾	(μ g/100 g wet wt) ²⁾
Laver, dried (건김)	(M) ³⁾	67.58 \pm 3.11	0.82 \pm 0.14	66.76 \pm 3.14	
Laver, dried, seasoned and toasted (조미김)	DW	71.33 \pm 9.24	0.07 \pm 0.03	71.25 \pm 9.22	
	PU	55.40 \pm 7.70	0.07 \pm 0.03	55.32 \pm 7.68	
Sea lettuce, green (파래)	(M1)	60.12 \pm 1.33	0.24 \pm 0.04	59.88 \pm 1.31	5.47
	(M2)	86.10 \pm 3.60	1.36 \pm 0.20	84.74 \pm 3.42	9.41
seaweed fulvescene (메생이)	(M1)	73.16 \pm 9.41	5.86 \pm 0.14	67.29 \pm 9.29	7.20
	(M2)	46.22 \pm 3.56	1.04 \pm 0.29	45.18 \pm 3.61	6.46
Sea mustard (미역)					
Wet	(M)	1.23 \pm 0.10	0.02 \pm 0.10	1.20 \pm 0.10	0.08
Dried	(M)	1.96 \pm 0.10	0.06 \pm 0.06	1.90 \pm 0.16	
Sea tangle, dried (건다시마)	(M)	0.52 \pm 0.03	0.15 \pm 0.01	0.36 \pm 0.03	
seaweed fusiforme, (톳)	(M1)	0.05 \pm 0.00	0.05 \pm 0.00	—	—
	(M2)	0.10 \pm 0.00	0.06 \pm 0.03	0.04 \pm 0.03	—

Values are represented by mean \pm SD of 3~5 repeats

1) Vitamin B₁₂ = Total vitamin B₁₂ - Alkali resistant factor

2) Calculated from dried yield

3) (M): No brand, purchased at traditional market or supermarket in Seoul

는 Table 2와 같다.

건조김의 비타민 B₁₂ 함량은 66.76 µg/100 g이었고, 2가지 상품의 조미구이김은 각각 71.25 µg/100 g과 55.32 µg/100 g으로 두 상품 간에는 다소 차이가 있었으나 김구이를 하는 과정에서 비타민 B₁₂ 함량이 감소한 것으로 보이지는 않았다. 녹색파래 2가지 시료의 비타민 B₁₂ 함량은 5.47 µg/100 g (59.88 µg/100 g dry wt)과 9.41 µg/100 g (84.74 µg/100 g dry wt)으로 김과 비슷한 수준이었다. 또한, 파래와 비슷한 종류인 메생이는 최근 들어 건강식품의 하나로 알려지면서 섭취가 크게 증가하고 있는데 2가지 시료를 구입하여 분석한 결과 각각 7.20 µg/100 g (67.29 µg/100 g dry wt)와 6.46 µg/100 g (45.18 µg/100 g dry wt)으로 김이나 파래와 비슷하였다. 미역의 비타민 B₁₂ 함량은 김이나 파래에 비하여 매우 낮았는데 물미역은 0.08 µg/100 g (1.20 µg/100 g dry wt)였고, 건미역은 1.90 µg/100 g dry wt이었다. 국물요리에 많이 사용되는 건다시마의 비타민 B₁₂ 함량은 0.36 µg/100 g dry wt으로 미역보다 많이 낮았다. 한편, 2가지의 톳 시료에서는 비타민 B₁₂가 거의 검출되지 않

았다 (Table 2).

어패류의 비타민 B₁₂ 함량

생선과 조개류 그리고 가공품으로 젓갈, 액젓, 날치알, 참치 통조림, 어묵 등에서 비타민 B₁₂를 분석한 결과는 Table 3과 같다.

한국에서 고등어와 함께 가장 흔하게 섭취되고 있는 등푸른생선 중의 하나인 꽁치는 생것과 가정용 가스렌지 브로일러에서 구운 것을 분석한 결과 각각 12.01 µg/100 g, 12.22 µg/100 g으로 구이 과정에 따른 비타민 B₁₂ 함량의 변화는 없었다. 식당에서 구입한 송어회와 농어회의 비타민 B₁₂ 함량은 각각 2.00 µg/100 g, 0.49 µg/100 g이었다.

양미리는 대체로 반건조 및 냉동 상태로 팔리고 있는데 내장을 제거하지 않고 모두 섭취하는 경향이 있어 내장을 제거하지 않고 세척만 하여 생것과 구운 것을 분석한 결과 각각 3.68 µg/100 g, 4.12 µg/100 g로 역시 별 차이가 없었다. 오징어 생것의 비타민 B₁₂ 함량은 2.33 µg/100 g이었고, 주꾸미 생것 2개 시료의 비타민 B₁₂ 함량은 0.72 µg/100 g와 1.43 µg/100 g이었는데

Table 3. Vitamin B₁₂ content in some fish and shells

Food	Brand	Total (µg/100 g dry wt)	Alkali-resistant (µg/100 g dry wt)	Vitamin B ₁₂	
				(µg/100 g dry wt) ¹⁾	(µg/100 g wet wt) ²⁾
Pacific saury (꽁치)					
Raw	(M) ³⁾	26.64 ± 3.65	0.06 ± 0.01	26.59 ± 3.66	12.01
Grilled		24.48 ± 2.72	0.04 ± 0.01	24.44 ± 2.72	12.22
Trout (송어)	(R) ⁴⁾	6.59 ± 0.17	0.04 ± 0.01	6.55 ± 0.17	2.00
Sea bass (농어)	(R)	1.92 ± 0.20	0.03 ± 0.01	1.89 ± 0.19	0.49
Naked sand lance (양미리)					
Raw	(M)	12.97 ± 0.75	0.04 ± 0.01	12.93 ± 0.76	3.68
Grilled		10.89 ± 0.81	0.03 ± 0.01	10.86 ± 0.81	4.12
Squid (오징어)	(M2)	10.80 ± 0.66	0.01 ± 0.02	10.75 ± 0.14	2.33
Ochellatus octopus (주꾸미)					
Raw	(M1)	8.28 ± 0.50	2.36 ± 0.19	5.91 ± 0.32	0.72
	(M2)	10.47 ± 0.20	0.79 ± 0.09	9.69 ± 0.23	1.43
Steamed	(M1)	7.10 ± 0.78	0.40 ± 0.11	6.70 ± 0.68	0.88
	(M2)	8.64 ± 0.34	0.64 ± 0.08	8.00 ± 0.33	1.58
Alaska pollack, dried, yellow (황태포)	(M1)	3.64 ± 0.28	0.19 ± 0.03	3.45 ± 0.26	2.64
Alaska pollack, dried (북어포)	(M2)	1.73 ± 0.21	0.16 ± 0.02	1.57 ± 0.1	0.19
Little neck clam (바지락)	(M1)	219.7 ± 2.7	22.6 ± 1.1	197.2 ± 2.3	36.1
	(M2)	144.2 ± 5.9	3.80 ± 0.27	140.4 ± 5.6	30.5
Small ark shell (새꼬막)	(M1)	181.2 ± 37.2	0.23 ± 0.03	180.9 ± 37.2	40.55
	(M2)	201.5 ± 7.55	0.05 ± 0.02	201.5 ± 7.54	45.12
	(M3)	180.3 ± 22.9	0.02 ± 0.01	180.3 ± 22.9	36.97
Corb shell (모시조개)	(M1)	28.66 ± 2.36	1.18 ± 0.16	27.48 ± 2.44	2.52
	(M2)	31.26 ± 1.05	1.19 ± 0.09	30.07 ± 0.98	2.77
Mussel (홍합)	(M)	150.6 ± 4.23	0.053 ± 0.01	150.6 ± 4.24	17.71
Abalone (전복)	(M)	45.53 ± 1.22	3.47 ± 0.08	42.05 ± 1.29	7.82
Pond snail (논우렁)	(M)	6.13 ± 0.24	0.13 ± 0.02	5.99 ± 0.22	1.02

Values are represented by mean ± SD of 3–5 repeats

1) Vitamin B₁₂ = Total vitamin B₁₂ - Alkali resistant factor 2) Calculated from vitamin content in dried sample and drying yield 3) (M): No brand, purchased at traditional market or supermarket 4) (R): No brand, collected at restaurant

데, 끓는 물에 살짝 데친 것은 각각 0.88 µg/100 g과 1.58 µg/100 g이었다. 북어포는 ‘북어포’라는 이름으로 포장되어 시판되는 것과 황태를 구입하여 찢어서 분석한 결과 비타민 B₁₂ 함량은 각각 0.19 µg/100 g, 2.64 µg/100 g로 차이가 꽤 있었다.

조개류는 종류에 따라 차이는 있으나 대체로 생선에 비하여 비타민 B₁₂ 함량이 매우 높은 경향을 보였다. 바지락 2가지 시료의 비타민 B₁₂ 함량은 각각 36.1 µg/100 g, 30.5 µg/100 g이었고, 새조각 3가지 시료는 각각 40.55 µg/100 g, 45.12 µg/100 g, 36.97 µg/100 g으로 매우 높은 반면, 모시조개 2가지 시료는 2.52 µg/100 g과 2.77 µg/100 g밖에 되지 않았으며, 홍합과 전복은 각각 17.71 µg/100 g, 7.82 µg/100 g이었다. 또한, 된장찌개 등에 많이 이용되는 논우렁의 비타민 B₁₂ 함량은 1.02 µg/100 g이었다.

젓갈류와 액젓

오징어젓의 비타민 B₁₂ 함량은 2.91 µg/100 g, 조개젓은 34.31 µg/100 g이었으며 명란젓 2가지 시료의 비타민 B₁₂ 함량은 각각 12.02 µg/100 g와 9.98 µg/100 g이었다. 갈치속젓은 4.58 µg/100 g이었고, 새우젓은 4개 시료를 구입하여 분석한 결과 0.58~1.55 µg/100 g 범위에서 상품 간에 차이가 있었다 (Table 4).

주로 김치를 담글 때 사용하는 멸치액젓, 까나리액젓, 새우

액젓에 대하여 각각 서로 다른 2개씩의 회사제품을 구입하여 분석한 결과 멸치액젓의 비타민 B₁₂ 함량은 각각 1.52 µg/100 mL과 1.78 µg/100 mL이었으며, 까나리액젓은 0.22 µg/100 mL와 0.24 µg/100 mL, 새우액젓은 0.78 µg/100 mL과 0.19 µg/100 mL로 멸치액젓의 비타민 B₁₂ 함량이 가장 높았다 (Table 5).

기타 가공식품

날치알에 약간의 조미를 하여 가공품으로 시판되는 날치알 상품은 2개 회사의 제품을 구입하여 비타민 B₁₂를 분석한 결과 각각 1.73 µg/100 g과 0.73 µg/100 g로 제품 간에 차이가 있었으며 명란젓과 비교하면 크게 낮은 값을 보였다. 참치통조림의 비타민 B₁₂ 함량은 0.40 µg/100 g이었으며, 3개 회사의 제품을 구입하여 분석한 튀긴 어묵은 각각 0.69 µg/100 g, 0.44 µg/100 g, 0.25 µg/100 g 이었다 (Table 6).

고 찰

비타민 B₁₂ 함량 분석에 이용하는 미생물인 lactic bacterium은 특이하게 비타민 B₁₂에 의존적인 증식을 하기 때문에 비타민 B₁₂ 농도에 따른 민감도는 높으나 특이성에 문제가 있는 것으로 지적되었다.²⁶⁾ 이들 박테리아는 사람과 달리 내적인자 (intrinsic)

Table 4. Vitamin B₁₂ content in Korean popular salt-fermented fish and shells

Food	Brand	Total (µg/100 g dry wt)	Alkali-resistant (µg/100 g dry wt)	Vitamin B ₁₂	
				(µg/100 g dry wt) ¹⁾	(µg/100 g wet wt) ²⁾
Squid, salt-fermented (오징어젓)	HS	6.37 ± 0.33	0.94 ± 0.25	5.44 ± 0.14	2.91
Clams, salt-fermented (조개젓)	HS	121.8 ± 16.9	6.07 ± 0.69	115.7 ± 16.7	34.31
Alaska pollack roe, salt-fermented (명란젓)	HS	30.55 ± 1.37	0.25 ± 0.02	30.29 ± 1.36	12.02
	DG	30.76 ± 2.08	0.17 ± 0.02	30.60 ± 2.06	9.98
Hairtail guts, salt-fermented (갈치속젓)	(R) ³⁾	10.43 ± 0.72	0.39 ± 0.05	10.03 ± 0.68	4.58
Shrimp, salt-fermented (새우젓)	SH	6.45 ± 0.70	4.71 ± 0.57	1.73 ± 1.05	0.58
	WS	12.07 ± 0.61	7.85 ± 0.41	4.22 ± 0.90	1.55
	HS	11.40 ± 1.17	8.79 ± 1.00	2.61 ± 0.17	0.86
	(M) ⁴⁾	4.53 ± 0.08	2.18 ± 0.20	2.34 ± 0.27	0.91

Values are represented by mean ± SD of 3–5 repeats

1) Vitamin B₁₂ = Total vitamin B₁₂ - Alkali resistant factor 2) Calculated from vitamin content in dried sample and drying yield 3) (R): no brand, collected at restaurant 4) (M): No brand, purchased at traditional market

Table 5. Vitamin B₁₂ content in some fermented fish sauce for Kimchi

Food	Brand	Total (µg/100 mL)	Alkali-resistant (µg/100 mL)	Vitamin B ₁₂ ¹⁾
				(µg/100 mL)
Anchovy, salt-fermented sauce (멸치액젓)	HS	1.70 ± 0.02	0.18 ± 0.03	1.52 ± 0.02
	DS	1.79 ± 0.26	0.02 ± 0.01	1.78 ± 0.25
Sand eel, salt-fermented sauce (까나리액젓)	HS	0.27 ± 0.04	0.05 ± 0.00	0.22 ± 0.04
	HC	0.41 ± 0.04	0.17 ± 0.01	0.24 ± 0.03
Shrimp, salt-fermented sauce (새우액젓)	DS	1.08 ± 0.06	0.30 ± 0.03	0.78 ± 0.09
	CJ	0.76 ± 0.04	0.57 ± 0.09	0.19 ± 0.06

Values are represented by mean ± SD of 3–5 repeats

1) Vitamin B₁₂ = Total vitamin B₁₂ - Alkali resistant factor

Table 6. Vitamin B₁₂ content in some processed products of sea foods

Food	Brand	Total (μg/100 g dry wt)	Alkali-resistant (μg/100 g dry wt)	Vitamin B ₁₂	
				(μg/100 g dry wt) ¹⁾	(μg/100 g wet wt) ²⁾
Flying fish roe (날치알)	DL	6.49 ± 0.65	0.18 ± 0.08	6.31 ± 0.61	1.73
	HG	4.01 ± 0.08	—	4.01 ± 0.08	0.73
Tuna, canned (참치캔)	DW	2.84 ± 0.67	0.02 ± 0.01	2.83 ± 0.68	0.40
Fish paste, fried (어묵)	PW	1.51 ± 0.06	0.11 ± 0.03	1.40 ± 0.04	0.69
	DL	1.15 ± 0.09	0.03 ± 0.01	1.13 ± 0.10	0.44
	DW	0.61 ± 0.14	0.03 ± 0.01	0.58 ± 0.15	0.25

Values are represented by mean±SD of 3–5 repeats

1) Vitamin B₁₂ = Total vitamin B₁₂ - Alkali resistant factor 2) Calculated from vitamin content in dried sample and drying yield

sic factor)에 대한 친화성이 낮은 코리노이드 화합물 (pseudo-vitamin B₁₂)은 물론 deoxyribose와 deoxynucleotides 등도 비타민 B₁₂와 동일하게 활용할 수 있기 때문에 실제로 일부 식품의 경우 미생물법으로 측정된 비타민 B₁₂의 함량이 과대평가 될 수 있다.¹⁹⁾ 식품 내에 존재하는 pseudo-vitamin B₁₂를 정확하게 정량하려면 보다 복잡한 과정을 거쳐야 하고 TLC나 HPLC 방법을 이용하여야 하는 어려움이 있어^{27,30)} 일반적인 식품 내 비타민 B₁₂ 함량 분석에는 사용하기가 어렵다. 그러나, deoxyribose와 deoxynucleotides 등은 비타민 B₁₂와 달리 알칼리에 강한 특성을 갖고 있기 때문에 식품추출물을 알칼리 처리한 후 측정하면 쉽게 정량이 가능하기 때문에 종전의 방법으로 측정된 비타민 B₁₂ 함량에서 알칼리 저항성 비타민 B₁₂ 함량을 빼 주는 방법이 최근 일본에서 채택되어 식품성분표 분석방법으로 이용되고 있다.^{19,28)} 해조류를 비롯하여 한국인이 섭취하는 해산물이 일본과 유사한 부분이 많기 때문에 본 연구에서는 이 방법을 이용하였다.

오랜 동안 식물성 식품에는 비타민 B₁₂가 존재하지 않는 것으로 알고 있다가, Darken³¹⁾가 1953년 처음으로 몇몇 식물에서 낮은 농도의 비타민 B₁₂가 존재함을 발견하였는데 그것은 토양 속의 미생물로부터 오염된 것으로 추정되었다. 비타민 B₁₂는 pro-caryotes에 의해서만 합성될 수 있으며 *Propionibacterium*, *Pseudomonas*, *Clostridium* 그리고 일부 *Streptomyces* 등의 박테리아와 *Aspergillus Niger*에 의하여 합성된다고 보고된 바 있다.^{32,33)}

일반적으로 해조류는 비타민과 무기질, 섬유소가 풍부하다고 알려져 있으며,²⁴⁾ 해조류에 있는 비타민 B₁₂는 해조류와 공생관계에 있는 박테리아가 합성한 것이 축적된 것으로 설명되고 있다.³³⁾ 최근, Kwak 등²³⁾은 해조류 중 김과 파래의 비타민 B₁₂ 함량이 매우 높아 특히 한국의 노인들이나 채식주의자들에게 비타민 B₁₂의 좋은 급원식품이 될 수 있다고 보고하였으며, Miyaoto 등²¹⁾은 한국산 김은 비타민 B₁₂ 함량이 높을 뿐 아니라 흡수율 또한 50% 정도로 동물성 식품 못지않게 높았다고 하였다. 본 연구에서는 현재 널리 시판되고 있는 구운 조미김과 메생이, 톳을 추가적으로 분석한 결과 조미구이김과 메생이는 건

김이나 파래의 비타민 B₁₂ 함량과 비슷한 수준으로 높았지만, 톳에서는 검출되지 않아 서식 환경이나 생물학적인 특성이 서로 다른 것으로 생각된다.

식품영양소함량 자료집²⁵⁾에 의하면 쇠고기의 비타민 B₁₂ 함량은 부위에 따라 1.04~2.80 μg/100 g, 돼지고기는 0.53~0.98 μg/100 g, 닭고기는 0.31 μg/100 g이며, 생선류는 일반적으로 이들 식품보다 좀 더 높은 함량을 갖고 있었다. 또한, 생선 중에서도 꽂치 (17.7 μg/100 g), 고등어 (10.6 μg/100 g), 정어리 (9.5 μg/100 g)와 같은 등푸른 생선의 비타민 B₁₂ 함량이 갈치 (0.9 μg/100 g), 대구 (0.9 μg/100 g), 명태 (4.0 μg/100 g), 농어 (2.0 μg/100 g)와 같은 흰살 생선보다 높은 경향을 보이고 있다. 본 연구에서 꽂치와 농어 생시료를 분석한 결과 각각 12.01 μg/100 g와 0.49 μg/100 g로 기존의 식품영양소함량 자료집²⁵⁾의 값보다 낮았으며, 민물 생선인 송어의 분석값 (2.0 μg/100 g) 역시 식품영양소함량 자료집 (7.79 μg/100 g)²⁵⁾이나 일본의 식품성분표 자료 (5.7 μg/100 g)³⁴⁾에 비하여 낮았다. 이는 식품영양소함량 자료집의 비타민 B₁₂ 값은 외국의 자료를 그대로 차용한 것으로 동일한 명칭으로 번역되었더라도 세부적인 품종과 서식환경에 따른 차이가 있을 수 있으며, 가장 많은 부분을 차지하는 미국의 자료는 미생물법으로 측정되었지만 사람이 활용할 수 없는 부분을 보정하지 않았을 가능성이 있다.

국내에서 겨울철에 많이 섭취하는 양미리는 생것과 구운 것을 통째로 분석한 결과 각각 3.68 μg/100 g과 4.12 μg/100 g로 열처리로 인한 함량변화는 거의 없는 것으로 보인다. 오징어 생것의 비타민 B₁₂ 함량 (2.33 μg/100 g)은 식품영양소함량 자료집²⁵⁾의 6.5 μg/100 g와 비교하여 낮았으며, 주꾸미의 비타민 B₁₂ 함량 (0.72~1.43 μg/100 g)은 식품영양소함량 자료집²⁵⁾의 20.0 μg/100 g보다 매우 낮은 수준이었다. 그러나, 일본의 식품영양소 자료³⁴⁾에 의하면 오징어의 비타민 B₁₂ 함량은 그 세부종류에 따라 1.4~14.0 μg/100 g의 넓은 범위를 갖고 있었으며, 주꾸미는 1.3~2.0 μg/100 g으로 본 연구결과와 유사한 값을 보였다.

북어는 명태를 말린 것인데 그 중에서도 황태는 겨울철 내내 실외의 자연환경에서 장기간 동결과 해동을 거듭하면서 건

조된 것으로 그 과정이 매우 독특한 식품이다. 본 연구 결과 일반 북어포와 황태포의 비타민 B₁₂ 함량은 각각 0.19 µg/100 g와 2.64 µg/100 g으로 황태포가 일반 북어포에 비하여 비타민 B₁₂ 함량이 더 높은 것이 매우 흥미로운 사실이지만 분석한 시료의 수가 적어 단정 짓기는 어렵다.

한편, 비타민 B₁₂는 수용성이기 때문에 데치는 과정에서 비타민 B₁₂의 손실이 있을 것으로 예상되었으나 주꾸미의 경우 최소한의 끓는 물에 잠깐 데쳤기 때문인지 손실이 거의 없었고 오히려 수분이 빠져서 100 g 당의 비타민 B₁₂ 함량은 약간 상승한 것으로 보인다. 다양한 조리방법에 따른 비타민 B₁₂ 함량의 변화를 확인하기 위해서는 보다 엄격한 실험조건 하에서 별도의 연구가 필요하다고 본다.

국내에서 많이 섭취되는 일부 조개류의 비타민 B₁₂ 함량을 분석한 결과 바지락과 새꼬막에 비하여 모시조개의 함량은 크게 낮아 조개 종류에 따라 차이를 있음을 알 수 있었다. 본 연구에서 측정된 바지락의 비타민 B₁₂ 함량은 30.5~36.1 µg/100 g으로 식품영양소함량 자료집²⁵⁾에 표기된 값 62.4 µg/100 g보다 훨씬 낮았다. 최근 Ueta 등³⁵⁾은 조개 통조림 국물의 비타민 B₁₂ 함량이 2.7~14.1 µg/100 g으로 상당히 높았으며, 더구나 그 중 72%가 free vitamin B₁₂ 형태였기 때문에 식품에 주로 존재하는 형태인 결합형 비타민 B₁₂를 분해하지 못함으로써 비타민 B₁₂ 흡수에 어려움이 있는 노인들에게 매우 좋은 급원 식품이 될 수 있다고 하였다.

젓갈에 대한 비타민 B₁₂ 분석 자료가 거의 없었기 때문에 본 연구에서는 5종의 젓갈을 수집하여 분석한 결과 바지락살로 만든 조개젓의 비타민 B₁₂ 함량은 34.3 µg/100 g으로 바지락 생젓의 함량과 비슷한 일치성을 보여 주었으며, 마찬가지로 오징어젓도 오징어의 비타민 B₁₂ 함량과 비슷하였다. 본 연구에서 구입한 오징어젓, 조개젓, 명란젓, 갈치속젓은 약간의 양념이 되어 있었으나 국물은 거의 없는 상태였기 때문에 실제로 오징어젓과 조개젓의 경우 주재료인 오징어와 바지락살의 비타민 B₁₂ 함량과 비슷하였던 반면 새우젓은 구입 당시 국물이 어느 정도 있었다. 원래 새우젓은 새우젓용 생새우에 천일염만 뿌려 봉한 후 어둡고 서늘한 곳에서 장기간 저장 발효시키는 것이지만, 상업적으로는 발효 후에 소금물을 첨가하여 포장 판매하는 경우가 종종 있다. 따라서, 수용성인 비타민 B₁₂가 발효 또는 저장기간 중에 새우로부터 국물로 빠져 나가 희석되었을 가능성도 있고 첨가된 소금물의 양에 따라 최종제품의 비타민 B₁₂ 농도는 달라졌을 것으로 생각된다. 본 연구에서는 구입 상품의 새우젓을 젓가락으로 집어서 옮겨 담은 후 무게를 측정하여 시료로 사용하였기 때문에 자연스럽게 일부 국물이 포함되었지만 국물을 따로 취하지는 않았다.

식품영양소 함량 자료집²⁵⁾과 일본의 식품분석표³⁴⁾에 의하면

참치통조림의 비타민 B₁₂ 함량은 각각 2.20 µg/100 g과 1.1~2.0 µg/100 g이었으나 본 연구 결과는 0.40 µg/100 g으로 매우 낮았다. 따라서, 앞으로 보다 다양한 제품에 대한 추가적인 실험이 이루어져야 할 것이다. 한편, 4개 회사의 튀김 어묵 비타민 B₁₂ 함량은 0.25~0.69 µg/100 g으로 제품에 따라 약간의 차이가 있었는데 이는 아마도 주재료로 사용된 생선들의 종류와 구성 비율이 다른 것이 가장 큰 요인으로 생각된다.

김치의 비타민 B₁₂ 함량은 김치를 담글 때 넣은 젓갈로부터 왔을 것으로 설명되고 있다.²³⁾ 본 연구에서는 일반적으로 김치를 담글 때 가장 널리 사용하는 젓갈인 멸치액젓, 까나리액젓, 새우액젓의 비타민 B₁₂ 함량을 측정해 본 결과 멸치액젓이 가장 높았다. Stabler와 Allen²⁾은 미국 농무성 자료에 의하면 fish sauce의 비타민 B₁₂ 함량은 1.9 µg/100 mL으로 이라고 보고하였는데, 이는 본 연구에서 멸치액젓의 결과 (1.52~1.78 µg/100 mL)와 비슷한 수준이었다. 새우액젓 2제품의 비타민 B₁₂ 함량은 각각 0.19 µg/100 mL와 0.78 µg/100 mL 이었는데 이는 새우젓 4제품의 0.58~1.55 µg/100 g와 비교하여 확실히 낮았다. 본 실험에서 사용한 액젓들은 김치용으로 상품화된 액상 혼합물 상태의 것으로 구체적인 성분표시가 되어 있지 않아 원액을 얼마나 희석한 것인지, 또 원액 이외에 무엇이 얼마나 첨가되었는지는 알 수 없었다.

본 연구 결과 동일 품목에 대하여 여러 시료를 분석한 경우 시료에 따라 그 분석 값에 있어 큰 차이를 보이는 경우가 일부 있었다. 이는 수산물의 특성상 어획장소 및 시기 등의 기본적인 차이에서 오는 것으로 생각되며, 가공상품인 경우에는 이러한 주원료의 특성차이에 더하여 회사와 제품의 종류에 따라 가공 조건과 유통 및 보관과정의 조건 등이 복합적으로 작용했을 것으로 생각된다. 덧붙여, 지금까지 식품 내 비타민 B₁₂ 함량 분석과 직접적으로 관련된 연구보고가 거의 없는 실정이기 때문에 본 연구결과에 대하여 심도 있게 고찰하는데 많은 제한점이 있었다.

요약 및 결론

국내에서 유통되는 식품에 대한 비타민 B₁₂ 함량 자료가 크게 부족하여 비타민 B₁₂ 섭취량 계산에 많은 어려움이 있었기 때문에 한국인들이 특징적으로 즐겨 섭취하고 있는 일부 해산물과 그 가공품 (해조류, 어패류와 젓갈 등 가공식품, 액젓 등)에 대하여 비타민 B₁₂ 함량을 분석하였다. 또한, *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* ATCC 7830를 이용한 공인된 미생물법을 이용하여 분석하였는데 기존의 분석법과 달리 본 연구에서는 박테리아는 활용 가능하나 인체는 활용하지 못하는 일부 비타민 B₁₂ 함량을 추가적으로 분석하여 그 값을 보정함

으로써 보다 정확한 비타민 B₁₂ 함량을 얻고자 하였다.

1) 비타민 B₁₂ 함량을 분석한 결과 해조류 중에는 건조김 (66.76 µg/100 g dry wt), 조미김 (55.32~71.25 µg/100 g dry wt), 녹색파래 (5.47~9.41 µg/100 g), 메생이 (6.46~7.20 µg/100 g)의 함량이 비슷하게 매우 높았으며, 물미역 (0.08 µg/100 g), 건미역 (1.90 µg/100 g dry wt), 건다시마 (0.36 µg/100 g dry wt) 순이었으며, 톳에서는 검출되지 않았다.

2) 어류로는 꽁치 (12.01 µg/100 g), 송어 (2.0 µg/100 g), 농어 (0.49 µg/100 g), 양미리 (3.68 µg/100 g), 오징어 (2.33 µg/100 g), 주꾸미 (0.72~1.43 µg/100 g), 북어포 (0.19~2.64 µg/100 g of dry wt)가 분석되었다.

3) 패류에서는 바지락 (30.5~36.1 µg/100 g)과 새꼬막 (36.97~45.12 µg/100 g)의 비타민 B₁₂ 함량이 매우 높았고, 홍합 (17.71 µg/100 g)과 전복 (7.82 µg/100 g)도 높은 편이었으나, 모시조개 (2.52~2.77 µg/100 g)는 상대적으로 낮았다.

4) 젓갈류 중에는 조개젓 (34.31 µg/100 g)의 함량이 가장 높았으며, 멸란젓 (9.98~12.02 µg/100 g), 갈치숙젓 (4.58 µg/100 g), 오징어젓 (2.91 µg/100 g), 새우젓 (0.58~1.55 µg/100 g) 순이었다.

5) 김치용 액젓으로 쓰이는 멸치액젓, 까나리액젓, 새우액젓의 비타민 B₁₂ 함량은 각각 1.52~1.78 µg/100 g, 0.22~0.24 µg/100 g, 0.19~0.78 µg/100 g로 멸치액젓의 함량이 가장 높았다.

6) 날치알, 참치통조림, 튀긴 어묵의 비타민 B₁₂ 함량은 각각 0.73~1.73 µg/100 g, 0.40 µg/100 g, 0.25~0.69 µg/100 g이었다.

본 연구 결과가 기존의 식품영양소함량 자료집²⁵⁾의 비타민 B₁₂ 부분을 양적 및 질적으로 향상시키는데 조금이나마 도움이 될 것으로 기대하며, 앞으로 보다 전문적이고 체계적인 시스템을 갖추어 국내에서 유통되고 있는 식품은 물론 다양한 가공식품 및 조리된 음식들의 비타민 B₁₂ 함량을 지속적으로 측정하여 신뢰성 있는 자료가 연구자들에게 제공되어야 할 것이다.

■ 감사의 글

본 논문은 2010년 정부 (교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행한 연구임 (2010-0008081).

Literature cited

- 1) Herbert V. Vitamin B₁₂: plant sources, requirements, and assay. *Am J Clin Nutr* 1988; 48(3 Suppl): 852-858
- 2) Stabler SP, Allen RH. Vitamin B₁₂ deficiency as a worldwide problem. *Annu Rev Nutr* 2004; 24: 299-326
- 3) Baik HW, Russell RM. Vitamin B₁₂ deficiency in the elderly. *Annu Rev Nutr* 1999; 19: 357-377
- 4) Houston DK, Johnson MA, Nozza RJ, Gunter EW, Shea KJ, Cutler GM, Edmonds JT. Age-related hearing loss, vitamin B₁₂, and folate in elderly women. *Am J Clin Nutr* 1999; 69(3): 564-571

- 5) Kühne T, Bubl R, Baumgartner R. Maternal vegan diet causing a serious infantile neurological disorder due to vitamin B₁₂ deficiency. *Eur J Pediatr* 1991; 150(3): 205-208
- 6) Herbert V. Staging vitamin B₁₂ (cobalamin) status in vegetarians. *Am J Clin Nutr* 1994; 59(5 Suppl): 1213S-1222S
- 7) Kwok T, Cheng G, Woo J, Lai WK, Pang CP. Independent effect of vitamin B₁₂ deficiency on hematological status in older Chinese vegetarian women. *Am J Hematol* 2002; 70(3): 186-190
- 8) Setola E, Monti LD, Galluccio E, Pallosi A, Fragasso G, Paroni R, Magni F, Sandoli EP, Lucotti P, Costa S, Fermo I, Galli-Kienle M, Origgi A, Margonato A, Piatti P. Insulin resistance and endothelial function are improved after folate and vitamin B₁₂ therapy in patients with metabolic syndrome: relationship between homocysteine levels and hyperinsulinemia. *Eur J Endocrinol* 2004; 151(4): 483-489
- 9) He K, Merchant A, Rimm EB, Rosner BA, Stampfer MJ, Willett WC, Ascherio A. Folate, vitamin B₆, and B₁₂ intakes in relation to risk of stroke among men. *Stroke* 2004; 35(1): 169-174
- 10) Ng TP, Feng L, Niti M, Kua EH, Yap KB. Folate, vitamin B₁₂, homocysteine, and depressive symptoms in a population sample of older Chinese adults. *J Am Geriatr Soc* 2009; 57(5): 871-876
- 11) Bryan J, Calvaresi E, Hughes D. Short-term folate, vitamin B₁₂ or vitamin B₆ supplementation slightly affects memory performance but not mood in women of various ages. *J Nutr* 2002; 132(6): 1345-1356
- 12) Gong Z, Holly EA, Bracci PM. Intake of folate, vitamins B₆, B₁₂ and methionine and risk of pancreatic cancer in a large population-based case-control study. *Cancer Causes Control* 2009; 20(8): 1317-1325
- 13) Engelborghs S, Vloeberghs E, Maertens K, Mariën P, Somers N, Symons A, Clement F, Ketels V, Saerens J, Goeman J, Pickut BA, Vandevivere J, De Deyn PP. Correlations between cognitive, behavioural and psychological findings and levels of vitamin B₁₂ and folate in patients with dementia. *Int J Geriatr Psychiatry* 2004; 19(4): 365-370
- 14) Prodan CI, Cowan LD, Stoner JA, Ross ED. Cumulative incidence of vitamin B₁₂ deficiency in patients with Alzheimer disease. *J Neurol Sci* 2009; 284(1-2): 144-148
- 15) Tangney CC, Aggarwal NT, Li H, Wilson RS, Decarli C, Evans DA, Morris MC. Vitamin B₁₂, cognition, and brain MRI measures: a cross-sectional examination. *Neurology* 2011; 77(13): 1276-1282
- 16) Edvardsson B, Persson S. Chorea associated with vitamin B₁₂ deficiency. *Eur J Neurol* 2011; 18(10): e138-e139
- 17) Liem IT, Steinkraus KH, Cronk TC. Production of vitamin B₁₂ in tempeh, a fermented soybean food. *Appl Environ Microbiol* 1977; 34(6): 773-776
- 18) Keuth S, Bisping B. Vitamin B₁₂ production by *Citrobacter freundii* or *Klebsiella pneumoniae* during tempeh fermentation and proof of enterotoxin absence by PCR. *Appl Environ Microbiol* 1994; 60(5): 1495-1499
- 19) Watanabe F. Vitamin B₁₂ sources and bioavailability. *Exp Biol Med (Maywood)* 2007; 232(10): 1266-1274
- 20) Takenaka S, Takubo K, Watanabe F, Tanno T, Tsuyama S, Nanao Y, Tamura Y. Occurrence of coenzyme forms of vitamin B₁₂ in a cultured purple laver (*Porphyra yezoensis*). *Biosci Biotechnol Biochem* 2003; 67(11): 2480-2482
- 21) Miyamoto E, Yabuta Y, Kwak CS, Enomoto T, Watanabe F. Characterization of vitamin B₁₂ compounds from Korean purple laver (*Porphyra sp.*) products. *J Agric Food Chem* 2009; 57(7): 2793-2796
- 22) Kittaka-Katsura H, Fujita T, Watanabe F, Nakano Y. Purification and characterization of a corrinoid compound from *Chlorella* tablets as an algal health food. *J Agric Food Chem* 2002; 50(17): 2793-2796

- 4994-4997
- 23) Kwak CS, Hwang JY, Watanabe F, Park SC. Vitamin B₁₂ contents in some Korean fermented foods and edible seaweeds. *Korean J Nutr* 2008; 41(5): 439-447
- 24) The Korean Nutrition Society. Dietary reference intakes for Koreans; 2005
- 25) The Korean Nutrition Society. Food values. Seoul: Hanarm Publishing; 2009
- 26) Ball GFM. Vitamin B₁₂. In: Bioavailability and Analysis of Vitamins in Foods. London: Chapman & Hall; 1998. p.497-515
- 27) Watanabe F, Katsura H, Takenaka S, Fujita T, Abe K, Tamura Y, Nakatsuka T, Nakano Y. Pseudovitamin B₁₂ is the predominant cobamide of an algal health food, spirulina tablets. *J Agric Food Chem* 1999; 47(11): 4736-4741
- 28) Analysis manual for the standard tables of food composition in Japan, 5th ed. Japan Food Analysis Center; 2007
- 29) Watanabe F, Takenaka S, Katsura H, Masumder SA, Abe K, Tamura Y, Nakano Y. Dried green and purple lavers (Nori) contain substantial amounts of biologically active vitamin B₁₂ but less of dietary iodine relative to other edible seaweeds. *J Agric Food Chem* 1999; 47(6): 2341-2343
- 30) Watanabe F, Miyamoto E, Fujita T, Tanioka Y, Nakano Y. Characterization of a corrinoid compound in the edible (blue-green) alga, Suizenji-nori. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006; 70(12): 3066-3068
- 31) Darken MA. Production of vitamin B₁₂ by microorganisms and its occurrence in plant tissues. *Bot Rev* 1953; 19(2): 99-130
- 32) Nicholas DJD. The use of fungi for determining trace metals in biological materials. *Analyst* 1952; 77(920): 629-642
- 33) Rhodes A, Flecher DL. Vitamin B₁₂: structure, biosynthesis and production. In: Jones RF, editor. Principles of Industrial Microbiology. New York: Pergamon Press Inc.; 1966. p.242-248
- 34) Standard tables of food composition in Japan. 5th revised and enlarged edition. Saitama: Kagawa Education Institute of Nutrition; 2007
- 35) Ueta K, Takenaka S, Yabuta Y, Watanabe F. Broth from canned clams is suitable for use as an excellent source of free vitamin B₁₂. *J Agric Food Chem* 2011; 59(22): 12054-12058