J Korean Soc Food Sci Nutr
43(11), 1791~1795(2014)

한국식품영양과학회지
http://dx.doi.org/10.3746/jkfn.2014.43.11.1791

채소류의 비타민 K1 분석을 위한 추출방법의 비교

– 연구노트 –

김현기[1] · 최용민[2] · 조영숙[2] · 성지혜[1] · 함현미[1] · 이준수[1]

[1]충북대학교 식품생명공학과
[2]농촌진흥청 국립농업과학원 농식품자원부

Comparison of Extraction Methods for Determination of Vitamin K1 in Vegetables

Hyeongi Kim[1], Youngmin Choi[2], Young-Sook Cho[2], Jeehye Sung[1], Hyeonmi Ham[1], and Junsoo Lee[1]

[1]Brain Korea 21 Center for Bio-Resource Development & Division of Animal, Horticultural, and Food Sciences, Chungbuk National University
[2]National Academy of Agricultural Science, Rural Development Administration

ABSTRACT The objective of this study was to compare two extraction methods for determination of vitamin K1 (phylloquinone) in vegetables. In addition, analytical method validation parameters such as accuracy, precision, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), and linearity were calculated to ensure the method's validity. Vitamin K1 was quantified by reversed-phase HPLC using post-column derivatization and fluorescence detection (Exλ=243 nm, Emλ=430 nm). Higher analytical values were observed using solvent extraction compared to those from the enzyme extraction method. The results from the method validation showed high linearity in the calibration curve with a coefficient of correlation (R^2) of 0.9994. The LOD and LOQ were 0.1335 and 0.2784 ng/injection volume (50 μL), respectively. The inter-day precision and inter-day precision were 2.0% and 2.1%, respectively. Overall recovery was close to 100% (n=5). The phylloquinone contents ranged from 9.42 to 1,212.57 μg/100 g. Our study provides reliable data on the phylloquinone contents in commonly consumed vegetables in Korea.

Key words: vitamin K1, phylloquinone, extraction methods, HPLC, method validation

서 론

비타민 K는 지용성 비타민의 한 종류로써 일반적으로 glutamic acid를 carboxylation 하여 γ-carboxyglutamic acid로 전환하는 과정에서 필수적인 보조인자로 작용하여 응고단백질을 합성하는 데 관여한다(1). 비타민 K는 자연계에서 비타민 K1(phylloquinone)과 비타민 K2(menaquinone)의 형태로 존재하며 phylloquinone은 식물에 의해 합성되고 menaquinone은 미생물에 의해 생성된다. 비타민 K3(menadione)는 화학적 합성으로 생산되며 일반적으로 동물 사료에 이용된다(2). 비타민 K의 기본구조는 2-methyl-1,4-napthoquinone이고, phylloquinone은 napthoquinone 고리의 3번째 탄소 위치에 phytyl side chain을 가지며 2-methyl-3-phytyl-1,4-napthoquinone으로 표시한다. Menaquinone은 2-methyl-3-(prenyl)n-1,4-napthoquinone의 구조로써 side chains의 isoprene units의 개수에 따라 2에서 16까지 번호가 정해진다. Menadione은 2-methyl-1,4-napthoquinone의 구조를 가진다(3). 비타민 K1은 시금치, 녹차, 브로콜리, 상추와 같은 녹색 채소에 많이 함유되어 있으며 비타민 K2는 육류, 발효식품 등에 미량으로 함유되어 있다(4,5). 식품으로부터 섭취하는 비타민 K의 80% 이상이 비타민 K1이지만(5) 비타민 K1에 대한 데이터베이스는 부족한 실정이다.

비타민 K의 분석 방법으로는 비색법, 박층크로마토그래피, 가스크로마토그래피, 고성능 액체크로마토그래피(high performance liquid chromatography, HPLC)가 이용되며 최근의 연구동향을 살펴보면 주로 HPLC를 사용한다(2,6,7). 식품공전에 기재된 비타민 K의 분석방법으로는 시료에 있는 trans형 비타민 K1을 유기용매로 추출한 후 실리카겔 오픈 칼럼과 순상칼럼을 이용하여 HPLC에서 UV로 정량하는 제1법과 시료 중 지방을 효소적으로 분해하여 지방산으로 침전시킨 후 헥산으로 비타민 K를 추출하여 역상칼럼과 포스트 칼럼을 이용하여 형광 검출기로 측정하는 제2법이 있다(8). 하지만 제1법, 제2법 모두 시험법의 적용범위가 영아용 조제식 및 성장기용 조제식 등에만 적용된다는 한계점을 지니고 있다. 따라서 다른 식품군에 이 방법을 적용하여 비타민 K를 분석하는 데에는 여러 문제점을 지니

Received 29 July 2014; Accepted 28 August 2014
Corresponding author: Junsoo Lee, Brain Korea 21 Center for Bio-Resource Development & Division of Animal, Horticultural, and Food Sciences, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 361-763, Korea
E-mail: junsoo@chungbuk.ac.kr, Phone: +82-43-261-2566

고 있다.

본 연구에서는 추출방법의 비교를 통해 식품군의 조직(matrix)에 따른 효율적인 분석법을 확립하고자 하였으며 그에 대한 분석법 검증과정을 실시하고자 하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

본 연구에 사용된 채소류는 2013년 충북 청주지역에서 깻잎(perilla leaf, *Perilla frutescens*), 당근(carrot, *Daucus carota*), 부추(Chinese chives, *Allium tuberosum*), 브로콜리(broccoli, *Brassica oleracea*), 시금치(spinach, *Spinacia oleracea*), 아스파라거스(asparagus, *Asparagus officinalis*), 적상추(lettuce red leaf, *Lactuca sativa*), 케일(kale, *Brassica oleracea*)을 구입하여 사용하였다. 표준용액으로 사용되는 phylloquinone(vitamin K1)은 Wako Co.(Tokyo, Japan)에서 구입하여 사용하였다. Lipase(from *Candida rugosa*, 1000 units/mg, type VII), monobasic potassium phosphate, potassium hydroxide, potassium carbonate는 Sigma-Aldrich Co.(St. Louis, MO, USA)에서 구입하였으며, sodium acetate, acetic acid, zinc powder(particle size <63 μm)는 Merck Co.(Darmstadt, Germany)에서 구입하여 사용하였다. 분석에 사용된 methanol, 2-propanol, ethanol, *n*-hexane, dichloromethane, water는 HPLC 등급으로 Burdick & Jackson Co.(Muskegon, MI, USA)의 제품을 사용하였다.

표준용액 조제

비타민 K1 표준품 100 mg을 100 mL 갈색용량플라스크에 넣고 hexane으로 용해한 후 1,000 μg/mL 농도로 만들어 표준원액(stock solution)으로 하였다. 표준원액을 이동상 용매로 희석하여 1 μg/mL 농도로 만들어 표준용액으로 사용하였다. 표준용액은 냉동 보관하면서 사용하였다.

표준곡선 작성

비타민 K1 표준용액을 이동상으로 희석하여 8개 농도(0.0313~2.5075 μg/mL)의 희석된 표준용액을 만들었다. 희석된 8개 농도의 표준용액을 50 μL씩 주입하여 얻은 크로마토그램에서 각각의 농도별 평균면적을 구하여 X축을 면적, Y축을 농도로 하여 표준곡선을 작성하였다.

용매 추출법(solvent extraction method)

시료 1 g을 50 mL 비커에 취하여 디클로로메탄과 메탄올 혼합용매(디클로로메탄 : 메탄올=2:1, v/v)를 30 mL 첨가하였다. 2분간 homogenizer를 이용하여 균질화한 후 여과지를 통과시켜 50 mL 메스플라스크에 메탄올을 이용하여 정용한 후 혼합하였다. 이때 무수황산나트륨을 여과지 안에 담아서 여액이 이를 통과하여 탈수되도록 하였다. 정용한 추출액 2 mL를 취하여 질소로 용매를 완전히 제거한 후 헥산 2 mL를 가하여 용해하였다. 메탄올과 물 혼합용매(메탄올 : 물=9:1, v/v) 8 mL를 첨가하여 conical tube에 옮겨 담고 진탕한 후 2,000 rpm으로 5분간 원심분리 하였다. 상층액 1 mL를 취하여 질소로 용매를 완전히 제거한 후 메탄올 1 mL를 가하여 재용해한 후 0.45 μm membrane filter로 여과하고 HPLC를 이용하여 분석하였다.

효소 추출법(enzyme extraction method)

시료 1 g을 시험관(200 mm×24 mm ID)에 취하여 40°C 이하의 물 15 mL를 첨가하고 교반기를 이용하여 혼합하였다. 인산 완충용액(0.8 M) 5 mL를 첨가하고 1 g의 lipase 분말을 넣고 교반기로 혼합하였다. 균질화될 수 있도록 30~60초간 진탕하고 37°C에서 2시간 분해하였다. 분해 후 냉각하고 알코올 혼합용액(에탄올 : 메탄올=95:5, v/v) 10 mL를 첨가 후 1.0 g의 무수 탄산칼륨을 첨가하여 혼합하였다. 시험관에 30 mL 헥산을 첨가한 후 10분간 진탕하고 암소에서 층이 분리되도록 하였다. 헥산 상층액 1 mL를 취하여 질소 농축한 후 메탄올 1 mL로 재용해하여 0.45 μm membrane filter로 여과하고 HPLC를 이용하여 분석하였다.

HPLC 조건

HPLC는 형광 검출기가 장착된 역상 액체크로마토그래피(reversed-phase HPLC system, Jasco Corp., Tokyo, Japan)를 이용하였으며 전치칼럼(precolumn)으로는 ZORBAX Eclipse XDB-C18 column(5 μm, 4.6×150 mm, Agilent, Santa Clara, CA, USA)과 함께 아연을 충진한 후치칼럼(post-column)을 연결하여 사용하였다. 이동상으로는 메탄올 : 디클로로메탄(9:1, v/v) 혼합 용액을 1 L로 제조하여 zinc chloride 1.37 g, sodium acetate 0.41 g, acetic acid 300 μL를 첨가하고 혼합한 후 0.45 μm 필터로 여과하여 사용하였다. 주입량은 50 μL, 형광 검출기의 여기 파장 243 nm, 측정 파장 430 nm에서 유속은 1.0 mL/min으로 측정하였다.

분석방법의 검증

본 연구에 사용한 분석방법을 검증하기 위하여 직선성(linearity), 정밀성(precision), 정확성(accuracy), 검출한계(limit of detection, LOD)와 정량한계(limit of quantitation, LOQ)를 측정하였다(9,10). Phylloquinone 표준용액을 시료에 spike 하고, 시료 전처리 과정에 따라 추출한 후 HPLC에 주입하여 얻은 피크 면적의 비를 이용하여 회수율(recovery)을 구하였다. 분석법의 반복성(repeatability)을 평가하기 위하여 하루 5회 반복 실험을 진행하였으며, 재현성(reproducibility)은 5일간 동일한 실험을 반복하여 진행하였다. Peak purity의 경우 세 가지의 여기 파장(233 nm, 243 nm, 253 nm)과 430 nm의 측정 파장을 이용하여 얻어

진 표준용액의 면적과 시료의 면적의 비를 이용하여 평가하였다(10).

결과 및 고찰

추출 방법의 비교

본 연구는 국내에서 주로 소비되는 채소류 8종에 대하여 비타민 K 함량을 분석하였다. 추출법은 기존의 식품공전에 기재된 방법 중 효소를 사용하는 방법과 Jakob와 Elmadfa (11)의 방법을 응용한 용매를 사용하는 두 가지 추출방법을 비교하였다(Table 1). 결과를 보면 용매추출법이 효소추출법보다 더 높은 비타민 K1의 분석 값을 나타내었다.

비타민 K1 함량이 가장 높은 깻잎의 경우 용매추출법을 사용했을 때 1,212 μg/100 g이 분석된 반면 효소추출법을 사용했을 때는 25 μg/100 g의 분석 값으로 약 48배의 차이를 나타내었다. 전체적인 함량이 가장 낮게 나온 당근의 경우에도 용매추출법을 사용하였을 때 9 μg/100 g으로 측정되었으나 효소추출법을 사용하였을 때에는 정량한계 이하의 수치가 측정되었다. 전체적인 시료들을 살펴보면 용매추출법이 효소추출법보다 많게는 48배, 적게는 3배 이상의 비타민 K1 함량을 나타내었다. 미국 농무부(USDA)에서 발췌한 각각 시료의 비타민 K1 함량(12)과 비교해 보면 용매추출법이 효소추출법보다 더 근접한 수치를 나타내었다. 이전의 연구들과 비교했을 때 당근은 3.9~14.8 μg/100 g(2, 13), 브로콜리는 137~247 μg/100 g(13), 시금치는 299~429 μg/100 g의 값(5)으로 본 연구 결과와 비슷한 경향을 보였다. 이러한 결과를 고려해 볼 때, 용매추출법이 효소추출법보다 채소류 식품군에서 비타민 K1을 추출하는 데 더 적합하다고 생각한다. 반면 USDA 데이터와 차이를 보이는 이유는 같은 식품이라 할지라도 재배 환경, 생산 지역, 품종에 따라 차이를 보이는 것으로 생각한다(14,15).

채소류에서 용매추출법이 효소추출법보다 비타민 K1 추출 함량이 높게 나타난 이유는 식품 조직(matrix)과 성분에 따른 결과로 생각한다. 효소추출법은 영아용 조제식 및 성장기용 조제식 등으로 적용이 한정되는데, 조제식에는 지방성분이 많아 지용성 비타민인 비타민 K1이 용매로 추출되는 과정에서 지방조직에 존재하는 비타민 K1의 추출률이 낮아 지방분해효소인 lipase를 처리해 주어야 하는 것으로 생각한다. 이때 효소 처리를 위해 37°C water bath에서 2시간 반응시키고 그 후 조직을 빠져나온 비타민 K1을 hexane층으로 추출하는 과정을 거치게 된다. 그에 반해서 용매 추출법은 lipase를 처리하지 않으며 시료에서 바로 dichloromethane과 methanol 혼합 추출 용매를 이용해 시료 속의 비타민 K1을 추출하기 때문에 다른 용매의 간섭 없이 더 편리하게 비타민 K1을 추출할 수 있다. 실제로 효소추출법에서는 lipase가 첨가된 water층에서 hexane층으로 비타민 K1을 추출해야 하지만 용매추출법에서는 채소류 식품 조직에서 바로 추출 용매를 통해 비타민 K1을 추출할 수 있다. 또한 채소류에서는 지방함량이 적기 때문에 lipase를 처리해 줄 필요가 없는 것으로 생각한다. 따라서 용매추출법을 사용하면 효소추출법보다 다른 용매의 간섭 없이 더 빠르게 비타민 K1을 추출할 수 있는 것으로 판단된다. 따라서 본 연구 결과 채소류에 있는 비타민 K1의 추출방법으로 용매추출법을 사용하는 것이 채소류의 조직 내에서 다른 물질의 간섭 없이 비타민 K1을 더 효율적이고 빠른 시간 내에 추출할 수 있을 것으로 판단된다. 식품공전에 기재된 비타민 K의 분석방법(8)은 시험법의 적용 범위가 영아용 조제식 및 성장기용 조제식 등에만 적용된다는 한계점을 지니고 있다. 하지만 본 분석법은 채소류의 비타민 K 분석에서 기존의 식품공전의 분석방법의 한계를 극복할 수 있을 것으로 판단된다.

Table 1. The content of vitamin K1 in vegetables using two different extraction methods

Sample	Extraction methods		USDA[1)] data
	Solvent extraction	Enzyme extraction	
Asparagus	79.96±1.63[2)]	3.06±0.03	41.6
Broccoli	228.12±9.37	18.02±4.40	101.6
Carrot	9.42±0.91	0.00±0.00	13.2
Chinese chives	293.42±2.21	88.43±2.95	
Kale	548.30±35.48	51.70±17.75	704.8
Lettuce red leaf	342.91±16.99	7.52±2.87	140.3
Perilla leaf	1,212.57±14.00	25.97±1.49	
Spinach	470.90±42.16	22.20±4.81	482.9

[1)]USDA, United States Department of Agriculture.
[2)]Concentration of phylloquinone expressed as μg/100 g sample.

이전의 연구 결과들을 살펴보면 Piironen과 Koivu(16)는 핀란드 식품의 비타민 K를 분석했고 Damon 등(2)은 미국 채소류의 비타민 K를 분석하였으며, Caroline 등(17)은 영국 식품의 비타민 K를 분석하여 데이터베이스를 구축하였다. 하지만 농업진흥청에서 발표된 식품성분표(18) 자료에는 비타민 K에 대한 항목이 없으며, 국내 소비 식품에서 비타민 K에 대한 분석 연구는 부족한 실정이다. 따라서 본 분석법이 국내 식품의 비타민 K 데이터베이스를 구축하는 데 기여할 수 있을 것으로 판단된다.

분석방법의 검증

본 연구에 적용된 용매추출법의 분석방법을 검증하기 위해 표준물질과 부추를 이용하여 특이성, 직선성, 정밀성, 정확성, 검출한계, 정량한계, peak purity를 측정하였다.

특이성을 확인하기 위하여 표준용액과 같이 시료 전처리 방법으로 처리한 부추의 크로마토그램을 비교하여 비타민 K1 피크가 분리되는지를 확인하였다. 그 결과 다른 물질과 간섭 없이 분리됨을 확인하였다(Fig. 1). 표준용액의 머무름 시간은 8.867분이고 부추 추출액의 머무름 시간은 8.875분으로 표준용액의 피크 유지시간과 부추 추출액의 피크 유지시간이 일치하였다. 검량선은 비타민 K1 표준용액을 단계적으로 희석한 후 HPLC로 분석하여 검량선을 Fig. 2와 같이

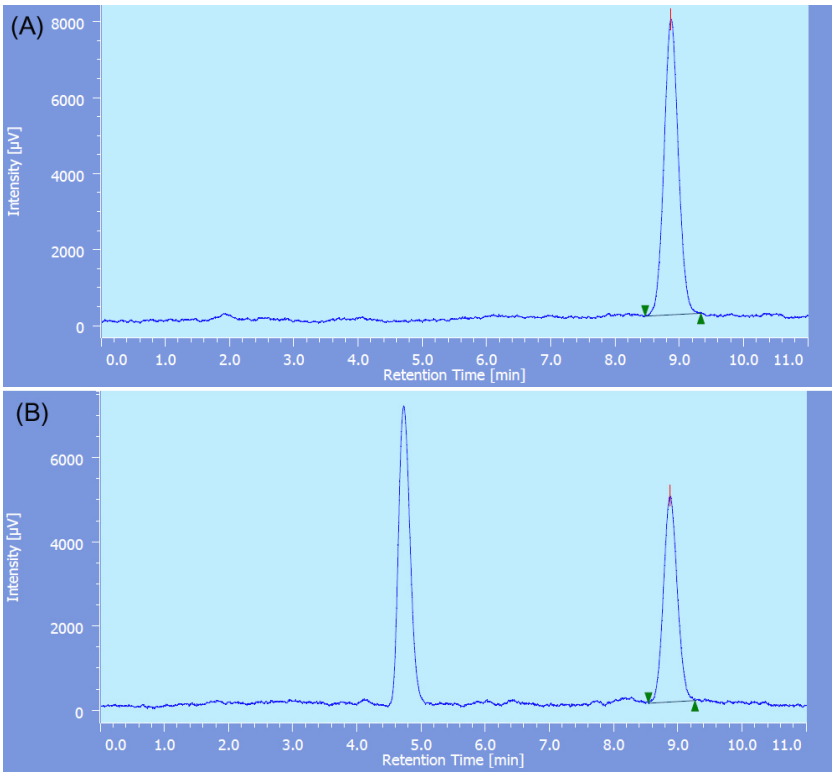

Fig. 1. Analytical HPLC chromatogram of vitamin K1 standard (A) and sample (B) (Ex λ= 243 nm, Emλ=430 nm).

나타내었다. 검량선의 상관계수(R^2)는 0.9994로 높은 직선성을 보였다. LOD와 LOQ는 검출기의 잡음비율(signal-to-noise ratio, S/N ratio)로 측정하였다(9). 검출한계는 S/N ratio가 3일 때, 정량한계는 S/N ratio가 10일 때로 표준편차와 표준 검량선의 기울기를 이용하여 계산하였다. 검출한계는 0.1335 ng/injection volume(50 μL)이었으며 정량한계는 0.2784 ng/injection volume(50 μL)으로 측정되었다. Peak purity 또한 표준용액과 부추 추출액을 이용하여 형광검출기로 측정하였다(10). 비타민 K1 표준용액의 피크 면적을 여기 파장 233, 243, 253 nm에서 측정하였으며 측정파장은 430 nm를 유지하였다. 같은 파장에서 측정된 부추 추출액과 표준용액의 peak ratio를 비교하여 Table 2에 나타내었다. 용매추출법을 사용하여 추출한 부추 추출액의 비타민 K1과 표준용액을 이용하여 나타낸 peak ratio는 매우 비슷한 값을 나타내어 다른 불순물이 포함되어 있지 않음을 알 수 있었다. 반복성과 재현성의 변동계수(coefficient of vriation, CV) 값은 각각 1.98%, 2.10%로 우수한 결과를

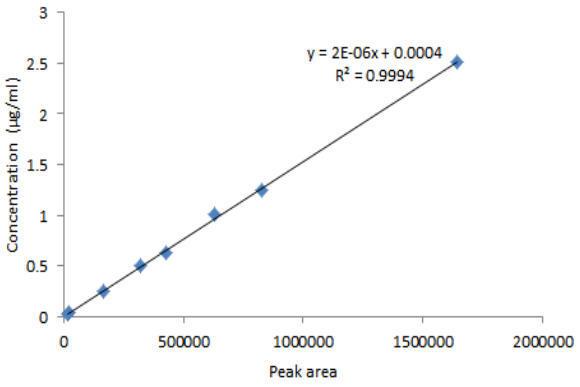

Fig. 2. Standard calibration curves of vitamin K1.

Table 2. Peak purity of vitamin K1

Excitation wavelength (nm)	Measured fluorescence ratio[1)]	
	Standard solution	Sample
243/253	1.97	1.93
233/253	1.51	1.62
243/233	1.31	1.20

[1)]Fluorescence ratios were calculated by dividing the values for two peak areas for each analyte obtained from separate chromatographic runs at two different excitation wavelengths, with the emission wavelength constant at 430 nm.

Table 3. Precision and accuracy of the solvent extraction method

Parameter	Precision		Accuracy[1)]
	Repeatability[2)]	Reproducibility[3)]	Recovery (%)
Mean[4)]	299.548	294.011	99.439
SD[5)]	5.927	6.194	4.476
CV (%)[6)]	1.979	2.107	4.501

[1)]Accuracy is a measure of the closeness of the analytical result to the true value determined by analyzing a spiked sample.
[2)]Repeatability was evaluated using five independent analyses of replicate sample performed on a given day.
[3)]Reproducibility was evaluated using five independent analyses of replicate sample performed on a different days.
[4)]n=5, μg/100 g sample on raw weight basis.
[5)]Standard deviation.
[6)]Coefficient of variation.

보였으며, 회수율은 99.44±4.48%(n=5)의 값으로 매우 우수하였다(Table 3).

요 약

본 연구에서는 HPLC를 사용하여 채소류 식품군에서 비타민 K1의 분석법을 확립하고 이에 대한 분석법 검증하고자 하였다. 그 결과 본 시험법에서 표준용액의 피크유지시간과 부추 추출액의 피크유지시간이 일치하여 특이성을 확인하였다. 검량선의 상관계수(R^2)는 0.9994 이상으로 높은 유의수준을 보여 분석에 적합함을 알 수 있었으며, 검출한계는 0.1335 ng/injection volume(50 μL)이었고 정량한계는 0.2784 ng/injection volume(50 μL)으로 설정되었다. 일내, 일간분석에서 정밀도를 나타내는 변동계수(coefficient variation, CV)는 표준용액에서 각각 1.979%, 2.107%로 나타내었고 정확성은 99.439%로 나타내어 채소류에서 비타민 K1의 분석법이 적합한 시험법임이 검증되었다. 본 분석법에 따라 채소류의 비타민 K1을 분석한 결과 식품공전의 효소를 이용한 분석법보다 더 높은 추출률을 나타내었으며 다른 물질의 간섭 없이 분석 가능하여 채소류의 비타민 K1의 검출에 응용되어 이용될 수 있을 것으로 판단된다.

감사의 글

이 연구는 농촌진흥청의 연구비 지원(과제번호 PJ00959307)에 의하여 연구되었으며 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Terhi J, Velimatti O, Vieno I. 2000. Determination of phylloquinone and menaquinones in animal products with fluorescence detection after postcolumn reduction with metallic zinc. *J Agric Food Chem* 48: 6325-6331.
2. Damon M, Zhang NZ, Haytowitz DB, Booth SL. 2005. Phylloquinone (vitamin K1) content of vegetables. *J Food Compos Anal* 18: 751-758.
3. Márcia R, Maria E, Helder M, Cristina M. 2007. Analysis of vitamin K in green tea leafs andinfusions by SPME-GC-FID. *Food Chem* 100: 405-411.
4. Terhi J, Vieno I, Sanna K, Pirjo H. 1997. Determination of phylloquinone in vegetables, fruits, and berries by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. *J Agric Food Chem* 45: 4644-4649.
5. Schurgers LJ, Vermeer C. 2000. Determination of phylloquinone and menaquinones in food. *Pathophysiol Haemo T* 30: 298-307.
6. Suttee JW. 1992. Vitamin K and human nutrition. *J Am Diet Assoc* 92: 585-590.
7. Semih O, Ozlem C. 2007. Determination of vitamin K1 content in olive oil, chard and human plasma by RP-HPLC method with UV-Vis detection. *Food Chem* 100: 1220-1222.
8. KFDA. 2013. *Korean food standards codex*. Korea Food & Drug Administration, Cheongju, Korea. Vol 2, p 10-1-102.
9. Jeon G, Lee J. 2009. Comparison of extraction procedures for the determination of capsaicin in peppers. *Food Sci Biotechnol* 18: 1515-1518.
10. Haroon Y, Bacon DS, Sadowski JA. 1986. Liquid chromatographic determination of vitamin K1 in plasma with fluorometric detection. *Clin Chem* 32: 1925-1929.
11. Jakob E, Elmadfa I. 1996. Application of a simplified HPLC assay for the determination of phylloquinone (vitamin K) in animal and plant food items. *Food Chem* 56: 87-91.
12. U.S. Department of Agriculture. National nutrient database for standard reference release 26. http://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list (accessed July 2014).
13. Jakob E, Elmadfa I. 2000. Rapid and simple HPLC analysis of vitamin K in food, tissues and blood. *Food Chem* 68: 219-221.
14. Han SK, Song YS, Lee HU, Ahn SH, Yang JW, Lee SJ, Chung MN, Suh SJ, Park KH. 2013. Difference of starch characteristics of sweetpotato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) by cultivated regions. *Korean J Food Sci Technol* 45: 682-692.
15. Shin HH, Lee SR. 1991. Quality attributes of Korean red pepper according to cultivars and growing areas. *Korean J Food Sci Technol* 23: 296-300.
16. Piironen V, Koivu T. 2000. Quality of vitamin K analysis and food composition data in Finland. *Food Chem* 68: 223-226.
17. Caroline BS, Rosemary JGP, Steven TF, Dominic JH, Martin JS. 2000. Compilation of a provisional UK database for the phylloquinone (vitamin K1) content of foods. *Brit J Nutr* 83: 389-399.
18. RDA. 2012. *Standard food composition table*. 8th ed. Rural Development Administration, Suwon, Korea. p 26-509.