

연어과에 속하는 열목어와 산천어의 Carotenoid 색소성분의 비교

백승한 · 하봉석
경상대학교 식품영양학과

Comparison of Carotenoid Pigments on Manchurian Trout, *Brachymystax lenok* and Masu Salmon, *Oncorhynchus macrostomus* in the Family Salmonidae

Sung-Han BAEK and Bong-Seuk HA

Dept. of Food and Nutrition, Gyeongsang National University, Jinju 660-701, Korea

Carotenoids in integument of wild manchurian trout, *Brachymystax lenok*, and wild and cultured masu salmon, *Oncorhynchus macrostomus*, which are all the Korean native cold fresh water fish, were investigated by thin layer chromatography, column chromatography and HPLC. The total carotenoid contents of the wild manchurian trout were 3.72 mg% which is relatively higher compare to other species of salmonidae. The carotenoids were composed of 36.9% zeaxanthin and 14.7% β -carotene as the major compounds, 7.8% triol, 7.3% isocryptoxanthin, 5.7% 4-hydroxy echinenone, 4.7% lutein, 4.5% salmoxanthin and 2.2% astaxanthin as minor compounds, and other carotenoids such as canthaxanthin, tunaxanthin A, tunaxanthin B, tunaxanthin C, β -cryptoxanthin and α -cryptoxanthin as minute carotenoids. Wild masu salmon contained more total carotenoids than cultured one and the contents were 0.82 mg% and 0.66 mg%, respectively. The composition of the carotenoids from wild masu salmon were 20.7% zeaxanthin, 17.0% isocryptoxanthin and 15.8% β -carotene as major compounds, and 6.2% triol, 6.1% 4-hydroxy echinenone, 6.1% salmoxanthin, 5.9% canthaxanthin, 5.8% lutein, 4.9% α -cryptoxanthin and 1.0% astaxanthin as minor compounds. The composition of the carotenoids from cultured masu salmon were 19.7% isocryptoxanthin, 18.0% β -carotene and 10.3% zeaxanthin as the major compounds, and 8.9% β -cryptoxanthin, 8.5% α -cryptoxanthin, 8.0% lutein, 7.6% canthaxanthin, 5.1% triol and 2.0% astaxanthin as minor carotenoids. Based on these data, wild masu salmon contained more zeaxanthin, salmoxanthin and 4-hydroxy echinenone while cultured masu salmon contained more α -cryptoxanthin, indicating that carotenoid pigment of masu salmon depends on their living conditions. Unlike wild masu salmon, 4-hydroxy echinenone and salmoxanthin which are the characteristic carotenoids of salmon, were not found in the integument of cultured masu salmon. Unlike manchurian trout, both wild and cultured masu salmon did not contain tunaxanthin A, tunaxanthin B and tunaxanthin C.

Key words: manchurian trout, masu salmon, 4-hydroxy echinenone, salmoxanthin, tunaxanthin A, tunaxanthin B, tunaxanthin C

서 론

어류의 carotenoids에 관한 연구를 보면, 잉어과 (Matsuno et al., 1975; Matsuno and Katsuyama, 1976a; Matsuno and Katsuyama, 1981; Matsuno et al., 1979), 상날치과 와 큰가시고기과 (Matsuno and Katsuyama, 1976b), 청어과 (Matsuno and Katsuyama, 1976c), 독중개과 (Matsuno and Katsuyama, 1975), 망둑어과 (Matsuno et al., 1973) 및 농어과 (Matsuno et al., 1976b; Matsuno et al., 1976a; Hirao et al., 1963) 등에 속하는 어류는 동일한 과에 속하는 어류의 carotenoids 조성이 서로 유사하다. 그러나, 연어과 (Matsuno et al., 1980d; Matsuno et al., 1980c)의 연어, *Oncorhynchus keta*, 은송어, *Oncorhynchus kisutch* 및 각시송어, *Oncorhynchus nerka*의 표피에는 zeaxanthin, salmoxanthin이 주성분이고, 그 외 violaxanthin,

antheraxanthin 및 diadinoxanthin등이 존재하며, 같은 연어과 (Matsuno et al., 1980b)의 홍송어, *Salvelinus leucomaenis* 열기, *Salvelinus rhodurus*, 송어, *Oncorhynchus masou*, 산천어, *Oncorhynchus masou macrostomus* 및 무지개 송어, *Salmo gairdnerii irideus*의 표피에는 zeaxanthin, lutein이 주성분이며, 그 외 canthaxanthin, diatoxanthin 및 cryptoxanthin등이 존재한다고 하여 연어과에 속하는 어류의 carotenoids는 동일한 연어과이면서도 carotenoids 조성이 다소 상이한 것으로 보고되고 있다. 그리고 멸치과 (Matsuno and Katsuyama, 1976c)와 바다빙어과 (Matsuno et al., 1976c)에는 해산어류 특유의 tunaxanthin이 존재하지 않는다고 하여 서식환경 뿐만 아니라 종의 차이에 의해서도 carotenoid 조성이 다를 수 있는 것으로 보고되고 있다. 이와 같이 담수산 및 해산어류의 carotenoids에 관한 연구는 비교적 많으나, 냉수성 담수어류로

서 강원도 일부지방에 한정 분포하는 연어과의 열목어 및 산천어의 carotenoids 색소성분에 관한 연구는 찾아 볼 수 없었다. 특히 열목어는 경상북도 봉화군 석포면 대현리에 열목어 분포의 남방 한계선이 있으며, 이 지역을 천연기념물 지역으로 정하여 개체의 감소 및 무분별한 포획을 제재하고 있으며, 한편, 산천어는 송어의 육붕종으로 강에 남아 성숙한 종 (최, 1993; 김, 1974)이라고 알려져 있다. 본 실험에서는 비교 생화학적 연구의 일환으로 다른 연어과 어류와의 상이점을 알기 위하여 우리나라 특산의 담수어류인 같은 연어과의 천연산 열목어, 천연산 및 양식산 산천어의 표피 carotenoids의 조성을 비교, 검토하였으므로 그 결과를 보고한다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 천연산 열목어, Manchurian trout, *Brachymystax lenek*는 평균체장 24 cm, 평균체중 138 g의 것을 1995년 8월 및 11월에 강원도 양양군 서면 공수전리 용석골에서 포획하였으며, 산천어, Masu salmon, *Oncorhynchus macrostomus*는 평균체장 22 cm, 평균체중 145 g의 천연산을 1996년 5월에 강원도 양양군 현북면 범수치리 남대천 상류에서 포획하였고, 평균체장 18.5 cm, 평균체중 51.8 g의 양식산을 경남 밀양시 산의면 금천리의 경남 내수면 개발 시험장에서 구입하여 각각 냉동상태로 실험실로 운반한 후, 표피와 지느러미를 취하여 분석용 시료로 사용하였다.

Carotenoids의 분석

총 carotenoids의 추출

carotenoids의 추출 (Ha et al., 1989)은 천연산 열목어의 표피와 지느러미 (93.2 g), 천연산 산천어의 표피와 지느러미 (64.8 g) 및 양식산 산천어의 표피와 지느러미 (35.2 g)만을 취하여 실온에서 acetone으로 3회 이상 추출하여 합한 추출액을 petroleum ether (p.e)와 다량의 물로써 분리 조작하여 carotenoids를 p.e층으로 전용시킨 후, p.e층을 무수 Na₂SO₄로서 탈수 시키고 40°C이하의 N₂ 기류 하에서 감압 증류한 것을 60% KOH/MeOH 용액으로 검화하여 얻은 불검화물을 총 carotenoids로 하였다.

Carotenoids의 분리 및 정제

전보 (Ha et al., 1993)에서와 같이 실시 하였다. 즉, preparative-thin layer chromatography (p-TLC)는 silica-gel 60G (MERCK)와 증류수 (1 : 2)로 혼합한 것으로 만든 plate로 총 carotenoids를 acetone : p.e (30 : 70)의 전

개 용매로서 분리하였다. 한편, 검화한 총 carotenoids를 MgO : celite 545 (1 : 1)를 흡착제로 하고, p.e.→acetone →MeOH의 순으로 점차적으로 극성을 증가시키면서 column chromatography로 분리하여 TLC의 pattern과 비교하였다.

Carotenoids의 동정 및 정량

분리, 정제된 각 획분의 carotenoids는 표품과의 가시부 흡수 spectrum의 비교, IR spectrum의 측정, 각 획분에서 얻어진 carotenoid와 표품과의 co-TLC, co-HPLC, I₂에 의한 이성화 반응 (Matsuno et al., 1980b), NaBH₄에 의한 환원반응 (Matsuno and Matsutaka, 1981), acetyl-OH 활성시험 (Maoka et al., 1985) 및 epoxide test (Matsuno and Matsutaka, 1981) 등에 의하여 동정하였다. 그리고 분리된 각 carotenoid 획분의 이성체의 분리 및 단일 성분임을 확인하기 위하여 검화한 총 carotenoid를 HPLC로 분리 동정하였으며, 분석 조건 (Ando and Hatano, 1987)은 Table 1과 같다. 한편, 가시부 흡수 spectrum은 Gilford Response uv-visible spectrophotometer, IR spectrum은 KBr층에서 HITACHI 270-50 spectrophotometer를 사용하여 각각 분석하였다. 그리고 총 carotenoid의 함량과 분리된 각 획분의 조성비는 p.e층에서의 가시부 흡수 spectrum의 흡수 극대치의 흡광도에 의하여 McBeth (1972)의 방법에 따라 흡광계수 E_{1cm}^{1%} = 2400으로하여 다음 식에 의하여 계산하였다.

$$\text{총 carotenoids (mg\%)} = \frac{\text{O.D. } (\lambda \text{ max}) \times \text{Vol} \times 1000}{E_{1\text{cm}}^{1\%}(2400) \times \text{weight of tissue (g)}}$$

$$\text{percentage (\%)} = \frac{\text{vol} \times \text{O.D. } (\lambda \text{ max}) (\text{each fraction}) \times 100}{\sum [\text{vol} \times \text{O.D. } (\lambda \text{ max}) (\text{each fraction})]}$$

Table 1. Condition for HPLC analysis of carotenoids in the integument of manchurian trout and masu salmon

Items	Conditions
Instrument	Water Rheodyne injector
	Water M510 HPLC solvent delivery system
	Water M486 tunable absorbance detector (470 nm)
	HP 3395 integrator
Column	Sumichiral OA-2000 (4 mm i.d × 250 mm)
Mobile phase	Hexane : Dichloromethane : Ethanol (50 : 20 : 0.5)
Flow rate	1.0 ml/min
Chart speed	0.5 cm/min

결과 및 고찰

어류의 표피 carotenoids의 동정

천연산 열목어와 천연산 및 양식산 산천어의 표피로부터 추출한 총 carotenoids를 p-TLC한 결과, Fig. 1에서와 같이, 검화전에는 모두 단일 band로 나타나 ester type으로 존재함을 알 수 있었다. 그러나 검화후 천연산 열목어에서는 p-TLC에서 6개의 band로 분리되었으나 이 중에서 아래의 2개의 band는 분리형태로 보아 혼합물임을 추정할 수 있었다. 이들 band를 더욱 분리, 정제하기 위하여 검화한 총 carotenoids를 column chromatography를 행한 결과, 혼합물로 추정되었던 아래의 2개의 band는 각각 분리되어 이동상 용매의 극성이 증가됨에 따라 Fig. 2에서와 같이 모두 1~11의 fraction (Fr.)으로 분리되었고, Fig. 4에서와 같이 HPLC로 분석한 결과, cryptoxanthin 획분은 2개의 peak로, tunaxanthin 획분은 3개의 peak로 각각 분리되었다. 한편, 천연산 및 양식산 산천어에서도 p-TLC에서 6개의 band로 분리되었으나, 이 중에서 아래의 2개의 band는 분리형태로 보아 혼합물임을 추정할 수 있었다. 이들 band를 더욱 분리, 정제하기 위하여 검화한 총 carotenoid를 column chromatography를 행한 결과, 혼합물로 추정되었던 아래의 2개의 band가 각각 분리되어 Fig. 3에서와 같이 모두 1~10의 Fr.으로 분리되었고, Fig. 4에서와 같이 HPLC로 분석한 결과 cryp-

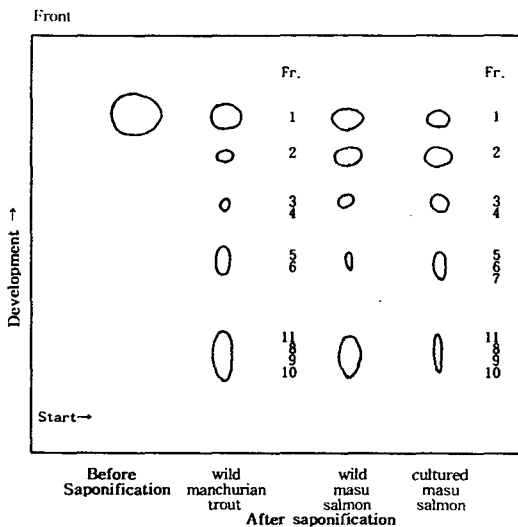


Fig. 1. Preparative thin-layer chromatogram of carotenoids in the integument of manchurian trout and masu salmon.
Absorbent : Silicagel 60G
Developer : Petroleum ether : Acetone (70 : 30)

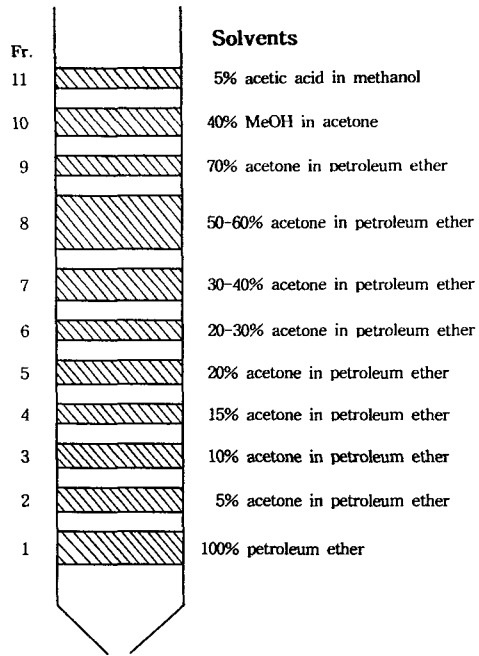


Fig. 2. Column chromatography of saponified carotenoids in the integument of manchurian trout on MgO/celite 545 (1 : 1).

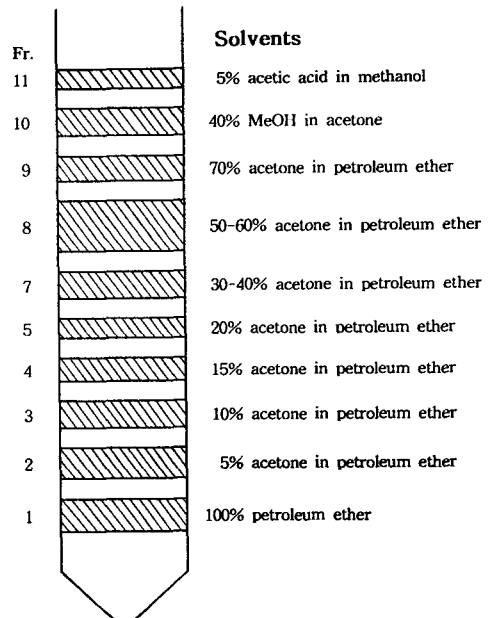


Fig. 3. Column chromatography of saponified carotenoids in the integument of masu salmon on MgO/celite 545 (1 : 1).

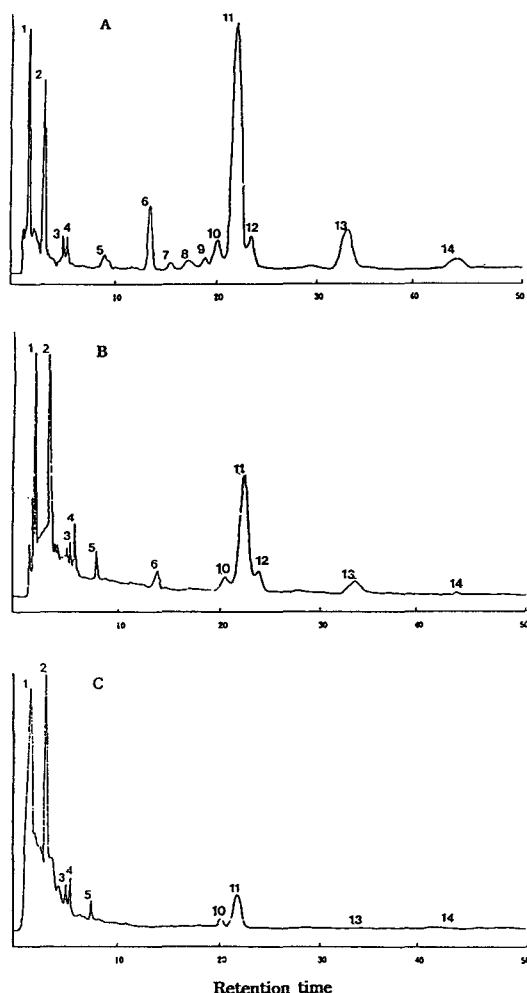


Fig. 4. HPLC chromatogram of carotenoids in the integument from the manchurian trout and masu salmon.

1 : β -carotene 2 : isocryptoxanthin 3 : α -cryptoxanthin 4 : β -cryptoxanthin 5 : canthaxanthin 6 : 4-hydroxy echinenone 7 : tunaxanthin A 8 : tunaxanthin B 9 : tunaxanthin C 10 : lutein 11 : zeaxanthin 12 : salmoxanthin 13 : triol 14 : astaxanthin

A : wild manchurian trout B : wild masu salmon C : cultured masu salmon

toxanthin 획득이 2개의 peak로 분리되었다. 그리고 분리, 정제한 각 Fr.에 대한 p.e, ethanol, chloroform 및 benzene에 있어서의 가시부 흡수 spectrum의 흡수극대치는 Table 2에 표시하였으며, 이와같이 분리정제한 각 Fr.을 동정한 결과, 다음과 같은 carotenoid로 확인되었다.

β -carotene ; 100% p.e로 용출된 Fr.으로서, 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, 흡수극대치가 448, 475.5 nm (in p.e)로 나타나 표품의 β -carotene (F. Hoffman-

La Roche 사제)과 일치하였으며, 표품과 co-TLC 및 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져 β -carotene으로 동정하였다.

isocryptoxanthin ; 5% acetone/p.e로 용출된 Fr.으로서, 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, 흡수극대치가 447.5, 476 nm (in p.e)로 나타나 β -carotene type의 흡수 spectrum을 나타냈으며, Matsuno et al. (1980c)에 의해 연어과 어류에 존재함이 밝혀졌고, 표품 echinenone (F. Hoffman-La Roche 사제)의 NaBH_4 에 의한 환원 반응 생성물이 같은 isocryptoxanthin의 흡수 극대치를 나타내어 isocryptoxanthin으로 동정하였다.

cryptoxanthin ; 10% acetone/p.e로 용출된 Fr.으로서, 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, 흡수극대치가 447.5, 476 nm (in p.e)로 나타나 β -carotene type의 흡수 spectrum을 나타냈으며, IR spectrum의 측정 결과, Vmax 3450 cm^{-1} (OH)의 흡수대가 나타났고, 한편, 열목어 및 산천어 표피의 검화한 총 carotenoids를 Fig. 4에서처럼 HPLC에 의한 분리를 행한 결과, cryptoxanthin 획득이 2개의 peak로 나누어졌으며, 이들 분리된 peak중에서 peak 3은 옥수수로부터 얻은 표품 (Lee et al., 1981)의 α -cryptoxanthin과 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져 α -cryptoxanthin으로 동정하였고, peak 4는 소철열매로부터 얻은 표품 (山口, 1954)의 β -cryptoxanthin과 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져 β -cryptoxanthin으로 각각 동정하였다.

canthaxanthin ; 15% acetone/p.e로 용출된 Fr.으로서, 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, 흡수극대치가 459 nm (in p.e)의 keto carotenoid 특유의 single band로 나타났고, NaBH_4 에 의한 환원 반응 결과, 449, 476 nm의 β -carotene type의 흡수 spectrum을 나타냈으며, IR spectrum의 측정 결과, Vmax 1620 cm^{-1} (C=O)의 흡수대가 나타났으며, 표품 canthaxanthin (F. Hoffman-La Roche 사제)과 co-TLC 및 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져 canthaxanthin으로 동정하였다.

4-hydroxy-echinenone ; 20% acetone/p.e로 용출된 Fr.으로서, 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, 흡수극대치가 453.5 nm (in p.e)의 keto carotenoid 특유의 single band로 나타났고, NaBH_4 에 의한 환원 반응 결과, 447, 475.5 nm의 β -carotene type의 흡수 spectrum을 나타냈으며, 한편 Matsuno et al. (1980d)에 의해 연어과의 어류에 존재함이 밝혀졌고, IR spectrum의 측정 결과, Vmax 3300 cm^{-1} (OH), Vmax 1600 cm^{-1} (C=O)의 흡수대가 나타났으므로 4-hydroxy-echinenone으로 동정하였다.

tunaxanthin ; 20~30% acetone/p.e로 용출된 Fr.으로

Table 2. Absorption maxima of the isolated carotenoid in the integuments of manchurian trout and masu salmon

Fractions ¹	Absorption maxima (nm)								Identification
	in Petroleum ether		in Ethanol		in Chloroform		in Benzene		
1	448	475.5	448	476	462.5	490	462	487.5	β -carotene
2	447.5	476	446	473	458	488	461	488	Isocryptoxanthin
3	447.5	476	448	476	459	489.5	460.5	487	Cryptoxanthin ²
4	459		470		479		473		Canthaxanthin
5	453.5		455		466		465.5		4-hydroxy echinenone
6	415	437.5 467.5	416	438 467.5	422	449.5 478	424.5	450.5 479	Tunaxanthin ³
7	420	442 470.5	416	441.5 469	428	455.5 484	430	456 484.5	Lutein
8		447 474		447 474.5		459.5 486		459 487	Zeaxanthin
9	419.5	441 470	419	441.5 471		456 484.5		457 484.5	Salmoxanthin
10		445 468		444 468		458 484		460 486	Triol
11		468		476		487.5		480	Astaxanthin

¹The fraction were isolated by column chromatography

² α -and β -cryptoxanthin

³Tunaxanthin A, B and C

서, 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, 흡수극대치가 415, 437.5 467.5 nm (in p.e)로 나타났으며, IR spectrum의 측정 결과, V_{max} 3500 cm^{-1} (OH)의 흡수대가 나타났으며, 한편, 열목어 표피의 검화된 총 carotenoid를 Fig. 4에서처럼 HPLC에 의한 분리를 행한 결과, tunaxanthin 확분이 3개의 peak로 나누어졌으며, 방어 (Ha et al., 1992)로부터 얻은 표품의 tunaxanthin과 비교하여, peak 7은 tunaxanthin A, peak 8은 tunaxanthin B 그리고 peak 9는 tunaxanthin C로 각각 동정하였다.

lutein ; 30~40% acetone/p.e로 용출된 Fr.으로서, 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, 흡수극대치가 420, 442, 470.5 nm (in p.e)의 α -carotene type의 흡수 극대치를 나타냈으며, IR spectrum의 측정 결과, V_{max} 3450 cm^{-1} (OH)의 흡수대가 나타났고, 표품의 lutein (F. Hoffman-La Roche 사제)과 co-TLC 및 co-HPLC한 결과, 단일대가 얻어져 lutein으로 동정하였다.

zeaxanthin ; 50~60% acetone/p.e로 용출된 Fr.으로서, 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, 흡수극대치가 447, 474 nm (in p.e)의 β -carotene type의 흡수 극대치를 나타냈으며, IR spectrum의 측정 결과, V_{max} 3450 cm^{-1} (OH)의 흡수대가 나타났으며, 표품의 zeaxanthin (F. Hoffman-La Roche 사제)과 co-TLC 및 co-HPLC한 결과, 단일대가 얻어져 zeaxanthin으로 동정하였다.

salmoxanthin ; 70% acetone/p.e로 용출된 Fr.으로서, 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, 흡수극대치가 419.5, 441, 470 nm (in p.e)로 나타났으며, epoxide test 결과 양성으로 나타났으며, HCl을 가한후 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, 흡수극대치가 20 nm 단파장쪽으로 이동되

어 연어과에 특이적으로 존재하는 salmoxanthin과 일치하여 salmoxanthin (Matsuno et al., 1980c)으로 동정하였다.

triol ; 40% MeOH/acetone에 용출된 Fr.으로서, 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, 흡수극대치가 445, 468 nm (in p.e)의 β -carotene type의 흡수 spectrum을 나타냈으며, IR spectrum의 결과, V_{max} 3300 cm^{-1} (OH)의 흡수대가 나타났고, acetyl-OH반응에서 3개의 OH기를 확인하였다. 그리고 금붕어 (Matsuno and Matsutaka, 1981)에서 얻은 표품의 triol와 co-TLC한 결과 단일대가 얻어져 triol로 동정하였다.

astaxanthin ; 5% acetic acid/MeOH로 용출된 Fr.으로서, 가시부 흡수 spectrum의 측정 결과, 흡수극대치가 468 nm (in p.e)의 keto carotenoid 특유의 single band를 나타냈으며, $NaBH_4$ 에 의한 환원 반응 결과, 448, 474 nm로서 β -carotene type의 흡수 극대치를 나타냈다. 그리고 IR spectrum의 측정 결과, V_{max} 3350 cm^{-1} (OH), V_{max} 1600 cm^{-1} (C=O)의 흡수대가 나타났으며, 표품 astaxanthin (F. Hoffman-La Roche 사제)과 co-TLC 및 co-HPLC한 결과 단일대가 얻어져 astaxanthin으로 동정하였다.

열목어의 표피 carotenoid의 조성

천연산 열목어의 표피로부터 추출한 총 carotenoids의 조성을 알기 위하여 HPLC로 분리하여 Fig. 4에서처럼 14개의 확분을 얻었으며, 총 carotenoids의 함량과 분리, 동정된 carotenoids의 조성비는 Table 3과 같다. 총 carotenoids의 함량은 3.72 mg%로서 연어과 (Matsuno et al., 1980b)의 연어, *Oncorhynchus keta*의 표피 0.90 mg%, 琵琶

Table 3. Amounts and percentage composition of individual carotenoid in the integuments of manchurian trout (% in total carotenoids)

Composition	Total carotenoids	Wild
	3.72 mg%	
β -carotene		14.7
Isocryptoxanthin		7.3
α -cryptoxanthin		2.2
β -cryptoxanthin		2.6
Canthaxanthin		2.6
4-hydroxy echinenone		5.7
Tunaxanthin A		1.3
Tunaxanthin B		1.9
Tunaxanthin C		1.9
Lutein		4.7
Zeaxanthin		36.9
Salmoxanthin		4.5
Triol		7.8
Astaxanthin		3.2
Unidentified carotenoid		2.6

琵琶송어, *Oncorhynchus rhodurus* JORDAN et McGREGOR의 표피 0.50 mg% 및 홍연어, *Oncorhynchus nerka*의 표피 1.7 mg%보다 현저히 높은 함량을 보였고, 잉어과 (Kweon and Ha, 1996)의 납지리, *Paracheilognathus rhombea*의 표피 1.1~2.3 mg%, 줄납자루, *Acheilognathus yamatsutae*의 표피 0.8~1.9 mg% 그리고 농어과 (Lee et al., 1996)의 쏘가리, *Siniperca scherzeri*의 표피 2.1~2.8 mg%, 꺾지, *Coreoperca herzi*의 표피 2.7~3.5 mg%보다도 높은 함량을 보인 반면, 시클리드과 (Matsuno et al., 1986)의 틸라피아 *Tilapia nilotica*의 표피 4.70 mg%, 미꾸리아과 (Park et al., 1994)의 미꾸라지, *Misgurnus mizolepis*의 표피 4.76 mg% 및 미꾸리, *Misgurnus anguillicaudatus*의 표피 4.00 mg%와 비교하여 낮은 함량을 보였다. 한편, Kitahara (1983, 1985)는 연어, *O. keta*의 표피에서 산란회귀중에 총 caotenoids 함량이 숫놈은 0.16 mg%에서 1.36 mg%로, 암놈은 0.11 mg%에서 0.95 mg%로 증가함을 보고하였고, 송어, *O. masou*의 표피에서도 또한 산란회귀중에 총 carotenoids 함량이 암놈은 1.17 mg%에서 2.80 mg%로 증가함을 보고하였다. 열목어의 표피 carotenoid의 조성비를 보면 zeaxanthin 36.9%, β -carotene 14.7%가 주성분을 이루고, 그 외 triol 7.8%, isocryptoxanthin 7.3%, 4-hydroxy echinenone 5.7%, lutein 4.7%, salmoxanthin 4.5%, astaxanthin 3.2%, 미량의 α -cryptoxanthin, β -cryptoxanthin, canthaxanthin, tunaxanthin A, tunaxanthin B 및 tunaxanthin C등이 함유되어 있었다. 이러한 결과는 연어, *O. keta* (Matsuno et al., 1980b) 표피의 주요 carotenoid는

salmoxanthin 32.4%, antheraxanthin 13.1% 및 zeaxanthin 9.6%이며, 송어, *O. masou* (Kitahara, 1985) 표피의 주요 carotenoid는 salmoxanthin 39.2%, zeaxanthin 22.4% 및 antheraxanthin 11.0%인 것과 비교하여 함량과 조성이 상이하였다. 그러나 은연어, *O. kisutch*의 표피 carotenoid의 주성분이 zeaxanthin 24.6%, salmoxanthin 15.7% 및 antheraxanthin 13.8%이며,琵琶송어, *O. rhodurus* JORDAN et McGREGOR의 표피 carotenoid의 주성분이 zeaxanthin 20.6% 및 salmoxanthin 16.0%인 것 (Matsuno et al., 1980b)과 비교하여 유사하며 또한 은어, *Plecoglossus altivelis* (Matsuno et al., 1974a), 틸라피아, *T. nilotica*, (Matsuno et al., 1986) 및 송어, *Mugil cephalus* (Matsuno et al., 1974b)의 표피 carotenoid의 조성에서 zeaxanthin을 주성분으로 함유한다는 것은 열목어와 유사하였다. 한편 열목어의 isocryptoxanthin 7.3%, β -cryptoxanthin 2.6% 및 α -cryptoxanthin 2.2%의 함유비를 다른 연어과와 비교해 볼 때, β -cryptoxanthin이 연어과 (Matsuno et al., 1980e)에 주요성분으로 존재한다는 것과 일치하였고, isocryptoxanthin이 홍송어, *Salvelinus leucomaenis* (Matsuno et al., 1980e)에서만 미량 발견되는 것과는 차이를 보였다. 또한 4-hydroxy echinenone 5.7%의 함유비는 천연산 연어과 (Matsuno et al., 1980b)에서는 존재하지 않았으나, 양식산 산천어, *Oncorhynchus masou macrostomus* 및 양식산 무지개송어, *Salmo gairdnerii irideus* (Matsuno et al., 1980d)에서는 각각 9.3%, 4.8%가 함유한다는 것과는 유사하게 나타났다. tunaxanthin C 1.9%, tunaxanthin B 1.9% 및 tunaxanthin A 1.3%의 함유비는 tunaxanthin이 해산어류 특유의 carotenoid인 것과는 일치하지 않았으며, 송어, *O. masou masou*, 산천어, *O. masou macrostomus*, 가물치, *Channa argus*, 블루길, *Lepomis macrochirus*, 송어, *M. cephalus*, 틸라피아, *T. nilotica* 및 무태장어, *Anguilla marmorata* (Matsuno et al., 1980a)에서도 tunaxanthin B, tunaxanthin A 및 tunaxanthin C의 순으로 함유한다 하여 담수어류중에서도 tunaxanthin을 함유하는 어류가 존재함을 알 수 있었다. 그러나 열목어를 포함한 연어과 (Matsuno et al., 1980d; Matsuno et al., 1980b)의 tunaxanthin 함유비는 0~4.7%로서, 해산어류 (Matsuno et al., 1974b)의 전갱이, *Trachurus japonicus*, 복섬, *Takifugu niphobles* 및 가시복, *Diodon halacanthus* 등의 33.3%~69.4%와는 큰 차이를 보였다. 한편, Matsuno and Yamashita (1990)는 담수어류인 베스, *Micropterus salmonides*의 표피에서 tunaxanthin A 9.2%, tunaxanthin B 13.4%, tunaxanthin C 16.1%, tunaxanthin D 6.5%, tunaxanthin G 6.1% 및 tunaxanthin H 15.7%의 다양한 tunaxanthin 이성체가

존재한다는 것을 보고하였고, 또한 Matsuno et al. (1990)은 소가리, *S. scherzeri*의 표피에서 tunaxanthin A 2.1%, tunaxanthin B 9.6%, tunaxanthin C 1.2%, tunaxanthin D 7.4%, tunaxanthin E 2.5%, tunaxanthin G 6.8%, tunaxanthin H 5.0% 및 tunaxanthin I 0.5%의 tunaxanthin 이성체가 존재한다는 것을 보고하여 담수어 류에 따라 tunaxanthin의 조성이 서로 다를 수 있음을 알 수 있었다. salmoxanthin 4.5%의 함유비는 연어, *O. keta*, 은연어, *O. kisutch*, 홍연어, *O. nerka*, 송어, *O. masou* 및琵琶송어, *O. rhodurus* JORDAN et McGREGOR의 표피에서 주성분으로 존재함을 Matsuno et al. (1980b)이 보고하였으며, 연어과 특유의 carotenoids (Matsuno et al., 1980c)라고 하였다. 한편 Kitahara (1983, 1985)는 산란회귀중의 연어, *O. keta*의 표피에서 salmoxanthin이 산란전 41.1%에서 산란후 29.6%로 감소함을 보고하였고, 산란회귀중의 송어, *O. masou*의 표피에서도 salmoxanthin이 산란전 39.2%에서 산란후 22.3%로 감소함을 보고하였다. 그리고 astaxanthin 3.2%의 함유비는 대부분의 연어과 (Matsuno et al., 1980b)의 표피에는 2.2~15.6%로 존재한다 하여 종간의 다소의 차이를 보였다. Kitahara (1983, 1985, 1984)는 산란회귀중의 연어, *O. keta*의 근육에 존재하는 총 carotenoids중의 astaxanthin은 산란전 92.6%에서 산란후 64%로 감소하는 반면, 표피에서는 산란전 3.0%에서 산란후 15.1%로 증가되며, 송어, *O. masou* 역시 근육의 astaxanthin은 산란전 80.0%에서 산란후 22.7%로 감소하고, 표피에서는 산란전 1.9%에서 산란후 21.8%로 증가된다고 보고하여 혼인색과 관계있는 것으로 추측된다.

산천어의 표피 carotenoid의 조성

천연산 및 양식산 산천어 표피로부터 추출한 총 carotenoids의 조성을 알기 위하여 HPLC로 분리하여 Fig. 4에서 처럼 천연산 산천어의 표피에서 11개의 획분을, 양식산 산천어의 표피에서 9개의 획분을 각각 얻었으며, 총 carotenoids의 함량과 분리, 동정된 carotenoid의 조성비는 Table 4와 같다. 총 carotenoids의 함량은 천연산이 0.82 mg%인데 비하여 양식산은 0.66 mg%를 나타내어 천연산이 다소 높은 함량을 보였다. 열목어의 표피와 비교하여 매우 낮은 함량이었으며, 양식산 산천어 표피의 총 carotenoids 함량은 양식산 연어과 (Matsuno et al., 1980d)의 무지개송어, *S. gairdnerii irideus*의 표피 0.06~0.10 mg%, 홍송어, *S. leucomaenis*의 표피 0.04 mg%, 송어, *O. masou masou*의 표피 0.03 mg%, 곤들매기, *S. fontinalis*의 표피 0.03 mg% 및 무지개 송어, *S. trutta*의 표피 0.03 mg%와 비교하여 다소 높았다. 산천어의 표피 car-

Table 4. Amounts and percentage composition of individual carotenoid in the integument of masu salmon (% in the carotenoids)

Composition	Total carotenoids	
	Wild 0.82 mg%	Cultured 0.66 mg%
β -carotene	15.8	18.0
Isocryptoxanthin	16.6	19.7
α -cryptoxanthin	4.9	8.5
β -cryptoxanthin	6.7	8.9
Canthaxanthin	5.9	7.6
4-hydroxy echinenone	6.1	—
Lutein	5.8	8.0
Zeaxanthin	20.6	10.3
Salmoxanthin	6.1	—
Triol	6.2	5.1
Astaxanthin	1.0	2.0
Unidentified carotenoid	4.2	11.6

otenoid의 조성비를 보면, 천연산 산천어에는 zeaxanthin 20.7%, isocryptoxanthin 17.0% 및 β -carotene 15.8%가 주성분을 이루고, 그 외 소량성분의 β -cryptoxanthin 6.7%, triol 6.2%, 4-hydroxy echinenone 6.1% 및 salmoxanthin 6.1%의 순으로 함유하며, 양식산 산천어에는 isocryptoxanthin 19.7%, β -carotene 18.0% 및 zeaxanthin 10.3%가 주성분을 이루고 그 외 소량성분의 α -cryptoxanthin 8.5%, β -cryptoxanthin 8.9% 및 lutein 8.0%의 순으로 함유하고 있어 천연산 및 양식산 산천어에는 열목어와 달리 tunaxanthin이 존재하지 않았으며, 양식산 산천어에는 천연산과 비교하여 4-hydroxy echinenone과 salmoxanthin이 존재하지 않아 상이하였다. Matsuno et al. (1980d)은 연어과의 양식산 홍송어, *S. leucomaenis*의 표피에는 lutein 32.5%, zeaxanthin 56.9%, 무지개송어, *S. gairdnerii irideus*의 표피에는 lutein 77.5%, zeaxanthin 18.2%, 송어, *O. masou masou*의 표피에는 lutein 36.6%, zeaxanthin 41.4%, 및 곤들매기, *S. fontinalis*의 표피에는 lutein 18.4%, zeaxanthin 31.7%가 각각 함유한다 하였으며, 또한 Matsuno et al. (1980b)은 연어과의 천연산 연어, *O. keta*의 표피에는 lutein (혼적량), zeaxanthin 6.1%,琵琶송어, *O. rhodurus* JORDAN et McGREGOR의 표피에는 lutein 2.5%, zeaxanthin 20.6% 그리고 송어, *O. masou*의 표피에는 lutein 0.5%, zeaxanthin 25.2%가 각각 함유한다 하여 lutein 함유비는 천연산보다 양식산 표피에서 월등히 높은 것을 알 수 있었다. 한편, Matsuno et al. (1974a)은 천연산 은어 *P. altivelis*의 표피에는 zeaxanthin 41.3%, cryptoxanthin 28.4% 및 cynthiaxanthin 17.5%가 주성분을 이루고 그 외 astacene 5.2% 및 lutein 5.1%의 순으로 함유

하며, 양식산 은어의 표피에는 zeaxanthin 68.0%, lutein 20.0%가 주성분을 이루고, 그 외 cynthiaxanthin 10.0% 및 β -carotene 2.0%의 순으로 함유한다고 보고하여 천연산에 비해 양식산의 표피에서 lutein의 함량이 높음을 또한 알 수 있었으며, Ha et al. (1992)이 넙치의 표피 carotenoid 조성에서 lutein의 함량비가 천연산 16.4%, 양식산 38.2%가 함유한다고 보고하여, 해산어에서도 양식산이 천연산에 비해 lutein의 함유비가 높게 나타나는 특성을 가지는 것으로 사료된다. 4-hydroxy echinenone과 salmoxanthin의 함유비는 천연산 산천어의 표피에서 각각 6.1%씩 검출되었으나 양식산 산천어의 표피에는 존재하지 않았다. 이와같은 결과는 4-hydroxy echinenone의 함유비가 연어과의 양식산 홍송어, *S. leucomaenis*의 표피에 2.0%, 산천어, *O. masou macrostomus*의 표피에 9.3% 그리고 무지개송어, *S. gairdnerii irideus*의 표피에는 4.8%가 각각 함유하나 (Matsuno et al., 1980d) 천연산의 연어, *O. keta*, 琵琶송어, *O. rhodurus* JORDAN et MCGREGOR 그리고 홍연어, *O. nerka*의 표피에서는 검출되지 않았고 (Matsuno et al., 1980b), 또한 salmoxanthin의 함유비가 연어과의 천연산 연어, *O. keta*의 표피에 28.9%, 琵琶송어, *O. rhodurus* JORDAN et MCGREGOR의 표피에 13.7% 그리고 홍연어, *O. nerka*의 표피에는 22.4%가 각각 검출되었으나 (Matsuno et al., 1980b) 연어과의 양식산 무지개송어, *S. gairdnerii irideus*, 홍송어, *S. leucomaenis*, 송어, *O. masou masou*, 끈들매기, *S. fontinalis* 그리고 무지개 송어, *S. trutta*의 표피에서는 검출되지 않는다는 보고 (Matsuno et al., 1980d)와 비교하여 종간의 차이가 있음을 보였다.

요 약

담수산 어류에 관한 비교 생화학적 연구의 일환으로서, 우리나라 특산의 냉수성 담수 어류인 천연산 열목어와 천연산 및 양식산 산천어의 표피 carotenoids를 TLC, column chromatography 및 HPLC로 분리하고 NaBH_4 에 의한 환원반응, I_2 에 의한 이성화반응 및 uv-visible spectrophotometer로 동정하여 비교, 검토한 결과는 다음과 같다.

열목어 표피의 총 carotenoids 함량은 천연산이 3.72 mg%으로서 연어과의 다른 어종에 비해 함량이 높았으며 carotenoid 조성은 zeaxanthin 36.9%, β -carotene 14.7%로서 주성분을 이루고, 그 외 triol 7.8%, isocryptoxanthin 7.3%, 4-hydroxy echinenone 5.7%, lutein 4.7%, salmoxanthin 4.5% 및 astaxanthin 2.2%의 순으로 나타났으며, canthaxanthin, tunaxanthin A, tunaxanthin B, tuna-

xanthin C, β -cryptoxanthin 및 α -cryptoxanthin이 미량성분으로 함유되어있다. 산천어 표피의 총 carotenoids 함량은 천연산 0.82 mg%인데 비하여 양식산은 0.66 mg%로서 천연산이 양식산에 비해 함량이 높았다. carotenoid 조성은 천연산에서 zeaxanthin 20.7%, isocryptoxanthin 17.0%, β -carotene이 15.8%로서 주성분을 이루고, 그 외 β -cryptoxanthin 6.7%, triol 6.2%, 4-hydroxy echinenone 6.1%, salmoxanthin 6.1%, canthaxanthin 5.9%, lutein 5.8%, α -cryptoxanthin 4.9% 및 astaxanthin 1.0%의 순으로 함유하며, 양식산에는 isocryptoxanthin 19.7%, β -carotene 18.0%, zeaxanthin 10.3%이 주성분을 이루며, 그 외 β -cryptoxanthin 8.9%, α -cryptoxanthin 8.5%, lutein 8.0%, canthaxanthin 7.6%, triol 5.1% 및 astaxanthin 2.0%의 순으로 함유하였다. 한편 천연산 산천어에는 zeaxanthin, salmoxanthin 및 4-hydroxy echinenone의 함량이 높은 반면 양식산 산천어에는 α -cryptoxanthin의 함량이 높아서 서로 다른 경향을 보여 상이하였다.

양식산 산천어에는 천연산 산천어와는 달리, 연어과 특유의 carotenoid인 4-hydroxy echinenone과 salmoxanthin이 검출되지 않았고 또한 천연산 및 양식산 산천어는 천연산 열목어와는 달리 tunaxanthin A, tunaxanthin B 및 tunaxanthin C가 존재하지 않았다.

참 고 문 헌

- Ando, S. and M. Hatano. 1987. Metabolic pathways of carotenoids in chum salmon *Oncorhynchus keta* during spawning migration. *Comp. Biochem. Physiol.*, 87B (2), 411~416.
- Ha, B. S., D. S. Kang, J. H. Kim, O. S. Choi and H. Y. Ryu. 1993. Metabolism of dietary carotenoids and effects to improve the body color of cultured flounder and red sea bream. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 26 (2), 91~101 (in korean).
- Ha, B. S., D. S. Kang, Y. G. Kim and K. S. Kim. 1989. Variation in carotenoid pigment and lipids of the arkshell (*Anadara broughtonii*). *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 18 (1), 71~92 (in korean).
- Ha, B. S., D. S. Kang, Y. S. Cho and M. Y. Park. 1992. Carotenoid pigments of flounder and yellowtail. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, 21 (4), 407~413 (in korean).
- Hirao, S., R. Kikuchi and H. Taguchi. 1963. Carotenoid pigments in fish-I, carotenoids in goldfish and fancy colored carp. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 29 (4), 371~381 (in japanese).
- Kitahara, T. 1983. Behavior of carotenoids in the chum salmon, *Oncorhynchus keta* during anadromous migration. *Comp. Biochem. Physiol.*, 76B (1), 97~101.

- Kitahara, T. 1985. Behavior of carotenoids in the masu salmon, *Oncorhynchus masou* during anadromous migration. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 51 (2), 253~255.
- Kitahara, T. 1984. Behavior of carotenoids in the chum salmon, *Oncorhynchus keta* during development. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 50 (3), 531~536.
- Kweon, M. J. and B. S. Ha. 1996. Comparison of carotenoid pigments in flat bitterling, *Paracheilognathus rhombea* and korean striped bitterling, *Acheilognathus yamatsutae Mori*, in the subfamily cyprinidae. J. Korean Soc. Food Nutr., 25 (1), 80~86 (in korean).
- Lee, C. Y., P. E. McCoon and J. M. Lebowitz. 1981. Vitamin A value of sweet corn. J. Agric. Food Chem., 29, 1294~1295.
- Lee, H. H., M. Y. Park, M. J. Kweon, S. H. Baek, S. Y. Kim, D. S. Kang and B. S. Ha. 1996. Comparison of carotenoid pigments in mandarin fish, *Siniperca scherzeri* and korean perch, *Coreoperca herzi* in the family serranidae. J. Korean Soc. Food Nutr., 25 (1), 87~93 (in korean).
- Maoka, T., M. Katsuyama, N. Kaneko and T. Matsuno. 1985. Stereochemical investigation of carotenoids in the antarctic krill *Euphausia superba*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 51 (10), 1671~1673.
- Matsuno, T. and E. Yamashita. 1990. Isolation and structural elucidation of two new carotenoids from the black bass *Micropterus salmonides*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 56 (1), 115~118.
- Matsuno, T., and H. Matsutaka. 1981. Carotenoids of four species of crucian carp and two varieties of goldfish. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 47 (1), 85~88 (in japanese).
- Matsuno, T., E. Higashi, and T. Akita. 1973. Carotenoid pigments in gobies and five related fishes. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 39 (2), 159~163 (in japanese).
- Matsuno, T., H. Matsutaka, M. Katsuyama and S. Nagata. 1980e. Isolation of three stereoisomers, tunaxanthin A, tunaxanthin B and tunaxanthin C from tunaxanthin fraction in the integuments of fishes. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 46 (3), 333~336 (in japanese).
- Matsuno, T., M. Katsuyama and S. Nagata. 1980b. Comparative biochemical studies of carotenoids in fishes-X IX, carotenoids of chum salmon, coho salmon, biwa trout, red-spotted masu salmon, masu salmon and kokanee. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 46 (7), 879~884 (in japanese).
- Matsuno, T., M. Katsuyama and N. Iwasaki. 1975. Comparative biochemical studies of carotenoids in fishes-IV, carotenoids in six species of gobioninaeous fishes. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 41 (3), 351~355 (in japanese).
- Matsuno, T., and M. Katsuyama. 1976a. Comparative biochemical studies of carotenoids in fishes-X III, carotenoids in six species of leuciscinaeous fishes. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 42 (8), 847~850 (in japanese).
- Matsuno, T., S. Nagata, M. Iwashashi, T. Koike and M. Okada. 1979. Intensification of color of fancy red carp with zeaxanthin and myxoxanthophyll, major carotenoid constituents of *spirulina*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 45 (5), 627~632 (in japanese).
- Matsuno, T., and M. Katsuyama. 1976b. Comparative biochemical studies of carotenoids in fishes-XI, carotenoids of two species of flying fish, mackerel pike, killifish, three-spined stickleback and chinese eight-spined stickleback. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 42 (7), 761~763 (in japanese).
- Matsuno, T., and M. Katsuyama. 1976c. Comparative biochemical studies of carotenoids in fishes-XII, on the nine species of fishes in the order clupeida. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 42 (7), 765~768 (in japanese).
- Matsuno, T., and M. Katsuyama. 1975. Comparative biochemical studies of carotenoids in fishes-VI, carotenoids of japanese sculpins and white gobies. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 41 (6), 675~679 (in japanese).
- Matsuno, T., M. Katsuyama and M. Kashizaki. 1976a. Comparative biochemical studies of carotenoids in fishes-IX, on the nineteen species of fishes in the division percichthyes. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 42 (6), 645~649 (in japanese).
- Matsuno, T., M. Katsuyama and M. Ishida. 1976b. Comparative biochemical studies of carotenoids in fishes-X, carotenoids of japanese perch. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 42 (6), 651~654 (in japanese).
- Matsuno, T., M. Katsuyama and M. Kashizaki. 1976. Comparative biochemical studies of carotenoids in fishes-VIII, carotenoids of large mouse smelt and japanese smelt. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 42 (4), 465~467 (in japanese).
- Matsuno, T., M. Katsuyama, T. Hirono, T. Maoka and T. Komori. 1986. The carotenoids of tilapia, *Tilapia nilotica*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 52 (1), 115-119.
- Matsuno, T., M. Katsuyama, Y. Ikuno, E. Yamashita and B. S. Ha. 1990. The occurrence of eight stereoisomers of tunaxanthin from the fresh-water fish *Siniperca scherzeri*. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 56 (4), 651~654.
- Matsuno, T., S. Nagata, M. Katsuyama, H. Matsutaka, T. Maoka and T. Akita. 1980a. Comparative biochemical studies of carotenoids in fishes-X VIII, carotenoids of cultured fishes, japanese char, brook trout, lake trout, masu trout, red-spotted masu trout, rainbow trout and brown trout. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 46 (4), 473~478 (in japanese).
- Matsuno, T., S. Nagata, and M. Katsuyama. 1980. The structure of a new carotenoid, salmoxanthin from the salmon, *Oncorhynchus keta* WALBAUM. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 46 (7), 911.

- Matsuno, T., S. Nagata, M. Iwahashi and M. Katsuyama. 1974. Carotenoid pigments in sweet fish. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 40 (1), 73~77 (in japanese).
- Matsuno, T., S. Nagata, Y. Sato and T. Watanabe. 1974b. Comparative biochemical studies of carotenoids in fishes-II, carotenoids of horse mackerel, swellfishes, porcupine fishes and striped mullet. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 40 (6), 579~584 (in japanese).
- Matsuno, T., T. Maoka and S. Sakaguchi. 1980d. Comparative biochemical studies of carotenoids in fishes-XI, occurrence of β -caroten-2-ol from fishes. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 46 (12), 1527~1531 (in japanese).
- McBeth, J. W. 1972. Carotenoid from nudibranchs. *Comp. Biochem. Physiol.*, 41B, 55~68.
- Park, E. S., D. S. Kang and B. S. Ha. 1994. Comparison of carotenoid pigments in chinese muddy loach, *Misgurnus mizolepis* and muddy loach, *Misgurnus anguillicaudatus* in the subfamily cobitidae. Bull. Korean Fish. Soc., 27 (3), 265~271 (in korean).
- Yamaguchi, M. 1954. The carotenoid pigments of the fruit of cycad. Kyushu univ. (chemistry) 2, 31~33.
- 최기철. 1993. 우리 민물고기 백가지. 현암사, pp. 484~487.
- 김인배. 1974. 한국의 담수어류. 태화출판사, pp. 40~41.

1997년 9월 26일 접수

1998년 3월 11일 수리