

# 자외선 조사방법이 육계 병아리의 간장과 골격중 Vitamin D<sub>3</sub> 및 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> 농도에 미치는 영향

장윤환 · 이은택 · M. F. Holick<sup>1</sup>

경북대학교 농과대학

## Influence of UV Irradiation Procedures on the Concentration of Vitamin D<sub>3</sub> and 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in the Liver and Skeleton of Broiler Chicks

Y. H. Chiang, E. T. Lee and M. F. Holick<sup>1</sup>

College of Agriculture, Kyungpook National University, Daegu, Korea 702-701

### ABSTRACT

This study was carried out to elucidate the time course variation of vitamin D<sub>3</sub>(VD<sub>3</sub>) and 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>[25(OH)D<sub>3</sub>] contents in the liver and skeleton of 3-wk old broiler chicks when treated with different UV irradiation procedure. Day-old Hubbard chicks were fed vitamin D deficient diet for 3 wk and exposed to medium wave ultraviolet(UVB) light with different irradiation procedures. Procedure I was 30 min continuous irradiation(0.204 mJ /cm<sup>2</sup>) and Procedure II was three separate 10 min irradiation with 12 h intervals, and Procedure III was three separate 10 min irradiation with 24 h intervals. The liver and skeleton samples were collected at 10 different times between 0000~2400 h after the last irradiation. The VD<sub>3</sub> and 25(OH)D<sub>3</sub> fractions were separated by Sep-Pak silica cartridge and the concentrations were determined by normal phase HPLC. The mean content of VD<sub>3</sub> in the liver of the birds treated by Procedure II was 6.68 ng /g, which was higher than 5.60 and 5.30 ng /g from Procedure I and III, respectively(P<.05). With regard to the effect of elapsed time after UVB irradiation on the VD<sub>3</sub> concentration of the liver, 96 h treatment showed the highest value(13.08 ng /g)(P<.05). There was a significant(P<0.05) interaction between irradiation procedure and elapsed time. The mean levels of 25(OH)D<sub>3</sub> were significantly(P<0.05) different among procedures, in which Procedure II showed the highest value(37.41 ng /g) followed by Procedure III(29.41) and Procedure I(27.49). With respect to elapsed time after exposure, 12 h treatment showed the highest value(54.71 ng /g) among 10 times tested(P<.05). In regard to the mean content of VD<sub>3</sub> in the skeleton of tibia and femur, there were no significant differences among Procedure I, II and III, but significant differences were found among those from various elapsed time after irradiation, The highest value was shown at 96 h(0.99 ng /g) treatment, and interaction between irradiation procedure and elapsed time was not significant. With regard to the mean content of 25(OH)D<sub>3</sub> in bone, the Procedure II(18.79 ng /g) and III(17.73 ng /g) showed higher values than Procedure I did (P<.05), and the 12 h elapsed time showed the

“이 논문은 1991년도 교육부 지원 한국학술진흥재단의 자유공모과제 학술연구 조성비에 의하여 연구되었음”

<sup>1</sup> Boston University, School of Medicine

highest value(31.17 ng/g) among 10 treatments ( $P < .05$ ), however, there was no significant interaction between exposing procedure and elapsed time. In conclusion, the Procedure II would be more desirable than Procedure I or III to produce more VD<sub>3</sub> and 25(OH)D<sub>3</sub> in the liver and skeleton of birds by exposing to the UVB light. Also, it was verified that 25(OH)D<sub>3</sub> increases more quickly than VD<sub>3</sub> in both tissues tested and is utilized more quickly to recover from the rickets of chicks.

(Key words: UV light, irradiation procedure, time after irradiation, liver, bone, vitamin D<sub>3</sub>, 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>, broiler chick)

## 서 론

척추동물의 피부에 자외선(UV)을 照射하면 7-dehydrocholesterol이 previtamin D<sub>3</sub>로 이성화되고 이는 체열에 의하여 vitamin D<sub>3</sub>(VD<sub>3</sub>)로 전변된다. VD<sub>3</sub>는 혈액으로 옮겨져서 간장으로 가게 되면 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> [25(OH)D<sub>3</sub>]로 수산화되고 이 25(OH)D<sub>3</sub>는 신장으로 가서 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>[1, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>]로 수산화가 더 이루어지는 것으로 알려져 있다(Holick, 1984; Ray 등, 1985; Smith와 Holick, 1987). 이렇게 생성된 물질들은 각 조직으로 이행되며 간과 뼈에도 존재하는 것으로 알려졌다(Haussler와 Norman, 1967; Haussler와 Rasmussen, 1972; 장윤환 등, 1992ab).

Haussler와 Norman(1967)은 구루병의 병아리에게 [4-<sup>14</sup>C]VD<sub>3</sub>를 주사하여 간장과 골격중의 VD<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>3</sub> 및 1, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 농도를 조사하였으며, Haussler와 Norman(1969)은 VD결핍 병아리에 [1, 2-<sup>3</sup>H]VD<sub>3</sub>를 주입하고 0~48시간에 걸쳐 경골을 채취하여 VD<sub>3</sub> + 25(OH)D<sub>3</sub> + 1, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 함량을 조사하였다. Wong 등(1972)은 [4-<sup>14</sup>C]VD<sub>3</sub>를 구루병의 병아리에게 주입하고 VD<sub>3</sub> + 25(OH)D<sub>3</sub> + 1, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>의 합계량을 측정하였다. Neville과 DeLuca(1966)는 VD결핍 흰쥐에 [1, 2-<sup>3</sup>H]VD<sub>3</sub>를 주입하고 4시간후 각 조직에 분포되는 비율을 조사하였다. Haussler와 Rasmussen(1972)은 Leghorn 병아리에 VD<sub>3</sub>를 경구투여한 후 간장과 골격의 VD<sub>3</sub> 및 그 대사물질 분포를 측정하였다. Takeuchi 등(1986, 1987)은 여러가지 어류의 등살, 피부, 간장, 담낭 및 소화기관내의 VD<sub>3</sub> 및 25(OH)D<sub>3</sub> 농도를 연구하였으며,

Okano 등(1978)은 VD 결핍 흰쥐에 85 W/cm<sup>2</sup>의 선량으로 280~370 nm의 중파자외선(UVB)을 照射하고 간장중의 25(OH)D<sub>3</sub> 함량을 조사하였다. Holmes 등(1982)은 2~2.5 kg의 토끼에게 2주간 VD<sub>3</sub>를 급여하고 간장 25(OH)D<sub>3</sub>를 조사하였으며 Gascon-Barre 등(1979)은 VD결핍 흰쥐에게 3~7주간 매주 3회 [<sup>14</sup>C]VD<sub>3</sub>를 급여한 결과 간장 25(OH)D<sub>3</sub>가 6 ng/g이었다고 발표하였다.

Rabinowitz 등(1988)은 17일간 3일마다 0, 4 또는 16 g의 [<sup>3</sup>H]VD<sub>3</sub>를 경구투여한 결과 병아리의 간장 중 25(OH)D<sub>3</sub> 농도가 각각 0, 2 또는 4 ng/g이었다고 발표하였다. 장윤환 등(1992ab, 1993)은 VD 결핍 병아리에 UVB를 30 또는 60분간 照射하고 간장과 혈장 중의 VD<sub>3</sub>와 25(OH)D<sub>3</sub> 농도를 측정된 결과 60분 照射가 30분보다 조금 더 많은 VD<sub>3</sub> 및 25(OH)D<sub>3</sub>를 생성시켰으나 유의차는 없었다고 발표하였다. 자외선은 장파(UVA), 중파(UVB) 및 (UVC)로 분류하여 lamp를 만들고 있는데 피부에서의 VD<sub>3</sub> 생성을 위해서는 UVB가 가장 유효한 것으로 알려져 있다(Smith와 Holick, 1987).

따라서 본 연구에서는 VD 결핍 병아리에 UVB를 30분간 照射하되 그 照射방법을 상이하게 하였을 때 간장과 골격중의 VD<sub>3</sub> 및 25(OH)D<sub>3</sub>가 어떻게 변화되는지, 그리고 어떤 照射방법이 가장 바람직한지 구명코자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 공시동물 및 사료

1일령 Hubbard 계통 병아리 155수(3照射방법 × 10경과시간 × 5반복 + 회수시험용 5수)를 VD 결핍

사료(AOAC, 1990)로 31일간 사육하였으며 무창약등하(5 lux)에서 자유급식케 하였다. VD 결핍사료는 분쇄 옥수수 58%, 밀가루 13%, 밀기울 12%, 산 처리 카제인 12%, 효모(질소 7%) 2%, 인산3칼슘 2%, 식염 1%, MnSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.22%로 배합되었으며 이에 는 수분 10.07%, 조단백질 17.37%, 조지방 2.32%, 가용무질소물 64.25%, 조섬유 1.11%, 조회분 4.58%, Ca 0.88%, P 0.69% 함유되어 있었다.

## 2. 실험 설계 및 자외선 照射

照射강도를 297 nm에서 가장 크게 나타내는 UVB Light Box(National Biological Corp., Model Panosol II)로서 병아리를 照射하였으며 Research Radiometer(International Light Co., IL, Model 1700)로서 集積線량을 측정하였으며 15 cm 거리에서 10분간 照射 하였을때 0.068 mJ/cm<sup>2</sup>를 나타내었다. 본 연구는 3×10 시험으로 설계되었으며 UVB 照射방법의 3처리, 照射후 경과시간 10처리으로 구성되었다. 3 주령 병아리로부터 먼저 5수를 취하여 회수율 시험에 이용하였고 UVB 照射방법은 3 방법으로 하였는데, 방법 I은 照射를 연속 30분 하였고, 방법 II는 10분 照射 - 12시간 간격 - 10분 照射 - 12시간 간격 - 10분 照射로 하였으며, 방법 III은 방법 II와 같이 10분간씩 3회에 나누어 照射하되 간격을 24시간씩으로 하였다. 照射시에는 20 cm 깊이, 120 cm 너비, 120 cm 높이의 나무상자를 세워놓고 3층으로 구분, 발판을 설치하고 병아리를 옆으로 세워놓고 그앞 15 cm 거리에 UVB Light Box를 설치하고 UVB를 照射하였다. UVB를 照射하지 않은 비조사구(negative control)는 UVB 照射前 6시간(-6 h)에, UVB를 照射한 구는 최종 UVB 照射가 끝난 다음 0, 6, 12, 18, 24, 48, 96, 144 또는 240시간 후에 각 5수씩 도살하고 간장, 경골 및 대퇴골을 채취하였다.

## 3. VD<sub>3</sub> 및 25(OH)D<sub>3</sub> 분석

지질추출은 Folch 등(1957)의 방법을 일부 수정하여 실시하였다. 간장은 일정 부위의 것을 잘라내어 시료로 사용하였으며 골격(경골 및 대퇴골)은 가위로 잘게 절단 한 뒤 사용하였다. 2:1 CHCl<sub>3</sub>-MeOH 용액으로 처리하여 하층액을 회수하고 N<sub>2</sub>로 乾固하여

n-hexane 1 mL를 가하고 -20℃ 냉동고에 보관하였다.

VD<sub>3</sub> 및 25(OH)D<sub>3</sub>의 각 분획은 Adams 등(1981), Chen 등(1990ab) 장운환 등(1992ab) 방법을 일부 수정하여 Sep-Pak silica cartridge와 용매의 극성을 달리하여 분획하였다. 먼저 15% ethyl acetate(EA)/hexane으로 시료중 VD<sub>3</sub>보다 더 저극성인 물질을 제거하였고, 20% EA/hexane 으로는 시료중 저극성 물질인 VD<sub>3</sub>를 회수하였으며, 50% EA/hexane 으로는 시료중 중극성 물질인 25(OH)D<sub>3</sub>를 회수하였다.

시료처리 중 VD<sub>3</sub> 및 25(OH)D<sub>3</sub>가 얼마나 손실되는지 규명하기 위하여 회수 시험을 실시하였는데, VD<sub>3</sub> 및 25(OH)D<sub>3</sub>의 1 ppm 표준용액 각 100 μL를 병아리의 간장과 골격 시료에 가하여(5 반복) 지질추출 및 분획후 HPLC에 주입하여 그로부터 얻은 chromatogram으로 회수율을 측정하였다.

HPLC chromatogram을 놓고 봉우리 높이에 의한 방법과 증복 봉우리 계산법(이홍락, 1989; Snyder와 Kirkland, 1979)에 의하여 base line을 잡은 후 peak 높이를 측정하였으며 표준곡선은 VD<sub>3</sub>(Sigma Chemical Co.) 및 25(OH)D<sub>3</sub>(Hoffman-LaRoche Co.)으로 표준용액(1 ppm)을 만든 후 sample에 표준용액의 일정량을 첨가하는 표준첨가법(이홍락, 1989)을 이용하여 HPLC에서 chromatogram을 얻은 후 그 높이에 따른 ng 수를 나타내는 표준곡선을 만든 다음 이를 토대로 농도(ng/g)를 측정하고 회수율을 보정하여 최종 함량을 계산하였다.

HPLC를 실시할 때, Sep-Pak silica cartridge에서 회수된 각 분획은 N<sub>2</sub> gas로 건조한 뒤 각각의 용매로 녹여 Zorbax silica (Alltech Associates, Inc.) 7μ guard column(10×4.6 mm)과 Econosphere silica 5μ main column(250×4.6mm), U6K injector, M-6000A pump, UV 254nm 고정 M440 detector 및 영인과학(주)의 Model- D 520A integrator를 이용하여 분석하였다. 각 분획의 일정량을 HPLC에 주입하고 각 성분의 유출 시간에 나오는 chromatogram의 peak 높이에 따라 성분량(ng)을 구하고 HPLC 주입량, 회수율, 시료량을 보정하여 ng 수를 계산하였고 분석 조건은 VD<sub>3</sub> 분석시에 AUFS (absorbance unit of full scale)는 0.01로, 流速은 2

mL/min로, chart 속도는 0.5 cm/min로, 용매는 0.25% isopropanol/hexane로, detector 波長은 254 nm로 하였으며, 25(OH)D<sub>3</sub> 분석시에는 용매를 Me-OH(0.8): isopropanol(1.6): hexane(100) (v/v/v)로 하였으며 다른 조건은 VD<sub>3</sub>에서와 같이 하였다.

#### 4. 통계처리

얻어진 결과는 Steele과 Torrie(1980)의 방법으로 분산분석하였으며 5% 수준이상의 유의성이 인정되었을 경우 Duncan(1955)의 다중검정법으로 처리간 유의차를 검정하였다.

### 결과 및 고찰

#### 1. 간장 VD<sub>3</sub> 함량

자외선 照射방법에 따른 VD<sub>3</sub> 함량변화는 Table 1과 같다. 照射방법 및 경과시간에 따른 간장의 VD<sub>3</sub> 함량을 분산분석한 결과 照射방법의 3처리간 및 경과시간 10처리간에 각각 고도의 유의성이 인정되었으며 ( $P < .01$ ), 照射방법 및 경과시간간의 상호작용도 유의성을 나타내었다 ( $P < .05$ ).

照射방법에 따른 간장내 VD<sub>3</sub> 함량은 방법 II에서 평균 6.68 ng/g, 방법 I과 III에서 각각 평균 5.60 ng/g, 5.30 ng/g으로 방법 II는 방법 I과 III에 비해 유의하게 높은 값을 나타냈다 ( $P < .05$ ). 다음 경과시간별 VD<sub>3</sub> 평균함량을 보면 96시간에서 13.08 ng/g으로 가장 높은 값을 보였으며 240시간에서 평균

**Table 1.** The content of liver VD<sub>3</sub> in broiler chicks fed vitamin D deficient diet for 3 wk in the house where the sunlight was cut off and exposed to UVB light by different procedures

Elapsed time*	UVB irradiation procedure#			Mean
	I	II	III	
h	ng/g, mean $\pm$ SEM (n=3)			
-6	5.11 $\pm$ 0.62 <sup>cd</sup>	5.11 $\pm$ 0.65 <sup>cde</sup>	5.11 $\pm$ 0.70 <sup>cd</sup>	5.11 $\pm$ 0.66 <sup>d</sup>
0	4.63 $\pm$ 0.44 <sup>de</sup>	5.16 $\pm$ 1.03 <sup>cde</sup>	4.03 $\pm$ 0.30 <sup>de</sup>	4.61 $\pm$ 0.59 <sup>de</sup>
6	3.25 $\pm$ 0.31 <sup>f</sup>	4.32 $\pm$ 0.91 <sup>e</sup>	3.29 $\pm$ 0.18 <sup>e</sup>	3.62 $\pm$ 0.47 <sup>f</sup>
12	3.44 $\pm$ 0.38 <sup>ef</sup>	4.79 $\pm$ 0.53 <sup>de</sup>	3.43 $\pm$ 0.17 <sup>e</sup>	3.89 $\pm$ 0.36 <sup>ef</sup>
18	5.04 $\pm$ 0.36 <sup>cd</sup>	7.18 $\pm$ 0.90 <sup>bc</sup>	5.74 $\pm$ 0.46 <sup>c</sup>	5.99 $\pm$ 0.57 <sup>c</sup>
24	6.09 $\pm$ 0.30 <sup>bc</sup>	6.61 $\pm$ 0.63 <sup>bcd</sup>	5.19 $\pm$ 0.26 <sup>cd</sup>	5.97 $\pm$ 0.40 <sup>c</sup>
48	6.49 $\pm$ 0.34 <sup>b</sup>	7.42 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup>	7.19 $\pm$ 0.28 <sup>b</sup>	7.04 $\pm$ 0.29 <sup>b</sup>
96	13.00 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup>	16.19 $\pm$ 0.62 <sup>a</sup>	10.05 $\pm$ 0.37 <sup>a</sup>	13.08 $\pm$ 0.54 <sup>a</sup>
144	4.88 $\pm$ 0.57 <sup>cd</sup>	5.19 $\pm$ 0.21 <sup>cde</sup>	4.67 $\pm$ 0.44 <sup>cd</sup>	4.91 $\pm$ 0.41 <sup>d</sup>
240	4.02 $\pm$ 0.19 <sup>def</sup>	4.80 $\pm$ 0.39 <sup>de</sup>	4.34 $\pm$ 0.38 <sup>de</sup>	4.39 $\pm$ 0.32 <sup>def</sup>
Mean	5.60 $\pm$ 0.41 <sup>n</sup>	6.68 $\pm$ 0.61 <sup>m</sup>	5.30 $\pm$ 0.35 <sup>n</sup>	5.86 $\pm$ 0.24

Analysis of variance:

Irradiation procedures;  $P < .01$

Elapsed times;  $P < .01$

Irradiation procedures x elapsed time;  $P < .05$

\* Elapsed time after last irradiation.

# Procedure I; 30 min continuous irradiation (0.204 mJ/cm<sup>2</sup>).

Procedure II; three 10 min irradiation (3  $\times$  0.068 mJ/cm<sup>2</sup>) with 12 h intervals.

Procedure III; three 10 min irradiation (3  $\times$  0.068 mJ/cm<sup>2</sup>) with 24 h intervals.

<sup>a-f</sup> Values with different superscripts within same columns are significantly different ( $P < .05$ ).

<sup>m,n</sup> Values with different superscripts within the row are significantly different ( $P < .05$ ).

4.39ng/g으로 가장 낮은 값을 보였고( $P < .05$ ) 그외의 非照射區, 0, 144, 240 경과시간 사이에는 유의차가 인정되지 않았다. 2 요인간에 상호작용이 나타났으므로 각 방법별로 경과시간에 따르는 함량을 비교하면 **방법 I**에 있어서 96시간이 13.0 ng/g으로 가장 높은 값을 나타내었으며 그외 非照射區, 0, 18, 144, 240 경과시간에서는 유의차가 없었으며 6시간에서 가장 낮은 값을 보였다. **방법 II**에서도 96시간에서 16.19 ng/g으로 가장 높은 값을, 6시간에서 가장 낮은 값을 보였고 그외 다른 경과시간의 변화경향은 **방법 I**과 비슷하였다. **방법 III**에 있어서 96시간에서 가장 높은 값으로 유의차가 인정되었으며 48시간을 제외하고 非照射區, 0, 24, 144, 240 경과시간에서는 유의차가 인정되지 않았다. 따라서 照射방법중 **방법 II**의 96시간에서 16.19 ng/g으로 최고치를 보였다.

UVB의 3중 照射方法중 **방법 II**가 가장 좋은 것으로 나타났는데, 이것은 본 연구에 이용된 0.068 mJ/cm<sup>2</sup> (10分間 照射)를 일시에 계속 3회 조사한 **방법 I**에서는 照射선량을 벗어나 다리의 피부에서 모두 받아들이지 못하였으며, 24시간 간격으로 3회에 나누어 照射한 **방법 III**에서는 照射와 照射사이의 간격이 너무 길어서 더 많은 VD<sub>3</sub>를 생성시키는데 불리하다는 것을 의미한다. 그리고 UVB 조사 후 96시간에 VD<sub>3</sub>함량의 최고치를 보인 것은 간장이 VD<sub>3</sub>의 저장기관이기 때문에 VD<sub>3</sub>가 피부에서 생기자마자 혈액을 거쳐 바로 간장으로 왔으나 25(OH)D<sub>3</sub>를 만들기엔 바빴고 이 25(OH)D<sub>3</sub>는 신장으로 가서 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>로 더욱 수산화되어 장, 골격 등 목표기관에 옮겨지기 때문에 미처 간에 비축될 사이가 없으며 따라서 각 목표기관의 VD<sub>3</sub> 대사물질이 충족된 후, 늦은 시간인 96시간에 최고 비축을 나타낸 것으로 생각된다.

Haussler와 Norman(1967)은 구루병의 병아리에게 [4-<sup>14</sup>C]VD<sub>3</sub>를 주사하여 18시간후에 혈액과 간장을 채취하여 VD<sub>3</sub>함량을 조사하였더니 병아리당 각각 0.36 ng과 0.97 ng 들어 있었다고 보고하였다. 그들은 주입한 방사능이 혈액과 간장에 얼마나 분포되었는가를 연구하였으며 VD<sub>3</sub>의 절대함량은 조사하지 않았다. 따라서 본 연구에 비하여 매우 낮은 함량을 나타내었다. 장윤환 등(1992a)은 31일령 VD 결핍 병아리에 UVB를 계속 60분간 照射한 결과 90시간 후 간장 VD<sub>3</sub>

농도가 16 ng/g 이었다고 하므로(최고치) 본 연구의 최고치(**방법 II**) 16.19ng/g에 비슷하였으며 본 연구의 최고치 발현시간 96시간에 가까웠다.

Takeuchi 등(1986)은 여러가지 어류의 조직중 VD<sub>3</sub> 함량을 조사하였는데 칠성장어의 등살에 107 ng/g, 피부에 107 ng/g, 간장에 119 ng/g, 담낭에 45 ng/g, 소화관에 60 ng/g들어 있었다고 하므로 간장중의 함량이 본 연구의 **방법 II**의 간장중 농도 16.19 ng/g(96시간) 보다 약 7배로 높았다. 칠성장어는 수서동물이므로 태양광선을 받아서 합성할수 있는 VD<sub>3</sub>가 매우 적고 따라서 식이에 의해 공급된 VD<sub>3</sub>를 간과 기타조직에 다량 저축하고 있는 것이라 생각된다. Takeuchi 등(1987)은 각종 어류의 간장중 VD<sub>3</sub> 함량을 조사하였는데 은연어에서 771 ng/g, 뱀장어에서 161 ng/g, 청상어에서 88 ng/g를 나타내었다고 한다. 종간에 차이가 크며 모두 매우 높은 값을 보였다. 따라서 오래전부터 어류의 간에서 지질을 추출하여 지용성 비타민 제제로서 시판하고 있다.

## 2. 간장 25(OH)D<sub>3</sub> 함량

자외선 照射방법에 따른 25(OH)D<sub>3</sub>의 함량변화는 Table 2와 같다. 照射방법 및 경과시간에 따른 간장의 변화를 조사하기 위하여 분산분석한 결과 照射방법의 3처리 및 경과시간 10처리간에 각각 고도의 유의성이 인정되었으며( $P < .01$ ), 照射방법 및 경과시간간의 상호작용도 고도의 유의성이 인정되었다( $P < .01$ ).

Duncan 다중 검정법으로 유의차를 검정하여 방법에 따른 간장내 25(OH)D<sub>3</sub> 함량을 비교해 보면 **방법 II**에서 37.47 ng/g으로 제일 높았고 다음이 **방법 III**이었으며, **방법 I**이 가장 낮게 나타났다( $P < .05$ ). 다음 경과시간별 평균 함량을 보면 12시간에서 54.71 ng/g으로 가장 높게 나타났으며 24, 18, 48, 240시간 순이었으며, 非照射區에서는 가장 낮은 값을 보였다. 상호작용이 나타났으므로 각 방법별로 각 경과시간에 따른 함량을 비교하면 **방법 I**에 있어서 12시간이 가장 높은 값을 나타내었으나 그외 24시간에서 240시간까지는 변화가 없었으며 非照射區에서 가장 낮은 값을 보였다. **방법 II**에 있어서 12, 24시간에 가장 높은 값을 보였고 非照射區에서 제일 낮게 나타났다. 그외 다른 경과시간의 변화 경향은 **방법 I**과 비슷하였다.

**Table 2.** The content of liver 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in broiler chicks fed vitamin D deficient diet for 3 wk in the house where the sunlight was cut off and exposed to UVB light by different procedures

Elapsed time*	UVB irradiation procedure <sup>#</sup>			
	I	II	III	Mean
	ng /g, mean ±SEM(n=3)			
-6	12.82±0.50 <sup>e</sup>	12.82±0.58 <sup>e</sup>	12.82±0.56 <sup>e</sup>	12.82±0.55 <sup>f</sup>
0	18.61±1.26 <sup>d</sup>	36.91±3.95 <sup>c</sup>	18.62±0.71 <sup>fg</sup>	24.78±1.97 <sup>d</sup>
6	17.27±0.88 <sup>de</sup>	29.61±1.62 <sup>cd</sup>	15.12±1.33 <sup>g</sup>	20.67±1.28 <sup>e</sup>
12	51.33±3.66 <sup>a</sup>	60.73±3.25 <sup>ab</sup>	51.57±2.24 <sup>a</sup>	54.71±3.05 <sup>a</sup>
18	33.63±1.94 <sup>b</sup>	53.81±3.47 <sup>b</sup>	40.03±4.37 <sup>b</sup>	42.49±3.26 <sup>b</sup>
24	28.41±2.55 <sup>bc</sup>	61.89±3.48 <sup>a</sup>	37.74±1.52 <sup>bc</sup>	42.68±2.52 <sup>b</sup>
48	30.11±2.32 <sup>bc</sup>	32.98±2.97 <sup>cd</sup>	32.52±3.22 <sup>cd</sup>	31.87±2.84 <sup>c</sup>
96	27.71±0.72 <sup>c</sup>	28.73±1.72 <sup>cd</sup>	29.50±2.33 <sup>de</sup>	28.65±1.59 <sup>cd</sup>
144	25.67±1.15 <sup>c</sup>	27.20±1.91 <sup>d</sup>	23.14±1.71 <sup>ef</sup>	25.34±1.59 <sup>d</sup>
240	29.32±0.65 <sup>bc</sup>	30.06±0.63 <sup>cd</sup>	32.33±2.12 <sup>cd</sup>	30.57±1.13 <sup>c</sup>
Mean	27.49±1.56 <sup>o</sup>	37.47±2.36 <sup>m</sup>	29.41±2.01 <sup>n</sup>	31.46±1.15

Analysis of variance:

Irradiation procedures;  $P < .01$

Elapsed times;  $P < .01$

Irradiation procedures x elapsed time;  $P < .01$

\* Elapsed time after last irradiation.

<sup>#</sup> Procedure I; 30 min continuous irradiation(0.204 mJ /cm<sup>2</sup>).

Procedure II; three 10 min irradiation(3 × 0.068 mJ /cm<sup>2</sup>) with 12 h intervals.

Procedure III; three 10 min irradiation(3 × 0.068 mJ /cm<sup>2</sup>) with 24 h intervals.

<sup>a-f</sup> Values with different superscripts within same column are significantly different ( $P < .05$ ).

<sup>m-o</sup> Values with different superscripts within row are significantly different ( $P < .05$ ).

방법 III에 있어서 12시간이 51.57 ng /g의 가장 높은 값을 나타내었고 그의 24, 48, 240 경과시간에서는 유의차가 인정되지 않았다. 따라서 照射방법중 방법 II의 24시간에서 61.89 ng /g의 최고치를 보였다.

25(OH)D<sub>3</sub>도 방법 II에서 가장 높은 값을 보였는데, 본 연구에서 이용된 0.068 mJ /cm<sup>2</sup>는 3주령 병아리에 대하여 12시간 간격으로 照射하는 것이 가장 효율적이며 무간격이나 24시간 간격으로 照射하는 것보다 더 우수하다는 것을 보여준다. 경과시간별로 보았을 때 12시간 후에 최고치를 보였는데, 최고치가 매우 빨리 나타난다는 것을 알 수 있으며, 특히 VD<sub>3</sub>가 96시간에 최고치를 보인 것에 비하여 대단히 빨리 peak에 도달한 것이다. 이것은 피부에서 생성된 VD<sub>3</sub>가 간장

으로 와서 25(OH)D<sub>3</sub>로 수산화되고 이 25(OH)D<sub>3</sub>가 신속히 신장으로 옮겨져서 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>로 더욱 수산화된 후, 목표기관인 장, 골격 등에 신속히 공급한다는 것을 의미하며, 본 연구에 사용된 照射線量으로서 12시간 이상 25(OH)D<sub>3</sub>를 간장내에서 증가시키지 못한다는 것을 알 수 있다. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>의 소요량은 병아리의 이 대사물에 대한 결핍 정도에 비례하므로 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>를 충족시키고 나면 간장내의 25(OH)D<sub>3</sub> 비축이 더 증가할 것으로 믿는다. 그리고 UVB 照射를 3회에 그칠 것이 아니고 4회 이상 더 실시했다면 이 peak time이 더 늦게 나타날지도 모른다. 그리고 VD<sub>3</sub>의 최고치가 96시간에 나타나고 25(OH)D<sub>3</sub>의 peak가 12시간에 더 빨리 나타난 것도 병아리의 1,25

(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> 결핍이 심했기 때문인지 모른다.

그리고 VD<sub>3</sub> 함량에 비하여 25(OH)D<sub>3</sub> 함량이 매우 높은 것을 주목하게 되는데, Adams 등(1982), Holick(1987), 장운환 등(1992ab)도 그러한 경향을 발표하였다. 이것은 간에서 25-hydroxylase에 의한 VD<sub>3</sub> → 25(OH)D<sub>3</sub> 반응의 평형은 25(OH)D<sub>3</sub>쪽에 있다는 것을 의미한다.

Okano 등(1978)은 VD 결핍 흰쥐에 85 μW/cm<sup>2</sup>의 선량으로 280~310 nm의 UV를 照射하고 간장중 25(OH)D<sub>3</sub> 농도를 측정하였더니 22.7 ng/g이었다고 하므로 본 연구의 최고치 61.89 ng/g(방법 II, 24시간)보다 낮게 나타났다. 이러한 차이가 종간의 차이 때문인지, 기타 다른 요인에 의한 것인지 분명치 않다. Takeuchi 등(1986)은 몇가지 어류의 간장중 25(OH)D<sub>3</sub> 함량을 측정하였는데, 칠성장어는 10 ng/g, 날개다랑어는 139 ng/g, 가다랑어는 0.1 ng/g을 보였다고 하므로 본 연구결과에 비하여 날개다랑어는 매우 높게, 기타는 조금 낮게 나타났다. Takeuchi 등(1987)은 다른 어류의 간장내 25(OH)D<sub>3</sub>를 발표하였는데, 칠성장어는 9 ng/g, 은연어는 10 ng/g, 꽁치는 35 ng/g, 방어는 4196 ng/g, 날개다랑어는 207 ng/g, 참치는 65 ng/g이었다. Holmes 등(1982)은 2~2.5 kg의 토끼에게 2주일간 체중 kg당 10,000IU의 VD<sub>3</sub>를 급여한 결과 간장 25(OH)D<sub>3</sub>가 58.7 ng/g이었다고 하므로 본 연구의 최고치 61.89 ng/g에 비슷하였다. Gascon-Barre 등(1979)은 VD 결핍 쥐에게 3~7주간 매주 3회 [<sup>14</sup>C]VD<sub>3</sub>를 급여한 결과 간장 25(OH)D<sub>3</sub>가 6 ng/g이었다고 하므로 본 연구결과에 비하여 상당히 낮은 수치였으나, 그 이유에 대해서는 지적하기 어렵다. Rabinowitz 등(1988)은 17일간 3일 마다 0, 4, 16 μg의 [<sup>3</sup>H]VD<sub>3</sub>를 급여한 결과 병아리의 간장중 25(OH)D<sub>3</sub>가 각각 0, 2, 4 ng/g이었다고 하므로 본 연구결과에 비하여 매우 낮은 수치였으나 그 이유는 분명치 않다.

### 3. 골격 VD<sub>3</sub> 함량

자외선 照射方法에 따른 VD<sub>3</sub> 함량변화는 Table 3과 같다. 照射方法 및 경과시간에 따른 경골 및 대퇴골 중의 VD<sub>3</sub> 함량을 분산분석한 결과 照射方法 3처리간에는 유의성이 인정되지 않았으며 경과시간 10처리간

에서는 고도의 유의성이 인정되었다(O<.01). 그러나 照射方法과 경과시간간의 상호작용에서는 유의성이 인정되지 않았다. 경과시간별 VD<sub>3</sub> 함량 관계는 96시간에서 0.99 ng/g으로 가장 높은 값을 보였으며(P<.05), 非照射區에서 가장 낮은 값을 나타내었다. 그리고 18, 24, 144 및 240 경과시간 사이와 0, 6, 12 및 48 경과시간 사이에는 유의차가 없었다.

UVB의 照射方法사이에 유의차가 나타나지 않은 것은 외부에서 생성된 VD<sub>3</sub>가 간장과 신장에서 대부분 25(OH)D<sub>3</sub> 및 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>로 대사되어 버리고 골격의 VD<sub>3</sub>는 유의할만큼 증가시키지 못했기 때문이라 믿는다. 골격이 Ca 흡착 및 동원에는 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>가 적극 관여하며, VD<sub>3</sub>는 별로 영향을 주지 못함을 시사한다. 그러나 UVB 照射時 경과시간간에는 有意差가 나타나 96시간에 최고치를 보였는데, 이는 전술한 바와 같이 간장의 VD<sub>3</sub>도 96시간에 최고치를 보였으므로 골격의 최고치 발현시간과 일치하는 것이다.

Mawer 등(1972)은 사람에게 [1,2-<sup>3</sup>H]VD<sub>3</sub>를 주입하고 골수중의 VD<sub>3</sub> 및 대사물질의 방사능을 측정하였던바 4일후에 총 투여량의 1.8%, 16일후에 2.1% 22일후에 5.5%로 증가되었다고 하므로 본 연구에서 4일(96시간)후 까지 증가하고 그후 감소한 추세 보다 더 오래동안 증가하였다. Wong 등(1972)은 VD 결핍 White Leghorn 병아리에게 [<sup>14</sup>C]VD<sub>3</sub>를 주입하고 골격을 채취하여 경시적으로 VD<sub>3</sub> 함량을 조사하였는데 투여후 10시간까지 계속 상승하였으며 그후 48시간까지 서서히 감소되었다고 하므로 본 연구의 96시간까지 증가된 경향보다 빨리 최고치에 도달했다. 그리고 그들은 골격 g당 0.77 ng의 최고치를 보였다고 하므로 본 연구의 96시간대의 1.19 ng/g 보다 조금 낮았다. 이상과 같이 본 연구 결과와 차이를 보인 경우도 있었는데 동물의 종, 품종에 따르는 차이, 방사성 동위원소를 이용한 차이 등에서 유래된 것 같다. Haussler와 Norman(1967)은 구루병의 White Leghorn 병아리에게 [4-<sup>14</sup>C]VD<sub>3</sub>를 주입하고 18시간 후에 골격의 VD<sub>3</sub>함량을 조사하였더니 골격 전체(체중의 15%)에 0.77 ng 들어 있었다고 하였는데 본 연구에서는 방법 II의 96시간 후 병아리는 평균 체중이 205.36 g이었고 골격 중량이 36.66 ng이었으므로 VD<sub>3</sub>농도 1.19 ng/g을 곱하면 36.66 ng이 되므로 그들의 함량 0.77

**Table 3.** The content of tibia and femur vitamin D<sub>3</sub> in broiler chicks fed vitamin D deficient diet for 3 wk in the house where the sunlight was cut off and exposed to UVB light by different procedures

Elapsed time*	UVB irradiation procedure <sup>#</sup>			Mean
	I	II	III	
h	ng / g, mean ± SEM (n=3)			
-6	0.16 ± 0.02 <sup>d</sup>	0.16 ± 0.04 <sup>e</sup>	0.16 ± 0.03 <sup>e</sup>	0.16 ± 0.03 <sup>d</sup>
0	0.37 ± 0.06 <sup>cd</sup>	0.39 ± 0.05 <sup>cde</sup>	0.31 ± 0.02 <sup>de</sup>	0.35 ± 0.04 <sup>c</sup>
6	0.35 ± 0.09 <sup>cd</sup>	0.33 ± 0.05 <sup>de</sup>	0.25 ± 0.03 <sup>de</sup>	0.31 ± 0.05 <sup>cd</sup>
12	0.23 ± 0.02 <sup>d</sup>	0.31 ± 0.05 <sup>e</sup>	0.24 ± 0.03 <sup>de</sup>	0.26 ± 0.03 <sup>cd</sup>
18	0.73 ± 0.08 <sup>bc</sup>	0.86 ± 0.12 <sup>b</sup>	0.67 ± 0.06 <sup>ab</sup>	0.75 ± 0.09 <sup>b</sup>
24	0.56 ± 0.09 <sup>bc</sup>	0.68 ± 0.08 <sup>bc</sup>	0.53 ± 0.07 <sup>cd</sup>	0.59 ± 0.08 <sup>b</sup>
48	0.37 ± 0.06 <sup>cd</sup>	0.30 ± 0.04 <sup>e</sup>	0.42 ± 0.05 <sup>cd</sup>	0.36 ± 0.05 <sup>c</sup>
96	0.97 ± 0.21 <sup>a</sup>	1.19 ± 0.22 <sup>a</sup>	0.83 ± 0.15 <sup>a</sup>	0.99 ± 0.19 <sup>a</sup>
144	0.61 ± 0.19 <sup>ab</sup>	0.65 ± 0.15 <sup>bc</sup>	0.66 ± 0.08 <sup>ab</sup>	0.64 ± 0.14 <sup>b</sup>
240	0.67 ± 0.06 <sup>abc</sup>	0.63 ± 0.04 <sup>bcd</sup>	0.68 ± 0.06 <sup>ab</sup>	0.66 ± 0.05 <sup>b</sup>
Mean	0.50 ± 0.09	0.55 ± 0.08	0.47 ± 0.06	0.51 ± 0.03

Analysis of variance:

Irradiation procedures; NS

Elapsed times; P < .01

Irradiation procedures x elapsed time; NS

\* Elapsed time after last irradiation.

# Procedure I; Intergrated dose of 0.204 mJ / cm<sup>2</sup> was irradiated for 30 min without interval.

Procedure II; A dose of 0.068 mJ / cm<sup>2</sup> was irradiated for 10 min and repeated for 3 times with 12 h intervals.

Procedure III; Same irradiation as Procedure II but 24 h intervals.

<sup>ad</sup> Values with different superscripts within same columns are significantly different (P < .05).

ng이 매우 적게 나타났다. 그들은 고전적인 Sephadex LH-20 column으로 VD<sub>3</sub>를 분리하였기 때문에 회수율이 낮게 나온 것이 아닌가 생각된다.

Hausler와 Rasmussen(1972)는 구루병의 백색 레그혼 병아리에 [1,2-<sup>3</sup>H]VD<sub>3</sub>를 주입하고 골격중의 VD<sub>3</sub>함량을 조사하였더니 골격 전체에 2.62 ng 들어 있었다고 하므로 본 연구의 방법 II의 96시간에 나타난 36.66 ng에 비하여 매우 낮았다. 역시 그들은 Sephadex LH-20 column으로 VD<sub>3</sub>를 분리하였다.

#### 4. 골격 25(OH)D<sub>3</sub> 함량

자외선 照射方法에 따른 25(OH)D<sub>3</sub> 함량변화는

Table 4와 같다. 照射方法 및 경과시간에 따른 25(OH)D<sub>3</sub> 함량을 분산분석한 결과 照射方法의 3처리간 및 경과시간 10처리간에 각각 고도의 유의성이 인정되었으나 (P < .01) 照射方法 및 경과시간간의 상호작용에서는 유의성이 인정되지 않았다. 照射方法에 따른 경골 및 대퇴골중 25(OH)D<sub>3</sub> 함량변화는 방법 I에서 낮게 나타나았으며 방법 II와 III사이에서는 유의차가 인정되지 않았으나 방법 I 보다 높게 나타났다. 방법 II에서 18.79 ng / g, 방법 III에서 17.73 ng / g으로서 방법 I의 15.55 ng / g보다 높게 나타났다 (P < .05). 다음 경과시간별 평균 함량을 보면 12시간에서 31.17 ng / g로 가장 높게 나타났고 (P < .05) 그후 감

**Table 4.** The content of tibia and femur 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in broiler chicks fed vitamin D deficient diet for 3 wk in the house where the sunlight was cut off and exposed to UVB light by different procedures

Elapsed time*	UVB irradiation procedure#			
	I	II	III	Mean
h	ng /g, mean ± SEM (n=3)			
-6	9.87±0.50 <sup>d</sup>	9.87±0.62 <sup>f</sup>	9.87±0.52 <sup>f</sup>	9.87±0.55 <sup>f</sup>
0	12.35±0.38 <sup>cd</sup>	17.36±1.48 <sup>cde</sup>	16.39±1.37 <sup>cde</sup>	15.37±1.08 <sup>e</sup>
6	13.82±1.03 <sup>d</sup>	12.56±0.94 <sup>ef</sup>	13.13±1.69 <sup>def</sup>	12.17±1.2 <sup>f</sup>
12	28.12±2.04 <sup>a</sup>	34.57±3.17 <sup>a</sup>	30.82±2.67 <sup>a</sup>	31.17±2.63 <sup>a</sup>
18	20.33±2.14 <sup>b</sup>	21.72±2.80 <sup>bc</sup>	17.46±0.90 <sup>cd</sup>	19.84±1.95 <sup>bc</sup>
24	19.47±2.57 <sup>b</sup>	21.02±0.90 <sup>b</sup>	23.94±1.70 <sup>b</sup>	22.48±2.06 <sup>b</sup>
48	17.04±1.29 <sup>bc</sup>	20.42±2.76 <sup>bcd</sup>	18.42±1.05 <sup>c</sup>	19.63±1.70 <sup>cd</sup>
96	10.03±1.03 <sup>d</sup>	14.86±2.50 <sup>def</sup>	12.17±2.15 <sup>ef</sup>	12.35±1.89 <sup>f</sup>
144	14.14±1.68 <sup>cd</sup>	16.14±1.27 <sup>cdef</sup>	17.17±1.01 <sup>cd</sup>	15.82±1.32 <sup>de</sup>
240	13.34±1.16 <sup>cd</sup>	16.37±1.06 <sup>cde</sup>	17.93±1.82 <sup>cd</sup>	15.88±1.35 <sup>de</sup>
Mean	15.55±1.38 <sup>n</sup>	18.79±1.85 <sup>m</sup>	17.73±1.49 <sup>m</sup>	17.36±0.58

Analysis of variance:

Irradiation procedures; P<.01

Elapsed times; P<.01

Irradiation procedures x elapsed time; NS

\* Elapsed time after last irradiation.

# Procedure I ; Intergrated dose of 0.204 mJ /cm<sup>2</sup> was irradiated for 30 min without interval.

Procedure II ; A dose of 0.068 mJ /cm<sup>2</sup> was irradiated for 10 min and repeated for 3 times with 12 h intervals.

Procedure III ; Same irradiation as Procedure II but 24 h intervals.

<sup>a-f</sup> Values with different superscripts within same columns are significantly different (P<.05).

<sup>m,n</sup> Values with different superscripts within the row are significantly different (P<.05).

소하여 240시간에서 15.88 ng /g을 보였으며 이는 非照射區의 9.87 ng /g보다 통계적으로 높은 수준이었다.

골격중 25(OH)D<sub>3</sub>는 12시간에 1회 증가하는 모습을 보인 반면 VD<sub>3</sub>는 3회 증가하는 추세를 보여 차이를 나타내었는데 그 이유를 확실할 수 없으나, 25(OH)D<sub>3</sub> 보다 VD<sub>3</sub>가 변이가 더 크게 나타나는 것은 VD<sub>3</sub>가 25(OH)D<sub>3</sub>의 전구체이기 때문에 체내에서 요구되는 일정량의 25(OH)D<sub>3</sub>를 공급하기 위하여 VD<sub>3</sub>가 항상 충분한 양 존재하여야 하며 이를 위하여 VD<sub>3</sub>가 피부에서 다량 만들어져야 하나 자외선도 못 받고 VD<sub>3</sub>의 경우투여도 없었으므로 고갈상태에 있다가 갑

자기 자외선을 받으니까 피부에서 최대한 VD<sub>3</sub>가 만들어질 것이며 이것이 골격까지 도달하는데 시간이 걸리므로 도중에 다른 조직에서 이용되는 양이 반영되어 굴곡이 나타나는 것으로 생각된다.

UVB 照射方法 사이에 유의차가 인정되었고 방법 II 또는 III이 I보다 더 높은 수치를 보였는데, 이는 연속 30분간 照射보다 간격을 두고 10분씩 3回 照射하는 것이 더 바람직하다는 뜻이다. 골격의 VD<sub>3</sub> 함량에서는 照射方法間에 유의차가 없었으나 25(OH)D<sub>3</sub> 함량에서는 이처럼 처리간에 유의차를 나타내어 골격이 VD<sub>3</sub>보다 25(OH)D<sub>3</sub>를 더 예민하게 수용한다는 것을 알 수 있다. 본 연구에서는 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>를 전 시료에

걸쳐 분석하지 못하였으나, 골격이 VD<sub>3</sub> 대사물질의 목표조직이므로 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>가 더욱 예민한 반응을 보일런지 모른다. 그리고 照射後 경과시간별로 보았을 때 12시간이 최고치를 보였는데, 이는 간장중의 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>와 일치한다. VD<sub>3</sub>의 최고치 발현시간 96시간 보다 무려 84시간이나 빨리 최고치에 도달하였으므로, 본 연구에 사용된 병아리는 비타민 D결핍이 매우 심하여 신속하게 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>로 대사되도록 하고 골격의 Ca 흡착에 신속히 대응하였음을 알 수 있다.

Haussler와 Norman(1967)은 전체 골격중에 3.12 ng의 25(OH)D<sub>3</sub>가 함유되어 있었다고 하였는데 본 연구의 방법 II의 12시간 후의 34.57 ng/g을 근거로 골격 중량 32.39 g(체중 215.90 g의 15%)에 곱하면 1,112 ng이 되므로 그들의 수치에 비하여 매우 높다. 그들은 고전적인 방법으로 Sephadex LH-20 column을 이용하여 25(OH)D<sub>3</sub>를 분리하였으며, 직접방법이 아니고 방사성 동위원소를 이용하는 간접 방법으로 25(OH)D<sub>3</sub>함량을 측정하였기 때문에 회수율에 문제가 있었는지 모른다. Haussler와 Rasmussen(1972)은 VD 결핍 병아리에 [1,2-<sup>3</sup>H]VD<sub>3</sub>를 주입하고 골격중의 25(OH)D<sub>3</sub> 함량을 측정하였더니 골격 전체에 9.34 g 들어 있었다고 하므로 본 연구의 방법 II의 12시간 후 값 1,112 ng보다 매우 낮다. 그들은 Haussler와 Norman(1967)의 방법을 이용하였기 때문에 낮게 나온 것 같다.

종합적으로 고찰하여 보면, 다시 말해서 본 연구에서 조사된 4개 항목을 묶어서 검토하기 위하여 Table 5를 만들었는데, UVB 照射方法 3종中 방법 II가 가장 좋은 것으로 보이며 경과시간에 따라 고찰했을 때 간장과 골격 모두에서 VD<sub>3</sub>는 96시간에, 25(OH)D<sub>3</sub>는 12 시간에 최고치를 나타내어 25(OH)D<sub>3</sub>가 VD<sub>3</sub>보

다 더 신속하게 구루병에 대처하며 구루병을 치료하는데에 VD<sub>3</sub>보다 25(OH)D<sub>3</sub>가 더 유효하다는 것을 간접적으로 보여 주었다. 그리고 간장에서는 2성분 모두 照射方法과 경과시간간의 상호작용이 인정되었으나 골격에서는 유의성이 나타나지 않았다.

즉, 간장의 VD<sub>3</sub> 함량을 볼 때 (Table 1) 照射方法 3종 모두 96시간에 최고치를 보였으나 방법 II가 다른 2방법보다 96시간의 VD<sub>3</sub> 함량을 더 증가시켰다는 것을 의미한다. 방법 II 즉 10분間씩(0.068mJ/cm<sup>2</sup>) 12시간 간격으로 照射할 때 가장 적당하다는 뜻이다.

## 적 요

본 연구는 비타민 D 결핍 병아리에 상이한 방법으로 중파자외선(UVB)을 照射하고 경과시간에 따라 간장, 경골 및 대퇴골을 채취하여 vitamin D<sub>3</sub>(VD<sub>3</sub>) 및 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>[25(OH)D<sub>3</sub>] 함량을 측정코자 실시되었다. Hubbard 계통 초생추 155수(3 照射 방법 × 10 경과시간 × 5 반복 + 회수시험용 5수)를 무창약등의 육추사에 넣고 VD 결핍사료(A.O.A.C., 1990)로 3주간 사육한뒤 0.068 mJ/cm<sup>2</sup>(10분간 照射시 집적선량)로 297 nm의 UVB 광선을 3회 照射하되 照射 간격을 0, 12 또는 24시간(방법 I, II 또는 III)으로 하였으며 照射後 -6, 0, 6, 12, 18, 24, 48, 96, 144 또는 240시간 에 병아리의 간장, 경골 및 대퇴골을 채취하였다. 각 시료로부터 지질을 추출하고 Sep-Pak silica cartridge로 VD<sub>3</sub> 및 25(OH)D<sub>3</sub> 분획을 취하였으며 순상 HPLC에 의해 각 시료중의 농도를 측정하였다. 간장의 평균 VD<sub>3</sub> 농도를 보면 UVB 방법 II가 방법 III과 I 보다 높았으며(P<.05), 96시간에 최고치를 보였다(13.08 ng/g). 照射방법과 경

**Table 5.** Comparison of irradiation procedure, peak time after UVB irradiation and interaction between irradiation procedure and elapsed time

Items investigated	Comparison of concentration	Peak time after last irradiation	Interaction between two factors
Liver VD <sub>3</sub>	II > III = I	96 h	significant (P<.05)
25(OH)D <sub>3</sub>	II > III > I	12	highly significant (P<.01)
Bone VD <sub>3</sub>	II = III = I	96	NS
25(OH)D <sub>3</sub>	II = III > I	12	NS

과시간사이의 상호작용이 인정되었다( $P < .05$ ). 간장 중의 25(OH)D<sub>3</sub>함량은 방법 II, III, I의 순으로 나타났다으며( $P < .05$ ), UVB 照射 후 12시간에 최고치를 기록하였다(54.71 ng/g). 골격중 VD<sub>3</sub>의 평균함량을 보면 照射方法사이에 유의차가 없었으나, 10개의 照射 후 경과시간사이에는 유의차( $P < .05$ )가 나타나 96시간 후에 최고치(0.99 ng/g)를 보였다. UVB照射方法과 照射후 경과시간 사이의 상호작용은 인정되지 않았다. 골격중 25(OH)D<sub>3</sub>의 평균 함량에서는 방법 II (18.79 ng/g)와 III(17.33 ng/g)이 I (15.55 ng/g)보다 높게 나타났고( $P < .05$ ), UVB 照射후 12시간에 최고치(31.17 ng/g)를 나타내었으며( $P < .05$ ), 照射方法과 照射후 경과시간 사이의 상호작용은 인정되지 않았다. 따라서 UVB를 照射하여 간장과 골격의 VD<sub>3</sub> 및 25(OH)D<sub>3</sub>를 더 많이 생성시키기 위해서는 방법 I이나 III보다 II가 더 바람직하다는 것을 보여 주었으며 양 조직에서 VD<sub>3</sub>보다 25(OH)D<sub>3</sub>가 더욱 신속하게 증가되었고, 병아리의 구루병을 치유하기 위하여 더욱 신속히 이용된다는 것이 증명되었다.

(색인: 자외선 조사, 육계 병아리, 간장, 골격 비타민 D<sub>3</sub>)

## 인용문헌

- Adams JS, Clemens TL, Parrusg JA, Holick MF 1982 Vitamin D synthesis and metabolism after ultraviolet irradiation of normal and vitamin D deficient subjects. *New Engl J Med* 306:722-725.
- AOAC 1990 Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Arlington VA, Pages 1094-1095.
- Billaudel B, Delbancut A, Sutter B, Faure A 1991 Mechanism of action of 1,25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> on islets insulin secretion from vitamin D<sub>3</sub> deficient rats. In: Norman AW et al ed. Vitamin D: Gene regulation, structure-function analysis and clinical application. Water de Gruyter, NY, Pages 337-338.
- Chen TC, Turner AK, Holick MF 1990a A method for the determination of the circulating concentration of vitamin D. *J Nutr Biochem* 1:272-276.
- Duncan DB 1955 Multiple range and multiple F tests. *Biometrics* 11:1-42.
- Chen TC, Turner AK, Holick MF 1990b Methods for the determination of the circulating concentration of 25-hydroxyvitamin D. *J Nutr Biochem* 1:315-319.
- Folch JM, Lee M, Sloanestanley GH 1957 A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. *J Biol Chem* 226:497-509.
- Gascon-Barre M, Hollis B, Mah S 1979 Effective liver 25-hydroxylation of vitamin D under chronic ethanol administration in the rat. In: Norman AW, Schaefer K, Herrath DV, Grigoleit H-G, Coburn JW, DeLuca HF, Mawer EB, Suda T 1979 Vitamin D : Basic Research and Its Clinical Application (Proceedings of the fourth workshop on vitamin D. Berlin, West Germany, February 1979). Walter de Gruyter, Berlin, NY, Pages 479-482.
- Haussler MR, Norman AW, 1967 *Arch Biochem Biophys* 118:145 In: Norman AW 1979 Vitamin D: The Calcium Homeostatic Steroid Hormone. Academic Press NY, Page 205.
- Haussler MR, Norman AW 1969 *Proc Nat Acad Sci USA* 62:115. In: Norman AW 1979 Vitamin D: The Calcium Homeostatic Steroid Hormone, Academic Press NY, Page 202.
- Haussler MR, Rasmussen H 1972 The metabolism of vitamin D<sub>3</sub> in the chicks. *J Biol Chem* 247(8) :2328-2335.
- Holick MF, 1984 The photobiology of vitamin D<sub>3</sub> in man. In:Kumar R ed. Vitamin D, Pages 197-216.
- Holick MF, 1987 Vitamin D and the kidney. *J*

- Kidney International 32:912-929.
- Holmes RP, 1982 Tissue infiltration of vitamin D and 25-hydroxyvitamin D during hypervitaminosis D. In: Norman AW, Schaefer K, Grigoleit H-G, Herrath DV ed. 1982 Vitamin D: Chemical, Biochemical and Clinical Endocrinology of Calcium Metabolism. Pages 567-569.
- Mawer EB, Backhouse H, Hohman CA, Lumb GA, Stanbury SW 1972 Clin Sci 43:413. In: Norman AW 1979 Vitamin D: The Calcium Homeostatic Steroid Hormone, Academic Press NY, Page 203.
- Neville PF, DeLuca HF 1966 Biochemistry 5:2201. In: Norman AW 1979 Vitamin D: The Calcium Homeostatic Steroid Hormone, Academic Press NY, Page 203.
- Okano T, Mizuno K, Kobayashi T 1978 Identification and determination of 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in the blood and liver of vitamin D-deficient rats irradiated with ultraviolet light. J Nutr Sci Vitaminol 24:511-518.
- Rabinowitz L, Pettifor JM, Ross FP 1988 The effect of vitamin D status of vitamin D metabolism in chicks. In: Norman AW, Schaefer K, Grigoleit H-G, Herrath DV ed. 1982 Vitamin D: Chemical, Biochemical and Clinical Endocrinology of Calcium Metabolism. Pages 135-136.
- Ray R, Rose A, Holick SA, Holick MF 1985 Evaluation of a photolabile derivative of 1, 25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> as a photoaffinity probe for 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptor in chick intestinal cytosol. Biochem Biophys Res Comm 132:198-203.
- Smith EL, Holick MF 1987 The skin: The site of Vitamin D<sub>3</sub> synthesis and a target tissue for its metabolite 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. Steroids 49:103-131.
- Snyder LR, Kirkland JJ 1979 Introduction to modern liquid chromatography. Pages 544-549.
- Steele RGD, Torrie JH 1980 Principles and Procedures of Statistics. McGraw-Hill Book Co. NY.
- Takeuchi A, Okano T, Sayamoto M, Sawamura S, Kobayashi T, Motosugi M, Yamakawa T 1986 Tissue distribution of 7-dehydrocholesterol, vitamin D<sub>3</sub> and 25-Hydroxyvitamin D<sub>3</sub> in several species of fishes. J Nutr Sci Vitaminol 32:13-22.
- Takeuchi A, Okano T, Torii M, Hatanaka Y, Kobayashi T 1987 Comparative studies on the contents of vitamin D<sub>3</sub>, 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> and 7-dehydrocholesterol in fish liver. Comp Biochem Physiol 88B(2):569-573.
- Wong KG, Myrtle JF, Tsai HC, Norman AW 1972 Studies on calciferol metabolism(The occurrence and biological activity of 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in bone). J Biol Chem 247:5728-2735
- 이흥락 1989 현대정량분석화학 형설 출판사 Pages 474-476.
- 장윤환 강훈석 여영수 김강수 조인호 배은경 1992a 相異한 線量の 紫外線을 照射한 브로일러 병아리에 있어서 肝臟 維生素 D 濃도의 輕時的 變化. 韓畜誌 34:288-292.
- 장윤환 강훈석 여영수 김강수 조인호 배은경 1992b 相異한 線量の 紫外線을 照射한 브로일러 병아리에 있어서 肝臟 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> 含量的 輕時的 變化. 家禽誌 19(4):217-225.
- 장윤환 강훈석 여영수 김강수 조인호 배은경 1993 相異한 線量の 紫外線을 照射한 브로일러 병아리의 血漿 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub>의 輕時的 變化. 韓營飼誌 17(4):173-182.