

칠티리의 항산화 성분

오만진 · 이가순 · 손화영 · 김성렬

충남대학교 식품공학과

Antioxidative Components of Pueraria Root

Man-Jin Oh, Ka-Soon Lee, Hwa-Young Son and Seung-Yeol Kim

Department of Food Technology, Chungnam National University, Taejeon

Abstract

As a search for natural antioxidants, antioxidative fractions in pueraria root were extracted and identified using column chromatography, thin layer chromatography and high performance liquid chromatography. Components which have most effective antioxidative activities were further identified by IR and GC/MS. The strongest antioxidative component of pueraria root methanol extract was identified as puerarin. Puerarin obtained from pueraria root was practically effective as antioxidant at the level of 100 ppm. Antioxidative activity of the puerarin was higher in linoleic acid-water system than in a linoleic acid substrate. Puerarin, daidzin and daidzein contents in pueraria root juice were 0.39%, 0.45% and 0.03%, respectively.

Key words : natural antioxidant, lipid autoxidation, pueraria root

서 론

식용유지나 지방질 식품은 가공 및 저장 중에 여러 가지 원인에 의하여 불쾌한 냄새나 맛을 내거나 독성을 나타내기도 한다. 이와 같은 유지의 변질은 주로 자동 산화에 의하여 일어나고 있다.

지방의 산화를 방지하는데 쓰이는 천연항산화제에 대한 연구로는 Olcott 등⁽¹⁾에 의하여 tocopherol이 항산화력이 있음을 발견한 이래 tocopherol에 대한 많은 연구⁽²⁻⁴⁾가 이루어져 왔으며 Budowski⁽⁵⁾에 의하여 참깨의 항산화성분인 sesamol이 발견되면서 sesaminol, sesamolol 등과 같은 lignan 유도체가 항산화능이 있음을 보고하였고⁽⁶⁻⁸⁾, Dziedzic 등⁽⁹⁻¹²⁾, Hudson 등⁽¹³⁾은 식물체 중에 널리 분포되어 있는 polyphenol, flavone 및 isoflavone 유도체를 추출 분리하여 이들이 항산화능을 가지고 있음을 보고하였다. 또한 Hammerschmidt 등⁽¹⁴⁾, Hayes 등⁽¹⁵⁾ 및 Pratt 등⁽¹⁶⁾은 대두 중에 함유되어 있는 isoflavone류가 강한 항산화력을 나타낸다고 보고하였으며 Matsuzaki 등⁽¹⁷⁾은 차엽 중의 epigallocatechin gallate가 강한 항산화능을 가진다고 보고하였다.

우리나라에서 천연항산화제에 관한 연구로는 숲 등⁽¹⁸⁾, 최 등⁽¹⁹⁾, 魏 등^(20,21)이 보고한 인삼 phenolic 성분의 항산화능에 관한 연구, 趙 등⁽²²⁾이 보고한 대두 phenolic

물질의 항산화효과를 검토한 연구가 있을 뿐이다. 이와 같은 식물체 중에는 polyphenol성 물질이나 flavone 유도체가 상당량 함유되어 있으므로 저자 등은 각종 isoflavonoid가 많은 양 함유된 갈근이 천연 항산화제 검색의 좋은 재료가 될것으로 생각되어 갈근중에 함유되어 있는 항산화성분을 각종 용매로 추출 분리하여 항산화능을 비교하였고 silica gel column chromatography, TLC, HPLC 등에 의하여 항산화능을 분리하고 IR, GC/MS으로 동정하여 동정된 항산화성분의 특성 및 이용성 등을 검토하였다.

재료 및 방법

재료

본 실험에 사용한 갈근은 경북 문경에서 1988년에 채굴된 것을 세절하여 60°C에서 열풍건조한 후 80 mesh로 분쇄하여 시료로 사용하였다.

항산화성분의 추출

분쇄한 갈근으로부터 항산화성분의 추출은 Pratt 등⁽¹⁶⁾의 방법에 따라 행하였다. 즉, 분쇄한 갈근에 10배량의 methanol을 가하여 80°C에서 24시간 환류 추출하고 이를 50°C에서 감압농축하여 2배의 methanol : isopropyl alcohol(1 : 4) 용매로 wax 성분을 침전시켜 제거한 후 여기에 5배의 수포화 n-butanol을 가하여 상온에서 3시간 진탕 추출하여 항산화성분을 이행시킨 다음 이를 60°C

Corresponding author : Man-Jin Oh, Department of Food Science and Technology, Chungnam National University, Taejeon 305-764, Korea

Table 1. Operating condition of HPLC for analysis of isoflavonoid

Instrument	Waters model 45 liquid chromatography
Colum	μ -Bondapak TM C-18
Solvent	18% Acetonitrile with 1% acetic acid
Flow rate	1 ml/min
Detector	UV 254 nm
AUFS	0.1
Injection vol.	5 μ l

에서 감압농축하여 3배의 chloroform : methanol(95 : 5) 용매로 상온에서 3시간 진탕 추출하여 항산화성분을 분리하였다.

항산화물질의 첨가방법

linoleic acid-H₂O emulsion 기질용액은 Matsuzaki⁽¹⁷⁾의 방법에 따라 조제하였다. 즉, linoleic acid 10 mg, 0.2 M phosphate buffer(pH 7.0) 10 ml, ethanol 10 ml를 혼합한 용매에 전량이 25 ml가 되도록 물을 가하여 균질화한 후 기질용액으로 하였다. 항산화물질의 첨가는 항산화물질을 methanol에 용해시켜 기질용액 및 공시 식용유지에 10, 100 및 1,000 ppm 농도가 되도록 첨가하였으며 대조구인 tocopherol도 같은 방법으로 methanol에 용해시켜 첨가하였다.

항산화성분의 분리 및 확인

Column chromatography에 의한 항산화성분의 분리
항산화성분을 분리하기 위하여 같은의 Chloroform : methanol 추출물을 silica gel 60을 이용하여 column chromatography를 하였다. 전개용매로서는 chloroform : methanol의 비율을 10 : 0로부터 9 : 1, 8 : 2, 7 : 3, 6 : 4, 5 : 5, 4 : 6, 3 : 7, 2 : 8, 1 : 9 및 0 : 10의 비율이 되도록 각 10 ml씩 분획한 다음 각 분획물에 대한 항산화능을 측정하였다.

TLC에 의한 항산화성분의 분리 및 확인

Column chromatography에서 항산화작용이 가장 강하게 나타난 분획을 조제용 TLC plate를 이용하여 chromatography를 실시하였다. 즉, 일반적으로 항산화성분으로 보고된 isoflavonoid는 대부분 자외선을 강하게 흡수하는 성질이 있으므로 흡수성이 있는 성분들을 용이하게 검출할 수 있는 조제용 silica gel 60 F₂₅₄ TLC plate에 column chromatography에서 분리된 농축물을 점적하고 chloroform : methanol : water(20 : 10 : 1)으로 3시간 전개시킨 후 UV lamp로 조사하여 chromatogram을 확인한 후 표준 isoflavonoid의 R_f치로 비교하여 확인 동정하고 발색 band를 각각 구분하여 분취하고 methanol에 용해시켜 돈지에 대한 항산화능을 측정하

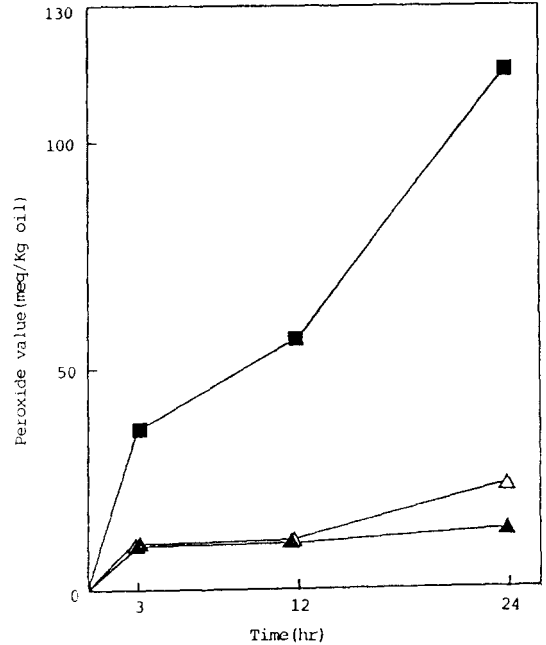


Fig. 1. Antioxidative activity of pueraria root extract to linoleic acid at 30°C

—■— : none —△— : α -toc.(100 ppm)
—●— : pueraria root extract(0.1%)

였다.

HPLC에 의한 항산화성분의 확인

조제용 TLC에 의하여 분리분취한 methanol 추출물을 HPLC로 분석하여 isoflavonoid 표준품과 비교동정하였으며 이 때 사용한 HPLC의 분석조건은 표 1과 같다.

IR, GC/MS에 의한 항산화성분의 확인

분리된 성분의 IR분석은 KB_r pellet를 만들어 Perkin Elmer 599B spectrometer로 측정하였고 MS분석은 분리된 성분을 methanol에 녹여 ethereal diazomethane을 가하여 냉장고에 방치하여 methylation을 시킨 다음 Varian MAT 212 spectrometer를 사용하여 electron impact method로 분석하였다.

항산화능의 측정

과산화물가는 IUPAC⁽²³⁾의 방법, TBA가는 Sidwell⁽²⁴⁾의 방법에 따라 측정하였다.

결과 및 고찰

갈근 추출물의 항산화효과

최종단계에서 얻어진 추출물을 linoleic acid에 대하여 30°C에서 시간의 경과에 따른 과산화물가를 측정할 결과는 그림 1과 같았다. 12시간 경과하였을 때 무첨가구의

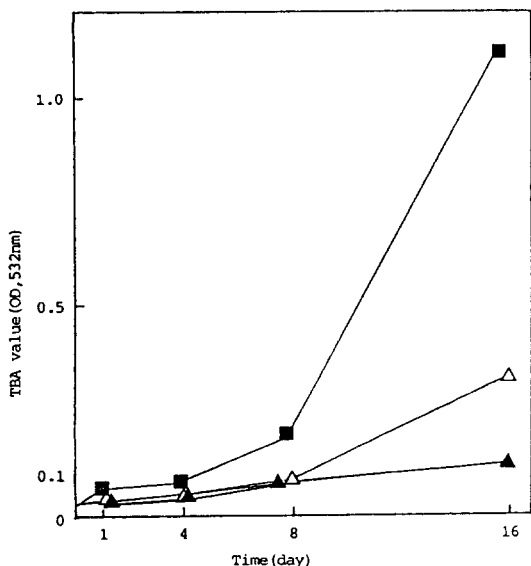


Fig. 2. Antioxidative activity of pueraria root extract to linoleic acid-H₂O emulsion at 30°C
 -■- ; none -△- ; α-toc.(100 ppm)
 -▲- ; pueraria root extract(0.1%)
 TBA value of the linoleic acid-0.2M phosphate buffer emulsion was determined by absorbance at 532 nm.

과산화물가는 56 meq/kg 이었으며, 갈근 추출물 0.1% 첨가구에서는 10.8 meq/kg로서 강한 항산화능을 나타내었다. 또, 24시간 경과하였을 때 α-tocopherol 첨가구의 과산화물가는 상당히 증가하였으나 갈근 추출물 첨가구는 거의 변하지 않았다.

또한, 수혼합 linoleic acid 유탁액에 추출물을 첨가하여 30°C에서 저장하면서 TBA가를 측정한 결과는 그림 2와 같았다. 저장 16일 경과하였을 때 무첨가구는 TBA가가 급격히 증가하였으나 갈근 추출물 0.1% 첨가구의 TBA가는 거의 증가하지 않았다. 이상의 결과에서와 같이 추출물의 항산화 효과는 수혼합 linoleic acid를 기질로 하였을 때 더욱더 효과적이었으며 기질의 형태에 따라 각기 항산화효과가 다르게 나타났다. 이는 항산화성분의 용해성이 증가하여 지방과 항산화제의 접촉이 증대하므로 항산화효과가 커진 것으로 사료된다.

항산화성분의 분리 및 확인

Column chromatography에 의한 분리

갈근분말로부터 Chloroform : methanol(95 : 5)로 추출하여 얻어진 갈근 추출물을 silica gel을 채운 column에 charging한 후 chloroform : methanol을 용매로 유출하였다. 각 유출액의 분획을 linoleic acid에 첨가하여 100°C에서 24시간 경과하였을때 과산화물가는(5 : 5)의 분획첨가구에서 68.8 meq/kg으로 무첨가구는 248.2 meq/

Table 2. Antioxidative activities of the fractions of pueraria root separated by silica gel column chromatograph

Fract- ion No.	Solvent mixture CH ₃ Cl : MeOH	POV ^{a)}	Fract- ion No.	Solvent mixture CH ₃ Cl : MeOH	POV ^{a)}
A	10 : 0	105.1	G	4 : 6	90.9
B	9 : 1	89.8	H	3 : 7	110.0
C	8 : 2	88.8	I	2 : 8	125.6
D	7 : 3	73.1	J	1 : 9	122.4
E	6 : 4	88.1	K	0 : 10	98.4
F	5 : 5	68.8	control		248.2

a) The peroxide value after 24 hrs at 100°C on linoleic acid

kg에 비해 상당히 항산화능이 높았으며 chloroform : methanol의 비율이 7 : 3, 6 : 4 및 4 : 6에서도 과산화물가는 각각 73.1, 88.1 및 90.9 meq/kg으로서 항산화효과가 높게 나타났다.

TLC에 의한 분리 및 확인

갈근 추출물의 첫단계에서 얻어진 methanol 추출물을 silica gel 60 F₂₅₄ plate에 점적하여 toluene : chloroform : acetone(20 : 13 : 13)을 용매(20)로 전개시킨 후 20% tungstophosphoric acid로 발색시켰을 때 7개의 band, p-anisaldehyde로 발색시켰을 때와 UV lamp로 조사하였을 경우는 8개의 band가 분리 확인되었다. 또한, 갈근 추출물을 chloroform : methanol의 각 비율에 따른 유출액을 n-pentane : diethylether : acetic acid : methanol(75 : 25 : 6 : 3)을 용매로 전개시켜 UV lamp를 조사한 결과 chloroform : methanol의 비가 10 : 0인 경우 8개의 band, 9 : 1인 경우 6개의 band, 8 : 2인 경우 3개의 band, 7 : 3, 6 : 4, 5 : 5 및 4 : 6인 경우에는 전혀 전개되지 않았다. 다시 전개되지 않은 획분을 chloroform : methanol : H₂O(20 : 10 : 1)의 용매로 전개시켜 UV lamp를 조사한 결과는 그림 3과 같이 R_f치가 0.92, 0.73, 0.58 및 0.37로 4개의 band가 분리되었다. Ingham 등⁽²⁵⁾이 일본산 갈근의 isoflavonoid을 검토한 결과 0.63은 daidzin, 0.53은 puerarin, 0.37은 mirificin으로 보고하였으며 본 실험에서는 표준품으로 확인한 결과 0.73은 daidzin, 0.58은 puerarin으로 추정되어 Ingham 등의 결과와 비슷하였다.

HPLC에 의한 확인

Silica gel column chromatography에 비하여 얻어진 분획물은 HPLC로 분석한 결과는 그림 4와 같았다. 이들 성분을 동정하기 위하여 isoflavonoid인 puerarin, daidzin 및 daidzein 표준품으로 HPLC를 행한 결과 puerarin은 RT 4.3분, daidzin은 5.6분 및 daidzein은 24.0분에 peak가 나타남으로서 4개의 미확인 성분 중 3개의 peak 성분을 확인할 수 있었다. 즉, TLC 결과 R_f치 0.92는 RT

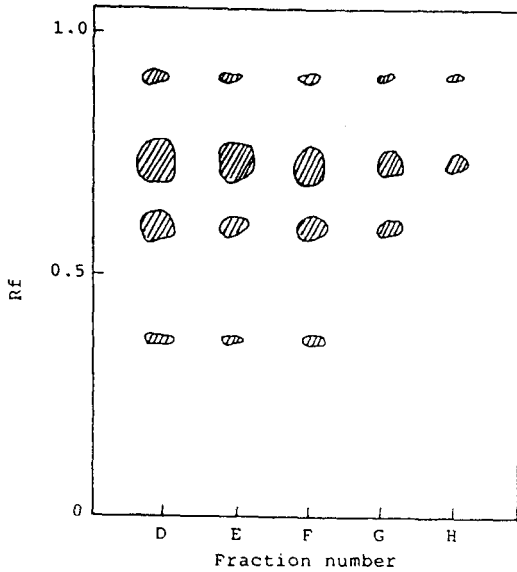


Fig. 3. Thin layer chromatogram of each fraction of pueraria root extract isolated by column chromatography

Solvent ; chloroform : methanol : water(20 : 10 : 1)
Plate ; silica gel 60 F₂₅₄

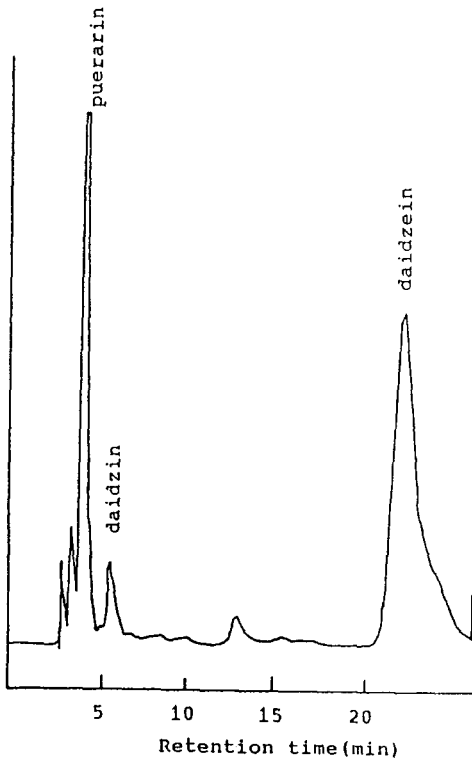


Fig. 4. HPLC chromatogram of fraction of pueraria root isolated by column chromatography

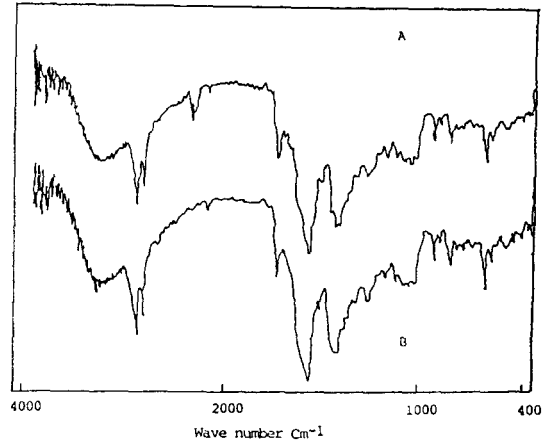


Fig. 5. IR Absorption spectrum of standard puerarin (A) and R_f 0.58(B) isolated from pueraria root by preparative TLC method

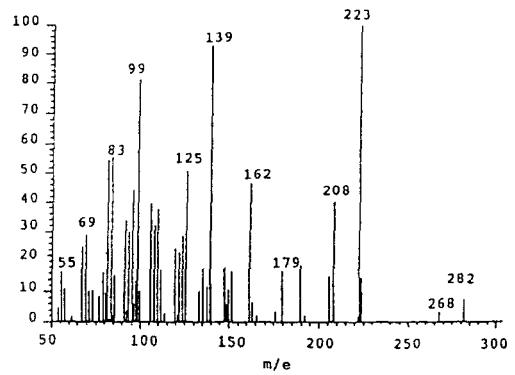


Fig. 6. MS spectrum of fraction B(R_f 0.58) isolated from pueraria root by preparative TLC method

24.0분으로서 daidzein임이 확인되었고, R_f치가 0.73은 RT 5.6분으로서 daidzin으로, R_f치가 0.58은 RT 4.3분으로서 puerarin임이 확인되었다. 이는 Ohshima 등⁽²⁶⁾, Akada 등⁽²⁷⁾이 HPLC를 이용하여 갈근 isoflavnoid의 추출분리 실험을 행한 결과와 비슷하였다.

IR, GC/MS에 의한 확인

TLC 결과 4개의 band 중 항산화능이 가장 높은 R_f치 0.58인 puerarin을 분취하여 재결정시켜 IR, GC/MS를 분석한 결과는 그림 5, 6과 같았으며 표준물질인 puerarin의 spectrum과 동일한 흡수 spectrum을 보여주었다. 즉, puerarin의 IR spectrum은 3200~3400 cm⁻¹ 부근에서 hydroxy기, 3000 cm⁻¹ 부근에서 aromatic carbon, 1600 cm⁻¹ 부근에서 carbonyl group, 1100 cm⁻¹ 부근에서 배당체결합, 1,000 cm⁻¹ 부근에서 aromatic ether group을 각각 확인할 수 있었다. Ms spectrum 조사는 분리된 puerarin 성분을 산기수분해 후 methylation시켜

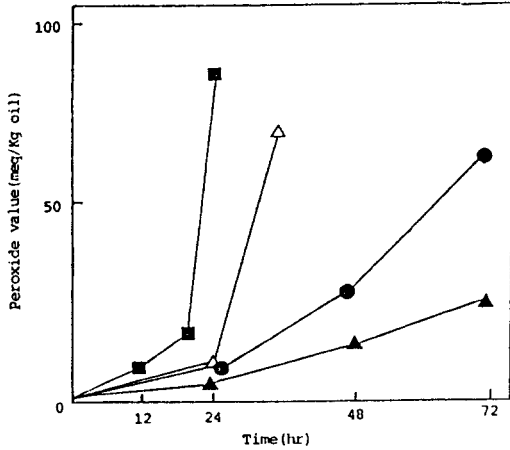


Fig. 7. Antioxidative activity of puerarin and daidzin isolated from pueraria root lard at 100°C

—■— ; none —△— ; α-toc.(100 ppm)
—●— ; daidzin(100 ppm) —▲— ; puerarin(100 ppm)

얻은 methyl ether을 분석하였으며 methylether화된 m/e 312(M⁺) peak는 검출되지 않았다. 그림 6에서 mass fragmentation pattern을 살펴보면 m/e 281은 [M-OCH₃]⁺를 m/e 223은 [M-(OCH₃)₃]⁺를 나타내었고 여기서 flavonoid의 ring B가 fragmentation되어 m/e 119 peak를 확인할 수 있었다. 따라서 TLC 및 HPLC 분석 결과와 IR 및 MS Spectrum 패턴 등으로 미루어 보아 분리된 성분이 flavonoid 성분의 일종인 puerarin임을 확인할 수 있었다.

Puerarin의 항산화효과

같은 것로부터 분리 정제한 puerin과 daidzin을 돈지에 100 ppm 농도로 첨가하여 과산화물가의 변화를 경시적으로 측정 한 결과는 그림 7과 같았다. α-tocopherol 100 ppm 첨가구는 30시간 경과 후 과산화물가가 급격히 증가하였으나 puerarin 100 ppm 첨가구는 72시간 경과 후 23.5 meq/kg의 과산화물가를 나타내므로써 α-tocopherol 첨가구보다 항산화효과가 우수하였다. 또한 daidzin은 24시간 경과할 때까지는 puerarin과 거의 비슷한 항산화능을 보여주었으나 72시간이 경과되었을 때는 58 meq/kg으로 puerarin 보다는 항산화능이 낮았다. 또한, linoleic acid-H₂O 유화액기질에 대한 농도에 따른 Puerarin의 항산화효과를 측정 한 결과는 그림 8과 같았다. puerarin 10 ppm 첨가구에서는 30°C에서 18일 저장하였을 때 TBA가 약간 증가하여 puerarin은 낮은 농도에서도 높은 항산화능이 있음을 알 수 있었으며, 100 ppm 첨가구에서는 δ-tocopherol 100 ppm 첨가구와 비슷한 항산화능을 나타내어 식용유지 및 유지 함유 식품에 실용적으로 사용될 수 있으리라 생각된다.

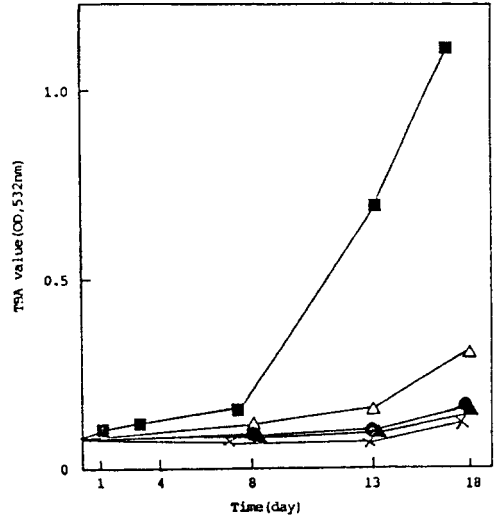


Fig. 8. Antioxidative assay of puerarin isolated from pueraria root to linoleic acid-0.2 M phosphate buffer emulsion at 30°C

—■— ; none —△— ; puerarin(10 ppm)
—●— ; puerarin(100 ppm) —▲— ; puerarin(200 ppm)
—×— ; δ-toc.(100 ppm)

Table 3. Contents of isoflavonoids in pueraria root juice(%)

Components	Daidzein	Daidzin	Puerarin
Pueraria root juice	0.03	0.45	0.39

같은 중 isoflavonoid의 함량

같은 생즙 중의 isoflavonoid의 함량은 표 3에서와 같이 daidzein은 0.032%, daidzin은 0.45%, puerarin은 0.39%를 함유하고 있어 이는 김 등⁽²⁹⁾이 한국산 같은 중에는 daidzein이 0.08%, daidzin이 0.66%를 함유하고 있다고 보고한 결과와 비교해볼 때 다소 낮은 함량을 보였으며 일본산 같은 중에는 puerarin은 2.10%로 보고한 Hayakawa 등⁽³⁰⁾의 결과와는 상당한 차이가 있었다. 이는 취의 품종, 기후조건, 생육시기 등의 요인에 기인된 것으로 생각된다.

요 약

천연항산화제를 검색하고자 같은 중의 항산화획분을 추출하여 column chromatography TLC, HPLC로 분리 동정한 후 항산화능이 가장 강한 성분을 IR 및 GC/MS로 확인하고 분리 동정된 항산화성분의 항산화효과를 검토한 결과는 다음과 같다. 같은 중의 가장 강한 항산화 성분은 puerarin으로 확인동정되었으며 같은 것로부터 얻어진 puerarin의 항산화능은 100 ppm 농도에서 실용적

이었으며 linoleic acid 기질에서보다 linoleic acid-water system에서 더욱 높았다. 또한, 갈근생즙 중의 puerarin, daidzin 및 daidzein의 함량은 각각 0.39%, 0.45% 및 0.03%이었다.

감사의 말

본 연구는 1989년도 한국학술진흥재단의 자유공모과제 학술연구조성비에 의하여 이루어진 결과이며 이에 감사를 드린다.

문헌

- Olcott, E. : Antioxidative activity of tocopherol to lard. *J. Am. Chem. Soc.* 59, 1008(1937)
- 尾本五良, 山壓司志郎, 芝原章, 吉田弘美 : 抗酸化劑 理論 實際. 三秀書房. p.29(1985)
- 太田靜行 : 食品 酸化防止劑. 食品資料研究會, p. 39 (1987)
- Kajimoto, G., M. Yoshida and A. Shibahra : A role of tocopherol on the heat stability of vegetable oils. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*, 38(4), 301(1985)
- Budowski, P. : Recent research on sesamin, sesamol and related Compounds. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 41, 280(1984)
- Fukua, Y., Y. Osawa, M. Namiki and T. Ozaki : Studies on antioxidative substance in sesame seed. *Agric. Biol. Chem.*, 49(2), 301(1985)
- Fukuda, Y. M. Nagata, T. Osawa and M. Namiki : Contribution of lignan analogues to antioxidative activity of refined unroasted sesame seed oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68(8), 1027(1986)
- Fukuda, Y. and M. Nagata : Chemical aspects of the antioxidative activity of roasted sesame seed oil and the effect of using the oil for frying. *Agric. Biol. Chem.*, 50(4), 857(1986)
- Dziedzic, S.Z. and R.J.F. Hudson : Hydroxy isoflavones as antioxidants for edible oil. *Food Chem.*, 11, 161(1983)
- Dziedzic, S.Z. and B.J.F. Hudson : Polyhydroxy chalcones and flavanones as antioxidants for edible oils. *Food Chem.*, 12, 205(1983)
- Dziedzic, S.Z. and B.J.F. Hudson : Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oils. Structural criteria for activity. *Food Chem.*, 10, 47(1983)
- Dziedzic, S.Z. and B.J.F. Hudson : Phenolic acids and related compounds as antioxidants for edible oils. *Food Chem.*, 14, 45(1984)
- Hudson, B.J.F. and J.I. Lewis : Polyhydroxy flavonoid antioxidants for edible oil phospholipid as synergist. *Food Chem.*, 10, 111(1983)
- Hammerschmidt, P.A. and D.E. Pratt : Phenolic antioxidants of dried soybeans. *J. of Food Sci.*, 43, 556 (1978)
- Hayes, R.E., G.N. Bookwalter and E.B. Bagley : Antioxidant activity of soybean flour and derivative-A review. *J. of Food Sci.*, 42(6), 1527(1977)
- Pratt, D.E. and P.M. Birac : Source of antioxidant activity of soybeans and soy products. *J. of Food Sci.*, 44, 1720(1979)
- Matsuzaki, T. and Y. Nara : Antioxidative of tea leaf catechins. *Nippon Ngeikaga Ku Kaishi.*, 59(2), 129 (1985)
- 金萬旭, 崔康注, 曹榮鉉, 洪淳根 : 人蔘의 抗酸化成分에 關한 研究. 韓國農化學會誌, 23(3), 173(1980)
- 崔康注 : 홍삼 및 백삼의 脂肪質成分과 抗酸化成分에 關한 研究. 고려대학교박사학위(1983)
- 위재준, 박종대, 김만옥, 이형주 : 인삼으로부터 페놀성 항산화 성분의 분리. 韓國農化學會誌, 22(1), 44(1989)
- 위재준, 박종대, 김만옥, 이형주 : 인삼으로부터 페놀성 항산화성분의 동정. 韓國農化學會誌, 32(1), 50(1989)
- 조미자, 권태봉, 오성기 : 식용대두유에 대한 phenolic의 항산화 효과. 韓國農化學會誌, 32(1), 37(1989)
- I.U.P.A.C. : Standard methods for the analysis oils, fats, derivatives. 7th ed., Pergamon Press, New York, p. 210 (1987)
- Sidwell, C.G., H. Salwin, M. Benca and J.H. Jr. Mitchell : The use of thiobarbituric acid as a measure of fat oxidation. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 31, 603(1954)
- John L. Inghan, S. Tahara and Stanley Z. Dziedzic : A chemical investigation of Pueraria mirifical roots. *Z. Naturforsch.*, 41c, 403(1986)
- Ohshima, Y., T. Okuyama, K. Takahashi, T. Takizwa and S. Shibata : Isolation and high performance liquid chromatography(HPLC) of isoflavonoids from the Pueraria root. *Planta Medica*, 250(1988)
- Akada, Y., S. Kawand and M. Yamagishi : High-speed liquid chromatographic analysis of drugs. XIII. Determination of daidzin in Puerariae radix. *Yakugaku Zasshi*, 100(10), 1057(1980)
- Hayakawa, J., N. Noda, S. Yamada and K. Uno : Studies on the physical and chemical quality evaluation of crude drugs preparations, I. Analysis of pueraria radix and species puerariae. *Yakugaku Zasshi*, 104 (1), 50(1984)
- 김명희, 박성배 : HPLC에 대한 한국산 취차의 분석. 한국식품위생학회지, 2(3), 89(1987)