

Astaxanthin의 용해특성 및 저장 안정성

김 소 영 · 조 은 아 · 유 지 민 · ¹인 만 진 · † 채 희 정

호서대학교 식품생물공학과, 식품기능안전연구센터, 나노소재 및 응용제품 지역혁신센터, ¹청운대학교 식품영양학과
(접수 : 2008. 4. 9., 게재승인 : 2008. 11. 3.)

Solubility and Storage Stability of Astaxanthin

Soyoung Kim, Eunah Cho, Jimin Yoo, Man-Jin In¹, and Hee Jeong Chae†

Department of Food and Biotechnology, Center for Food Function and Safety, and Nanomaterial and Product
RIC, Hoseo University, Asan 336-795, Korea

¹Department of Human Nutrition and Food Science, Chungwoon University, Hongseong, 350-701, Korea

(Received : 2008. 4. 9., Accepted : 2008. 11. 3.)

Basic characteristics of astaxanthin including solubility and stability were investigated. Astaxanthin showed a very poor solubility in water, but it was highly soluble in organic solvents such as acetone and acetic acid. The solubility of astaxanthin in acidic condition was 10-20 times higher than those in neutral and basic conditions. Astaxanthin was very unstable in acidic condition under UV irradiation and in the presence of oxygen. Also, heating even for a very short time accelerated the degradation of astaxanthin. In conclusion, it is required to enhance the water-solubility and stability of astaxanthin for industrial application in food and cosmetic area.

Key Words : Astaxanthin, solubility, storage stability

서 론

최근 식생활 수준의 향상과 더불어 생활환경에 의해 체내에 활성산소가 점차 증가하고 있는 추세이고, 이러한 활성산소는 노화 진행의 가속화와 함께 각종 질병을 유발하는 원인이 된다. 또한 노화억제와 질병치료에 영향을 미치는 기능성 식품과 천연 물에 대한 관심이 높아지며, 항산화 물질에 대한 관심이 증가되고 있다. 그 중 지용성 비타민 E인 알파-토코페롤(α -tocopherol)에 비하여 항산화력이 550배에 해당하는 강력한 항산화 물질인 아스타잔틴(astaxanthin, 3,3'-dihydroxy- β , β '-carotene-4,4'-dione)은 갑각류, 조류 등의 해양생물에 존재하는 케토-카로티노이드(keto-carotenoid)로서 베타-카로틴(β -carotene)과 매우 유사한 구조를 지니고 있다(1). 이 물질은 면역증강(2), 항암효과(3, 4), 시력 보호(5) 등 여러 가지 다양한 기능성이 입증되면서 의약품이나 화장품, 식품 등의 소재로 활용이 기대되고 있는 물질이다.

아스타잔틴의 천연공급원으로는 게, 새우 등의 갑각류나 효모, 해양생물이 있다. 갑각류(게, 새우)에서 추출된 아스타잔틴은 추출이 용이한 장점은 있으나 높은 회분과 키틴 함량으로 사용

이 제한되고 있다. 효모인 파피아 로도지마(*Phaffia rhodozyma*)는 소량의 아스타잔틴을 함유하고 생체 이용률이 낮은 3R, 3'R form만을 생산하여 현재 동물사료로만 활용되고 있는 실정이다(6-9). 헤마토코커스 플루비알리스(*Haematococcus pluvialis*)는 주목되는 아스타잔틴의 생산원료로서, 헤마토코커스는 아스타잔틴의 함량이 1.5-3% 수준으로 다른 공급원에 비해 높은 함량을 지니고 있고, 생체 내에서 안정한 에스터(ester)형태의 아스타잔틴을 95% 이상 생산한다. 또한, 생체 이용률이 높은 이성체인 3S, 3'S isomer를 생산하여 상업화 가능성이 높은 공급원이다(6, 10, 11).

아스타잔틴(astaxanthin)은 다양한 생리활성에도 불구하고 산업적으로 응용이 미비한 실정이다. 그 이유는 아스타잔틴의 구조에 기인하는 결과이다. 아스타잔틴은 구조적으로 이중결합을 가진 불포화화합물로 제조나 저장시 열과 산화(빛)에 의해 쉽게 파괴되어 활성이 감소하며, 또한 지용성 물질로서 단일 또는 단백질과 에스터(ester) 결합 구조를 가지고 있어 물에 대한 용해도가 낮은 특성을 갖고 있다(12, 13). 이러한 아스타잔틴의 불안정성과 수불용성이 응용에 제한으로 작용한다.

국내외적으로 아스타잔틴의 안정성과 용해도 개선을 위한 연구는 미비한 실정이다. Chen 등(2007)은 베타-사이클로덱스트린(β -cyclodextrin)을 이용해 포접화합물(inclusion complex)을 제조하여 용해도 향상과 빛과 열에 대한 안정성이 개선되었다고 보고한 바 있고(12), Yuan 등(2008)은 베타-사이클로덱스트린의 물성

† Corresponding Author : Department of Food and Biotechnology,
Hoseo University, Asan 336-795, Korea
Tel : +82-41-540-5642, Fax : +82-41-532-5640
E-mail : hjchae@hoseo.edu

을 개선시킨 베타-사이클로덱스트린 유도체 (hydroxypropyl- β -cyclodextrin)를 이용하여 제조한 포집화합물의 빛과 산화, 열에 대한 안정성이 향상되었음을 보고하였다(13). 또한 아스타잔틴 유액 제조에 의해 안정성이 향상되었다고 보고된 바 있고(14), 키토산 매트릭스 (chitosan matrix)를 이용하여 아스타잔틴을 캡슐화하여 온도에 대한 저장성이 개선된 보고가 있다(15). 그 밖에는 키토산을 이용하여 헤마토코커스로부터 추출한 아스타잔틴을 캡슐화하여 산화안정성이 개선되고 저장에 따른 항산화활성의 변화가 보고된 바 있다(16). 현재까지 국내외적으로 아스타잔틴의 용해도와 안정성을 검토한 기초연구와 아스타잔틴의 물성 개선을 위한 제형화 연구는 미비한 상태라 할 수 있겠다.

본 연구에서는 아스타잔틴을 식품 및 화장품으로 용도 개발하고 이와 관련된 기술적인 문제를 해결하는데 필요한 기초자료로 이용하고자 각종 유기용매에 대한 용해도를 검토하였고, 아스타잔틴의 물에 대한 용해도와 산화, 빛, 온도 및 pH에 의한 아스타잔틴의 안정성을 검토하였다.

재료 및 방법

재료 및 시약

표준품으로 사용한 합성 아스타잔틴은 Sigma사 (MO, USA)의 제품으로서 순도가 92% 이상인 것을 사용하였다. 메탄올 (methanol), 아세토나이트릴 (acetonitrile), 증류수는 Burdick & Jackson사 (MI, USA)의 제품으로 모두 HPLC급을 사용하였다. 그 밖의 모든 시약은 1급 이상의 것을 사용하였으며 실험에 사용된 모든 증류수는 3차 증류수를 이용하였다.

아스타잔틴의 분석조건

HPLC 시스템 (Agilent 1100, Agilent Technologies Inc., CA, USA)을 이용하여 컬럼은 Apollo C18 (5 μ , 4.6 \times 250 mm, Alltech Associates, IL, USA), 검출기는 UV 검출기 (474 nm)를 사용하여 유속 1 mL/min로 하고 컬럼 오븐 온도는 40 $^{\circ}$ C에서, 이동상으로는 메탄올과 증류수를 95 : 5의 비율로 혼합한 용매를 사용하여 분석하였다. 시료는 메탄올에 용해하여 초음파처리 (45 min, 40 kHz; Power sonic 510, Hwashin, Korea)를 한 후, 분석에 사용하였다.

유기용매에 대한 용해도 조사

합성 아스타잔틴을 99% 메탄올 (methanol), 95% 에탄올 (ethanol), 헥산 (n-hexane), 아세톤 (acetone), 아세트산 (acetic acid), 클로로포름 (chloroform), 벤젠 (benzene), 에틸에테르 (ethyl ether) 및 증류수에 각각 0.01%의 농도가 되도록 가한 후에 1시간 동안 진탕, 여과하였다. 이 용액들의 흡광도를 각각 해당 용매를 공시험구 (blank)로 하여 microplate reader (VERSAmax, Molecular Device, CA, USA)를 이용하여 474 nm에서 측정하였다(17).

물에 대한 용해도 조사

다양한 pH 조건 (2, 6.5, 8)과 온도 조건 (4, 25, 45 $^{\circ}$ C)의 수용액 상에 합성 아스타잔틴을 0.02%의 농도로 첨가하였다. 용액의 pH 조절은 각각의 완충용액을 제조하여 시험관에 나누어 상온에서 실험하였고, 온도 조절을 위해 냉장고와 항온수조를 사용

하였다. 1시간 동안 진탕, 여과하여 물을 제거한 후, 메탄올에 용해하여 HPLC로 분석하였다. 결과값은 물 1 mL당 용해되는 아스타잔틴의 질량으로 환산하였다.

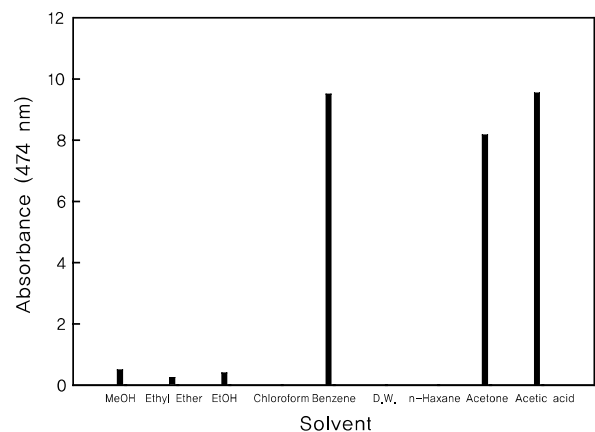
안정성 평가

합성 아스타잔틴을 메탄올 (2 mL)에 3.125 μ g/mL의 농도로 용해하여 28일간 보관하면서 온도, pH, 자외선, 산화 및 고온처리의 영향을 검토하였다. 온도의 영향을 확인하기 위해 시료를 4 $^{\circ}$ C, 25 $^{\circ}$ C 및 45 $^{\circ}$ C에서 보관하였고, pH 3, 5 및 8 조건에서 pH의 영향을 조사하였다. 자외선 영향을 확인하기 위한 광원으로는 UV lamp (253.7 nm, 19.8 watt, Sankyo Denki Co., Japan)를 사용하였고, 62cm 떨어진 거리에서 조사하였다. UV 차단 시료는 같은 조건에서 시료를 호일로 싸서 보관하였다. 공기 중 산화의 영향을 보기 위해 시료를 공기 노출과 공기 차단 환경에서 방치하였다. 각각의 시료들을 28일간 방치하면서 7일 간격으로 샘플링하여 HPLC 시스템 (Agilent 1100, Agilent Technologies Inc., CA, USA)으로 분석하여 아스타잔틴의 잔존 함량을 계산하였다(17). 또한, 고온처리의 영향을 조사하기 위해 시료를 각각 식품의 가열처리 조건인 65 $^{\circ}$ C에서 30 min, 85 $^{\circ}$ C에서 15 sec 및 100 $^{\circ}$ C에서 5 sec동안 처리하여 HPLC 분석을 통해 아스타잔틴의 잔존 함량을 계산하였다.

결과 및 고찰

유기용매에 대한 용해도 조사

헤마토코커스로부터 아스타잔틴을 추출하는데 적용 가능한 용매를 알아보기 위해 8가지 용매 (메탄올, 에탄올, 헥산, 아세톤, 아세트산, 클로로포름, 벤젠, 에틸에테르) 및 증류수에 합성 아스타잔틴을 녹이고 흡광도 (474 nm)를 측정하여 용해도를 검토하였다.



Figures 1. Solubility of synthetic astaxanthin in various solvent.
* Astaxanthin : solvent=0.01 : 100 (w/v)

Fig. 1에서 보는 바와 같이 아스타잔틴은 아세톤, 아세트산, 벤젠에서는 잘 용해되며 헥산, 클로로포름, 증류수에는 거의 녹지 않는 것으로 나타났다. 아스타잔틴은 물에는 난용성 물질이라는 것을 확인할 수 있었고, 응용폭을 넓힐 수 있도록 용해 특성을 부여하는 것이 중요한 기술적 과제라는 것을 확인할 수 있었다. 기존의 문헌에서도 아스타잔틴의 추출용매로는 아세톤과 에탄올

(주정)이 사용되었고, 아세톤에서 가장 추출이 잘 되는 것으로 보고되었다(14).

또한 아스타잔틴을 식품소재로 활용하고자 할 때는 식품용으로 사용할 수 있는 용매인 에탄올, 헥산을 사용하고 화장품이나 제약용 소재로의 개발을 위해서는 용해도가 높았던 아세톤을 추출 용매로 사용하는 것이 바람직할 것으로 판단되었다.

물에 대한 용해도 조사

기존의 보고된 바에 의하면, 아스타잔틴의 불안정성과 물에 대한 낮은 용해성으로 인해 산업적 적용에 한계가 있다고 알려져 있다(12, 13). 또한 헤마토크커스의 추출용매 선택을 위한 아스타잔틴의 유기용매에 대한 용해도 조사에서도 물에 대한 용해성이 매우 낮음을 확인하였다. 용해 조건에 따른 아스타잔틴의 물에 대한 용해도를 검토하기 위해 다양한 pH와 온도 조건에서 용해도를 확인하였다.

용액의 pH에 따른 합성 아스타잔틴의 물에 대한 용해도를 검토한 결과, Table 1에서 보는 바와 같이 pH 2에서 용해도가 높아짐을 알 수 있었고, pH 6.5에서 가장 낮은 값을 나타냈다. 상대적 용해도로서는 pH 2의 경우 pH 6.5의 경우보다 21.44배 높아지는 것을 알 수 있었다. 아스타잔틴은 중성이나 염기성 조건보다 산성 조건에서 용해도가 증가하였다. 그러나 산성에서는 HPLC 분석 결과 피크가 갈라지는 현상을 나타냈고 (데이터 제시 생략) 이것은 아스타잔틴이 낮은 pH에서 안정성이 떨어지는 물질임을 시사하는 결과로 기존의 보고와도 비슷한 경향을 나타내는 것을 확인할 수 있었다(18).

Table 1. Water-solubility of synthetic astaxanthin at various pHs

pH	Solubility* ($\mu\text{g/mL}$)	Relative solubility
2	$24.87 \pm 0.75^*$	21.44
6.5	1.16 ± 0.09	1
8	2.75 ± 0.17	2.37

*Values are means \pm S.D.

Table 2. Water-solubility of synthetic astaxanthin at various temperatures

Temperature ($^{\circ}\text{C}$)	Solubility* ($\mu\text{g/mL}$)	Relative solubility
4	$2.81 \pm 0.09^*$	1
25	4.64 ± 0.02	1.65
45	11.16 ± 0.06	3.97

*Values are means \pm S.D.

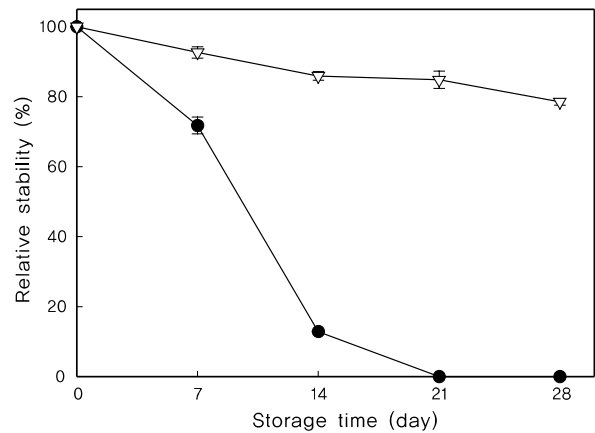
또한, 온도에 따른 물에 대한 용해도를 조사한 결과, Table 2에서와 같이 45 $^{\circ}\text{C}$ 에서 아스타잔틴의 물에 대한 용해도는 4 $^{\circ}\text{C}$ 와 비교하여 4배, 25 $^{\circ}\text{C}$ 와 비교해 2.4배 높은 용해도를 나타냈다. 즉, 온도에 의존하여 용해도가 증가하는 경향을 나타냈다. 그러나 HPLC 분석결과 45 $^{\circ}\text{C}$ 에서 용해시킨 아스타잔틴은 피크가 갈라지는 현상을 나타냈고, 이것은 아스타잔틴이 높은 온도에서 약한 물질임을 시사하는 결과이다. 다른 문헌에서도 40 $^{\circ}\text{C}$ 이상의 온도에서는 저장 4주 이내에 70% 이상이 분해되는 것으로 보고되었다(12, 14). 따라서 아스타잔틴의 용해도와 안정성은 온도에 민감한 것으로 판단되었다.

안정성 평가

안정성이 낮은 물질로 알려져 있는 아스타잔틴의 안정성 확인

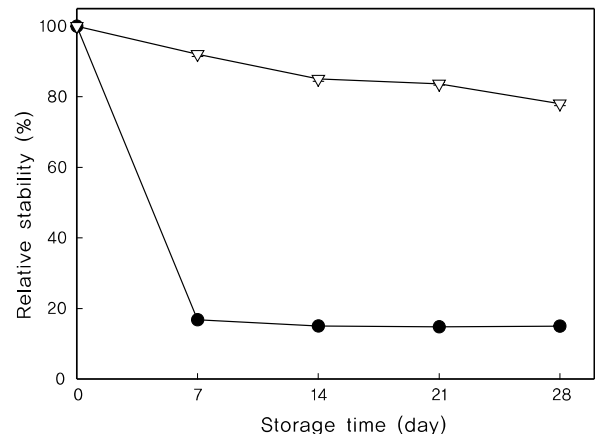
을 위해 온도와 UV, 산화 및 pH에 대한 안정성 평가를 28일 동안 진행하되, HPLC 분석을 통한 아스타잔틴의 잔존 함량을 계산하여 안정성을 평가하였다. 먼저 합성 아스타잔틴을 메탄올 (2 mL)에 3.125 $\mu\text{g/mL}$ 의 농도로 용해하여 시료를 제조하였다.

실험결과, 아스타잔틴은 빛과 산화에 매우 약하였으며, 낮은 조건의 pH에서 매우 불안정한 물질임을 알 수 있었다. UV를 조사한 경우 14일 보관 후에는 HPLC 분석결과, 초기 함량대비 10%의 수준으로 감소하였고, 21일 이후에는 모두 분해되었다(Fig. 2). 이러한 결과는 아스타잔틴이 UV 조사 4주 이내에 약 80% 이상이 분해되는 것으로 보고한 Lee 등(2003), Kim 등(2000)의 보고와 비슷한 경향을 나타내는 것을 알 수 있었다(14, 18). UV 조사 전후 시료에 대하여 FT-IR 스펙트럼으로 구조를 분석한 결과, 구조적 변화는 없었으나 흡광도가 감소하였다(데이터 제시 생략).



Figures 2. Effect of UV on the long-term stability of synthetic astaxanthin at room temperature. (∇ , dark; \bullet , UV irradiation)

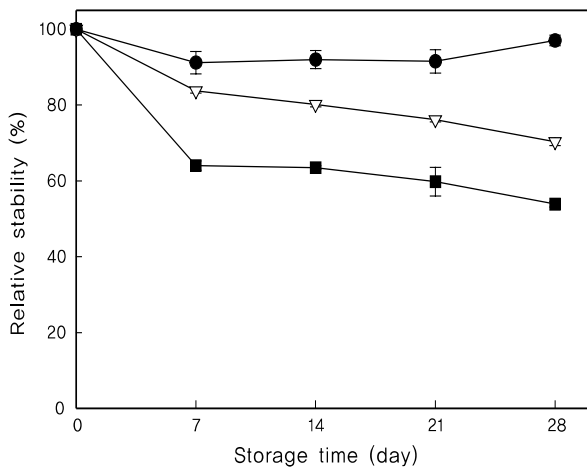
또한 공기에 접촉되었을 때 7일 후부터 아스타잔틴의 잔존 함량이 20% 이하로 감소하였다(Fig. 3). 이러한 결과는 아스타잔틴이 산화에 매우 약한 물질임을 시사하는 결과로 기존의 Kim 등(2000)의 논문에서도 아스타잔틴이 공기 중 산소와 반응시 쉽게 분해되었고, 산소의 유무에 따라 온도나 pH, UV 안정성이 크게 달라지는 것을 확인할 수 있었다(18).



Figures 3. Effect of oxygen on the long-term stability of synthetic astaxanthin at room temperature. (∇ , oxygen-free; \bullet , oxygen-exposed)

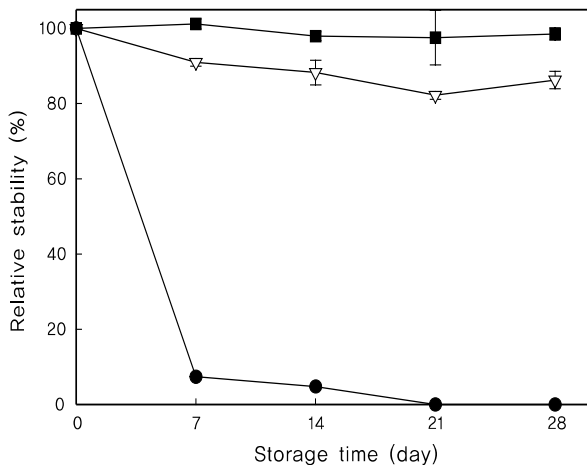
보관온도에 대한 영향은 Fig. 4에 나타난 바와 같이 4 $^{\circ}\text{C}$ 에서

는 28일까지 큰 변화는 없었으나 25°C 및 45°C에서는 7일 후 부터 아스타잔틴의 함량이 각각 20%와 40%가 감소되는 것을 확인하였다. Chen 등(2007)의 연구에서도 흡광도 값으로 아스타잔틴의 온도에 대한 저장 안정성을 분석한 결과, 아스타잔틴은 온도에 대한 저장 안정성이 매우 낮은 물질임을 보고하였다. 30°C에서는 6일 이내에 초기 함량의 20% 수준으로 감소하였고, 57°C에서는 6일 이내에 아스타잔틴이 모두 분해되는 것으로 보고 하였다(12). 또한 Higuera-Ciapara 등(2004)의 결과에서도 35°C와 45°C에서 8주 동안 보관 후에는 아스타잔틴이 변성이 일어나는 것을 HPLC 크로마토그램상에서 머무름 시간의 변화로서 나타내었다(15).



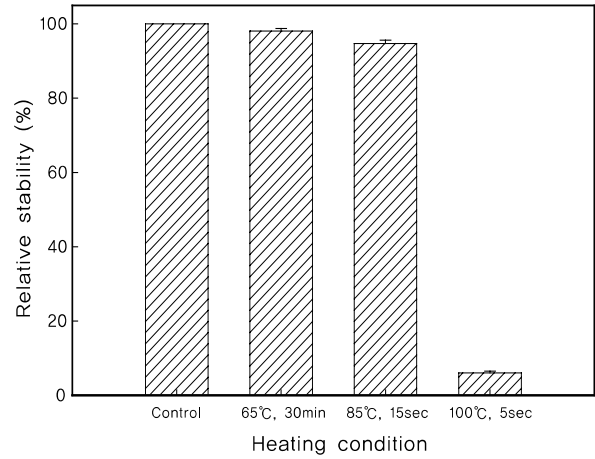
Figures 4. Effect of temperature on the long-term stability of synthetic astaxanthin. (●, 4°C; ▽, 25°C; ■, 45°C)

Fig. 5에는 pH에 대한 영향을 검토한 것으로서 pH 8에서는 28일 동안 거의 함량 변화가 나타나지 않았으며, pH 5에서도 21일 이후에도 초기 함량의 90% 이상이 잔존하는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 pH 3에서는 7일 이후에 초기 함량의 5% 수준으로 감소하였고 21일 이후에는 거의 잔존하지 않음을 확인하였다. 즉, 아스타잔틴이 낮은 pH에서 매우 불안정함을 알 수 있었고, 이는 기존 문헌에서의 결과와도 비슷한 경향을 나타내는 것을 확인할 수 있었다(18).



Figures 5. Effect of pH on the long-term stability of synthetic astaxanthin at 4°C. (●, pH 3; ▽, pH 5; ■, pH 8)

또한, 고온처리에 의한 영향을 살펴보면 100°C에서 5초 정도만 열처리를 해도 잔류 함량이 5% 정도로 감소하는 것을 확인할 수 있었고(Fig. 6), 열처리 후, FT-IR 스펙트럼으로 구조적 변화를 관찰시 흡광도가 감소된 것을 확인하였다(데이터 제시 생략).



Figures 6. Effect of heating on the stability of synthetic astaxanthin.

이상과 같은 안정성 결과들을 종합적으로 평가해볼 때, 아스타잔틴은 빛 (UV)과 공기 중 산화에 매우 민감한 물질이며, 특히 산성 조건에서 쉽게 분해되는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 고온처리에 매우 민감한 물질임을 알 수 있었다.

이상으로 아스타잔틴을 보관 또는 유통 중에 더 안정하게 관리 하려면 빛과 공기를 차단한 상태에서 냉장온도에서 보관해야 하며, 용해하여 사용할 경우에는 pH를 5이상으로 유지하도록 하는 것이 요구되는 것으로 판단되었다. 보통 음료 제조시에는 저장성 문제로 인해 pH 3 이하로 낮춰 음료를 제조하는 것이 일반적인 방법이다. 아스타잔틴을 음료로 활용할 때 낮은 pH에서 쉽게 분해되는 것이 음료개발시 가장 큰 문제점이 될 수 있을 것으로 판단되었다.

결론적으로 아스타잔틴의 응용폭을 넓힐 수 있도록 용해 특성을 부여함과 동시 안정성 향상을 위한 지속적인 연구가 필요하며 이것이 향후 아스타잔틴의 산업적 증대를 위한 중요한 기술적 과제라는 것을 확인할 수 있었다.

요 약

본 연구에서는 아스타잔틴의 각종 유기용매와 물에 대한 용해도와 산화, 빛, 온도 및 pH에 의한 아스타잔틴의 안정성을 검토 하였다. 아스타잔틴은 유기용매인 아세톤과 아세트산에 비교적 용해도가 높았으며 물에는 거의 용해되지 않았다. 아스타잔틴의 용해도에 미치는 pH의 영향을 검토한 결과, 산성 조건 (pH 2)에서는 중성이나 염기성 조건에 비하여 용해도가 10-20배 증가 하였다. 아스타잔틴은 산화와 빛에 대한 안정성이 매우 낮았으며, pH 3에서도 안정성이 급격히 떨어지는 것으로 조사되었다. 온도에 대한 영향을 조사한 결과, 상온 보관시에도 아스타잔틴이 쉽게 분해되었으며, 특히 100°C에서 5초 동안 가열할 경우 아스타잔틴이 90% 이상 분해되었다. 결론적으로 아스타잔틴을 식품이나 화장품 등의 산업적 활용을 위해서는 안정성과 용해도 개선이 요구되는 것으로 판단되었다.

감 사

본 연구는 교육과학기술부와 한국산업재단의 지역혁신인력양성 사업 및 호서대학교 타당성/탐색 연구과제로 수행된 결과이며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. Shimidzu, N., M. Goto, and W. Miki (1996), Carotenoids as singlet oxygen quenchers in marine organisms, *Fish. Sci.* **62**, 134-137.
2. Bendich, A. (1991), Non vitamin a activity of carotenoids : immuno enhancement, *Food Sci. Technol. Res.* **2**, 127-130.
3. Chew, B. P., J. S. Park, M. W. Wong, and T. S. Wong (1999), A comparison of the anticancer activities of dietary beta-carotene, canthaxanthin and astaxanthin in mice in vivo, *Anticancer Res.* **19**, 1849-1854.
4. Jyonouchi, H., S. Sun, K. Iijima, and M. Gross (2000), Antitumor activity of astaxanthin and its mode of action, *Nutr. Cancer* **36**, 59-65.
5. Snodderly, D. M. (1995), Evidence for portection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins, *Am. J. Clin. Nutr.* **62**, 1448-1461.
6. Park, E. K., M. W. Seo, and C. G. Lee (2001), Effect of medium compositions for the growth and the astaxanthin production of *Haematococcus pluvialis*, *Kor. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* **29**, 227-233.
7. Johnson, E. A. and W. A. Schroeder (1995), Microbial carotenoids production, *Adv. Biochem. Eng.* **53**, 119-178.
8. Schroeder, W. A. and E. A. Johnson (1993) Antioxidant role of carotenoids in *Phaffia rhodozyma*, *J. Gen. Microbiol.* **39**, 907-912.
9. Sedmak, J. J., D. K. Weerasinghe, and S. O. Jolly (1990), Extraction and quantitation of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma*, *Biotechnol. Technol.* **4**, 107-112.
10. Lorenz R. T. and G. R. Cysewski (2000), Commercial potential for *Haematococcus microalgae* as a natural source of astaxanthin. *Tibtech* **18**, 160-167.
11. Grung, M. and S. L. Jensen (1991), Algal carotenoids 51. Secondary carotenoids 2. *Haematococcus pluvialis* aplanospores as a source of (3S,3S)-astaxanthin esters, *J. Appl. Phycol.* **4**, 165-171.
12. Chen, X., R. Chen, Z. Guo, C. Li, and P. Li (2007), The preparation and stability of the inclusion complex of astaxanthin with β -cyclodextrin, *Food Chem.* **101**, 1-5.
13. Yuan C, Z. Jin, X. Xu, H. Zhuang, and W. Shen (2008), Preparation and stability of the inclusion complex of astaxanthin with hydroxypropyl-cyclodextrin, *Food Chem.* **109**, 264-268.
14. Lee, C. K. (2003), Process development for astaxanthin production by microalgae, Ministry of Maritime Affairs & Fisheries, Korea.
15. Higuera-Ciapara, I., L. Felix-Valenzuela, F. M. Goycoolea, and W. Arguelles-Monal (2004), Microencapsulation of astaxanthin in a chitosan matrix, *Carbohydr. Polymers* **56**, 41-45.
16. Kittikaiwan, P, S. Powthongsook, P. Pavasant, and A. Shotipruk (2007), Encapsulation of *Haematococcus pluvialis* using chitosan for astaxanthin stability enhancement, *Carbohydr. Polymers* **13**, 1-8.
17. Jeon, M. N. (1999), Improved aqueous solubility and chemical stabilities of an inclusion complex, SCIC derived from shikonin and β -cyclodextrin, M. S. Thesis, Dept. of Food technology, Chung Ang University, Seoul.
18. Kim, Y. B. (2000) Solubilization and extraction of high performance antioxidant astaxanthin from *Phaffia rhodozyma*, M. S. Thesis, Dept. of Food technology, Han Yang University, Seoul.