J. Fd Hyg. Safety
Vol. 26, No. 1, pp. 70~75 (2011)

Journal of Food Hygiene and Safety
Available online at http://www.foodhygiene.or.kr

신 제형 클로렐라제품의 총 엽록소 시험법 개선

김유경 · 이은숙 · 한재갑[1] · 노기미[2] · 임동길[2] · 정자영[2] · 박영식*
고려대학교 생명과학대학 건강기능연구센터, [1]대상(주) 중앙연구소, [2]식품의약품안전평가원 영양기능연구팀

Improvement of Total Chrolophill Analytical Methods for the Chlorella Products with Extended Products Types

Yoo-Kyung Kim, Eun-Suk Lee, Jae-Gab Han[1], Gi-Me No[2], Dong-Gil Lim[2], Ja-Young Jung[2], and Young-Sig Park*
Korea University School of Life Sciences and Biotechnology Functional Food Research Center
[1]Daesang Corp. R&D Center
[2]National Institute of Food and Drug Safety Evaluation Nutritional and Functional Food Research Team
(Received January 5, 2011/Revised February 16, 2011/Accepted March 18, 2011)

ABSTRACT - A new and improved analytical method involving alkaline pyridine extraction was proposed to quantity chlorophyll contents in syrup and candy type chlorella products. The performance of analytical method was compared with the conventional Korea food standard method which involves acetone extraction. The application of sonication chlorophyll extraction form alkaline pyridine sample was also explored. The analytical procedure was validated by evaluating accuracy, precision and reproducibility. For liquid samples, the pyridine extraction method showed higher accuracy and precision compared to acetone extraction method. The CV values of pyridine extract method and the acetone extraction method were 18.82 and 40.0, and the accuracy to theoretical values were 106.3% and 78.1%, respectively. When sonication extraction method was applied to the pyridine extraction, the precision was improved as indicated by reduced CV values from 18.82 to 11.36. The improved performance of pyridine-sonication extraction was also validated by recovery test of chlorophyll that was previously spiked into the sample matrix. For solid matrix, the pyridine extraction method showed better performance in analysis of chlorophyll in solid food matrix (CV = 7.05) compared to conventional acetone extraction method (CV = 30.0). However, the accuracy to theoretical values of pyridine and acetone extraction methods only showed only 62.7% an 40%, respectively. The relatively low accuracy of pyridine extraction method (62.7%) was improved to 99.4% by applying additional sonication extraction method. The improved performance of applying additional sonication extraction was validated by standard deviation, CV values and accuracy to theoretical values.

Key words: analytical method, functional food, extended product type, improvement

노령화 사회로의 진입에 따라 소득 증대에 따른 발병양상의 변화와 함께 웰빙트렌드를 지향하는 소비자의 건강과 예방의학에 대한 관심 증대 등으로 건강기능식품의 시장규모가 확대되고 있으며, 보다 안전하고 기능이 우수한 새로운 건강기능식품 개발의요구가 계속 늘어나고 있는 추세이다. 이러한 소비자의 요구에 맞추어 행정당국에서도 건강기능식품의 제형자율화를 시행하여 정제, 캅셀, 분말, 과립, 액상, 환 등 6가지로 제한되었던 제형을 편상, 페이스트상, 시럽, 겔, 젤리, 바 등 6가지를 추가하여 12가지로 확대하였다.

이에 따라 기존의 건강기능식품공전에 등재된 기존의 분석법과 전 처리법으로는 기능성분의 검출에 한계가 있을 개연성이 있어서 제조업체의 품질관리와 유통제품의 신뢰성 확보를 위해 확대된 제형에 적합한 기능성분 (또는 지표성분)에 대한 시험법과 전 처리법의 개선 보완이 필요하다. 소비자가 건강기능식품을 섭취하고 기대하는 효과를 얻기 위해서는 제조가공유통 과정에서의 품질관리가 매우 중요하다. 새로운 제형의 기능성을 인정하기 위해서는 객관적인 기능성의 평가가 필요하므로 기능성과 관련된 기능성분의 함량 시험법이 정립되어야 할 것이다. 최근 국제적인 식품 시험법에 대한 연구는 실용분야와 실질 분야로 분류되어 개발되고 있는 추세이다. 시험법의 표준화를 넘

*Correspondence to: Young-sig Park, Functional Food Research Center, School of Life Sciences and Biotechnology, Korea University
Tel: 82-2-3290-4279, Fax: 82-2-927-5201,
E-mail: pysku@korea.ac.kr

어서 간편성 및 정확성, 다양한 시료 분석에 대한 적용성 등의 실용적인 측면에 대한 개발과 분석결과의 이력추적 등을 통하여 식품 분석법의 validation과 quality assurance를 통하여 식품분석법의 품질을 발전하는 실질적인 측면의 개발이 수행되고 있다.

글로렐라 제품은 우리나라 건강기능식품공전에 피부건강에 도움을 주고 인체에 항산화작용을 하는 기능성으로 등재되어 있으며, 기능성분으로 총 엽록소 함량 10 mg/g 이상을 함유하여야 하고 원료성제품에는 표시량 이상, 최종제품에는 표시량의 80~120%가 함유되어야 하며 일일섭취량은 8~150 mg이어야 한다고 정해져 있고 총 엽록소 시험방법으로는 추출에 Alkari 성 Pyridine 용액을 이용하는 제1법과 Aceton-Ether를 이용하는 제2법이 제시되어있다[1]. 총 엽록소 분석은 AOAC법[2]과 R. Porra[3] 등이 Acetone으로 시료에서 엽록소를 추출 후 이를 Ether 층으로 옮겨 UV 파장 측정을 통하여 측정하는 방법을 각 파장에서의 환산계수와 함께 제시하였고, M. Zapata[4]가 Rversed-phsse HPLC를 사용한 기기분석법을 제시한 이래 Ken Guruta 등이 N,N-Dimethylformamide 유도체를 이용한 방법[5], Beatriz Gandul-Rojas등[6], Y. Shioi등[7], E. Ergun[8] 등이 개선 방법을 제시하였으나 이영자 등이 HPLC-PDA[9]를 이용한 엽록소 a, b, 페오포르바이드 α 및 β-카로틴의 동시 분석한 결과 엽록소 회수율이 60~70% 정도로 낮아서 공전시험법으로 채택에는 무리가 있다고 보고하였다.

본 연구에서는 제형자율화 시행 이후 개발이 예상되는 syrup 제형 클로렐라 음료와 고형(chewable)제형 클로렐라 candy에 공전 제1법과 제2법을 적용하여 총 엽록소 함량 정량 비교실험을 하여 결과 값의 정확성이 높은 제1법을 새로운 제형에 적합한 시험방법으로 채택하였고, 신 제형 제품의 원료조성 matrix 차이에 따른 엽록소 추출의 정확성과 정밀성을 보장하기 위하여 엽록소 추출 전 처리 시에 초음파처리를 병행하여, UV spectrophotometer로 엽록소를 분석하는 비교실험을 하였다. 이를 통하여 기존의 공전시험법을 보다 정확하고 이용이 편리한 시험법으로 개정할 필요성이 있는지를 보고, 건강기능식품공전 시험법을 이용하여 새로 개발한 신 제형 제품의 기능·지표 성분을 시험하고자 하는 사람들이 정확한 시험방법을 적용할 수 있도록 제형확대에 따른 시험법 검토를 하고자 하였다.

재료 및 방법

시료

Syrup 제형 클로렐라 pauch 제품과 고형 제형 클로렐라 Chewable candy 제품은 관련 전문 업체의 협조를 얻어 업체에서 개발 중인 제품과 외부 협력업체에 의뢰하여 개발 중인 시제품을 시료로 사용하였다. 제작에 사용한 클로렐라 원말의 엽록소 함량은 25 mg/g이었고 최종 제품의 총 엽록소 함량은 음료의 경우 20 mg/g 캔디는 100 mg/g 이었다.

장비와 시약

장비는 UV Spectrophotometer : UV vis.(Optizen 32200V0)를 이용하였고, 표준물질 및 시약은 Pyridine (GR grade), Sodium Hydroxide (GR grade), Dist. Water (HPLC grade)를 사용하였다.

Alkali 성 pyridine 용액 제조는 Sodium Hydroxide 1.4 g을 증류수 50 ml에 용해하고 pyridine 16.6 g을 가하여 잘 교반한 후 증류수 세척병을 이용하여 m-flask에 옮겨 100 ml로 하였다.

시험 진행방법

건강기능식품공전 시험방법인 총 엽록소시험법 제1법과 제2법을 사용한 예비실험의 결과를 통하여 제1법인 pyridin 추출법을 적용하기로 하였고 시료채취 시 액상제품은 homogenize하였고 고형제품은 냉동 후 고속분쇄하여 즉시 계량하였다. 두 가지 제형 모두 시료방치 및 추출 시에 초음파 처리를 하였고 matrix spiking 법으로 회수율을 측정하여 개선한 추출방법의 정확성을 검증하였다. 또한 본 연구에서는 모든 시험을 3가지 lot별로 한 검체씩 취하였고, 한검체당 3회 시험을 반복하여 데이터의 정확성 검증을 하였다

실험방법

㉮ 액상제품은 시료 100 g을 epp. tube에 넣고 homogenize하여 (5,000 rpm, 2분) 차광한 공전 시험관에 이중 0.7 g을 취하고, 고형제품은 냉동실에서 냉각한 시료 20.0 g을 Grinde-mixer에 넣고 5,000rpm에서 30초, 10,000rpm에서 30초간 총 1분간 분쇄한다. 차광한 공전 시험관에 이중 0.1 g을 취한다.

㉯ 증류수 10 ml를 가하고 30분간 초음파 처리를 한다.

㉰ 현탁액 2 ml를 취하여 차광한 원심분리관에 넣고 Alkali 성 pyridine 용액 5 ml를 가한후 60°C 수욕 상에서 15분간 초음파 처리를 한다.

㉱ 3분간 4°C에서 3000rpm 으로 원심분리를 한후 상층액을 10 ml 갈색 m-flask에 옮긴다.

㉲ 남아있는 잔사는 Alkali 성 pyridine 용액 3 ml를 가하여 ㉰와 ㉱과정을 반복하여 상층액을 합쳐서 최종 10 ml가 되도록 한다.

㉳ Alkali성 pyridine용액을 대조액으로 하여 액층 1 cm, 파장 419 nm와 454 nm에서 흡광도를 측정한다.

㉴ 이때 Alkali 성 pyridine 용액을 가한후 1시간 이내에 모든 조작을 마쳐야 한다.

Matrix spiking을 이용한 회수율 측정

1.Syrup 제형 클로렐라 pauch 제품

㉮ 시료 500 g을 epp. tube에 넣고 5,000rpm으로 2분간

homogenize 한다.

㉯ 원말 1.00 g을 ㉮의 시료 499.00 g과 혼합하여 ㉮의 조건으로 다시 homogenize 한다.

㉰ 이중 0.70 g을 취하여 같은 시험방법으로 UV흡광도를 측정하여 분석한다. 이 시료의 함량 이론치는 30.6 mg/100 g 이다.

2.고형 제형 클로렐라 Chewable candy 제품

㉮ 냉동실에서 얼린 시료 150 g을 Grindemixer에 넣고 5,000rpm에서 30초, 10,000rpm에서 30초간 총 1분간 분쇄한다.

㉯ 원말 1.00 g을 ㉮의 시료 99.00 g과 혼합하여 ㉮의 조건으로 다시 분쇄한다.

㉰ 이중 0.10 g을 취하여 같은 시험방법으로 UV흡광도를 측정하여 분석한다. 이 시료의 함량 이론치는 124 mg/100 g 이다.

총 엽록소 함량계산

측정된 흡광도를 이용하여 다음 식에 따라 총 엽록소의 양을 계산한다.

총 엽록소(mg/100g) = C / S × 100

C : 엽록소(mg/L) = 8.970 × (7.19 E419 nm + 3.33 E454 nm)

S : 시료채취 mg수 / 5

E419 nm : 419 nm의 흡광도

E454 nm : 454 nm 의 흡광도

결과 및 고찰

공전 제1법과 제2법 시험방법별 총 엽록소 함량비교

본 연구에서는 새로운 제형에 적합한 시험방법을 찾기 위하여 건강기능식품공전 총 엽록소시험법 제1법과 제2법을 적용하여 두 가지 제형 제품의 함량측정 실험을 하였고 그 결과 값의 분포도는 Fig. 1, 2, 3, 4와 같다. 액상제품은 pyridine 추출법의 평균값이 27.2 ± 5.12 mg/100 g, acetone 추출법의 평균값은 20 ± 8 mg/100 g이고 고형제품은 pyridine 추출법의 평균값이 62.7 ± 4.42 mg/100 g, acetone 추출법의 평균값은 40 ± 12 mg/100 g이어서 두 가지 제형 모두에서 pyridine 추출법이 보다 신뢰 할 수준이었다. 배합비율에 의한 시료의 함량 이론치가 각기 25.6 mg/100 g과 100 mg/100 g 인 것과 비교하면 그 차이가 명확해 지는 것을 알 수 있다. 이는 acetone 추출법이 유리여과기로 여과를 해야하는 복잡한 과정을 거쳐야 하므로 숙련도가 높은 실험자라도 그 결과값의 편차가 커질 위험이 많기 때문인 것으로 보인다. 그러나 두 방법 간 차이에도 불구하고 고형제품의 경우 pyridine 추출법의 결과도 이론치와는 상당한 차이를

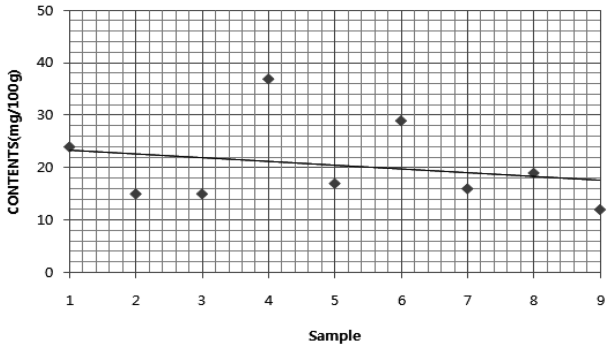

Fig. 2. Distribution map of datas for Syrup Type Chlorella Product by Aceton-Ether Method.

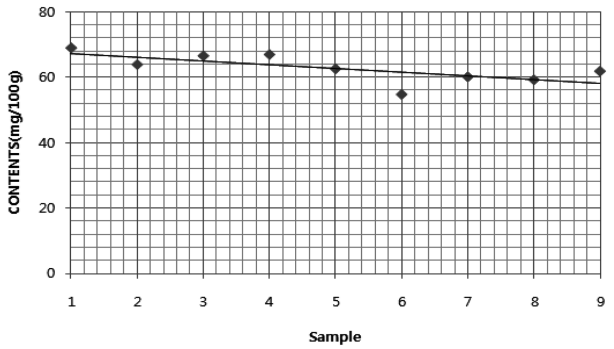

Fig. 3. Distribution map of datas for Chewable candy Type Chlorella Product by Pridine Method.

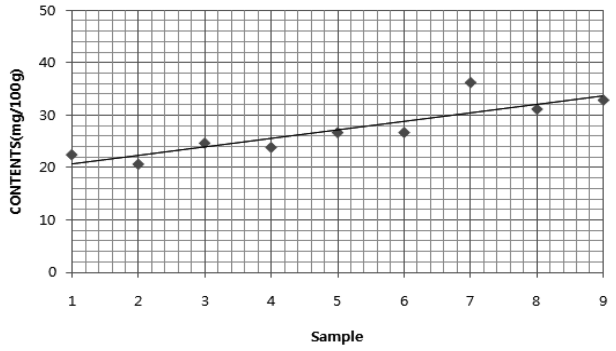

Fig. 1. Distribution map of datas for Syrup Type Chlorella Product by Pyridine Method.

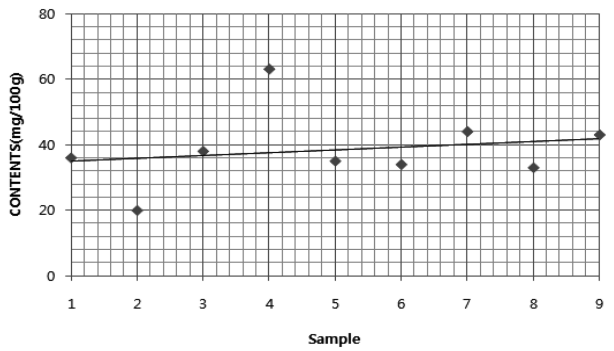

Fig. 4. Distribution map of datas for Chewable candy Type Chlorella Product by Aceton-Ether Mothod.

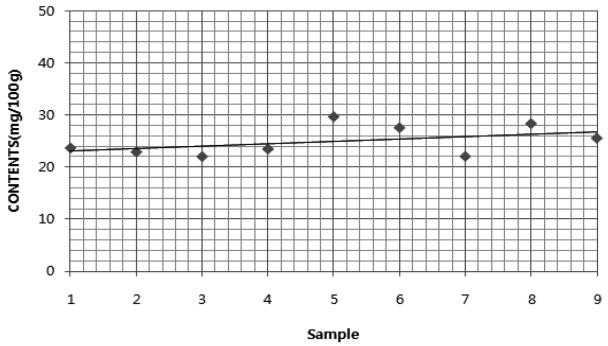

Fig. 5. Distribution map of datas for Syrup Type Chlorella Product by Pyridine Method with Sonication.

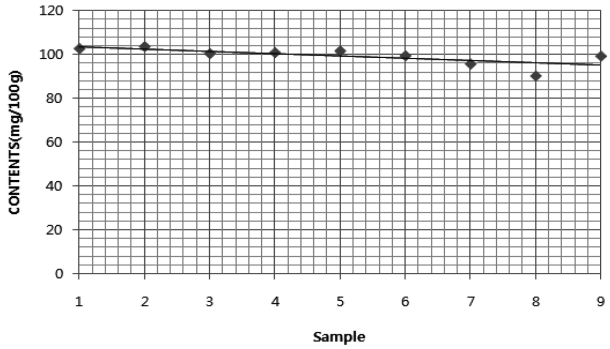

Fig. 6. Distribution map of datas for Chewable candy Type Chlorella Product by Pridine Method with Sonication.

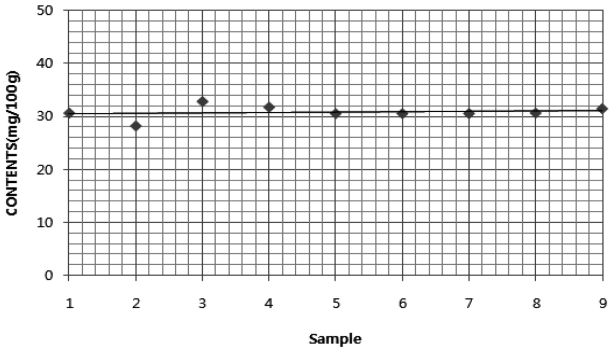

Fig. 7. Distribution map of datas for Syrup Type Chlorella Product by Pyridine Method with Mtrix Spiking and Sonication.

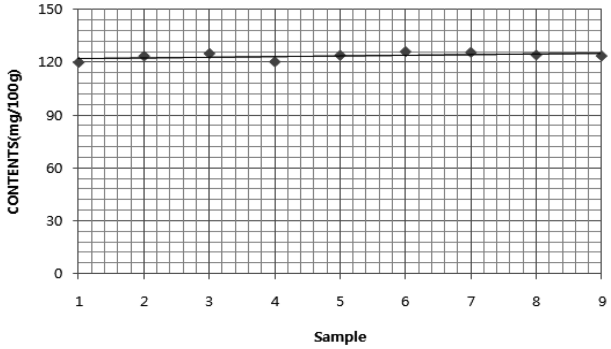

Fig. 8. Distribution map of datas for Chewable candy Type Chlorella Product by Pridine Method with Matrix Spiking and Sonication.

나타내고 있는 바 이는 액상 제품에 비해서 matrix가 훨씬 복잡하고 제형유지를 위하여 첨가한 결착제인 xantan gum 등의 방해를 받아서 인 것으로 보인다. 위의 결과와 같이 비교적 함량이론치에 가까운 결과값을 나타낸 제1법을 본 연구의 실험방법으로 선정하여 연구를 진행하였다.

엽록소 추출 시 초음파 처리 결과 비교

Pyridine 추출 시험법의 데이터 정밀성을 높이기 위하여 30분간의 시료 방치시간과 15분간의 가온 시간에 초음파 처리를 하여 추출 수율을 향상시킨 결과 액상제품은 평균값이 25.0 ± 2.84 mg/100 g 고형제품은 99.4 ± 4.06 mg/100 g로서 초음파 처리하지 않은 시료 각각의 결과값 27.2 ± 5.12 mg/100 g, 62.7 ± 4.42 mg/100 g보다 표준편차의 분포가 줄어들었고 이론치에 더 가까운 정밀한 결과 값을 얻을 수 있었다(Fig. 5, 6). 또 고형제품의 경우 시료계량 시 취급의 용이와 시료가 엉겨 붙는 것을 방지하기위하여 냉동하여 분쇄를 하게 되는데 정치하여 방치하거나 가온추출 시 역시 시료가 엉겨 붙어서 엽록소 추출의 효율성이 저하되었으나 초음파처리를 함으로서 이를 방지 할 수 있었다.

Matrix Spiking에 의한 회수율 비교

초음파 처리가 목적하는 총 엽록소의 추출에 주는 영향을 검토하고 개선된 시험방법의 재현성, 정확성을 검증하기 위하여 matrix spiking 방법으로 회수율을 측정하였고 액상제품은 회수율 측정하기 위해 제조한 시료의 함량 이론치는 30.6 mg/100 g 이고 3회 반복 시험한 평균값은 30.8 ± 1.25 mg/100 g 이었고 고형제품은 시료의 함량 이론치는 124 mg/100 g 이고 3회 반복 시험한 평균값은 123.7 ± 2.20 mg/100 g 로서 상당히 근접한 값을 보였다. 분포도 또한 거의 직선에 가까운 모양을 보여 주었고 회수율은 각각 100.6%, 99.8%로서 데이터의 신뢰성을 높일 수 있었다(Fig. 7, 8).

제형별 분석방법별 결과 값의 정확성과 정밀성 비교

본 연구에서 검토한 4가지 시험법의 결과 값을 비교해 보면 액상제품의 경우 pyridin 추출법과 acetone 추출법의 결과 값 CV (Coefficience Valiation)는 18.82와 40.00, 이론치에 대한 결과 값이 106.3%와 78.1%로 상당한 차이를 보였다. Pyridin 추출법과 pyridin 추출법에 초음파 전 처리를 추가한 결과는 27.2 ± 5.12 mg/100 g와 25.0 ± 2.84 mg/100 g로 표준편차가 상당히 줄어들었고 CV도 18.82에서 11.36으로 상당히 줄어들었다. 이론치 대비율도 106.3%와 97.7%로 pyridin-초음파 추출방법이 보다 이론치에 근접한 것으로 나타났으며 회수율 측정을 하기 위하여 pyridin-초음파 추출

Table 1. Comparison of Analysis Methods for Chrolophyll contents of Syrup Type Chlorella Product

Methods	Contents	CV	Theoretical results
Pyridin Method	27.2 ± 5.12 mg/100 g	18.82	25.6 mg/100 g
Pyridin Method with Sonication	25.0 ± 2.84 mg/100 g	11.36	25.6 mg/100 g
Pyridin Method with Matrix Spiking and Sonication	30.8 ± 1.25 mg/100 g	4.05	30.6 mg/100 g
Aceton-Ether Method	0.20 ± 0.08 mg/g	40.00	0. 256 mg/g

Table 2. Comparison of Analysis Methods for Chrolophyll contents of Chewable Type Chlorella Product

Methods	Contents	CV	Theoretical results
Pyridin Method	62.7 ± 4.42 mg/100 g	7.05	100 mg/100 g
Pyridin Method with Sonication	99.4 ± 4.06 mg/100 g	4.08	100 mg/100 g
Pyridin Method with Matrix Spiking and Sonication	123.7 ± 2.20 mg/100 g	1.78	124 mg/100 g
Aceton-Ether Method	0.40 ± 0.08 mg/g	30.00	1.0 mg/g

Table 3. Product Type List of Commercial Chlorella Products

Product Type	Tablet	Powder	Granual	Hard Capsule	Drink	Pill	Total
Before Type Expantion	45	2	2				49
After Type Expantion	21	3	1	2	1	1	29

법에 matrix spiking 한 결과도 표준편차, CV값과 이론치 대비율이 모두 향상된 결과를 나타내었다(Table 1).

또 고형제품의 경우도 pyridin 추출법과 acetone 추출법의 결과 값 CV는 7.05와 30.00, 이론치에 대한 결과 값이 62.7%와 40%로 상당한 차이를 보였다. Pyridin 추출법과 pyridin 추출법에 초음파 전처리를 추가한 결과는 62.7 ± 4.42 mg/100 g와 99.4 ± 4.06 mg/100 g로 표준편차가 상당히 줄어들었고 CV값도 7.05에서 4.08로 상당히 줄어들었다. 이론치 대비율도 62.7%에서 99.4%로 pyridin-초음파 추출법이 명확하게 이론치에 근접한 것으로 나타났으며 회수율 측정을 하기 위하여 pyridin-초음파 추출법에 matrix spiking 한 결과도 표준편차, CV값과 이론치 대비율 모두 향상된 결과를 나타내었다. 앞에서 언급한 시료 분쇄시의 문제도 초음파 처리를 함으로서 완전히 개선된 것으로 확인되었다(Table 2).

시판중인 클로렐라제품 제형에 대한 제안 시험방법의 적용

2011년 1월 현재 시중에서 판매되고 있는 클로렐라 제품을 제형별로 살펴보면 Table3에서처럼 전체 78가지 중 정제가 66가지로 85%를 차지하며 분말 5가지 과립 3가지 등 6가지 제형이 시판되고 있고, 제형자율화 이후인 2008년 8월 이후 허가된 제형도 유사한 경향을 보이지만 경질캡슐 2가지 환 1가지 외에 본 연구의 시험대상이었던 시럽 제형 1가지를 포함하여 4가지 제형이 새로 허가 받았지만 신 제형은 시럽 1가지 제형뿐으로 클로렐라 제품은 원료의 물성 때문에 제품개발에 한계를 보이고 있다.

기존에 허가되어 있던 정제 등 6가지 제형은 현재의 공전시험법을 적용하여 정확한 분석이 가능하므로 본 연구에서는 법 개정으로 새로 확장된 시럽 등 6가지 제형에 대한 적용을 목표로 하여 연구를 진행하여 시료 전 처리방법을 개선한 시험방법을 제안하였다. 추가로 확장된 편상, 페이스트상, 시럽, 겔, 젤리와 바 6가지 제형을 형상에 따라 대별하면 편상, 젤리와 바 3종은 chewable 고형상으로 페이스트상, 시럽과 겔 3종은 액상으로 분류되어 지므로 본 연구에서 제안한 시험방법을 전부 적용할 수 있고, 기존의 6가지 제형에서도 시료에서의 엽록소추출 효율성을 높이기 위하여 본 연구에서 제안 한 초음파 처리를 병행하면 전체 시험시간이 유의적으로 단축될 것으로 기대된다.

요 약

본 연구에서는 새로운 제형 클로렐라제품의 정확한 총 엽록소 정량시험법을 마련하기 위해 새로운 제형 중 Syrup과 Candy 두 가지 제형의 제품을 마련하여 현행 공전방법을 적용한 함량 비교시험을 하였고 보다 정확한 결과 값을 나타낸 제1법인 pyridine 추출법의 전 처리방법을 개선하기 위하여 alkari성 pyridine으로 시료에서 엽록소를 추출하기 위하여 30분간 방치하고, 15분간 가온 할 때 초음파 처리를 병행하는 방법을 개발하여 그 결과 값의 정확성, 정밀성을 검토하였고 또 matrix sparking에 의한 정밀성과 재현성을 검토하였다. 그 결과 액상제품의 경우 pyridin 추출법과 acetone 추출법의 결과 값 CV는 18.82와 40.00, 이론치에 대한 결과 값이 106.3%와 78.1%로 상당한 차이를 보였다. Pyridin 추출법과 pyridin 추출법에 초음파 전 처리를 추가한 결과는 27.2 ± 5.12 mg/100 g와 25.0 ± 2.84 mg/100 g로 표

준편차가 상당히 줄어들었고 CV도 18.82에서 11.36으로 상당히 줄어들었다. 이론치 대비율도 106.3%와 97.7%로 pyridin-초음파 추출방법이 보다 이론치에 근접한 것으로 나타났으며 회수율 측정을 하기 위하여 pyridin-초음파 추출법에 matrix spiking 한 결과도 표준편차, CV값과 이론치 대비율이 모두 향상된 결과를 나타내었다. 고형제품의 경우도 pyridin 추출법과 acetone 추출법의 결과 값 CV는 7.05와 30.00, 이론치에 대한 결과 값이 62.7%와 40%로 상당한 차이를 보였다. Pyridin 추출법과 pyridin 추출법에 초음파 전처리를 추가한 결과는 62.7 ± 4.42 mg/100 g와 99.4 ± 4.06 mg/100 g로 표준편차가 상당히 줄어들었고 CV값도 7.05에서 4.08로 상당히 줄어들었다. 이론치 대비율도 62.7%에서 99.4%로 pyridin-초음파 추출법이 명확하게 이론치에 근접한 것으로 나타났으며 회수율 측정을 하기 위하여 pyridin-초음파 추출법에 matrix spiking 한 결과도 표준편차, CV값과 이론치 대비율 모두 향상된 결과를 나타내었다.

감사의 글

본 논문은 2009년도 식품의약품안전청 용역연구개발과제(09082영기안086)의 수행에 의해 이루어졌으며 대상주식회사 중앙연구소 건강연구실의 적극적인 협조에 감사드립니다.

참고문헌

1. 건강기능식품공전, 식품의약품안전청(2009).
2. Chlorophyll in Plants: Photoelectric colorimetric method for total chlorophyll only, A.O.A.C. Official Method 940.03 (2000).
3. Robert J. Porra,:The assay of chlorophylls a and b convertied to their respective Mg- rhodochlorin derivatives by extraction from recalcitrante algal cells with aqeous alkaline methanol prevention of allomerization with reductants, *Biochem. Biophys. Acta,* **1015**, 493-502 (1990).
4. Manuel Zapata et al.: Ion-pair reversed-phase high-performance liquid chromatography of algal chlorophylls, *J. Chromatogr. A*, **738**, 285-289 (1966).
5. Ken Furuta et al.: HPLC Determination of Phytoplankton Pigments Using N,N-Dimethylformamide, *J. Oceanography*, **54**, 199-203 (1998).
6. Beatriz Gandul-Rojas et al.: Chlorophyll and Carotenoid Patterns in Olive Fruits Olea europaeaCv.Arbequina, *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 2207-2212 (1999).
7. Yasuyo Suzuki and Yuzo Shioi: Identification of Chlorophyll and Carotenoids in Mazor Teas by HPLC with PAD, *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 5307-5314 (2003).
8. Emel Ergun et al.: Stimultaneous determination of chlorophyll a and chlorophyll b by derivative spectrophotometry, *Anal. Bioanal. Chem.*, **379**, 803-811 (2004).
9. 이영자, 김소희, 김진숙, 한정아, 서혜정, 임혜정, 최수영: 클로렐라 및 스피루리나 제품에 함유된 엽록소 a, b, 페오포르바이드 a 및 β-카로틴의 동시분석법에 관한 연구, 한국식품위생안전성학회지, **20(3)**, 141-146 (2005).