해수 중 엽록소 *a* 측정방법에 대한 실험실 간 비교연구

문초롱^{1,2} · 강동진^{1,2} · 박미옥^{3,*} · 노재훈⁴ · 유신재⁴ · 문정연⁵ · 신경훈⁶ · 김윤숙⁷ · 최중기⁸ · 서영상⁹

¹과학기술연합대학원대학교 해양환경시스템과학부

²한국해양과학기술원 기기검교정 분석센터

³부경대학교 해양학과

⁴한국해양과학기술원 해양생태계연구부

⁵한국해양과학기술원 해양위성센터

⁶한양대학교 해양융합학과

⁷포항공과대학교 환경공학부

⁸인하대학교 생명해양학과

⁹국립수산물품질관리원 수산해양종합정보과

An Inter-Laboratory Comparison Study on Chlorophyll *a* Determination in Seawater

CHO-RONG MOON^{1,2}, DONG-JIN KANG^{1,2}, MI-OK PARK^{3,*}, JAE HOON NOH⁴, SIN-JAE YOO⁴,
 JEONG-EON MOON⁵, KYUNG-HOON SHIN⁶, YUN SOOK KIM⁷, JOONG-KI CHOI⁸ AND YOUNG SANG SUH⁹

¹Marine Environmental System Science, University of Science & Technology

²Oceanographic Measurement & Instrument Calibration Service (OMICS) Center, Korea Institute of Ocean Science & Technology

³Department of Oceanography, Pukyong National University

⁴Marine Biotechnology Research Department, Korea Institute of Ocean Science & Technology

⁵Korea Ocean Satellite Center, Korea Institute of Ocean Science & Technology

⁶Department of Earth and Marine Science, Hanyang University

⁷Ocean Science and Technology Institute, Pohang University of Science and Technology

⁸Department of Oceanography, Inha University

⁹Fishery and Ocean Information Division, National Fisheries Research and Development Institute

해양식물플랑크톤 생물량 및 일차생산력을 추정하기 위한 자료로서 이용되는 해수 중 엽록소 *a*의 농도는 고성능 액체크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography, HPLC), 형광법(Fluorometry), 분광광도법(Spectrophotometry)등의 분석방법으로 측정된다. 본 연구에서는 여러 실험실에서 이러한 방법들로 분석된 엽록소 *a* 자료를 통용하기 위한 기초자료로서 활용하고자 우리나라 주변 해역의 현장 시료를 이용한 상호비교실험을 실시하여 엽록소 *a* 분석 실험실 및 분석 방법간의 차이를 비교하였다. 상호비교실험은 엽록소 *a* 표준색소(R0) 및 동중국해(R1)와 동해해역(R2)에서 채수된 해수 현장 시료를 이용하여 총 3회 시행되었다. 참가실험실은 각각 HPLC(6개 실험실), 형광법(4개 실험실), 분광광도법(3개 실험실)으로 시료를 분석하였다. 표준색소와 현장시료의 측정결과에서 얻은 실험실 내 정밀도는 변동계수로 평가되었으며, 표준색소(R0)에서 9% 미만, 현장시료에서는 R1: 0.8~20%(평균 6.1%), R2: 4~21%(평균 13.2%)의 정밀도를 보였다. 전체 현장시료의 모집단에서 z-test를 이용하여 이상치를 제거한 측정결과들의 중앙값을 기준 값으로 평가한 HPLC, 형광법, 분광광도법 간의 차이는 20%이내였다. 이러한 차이는 현장시료의 균질성 및 실험실 내의 정밀도를 고려한 차이(R1: 8%, R2: 15%)와 유사한 값을 보였다. 비교결과로 미루어 볼 때, 측정값들간의 차이는 분석방법의 차이보다는 실험실 간 차이가 더 크다고 볼 수 있다. 따라서 각 실험실에서 생산된 자료는 분석 방법이 다르더라도 약 20% 이내에서는 동일한 결과를 생산한다고 볼 수 있으므로 타 실험실에서 서로 다른 방법으로 분석된 엽록소 *a*의 자료를 활용하는 경우에는 약 20%의 차이에 대한 고려가 필요하다.

Chlorophyll *a* in seawater which is an indicator of phytoplankton biomass and primary production is determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC), Fluorometry and Spectrophotometry. In this study, various methods for chlorophyll *a* determination in seawater are compared using in situ seawater samples from Korean seas. Three inter-laboratory comparison campaigns were carried out using chlorophyll *a* standard samples (R0) and in situ seawater samples, collected from the East China Sea (R1) and the East Sea (R2). 6 laboratories by HPLC methods, 4 laboratories by fluorometry, and 3 laboratories by spectrophotometry participated. Precisions, defined as the coefficient of variation (CV) were within 9% in standard samples, 0.8~20% (average: 6.1%) in R1, 4~21% (average: 13.2%) in R2. Discrepancy in three methods was approximately 20% within the range of the sample homogeneity intended the laboratory precision (R1: 8%, R2: 15%). The discrepancy in laboratories was greater than the discrepancy in methods. The chlorophyll *a* concentrations can be produced within 20% discrepancy in spite of using different methods. It is recommended to consider this 20% discrepancy when using the chlorophyll *a* data produced by different laboratories and different methods.

Key words: Chlorophyll *a*, HPLC, Fluorometry, Spectrophotometry, Inter-laboratory comparison

서 론

광합성 생물인 식물플랑크톤은 해양의 일차생산자이자 물질순환과정의 일부로서 중요한 위치를 갖는 한편, 대기 중 이산화탄소를 조절하거나 dimethylsulfide(DMS) 기체를 생산하는 메커니즘을 통해 기후조절에도 크게 기여하고 있다(Lehman, 1981; Charlson *et al.*, 1987; Gieskes, 1991). 이러한 중요성 때문에 많은 연구자들이 식물플랑크톤의 생물량 및 일차생산력을 추정하기 위한 지시자로서 식물플랑크톤의 주 광합성 색소인 엽록소 *a*(Chlorophyll *a*) 농도를 측정한다(Jeffrey and Mantoura, 1997; 심, 2003). 엽록소 *a*를 측정하기 위해 일반적으로 측정시간이 짧은 분광광도법(Spectrophotometry, SP)과 형광법(Fluorometry, FL)등의 광학적인 방법이 사용되고 있다(Yentsch and Menzel, 1963; Holm-hansen *et al.*, 1965; Lorenzen, 1967; Jeffrey and Humphrey, 1975; Bowles *et al.*, 1985). 그러나 두 방법들은 엽록소 *a*와 광학적 특성이 비슷한 다른 보조색소와의 중첩에 의해 엽록소 *a*농도를 과소 혹은 과대평가 할 수 있기 때문에(Riemann, 1978; Gibbs, 1979; Lorenzen and Jeffrey, 1980; Welschmeyer, 1994) 고성능액체크로마토그래피(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)를 이용하여 혼합색소를 단일색소로 분리 후 정량분석하는 방법 또한 널리 이용되고 있다(Wright *et al.*, 1991; Zapata *et al.*, 2000). 최근에는 해상위성과 같은 원격탐사를 통해 시공간적으로 다양한 표층해수의 엽록소 *a* 자료를 다양으로 획득할 수 있게 됨에 따라 전지구적 규모의 환경 변화 연구가 용이해졌다(Jeffrey and Mantoura, 1997; O'Reilly *et al.*, 1998). 현재까지 Coastal Zone Color Scanner (CZCS), Sea-viewing Wide Field-of-view Sensor(SeaWiFS), Moderate-Resolution Imaging Spectroradiometer (MODIS)등 다양한 해상위성을 활용한 전 지구적 규모의 엽록소 *a* 측정이 이루어져 왔다. 전 지구적 규모의 해상위성들은 0.05~5 mg·L⁻¹의 엽록소 *a*범위내에서 35%의 정확도를 목표로 하고 있으나, 현장자료의 부정확성, 현장관측 자료에 기반한 위성 매칭자료의 공간해상도 문제, 위성 알고리즘의 오차 등으로 인해 35%의 정확도 목표 달성이 쉽지 않다(Hooker and Esaias, 1993; Moon *et al.*, 2012). 미국 항공우주국(National Aeronautics and Space Administration, NASA)과 유럽 우주기구(European Space Agency, ESA)에서는 해상위성 정확도를 향상하기 위해 현장관측자료를 이용하여 위성자료를 보정하고 있으며, 그 일환으로 대대적인 규모

의 해양식물플랑크톤 색소 측정 실험실간 상호비교실험 및 상호검정프로젝트를 바탕으로 표준 측정 규정을 만드는 활동을 지속하고 있다(Mueller *et al.*, 2003). 그 중 Sensor Inter-comparison and Merger for Biological and Interdisciplinary Oceanic Studies (SIMBIOS)에서는 상호비교실험을 통해 기준실험실과 타 참가실험실에서 HPLC및 형광법으로 측정한 현장시료를 비교하였다(Van Heukelem *et al.*, 2002). SeaWiFS HPLC Analysis Round-Robin Experiment(SeaHARRE)는 해상위성인 SeaWiFS의 보정을 위해 HPLC 자료를 이용하는 과정에서 현장데이터의 검증 및 실험실 간 HPLC자료의 호환을 위한 상호비교실험을 수행하였다(Claustre *et al.*, 2004; Hooker *et al.*, 2000, 2005, 2009, 2010, 2012). 이 상호비교실험을 통해 HPLC 방법의 불확도를 추정하고 자료의 질을 향상시키기 위해 각 실험실마다 지켜야 할 품질관리계획을 구축하고 있다.

국내에서도 2010년부터 세계최초 정지궤도위성인 천리안해양관측위성(Geostationary Ocean Color Imager, GOCI)이 자료를 제공하기 시작하면서 많은 연구자들에 의해 국내 해역에서 다양한 방법으로 측정된 엽록소 *a* 자료를 이용하여 위성자료 보정에 활용하고자 하고 있다(Ryu *et al.*, 2012). 그러나 아직까지 국내 해역 및 국내 실험실에서 생산된 기준자료간의 상호비교가 없었고, 다른 방법에 의한 측정값간의 오차범위도 알려져 있지 않기 때문에 위성자료의 보정에 다양한 실험실에서 생산된 현장자료를 직접적으로 이용하기가 쉽지 않다. 따라서 국내 정지궤도 위성의 자료에 대한 신뢰성을 갖고 광역연구를 하기 위해서는 서로 다른 연구실의 자료 분석에 대한 결과를 비교하여 자료의 신뢰성을 높이는 작업이 선행되어야 한다. 따라서 본 연구에서는 다양한 방법으로 분석된 엽록소 *a*의 현장자료를 인공위성자료의 보정 등에 이용하기 위한 기초자료로서 활용하고자 국내에서는 처음으로 우리나라 주변 해역의 현장 시료를 이용한 상호비교실험을 통해 엽록소 *a* 분석 실험실 및 분석 방법간의 차이를 비교하고자 하였다.

재료 및 방법

상호비교실험은 2011년부터 2013년까지 총 3회 시행되었다(Table 1). 이 중 1회는 표준 색소를 이용한 상호비교실험으로 진행되었

Table 1. A table of sample information for three inter-laboratory comparison campaigns on chlorophyll *a* determination in the seawater

Sample Batch	Sampling Date	Distribution Date	Filtered Volume	Number of samples distributed
R0-STD A	2013/2/26	2013/2/26	Chlorophyll <i>a</i> standard solution in 90% Acetone	1
R0-STD B	2013/2/26	2013/2/26		
R1-HP1	2011/9/25	2011/11/28	2 L	3
R1-HP2	2011/9/26	2011/11/28	2 L	
R1-HP3	2011/9/27	2011/11/28	2 L	
R1-HP4	2011/9/28	2011/11/28	1 L	
R1-HP5	2011/9/29	2011/11/28	2 L	
R2-HP1	2012/5/24	2012/6/27	2 L	7
R2-HP2	2012/5/25	2012/6/27	2 L	
R2-HP3	2012/5/25	2012/6/27	2 L	

Table 2. A summary of the pretreatment specifications and the measuring methods for each of the 9 laboratories (or methods). N/A denotes not answered

Lab code	Extraction		Soaking			Internal standard	clarification	Measuring methods			
								HPLC		FL	SP
	Method	Solvent	volume	Time	Temp.			Reference	Column	Reference	Reference
A	Soaking Tissue grinding Ultra sonication	Methanol 95%	5 mL	20 hr		beta-apo-8'-arotenal	Centrifuge	Zapata <i>et al.</i> , 2000	C8	-	-
B	Soaking Ultra sonication	Methanol 95%	4 mL	12 hr		beta-apo-8'-arotenal	0.45um Teflon syringe filter	Zapata <i>et al.</i> , 2000	C8	-	-
C	Soaking Ultra sonication Tissue grinding	Acetone 100%	5 mL	24 hr	4 °C	canthaxanthin	Centrifuge	Wright <i>et al.</i> , 1991	C18	-	-
D	Soaking Ultra sonication	Acetone 100%	5 mL	20 hr	-20 °C	canthaxanthin	0.45um Teflon syringe filter	Wright <i>et al.</i> , 1991	C18	-	Jeffrey & Humphrey, 1975
E	Soaking Ultra sonication	Acetone 100%	5 mL	20 hr	-20 °C	canthaxanthin	0.45um Teflon syringe filter	Jeffrey <i>et al.</i> , 1997	C18	-	-
F	Soaking Ultra sonication	Acetone 90%	10 mL	24 hr	4 °C			Zapata <i>et al.</i> , 2000	C8	EPA Method 445.0	Lorenzen, 1980
G	Soaking	Acetone 90%	10 mL	24 hr	4 °C	-	0.45um Teflon syringe filter	-	-	Bowls <i>et al.</i> , 1985	-
H				N/A				-	-	N/A	-
I	Soaking	Acetone 90%	10 mL	24 hr	4 °C	-	-	-	-	Bowls <i>et al.</i> , 1985	Jeffrey & Humphrey, 1975

고, 2회는 우리나라 주변 해역에서 직접 채수한 현장시료가 이용되었다. 3회의 상호비교실험에 총 9개의 실험실이 참가하였으며, 그 중 6개의 실험실은 모든 상호비교실험에 참가하였으나 3개 실험실은 회마다 참가여부가 달랐다. 참가실험실은 A, B, C, D, E, F, G, H, I의 실험실 코드로 익명처리 되었으며, 각 실험실에서 사용한 측정방법은 Table 2에 정리되었다. 참가실험실 중 실험실 D, F, I는 3회의 상호비교실험에서 1회 이상 두 가지 이상의 방법을 사용하여 엽록소 *a*를 측정하였다(Table 3). 상호비교실험은 크게 1) 시료의 준비 및 배포, 2) 각 실험실에서의 시료 추출, 3) 측정 및 계산, 그리고 4) 결과회신 및 비교 과정으로 진행되었다(Fig. 1). 이 중 시료의 준비 및 배포와 측정결과와의 비교 과정은 한 실험실에서 일괄적으로 이루어졌고, 시료의 추출과 측정 및 계산은 상호비교실험에 참가한 각 실험실에서 이루어졌다.

Table 3. A table of laboratory code (Lab code) and participation information. Measuring methods are symbolized as H (HPLC), F (fluorometry), S (spectrophotometry). Lab F used three methods

Lab code	Participation		
	R0	R1	R2
A	H	H	
B		H	H
C	H	H	H
D	H,S	H,S	H,S
E	H	H	H
F	H,F,S	H,F,S	H,F,S
G	F	F	F
H			F
I	S	S	F,S

Fig. 1. Flow diagram of inter-comparison procedure (a) sampling and distribution (b) sample extraction (c) measuring extracts and data calculation, (d) report and data comparison.

시료의 준비 및 배포

표준색소시료는 Sigma사의 엽록소 *a* 표준물질(Chlorophyll *a* 1MG from *Anacystis nidulans algae*)을 90% 아세톤에 용해시킨 뒤 두 가지 농도(R0-STD A, B)로 희석하여 제조되었으며, 10 mL 씩 amber vial에 담아 제조 당일에 각 실험실로 배포되었다.

현장시료는 해수를 여과한 여과지시료로서 2011년 9월에 동중국해 해역의 5개 정점에서 채취된 R1시료와 2012년 5월에 동해해역의 3개정점에서 채취된 R2시료가 각각 준비되었다. 각 정점은 인공위성자료를 이용하여 엽록소 *a*의 농도범위가 다양하게 분포되도록 결정되었다(Table 1 and Fig. 2). 현장시료는 조사선 이 어도호 선상에서 해수펌프를 이용하여 각 정점의 표층 해수를 70 L 수조에 채우고 충분히 혼합한 후, 유리섬유 여과지(47 mm GF/F)를 이용하여 정점에 따라 1 L 또는 2 L씩 여과하여 준비되었다(Table 1). 현장시료는 cryogenic vial에 넣어 액체질소에서 약 3개월간 보관되었다가 각 실험실에 배포되었다. Table 1에 정리된 바와 같이 R1시료는 각 정점당 3개씩 배포되었고(실험실 당 총 15개), R2시료는 7개씩 배포되었다(실험실 당 총 21개). 모든 시료는 드라이아이스로 채운 아이스박스에 넣어서 배포되었으며, 드라이아이스가 녹지 않은 상태로 1일 이내에 전달하여 배포 중 시료의 변질을 방지하고자 하였다. 각 실험실에 배포된 시료는 최대 5개월 이내에 분석이 완료되었다.

추출, 측정 및 농도 계산

표준색소는 90% 아세톤에 용해된 형태로 배포되었기 때문에 전체 분석과정 중 추출과정이 생략되었다. 반면에 현장시료는 여과지형태로 분배되었기 때문에 분석 시 추출과정이 포함되었다. 현장시료의 처리 및 추출방법은 Table 2에 정리되었다. 본 상호비교 실험에 참가한 실험실들 중에서 추출방법이 완전히 동일한 실험

Fig. 2. Sampling stations for inter-comparison campaigns. R1 (Round 1) samples were collected at 5 stations in the East China Sea (a). R2 (Round 2) samples were collected at 3 stations in the East Sea (b). The locations of stations were selected for different chlorophyll *a* concentration on the basis of remote-sensing ocean color data. Ocean color data are from Aqua-1 for R1, GOCI for R2.

실은 없었으며, 추출방법은 추출용매의 종류에 따라 메탄올을 이용하는 2개 실험실과 아세톤을 이용하는 6개 실험실로 구분된다. 그러나 같은 추출용매를 사용하는 경우에도 추출용매의 농도, 추출량, 추출방법 그리고 추출물에 포함된 식물플랑크톤이나 여과지 조각들을 제거하는 과정에서는 조금씩 차이를 보였다. 각 실험실의 측정방법은 분광광도법, 형광법, HPLC법 중 최소한 한가지 이상의 방법으로 측정되었다(Table 3).

HPLC법

HPLC를 사용하는 실험실 중 실험실 A, B는 시료를 95% 메탄올로 추출했으며, C8 컬럼을 사용하는 Zapata *et al.*(2000)방법을 이용하여 엽록소 *a*를 분석하였다. 그 외의 실험실은 모두 아세톤을 사용하여 추출하였는데 그 중 실험실 C, D, E는 100% 아세톤으로 시료를 추출한 뒤 C18 컬럼에서 분석했다. 이때 실험실 E는 Jeffrey *et al.*(1997), 나머지 실험실은 Wright *et al.*(1991)방법을 이용하였다. 실험실 F는 메탄올을 사용한 실험실들과 동일한 Zapata *et al.*(2000)방법을 사용하면서도 95% 아세톤으로 시료를 추출하였다. 모든 실험실은 시료를 초음파분쇄로 추출하였다.

형광법

형광법을 사용하는 네 개 실험실 중 실험실 F, G는 추출과정 및 측정에 관한 정보를 제공하였고, 실험실 I는 실험실 G와 동일한 방법과 분석장비를 사용했다고 회신하였으나, 실험실 H는 분석방법에 대한 정보를 제공하지 않았다. 실험실 F, G, I는 90% 아세톤으로 시료를 추출하였다. 실험실 F는 HPLC와 동일한 과정으로 시료를 추출하였고, 실험실 G와 I는 시료에 냉장된 90%아세톤 첨가한 뒤 24시간 동안 냉장보관 후 시료를 측정하였다. 실험실 F는 Arar and Collins(1997)를 이용하여 산화형광측정법으로 시료를 측정하고, 실험실 G와 I는 Bowls *et al.*(1985)를 이용하여 비산화형광측정법을 이용하였다.

분광광도법

분광광도법을 사용하여 분석한 실험실 D, F, I 중 실험실 D와 F는 시료를 HPLC와 동일한 과정으로 추출하였다. 실험실 D와 I는 엽록소 *a* 농도 계산식으로 Jeffrey and Humphrey(1975)를 사용했으나, 실험실 D는 100% 아세톤, 실험실 I는 90% 아세톤으로 시료를 추출했다. 실험실 F는 Lorenzen(1967) 계산식으로 엽록소 *a*를 측정하였으며, 추출시료로 95% 아세톤을 사용하였다.

결과의 회신 및 통계

각 실험실은 표준색소시료를 한 시료당 3회 이상 반복 측정한 결과를 회신하였으며, 현장시료에 대해서는 각 정점당 다수의 시료를 1회 이상 측정하여 각 시료의 측정값을 회신하였다. 방법에 따라 chlorophyll *a*-like 색소와 Divinyl chlorophyll *a*를 분리하여 측정하지 못할 수 있으므로, 전체 실험실의 자료를 비교하기 위해서 HPLC법으로 분석한 자료에 대해서는 Monovinyl Chlorophyll *a*와 Divinyl Chlorophyll *a*, Chlorophyllide *a*의 결과를 모두 합친 총 엽록소 *a*값을 채택하여 비교하였다.

회신된 모든 자료에서 각 실험실 또는 실험실 간 차이 및 분석방법 간 차이의 평가를 위해 정밀도, 상대편차백분율, 절대편차백분율이 이용되었다. 정밀도란, 동일한 대상을 반복 측정하여 얻어진 측정값들이 일치하는 정도이며, 평균값(Mean)에 대한 표준편차(SD)의 백분율인 변동계수(Coefficient of Variation, CV)로 표

현 하였다(식 (1)).

$$CV = 100 \times \frac{SD}{Mean} \quad (1)$$

변동계수는 평균값이 다른 두 자료의 상대적인 분산을 비교하기 위해 사용되므로, 변동계수의 크기가 작을수록 정밀도가 높다고 해석한다(ISO, 2007). 표준색소시료의 정밀도와 현장시료의 정밀도를 비교하여 시료의 균질성을 추정하였다.

실험실 간의 차이에 대한 평가에는 평가대상에 따라 상대편차백분율(Relative Percent Difference, RPD)과 절대편차백분율(Absolute Percent Difference, APD)을 각각 적용하였다. 상대편차백분율은 각 실험실에서 여러 번 분석한 자료들의 대푯값을 사용하여 기준값에 대한 차이의 백분율로 계산된다(식 (2)). 상대편차백분율은 하나의 값이 기준값에 대해 큰지 작은지, 그 정도가 어느 정도인지 나타내며 그 크기가 작을수록 기준값에 가깝고 양수(+)일때는 기준값에 비해 큰 값을, 음수일때는 작은값을 낸다고 해석한다(Claustre *et al.*, 2004). 상대편차백분율은 분석방법별로 분류하여 같은 분석방법 내 실험실 간 차이 비교에 적용하여 한 실험실이 다른 실험실에 비해 얼마나 크고 작은 값을 계측하는지 평가하였다. 따라서 전체 실험실의 결과로부터 얻어진 대푯값을 기준으로 설정하였다.

$$RPD = 100 \times \frac{[R_{Lab}] - [R_{Total}]}{[R_{Total}]} \quad (2)$$

R_{Lab} : 단일 실험실의 대푯값(평균 또는 중앙값)

R_{Total} : 단일 실험실의 대푯값(평균 또는 중앙값)

절대편차백분율은 전체실험실 평균과 단일 실험실 측정값 간 차이의 절대값을 전체실험실 측정값의 평균에 대한 평균 백분율로 나타낸 값이다(식 (3)). 상대편차백분율과 마찬가지로 하나의 측정값이 기준값으로부터 떨어져 있는 정도를 평가하지만, 기준값에 대해 절대적으로 차이 나는 정도를 알 수 있다. 또한 측정값 하나 하나에 대한 기준값의 차이를 비교할 수 있으므로 측정값의 정밀도를 포함한 정보를 제공한다. 절대편차백분율은 실험실 간 표준색소시료 측정결과 비교 및 전체실험실 간 비교에 적용하였다.

$$APD = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N |RPD_i| \quad (3)$$

i : 측정값

N : 자료의 개수(측정값의 개수)

자료의 통계처리 과정에서 모집단은 각 실험실이 회신한 모든 측정값으로 설정하였고, 표본집단은 한 실험실의 측정값으로 설정하였다. 모집단의 통계 분석을 위해서는 로버스트통계의 *z*-test (Analytical Methods Committee, 2001; ISO, 2005)를 통해 신뢰구간 95%를 벗어나는 이상치를 제거한 뒤, 모집단으로 부터 전체 실험실의 중앙값 및 세 방법의 중앙값을 계산하였다. 표준색소는 균질성이 있는 시료를 반복측정한 결과이므로 결과값 비교를 위한 대푯값과 편차로 평균과 표준편차를 이용하였다. 반면에 현장시료 분석결과는 동일시료를 반복 측정된 결과가 아니라 한 정점에서 채취한 다수의 시료가 분석된 결과이므로 시료간의 차이를

고려하여 한 실험실의 정점 별 대푯값과 편차는 중앙값과 사분위 편차를 이용하였다.

현장시료의 균질성 평가

현장시료는 표준색소시료와 달리 채수 및 혼합, 분배과정 및 추출과정에서 시료간의 차이가 발생하기 때문에 최종적인 상호비교 실험결과에 영향을 줄 수 있다. 따라서 현장시료의 균질성을 평가하여 상호비교실험 결과를 비교할 때 시료의 균질성에 기인한 요소를 고려하고자 하였다. 균질성 평가는 한 정점에서 10개 이상의 시료를 동일한 측정방법으로 측정한 실험실의 결과를 사용하였다, R1에서는 실험실 I의 분광법 결과값, R2에서는 실험실 D의 분광법 결과값을 이용하여 현장시료측정결과의 평균으로부터 계산된 측정값 간 절대편차백분율로 평가되었다.

결과 및 토의

각 실험실의 분석값의 차이는 각 실험실 별 분석 능력의 차이, 시료 자체의 균질도, 분석 방법 간의 차이에 의해 일어날 수 있다. 이들 각각의 차이를 구분하여 이해하기 위해 시료의 균질성이 확보된 표준시료의 분석 결과를 이용하여 각 실험실 별 측정정밀도를 평가하고, 동일한 실험실내의 동일한 분석 방법에 의한 현장시료 분석 결과를 이용하여 현장시료의 균질성을 평가한 후, 이를 토대로 각 분석 방법 간의 차이를 비교하였다.

표준색소 분석결과

표준색소시료를 반복측정한 결과로부터 각 실험실의 평균과 표준편차를 계산하여 각 실험실의 측정정밀도와 실험실간 차이를 평가하였다(Fig. 3 and Table 4). 각 실험실의 정밀도는 변동계수로 평가하였다. 본 분석결과를 해석할 때는 변동계수의 값이 작을수록 실험실에서 반복 측정한 값이 일치함을 의미한다. 정밀도는 실험실에 따라 STD A, B에서 0.0~9.1%(평균 2.0%) 였으며, HPLC법

Fig. 3. Standard sample results for R0 of the individual laboratories.

분석 실험실 중에서는 실험실 C, 형광법 분석 실험실 중에서는 실험실 G, 분광광도법 분석 실험실 중에서는 실험실 F의 정밀도가 가장 좋았다. 이러한 결과로 미루어 볼 때, 모든 실험실에서 각 실험실 내의 정밀도는 최대 9% 이내의 값을 보인다.

실험실간의 차이는 각 실험실 평균값에 대한 평균값을 대푯값으로 계산된 절대편차백분율(APD)을 사용하여 평가하였다. 각 실험실들의 절대편차백분율은 실험실에 따라 0.8~10.9%(평균 5.6%) 였으며(Table 4), STD A와 STD B의 절대편차백분율이 근사한 값

Table 4. Results of chlorophyll a standards (STD A, STD B) analysis for R0

Method	Lab Code	n	R0-STD A			R0-STD B		
			Mean $\pm$ SD	CV(%)	APD(%)	Mean $\pm$ SD	CV(%)	APD(%)
HPLC	A	6	1.616 $\pm$ 0.008	0.53	8.8	0.152 $\pm$ 0.009	5.91	10.9
	B							
	C	9	1.930 $\pm$ 0.005	0.24	9.0	0.182 $\pm$ 0.002	0.94	6.6
	D	4	1.910 $\pm$ 0.012	0.62	7.9	0.183 $\pm$ 0.008	4.15	7.1
	E	3	1.855 $\pm$ 0.047	2.56	4.7	0.179 $\pm$ 0.002	1.16	4.8
	F	4	1.707 $\pm$ 0.030	1.76	3.6	0.162 $\pm$ 0.006	3.74	5.2
	N=5		1.803 $\pm$ 0.122	6.78		0.171 $\pm$ 0.012	7.18	
FL	F	5	1.713 $\pm$ 0.042	2.46	3.3	0.165 $\pm$ 0.003	2.05	3.6
	G	3	1.763 $\pm$ 0.012	0.71	0.8	0.180 $\pm$ 0.000	0.00	5.4
	H							
	N=2		1.738 $\pm$ 0.025	1.45		0.172 $\pm$ 0.008	4.47	
SP	D	3	1.606 $\pm$ 0.000	0.00	9.3	0.159 $\pm$ 0.014	9.10	9.3
	F	5	1.776 $\pm$ 0.028	1.55	1.4	0.167 $\pm$ 0.000	0.00	2.2
	I	7	1.835 $\pm$ 0.006	0.30	3.6	0.179 $\pm$ 0.004	2.46	5.1
	N=3		1.739 $\pm$ 0.097	5.58		0.168 $\pm$ 0.009	5.08	
AVERAGE			1.771 $\pm$ 0.113	1.07	5.24	0.171 $\pm$ 0.011	2.95	6.02

Table 5. Results of sample homogeneity test

Station	R1-HP1	R1-HP2	R1-HP3	R1-HP4	R1-HP5	R2-HP1	R2-HP2	R2-HP3
N	16	16	16	16	16	13	13	12
APD (%)	3.4	6.7	7.7	2.7	3.9	13.0	14.6	12.1
APD Average (%)			4.9				13.2	

을 보였다. 실험실 간 절대편차백분율은 장비차이에 의해 기본적으로 고려해야 하는 차이의 범위이므로, 최대 10.9% 이내에서는 실험실간의 차이가 없다고 설정하였다.

현장시료의 균질성 평가

현장시료의 균질성을 평가한 결과를 Table 5에 나타내었다. 균질성은 정점에 따라 차이가 있었으며 R1시료에서는 2.7~7.7%(평균 4.9%), R2시료에서는 12.1~14.6%(평균 13.2%)였다. 현장시료의 균질성 평가 결과는 각 실험실의 측정정밀도와 현장시료 자체의 균질성의 정도가 모두 반영된 결과이며, R1과 R2의 현장시료 균질성 평가에 이용된 실험실 I와 실험실 D의 분광법의 APD는 각각 3.6~5.1%, 9.3%이다. 이로 미루어볼 때 현장시료의 균질성은

실험실 내의 분석 결과와 크게 다르지 않다고 볼 수 있다. 따라서 현장시료의 분석결과를 비교할 때에 R1의 경우에는 8%, R2의 경우에는 15% 범위 내에서는 한 실험실의 현장시료의 측정값이 타 실험실과 차이가 없다고 가정하였다.

현장시료의 분석결과

각 실험실의 R1, R2 현장시료의 측정결과를 Fig. 4에 나타내었다. 각 정점별로 대부분의 실험실에서 비슷한 값을 보였으나 R1 시료에 대한 HPLC법 결과는 일부 실험실에서 많은 차이를 보였다. 특히 실험실 B와 E의 경우에는 R1 현장시료에 대해 대부분이 실험실 내의 정밀도와 시료의 균질성을 고려한 수용범위(8%)를 벗어난 결과를 보였다. 그러나 R2의 경우에는 이러한 수용 범위

Fig. 4. Field sample results for R1 and R2 of the individual laboratories.

Fig. 5. The coefficient of variation (CV) of the individual laboratory for field samples (R1 and R2).

(15%)내에 존재한다(Fig. 4 and Fig. 5).

먼저 단일실험실의 측정결과를 평가하기 위해 한 정점에서 채취된 다수의 시료 측정값에 대해 각 실험실 별 중앙값과 사분위편차를 이용한 변동계수를 계산하고 이를 비교하였다. 전반적으로 R1의 변동계수가 R2에 비해 낮은 값을 보이지만 R1에 대한 HPLC 분석법의 결과는 변동계수가 20%이상 되는 경우가 존재한다(Fig. 5). 특히 실험실 B와 E의 자료에서 높은 변동계수를 보인다. 이는 각 실험실의 측정방법에 시료의 균질도 영향이상으로 재현성이 저해될 수 있는 요인이 내재되어 있다고 볼 수 있다. 따라서 이들 실험실의 자료를 제외하면 각 실험실별 변동계수는 R1의 경우 0.8~20%(평균 6.1%), R2의 경우 4~21%(평균 13.2%)로 현장시료의 균질성 및 실험실 내의 정밀도를 고려한 차이와 유사한 값을 보였다.

분석방법 별로 실험실 간 비교를 하여 같은 분석방법 내의 차이를 비교하였다. 전체 측정값 중에서 극단적으로 높거나 낮은 값이 있었는데, 이러한 일부 극 값이 전체 실험실의 통계량에 영향을 줄 수 있으므로 z-test를 실시하여 95% 신뢰구간을 벗어나는 값들을 이상치로 결정하고 이를 제거한 후 모중앙값을 계산하여 이를 대푯값으로 한 상대편차백분율로 평가하였다(Fig. 6). 상대편차백분율은 하나의 값이 기준 값에 대해 큰지 작은지, 그 정도가 어느 정

도인지 나타내며 본 분석결과비교에서는 그 값이 작을수록 기준 값에 가까우며 양수일 때는 기준 값에 비해 큰 값을, 음수일 때는 작은 값을 낸다고 해석하였다.

Fig. 6에 나타난 분석방법 별 실험실 간 차이를 보면, HPLC 실험실 중 실험실 B와 E의 결과는 R1시료에서 전체 실험실의 평균 보다 항상 높았으며 최대 247%에 이르렀다. 그러나 R2시료에서는 두 실험실 모두 상대편차백분율이 훨씬 낮아져 실험실 B는 최대 4.8%가 되었고, 실험실 E는 최대 -42.6%로 나타났다. 실험실 D는 R1시료에서 항상 대푯값보다 낮았으며 25%이상 차이가 났다. 그 외의 실험실 A, C는 일부 시료에서는 대푯값과 40%이상 차이가 났으나 대부분 20%이내로 차이가 났다. 실험실 F는 전체 실험실의 평균에서 최대 14%이내를 보였다. 각 실험실 별 상대편차백분율이 일관성 있는 차이가 나타나지 않으므로 특별히 HPLC 법 내 추출과정 및 측정과정의 차이가 분석 결과에 영향을 미치는 것으로 보기 어렵다.

형광법 실험실은 R1에서는 실험실 F와 G 두 개 실험실만이 참가하여 8.1%이내에서 차이를 보였는데, 이는 R1시료에서 두 실험실의 정밀도가 각각 최대 6.6%임을 고려할 때 큰 차이라고 볼 수 없었다. R2시료에서는 네 개 실험실이 참가하였으며, 그 차이는 실험실 F의 경우 최대 45.5%였다. 각 실험실 간의 분석법은 실험

Fig. 6. The relative percent difference (RPD) values of the individual laboratory from the method median.

험실 G와 I가 비산화법으로 동일한 방법을 사용하였으며 실험실 F는 산화법을 사용하였다. 실험실 F의 결과가 모든 정점에서 대포깃에 비해 큰 값을 보여 산화법이 비산화법에 비해 큰 값을 줄 수 있을 가능성을 내포하고 있으나 표준색소분석 결과에서는 이러한 경향을 보이지 않았으므로 이들 방법간의 차이를 단정지을 수 없다.

분광광도법 실험실은 세 실험실간의 차이가 25% 이내였다. 실험실 D는 R1, R2에서 모두 대포깃보다 약 7% 이상 낮은 값을 보였다. 비록 이러한 경향이 현장시료의 균질성 평가의 범위 내에 포함되지만, 동일한 경향이 표준시료 분석결과에서도 보이는 것으로(Fig. 3) 미루어볼 때 실험실 D의 결과가 작지만 타 실험실의 결과에 비해 작은 값을 보여주는 것으로 판단할 수 있다. 실험실 D의 분석과정 중 타 실험실과의 차이는 타 실험실이 90% 아세톤을 이용하여 추출하는 데에 반해 100% 아세톤을 이용한다는 점과 soaking 온도의 차이를 들 수 있다(Table 2). 색소의 추출 효율이 식물플랑크톤의 종과 추출 방법에 따른 차이를 보이기는 하지만 100%와 90% 아세톤을 이용하는 경우 차이를 보이지 않는다는 연구 결과(Wright *et al.*, 1997)로 미루어 볼 때 아세톤의 농도에 의한 영향으로 판단하기는 어렵다. 그렇다면 soaking 온도의 차이에

대한 결과로 추정할 수 있지만 그 크기가 현장시료의 균질성 평가 범위 이내 이므로 실험실 간의 차이가 있는 것으로 보기 어렵다.

분석방법간 비교를 위해서 분석방법별로 z-test를 통해 이상치를 제거한 후 모든 실험실의 중앙값을 계산하여 두 개의 방법씩 비교하였다(Fig. 7). 세 가지 방법간의 차이는 20%이내였으며, 이러한 차이는 현장시료의 균질성 평가 결과(R1: 8%, R2: 15%)를 고려하면 유의한 차이로 보기 어렵다.

HPLC법, 형광법, 분광광도법 간의 차이가 없다고 보였으므로 모든 실험실은 하나의 기준값에 대해 비교할 수 있다. 기준값은 z-test를 통해 이상치를 제거한 자료의 중앙값으로 설정했으며, 각 실험실의 측정값들의 평균절대편차백분율로 나타내었다(Fig. 8). 이 값은 R1, R2에서 분석한 시료들의 절대편차백분율을 평균한 값으로서 각 round에서 단일 실험실이 타 실험실과 달랐던 정도를 볼 수 있으며, 정점 별 대포깃을 이용한 것이 아니기 때문에 단일 실험실의 정밀도에 대한 정보도 제공한다(Claustre *et al.*, 2004). 따라서 본 분석결과에서는 단일 실험실의 정밀도 및 타 실험실과의 차이를 평가함으로써 각 실험실의 분석능력에 관한 정보를 제공하였다. 즉, 절대편차백분율의 크기가 작을수록 실험실의 분석능

Fig. 7. Comparison between (a) HPLC and spectrophotometry, (b) HPLC and Fluorometry, (c) Spectrophotometry and Fluorometry.

력이 좋은 것으로 판단하였다. 대부분의 실험실이 R1보다 R2에서 절대편차백분율이 평균적으로 10%정도 증가했는데, 이는 R2의 시료의 균질성이 R1보다 좋지 않았던 것이 원인이 될 수 있다. 반면에 R1에서 절대편차백분율이 높았던 실험실 B, D, E는 R2에서 절대편차백분율이 크게 감소하여 대부분의 실험실의 결과가 20% 이내의 값을 보였다. 절대편차백분율이 크게 향상된 실험실들의 원인을 살펴보면 실험실 D의 경우는 노후한 분석기기를 교체하였고,

Fig. 8. The absolute percent difference (APD) values of the individual laboratories.

실험실 B와 E의 경우는 숙련된 분석자가 R2의 자료를 생산하였다. 따라서 실험실 내부에서 분석 품질향상을 위한 다방면의 노력이 추가되었기 때문에 분석의 결과가 보다 좋은 결과를 낼 수 있었던 것으로 사료된다.

결론

본 연구에서는 다양한 방법으로 분석된 엽록소 *a*의 현장자료를 인공위성자료의 보정 등에 이용하기 위한 기초자료로서 활용하고자 국내에서는 처음으로 우리나라 주변 해역의 현장 시료를 이용한 상호비교실험을 통해 엽록소 *a* 분석 실험실 및 분석 방법간의 차이를 비교하여 하였다.

표준색소 측정결과에서 얻은 실험실 내 정밀도는 9%이내였으며, 현장시료를 이용한 분석 결과를 살펴보면 각 실험실별 변동계수는 R1의 경우 0.8~20%(평균 6.1%), R2의 경우 4~21%(평균 13.2%)로 현장시료의 균질성 및 실험실 내의 정밀도를 고려한 차이(R1: 8%, R2: 15%)와 유사한 값을 보였다. 세 가지 방법간의 차이는 20% 이내였으며, 이러한 차이는 현장시료의 균질성 평가 결과와 동일한 방법 내에서 실험실 간의 차이와 유사한 결과를 보였다. 이러한 결과로 미루어 볼 때, 각 실험실들로부터 회신된 측정값들간 차이는 방법의 차이보다는 실험실 간 차이가 더 크다고 볼 수 있다. 즉, 해수 중 엽록소 *a* 분석 과정 중 추출과 측정과정(Fig. 1b, c)에서 가장 큰 차이를 유발한다고 볼 수 있다. 특히 실험실 내부적으로 추출과 측정 과정에서 분석 품질 향상을 위한 노력을 기울인 경우 현저한 분석 능력의 향상을 보여준 것으로 미루어 볼 때, 엽록소 *a*의 분석 방법의 상이함 보다는 각 실험실에서의 분석 능력에 따라 그 결과가 달라질 수 있다고 볼 수 있다. 따라서, 해수 중 엽록소 *a*의 분석 경험이 많은 대부분의 실험실에서 생산된 자료는 분석 방법이 다르더라도 약 20% 이내에서는 동일한 결과를 생산한다

고 볼 수 있으며, 타 실험실에서 서로 다른 방법으로 분석된 엽록소 *a*의 자료를 활용하는 경우에는 약 20%의 차이에 대한 고려가 필요하다.

사 사

이 연구는 해양수산부 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받은 정지궤도 해양위성 활용 과제에 의해 지원되었습니다. 해양관측조사 표준화 확립사업(PO00050)에 의해서도 일부 지원되었습니다. 논문을 세밀하게 심사해주신 두 분의 심사위원과 본 해수 중엽록소 *a* 측정 실험실 간 상호비교실험에 참가해주신 모든 분들께 감사의 말씀을 올립니다.

참고문헌(References)

- 심재형, 2003. 플랑크톤 생태학. 서울대학교출판부, 380 pp.
- Analytical Methods Committee, 2001. Robust Statistics: a method of coping with outliers. Technical Brief No.6. Royal Society of Chemistry 2001.
- Arar, E.J., Collins, G.B., 1997. Method 445.0: In vitro determination of chlorophyll *a* and pheophytin *a* in marine and freshwater algae by fluorescence. United States Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, National Exposure Research Laboratory.
- Bowles, N.D., Paerl, H.W., Tucker, J., 1985. Effective solvents and extraction periods employed in phytoplankton carotenoid and chlorophyll determination. Can. J. Fish. Aquat. Sci., **42**: 1127–1131.
- Charlson, R.J., Lovelock, J.E., Andreae, M.O., Warren, S.G., 1987. Oceanic phytoplankton, atmospheric sulphur, cloud albedo and climate. Nature, **326**(6114): 655–661.
- Claustre, H., Hooker, S.B., Van Heukelem, L., Berthon, J.F., Barlow, R., Ras, J., Sessions, H., Targa, C., Thomas, C., van der Linde, D., Marty, J.C., 2004. An intercomparison of HPLC phytoplankton pigment methods using in situ samples: Application to remote sensing and database activities. Mar. Chem., **85**: 41–61.
- Gibbs, C.F., 1979. Chlorophyll *b* interference in the fluorometric determination of chlorophyll *a* and 'phaeo-pigments'. Austral. J. Mar. Freshw. Res., **30**(5): 597–606.
- Gieskes, W.W.C., 1991. Algal pigment fingerprints: clue to taxon-specific abundance, productivity and degradation of phytoplankton in seas and oceans. In: Particle Analysis in Oceanography, edited by S. Demers, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 61–99.
- Holm-Hansen, O., Lorenzen, C.J., Holmes, R.W., Strickland, J.D., 1965. Fluorometric determination of chlorophyll. Journal du Conseil, **30**(1): 3–15.
- Hooker, S.B., Claustre, H., Ras, J., Van Heukelem, L., Berthon, J.F., Targa, C., van der Linde, D., Barlow, R., Sessions, H., 2000. The First SeaWiFS HPLC Analysis RoundRobin Experiment (SeaHARRE-1). edited by Hooker and E.R. Firestone, NASA Tech. Memo. 2000-206892, Vol. 14, S.B. NASA Goddard Space Flight Center, Greenbelt, Maryland, 42 pp.
- Hooker, S.B., Esaias, W.E., 1993. An overview of the SeaWiFS project. Eos. Trans. AGU, **74**: 241–246.
- Hooker, S.B., Van Heukelem, L., Thomas, C.S., Claustre, H., Ras, J., Schluter, L., Perl, J., Trees, C., Stuart, V., Head, E., Barlow, R., Sessions, H., Clementson, L., Fishwick, J., Llewellyn, C., Aiken, J., 2005. The Second SeaWiFS HPLC Analysis Round-Robin Experiment (SeaHARRE-2). NASA Tech. Memo. 2005-212785, NASA Goddard Space Flight Center, Greenbelt, Maryland, 112 pp.
- Hooker, S.B., Van Heukelem, L., Thomas, C.S., Claustre, H., Ras, J., Schluter, L., Clementson, L., Linde, D., Eker-Develi, E., Berthon, J.F., Barlow, R., Sessions, H., Ismail, H., Perl, J., 2009. The Third SeaWiFS HPLC Analysis Round-Robin Experiment (SeaHARRE-3). NASA Tech. Memo. 2009-215849, NASA Goddard Space Flight Center, Greenbelt, Maryland, 97 pp.
- Hooker, S.B., Thomas, C.S., Van Heukelem, L., Schluter, L., Russ, M.E., Ras, J., Claustre, H., Clementson, L., Canuti, E., Berthon, J.F., Perl, J., Nomandeau, C., Cullen, J., Kienast, M., Pinckney, J.L., 2010. The Fourth SeaWiFS HPLC Analysis RoundRobin Experiment (SeaHARRE-4). NASA Tech. Memo. 2010-215857, NASA Goddard Space Flight Center, Greenbelt, Maryland, 74 pp.
- Hooker, S.B., Clementson, L., Thomas, C.S., L., Schluter, Allurup, M., J. Ras, J., Claustre, H., Nomandeau, C., Cullen, J., Kienast, Kozlowski, W., Vernet, M., Chakraborty, S., Lohrenz, S., Tuel, M., Redalje, D., Cartaxana, P., Mendes, C.R., Brotas, V., Matondkar, P., Parab, S.G.S.G., Neeley, A., Egeland, E.S., 2012. The Fifth SeaWiFS HPLC Analysis Round-Robin Experiment (SeaHARRE-5). NASA Technical Memorandum 2012-217503, NASA Goddard Space Flight Center, Greenbelt, Maryland, 102 pp.
- ISO, 2007. ISO/IEC GUIDE 99: International vocabulary of metrology—basic and general concepts and associated terms (VIM). International Organization for standardization, Geneva, Switzerland.
- ISO, 2005. ISO 13528: Statistical Methods for Use in Proficiency Testing by Interlaboratory Comparisons. International Organization for standardization, Geneva, Switzerland.
- Jeffrey, S.W., Humphrey, G.F., 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, *c*₁ and *c*₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton. Biochem. Physiol. Pflanz, **167**(19): 1–194.
- Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C., 1997. Development of pigment methods for oceanography: SCOR-supported working groups and objectives. In: Phytoplankton pigments in oceanography, edited by Jeffrey, S.W., Matoura, R.F.C., Wright, S.W., UNESCO, Paris, pp. 19–36.
- Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C., Wright, S.W., 1997. Phytoplankton pigments in oceanography. UNESCO, Paris, 661 pp.
- Lehman, P.W., 1981. Comparison of chlorophyll *a* and carotenoid pigments as predictors of phytoplankton biomass. Mar. Biol., **65**(3): 237–244.
- Lorenzen, C.J., 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. Limnol. Oceanogr., **12**(2): 343–346.
- Lorenzen, C.J., Jeffrey S.W., 1980. Determination of chlorophyll in seawater. UNESCO tech. pap. mar. Paris. sci 35.1
- Moon, J.E., Park, Y.J., Ryu, J.H., Choi, J.K., Ahn, J.H., Min, J.E., Son, Y.B., Lee, S.J., Han, H.J., Ahn, Y.H., 2012. Initial validation of GOCI water products against in situ data collected around Korean Peninsula for 2010–2011. Ocean Sci. J., **47**(3): 261–277.
- Mueller, J.L., Bidigare, R.R., Trees, C., Balch, W.M., Dore, J.,

- Drapeau, D.T., Karl, D., Van Heukelem, L., Perl, J., 2003. Ocean optics protocols for satellite ocean color sensor validation, revision 5, volume V: Biogeochemical and bio-optical measurements and data analysis protocols. edited by Mueller, J.L., Fargion, G.S., McClain, C.R., NASA Tech. Memo. 2003-211621, Rev. 5, vol. V. Greenbelt, NASA Goddard Space Flight Center, 36 pp.
- O'Reilly, J.E., Maritorena, S., Mitchell, B.G., Siegel, D.A., Carder, K.L., Garver, S.A., Kahru, M., McClain, C., 1998. Ocean color chlorophyll algorithms for SeaWiFS. *J. Geophys. Res.*, **103**: 24937–24953.
- Riemann, Bo, 1978. Carotenoid interference in the spectrophotometric determination of chlorophyll degradation products from natural populations of phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, **23**(5): 1059–1066.
- Ryu, J.H., Han, H.D., Cho, S., Park, Y.J., Ahn, Y.H., 2012. Overview of Geostationary Ocean Color Imager (GOCI) and GOCI Data Processing System (GDPS). *Ocean Sci.J.*, **47**(3): 223–233.
- Van Heukelem, L., Thomas, C.S., Glibert, P.M., 2002. Sources of Variability in Chlorophyll Analysis by Fluorometry and High Performance Liquid Chromatography in a SIMBIOS Inter-Calibration Exercise. edited by Fargion, G.S., McClain, C. R., NASA Tech. Memo. 2002-02338-0, Greenbelt, NASA Goddard Space Flight Center. 53 pp.
- Welschmeyer, N.A., 1994. Fluorometric analysis of chlorophyll *a* in the presence of chlorophyll *b* and pheopigments. *Limnol. Oceanogr.*, **39**(8): 1985–1992.
- Wright, S.W., Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C., 1997. Evaluation of methods and solvents for pigment extraction. In: *Phytoplankton pigments in oceanography*, edited by Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C., Wright, S.W., UNESCO, Paris, pp. 261–282.
- Wright, S.W., Jeffrey, S.W., Mantoura, R.F.C., Llewellyn, C.A., Bjornland, T., Repeta, D., Welschmeyer, N., 1991. Improved HPLC method for the analysis of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **77**: 183–196.
- Yentsch, C.S., Menzel, D.W., 1963. A method for the determination of phytoplankton chlorophyll and phaeophytin by fluorescence. *Deep-Sea Res.*, **10**: 221–231.
- Zapata, M., Rodriguez, F., Garrido, J.L., 2000. Separation of chlorophylls and carotenoids from marine phytoplankton: a new HPLC method using a reversed phase C8 column and pyridinecontaining mobile phases. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **195**: 29–45.

2014년 1월 2일 원고접수

2014년 1월 6일 수정본 접수

2014년 1월 6일 수정본 채택

담당편집위원: 조양기