HPLC에 의한 동물성 수산식품 중의 Vitamin D_3와 그 관련물질 정량에 관한 연구

김성진 · 김지수 · 조용계

동아대학교 식품영양학과

Quantification of Vitamin D_3 and Its Derivatives in Marine Animal Foods by HPLC

Kim, Seong-Jin · Kim, Ji-Soo · Joh, Yong-Goe

Dept. Food Science & Nutrition, Dong-A University, Pusan, Korea.

(Received July 22, 1993)

ABSTRACT

Contents of vitamin D_3 and 25-OH-vitamin D_3 in marine animal products(20 species) were determined by HPLC. The isomers of vitamin D, D_2 and D_3, were not clearly separated on a reversed phase, μ Bonda Pak, with 20% methanol-acetonitrile, and on a normal phase, Zorbax SIL, with 0.4% isopropanol-hexane, but 25-OH-vitamin D_2 and-D_3 were separated on either μ Bonda Pak with 10% methanol-acetonitrile, or on Zorbax SIL with 2.2% isopropanol-hexane, respectively. Although levels of vitamin D_3 and 25-OH-vitamin D_3 varied remarkably according to species, their average value(fish ; 1,187~36,007 I. U/sample 100g, mussel ; 58~1,706 I. U/sample 100g, pickle ; 1,208~79,358 I. U/sample 100g) was greatly higher than that of meat(80~100 I. U/sample 100g) and dairy products(400~800 I. U/sample 100g). Fatty tissues of fish and pickled fish intestines contained high level of vitamin D_3 and 25-OH-vitamin D_3, while the clam and mussel known to have various kinds of sterol including Δ^7-sterol showed very low levels of vitamin D_3 and its derivative.

Ⅰ. 서 론

Vitamin D에는 전구체적인 provitamin D의 측쇄 구조상의 차이로 현재 6가지의 이성체(D_2, D_3, D_4, D_5, D_6, D_7)[1]가 존재하며 이 중 식품이나 생물체조직에서 널리 찾아볼 수 있는 것이 vitamin D_2와 D_3라고 한다. Vitamin D_2, D_3는 자외선 조사[2,3]에 의하여 각각 ergosterol($\Delta^{5,7,12}$-C_{28} sterol), 7-dehydrocholesterol($\Delta^{5,7}$-C_{27} sterol)에서 생성되며, 이들은 생체내에서(적어도 포유동물내) 거의 비슷한 패턴으로 대사되어 비슷한 생리활성을 나타낸다고 한다.[4~7] 즉 체내 흡수된 vitamin D_2, D_3는 간으로 운반되어, 25-OH-vitamin D_2, D_3로 대사되며, 다시 콩팥으로 이행되어 1α, 25-OH-vitamin D_2, D_3 또는 24, 25-$(OH)_2$-vitamin D_2, D_3로 대사되며, 작은 창자에서 칼슘, 인

* 이 연구는 1991년도 한국과학재단 연구비지원(과제번호: KOSEF 911-1508-071-2)에 의한 결과의 일부임

산이온의 흡수를 촉진하여 이들을 뼈에 침착케 된다.

주거 건물의 고층화, 과중한 학과수업으로 인한 일광욕 부족, 공해물질로 인한 태양으로부터의 자외선 차단 등으로 도시청소년들의 피부에서 생성되는 vitamin D_3양이 시골청소년들에 비해서 매우 적을 것으로 여겨져, 도시청소년들의 체위향상을 위해서는 시판 식료품에 vitamin D를 강화시키거나, 아니면 vitamin D가 풍부한 식품을 선택해 줄 필요성이 절실히 요구된다. 7-dehydrocholesterol에서 전환된 vitamin D_3는 달걀, 우유를 위시한 유제품, 우육 또는 돈육 등의 육제품에는 매우 소량(20 I.U/g) 함유되어 있으나, 어육, 건어물, 젓갈을 위시한 동물성 수산식품에는[10] 500~2,000 I.U/g로 상당량 포함되어 있다고 한다. 저자[11]도 갈치 내장젓갈 숙성 중 cholesterol의 산화생성물을 검색하던 중 vitamin D_3가 많이 존재함을 확인하였으며, provitamin D에서 vitamin D에로의 생성을 촉진하는 UV광선의 직접적인 영향을 받지않는 간유에도 vitamin D_3가 많다고 한다. 이와 같이 동물성 수산식품에 vitamin D_3가 풍부하다는 사실은 매우 흥미로우나 그 축적기전에 관한 연구는 전혀 없다.

Vitamin D는 역가가 매우 높고(1 I.U=25ng), 식품 중에도 미량으로 존재하기 때문에, 그 정량법으로 마이크로법이 이용되고 있다. 즉, Nield시약[12]을 이용한 비색법과 GLC분석법[13, 14]이 널리 이용되고 있다. 그러나 전자는 전처리과정에서 vitamin A, E 및 sterol 제거가 힘들고, 발색감도에 문제가 있어 비색정량시 정확성을 기하기 어렵고, 후자도 역시 시료의 전처리가 복잡하고 GLC의 detector가 시료 중의 미량의 vitamin D를 감지할 수 없고, 분석 중 열에 의한 이성화가 일어남으로 정량법으로서의 많은 문제가 제기되고 있다.[15] 최근들어 micro particle 칼럼과 UV-detector를 장착한 HPLC가 우유, 유아식품, 의약품 중의 vitamin D와 그 대사산물 정량에 널리 이용되고 있는데,[15~18] 이는 전처리 과정이 단순하고 detector의 감도가 높아 종래의 여러 방법들로는 불가능한 극미량을 함유한 시료라도 분석이 가능하기 때문이다.

우리나라 식료품, 특히 수산식료품에서 vitamin D가 분석되어 함량이 표시된 식품은 소수에 지나지 않으며,[19] 그 정량법도 비색법이어서 그 분석 결과에 신뢰성이 높지 않을 것으로 생각된다. 또, 앞에서 언급한 바와 같이 vitamin D와 25-OH-vitamin D는 모두 생리활성체인 1α, 25-$(OH)_2$-vitamin D의 전구체라는 점과 간유에는 vitamin D_3의 양이 훨씬 많다라는 사실을 고려한다면 vitamin D만으로 그 식품의 vitamin D 함량으로 간주하는 것은 비합리적이다.

본 연구에서는 한국산 수산물 20종을 택하여 각 조직에 함유되어 있는 vitamin D_3와 그 metabolite인 25-OH-vitamin D_3를 HPLC로 정량하여 그 결과를 보고하고자 한다.

Ⅱ. 시료 및 실험방법

1. 시 료

모든 실험시료는 1991년 9월~1992년 12월 사이에 부산 자갈치 어시장에서 구입하였다. 갯장어(*Muraenesox cinereus*), 고등어(*Scomber japonicus*), 가물치(*Ophicephalus argus*)는 근육, 내장과 어피(魚皮)로, 오징어(*Omnastrephes bartrami*)는 근육과 간으로, 열기(*Salverinus fariopsis*)는 근육과 내장으로 각각 나누어 조사하였고, 멸치(*Engraulis japonicus*)와 미꾸라지(*Misgurnus mizolepis*)는 어체 그대로, 명태(*Theragra chalcogramma*)는 내장만 시료로 사용하였다. 패류로는 소라(*Turbo cornutus*), 고동(*Cipangopaludina japonica*), 전복(*Haliotis discus*), 피조개(*Andara broughtonii*), 진주담치(*Mytilus edulis*)와 굴(*Crassostrea gigas*)을 시료로 하였으며, 젓갈류로는 창란젓, 명란젓, 갈치(*Trichirus haumela*) 내장젓, 새우(*Penaeus orientalis*)젓과 멸치젓을 이용하였다. 또 미더덕(*Styela clava*)도 시료로 사용하였다.

2. 기 기

사용한 HPLC는 M 6000pump, U6K injector와 440UV detector가 장착된 Waters사 model이며, 분석조건은 Table 1과 같다.

3. 시 약

HPLC용 용매는 Merck제 HPLC-grade였으며, 기타용매는 동양화학사(서울) 제품으로 1창 증류하여 사용하였다. Vitamin D_2와 D_3의 표준품은 Fluka 제품이며, 25-OH-vitamin D_2와 D_3는 F.Hoffman-La Roche사에는 기증받아 사용하였다.

4. 조지질(粗脂質) 추출 및 불감화물 회수

Bligh & Dyer법[20]으로 조지질을 추출하여, 질소

기류하에서 용매를 제거한 후 90%KOH-ethanol 용액으로 80℃의 수욕상에서 가수분해하였다.[18] 이 가수분해물에 hexane : benzene(1 : 1) 혼합용액을 가하여 불감화물을 회수하였다.

5. Vitamin D_3와 25-OH-vitamin D_3의 분리 및 정량(Fig. 1, Table 1)

시료중의 vitamin D_3와 25-OH-vitamin D_3의 분리 및 정량은 Fig. 1에 나타낸 procedure에 따라 행하였다. 즉, 불감화물 일정량을 hexane : benzene(1 : 1) 용매에 녹여 50m*l*용 volumetric flask에 정용하여, vitamin D_3와 25-OH-vitamin D_3의 정량용 시료로 사용하였다. Vitamin D_3 정량시는 이 용액 일정량을 취하여 역상인 μBonda Pak C_{18}이 장착된 HPLC상에서 이동상인 20% methanol-acetonitrile 용매를 사용하여 1차 분획을 10~20회 반복하였다. 이 1차 분획의 용매를 제거한 후 0.4% isopropanol-hexane에 녹여 SEP-PAK silica cartridge에 통과하여 2차 분획을 얻었다. 이것을 1m*l*용 원추형 vial에 옮기고 질소기류하에서 용매를 완전히 제거한 후 일정량의 hexane을 가하여 녹여 여기서 1μl 취하여 Zorbax SIL column상에서 0.4% isopropanol-hexane의 이동상으로 분석하였다. 이때 사용한 UV-detector의 파장은 254nm였으며, 정량은 chromatogram 상의 vitamin D_3의 peak 높이를 측정하여 검량곡선상(Fig. 2)에서 해당량을 계산하여, Jackson[8]과 Sertl[9]의 방법에 따라 정량하였다. 한편 25-OH-vitamin D_3는 50m*l* volumetric flask에 정용한 불감화물 일정량을 취하여 μBonda Pak C_{18} column 상에서 10% methanol-acetonitrile 혼합액으로 1차 정제하고 용매제거 후 다시 순상인 Zorbax SIL 상에서 2.3% isopropanol-hexane 용매로 분석하였으며, 정량은 역시 chromatogram상의 peak의 높이를 측정하여 검량곡선(Fig. 2)과 비교하여 vitamin D_3와 같은 방법으로 정량하였다.

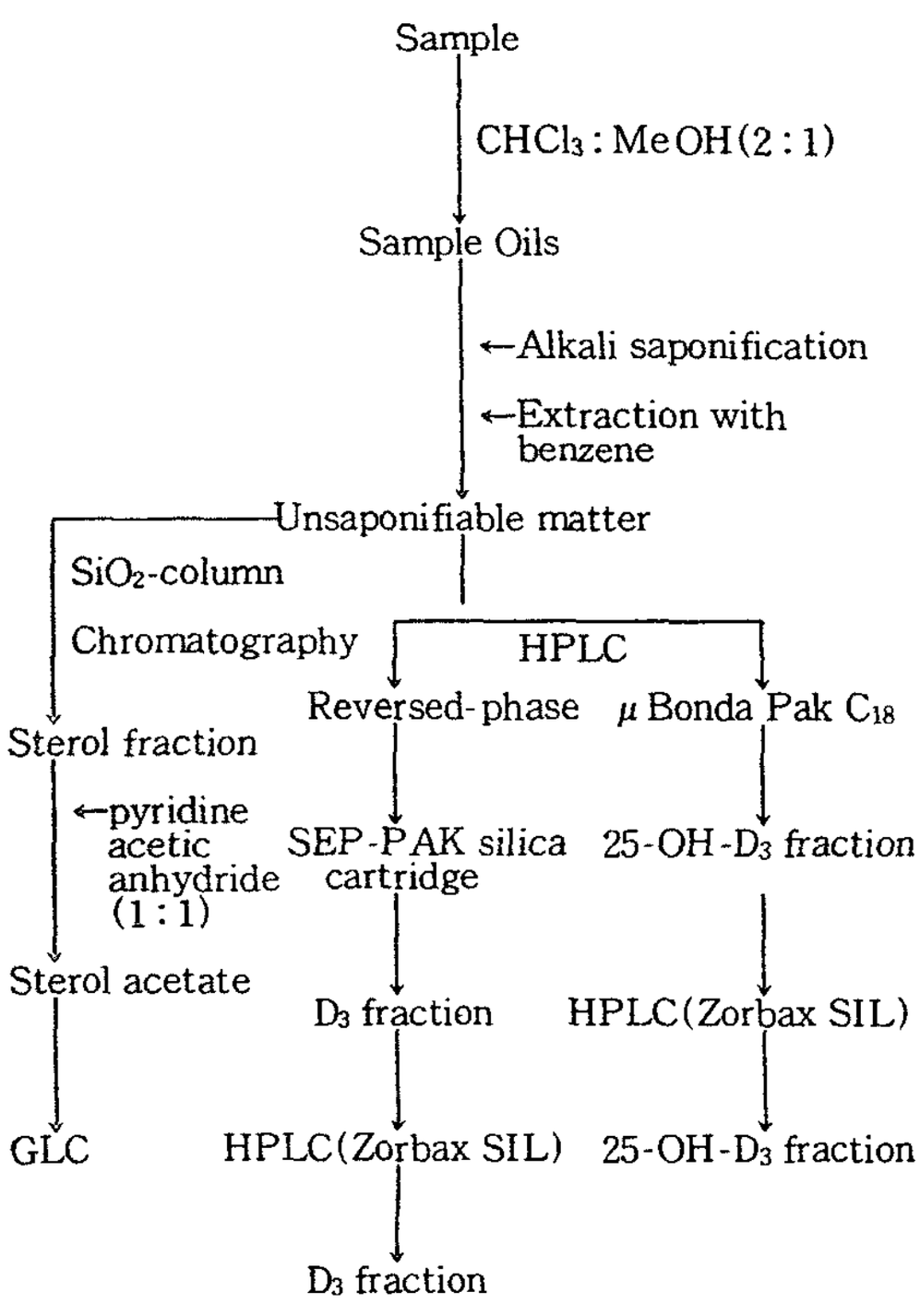

Fig. 1. Procedures for Purification of Sterol, Vitamin D_3 and Its Metabolite

Table 1. HPLC Conditons for Quantification Vitamin D_3 and 25-OH-Vitamin D_3 from Marine Products

Vitamin D_3 :	
	Column : reversed phase, μ Bonda Pak C_{18} (3.9×300mm, Waters, U.S.A)
Step 1	Mobile phase : 20% methanol in acetonitrile
	Flow rate : 2.0m*l*/min
	Detector : UV(at 254nm)
	Attenuation : 4×10^{-2}
	Column : normal phase, Zorbax SIL (4.6×250mm, Merck, Germany)
Step 2	Mobile phase : 0.4% isopropanol in hexane
	Flow rate : 0.1m*l*/min
	Detector : UV(at 254nm)
	Attenuation : 2×10^{-2}
25-OH-Vitamin D_3 :	
	Column : reversed phase, μ Bonda Pak C_{18} (3.9×300mm, Waters, U.S.A)
Step 1	Mobile phase : 10% methanol in acetonitrile
	Flow rate : 2.0m*l*/min
	Detector : UV(at 254nm)
	Attenuation : 1×10^{-2}
	Column : normal phase, Zorbax SIL (4.6×250mm, Merck, Germany)
Step 2	Mobile phase : 2.2% isopropanol in hexane
	Flow rate : 1.0m*l*/min
	Detector : UV(at 254nm)
	Attenuation : 1×10^{-2}

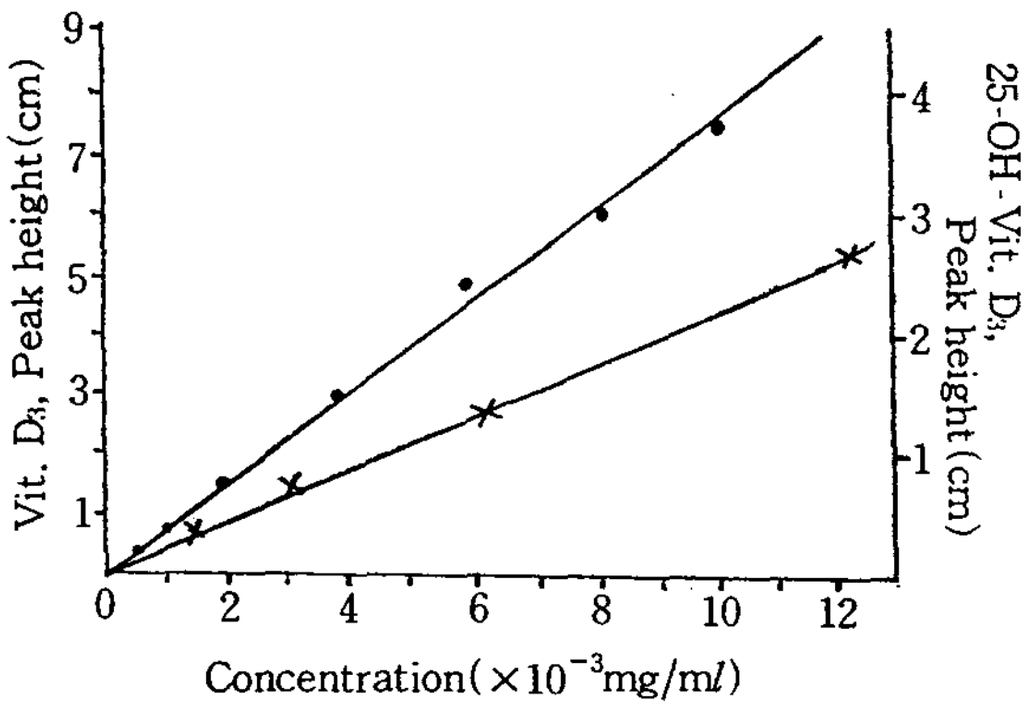

Fig. 2. Calibration Curve for Quantification of Vitamin D_3 and 25-OH-Vitamin D_3 by HPLC
Optical density was measured at 254nm, on the attenuation of 2×10^{-2} for vitamin D_3 and 1×10^{-2} for 25-OH-Vitamin D_3.
HPLC conditions are described in EXPERIMENTAL in more detail
●—● : vitamin D_3, ×−× : 25-OH-Vitamin D_3

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. HPLC에 의한 수산물 중의 Vitamin D_3와 25-OH-vitamin D_3 분리 및 정량

시료의 불감화물 일정량(1~10g)을 칭량하여 100 ml volumetric flask에 정용하여 여기서 1μl를 취하여 역상인 μBonda Pak C_{18}에 걸었더니 Fig. 3−A에서 보는 바와 같이, vitamin D_3는 retention time 11~12분 사이에 다른 UV흡수 물질과 함께 유출되었으며, 이 분획을 동일 column에서 rechromatography하였으나 clean peak를 얻을 수 없었으므로(data 생략), 이 분획을 소량의 0.4% isopropanol-hexane에 녹여 SEP-PAK silica cartridge에 통과 농축하여 Zorbax SIL로 분석하였더니 비교적 clean한 peak를 얻을 수 있었다(Fig. 3−A). 이때 사용한 SEP-PAK silica cartridge의 회수율을 표준 vitamin D_3의 농도(1~10μg/ml)의 범위에 조사하였더니 99.4%~99.6%였다. 표준품 vitamin D_2와 D_3는 본 실험에 사용한 2종의 HPLC column상에서 동일한 retention time을 가졌으므로 서로 구별이 어려웠다. 그러나 Jackson 등[8]은 역상인 Spherisorb S5 ODS2 column에서 methanol-H_2O(95 : 1, V/V) 용매로 vitamin D 혼합물에서 vitamin D_2를 상호분리할 수 있었다고 보고하였다.

Takeuchi 등[18]은 vitamin D 정제를 역상인 Nucleosil $5C_{18}$ column상에서 50% methanol-acetonitrile로 각각 분리할 수 있으나, Zorbax SIL column으로는 서로 구별할 수가 없었다고 하였다. Ergosterol은 효모. 버섯과 식물에 7-dehydrocholesterol은 동물자원에만 국한되어 있고,[23] 어유[18]와 수산 건제품 등[17]에는 vitamin D_3만 존재하고 vitamin D_2, D_4와 D_5 같은 것은 검출되지 않았다는 보고도 있어, 본 실험의 Zorbax SIL column상에 나타난 peak(Rt ;13.4min., Fig. 3−B)는 vitamin D_3만의 peak로 간주하였다.

표준품인 25-OH-vitamin D_3는 산소에 예민하므로, SEP-PAK silica cartridge상에서 정제시 회수율의 오차가 클 것으로 판단되어, 25-OH-vitamin D_3 정량시에는 μBonda Pak C_{18} column에서 얻어진 분획을 SEP-PAK column상에서 여과하지 않고 그대로 Zorbax SIL column으로 분석하였다. Fig. 4−C에서와 같이 25-OH-vitamin D_3의 retention time이 비교적 길어(43.6min.) 25-OH-vitamin D_2(Rt ; 32, 9)와 구별될 수 있다.

2. 수산물의 Vitamin D_3와 25-OH-vitamin D_3 Level

Table 2에서 보는 바와 같이 수산물의 vitamin D_3의 함량은 시료에 따라 엄청난 차이가 있으며, 조직에 따라 서로 현저히 상이하나 돼지육(80 I.U/100g), 돼지기름(84 I.U/100g), 돼지간(133 I.U/100g), 달걀(28 I.U/100g), 닭고기(80 I.U/100g)[25]이나 butter(400~800 I.U/100g)[26]와 같은 축산식품의 그것보다 일반적으로 높다. 명란젓에 시료 100중 약 80,000 I.U의 vitamin D_3가 제일 많이 함유되어 있었고, 또 갈치의 내장젓에도 26,404 I.U/100g이나 함유되어, 일본산 "Shiokara(가다랑어 내장젓갈)"[24]의 1,700 I.U/100g보다 약 16배 많았으며, 남부지방에서 널리 먹히고 있는 멸치 젓갈에는 1,208 I.U/100g정도로 발효식품이라도 어종에 따라 상당한 차이를 보이고 있다. 회유어(migrating fish)인 고등어의 경우는 피부, 근육과 내장에 따라 차이가 있으며, 내장의 11,609 I.U/100g의 치수는 oil 1g당 1,399 I.U로 환산되므로 일본산 참치간유의 16,200 I.U/g, oil의 수치보다 훨씬 적으나, 일본산 명태와 대구간유(38과 163 I.U/g, oil)[18]보다 훨씬 많았다.

갯장어의 vitamin D_3함량을 보면 근육(19,352 I.U/100g)과 내장(5,209 I.U/100g)의 지질 1g당 vita-

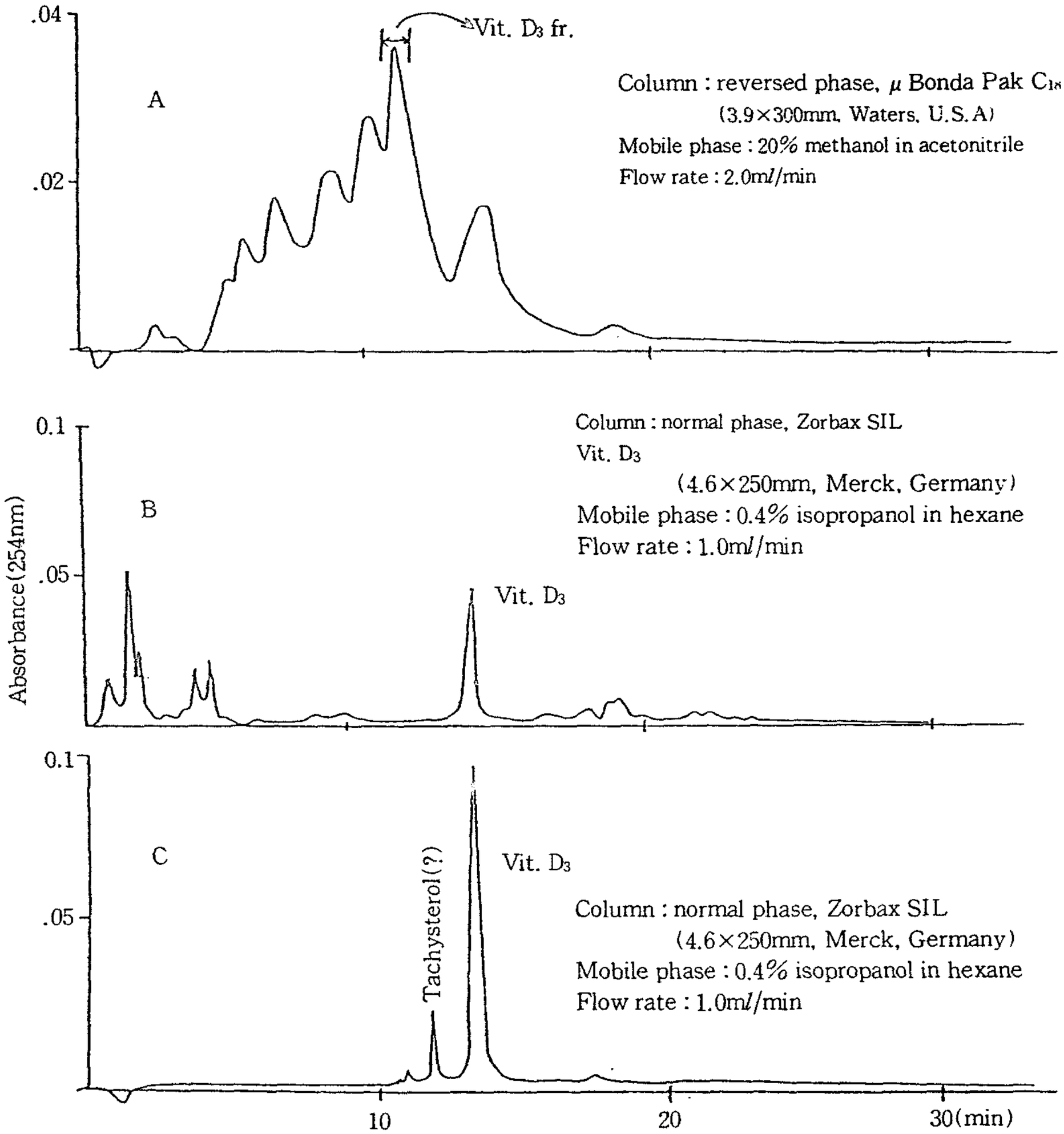

Fig. 3. HPLC Gram of Standard Vitamin D_3 and Vitamin D_3-rich fraction from Pickled Anchovy.
A : Chromatogram of anchovy pickled on μ Bonda Pak C_{18}
B : Chromatogram of anchovy pickled on Zorbax SIL
C : Standard vitamin D_3

min D_3의 함량이 1,961 I.U와 2,084 I.U로 비슷하나, 7-dehydrocholesterol이 3조직 중에서 제일 많이 존재하는 피부조직[22]에는 65 I.U/100g, oil로 제일 낮았다. Takeuchi[18] 등은 담수양식산 뱀장어 근육의 vitamin D_3 함량이 16~43 I.U/g, oil로 대단히 낮으며, 사료나 양식지역에 크게 영향을 받지 않는다고 하여 본 실험의 결과와 큰 대조를 이루고 있다. 뱀장어가 바다에서 강으로 올라감에 따라 체내 여러 성분의 변화가 일어나는데, 그 중 하나의 예로써 vitamin A의 변화를 보면 vitamin A_1의 함량이 줄어지고 vitamin A_2의 양이 증가하는데 이는 먹이 때문이라고 한다.[21] 이런 맥락에서 본다면 본 연구에 사용된 바다 뱀장어와 담수양식산 뱀장어와의 vitamin D_3 함량차이가 예상되나, 이 점에 관해서는 먹이사슬이란 측면과 생리학적 관점에서 좀 더 깊이 연구되어야 하겠다.

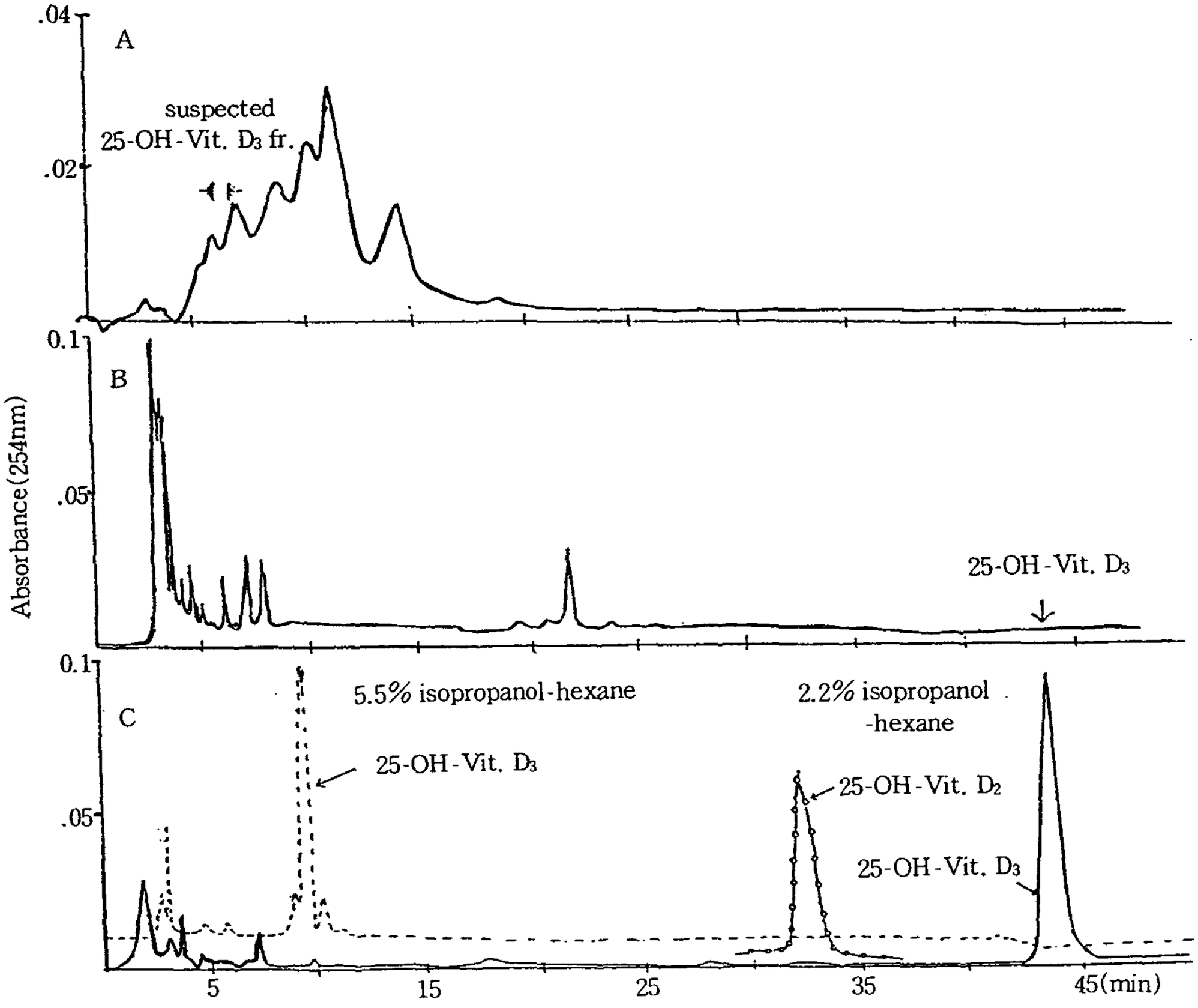

Fig. 4. HPLC Gram of Standard 25-OH-Vitamin D_3 and 25-OH-Vitamin D_2, and 25-OH-Vitamin D_3 Fraction Suspected from Anchovy Pickle

A : Chromatogram of anchovy pickled on μ Bonda Pak C_{18}

B : Chromatogram of suspected 25-OH-Vitamin D_3 fraction from μ Bonda Pak C_{18} on Zorbax SIL

C : Standard 25-OH-Vitamin D_3 and $-D_2$

———; 25-OH-Vitamin D_3 on 2.2% isopropanol-hexane

●—● ; 25-OH-Vitamin D_2 on 2.2% isopropanol-hexane

····· ; 25-OH-Vitamin D_3 on 5.5% isopropanol-hexane

Sterol 조성이 복잡한 2枚貝[22]에는 의외로 vitamin D_3 함량이 낮다. 피조개에 650 I.U/100g(=1,083/g, oil)로 제일 많이 함유되어 있고, 담치에는 1,135(=540/g, oil)였으며, 7-dehydrocholesterol이 총 sterol의 3.5%나 차지한 참굴에는 64 I.U/100g (=213 I.U/g, oil)로 제일 적었으며, 또 패류에는 25-OH-vitamin D_3가 전혀 검출되지 않았다. Vitamin D_3가 검출되지 않는 것은 homeostatis에 의하여 완전히 성숙된 개체에서 provitamin D로부터 vitamin D_3의 생합성이 억제된 때문이 아닌가 생각된다.[26]

25-OH-vitamin D_3는 아직 International Unit가 설정되어 있지 않아 μg/g 단위로 나타내었으며, 일반적으로 vitamin D_3의 level이 높은 시료일수록 그 함량이 높았다.

Ⅳ. 결 론

우리가 식용으로 갯장어, 고등어, 가물치, 열기, 멸치, 미꾸라지와 명태(처음 3시료는 근육, 내장, 표피로, 열기는 근육과 내장으로 나누어 실험에 사용하였

Table 2. Level of Vitamin D_3 and 25-OH-Vitamin D_3 in Marine Products

marine product	tissue*	oil content (%)	vitamin D_3 (I.U./100g, wet sample)	25-OH-Vitamin D_3 (μg/g, oil)
Muraenesox cinereus	M	10.4	19,352	1.2
	S	5.2	3,384	+***
	I	2.5	5,209	+
Scomber japonicus	M	14.8	21,137	1.0
	S	29.9	36,007	2.5
	I	8.3	11,609	0.8
Ophicephalus argus	M	0.8	469	ND**
	S	1.4	1,187	ND
	I	14.1	1,556	ND
Salverinus fariopsis	M	1.2	2,094	ND
	I	4.7	9,217	+
Theragra chalcogramma	I	14.9	9,927	+
Omnastrephes bartrami	M	0.1	834	ND
	I	6.2	14,959	3.7
Engraulis japonicus	W	5.7	4,794	+
Misgurnus mizolepsis	W	2.4	512	ND
Cipangopaludina japonica	M	0.7	1,267	ND
Turbo cornatus	M	0.5	1,706	ND
Haliotis discus	M	0.8	58	ND
Styela claya	M	0.8	289	ND
Mytilus edulis	M	2.1	1,135	ND
Crassostrea gigas	M	0.3	64	ND
Andara broughtonii	M	0.6	650	ND
Pickled marine products				
Penaeus orientalis	(W)	0.6	3,488	+
T. haumela	(I)	12.0	26,404	1.9
T. chalcogramma	(I)	2.0	2,448	ND
T. chalcogramma	(E)	2.4	79,358	4.5
E. japonicus	(W)	1.8	1,208	ND

* : M:muscle, S:skin, I:intestine, W:whole body, E:egg

** : not detected

*** : detectable but not quantitatively measured

고, 멸치와 미꾸라지는 어체 그대로, 명태는 내장만 사용하였다.)를, 패류로는 소라, 고동, 전복, 피조개, 진주담치와 굴을, 젓갈류로는 창란젓, 명란젓, 갈치 내장젓, 새우젓과 멸치젓을 시료로 하여 vitamin D_3와 그 관련 물질(25-OH-vitamin D_3)의 함량을 HPLC로 정량하였으며, 이 때 체절동물인 미더덕도 함께 분석하였다. 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 역상 컬럼인 μBonda Pak C_{18}과 순상 컬럼인 Zorbax SIL상에서 20% methanol-acetonitrile과 0.4% isopropanol-hexane의 용매로는 vitamin D_3와 D_2는 상호 구별할 수 없었으나, 10% methanol-acetonitrile과 2.2% isopropanol-hexane 용매로 위에 언급한 양(兩)컬럼 상에서 25-OH-vitamin D_3와 25-OH-vitamin D_2를 쉽게 상호 분리할 수 있었다.

2. Vitamin D_3함량은 시료에 따라 매우 상이하나, 어류의 vitamin D_3함량이 미꾸라지(512 I.U./시료 100g)와 가물치 근육(834 I.U./시료 100g)을 제외한 어류에는 1,187~36,007 I.U./시료 100g로 패류의 그것(58-1, 706 I.U./시료 100g)로 평균적으로 높았으며, 젓갈류에는 그 함량이 1,208~79,358 I.U./시료 100g으로 어류의 그것보다 높았으며, 명란젓의 경우는 79,385 I.U./시료 100g으로 전체 조사한 시료 중 제일 높았다. 또 오징어 간유에도 vitamin D_3가 14,959 I.U./시료 100g나 포함되어 있었다. 이런 결과는 돈육(80 I.U./시료 100g), 닭고기(80 I.U./시료 100g), butter(400~800 I.U./시료 100g) 등의 축산물보다 훨씬 높았다.

3. 25-OH-vitamine D_3도 시료 간에 차이가 심하여, 명란젓과 갈치 내장젓에 각각 4.5, 1.9 μg/g, oil 함유되어 있었으며, 오징어 간유에도 3.7 μg/g, oil 포함되어 있었다. 또 갯장어 근육에 1.2 μg/g, oil, 고등어 근육, 표피 그리고 내장에 각각 1.0, 2.5, 0.8 μg/g, oil 함유되어 있었으나 패류나 미더덕에는 전연 검출되지 않았다.

감사의 말

본 연구는 1991~1993년도 한국과학재단 학술연구비로 이루어졌음을 밝히며 또 25-OH-vitamin D_2와 D_3를 기증하여 주신 F.Hoffman-La Roche사 및 한국비타민정보센타 여러분께 감사의 뜻을 전하는 바입니다.

문 헌

1. Inagaki, N.:In *Food Chemistry*(2nd ed., ed. by Fujimaki, M.) Asakura Shoten, Tokyo, p.85 (1985)(in Japanese).
2. Friedrich, W.:*Vitamins,* Walter de Gruyter, New York, p. 143(1988).
3. Kobayashi, T. and Yasumura, M.:*J. Nutr. Sci. Vitaminol.,* **19,** 123(1973).
4. Norman, A. W., Leathers, V. and Bishop, J. E.:*J. Nutr.,* **113,** 2505(1983).
5. Ringe, J. D.:*Deutsche Med. Wochenschri.,* **107,** 1483(1982).
6. Koshy, K. T.:*J. Pharm. Sci.,* **71,** 173(1982).
7. Parfitt, A. M., Mattews, C. H. E., Brommage, R., Jarnagin, K. and Teitelbaum, S. L.:*J. Clin. Invest.,* **73,** 576(1984).
8. Jackson, P. A., Shelton, C. J. and Frier, P. J. :*Analyst,* **107,** 1363(1982).
9. Sertl, D. C. and Molitor, B. E.:*J. Assoc. Offic. Anal. Chem.,* **68,** 177(1985).
10. Takeuchi, A., Okano. T., Teraoka, S., Murakami, Y. and Kobayashi, T.:*J. Nutr. Sci. Vitaminol.,* **30,** 11(1984).
11. 조용계 : "어류내장의 이용에 관한 연구" 한국영양식량학회 투고 중
12. Nield, C. H., Russell, W. C. and Zimmerli, A. :*J. Biol. Chem.,* **136,** 73(1940).
13. Kobayashi, T. and Adachi, A.:*J. Nutr. Sci. Vitaminol.,* **22,** 41(1976).
14. Ziffer, H., Vanden Heuvel, W. J. A., Haahti, E. O. A. and Horning, E. C.:*J. Am. Chem. Soc.,* **82.** 6411(1960)
15. Tsukida, K. and Saiki, K.:*J. Vitaminol.,* **18,** 165(1972).
16. Fong, G. W. K., Johnson, R. N. and Koh, B. T:*J. Assoc. Offic. Anal. Chem.,* **66,** 939(1983)
17. Stancher, B. and Zonta, F.:*J. Chromatogr.,* **256,** 93(1983).
18. Takeuchi, A., Okano. T., Ayame, M., Yoshikawa, H., Teraoka, S., Murakami, Y. and Kobayashi, T.:*J. Nutr. Sci. Vitaminol.,* **30,** 421 (1984).
19. 한국인구보건연구원 편 : 제4차 개정 한국인 영양권장량(제18판), 고문사, 서울, p. 29(1985).
20. Bligh, E. G. and Dyer, W. J.:*Can. J. Biochem. Physiol.,* **37,** 911(1959).
21. Jacguot, R.:In *Fish as Food,* Vol. 1(ed. by Borgstrom, G.) Academic Press, New York, pp. 178~183(1961)
22. 김성진, 조용계 : 한국유화학회지, 10(1993).
23. Zapsalis, C. and Beck, R. A.:In *Food Chemystry and Nutrional Biochemistry,* John Wiley & Sons, New York, p. 270(1985).
24. Resources Council, Science and Techonlogy Agency of Japan : In *The Standard Table of Food Composition in Japan,* the 3rd revised edition, Tokyo, p. 216(1963).
25. Holmes, R. P. and Kummerow, F. A:*J. Amer. Coll. Nutrition,* **2,** 173(1983).
26. Norman, A. W.:In *Vitamin D, The Calcium Homeostatic Steroid Hormone,* Academic Press, New York, p. 49(1979).