J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.
30(6), 1278~1282(2001)

한국식품영양과학회지

Astaxanthin 처리 산란계로부터 생산된 난황의 Mouse에 대한 Catabolic Response Overcome 효과

김홍출* · 박숙자 · 박철우 · 김영림 · 김정환 · 최의성** · 조현종*** · 조용운* · 하영래†

경상대학교 응용화학식품공학부, *진주산업대학교 미생물공학과
**생명공학연구소 응용미생물연구부, ***농협중앙회 식품연구소

Overcome Effect of Catabolic Response in Mouse by the Egg Yolks from Laying Hens Intubated Astaxanthin

Hong-Chul Kim*, Sook-Jahr Park, Cherl-Woo Park, Young-Rim Kim, Jeong-Hwan Kim, Eui Sung Choi, Hyeon-Jong Cho***, Yong Un Cho* and Yeong Lae Ha†**

Division of Applied Life Sciences and Institute of Agriculture and Life Sciences, Graduate School, Gyeongsang National University, Chinju 660-701, Korea
**Dept. of Microbiological Engineering, Chinju National University, Chinju 660-758, Korea*
***Applied Microbiology Research Division, Korea Research Institute of Biosicence & Biotechnology (KRIBB), Daejeon 305-600, Korea*
****Food Research Institute, National Agricultural Cooperative Federation, Goyang 412-707, Korea*

Abstract

Effect of the egg yolks from laying hens intubated, p.o., astaxanthin (designated AEY) on the catabolic response overcome of mice was examined. Female ICR mice (6~7 weeks of age) were adapted in a temperature- and humidity-controlled house for one week and randomly divided into 5 groups (6 mice/cage/treatment). Mice were intubated p.o., AEY (5, 10 and 15 mg), control egg yolk (CEY, 10 mg), or fish oil (5 mg) dissolved in 0.2 mL phosphate buffered saline (PBS) every two days for 14 days. At day 15, the 0.1 mL of lipopolysaccharide solution (LPS, 30 μg/0.1 mL 10 mM HEPES) was injected through tail vein, and then, the body weight of mouse and the amount of feed intake were measured over a period of 72 hours. Control group mice were received only PBS and LPS. AEY treatment suppressed the loss of mice body weight in a dose-response manner. Twenty four hours post LPS injection, the reduced body weight per mouse of AEY 5, AEY 10, and AEY 15 mg treatment groups was 3.70, 3.54, and 3.25 g, respectively. Body weight suppression effect of AEY treatment was greater than that of CEY, but less than fish oil. AEY treatment did not alter thymus weight, but increased the weight of spleen or liver. These results indicate that AEY suppressed the loss of body weight by LPS via any function of the spleen and/or liver.

Key words: astaxanthin, egg yolk, catabolic response, lipopolysaccharide

서 론

Astaxanthin(Fig. 1)은 vitamin A의 전구체이며 carotenoid계 중 xanthophyll에 속하는 색소로 자연계에 널리 분포되어 있다(1,2). 뱀장어 지느러미의 주요 carotenoids와 연어의 근육에 특유한 분홍색을 나타내는 주성분이 astaxanthin임이 보고되었다(2-4). 대부분의 astaxanthin은 화학적으로 합성하여 담수어 및 해수어에 착색효과를 나타내기 위해 사용되어 왔는데 주로 연어와 송어류 등의 급이 사료에 첨가함으로써 근육의 착색효과를 향상시키는 목적으로 많이 이용되어 왔다(4-7).

Astaxanthin은 근육 내에서 대사되어 여러 가지 대사산물로 변환된다. Schiedt 등 (6)은 무지개 송어에 astaxanthin을 투여한 결과, astaxanthin이 간장에서 β-carotene을 거쳐 vitamin A_1 alcohol로 전환되고, 다시 vitamin A_2 alcohol로 대사된다고 보고하였다. Park(4)은 선천어와 뱀장어에 astaxanthin을 급여한 결과, astaxanthin이 triol을 거쳐 zeaxanthin으로, Davies와 Davies(8)는 은어에 astaxanthin을 투여한 결과, vitamin A_2 alcohol로 전환된다고 보고하였다(8).

Astaxanthin은 13개의 공역이중결합을 갖는 구조상의 특징으로 항암성(9-13) 및 항산화성(14-17)을 갖는다고 알려졌다. Tanaka 등은 4-nitroquinoline-1-oxide(4-NQO)를 male

†Corresponding author. E-mail: ylha@nongae.gsnu.ac.kr
Phone: 82-55-751-5471, Fax: 82-55-757-0178

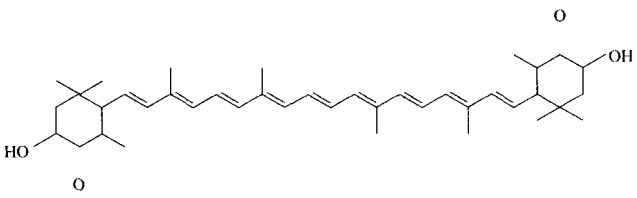

Fig. 1. Chemical structure of astaxanthin.

rat에 경구 투여한 다음 32주간 사육하여 colon carcinogenesis (12)와 oral carcinogenesis(13)에 대한 항암성이 있음을 보고하였다. Christiansen 등(14)과 Jyonouchi 등(18)은 astaxanthin의 항암효과와 관련한 면역증강효과에 대해 보고하였다. Astaxanthin의 항산화성에 관한 연구로 Kobayashi 등(19)이 녹조류를 이용해 astaxanthin의 항산화 역할을 보고한 것이 있다. Wattenberg(20)도 일반적으로 많은 항산화제가 항암성이 있는 것으로 보고하였다. 이러한 항산화성은 astaxanthin의 singlet oxygen quenching 작용(16,21-24)과 항산화작용(3,23,25,26)으로 나타나 있으며, 동물의 근육이나 간에서 retinol이나 α-tocopherol의 축적을 촉진하는 작용(14) 등에서도 찾아 볼 수 있다. 면역 증강성에 관한 효과는 Christiansen 등(14)이 대서양 연어 등에서 보고한 바가 있고, Jyonouchi 등(18,27)도 astaxanthin의 면역조절 효과를 보고하였다.

이러한 여러 가지 생리활성을 지닌 astaxanthin을 사료 첨가제로 사용하기 위해서 많은 양의 astaxanthin 생산이 필요하게 되었다. 최근에 Fang과 Cheng(1)에 의해 *Phaffia rhodozyma*의 변이주가 개발되어 상당량(3.5 mg/g yeast)의 astaxanthin을 생산할 수 있게 되었다. 이 astaxanthin을 닭사료 첨가제로 사용하여 생산한 난황(AEY)은 benzo[α]pyrene (BP)으로 유발한 mouse carcinogenesis의 initiation 단계를 저해하였고(10), 7,12-Dimethylbenz[α]anthracene(DMBA)으로 유발한 two-stage mouse skin carcinogenesis의 개입단계를 저해하는 항암작용이 있었다(11). 그러나 이 난황의 면역성에 관한 연구는 보고된 바가 없다.

본 연구에서는 astaxanthin을 산란계에 경구 투여하여 얻은 난황이 LPS로 처리된 mouse의 catabolic response overcome 효과에서 면역증강 효과가 있었기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

재료

부화 후 85일 경과한 산란계인 하이라인 브라운을 구입하여 5주 동안 실험조건에 적응시킨 다음 astaxanthin(Sigma, St. Louis, USA) 4 mg씩을 매일 1회씩 7일 동안 경구 투여하여 7일째에 얻은 AEY를 acetone(1 g/10 mL)으로 추출하여 용매제거 후 사용하였다. AEY는 carotenoid계 색소를 함유하는 적황색을 나타내었다. 무처리 산란계의 난황은 acetone(1 g/10 mL)으로 추출하고 용매제거 후 control egg yolk(CEY)로 사용하였다. ICR mouse(female, 6~7 주령), mouse용 chow사료, β-chip은 효창 Science사(Daegu, Korea)로부터 구입하였다. Lipopolysaccharide(LPS)와 N-[2-hydroxyethyl]piperazine-N'-[2-ethanesulfonic acid] (HEPES)은 Sigma (St. Louis, USA)에서 구입하였다. 그 외 사용된 일반시약은 특급 내지 1급 이상이었다.

Carotenoid의 추출

시료난황에 함유된 carotenoids의 추출은 Fig. 2와 같이 실시하였다(28,29). 먼저 시료를 실온에서 acetone으로 1차 추출한 후에 petroleum ether와 다량의 물을 첨가하여 2차 추출하였다. Petroleum ether층은 모아서 무수 Na_2SO_4로 수분을 완전히 제거한 후 40°C 이하의 N_2 gas 하에서 진공농축 하였다. 최종 농축액은 60% KOH/MeOH 용액으로 검화하였다(28). Total carotenoids는 불검화물에서 얻을 수 있었다.

Carotenoids 성분의 분리 및 정량

Fig. 2의 방법으로 추출된 carotenoids를 TLC와 Sumichiral OA-2000 column(4 mm, i.d×250 mm)이 부착된 HPLC(Waters, USA)로 분석하여 크로마토그램을 얻었다(Fig. 3). 이때 사용된 이동상은 hexane/dichloromethane/EtOH(50/20/0.5, v/v/v)였다. Carotenoids의 함량은 가시부 흡수 spectrum의 흡수극대치의 흡광도를 McBeth의 방법(30)에 따라 흡광계수 $E^{1\%}_{1cm}$(2,400)으로 하여 계산하였으며, 각 분획의 carotenoid 조성비는 다음 식과 같이 계산하였다. Total carotenoid content(mg%)=[O.D.(λ_{max})×vol×1,000]/$E^{1\%}_{cm}$ (2,400) ×sample(g). 각 carotenoid의 조성(%)은 HPLC의 peak area %로 나타내었다.

동물실험

Female ICR mouse를 처리당 6마리(6 mice/cage/treatment; cage당 mice의 평균무게가 동일)로 나누어 온도(20±2°C)와

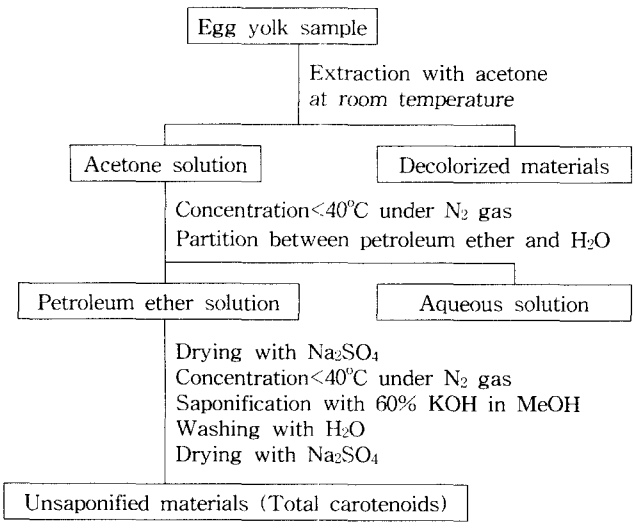

Fig. 2. Extraction procedure of total carotenoids from egg yolks sample.

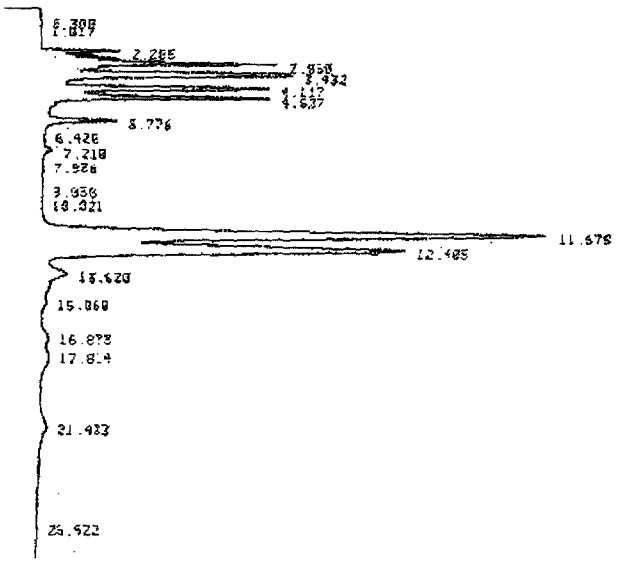

Fig. 3. Typical HPLC chromatogram of the acetone extract of AEY.
Peak identification: RT 2.285, β-Carotene; RT 3.432, α-Cryptoxanthin; RT 4.117, β-Cryptoxanthin; RT 4.637, Canthaxanthin; RT 11.678, Lutein; RT 12.405, Zeaxanthin; RT 13.620, Cynthiaxanthin; RT 17.824, Triol; and RT 21.483, Astaxanthin.

습도(60%)가 조절되는 시설에서 물과 chow diet(Daegu, Korea)를 자유롭게 먹도록 하면서 1주일간 사육하여 적응시켰다. 1주일 후에 AEY (5, 10, 15 mg)와 CEY(10 mg), fish oil(menhaden oil)을 각각 0.2 mL PBS에 용해하여 2일 간격으로 14일간 경구투여 하였다. Control구는 PBS만 처리하였다. 마지막 시료처리 다음날(15일째), 각 mouse의 무게를 달고 LPS(30 μg/0.1 mL sterile 10 mM HEPES)를 mouse의 꼬리 정맥에 0.1 mL씩 주사하였다.

Catabolic overcome 조사

LPS를 주사한 직후를 0시간으로 하여 시간 경과(3, 8, 24, 48, 72시간)에 따른 mouse 몸무게와 사료 섭취량을 조사하였다. LPS 처리 72시간 후에 모든 mouse을 희생시켜 비장, 흉선, 간을 추출한 후 각각의 무게를 조사하여 몸무게에 대한 백분율로 표시하였다.

결과 및 고찰

Carotenoids 함량

AEY와 CEY에 함유된 carotenoids를 추출(Fig. 2)하여 TLC로 분리·정제한 후 HPLC로 분석하여 얻은 결과를 Fig. 3과 Table 1에 나타내었다. AEY와 CEY에 함유된 총 carotenoids는 각각 2.88 mg%과 2.58 mg%로 AEY가 CEY보다 다소 높았다. 각 carotenoid 성분을 살펴보면, β-carotene, astaxanthin등의 함량은 AEY와 CEY가 거의 비슷하였고 lutein, zeaxanthin 및 β-crytoxanthin등의 함량은 CEY가 AEY보다 더 높았다. 그런데 CEY에서는 관찰되지 않는 α-cryptoxanthin, cynthiaxanthin, canthaxanthin, triol 등이 총 carotenoids 2.88 mg% 중 각각 7.6, 4.1, 2.8, 2.6%의 비율로 AEY에서 확인되었다. 이는 일반적으로 어류에 astaxanthin을 급이한 경우 β-carotene, triol, zeaxanthin 등으로 대사되어 축적된다는 보고(4;6,31-34)와 유사한 결과이다. 따라서 산란계에서 astaxanthin이 대사되는 경로가 밝혀지지는 않았지만 사료로 섭취된 astaxanthin이 그대로 축적되는 것이 아니라 대사되어 α-cryptoxanthin, cynthiaxanthin, canthaxanthin, triol 등의 대사산물로 AEY에 축적된 것이라 추측할 수 있다.

Table 1. Composition of carotenoids from egg yolks samples

Carotenoid	CEY[1)]	AEY[2)]
β-carotene	10.6	10.7
α-cryptoxanthin	-[3)]	7.6
β-cryptoxanthin	12.3	8.3
Canthaxanthin	-	2.8
Lutein	41.3	32.8
Zeaxanthin	31.3	24.5
Cynthiaxanthin	-	4.1
Triol	-	2.6
Astaxanthin	2.2	2.7
Unidentified carotenoid	2.3	3.9

[1)]Content of total carotenoids in CEY is 2.58 mg%.
[2)]Content of total carotenoids in AEY is 2.88 mg%.
[3)]Not detected.

AEY의 mouse에 대한 catabolic response overcome 효과

LPS로 처리된 mouse의 catabolic response overcome에 AEY가 미치는 영향은 Fig. 4, 5와 같다. LPS의 작용에 의하여 mouse 전 처리구에서 몸무게가 감소되었다(Fig. 4). Control구는 시간이 지남에 따라 급격한 체중감소를 보였으며,

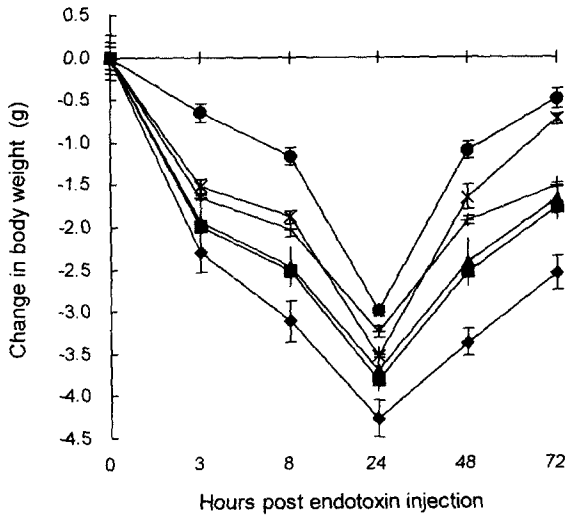

Fig. 4. Effect of the acetone extract of AEY on the body weight of mouse injected with LPS.
Line identification: —◆—, Control; —●—, Fish oil 5 mg; —■—, CEY 10 mg; —▲—, AEY 5 mg; —×—, AEY 10 mg; and —+—, AEY 15 mg.

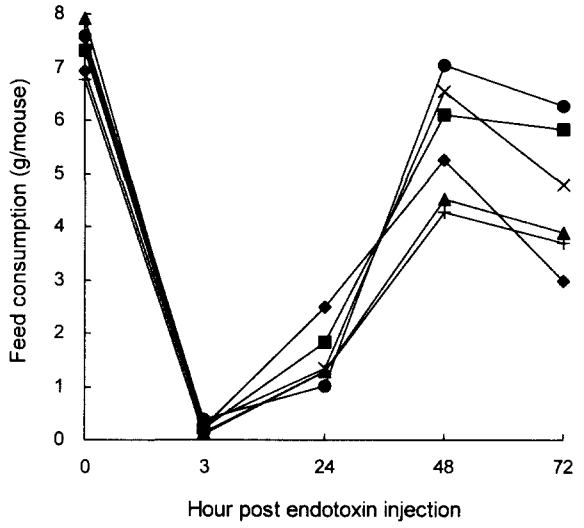

Fig. 5. Effect of the acetone extract of AEY on the food intake of mouse injected with LPS.
Feed intake at zero time means an average food intake by 6 animals consumed for one day before LPS injection. Line identification: —◆—, Control; —●—, Fish oil 5 mg; —■—, CEY 10 mg; —▲—, AEY 5 mg; —×—, AEY 10 mg; and —+—, AEY 15 mg.

LPS 처리 24시간 후에는 처리전보다 4.28 g의 체중 감소를 보였다. 5 mg AEY와 5 mg fish oil을 처리하였을 때, 몸무게 감소량이 각각 3.70, 2.85 g으로 AEY의 몸무게 감소효과는 fish oil 처리구보다는 낮게 나타났다. 하지만, LPS 처리 24시간 후에 5, 10, 15 mg의 AEY를 처리했을 때, 각각 3.70, 3.54, 3.25 g씩 몸무게가 감소하였는데 체중감소량이 4.28 g인 control과 3.83 g인 CEY(10 mg)와 비교할 때, 체중감소 억제효과가 컸다. 이러한 AEY의 체중감소 억제효과는 AEY에만 존재하는 carotenoids(α-cryptoxanthin, cynthiaxanthin, canthaxanthin, triol) 혼합물의 영향이라 추측할 수 있다. 따라서 이들 carotenoid 각각에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것이다.

사료 섭취량은 Fig. 5와 같이 나타났다. AEY를 처리한 mice는 control이나 fish oil 처리 mice와 비슷한 사료를 섭취하였다. 그러나 회복기인 LPS 처리 72시간에는 AEY 처리 mice가 control mice보다 사료섭취량이 많았고 fish oil 처리 mice보다는 낮았다.

AEY의 mouse 면역기관에 미치는 영향

LPS처리 72시간 후, mouse를 희생시켜 면역기관(흉선, 췌장, 간)을 적출하여 각각의 무게를 측정하였다. 몸무게에 대한 면역기관의 무게 비율을 Fig. 6과 같이 나타내었다. 흉선의 무게는 LPS, AEY, fish oil 처리구에서 유의성이 없었다. 췌장과 간의 경우에, AEY의 농도가 증가함에 따라 몸무게에 대한 각 기관의 무게 비율이 점차 증가하였다. 이것은 control과 CEY 처리구보다는 그 수치가 높았으나 fish oil과는 비슷하였다. AEY 처리로 췌장과 간의 체중에 대한 상대적 비율이 증가한다는 사실은 AEY 처리가 면역작용을 하는 세포의 활성에 관여하는 것으로 생각되나 더 연구해야 할 것이다.

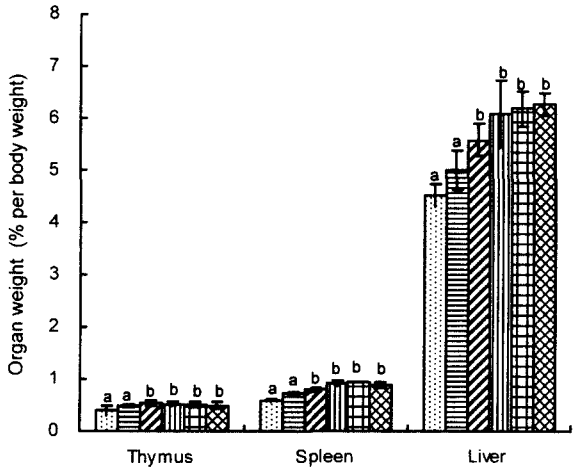

Fig. 6. Effect of the acetone extract of AEY on the weight of immunogenic organs.
Same letter on the bars of each organ is not significantly different at $p<0.05$ by t-test. Bar identification: □, Control; ▨, Fish oil 5 mg; ▤, CEY 10 mg; ▨, AEY 5 mg; ▥, AEY 10 mg; and ▦, AEY 15 mg.

요 약

Astaxanthin을 산란계에 경구 투여하여 얻은 AEY에는 총 2.88 mg%의 carotenoid가 함유되어 있었다. Carotenoid 성분을 HPLC로 분석한 결과, CEY에는 존재하지 않는 α-cryptoxanthin, canthaxanthin, cynthiaxanthin, triol 등이 AEY에서 확인되었다. CEY에서는 존재하지 않기 때문에 이들은 astaxanthin의 대사생성물로 예상할 수 있다. AEY는 LPS로 유발한 mouse의 catabolic response overcome의 효과 시험에서 control구에 비해 유의성있는 체중 감소 억제 효과를 보였다. 또한 AEY는 LPS 처리에 의한 면역기관에 미치는 영향에서는 췌장과 간의 체중에 대한 상대적 비율을 증가시켰다. 따라서 AEY 처리가 면역작용을 하는 세포의 활성에 관여하는 것으로 생각되고 이것은 AEY 처리구에서 관찰되는 α-cryptoxanthin, canthaxanthin, cynthiaxanthin, triol 등에 의한 것으로 추측된다.

감사의 글

이 연구는 농림기술연구개발과제(299017-2)와 과기처의 G-7 연구비에 의해 수행되었음을 감사드립니다.

문 헌

1. Fang, T.J. and Cheng, Y.S. : Improvement of astaxanthin production by *Phaffia rhodozyma* through mutation and optimization of culture conditions. *J. Ferment. Bioengin.*, **75**, 466-469 (1993)
2. Schiedt, K., Leuenberger, F.J. and Vecchi, M. : Natural occur-

rence of enantiomeric and meso-astaxanthin 5. Ex. wild salmon. *Helv. Chim. Acta.*, **64**, 449-457 (1981)
3. Kralow, P.O. : Carotenoids in fish. *Acta Hydrobiol.*, **17**, 311-317 (1975)
4. Park, M.Y. : Metabolism of dietary carotenoids an bioconversion pathways of retinoids in Masu salmon, *Oncorhynchus macrostomus* and Eel, *Anguilla japonica*. *Ph.D thesis*, Gyeonsang National University. (1996)
5. Hata, M. and Hata, M. : Studies on astaxanthin in some freshwater fishes. Tohoku *J. Agric Res.*, **24**, 192-196 (1973)
6. Schiedt, K., Leuenberger, F.J., Vecchi, M. and Grinz, M. : Absorption, retention, and metabolic transformation of carotenoids in rainbow trout, salmon, and chicken. *Pure Appl. Chem.*, **57**, 685-690 (1985)
7. Storebakken, T. and Choubert, G. : Flesh pigmentation of rainbow trout fed astaxanthin or canthaxanthin at different feeding rates in freshwater and saltwater. *Aquaculture*, **95**, 289-295 (1991)
8. Davies, B.W. and Davies, B.H. : Retinol and 3,4-dehydroretinol formation from xanthophylls in the gold fish, *Carassius auratus*. *Biochem. Soc. Trans.*, **14**, 952 (1986)
9. Lee, S.H., Park, C.W., Park, K.A., Lee, Y.C., Choi, E.S. and Ha, Y.L. : Inhibition of sarcoma-180 cell-induced mouse ascites cancer by astaxanthin-containing egg yolks. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.*, **27**, 163-167 (1998)
10. Lee, S.H., Park, C.W., Park, W.S., Lee, Y.C., Choi, E.S. and Ha, Y.L. : Inhibition of benzo[a]pyrene-induced mouse forestomach neoplasia by astaxanthin-containing egg yolks. *Agric. Chem. Biotech.*, **40**, 490-494 (1997)
11. Lee, S.H., Park, C.W., Lee, Y.C., Choi, Y.S., Kim, M.N. and Ha, Y.L. : Inhibition of DMBA-induced mouse epidermal carcinogenesis by astaxanthin-containing egg yolks. *Environmental Mutagens & Carcinogens*, **18**, 22-25 (1998)
12. Tanaka, T., Kawamori, T., Ohnishi, M., Makita, H., Mori, H., Satoh, K. and Hara, A. : Suppression of azoxymethane-induced rat colon carcinogenesis by dietary adminstration of naturally occurring xanthophylls, astaxanthin and canthaxanthin during the postinitiation phase. *Carcinogenesis*, **16**, 2957-2963 (1995)
13. Tanaka, T., Makati, H., Ohnishi, M., Mori, H., Satoh, K. and Hara, A. : Chemoprevention of rat oral carcinogenesis by naturally occurring xanthophylls, astaxanthin and canthaxanthin. *Cancer Res. Baltimore.*, **55**, 4059-4064 (1995)
14. Christiansen, R., Glette, J., Lie, O., Torrissen, O.J. and Waagbo, R. : Antioxidant status and immunity in Atlantic salmon, Salmon salar L., fed semi-purified diets with and without astaxanthin supplementation. *J. Fish Diseases*, **18**, 317-328 (1995)
15. Lalor, S.M. and O'Brien, M.N. : Astaxanthin: Antioxidant effects in chicken embryo fibroblasts. *Nutr. Res.*, **15**, 1695-1704 (1995)
16. Oshima, S., Ojima, F., Sakamoto, H., Ishiguro, Y. and Terao, J. : Inhibitory effect of beta-carotene and astaxanthin on photosensitized oxidation of phospholipid bilayers. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, **39**, 607-615 (1993)
17. Palozza, P. and Krinsky, N.L. : Astaxanthin and canthaxanthin are potent antioxidants in a membrane model. *Arch. Biochem. Biophys.*, **297**, 291-295 (1992)
18. Jyonouchi, H., Sun, S., Tomita, Y. and Gross, M.D. : Astaxanthin, a carotenoid without vitamin A activity, augments antibody responses in cultures including T-helper cell clones and suboptimal doses of antigen. *J. Nutr.*, **125**, 2483-2492 (1995)
19. Kobayalshi, M., Kakizono, T., Nishio, N., Nagai, S., Kurimura, Y. and Tsuji, Y. : Antioxidant role of astaxanthin in the green alga *Haematococcus pluvialis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **48**, 351-356 (1997)
20. Wattenberg, L.W. : Inhibition of neoplasia by minor dietary constituents. *Cancer Res.* (Suppl.), **43**, 2448-2453 (1983)
21. Nobuyoshi, S., Masafumi, G. and Wataru, M. : Carotenoids as singlet oxygen quenchers in marine organisms. *Fisheries Sci.*, **62**, 134-137 (1996)
22. Lee, S.H. and Min, D.B. : Effects, quenching mechanisms, and kinetics of carotenoids in chlorophyll-sensitized photooxidation of soybean oil. *J. Agric. Food Chem.*, **38**, 1630-1634 (1990)
23. Schroeder, W.A. and Johnson, E.A. : Singlet oxygen and peroxyl radicals regulate carotenoid biosynthesis in *Phaffia rhodozyma*. *J. Biol. Chem.*, **270**, 18374-18379 (1995)
24. Schroeder, W.A. and Johnson, E.A. : Carotenoids protect *Phaffia rhodozyma* against singlet oxygen damage. *J. Ind. Micro.*, **14**, 502-507 (1995)
25. Miki, W., Otaki, N., Shimidzu, N. and Yokoyama, A. : Carotenoids as free radical scavengers in marine animals. *J. Mar. Biotechnol.*, **2**, 35-40 (1995)
26. Lee, Y.K. and Ding, S.Y. : Effect of dissolved oxygen partial pressure on the accumulation of astaxanthin in chimostat cultures of *Haematococcus lacustris* (Chlorophyta). *J. Phycol.*, **31**, 922-924 (1995)
27. Jyonouchi, H., Hill, R.J., Tomita, Y. and Good, R.A. : Studies of immunomodulating actions of carotenoids. 1. Effects of beta-carotene and astaxanthin on murine lympocyte functions and cell surface marker expression in *in vitro* culture system. *Nutr. Cancer*, **16**, 93-105 (1991)
28. Lee, H.H., Park, M.Y., Kweon, M.J., Baek, S.H., Kim, S.Y., Kang, D.S. and Ha, S. : Comparison of carotenoid pigments in mandarin fish, *Siniperca scherxeri* and Korean perch, *Coreoperca herzi* in the family serranidae. *J. Korean Soc. Food Nutr.*, **25**, 87-93 (1996)
29. Park, E.S., Kang, D.S. and Ha, B.S. : Comparison of carotenoid pigment in Chinese muddy loach, *Misgurnus mizolepis*, and Muddy loach, *Misgurnus angulillicaudatus*, in the subfamily cobitidae. *Bull. Korean Fish Soc.*, **27**, 265-271 (1994)
30. McBeth, J.W. : Carotenoid from nuddibranshus. *Comp. Biochem. & Physiol.*, **41B**, 55-68 (1972)
31. Katsuyama, M., Komori, T. and Matsuno, T. : Metabolism of three stereoisomers of astaxanthin in the fish, rainbow trout and tilapia. *Comp. biochem. Physiol.*, **86B**, 1-5 (1987)
32. Katsuyama, M. and Matsuno, T. : Carotenoid and Vitamin A and metabolism of carotenoids, astaxanthin, zeaxanthin, lutein and tunaxanthin in *tilapia nilotica*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **90B**, 131-139 (1988)
33. Miki, W.K., Yamaguchi, S., Konosu, T., Takane, M., Satake, T., Fujita, H., Kuwabara, S., Shimeno, S. and Takeda, M. : Origin of tunaxanthin in the integument of yellotail (*Seriola Quinqueradiata*). *Comp. Biochem. Physiol.*, **80B**, 195-201 (1985)
34. Matsuno, T., Katayama, M., Maoka, T., Hirono, T. and Komori, T. : Reductive metabolic pathways of carotenoids in fish (3S, 3'S)-astaxanthin to tunaxanthin A, B and C. *Comp. Biochem. Physiol.*, **80B**, 779-789 (1985)

(2001년 9월 6일 접수)